ICS 65.020

B 20

团 体 标 准

**T/HXCY XXX-2025**

**红象草中花青素提取技术规程**

**Technical code for extraction of anthocyanins from *Pennisetum purpureum Schumab***

**（征求意见稿）**

2025-XX-XX发布 2025-XX-XX实施

北京华夏草业产业技术创新战略联盟发布**目 次**

[前 言 II](#_Toc26659)

[1 范围 1](#_Toc27315)

[2 规范性引用文件 1](#_Toc504)

[3 术语和定义 1](#_Toc6135)

[4 试剂 1](#_Toc22661)

[5 仪器设备 1](#_Toc3438)

[6 原料要求 2](#_Toc20587)

[7 提取工艺 2](#_Toc20986)

[8 检验方法 3](#_Toc24232)

[9 贮藏管理 3](#_Toc29121)

# 前 言

本文件按照GB/T1.1-2020《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。

本文件北京华夏草业产业技术创新战略联盟团体标准委员会提出并归口。

本文件起草单位：福建省农业科学院畜牧兽医研究所、福建省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、福建省农业科学院资源环境与土壤肥料研究所、福建农林大学动物科学学院。

本文件主要起草人：陈鑫珠，韦航，林平冬、黄秀声、黄小云、高龙。

本文件为首次发布。

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这些专利的责任。

**红象草中花青素提取技术规程**

1 范围

本文件规定了红象草中花青素提取技术的术语和定义、仪器设备、原料要求、提取工艺、检验方法、贮藏管理等技术。

本文件适用于实验室中红象草中花青素的提取。

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

NY/T 2640 植物源性食品中花青素的测定 高效液相色谱法

3 术语和定义

3.1 红象草 Pennisetum purpureum Schumab

红象草(*Pennisetum purpureum Schumab*)为多年生禾本科狼尾草属(Pennisetum)，茎叶为紫红色，又叫紫狼尾草、紫象草。

3.2 花青素 anthocyanins

是深红色、紫色或蓝色植物中广泛存在的一类水溶性黄酮类天然色素，是花色苷水解而得的有颜色的糖苷衍生物。

4 试剂

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，提取用水应符合GB/T 6682中三级水的要求。

4.1 无水乙醇。

4.2 盐酸：优级纯，纯度为 35%～37%。

4.3 50%酸性乙醇（1%盐酸酸化处理，pH=2）

5 仪器设备

5.1 天平（感量0.01 g)。

5.2 组织捣碎机。

5.3 超声波仪。

5.4 真空冷冻干燥机。

5.5 旋转蒸发仪。

6 原料要求

6.1 原料刈割时期

刈割高度为1.5m～2.5 m的红象草

6.2 原料管理

6.2.1原料存储过程中防止雨淋、霉变、污染和鼠（虫）害。

6.2.2 原料储存时间不超过1周，储存条件应遮阳、通风。

6.3 原料预加工

6.3.1清除原料中金属、石块、塑料等异物。

6.3.2 原料提取前应进行粉碎处理，长度不宜超过50 mm。

7 提取工艺

7.1 工艺流程

红象草中花青素提取工艺流程，

红象草→粉碎→粗提→过滤→浓缩→冻干→花青素。

7.2 原料制备

红象草经组织捣碎机捣碎、混匀，置于-18 °C以下密封保存备用。

7.3 提取

按料液比49:1，称取粉碎后的红象草样品，量取相应量的50%酸性乙醇，于50°C超声波仪（功率480 W，频率50 KHz）中超声提取30 min，过滤，4000 rpm离心5 min，上清液转入圆底烧瓶，重复上述操作1次，合并提取液。

7.4 浓缩

提取液于50°C水浴下旋转蒸发仪上减压浓缩，待冷凝器无液滴滴下，收集浓缩液。

7.5 纯化

用有机溶剂（如乙酸乙酯）萃取花青素，去除水溶性杂质。使用硅胶柱或C18反相柱，用不同极性的溶剂洗脱，分离花青素。

7.6 冻干

将浓缩液置于冷冻干燥机中，在真空度100Pa，温度-45°C条件下冻干24 h，得到冻干物为红象草花青素提取物。

8 检验方法

应符合附录A的规定。

9 贮藏管理

干品应密封后置于-18°C下避光贮存或者在冷库内避光贮存。贮藏场所应保持清洁、干燥，防虫、防鼠。

附 录 A

（规范性）

花青素的测定

A.1 范围

本文件规定了红象草原料及提取液中飞燕草色素、矢车菊色素、矮牵牛色素、天竺葵色素、芍药素和锦葵色素共6种花青素的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于红象草原料及提取液中花青素含量的测定。

本标准的检出限：以称样量为1g，定容体积为50 mL计，飞燕草色素、矢车菊色素、天竺葵色素、芍药素和锦葵色素5种花青素的方法定量限均为0.5 mg/kg；矮牵牛色素的方法定量限为1.5 mg/kg。

A.2原理

红象草中的花青素主要以花色苷的形式存在。试样经乙醇一水的强酸溶液超声提取花色苷后，经水浴后将花色苷水解成花青素，用高效液相色谱法测定，以保留时间定性，外标法定量。

A.3 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，检测用水应符合 GB/T 6682 中一级水的要求。

A.3.1 无水乙醇(C2H5OH)：色谱纯。

A.3.2 甲酸(CH2O2)：色谱纯。

A.3.3 甲醇(CH3OH)：色谱纯。

A.3.4 盐酸(HCl)：优级纯，纯度为 35%～37%。

A.3.5 提取液：无水乙醇+水+盐酸=1+1+0.01(V+V+V)，取100 mL无水乙醇、100 mL水和1 mL盐酸混匀。

A.3.6 10%盐酸甲醇溶液(体积比)：取10 mL盐酸、90 mL甲醇混匀。

A.3.7 飞燕草色素(Delphinidin)：CAS号528-53-0，纯度≥96%。

A.3.8 矢车菊色素(Cyanidin)：CAS号528-58-5，纯度≥98%。

A.3.9 矮牵牛色素(Petunidin chloride)：CAS号1429-30-7，纯度≥96%。

A.3.10天竺葵色素(Pelargonidin)：CAS号134-04-3，纯度≥96%。

A.3.11芍药素(Peonidin)：CAS号134-01-0，纯度≥98%。

A.3.12锦葵色素(Malvidin)：CAS号643-84-5，纯度≥96%。

A.3.13单标储备溶液

分别准确称取飞燕草色素、矢车菊色素、矮牵牛色素、天竺葵色素、芍药素和锦葵色素共6种花青素标准品5.0 mg，用10%盐酸甲醇溶液（A.3.6）溶解并分别定容至10 mL容量瓶中，即为500 mg/L的单标储备液，于-18℃下，贮存于密闭的棕色玻璃瓶中，保存有效期为6个月。

A.3.14混合标准工作溶液

在使用中将单一标准储备液进行混合后，用10%盐酸甲醇溶液（A.3.6）作为溶剂，并逐级稀释成0.1、0.25、0.5、1.0、5.0、10.0、20.0 mg/L或其他浓度的花青素混合标准工作溶液。在4℃条件下，有效期为6个月。

A.3.15滤膜：0.45 μm 水相滤膜。

A.4 仪器和设备

A.4.1 高效液相色谱仪，配备紫外或二极管阵列检测器。

A.4.2 天平：精度0.01 mg，0.01g。

A.4.3 水浴锅：精度±2°C。

A.4.4 组织捣碎机。

A.4.5 超声波仪。

A.4.6 50 mL具塞比色管。

A.5 分析步骤

A.5.1 供试品溶液的制备

红象草：准确称取1.00 g样品， 加入50 mL具塞比色管中，加入50 mL 提取液（A.3.5）定容至刻度，摇匀1 min后，于50°C超声波仪（功率480 W，频率50 KHz）中超声提取30 min，放至室温后，加入 提取液（A.3.5）至刻度，摇匀，离心或放至澄清后取上清液作为供试品溶液。

A.5.2 测定

A.5.2.1色谱参考条件

1. 色谱柱：C18柱，250 mm×4.6 mm×5 μm或性能相当者；

b) 流动相A为含1%甲酸水溶液，流动相B为含1%甲酸乙腈溶液；

c) 检测波长：530 nm;

d) 柱温：35°C;

e) 进样量：10 μL;

f) 流速1.0 mL/min，梯度洗脱条件，见表1。

表1 梯度洗脱表

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 时间，min | 流动相A% | 流动相B% |
| 0 | 88 | 12 |
| 2 | 88 | 12 |
| 5 | 85 | 15 |
| 10 | 82 | 18 |
| 12 | 82 | 18 |
| 15 | 80 | 20 |
| 16 | 88 | 12 |
| 20 | 88 | 12 |

A.5.3色谱分析

分别将标准溶液和试样溶液，注入液相色谱仪中，以保留时间定性，以样品溶液峰面积与标准溶液峰面积比较定量。色谱图参见图A.1。



*T* / min

紫外吸收强度/mAU

图A.1 花青素标准溶液（1.0 mg/L）色谱图

A.6 结果计算

样品中花青素含量为6种花青素含量之和。其含量以质量浓度*X*计，单位为毫克每千克(mg/kg)，按式(A.1)计算。

**…………………………………………(A.1)

式中：

*C*——待测液中各花青素的质量浓度，单位为毫克每升(mg/L);

*V*——定容体积，单位为毫升(mL)；

m——试样质量，单位为克(g)。

测定结果取两次测定的算术平均值，计算结果保留三位有效数字。

A.7精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的10%。