

饲料分析实验指导

Fran Vohra 教授

(美国加州大学家禽系)

赵文祺 译

华南农学院牧医系

一九八二年四月

饲料分析实验指导

(續)

Fran Vohra 教授

(美国加州大学家禽系)

赵文祺 译

华南农学院牧医系

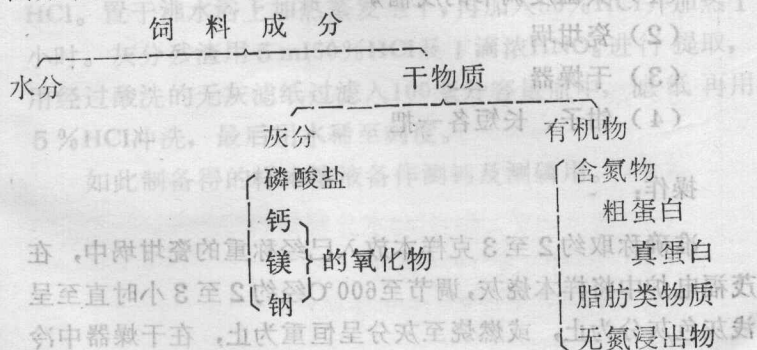
一九八二年四月

1. 前言

饲料的品质是基于组成饲料中各种饲料的品质。仅在各种饲料来源丰富的条件下才能有条件选用饲料的品质。如果饲料来源不足，强求质量将是不实际的。所选用作饲料配合的饲料应是有储量的，当饲料被自然产生的或偶然事故的毒物污染时就不能用作饲养家畜，否则会使家畜中毒死亡。任何地区增加家畜生产的潜力，在于保证有丰富的饲料供应。

本书收编的操作程序可以在任何化学实验室中实施供研究生学习用。内容有意识地避免使用贵重的仪器如原子吸收光谱仪、氨基酸分析仪、高压液体层析仪、气体层析仪等。对于设置有上述仪器的单位，可以从《美国公职分析化学家协会方法》(Association of official Analytical Chemists) 13th Ed. (1980) 一书中查到有关方法，其中经认可的方法是经常更新的。

由近似成分的分析 (Approximate Analysis) 开始，略图如下：



2. 采样及制样

(1) 采样方法

饲料并不是很均一的，而采取具有代表性的样本是十分重要的。从储备的饲料堆中采样时，不管从顶部或底部采样都不能代表整个饲料堆。可以设计一种特制的采样插管，直向插到饲料堆的底部以从事采样。

再将采集得的样本集中混匀，用多级四分之一法采样至适量。

(2) 样本的制备

将样本粉碎至能通过1毫米经孔的筛子（或20号筛）。粉碎并过筛后的样本充分混匀，储于密封瓶中，加上标记，备作分析用。

2a 粗灰分的测定

仪器：(Approximate Analysis) 饲料成分分析近由

(1) 具温度调节的茂福炉

(2) 瓷坩埚

(3) 干燥器

(4) 钳子、长短各一把

操作：

准确称取约2至3克样本放入已经称重的瓷坩埚中，在茂福电炉中将样本烧灰，调节至600℃经约2至3小时直至呈浅灰色灰分为止，或燃烧至灰分呈恒重为止，在干燥器中冷

却至室温，测定残渣重并计算%如下：

$$\text{粗灰分\%} = (\text{粗灰分重} \times 100) / \text{样本重}$$

2b 从粗灰分中浸提出矿物质

仪器：

- (1) 蒸发皿
- (2) 容量瓶
- (3) 漏斗
- (4) 无灰滤纸

试剂：

- (1) HNO_3 (浓)
- (2) HCl (50%, w/v) : 等容量的浓 HCl 及水配成。

操作：

已称量的灰分置于蒸发皿中用水润湿并加入10毫升50% HCl 。置于沸水浴上加热蒸发至干，再加入50% HCl 并加热1小时。灰分残渣用5 ml 50% HCl 及1滴浓 HNO_3 进行提取，用经过酸洗的无灰滤纸过滤入100毫升容量瓶中，滤纸再用5% HCl 冲洗，最后用水稀至刻度。

如此制备得的样本溶液各作测钙及测磷用。

3. 干燥法测水分

仪器:

- (1) 铝制的具有盖的测水瓶(约7.5厘米径及2.5厘米高)
- (2) 恒温干燥箱或真空干燥箱, 恒温干燥箱能加热至 $135^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 者
- (3) 干燥器

操作:

准确称取约2克经粉碎的样本置于已经过干燥并称重的铝制测水瓶中, 将样本均匀地分布, 放进干燥箱中, 将盖打开。用 135°C 干燥2小时, 然后加盖并移至干燥器中冷却至室温, 称重。所损失的重量作为水分计算。

残渣不能作测乙醚浸出物用。

真空干燥法:

当样本残渣用作测乙醚浸出物时, 样本放在真空干燥箱中用 60°C 以下温度干燥。

3a 蒸馏法测水分

仪器:

- (1) Bidwell—Sterling水分凝集管
- (2) 园底烧瓶 (250毫升)
- (3) Liebig冷凝管 (500毫米)
- (4) 玻璃珠

(1) 至 (3) 可用整套的水分蒸馏测定仪代。

试剂:

甲苯

操作:

如果样本会引起突发性沸腾, 则应在底部放入一层粗砂或玻璃珠。称取的样本量应含有 2 至 5 毫升水分, 并连接仪器。从冷凝管的顶部将甲苯倒入至充满水分凝集管及盖过样本面稍许 (约 75 毫升)。缓慢地加热蒸馏使每秒钟下滴的凝集液为 2 滴为适温。直至大部分水分馏出后, 加大热量使每秒中下滴速度为 4 滴。蒸馏完成后, 断绝电源, 至馏出液停止下滴后, 从冷凝管顶部用甲苯冲洗冷凝管, 再蒸馏数分钟。总的蒸馏时间约 1 小时。冷却至室温, 读取凝集管中水分的毫升数并计算样本含水%。

本法特别适用于含有测水温度时水分以外的挥发性物质的样本。本法是采用与水分不能混合的甲苯作溶剂。

③用 75 毫升溴甲酚绿溶液及 25 毫升甲基红溶液混合, 再用乙醇稀释至 200 毫升后备用。

(7) 海盐快速法

操作:

准确地称取约 1.5 克样本放在滤纸上, 将纸折成小包,

4. 乙醚浸出物的测定

仪器:

(1) Soxhlet仪器

(2) 滤纸杯 (Thimble)

试剂:

(1) 乙醚

或石油醚 (沸点40至60℃者)

操作:

准确称取约2克在60℃真空中干燥的样本, 放入已称量的滤纸杯中, 塞以玻璃羊毛, 放进索氏仪的抽提管中。用乙醚提取16小时。滴尽乙醚后, 将滤纸杯放进抽气橱中除去残余的乙醚, 然后将滤纸杯在98~100℃中干燥20分钟, 在干燥器中冷却至室温并称重。样本所损失的重量就是粗脂肪重。

在没有滤纸杯的情况下, 也可以将称量过的样本, 放入已编号、干燥及称量的滤纸袋中, 小心折好, 放进索氏仪的抽提管中抽提, 必要时还可用已称量的棉线扎牢。

5. 凯氏法测粗蛋白

仪器:

(1) 凯氏消化及蒸馏仪器, 其中的凯氏烧瓶为800毫升

(2) 滴定仪器: 滴管、吸管、容量瓶、锥形瓶。

试剂:

(1) H_2SO_4 (C、P, 不含 NH_3 者, 比重1.84)

(2) NaOH (45% w/v) 450克 NaOH 溶于1升水中。

(3) 硼酸溶液 (4%)

(4) 催化剂: 10克硫酸钾及0.5克硫酸铜混合并研磨至通过40号筛。

(5) 标准 HCl (0.1N HCl): (浓盐酸的浓度约11N) 取约9.2毫升浓盐酸加至水中并稀成1升, 用加热过的无水碳酸钠配成标准溶液进行标化。

(6) 指示剂:

① 溴甲酚绿 (Brom Cresol green) 0.1克溶于含有2毫升0.1N NaOH 的水中, 稀成100毫升。

② 甲基红. 0.1克甲基红, 在加入2 ml 0.1N NaOH 后, 用95%的乙醇溶解并稀成100毫升

③ 用75毫升溴甲酚绿溶液及25毫升甲基红溶液混合, 再用乙醇稀成200毫升后备用。

(7) 海棉状锌粒

操作:

准确地称取约1.5克样本放在滤纸上, 将纸折成小包,

投送入800毫升凯氏烧瓶的底部，放入玻璃珠，加约15克催化剂，加入30毫升浓硫酸，将凯氏烧瓶安装在消化设置中。取另一烧瓶，投入相似滤纸及试剂但不加样本，作空白对照试验。开始消化时用较低的热量以防形成泡沫，然后逐渐加大热力消化至透明的绿色或草色，再消化30分钟而完成。消化所需时间共约3至3.5小时。

让内容物冷却后，内容物用250至300毫升蒸馏水稀释，再将内容物冷却，沿瓶颈边十分小心地加入50毫升浓NaOH溶液，小心不让二种溶液混合，加入一小块海绵状锌。安装蒸馏设备，取1个500毫升锥形瓶，放入50毫升硼酸溶液及10滴指示剂，然后接在冷凝管出口处，并使管口浸在接受溶液中，然后开始加热，然后将蒸馏瓶内溶液混合，蒸馏瓶与冷凝管之间是用胶管连接，继续蒸馏至收集得100—150毫升蒸馏液时，凯氏瓶会开始突发性沸腾，将接受瓶下降至接受液离开冷凝管出口处。然后停止加热，否则接受液会倒流入蒸馏瓶。

被吸收在硼酸液中的氨，用0.1N的HCl滴定，含氮量用下列算式计算：

$$N\% = \frac{\text{盐酸毫升数} \times \text{盐酸当量浓度} \times 14/1000 \times 100}{\text{样本克数}}$$

“登舟而望”取“登舟而望”之意，排架些某

试剂：自來中頭白蛋的鹽水（鹽酸鉀二—8，8）

(2) 硫代硫酸钠 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 的粉状物, 用20号筛过

師者。

操作:

$$\text{煤质热} \% = (V \times C_1 - V \times C_2) / KW$$

7. 染料结合法测蛋白质与蛋白质品质

原理:

某些染料,如“橙—G”(1—苯偶氮基—2—萘酚—6,8—二磺酸钠盐)能与完整的蛋白质中的自由氨基、咪唑基及胍基结合,结果是每一种蛋白质具有一定的与染料结合的能力(DBC, Dye Binding Capacity)。DBC与凯氏法氮之间具有相关关系,结合采用某种回归方程式,有可能近似地推算饲料含蛋白质量。

本法不能用于加工过的蛋白质,但可利用DBC的变化而了解热处理对于赖氨酸残基的损害程度。

仪器:

- (1) 天平,能准确称取1 mg以下者
- (2) 振荡机
- (3) 分光光度计
- (4) 离心机与离心管

试剂:

(1) 酸性橙—12染料 (Acid orange—12) 重结晶法:
将400毫升酒精加于由100克染料及400毫升水溶成的热的染料溶液中。

二次重结晶的

(2) 指示溶液: 将1.300克染料溶于约100毫升温的0.05M磷酸缓冲液中,冷却后,用缓冲液稀至1升。

(3) 参考溶液: 称取0.600克染料溶于含有1毫升丙

酸的适量水中，然后用水稀成 1 升。

(4) 磷酸盐缓冲溶液 (0.05M)：①向 500 毫升热水中加入 1.7 毫升 85% 磷酸，60 毫升乙酸，及 1 毫升丙酸，然后加入 3.4 克 KH_2PO_4 ，搅溶。②溶 2 克草酸于少量水中。③将上述二种溶液混合，冷却，稀成 1 升。

操作：

(1) 绘制标准曲线：

调节比色计至零。将参考的染料溶液注入比色杯内，将标度 (Scale) 转至 42.0%，测定每升含染料 0.35, 0.45, 0.75 及 0.85 克的染料溶液的读数。将读数的对数值与染料溶液的浓度关系在坐标纸上绘成直线。

(2) 样本的测定：

准确称取约 2 克样本，加入 40 毫升染料溶液，加盖，在摇荡机上摇荡 30 分钟，用离心机分离，测溶液的读数，需要时可过滤及稀释。

计算：

$$\text{蛋白质}\% = [V \times C_1 - V \times C] / KW$$

式中：

V = 所加储备染料溶液的毫升数；

C_1 = 储备染料溶液的浓度 (克/升)；

C = 在平衡时，未结合的染料的浓度；

K = 每 1 克蛋白质能结合的染料量 (单位为克) 的数量；

W = 样本重的克数。

某些饲料的回归方程式如下:

饲料	样本重 (毫克)	反应时间 (分钟)	回 归 方 程 式 $P = \frac{C - 1.000}{0.0333}$ 蛋白质量(克)
大 麦	500	3	$= (1.000 - C) / .0333$
豆 类 (beans)	320	3	$= (1.110 - C) / .0200$
玉 米	1000	3	$= (1.100 - C) / .0545$
棉 籽	140	5	$= (1.300 - C) / .0143$
黑 麦	120	5	$= (1.300 - C) / .0111$
燕 麦	720	3	$= (1.150 - C) / .0588$
花 生	160	3	$= (1.300 - C) / .0153$
大 米	800	3	$= (1.220 - C) / .0656$
鱼 麦	720	3	$= (1.020 - C) / .0300$
向日葵籽	240	3	$= (1.190 - C) / .0185$
高 梁	1000	5	$= (1.300 - C) / .0375$
大豆类	160	3	$= (1.300 - C) / .0151$
小 麦	800	3	$= (1.000 - C) / .0333$

试剂: 中九

(1) 酸性蛋白: 将400毫升酒精加于100毫升饲料的提取液并煮沸10分钟, 将料溶液中。

将提取液混合液加入1升温的0.05M磷酸缓冲液中, 冷却后, 用缓冲液稀释至1升。

(3) 参考溶液: 称取0.600克蛋白溶于1毫升丙

8. 钙的测定

仪器:

(1)、烧杯、600毫升

(2)、滴定管

试剂:

(1)、硫酸 (比重1.84)

(2)、浓氨水

(3)、盐酸: 100毫升浓盐酸加到300毫升水中。

(4)、饱和草酸铵溶液 (4.2%)

(5)、标准的高锰酸钾溶液 (0.1N): 3.2克 KMnO_4 溶成1升水溶液。

标化: 准确地称取约0.3克经 105°C 干燥1小时置于干燥器冷却的草酸钠, 放入600毫升的烧杯中。加入由12.5毫升浓硫酸溶于237.5毫升水中配成的溶液, 搅拌至草酸盐完全溶解。加入39—40毫升被标化的 KMnO_4 溶液, 加热至 $55\sim 60^\circ\text{C}$ 并用被标化的 KMnO_4 溶液滴定至微红色经30秒钟不褪色而到达终点。最后1毫升应逐滴加入。

另取12.5毫升浓硫酸加于237.5毫升水中溶成溶液, 加热至 $55\sim 60^\circ\text{C}$ 进行空白对照滴定。

$$\text{KMnO}_4 \text{ 的 } N = \frac{\text{草酸钠克数}}{66.999} \times \frac{1000}{\text{KMnO}_4 \text{ 溶液的毫升数}}$$

操作:

将来自2~3克饲料的灰分提取液稀成100毫升 (如是矿

物性饲料则稀成250毫升)。吸取25~50毫升移至烧杯中并稀至约100毫升,加入2滴甲基红指示剂,用 NH_4OH 与等量水配成的溶液调节至 $\text{PH}5.6$ (棕橙色),调整至约150毫升并加热至沸,搅入10毫升热的饱和草酸铵溶液。用稀 HCl 调节 PH 刚呈浅红色,放置数小时,让沉淀下沉,用Whatman42号滤纸过滤,沉淀用稀氨水(10毫升浓 NH_4OH 加500毫升水)洗涤,将沉淀及滤纸移回原来的烧杯中,加入稀硫酸(5毫升浓硫酸加至125毫升水中)。将溶液加热至 70°C 用 0.1N 的 KMnO_4 溶液滴定至微红色30秒钟不褪。(约需20毫升 KMnO_4 溶液时可获精确的结果)。

计算:

$$1 \text{ 毫升 } 0.1\text{NKMnO}_4 = 0.002 \text{ 克Ca}$$

$$\text{草酸铵的毫克数} \times \frac{0.002}{\text{KMnO}_4 \text{ 毫升数}} = \text{Ca 的毫克数}$$

9. 磷的测定

仪器:

(1) 分光光度计

试剂:

(1) 钼酸铵—钒酸铵的硝酸溶液:

溶22.0克钼酸铵四水化物于400毫升水中,溶1.25克钒酸铵于300毫升沸水中,将钒酸铵溶液加至钼酸铵溶液中,冷却至室温。加入250毫升浓硝酸并稀至1升。

(2) 磷的标准液:

溶0.2195克 KH_2PO_4 于水中并稀成1升此溶液每升含50毫克磷(每毫升含磷0.05毫克)

绘制标准曲线:

吸取含磷为0.1至1.0毫克(即2至20毫升)的标准液,分别置于十个50毫升容量瓶中,各加入10毫升钼酸—钒酸试剂。混匀、稀至刻度呈黄色后30分钟,在470nm处测光密度读数。

纵座标为光密度,横座标为含磷量,在座标纸上定点,并将各点连成直线。

呈色可以稳定至数周。烧杯内将溶液蒸发,加入1毫升水及10毫升乙酸铵缓冲液,放置过夜。用多孔底的瓷坩埚操作:

准确称取2—3克样本进行灰化,将灰分溶于稀HCl中并稀成100毫升。