

前 言

本标准等效采用日本农牧水产畜牧局发布并实施的饲料添加剂规格《d-生物素制剂》中的测定标准第1法。在技术内容上对日本饲料添加剂规格《d-生物素制剂》的测定方法作了部分改动,即增加了标准曲线的绘制。同时,按GB/T 6379—1986《测试方法的精密度 通过实验室间试验确定标准测试方法的重复性和再现性》的规定及4个质量控制良好的实验室协同实验的结果,增设了“重复性”。

本标准根据“质技监标函[1999]178号 关于标准GB/T 17778—1999复合预混料中d-生物素的测定 第一号修改单的函”进行修改。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会提出并归口。

本标准由国家饲料质量监督检验测试中心(武汉)负责起草。

本标准主要起草人:钱方、钱沁、杨先奎。

中华人民共和国国家标准

预混料中 d-生物素的测定 分光光度法

GB/T 17778--1999

Method for determination of d-biotin in premix—
Spectrophotometry

1 范围

本标准规定了用 *p*-二甲氨基肉桂醛分光光度法测定饲料添加剂 d-生物素和预混料(维生素预混料和复合预混料)中 d-生物素的方法。

本标准适用于饲料添加剂 d-生物素、维生素预混料和复合预混料中 d-生物素的测定。

2 方法原理

将试样中 d-生物素用无水乙醇提取出来,在硫酸乙醇溶液中 d-生物素和 *p*-二甲氨基肉桂醛生成橙红色化合物,在一定范围内颜色深浅与 d-生物素含量成正比。

3 试剂和溶液

本标准所用试剂,除特殊说明外,均为分析纯。

3.1 无水乙醇(GB/T 678—1990)。

3.2 硫酸无水乙醇溶液(2+98):量取 2 mL 硫酸和 98 mL 无水乙醇,混匀。

3.3 *p*-二甲氨基肉桂醛无水乙醇溶液(2 g/L):称取 0.2 g *p*-二甲氨基肉桂醛溶于无水乙醇,用无水乙醇稀释至 100 mL,混匀。

3.4 d-生物素标准溶液

3.4.1 d-生物素标准储备溶液:准确称取 0.100 0 g d-生物素溶解于无水乙醇,定量转入 100 mL 棕色容量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,混匀。此液 1.00 mL 含 d-生物素 1.00 mg。

3.4.2 d-生物素标准工作溶液:准确量取 d-生物素标准储备溶液 1.00 mL 于 100 mL 容量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,混匀。此液 1.00 mL 含 d-生物素 10.00 μ g。

4 仪器、设备

4.1 分光光度计:1.0 cm 比色皿,可在 530 nm 处测定吸光度。

4.2 磨口平底烧瓶:200 mL。

5 试样制备

取具有代表性样品至少 2 kg,用四分法缩分至 250 g,粉碎过 0.42 mm 孔筛,混匀,装入样品瓶内密闭,保存备用。

6 测定步骤

6.1 提取

6.1.1 预混料中 d-生物素的提取

称取试样约 5 g(精确至 0.000 1 g),置于磨口平底烧瓶中,加入 30 mL 无水乙醇,置水浴中煮沸回流 45 min,冷却至室温后,转移到 50 mL 容量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度。过滤,弃去开始的 20 mL,余下作为试样提取液。

6.1.2 饲料添加剂 d-生物素的提取

称取试样约 1 g(精确至 0.000 1 g),置于磨口平底烧瓶中,加入 30 mL 无水乙醇,置水浴中煮沸回流 45 min,冷却至室温后,转移到 100 mL 容量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度。过滤,弃去开始的 20 mL,余下作为试样提取液。

6.2 测定

6.2.1 试样的测定

精确吸取 6.1.1 试样提取液 5.00 mL 或 6.1.2 试样提取液 2.00 mL 于 25 mL 容量瓶中,加入硫酸无水乙醇溶液(3.2)1.0 mL 和 *p*-二甲氨基肉桂醛无水乙醇溶液(3.3)2 mL,摇匀,室温下放置 1 h,用无水乙醇(3.1)稀释至刻度,摇匀;另取无水乙醇代替样液,与试样同时同样处理,作参比液。用 1.0 cm 比色皿在 530 nm 处,用分光光度计测定吸光度,在标准曲线上查得试样中 d-生物素的含量。

6.2.2 工作曲线的绘制

精确吸取 d-生物素标准工作溶液(3.4.2)2.00,5.00,10.00,15.00,20.00 mL 于 25 mL 容量瓶中,以下步骤按 6.2.1 中“加入硫酸无水乙醇溶液(3.2)1.0 mL……”的操作进行,测定吸光度,绘制标准曲线。

6.3 测定结果的计算

6.3.1 测定结果按式(1)计算:

$$X = \frac{m_1 V_2}{m_0 V_1} \dots\dots\dots (1)$$

式中: X ——每千克试样中 d-生物素的含量,mg;

m_1 ——标准曲线上查得测定时所取试样提取液中 d-生物素的质量, μg ;

V_2 ——试样提取液总体积,mL;

m_0 ——试样质量,g;

V_1 ——试样测定时吸取试样提取液体积,mL。

结果表示到小数点后一位。

6.3.2 重复性

每个试样取两份试料进行平行测定,以其算术平均值为测定结果。

测定结果的相对偏差应不大于 20%。