



中华人民共和国国家标准

GB/T 15686—2008
代替 GB/T 15686—1995

高粱 单宁含量的测定

Sorghum—Determination of tannin content

(ISO 9648:1988, MOD)

2008-11-04 发布

2009-01-20 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

本标准修改采用 ISO 9648:1988《高粱 单宁含量的测定》(英文版)。

本标准与 ISO 9648:1988 的技术性差异为:

——由于原标准引用的标准“ISO 950:1979 谷物采样(籽粒)”已经废止,所以改为引用“GB 5491 粮油、油料检验 扦样、分样法”。

为了便于使用,本标准做了下列编辑性修改:

——“本国际标准”一词改为“本标准”;

——删除国际标准的前言,增补新的前言;

——将原文中的“引用标准”改为“规范性引用文件”,并增加“凡是不注日期的引用标准,其最新版本适用于本标准”的文字说明;

——将引用“ISO 712:1985 谷物及谷物产品水分含量测定(常规参考方法)”改为引用“GB/T 21305 谷物及谷物制品水分含量的测定 常规法”;

——为了更清晰地表述,将第 9 章中单宁含量计算公式 $\frac{2c}{m} \times \frac{100}{100-H}$ 改为 $X = \frac{2c}{m} \times \frac{100}{100-H}$ 。

本标准代替 GB/T 15686—1995《高粱中单宁含量的测定》。

本标准与 GB/T 15686—1995 相比主要变化如下:

——单宁酸标准品采用 ISO 9648:1988 推荐的默克公司的 773 单宁酸;

——单宁提取液与试样分离,采用 $3\,000\text{ g}(3\,000\text{ m/s}^2 \times 9.81\text{ m/s}^2)$ 离心加速度的离心机分离。

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:河南工业大学。

本标准主要起草人:霍权恭、范璐、周展明。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

——GB/T 15686—1995。

高粱 单宁含量的测定

1 范围

本标准规定了一种通用的高粱单宁含量测定方法,这种测定方法并不是针对某一种类型的多酚类物质的测定。用雄鸡进行动物实验测定的高粱代谢能与本方法测定的结果之间,具有很好的负相关性,证明了本方法的有效性。

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 5491 粮食、油料检验 扦样、分样法

GB/T 21305 谷物及谷物制品水分的测定 常规法(GB/T 21305—2007,ISO 712:1998,IDT)

3 原理

用二甲基甲酰胺溶液提取高粱单宁,经离心后,取上清液加柠檬酸铁铵溶液和氨溶液,显色后,以水为空白对照,用分光光度计于 525 nm 处测定吸光度值,用单宁酸作标准曲线测定高粱单宁含量。

4 试剂

所有试剂均为分析纯,水为蒸馏水或与之相当纯度的水。

4.1 2 g/L 单宁酸溶液。该溶液可保存一周。

注:由于不同来源的单宁酸对标准曲线有影响,所以,推荐使用默克公司的 773 单宁酸(Merck reference 773 tannic acid)¹⁾作为参考,以便于实验室之间比较测定结果。

4.2 8.0 g/L 氨(NH₃)溶液。

4.3 75 % 二甲基甲酰胺溶液:取 75 mL 二甲基甲酰胺溶液于 100 mL 容量瓶中,用水稀释,冷却后加水至刻度。

警告——当二甲基甲酰胺被吸入或与皮肤接触时,有害于健康,并且刺激眼睛。

4.4 3.5 g/L 柠檬酸铁铵(铁含量 17%~20%)溶液:在使用前 24 h 配制。由于柠檬酸盐的铁含量影响测定结果,应特别注意其含量。

5 仪器

实验室常规仪器以及下列仪器:

5.1 粉碎机:粉碎样品并全部通过筛子(5.2)。

5.2 筛子:孔径 0.5 mm。

5.3 离心机:具备 3 000 g(3 000 m/s²×9.81 m/s²)离心加速度。

5.4 离心管:容量约 50 mL,具密封盖。

5.5 往复式机械搅拌器或磁力搅拌器。

1) 默克公司的 773 单宁酸是商品化的产品,为本标准的使用者提供这样的信息,并不意味着它已经是 ISO 认可的产品。

- 5.6 涡旋式振荡器:可用于试管。
- 5.7 分光光度计:带 10 mm 比色皿,可在 525 nm 处测定。
- 5.8 移液管:1 mL、5 mL、20 mL。
- 5.9 刻度移液管:5 mL、10 mL。
- 5.10 试管:140 mm×14 mm。
- 5.11 容量瓶:20 mL。

6 扦样

按照 GB 5491 进行扦样和分样。

测定单宁的高粱样品干燥后,避光可以保存几个月。

7 试样制备

除去试样中的杂质,用粉碎机(5.1)粉碎试样,并全部通过筛子(5.2),充分混合均匀。

试样粉碎后,单宁会迅速氧化,应立即分析测定试样。

注:粉碎的样品最多避光保存几天,最好干燥后保存。

8 操作步骤

8.1 水分测定

试样水分含量按照 GB/T 21305 测定。

8.2 称样量

称取试样(7)约 1 g,精确至 1 mg,置离心管中(5.4)。

8.3 样品测定

8.3.1 用移液管(5.8)取 20 mL 二甲基甲酰胺溶液(4.3)于装有样品的离心管中,盖好密闭盖并用搅拌器(5.5)搅拌提取 60 min±1 min。然后以 3 000 g 离心加速度离心 10 min。

8.3.2 用移液管(5.8)取 1 mL 上清液(8.3.1)于试管(5.10)中,用移液管分别加 6 mL 水和 1 mL 氨溶液(4.2),然后用振荡器(5.6)振荡几秒钟。

8.3.3 用移液管(5.8)移取 1 mL 上清液(8.3.1)于试管(5.10)中,用移液管(5.8)分别加 5 mL 水和 1 mL 柠檬酸铁铵溶液(4.4),用振荡器(5.6)振荡几秒钟。然后,用移液管(5.8)加 1 mL 氨溶液(4.2),用振荡器(5.6)再振荡几秒钟。

8.3.4 在 8.3.2 和 8.3.3 操作结束 10 min±1 min 后,分别将 8.3.2 和 8.3.3 溶液倒入比色皿中,以水为空白对照,用分光光度计(5.7)于 525 nm 处测定吸光度值。

试样的吸光度值测定结果 A_x 为两个吸光度值之差。

8.4 测定次数

同一样品测定两次。

8.5 绘制标准曲线

在测定试样的当天,按照 8.5.1~8.5.3 的步骤绘制标准曲线。

8.5.1 准备 6 个 20 mL 容量瓶(5.11),用刻度移液管(5.9)分别加入 0 mL、1 mL、2 mL、3 mL、4 mL、5 mL 单宁酸溶液(4.1),加二甲基甲酰胺溶液(4.3)至刻度,所得标准系列溶液的单宁酸含量分别为 0 mg/mL、0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.3 mg/mL、0.4 mg/mL、0.5 mg/mL。

8.5.2 分别移取 1 mL 以上标准系列溶液于试管(5.10)中,用移液管(5.8)分别加 5 mL 水和 1 mL 柠檬酸铁铵溶液(4.4),用振荡器(5.6)振荡几秒钟。然后,加 1 mL 氨溶液(4.2),用振荡器(5.6)再振荡几秒钟。静置 10 min±1 min 后,将溶液倒入比色皿中,以水为空白对照,用分光光度计(5.7)于 525 nm 处测定吸光度值。

8.5.3 以标准系列 8.5.1 中各溶液的吸光度值为纵坐标,相应的单宁酸浓度(mg/mL)为横坐标,绘制标准曲线。标准曲线不经过原点,而且不需要校正通过原点。

9 结果计算

试样中单宁含量(X)以干基中单宁酸的质量分数(%)表示,按式(1)计算:

$$X = \frac{2c}{m} \times \frac{100}{100 - H} \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

c ——从标准曲线(8.5.3)读取的试样提取液中单宁酸的浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);

m ——试样的质量(8.2),单位为克(g);

H ——试样的水分含量(8.1),%。

如果两次测试结果满足按表 1 用线性内插法计算的重复性要求,测试结果用两次测定的算术平均值表示。

10 精密度

法国 9 个实验室进行了实验室间的比较实验,每个样品测定 3 次,保留 8 个实验室测定结果进行统计分析,统计结果(参照 ISO 5725²⁾评价)见表 1。

表 1 以试样干基中单宁酸质量分数表示的结果

样品	样品 1	样品 2	样品 3
平均值	0.05	0.62	1.11
重复性的标准偏差(S_r)	0.01	0.02	0.02
重复性的变异系数	21%	3.3%	1.9%
重复性($2.8S_r$)	0.03	0.06	0.06
再现性的标准偏差(S_R)	0.02	0.03	0.07
再现性的变异系数	44%	4.8%	6.1%
再现性($2.8S_R$)	0.06	0.08	0.19

11 测试报告

测试报告应明确说明使用的方法,单宁酸的生产商、参考号和测定结果,也应说明所有在本标准中未规定或视为任意的操作细节,以及其他可能已经影响了实验结果的事件。

测试报告应包括完整的识别样品所需的所有信息。

2) ISO 5725:1986 测试方法的精密度 通过实验室间试验确定标准测试方法的重复性和再现性