

# SZDB/Z

## 深圳市标准化指导性技术文件

SZDB/Z 349—2019

---

### 食品中总黄酮的测定 分光光度法

Determination of Total flavonoids in Foods

Spectrophotometry

2019-01-28 发布

2019-03-01 实施

---

深圳市市场和质量监督管理委员会 发布



## 目 次

前言 .....	II
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 原理 .....	1
4 试剂和材料 .....	1
5 仪器和设备 .....	1
6 分析步骤 .....	2
6.1 标准溶液的制备 .....	2
6.2 样品溶液的制备 .....	2
6.3 标准曲线的制备 .....	2
6.4 试样的测定 .....	3
7 结果计算 .....	3
8 允许差 .....	3

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1给出的规则起草。

本文件由深圳市食品药品监督管理局归口管理。

本文件主要起草单位：深圳市计量质量检测研究院。

本文件主要起草人：彭建飞、李锦才、郑育民、钟彬、张俊宇、吴燕蕙。

本文件为首次发布。

# 食品中总黄酮的测定 分光光度法

## 1 范围

本文件规定了分光光度法测定龟苓膏、凉粉、饮料中总黄酮（以芦丁计）。

本文件适用于龟苓膏、凉粉、饮料及凉粉浓缩液中总黄酮的测定。

## 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
GB/T 27404-2008	实验室质量控制规范 食品理化检测
NY/T 2010-2011	柑桔类水果及制品中总黄酮含量的测定
DB13/T 385-1998	食品中总黄酮（芦丁）的测定

## 3 原理

在弱碱性条件下，溶于乙醇或甲醇的黄酮类化合物与三价铝离子结合生成红色络合物，可在510 nm波长附近产生最大吸收。在一定浓度范围内，其浓度与吸光度符合朗伯比尔定律。

## 4 试剂和材料

除非另有说明，在分析中至少使用分析纯试剂或去离子水。

- 4.1 芦丁（ $C_{27}H_{30}O_{16}$ ）标准品。
- 4.2 乙醇溶液：体积分数为 60 %。
- 4.3 氢氧化钠溶液（4 g/L）：称取 4.0 g 氢氧化钠，用水溶解后定容至 1 L。
- 4.4 亚硝酸钠溶液（50 g/L）：称取 5.0 g 亚硝酸钠，用水溶解后定容至 100 mL。
- 4.5 硝酸铝溶液（100 g/L）：称取 10.0 g 硝酸铝，用水溶解后定容至 100 mL。
- 4.6 氢氧化钠溶液(200 g/L)：称取 20.0 g 氢氧化钠，用水溶解后定容至 100 mL。
- 4.7 柠檬酸溶液（200 g/L）：称取 200 g 柠檬酸与烧杯中，用水溶解，转入 1 L 容量瓶中，稀释至刻度。
- 4.8 甲醇。
- 4.9 聚酰胺粉:80 目。
- 4.10 苯。

## 5 仪器和设备

- 5.1 紫外可见分光光度计。
- 5.2 电子分析天平：精度到0.1 mg。
- 5.3 酸度计：精度到0.1 pH单位。
- 5.4 恒温水浴。
- 5.5 超声萃取仪。

## 6 分析步骤

### 6.1 标准溶液的制备

称取约 0.2 g（精确至 1 mg）经 120 °C 减压干燥至恒重的芦丁标准品，置于 100 mL 容量瓶中，用乙醇溶液（4.2）溶解并定容至刻度，摇匀。为贮备母液。

吸取 10 mL 芦丁标准贮备溶液于 100 mL 容量瓶中，用水定容至刻度。临用现配。

### 6.2 样品溶液的制备

#### 6.2.1 普通食品的制备

##### 6.2.1.1 液体样品

称取10~20 g(精确至1 mg)混合均匀的样品到100 mL烧杯中，加入10 mL氢氧化钠溶液（4.3），用氢氧化钠溶液（4.6）调节pH值至12。静置30 min后，再用柠檬酸溶液（4.7）调节pH值至7.0，转移到100 mL容量瓶中，定容，过滤，收集滤液，备用。

##### 6.2.1.2 固体样品

称取经混合均匀的样品 1~2 g（精确至 1 mg）置于 100 mL 具塞三角瓶中，加乙醇溶液（4.2）50 mL，40 °C 超声提取 50 min 后，滤入 100 mL 容量瓶中。再于三角瓶中加 40.0 mL 乙醇溶液（4.2）后 40 °C 超声提取 20 min，过滤，合并滤液，用 10 mL 热乙醇溶液（4.2）洗涤滤渣，滤液并于容量瓶中，冷却至室温，用乙醇溶液（4.2）定容至刻度，摇匀，备用。

#### 6.2.2 凉茶浓缩液的制备

取代表性样品1~5 g(精确至1 mg)于50 mL具塞比色管中，加入20 mL无水乙醇，旋涡混匀5 min后，超声提取30 min，放置分层后过滤（样品粘稠可以选择抽滤），用乙醇淋洗比色管、滤渣及滤纸（或抽滤瓶），收集滤液于25 mL容量瓶中，并用乙醇定容至刻度，吸取5 mL滤液于100 mL蒸发皿中，加入5 g聚酰胺粉，混匀后于80 °C水浴上挥干。然后转入层析柱，先用50 mL苯洗，弃去苯液，用甲醇洗脱黄酮于50 mL容量瓶，并用甲醇定容至刻度。

注：1、颜色较深的样品则需要过柱净化步骤操作，样品颜色浅则不需进行净化操作；

2、根据样品值高低适当调整取样量及稀释倍数。

### 6.3 标准曲线的制备

吸取 0.00、0.25、0.50、1.00、2.00、3.00、4.00、6.00 mL 芦丁标准溶液，相当于 0.00、0.050、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.20 mg 无水芦丁，分别置于 25 mL 具塞比色管中，用乙醇溶液（4.2）补充至 5.0 mL，加 1 mL 亚硝酸钠溶液（4.4），摇匀，放置 6 min，加入 1.5 mL 硝酸铝溶液（4.5），摇匀，放置 6 min，加入 4 mL 氢氧化钠溶液（4.6），用乙醇溶液（4.2）定容至刻度，摇匀，放置 15 min。用 1 cm 比色皿，以试剂空白调节零点，在波长 510 nm 处测定吸光度。以吸光度值对应含量绘制标准曲线。

#### 6.4 试样的测定

吸取 2.0 mL（视样品值高低适当调整取样量，尽量控制样品吸光度 ABS 在 0.2~0.7 之间）样品溶液（6.2），置于 25 mL 具塞比色管中，用乙醇溶液（4.2）补充至 5.0 mL，加 1 mL 亚硝酸钠溶液（4.4），摇匀，放置 6 min，加入 1.5 mL 硝酸铝溶液（4.5），摇匀，放置 6 min，加入 4 mL 氢氧化钠溶液（4.6），用乙醇溶液（4.2）定容至刻度，摇匀，放置 15 min。用 1 cm 比色皿，以相应的不添加硝酸铝溶液（4.5）的试样液作为空白进行校正，在波长 510 nm 处测定吸光度。根据标准曲线算出试样溶液的芦丁质量。

### 7 结果计算

样品中总黄酮（以芦丁计）的含量  $\omega$ （mg/100g）按下列公式（1）计算：

$$\omega = \frac{m_1 \times V}{M \times V_1} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$m_1$  ——在工作曲线上算出试样溶液的总黄酮质量，单位为毫克（mg）；

$V$  ——试样的提取体积，单位为毫升（mL）；

$V_1$  ——测定时吸取试样的体积，单位为毫升（mL）；

$M$  ——试样的质量，单位为克（g）。

计算结果应保留至三位有效数字。

### 8 允许差

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%。

本文件检出限为 12.5 mg/100g。