



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 13087—××××  
代替 GB/T 13087-1991

## 饲料中异硫氰酸酯的测定

Determination of isothiocyanates in feeds

(征求意见稿)

××××-××-××发布

××××-××-××实施

国家市场监督管理总局  
中国国家标准化管理委员会

发布



## 前 言

本标准按GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准代替GB/T 13087-1991《饲料中异硫氰酸酯的测定方法》。

本标准与GB/T 13087-1991相比，除编辑性修改外，主要技术内容差异如下：

- 增加了方法的检出限和定量限（见1）；
- 修改了方法的适用范围（见1，1991年版的1）；
- 修改了白芥子酶的制备方法和用量（见4.10、7.1，1991年版的3.5、6.1）；
- 修改了气相色谱测定条件（见7.2.1，1991年版的6.2）；
- 修改了测定结果计算公式（见8，1991年版的7）；
- 删除了银量法。

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/TC76）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、通威股份有限公司。

本标准主要起草人：

本标准所代替标准历次版本发布情况为：

- GB/T 13087-1991。



# 饲料中异硫氰酸酯的测定

## 1 范围

本标准规定了饲料中异硫氰酸酯的气相色谱测定方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料和饲料原料中异硫氰酸酯的测定。

本标准的检出限为 2 mg/kg，定量限为 5 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 籽粒发芽试验

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

饲料中的硫葡萄糖苷在pH7.0缓冲液中，在白芥子酶作用下生成丙烯基异硫氰酸酯、丁烯基异硫氰酸酯、戊烯基异硫氰酸酯，用二氯甲烷提取，脱水、过滤后以气相色谱仪测定，内标法定量，结果以丙烯基异硫氰酸酯计。

## 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 6682，一级。

4.2 二氯甲烷。

4.3 石油醚（沸程 30-60 ℃）。

4.4 无水硫酸钠。

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。

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 100 g 白芥 (*Sinapis alba* L.) 种子<sup>1</sup>，粉碎后用石油醚 (4.3) 脱脂，每次 200 mL，脱脂 10 次，使脂肪含量不大于 2%，操作环境温度保持在 30 °C 以下，置通风橱内使溶剂挥发，然后再粉碎一次使全部通过 0.28 mm 试验筛，装在密闭容器中，置于 -18 °C 以下保存，有效期为 12 个月。做空白试验，确保白芥子酶不含异硫氰酸酯。或选购商品白芥子酶<sup>2</sup>。

注1：按照GB/T 5520测定白芥种子的发芽率，72 h内发芽率宜大于85%，保存期不超过2年。

注2：Thioglucosidase from *Sinapis alba* (white mustard) seed, 200 UN。

4.11 丁基异硫氰酸酯内标溶液 (0.1 mg/mL)：准确称取50 mg (精确至0.000 01 g) 丁基异硫氰酸酯 [ $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{NCS}$ ] (CAS号：592-82-5, 纯度 $\geq 99\%$ ) 于500 mL棕色容量瓶中，用二氯甲烷溶解并定容，混匀，于 -18 °C 以下保存，有效期为3个月。

4.12 异硫氰酸酯混合标准溶液 (1.0 mg/mL)：分别准确称取 10 mg (精确至 0.00001 g) 丙烯基异硫氰酸酯 [ $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{NCS}$ ] (CAS 号：57-06-7, 纯度 $\geq 99.7\%$ )、丁烯基异硫氰酸酯 [ $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{NCS}$ ] (CAS 号：3386-97-8, 纯度 $\geq 95.0\%$ )、戊烯基异硫氰酸酯 [ $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NCS}$ ] (CAS 号：18060-79-2, 纯度 $\geq 95.0\%$ ) 于 10 mL 棕色容量瓶中，用丁基异硫氰酸酯内标溶液 (4.11) 溶解并定容，混匀，于 -18 °C 以下保存，有效期 3 个月。

4.13 异硫氰酸酯混合标准系列工作溶液：精确移取适量异硫氰酸酯混合标准溶液 (4.12) 于 10 mL 容量瓶中，用丁基异硫氰酸酯内标溶液 (4.11) 稀释定容配成标准系列工作溶液，丙烯基异硫氰酸酯、丁烯基异硫氰酸酯和戊烯基异硫氰酸酯的浓度分别为：0 mg/mL、0.001 mg/mL、0.02 mg/mL、0.05 mg/mL、0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL。丁基异硫氰酸酯内标浓度为 0.1 mg/mL。临用现配。

4.14 定性滤纸：快速，内径7.0 cm。

## 5 仪器设备

5.1 气相色谱仪：配有氢火焰检测器 (FID)。

5.2 分析天平：感量 0.01 g、0.000 1 g 和 0.000 01 g。

5.3 实验用样品粉碎机。

5.4 振荡器：往复，不低于 200 次/min。

5.5 离心机：不低于 5000 r/min。

## 6 样品

按照GB/T 20195规定制备试样，至少200 g，粉碎使其全部过0.42 mm分析筛，混合均匀，装入密闭容器中，备用。

## 7 试验步骤

### 7.1 试样溶液制备

平行做两份试验。称取2.2 g（精确至0.000 1 g）试样置于150 mL具塞三角瓶中，加入0.5 g白芥子酶(4.10)、5.0 mL pH7.0缓冲溶液(4.9)、10 mL丁基异硫氰酸酯内标溶液(4.11)，于室温下200次/min振荡提取2 h，将具塞三角瓶中内容物全部转入离心试管中，5 000 r/min离心10 min，取下层溶液，用在滤纸上铺有2 g~3 g无水硫酸钠层的漏斗过滤，滤液备用。

### 7.2 气相色谱参考条件

色谱柱：聚乙二醇（FFAP）毛细管柱，长30 m，内径0.32 mm，膜厚0.25  $\mu\text{m}$ ，或性能相当者。

色谱柱温度：起始温度100  $^{\circ}\text{C}$ ，保持10 min，以10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升到200  $^{\circ}\text{C}$ ，保持2 min。

进样口温度：220  $^{\circ}\text{C}$ 。

检测器温度：230  $^{\circ}\text{C}$ 。

载气：高纯氮。

载气流速：1.0 mL/min。

氢气流速：35 mL/min。

空气流速：400 mL/min。

尾吹流速：20 mL/min。

进样量：1  $\mu\text{L}$ 。

分流比：5:1。

### 7.3 测定

#### 7.3.1 标准溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下，分别取异硫氰酸酯混合标准溶液（4.12）和试样溶液（7.1）上机测定。各异硫氰酸酯标准溶液的气相色谱图参见附录A。

#### 7.3.2 定性和定量

以保留时间定性，试样溶液中各异硫氰酸酯保留时间应与标准溶液中各异硫氰酸酯的保留时间一致，其相对偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内，内标法定量。

## 8 试验数据处理

试样中异硫氰酸酯（以丙烯基异硫氰酸酯计）的含量以质量分数  $w$  计，数值以毫克每千克（mg/kg）表示，按公式（1）计算：

$$w = w_a + w_b \times \frac{113.18}{99.15} + w_p \times \frac{127.21}{99.15} \dots\dots\dots (1)$$

$w_a$ 、 $w_b$ 、 $w_p$ —试样中丙烯基异硫氰酸酯、丁烯基异硫氰酸酯和戊烯基异硫氰酸酯的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

99.15、113.18、127.21—丙烯基异硫氰酸酯、丁烯基异硫氰酸酯和戊烯基异硫氰酸酯的分子量。

试样中各异硫氰酸酯的含量以质量分数  $w_i$  计，数值以毫克每千克（mg/kg）表示按公式（2）计算：

$$w_i = \frac{A_i \times m_e}{A_e \times RRF_i \times m} \times 1000 \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$m_e$ —10 mL内标溶液中丁基异硫氰酸酯的质量，单位为毫克（mg）；

$m$ —试样的质量，单位为克（g）；

$A_e$ —试样溶液丁基异硫氰酸酯的峰面积；

$A_i$ —试样溶液各异硫氰酸酯的峰面积；

$RRF_i$ —各异硫氰酸酯对丁基异硫氰酸酯内标的相对响应因子；

$RRF_i$ 按照公式（3）计算：

$$RRF_i = \frac{S_i \times c_e}{S_e \times c_i} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

$S_i$ —目标化合物的峰面积；

$c_e$ —定量内标的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

$S_e$ —定量内标的峰面积；

$c_i$ —各异硫氰酸酯的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

在系列标准溶液中，丙烯基异硫氰酸酯、丁烯基异硫氰酸酯和戊烯基异硫氰酸酯的 $RRF$ 值相对标准偏差（RSD）应小于20%。

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，应符合下述规定：

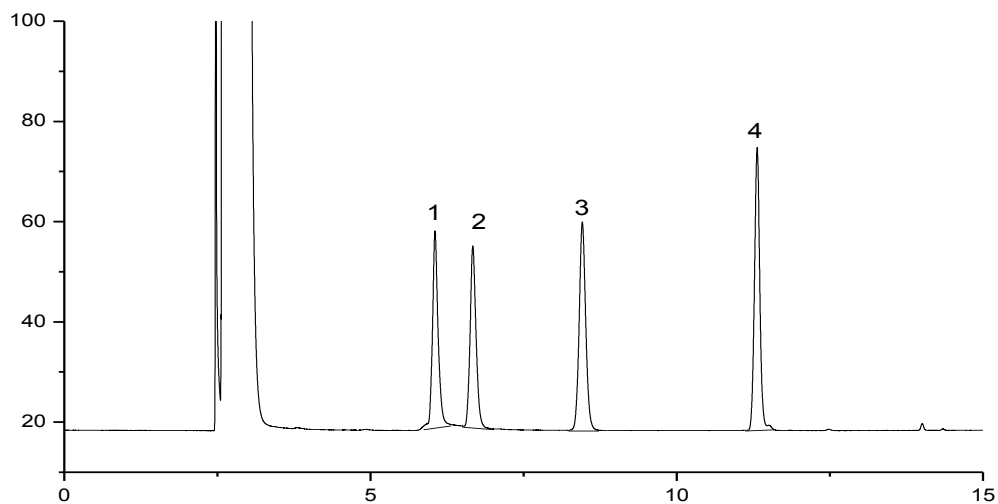
当异硫氰酸酯含量小于等于100 mg/kg时，两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不超过该算术平均值的15%；当异硫氰酸酯含量大于100 mg/kg时，两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不超过该算术平均值的10%。

附录A

(资料性附录)

各异硫氰酸酯标准溶液气相色谱图

A.1 各异硫氰酸酯标准溶液气相色谱图，见图A.1。



说明：

1——丙烯基异硫氰酸酯；

2——丁基异硫氰酸酯（内标）；

3——丁烯基异硫氰酸酯；

4——戊烯基异硫氰酸酯；

图A.1 各异硫氰酸酯标准溶液（0.1 mg/mL）气相色谱图