



中华人民共和国国家标准

GB/T 23890—202X

代替 GB/T 23890—2009

油菜籽中芥酸及硫苷的测定

Determination of erucic acid and glucosinolate in rapeseed

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 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

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替GB/T 23890—2009《油菜籽中芥酸及硫苷的测定 分光光度法》。与GB/T 23890—2009相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

—文件名称由《油菜籽中芥酸及硫苷的测定 分光光度法》改为《油菜籽中芥酸及硫苷的测定》，使之与修订的标准内容协调一致；

—增加了规范性引用文件（见第2章）；

—增加了术语和定义（见第3章）。

—增加了近红外光谱法测定方法（见第一法）；

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专利的责任。

本文件由中华人民共和国农业农村部提出并归口。

本文件起草单位：中国农业科学院油料作物研究所，农业农村部油料及制品质量检验检测中心

本文件主要起草人：

本文件及其所替代文件历次版本发布情况为：

—2009年首次发布为GB/T 23890-2009；

—本次为第一次修订。

油菜籽中芥酸及硫苷的测定

1 范围

本文件规定了近红外光谱法和分光光度法测定油菜籽中芥酸及硫苷含量的方法。
本文件适用于油菜籽中芥酸及硫苷含量的快速测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 5009.168 食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定

GB/T 5491 粮食、油料检验 扦样、分样法

GB/T 6682 实验室用水规格

GB/T 11762 油菜籽

GB/T 24895 粮油检验 近红外分析定标模型验证和网络管理与维护通用规则

NY/T 1582 油菜籽中硫代葡萄糖苷的测定 高效液相色谱法

3 术语定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

芥酸 Erucic acid

油菜籽中所含顺 Δ 13-二十二碳一烯酸，以所占总脂肪酸组成的百分比表示。

3.2

硫苷 Glucosinolate

油菜籽中硫代葡萄糖苷，简称硫苷，以每克饼粕或每克油菜籽中所含硫苷总量的微摩尔数表示。

3.3

定标模型 Calibration Model

利用化学计量学方法建立的样品近红外光谱与对应化学值之间关系的数学模型。

3.4

样品集 Sample Set

具有代表性的、基本覆盖芥酸、硫苷含量范围的样品集合。

3.5

定标模型验证 Calibration Model Validation

使用验证样品验证定标模型准确性和重复性的过程。

3.6

决定系数 Correlation Coefficient

近红外光谱法测定值与参考值之间的相关性，定标样品决定系数以 R^2 表述。

3.7

交叉验证均方根误差 Cross Validation Root Mean Square Error (RMSECV)

每次从样本集中取出一个样本，其余的样本用来建立模型，用建立的模型预测取出的样本，直到定标模型中样本都被取出过一次，计算近红外预测值与化学值之间的交叉验证均方根误差，按式(1)计算：

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Y - Y_p)^2}{n}} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

Y ——样品采用标准方法测定的芥酸、硫苷含量，芥酸单位为百分率(%)，硫苷单位为微摩尔每克($\mu\text{mol/g}$)；

Y_p ——样品采用定标模型预测的芥酸、硫苷含量，芥酸单位为百分率(%)，硫苷单位为微摩尔每克($\mu\text{mol/g}$)；

n ——样本数。

第一法 近红外光谱法

4 原理

利用油菜籽中芥酸、硫苷分子中C-H、O-H、C=O、C-C等化学键的泛频振动或转动对近红外光的吸收特性，以漫反射或透射方式获得在近红外区的吸收光谱或透射光谱，利用化学计量学方法建立油菜籽近红外光谱与芥酸、硫苷含量之间的相关关系，计算油菜籽中芥酸、硫苷的含量。

5 仪器设备

5.1 近红外分析仪：符合 GB/T 24895 的要求。

5.2 软件：具有近红外光谱数据的收集、存储、定标和分析等功能。

6 测定

6.1 测定前准备

6.1.1 去除样品中的杂质和破碎粒，取样和分样按 GB/T 5491 的规定执行。

6.1.2 样品水分含量 $\leq 8.0\%$ 。

6.1.3 工作环境：温度 $15\text{ }^\circ\text{C}$ – $30\text{ }^\circ\text{C}$ ，相对湿度 $\leq 80\%$ 。

6.2 定标模型建立

6.2.1 定标模型样品集样品应具有代表性，光谱采集应与样品集采用 GB 5009.168 和 NY/T 1582 测定芥酸、硫苷同期进行，每个样品重复装样 3 次，每次重复扫描 2 次，取 6 次扫描的平均光谱用于建立定标模型，定标建模样品含量应均匀分布，覆盖不同品种、不同类型等，样品数不得小于 100 个。

6.2.2 定标模型建立：采用化学计量学回归分析方法建立芥酸、硫苷定标模型，以定标模型的决定系数(R^2)和交叉验证均方根误差(RMSECV)为评价指标。

6.3 样品测定

接近红外分析仪要求的方式和数量加入样品，避免光透过样品，于近红外分析仪测定，记录测定数

据。待测样品按 6.2.1 光谱采集方法执行，结果计算时将样品近红外光谱与定标样品光谱进行比较，样品测定值在定标模型范围内时，样品的测定值被采纳；当样品测定值超出定标模型范围时，该样品被定为疑似异常样品。

6.4 定标模型校准升级

定期采集代表性样品光谱，将光谱加入到定标模型的样品光谱库中，采用 GB 5009.168 和 NY/T 1582 测定芥酸和硫苷，用已有的化学计量学方法进行重新计算和验证，即可校准升级定标模型。

7 结果处理和表示

7.1 三次测定结果的绝对差应符合 9.2 的要求，取三次数据的平均值为测定结果，测定结果保留小数点后一位。

7.2 异常样品的确认和处理流程按照第 8 章执行。

8 异常样品的确认和处理

8.1 异常样品的确认

样品芥酸、硫苷含量超出定标模型范围的认定为异常样品，应进行第二次近红外测定予以确认。

8.2 异常样品的处理

异常样品的芥酸、硫苷含量应按 GB 5009.168 和 NY/T 1582 方法进行测定，并可用于定标模型升级。

9 准确性和精密度

9.1 准确性：验证样本集测定含量扣除系统偏差后的近红外测定值与其化学值之间的绝对差（S）的具体要求见表 1。

表 1 油菜籽中芥酸、硫苷 近红外光谱法分析要求

指标	芥酸 / %			硫苷 / $\mu\text{mol/g}$	
	$x \leq 3$	$3 < x < 10$	$x \geq 10$	$y \leq 45$	$y \geq 45$
准确性（S） \leq	0.5	1.0	2.0	6.0	8.0
重复性（ S_r ） \leq	0.8	2.0	4.0	8.0	10.0
再现性（ S_R ） \leq	1.2	3.0	5.0	10.0	12.0

注：x 为近红外光谱法测定芥酸的含量，y 为近红外光谱法测定硫苷的含量

9.2 重复性：在同一实验室，由同一操作者使用相同的仪器设备，按相同的测试方法，在短时间内通过重新分样和重新装样，对同一被测样品相互独立进行测试，两次独立测定的结果的绝对差（ S_r ）的具体要求见表 1。

9.3 再现性：在不同实验室，由不同操作人员使用不同设备，按相同的测试方法，对相同的样品，两次独立测定的结果的绝对差（ S_R ）的具体要求见表 1。

第二法 分光光度法

10 原理

10.1 芥酸测定原理

油菜籽油中芥酸含量不同，在聚乙二醇辛基苯基醚乙醇溶液中形成的浊度不同，根据浊度与芥酸含量的相关关系测定芥酸含量。

10.2 硫苷测定原理

油菜籽中硫苷与米曲霉硫甙水解酶反应生成硫苷降解产物，和邻联甲苯胺乙醇溶液反应生成特征吸收峰的有色产物，采用光度法测定硫苷含量。

11 试剂

除非另有规定，使用试剂均为分析纯试剂。

11.1 水：GB/T 6682，二级。

11.2 超纯水：GB/T 6682，一级。

11.3 聚乙二醇辛基苯基醚（ $C_{34}H_{62}O_{11}$ ）乙醇溶液（10 mg/mL）：称取 10.0 g 聚乙二醇辛基苯基醚用无水乙醇溶解并定容至 1000 mL。

11.4 磷酸二氢钾（ KH_2PO_4 ）溶液（0.1 mol/L）：称取 1.36 g 磷酸二氢钾用水（11.1）溶解并定容至 100 mL。

11.5 pH 为 6.0 的 buffer 溶液：0.5 mg/mL 米曲霉硫甙水解酶和 0.1 mol/L 的 K_2HPO_4 于超纯水（11.2）中定容，在 pH 计上用稀 H_3PO_4 调节 pH 值为 6.0，冰箱中冷藏备用。

11.6 邻联甲苯胺溶液（0.62 mg/mL）：称取 0.62g 邻联甲苯胺充分溶解于无水乙醇中，定容至 1L。贮藏于棕色瓶中，冰箱中冷藏，于一周内使用。

11.7 油菜籽硫苷测试板：使用 96 孔板，试剂为 pH 为 6.0 的 buffer 溶液和 0.62 mg/mL 的邻联甲苯胺溶液。

12 仪器设备

12.1 微孔板光度计：参照附录 A.分光光度计。

12.2 脂肪制备器：参见附录 B。

12.3 微型粉碎机。

12.4 恒温箱。

12.5 天平：量程 0 g - 200 g，感量 10 mg。

12.6 可调微量移液器：200 μ L。

12.7 微量移液器：1000 μ L。

13 取样

按照 GB 5491 执行。取样时，应清除样品外来杂质。含水量大于 13% 时，油菜籽需风干或 50°C 烘

干至水分小于 13%。

14 分析步骤及结果计算

14.1 芥酸测定

14.1.2 预先将石英比色杯和 20 mL 超纯水（11.2）置于 $32\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱（12.4）中预热恒温。

14.1.1 取 5 g ~ 8 g 油菜籽（第 13 章）倒入脂肪制备器，制取油样，用取油管收集，静置备用。

14.1.2 称取 0.30 g 油样于 50 mL 具塞三角瓶中，用移液管加入 25 mL 聚乙二醇辛基苯基醚乙醇溶液（11.3），旋紧塞子，用力振摇，充分混匀后，放入 $32\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱（12.4）中保温 15 min。

14.1.3 在恒温箱内，用微量移液器（12.7）将 1000 μL 恒温至 $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的超纯水（11.2）加入三角瓶，边滴加边摇动三角瓶，旋紧塞子后摇匀，随即倒入比色杯，用微孔板光度计（12.1）进行芥酸测定，测定值即为油菜籽芥酸含量。

14.2 硫苷测定

14.2.1 取油菜籽样品约 3 g ~ 5 g（第 13 章），用微型粉碎机或研钵磨碎，细度 40 目。

14.2.2 称取 0.50 g 粉碎样品，置于 5 mL 具塞试管，用移液管加入 3 mL 水（11.1），塞紧塞子，充分混匀后室温下放置 8 min。

14.2.3 用脱脂棉过滤，或离心机（3000 r/min）离心 5 min，取上清液 50 μL 加入到硫苷测试板孔（11.7）内，静置 8 min，用微量移液器（12.6）加入 150 μL 磷酸二氢钾溶液（11.4）后再静置 2 min。

14.2.4 微孔板光度计测定硫苷，作空白调零后测定值即为每克饼粕或每克油菜籽中所含硫苷总量的微摩尔数（ $\mu\text{mol/g}$ ）。

同一样品进行两次重复测定，测定结果取算术平均值。

15 精密度

15.1 芥酸

芥酸含量大于 5% 时，两次平行测定结果绝对相差不大于 1.0%；芥酸含量 $< 5\%$ 时，两次平行测定结果绝对相差不大于 0.5%。

15.2 硫苷

饼粕中硫苷含量两次平行测定结果绝对相差不大于 8.0 $\mu\text{mol/g}$ 。

油菜籽中硫苷含量两次平行测定结果绝对相差不大于 4.0 $\mu\text{mol/g}$ 。

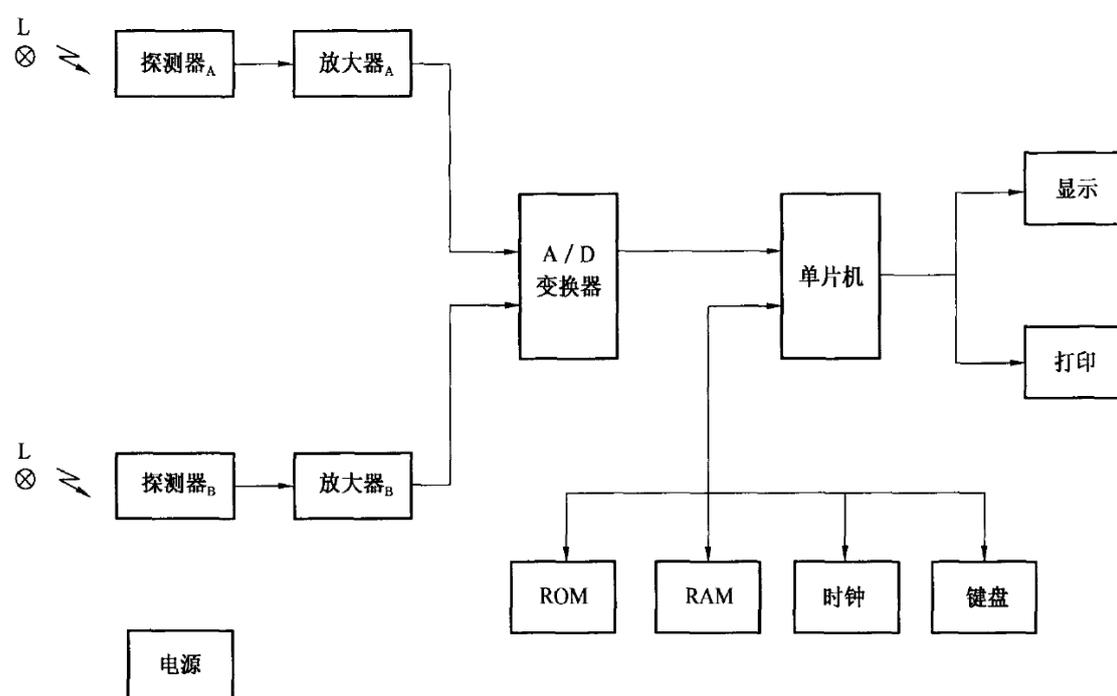
附录 A
(资料性附录)
微孔板光度计

微孔板光度计参数如下:

光源: 卤钨灯; 测量范围: 0.001 ~ 3.500 Abs; 精确度: $\pm 1\%$ 或 ± 0.001 Abs;

重复性: 0.5% ~ 0.5%; 稳定性: < 0.005 Abs; 线性度: $-1\% \sim 1\%$; 波长: $450 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$ 。

微孔板光度计原理如图A.1所示。

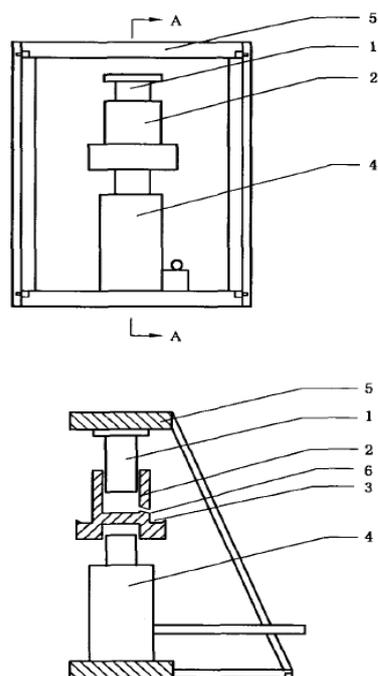


注: 下标A为硫甙测定系统, 下标B为芥酸测定系统

图 A.1 微孔板光度计原理图

附录 B
(资料性附录)
脂肪制备器

脂肪制备器的平面图如图B.1所示。



- 1—压榨塞；
- 2—压榨缸；
- 3—环形盛油凹槽；
- 4—千斤顶；
- 5—矩形固定框架；
- 6—导油槽。

图B.1 脂肪制备器平面图