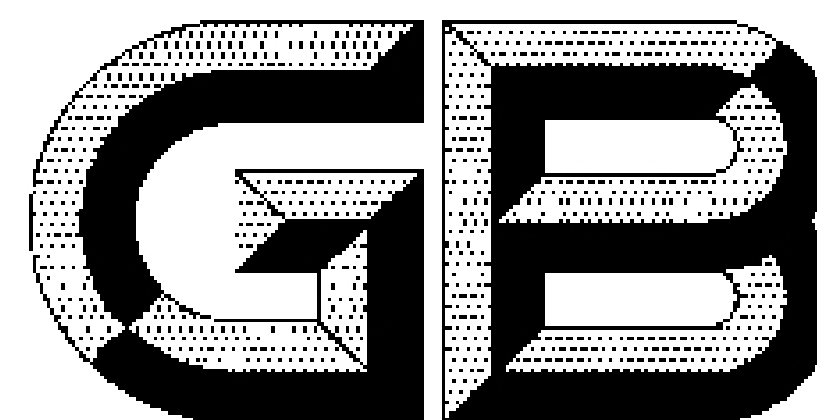




中华人民共和国国家标准

GB/T 20806—2022

代替 GB/T 20806—2006

饲料中中性洗涤纤维(NDF)的测定

Determination of neutral detergent fiber(NDF) in feeds

2022-12-30 发布

2023-07-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

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。

本文件代替 GB/T 20806—2006《饲料中中性洗涤纤维(NDF)的测定》，与 GB/T 20806—2006 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 更改了样品细度要求(见 4.4, 2006 年版的 7.2)；
- b) 增加了预先脱脂步骤(见 4.5.3)；
- c) 增加了消煮用“0.5 g 无水亚硫酸钠”(见 4.5.4)；
- d) 增加了助滤剂(见 4.5.5)；
- e) 更改了试验数据处理(见 4.6, 2006 年版的 8.1)；
- f) 增加了滤袋法(见第 5 章)；
- g) 增加了热稳定 α -淀粉酶的校准和稀释(见附录 A)。

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。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)提出并归口。

本文件起草单位：四川威尔检测技术股份有限公司、山东省畜产品质量安全中心、青海省农业农村厅。

本文件主要起草人：张凤枰、张芸、张茹、宋军、孙延军、杜亚欣、宋涛、张玮、李斌、李永亮、张小超。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2006 年首次发布为 GB/T 20806—2006；

——本次为第一次修订。

饲料中中性洗涤纤维(NDF)的测定

1 范围

本文件描述了饲料中中性洗涤纤维(NDF)测定的坩埚法和滤袋法。
本文件适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料和饲料原料中中性洗涤纤维(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 6682 分析实验室用水规格和试验方法
- GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 坩埚法(仲裁法)

4.1 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。

4.2 试剂或材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

- 4.2.1 水:GB/T 6682,三级。
- 4.2.2 无水亚硫酸钠(Na_2SO_3)。
- 4.2.3 丙酮。
- 4.2.4 盐酸溶液(4 mol/L):量取 328 mL 浓盐酸,用水稀释至 1 000 mL,混匀。
- 4.2.5 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。稀释后的热稳定 α -淀粉酶溶液 2 $^{\circ}\text{C}$ ~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期 5 d。
- 4.2.6 中性洗涤溶液:量取 500 mL 水于 1 000 mL 烧杯中,加入 18.6 g 乙二胺四乙酸二钠($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、4.56 g 无水磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)和 6.81 g 四硼酸钠($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$),加热溶解,混匀,置于通风橱中。加入 30 g 十二烷基硫酸钠($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$),溶解后加入 10 mL 二缩三乙二醇($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_4$)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 1 000 mL。室温保存。

注：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。

4.2.7 助滤剂：石英砂，粒径 125 μm~150 μm。使用前加入 4 mol/L 盐酸溶液(4.2.4)浸没，煮沸，用水洗涤至中性，置于马弗炉(4.3.6)中，500℃±20℃灼烧 2 h，取出，冷却后放入干燥器中备用。

4.3 仪器设备

4.3.1 分析天平：精度 0.01 g、0.000 1 g。

4.3.2 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，或采用按照 4.1 原理制造的纤维测定仪。

4.3.3 砂芯坩埚：孔径 40 μm~60 μm，高型，50 mL，或适配纤维测定仪，孔径 40 μm~100 μm，容量 26 mL~30 mL。

注 1：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。

注 2：新砂芯坩埚使用前洗干净，500℃±20℃灼烧 1 h。

注 3：每次使用后洗干净，500℃±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。

4.3.4 真空抽滤装置：抽滤瓶、真空泵。

4.3.5 干燥箱：控温精度±2℃。

4.3.6 马弗炉：控温精度±20℃。

4.3.7 pH 计：精度±0.01。

4.4 样品

如果试样水分含量大于 15%，应先将试样在低于 60℃烘箱中风干，使其水分达到 15%以下。按 GB/T 20195 制备样品，至少 200 g，粉碎使其全部通过 1 mm 孔径的分析筛，充分混匀，装入密闭容器中，备用。

4.5 试验步骤

4.5.1 砂芯坩埚准备

将洁净的砂芯坩埚(4.3.3)于 105℃±2℃干燥 2 h，取出，置于干燥器中冷却 30 min，称量(精确至 0.000 1 g)。

4.5.2 称量试样

平行做两份试验。根据试样中中性洗涤纤维的含量，称取试样 0.4 g~1.0 g，精确至 0.000 1 g。试样脂肪含量超过 5%时应预先脱脂，试样置于砂芯坩埚(4.3.3)中，从 4.5.3 开始处理；不需要预先脱脂的，试样置于烧杯(4.3.2)中，从 4.5.4 开始处理。

4.5.3 预先脱脂

将砂芯坩埚(4.3.3)放在过滤装置上，用丙酮脱脂 4 次，每次加入 50 mL 丙酮，浸洗试样 5 min，浸洗过程中搅拌 3 次。抽真空除去丙酮。在通风橱中挥发 30 min，去除残余丙酮，把脱脂后的试样转移至烧杯(4.3.2)中。使用同一个砂芯坩埚收集洗涤后的中性洗涤纤维残渣。

4.5.4 消煮

向每个烧杯(4.3.2)中加入 0.5 g 无水亚硫酸钠(4.2.2)、50 mL 中性洗涤溶液(4.2.6),轻摇分散样品,防止试样回流时黏在底部。加热,5 min 内煮沸,加入 2 mL 热稳定 α-淀粉酶溶液(4.2.5),轻摇,防止试样黏在底部或烧杯壁上。

保证试样充分翻滚,消煮 60 min±1 min。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~10 min 后,根据需要用最少量的中性洗涤溶液(4.2.6)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。

4.5.5 过滤

从加热装置中取下烧杯(4.3.2),让试样颗粒沉降 60 s。观察试样消煮液,若溶液表面有脂质小球,或发生乳化现象,表明试样脂肪含量高,应重新称样,从 4.5.3 开始操作。

称取 5 g 助滤剂(4.2.7),精确至 0.000 1 g,置于砂芯坩埚中。将搅拌棒放在砂芯坩埚上,加入 40 mL 沸水浸洗 60 s,用真空抽干后,立即从回流烧杯中倒入 40 mL 消煮液,保持回流烧杯在砂芯坩埚上方持续倒入消煮液,用最小真空度抽去剩余的溶液,并在残渣变干前关闭真空。

注:过度抽真空和过度干燥会导致试样残渣堵塞砂芯坩埚,以至于无法清洗。

用搅拌棒刮取回流烧杯底部和烧杯壁的颗粒,用少量沸水将所有未转移的试样颗粒并入砂芯坩埚中,在砂芯坩埚中加入少量沸水至坩埚容量的一半,再加入 2 mL 热稳定 α-淀粉酶溶液(4.2.5),搅拌。让热稳定 α-淀粉酶反应 60 s。抽除热稳定 α-淀粉酶溶液,用 30 mL 沸水将回流烧杯中的残渣冲洗到砂芯坩埚中,加入沸水至砂芯坩埚容积 3/4,浸洗 3 min。将水抽干,再加入 50 mL 沸水,浸洗 5 min 后抽干,重复 1 次。如果第一次浸洗后残渣难以过滤,加入少量沸水至坩埚容量的一半,再加入 2 mL 热稳定 α-淀粉酶溶液(4.2.5),搅拌,让热稳定 α-淀粉酶反应 60 s 后,抽除热稳定 α-淀粉酶溶液,再重复上述沸水浸洗操作。如果砂芯坩埚堵塞,可以从过滤装置上取下反向冲洗底部后重新插入。

将水抽至近干,加入 50 mL 丙酮,搅拌使颗粒分散,浸洗 5 min,抽干,重复 1 次。用水冲洗搅拌棒上所有黏附颗粒至砂芯坩埚中。

注:加入丙酮之前不能将水完全抽干,如残留物过度干燥结块,其颗粒难以分散于丙酮,不利于丙酮萃取。

用真空抽干,从过滤装置取下砂芯坩埚,在通风橱中挥发 30 min,去除残余丙酮。

4.5.6 干燥

将砂芯坩埚置于干燥箱中,105 ℃±2 ℃干燥 4 h,取出,放入干燥器中冷却 30 min,称重,精确至 0.000 1 g,直至恒重(2 次称量结果之差不超过 0.002 g)。

4.5.7 空白测定

取已干燥、称重的洁净砂芯坩埚,用相同质量的助滤剂(4.2.7),不加试样,按 4.5.4~4.5.6 进行空白试验。

若采用纤维测定仪,按仪器操作说明书进行测定。

4.6 试验数据处理

试样中中性洗涤纤维(NDF)的含量 w_1 以质量分数计,数值以质量分数(%)表示,按式(1)计算。

$$w_1 = \frac{(m_4 - m_1 - m_3) - (m_{b3} - m_{b1} - m_{b2})}{m_2} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

式中：

m_4 ——试样、助滤剂和砂芯坩埚经消煮干燥后的总质量，单位为克(g)；

m_1 ——试样测定用砂芯坩埚质量，单位为克(g)；

m_3 ——试样测定用助滤剂质量，单位为克(g)；

m_{b3} ——空白试验砂芯坩埚和助滤剂经消煮干燥后的总质量，单位为克(g)；

m_{b1} ——空白试验用砂芯坩埚质量，单位为克(g)；

m_{b2} ——空白试验用助滤剂质量，单位为克(g)；

m_2 ——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。

4.7 精密度

在重复性条件下，当中性洗涤纤维(NDF)含量 $\leq 10\%$ 时，2 次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的 5%；当中性洗涤纤维(NDF)含量 $> 10\%$ 时，2 次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的 3%。

5 滤袋法

5.1 原理

同 4.1。

5.2 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

5.2.1 水：GB/T 6682，三级。

5.2.2 无水亚硫酸钠(Na_2SO_3)。

5.2.3 丙酮。

5.2.4 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。稀释后的热稳定 α -淀粉酶溶液 2 $^{\circ}\text{C}$ ~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存，有效期 5 d。

5.2.5 中性洗涤溶液：量取 500 mL 水于 1 000 mL 烧杯中，加入 18.6 g 乙二胺四乙酸二钠($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、4.56 g 无水磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)和 6.81 g 四硼酸钠($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)，加热溶解，混匀，置于通风橱中。加入 30 g 十二烷基硫酸钠($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$)，溶解后加入 10 mL 二缩三乙二醇($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_4$)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 1 000 mL。室温保存。

注：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 $^{\circ}\text{C}$ ，并重新调节 pH 至 6.95~7.05。

5.2.6 消泡剂：硅油。

5.2.7 滤纸。

5.3 仪器设备

5.3.1 分析天平：精度 0.01 g、0.000 1 g。

5.3.2 回流消煮装置:配有 600 mL 烧杯、独立加热单元、适配 600 mL 烧杯的水冷凝器,或采用按照 5.1 原理制造的纤维测定仪。

5.3.3 干燥箱:控温精度 $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

5.3.4 马弗炉:控温精度 $\pm 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

5.3.5 滤袋:孔径 $20\text{ }\mu\text{m}\sim 25\text{ }\mu\text{m}$,可耐受热稳定 α -淀粉酶、中性洗涤溶液消煮。

5.3.6 pH 计:精度 ± 0.01 。

5.4 样品

同 4.4。

5.5 试验步骤

5.5.1 称量试样

平行做两份试验。取经 $105\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 干燥 2 h、在干燥器中冷却至室温的滤袋(5.3.5)称重(精确至 $0.000\text{ }1\text{ g}$)。称取试样 0.5 g (精确至 $0.000\text{ }1\text{ g}$)于滤袋中,滤袋封口。样品体积一般不超过滤袋容量的 $1/2$,如太满,可适当减少称样量,但不得低于 0.2 g 。

试样脂肪含量超过 5%应预先脱脂,从 5.5.2 开始操作;若试样不需要预先脱脂,从 5.5.3 开始操作。脂肪含量未知试样建议预先脱脂。

5.5.2 预先脱脂

将装有试样的滤袋放入烧杯中,置于通风橱中,加入丙酮(5.2.3),使样品完全浸没,浸泡 5 min,期间用玻璃棒轻轻搅拌翻动 2 次,或取出滤袋反复浸没 2 次,倒去烧杯中的丙酮。重复操作 3 次。取出滤袋,放在滤纸(5.2.7)上,轻轻挤压去除滤袋上的丙酮,在通风橱中挥发 30 min,去除残余丙酮。

5.5.3 消煮

将装有试样的滤袋分散放入回流消煮装置(5.3.2)中,安装好回流消煮装置,每个滤袋加入 0.5 g 无水亚硫酸钠(5.2.2)、 2 mL 热稳定 α -淀粉酶溶液(5.2.4)、 50 mL 中性洗涤溶液(5.2.5)。打开冷却水,5 min 内加热试样溶液至沸腾。调节加热装置,保持溶液沸腾,持续消煮 $60\text{ min}\pm 1\text{ min}$ 。必要时加 $3\text{ mL}\sim 5\text{ mL}$ 硅油(5.2.6)消除泡沫。消煮过程应保证滤袋完全浸没于溶液中,每 10 min 至少翻动 1 次,保证试样被充分消煮。

5.5.4 洗涤

取出滤袋,在滤纸(5.2.7)上轻轻挤压去除消煮液。转移滤袋至烧杯中,用 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 热水浸泡、洗涤滤袋,使试样完全浸没,浸泡 5 min,期间用玻璃棒轻轻搅拌翻动 2 次,或取出滤袋反复浸没 2 次,倒去烧杯中的水,重复洗涤 3 次;将滤袋放在滤纸(5.2.7)上轻轻挤压去除滤袋上的水,用水冲洗滤袋外表面,再次轻轻挤压滤袋除水,重复至浸出液无持续泡沫产生。

将洗涤好的滤袋放入烧杯中,加入丙酮(5.2.3),使试样完全浸没,浸泡 5 min,期间用玻璃棒轻轻搅拌翻动 2 次,或取出滤袋反复浸没 2 次;倒去烧杯中的丙酮,将滤袋放在滤纸(5.2.7)上轻轻挤压去除滤袋上的丙酮,重复洗涤 2 次。如果滤出物仍有颜色,需再次用丙酮重复清洗、挤压,直至浸出液无色。

5.5.5 干燥

将洗涤后的滤袋在通风橱中挥发 30 min,去除残余丙酮,于 $105\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 干燥 4 h,取出,置于干燥

器中冷却 30 min,称量,精确至 0.000 1 g,直至恒重(2 次称量结果之差小于 0.002 g)。

5.5.6 空白测定

取已干燥、称重的滤袋,不加试样,按 5.5.3~5.5.5 进行空白试验。

若采用纤维测定仪,按仪器操作说明书进行测定。

5.6 试验数据处理

试样中中性洗涤纤维(NDF)的含量 w_2 以质量分数计,数值以质量分数(%)表示,按式(2)计算。

$$w_2 = \frac{(m_7 - m_5) - (m_{b5} - m_{b4})}{m_6} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

m_7 ——试样、滤袋经消煮干燥后的总质量,单位为克(g);

m_5 ——试样测定用滤袋质量,单位为克(g);

m_{b5} ——空白试验滤袋经消煮干燥后的质量,单位为克(g);

m_{b4} ——空白试验用滤袋质量,单位为克(g);

m_6 ——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。

5.7 精密度

在重复性条件下,当中性洗涤纤维(NDF)含量 $\leq 10\%$ 时,2 次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的 5%;当中性洗涤纤维(NDF)含量 $> 10\%$ 时,2 次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的 3%。

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 1 000 mL 烧杯中,加入 18.6 g 乙二胺四乙酸二钠($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、4.56 g 无水磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)和 6.81 g 四硼酸钠($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$),加热溶解,混匀,置于通风橱中。加入 30 g 十二烷基硫酸钠($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$),溶解后加入 10 mL 二缩三乙二醇($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_4$)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 1 000 mL。室温保存。

注: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 °C,并重新调节 pH 至 6.95~7.05。

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 0.000 1 g。

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 $\pm$ 0.5 °C。

A.2.5 pH 计:精度 0.0 1。

A.3 试验步骤

A.3.1 称取 0.5 g $\pm$ 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 60 s,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 $\pm$ 0.5 °C 水浴中,当消煮液达到 20 °C $\pm$ 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 $20\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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

单位为毫升

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