ICS 65.120

|  |
| --- |
| B 46      |

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T XXXXX—20XX

|  |
| --- |
|  |

饲料原料 小麦水解蛋白

Feed materials-Hydrolyzed wheat protein

|  |
| --- |
| （送审稿） |
|  |

201X - XX - XX发布

201X - XX - XX实施

中华人民共和国农业农村部   发布

前  言

本标准依据GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

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这些专利的责任。

本标准由中华人民共和国农业农村畜牧兽医局提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）归口。

本标准起草单位: 河南省兽药饲料监察所、江苏智荟生物科技有限公司。

本标准主要起草人: 吴志明、谭旭信、胡竑邠、吴宁鹏、杜红鸽、彭丽、陈小鸽、范念亭、刘亚彬、朱红继、邱富娜、陈阳。

饲料原料 小麦水解蛋白

1 范围

本标准规定了饲料原料小麦水解蛋白的术语和定义、技术要求、取样、试验方法、检验规则、标签、包装、运输、贮存和保质期。

本标准适用于以谷朊粉为原料，经酶水解和喷雾干燥等工艺制成的饲料原料。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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 2711 食品安全国家标准 面筋制品

GB/T 5917.1 饲料粉碎粒度测定 两层筛筛分法

GB/T 6432 饲料中粗蛋白测定方法

GB/T 6435 饲料中水分的测定

GB/T 6438 饲料中粗灰分的测定

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定

GB/T 10647 饲料工业术语

GB 10648 饲料标签

GB 13078 饲料卫生标准

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB/T 18823 饲料检测结果判定的允许误差

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

GB/T 21924 谷朊粉

JJF 1070 定量包装商品净含量计量检验规则

定量包装商品计量监督管理办法（2005年国家质量监督检验检疫总局第75号令）。

3 术语和定义

GB/T 10647界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

小麦水解蛋白 hydrolyzed wheat protein

以谷朊粉或面筋为原料，经酶水解和喷雾干燥等工艺制成的饲料原料。

4 技术要求

4.1 原料要求

谷朊粉应符合GB/T 21924的规定，面筋应符合GB 2711的规定。

4.2 外观与性状

粉状，色泽一致，呈白色、灰白色或淡黄色，粒度均匀，无结块，无异味。

4.3 理化指标

理化指标应符合表1要求。

1. 理化指标

|  |  |
| --- | --- |
| 项目 | 指标 |
| 一级 | 二级 |
| 细度（0.42 mm的分析筛筛选通过率），% ≥  | 99.5 |
| 水分，% ≤  | 8.0 |
| 粗灰分，% ≤  | 1.2 | 2.0 |
| 粗蛋白，% ≥  | 80.0 | 75.0 |
| 酸溶蛋白，% ≥  | 25.0 | 20.0 |
| 谷氨酰胺，% ≥ | 20.0 |

4.4 卫生指标

应符合GB 13078的有关规定。

4.5 净含量

应符合GB 10648的规定，偏差应符合《定量包装商品计量监督管理办法》的规定。

5 取样

按GB/T 14699.1规定执行。

6 试验方法

6.1 感官检验

取适量样品，在非直射阳光条件下，观其形态、色泽，嗅其气味。

6.2 细度

 按 GB/T 5917.1规定执行。

6.3 水分

 按GB/T 6435规定执行。

6.4 粗灰分

 按GB/T 6438规定执行。

6.5 粗蛋白

 按GB/T 6432规定执行。

6.6 酸溶蛋白

 按附录A规定执行。

6.7 谷氨酰胺

 按本附录B规定执行。

6.8 卫生指标

 按GB 13078规定执行。

7 检验规则

7.1 组批

以相同材料、相同生产工艺、连续生产或同一班次生产的同一规格的产品为一批，但每批产品不得超过100t。

7.2 出厂检验

感官、细度、水分、粗灰分、粗蛋白质、酸溶蛋白为出厂检验指标。

7.3 型式检验

型式检验项目为本标准第4章规定的所有项目。在正常生产情况下，每半年至少进行1次型式检验。有下列情况之一时，亦应进行型式检验：

 a) 产品定型投产时；

 b）生产工艺、配方或主要原料来源有较大改变，可能影响产品质量时；

 c）停产3个月以上，重新恢复生产时；

 d）出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差异时；

 e) 饲料行政管理部门提出检验要求时；

f) 进行小麦水解蛋白生产许可证的发放和复查时。

7.4 判定规则

7.4.1 所验项目全部合格，判定为该批次产品合格。

7.4.2 检验结果中有任何指标不符合本标准规定时，可自同批产品中重新加倍取样进行复检。若复检结果仍不符合本标准规定，则判定该批产品不合格。微生物指标不得复检。

7.4.3 各项目指标的极限数值判定按GB/T 8170中修约值比较法执行。

7.4.4 检验结果判定的允许误差按GB/T 18823规定执行(不适用于饲料原料的卫生指标)。

8 标签、包装、运输、贮存和保质期

8.1 标签

按GB 10648规定执行。

8.2 包装

包装材料应无毒、无害、防潮。

8.3 运输

运输中应防止包装破损、日晒、雨淋，禁止与有毒有害物质共运。

8.4 贮存

贮存时应防止日晒、雨淋，禁止与有毒有害物质混储。

8.5 保质期

未开启包装的产品，在规定的运输、贮存条件下，产品保质期与标签中标明的保质期一致。

**附 录A**

**（规范性附录）**

**酸溶蛋白（三氯乙酸可溶蛋白）的测定**

**A.1 原理**

样品经三氯乙酸溶液溶解后离心，取上清液，测定上清液中酸溶蛋白（较低分子量的蛋白质水解物，其中包含肽及游离氨基酸）的含量，计算出样品中酸溶蛋白的含量。

**A.2 试剂或材料**

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯。

A.2.1 水：GB/T 6682，三级。

A.2.2 蔗糖。

A.2.3 盐酸。

A.2.4 硫酸铵

A.2.5 盐酸标准溶液： c(HCl) = 0.1 mol/L，按GB/T 601配制和标定。

A.2.6 30%三氯乙酸：称取30 g三氯乙酸，用水溶解并稀释至100 mL。

A.2.7 氢氧化钠溶液：称取40 g氢氧化钠，用水溶解，待冷却至室温后，用水稀释至100 mL。

A.2.8 硼酸吸收液Ⅰ：称取20 g硼酸，用水溶解并稀释至1000 mL。

A.2.9 硼酸吸收液Ⅱ：硼酸吸收液Ⅰ加入0.1%溴甲酚绿乙醇溶液10 mL，0.1%甲基红乙醇溶液7 mL,4%氢氧化钠水溶液0.5 mL, 混匀，室温保存期为1个月。

A.2.10 甲基红乙醇溶液：称取0.1 g甲基红，用乙醇溶解并稀释至100 mL。

A.2.11 溴甲酚绿乙醇溶液：称取0.5 g溴甲酚绿，用乙醇溶解并稀释至100 mL。

A.2.12 混合催化剂：0.4 g五水硫酸铜，6 g硫酸钾或硫酸钠，磨碎混匀；或购买商品化的凯氏定氮催化剂片。

A.2.13 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，在阴凉处保存期为3个月。

**A.3 仪器设备**

A.3.1 定氮仪：以凯氏原理制造的各类型半自动，全自动蛋白质测定仪。

A.3.2 分析天平：感量0.0001 g 。

A.3.3 离心机：转速可达4000 r/min。

A.3.4 消化炉或电炉。

A.3.5 磁力搅拌器。

A.3.6 凯氏烧瓶。

A.3.7 凯氏蒸馏装置：半微量水蒸气蒸馏式。

A.3.8 滴定管：酸式，25 mL。

**A.4 样品**

按GB/T 20195制备样品，至少约200 g，粉碎过0.42 mm孔径的分析筛，充分混匀，装入磨口瓶中保存备用。

**A.5 试验步骤**

**A.5.1 酸溶蛋白含量的测定**

称取0.2 g（精确至0.0001 g）样品于50 mL离心管中，准确加入5 mL纯水溶解充分后，再准确加入5 mL 30%三氯乙酸溶液（A.2.6），充分混合均匀，静置10 min。将样品溶液在4000 r/min下离心10 min后，取全部上清液，按GB/T 6432规定的方法测定上清液中粗蛋白质的含量，计算出样品中酸溶蛋白含量，蛋白质换算系数为6.25。

**A.5.2 蒸馏步骤的检验**

精确称取0.2g硫酸铵（A.2.4），代替试样，按GB/T 6432规定的方法步骤进行操作，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。

**A.5.3 空白测定**

称取蔗糖0.5 g，代替试样，按A.5.1的方法测定，消耗0.1 mol/L盐酸标准溶液(A.2.5)的体积不得超过0.2 mL。

**A.6 试验数据处理**

酸溶蛋白质的含量以质量分数*w*计，数值以%表示。按公式（1）计算：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| *w*（%）＝  | （*V*2-*V*1）×*C*×0.0140×6.25 | ×100 ………………（1） |
|   *m* × | *V*3 |  |
| *V* |

式中：

*w* —试样中酸溶蛋白质的含量，%；

V2 ——滴定试样时所需盐酸标准溶液体积，单位为毫升（mL）；

V1 ——滴定空白时所需盐酸标准溶液体积，单位为毫升（mL）；

C ——盐酸标准溶液浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；

m ——试样质量，单位为克（g）；

V——试样分解液总体积，单位为毫升（mL）；

V3 ——试样分解液蒸馏用体积，单位为毫升（mL）；

0.0140 ——每毫克当量氮的克数；

6.25 ——氮换算成蛋白质的平均系数。

测定结果用平行测定的算术平均值表示，结果保留小数点后两位。

**A.7 精密度**

在重复性条件下，两次独立测定结果与其算数平均值的绝对差值与该平均值的比值应符合以下要求：

酸溶蛋白质含量大于25%时，不超过2.0%。

酸溶蛋白质含量在10%～25%之间时，不超过4.0%。

酸溶蛋白质含量小于10%时，不超过6.0%。

**附 录B**

**（规范性附录）**

**谷氨酰胺的测定**

**B.1 原理**

样品中谷氨酰胺残基（非游离及N末端谷氨酰胺）通过BTI（[双(三氯乙酰氧基)碘]苯）试剂衍生化，生成DABA（4,4'-二氨基苯酰替苯胺）， DABA对酸稳定不会被酸解。对照样品中的谷氨酰胺未经衍生，酸解转化为谷氨酸。通过对照和样品中谷氨酸含量差值计算出结合态谷氨酰胺的含量。

**B.2 试剂或材料**

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯。

B.2.1 水：GB/T 6682，二级。

B.2.2 乙腈：色谱纯。

B.2.3 盐酸：优级纯。

B.2.4 吡啶水溶液：取1.50 mL吡啶，加水稀释至50 mL，混匀。

B.2.5 BTI-乙腈溶液：取2.5 g BTI，用乙腈溶解并稀释至25mL，混匀。

B.2.6 6 mol/L盐酸溶液：移取盐酸50 mL，用水缓慢稀释至100 mL，混匀。

B.2.7 pH 2.2柠檬酸钠缓冲液：称取柠檬酸三钠19.6g，用水溶解后加入盐酸16.5 mL，硫二甘醇5.0 mL，苯酚1g，加水定容至1000 mL，混匀。

B.2.8 0.1 mol/L盐酸溶液：移取盐酸0.9 mL，用水缓慢稀释至100 mL，混匀。。

B.2.9 不同pH和离子强度的洗脱用柠檬酸钠缓冲液：按仪器说明书配制。

B.2.10 茚三酮溶液：按仪器说明书配制。

B.2.11 谷氨酸标准储备液（10 µmol/mL）：精密称取谷氨酸标准品（CAS：56-86-0，纯度不低于99%）14.71 mg （准确至0.01mg）于10 mL棕色容量瓶中，用0.1 mol/L盐酸溶液（B.2.8）溶解定容。

B.2.12 谷氨酸标准储备液（100 nmol/mL）：准确移取谷氨酸标准储备液（B.2.11）100 µL于10 mL容量瓶中，用pH 2.2柠檬酸钠缓冲液（B.2.7）稀释定容，现配现用。

B.2.13 尼龙微孔滤膜：0.22 µm。

**B.3 仪器设备**

B.3.1 氨基酸分析仪

B.3.2 分析天平：感量0.1 mg，0.01 mg。

B.3.3 磁力搅拌器

B.3.4 超声波清洗仪

B.3.5 恒温水浴摇床

B.3.6 氮吹仪

B.3.7 电热恒温干燥箱

B.3.8 氨基酸水解管：10 mL。

**B.4 样品**

按GB/T 20195制备样品，至少约200 g，粉碎过0.42 mm孔径的分析筛，充分混匀，装入磨口瓶中保存备用。

**B.5 试验步骤**

**B.5.1 样品溶液配制**

准确称取1g样品（精确至0.0001g），置于250 mL烧杯中，准确加入100.00 mL水，振荡30 min， 50-60℃超声30 min，使样品充分溶解和分散，制成10 mg/mL的溶液。

**B.5.2 BTI衍生**

在磁力搅拌状态下准确量取样品液1.00 mL于水解管中，加入100 μL吡啶水溶液（B.2.4），再加800 μL BTI-乙腈溶液（B.2.5），封口，50-60℃超声1h，60 ℃水浴震荡1.5h， 60℃氮气吹干。

**B.5.3 对照处理**

在磁力搅拌状态下准确量取样品液1.00 mL于水解管中，加入100 μL吡啶水溶液（B.2.4），再加800 μL乙腈（B.2.2），封口，50-60℃超声1h，60 ℃水浴震荡1.5h，60℃氮气吹干。

**B.5.4 酸水解**

BTI处理组与对照组水解管分别准确加入5.00 mL 6 mol/L盐酸（B.2.6），封口后在烘箱中145 ℃水解4 h。准确吸取水解液100 µL，氮气吹干，加入2 mLpH2.2柠檬酸钠缓冲溶液（B.2.7）溶解残余物，过尼龙微孔滤膜，进氨基酸分析仪检测。

**B.5.5 测定**

用谷氨酸标准工作液按仪器说明书，调整仪器操作参数和（或）洗脱用柠檬酸钠缓冲液的pH，使谷氨酸分辨率≥85%，注入制备好的试样水解液和相应的谷氨酸标准工作液，进行分析测定每10个样品为一组，组间插入混合氨基酸标准工作液进行校准。

**B.6 试验数据处理**

样品中谷氨酰胺的含量（*w*）以质量分数（%）表示，按公式计算：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| *w*（%）＝ | $$\frac{\left(A\_{0}-A\right)}{m}×10^{-6}×D×0.993×100$$ | ………………（2） |

式中：

*A0*—每毫升对照处理溶液测定的谷氨酸的含量，单位为纳克（ng）；

*A*—每毫升BTI保护处理样品液测定的谷氨酸的含量，单位为纳克（ng）；

*m*—称样量，单位为毫克（mg）。

*D*—稀释倍数；

0.993—谷氨酸与谷氨酰胺转换系数。

测定结果用平行测定的算术平均值表示，结果保留两位小数。

**B.7 精密度**

在重复性条件下，两次独立测定结果与其算数平均值的绝对差值与该平均值的比值应不大于4%。

|  |
| --- |
|  |