

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 9125:2011

ISO 6866:1985

Xuất bản lần 1

**THỨC ĂN CHĂN NUÔI –
XÁC ĐỊNH GOSSYPOL TỰ DO VÀ TỔNG SỐ**

Animal feedings stuffs – Determination of free and total gossypol

HÀ NỘI – 2011

Lời nói đầu

TCVN 9125:2011 hoàn toàn tương đương với ISO 6866:1985;

TCVN 9125:2011 do Cục Chăn nuôi biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thức ăn chăn nuôi – Xác định gossypol tự do và tổng số

Animail feedings stuffs – Determination of free and total gossypol

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định hàm lượng gossypol tự do, gossypol tổng số và các chất có liên quan về mặt hóa học trong thức ăn chăn nuôi.

2 Lĩnh vực áp dụng

Phương pháp này áp dụng cho hạt bông và khô dầu hạt bông dạng bột và dạng đóng bánh và hỗn hợp thức ăn chăn nuôi có chứa các chất này.

Giới hạn phát hiện đối với gossypol tự do là 20 mg/kg và gossypol tổng số là 50 mg/kg.

3 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 4325 (ISO 6497), *Thức ăn chăn nuôi – Lấy mẫu*.

TCVN 6952 (ISO 6498), *Thức ăn chăn nuôi – Chuẩn bị mẫu thử*.

4 Nguyên tắc

Chiết gossypol với sự có mặt của 3-aminopropan-1-ol bằng hỗn hợp của 2-propanol và hexan để xác định gossypol tự do hoặc bằng dimetylformamit để xác định gossypol tổng số. Sử dụng anilin để

TCVN 9125:2011

chuyển gossypol thành gossypol-dianilin. Đo độ hấp thụ tại bước sóng có độ hấp thụ cực đại (khoảng từ 435 nm đến 445 nm)

5 Thuốc thử

Chỉ sử dụng thuốc thử loại tinh khiết phân tích. Nước sử dụng phải là nước đã khử khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương.

5.1 2-propanol/ *n*-hexan, hỗn hợp 60 + 40 tính theo thể tích.

5.2 Dung môi A

Cho vào bình định mức 1 000 ml khoảng 500 ml hỗn hợp 2-propanol/hexan (5.1), 2 ml 3-aminopropan-1-ol, 8 ml axit axetic băng và 50 ml nước. Thêm hỗn hợp 2-propanol/hexan đến vạch.

Thuốc thử này chỉ bền trong một tuần.

5.3 Dung môi B

Cho 2 ml 3-aminopropan-1-ol và 10 ml axit axetic băng vào bình định mức 100 ml. Làm nguội đến nhiệt độ phòng và thêm *N,N*-dimetylformamit đến vạch.

Thuốc thử này chỉ bền trong 1 tuần.

5.4 Anilin

Nếu độ hấp thụ đo được trong phép thử trắng vượt quá 0,022, thì chưng cất anilin trên bột kẽm, loại bỏ 10 % phần dịch cất đầu tiên và cuối cùng. Khi được bảo quản trong chai thủy tinh nâu có nút đậy kín để trong tủ lạnh (từ 0 °C đến 4 °C) thì thuốc thử này bền được vài tháng.

6 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường và cụ thể như sau:

6.1 Máy nhào trộn, có tần số quay khoảng 35 min⁻¹, hoặc máy lắc khác.

6.2 Máy đo phổ, thích hợp để đo ở bước sóng từ 435 nm đến 445 nm, có cuvet đường quang 10 mm.

6.3 Bình định mức, dung tích 25 ml và 50 ml.

6.4 Bình nón, dung tích 50 ml, 100 ml và 250 ml.

7 Lấy mẫu

Lấy mẫu phòng thử nghiệm theo TCVN 4325 (ISO 6497).

8 Cách tiến hành

8.1 Chuẩn bị mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử theo TCVN 6952 (ISO 6498)

8.2 Phần mẫu thử

Khối lượng của phần mẫu thử phụ thuộc vào hàm lượng gossypol dự kiến. Để xác định gossypol tự do trong hạt bông, khô dầu hạt bông, dạng bột và dạng bánh thì khối lượng phần mẫu thử không vượt quá 1 g; đối với hỗn hợp thức ăn chăn nuôi thì lấy 5 g. Để xác định gossypol tổng số, thì khối lượng của phần mẫu thử phải trong khoảng từ 0,5 g đến 5 g.

CHÚ THÍCH Khối lượng phần mẫu thử phải đủ lớn để có lượng gossypol tự do trong 8.3.1.2 hoặc lượng gossypol tổng số trong 8.3.2.4 trong từng phần dịch lọc.

8.3 Phép xác định

8.3.1 Xác định gossypol tự do

8.3.1.1 Chuyển phần mẫu thử (8.2) vào bình nón 250 ml, đáy bình được phủ kín các viên thủy tinh. Dùng pipet lấy 50 ml dung môi A (5.2), đậy nắp bình và trộn bằng máy trộn (6.1) trong 1 h. Lọc qua giấy lọc khô, thu lấy phần dịch lọc vào bình nón 100 ml. Trong suốt quá trình lọc, đậy phễu lọc bằng mặt kính đồng hồ.

8.3.1.2 Dùng pipet chuyển các lượng dịch lọc bằng nhau có chứa từ 50 μ g đến 100 μ g gossypol vào hai bình định mức 25 ml (6.3) (C và D). Nếu cần, thêm 10 ml dung môi A (5.2).

8.3.1.3 Cho hỗn hợp 2-propanol/hexan (5.1) qua phễu vào bình C đến vạch và trộn.

Dung dịch này được sử dụng làm dung dịch đối chứng dùng khi đo dung dịch mẫu thử.

8.3.1.4 Dùng pipet chuyển vào hai bình định mức 25 ml (E và F), mỗi bình 10 ml dung môi A (5.2).

8.3.1.5 Thêm hỗn hợp 2-propanol/hexan (5.1) vào bình E đến vạch và trộn.

Dung dịch này được sử dụng làm dung dịch đối chứng khi đo dung dịch mẫu trắng.

8.3.1.6 Thêm 2,0 ml anilin (5.4) vào các bình D và F. Giữ nóng 30 min trên nồi cách thủy đang sôi để hiện màu.

TCVN 9125:2011

8.3.1.7 Làm nguội đến nhiệt độ phòng, thêm hỗn hợp 2-propanol/hexan (5.1) đến vạch, trộn rồi để yên 1 h.

8.3.1.8 Đo độ hấp thụ của dung dịch thử trắng (bình F; 8.3.1.7) dựa vào dung dịch đối chứng (bình E; 8.3.1.5) và độ hấp thụ của dung dịch thử (bình D; 8.3.1.7) dựa vào dung dịch đối chứng (bình C; 8.3.1.3) dùng máy đo phổ (6.2) ở bước sóng có độ hấp thụ cực đại (khoảng từ 435 nm đến 445 nm).

8.3.1.9 Lấy độ hấp thụ của dung dịch thử trừ đi độ hấp thụ của dung dịch trắng để thu được độ hấp thụ chính xác.

8.3.2 Xác định gossypol tổng số

8.3.2.1 Chuyển phần mẫu thử (8.2) vào bình định mức 50 ml và thêm 10 ml dung môi B (5.3)

8.3.2.2 Chuyển 10 ml dung môi B (5.3) vào bình định mức 50 ml (6.3) thứ hai.

8.3.2.3 Giữ nóng hai bình (8.3.2.1 và 8.3.2.2) trong 30 min trên nồi cách thủy đang sôi.

Làm nguội đến nhiệt độ phòng thêm hỗn hợp 2-propanol/hexan (5.1) đến vạch, trộn và để yên cho lắng xuống trong khoảng từ 10 min đến 15 min, sau đó lọc và thu dịch lọc vào bình nón 50 ml (6.4).

8.3.2.4 Dùng pipet chuyển vào hai bình định mức 25 ml có chứa 40 µg tới 200 µg gossypol 2 ml phần dịch lọc thu được từ phần mẫu thử nghiệm và chuyển vào hai bình định mức 25 ml khác mỗi bình 2 ml phần dịch lọc thu được từ bình thứ hai (mẫu trắng).

Thêm hỗn hợp 2-propanol/hexan (5.1) vào bình đựng dung dịch thử và bình đựng mẫu thử trắng đến vạch.

Dung dịch này được dùng làm dung dịch đối chứng.

8.3.2.5 Thêm 2,0 ml anilin (5.4) vào hai bình đựng dung dịch mẫu trắng và dung dịch thử còn lại. Làm nóng 30 min trên nồi cách thủy đun sôi đến khi hiện màu. Làm nguội đến nhiệt độ phòng, thêm hỗn hợp 2-propanol/hexan (5.1) đến vạch, trộn và sau đó để yên 1 h.

8.3.2.6 Đo độ hấp thụ của các dung dịch theo 8.3.1.8 và tính độ hấp thụ chính xác theo 8.3.1.9.

8.4 Số lần xác định

Tiến hành hai phép xác định trên cùng một mẫu thử.

9 Biểu thị kết quả

9.1 Phương pháp tính và công thức

Hàm lượng gossypol tự do và gossypol tổng số, tính bằng miligam trên kilogam sản phẩm tính được bằng công thức sau:

$$\frac{A \times 1250 \times 1000}{a \times m \times V} = \frac{A \times 1,25}{amV} \times 10^6$$

Trong đó:

A là độ hấp thụ chính xác (8.3.1.9 hoặc 8.3.2.6);

m là khối lượng phần mẫu thử (8.2), tính bằng gam (g);

V là thể tích của phần dịch lọc trong 8.3.1.2 hoặc 8.3.2.4, tính bằng mililit (ml);

a là hệ số hấp thụ khối lượng riêng (62,5 cm⁻¹.g⁻¹.l đối với gossypol tự do; 60,0 cm⁻¹.g⁻¹.l đối với gossypol tổng số).

Lấy kết quả trung bình của hai phép xác định (xem 8.4) nếu đáp ứng điều kiện về độ lặp lại (xem 9.2).

9.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép xác định, được tiến hành đồng thời hoặc liên tiếp nhanh trên cùng mẫu thử, không được vượt quá:

15 % (tương đối) giá trị trung bình đối với hàm lượng gossypol nhỏ hơn 500 mg/kg;

75 mg/kg (tuyệt đối) đối với hàm lượng gossypol từ 500 mg/kg đến 750 mg/kg;

10 % (tương đối) giá trị trung bình đối với hàm lượng gossypol lớn hơn 750 mg/kg.

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ phương pháp đã sử dụng và kết quả thu được. Báo cáo cũng phải đề cập đến các chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy chọn cùng với các chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng tới kết quả.

Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử.