

前 言

本标准在参考了国内外企业标准的基础上,经实验室验证试验而制定。

本标准由国家质量监督检验检疫总局提出。

本标准由中国饲料工业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:国家饲料质量监督检验中心(北京)、北京桑普生物化学技术有限公司。

本标准主要起草人:索德成、施文娟、刘万涵、杨曙明。

引 言

L-抗坏血酸-2-磷酸酯是将 L-抗坏血酸中的不稳定基团(在烯醇上的羟基)与磷酸盐进行酯化反应,生成稳定的抗坏血酸衍生物。该产品作为饲料添加剂在饲料加工和储存过程中具有良好的稳定性,同时又具有很高的生物利用率,为饲料行业广泛接受应用。为了对 L-抗坏血酸-2-磷酸酯的质量实施有效控制,规范饲料市场,特制定本标准。

饲料添加剂 L-抗坏血酸-2-磷酸酯

1 范围

本标准规定了饲料添加剂 L-抗坏血酸-2-磷酸酯的技术要求、试验方法(仲裁法和快速检测法)、检验规则及标签、包装、运输、贮存。

本标准适用于以 L-抗坏血酸与磷酸盐反应所制得的 L-抗坏血酸-2-磷酸酯。本产品可添加于饲料中作为补充 L-抗坏血酸的营养剂。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 601 化学试剂 滴定分析(容量分析)用标准溶液的制备

GB/T 602 化学试剂 杂质测定用标准溶液的制备

GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备

GB/T 5009.76—2003 食品添加剂中砷的测定

GB/T 6435 饲料水分的测定方法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 10648 饲料标签

GB/T 13080 饲料中铅的测定方法

GB/T 18634—2002 饲用植酸酶活性的测定 分光光度法

3 要求

3.1 性状

本品为类白色或淡黄色的粉末,在光、热和空气中较稳定,易溶于酸中。

3.2 技术指标

表 1 技术指标

%

项 目	指 标
L-抗坏血酸-2-磷酸酯含量(以 L-抗坏血酸计)	≥ 35.0
干燥失重	≤ 10.0
砷	≤ 0.0005
铅	≤ 0.003

4 试验方法

除非另有说明,在本分析中仅使用确认为分析纯的试剂;蒸馏水或去离子水或符合 GB/T 6682 三级水相当纯度的水;按 GB/T 601~603 的要求制备标准溶液;仪器、设备为一般实验室仪器和设备。

4.1 试剂和溶液

4.1.1 硝酸溶液:体积分数为 10%。

4.1.2 氢氧化钠溶液: $c(\text{NaOH})=1 \text{ mol/L}$ 。

- 4.1.3 硝酸银溶液： $c(\text{AgNO}_3)=0.1\text{ mol/L}$ 。
- 4.1.4 氨水溶液：体积分数为40%。
- 4.1.5 盐酸溶液： $c(\text{HCl})=0.1\text{ mol/L}$ 。
- 4.1.6 碳酸钠溶液： $c(\text{Na}_2\text{CO}_3)=0.01\text{ mol/L}$ 。
- 4.1.7 冰乙酸。
- 4.1.8 乙酸溶液：体积分数为5%。
- 4.1.9 2,6-二氯酚钠溶液：称取295 mg 2,6-二氯酚钠溶于1 000 mL水中，此溶液可保存1周。
- 4.1.10 酸性植酸酶：活性单位1 000 U以上，当酶活单位有疑问或长时间存放后需要测定时，按GB/T 18634—2002测定。
- 4.1.11 酸性植酸酶溶液：称取1 g酸性植酸酶溶于100 mL乙酸溶液中。
- 4.1.12 偏磷酸溶液：称取1 g偏磷酸溶于100 mL水中。
- 4.1.13 L-抗坏血酸标准溶液：称取0.1 g(精确至0.000 2 g)L-抗坏血酸标准品溶于100 mL乙酸溶液中，临用前配制。

4.2 仪器

4.2.1 恒温水浴：可控制温度在 $37^\circ\text{C}\pm 2^\circ\text{C}$ 。

4.2.2 紫外分光光度计。

4.3 鉴别试验

4.3.1 称取试样2 g于100 mL烧杯中，加水30 mL溶解，过滤。取滤液10 mL，加硝酸溶液(4.1.1)20 mL，加热20 min。取试液5 mL，滴加氢氧化钠溶液(4.1.2)至中性，加硝酸银溶液(4.1.3)1 mL，即生成浅黄色沉淀；分离，沉淀在氨水溶液(4.1.4)或硝酸溶液中均易溶解。

4.3.2 称取试样0.3 g(精确至0.000 2 g)于250 mL的容量瓶中，加入50 mL盐酸溶液(4.1.5)溶解，用碳酸钠溶液(4.1.6)定容。吸取1.0 mL试液于50 mL容量瓶中，用碳酸钠溶液定容至刻度。用紫外分光光度计扫描(200 nm~400 nm)，L-抗坏血酸-2-磷酸酯在261 nm~265 nm处有最大吸收。

4.3.3 称取试样0.3 g~0.5 g(精确至0.000 2 g)于100 mL的容量瓶中，加入约60 mL的乙酸溶液(4.1.8)，在超声水浴中超声10 min，用乙酸溶液定容。精密吸取2.0 mL试液于50 mL小烧杯中，加入2,6-二氯酚钠溶液(4.1.9)至溶液为粉红色后，加入2 mL酸性植酸酶溶液(4.1.11)，于 37°C 水浴上保持30 min，红色褪去。

4.4 L-抗坏血酸-2-磷酸酯含量测定 酶解法(仲裁法)

4.4.1 原理

在酸性条件下，酸性植酸酶可将L-抗坏血酸-2-磷酸酯水解为L-抗坏血酸，用2,6-二氯酚钠溶液滴定L-抗坏血酸含量。

4.4.2 分析步骤

4.4.2.1 称取试样0.3 g~0.5 g(精确至0.000 2 g)于100 mL的容量瓶中，加入5 mL冰乙酸(4.1.7)，加入约60 mL的水，在超声水浴中保持10 min，用水定容。

4.4.2.2 吸取10.0 mL的试液(4.4.2.1)于100 mL具塞三角瓶中，加入5 mL偏磷酸溶液(4.1.12)，用2,6-二氯酚钠溶液(4.1.9)滴定至粉红色并保持30 s即为终点。

4.4.2.3 分别吸取2.0 mL的试液(4.4.2.1)和L-抗坏血酸标准溶液(4.1.13)于50 mL具塞三角瓶中，分别加入2.0 mL的酸性植酸酶溶液(4.1.11)，于 37°C 水浴上水解1 h后，加入5 mL偏磷酸溶液，用2,6-二氯酚钠溶液滴定至粉红色并保持30 s即为终点。同时做空白实验。

4.4.3 结果计算

试样中L-抗坏血酸-2-磷酸酯含量(以L-抗坏血酸计) X_1 以质量分数(%)表示，可按式(1)计算：

$$X_1 = \frac{(V_1 - \frac{V_2}{5}) \times m_{st}}{(V_{st} - V_0) \times m_1} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

V_1 ——滴定酶解后的试液所消耗的 2,6-二氯酚钠溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——滴定未酶解的试液所消耗的 2,6-二氯酚钠溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_0 ——滴定空白所消耗的 2,6-二氯酚钠溶液的体积,单位为毫升(mL);

m_{st} ——L-抗坏血酸标准品的质量,单位为克(g);

V_{st} ——滴定 L-抗坏血酸标准溶液所消耗的 2,6-二氯酚钠溶液的体积,单位为毫升(mL);

m_1 ——试样的质量,单位为克(g)。

计算结果保留两位小数。

4.4.4 允许差

取两次平行测定结果的算术平均值为测定结果。两次平行测定结果之差不得大于 0.5%。

4.5 L-抗坏血酸-2-磷酸酯含量测定 紫外分光光度法(快速检测法)

4.5.1 原理

在 pH=10 的条件下, L-抗坏血酸-2-磷酸酯在 263 nm 处有最大吸收,且符合朗伯比尔定律。据此可测出试样溶液的吸光值,以摩尔吸收系数(ϵ)计算百分含量。

4.5.2 分析步骤

4.5.2.1 称取试样约 0.3 g(准确至 0.000 2 g),置于 250 mL 棕色容量瓶中,加 50 mL 盐酸溶液(4.1.5),在超声水浴中超声 10 min,用碳酸钠溶液(4.1.6)定容。

4.5.2.2 精密吸取 1.0 mL 试液(4.5.2.1)置于 50 mL 棕色容量瓶中,用碳酸钠溶液稀释至刻度,摇匀。

4.5.2.3 放置 20 min 后,将试液(4.5.2.2)置于 1 cm 石英比色皿中,用紫外分光光度计于 263 nm $\pm$ 1 nm 处测定吸收值。以碳酸钠溶液为空白。

4.5.3 结果计算

试样中 L-抗坏血酸-2-磷酸酯含量(以 L-抗坏血酸计) X_2 以质量分数(%)表示,可按式(2)计算:

$$X_2 = \frac{A_1 \times 12.5 \times M}{16\ 000 \times m_2} \times 100 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

A_1 ——试样溶液(4.5.2.2)的吸收度;

m_2 ——试样的质量,单位为克(g);

12.5——试样的稀释倍数;

M ——L-抗坏血酸的摩尔质量, $M(\text{L-抗坏血酸})=176.13\text{ g/mol}$;

16 000——L-抗坏血酸-2-磷酸酯的摩尔吸收系数(ϵ)。

计算结果保留两位小数。

4.5.4 允许差

取两次平行测定结果的算术平均值为测定结果。两次平行测定结果之差不得大于 0.5%。

4.6 干燥失重的测定

称取试样约 1 g(准确至 0.000 2 g),按照 GB/T 6435 测定。

4.7 砷的测定

称取试样约 1 g(准确至 0.000 2 g),按照 GB/T 5009.76—2003 中砷斑法测定。

4.8 铅的测定

称取试样约 1 g(准确至 0.000 2 g),按照 GB/T 13080 测定。

5 检验规则

5.1 本产品应由生产厂的质量检验部门进行检验,生产厂应保证所有出厂的产品均符合本标准的要

求,并附有一定格式的质量证明书。

5.2 在规定限度内具有同一性质和质量,并在同一连续生产周期中生产出来的一定数量的产品为一批。

5.3 使用单位或饲料质检法定机构可按照本标准规定的检验规则和试验方法对所收到的产品进行质量检验,检验其是否符合本标准的要求。

5.4 取样方法:抽样需备有清洁、干燥、具有密闭性和避光性的样品瓶,瓶上贴有标签并注明生产厂家、产品名称、批号、取样日期。

抽样时,用清洁适用的取样工具插入料层深度 $3/4$ 处,将所取样品充分混匀,以四分法缩分,每批样品分两份,每份样量应为检验所需试样的 3 倍量,装入样品瓶中,一瓶供检验用,一瓶密封保存备查。

5.5 如果在检验中有一项指标不符合标准要求时,应重新抽样检验。产品重新检验仍有一项不符合标准时,即为整批不能验收。

5.6 如果供需双方对产品质量发生异议时,由仲裁单位按本标准的验收规定和检验方法进行仲裁。

6 标签、包装、运输、贮存

6.1 本产品包装上标签应符合 GB 10648 规定。

6.2 本产品应装于防潮的硬纸板桶(箱)中,内衬食品用聚乙烯塑料袋。也可根据用户要求进行包装。

6.3 本产品不得与有毒、有害或其他有污染的物品及具有氧化性的物质混装、合运。

6.4 本产品应贮存在阴凉、干燥、清洁的室内仓库中,不得与有毒物品混存。

6.5 按规定包装,原包装在规定的贮存条件下保质期为 24 个月(开封后尽快使用,以免受潮)。
