

ICS 65.020
CCS B 20

TB

团 体 标 准

T/NAIA 2024-XXXX

青贮玉米中中性洗涤纤维的测定

Determination of neutral detergent fiber in Silage corn

2024-XX-XX发布

2024-XX-XX实施

宁夏化学分析测试协会 发布

前言

本文件按照 GB/T 1.1-2020 《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出、归口并实施。

本文件起草单位：宁夏农产品质量标准与检测技术研究所、宁夏农林科学院农作物研究所。

本文件主要起草人：李彩虹、葛谦、牛艳、赵子丹、赵丹青、陈翔、王晓静、吴燕、杨静、张维军、赵健、王晓菁。

青贮玉米中中性洗涤纤维的测定

1 范围

本文件规定了测定青贮玉米中中性洗涤纤维（NDF）的样品制备、检测方法（重量法）和技术要点。

本文件适用于青贮玉米中中性洗涤纤维（NDF）的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用本文件；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 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

GB/T 20806 饲料中中性洗涤纤维（NDF）的测定

3 术语和定义

3.1

青贮玉米 Silage corn

在玉米乳熟后期至腊熟期间，收获包括果穗在内的地上部整个植株，作为青贮饲料原料的玉米。

3.2

中性洗涤纤维（NDF）neutral detergent fiber

用中性洗涤剂去除饲料中的脂肪、淀粉、蛋白质和糖类等成分后，残留的不溶解物质的总称。

4 原理

用热稳定 α -淀粉酶和中性洗涤溶液消化、洗涤，除去试样中容易消化的蛋白质、脂类、糖、淀粉和果胶后，剩余的为不溶性纤维残渣，主要为植物性原料成分如纤维素、半纤维素和木质素，以及动物产品中难以消化的含氮物质。

5 取样及试样制备

5.1 取样

按照 GB/T 14699.1 抽取具有代表性的样品，在运输和贮存过程中避免发生损坏和变质。取田间生长青贮玉米，留茬高度 5 cm~10 cm，包括果穗、叶片、茎秆等地面上完整植株。

5.2 样品制备

将整株青贮玉米干燥(水分小于 15%)后粉碎成粉末，四分法缩减样品，按照 GB/T 20195 制备样品，粉碎至全部通过 1 mm 孔筛（GB/T 6003.1），混匀装于密封容器，备用。

6 试剂或材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的三级水。

6.1 无水亚硫酸钠 (Na_2SO_3)。

6.2 乙二胺四乙酸二钠 ($\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。

6.3 无水磷酸氢二钠 (Na_2HPO_4)

6.4 四硼酸钠 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)

6.5 十二烷基硫酸钠 ($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$)

6.6 二缩三乙二醇 ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_4$)

6.7 热稳定 α -淀粉酶溶液：购置热稳定 α -淀粉酶。使用前按照附录 A 对热稳定 α -淀粉酶进行校准和稀释，保证稀释后的 2 mL 热稳定 α -淀粉酶溶液可以除去 0.5 g 生玉米粉中的淀粉。

6.8 中性洗涤溶液：量取 500 mL 水于 1000 mL 烧杯中，加入 18.6 g 乙二胺四乙酸二钠（6.2）、4.56 g 无水磷酸氢二钠（6.3）和 6.81 g 四硼酸钠（6.4），加热溶解，混匀，置于通风橱中。加入 30 g 十二烷基硫酸钠（6.5），溶解后加入 10 mL 二缩三乙二醇（6.6）消除泡沫，加水至约 950mL，搅拌均匀，用盐酸或氢氧化钠将 pH 调至 6.95~7.05，用水稀释至 1000ml。室温保存。

7 仪器设备

7.1 分析天平：精度 0.01g、0.0001g。

7.2 纤维测定仪。

7.3 砂芯坩埚：适配纤维测定仪，孔径 40 μm ~100 μm ，容量 26~30 mL。

7.4 干燥箱：控温精度 $\pm 2^\circ\text{C}$ 。

8 试验步骤

8.1 砂芯坩埚准备

将洁净的砂芯坩埚(7.3)置于105℃±2℃干燥2 h, 取出, 置于干燥器中冷却30 min, 称量(精确至0.0001g)。

8.2 消煮、洗涤

称取试样 0.5 g~0.8 g, 精确至 0.0001g 置于坩埚中, 向每个坩埚中加入 0.5 g 无水亚硫酸钠 (6.1), 置于纤维仪中, 加入 50 mL 中性洗涤溶液 (6.8), 加热至沸腾, 加入 2 mL 热稳定 α -淀粉酶溶液 (6.7), 加热沸腾 60 min \pm 1 min。停止加热, 抽空排除洗涤剂, 加入 20 mL 水煮沸, 加入 2 mL 热稳定 α -淀粉酶溶液 (6.7) 浸洗 60 s, 真空抽干后, 用水冲洗坩埚中的样品, 直至无泡沫。

8.3 干燥

将砂芯坩埚置于干燥箱中, $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 干燥 4 h, 取出, 放入干燥器中冷却 30 min, 称重, 精确至 0.0001g, 直至恒重 (2 次称量结果之差不超过 0.002g)。

9 结果与表达

试样中中性洗涤纤维（NDF）的含量 X 以质量分数计，数值以质量分数（%）表示，按式（1）计算。

式中：

m_1 ——试样测定用砂芯坩埚质量，单位为克(g)；

m_2 —试样和砂芯坩埚经消煮干燥后的总质量，单位为克(g)；

m ——试样质量, 单位为克 (g)。

测定结果以平行测定的算术平均值表示，结果保留至小数点后1位。

10 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 6%。

11 技术要点

11.1 稀释后的热稳定 α -淀粉酶溶液 (6.7) 2℃~8℃保存, 有效期 5 d。

11..2 在配制中性洗涤溶液(6.8)时,如果pH偏离超过0.5,则舍弃该溶液,重新配制。

如果溶液出现沉淀，使用前加热至 25℃，并重新调节 pH 至 6.95~7.05。

11.3 新砂芯坩埚使用前检查过滤速度，每个砂芯坩埚装满 50 mL 水（纤维测定仪砂芯坩埚为 25 mL，在不抽真空的条件下，排干时间为 180 s±60 s（纤维测定仪用砂芯坩埚排干时间为 75 s±30 s）。如果排干时间<120 s（纤维测定仪用砂芯坩埚排干时间<30 s），舍弃不用。如果排干时间>240 s（纤维测定仪用砂芯坩埚排干时间>105 s），采用酸性或者碱性清洗液进行清洗。如果清洗后排干时间仍不能满足要求，则舍弃不用。

11.4 新砂芯坩埚使用前洗干净，520℃±20℃灼烧 1 h。

11.5 砂芯坩埚每次使用后洗干净，520℃±20℃灼烧 3 h，去除灰分，超声清洗 10 min，用热水淋洗，室温下用水浸泡至少 30 min。

11.6 试样第一次加入中性洗涤溶液和热稳定 α -淀粉酶溶液（6.7）煮沸时，期间防止在回流烧杯上方产生过多泡沫把试样颗粒附着在烧杯壁，试样可能有 1 min~2 min 产生大量泡沫，不得降低加热温度。加入热稳定 α -淀粉酶溶液 5 min~10min 后，根据需要用最少量的中性洗涤溶液（6.8）冲洗回流烧杯壁，使样品悬浮在中性洗涤溶液中，最多冲洗 2 次。

11.7 在过滤时（8.2），不能过度抽真空和过度干燥，否则会导致试样残渣堵塞砂芯坩埚，以至于无法清洗。

附录 A

(规范性)

热稳定α-淀粉酶的校准和稀释

A.1 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

A.1.1 水：GB/T 6682，三级。

A.1.2 中性洗涤溶液：量取500 mL 水于1000 mL 烧杯中，加入18.6 g 乙二胺四乙酸二钠（C₁₀H₁₁N₂O₈Na₂·2H₂O）、4.56 g 无水磷酸氢二钠（Na₂HPO₄）和6.81 g 四硼酸钠（Na₂B₄O₇·10H₂O），加热溶解，混匀，置于通风橱中。加入30 g 十二烷基硫酸钠（C₁₂H₂₅NaO₄S），溶解后加入10 mL 二缩三乙二醇（(C₆H₁₄O₄)消除泡沫，加水至约950 mL，搅拌均匀，用浓盐酸或氢氧化钠将 pH 调至6.95~7.05，用水稀释至1000 mL。室温保存。

A.1.3 碘溶液：称取2 g 碘化钾、1 g 碘，溶于100 mL水，混匀，贮存于棕色瓶中。

A.1.4 生玉米粉：取约100 g 水分含量低于14%的生玉米，粉碎使其全部通过1.00 mm孔径分析筛，混匀，装入密闭容器中，备用。

A.1.5 玻璃纤维。

A.2 仪器设备

A.2.1 分析天平：精度0.0001g。

A.2.2 回流消煮装置：配有600 mL烧杯、独立加热单元和适配600 mL烧杯的水冷凝器。

A.2.3 冷水浴：可保持在1°C及以下。

A.2.4 恒温水浴：可保持温度为 20°C ± 0.5°C。

A.2.5 pH计：精度0.01。

A.3 试验步骤

A.3.1 称取0.5g ± 0.005 g 生玉米粉（A.1.4）6份，分别置于6个烧杯（A.2.2）中，加入50 mL 中性洗涤溶液（A.1.2），摇匀。量取50 mL中性洗涤溶液（A.1.2），置于100 mL烧杯中，加入0.10 mL热稳定α-淀粉酶，摇匀，作为试剂空白。

A.3.2 将6个烧杯（A.2.2）连接到回流消煮装置上，加热，5 min内煮沸，向6个烧杯（A.2.2）中分别加入0 mL、0.025 mL、0.05 mL、0.10 mL、0.20 mL、0.40 mL热稳定α-淀粉酶，回流消煮10 min，1 min内全部取下，分别再次加入0 mL、0.025 mL、0.05 mL、0.10

mL、0.20 mL、0.40 mL热稳定 α -淀粉酶，摇匀，用最少量的中性洗涤溶液（A.1.2）冲洗烧杯壁，让热稳定 α -淀粉酶反应60s，消煮液通过玻璃纤维（A.1.5）过滤至100 mL烧杯。

A.3.3 将6个消煮液放入冷水浴中，冷却，5 min后取出，置于20°C±0.5°C水浴中，当消煮液达到20°C±0.5°C时，取出烧杯，并在白色背景下按添加热稳定 α -淀粉酶剂量的顺序排列。

A.3.4 在试剂空白和6个消煮液中快速加入0.5 mL碘溶液（A.1.3），混匀，90 s后，从上部观察烧杯中溶液的颜色，按下述规定对每种溶液的颜色快速作出判断：

- 溶液呈紫色表示酶的量严重不足；
- 溶液呈浅琥珀色或琥珀色表示酶的量仍然不够；
- 溶液呈浅黄色则表示酶的量足够，记录与之对应的A.3.2添加的热稳定 α -淀粉酶体积。

注：用空白作为对照，热稳定 α 淀粉酶溶液的棕色不与浅琥珀色或琥珀色混淆。

A.3.5 如果颜色差异不明显，自置于20°C±0.5°C水浴中开始，按A.3.3和A.3.4重复操作。如果结果为全部过量或全部不足，或需要计算更加精确的热稳定 α -淀粉酶溶液使用量，可适当改变添加热稳定 α -淀粉酶体积和梯度，重新校准。

A.3.6 新的热稳定 α -淀粉酶溶液应校准。如果在一段时间内使用同一批热稳定 α -淀粉酶，则应每6个月校准1次活性。

A.3.7 使用前按照表A.1稀释热稳定 α -淀粉酶，保证稀释后的2 mL热稳定 α -淀粉酶溶液可以除去0.5 g生玉米粉中的淀粉。稀释后的热稳定 α -淀粉酶溶液2°C~8°C保存，有效期不超过5 d。

表A.1 热稳定 α -淀粉酶稀释计算表

单位：毫升

溶液呈浅黄色对应的A.3.2添加的热稳定 α -淀粉酶的体积	0.025	0.05	0.10	0.20	0.40
每10个样品所需热稳定 α -淀粉酶体积	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00
每10个样品加水稀释后热稳定 α -淀粉酶溶液体积	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0