

# 团体标准

T/GDFDTAEC 04—2021

---

## 蜂胶类产品中总黄酮的测定

Determination of total flavone in propolis products

(送审稿)

2021 - XX - XX 发布

2021 - XX - XX 实施

广东省食品药品评审认证技术协会 发布

## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《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。

本标准由广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）、无限极（中国）有限公司提出。

本标准由广东省食品药品评审认证技术协会归口。

本标准起草单位：广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）、无限极（中国）有限公司、汤臣倍健股份有限公司、广东粤微食用菌技术有限公司、华测检测认证集团股份有限公司、广州金至检测技术有限公司、纽斯葆广赛（广东）生物科技股份有限公司、广州汇标检测技术中心、完美（广东）日用品有限公司、绿瘦健康产业集团股份有限公司、东鹏饮料（集团）股份有限公司

本标准主要起草人：XXX、XXX、XXX

本标准首次发布。

# 蜂胶类产品中总黄酮的测定

## 1 范围

本标准规定了蜂胶类保健食品总黄酮的测定方法。  
本方法适用于蜂胶类保健食品中总黄酮含量的测定。

## 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 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 方法原理

在酸性条件下,三价铝离子只与黄酮分子中的羰基于其邻位羟基之间发生显色反应产生络合物,在406nm左右有最大吸收。在一定浓度范围内,其吸光度与黄酮类化合物含量呈正比,与标准曲线比较,可用于定量总黄酮。

## 5 仪器与试剂

### 5.1 仪器设备

- 5.1.1 紫外可见分光光度计
- 5.1.2 离心机
- 5.1.3 干燥箱
- 5.1.4 高速粉碎机
- 5.1.5 分析天平(精密度0.0001g和0.00001g)
- 5.1.6 超声提取器(超声功率>200w)
- 5.1.7 小号层析柱(孔内径:1.5cm,滤芯:G1)
- 5.1.8 大号层析柱(孔内径:2.1cm,滤芯:G1)
- 5.1.9 数显恒温水浴锅

### 5.2 试剂

- 5.2.1 聚酰胺粉(国药集团沪试:100-200目)。
- 5.2.2 乙醇:分析纯。
- 5.2.3 石油醚 I:分析纯。
- 5.2.4 无水甲醇:分析纯。
- 5.2.5 硝酸铝溶液(100g/L):称取 17.60g  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ,加水溶解后定容到 100mL。
- 5.2.6 乙酸-乙酸钠溶液(pH=5.6):称取 2.720g 三水合乙酸钠,加水溶解后定容到 100mL。用 2%乙酸溶液调至 pH 为 5.6。
- 5.2.7 芦丁对照品:(CAS:153-18-4、纯度 $\geq$ 90%),中国食品药品检定研究院或其他合格生产商。
- 5.2.8 芦丁储备溶液(1.0 g/L):准确称取芦丁对照品 50mg 置于容量瓶中,加无水乙醇溶解并定容至 50mL,即得 1.0g/L。
- 5.2.9 芦丁对照使用溶液(0.2 g/L):精密吸取芦丁储备溶液 10.0 mL 于 50mL 容量瓶中,加无水乙醇溶解并定容至刻度,混匀。此溶液芦丁的质量浓度为 0.2 g/L。

## 6 分析步骤

### 6.1 标准曲线制备

吸取芦丁对照使用溶液 0.00、0.25、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50mL(芦丁含量分别为 0、50、100、200、300、400、500 $\mu\text{g}$ ),分别置于 25.0mL 容量瓶,再分别加入 0.50mL 硝酸铝溶液(5.2.5)和 0.50mL 乙酸-乙酸钠溶液(5.2.6),摇匀,用 70%乙醇定容至刻度,摇匀静待显色反应,30min 后再用 1cm 石英比色皿,参比试剂空白,用紫外可见分光光度计在 406 nm 处测其吸光度值 A。以吸光度 A 为纵坐标,以芦丁的质量( $\mu\text{g}$ )为横坐标,绘制标准曲线,求出直线回归方程并计算相关系数。

### 6.2 试样提取

固体:取 0.5~1.0g 均匀试样<sup>注 a</sup>,置于 50mL 锥形瓶中,精密移取 25mL 75%乙醇<sup>注 b</sup>至锥形瓶中,称重,超声 30min,提取冷却后补足重量;或置于 25mL 容量瓶中,加入约 20mL 75%乙醇<sup>注 b</sup>进行提取,摇匀,超声 30min,放冷至室温,加 75%乙醇定容至 25mL。

黏稠样品:取 0.5~1.0g 均匀试样<sup>注 a</sup>,精密移取 25mL 75%乙醇<sup>注 b</sup>至锥形瓶中,称重,超声 30min,提取冷却后补足重量。

液体试样:精密移取 5.0~10.0mL<sup>注 a</sup>到 25mL 容量瓶中,加入 75%乙醇,摇匀后,超声提取 30min,放冷至室温,定容至刻度。

样液经 4000 r/min 离心 5min 后,于蒸发容器中加聚酰胺粉(5.2.1)<sup>注 c</sup>,再吸取离心后上清液 1.0~5.0mL 均匀地平铺、吸附于粉上,于 70 $^{\circ}\text{C}$ 挥去乙醇,然后转入层析柱<sup>注 d</sup>洗脱。先用约 20mL 石油醚 I 洗去杂质,吹尽醚液,弃去,接着用约 50mL 无水甲醇洗脱黄酮,流速约 1mL/min,合并洗脱液并定容至 50.0mL 待用。

**注 a:** 颗粒较大的固体样品,称量前适当进行粉碎处理;胶囊样品取 20 粒,挤出内容物可使用研钵研成细粉或者玻璃棒进行混匀,称取内容物;试样取样量和供试液取样体积可根据试样中总黄酮的含量适当调整,以保证测定的吸光度值在 0.1~0.4 范围内。

**注 b:** 若遇到样品在溶剂中不易分散的,可增大提取乙醇的浓度。

注 c: 1g 聚酰胺粉: 吸附样液 1.0~2.0mL, 使用小号层析柱 (5.1.7), 填柱高约 4.5cm; 3g 聚酰胺粉: 吸附样液 3.0~5.0mL, 使用大号层析柱 (5.1.8), 填柱高约 4.5cm。

注 d: 防止漏粉: 可事先选择性在层析柱砂芯处垫上一层薄薄的脱脂棉。

### 6.3 试样溶液的测定

取洗脱液 10.0mL 到 25.0mL 容量瓶, 加入 70%乙醇定容至刻度, 摇匀作为样品空白。

另准确移取 10.0mL 到 25.0mL 容量瓶, 再分别加入 0.50mL 硝酸铝溶液 (5.2.5) 和 0.50mL 乙酸-乙酸钠溶液 (5.2.6), 摇匀, 用 70%乙醇定容至刻度, 摇匀静待显色反应。

30min 后用 1cm 石英比色皿, 参比样品空白, 在 406nm 波长下测吸光值, 通过标准曲线得出试样测定液绝对量。

## 7 分析结果表述

试样中总黄酮的含量用质量分数  $X$  表示, 单位为克每百克 (g/100g), 按式 (1) 计算:

$$X = \frac{m_2 \times V_1 \times 50}{m_1 \times V_2 \times 10 \times 1000000} \times 100 \quad \dots\dots (1)$$

式中:

$m_1$  ——称取试样的质量, 单位为克 (g);

$V_1$  ——超声提取后的定容体积, 单位为毫升 (mL);

$m_2$  ——通过线性回归方程算得的测定用样液中总黄酮的质量, 单位为微克 ( $\mu\text{g}$ );

$V_2$  ——用于聚酰胺粉吸附时吸取的样液体积, 单位为毫升 (mL)。

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。总黄酮含量  $\geq 1\text{g}/100\text{g}$  时, 结果保留三位有效数字, 总黄酮含量  $< 1\text{g}/100\text{g}$  时, 结果保留两位有效数字。

## 8 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得超过算术平均值的10%。