



中华人民共和国国家标准

GB/T 6432—2018
代替 GB/T 6432—1994

饲料中粗蛋白的测定 凯氏定氮法

Determination of crude protein in feeds—Kjeldahl method

2018-09-17 发布

2019-04-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
中国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 6432—1994《饲料中粗蛋白测定方法》。

本标准与 GB/T 6432—1994 相比,除编辑性修改外,主要技术内容变化如下:

- 修改了标准名称(见封面);
- 修改了适用范围(见第 1 章);
- 增加了对计算结果有效数字的规定(见第 8 章)。

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:中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所[国家饲料质量监督检验中心(北京)]。

本标准主要起草人:肖志明、樊霞、马东霞、李丽蓓、王石、贾铮、刘晓露、王志刚、刘军。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

- GB 6432—1986、GB/T 6432—1994。

饲料中粗蛋白的测定 凯氏定氮法

1 范围

本标准规定了测定饲料中粗蛋白质的凯氏定氮法。

本标准适用于饲料原料、配合饲料、浓缩饲料、精料补充料和添加剂预混合饲料中粗蛋白质的测定。

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 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备

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

试样在催化剂作用下,经硫酸消解,含氮化合物转化成硫酸铵,加碱蒸馏使氨逸出,用硼酸吸收后,再用盐酸标准滴定溶液滴定,测出氮含量,乘以 6.25,计算出粗蛋白质含量。

4 试剂或材料

除非另有说明,仅使用分析纯试剂。

4.1 水:GB/T 6682,三级。

4.2 硼酸:化学纯。

4.3 氢氧化钠:化学纯。

4.4 硫酸:化学纯。

4.5 硫酸铵。

4.6 蔗糖。

4.7 混合催化剂:称取 0.4 g 五水硫酸铜、6.0 g 硫酸钾或硫酸钠,研磨混匀;或购买商品化的凯氏定氮催化剂片。

4.8 硼酸吸收液 I:称取 20 g 硼酸,用水溶解并稀释至 1 000 mL。

4.9 硼酸吸收液 II:1%硼酸水溶液 1 000 mL,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,混匀,室温保存期为 1 个月(全自动程序用)。

4.10 氢氧化钠溶液:称取 40 g 氢氧化钠,用水溶解,待冷却至室温后,用水稀释至 100 mL。

4.11 盐酸标准滴定溶液: $c(\text{HCl}) = 0.1 \text{ mol/L}$ 或 0.02 mol/L ,按 GB/T 601 配制和标定。

4.12 甲基红乙醇溶液:称取 0.1 g 甲基红,用乙醇溶解并稀释至 100 mL。

4.13 溴甲酚绿乙醇溶液:称取 0.5 g 溴甲酚绿,用乙醇溶解并稀释至 100 mL。

4.14 混合指示剂溶液:将甲基红乙醇溶液和溴甲酚绿乙醇溶液等体积混合。该溶液室温避光保存,有

效期 3 个月。

5 仪器设备

5.1 分析天平:感量 0.000 1 g。

5.2 消煮炉或电炉。

5.3 凯氏烧瓶:250 mL。

5.4 消煮管:250 mL。

5.5 凯氏蒸馏装置:常量直接蒸馏式或半微量水蒸气蒸馏式。

5.6 定氮仪:以凯氏原理制造的各种类型半自动、全自动定氮仪。

6 样品

按照 GB/T 14699.1 抽取有代表性的饲料样品,用四分法缩减取样。按照 GB/T 20195 制备试样,粉碎,全部通过 0.42 mm 试验筛,混匀,装入密闭容器中备用。

7 试验步骤

7.1 半微量法(仲裁法)

7.1.1 试样消煮

7.1.1.1 凯氏烧瓶消煮

平行做两份试验。称取试样 0.5 g~2 g(含氮量 5 mg~80 mg,准确至 0.000 1 g),置于凯氏烧瓶中,加入 6.4 g 混合催化剂,混匀,加入 12 mL 硫酸和 2 粒玻璃珠,将凯氏烧瓶置于电炉上,开始于约 200 °C 加热,待试样焦化、泡沫消失后,再提高温度至约 400 °C,直至呈透明的蓝绿色,然后继续加热至少 2 h。取出,冷却至室温。

7.1.1.2 消煮管消煮

平行做两份试验。称取试样 0.5 g~2 g(含氮量 5 mg~80 mg,准确至 0.000 1 g),放入消煮管中,加入 2 片凯氏定氮催化剂片或 6.4 g 混合催化剂,12 mL 硫酸,于 420 °C 消煮炉上消化 1 h。取出,冷却至室温。

7.1.2 氨的蒸馏

待试样消煮液冷却,加入 20 mL 水,转入 100 mL 容量瓶中,冷却后用水稀释至刻度,摇匀,作为试样分解液。将半微量蒸馏装置的冷凝管末端浸入装有 20 mL 硼酸吸收液 I (4.8)和 2 滴混合指示剂(4.14)的锥形瓶中。蒸汽发生器的水中应加入甲基红指示剂(4.12)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 mL~20 mL 注入蒸馏装置的反应室中,用少量水冲洗进样入口,塞好入口玻璃塞,再加 10 mL 氢氧化钠溶液(4.10),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 降下锥形瓶使冷凝管末端离开吸收液面,再蒸馏 1 min,至流出液 pH 值为中性。用水冲洗冷凝管末端,洗液均需流入锥形瓶内,然后停止蒸馏。

7.1.3 滴定

将 7.1.2 蒸馏后的吸收液立即用 0.1 mol/L 或 0.02 mol/L 盐酸标准滴定溶液(4.11)滴定,溶液由蓝绿色变成灰红色为滴定终点。

7.2 全量法

7.2.1 试样消煮

按 7.1.1 步骤进行。

7.2.2 氨的蒸馏

7.2.2.1 待试样消煮液冷却,加入 60 mL~100 mL 蒸馏水,摇匀,冷却。将蒸馏装置的冷凝管末端浸入装有 25 mL 硼酸吸收液 I (4.8)和 2 滴混合指示剂(4.14)的锥形瓶中。然后小心地向凯氏烧瓶中加入 50 mL 氢氧化钠溶液(4.10),摇匀后加热蒸馏,直至馏出液体积约为 100 mL。降下锥形瓶,使冷凝管末端离开液面,继续蒸馏 1 min~2 min,至流出液 pH 值为中性。用水冲洗冷凝管末端,洗液均需流入锥形瓶内,然后停止蒸馏。

7.2.2.2 采用半自动凯氏定氮仪时,将带消煮液的消煮管插在蒸馏装置上,以 25 mL 硼酸吸收液 I (4.8)为吸收液,加入 2 滴混合指示剂(4.14),蒸馏装置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(4.10)进行蒸馏,至流出液 pH 值为中性。蒸馏时间以吸收液体积达到约 100 mL 时为宜。降下锥形瓶,用水冲洗冷凝管末端,洗液均需流入锥形瓶内。

7.2.2.3 采用全自动凯氏定氮仪时,按仪器操作说明书进行测定。

7.2.3 滴定

用 0.1 mol/L 盐酸标准滴定溶液(4.11)滴定吸收液,溶液由蓝绿色变成灰红色为终点。

7.3 蒸馏步骤查验

精确称取 0.2 g 硫酸铵(精确至 0.000 1 g),代替试样,按 7.1 或 7.2 步骤进行操作,测得硫酸铵含氮量应为(21.19±0.2)%,否则应检查加碱、蒸馏和滴定各步骤是否正确。

7.4 空白测定

精确称取 0.5 g 蔗糖(精确至 0.000 1 g),代替试样,按 7.1 或 7.2 进行空白测定,消耗 0.1 mol/L 盐酸标准滴定溶液的体积不得超过 0.2 mL,消耗 0.02 mol/L 盐酸标准滴定溶液体积不得超过 0.3 mL。

8 试验数据处理

试样中粗蛋白质含量以质量分数 w 计,数值以质量分数(%)表示,按公式(1)计算:

$$w = \frac{(V_2 - V_1) \times c \times \frac{14}{1\,000} \times 6.25}{m \times \frac{V'}{V}} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

V_2 —— 滴定试样所消耗盐酸标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_1 —— 滴定空白所消耗盐酸标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

c —— 盐酸标准滴定溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

- m ——试样质量,单位为克(g);
 V ——试样消煮液总体积,单位为毫升(mL);
 V' ——蒸馏用消煮液体积,单位为毫升(mL);
14 ——氮的摩尔质量,单位为克每摩尔(g/mol);
6.25——氮换算成粗蛋白的平均系数。

每个试样取两个平行样进行测定,以其算术平均值为测定结果,计算结果表示至小数点后两位。

9 精密度

在重复性条件下,两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值与该平均值的比值应符合以下要求:

- 粗蛋白质含量大于 25%时,不超过 1%;
粗蛋白质含量在 10%~ 25%时,不超过 2%;
粗蛋白质含量小于 10%时,不超过 3%。
-