

中华人民共和国国家标准

饲料中粗蛋白测定方法

GB/T 6432—94

Method for the determination of
crude protein in feedstuffs

代替 GB 6432—86

本标准参照采用 ISO 5983—1979《动物饲料-氮含量的测定和粗蛋白含量计算》。

1 主题内容与适用范围

本标准规定了饲料中粗蛋白含量的测定方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料和单一饲料。

2 引用标准

GB 601 化学试剂 滴定分析(容量分析)用标准溶液的制备

3 原理

凯氏法测定试样中的含氮量,即在催化剂作用下,用硫酸破坏有机物,使含氮物转化成硫酸铵。加入强碱进行蒸馏使氨逸出,用硼酸吸收后,再用酸滴定,测出氮含量,将结果乘以换算系数 6.25,计算出粗蛋白含量。

4 试剂

4.1 硫酸(GB 625):化学纯,含量为 98%,无氮。

4.2 混合催化剂:0.4 g 硫酸铜,5 个结晶水(GB 665),6 g 硫酸钾(HG3—920)或硫酸钠(HG3—908),均为化学纯,磨碎混匀。

4.3 氢氧化钠(GB 629):化学纯,40%水溶液(M/V)。

4.4 硼酸(GB 628):化学纯,2%水溶液(M/V)。

4.5 混合指示剂:甲基红(HG3—958)0.1%乙醇溶液,溴甲酚绿(HG 3—1220)0.5%乙醇溶液,两溶液等体积混合,在阴凉处保存期为三个月。

4.6 盐酸标准溶液:邻苯二甲酸氢钾法标定,按 GB 601 制备。

4.6.1 0.1 mol/L 盐酸(HCl)标准溶液:8.3 mL 盐酸(GB 622),分析纯,注入 1 000mL 蒸馏水中。

4.6.2 0.02 mol/L 盐酸(HCl)标准溶液:1.67 mL 盐酸(GB 622),分析纯,注入 1 000mL 蒸馏水中。

4.7 蔗糖(HG 3—1001):分析纯。

4.8 硫酸铵(GB 1396):分析纯,干燥。

4.9 硼酸吸收液:1%硼酸水溶液 1 000mL,加入 0.1%溴甲酚绿乙醇溶液 10 mL,0.1%甲基红乙醇溶液 7 mL,4%氢氧化钠水溶液 0.5 mL,混合,置阴凉处保存期为一个月(全自动程序用)。

5 仪器设备

5.1 实验室用样品粉碎机或研钵。

国家技术监督局 1994-07-18 批准

1995-01-01 实施

- 5.2 分样筛:孔径 0.45 mm(40 目)。
- 5.3 分析天平:感量 0.0001 g。
- 5.4 消煮炉或电炉。
- 5.5 滴定管:酸式,10、25 mL。
- 5.6 凯氏烧瓶:250 mL。
- 5.7 凯氏蒸馏装置:常量直接蒸馏式或半微量水蒸气蒸馏式。
- 5.8 锥形瓶:150、250 mL。
- 5.9 容量瓶:100 mL。
- 5.10 消煮管:250 mL。
- 5.11 定氮仪:以凯氏原理制造的各种类型半自动,全自动蛋白质测定仪。

6 试样的选取和制备

选取具有代表性的试样用四分法缩减至 200 g,粉碎后全部通过 40 目筛,装于密封容器中,防止试样成分的变化。

7 分析步骤

7.1 仲裁法

7.1.1 试样的消煮

称取试样 0.5~1 g(含氮量 5~80 mg)准确至 0.0002 g,放入凯氏烧瓶(5.6)中,加入 6.4 g 混合催化剂(4.2),与试样混合均匀,再加入 12 mL 硫酸(4.1)和 2 粒玻璃珠,将凯氏烧瓶(5.6)置于电炉(5.4)上加热,开始小火,待样品焦化,泡沫消失后,再加强火力(360~410 °C)直至呈透明的蓝绿色,然后再继续加热,至少 2 h。

7.1.2 氨的蒸馏(蒸馏步骤的检验见附录 A)

7.1.2.1 常量蒸馏法

将试样消煮液(7.1.1)冷却,加入 60~100 mL 蒸馏水,摇匀,冷却。将蒸馏装置(5.7)的冷凝管末端浸入装有 25 mL 硼酸(4.4)吸收液和 2 滴混合指示剂(4.5)的锥形瓶内。然后小心地向凯氏烧瓶(5.6)中加入 50 mL 氢氧化钠溶液(4.3),轻轻摇动凯氏烧瓶(5.6),使溶液混匀后再加热蒸馏,直至流出液体积为 100 mL。降下锥形瓶,使冷凝管末端离开液面,继续蒸馏 1~2 min,并用蒸馏水冲洗冷凝管末端,洗液均需流入锥形瓶内,然后停止蒸馏。

7.1.2.2 半微量蒸馏法

将试样消煮液(7.1.1)冷却,加入 20 mL 蒸馏水,转入 100 mL 容量瓶中,冷却后用水稀释至刻度,摇匀,做为试样分解液。将半微量蒸馏装置(5.7)的冷凝管末端浸入装有 20 mL 硼酸(4.4)吸收液和 2 滴混合指示剂(4.5)的锥形瓶(5.8)内。蒸汽发生器(5.7)的水中应加入甲基红指示剂数滴,硫酸数滴,在蒸馏过程中保持此液为橙红色,否则需补加硫酸。准确移取试样分解液 10~20 mL 注入蒸馏装置(5.7)的反应室中,用少量蒸馏水冲洗进样入口,塞好入口玻璃塞,再加 10 mL 氢氧化钠溶液(4.3),小心提起玻璃塞使之流入反应室,将玻璃塞塞好,且在入口处加水密封,防止漏气。蒸馏 4 min 降下锥形瓶(5.8)使冷凝管末端离开吸收液面,再蒸馏 1 min,用蒸馏水冲洗冷凝管末端,洗液均流入锥形瓶内,然后停止蒸馏。

注:7.1.2.1 和 7.1.2.2 蒸馏法测定结果相近,可任选一种。

7.1.2.3 蒸馏步骤的检验

精确称取 0.2 g 硫酸铵(4.8),代替试样,按 7.1.2 或 7.2.2 步骤进行操作,测得硫酸铵含氮量为 21.19±0.2%,否则应检查加碱、蒸馏和滴定各步骤是否正确。

7.1.3 滴定

用 7.1.2.1 或 7.1.2.2 法蒸馏后的吸收液立即用 0.1 mol/L(4.6.1)或 0.02 mol/L(4.6.2)盐酸标准溶液滴定,溶液由蓝绿色变成灰红色为终点。

7.2 推荐法

7.2.1 试样的消煮

称取 0.5~1 g 试样(含氮量 5~80 mg)准确至 0.0002 g,放入消化管中,加 2 片消化片(仪器自备)或 6.4 g 混合催化剂(4.2),12 mL 硫酸(4.1),于 420 °C 下在消煮炉上消化 1 h。取出放凉后加入 30 mL 蒸馏水。

7.2.2 氨的蒸馏

采用全自动定氮仪(5.11)时,按仪器本身常量程序进行测定。

采用半自动定氮仪(5.11)时,将带消化液的管子插在蒸馏装置上,以 25 mL 硼酸(4.4)为吸收液,加入 2 滴混合指示剂(4.5),蒸馏装置(5.7)的冷凝管末端要浸入装有吸收液的锥形瓶内,然后向消煮管中加入 50 mL 氢氧化钠溶液(4.3)进行蒸馏。蒸馏时间以吸收液体积达到 100 mL 时为宜。降下锥形瓶,用蒸馏水冲洗冷凝管末端,洗液均需流入锥形瓶内。

7.2.3 滴定

用 0.1 mol/L 的标准盐酸溶液(4.6.1)滴定吸收液,溶液由蓝绿色变成灰红色为终点。

8 空白测定

称取蔗糖 0.5 g,代替试样,按第七章进行空白测定,消耗 0.1 mol/L 盐酸标准溶液(4.6.1)的体积不得超过 0.2 mL。消耗 0.02 mol/L 盐酸标准溶液(4.6.2)体积不得超过 0.3 mL。

9 分析结果的表述

9.1 计算见下式:

$$\text{粗蛋白质}(\%) = \frac{(V_2 - V_1) \times C \times 0.0140 \times 6.25}{m \times \frac{V'}{V}} \times 100$$

式中: V_2 ——滴定试样时所需标准酸溶液体积, mL;

V_1 ——滴定空白时所需标准酸溶液体积, mL;

C ——盐酸标准溶液浓度, mol/L;

m ——试样质量, g;

V ——试样分解液总体积, mL;

V' ——试样分解液蒸馏用体积, mL;

0.0140——每毫克当量氮的克数;

6.25——氮换算成蛋白质的平均系数。

9.2 重复性

每个试样取两个平行样进行测定,以其算术平均值为结果。

当粗蛋白质含量在 25% 以上时,允许相对偏差为 1%。

当粗蛋白质含量在 10%~25% 之间时,允许相对偏差为 2%。

当粗蛋白质含量在 10% 以下时,允许相对偏差为 3%。

附加说明：

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会归口。

本标准由国家饲料质量监督检验中心(北京)负责修订。

本标准起草人马东霞。