

ICS (XXXXXXXX)
X (XXXXX)

T/GZ(XX)

团 体 标 准

T/ GZ(XX) 000-2022

刺梨果实及原汁中总酚的检测方法

2022-XX-XX 发布

2022-XX-XX 实施

贵州省刺梨行业协会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》起草。

本标准由贵州省刺梨行业协会提出。

本标准由贵州省刺梨行业协会并归口。

本标准起草单位：国药集团同济堂（贵州）制药有限公司、贵州初好农业科技开发有限公司、中志浩刺梨产业开发(贵州)有限公司、贵州恒力源天然生物科技有限公司、贵州金维宝生物技术有限公司、贵州明安实业有限公司。

本标准主要起草人：漆正方、钱品、蔡金腾、林建、白洪斌、王恒松、龙久铃。

刺梨果及原汁中总酚含量的测定

1 范围

本文件规定了刺梨果及原汁中总酚含量测定的分光光度法。

本文件适用于刺梨果及原汁中总酚含量的测定。

2 规范性引用文件

下列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

LS/T 6119 粮油检验 植物油中多酚的测定 分光光度法

T/AHFIA 005 植物提取物及其制品中总多酚含量的测定 分光光度法

3 术语和定义

酚类化合物，是羟基（-OH）与芳烃核（苯环或稠苯环）直接相连形成的有机化合物。刺梨总酚为刺梨中的酚类成分的总和。

4 原理

采用福林酚显色分光光度法测定刺梨果及原汁中的总酚含量。在碱性条件下利用多酚的还原性，多酚可以将磷钨酸钼酸还原成蓝色，蓝色深浅与多酚含量成正相关，在760 nm下测定吸光度值，外标法定量。

5 试剂

5.1 水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

5.2 碳酸钠（ Na_2CO_3 ）：分析纯。

5.3 福林酚试剂（Folin-Phenol，BR，1 mol/L）：分析纯。

5.4 无水乙醇：分析纯。

5.5 没食子酸标准品（ $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ，CAS：149-91-7）：纯度 $\geq 98\%$ 。

5.6 12% 碳酸钠溶液：精确称取12 g无水碳酸钠，用水溶解定容至100 mL。

5.7 70%乙醇提取剂：取70 mL无水乙醇，加入30 mL水混匀。

5.8 0.1 mg/mL没食子酸标准储备液：精确称取10.0 mg没食子酸标准品于10 mL棕色容量瓶中，用纯水定容稀释至刻度，4℃避光保存待用，即浓度为0.1 mg/mL。

5.9 没食子酸标准系列浓度配制：分别吸取没食子酸标准储备液0.0、0.25、0.50、0.75、1.00、1.25、1.5 mL于25 mL棕色容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀，4℃保存待用。没食子酸标准系列浓度为0、1、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 µg/mL。现用现配。

6 仪器和设备

6.1 722分光光度计：配1 cm比色皿。

6.2 高速破壁机。

6.3 数控超声波清洗器。

6.4 高速冷冻离心机：转速10000 rpm。

6.5 分析天平：感量0.01 g。

6.6 手持精密移液枪：200 µL、1 mL。

7 试样制备

7.1 样品预处理

刺梨鲜果样于-18℃冷冻冰箱中保存。试验时将刺梨鲜果样品取出，采用四分法，混合均匀后缩分至100g，于高速破壁机中破碎，匀浆液置于样品瓶中备用，-18℃冷冻备用。

刺梨原汁样于-18℃冷冻冰箱中保存备用。

8 试样提取

准确称取5.00 g刺梨果匀浆或移取5mL原汁于50 mL离心管中，加入30 mL 80 %乙醇溶液超声提取90 min，超声过程中振摇数次，保持固相完全分散。提取液在9000 rpm、4℃下离心5 min，取上清液纯水定容至50mL容量瓶，待用。

9 标准曲线的绘制

分别吸取没食子酸标系列浓度（5.9）1.00 mL于25 mL刻度试管中，加入1.00mL1.0 mol/L Folin-Phenol试剂，摇匀后静置5 min，再各加入12 %的碳酸钠溶液2.00 mL，纯水定容至刻度线，30℃水浴加热90 min，在760 nm处测定吸光度。以浓度x（µg / mL）为横坐标，吸光值A 为纵坐标，绘制标准曲线（没食子酸标准曲线见附录A）。

10 样品测定

取制备好的样品稀释液1.00 mL于25 mL刻度试管中，加入1.00mL1.0 mol/L Folin-Phenol试剂，再各加入12 %的碳酸钠溶液2.00 mL，纯水定容至刻度线，30℃水浴加热90 min，在760 nm处测定吸光度。根据标准曲线计算待测液中总酚浓度。

同一样品平行测定两次。

11 空白试验

除不加试样外，均按上述步骤进行操作。

12 结果计算

刺梨果及原汁中总多酚含量按公式（1）计算：

$$\text{刺梨总酚} X = \frac{(C-C_0) \times V}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X—刺梨果及原汁中总多酚的含量，mg/g；

C—样品中总多酚的浓度，μg/mL；

C₀—空白中总多酚的浓度，μg/mL；

m—称取样品的质量，g；

V—提取液体积，mL；

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

13 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值算术平均值不得超过10%。
