

# 团体标准

T/ NAIA×××-××××

## 枸杞清汁（浆）中甜菜碱含量的测定 液相色谱法

(征求意见稿)

××××-××-××发布

××××-××-××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、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：张海星、李亚辉、王欢、张金霞、张小飞。

# 枸杞清汁（浆）中甜菜碱含量的测定

## 液相色谱法

### 1 范围

本标准规定了枸杞清汁（浆）中甜菜碱含量的测定方法；  
本标准适用于枸杞清汁（浆）中甜菜碱含量的测定；  
本方法检出限为 0.001g/100g。

### 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 分析实验室用水规格和试验方法。

### 3 术语和定义

本文件没有界定的术语和定义。

### 4 原理

试样中甜菜碱组分经甲醇溶液[ $\psi(\text{CH}_3\text{OH}-\text{H}_2\text{O})=2.5+7.5$ ]提取后，用混合型阳离子交换固相萃取柱净化，再用乙腈溶液[ $\psi(\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O})=7.5+2.5$ ]定容，最后用配有紫外检测器的高效液相色谱仪在波长 205nm 处测定，根据色谱峰的保留时间定性，外标法定量。

### 5 试剂与材料

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和 GB/T6682 中规定的一级水。

- 5.1 氨水：含量为 25%~28%，优级纯
- 5.2 盐酸：含量为 36%~38%，优级纯。
- 5.3 甲醇( $\text{CH}_3\text{OH}$ )：色谱纯
- 5.4 乙腈( $\text{CH}_3\text{CN}$ )：色谱纯
- 5.5 盐酸溶液  $C(\text{HCl})=0.1\text{mol/L}$ ：准确吸取 9mL 盐酸，加适量水并稀释定容至 1000mL
- 5.6 甲醇溶液[ $\psi(\text{CH}_3\text{OH}-\text{H}_2\text{O})=2.5+7.5$ ]：取 25mL 甲醇慢慢加入 75mL 水中。
- 5.7 甲醇溶液[ $\psi(\text{CH}_3\text{OH}-\text{H}_2\text{O})=8.5+1.5$ ]：取 85mL 甲醇慢慢加入 15mL 水中。
- 5.8 氨化甲醇溶液[ $(\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH})=0.5+9.5$ ]：取 5mL 浓氨水慢慢加入 95mL 甲醇中
- 5.9 乙腈溶液[ $(\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O})=7.5+2.5$ ]：取 75mL 乙腈慢慢加入 25mL 水中。
- 5.10 甜菜碱标准品：≥纯度 98%。
- 5.11 甜菜碱标准储备液溶液：准确称取甜菜碱标准物质 100mg(精确到 0.0001g)用乙腈溶液(5.9)溶解并定容至 10.0mL，配制成 10.0mg/mL 标准储备液，0℃~4℃贮存。
- 5.12 阳离子交换固相萃取小柱：混合型阳离子交换固相萃取柱，基质为聚苯乙烯一二乙烯基苯高聚物，150mg/6mL，或相当者。

### 6 仪器与设备

- 6.1 液相色谱仪：配有紫外检测器

6.2 分析天平：感量士 0.0001g

6.3 离心机：4000r/min

6.4 涡旋混合器

6.5 超声波清洗机

6.6 旋转蒸发仪

6.7 微孔滤膜：0.45um, 有机相。

7 试样制备

枸杞清汁（浆）摇匀后于样品瓶中，-18℃冷冻备用。

8 分析步骤

8.1 提取

称取枸杞清汁（浆）1.0001g 于 50 毫升离心管中加入 25.0ml 甲醇溶液(4.6), 涡旋混匀 1min, 再超声提取 30min 后 3500r/min, 离心 5min, 取上清液备用。

8.2 净化

吸取上清液 5.00ml 转入已活化平衡的混合型阳离子交换固相萃取柱中, 控制流速 1 滴 1 秒钟, 待样液进入萃取小柱的吸附层后, 依次用 5ml 甲醇溶液(4.7)、5ml 甲醇进行淋洗, 弃去淋洗液, 最后用 5ml 氨化甲醇(4.8), 洗脱并收集, 重复洗脱一次, 将洗脱液旋转浓缩至近干, 用 2ml 乙腈溶液(4.9)溶解, 经 0.45um 滤膜过滤后上机待测。

混合型阳离子交换固相萃取柱使用前依次用 5ml 甲醇、5ml 0.1mol/L 盐酸溶液(4.5), 活化平衡。

8.3 色谱参考条件

色谱柱：C18 反相柱（150mm\*4.6mm\*5um）

流动相：乙腈+水（85+15）

流速：0.5mL/min

柱温：35℃

波长：205nm

进样量：10.0uL

8.4 标准曲线的绘制

用乙腈溶液(4.9)将甜菜碱标准贮备液溶液逐级稀释得到浓度为 0g/100ml、0.002g/100ml、0.005g/100ml、0.01g/100ml、0.02g/100ml、0.05g/100ml、0.1g/100ml、0.2g/100ml 的标准工作液, 依次由低到高进样检测, 质量浓度 X(g/100mL)为横坐标, 以相应的峰面积 Y 为纵坐标进行线性回归, 得到标准曲线回归方程

8.5 测定

取标准工作溶液和样品溶液(8.2)进样测定, 以色谱峰保留时间定性, 以标样色谱峰峰面积和样品溶液峰峰面积比较定量。同时做空白实验

## 9 结果计算和表达

$$X = \frac{V \times V_1}{m \times V_2} \times C$$

X-试样中甜菜碱的含量（g/100g）

C-从标准曲线得到的待测液中甜菜碱的浓度（g/100ml）

V-试样中加入的提取液体积（ml）

V1-试样的最终定容体积（ml）

M-样品的称样质量（g）

V2-提取液分取体积 (ml)

计算结果保留 3 位有效数字。

#### **10 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大于这两个测定值的算术平均值的 10%。

#### **11 色谱图**

见附录 A