



中华人民共和国国家标准

GB/T 13086—2020
代替 GB/T 13086—1991

饲料中游离棉酚的测定方法

Method for determination of free gossypol in feeds

(ISO 6866:1985, Animal feeding stuffs—
Determination of free and total gossypol, MOD)

2020-11-19 发布

2021-06-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 GB/T 13086—1991《饲料中游离棉酚的测定方法》。

本标准与 GB/T 13086—1991 相比,除编辑性修改外,主要技术变化如下:

- 修改了适用范围(见第 1 章,1991 年版的第 1 章);
- 增加了定量限(见第 1 章);
- 删除了仅用于配制的市售形式的试剂(见 1991 年版的第 3 章);
- 增加了苯胺和溶剂 A 的有效期(见 4.2);
- 修改了仪器设备中的恒温水浴为水浴锅(见第 5 章,1991 年版的第 5 章);
- 增加了棉籽样品制备方法(见第 6 章);
- 修改了称样量(见 7.1,1991 年版的 6.1);
- 增加了校正吸光度的计算公式(见 8.1);
- 修改了样品中游离棉酚含量的计算公式(见 8.2,1991 年版的 7.1);
- 增加了棉籽中游离棉酚结果的计算公式(见 8.2);
- 修改了测定结果有效数字(见第 8 章,1991 年版的 7.2);
- 修改了精密度规定(见第 9 章,1991 年版的 7.3);
- 增加了资料性附录 A(见附录 A)。

本标准使用重新起草法修改采用国际标准 ISO 6866:1985《动物饲料 游离棉酚和总棉酚的测定》。

本标准与 ISO 6866:1985 相比在结构上有较大调整,附录 A 中列出了本标准与 ISO 6866:1985 条款编号对照一览表。

本标准与 ISO 6866:1985 的技术性差异及其原因如下:

- 关于规范性引用文件,本标准做了具有技术性差异的调整,以适应我国的技术条件,调整的情况技术反映在第 2 章“规范性引用文件”中,具体调整如下:
 - 删除了 ISO 6866:1985 中的引用文件 ISO 6497;
 - 用等同采用国际标准的 GB/T 20195 代替了 ISO 6498;
 - 增加引用了 GB/T 6682。
- 吸光度值的测量波长由“最大吸收波长处(435 nm~445 nm)”修改为“波长 440 nm 处”(见第 3 章,7.3,ISO 6866:1985 的 8.3.1.8);
- 删除了总棉酚的测定相关内容(见 ISO 6866:1985 的 8.3.2);
- 增加了校正吸光度的计算公式[见公式(1)];
- 删除了总棉酚计算的相关内容(见 ISO 6866:1985 的 9.1);
- 修改了样品中游离棉酚含量的计算公式[见公式(2),ISO 6866:1985 的 9.1];
- 增加了棉籽中游离棉酚结果的计算公式[见公式(3)];
- 删除了试验报告内容(见 ISO 6866:1985 的第 10 章)。

本标准还做了下列编辑性修改:

- 修改了标准名称,删除了总棉酚测定,适用于我国采标目的;

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

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。

GB/T 13086—2020

本标准起草单位：江西省兽药饲料监察所、中国饲料工业协会。

本标准主要起草人：杨琳芬、符金华、徐田放、王黎文、周伟良、徐国茂、刘安南、兰轶、胡翊炜、郭丽丽、刘志成、刘景湖、卢坚雯。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

——GB/T 13086—1991。

饲料中游离棉酚的测定方法

1 范围

本标准规定了饲料中游离棉酚的分光光度测定方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料,棉籽、棉籽饼粕以及含有棉籽、棉籽饼粕成分的其他饲料原料(棉籽油除外)中游离棉酚的测定。

本标准定量限为 20 mg/kg。

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 6682—2008,ISO 3696:1987,MOD)

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备(GB/T 20195—2006,ISO 6498:1998,IDT)

3 原理

试样中的游离棉酚用含 3-氨基-1-丙醇的异丙醇-正己烷混合溶剂提取,用苯胺使棉酚转化为苯胺棉酚,在波长 440 nm 处测量其吸光度值。

4 试剂或材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

4.1 水:GB/T 6682,二级。

4.2 苯胺:应满足空白溶液 b_0 吸光度值不超过 0.022。若超过,则在苯胺中加入锌粉进行蒸馏,弃去头尾各 10%,将其余馏出部分收集于棕色玻璃瓶内,0℃~4℃贮存,有效期 45 天。

4.3 异丙醇-正己烷混合溶液:异丙醇+正己烷=6+4。

4.4 溶剂 A:量取约 500 mL 异丙醇-正己烷混合溶液(4.3)、2 mL 3-氨基-1-丙醇、8 mL 冰乙酸和 50 mL 水于 1 000 mL 容量瓶中,再用异丙醇-正己烷混合溶液(4.3)定容至刻度。室温保存,有效期 7 天。

5 仪器设备

5.1 分光光度计:带 1 cm 比色皿,可在 440 nm 处测定吸光度。

5.2 分析天平:感量 0.000 1 g 和 0.0 1 g。

5.3 振荡器:可放置 250 mL 三角瓶,往复式,不低于 120 次/min。

5.4 水浴锅。

5.5 具塞三角瓶:100 mL、250 mL。

5.6 棕色容量瓶:25 mL、50 mL。

6 样品

6.1 棉籽

称取样品约 200 g, 粉碎, 过 6.0 mm 分析筛, 将筛上物(棉绒)和筛下物分别称重; 将筛下物进一步研磨, 全部过 1.0 mm 分析筛。将筛上棉绒和粉碎后的棉籽仁壳试样分别装入密闭容器中, 备用。

6.2 其他产品

按照 GB/T 20195 规定制备试样, 至少 200 g, 粉碎使其全部过 1.0 mm 孔径分析筛, 混合均匀, 装入密闭容器中, 备用。

7 试验步骤

7.1 试样溶液提取

7.1.1 试样称量

平行做两份试验。不同试验的称样量如下:

- 棉籽: 分别称取棉绒和棉籽仁壳各 1 g, 精确至 0.000 1 g;
- 棉籽饼粕: 称取 1 g, 精确至 0.000 1 g;
- 其他试样: 称取 5 g, 精确至 0.01 g。

7.1.2 游离棉酚的提取

试样置于 250 mL 具塞三角瓶中, 加入玻璃珠 20 粒, 准确加入 50 mL 溶剂 A, 于室温下 120 次/min 振荡提取 1 h。用滤纸过滤, 过滤时在漏斗上加盖玻璃表面皿。弃去初滤液 5 mL, 其余滤液全部收集至 100 mL 具塞三角瓶, 备用。棉籽试样应将棉绒和棉籽壳仁分别置于不同的三角瓶中, 其余操作同上。

7.2 试样溶液制备

7.2.1 用移液管准确移取双等份滤液(7.1.2)5 mL~10 mL(每份滤液约含 50 μ g~100 μ g 游离棉酚), 分别置于两个 25 mL 棕色容量瓶 a 和 b 中, 若不足 10 mL, 用溶剂 A 补充至 10 mL。

7.2.2 用异丙醇-正己烷混合溶液(4.3)稀释 a 至刻度, 摇匀, 该溶液用作试样测定溶液的参比溶液。

7.2.3 用移液管移取两份 10 mL 的溶剂 A 分别至两个 25 mL 棕色容量瓶 a_0 和 b_0 中。

7.2.4 用异丙醇-正己烷混合溶液(4.3)稀释 a_0 至刻度, 摇匀, 该溶液用作空白测定溶液的参比溶液。

7.2.5 加 2.0 mL 苯胺(4.2)于 b 和 b_0 中, 于沸水浴上加热 30 min 后取出, 冷却至室温, 用异丙醇-正己烷混合溶液(4.3)定容, 摇匀, 室温静置 1 h。

7.3 测定

用 1 cm 比色皿, 于波长 440 nm 处, 用分光光度计以 a_0 为参比溶液测定空白溶液 b_0 的吸光度值 A_1 , 以 a 为参比溶液测定试样溶液 b 的吸光度值 A_2 。

8 试验数据处理

8.1 校正吸光度值 A

试样溶液的校正吸光度值 A 按照公式(1)计算:

$$A = A_2 - A_1 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

A_2 ——试样溶液的吸光度值;

A_1 ——空白溶液的吸光度值。

8.2 游离棉酚含量

样品中游离棉酚的含量以质量分数 w 计,单位以毫克每千克(mg/kg)表示,按公式(2)计算:

$$w = \frac{A \times 1\,250 \times 1\,000}{a \times m \times V \times l} \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

A ——试样溶液校正吸光度值;

1 250——样品稀释倍数;

a ——质量吸收系数,游离棉酚为 $62.5 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{L}$;

m ——试样质量,单位为克(g);

V ——测定用滤液的体积,单位为毫升(mL);

l ——比色皿光径长度,单位为厘米(cm)。

棉籽样品中游离棉酚的含量由棉绒和棉籽仁壳的含量加权获得,按公式(3)计算:

$$w_{\text{棉籽}} = \frac{w_{\text{棉绒}} \times m_{\text{棉绒}}}{m_{\text{棉绒}} + m_{\text{棉籽仁壳}}} + \frac{w_{\text{棉籽仁壳}} \times m_{\text{棉籽仁壳}}}{m_{\text{棉绒}} + m_{\text{棉籽仁壳}}} \quad \dots\dots\dots (3)$$

$w_{\text{棉绒}}$ ——棉绒试样中游离棉酚的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

$m_{\text{棉绒}}$ ——制备棉籽试样中棉绒的质量,单位为克(g);

$w_{\text{棉籽仁壳}}$ ——棉籽仁壳试样中游离棉酚的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

$m_{\text{棉籽仁壳}}$ ——制备棉籽试样中棉籽仁壳的质量,单位为克(g)。

测定结果以平行测定的算术平均值表示,保留 3 位有效数字。

9 精密度

在重复性条件下,两次独立测定结果之间的绝对差值,在游离棉酚含量小于 500 mg/kg 时,不得超过其算术平均值的 15 %;在游离棉酚含量不小于 500 mg/kg 且不大于 750 mg/kg 时,不得超过 75 mg/kg;

在游离棉酚含量大于 750 mg/kg 时,不得超过其算术平均值的 10 %。

附 录 A
(资料性附录)

本标准与 ISO 6866:1985 相比的结构变化情况

本标准与 ISO 6866:1985 相比在结构上有调整,具体章条编号对照情况见表 A.1。

表 A.1 本标准与 ISO 6866:1985 的章条编号对照情况

本标准章条编号	ISO 6866:1985 章条编号
1	1 和 2
2	3
3	4
4	5
5	6
—	7
6	8.1
7	8.2,8.3.1
—	8.3.2
7.1	8.4
8.1	8.3.1.9
8.2	9.1
9	9.2
—	10
附录 A	—

—————