

ICS 67.080.10
B 31

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2010—2011

柑橘类水果及制品中总黄酮含量的测定

Determination of total flavonoids in citrus fruits and derived products

2011-09-01 发布

2011-12-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业部种植业管理司提出。

本标准由全国果品标准化技术委员会(SAC/TC 501)归口。

本标准起草单位:中国农业科学院柑橘研究所、农业部柑橘及苗木质量监督检验测试中心。

本标准主要起草人:焦必宁、赵其阳、王成秋、苏学素。

柑橘类水果及制品中总黄酮含量的测定

1 范围

本标准规定了柑橘类水果及制品中总黄酮含量的比色检测法。

本标准适用于柑橘类水果及制品中总黄酮含量的测定。

本标准总黄酮的定量测定范围:0.8 mg/L~100 mg/L。

本标准总黄酮的定量限:0.8 mg/kg。

本标准总黄酮的检出限:0.3 mg/kg。

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 原理

试样中的黄酮类(橙皮苷、新橙皮苷等)与碱作用,开环生成2,6-二羟基-4-环氧基苯丙酮和对甲基苯甲醛;在二甘醇环境中遇碱缩合生成黄色橙皮素查耳酮,其生成量相当于橙皮苷的量;在波长420 nm处比色测定吸光度,扣除本底后,与标准曲线比较定量。

4 试剂和材料

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规定的三级水。

4.1 氢氧化钠溶液(4.0 g/L):称取4.0 g氢氧化钠于烧杯中,用水溶解,转入1000 mL容量瓶中,用水定容至刻度。

4.2 氢氧化钠溶液(160 g/L):称取16.0 g氢氧化钠于烧杯中,用水溶解,转入100 mL容量瓶中,用水定容至刻度。

4.3 柠檬酸溶液(200 g/L):称取200 g柠檬酸于烧杯中,用水溶解,转入1000 mL容量瓶中,用水定容至刻度。

4.4 一缩二乙醇(二甘醇)溶液($C_4H_{10}O_3$, 9+1):量取900 mL二甘醇,加入100 mL水,摇匀。

4.5 试剂空白溶液:量取20 mL氢氧化钠溶液(4.1)于50 mL烧杯中,用柠檬酸溶液(4.3)调节pH至6.0,转入100 mL容量瓶中,用水定容。

4.6 橙皮苷标准品($C_{28}H_{34}O_{15}$, CAS号520-26-3,纯度大于99.0%)。

4.7 橙皮苷标准溶液(200 mg/L):称取20.0 mg橙皮苷,置于50 mL烧杯中,加20 mL氢氧化钠溶液(4.1),待其完全溶解后,用柠檬酸溶液(4.3)调节pH至6.0,转入100 mL容量瓶中,用水定容。此标准溶液需现用现配。

5 仪器和设备

5.1 可见分光光度计。

5.2 分析天平:感量0.0001 g和0.01 g。

5.3 组织捣碎机。

5.4 酸度计:精度到 0.1 pH 单位。

5.5 恒温水浴:温控±1℃。

6 分析步骤

6.1 试样制备

6.1.1 果实样品,取可食部分按四分法缩分后将其切碎,放入组织捣碎机中匀浆后取样。

6.1.2 果酱、果汁及饮料样品,充分混匀后直接取样。

6.1.3 罐头样品,按四分法进行缩分后,放入组织捣碎机中匀浆后取样。

6.1.4 果脯蜜饯类,按四分法进行缩分后,将其切碎充分混匀后取样。

6.2 提取

称取两份平行试料(一般果皮 5 g,果肉、橘子罐头及果脯蜜饯类 5 g~10 g,原汁、浓缩汁 2 g~5 g,果汁饮料 20 g~50 g;精确到 0.01 g)于 100 mL 烧杯中,加入 10 mL 氢氧化钠溶液(4.1),用氢氧化钠溶液(4.2)调节 pH 至 13.0;摇匀,静置 30 min 后,再用柠檬酸溶液调节 pH 至 6.0,转移到 100 mL 容量瓶中,定容;过滤,收集滤液,备用。

6.3 标准工作曲线

准确吸取 0 mL、1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL 和 5.00 mL 橙皮苷标准溶液(4.7)于六支 10 mL 具塞试管中,用试剂空白液(4.5)定容至 5.00 mL,摇匀;再依次准确加入 5 mL 二甘醇溶液(4.4)与 0.1 mL 氢氧化钠溶液(4.2),摇匀,配制成 0 mg/L、20.0 mg/L、40.0 mg/L、60.0 mg/L、80.0 mg/L 和 100 mg/L 系列标准溶液。将各试管置于 40℃ 水浴中保温 10 min;取出,在冷水浴中冷却 5 min。以零标准溶液调零,在波长 420 nm 处测定各标准溶液的吸光度;绘制标准曲线或计算线性回归方程。

6.4 测定

吸取 1.00 mL~5.00 mL 试液(6.2)于 10 mL 具塞试管中,用试剂空白溶液定容至 5.00 mL,准确加入 5 mL 二甘醇溶液,摇匀后加 0.1 mL 氢氧化钠溶液(4.2),摇匀;同时吸取一份等量的试液,不加氢氧化钠溶液,作为本底空白。将各试管置于 40℃ 水浴中保温 10 min;取出,在冷水浴中冷却 5 min。以本底空白溶液调零,测定试液吸光度,根据标准曲线求出试样溶液的总黄酮质量浓度。

7 结果计算

试样中总黄酮的含量以橙皮苷的质量分数 ω 计,数值以毫克每千克(mg/kg)计,按式(1)计算:

$$\omega = \frac{\rho \times 10 \times 100 \times 1000}{m \times V \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

ρ ——在工作曲线上查出的试液中橙皮苷的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——测定时吸取试液的体积,单位为毫升(mL);

m ——试料称取质量,单位为克(g);

10——显色定容体积,单位为毫升(mL);

100——试料提取体积,单位为毫升(mL)。

计算结果保留三位有效数字。

8 精密度

8.1 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不超过算术平均值的 10%。

8.2 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不超过算术平均值的 10%。
