

团体标准

T/ NAIA 050-2021

枸杞及其制品中二氢槲皮素的测定 高效液相色谱法

Determination of dihydroquercetin in Lycium barbarum and its products high
performance liquid chromatography

2021-05-30 发布

2021-06-01 实施

宁夏化学分析测试协会 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》的规定编写。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：宁夏菲杰特检测有限公司、宁夏早康枸杞股份有限公司、银川伊百盛生物工程有限公司、宁夏华信达生物科技有限公司、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：李亚辉、张海星、朱斐全、林桦、贾丽茹、唐亚楠、柳春海、张小飞。

本文件为首次发布。

枸杞及其制品中二氢槲皮素的测定

高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了枸杞、枸杞制品和加工产物中的二氢槲皮素含量检测的高效液相色谱方法。

本文件适用于枸杞、枸杞制品和加工产物中二氢槲皮素含量的测定。

本方法取样量为 10 mg 时，方法检出限为 5 mg/g。

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 6682-2008 《分析实验室用水规格和试验方法》

NY/T 2741-2015 《仁果类水果中类黄酮的测定 液相色谱法》

3 原理

采用甲醇减压蒸馏提取试样中二氢槲皮素，利用高效液相色谱法检测，保留时间定性，外标法定量。

4 试剂与材料

4.1 试剂

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682-2008 中规定的一级水。

4.1.1 甲醇（CH₃OH）：色谱纯。

4.1.2 乙醇（C₂H₆O）：色谱纯。

4.1.3 层析用聚酰胺(80—100 目)。

4.2 试剂配制

4.2.1 乙醇溶液（70 %）：量取 70 mL 乙醇，加水稀释至 100 mL，混匀备用。

4.2.2 乙醇溶液（50 %）：量取 50 mL 乙醇，加水稀释至 100 mL，混匀备用。

4.2.3 处理过的聚酰胺：称取 100 g 聚酰胺，加 100 mL 甲醇，润湿后备用。

4.3 标准品

二氢槲皮素标准品（C₁₅H₁₂O₇，CAS 号：111003-33-9）：纯度≥98.0%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

4.4 标准溶液配制

二氢槲皮素标准使用液：称取二氢槲皮素标准品 2.5 mg（精确到 0.0001 g），用甲醇超声振荡溶解，并定容至 50 mL 棕色容量瓶中，既得 50 $\mu\text{g/mL}$ 的标准使用液，冷藏保存。

4.5 材料

一次性微孔滤头：0.22 μm ，有机系。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪，配备二极管阵列或紫外检测器。

5.2 分析天平：感量 0.001 g 和 0.0001 g。

5.3 超声波清洗机。

5.4 回流冷凝装置。

5.5 旋转蒸发仪。

6 试样制备

取混匀的试样进行粉碎后，备用。

7 分析步骤

7.1 试样处理

取粉碎好的试样 200 g（精确到 0.001 g），于 1000 mL 具塞圆底烧瓶中，加入 2000 mL 70%乙醇(十倍量)，回流两次，2h/次，合并滤液后，过滤并减压收干；加入 20 mL 水，分散静置，过夜得棕黄色溶液及黑绿色沉淀，过滤、并将滤液减压蒸干，得浸膏，备用。取甲醇处理过的聚酰胺，按径高比 1:3 的比例装入直径 7.5 cm，长 60 cm 的玻璃层析柱中。浸膏用水溶解，湿法上柱，用 0%~100%乙醇溶液进行梯度洗脱（乙醇溶液变化梯度为 10%/6 L），只收集 50%乙醇溶液洗脱体积内的馏分，减压蒸干得残渣。称取残渣 10 mg（精确到 0.001 g），加适量甲醇进行超声溶解，并转移至 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度，摇匀；溶液过 0.22 μm 有机系滤头，供高效液相色谱仪进行测定。

7.2 色谱参考条件

7.2.1 色谱柱：C18 色谱柱 (250 $\times$ 4.0 mm,5 μm)，反向色谱柱，或具有同等性能的色谱柱。

7.2.2 流动相：甲醇+水=50+50（体积），等度洗脱。

7.2.3 流速：1.0 mL/min。

7.2.4 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

7.2.5 进样量 10 μL 。

7.2.6 检测器：二极管阵列或紫外，检测波长均为：320 nm。

7.3 测定

7.3.1 标准曲线的制作

分别精密进样 5 μL、10 μL、15 μL、20 μL、25 μL 二氢槲皮素标准使用液，供高效液相色谱仪测定，最终浓度分别为 25 μg/mL、50 μg/mL、75 μg/mL、100 μg/mL、125 μg/mL，以峰面积为纵坐标-浓度为横坐标作图，得到标准曲线回归方程。

7.3.2 试样溶液的测定

待测溶液中待测化合物的响应值应在标准曲线线性范围内，浓度超过线性范围的样品则应稀释后重新进行分析。

7.3.3 空白试验

不称取试样，按 7.1 的步骤做空白试验。

8 结果计算合表述

按式（1）计算试样中二氢槲皮素的含量。

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

X——试样中二氢槲皮素的含量，单位为 mg/g。

V——最终定容体积（mL）。

m——样品残渣称样量（mg）。

C——曲线中查得的二氢槲皮素含量（mg/mL）。

计算结果需扣除空白值，测定结果保留两位有效数字。

9 精密度

在重复条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不得超过其算数平均值的 10 %。

10 色谱图见附录 A

附录 A

(资料性附录)

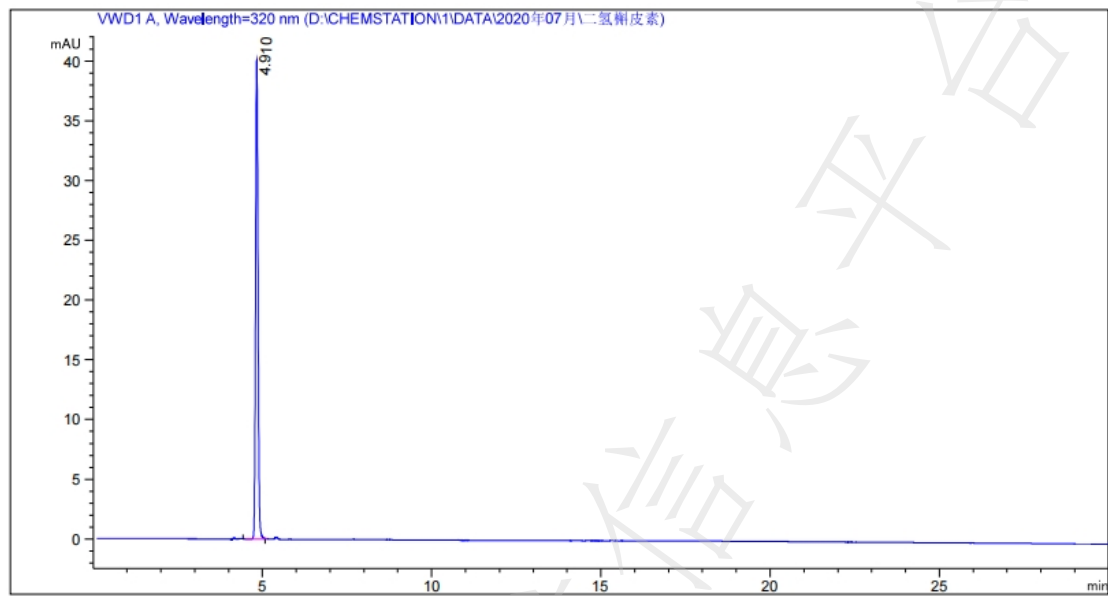


图 A 二氢槲皮素标准溶液色谱图 (50 $\mu\text{g/mL}$)