



中华人民共和国国家标准

GB/T 13089—2020
代替 GB/T 13089—1991

饲料中噁唑烷硫酮的测定方法

Method for determination of oxazolidinethione in feeds

2020-11-19 发布

2021-06-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 GB/T 13089—1991《饲料中噻唑烷硫酮的测定方法》。

本标准与 GB/T 13089—1991 相比,除编辑性修改外,主要技术内容差异如下:

- 修改了方法的适用范围,增加了定量限(见第 1 章,1991 年版的第 1 章);
- 修改了方法的原理(见第 3 章,1991 年版的第 2 章);
- 修改了白芥子酶的制备方法(见 4.10,1991 年版的 3.4);
- 修改了白芥子酶的用量和试验步骤(见第 7 章,1991 年版的第 6 章);
- 修改了试验数据处理(见第 8 章,1991 年版的第 7 章);
- 修改了精密度(见第 9 章,1991 年版的第 7 章)。

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。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)提出并归口。

本标准起草单位:四川威尔检测技术股份有限公司、中国农业科学院北京畜牧兽医研究所、广东省农业科学院农产品公共监测中心、通威股份有限公司、中国饲料工业协会。

本标准主要起草人:张凤枰、佟建明、王威利、雷宝良、杨发树、王黎文、宋涛、卢加文。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

- GB/T 13089—1991。

饲料中噁唑烷硫酮的测定方法

1 范围

本标准规定了饲料中噁唑烷硫酮的紫外分光光度测定方法。

本标准适用于菜籽及其加工产品,以及含有菜籽及其加工产品的配合饲料、浓缩饲料和精料补充料中噁唑烷硫酮的测定。

本标准方法的定量限为 150 mg/kg。

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/T 5520 粮油检验 发芽试验

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 原理

试样中的硫代葡萄糖苷在 pH 7.0 缓冲液中,在白芥子酶作用下水解生成异硫氰酸酯,用二氯甲烷萃取后,带羟基的异硫氰酸酯与乙醇反应,环化生成噁唑烷硫酮,用紫外分光光度法测定。

4 试剂或材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

4.1 水:GB/T 6682,二级。

4.2 石油醚(沸程 30℃~60℃)。

4.3 二氯甲烷。

4.4 无水乙醇。

4.5 柠檬酸溶液(0.1 mol/L):准确称取 4.20 g 柠檬酸($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$)溶解于水中,用水稀释并定容至 200 mL,混匀。临用现配。

4.6 磷酸氢二钠(0.2 mol/L):准确称取 28.39 g 无水磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)溶解于水中,用水稀释并定容至 1 L,混匀。临用现配。

4.7 盐酸(0.01 mol/L):准确移取 0.9 mL 浓盐酸,用水稀释并定容至 1 L,混匀。

4.8 氢氧化钠溶液(0.01 mol/L):准确称取 0.40 g 氢氧化钠加水溶解,用水稀释并定容至 1 L,混匀。

4.9 pH7.0 缓冲溶液:量取 176.5 mL 柠檬酸溶液(4.5)于 1 000 mL 容量瓶中,用磷酸氢二钠溶液(4.6)稀释并定容至 1 000 mL,混匀,用盐酸溶液(4.7)或氢氧化钠溶液(4.8)调整 pH 至 7.0。临用现配。

4.10 白芥子酶:称取 50 g 白芥(*Sinapis alba* L.)种子(按照 GB/T 5520 做发芽率试验,72 h 内发芽率须大于 85%,保存期不超过两年)粉碎后,置于 500 mL 烧杯中,加入 100 mL 石油醚(4.2),搅拌 2 min,静置,弃去上层液体,重复脱脂 10 次,使脂肪含量低于 2%,置通风橱内使溶剂挥干,然后再粉碎一次,

80%通过 0.28 mm 试验筛,装在密闭容器中,置于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下保存,有效期为 6 个月。为保证白芥子酶活性,制备过程中环境温度应保持在 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下,两次粉碎注意少量多次,防止粉碎机过热。

5 仪器设备

- 5.1 紫外可见分光光度计:配备 10 mm 石英比色皿。
- 5.2 分析天平:感量为 0.01 g、0.000 1 g。
- 5.3 实验用样品粉碎机。
- 5.4 电热恒温干燥箱:控温精度 $\pm 2.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 5.5 旋涡混合仪。
- 5.6 恒温水浴:控温精度 $\pm 1.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 5.7 高速冷冻离心机:可控制在 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下,不低于 5 000 r/min。
- 5.8 振荡器:往复式,200 次/min。
- 5.9 微量移液器:50 μL 。

6 样品

6.1 菜籽饼粕、配合饲料、浓缩饲料和精料补充料

按照 GB/T 20195 规定制备试样,至少 200 g,粉碎使其全部过 0.28 mm 分析筛,混合均匀,装入密闭容器中,备用。

6.2 油菜籽

按照 GB/T 20195 规定制备试样。取至少 100 g 试样,根据试样特性和粉碎机性能设定粉碎时间和速度,粉碎不应引起仁壳分离,试样不应出油,使其通过 1.0 mm 分析筛,混合均匀,装入密闭容器中,备用。如果试样水分大于 10%,应先将试样在不高于 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘干,使其水分达到 10% 以下。若不立即制备样品,应将烘干后的试样置于广口瓶中密闭保存。

7 试验步骤

7.1 试样溶液制备

平行做两份试验。准确称取预先于 $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重的试样 0.2 g(精确到 0.000 1 g)试样置于 10 mL 离心管中,加入 100 mg 白芥子酶(4.10)、2.0 mL pH7.0 缓冲溶液(4.9),涡旋混合 1 min,置于 $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中酶解反应 2 h,取出冷却至室温,准确加入 2.5 mL 二氯甲烷,涡旋混合 1 min,室温下 200 次/min 振荡提取 30 min,于 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 5 000 r/min 离心 20 min。准确移取 6 mL 无水乙醇于具塞试管中,用微量移液器准确移取离心管下层有机相溶液 50 μL ,加入到装有 无水乙醇的具塞试管中,盖上塞,涡旋混合 1 min,将具塞试管放入恒温水浴中, $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下加热反应 30 min,冷却至室温,所得溶液为试样溶液。

同时做空白试验,除不加试样外,空白试验采用与试样完全相同的试验步骤。

7.2 测定

在仪器最佳条件下,将试样溶液加入 10 mm 比色皿中,以空白试验溶液为空白对照,用紫外分光光度计分别于 235 nm、245 nm 和 255 nm 波长处测定试样溶液的吸光度值。

8 试验数据处理

试样中噁唑烷硫酮(以 5-乙烯基-2-噁唑烷硫酮计)的含量 w 以质量分数表示,单位为毫克每千克(mg/kg,以干基计),按公式(1)计算:

$$w = (A_{245} - \frac{A_{235} + A_{255}}{2}) \times \frac{4.42}{m} \times 1\,000 \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- A_{235} —— 试样溶液在 235 nm 处的吸光度值;
- A_{245} —— 试样溶液在 245 nm 处的吸光度值;
- A_{255} —— 试样溶液在 255 nm 处的吸光度值;
- m —— 试样的质量,单位为克(g);
- 4.42 —— 单位校正吸光度值所代表的 5-乙烯基-2-噁唑烷硫酮的质量,单位为毫克(mg);
- 1 000—— 质量单位换算。

测定结果以平行测定的算术平均值表示,保留 3 位有效数字。

9 精密度

在重复性条件下,两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 10%。

