ICS 65.120
CCS B 46

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T -2023

饲料原料 裂壶藻粉

Feed materials-*Schizochytrium sp.* Algae meal

（征求意见稿）

2023-**-**发布 2023-**-**实施

中华人民共和国农业农村部 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。

本文件由中华人民共和国农业农村部畜牧兽医局提出。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC76)归口。

本文件起草单位：青岛琅琊台集团股份有限公司、南京师范大学、中科院青岛生物能源与过程研究所、黄岛区农业农村局、青岛科源海洋生物有限公司、江苏天凯生物科技有限公司、厦门金达威集团股份有限公司、嘉必优生物技术（武汉）股份有限公司、广东润科生物工程股份有限公司、厦门汇盛生物有限公司、山东悦翔生物有限公司、青岛科海生物有限公司、广东丝恩食品工业有限公司、湖北欣和生物科技有限公司、中国动物卫生与流行病学中心、中粮营养健康研究院有限公司

本文件主要起草人：李悦明、黄和、崔球、徐洪清、徐建春、夏修峦、胡学超、李丹、唐孝鹏、郑晓辉、钟惠昌、文莉莉、韩萍、董婉、徐炳政、王立春、宋晓金、田丽华、黄茂辉、鲁静、刘坤、张晓琳、郭东升、邹球龙、印铁、张忠鑫、阮长明。

饲料原料 裂壶藻粉

1 范围

本文件规定了裂壶藻粉的技术要求,描述了相应的取样、试验方法、检验规则、标签、包装、运输、贮存和保质期。

本文件适用于以裂壶藻（*Schizochytrium sp.*）种为原料，通过发酵、分离、干燥等工艺生产的富含二十二碳六烯酸（Docosahexaenoic acid，DHA）的藻粉。

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于本文件；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 6432 饲料中粗蛋白测定 凯氏定氮法
GB/T 6435-2014 饲料中水分的测定
GB/T 6438 饲料中粗灰分的测定
GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定
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 28717-2012 饲料中丙二醛的测定 高效液相色谱法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 技术要求

4.1 外观与性状

外观与性状指标应符合表 1 的规定。

表1 外观与性状指标

项 目	指 标
色 泽	浅黄色至棕黄色
气 味	具有裂壶藻藻粉独特的气味，无酸败、焦糊等其他异味

杂 质	无肉眼可见异物
形 态	粉末状或小颗粒状，无霉变性结块

4.2 理化指标

理化指标应符合表2的规定。

表2 理化指标

项 目	指 标		
	Ⅰ级	Ⅱ级	Ⅲ级
DHA 含量/（g/100g）	≥22.0	≥15.0	≥10.0
粗脂肪/%	≥45.0	≥40.0	≥30.0
粗蛋白质/%	≥10.0		
水分/%	≤5.0		
粗灰分/%	≤15.0		
丙二醛（以裂壶藻粉所含粗脂肪为基础计）/（mg/kg）	≤20		

4.3 卫生指标

应符合GB 13078 的要求。

5 取样

按GB/T 14699.1的规定执行。

6 试验方法

6.1 外观与性状

取适量样品置于清洁、干燥的白瓷盘中，在自然光线下观察其色泽、形态和杂质，嗅其气味。

6.2 DHA 含量

按附录A的规定执行。

6.3 粗脂肪

按附录 B 的规定执行。

6.4 粗蛋白质

按 GB/T 6432 的规定执行。

6.5 水分

按 GB/T 6435-2014 的 8.2 执行。

6.6 粗灰分

按 GB/T 6438 的规定执行。

6.7 丙二醛

按GB/T 28717-2012的规定测定裂壶藻粉粉中丙二醛，再除以粗脂肪含量。

$$X = \frac{\chi}{\omega} \times 100 \quad \cdots\cdots (A.1)$$

式中：

X ——试样中以裂壶藻粉所含粗脂肪为基础计丙二醛含量，mg/kg；

χ ——裂壶藻粉中的丙二醛含量，mg/kg；

ω ——裂壶藻粉粗脂肪含量，%

7 检验规则

7.1 组批

以相同原辅料、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。

7.2 出厂检验

出厂检验项目为外观与性状、DHA 含量、粗脂肪。

7.3 型式检验

有型式检验项目为第 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。在有下列情况之一时，亦应进行型式检验：

— 新产品投产前；

— 出厂检验结果与上次型式检验有较大差异；

— 更换设备、主要原辅材料或关键工艺有更改，可能影响产品质量时；

— 停产三个月及以上，再恢复生产时；

— 饲料行政管理部门提出检验要求时。

7.4 判定规则分级之后判定规则

7.4.1 所验项目全部合格，判定为该批次产品合格。

7.4.2 检验结果中有任意一项指标不符合本文件规定时，可自同批次产品中重新加倍取样进行复检。若复检有一项结果不符合本文件规定，即判定该批次产品不合格。微生物指标不得复检。

7.4.3 质量等级综合判定：抽检样品的各项理化指标均同时符合某一等级时，则判定所代表的的该批次产品为该等级；若有任意一项指标低于该等级标准时，则按单项指标所能达到的级别定级。任意一项低于第Ⅲ级别标准时，则判定所代表的该批次产品不符合本文件要求。

7.4.4 质量等级分项判定：抽检样品某一项（或几项）符合某一等级，则判定所代表的该批次产品符合该项指标的质量等级。

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

7.4.6 理化指标检验结果判定的允许误差按GB/T 18823的规定执行。

8 标签、包装、运输、贮存和保质期

8.1 标签

按GB 10648的规定执行。

8.2 包装

包装材料应无毒、无害、防潮。

8.3 运输

运输中防止包装破损、日晒、雨、雪、高温、受潮及人为损坏，不应与有毒、有害、有异味等物质混装混运。

8.4 贮存

贮存时防止日晒、雨淋，不应与有毒有害物质混储，保持干燥和通风。

8.5 保质期

产品保质期应与标签中标明的保质期一致。

附录 A
（规范性）
DHA含量的测定

A.1 原理

用加入内标物的试样经水解-石油醚提取试样中的粗脂肪后，在碱性条件下脂肪经皂化、甲酯化生成脂肪酸甲酯，经毛细管柱气相色谱仪分析，内标法测定DHA含量。

A.2 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析试剂。

A.2.1 水：GB/T 6682，一级。

A.2.2 正庚烷：色谱纯。

A.2.3 甲醇：色谱纯。

A.2.4 石油醚：沸程30℃~60℃。

A.2.5 焦性没食子酸（$C_6H_6O_3$）。

A.2.6 乙醇（C_2H_5OH）（95%）。

A.2.7 无水硫酸钠：150℃烘干1h，密封保存，备用。

A.2.8 三氟化硼甲醇溶液：15%（市售）

A.2.9 盐酸溶液（8.3mol/L）：量取250mL盐酸，用110mL水稀释，混匀，室温可放置2个月。

A.2.10 乙醚--石油醚混合液（1+1）：取等体积的乙醚和石油醚，混匀备用。

A.2.11 2%氢氧化钠甲醇溶液：称取2g氢氧化钠，溶解于100mL甲醇中，混匀，备用。

A.2.12 饱和氯化钠溶液：称取360g氯化钠，加入1000mL水，搅拌溶解，澄清后备用。

A.2.13 氢氧化钾甲醇溶液（2mol/L）：将13.1g氢氧化钾溶于100mL无水甲醇中，可轻微加热，加入无水硫酸钠干燥、过滤，即得澄清溶液。

A.2.14 十一碳酸甘油三酯（CAS号：13552-80-2）：准确称取2.5g（精确至0.1mg）十一碳酸甘油三酯至烧杯中，加入甲醇溶解，移入500ml容量瓶后用甲醇定容，在冰箱中冷藏可保存1个月。

A.2.15 DHA甲酯标准品（CAS号：2566-90-7，含量≥98%）：取适量DHA甲酯标准于10mL容量瓶中，用正庚烷稀释定容，混匀-10℃以下保存，有效期3个月。

A.2.16 混合脂肪酸甲酯甲酯标准溶液：取出适量脂肪酸甲酯混合标准移至到10mL容量瓶中，用正庚烷稀释定容，贮存于-10℃以下保存，有效期3个月。

A.3 仪器设备

A.3.1 电子天平：感量0.1mg。

A.3.2 气相色谱仪：配有氢火焰离子检测器（FID检测器）。

A.3.3 恒温水浴锅：温控范围40℃~100℃，控温精度±1℃。

A.3.4 干燥箱：温度可达150℃，控温精度±1℃。

A.3.6 旋转蒸发仪。

A.4 试验步骤

A.4.1 试样的称取

称取试样0.5g（精确至0.1mg）移入到250mL平底烧瓶中，准确加入2.0mL十一碳酸甘油三酯内标溶液。加入约100mg焦性没食子酸，加入几粒沸石，再加入2mL95%乙醇和4mL水，混匀。

A.4.2 试样的水解

加入盐酸溶液10mL，混匀。将烧瓶放入70℃~80℃水浴中水解40min。每隔10min振荡一下烧瓶，使黏附在烧瓶壁上的颗粒物混入溶液中。水解完成后，取出烧瓶冷却至室温。

A.4.3 脂肪提取

水解后的试样，加入10mL95%乙醇，混匀。将烧瓶中的水解液转移到分液漏斗中，用50mL乙醚-石油醚混合液冲洗烧瓶和塞子，冲洗液并入分液漏斗中，加盖。振摇5min，静置10min。将醚层提取液收集到250mL烧瓶中。按照以上步骤重复提取水解液3次，最后用乙醚-石油醚混合液冲洗分液漏斗，并收集到250mL烧瓶中。旋转蒸发仪浓缩至干，残留物为脂肪提取物。

A.4.4 脂肪的皂化和脂肪酸的甲酯化

在脂肪提取物中加入2%氢氧化钠甲醇溶液8mL，连接回流冷凝器，80℃±1℃水浴上回流20min。从冷凝回流器上端加入15%三氟化硼甲醇溶液7mL，继续在80℃±1℃水浴上回流5min后，用少量水冲洗回流冷凝器。停止加热，从水浴上取下烧瓶，用冰浴迅速冷却至室温。准确加入10mL正庚烷，振摇2min，再加入饱和氯化钠水溶液2mL，涡旋混合30s，静置分层。吸取上层正庚烷提取溶液5mL，至25mL试管中，加入3g~5g无水硫酸钠，振摇1min，静置5min，吸取上层溶液于进样瓶中，待测。

A.4.5 气相色谱参考条件

取DHA甲酯标准溶液和脂肪酸甲酯混合溶液分别注入气相色谱仪，对色谱峰进行定性。

毛细管色谱柱：聚二氰丙基硅氧烷强极性固定相，长100m，内径0.25mm，膜厚0.2μm，或性能相当者。

检测器温度：280℃。

进样口温度：270℃。

柱温：初始100℃，保持13min，10℃/min升温至180℃，保持6min；1℃/min升温至200℃，保持20min；4℃/min升温至230℃，保持10.5min。

进样量：1.0μL。

分流比：50:1。

载气：氮气。

载气流速：1.0mL/min。

尾吹气流速：40mL/min

氢气流速：40mL/min

空气流速：400mL/min

A.5 测定

在仪器的最佳条件下将脂肪酸标准测定液分别注入气相色谱仪，以色谱峰峰面积定量。

A.6 试样数据处理

试样中DHA含量的计算公式为：

$$X = 0.959 \times F \times \frac{A_i}{A_{C11}} \times \frac{C_{C11} \times V_{C11} \times 1.0067}{m} \times 100 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots（A.1）$$

式中：

X ——试样中DHA含量，g/100g；

0.959 ——二十二碳六烯酸甲酯转换成脂肪酸的系数；

F ——二十二碳六烯酸甲酯的响应因子；

A_i ——试样中二十二碳六烯酸甲酯的峰面积；

A_{C11} ——试样中加入的内标物十一碳酸甲酯峰面积；

C_{C11} ——十一碳酸甘油三酯浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）

V_{C11} ——试样中加入十一碳酸甘油三酯体积，单位为毫升（mL）

1.006 7 ——十一碳酸甘油三酯转化成十一碳酸甲酯的转换系数；

m ——试样的质量，单位为毫克（mg）；

100 ——将含量转换为每100g试样中含量的系数。

$$F = \frac{C_S \times A_{11}}{A_S \times C_{11}} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots（A.2）$$

F ——脂肪酸甲酯的响应因子；

C_S ——混标中二十二碳六烯酸甲酯的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

A_{11} ——十一碳酸甲酯峰面积；

A_S ——二十二碳六烯酸甲酯的峰面积；

C_{11} ——混标中十一碳酸甲酯浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）。

附录 B
（规范性）
粗脂肪的测定

B.1 原理

裂壶藻粉中的结合态脂肪必须用强酸使其游离出来，游离出来的脂肪易溶于有机溶剂。试样经酸水解后用无水乙醚提取，除去溶剂即得游离态和结合态脂肪的总含量。

B.2 试剂

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。

B.2.1 盐酸（HCl）。

B.2.2 乙醇（C_2H_5OH）（95%）。

B.2.3 无水乙醚（$C_4H_{10}O$）。

B.3 仪器和设备

B.3.1 恒温水浴锅。

B.3.2 分析天平：感量为0.1g和0.001g。

B.3.3 电热鼓风干燥箱。

B.4 分析步骤

B.4.1 试样酸水解

称取约2g~5g，准确至0.001g，置于50mL试管内，加入8mL水，混匀后再加10mL盐酸。将试管放入70℃~80℃水浴中，每隔5min~10min振摇试管，至试样消化完全为止，约40min~50min。

B.4.2 抽提

取出试管，加入10mL乙醇，混合。冷却后将混合物移入100mL具塞量筒中，以25mL无水乙醚分数次洗试管，一并倒入量筒中。待无水乙醚全部倒入量筒后，加塞振摇1min，小心开塞，放出气体，再塞好，静置12min，小心开塞，并用乙醚冲洗塞及量筒口附着的脂肪。静置10min~20min，待上部液体清晰，吸出上清液于已恒重的锥形瓶，再加5mL无水乙醚于具塞量筒内，振摇，静置后，仍将上层乙醚吸出，放入原锥形瓶内。

B.4.3 称量

回收无水乙醚，待溶剂剩余1mL~2mL时在水浴上蒸干，再于100℃±5℃干燥1h，放干燥器内冷却0.5h后称量。重复以上操作直至恒重（直至两次称量的差不超过2mg）。

B.4.4 分析结果

试样中脂肪的含量按式（B.1）计算：

$$X = \frac{m_1 - m_0}{m_2} \times 100 \quad \cdots\cdots (B.1)$$

式中：

X——试样中脂肪的含量，单位为克每百克（g/100g）；

m_1——恒重后接收瓶和脂肪的含量，单位为克（g）；

m_0——接收瓶的质量，单位为克（g）；

m_2——接收瓶的质量，单位为克（g）；

100——折算系数。

计算结果表示小数点后一位。

B.4.5 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数平均值的 10%。