



中华人民共和国国家标准

GB/T 27985—2011

饲料中单宁的测定 分光光度法

Determination of tannin in feeds—Spectrophotometry

2011-12-30 发布

2012-06-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)提出并归口。

本标准起草单位:上海市兽药饲料检测所。

本标准主要起草人:商军、潘娟、黄士新、王蓓、曹莹、华贤辉、陆淳、蒋音。

饲料中单宁的测定 分光光度法

1 范围

本标准规定了饲料中单宁的分光光度测定方法。

本标准适用于配合饲料、单一饲料中单宁含量的测定。

本方法的检出限为 17.5 mg/kg,线性范围为 0.50 mg/L~6.00 mg/L。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 原理

用丙酮溶液提取饲料中单宁类化合物,经过滤后,取滤液加钨酸钠-磷钼酸混合溶液和碳酸钠溶液,显色后,以试剂为空白对照,用分光光度计于 760 nm 波长处测定吸光度值,用单宁酸作标准曲线测定饲料中单宁含量。

4 试剂和溶液

除非另有说明,本标准中所用试剂均为分析纯,水符合 GB/T 6682 三级用水规定。

4.1 钨酸钠($\text{Na}_2\text{O}_4\text{W} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。

4.2 磷钼酸($\text{H}_3\text{Mo}_{12}\text{O}_{40}\text{P} \cdot \text{XH}_2\text{O}$)。

4.3 钨酸钠-磷钼酸混合溶液:称取 100.0 g 钨酸钠(4.1)、20.0 g 磷钼酸(4.2),溶于约 750 mL 水中,移入 1 000 mL 回流瓶中,加入 50 mL 磷酸,充分混匀,接上冷凝管,在沸水浴上加热回流 2 h,冷却,转入 1 000 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀,过滤,置棕色瓶中保存。室温下可保存 14 d。

4.4 无水碳酸钠(Na_2CO_3)。

4.5 碳酸钠溶液(75 g/L):称取 37.5 g 无水碳酸钠(4.4)溶于 250 mL 温水中,混匀,冷却,稀释至 500 mL,过滤到储液瓶中备用。室温下可保存 7 d。

4.6 丙酮($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$)。

4.7 丙酮溶液(1+1,体积比):分取等体积的水和丙酮(4.6),等体积混合,摇匀,即得。

4.8 单宁酸标准品($\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$):含量 $\geq 95.0\%$ 。

4.9 单宁酸标准储备液:称取单宁酸标准品(4.8)适量(精确到 0.000 1 g),加适量水溶解,用水定容至 100 mL,摇匀,制成单宁酸质量浓度约为 1 mg/mL 的标准储备液。在冰箱中 4 °C 可保存 5 d。

4.10 单宁酸标准使用液:精密量取单宁酸标准储备液(4.9)10.00 mL,置 200 mL 容量瓶中,用水定容至 200 mL,摇匀。此溶液单宁酸质量浓度为 50 mg/L,用时现配。

5 仪器和设备

- 5.1 紫外可见分光光度计:带 10 mm 比色皿,可在 760 nm 处测定。
- 5.2 电子天平:感量为 0.1 mg。
- 5.3 粉碎机。
- 5.4 振荡仪。
- 5.5 单标线吸管:1 mL,10 mL,50 mL,A 级。
- 5.6 刻度吸管:5 mL。
- 5.7 容量瓶:50 mL,100 mL,200 mL,A 级。
- 5.8 具塞三角瓶:250 mL。
- 5.9 中速定量滤纸。

6 试样制备

按 GB/T 14699.1 采样,按 GB/T 20195 制备试样,磨碎,通过 0.45 mm 孔筛,混匀,装入密闭容器中,避光低温保存备用。

7 分析步骤

7.1 试液的制备

称取试样 1 g~2 g(精确至 0.000 1 g),置于 250 mL 具塞三角瓶(5.8)中,精密加入丙酮溶液(4.7) 50.00 mL,加塞密封,置振荡仪(5.4)上振摇 40 min,静置,用中速定量滤纸(5.9)过滤,弃去初滤液,续滤液供测定用。

7.2 测定

7.2.1 标准曲线的绘制

精密量取单宁酸标准使用液(4.10)0.00 mL、0.50 mL、1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL、5.00 mL 和 6.00 mL,分别置盛有约 30 mL 水的 50 mL 容量瓶中,摇匀;加钨酸钠-磷钼酸混合溶液(4.3)2.5 mL,加碳酸钠溶液(4.5)5.0 mL,摇匀;分别用水定容至 50 mL,摇匀。单宁酸标准溶液浓度分别为 0.00 mg/L、0.50 mg/L、1.00 mg/L、2.00 mg/L、3.00 mg/L、4.00 mg/L、5.00 mg/L 和 6.00 mg/L,放置 30 min 显色后,以标准曲线 0.00 mg/L 为空白,在 760 nm 波长处测定标准溶液的吸光度,以单宁酸浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标,绘制标准曲线。

7.2.2 试样的测定

精密量取试液(7.1) 1.00 mL,置盛有约 30 mL 水的 50 mL 容量瓶中,摇匀;加钨酸钠-磷钼酸混合溶液(4.3)2.5 mL,加碳酸钠溶液(4.5)5.0 mL,摇匀;用水定容至 50 mL,摇匀。放置 30 min 显色后,以标准曲线 0.00 mg/L 为空白,在 760 nm 波长处测定试样溶液的吸光度,根据标准曲线求出试液(7.1)中单宁酸的浓度。如果吸光度值超过 6.00 mg/L 单宁酸的吸光度时,将试液(7.1)稀释后重新测定。

8 计算和结果的表述

8.1 计算公式

试样中单宁(以单宁酸计)的含量 X ,以质量分数表示,单位为毫克每千克(mg/kg),按式(1)计算。

$$X = \frac{c \times V \times D \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

c —— 试样测定液中单宁酸的浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V —— 试样定容体积,单位毫升(mL);

D —— 试样稀释倍数;

m —— 试样质量,单位为克(g)。

8.2 结果表示

测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留到小数点后一位。

9 重复性

同一分析者对同一试样同时两次平行测定所得结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。
