

紫穗玉米花青素测定 分光光度法

Determination of anthocyanidins in purple corn—Spectrophotometry

2016 - 12 - 09 发布

2017 - 03 - 01 实施

前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 和 GB/T 20001.4-2015 给出的规则起草。

本标准由吉林省农业委员会提出并归口。

本标准起草单位：吉林省农业科学院。

本标准主要起草人：魏春雁、张之鑫、武巍、杨建、王巍巍、王莹、张国辉、樊慧梅、刘笑笑、马虹。

紫穗玉米花青素测定 分光光度法

1 范围

本标准规定了紫穗玉米花青素含量分光光度测定方法。

本标准适用于紫穗玉米中花青素含量的测定。

本标准中花青素的定量限为0.00110 g/kg。

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 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

花青素 anthocyanidins

存在于植物中的一类类黄酮有机化合物，又称花色素。

4 原理

样品经盐酸-乙醇混合溶液提取，离心分离，花青素类化合物在酸性条件下呈红色，在波长520 nm下有最大吸收，用可见分光光度计测定吸光度，与标准系列比较定量。

5 试验条件

常温条件下。

6 试剂或材料

除非另有说明，所有试剂均为分析纯，水符合GB/T 6682规定三级水。

6.1 试剂

6.1.1 盐酸：36%~38%。

6.1.2 无水乙醇。

6.1.3 盐酸-乙醇混合溶液：移取 8.0 mL 浓盐酸，用无水乙醇（6.1.2）定容至 1000 mL。

6.2 标准品

矢车菊素 (CAS: 528-58-5) : 纯度 \geq 98%。

6.3 标准溶液配制

6.3.1 标准储备液: 准确称取矢车菊素 0.01 g, 精确至 0.0001 g, 置于 50 mL 容量瓶中, 用盐酸-乙醇混合溶液 (6.1.3) 定容, 浓度为 200 mg/L, 4 °C 条件下, 贮存于密闭棕色试剂瓶中避光保存。

6.3.2 系列标准使用溶液: 分别移取 0.00 mL、0.10 mL、0.25 mL、0.50 mL、1.00 mL、1.50 mL、2.00 mL 标准储备液 (6.3.1) 于 50 mL 容量瓶中, 用盐酸-乙醇混合溶液 (6.1.3) 定容至刻度, 浓度分别为 0.0 mg/L、0.4 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L、4.0 mg/L、6.0 mg/L、8.0 mg/L。

7 仪器设备

7.1 可见分光光度计。

7.2 分析天平: 感量 \pm 0.1 mg。

7.3 超声波清洗器: 超声频率 40 KHz。

7.4 离心机: 转速 \geq 10000 r/min。

7.5 粉碎机: 转速 \geq 10000 r/min。

8 样品

样品风干处理至水分含量在 15% 以下, 取籽粒, 粉碎后, 全部通过 0.25 mm 孔径筛, 密封、避光、冷藏。

9 试验步骤

9.1 样品溶液制备

称取样品 (称量范围在 0.2000 g ~ 3.0000 g 之间, 具体称样量的确定参考附录A), 置于 100 mL 三角瓶中, 加入 40 mL 盐酸-乙醇混合溶液 (6.1.3), 置于超声波清洗器 (7.3) 中, 30 °C 提取 30 min, 将提取液转移到 100 mL 容量瓶中; 向三角瓶中再加 20 mL 盐酸-乙醇混合溶液 (6.1.3), 30 °C 超声提取 10 min, 提取液转移到同一容量瓶中, 再重复 1 次, 合并提取液到容量瓶中, 以盐酸-乙醇混合溶液 (6.1.3) 定容, 摇匀。分取 10 mL, 10000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液, 待测。

9.2 标准曲线测定

取系列标准溶液于比色皿中, 以盐酸-乙醇混合溶液 (6.1.3) 为空白, 在 520 nm 波长下测定吸光度。以标准溶液浓度为横坐标, 相应的吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线。

9.3 样品溶液测定

取样品溶液于比色皿中, 以盐酸-乙醇混合溶液 (6.1.3) 为空白, 在 520 nm 波长下测定吸光度。

注: 比色操作需要在样品溶液制备完成后的 4 h 内完成。

10 试验数据处理

10.1 样品中花青素含量按式（1）计算：

$$X = \frac{C \times V}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

X —样品中花青素含量（以矢车菊素计），单位为克每千克（g/kg）；

C —从标准曲线上得到的含量，单位为毫克每升（mg/L）；

V —定容体积，单位为毫升（mL）；

m —试样的质量，单位为克（g）；

1000—mL与L换算系数。

10.2 平行测定结果用算术平均值表示，按照 GB/T 8170 规定，结果保留三位有效数字。

11 精密度

11.1 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于算术平均值的5%。

11.2 再现性

在再现性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于算术平均值的10%。

附录 A
(资料性附录)
样品参考称样量

A.1 样品参考称样量见表A.1

表A.1

花青素含量 g/kg	参考称样量 g
≤ 0.500	3.0000
0.500 ~ 2.00	1.0000
≥ 2.00	0.2000