

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1596—2008

油菜饼粕中异硫氰酸酯的测定 硫脲比色法

Determination of isothiocyanates in rapeseed meal—
Thiourea colorimetry method

2008-05-16 发布

2008-07-01 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准由中华人民共和国农业部种植业管理司提出并归口。
本标准起草单位：农业部油料及制品质量监督检验测试中心。
本标准主要起草人：李培武、张文、丁小霞、汪雪芳、姜俊、谢立华。

油菜饼粕中异硫氰酸酯的测定

硫脲比色法

1 范围

本标准规定了硫脲比色法测定油菜饼粕中异硫氰酸酯含量的方法。
本标准适用于油菜饼粕中异硫氰酸酯含量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB 10360 油料饼粕扦样法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和实验方法(GB/T 6682—1992, eqv ISO 3696—1987)

3 原理

油菜饼粕中硫代葡萄糖苷在 pH7.0 缓冲溶液中,在芥子酶作用下,水解生成异硫氰酸酯,然后与 80% 氨乙醇作用,生成硫脲,紫外分光光度计测定 235 nm、245 nm、255 nm 波长吸光值。

4 试剂

除特殊规定外,所有试剂均为分析纯,水为二级水。

4.1 无水乙醇。

4.2 氨水。

4.3 80% 氨乙醇:准确量取 20 mL 氨水与 80 mL 无水乙醇充分混匀。

4.4 二氯甲烷。

4.5 pH 7.0 缓冲溶液:取 35 mL 0.1 mol/L 柠檬酸($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$)溶液于 250 mL 容量瓶中,加入 200 mL 0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液,0.01 mol/L 盐酸或 0.01 mol/L 氢氧化钠溶液调 pH 至 7.0。

4.6 粗芥子酶:取白芥种子(72 h 内发芽率大于 85%,保存期不得超过 2 年)粉碎,使 80% 过 60 目筛,用石油醚(沸程 30℃~60℃)提取其中脂肪,在通风柜中用微风吹去残留的石油醚,置于具塞玻璃瓶中 4℃ 下保存,可在 6 周内使用。

5 仪器设备

5.1 分析天平,感量 0.000 1 g。

5.2 样品磨。

5.3 旋涡混合器。

5.4 离心机。

5.5 恒温水浴锅。

5.6 紫外分光光度计,备有 10 mm 石英比色皿。

5.7 100 μ L 微量进样器。

5.8 10 mL 具塞试管。

5.9 10 mL 离心管。

6 试样制备

取样按 GB 10360 的规定进行。将油料饼粕粉碎后,使 80% 能通过 60 目筛, (103±2)°C 下干燥 2 h~3 h,冷却至室温,装入样品瓶中备用。

7 分析步骤

准确称取 0.200 0 g 试样,加 40 mg 粗芥子酶和 2.0 mL pH7.0 缓冲溶液(4.5),旋涡混合器(5.3)充分混合。35°C 下酶促反应 2 h。加 2.5 mL 二氯甲烷(4.4),用旋涡混合器(5.3)混合均匀,在室温下振荡 0.5 h。用旋涡混合器(5.3)将水相、有机相、样品充分混合,4 000 rmp/min 下离心 20 min。取 6 mL 80% 氨乙醇(4.3)于具塞试管(5.8),用微量进样器(5.7)取离心管下层有机相 50 μL,加入到装有 80% 氨乙醇的具塞试管中,盖上塞。旋涡混合均匀,将具塞试管放入水浴锅(5.5),50°C 下加热 0.5 h,取出,冷却至室温。用紫外分光光度计(5.6),10 mm 石英比色皿测定光密度值,测定波长分别为 235 nm、245 nm、255 nm。同时测定试样空白溶液。

8 结果计算

试样中异硫氰酸酯的含量(w)以每克干样中异硫氰酸酯的毫克数(mg/g)表示,按式(1)计算。

$$w = \left[O. D_{245} - \frac{O. D_{235} + O. D_{255}}{2} \right] \times 28.55 \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$O. D_{235}$ ——试样 235 nm 处光密度值;

$O. D_{245}$ ——试样 245 nm 处光密度值;

$O. D_{255}$ ——试样 255 nm 处光密度值。

每个试样平行测定 2 次,计算算术平均值,结果保留两位小数。

9 精密度

9.1 重复性

在重复性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于 10%,以大于 10% 的情况不超过 5% 为前提。

9.2 再现性

在再现性条件下,获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于 10%,以大于 10% 的情况不超过 5% 为前提。