



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

苹果中根皮苷的检测方法 高效液相色谱法

Determination of phloridzin in apple High performance liquid chromatography

(征求意见稿)

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

中华人民共和国国家市场监督管理总局 发
中国国家标准化管理委员会 布

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由中国标准化研究院提出并归口。

本标准起草单位：北京化工大学，中国标准化研究院，中华全国供销合作总社济南果品研究院，中国农业大学、河北冠卓检测科技股份有限公司、蓬莱昊林果蔬有限公司。

本标准主要起草人：魏芸、路艳珍、席兴军、兰韬、郑晓冬、倪汉文、周文峰、鲁润华、刘媛媛、刘聪、仵云仲、于潇、王文娟。

苹果中根皮苷的检测方法高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了苹果中根皮苷含量的检测方法 高效液相色谱法的范围、规范性引用文件、原理、试剂与材料、仪器和设备、苹果中根皮苷含量的检测方法、分析结果的计算与表述、精密度。

本标准适用于苹果中根皮苷的定性和定量测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可用这些文件的最新版本。凡是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

GB/T 6379.2 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度）第2部分：确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法。

3 原理

苹果试样用 90%乙醇提取等样品前处理方法，然后经 C18 色谱柱分离，二极管阵列检测器检测，色谱峰保留时间定性，外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有说明，所有试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 乙腈（ C_2H_3N ）：色谱纯。

4.2 标准品:根皮苷标准品（ $C_{21}H_{24}O_{10}$ ）：CAS: 60-81-1，纯度大于 98.0%

4.3 根皮苷标准储备液（1.0 mg/mL）：准确称取根皮苷标准品 25 mg（精确至 0.1 mg）于 25 mL 容量瓶中，用乙腈溶解并定容至刻度，配制成浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备液。放置于 4 °C 冰箱避光保存，有效期为一个月。

4.4 根皮苷标准曲线工作液：分别吸取根皮苷标准中间液（4.3.1）0.05 mL、0.1 mL、0.25 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.5 mL、5 mL 至 10 mL 容量瓶中，用乙腈定容。该标准系列浓度分别为 5.0 μg/mL、10.0 μg/mL、25.0 μg/mL、50 μg/mL、100 μg/mL、250 μg/mL、500 μg/mL、1000 μg/mL。临用时配制。

5 仪器和设备

5.1 0.45 μm 微孔水相滤膜, 0.45 μm 针筒式有机相过滤器。

5.2 旋转蒸发仪。

6 分析步骤

6.1 试样制备

将苹果样品, 用干净纱布轻轻将样品表面擦净, 将其切碎, 混合均匀, 称取 20.00 g 样品 (精确到 0.001g) 加入 90% 乙醇水溶液 100 mL, 6000 r/min, 匀浆 3 min, 再加入 300 mL 90% 乙醇水溶液转移至 1L 圆底烧瓶中, 放入梭形转子, 轻轻摇晃使样品和溶剂混合均匀, 调节磁力搅拌器使转子能够带动溶液搅拌, 80℃ 加热回流 1h 后 (保证回流速度达到 1 滴/s, 如果未到达, 适当提高 1~2℃), 冷却过滤, 45℃ 旋蒸, 旋蒸至 60 mL, 转移至分液漏斗中, 加 80 mL 乙酸乙酯萃取两次, (如有乳化现象, 通过 4000 r/min, 离心 2 min 进行破乳) 合并两次的乙酸乙酯相于 250 mL 圆底烧瓶中, 旋转蒸发至干, 每次采用 1.0 mL 色谱甲醇清洗圆底烧瓶 3 次, 全部转移至 5 mL 容量瓶中, 加色谱甲醇定容至刻度, 过 0.45 μm 针筒式有机相过滤器, 即为试样液。

6.2 色谱测定

6.2.1 参考色谱条件

色谱柱: C18 柱, 柱长 250 mm \times 4.6 mm, 粒径 5 μm , 或具有同等性能的色谱柱

流动相: 乙腈: 0.01% 三氟乙酸水溶液 = 25:75。

流速: 1.0 mL/min。

柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$ \pm 1 $^{\circ}\text{C}$ 。

测定波长: 254 nm。

进样体积: 10 μL 。

6.2.2 标准曲线的绘制

将根皮苷标准曲线工作液分别注入高效液相色谱仪中, 测定相应的保留时间和峰面积, 以标准工作液的浓度为横坐标、峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线 (根皮苷标准色谱图见附录A中图A.1)。

6.2.3 试样测定

将试样液注入高效液相色谱仪中, 以保留时间定性, 同时记录其峰面积, 根据标准曲线计算出试样

液中根皮苷的浓度，平行测定次数不少于三次。待测试样中根皮苷的响应值应在标准曲线线性范围内，超过线性范围则应稀释后再进行分析。

6.2.4 空白试验

除不称取样品外，均按上述测定条件和步骤进行。

7 结果计算与表示

7.1 结果计算

试样中根皮苷的含量由色谱数据处理软件或按公式（1）计算：

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

式中：

X----试样中根皮苷的含量，单位为毫克每千克，mg/kg；

c----试样液中根皮苷的质量浓度，单位为微克每毫升，μg/mL；

V----被测试样的总体积，单位为毫升，mL；

m----称取试样的质量，单位为克，g；

1000----换算系数。

7.2 结果表示

计算结果以重复性条件下获得的三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。

8 精密度

8.1 一般规定

本标准的精密度按照GB/T 6379.2的规定确定，重复性和再现性的值以95%的可信度来计算。

8.2 重复性

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 %。

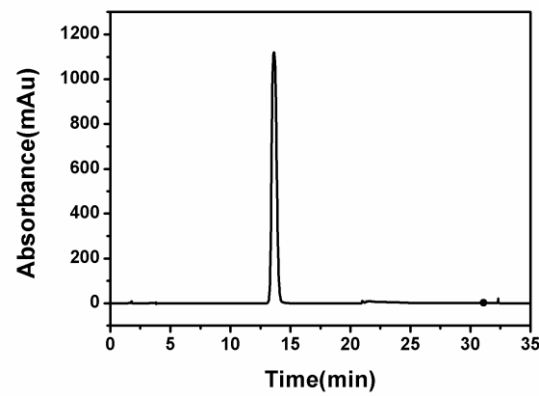
8.3 再现性

在再现性条件下，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 %。

9 其他

本方法线性范围为5 $\mu\text{g/mL}$ ~ 1000 $\mu\text{g/mL}$ 。 检出限：以3倍基线噪音信号确定检出限: 6.85 ng/mL , 定量限：以10倍基线噪音信号确定定量限22.83 ng/mL 。苹果试样取样量为20 g，确定检出限为0.83 $\mu\text{g/mL}$ ，定量限为2.78 $\mu\text{g/mL}$ 。

附 录 A 根皮苷色谱图



图A.1 根皮苷标准溶液的色谱图

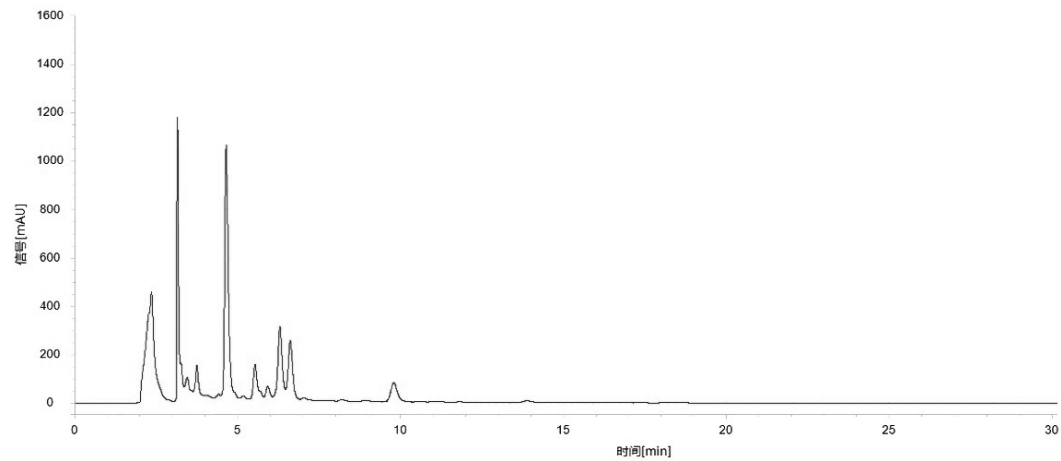


图 A.2 苹果 90%乙醇粗提物的色谱图