ICS 67.140.10
B 35

T/BSGC

团　　体　　标　　准

T/BSGC 0xx—2024

竹叶中黄酮的测定

（征求意见稿）

2024－xx－xx 发布　　2024－xx－xx 实施

贵 州 省 植 物 学 会　发 布

目　　次

前言 II
1　范围 1
2　规范性引用文件 1
3　方法原理 1
4　试剂和材料 2
5　仪器设备 3
6　样品制备与保存 3
7　测定 4
8　结果计算 4
9　测定低限 4
10　重复性 4

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》给出的规则起草。

本文件贵州省分析测试研究院、贵州省科学技术协会提出。

本文件由贵州省植物学会归口。

本文件起草单位：贵州省分析测试研究院、贵州省科学技术学会、贵州省检测技术研究应用中心、贵州省植物园、贵州省生物研究所。

本文件主要起草人：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。

竹叶中黄酮的测定

1 范围

本文件规定了竹叶中黄酮类化合物总量的分光光度法检测方法。

本标准适用于竹叶中黄酮类化合物总量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中注日期的引用文件，仅该日期的文件对应版本适用于本文件；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 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。

4 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。

4.1 硝酸铝[$Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$]。

4.2 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。

4.3 醋酸钾（CH_3COOK）。

4.4 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。

4.5 芦丁标准品，CAS 号 153-18-4。

4.6 芦丁标准溶液

4.6.1 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。

4.6.2 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。

4.7 无水乙醇（C_2H_5OH）。

4.8 30%乙醇（无水乙醇与蒸馏水按 3：7 比例配制）。

5 仪器设备

5.1 分光光度计，采用 1cm 比色皿。

5.2 分析天平，感量为 0.01 g 和 0.0001 g。

5.3 捣碎机

5.4 超声清洗仪

5.5 离心机

6 试样制备与保存

6.1 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。

6.2 试样保存

制样操作过程应防止样品收到污染。

7 测定步骤

7.1 样品处理

7.1.1 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。

7.1.2 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。

7.2 标准曲线绘制

7.2.1 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。

7.2.2 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。

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

7.2.4 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。

7.3 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。

7.4 测定

7.4.1 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。

7.4.2 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。

7.4.3 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，

8 结果计算

8.1 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。
8.2 计算结果表示到小数点后两位。

9 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。

10 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%。