

ICS 65.020

B 20

团体标准

T/AFFI XXX-2022

红枣中黄酮类化合物的测定

20XX-XX-XX 发布

20XX-XX-XX 实施

阿拉尔果业行业联合会 发布

目 录

前言	1
1 范围	2
2 规范性引用文件	2
3 术语和定义	2
4 原理	2
5 试剂与材料	2
6 仪器和设备	3
7 分析步骤	3
8 结果计算	4
9 精密度	4
10 其他	4
11 检验规则	5
附录 A	6
附录 B	7

前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020 《标准化工作导则 第一部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由新疆兵团第一师阿拉尔市果业行业联合协会提出。

本文件由新疆兵团第一师阿拉尔市果业行业联合协会归口。

本文件起草单位：新疆维吾尔自治区产品质量监督检验研究院、新疆兵团第一师阿拉尔市果业行业联合协会

本文件主要起草人：孙蕾、赵建勇、张煌涛、寇雷、王建玲、袁辉、张薇、李勇、张莉、何军

本文件实施应用中的疑问，请咨询新疆维吾尔自治区产品质量监督检验研究院（乌鲁木齐市河北东路 188 号）。

新疆维吾尔自治区产品质量监督检验研究院：联系电话：0991-3191180；邮编：830011

本文件为首次发布。

红枣中黄酮类化合物的测定

1 范围

本标准适用于新疆地区红枣。

本标准规定了红枣中黄酮类物质--环磷酸腺苷和芦丁、槲皮素、绿原酸的检验方法。

本文件适用于本地区新鲜红枣、干制红枣中黄酮类物质的检测。

2 规范性引用文件

本文件中引用的文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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

3.1 新鲜红枣 fresh an dates

选用新鲜、洁净，经过一定加工或保鲜处理的红枣。

3.2 干制红枣 dried red dates

经自然风干或烘烤干燥等方式加工成的红枣。

3.3 黄酮类物质 flavonoids

原是指以2-苯基色原酮为骨架衍生的一类化合物的总称。现泛指两个苯环通过三个碳原子相互连接而成的一系列化合物的总称，即具有C6-C3-C6结构的一类化合物的总称。

4 原理

红枣中的环磷酸腺苷和芦丁、槲皮素、绿原酸分别经水和30%甲醇水溶液提取后，ODS-BP色谱柱分离，用二极管阵列检测器分别在波长254nm和325nm处测定，外标法定量。

5 试剂与材料

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和GB/T 6682中规定的一级水。

5.1 试剂

磷酸二氢钾、甲醇（优级纯）。

5.2 标准品

环磷酸腺苷标准品，芦丁、槲皮素、绿原酸标准品。

5.3 标准溶液配制

标准储备液的配制（1 mg/mL）：准确称取四种对照品各0.0001 g定容至100 mL，4 ℃冷藏避光保存。

标准工作液的配制：使用前将环磷酸腺苷标准储备液用水稀释成1~20 μg/mL的标准工作液，芦丁、槲皮素、绿原酸3种标准储备液用30%甲醇水溶液稀释成0.1~5 μg/mL的混合标准工作液。

5.4 材料

微孔滤膜：0.22 μm。

6 仪器和设备

烘箱。

50目筛。

电子天平：感量0.0001 g。

超声清洗仪。

离心机：转速不低于4000 rpm。

高效液相色谱仪（HPLC）：配有二极管阵列检测器。

超纯水系统。

7 分析步骤

7.1 试样制备

将红枣样品切成细条，放入100 ℃烘箱中烘干，然后粉碎过50目筛，备用。

7.2 试样提取

准确称取2 g粉碎样品（精确至0.0001 g）于50 mL离心管中，加入一定量的水，超声提取30 min，冷却至室温后用水定容。4000 rpm下离心10 min，上清液过滤膜（5.5），供环磷酸腺苷待测使用。

准确称取4 g粉碎样品（精确至0.0001 g）50 mL于离心管中，加入一定量的30%甲醇水溶液，超声提取30 min，冷却至室温后用30%甲醇水溶液定容。4000 rpm下离心10 min，上清液过滤膜（5.5），供芦丁、槲皮素和绿原酸待测使用。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件

色谱柱：ODS-BP（4.6 mm×200 mm，粒度5 μm），或同等性能的色谱柱，

柱温40 ℃。

环磷酸腺苷测定条件：

流动相：20 mM磷酸二氢钾溶液（pH=3）：甲醇（80：20），流速1 mL/min，进样量为10 μL，波长为254 nm。

芦丁、槲皮素、绿原酸测定条件：

流动相：20 mM磷酸二氢钾溶液（pH=3）：甲醇，流速1 mL/min，进样量为10 μ L，波长为325 nm。梯度洗脱，洗脱程序见表1。

表 1 HPLC 梯度洗脱程序

时间，min	20mM磷酸二氢钾溶液（pH=3），%	甲醇，%
	70	30
1	70	30
10	20	90
12	70	30
16	70	30

7.3.2 标准曲线的绘制

测定浓度为1，2，4，10，20 μ g/mL的环磷酸腺苷标准工作液，以及浓度为0.1，0.2，0.4，0.8，1 μ g/mL的芦丁、槲皮素、绿原酸混合标准工作液，绘制标准曲线，求得线性回归方程和线性相关系数（R），相关系数均大于0.999，表明在此浓度范围内4种待测组分线性关系良好。以3倍信噪比确定方法检出限（LOD），LOD为0.2~1mg/kg，详情见见表2，对照品和红枣样品的色谱图见图1。

7.3.3 定量测定

在相同的色谱条件下，取等体积的试样待测液和相应浓度的标准工作液进行色谱分析，以保留时间定性，色谱峰面积外标法定量。试样待测液中各黄酮类化合物的响应值均应在标准曲线范围内，超过线性范围时应根据测定浓度进行适当倍数稀释后再进行分析。

8 结果计算

试样中环磷酸腺苷和芦丁、槲皮素、绿原酸的含量按公式（1）计算。

$$w = \frac{\rho \times V}{m \times 1000} \quad (1)$$

式中：

w----试样中环磷酸腺苷和芦丁、槲皮素、绿原酸含量的数值，单位为毫克每克（mg/g）；

ρ ----从标准曲线上查得试样待测液中环磷酸腺苷和芦丁、槲皮素、绿原酸的质量浓度的数值，单位为微克每毫升（μ g/mL）；

V----试样中加入的提取溶液体积的数值，单位为毫升（mL）；

m----试样的质量的数值，单位为克（g）。

计算结果保留3位有效数字。

9 精密度

在重复性条件下获得的2次独立测定结果的绝对差值不大于算数平均值的10%。

10 其他

4种黄酮类化合物标准溶液色谱图见附录A、红枣中4种黄酮类化合物色谱图见附录B。

11 检验规则

11.1 检验批次

同品种、同等级、同一批交货进行销售的红枣为一个批次。

11.2 抽样方法

抽取的样品必须具有代表性，应在全批货物的不同部位随机抽取，样品的检验结果适用于整个检验批次。

11.3 取样

包装抽出后，自每件包装的上、中、下三部分共抽取1000 g样品，将所有样品充分混合，按照四分法抽取样品待检验使用。

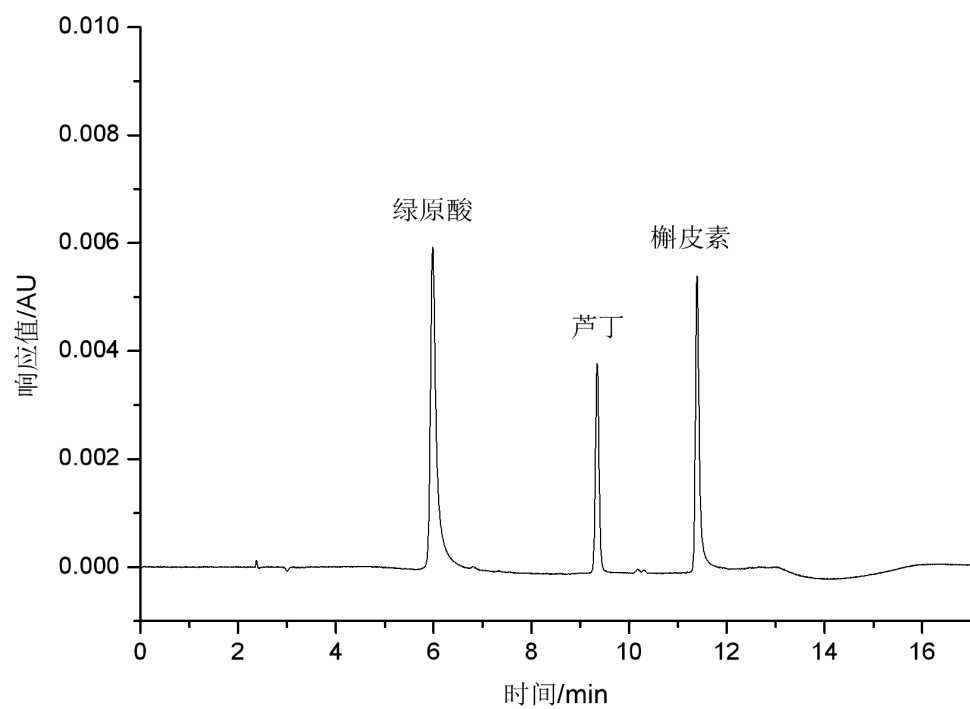
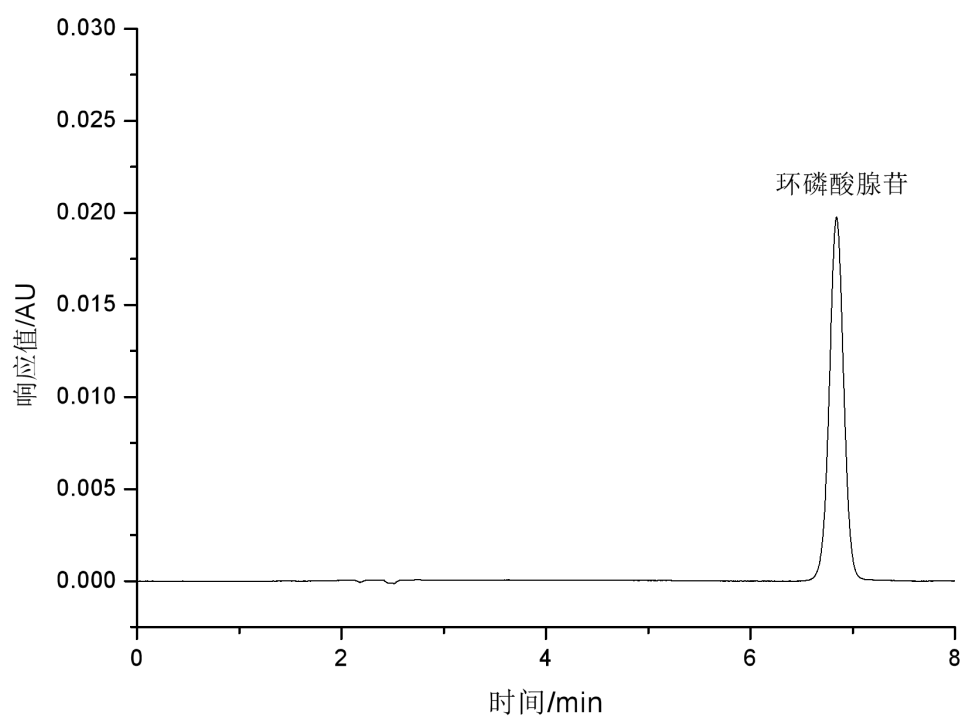
11.4 样品制备

采用四分法或分量器法将样品缩分至所需重量，一般为1 kg。含水量高的样品放入匀浆机匀浆，制备好的样品每份不少于100 g - 300 g分装入洁净容器，密封并标识。

附录 A

(资料性)

4 种黄酮类化合物标准溶液色谱图



附录 B

(资料性)

红枣中 4 种黄酮类化合物色谱图

