

# 中华人民共和国国家标准

## 饲料中色氨酸测定方法 分光光度法

GB/T 15400—94

### Determination of tryptophan in feedstuffs —Spectrophotometry

#### 1 主题内容与适用范围

本标准规定了测定饲料中色氨酸的原理和方法。

本标准适用于配合饲料、混合饲料、浓缩饲料和单一饲料。

#### 2 引用标准

GB 6433 饲料粗脂肪测定方法

#### 3 原理

饲料中蛋白质经碱水解后,降解成多肽和游离的氨基酸,在酸性介质中,氧化剂存在下,色氨酸吲哚环与对二甲氨基苯甲醛反应生成蓝色化合物,在一定范围内颜色深浅与色氨酸含量成正比。

#### 4 试剂

除注明者外均为分析纯。水为蒸馏水。

##### 4.1 硫酸(GB 625)溶液、 $c(1/2H_2SO_4)=21.2\text{ mol/L}$

量取 589 mL 硫酸徐徐加入约 350 mL 水中,冷却后用水稀释至 1 L。

##### 4.2 1%对二甲氨基苯甲醛溶液:

1.0 g 对二甲氨基苯甲醛溶于 21.2 mol/L 硫酸(4.1)中并定容 100 mL。

##### 4.3 0.2%亚硝酸钠(GB 633)溶液( $m/V$ )。

##### 4.4 10%氢氧化钾(GB 2306)溶液( $m/V$ )。

##### 4.5 L-色氨酸,色谱纯。

##### 4.6 L-色氨酸标准溶液:

准确称取 25.0 mg L-色氨酸于小烧杯中,加少量 0.1 mol/L 氢氧化钾溶液使之溶解,定量地转移到 250 mL 棕色容量瓶中,用水定容,浓度为 100  $\mu\text{g/mL}$ 。

注:本标准溶液 4℃冰箱中保存,一个月内使用,浓度不变。

#### 5 仪器、设备

##### 5.1 分析天平:感量 0.1 mg。

##### 5.2 分光光度计。

##### 5.3 离心机:转速 4 000 r/min。

##### 5.4 实验室用粉碎机。

国家技术监督局 1994-12-30 批准

1995-07-01 实施

- 5.5 培养箱。  
 5.6 容量瓶:25 mL、50 mL、250 mL。  
 5.7 10 mL 具塞试管。  
 5.8 刻度吸管:0.5 mL、2 mL、5 mL、25 mL。

## 6 试样的制备

- 6.1 选取有代表性的试样,按四分法缩分至 200 g,粉碎,全部通过 0.25 mm 孔径筛(60 目)。  
 6.2 按 GB 6433 脱脂并测定脂肪含量。脱脂样品风干后,混匀,装入密封容器内备用。

## 7 分析步骤

### 7.1 工作曲线的绘制

- 7.1.1 吸取色氨酸浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准溶液(4.6)5.00、7.50、10.00、12.50、15.00、17.50 mL 分别置于 25 mL 棕色容量瓶中用水定容,摇匀。溶液浓度分别为 20、30、40、50、60、70  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。  
 7.1.2 吸取各浓度溶液(7.1.1)1 mL,分置具塞试管(5.7)中,空白管加 1 mL 水。向每支试管内加入氢氧化钾溶液(4.4)1 mL,混匀,将试管放入冷水盆中,加 5 mL 对二甲氨基苯甲醛溶液(4.2),从冷水盆中取出试管,摇匀,在室温(20~30 $^{\circ}\text{C}$ ,下同)放置 30 min。  
 7.1.3 向上述每支试管内加 0.2 mL 亚硝酸钠溶液(4.3),摇匀,室温放置 25 min。  
 7.1.4 以空白管调零,在 590 nm 波长下,以 1 cm 光径测定各溶液吸光度值。  
 7.1.5 以色氨酸浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标,绘制工作曲线,或列出回归方程式。

### 7.2 样品测定

- 7.2.1 称样:按附表 A 建议的称样量称取脱脂试样两份,精确至 0.1 mg。  
 7.2.2 水解:将试样置于 50 mL 容量瓶(5.6)中,在轻轻振摇中缓慢加入 25 mL 氢氧化钾溶液(4.4),使试样湿润且不粘壁,置于 40 $\pm$ 1 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱(3.5)中水解 16~18 h。  
 7.2.3 离心:取出水解液冷却至室温后,用水定容,摇匀,取部分水解液以 4 000 r/min 转速离心 15 min。  
 7.2.4 显色:取 2 mL 上清液置具塞试管(5.7)中,并将试管放入冷水盆中,加入 5 mL 对二甲氨基苯甲醛溶液(4.2),摇匀。每个试样另取 2 mL 上清液于具塞试管(5.7)中,加 5 mL 硫酸溶液(4.1)作为样品空白,摇匀,室温放置 30 min。然后向每支试管内加入 0.2 mL 亚硝酸钠溶液(4.3),摇匀,室温放置 25 min。  
 7.2.5 比色:以样品空白调零,在 590 nm 波长处 1 cm 光径测定样品溶液的吸光度值。

## 8 分析结果的表述

### 8.1 计算公式

$$\text{色氨酸(脱脂样)}(\%) = \frac{A \times 25}{m \times 10^3} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{色氨酸(原样)}(\%) = \frac{A \times 25 \times (1 - F)}{m \times 10^3} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:  $m$ ——脱脂试样质量,mg;  
 $A$ ——从工作曲线上查得色氨酸含量, $\mu\text{g}$ ;  
 $F$ ——脂肪分率。

### 8.2 结果的表示

两个平行样品的测定结果用算术平均值表示,保留二位小数。

试样脂肪含量小于4%时,式(1)和(2)所得结果在允许偏差之内。

### 8.3 重复性

两个平行样品测定值的相对偏差,当色氨酸含量小于0.1%时,不大于4%;0.10%~0.50%时,不大于3%;大于0.50%时,不大于2%。



**附录 A**  
**称 样 量**  
(参考件)

根据样品蛋白质、色氨酸含量确定称样量,经试验研究建议不同饲料称样量如下:

蛋白质含量, %	饲 料 种 类	称样量, mg
10 以下	高粱、玉米	650~700
11~20	小麦、大麦、糠麸、糠饼、配合料、混合料、各种叶粉等	450~500
21~30	干酒糟、干粉渣、豆腐渣、杂豆、糟渣类	350~400
31~40	棉仁饼、菜籽饼、蓖麻饼、向日葵饼、浓缩料	200~250
41~50	虾粉、豆饼、芝麻饼、酵母、豆粕、花生饼、国产鱼粉	180~200
50 以上	鱼粉、血粉、肉骨粉、蚕蛹、羽毛粉	160~180

**附加说明:**

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国农业分析标准化技术委员会归口。

本标准由中国农业科学院分析测试中心,山西省农科院作物遗传研究所、黑龙江省农业科学院实验技术中心、上海市农业科学院作物育种栽培研究所共同起草。

本标准主要起草人崔淑文、王淑芬、郑云兰、马宗兰、马东霞。