

T/QAS

团 体 标 准

T/QAS XXX—2025

青稞苗和皮大麦苗及其制品中总黄酮含量的 测定 分光光度法

（征求意见稿）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

青海省标准化协会 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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由青海金麦杞生物科技有限公司和中国科学院西北高原生物研究所提出。

本文件由青海省标准化协会归口。

本文件起草单位：青海金麦杞生物科技有限公司、中国科学院西北高原生物研究所、中国科学院新疆理化技术研究所、西宁海关技术中心、东营市工业产品检验与计量检定中心。

本文件主要起草人：王环、李玉林、陈涛、谭亮、赵静、杲秀珍、赵景阳、罗芳、薛宾、黄小娟、贾静。

青稞苗和皮大麦苗及其制品中总黄酮含量的测定 分光光度法

1 范围

本文件描述了青稞苗和皮大麦苗及其制品中总黄酮含量测定的分光光度法。

本文件适用于青稞苗和皮大麦苗及其固体制品中含量不低于 0.0060%以及液体制品中含量不低于 0.00060%的总黄酮含量测定。

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，仅该日期对应的版本适用于本文件；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实验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

青稞苗 *hulless barley seedling*

禾本科青稞幼苗，一般包括青稞嫩茎叶。

3.2

皮大麦苗 *lemma barley seedling*

禾本科皮大麦幼苗，一般包括皮大麦嫩茎叶。

3.3

青稞苗制品 *hulless barley seedling product*

以青稞苗为主要原料，添加或不添加其它的辅料以及食品添加剂，经加工而成的产品。

3.4

皮大麦苗制品 *lemma barley seedling product*

以皮大麦苗为主要原料，添加或不添加其它的辅料以及食品添加剂，经加工而成的产品。

4 原理

黄酮在碱性介质中紫外可见光谱红移，在一定浓度范围内，其吸光度与总黄酮的含量成正比，符合朗伯比耳定律。试样经乙醇溶液提取，以三乙胺为位移试剂进行显色，在 398 nm 波长下测定其吸光度，与皂草黄苷标准样品进行比较，对试样中总黄酮含量进行定量测定。

5 试剂和材料

5.1 试剂

- 5.1.1 无水乙醇 (C_2H_5OH)：分析纯。
- 5.1.2 三乙胺 ($C_6H_{15}N$)：分析纯。
- 5.1.3 实验用水：应符合 GB/T 6682 规定的三级水要求。

5.2 试剂配制

5.2.1 乙醇溶液 (60%)

量取 600 mL 无水乙醇 (5.1.1) 至 1000 mL 容量瓶，加水定容至刻度，摇匀。

5.2.2 三乙胺溶液 (1%)

移取 1 mL 三乙胺 (5.1.2) 至 100 mL 容量瓶，加水定容至刻度，摇匀。

5.3 标准品

皂草黄苷标准品 ($C_{25}H_{40}O_{15}$, CAS 号: 20310-89-8)：纯度 $\geq 98.0\%$ 。

5.4 标准溶液配制

5.4.1 皂草黄苷标准储备液 (500 $\mu g/mL$)

准确称取 12.5 mg (精确至 0.00001 g) 皂草黄苷标准品 (5.3)，用无水乙醇 (5.1.1) 超声溶解并定容至 25 mL，混匀。贮存于密闭的棕色玻璃瓶中， $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷冻保存，有效期 12 个月。

5.4.2 皂草黄苷标准中间液 (100 $\mu g/mL$)

准确移取 2.00 mL 皂草黄苷标准储备液 (500 $\mu g/mL$)，用乙醇溶液 (60%) (5.2.1) 定容至 10 mL，混匀。贮存于密闭的棕色玻璃瓶中， $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷藏保存，有效期 3 个月。

6 仪器和设备

- 6.1 分析天平：感量 0.001 g、0.0001 g 和 0.00001 g。
- 6.2 分光光度计：采用 1cm 比色皿。
- 6.3 水浴锅：带回流装置。
- 6.4 离心机：转速 $\geq 8000\text{ r/min}$ 。
- 6.5 粉碎机：可将样品粉碎并过 0.425 mm (40 目) 筛。
- 6.6 不锈钢金属筛：孔径 0.425 mm。
- 6.7 电热鼓风干燥箱：温度 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ~ $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

7 分析步骤

7.1 试样制备

7.1.1 青稞苗和皮大麦苗

将青稞苗和皮大麦苗置 60℃ 电热鼓风干燥箱（6.7）中烘干至恒重，记录水分含量。取有代表性烘干试样 20 g~50 g，粉碎机（6.5）粉碎后，过不锈钢金属筛（6.6），置干燥器中常温密封避光保存，待用。

7.1.2 青稞苗和皮大麦苗固体制品

取有代表性试样，过不锈钢金属筛（6.6），必要时经粉碎后再过筛。对于粘性高无法过筛的样品，可不过筛，但应保证样品粉碎均匀且满足提取要求。常温密封避光保存。

7.1.3 青稞苗和皮大麦苗液体制品

试样充分混合均匀。

7.2 试样提取

7.2.1 固体试样提取

称取固体试样 0.5 g（精确至 0.0001 g），置于 150 mL 磨口三角瓶中，准确加入 30 mL 60%乙醇溶液（5.2.1），称定质量，90℃回流 45 min，冷却至室温，用 60%乙醇溶液（5.2.1）补足质量，摇匀，8000 r/min 离心 5 min，取上清液待用。

7.2.2 液体试样提取

称取混匀的液体试样 10 g（精确至 0.001 g），置于 50 mL 容量瓶中，加入 15 mL 无水乙醇（5.1.1），超声 30 min，冷却至室温，用无水乙醇（5.1.1）稀释至刻度，摇匀，10000 r/min 离心 5 min，取上清液待用。

7.3 标准曲线绘制

移取 100 μg/mL 的皂草黄苷标准中间液（5.4.2）0 mL、0.05 mL、0.1 mL、0.3 mL、0.5 mL、0.7 mL 于 25 mL 具塞试管中，加 60%乙醇补至 2.5 mL，摇匀，加 1%三乙胺 2.5 mL 摇匀，放置 30 min，得到浓度为 0 μg/mL、1 μg/mL、2 μg/mL、4 μg/mL、6 μg/mL、10 μg/mL、14 μg/mL 标准系列工作液，以浓度为 0 的工作液作为空白参比，在 398nm 处测定吸光度，以皂草黄苷质量浓度为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，得到标准曲线回归方程。

7.4 测定

分别移取相同体积的 2 份样品提取液（7.2）适量（对于高含量的样品，可用 60%乙醇溶液（5.2.1）适当稀释后再移取），置于 25 mL 具塞试管中，一份用作样品空白试验，加 60%乙醇补至 2.5 mL，摇匀，再加 2.5 mL 水，摇匀，放置 30 min；另一份作为样品测试液，加入 60%乙醇补至 2.5 mL，摇匀，再加 1%三乙胺 2.5 mL 摇匀，放置 30 min，以样品空白作为参比，于 398 nm 处测定吸光度。

8 结果计算和表述

试样中总黄酮含量按公式（1）计算，计算结果保留 3 位有效数字：

$$X = \frac{c \times 5 \times V_0}{V_1 \times m} \times N \times 10^{-4} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——试样中总黄酮的含量（以皂草黄苷计），单位为克每一百克（g/100g）；

c ——标准曲线计算出样液中总黄酮的质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

S ——试样显色后的体积；

V_0 ——试样定容体积，单位为毫升（mL）；

V_1 ——用来显色移取的试样溶液体积，单位为毫升（mL）；

m ——称取试样的质量，单位为克（g）；

N ——试样溶液稀释倍数；

10^{-4} ——换算系数（由 $\mu\text{g/g}$ 换算成g/100g的换算因子）。

9 精密度

在重复性条件下，获得两次独立测定结果的绝对差值，不得超过算术平均值的10%。
