|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 65.020.01 |
| CCS | B 04 |

|  |
| --- |
| NY |

中华人民共和国农业行业标准

NY/T XXXXX—XXXX

代替 XX/T

植物源性食品中花色苷总量的测定

分光光度法

Determination of anthocyanins content in foods of plant origin by spectrophotometry

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

（本草案完成时间：20250320）

XXXX - XX - XX发布

     - XX - XX实施

       发布

1. 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。

本文件由农业农村部农产品质量安全监管司提出。

本文件由农业农村部农产品营养标准专家委员会归口。

本文件起草单位：农业农村部食物与营养发展研究所

本文件主要起草人：

植物源性食品中花色苷总量的测定

分光光度法

* 1. 范围

本文件规定了植物源性食品中花色苷总量测定的分光光度法。

本文件适用于谷物、薯类、水果和蔬菜中花色苷总量的测定。

* 1. 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试验方法

* 1. 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

* 1. 原理

花色苷在酸性条件下结构转变，因此通过pH示差法测定不同结构花色苷的吸光度值可以反应其含量。花色苷在pH值1.0和4.5构型不同，颜色随之改变，利用此特性分别测定在不同pH值的吸收波峰和700 nm处的吸光度值测定含量。pH示差法减少了溶液pH值和溶剂差异的影响，排除了其他非花色苷类物质对检测结果的干扰，且不需要制作标准曲线，利用公式计算即可。

* 1. 试剂与材料

试验用试剂均为分析纯试剂，用水符合GB/T 6682中一级水的规定。

* + 1. 试剂

氯化钾（KCl）。

盐酸（HCl）。

无水醋酸钠（CH3COONa）。

冰醋酸（CH3COOH）。

无水乙醇（C2H5OH）。

维生素C（C6H8O6）。

* + 1. 试剂配制

pH值1.0缓冲液：0.2 mol/L的氯化钾溶液和0.2 mol/L盐酸溶液体积比25:67，即0.40 g氯化钾（5.1.1）加上3.6 mL盐酸（5.1.2）定容至100 mL。

pH值4.5缓冲液：0.2 mol/L的三水醋酸钠溶液和0.2 mol/L醋酸溶液体积比1:1,即0.82 g无水醋酸钠（5.1.3）和0.60 g冰醋酸（5.1.4）定容至10 mL。

提取溶剂：制备含有维生素C 0.1%（m/V）的60%(V/V)乙醇溶液。

* 1. 仪器设备

全波长扫描分光光度计。

破壁料理机。

高速剪切粉碎机。

匀浆机。

分析天平：感量0.1 mg和0.01 g。

离心机：转速不低于4000 r/min。

容量瓶。

涡旋振荡器。

* 1. 试样制备

试样取可食部进行制备。谷类试样采用破壁料理机或高速剪切粉碎机粉碎；薯类、水果、蔬菜等试样采用匀浆机匀浆；果汁、酒类等均匀的液体试样直接混匀。试样制备后储存于样品瓶中备用，所有制备试样于–18℃条件下保存。

* 1. 分析步骤
     1. 实验要求

由于花色苷对光敏感，除非另行说明，所有试验操作应在无500 nm以下紫外光的黄色光源或红色光源或避光环境中进行。

* + 1. 提取

称取试样0.5 g~5.0 g（精确至0.001 g）于离心管中，以料液比1：10加入提取溶剂（5.2.3）充分振荡混匀，3500 r/min离心15 min，重复提取2次，合并上层提取液转移至100 mL容量瓶，定容至刻度，得到试样花色苷提取液，待测。

* + 1. 比色液A

取2 mL提取液（8.2），用pH值1.0缓冲溶液（5.2.1）定容至10 mL，静置10 min，记为比色液A。

注：可适当调整稀释倍数以保证在最大吸收峰吸光度值处在0.5-2.0内，如吸光度值超过2.0，可增加提取液的稀释倍数至高于5倍。

* + 1. 比色液B

取与8.3等量的提取液（8.2），用pH值4.5缓冲溶液（5.2.2）定容至10 mL，静置10 min，记为比色液B。

注：可适当调整稀释倍数以保证在最大吸收峰吸光度值处在0.5~2.0内，如吸光度值超过2.0，可增加提取液的稀释倍数至高于5倍。

* + 1. 测定

使用分光光度计在200~700 nm分别对比色液A（8.3）和比色液B（8.4）进行扫描测定，确定最高吸收峰的波长，并测定最大吸收峰波长下的吸光度值EAmax、EBmax。然后测定比色液A和比色液B在700 nm处的吸光度值EA700、EB700。应在30 min内测量完毕。

* + 1. 结果计算

总花色苷（以矢车菊-3-葡萄糖苷计）含量*ω*，计算按式（1）进行。

()

式中：

*ω*——试样中花色苷含量，单位为mg/100g；

Δ*E*——吸光度值差：；

449.2——矢车菊-3-葡萄糖苷的相对分子质量，单位为g/mol；

*V*——最后定容体积，单位为mL；

*F*——样品稀释倍数；

*m*——样品质量，单位为g；

*Ɛ*——矢车菊-3-葡萄糖苷的摩尔消光系数26900，单位为L/mol/cm；

*l*——比色皿的宽度，单位为cm；

*EAmax*——比色液A在最大吸收波长的吸光度值；

*EBmax*——比色液B在最大吸收波长的吸光度值；

*EA700*——比色液A在700 nm波长的吸光度值；

*EB700*——比色液B在700 nm波长的吸光度值；

100——换算系数。

注：试样中的花色苷种类可能不同于矢车菊-3-葡萄糖苷，因此最大吸收波长、相对分子质量和摩尔消光系数均有区别，本测定结果只是一个以矢车菊-3-葡萄糖苷计的总花色苷含量，不代表试样中实际的总花色苷的含量。

* 1. 精密度

在重复性条件下获得的2次独立测试结果的绝对差值不大于这两个测定值的算术平均值的10%。

