

# 实验一 样本的采集与制备方法

饲料分析结果的准确性取决于样本的代表性，因此饲料样本的采集与制备方法是饲料分析和检测的重要环节。

## 一 采集样本的目的与要求

由一种物品中采集供分析用的样本称之为采样或取样。采样是饲料分析的第一步。采样的根本目的是通过对样品的理化指标的分析，客观地反映受检饲料原料或产品的品质。因此，所采取的样本必须具有代表性，即能够代表全部被分析的原料物品。否则即使以后的分析方法和处理无论多么严谨、精确，所得出的分析结果都毫无科学性、公证性和实用价值。对饲料加工业而言，采样正确与否将影响其多方面的决策，例如：配方设计时对原料的选择；原料供应商的决策；对一批原料的取舍与对加工程度的确定；对产品的鉴定-产品是否符合其规格要求与保证值；对全部保证项目，在规定的期限内是否稳定以及加工条件是否控制与官方检验的必要性等。显然，饲料生产和质量控制人员的许多决策问题需要以采集样本的指标为依据。因此，正确的采样应该是从有不同代表性的区域取几个样点，然后把这些样本充分混合，使之成为整个饲料的代表样本，然后再从中分出一小部分作为分析样本之用。其最后分析的结果就作为整个被采取样本饲料的平均值。

要使采样合乎规范化，则必需加强管理。管理人员必须熟悉各种原料、加工工艺、产品；必须严格规定各种采样方法的步骤以及采用特定的仪器设备。管理人还须指导采样人员掌握正确的采样方法及了解采样原料的基本特点。

对采样系统的要求包括二方面：其一是对采样人员和教育与培训；其二是对采样工具(包括手动和自动)的正确设计与安装。

采样人员应通过专门培训，且具有高度责任心和熟练的采样技能方能上岗。在采样过程中，要认真按操作规程进行，并做到随机，客观，避免人为和主观因素的影响，及时发现和报告一切异常的情况。

采样工具的制造原料要求耐磨损而且是不易损坏的材料(如不锈钢)。

## 二、样本采集的方法与原则

### (一) 常用样本类别与定义

(1) 标准样本：是指由权威实验室仔细分析化验后的样本。如再由其它实验室进行分析化验，可用标准样本来校正或确定某一测定方法或某种仪器的准确性。

(2) 商业样本：是指由卖方发货时，一同送往买方的样本。

(3) 参考样本：指具有特定性质的样本，在购买原料时可作为参考比较，或用于鉴定成品与之有无颜色、结构及其它表现特征上的区别。

(4) 备用样本：指在发货后留下的样品，供急需时备用。

(5) 仲裁样本：指由公正的采样员所采取的样本。然后送仲裁实验室分析化验，以有

助于买卖双方商业贸易工作中达成协议。

(6) 化验样本：指送往化验室或检验站分析的样本。

## (二) 样本采集的方法和原则

采样的一般方法，可先采取原始样本，再从原始样本中采取分析样本。由生产现场如田间、牧地、仓库、青贮窖和试验场等大量分析对象中采集的样本叫原始样本。原始样本应尽量从大批量饲料或大面积牧地上，按照不同的部位和不同深度和广度来采取，以保证每一小部分与其全部的成分完全相同，使其具有代表性。然后，再从原始样本中采取分析样本。为了使样本的取舍均匀一致，对于均匀性的物品，即单相的液体或是搅拌均匀的籽实、磨成粉末的各种糠麸等饲料以及研碎的物品，可用“四分法”来缩减原始样本。方法是：将籽实、粉末及可研碎的物品置于一张方形纸或塑料布上（大小视样本的多少而定），提起纸的一角，使籽实或粉末等流向对角，随即提起对角使籽实或粉末等流回，如此将四角轮流反复提起，使粉末反复移动混合均匀，然后将籽实、粉末等铺平成方形，用药铲、刀子或其它适当器具，从中划一“十”字或以对角线相连接，将样本分成4等份，除去对角的两份，将剩余的两份，如前述混合均匀后中，再分成4个等份，重复上述过程，直至剩余样本与分析样本所需用量相接近时为止。

对于大量的籽实、粉末和等均匀性饲料的分析样本采样，也可在洁净的地板上堆成锥形，然后将堆移至另一处，移动时将每一铲饲料倒于前一铲饲料之上，这样使籽实、粉末由锥顶向下流动到周围，如此反复移动三次以上，即可混合均匀。最后，将饲料堆成圆锥形，将顶部略压平成圆台状，再从上部中间分割为十字形4等份，弃去对角线的两等份，缩减二分之一，然后，如上法缩减至适当数量为止。一般饲料样本缩减取样至500g左右作为分析用样本，送实验室供化学分析之用。

对于不均匀的物料如各种粗饲料、块根、块茎饲料、家畜屠体等，则需要较复杂的采样技术。其复杂程度随物料体积的大小和不均匀程度而定，一般可采用“几何法”取样，具体方法如下：把整个一堆物料看成一种规则的几何体，如立方体、圆锥体、圆柱体等，取样时先将该立体分成若干体积相等的部分（或在想象中将其分开），这些部分必须是在原样中均匀分布的，而不只是在表面或只是在一面。从这些部分取出体积相等的样本，称之为支样，将这些支样混合后即称为“初级样本”。如此，重复取样多次，得到一系统逐渐减少的样本叫“初级”、“次级”、“三级”……等样本，然后由最后一级样品中制备分析用样本。

对配合饲料或混合饲料的取样，其采样方法相对而言比较容易。如在水平卧式或垂直式混合机（搅拌机）里的饲料采样，只要确定饲料已充分混合均匀了，就可以直接从混合机的出口处定期（或定时）地取样，而取样的间隔应该是随机的。

混合饲料中不同的成分的颗粒大小及吸湿性可能不一样，这将给混合饲料准确采样带来麻烦。因此，在某些情况下，可将混合饲料含有的成分单独进行分析。但必须注意在称重上

要准确无误并且是混合均匀的饲料。

采样的原则是所采集的样本必须具有代表性。为此，应遵循正确的采样方法，尽可能地采取被检测饲料的各个不同部分，并把它们磨碎至相当程度（粉碎粒度要求 40~60 目），以有利于增加其均匀性和便于溶样。

### 三、采样与制备方法

#### （一）粉料与颗粒料

对于磨成粉末的各种谷物和糠麸以及配合饲料或混合饲料，预混料等饲料的采样，由于贮存的方式不同，又分为散装、袋装、仓装三种。所选用的取样器探棒，又称探管或探枪，可以是有槽的单管或双管，具有锐利的尖端。

1. 散装 散装的原料应在机械运输过程的不同场所（如滑运道、输送带等处）取样。如果在机械运输过程中未能取样，可用探棒取样，但应该避免因饲料原料不匀而造成的错误取样。

（1）散装车箱原料及产品：使用抽样锥自每车至少 10 不同角落处采样。方法是使用短柄大锥的探棒，从距离边缘 0.5m 和中间五个不同的地方，不同的深度选取。将从汽车运输散状和颗粒产品中采取的原始样本置于样本容器容器后，并以“四分法”缩样。

（2）散装货柜车原料及产品：从专用汽车和火车车厢里采取散装和颗粒状产品的原始样本可使用抽样锥，自货柜车 5~8 个不同角落处抽取样品，也可以卸车时用长柄勺，自动选样器或机械选样器等，间隔相同时间，截断落下的料流采取，置于样本容器中混合后，再按“四分法”缩样至适量。

2. 袋装（包装） 关于袋装原料的取样，可以人袋装货运时应用探棒从几个袋中取样，以获得混合的样品。一般可按原料总袋数的 10% 采取原始样本。

（1）袋装车厢原料及产品：用抽样锥随意的自至少 10% 袋数的饲料中取样。方法是对编织袋包装的散状或颗粒状饲料的原始样本，用取样器从料袋的上下两个部位取样，或将料袋放平，从料袋的头到底斜对角插入取样器，插取样器前用软刷刷净选定的位置，插入时应使槽口向下，然后转 180°，再取出。取完样本后将袋口封好；而用聚乙烯衬的纸袋或编织袋包装的散装成品的原始样本，则用短柄锥形袋式，大号取样器从拆了线的料袋内上、中、下三个部位采样。对颗粒状产品的原始样本，是用勺子在拆了线的口袋取样。将采取的原始样本置于样本容器中混合后，按“四分法”缩样至适量。袋装饲料采样方案见表 2-1。

表 2-1 袋装饲料采样方案

饲料包装单位（袋）	取样包装单位（袋）
10 以下	每袋取样
10~100	随机化选取 10 袋

---

100 以上	从 10 个包装单位取样，每增加 100 个包装单位需补采 3 个单位
--------	-------------------------------------

---

(2) 袋装货柜车原料及产品：使用抽样锥随意的自至少 10% 袋数的饲料中取样，置于样本容器中混合后再缩样至适量。

3. 仓装 一种方法是在饲料进入包装车间或成品库的流水线或传送带上，贮塔下、料斗下、秤上或工艺设备上采取原始样本。其方法是用长柄勺，自动或机械式采样器，间隔时间相同，截断落下的饲料流。选择的时间应根据产品移动的速度来确定，同时考虑到每批采取的原始样本的总重量。对于饲料磷酸盐、动物饲料粉和鱼粉应不少于 2kg，而其它饲料产品则不低于 4kg。

另一种是贮藏在饲料库中的散装产品的原始样本的采取，料层在 1.5m 以下时用车厢和探棒取样，料层在 1.5m 以上时，使用有旋杆的探管取样。采样前先将表面划分成六个等分，在每一部分的四方形对角线的四角和交叉点五个不同地方采样。料层厚度在 0.75m 以下时，从两层中采取，即从距料层表面 10~15cm 深处的上层和靠近地面上的下层采取。当料层厚度在 0.75cm 时，应从三层中采取，即从距料层表面 10~15cm 深处的上层、中层和靠近地面的下层采取。在任何情况下，原是样本都是先上层，然后是中层，下层依次采取的。颗粒状产品的原始样本使用长柄勺或短柄大号锥形探管，在不少于 30cm 深处采取的。

贮藏在贮塔中的散状或颗粒状产品的原始样本的取样，是在其移入另一贮塔或仓库时采集的。

将所采取的原始样本（包括散装、袋装和仓装）混合搅拌均匀，用四分法采取 500g 样品，用粉碎机粉碎过 1mm 筛网，混合均匀后盛于两个样品瓶中，一份供鉴定或分析化验用，另一份供检查用（注意封闭，放置干燥洁净处保存一个月）。如为不易粉碎的样品，则应尽量磨碎。尤其要注意的是，如果所采取的样本为添加剂预混料，由于其粒度较小，故制备时应避免样品中小颗粒的丢失。

## （二）液体原料

1. 动物性油脂 在一批饲料中由 10% 的包装单位中采集平均样本，最少不低于三个包装单位。在每一包装单位（如桶）中的上、中、下三层分别取样，由一批饲料中采取的平均样本为 600g 左右。所使用的取样工具是空心探针（这种取样器是一个镀镍或不锈钢的金属管子），直径为 25mm，长度为 750mm，管壁具有长度为 715mm，宽度为 18mm 的空，孔的边缘应为圆滑的，管的下端应为圆锥形的，与内壁成 15° 角，管上端装有把柄。采样时先打开装有饲料油脂的容器，然后在距油脂层表面深约 50cm 处取样。油脂样本应放在清洁干燥的罐中，通过热水浴加热至油膏状充分搅拌均匀。

2. 糖蜜 糖蜜等浓稠饲料由于富有粘性或含有固形物，故其取样方法特殊。一般可在其卸料过程中采用抓取法采样，可定时用勺等器皿随机取样（约 500g）即可。例如，分析

用糖蜜平均样本可直接由工厂的铁路槽车或仓库采集。用特制的采样器通过槽车和仓库上面的舱口在上、中、下三层采集。所采集的样本体积为每吨糖蜜至少 1L。原始样本用木铲充分搅拌后即可作为平均样本。

### (二) 副食及酿造加工副产品

这类饲料包括酒糟、粉渣、豆渣等。其采样方法是：在木桶、贮藏池或贮藏堆中分上、中、下三层取样，按桶、池或堆的大小每层取 5~10 个点，每个采样点取 100g 放入瓷桶内充分混合随机取分析样本约 500g，用其中 200g 测定初水分，其余放入大瓷盘中，在 60~65℃ 恒温干燥箱中干燥。豆渣和粉渣等含水较多的样本，在采样过程中应注意勿使汁液损失及时测定干物质百分含量。为避免腐败变质，可滴加少量氯仿或甲苯等防腐剂。

### (三) 油饼类

大块的油饼类采样，一般可以从堆积油饼的不同部位选取不少于五大块，然后从每块中切取对角的小三角形（见图 2-3），将全部小三角形块锤碎混合后，再用“四分法”取分析样本约 200g 左右，经粉碎机粉碎后装入样本瓶中。小块的油饼，要选取具有代表性者数 10 片，粉碎后充分混合，用“四分法”取供分析的样本约 200g。

图 2-3 块饼类饲料采样示意图

（引自胡坚主编《动物饲养学实验指导》）

### (四) 块根、块茎和瓜类

此类饲料因其含水分多和不均匀性，采样时应由多个单独样本以消除每个样本间的差异。样本个数的多少，根据成熟均匀与否，以及所测定的营养成分而定，详见表 2-2。

表 2.2 块根、块茎和瓜类取样数量  
（引自张丽英主编《饲料分析及饲料质量检测技术》，）

种类	个数（个）
一般的块根、块茎饲料	10~20
马铃薯	50
胡萝卜	20
南瓜	10

采样方法：从田间或贮藏窖内随机分点采取原始的 15kg，按大、中、小分堆称重求出比例，按比例取 5kg，先用水洗干净，洗涤时注意勿损伤样本的外皮，洗涤后用布拭去表面的水分。然后，从各个块根的顶端至根部纵切具有代表性的对角 1/4、1/8 或 1/16 直至适量的分析样品，迅速切碎后混合均匀取 300g 左右测定初水分，其余样本平铺于洁净的瓷盘内或用线串连置于阴凉通风处风干 2~3 天，然后在 60~65 度的恒温干燥箱中烘干。

### (六) 新鲜青绿饲料及水生饲料

牧地青饲料可按牧地类型划分地区分点采样，每区选 5 个以上的采样点，每个采样点一平方米的范围，在此范围内离地面 3~4cm 处割取牧草，除去不可食草，将各点原始样品剪碎，

混合均匀后取分析样品 500~1000g。栽培的青绿饲料应视田地面积的大小按上述方法等距离分点，每点采 1 至数株，切碎混合后取分析样本（见图 2-4）。此法也适用于水生饲料，但应注意采样后要晾干样品外表游离水分，然后切碎取分析样品。

#### （七）青贮饲料

青贮饲料饲料的样品一般在圆形窖、青贮塔或长方形青贮壕内采取。取样前应除去覆盖的泥土，秸秆以及发霉变质的青贮料。然后按图 2-5 和 2-6 中所示的采样点分层取样，原始样品重 500~1000g。长方形青贮壕的采样点视青贮壕长度大小可分为若干段，每段设采样点分层取样。

（八）粗饲料 应用“几何法”在秸秆或干草的堆垛中选取五个以上不同部位的点采样，每个点采样约 200g 左右，作为原始样品。然后将采取的原始样品放在纸或塑料布上，剪成 1~2cm 长度，充分混合后取分析样品约 300g，粉碎过筛装瓶。应当注意的是，在采取原始样本和分析样本过程中，应尽量避免叶片的脱落损失，影响其营养成分的含量，制备样品时少量难以粉碎的秸秆渣屑应当捶碎弄细均匀混入全部分析样品中，决不能丢弃，保持样品的完整性或具有代表性。

## 实验二 饲料水分的测定

按照概略养分分析程序，饲料中营养物质首先可以分成水分和干物质。测定饲料的水分含量，就可以计算出干物质质量。饲料中的水分包括游离水和结合水，因此测定也可以分两步进行，先测定初水分（游离水），再测定吸附水（结合水），然后计算出饲料的总水分。饲料水分的测定方法可分为直接法和间接法两大类。直接法是利用饲料水分自身的理化性质来测定的，常用的有重量法（常压干燥法、减压干燥法、蒸馏法等）和化学法（如卡尔·费希尔法）。间接法是利用水分含量与其物理化学性质的相关性为基础的方法。此外，近红外吸收光谱法、中子活化法、气相色谱法以及核磁共振谱等近代仪器分析方法已引入饲料水分测定中。但这些方法需要价格昂贵的仪器，不易普及。在具体分析工作中，还应考虑饲料中是否有挥发性物质存在、是否需低温真空、某些化合物是否可起化学变化等，具体情形不同，采用的分析方法也不同，现行饲料水分测定仍以干燥法为标准分析方法。

测定饲料中水分，不仅间接获得了干物质含量；同时也为其它营养成分的分析制备分析样品，使不同饲料中各种营养成分的相互比较有一致的基础；对饲料在贮存、加工、运输过程中防止某些营养成分的转化、变性、霉烂等，都有指导意义。

### 一、水分的表示方法

饲料水分含量有两种表示方法。一种是以包括全部水分在内的原样（鲜样）基础表示，即：

$$\text{水分}(\%) = \frac{W_{\text{水}}}{W} \times 100 \quad (3-1)$$

式中，W 为饲料重量 (g)； $W_{\text{水}}$  为水分重量 (g)

另一种是以干物质为基础的，即：

$$\text{水分}(\%) = \frac{W_{\text{水}}}{W_{\text{干}}} \times 100 \quad (3-2)$$

式中， $W_{\text{水}}$ 为水分重量(g)； $W_{\text{干}}$ 为饲料中干物质重量(g)。

不仅水分，饲料中的其它各种成分的含量，也有上述两种表示方法。由于饲料在放置和分析过程中，其水分因蒸发而减少，而干物质则不会因水分的变化而受影响，故各种成分的含量常以干物质为基础来表示。

## 二、烘箱干燥法

烘箱干燥法是 AOAC 的方法，将样品放在  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  烘箱中烘至恒重，所失重量即代表水分含量。这种方法有一定误差，因为在水分蒸发的同时，一些短链脂肪酸和有机酸等易挥发性物质有挥发损失。

### (一) 原理

将风干(或半干)试样置于  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  烘箱中，在一个大气压下烘干，直至恒重，烘后所失去的重量即为吸附水。实际上在此温度下烘干所失去的不仅是吸附水，还含有一部分胶体水分，此外，也有少量挥发油挥发及少量碳水化合物分解。与此同时，试样中的脂肪也可能氧化而使重量增加。

本法适用于测定配合饲料及单一饲料中的吸附水含量。对用作饲料的奶制品、植物及动物的油脂等除外。

### (二) 仪器设备

1. 分析天平：感量 0.0001g；
2. 实验室用样品粉碎机或研钵；
3. 分样筛：40 目、60 目；
4. 电热式恒温干燥箱（烘箱）：可控温度为  $105 \pm 2^\circ\text{C}$ ；
5. 干燥器：用氯化钙或变色硅胶作干燥剂；
6. 称样皿：玻璃或铝质，直径为 40mm 以上，高 25mm 以下；
7. 坩埚钳和药匙。

### (三) 试样的选取与制备

1. 选取 1000g 以上具有代表性的原始样本；
2. 用四分法将原始样本缩至 500g，风干后粉碎过 40 目筛，再用四分法缩至 200g，装入密封容器，放阴凉干燥处保存；
3. 如试样是多汁的鲜样，或无法粉碎时，应预先干燥处理，称取 200~300g，在  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  烘箱中烘 15min，立即降至  $65^\circ\text{C}$ ，烘干 5~6h。取出后，在室内空气冷却使水分含量达到当地一般水平，称重，即得风干试样，同时计算初水分含量。

### (四) 测定步骤

1. 取洁净称样皿置于  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  烘箱中烘 1h 取出, 在干燥器中冷却 30min(冷却至室温), 称重(准确称至 0.0002 g)。

2. 将称样皿再烘 30min, 同样冷却, 称重, 至两次重量之差小于 0.0005g 为恒重。

3. 用已恒重的称样皿称取 2 份平行试样, 每份 2~5g(含水量 0.1g 以上, 试样厚度为 4mm 以下)。准确称至 0.0002g。

4. 将称样皿半开盖, 在  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  烘箱中烘 3h(以温度至  $105^\circ\text{C}$  开始计时)后取出, 盖好称样皿盖, 在干燥器中冷却 30min, 称重。

5. 再同样烘干 1h, 冷却, 称重, 至两次重量之差小于 0.002g 为止, 以其中较小的值进行计算。

测定吸附水后的试样, 可保留作测粗脂肪和粗纤维之用。

#### (五) 测定结果计算

1. 计算公式:

$$\text{水分}(\%) = \frac{W_1 - W_2}{W_0} \times 100 \quad (3-3)$$

式中:  $W_1$ —— $105 \pm 2^\circ\text{C}$  烘干前试样及称样皿重量, g;

$W_2$ —— $105 \pm 2^\circ\text{C}$  烘干后试样及称样皿重量, g;

$W_0$ ——已恒重的称样皿重量, g)。

2. 重复性 每个试样, 应取两个平行样进行测定, 以其算术平均值为结果。两个平行样测定值相差不得超过 0.2% , 否则应重做。

3. 如果按上述(三) 3步骤进行过预先干燥处理(指多汁的鲜样), 则应按下式计算原来试样中所含水分总量:

$$\text{原样总水分}(\%) = \text{初水分}(\%) + [100\% - \text{初水分}(\%)] \times \text{风干试样吸附水}(\%)$$

说明:

① 某些含脂肪高的样品, 烘干时间长反而增重, 乃脂肪氧化所致, 应以增重前那次称量为准。

② 含糖分高的易分解或易焦化试样, 应使用减压干燥法测定水分。

## 实验三 饲料粗灰分的测定

粗灰分是饲料样品在高温炉中将所有有机物质全部氧化后剩余的残渣。主要为矿物质氧化物或盐类等无机物质, 有时还含有少量泥沙。灰分分水溶性与水不溶性, 酸溶性与酸不溶性。水溶性灰分大部分是钾、钠、钙、镁等氧化物和可溶性盐, 水不溶性灰分除泥沙外, 还有铁、铝等的氧化物和碱土金属的碱式磷酸盐。酸不溶性灰分大部分为污染掺入泥沙和原来存在于动植物组织中经灼烧成的二氧化硅。测定粗灰分, 可掌握饲料中的灰分总量, 了解不同生长期、不同器官中灰分的变动情况; 也可在此基础上测定灰分中组成元素的含量。此外, 测定粗灰分对饲料品质鉴定也有参考意义, 若含量过高, 饲料中可能混入砂石、土等。

### 一、测定原理



试样在 550℃灼烧后，所得残渣，用质量百分数表示。残渣中主要是氧化物，盐类等矿物质，也包括混入饲料中的砂石、土等，故称粗灰分。

## 二、仪器和设备

1. 实验室用样品粉碎机或研钵。
2. 分析筛：40 目。
3. 分析天平：感量 0.0001 g。
4. 高温电炉：电加热，有温度计且可控制炉温在 550±20℃。
5. 坩埚：50ml，瓷质。
6. 坩埚钳
7. 干燥器：用氯化钙（干燥试剂）或变色硅胶为干燥剂。

## 三、测定步骤

1. 坩埚恒重：将干净坩埚放入高温炉中，在 550±20℃下灼烧 30min。取出，在空气中冷却约 1min，放入干燥器中冷却 30min，称重。再重复灼烧，冷却、称重，直至两次质量之差小于 0.0005 g 为恒重。

2. 称样品：在已知质量的坩埚中称取 2~5 g 试样（勿使样品高于坩埚深度的 1/2，灰分质量应在 0.05 g 以上）。

3. 炭化：将盛有样品坩埚放在电炉上，坩埚盖须留一小缝隙，小心炭化，在炭化过程中，应在低温状态加热灼烧直至无烟，然后升温灼烧至样品无炭粒（勿着明火）。

4. 灰化及称恒重：将炭化至无烟坩埚用坩埚钳移入高温炉内，坩埚盖须留一小缝隙，在 550±20℃下灼烧 3 h，待炉温降至 200℃以下，取出，在空气中冷却约 1min，放入干燥器中冷却 30min，称重。再同样灼烧 1 h，冷却、称重，直至两次质量之差小于 0.001 g 为恒重。

## 四、测定结果的计算

1. 计算公式 试样中粗灰分含量（%）按下式计算：

$$\text{粗灰分 (\%)} = \frac{m_1 - m_0}{m_2 - m_1} \quad (3-28)$$

式中： $m_0$ ——已恒重空坩埚的质量，g；  
 $m_1$ ——坩埚加试样的质量，g；  
 $m_2$ ——灰化后坩埚加灰分的质量，g。

2. 允许差 每个试样应取两个平行样进行测定，以其算术平均值为结果。粗灰分含量在 5%以上时，允许相对偏差为 1%；粗灰分含量在 5%以下时，允许相对偏差为 5%。

## 五、注意事项

1. 坩埚的准备：新坩埚编号，将带盖的坩埚洗净烘干后，用钢笔蘸  $5 \text{ g}^2 \text{ L}^{-1}$  氯化铁墨水溶液（称  $0.5 \text{ g FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  溶于  $100 \text{ ml}$  水中）编号，然后于高温炉中  $550^\circ\text{C}$  灼烧  $30 \text{ min}$  即可。

2. 试样开始炭化时，坩埚盖须留一小缝隙，便于气流流通；温度应逐渐上升，防止火力过大而使部分样品颗粒被逸出的气体带走。

3. 为了避免试样氧化不足，不应把试样压得过紧，应松松放在坩埚内。

4. 灼烧温度不宜超过  $600^\circ\text{C}$ ，否则会引起磷、硫等盐的挥发。

5. 灰化后样品应呈白灰色，但其颜色与试样中各元素含量有关，含铁高时为红棕色，含锰高为淡蓝色。如有明显黑色炭粒时，为炭化不完全，可在冷却后加几滴硝酸或过氧化氢，在电炉上烧干后再放入高温炉灼烧直至呈白灰色。

## 实验四 饲料粗蛋白质的测定

蛋白质是由氨基酸以肽键构成的多肽高分子化合物，它存在于一切动植物体中，是一切细胞和组织的基本组成成分，承担着体内各种复杂的生理、生化功能，它是体现生命现象的物质基础。动物从饲料中摄取蛋白质及其分解产物，以组成自身的蛋白质。因此，蛋白质含量是评价饲料营养价值的主要指标。

各种蛋白质中都含有一定比例的氮。长期以来，人们通过测定饲料总氮量来估计蛋白质含量。然而，各种饲料中除蛋白质含有氮素外，还有一些化合物，如核酸，生物碱，含氮碳水化合物，含氮类脂、卟啉、酰胺，色素以及硝态氮等，也含有氮素。因此，用测定总氮量计算出的“蛋白质”，实际上包括真蛋白和非蛋白氮物质，总称为粗蛋白质。

由总氮量换算蛋白质含量时，通常采用系数  $6.25$ 。这是按蛋白质中平均含氮量为  $16\%$  推算出来的。其实，不同饲料中蛋白质含氮比例是有差别的。因此，应当提倡不同饲料采用不同的比例系数。例如，荞麦、玉米，碗豆为  $6.25$ ，稻米为  $5.95$ ，全小麦，大麦、谷子为  $5.8$ ，大豆为  $5.71$ ，小麦麸为  $6.31$ ，牛奶为  $6.38$ 。只有对含氮比尚不清楚的饲料采用平均比例系数为  $6.25$ 。

蛋白质的测定方法分为直接法和间接法两类。直接法是利用蛋白质物理性质或化学性质，直接测定蛋白质含量的方法。常用的有紫外吸收光度法、折光法、双缩脲法、酚试剂法、染料结合法等，但其中有些方法不适合于混合饲料分析。间接法则是通过测定样品中的总氮量，进而推算出蛋白质含量的方法，即粗蛋白的测定方法。常用的有凯氏法，杜马斯法，奈氏比色法和次氯酸比色法等。

长期以来，人们不断致力于凯氏法的改进，在缩短消化时间和提高氮的回收率等方面作了大量深入的研究，目前已提出数十种催化剂。为提高凯氏法的仪器自动化水平，近年来已研制出几种自动或半自动的蛋白质分析仪。随着科学技术的发展，近代仪器分析方法如中子活化、分光光度法、X 射线分光光度法、紫外分光光度法和红外分光光度法等，也用

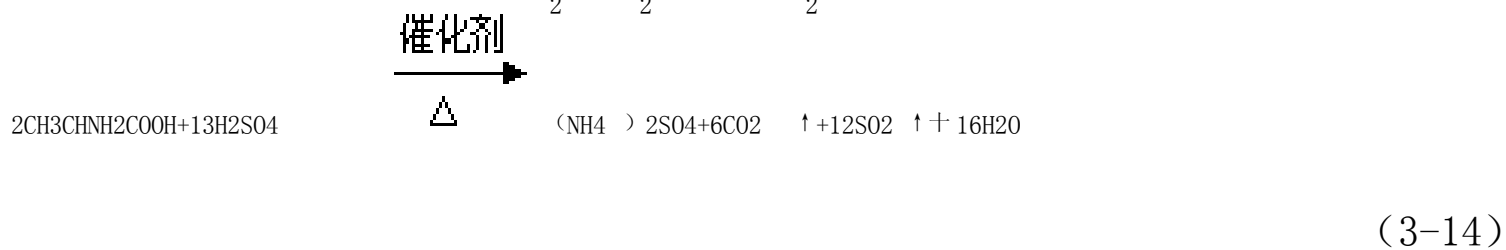
于蛋白质的测定中。

## 一、凯式定氮法

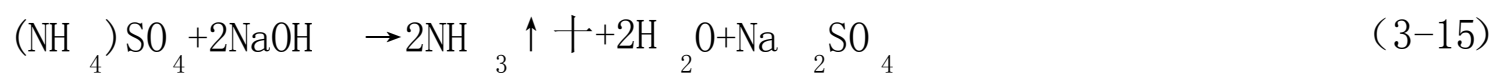
凯式定氮法是 1833 年由凯达尔 (Kjedeh) 首创, 后经多人改进, 迄今仍广泛应用于土壤、肥料、饲料和食品的分析中。此法具有较高的准确度和精确度, 美国分析化学家协会 (AOAC)、国际谷物化学协会 (ICC) 等组织都将其确定为法定分析方法。

### (一) 原理

饲料中的有机物在浓硫酸作用下被消化, 其中真蛋白质和氨化物中 N 转化为  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  中 N, 其它非氮物质则以  $\text{CO}_2$ 、 $\text{H}_2\text{O}$  和  $\text{SO}_2$  逸出:



消化液在浓碱的作用下进行蒸馏, 放出的  $\text{NH}_3$  用硼酸吸收:



然后以甲基红—溴甲酚绿作指示剂, 用标准酸溶液滴定:



根据酸标准溶液的浓度和消耗的体积, 即可计算出氮的含量, 乘以相应的蛋白质换算系数 (一般用 6.25), 即为粗蛋白质含量。

### (二) 仪器设备

- (1) 实验室用样品粉碎机或研钵;
- (2) 分样筛: 40 目;
- (3) 分析天平: 感量 0.0001g;
- (4) 消煮炉或电炉;
- (5) 滴定管: 酸式, 25ml、10ml;
- (6) 凯氏烧瓶: 250 或 500ml ;
- (7) 凯氏蒸馏装置: 常量直接蒸馏式、微量蒸馏式或半微量水蒸汽蒸馏式;
- (8) 锥形瓶: 150 或 250ml ;
- (9) 容量瓶: 100ml ;
- (10) 通风橱。

### (三) 试剂

- (1) 硫酸: 化学纯;
- (2) 硫酸铜: 化学纯;
- (3) 硫酸钾或硫酸钠: 化学纯;

(4) 氢氧化钠：分析纯，40g 溶于 100ml 水配成 40% 水溶液(W / V)；

(5) 硼酸：分析纯，2g 溶于 100ml 水配成 2% 溶液(W / V)；

(6) 混合指示剂：甲基红 0.1%乙醇溶液，溴甲酚绿 0.5%乙醇溶液，两溶液等体积混合，阴凉处保存期三个月以内；

(7) 0.05N 盐酸标准溶液(邻苯二甲酸氢钾法标定)：4.2ml 盐酸(GB 622，分析纯)。用蒸馏水定容到 1000ml；

(8) 蔗糖：分析纯；

(9) 硫酸氨：分析纯。

(四) 试样的选取与制备 取具有代表性试样，粉碎至 40 目，用四分法缩减至 200 g，装于密封容器中，防止试样成分的变化或变质。液体或软膏状粘液试样应注意取样的代表性。用干净的可放入凯式烧瓶的小玻璃容器称样。

#### (五) 测定步骤

1. 试样的消煮 称取 0.5~1g 试样(含氮量 5~80mg，准确至 0.0002g)，于光洁纸上，卷成圆筒水平插入烧瓶中，无损失地倒入凯氏烧瓶底部，加入硫酸铜 0.9g，无水硫酸钾(或硫酸钠)15g，与试样混合均匀，再加浓硫酸 25ml 和 2 粒玻璃珠，在消煮炉上小火加热，待样品焦化，泡沫消失，再加强火力(360~410 ℃)直至溶液澄清后，再继续加热至少 30 min。

#### 2. 氮的蒸馏

(1) 常量直接蒸馏法(主要用于含氮量低的样本)：蒸馏装置见图 3—3。

将(五).1 中的试样消煮液冷却，加蒸馏水 200ml，摇匀，冷却。沿瓶壁小心加入 40%氢氧化钠溶液 100ml，立即与蒸馏装置相连。蒸馏装置冷凝管口浸入 50ml 2%硼酸溶液内，加混合指示剂 2 滴。轻摇凯氏烧瓶，使溶液混匀，加热蒸馏，直到馏出液体积约为 150ml。移动三角瓶，使冷凝管口离开液面，再蒸馏 1min。用少许蒸馏水冲管口，移开三角瓶，即可滴定。

(2) 半微量蒸馏法：蒸馏装置见图 3—4

将试样的消煮液冷却，加蒸馏水 20ml，转入 100ml 容量瓶，冷却后用水稀释至刻度，摇匀，为试样分解液。取 20ml 2%硼酸溶液，加混合指示剂 2 滴，使半微量蒸馏装置的冷凝管末端浸入此溶液。蒸馏装置的蒸气发生器的水中应加甲基红指示剂数滴，硫酸数滴，且保持此液为橙红色。否则补加硫酸。准确移取试样分解液 10~20ml 注入蒸馏装置的反应室中。用少量蒸馏水冲洗进样入口。塞好入口玻璃塞，再加 10ml 40% 氢氧化钠溶液，小心提起玻璃塞使之流入反应室，将玻璃塞塞好。且在入口处加水封好，防止漏气，蒸馏 4min，使冷凝管末端离开吸收液面，再蒸馏 1min，用蒸馏水洗冷凝管末端，洗液均流入吸收液，准备滴定。

(3) 微量蒸馏法：蒸馏装置见图 3—5

微量蒸馏法的测定装置和方法均与半微量法基本一致，只是所测样本量较少，消耗的试剂相应减少。

3. 滴定 吸收氨后的吸收液立即用 0.05N 盐酸标准溶液滴定，溶液由蓝绿色变为灰红色为终点。

4. 空白测定 称取蔗糖 0.1g，代替试样，按上述步骤进行空白测定，消耗 0.05N 盐酸标准溶液的体积不得超过 0.3ml。

#### (六) 测定结果的计算

1. 计算公式：

$$\text{粗蛋白质}(\%) = \frac{V_2 - V_1}{V_4 - V_3} \times C \times F \times 100 \quad (3-18)$$

式中： $V_2$ ——滴定试样时所需盐酸标准溶液体积 (ml)；

$V_1$ ——滴定空白时所需盐酸标准溶液体积 (ml)；

$C$ ——盐酸标准溶液摩尔浓度 (mol/D)；

$W$ ——试样重量 (g)；

$V_4$ ——试样分解液总体积 (ml)；

$V_3$ ——试样分解液蒸馏用体积 (ml)；

0.0140——氮的毫摩尔质量；

$F$ ——氮换算成蛋白质的系数 (平均值为 6.25)。

2. 重复性 每个试样取两平行样进行测定，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% 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%。

#### (七) 测定步骤的检验

精确称取 0.2g 硫酸铵，代替试样，按(五)的各步骤操作，按(六)的公式计算(但不乘系数 6.25)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。试样消煮时，加入硫酸铜 0.2g，无水硫酸钠 3g，与试样混合均匀，再加浓硫酸 10ml，仍可使饲料试样分解完全，只是试样焦化再变为澄清所需时间略长些。

## 实验五 饲料脂类测定

脂类包括脂肪和类脂。脂肪是由一分子的甘油(丙三醇)和三分子的脂肪酸构成，故又称为甘油三酯。类脂包括脂肪酸、磷脂，糖脂、固醇，蜡质等。

脂类化合物分子中常含有长碳链或其它非极性基团，即具有疏水性，难溶于水，而易溶于乙醚、石油醚、四氯化碳等非极性溶剂或甲醇、氯仿等弱极性溶剂。由于不同样品的脂类化合物中，碳链的长度和饱和程度以及脂的分子构型等存在某些差异，所以，用不同溶剂作提取剂时，其测定结果也有差异。在实际分析工作中可根据具体情况采用下列分析方法。

## 一、索氏提取法

### (一) 原理

索氏(Sohlet法或乙醚萃取法的原理是根据饲料样本中的脂类可溶于有机溶剂如乙醚,通过乙醚反复抽提,使溶于乙醚中的脂肪随乙醚流注于盛醚瓶中,由于乙醚和脂肪的沸点不同,控制水浴温度,蒸发去乙醚,盛醚瓶所增加的重量即为该样本的脂肪量。

由于游离脂肪酸、卵磷脂、蜡质、麦角固醇、胆固醇、脂溶性维生素、叶绿素等物质,亦溶于乙醚,故此法所测得脂肪不纯,统称为粗脂肪。

### (二) 仪器设备

- (1) 实验室用植物样品粉碎机或研钵;
- (2) 分样筛: 40 目;
- (3) 分析天平: 感量 0.0001g;
- (4) 电热恒温水浴锅: 室温~100℃;
- (5) 恒温烘箱;
- (6) 索氏脂肪提取器(见图 3—6): 100ml 或 150ml ;
- (7) 滤纸或滤纸筒: 中速, 脱脂
- (8) 脱脂棉线;
- (9) 干燥器: 用氯化钙(干燥级)或变色硅胶为干燥剂。

### (三) 试剂

乙醚: 化学纯

### (四) 试样的选取与制备

选取有代表性的试样,用四分法将试样缩减至 500g,粉碎粒度为 40 目,再用四分法缩减至 200g,于密封容器低温或阴凉处保存防止成分变化和变质。

### (五) 测定步骤

1. 将已洗净的盛醚瓶置于  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  的烘箱中烘干 30min.,而后取出于干燥器内冷却 30min.,称重。再烘干 30min.,同样冷却、称重,两次重量之差小于 0.001g 为恒重
2. 洗净并装置好脂肪提取器(干燥无水),检查装置是否严密。
3. 称取试样 1~5g,准确至 0.0002g 于滤纸筒中,或用滤纸包好,用脱脂棉线扎成一定大小的脂肪包(其高度不超过浸提管高度的  $2/3$ ,宽度以能放入即可)。用铅笔作上编号,置于  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  烘箱内烘干 2h(或称测水分后的干试样,折算成风干样重)取出待用。
4. 用镊子将滤纸筒或脂肪包放入浸提管内,加少许乙醚,盛醚瓶中加乙醚 60~100ml。在  $60 \sim 75^\circ\text{C}$  水浴锅(用蒸馏水)上加热,使乙醚回流,回流速度每 h 4~6 次,约经 8~16h,样品中的脂肪即全部提出,或控制乙醚回流次数为每 h 约 10 次,共回流约 50 次(含油高的试样约 70 次)或检查抽提管流出的乙醚挥发后不留下油迹为抽提终点。

5. 浸提完毕取出脂肪包，然后让乙醚再回流一次，再开始回收乙醚，直至盛醚瓶中乙醚几乎全部收完。最后取下盛醚瓶，在水浴上蒸去残余乙醚。用酒精棉擦净瓶外壁。

6. 将盛醚瓶置于  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  烘箱内烘干 1h，取出后于干燥器中冷却 20min.，称重。再烘干 30min. 同样冷却称重，至两次重量之差小于 0.001g 为恒重。

#### (六) 结果计算

##### 1. 计算

$$\text{粗脂肪}(\%) = \frac{W_2 - W_1}{W} \times 100 \quad (3-20)$$

式中：W —— 风干试样质量(g)。

$W_1$  —— 已恒重的盛醚瓶质量(g)。

$W_2$  —— 已恒重的浸提后盛醚瓶质量(g)。

##### 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。

粗脂肪含量在 10% 以上(含 10%)，允许相对偏差为 3%；

粗脂肪含量在 10% 以下，允许相对偏差为 5%。

## 二、鲁氏残留法

(一) 原理 鲁氏 (С. В. Румковски й) 残留法的原理是用乙醚提取试样后，样品减少的重量即为粗脂肪的含量。

#### (二) 仪器设备

1. 实验室用植物样品粉碎机或研钵；
2. 分样筛：40 目；
3. 分析天平：感量 0.0001g；
4. 电热恒温水浴锅：室温~100℃；
5. 恒温烘箱；
6. 索氏脂肪提取器：(见图 3—6) 100ml 或 150ml；
7. 滤纸或滤纸筒：中速，脱脂
8. 脱脂棉线；
9. 干燥器：用氯化钙(干燥级)或变色硅胶为干燥剂。

#### (三) 试剂 乙醚：化学纯

(四) 试样的选取与制备 选取有代表性的试样，用四分法将试样缩减至 500g，粉碎粒度为 40 目，再用四分法缩减至 200g，于密封容器低温或阴凉处保存防止成分变化和变质。

#### (五) 操作步骤

1. 将脱脂滤纸裁成  $10^3 \times 10\text{cm}^2$  大小，叠成一边不封口的纸包，用铅笔编号，按顺序

排列于培养皿上，置于  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  烘箱中烘 2h，取出放于干燥器中冷却至室温，分别放入同一称量瓶中称重 ( $W_0$ , g)。

2. 将 2~5g 风干样品 (通过 40 目筛) 用小药匙小心装入已经称重的纸包中，封上包口。按顺序排列于培养皿中。置于  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  烘箱中烘 3h，取出放入干燥器中冷却至室温，分别放入原称量瓶中。称至恒重 ( $W_1$ , g)。

3. 将样品包放入抽提管中，倒入无水乙醚，使之刚超过样品包高度，如图 3—6 所示连接装置，浸泡过夜。然后将浸泡过样品的无水乙醚放入抽提瓶中，再重新向抽提管中倒入无水乙醚，使之完全浸没样品包。连接装置，接通冷凝水，在  $70 \sim 80^\circ\text{C}$  水浴锅中回流 6—8h，回流速度以每分钟 20ml 左右为宜。抽提完毕，取出样品包，在通风处挥干乙醚。剩余乙醚可进行回收。

4. 将样品包仍按原序号排列在培养皿中，置于  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  烘箱中烘 2h，取出放入干燥器中冷却至室温，再将样品包放原称量瓶中，称至恒重 ( $W_2$ , g)。

(六) 结果计算

$$\text{粗脂肪含量 (\%)} = \frac{W_1 - W_0}{W_1 - W_0} \times 100 \quad (3-21)$$

式中， $W_0$ ——滤纸+称量瓶重 (g)；

$W_1$ ——提取前样品包+称量瓶重 (g)；

$W_2$ ——提取后样品包+称量瓶重 (g)。

上述两种方法都是以乙醚为溶剂的提取方法，其优点是具有较好的准确度和精密度，尤其是测定粗脂肪含量在 5% 以下的样品，用此法比较可靠。缺点是费工费时，反复提取需 8~16 h；另外乙醚不能将样品中的全部脂肪提尽。这是因为部分脂肪常与蛋白质或碳水化合物等非脂肪成分结合。成为结合态脂类，如脂蛋白、糖脂、磷脂等，同时样品也必须是烘干的，因乙醚难以渗入含水样品的组织内部。在烘干样品时，又应考虑到脂肪在高温下易被空气氧化等情况。

## 附 1: Tecator 公司脂肪测定仪操作步骤

以下操作步骤适用于瑞典 Tecator 公司生产的 Soxtec System HT6。

传统的索氏脂肪浸提法因它的精确性和重复性而被世界所公认。但其缺点是手工索氏浸提法操作太费时间。

脂肪测定仪既采用经典索氏浸提法原理，又可大大缩短浸提时间，它将浸提过程分为高温沸腾浸提与冲洗浸提两个步骤，整个浸提过程一般只需 30~60min 以样品类型而定，从而可以快速测定试样中的粗脂肪含量。

操作步骤



1. 打开恒温加热装置开关，控制工作温度为 75℃；
2. 用万分之一分析天平称 2g 左右的样品 (准确至 0.0002g) ( $W_1$ )，放入滤纸筒内烘干；
3. 用套筒夹将 6 个滤纸套筒装入浸提冷凝管内，当确信套筒已被磁铁吸牢后取下套筒夹；
4. 用分析天平称浸提杯重量( $W_2$ )，然后加入约 50ml 无水乙醚，用杯托将 6 个浸提杯放在加热板上，再将冷凝管提升机构搬下，使浸提杯与冷凝管连接好；
5. 事先接通浸提冷凝管的冷却水。将滤纸筒置于“沸腾”位置。冷凝管应有良好的冷凝作用；
6. 无水乙醚沸腾 15min 或 30min (依样品含油量而异)后，将滤纸筒提升到“冲洗”位置，冲洗 30min 或 45min；
7. 冲洗结束后，关闭冷凝管旋塞阀，回收乙醚；
8. 松开冷凝管提升机构，取下浸提杯，并放入烘箱烘干；
9. 在干燥器中冷却浸提杯。然后用分析天平称重( $W_3$ )；
10. 按以下公式计算样品中粗脂肪含量。

$$\text{粗脂肪}(\%) = \frac{W_3 - W_2}{W_1} \cdot 100 \quad (3-24)$$

## 实验六 饲料粗纤维测定

粗纤维 (crude fiber CF) 是植物细胞壁的主要成分，包括纤维素、半纤维素、木质素及角质等成分。

### 一、原理

粗纤维的常规测定法是在公认的强制规定条件下测定。将试样用一定容量和一定浓度的预热硫酸和氢氧化钠溶液煮沸消化一定时间，再用乙醇和乙醚除去醚溶物，经高温灼烧扣除矿物质的剩余物为粗纤维。当用稀酸处理时，淀粉、果胶和部分半纤维素被溶解；当用稀碱处理时，又可除去蛋白质和部分半纤维素、木质素、脂肪；用乙醇和乙醚处理时，可除去单宁、色素、脂肪、蜡质以及部分蛋白质和戊糖。用这种方法测得的“粗纤维”实际上是以纤维素为主，还有少量半纤维素和木质素的混合物。

### 二、仪器设备

- (1) 实验室用样品粉碎机或研钵
- (2) 分样筛：40 目；
- (3) 分析天平：感量 0.0001g；
- (4) 消煮器：有冷凝球的 500ml 烧杯，或有冷凝管的锥形瓶；
- (5) 布氏漏斗：直径 6cm；

- (6) 抽滤瓶: 500~1000ml ;
- (7) 滤布: 100 支纱的麻绸或 200 目的尼龙网布;
- (8) 真空抽气机(真空泵);
- (9) 电热式恒温箱(烘箱);
- (10) 干燥器: 用氯化钙或变色硅胶作干燥剂;
- (11) 高温炉(茂福炉): 电加热, 有高温计且可控制炉温在 550 ~600 °C;
- (12) 古氏坩埚: 30ml , 预先加入 30ml 酸洗石棉悬浮液, 再抽干, 以石棉厚度均匀, 不透光为宜;
- (13) 电炉或电热板。

### 三、试剂

(1) 硫酸 分析纯, 0.255 ± 0.005N , 每 100ml 含硫酸 1.25g , 应用氢氧化钠标准溶液标定;

(2) 氢氧化钠 分析纯, 0.313 ± 0.005N , 每 100ml 含氢氧化钠 1.25g应用磷苯二甲酸氢钾法标定;

(3) 石棉 市售或自制中等长度酸洗石棉置于蒸发皿中, 在 600 °C灼烧 16h, 用 1.25% 硫酸溶液浸泡并煮沸 30 min, 过滤并用水洗至中性。同样用 1.25% 氢氧化钠溶液煮沸 30min. , 过滤并用少量 1.25% 硫酸溶液洗一次, 再用水洗净, 烘干后于 600 °C灼烧 2h, 其空白试验结果为每克石棉含粗纤维值小于 1mg ;

(4) 95% 乙醇: 化学纯;

(5) 乙醚: 化学纯;

(6) 正辛醇: 分析纯, 防泡剂。

### 四、试样的选取与制备

选取有代表性的试样, 用四分法将试样缩减至 500g , 粉碎粒度为 40 目, 再用四分法缩减至 200g , 于密封容器低温或阴凉处保存防止成分变化和变质。

### 五、测定步骤

1. 称取 1~2g 试样, 准确称至 0.0002g , 用乙醚脱脂(试样含脂肪量低于 1% 时可不脱脂. 也可用测定脂肪后的试样残渣)放入消煮器。

2. 加入煮沸的 0.255N 硫酸溶液 200ml 和 1 滴正辛醇(防泡剂). 立即加热, 使其在 1min 内沸腾. 并连续微沸 30min . 注意保持硫酸浓度不变(可补加沸蒸馏水), 并避免试样粘贴在液面以上的杯壁。

3. 微沸 30min 后立即停止加热, 用铺有滤布的布氏漏斗过滤, 将 200ml 滤液在 10min

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/815221321242012004>