《植物源性食品中花色苷的测定 分光光度法》

农业行业标准编制说明

起草单位：农业农村部食物与营养发展研究所、中国农业大学

负责人：仇菊、朱宏

联系电话：15652018337、17701025838

邮箱：qiuju@cau.edu.cn、zhuhong@caas.cn

# 1 编制工作概况

## 1.1 项目背景

自然界有超过300种不同的花色苷，广泛存在于水果、蔬菜、谷物等各种颜色呈红、紫、黑的食物中，例如蓝莓、草莓、越橘、黑加仑；紫胡萝卜、紫甘蓝、紫甘薯、紫土豆；黑米、黑玉米、黑小麦等。大量研究表明花色苷除了赋予植物性食物鲜艳的色泽并可以作为天然色素以外，还具有抗氧化、抗炎、预防慢性病以及改善视力等生物学作用。花色苷不仅引起国内外医学界、营养学界的广泛关注，而且也得到了消费者的认可。2013年出版的《中国居民膳食营养素参考摄入量》已经列出花色苷的推荐摄入量为50 mg/d，说明其在中国居民膳食中的重要作用。

富含花色苷的食物无论是作为初级加工的食用农产品还是作为产品原料，获取其含量信息的重要性不容置疑。我国虽然种植很多花色苷原料，但由于地域及气候差异大，及生产工艺和技术限制，导致提取物产品品质参差不齐，很难达到欧洲标准，而我国关于花色苷产品及限量的标准不够完善。因此，方便快捷并低成本的测定不同植物源性食物中花色苷类色素总量，对原料品质提升及质量控制至关重要。测定方法将从不同植物源性食物种类及储运加工过程的代表性阶段考虑，针对样品前处理及其它色素干扰排除问题，包括谷薯类高淀粉、豆类高蛋白特点；果蔬类叶绿素干扰；食物储运过程中褪黑素生成等问题进行细分和研究，为后续的产品标准、原料标准法规制定和消费引导提供技术支撑。

我国与花色苷及花青素含量检测相关的现行标准有国家标准2项：《保健食品中前花青素的测定》（GB/T 22244）和《食品安全国家标准食品添加剂紫甘薯色素》（GB1886.244）。农业行业标准2项：《植物源性食品中花青素的测定 高效液相色谱法》（NY/T 2640）对飞燕草、矢车菊、矮牵牛、天竺葵、芍药、锦葵6种花青素的测定方法进行规范；《黑米花色苷的测定 高效液相色谱法》（NY/T 3164）对黑米中矢车菊3-O-β-葡萄糖苷和芍药素3-O-β-葡萄糖苷2种花色苷测定方法进行规范。进出口标准1项：《出口葡萄酒中7种花色苷的测定 超高效液相色谱法》（SN/T 4675.11）对花翠素3-O-葡萄糖苷、花青素3-O-葡萄糖苷、甲基花翠素3-O-葡萄糖苷、甲基花青素3-O-葡萄糖苷、二甲基花翠素3-O-葡萄糖苷、花翠素3,5-O-双葡萄糖苷、花青素3,5-O-双葡萄糖苷7种花色苷的测定方法进行规范。这些标准中前花青素和原花青素不能直接反应花青素或花色苷的含量，而与花色苷含量相关的标准中除了紫甘薯色素中涉及到总花色苷含量测定，其它方法均是采用高效液相色谱法检测某几种花青素或花色苷。已知的主要花青素有17种，花色苷种类超过300种，现有标准中用高效液相色谱法定量的不足20种。因此，**花色苷总量的测定对于更全面反应植物源食物中花色苷类色素含量具有必要性**。

国际上关于花色苷总量的测定已有AOAC的检测方法，但其主要针对果汁、葡萄酒、饮料等液体类介质，缺乏对新鲜农产品的检测规范。而液体介质中花色苷种类与新鲜农产品的区别较大。因此，可以借鉴其pH示差法的分光光度计测定方法，同时对不同来源的食物进行分析。

花色苷是花青素与糖结合形成的糖苷化合物，花青素作为苷元主要有17种，其分布和含量从高到低的排序为矢车菊、天竺葵、芍药、飞燕草、矮牵牛、锦葵等色素。由于花青素一般以花色苷的形式存在较为稳定，常见的典型天然糖苷以矢车菊3-O-β-葡萄糖苷（简称Cy-3-G）的分布最为广泛，已有的研究也多以Cy-3-G对总花色苷含量进行定量。这种定量检测方法在花色苷研究中较为常见，却缺乏标准化，因此，花色苷总量测定的标准化对快速判定食物花色苷类色素含量必不可少，且不同种类食物的前处理方法也对花色苷总量的比较有很强的指导作用。本标准基于花色苷在不同pH值结构变化具有不同吸光度值原理，对花色苷总量进行测定。

## 1.2 任务来源

根据《关于下达2019年农业国家、行业标准制定和修订项目任务的通知》（农质标函〔2019〕77号），由农业农村部食物与营养发展研究所主持承担“植物源性食品中花色苷的测定 分光光度法”的制定。

立项后，组织了相关科研单位（表1）、检测机构以及设备企业（表2）专家在内的起草组。

表 1 参与制定标准的主要科研单位

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 序号 | 单位名称 | 单位类型 |
| 1 | 农业农村部食物与营养发展研究所 | 科研单位 |
| 2 | 中国农业大学 | 高校 |
| 3 | 中国农科院作科所 | 科研单位 |
| 4 | 河北环境工程学院 | 高校 |

表 2 参与制定标准的检测机构以及设备企业

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 序号 | 单位名称 | 单位类型 |
| 1 | 谱尼测试集团股份有限公司 | 检测机构 |
| 2 | 谱尼测试集团江苏有限公司 | 检测机构 |
| 3 | 北京市营养源研究所有限公司 | 检测机构 |

## 1.3 编制过程

2019年3~5月，完成相关文献和标准的搜集、分析、整理工作，以及咨询生产、加工方面的专家；

2019年9月，标准正式立项；

2019年9~10月，完成试验设备主要参数的调试、优化与确认；

2019年11~12月，各类样品的收集、前处理，条件和方法的优化；

2020年1~6月样品前处理和实验室条件实验室内与实验室间评价和方法论证；

2020年6~10月实验数据分析、整理。于2020年8月5日，农业农村部食物与营养发展研究所召开“农产品营养成分检测方法标准研讨会”，邀请了相关专家对标准文本进行研讨论证；

2020年11~2024年11月，完成方法实验验证，起草完成标准初稿和编制说明；

2024年12~2025年1月，征求和整理专家意见。

## 1.4 标准主要起草人

仇菊：项目负责人，负责制定实验方案、方法和仪器条件研究、数据整理，以及标准文本和编制说明起草等工作。

朱宏：负责检测条件确定、样品处理工作，标准文本和标准说明的修改工作。

孙丽娟：负责结果统计分析。

崔园园、崔亚娟等参与标准实验室验证工作。

唐新玥：参与标准的样品制备和实验工作。

朱大洲：标准项目总顾问。

# 2 标准编制原则和主要内容

## 2.1编制原则

本文件的起草遵循《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》（GB/T 1.1—2020）、《测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第1部分：总则与定义》（GB/T 6379.1—2004）、《测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第2部分：确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法》（GBT 6379.2—2004）、《食品卫生检验方法 理化部分 总则》（GB/T 5009.1—2003）、《化学分析方法验证确认和内部质量控制要求》（GB/T 32465—2015）等相关标准与法规的要求。

## 2.2 适用范围说明

本文件规定了植物源性食品中花色苷总量的分光光度检测方法。

本文件适用于谷类、薯类、水果、蔬菜等植物源性食品中花色苷总量的测定。

## 2.3 规范性引用文件

本文件在执行过程中主要在实验室用水上需要参考下列文件：

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法。

## 2.4 原理

花色苷在酸性条件下结构转变，因此通过pH示差法测定不同结构花色苷的吸光度值可以反应其含量。花色苷在pH值1.0和4.5构型不同，颜色随之改变，利用此特性分别测定在不同pH值的吸收波峰和700 nm处的吸光度值测定含量。pH示差法减少了溶液pH值和溶剂差异的影响，排除了其他非花色苷类物质对检测结果的干扰，且不需要制作标准曲线，利用公式计算即可。

## 2.5 试剂与材料

试验用试剂均为分析纯试剂，包括氯化钾、盐酸、醋酸钠、冰醋酸、无水乙醇、维生素C。试验用水符合GB/T 6682一级水的规定。

## 2.6 仪器与设备

全波长扫描分光光度计、破壁料理机、离心机。

## 2.7 分析步骤

（1）实验要求

由于花色苷对光敏感，除非另行说明，所有试验操作应在无500 nm以下紫外光的黄色光源或红色光源或避光环境中进行。

（2）提取

称取试样0.5 g~5.0 g（精确至0.001 g）于离心管中，以料液比1：10加入提取溶剂（5.2.3）充分振荡混匀，3500 r/min离心15 min，重复提取2次，合并上层提取液转移至100 mL容量瓶，定容至刻度，得到试样花色苷提取液，待测。

（3）比色液A

取2 mL提取液（8.2），用pH值1.0缓冲溶液（5.2.1）定容至10 mL，静置10 min，记为比色液A。

注：可适当调整稀释倍数以保证在最大吸收峰吸光度值处在0.5-2.0内，如吸光度值超过2.0，可增加提取液的稀释倍数至高于5倍。

（4）比色液B

取与8.3等量的提取液（8.2），用pH值4.5缓冲溶液（5.2.2）定容至10 mL，静置10 min，记为比色液B。

注：可适当调整稀释倍数以保证在最大吸收峰吸光度值处在0.5~2.0内，如吸光度值超过2.0，可增加提取液的稀释倍数至高于5倍。

（5）测定

使用分光光度计在200~700 nm分别对比色液A（8.3）和比色液B（8.4）进行扫描测定，确定最大吸收峰的波长，并测定最大吸收峰波长下的吸光度值EAmax、EBmax。然后测定比色液A和比色液B在700 nm处的吸光度值EA700、EB700。应在30 min内测量完毕。

（6）结果计算

总花色苷（以矢车菊-3-葡萄糖苷计）含量ω，计算按式（1）进行。

()

式中：

*ω*——试样中花色苷含量，单位为mg/100g；

Δ*E*——吸光度值差：；

449.2——矢车菊-3-葡萄糖苷的相对分子质量，单位为g/mol；

*V*——最后定容体积，单位为mL；

*F*——样品稀释倍数；

*m*——样品质量，单位为g；

*Ɛ*——矢车菊-3-葡萄糖苷的摩尔消光系数26900，单位为L/mol/cm；

*l*——比色皿的宽度，单位为cm；

*EAmax*——比色液A在最大吸收波长的吸光度值；

*EBmax*——比色液B在最大吸收波长的吸光度值；

*EA700*——比色液A在700 nm波长的吸光度值；

*EB700*——比色液B在700 nm波长的吸光度值；

100——换算系数。

注：试样中的花色苷种类可能不同于矢车菊-3-葡萄糖苷，因此最大吸收波长、相对分子质量和摩尔消光系数均有区别，本测定结果只是一个以矢车菊-3-葡萄糖苷计的总花色苷含量，不代表试样中实际的总花色苷的含量。

# 3 方法条件优化

## 3.1 提取料液比确定

为保证样品中的花色苷提取完全，进行了料液比-花色苷含量的单因素实验，在实验中发现第一次提取离心后的沉淀始终有颜色残留，因此进行了二次浸提，两次实验结果如表3所示。可以看出，只进行单次浸提时，花色苷含量随着料液比增大先增大再减少，且受影响较小。而对样品进行二次浸提，既可以节约试剂用量，也能够更充分的提取花青素。

表 3 多次浸提试验

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 样品编号 | 浸提 | 花色苷含量/（mg/100g） |
| 1 | 一次 | 309.3135 |
| 二次 | 17.4568 |
| 三次 | 0.12743 |
| 2 | 一次 | 264.5446 |
| 二次 | 12.8506 |
| 三次 | 0.0832 |

调整稀释倍数以保证pH值1.0时，最大吸收峰吸光度值处在0.2~1.0内。为保证缓冲液的缓冲效果，稀释倍数不得低于5。最终各个样品的浸提料液比及稀释倍数如表4所示。

表 4 试样浸提料液比和稀释比例

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 样品 | 浸提液料液比  m总：V总 | 缓冲液稀释倍数  V待测液:V缓冲液 |
| 紫米 | 1:18 | 1:9 |
| 黑米 | 1:18 | 0.5:9.5 |
| 蓝莓 | 1:14 | 1:9 |
| 葡萄皮 | 1:14 | 1:9 |
| 葡萄全果 | 1:5 | 1:4 |
| 紫甘蓝 | 1:14 | 1:4 |
| 紫玉米 | 1:14 | 1:4 |
| 茄子皮 | 1:14 | 1:9 |
| 紫薯 | 1:14 | 1:9 |
| 马铃薯 | 1:14 | 1:4 |

## 3.2 离心机参数确定

试验采用3500 r/min离心15min；8000 r/min离心10 min；12000 r/min离心5 min三个条件进行提取液离心，测得花色苷含量如表5，无明显差异。但在上述转速下分别离心10 min、5 min、3 min发现肉眼可见沉淀，因此不同转速对应离心时间如上所述。

表 5 不同离心条件下花色苷含量（mg/100g）

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 样品 | 3500 r/min  15 min | 8000 r/min  10 min | 12000 r/min  5 min |
| 紫米 | 994.21 | 984.41 | 989.62 |
| 黑米 | 6200.76 | 6188.63 | 6190.39 |
| 紫玉米 | 57.84 | 58.62 | 56.38 |
| 蓝莓 | 1151.77 | 1132.22 | 1095.17 |
| 葡萄皮 | 580.33 | 577.81 | 571.34 |
| 葡萄全果 | 73.48 | 70.81 | 71.76 |
| 紫甘蓝 | 284.37 | 279.44 | 280.34 |
| 茄子皮 | 892.12 | 889.56 | 891.98 |
| 紫薯 | 858.92 | 852.72 | 850.11 |
| 粉色马铃薯 | 184.04 | 181.76 | 179.43 |
| 紫色马铃薯 | 316.34 | 312.54 | 310.86 |

## 3.3 分光光度计检测参数确定

试验采用岛津UV-1780紫外可见分光光度计，选择全波长扫描光谱模式，获得待测液300 nm~700 nm吸光曲线，可以针对不同样品中花色苷的不同吸收峰进行计算。试验获得不同试样的最大吸收峰如表6所示。

表 6 不同试样的最大吸收峰/nm

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 样品 | 比色液A | 比色液B |
| 紫米 | 505 | 505 |
| 黑米 | 529 | 532 |
| 蓝莓 | 520 | 520 |
| 葡萄皮 | 523 | 523 |
| 葡萄全果 | 523 | 523 |
| 紫甘蓝 | 525 | 525 |
| 紫玉米 | 528 | 528 |
| 茄子皮 | 519 | 519 |
| 紫薯 | 527 | 527 |
| 马铃薯 | 527 | 530 |

## 3.4 实验结果

样品前处理方法对于检测结果影响明显，其关键点包括（1）谷类样品可以制粉的须先磨粉，其它鲜样直接加入适量浸提液（V1）用料理机充分打碎、混匀，将匀浆转移至烧杯中。（2）采用含有维生素C的提取液进行花色苷提取有效抑制前处理过程中的氧化。（3）取浸提液（V2），选择清洗模式清洗搅拌机内壁残余样品，将清洗液转移至烧杯中，充分混合后转移至离心管中。（4）取浸提液（V3），冲洗搅拌机及烧杯，冲洗完成后将浸提液转移至离心管中。注意：V=V1+V2+V3，浸提液总体积V与样品质量m的料液比为1:10。最终获得结果如表7所示。

表 7 实验结果

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 类别 | 样品名称 | 均值（mg/100g） | SD |
| 谷物 | 紫米 | 994.21 | 40.84 |
| 黑米 | 6200.76 | 52.93 |
| 紫玉米 | 57.84 | 7.92 |
| 水果 | 蓝莓 | 1151.77 | 22.24 |
| 葡萄皮 | 580.33 | 12.68 |
| 葡萄全果 | 73.48 | 7.27 |
| 蔬菜 | 紫甘蓝 | 284.37 | 13.05 |
| 茄子皮 | 892.12 | 11.33 |
| 薯类 | 紫薯 | 858.92 | 16.51 |
| 粉色马铃薯 | 184.04 | 15.85 |
| 紫色马铃薯 | 316.34 | 9.63 |

# 4 实验室对比和结果分析

根据标准制定要求，开展对标准方法的实验室比对和结果分析，除本单位外，选择北京市营养源研究所、中国农业大学食品学院、北京市产品质量监督检验院共4家机构开展方法的实验室间比对。涉及的4家实验室，其中两家为检测中心，另外两家为方法使用的科研机构。根据标准适用范围，收集谷类、薯类、水果、蔬菜4类生鲜农产品，谷类包括黑米、紫米；薯类包括马铃薯、紫薯；水果包括蓝莓、葡萄；蔬菜包括紫甘蓝、茄子，马铃薯选取2个不同品种粉色马铃薯与紫色马铃薯，共计9个样品，即9个水平。

表 8 第三方验证机构验证结果

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 样品编号 | 水平 | 重复 | 检测机构与编号 | | | |
| 营养源-实验室1 | 农大-实验室2 | 质检院-实验室3 | 营养所-实验室4 |
| 紫米 | 1 | 1 | 763.473 | 838.618 | 949.833 | 1121.764 |
| 2 | 739.427 | 832.005 | 829.601 | 976.284 |
| 3 | 715.380 | 837.716 | 925.786 | 884.607 |
| 平均值 | 739.42 | 836.11 | 901.73 | 994.218 |
| 标准偏差 | 24.046 | 3.586 | 63.621 | 119.592 |
| 黑米 | 2 | 1 | 5194.021 | 5664.128 | 6119.807 | 6191.946 |
| 2 | 5506.624 | 6384.318 | 6252.062 | 9296.548 |
| 3 | 5181.998 | 6107.784 | 6035.645 | 6113.796 |
| 平均值 | 5294.21 | 6052.07 | 6135.83 | 6200.763 |
| 标准偏差 | 184.050 | 363.312 | 109.096 | 91.695 |
| 蓝莓 | 3 | 1 | 958.516 | 1019.534 | 1173.598 | 1074.239 |
| 2 | 836.948 | 1088.500 | 1241.395 | 1206.561 |
| 3 | 960.854 | 1103.696 | 1101.124 | 1174.533 |
| 平均值 | 918.77 | 1070.10 | 1172.03 | 1151.778 |
| 标准偏差 | 70.872 | 44.853 | 70.148 | 69.033 |
| 葡萄全果 | 4 | 1 | 57.611 | 67.860 | 49.053 | 76.752 |
| 2 | 75.980 | 76.377 | 65.752 | 70.094 |
| 3 | 69.092 | 85.728 | 58.655 | 73.621 |
| 平均值 | 67.56 | 76.65 | 57.81 | 73.489 |
| 标准偏差 | 9.280 | 8.937 | 8.381 | 3.331 |
| 紫甘蓝 | 5 | 1 | 310.933 | 238.402 | 239.045 | 276.392 |
| 2 | 309.180 | 319.174 | 277.619 | 267.392 |
| 3 | 344.248 | 301.173 | 203.392 | 309.063 |
| 平均值 | 321.45 | 286.249 | 240.01 | 284.379 |
| 标准偏差 | 19.760 | 42.404 | 37.123 | 21.816 |
| 茄子皮 | 6 | 1 | 944.489 | 939.813 | 610.177 | 897.498 |
| 2 | 1061.381 | 935.138 | 586.799 | 901.239 |
| 3 | 1105.800 | 895.160 | 607.839 | 877.627 |
| 平均值 | 1037.22 | 923.370 | 601.60 | 892.121 |
| 标准偏差 | 83.325 | 24.542 | 12.876 | 12.691 |
| 紫薯 | 7 | 1 | 654.596 | 596.618 | 649.921 | 934.436 |
| 2 | 703.691 | 586.097 | 642.907 | 842.559 |
| 3 | 694.340 | 593.111 | 635.894 | 799.776 |
| 平均值 | 684.20 | 591.942 | 642.90 | 858.924 |
| 标准偏差 | 26.068 | 5.357 | 7.014 | 68.805 |
| 粉色马铃薯-红美 | 8 | 1 | 190.534 | 199.184 | 188.196 | 165.741 |
| 2 | 198.132 | 199.009 | 181.767 | 192.755 |
| 3 | 202.808 | 201.171 | 188.781 | 193.632 |
| 平均值 | 197.15 | 199.788 | 186.24 | 184.043 |
| 标准偏差 | 6.195 | 1.201 | 3.892 | 15.856 |
| 紫色马铃薯-紫云 | 9 | 1 | 327.883 | 222.563 | 357.690 | 324.025 |
| 2 | 315.609 | 292.055 | 334.312 | 309.121 |
| 3 | 255.994 | 282.931 | 337.818 | 315.901 |
| 平均值 | 299.82 | 266.183 | 343.27 | 316.349 |
| 标准偏差 | 38.455 | 37.994 | 12.608 | 7.462 |

## 4.1 柯克伦（Cochran）检验法检验离群值

根据标准GB/T 6379.2中的7.3.3柯克伦（Cochran）检验要求，对4家实验室内的变异进行检验，按下式计算柯克伦检验量*C。*

式中：

：为各实验室S2中的最大值；

P ：为实验室数量。

a)如果检验统计量小于或等于5%临界值，则接受被检验项目为正确值；

b）如果检验统计量大于5%临界值，但小于或等于1%临界值，则称被检验项目为歧离值，且用单星号（\*）标出；

c）如果检验统计量大于1%临界值，则被检验项目成为统计离群值，且用双星号（\*\*）标出。

本实验中，3次重复*n*=3，4家实验室*p*=4，柯克伦检验5%的临界值为0.768，1%的临界值为0.864。

对于紫米水平，实验室4的*S*=119.592最大，检验统计值=0.755；

对于黑米水平，实验室2的*S*=363.312最大，检验统计值=0.709；

对于蓝莓水平，实验室4的*S*=63最大，检验统计值=0.300；

对于葡萄全果水平，实验室1的*S*=9.28最大，检验统计值=0.348；

对于紫甘蓝水平，实验室2的*S*=42.404最大，检验统计值=0.444；

对于茄子皮水平，实验室1的*S*=83.325最大，检验统计值=0.882；

对于紫薯水平，实验室4的*S*=68.805最大，检验统计值=0.862；

对于粉色马铃薯-红美水平，实验室4的*S*=15.856最大，检验统计值=0.820；

对于紫色马铃薯-紫云水平，实验室1的*S*=38.455最大，检验统计值=0.471；

检验后紫玉米的实验室2，以及紫薯和紫色马铃薯-红美的实验室4的检验统计量值大于5%临界值，但小于1%临界值，则称被检验项目为歧离值。没有离群值，全部可以参与后续计算。

## 4.2 格拉布斯(Grubbs)检验法检验离群值

对每个实验室的每个水平的单元平均值进行格拉布斯检验。表7给出这些平均值的检验计量值，从表中可以看出，实验室间的检验中未出现离群值以及岐离值。所有数值进行下一步分析。

表 9 对单元平均值的格拉布斯检验

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 水平 | 单个高值 | 单个低值 | 两个高值 | 两个低值 | 检验类型 |
| 1 | 0.759 | 0.772 | 0.056 | 0.052 | 格拉布斯检验统计量 |
| 2 | 0.494 | 1.105 | 0.298 | 0.002 |
| 3 | 0.621 | 1.054 | 0.167 | 0.003 |
| 4 | 0.870 | 1.239 | 0.199 | 0.021 |
| 5 | 1.170 | 1.310 | 0.304 | 0.191 |
| 6 | 0.981 | 1.479 | 0.449 | 0.069 |
| 7 | 1.071 | 0.668 | 0.018 | 0.216 |
| 8 | 0.765 | 0.744 | 0.007 | 0.011 |
| 9 | 1.103 | 1.204 | 0.169 | 0.108 |
| 5%离歧值 | 上1.481 | 上1.481 | 下0.002 | 下0.002 | 格拉布斯检验临界值 |
| 1%离群值 | 上1.496 | 上1.496 | 下0.000 | 下0.000 |

## 4.3 重复性和再现性

对每个水平按下列方程式计算重复性方差、实验室间方差和再现性方差。具体结果见表10。

式中：

：第i个实验室第j个水平的标准方差；

：第i个实验室第j个水平的重复数；

：第i个实验室第j个水平的单元均值；

：第j个水平的结果均值；

P：实验室数量。

图 1

重复性标准差：Sr=0.0718m+57.76

再现性标准差：SR=0.034m+22.23

实验室内RSD（%）范围在3.6~11.4。

实验室间RSD（%）范围在5.5~21.9。

表 10 花色苷含量的重复性方差、实验室间方差、再现性方差和相对标准偏差的计算值

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 参数 | 水平1 | 水平2 | 水平3 | 水平4 | 水平5 | 水平6 | 水平7 | 水平8 | 水平9 |
|  | 4735.236904 | 46544.98052 | 4180.232247 | 61.83127275 | 1010.653 | 1968.055 | 1372.891 | 76.5952065 | 784.2435423 |
|  | 9961.059966 | 162639.672 | 11840.36331 | 48.023926 | 776.1151 | 33735.25 | 12983.05 | 35.63999208 | 778.2797756 |
|  | 14696.29687 | 209184.6525 | 16020.59555 | 109.8551988 | 1786.768 | 35703.3 | 14355.94 | 112.2351986 | 1562.523318 |
|  | 68.81305766 | 215.7428574 | 64.65471558 | 7.863286384 | 31.79077 | 44.36276 | 37.05254 | 8.751869 | 28.00435 |
|  | 121.2282841 | 457.3670873 | 126.5724913 | 10.48118308 | 42.27018 | 188.9532 | 119.8163 | 10.59411 | 39.52877 |
| 平均值*m* | 867.8695 | 5920.71825 | 1078.1695 | 68.87725 | 283.022 | 863.5778 | 694.4915 | 191.8053 | 306.4055 |
| 实验室内RSD，% | 7.9 | 3.6 | 6.0 | 11.4 | 11.2 | 5.1 | 5.3 | 4.6 | 9.1 |
| 实验室间RSD，% | 14.0 | 7.7 | 11.7 | 15.2 | 14.9 | 21.9 | 17.3 | 5.5 | 12.9 |

# 附录1：检验报告：

