

T/GXAS

团 体 标 准

T/GXAS 213—2021

荔枝果皮中原花青素提取工艺技术规范

Technical code of practice for extraction of Proanthocyanidins from
Litchi Pericard

2021 - 08 - 06 发布

2021 - 08 - 12 实施

广西标准化协会 发 布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 试剂 1

5 仪器设备 1

6 技术要求 1

 6.1 原料要求 1

 6.2 提取工艺 2

7 检验方法 2

8 贮存 2

附录 A（规范性） 原花青素的测定 3

 A.1 原理 3

 A.2 试剂和材料 3

 A.3 仪器和设备 3

 A.4 分析步骤 3

 A.5 分析结果表述 4

 A.6 精密度 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》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。

本文件由广西壮族自治区农业科学院农产品质量安全与检测技术研究所提出。

本文件起草单位：广西壮族自治区农业科学院农产品质量安全与检测技术研究所。

本文件主要起草人：覃国新、闫飞燕、李慧玲、何洁、周其峰、韦宇宁、王海军、陈泳歙、劳水兵、杨玉霞、罗丽红、莫仁甫、莫磊兴、王天顺、谢丽萍、牙禹、廖洁、陈伟、蒋翠文、李焘、蒋文艳、王彦力、梁静、宁德娇、唐莉。

荔枝果皮中原花青素提取工艺技术规程

1 范围

本文件界定了荔枝果皮中原花青素提取涉及的术语和定义,描述了荔枝果皮中原花青素提取的试剂、仪器设备、原料要求、提取工艺,描述了原花青素提取物的检验方法,规定了贮存等方面的内容。

本文件适用于实验室中荔枝果皮中原花青素的提取。

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试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

原花青素 proanthocyanidins

是植物中广泛存在的一类黄烷-3-醇衍生物的总称,因聚合度的不同以及单体的构象不同或键合位置的不同可以形成多种化合物。

4 试剂

4.1 除另有说明外,所用试剂均为分析纯,提取用水应符合 GB/T 6682 中三级水的要求。

4.2 无水乙醇。

4.3 50%乙醇:量取无水乙醇 500 mL,加水 500 mL,摇匀。

4.4 80%乙醇:量取无水乙醇 800 mL,加水 200 mL,摇匀。

4.5 95%乙醇:量取无水乙醇 950 mL,加水 50 mL,摇匀。

4.6 AB-8 大孔树脂:一级品。

5 仪器设备

5.1 天平(感量 0.1 g)。

5.2 组织捣碎机。

5.3 超声波仪。

5.4 旋转蒸发仪。

5.5 具活塞砂芯层析柱(Φ 15 mm $\times$ 300 mm)。

5.6 真空冷冻干燥机。

6 技术要求

6.1 原料要求

选用成熟荔枝果的果皮,果皮应洁净,无腐烂变质,无外来杂质。

6.2 提取工艺

6.2.1 工艺流程图

荔枝果皮中原花青素提取工艺流程图，见图1。

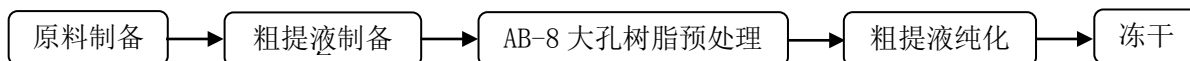


图1 荔枝果皮中原花青素提取工艺流程图

6.2.2 工艺要求

6.2.2.1 原料制备

荔枝果皮经组织捣碎机捣碎（颗粒粒径小于1 mm）、混匀，置于-18℃以下密封保存备用。

6.2.2.2 粗提液制备

取出原料于室温下解冻，称取10.0 g原料于三角瓶，按料液比1:20加入200 mL 80%乙醇后，于（50±2）℃超声波仪（功率600 W，频率50 KHz）中超声提取90 min，过滤，滤液转入圆底烧瓶。重复上述操作2次，合并提取液。提取液于50℃水浴下旋转蒸发仪上减压浓缩，待冷凝器无液滴滴下，收集浓缩液即为粗提液。

6.2.2.3 AB-8 大孔树脂预处理

AB-8大孔树脂用95%乙醇浸泡24 h后，用水洗至中性，填充于具活塞砂芯层析柱（Φ15 mm×300 mm），填充柱高（200±20）mm。

6.2.2.4 粗提液纯化

将粗提液上AB-8大孔树脂填充柱，弃去流出液，用10倍柱体积水淋洗，弃去淋洗液。再使用10倍柱体积50%乙醇洗脱，收集洗脱液于圆底烧瓶中，于50℃下水浴旋蒸减压浓缩，待冷凝器无液滴滴下，收集浓缩液。

6.2.2.5 冻干

设置真空冷冻干燥机真空度为100 Pa，当真空度达到设置参数且温度下降达到-45℃时，将（6.2.2.4）中的浓缩液置于冷冻干燥机中，冻干24 h，冻干物即为荔枝果皮原花青素提取物。

7 检验方法

应符合附录A的规定。

8 贮存

提取物于-18℃下避光密封保存。

附录 A
(规范性)
原花青素的测定

A.1 原理

原花青素本身无色,但经过用热酸处理后,可以生成深红色的花青素离子,用分光光度法测定原花青素在水解过程中生成的花青素离子,计算试样中原花青素含量。

A.2 试剂和材料

A.2.1 试剂

A.2.1.1 除另有说明外,所用试剂均为分析纯,检测用水应符合 GB/T 6682 中一级水的要求。

A.2.1.2 甲醇(CH_3OH)。

A.2.1.3 正丁醇($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}$)。

A.2.1.4 盐酸(HCl):纯度为 35%~37%。

A.2.1.5 硫酸铁铵($\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)。

A.2.2 试剂配制

A.2.2.1 盐酸-正丁醇溶液:取正丁醇 50 mL,于 100 mL 容量瓶中,准确量取盐酸 5 mL,用正丁醇定容,摇匀,备用。

A.2.2.2 2 mol/L 盐酸溶液:准确量取盐酸 20 mL 于烧杯中,加 100 mL 水,摇匀,备用。

A.2.2.3 硫酸铁铵溶液:称取硫酸铁铵 2.0 g 于三角瓶中,加 2 mol/L 盐酸溶液,放置于沸水浴中,至其全部溶解后,取出放置至室温,将其转移至 100 mL 容量瓶中用 2 mol/L 盐酸溶液定容至刻度。

A.2.3 标准品

原花青素标准品纯度 $\geq 95\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

A.2.4 标准溶液配制

A.2.4.1 原花青素标准储备液(1.0 mg/mL):取原花青素标准品 10 mg,精密称定,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,即得浓度为 1.0 mg/mL 标准储备液,溶液现用现配。

A.2.4.2 原花青素标准系列工作液:准确量取原花青素储备液 0.0 mL、0.10 mL、0.25 mL、0.50 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL、2.5 mL 分别置于 10 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,得浓度为 0 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、25.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 、150.0 $\mu\text{g/mL}$ 、200.0 $\mu\text{g/mL}$ 、250.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准系列工作溶液。

A.3 仪器和设备

A.3.1 紫外分光光度计,配 1 cm 比色杯,波长范围 110 nm~900 nm。

A.3.2 涡旋混合仪。

A.3.3 天平(感量 0.01 mg)。

A.3.4 具盖安瓿瓶(10 mL)。

A.3.5 封口钳。

A.3.6 容量瓶(10 mL、50 mL、100 mL)。

A.4 分析步骤

A.4.1 供试品溶液的制备

取样品 10 mg~20 mg,精密称定,置于 100 mL 容量瓶中,加入 60 mL 甲醇,超声处理(功率 250 W,频率 50 KHz) 20 min,放至室温后,加入甲醇至刻度,摇匀,离心或放至澄清后取上清液作为供试品溶液。

A. 4. 2 测定

A. 4. 2. 1 标准曲线的绘制

准确吸取原花青素标准系列工作液各1 mL，置于安瓿瓶中，精密加入盐酸-正丁醇溶液（A. 2. 2. 1）6 mL，硫酸铁铵溶液（A. 2. 2. 3）0. 2 mL，混匀，用封口钳将其密封，置沸水中加热40 min后，取出，立即置冰水中冷却至室温，于546 nm波长处测吸光度，显色在1 h内稳定。以吸光度为纵坐标，原花青素浓度为横坐标绘制标准曲线。

A. 4. 3 样品溶液的测定

精密吸取A. 4. 1项下的供试品溶液1 mL，置于安瓿瓶中，然后按照标准曲线制作步骤执行。以相应试剂为空白。测定样品吸光度，用标准曲线计算试样中原花青素的含量（c）。

A. 5 分析结果表述

试样中原花青素的含量按式A. 1计算：

$$X = \frac{c \times V}{m \times 1000} \times 100 \cdots \cdots (A. 1)$$

式中：

- X ——试样中原花青素的含量，单位为克每100克（g/100g）；
- c ——从工作曲线查得的供试品溶液中原花青素含量，单位为微克每毫升（ μ g/mL）；
- V ——待测供试品溶液总体积，单位为毫升（mL）；
- m ——供试溶液代表的试样质量，单位为毫克（mg）。

注：以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。测定结果须扣除空白值。

A. 6 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的10%。

中华人民共和国团体标准

荔枝果皮中原花青素提取

工艺技术规范

T/GXAS 213—2021

广西标准化协会统一印制

版权专有 侵权必究