

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黄酮的检测方法

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、王智旺。

刺梨果实及原汁中总黄酮的测定

1 范围

本标准规定了刺梨果实及原汁中黄酮类化合物总量的检测方法。

本标准仅适用于刺梨果实及原汁中黄酮类化合物的测定。

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 方法提要

黄酮类化合物是具有苯并吡喃环结构的一类天然化合物的总称，本方法利用其与铝盐进行络合反应，在碱性条件下生成黄色的络合物，在420 nm波长下测定其吸光度，在一定浓度范围内，其吸光度与黄酮类化合物的含量成正比。与芦丁标准品比较，进行待测物中总黄酮的定量测定。

4 试剂和材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂，试验用水应符合GB/T 6682中规定的一级水。

4.1 硝酸铝 $[\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}]$ 。

4.2 硝酸铝溶液（100g/L）：称取 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 17.6 g，加水溶解，定溶于100 mL容量瓶中。

4.3 醋酸钾（ CH_3COOK ）。

4.4 醋酸钾溶液（98g/L）：称取醋酸钾9.814 g，加水溶解，定溶于100 mL容量瓶中。

4.5 芦丁标准品，CAS号153-18-4。

4.6 芦丁标准溶液：精密称取经干燥（120 °C减压干燥）至恒重的芦丁标准品50 mg，使用无水乙醇溶解并定容与50 mL容量瓶中。

4.7 无水乙醇（ $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ）。

4.8 30%乙醇（无水乙醇与蒸馏水按3:7比例配制）。

5 仪器设备

5.1 可见分光光度计，采用1 cm比色皿。

5.2 分析天平：感量为0.01g和0.0001g。

5.3 超声清洗仪。

5.4 组织捣碎机。

5.5 离心机。

6 样品制备与保存

6.1 试样制备

6.1.1 刺梨果实样品

将刺梨果实样品使用高速组织捣碎机进行破碎，过40目筛，混匀后存放于-20℃条件下避光保存。

6.1.2 刺梨原汁样品

将刺梨原汁样品存放于4℃冷藏箱中避光保存。

6.2 试样保存

制样操作过程应防止样品受到污染。

7 测定步骤

7.1 提取

精密称取刺梨果实样品1g（精确到1mg）置于100mL烘干恒重三角瓶中。

精密吸取刺梨原汁样品5mL~10mL样品置于100mL烘干恒重三角瓶中，称重（精确到1mg）供后续测定使用。

加入约30mL无水乙醇（4.7）充分摇匀样品，将摇匀样品置于超声清洗器中超声浸提1h，其间每20min摇匀溶液一次。对于脂肪、色素等杂质较多的样品可加入适量石油醚提取，移除石油醚。提取液过滤至50mL容量瓶中，使用无水乙醇（4.7）冲洗滤纸、三角瓶，合并溶液，带溶液冷却至室温，用无水乙醇（4.7）定容至50mL待测。

7.2 绘制标准曲线

精密吸取芦丁标准品工作溶液1mL、2mL、3mL、4mL、5mL分别置于50mL容量瓶中。加无水乙醇（4.7）至总体积为15mL，依次加入硝酸铝溶液（4.2）1mL，醋酸钾溶液（4.4）1mL，摇匀，加水至刻度，摇匀。静置1h，用1cm比色皿于420nm处，以30%乙醇溶液（4.8）为空白，测定吸光度。以50mL中芦丁质量（mg）为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线或按直线回归方程计算。

7.3 空白试验

除不加试样外，均按上述测定步骤进行。

7.4 测定

精密吸取待测样品溶液1 mL，置于50 mL容量瓶中，按7.2进行操作。

以空白试液（7.3）作参比，用1 cm比色杯，在波长420 nm处测定试料溶液的吸光度。

查标准曲线或通过回归方程计算，求出试料溶液中的黄酮类化合物含量（mg）。在标准曲线上求得样液中的浓度，其吸光度值应在标准曲线的线性范围内。

8 结果计算

8.1 刺梨果实及原汁黄酮类化合物的总含量按式（1）计算。

$$X = \frac{m}{W \times d \times 1000} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X——黄酮类化合物的总含量；

m——从标准曲线上查出或由直线回归方程求出样品比色液中芦丁质量，单位为毫克（mg）；

W——样品质量，单位为克（g）；

d——稀释比例。

8.2 计算结果保留至小数点后两位。

9 测定低限

本标准可用于测定黄酮类化合物的总量在0.05%以上的食品。

10 重复性

同一操作者两次平行测试结果的绝对值不得超过算术平均值的：

刺梨果实：15%；

刺梨原汁：10%
