《竹叶中黄酮的测定》团体标准编制说明

一、工作简况

（一）项目背景

我国是世界上最主要的产竹国，竹产品种类繁多，产业横跨一二三产业，是极具活力和潜力的绿色富民产业。长期以来，相关部门和各主要竹产区地方政府积极推动竹产业发展，持续加强规划引领、示范带动、科技支撑和政策支持，竹产业呈现良好发展态势。竹材人造板、竹建材、竹日用品、竹工艺品、竹浆造纸、竹纤维制品、竹炭、竹醋液、竹笋加工品、竹叶提取物等 10 大类、上万个品种的竹产品，已广泛应用于建筑、运输、包装、家具、装饰、纺织、造纸、食品、医药、旅游、康养等领域，在促进生态文明建设、拉动地方经济增长、助推农民增收致富等方面发挥了重要作用。

贵州是我国竹类资源最丰富的地区之一，全省自然分布的竹种有 19 属 154 种，现已开发利用毛竹、方竹、慈竹等 20 余种。2019 年以来，贵州省委、省政府将竹子作为特色林业产业统筹发展。截至 2022 年底，全省竹林面积超 500 万亩，竹产业综合产值达 125 亿元，竹产业规模、产品价值和综合效益形成破“竹”之势。近年来，省委、省政府高度重视竹产业发展，将竹产业列入全省十二大特色优势产业中的特色林业产业统筹发展，形成了以赤水河竹产业带、大娄山竹产业带、清水江竹产业带、武陵山竹产业带为核心的“两山两水、星罗棋布”的竹产业发展格局。遵义市竹产业快速发展，遵义市竹林资源面积达 366 万亩，占全省竹林资源面积的 70％以上，赤水市获国家林业产业示范园区称号和“中国林草产业特色区域品牌培育试点单位‘中国竹都’”资格。

近年来，贵州省赤水市依托丰富的毛竹资源，引进竹产业深加工企业，采取“党支部+公司+农户”的模式，大力发展竹筷、竹席、竹签、竹地板等竹产业，将竹资源的生态优势转化为经济优势，带动农民就业增收，助力乡村振兴。当前，贵州提出，“十四五”期间全省计划新造和改培竹林面积 295 万亩，其中新造 25 万亩、改培低效竹林 270 万亩。

目前全省有竹产品加工企业 420 余家。围绕竹纸制品、竹木家具、竹集成材等产业，贵州不断延链补链强链，当前省内竹笋加工率达 40%、竹材加工率达 80%以上，初步形成了 6 大系列 300 种产品。贵州积极推进“竹旅融合”，赤水竹海国家森林公园、盘州大洞竹海等风景区知名率不断攀升。

贵州是全国唯一的生态文明建设先行区，大力发展竹产业，对提升竹林“四库”（水库、钱库、粮库、碳库）效益、巩固生态优势、实施乡村振兴等具有重大意义。下一步贵州将开展资源培优行动、加工提升行动、科技创新行动、以竹代塑行动、促农增收行动，助力竹产业进一步提质量、增动力、强后劲、降能耗、惠民生。

竹叶黄酮（bamboo leaf extract）是一种天然的植物提取物，被广泛应用于食品、保健品和药物中。竹叶黄酮含有丰富的黄酮类化合物，具有多种功效与作用。1. 抗氧化作用。竹叶黄酮具有较强的抗氧化作用，可以清除体内自由基，减少氧化损伤对细胞的伤害。研究表明，竹叶黄酮可以提高SOD（超氧化物歧化酶）的活性，增强抗氧化能力，抑制过氧化脂质的产生，保护细胞免受氧化损伤。此外，竹叶黄酮还能够抑制一些有害酶的活性，减少其对细胞的损害。2. 抗炎作用。竹叶黄酮具有明显的抗炎作用，可以抑制炎症反应的发生和发展。研究表明，竹叶黄酮可以抑制多种炎症介质的生成，如肿瘤坏死因子-α（TNF-α）、白细胞介素-1β（IL-1β）和白细胞介素-6（IL-6）等。竹叶黄酮还可以抑制一些炎症相关的信号通路的活化，如核因子-κB（NF-κB）和线粒体反应性氧种（ROS）等。通过抑制炎症反应的发生，竹叶黄酮可以缓解炎症引起的疾病症状，如风湿性关节炎、肾炎等。3. 降血脂作用。竹叶黄酮具有降低血脂的作用，可以调节血脂代谢，降低血液中的胆固醇和三酰甘油水平。研究发现，竹叶黄酮可以通过抑制脂肪合成酶的活性，减少胆固醇的合成；并通过抑制胆固醇转运蛋白的活性，增加胆固醇的排泄，从而降低血液中的胆固醇水平。此外，竹叶黄酮还可以增加脂肪的氧化分解，降低体内脂肪的积累。4. 保护心血管作用。竹叶黄酮具有保护心血管的作用，可以降低心血管疾病的发生风险。竹叶黄酮可以降低血压，改善血管弹性，减少动脉硬化的发生。研究显示，竹叶黄酮可以增加一氧化氮（NO）的生成，促进血管扩张，降低血管阻力；同时抑制血小板凝集和血栓形成，降低心脑血管事件的发生。此外，竹叶黄酮还可以减少心肌细胞的损伤，增加心肌细胞的抗缺血和抗氧化能力。5. 抗肿瘤作用。竹叶黄酮具有一定的抗肿瘤作用，可以抑制肿瘤细胞的增殖和转移。研究表明，竹叶黄酮可以通过调控一些与肿瘤相关的信号通路的活性，如 Wnt、PI3K/AKT 和 MAPK 等，抑制肿瘤细胞的增殖和转移。此外，竹叶黄酮还可以诱导肿瘤细胞凋亡，提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性，增强肿瘤的放射敏感性。

贵州民族大学陶文亮团队，多年来一直从事竹叶黄酮的提取，研究和应用。2021 年贵州省分析测试研究院承担了贵州省科协《基于贵州竹产业竹叶黄酮检测标准研究及应用项目》项目。

（二）任务来源

本项目于 2022 年 3 月由贵州省科学技术协会、贵州省分析测试研究院等申请，2022 年 3 月获

贵州省植物学会批准立项。

（三）主要工作过程

1. 成立标准编制组

2022 年 3 月，组织标准编制贵州省分析测试研究院、贵州省检测技术研究应用中心等单位及相关技术人员，成立标准编制组，制定标准起草方案，部署标准起草相关工作。起草组成员包括：吴阳、李荣华、张颖、朱雪铜、邱恒亘、孙姣、刘羿希、陈杭依凡、王锋、李杨、张潆元、何钰、赵丽华、范秀章、袁健、王丽婧、龙昭航等。

2. 查阅标准文献、资料，提出研究方案，展开调研

2022 年 5 月-12 月，组织标准编制组成员，查阅相关标准文献、资料，收集相关资料，开展检查技术研究。

通过分析文献、实际种植经验数据、科研成果等形成标准草案及编制说明。

2024 年 3 月起草组通过反复讨论修改，形成标准征求意见稿。

3.形成征求意见稿，提交贵州省植物学会挂网征求意见

2024 年 4 月，起草组完成标准本文征求意见稿及编制说明起草工作，组织标准编制组成员单位对标准草案进行讨论，形成征求意见稿，并向相关单位进行广泛征求意见，提交贵州省植物学会办理挂网征求意见。

4. 形成送审稿，提交贵州省植物学会审查

5. 形成报批稿，提交贵州省植物学会审批

二、现行国家标准、行业标准的执行情况

本标准的起草严格按照 GB/T 1.1-2020 的要求进行起草。

三、确定标准主要技术内容的依据

（一）主要技术指标的依据

1 方法原理

在碱性条件下，黄酮类化合物苯与铝盐进行络合反应，生成黄色络合物，在 420nm 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。

2 试剂和材料

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的二级水。

2.1 硝酸铝[$Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$]。

2.2 硝酸铝溶液（100g/L）：称取 $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ 17.6g 加水溶解，定容于 100mL 容量瓶中。

2.3 醋酸钾（CH_3COOK）。

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

2.5 芦丁标准品，CAS 号 153-18-4。

2.6 芦丁标准溶液

2.6.1 芦丁标准储备液（1 mg/mL）：精确称取经干燥（120℃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于 50mL 容量瓶中。

2.6.2 芦丁标准使用液（0.2mg/mL）：吸取芦丁标准储备液（4.6.1）10mL，置于 50mL 容量瓶中，加无水乙醇至刻度，摇匀。

2.7 无水乙醇（C_2H_5OH）。

2.8 30%乙醇（无水乙醇与蒸馏水按 3：7 比例配制）。

3 仪器设备

3.1 分光光度计，采用 1cm 比色皿。

3.2 分析天平，感量为 0.01 g 和 0.0001 g。

3.3 捣碎机

3.4 超声清洗仪

3.5 离心机

4 试样制备与保存

4.1 试样制备

将样品放入捣碎机中进行粉碎，粉碎后样品过 40 目筛，混合均匀。

4.2 试样保存

制样操作过程应防止样品收到污染。

5 测定

5.1 样品处理

5.1.1 鲜竹叶前处理

取新鲜竹叶 50 g 洗净、烘干、切碎置于烧杯中加蒸馏水煮沸 3 h 。冷却后进行粗滤对滤渣再浸取 2 次将 3 次滤液合并滤液用高速离心机分离 15 min 2500r / min。然后进行加热浓缩（加热温度在 80℃左右 ）浓缩冷却后加入等体 积 95％乙醇放入冰箱内 2 h 。用高速离心机进行分离 15min 2500 r / min 。过滤得滤液滤渣弃去滤渣。对滤液进行蒸发浓缩（加热温度在 80℃左右 ）待乙醇蒸发完后将浓液置于真空干燥箱中干燥成疏松固体粉碎得终产物。

精确称取 0.1g（精确到 1mg）置于 100mL 比色管，加入约 50mL 60%乙醇溶液充分摇匀样品，将摇匀样品置于超声清洗器中超声溶解 30 min，其间每 5min 摇匀溶液一次，待试验完全溶解，定容，待测。

5.1.2 干竹叶前处理

方法一：精密称取竹叶粉末 2g 置于索氏提取器中，用 80%乙醇水浴回流提取两次，每次提取时间 2h，提尽黄酮。另用少量 80%乙醇多次洗涤竹叶，并入提取液中，定量转移入 100mL 容量瓶中，加 80%乙醇至刻度，摇匀，即得测总黄酮之淡竹叶样品液。将测总黄酮之样品液精密吸取适量于 10mL 容量瓶中定容。照标准曲线制备项下方法操作，测定吸收度，由回归方程求出稀释液中总黄酮浓度。

方法二：精密称取竹叶粉末 2g 置于 100mL 圆底烧瓶中，用 80%乙醇回流提取两次，将此烧瓶放入 MCL-3 型连续微波反应器中，调整功率 560W、500W、400W、350W，反应时间 20min，提尽黄酮。另用少量 80%乙醇多次洗涤淡竹叶，并入提取液中，定量转移入 100mL 容量瓶中，加 80%乙醇定容，摇匀，即得测总黄酮之竹叶样品液。将测总黄酮之样品液精密吸取 1.5mL 于 10mL 容量瓶中定容，照标准曲线制备项下方法操作，测定吸收度，由回归方程求出稀释液中总黄酮浓度。

5.2 标准曲线绘制

5.2.1 吸取芦丁标准使用液（4.6.2）1mL，2mL，3mL，4mL，5mL 分别置于 50mL 容量瓶中。

5.2.2 加无水乙醇至总体积为 15mL，依次加入硝酸铝溶液 1mL，醋酸钾溶液 1mL，摇匀，加水至刻度，摇匀。静置 1h。

5.2.3 用 1cm 比色皿，在波长 420nm 处，以 30%乙醇溶液为空白，测定吸光度。

5.2.4 以芦丁质量（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。

5.3 空白试验

吸取待测试样溶液 1.0mL，置于 50mL 容量瓶中，加无水乙醇至总体积为 15mL，加水稀释至刻度，摇匀。

5.4 测定

5.4.1 吸取待测试样溶液 1.0mL，置于 50mL 容量瓶中，加无水乙醇至总体积为 15mL，依次加入硝

酸铝溶液 1mL，醋酸钾溶液 1mL，摇匀，加水至刻度，摇匀。静置 1h。

5.4.2 以空白试液（7.3）作参比，用 1cm 比色皿，在波长 420nm 处测定试样溶液的吸光度。

5.4.3 查标准曲线或通过回归方程计算，求出试样溶液中的黄酮类化合物含量（mg）。在标准曲线上求得试样溶液中的浓度，

6 结果计算

6.1 竹叶中黄酮类化合物的总含量按下式计算。

$$x = \frac{m}{W \times d \times 1000} \times 100\%$$

式中：

X——黄酮类化合物的总含量。%；

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

W——样品的质量，单位为（g）；

d——稀释比例。

6.2 计算结果表示到小数点后两位。

7 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。

8 重复性

同一操作者两次平行测试结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15%。

（二）与国家标准、地方的比对情况

与国家标准 GB/T 22291-2017、GB 2762、GB 2763 等协调一致，尚无竹叶黄酮的地方标准。

四、与现行相关法律、法规、规章及相关标准，特别是强制性标准的协调性

本标准依据《中华人民共和国产品质量法》及其实施条例的相关规定，本标准的技术要求以及所涉及的产品安全等重要项目均符合相关的现行法律、法规和强制性标准的要求，并与相关强制性标准的充分协调性一致。

本标准严格按照 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》的要求进行起草，充分注重完整性、科学性、先进性、实用性和协调统一性。

五、专利及涉及知识产权

本标准内容不涉及专利相关的知识产权。

六、分歧意见的处理经过

本标准在标准的起草过程广泛征求生产企业和专家的意见和建议，通过共同讨论、协商，达成一致，所以没有产生重大分歧意见。

七、贯彻标准的要求和措施建议

本标准发布后，相关企业应及时积极组织做好执行标准的各项工作，标准实施后应按标准要求组织生产、检验、销售、监督管理。

八、废止现行有关标准的建议

本标准为首次制定，无废止现行有关标准的建议。

九、推广应用的预期效果

通过对《竹叶黄酮》团体标准的制定，可规范我省的竹叶黄酮产品的加工，提升技术水平，增强竹叶黄酮在市场上的竞争力，更重要的是为产品日常监管提供技术依据，指导企业生产，稳步提高产品质量，消除产品质量安全隐患，保障广大人民群众的生命财产安全。

《竹叶黄酮》团体标准编制组

2024 年 4 月