
TB

宁夏食品安全协会 团体标准

T/NXFSA 004S —2020

枸杞及其制品中枸杞红素的测定

2020-XX-XX 发布

2020-XX-XX 实施

宁夏食品安全协会

发布

前 言

本标准的编写符合GB/T1.1-2009《标准化工作指南 第一部分标准的结构与编写》的要求。

本标准由百瑞源枸杞股份有限公司提出。

本标准由宁夏食品安全协会归口。

本标准的主要起草单位：百瑞源枸杞股份有限公司、宁夏农产品质量标准与检测技术研究所、中国科学院大连化学物理研究所

本标准的主要起草人：陆文静、马玲玲、张金宏、张莹中、陈玉娜、苟春林、靳 艳

枸杞及其制品中枸杞红素的测定

1 范围

本方法规定了枸杞红素的测定方法，液相色谱法。

本方法适用于枸杞及其制品中枸杞红素的测定。

2 原理

枸杞红素为玉米黄素二棕榈酸酯，试样经乙酸乙酯、正己烷、无水乙醇等有机溶剂提取后，定容、离心、过滤，经反向色谱柱分离，外标法定量。

3 试剂与材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级。

3.1 试剂

3.1.1 甲醇 (CH_3OH): 色谱纯。

3.1.2 二氯甲烷 (CH_2Cl_2): 色谱纯。

3.1.3 乙腈 (CH_3CN): 色谱纯。

3.1.4 乙酸乙酯 ($\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$)。

3.1.5 无水乙醇 ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$)。

3.1.6 正己烷 (C_6H_{14})。

3.1.7 石英砂: 60-80 目。

3.2 试剂配制

3.2.1 提取溶剂: 正己烷:乙酸乙酯:甲醇=1: 1: 1 ($v/v/v$)。

3.2.2 萃取溶剂: 正己烷:无水乙醇=3:1 (v/v)。

3.3 标准品

3.3.1 玉米黄素二棕榈酸酯 (别名酸浆素 $\text{C}_{72}\text{H}_{116}\text{O}_4$, CAS 号:144-67-2): 纯度 $\geq 95\%$, 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.4 流动相

3.4.1 流动相 A: 甲醇:乙腈:水=81:14:5 。

3.4.2 流动相 B: 二氯甲烷。

3.5 标准溶液配制

3.5.1 玉米黄素二棕榈酸酯标准储备液 (1mg/ml): 玉米黄素称取枸杞红素标准品 0.005 g (精准至 0.00001 g), 溶解于流动相 A : 流动相 B = 1 : 1 (v/v) 溶液中并定容至 5 mL。于-20℃以下避光储存。

3.5.2 玉米黄素二棕榈酸酯标准工作液: 准确吸取储备液, 并用流动相 A: 流动相 B=1:1 进行稀释, 并定容至 10ml 刻度线。制成 5ug/ml, 10ug/ml, 25ug/ml, 50ug/ml, 100ug/ml, 标准工作液, 现配现用。

4 仪器和设备

4.1 液相色谱分析仪, 配紫外检测器。

4.2 离心机; 转速 \geq 3000r/min。

4.3 分析天平; 感量 0.0001g 和 0.00001g

5 操作方法

5.1 试样的制备

枸杞样品粉碎混匀, 使用四分法缩取有代表性的试样, 密封避光保存; 枸杞提取物样品混合均匀, 取有代表性的试样, 密封避光保存。

5.2 测定步骤

5.2.1 提取

5.2.1.1 枸杞干果:

称取混合均匀的10.0g的枸杞, 加5倍水充分浸泡2h, 于研钵中充分研磨后以3000r/min离心5min, 保留沉淀, 充分干燥并粉碎。称取0.2g (精确到0.0001g) 粉碎后的样品置于研钵中, 加入约是其质量 1/4 的石英砂 (3.1.7), 用提取剂 (3.2.1) 分次研磨提取, 每次约1-3mL提取剂 (3.2.1)。研磨至提取液颜色接近无色, 合并提取液用无水乙醇 (3.1.5) 定容至50mL, 在1000r/min离心3min, 弃去沉淀, 上清液作为供试品溶液。

5.2.1.2 提取物

粉末状态: 称量0.2g (精确到0.1mg) 样品置于研钵中, 用萃取剂 (3.2.2) 分次研磨提取, 每次约 1-3mL萃取剂 (3.2.2), 直至萃取液颜色接近无色, 合并萃取液用无水乙醇 (3.1.5) 定容至50mL, 在 1000r/min离心3min, 弃去沉淀, 上清液作为供试品溶液。

油状: 称量0.2g (精确到0.1mg) 样品至烧杯, 用萃取剂 (3.2.2) 溶解转移至50mL容量瓶内, 在 1000r/min离心3min, 弃去沉淀, 上清液作为供试品溶液。

5.3 液相色谱仪条件

5.3.1 色谱柱: C₃₀ 柱, 柱长 250mm, 内径 4.6mm, 粒径 5nm。

5.3.2 柱温箱：30℃

5.3.3 检测波长：450nm

5.3.4 流速：1ml/min

5.3.5 进样量：10ul

5.3.6 洗脱程序：

| 时间/min | 流动相A% | 流动相B% |
|--------|-------|-------|
| 0 | 84 | 16 |
| 3 | 83 | 17 |
| 23 | 45 | 55 |
| 38 | 25 | 75 |
| 43 | 25 | 75 |
| 45 | 84 | 16 |

5.4 标准曲线的制作

将标准工作液（3.5.2），经 0.22um 滤膜后上机测定，以保留时间定性，测定峰面积，以标准系列浓度为横坐标，峰面积为纵坐标绘制标准曲线，计算回归方程。

5.5 试样的测定

将待测溶液，经 0.22um 滤膜后上机测定。以保留时间定性，根据峰面积采用外标法定量。

6 结果计算

试样中枸杞红素（玉米黄素二棕榈酸酯）的含量按以下公式进行计算：

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

式中：

X：试样中的含量，单位为毫克每克（mg/g）；

C：由标准曲线计算出试样中枸杞红素的浓度，单位为微克每毫升（ug/mL）；

V：试样定容体积，单位为毫升（mL）；

n：稀释倍数；

m：试样质量，单位为克（g）。

结果保留到小数点后两位。

7 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得超过算术平均值的 10%。

8 其他

本方法检出限（LOD）为 1ug/ml，定量限为（LOQ）为 1.17 ug/ml，线性范围 2-100 ug/ml。