

团 体 标 准

T/QGCML 4274—2024

银杏叶中总黄酮的测定

Determination of total flavonoids in Ginkgo biloba leaves

2024 - 05 - 21 发布

2024 - 06 - 05 实施

## 目 次

前言 .....	II
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 原理 .....	1
5 试剂与材料 .....	1
6 仪器设备 .....	2
7 试样制备 .....	2
8 分析步骤 .....	2
9 结果计算与表达 .....	3
10 精密度 .....	3

## 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。

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。

本文件由运城市综合检验检测中心提出。

本文件由全国城市工业品贸易中心联合会归口。

本文件起草单位：运城市综合检验检测中心、运城市市场监管综合行政执法队、山西大学、玖零零幺质量研究院（山西）有限公司。

本文件主要起草人：曹本男、韩珍珍、窦梦璇、李宣英、张志斌、谷文建、王彬、薄涛。

本文件为首次发布。

# 银杏叶中总黄酮的测定

## 1 范围

本文件规定了银杏叶中总黄酮测定的术语和定义、原理、试剂与材料、仪器设备、试样制备、分析步骤、结果计算与表达、精密度。

本文件适用于银杏叶中酮类化合物总含量的测定。

## 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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**总黄酮 total flavonoids**

广泛存在于植物界的一类具有苯并吡喃环结构的黄酮类化合物的总称，包括黄酮、黄酮醇、双氢黄酮（醇）、异黄酮、双黄酮、黄烷醇、查尔酮、橙酮、花色苷及新黄酮类等。

### 3.2

**银杏叶 ginkgo biloba leaf**

银杏科植物银杏的干燥叶。

## 4 原理

银杏叶中的总黄酮（以芦丁计）经乙醇溶液提取后，在弱碱性条件下与铝盐生成螯合物，加入氢氧化钠溶液后显色，在波长 510 nm 处测定吸光度值。在一定浓度范围内，该螯合物的吸光度值与总黄酮含量成正比，采用标准曲线法定量。

## 5 试剂与材料

### 5.1 一般规定

除另有说明外，所用试剂均为分析纯和 GB/T 6682 中规定的一级水。

### 5.2 试剂

5.2.1 无水乙醇（ $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ）：分析纯。

5.2.2 亚硝酸钠（ $\text{NaNO}_2$ ）：分析纯。

5.2.3 硝酸铝（ $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ ）：分析纯。

5.2.4 氢氧化钠（ $\text{NaOH}$ ）：分析纯。

### 5.3 溶液配制

5.3.1 乙醇溶液（7+3）：量取 70 mL 无水乙醇加入 30 mL 纯化水中，混匀备用。

5.3.2 亚硝酸钠溶液（50 g/L）：准确称取 5.00 g 亚硝酸钠于 100 mL 容量瓶中，加适量水溶解，加水定容至刻度，摇匀，备用。

5.3.3 硝酸铝溶液（100 g/L）：准确称取 10.00 g 硝酸铝于 100 mL 容量瓶中，加适量水溶解，加水定容至刻度，摇匀，备用。

5.3.4 氢氧化钠溶液（40 g/L）：准确称取 8.00 g 氢氧化钠于 200 mL 容量瓶中，加适量水溶解，用水定容至刻度，摇匀，备用。

### 5.4 标准品

芦丁标准品（ $C_{27}H_{30}O_{16}$ ，CAS 号：153-18-4）纯度大于或等于 98.0%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

### 5.5 标准溶液配制

准确称芦丁标准品 13.40 mg（精确至 0.0001 g）至 50 mL 容量瓶中，加乙醇溶液（5.3.1）适量并超声使溶解，定容至刻度，摇匀，配制成 0.268 mg/mL 的芦丁标准溶液。

### 5.6 材料

微孔滤膜：0.45  $\mu\text{m}$ ，有机系。

## 6 仪器设备

6.1 紫外可见分光光度计。

6.2 分析天平，感量为 0.01 g 和 0.0001 g。

6.3 粉碎机。

6.4 超声波清洗器。

6.5 水浴锅。

6.6 干燥箱。

## 7 试样制备

### 7.1 试样处理

将采集来的银杏叶除去灰尘、病害叶，用清水洗净，沥干，于 50  $^{\circ}\text{C}$  的干燥箱内烘 24 h。取烘干后的样品约 20 g，将其放入粉碎机中粉碎，过 80 目标准筛，装袋置于低温避光处保存备用。

### 7.2 试样提取

取银杏叶干粉末约 1 g（精确至 0.0001 g），置三角瓶中，加 50 mL 的乙醇溶液（5.3.1）冷浸 30 min，沸水浴 98  $^{\circ}\text{C}$  ~ 100  $^{\circ}\text{C}$  回流提取 1 h，滤过，分取滤液，滤渣再加 30 mL 的乙醇溶液（5.3.1），水浴回流提取 1 h，过滤，合并滤液，用乙醇溶液（5.3.1）洗涤滤渣并定容至 100 mL 的量瓶中，摇匀，滤过（5.6）作为试液，待用。

## 8 分析步骤

### 8.1 标准曲线的绘制

8.1.1 精密量取芦丁标准溶液 (5.5) 0 mL、0.1 mL、0.4 mL、0.8 mL、1.2 mL、1.6 mL、2.0 mL 分别置 10 mL 容量瓶中, 分别加乙醇 2.0 mL, 各加亚硝酸钠溶液 (5.3.2) 0.4 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加硝酸铝溶液 (5.3.3) 0.4 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加氢氧化钠溶液 (5.3.4) 4.0 mL, 加水至刻度摇匀, 放置 15 min, 即得到芦丁含量分别为 0.00 mg/L、2.68 mg/L、10.72 mg/L、21.44 mg/L、32.16 mg/L、42.88 mg/L 和 53.60 mg/L 的标准系列浓度。

8.1.2 以相应试剂作空白, 在 510 nm 波长处测定吸光度值, 以芦丁质量浓度  $x$  (mg/L) 为横坐标, 相应的吸光度值  $y$  为纵坐标, 绘制标准曲线, 得到标准曲线回归方程。

## 8.2 测定步骤

8.2.1 精密量取待测液 1.0 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 加水至 2.0 mL, 加亚硝酸钠溶液 (5.3.2) 0.4 mL 摇匀, 放置 6 min, 加硝酸铝溶液 (5.3.3) 0.4 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加氢氧化钠溶液 (5.3.4) 4 mL, 加水至刻度, 摇匀, 放置 15 min。

8.2.2 试样于 510 nm 波长处测定, 以测得吸光值由标准曲线查得试样待测液中总黄酮的含量, 同时做空白实验。

## 8.3 空白试验

分取 1.0 mL 乙醇溶液 (5.3.1) 于 10.0 mL 量瓶中, 加水至 2.0 mL, 其他操作步骤同 8.2。

## 9 结果计算与表达

试样中总黄酮含量以芦丁的含量 (百分含量) 计, 按公式 (1) 计算, 测定结果保留三位有效数字:

$$\omega = \frac{(p-p_0) \times V_1 \times V_3}{m \times V_2 \times 1000} \quad (1)$$

式中:

$\omega$ ——试样中总黄酮含量的数值, 单位为毫克每克 (mg/g);

$p$ ——从标准曲线上查得试样待测液中总黄酮的质量浓度的数值, 单位为毫克每升 (mg/L);

$p_0$ ——从标准曲线上查得空白待测液中总黄酮的质量浓度的数值, 单位为毫克每升 (mg/L);

$V_1$ ——试样中加入并定容的提取溶液体积的数值, 单位为毫升 (mL);

$V_3$ ——试样的最终定容体积的数值, 单位为毫升 (mL);

$m$ ——试样的质量的数值, 单位为克 (g);

$V_2$ ——提取液的分取体积的数值, 单位为毫升 (mL)。

## 10 精密度

### 10.1 重复性

在重复性条件下, 获得的两次独立测定结果的绝对差值应不超过算术平均值的 10%。

### 10.2 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应不超过算术平均值的 10%。