

测定饲料中单宁的方案（分光光度法）

引言

目前，“饲料禁抗”已成为全球畜牧业生产的趋势，对提高畜产品质量安全、增加绿色优质畜产品供给、降低养殖生产成本、促进畜产品出口、实现畜牧业可持续发展意义深远。单宁作为替抗产品在动物生产中的应用具有一定的可行性。

关键词 单宁 分光 美析

原理

用丙酮溶液提取饲料中单宁类化合物,经过滤后,取滤液加钨酸钠-磷钼酸混合溶液和碳酸钠溶液,显色后,以试剂为空白对照,用分光光度计于 760 nm 波长处测定吸光度值,用单宁酸作标准曲线测定饲料中单宁含量。

仪器及试剂

美析 UV-1500 紫外可见分光光度计:带 10 mm 比色皿,可在 760 nm 处测定。

电子天平:感量为 0.1 mg.

粉碎机。

振荡仪。

单标线吸管:1 mL, 10 mL, 50 mL, A 级。刻度吸管:5 mL。

容量瓶:50 mL, 100 mL, 200 mL, A 级。具塞三角瓶:250 mL。

中速定量滤纸。

除非另有说明,本标准中所用试剂均为分析纯,水符合 GB/T 6682 三级用水规定。

钨酸钠($\text{Na}_2\text{O}_4\text{W} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。

磷钼酸($\text{H}_2\text{Mo}_{12}\text{O}_{40}\text{P} \cdot \text{XH}_2\text{O}$)。

钨酸钠-磷钼酸混合溶液:称取 100.0 g 钨酸钠、20.0 g 磷钼酸,溶于约 750 mL 水中,移入 1000 mL 回流瓶中,加入 50 mL 磷酸,充分混匀,接上冷凝管,在沸水浴上加热回流 2h,冷却,转入 1000 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀,过滤,置棕色瓶中保存。室温下可保存 14 d。

无水碳酸钠(Na_2CO_3)。

碳酸钠溶液(75 g/L):称取 37.5 g 无水碳酸钠,溶于 250 mL 温水中,混匀,冷却,稀释至 500 mL,过滤到储液瓶中备用。室温下可保存 7d。

丙酮($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$)。

丙酮溶液(1+1,体积比):分取等体积的水和丙酮(4.6),等体积混合,摇匀,即得。

单宁酸标准品($\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$):含量 $\geq 95.0\%$ 。

单宁酸标准储备液:称取单宁酸标准品适量(精确到 0.0001g),加适量水溶解,用水定容至 100 mL,摇匀,制成单宁酸质量浓度约为 1 mg/mL 的标准储备液。在冰箱中 4℃可保存 5d。

单宁酸标准使用液:精密量取单宁酸标准储备液 10.00 mL,置 200 mL 容量瓶中,用水定容至 200 mL,摇匀。此溶液单宁酸质量浓度为 50 mg/L,用时现配。

试样制备

按 GB/T 14699.1 采样,按 GB/T 20195 制备试样,磨碎,通过 0.45 mm 孔筛,混匀,装入密闭容器中,避光低温保存备用。

分析步骤

试液的制备

称取试样 1 g~2 g(精确至 0.000 1 g),置于 250 mL 具塞三角瓶中,精密加入丙酮溶液 50.00

mL, 加塞密封, 置振荡仪上振摇 40 min, 静置, 用中速定量滤纸过滤, 弃去初滤液, 续滤液供测定用。

测定

标准曲线的绘制

精密量取单宁酸标准使用液 0.00 mL, 0.50 mL, 1.00 mL, 2.00 mL, 3.00 mL, 4.00 mL、5.00 mL 和 6.00 mL, 分别置盛有约 30 mL 水的 50 mL 容量瓶中, 摇匀; 加钨酸钠-磷钼酸混合溶液 2.5 mL, 加碳酸钠溶液 5.0 mL, 摇匀; 分别用水定容至 50 mL, 摇匀。单宁酸标准溶液浓度分别为 0.00 mg/L, 0.50 mg/L、1.00 mg/L、2.00 mg/L、3.00 mg/L、4.00 mg/L、5.00 mg/L 和 6.00 mg/L, 放置 30 min 显色后, 以标准曲线 0.00 mg/L 为空白, 在 760 nm 波长处测定标准溶液的吸光度, 以单宁酸浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制标准曲线。

试样的测定

精密量取试液 1.00 mL, 置盛有约 30 mL 水的 50 mL 容量瓶中, 摇匀; 加钨酸钠-磷钼酸混合溶液 2.5 mL, 加碳酸钠溶液 5.0 mL, 摇匀; 用水定容至 50 mL, 摇匀。放置 30 min 显色后, 以标准曲线 0.00 mg/L 为空白, 在 760 nm 波长处测定试样溶液的吸光度, 根据标准曲线求出试液中单宁酸的浓度。如果吸光度值超过 6.00 mg/L 单宁酸的吸光度时, 将试液稀释后重新测定。

计算和结果的表述

试样中单宁(以单宁酸计)的含量 X, 以质量分数表示, 单位为毫克每千克(mg/kg), 按式计算。

$$X = \frac{c \times V \times D \times 1000}{m \times 1000}$$

式中:

c——试样测定液中单宁酸的浓度, 单位为毫克每升(mg/L);

v——试样定容体积, 单位毫升(mL);

D——试样稀释倍数;

m——试样质量, 单位为克(g)。

仪器参数

UV-1500PC 紫外可见分光光度计

仪器特点

- *采用单片微机控制, 128*64 位液晶显示
- *宽大的液晶显示器可显示多组数据
- *巨大的内存空间, 可存储多组数据和曲线
- *自动调 0、调 100%功能
- *波长自动调节
- *光源自动切换, 滤色片自动切换
- *宽大样品池 (5mm~100mm)
- *具有最多十点标样建标准曲线测量功能
- *可通过直接输入 K、B 因子建立标准曲线进行定量测量
- *可直接输入标样和对应浓度值建立标准曲线进行定量测量
- *可断电保存测量设置的标准曲线参数
- *配备通用并行打印接口, 可打印标题栏、测量数据、曲线参数、曲线标准样品点和曲线

*配 USB 接口

*可通过 PC 软件控制实现光谱扫描等更精确和灵活的测量要求

技术指标及基本参数

*波长范围： 190~1100nm

*光谱带宽： 2nm

*波长准确度： $\pm 0.5\text{nm}$

*波长重现性： $\leq 0.2\text{nm}$

*透射比准确度： $\pm 0.3\%$

*透射比重复性： 0.15%

*杂散光： $\leq 0.05\%$ (220nm NaI, 340nm NaNO₂)

*稳定性： 0.001A/h (500nm 预热后)

*测光方式：透过率、吸光度、浓度、能量

*波长调节：自动调节

*光度范围： $-0.3 \sim 3\text{A}$

*显示方式： 128*64 液晶

*检测器：进口硅光二极管

*光源：进口氙灯，进口钨灯

*电源： AC 220V/50Hz 或 110V/60Hz

*功率： 120W

*仪器尺寸： 480×350×220mm

*主机净重： 15Kg

关于美析

美析主营光谱类仪器可见分光光度计、紫外可见分光光度计、原子吸收光谱仪、超微量分光光度计、原子荧光光度计、ICP 电感耦合等离子体发射光谱仪、ICP 电感耦合等离子体质谱仪，目前，我们的产品已广泛应用于有机化学、无机化学、生物化学、医药、环保、冶金、石油、农业等领域。同时美析利用在产品机械结构、光学设计、电气应用和软件开发方面积累的丰富经验，结合市场的最新实际需求，近期将陆续推出一批全新的分析类仪器