



中华人民共和国国家标准

GB/T 22182—2008/ISO 10519:1997

油菜籽叶绿素含量测定 分光光度计法

Rapeseed—Determination of chlorophyll
content—Spectrometric method

(ISO 10519:1997, IDT)

2008-07-16 发布

2008-11-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布

前 言

本标准等同采用 ISO 10519:1997《油菜籽——叶绿素含量测定——分光光度计法》(英文版)。

为便于使用,本标准做了下列编辑性修改:

- a) “本国际标准”一词改为“本标准”;
- b) 用小数点“.”代替作为小数点的逗号“,”;
- c) 删除了国际标准的前言;
- d) 用 GB 5491《粮食、油料检验 扦样、分样法》代替 ISO 542:1990《Oilseeds—Sampling》;
- e) 用 GB/T 14489.1《油料水分及挥发物含量测定法》代替 ISO 665:1977《Oilseeds—Determination of moisture and volatile matter content》。

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由国家粮食局提出。

本标准由全国粮油标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:国家粮食局科学研究院、国家粮食储备局西安油脂研究设计院、深圳南顺油脂有限公司。

本标准起草人:薛雅琳、田淑梅、刘建涛、赵银宁。

油菜籽叶绿素含量测定

分光光度计法

1 范围

本标准规定了用分光光度计法测定油菜籽中叶绿素含量的方法。
本方法不适用于油脂中叶绿素含量的测定。

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,鼓励使用本标准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 5491 粮食、油料检验 扦样、分样法

GB/T 14489.1 油料水分及挥发物含量测定法(GB/T 14489.1—1993,eqv ISO 665:1977)

ISO 648:1977 实验室用玻璃仪器—单标线移液管

ISO 664:1990 油料—试样制备

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

叶绿素含量 chlorophyll content

在本标准规定的操作条件下,在波长 665 nm 附近,样品中能产生吸收带的物质的质量分数即为叶绿素 A 的含量(以 mg/kg 表示)。

4 原理

在适当的设备中,以规定的萃取液萃取样品,用分光光度计测定样品萃取溶液的吸光度来确定叶绿素的含量。

5 试剂

除特殊情况外,所用试剂均为分析纯。

5.1 萃取溶液

取 100 mL 无水乙醇于 500 mL 烧杯中,再加入 300 mL 无水异辛烷(即 2,2,5-三甲基戊烷)或无水正庚烷或无水石油醚(基本成分为 C₇ 烃类,沸程 90 °C~100 °C)。

6 仪器

实验室常规仪器,尤其是下列仪器:

6.1 分析天平:感量 0.001 g。

6.2 机械研磨机:刀片型,或咖啡磨,或相近的设备。

6.3 微型机械研磨机:带有安全塞、不锈钢球(直径 16 mm)的 50 mL 不锈钢筒(见图 1)和使钢筒作水

平运动的设备,其频率为 240 次/min,水平振幅为 3.5 cm。或 Dangoumau 球磨机¹⁾。

单位为毫米

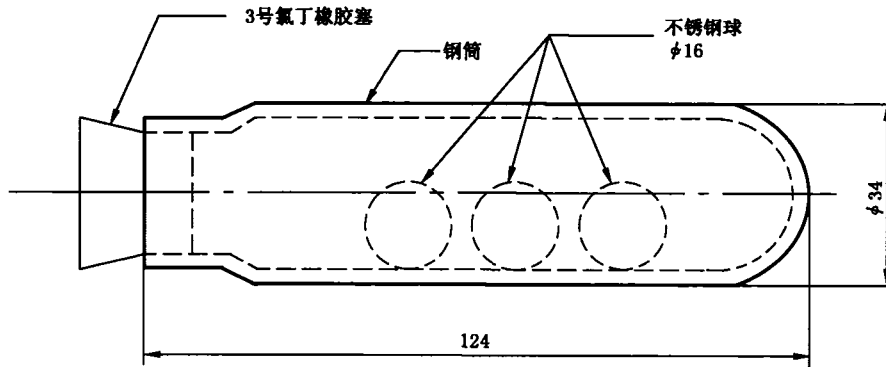


图 1 微型机械研磨筒

- 6.4 滤纸:中速,折叠成 V 字漏斗形。
- 6.5 分光光度计(最好是波长扫描型的):测定范围 600 nm~700 nm,谱带宽 2 nm。
- 6.6 比色皿:光径至少 1 cm。
- 6.7 移液管:容量 30 mL,符合 ISO 648 规定的 A 级要求。或者误差小于 1%的 30 mL 加液器。
- 6.8 具塞试管:20 mL。

7 扦样

本标准不规定扦样方法,推荐采用 GB 5491 规定的方法。

实验样品应具有代表性,且在运输和储存过程中无损坏和变质。

8 试样制备

按照 ISO 664 规定从样品中拣出杂质后制备试样。

当油料水分高于 10%(质量分数)时,在不破坏叶绿素的条件下 45 °C 烘 12 h,使水分降至不高于 10%(质量分数)。

取 50 g 样品,在机械研磨机(6.2)中进行研磨,得到均匀一致的粉末。若用咖啡磨等小型研磨机,分多次研磨,每次 10 g,彻底混匀样品。

9 步骤

9.1 称样

称取试样(第 8 章)2 g,精确到 0.001 g,放入不锈钢筒或 Dangoumau 球磨机的萃取容器(6.3)中。

9.2 萃取

9.2.1 用移液管(6.7)向钢筒或容器中加 30 mL 萃取溶液(5.1)。如使用钢筒时,向钢筒内加三个不锈钢球,振荡 1 h;如使用 Dangoumau 球磨机时,向容器中至少加 4 个中等大小的钢球,萃取 20 min。

9.2.2 萃取溶液澄清 10 min,用滤纸(6.4)将上清液过滤到具塞试管(6.8)中,滤液量应能装满比色皿(6.6),立即将试管塞上以尽量减少蒸发。

注:萃取液分层时,表明样品水分过高[样品水分不应高于 10%(质量分数)],或者是溶剂中水分过高(应是无水的)。

1) Dangoumau 球磨机是一个适当的设备的例子,给出此信息是为了方便使用者应用本标准,而不是指定使用这种设备。

9.3 测定

将滤液倒入比色皿(6.6)中,用分光光度计(6.5)分别测定 665 nm、705 nm 和 625 nm 处的吸光度(705 nm 和 625 nm 处的吸光度用来校准基准线)。

10 结果表示

叶绿素含量 c ,以每千克样品含有的毫克数(mg/kg)表示,按式(1)计算:

$$c = \frac{k \times A_{\text{corr}} \times V}{m \times l} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

k ——常数,等于 13;

A_{corr} ——修正吸光度,等于 $A_{665} - (A_{705} + A_{625})/2$;

A_{665} ——在 665 nm 处的吸光度;

A_{705} ——在 705 nm 处的吸光度;

A_{625} ——在 625 nm 处的吸光度;

V ——加入钢筒或容器(9.2.1)中的萃取液体积,单位为毫升(mL);

m ——试样的质量,单位为克(g);

l ——比色皿的光径,单位为毫米(mm)。

用干基表示叶绿素含量时,按照 GB/T 14489.1 测定样品水分含量。

11 精确度

附录 A 汇集了关于本方法的精密度的联合实验室试验数据。对于其他的浓度范围和测试对象来说,这些试验数据可能是不适用的。

11.1 重复性

在很短的时间间隔内,由同一操作者、采用相同的测试方法、对于同一份被测样品、在同一实验室、使用相同的仪器、获得两个独立的测定结果。这两个独立测定结果的绝对差值不应大于这两个独立测定结果算术平均值的 10%。

11.2 再现性

由不同的操作者、采用相同的测试方法、对于同一份被测样品、在不同的实验室、使用不同的仪器、获得两个独立的测定结果。这两个独立测定结果的绝对差值不应大于这两个独立测定结果算术平均值的 20%。

12 实验报告

实验报告应说明:

——扦样方法;

——采用的检验方法;

——获得的测定结果;

——如检验了重复性,列出重复性结果。

实验报告应包括所有在本标准中未规定或视为任选的操作细节,以及其他可能已经影响了测定结果的所有事件。

实验报告还应包括完全识别样品所需要的所有信息。

附录 A
(资料性附录)
联合实验室测试结果

按照 ISO 5725²⁾, 由 16 个实验室进行了国际间联合测试。得出的重复性和再现性实验数据见表 A.1。

表 A.1 测试结果汇总

参 数	样 品 ^a									
	A	B	C	D	E	F	H	I	J	平均
参加测试的实验室数目	16	16	16	16	16	16	16	16	16	
被排除的实验室数目 ^b	1	1	1	1	1	1	1	1	4	
平均值/(mg/kg)	25.80	31	40.4	49.8	75.5	82.9	10.5	20.4	31.2	
重复性标准偏差 S_r /(mg/kg)	1.13	1.47	1.45	1.75	2.74	2.99	0.49	0.68	0.99	
再现性标准偏差 S_R /(mg/kg)	1.93	2.15	3.02	3.44	4.9	5.68	1.02	1.63	2.19	
重复性变异系数/%	4.39	4.76	3.59	3.52	3.62	3.61	4.66	3.35	3.16	3.85
再现性变异系数/%	7.47	6.94	7.49	6.91	6.47	6.85	9.79	8	7.04	7.44
重复性限(r)/(mg/kg)	3.17	4.13	4.06	4.9	7.68	8.38	1.38	1.93	2.97	
再现性限(R)/(mg/kg)	5.39	6.03	8.47	9.63	13.71	15.9	2.89	4.61	6.21	
重复性(r)/%	12.3	13.3	10.1	9.9	10.1	10.1	13.1	9.5	8.9	10.81
再现性(R)/%	20.9	19.4	21	19.3	18.1	19.2	27.5	22.5	19.9	20.88
<p>^a 样品 A~E 是 1992 年的分析结果;样品 F~H 是 1990 年的分析结果。</p> <p>A——25 mg/kg 叶绿素; B——30 mg/kg 叶绿素; C——40 mg/kg 叶绿素; D——50 mg/kg 叶绿素; E——75 mg/kg 叶绿素; F——80 mg/kg 叶绿素; H——10 mg/kg 叶绿素; I——20 mg/kg 叶绿素; J——30 mg/kg 叶绿素。</p> <p>^b 因为实验失败,每组实验中有 1 个实验室被排除在外。对于样品 J 来说,多了 3 个被排除在外的实验室,是因为其中双实验之差大于 3 mg/kg。</p>										

2) ISO 5725:1986《测定方法的精确度——采用联合实验室测试确定标准测定方法的重复性和再现性》(用 1994 年版替代),用于评价精确度数据。

参 考 文 献

- [1] ISO 542:1990 Oilseeds—Sampling.
- [2] ISO 5725-1:1994 Accuracy(trueness and precision)of measurement methods and results—
Part 1:General principles and definitions.
-

 **美析仪器**
MACY INSTRUMENT
专业光度计系列生产厂家
HTTP://www.macylab.com TEL:400-616-4686