

ICS 67.100

CCS C 144

团体标准

T/ NAIA XXX—2026

枸杞中 19 种多酚的测定 高效液相色谱-串联质谱法

Determination of nineteen Polyphenols in Lycium barbarum by

LC-MS/MS

2026-XX-XX 发布

2026-XX-XX 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》规定编写。

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。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

枸杞中 19 种多酚的测定 高效液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了枸杞中 19 种多酚（奎宁酸、没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、香草酸、咖啡酸、丁香酸、对香豆酸、香兰素、芥子酸、阿魏酸、异阿魏酸、1, 5-二咖啡酰奎宁酸、对羟基苯甲酸、水杨酸、2, 5-二羟基苯甲酸）的高效液相色谱-串联质谱检测方法。

本文件适用于枸杞中 19 种多酚（奎宁酸、没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、香草酸、咖啡酸、丁香酸、对香豆酸、香兰素、芥子酸、阿魏酸、异阿魏酸、1, 5-二咖啡酰奎宁酸、对羟基苯甲酸、水杨酸、2, 5-二羟基苯甲酸）含量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。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实验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样经甲醇超声提取后，色谱柱分离，高效液相色谱-串联质谱仪测定，外标法定量。

5 试剂和材料

本方法所用的试剂，除另有规定外，均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 乙腈：色谱纯。

5.1.2 甲醇：色谱纯。

5.1.3 甲酸：优级纯。

5.1.4 0.1%甲酸水溶液：取 1.0 mL 甲酸用水稀释定容到 1000 mL，混匀。

5.2 材料

5.2.1 有机微孔滤膜，孔径 0.22 μm ，或相当者。

5.2.2 离心管：50 mL。

5.3 标准品

5.3.1 19 种多酚化合物标准品名称、CAS 号、化学分子式和纯度见附录 A。

5.3.2 标准储备液 (1.0 mg/mL): 分别准确称取奎宁酸、没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、香草酸、咖啡酸、丁香酸、对香豆酸、香兰素、芥子酸、阿魏酸、异阿魏酸、1, 5-二咖啡酰奎宁酸、对羟基苯甲酸、水杨酸、2, 5-二羟基苯甲酸标准品 10 mg (准确至 0.1 mg), 于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 4°C 保存。

5.3.3 标准混合中间液 (1 µg/mL): 分别准确吸取奎宁酸、没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、香草酸、咖啡酸、丁香酸、对香豆酸、香兰素、芥子酸、阿魏酸、异阿魏酸、1, 5-二咖啡酰奎宁酸、对羟基苯甲酸、水杨酸、2, 5-二羟基苯甲酸标准储备液各 100 µL 于 100 mL 容量瓶中, 用甲醇定容, 4°C 保存。

5.3.4 标准混合系列工作液: 分别准确吸取一定体积的 1 µg/mL 标准混合中间液, 置于 10 mL 容量瓶中, 用初始流动相定容至刻度, 摇匀。标准混合系列工作液的浓度分别为 10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、500 ng/mL、1000 ng/mL, 临用现配。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪 (LC-MS/MS): 配备电喷雾离子源(ESI)。

6.2 分析天平: 感量 0.01 mg 和 0.01 g。

6.3 涡旋混合器。

6.4 离心机: 最大转速 10000 r/min。

6.5 超声波发生器 (500W)。

7 分析步骤

7.1 试样制备

取枸杞干样研磨均匀分装, 密封冷冻保存。

7.2 试样的提取

称取 1.0 g 枸杞试样, 加入 10 mL 70%的甲醇溶液, 涡旋 10 min, 超声提取 20 min, 10000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 残余物中再加入 10 mL 70%的甲醇溶液, 涡旋 5 min, 8000 r/min 离心 5 min, 合并上清液, 经 0.22 µm 微孔滤膜过滤后, 供 LC-MS/MS 分析。

7.3 仪器参考条件

7.3.1 液相色谱参考条件

a) 色谱柱: HSS TS 色谱柱, 2.1 mm×100 mm, 1.8 µm, 性能相当者。

b) 柱温: 35°C。

c) 流动相: A: 0.1%甲酸水溶液, B: 乙腈; 梯度洗脱见表 1。

d) 流速: 0.30 mL/min。

e) 进样量: 2 µL。

表 1 流动相及梯度洗脱条件

时间/min	流速/ (mL/min)	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	0.30	95	5
2.00	0.30	90	10
3.00	0.30	85	15
7.00	0.30	45	55

8.00	0.30	15	85
10.00	0.30	85	15
12.00	0.30	95	5

7.3.2 质谱参考条件

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI）。
- b) 扫描方式：正离子扫描。
- c) 检测方式：多反应监测（MRM）。
- d) 毛细管电压：3000V。
- e) 锥孔气流量：150 L/HR。
- f) 雾化气压力：7.0psi。
- g) 脱溶剂气流量：800 L/HR。
- h) 脱溶剂气温度：500。
- i) 锥孔电压：4200V。
- j) 定性离子对、定量离子对、碰撞能量等参数参见附录 B。

7.4 定性测定

在相同实验条件下进行样品测定时，如果检出的色谱峰的保留时间与标准样品相一致，并且目标化合物选择的子离子均出现，而且同一检测批次，对同一化合物，样品中目标化合物的离子丰度比与质量浓度相当的标准溶液相比，其允许偏差不超过表 2 规定的范围，则可判断样品中存在目标多酚。

表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	>50%	20%~50%	10%~20%	≤10%
允许的相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

7.5 定量测定

根据样液中被测物含量情况，选定浓度相近的混合标准工作溶液，混合标准工作溶液和待测样液中被测物的响应值均应在仪器检测的线性范围内。混合标准工作溶液与样液等体积进样测定。标准溶液及样液均按 7.3.1 和 7.3.2 规定的条件进行测定，如果样液中与标准溶液相同的保留时间有峰出现，则对其进行确证，19 种多酚化合物的参考保留时间见表 3。19 种多酚化合物的典型离子色谱图参见附录 C，采用标准曲线外标法定量。

表 3 参考保留时间

被测物名称	保留时间/ (min)
奎宁酸	0.84
没食子酸	2.02
原儿茶酸	3.19
原儿茶醛	4.12
绿原酸	4.25
新绿原酸	4.35
隐绿原酸	4.36

香草酸	4.71
咖啡酸	4.73
丁香酸	4.81
对香豆酸	5.37
香兰素	5.40
芥子酸	5.55
阿魏酸	5.58
异阿魏酸	5.58
1, 5-二咖啡酰奎宁酸	5.60
对羟基苯甲酸	6.33
水杨酸	6.33
2, 5-二羟基苯甲酸	5.60

7.6 空白试验

除不加试样外，均按上述步骤进行。

8 分析结果的表述

试样中被测化合物的含量按式（1）计算：

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

式中：

X —— 样本中各种化合物含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

C —— 测定溶液浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V —— 样本溶液提取溶液体积，单位为毫升（mL）；

m —— 试样质量，单位为克（g）；

1000 —— 换算系数。

注：计算结果应扣除空白值，测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留两位有效数字。

9 精密度

在重复性测定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%。

10 定量限

本方法的没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、丁香酸、对香豆酸、香兰素、芥子酸、阿魏酸、异阿魏酸、1, 5-二咖啡酰奎宁酸、对羟基苯甲酸、水杨酸、2, 5-二羟基苯甲酸定量限为 0.05 mg/kg，奎宁酸和香草酸定量限为 0.1 mg/kg。

附录 A
(资料性)

表 A.1 19 种多酚化合物标准品名称、CAS 号、化学分子式和纯度

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	纯度
奎宁酸	Quinic acid	77-95-2	C ₇ H ₁₂ O ₆	≥98%
没食子酸	Gallic acid	149-91-7	C ₇ H ₆ O ₅	≥98%
原儿茶酸	Protocatechuic acid	99-50-3	C ₇ H ₆ O ₄	≥98%
原儿茶醛	Protocatechuic aldehyde	139-85-5	C ₇ H ₇ O ₃	≥98%
绿原酸	Chlorogenic acid	327-97-9	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	≥98%
新绿原酸	Neochlorogenic acid	906-33-2	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	≥98%
隐绿原酸	Cryptochlorogenic acid	905-99-7	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	≥98%
香草酸	Vanillic acid	121-34-6	C ₈ H ₈ O ₄	≥98%
咖啡酸	Caffeic acid	331-39-5	C ₉ H ₈ O ₄	≥98%
丁香酸	Syringic acid	530-57-4	C ₉ H ₁₀ O ₅	≥98%
对香豆酸	p-coumaric acid	501-98-4	C ₉ H ₈ O ₃	≥98%
香兰素	Vanillin	121-33-5	C ₈ H ₈ O ₃	≥98%
芥子酸	Sinapic acid	530-59-6	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	≥98%
阿魏酸	Ferulic acid	1135-24-6	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	≥98%
异阿魏酸	Isoferulic acid	537-73-5	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	≥98%
1, 5-二咖啡酰奎宁酸	1, 5-Dicaffeoylquinic acid	30964-13-7	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	≥98%
对羟基苯甲酸	p-Hydroxybenzoic acid	99-96-7	C ₇ H ₆ O ₃	≥98%
水杨酸	Salicylic acid	69-72-7	C ₇ H ₆ O ₃	≥98%
2, 5-二羟基苯甲酸	2, 5-Dihydroxybenzoic acid	490-79-9	C ₇ H ₆ O ₄	≥98%

附录 B
(资料性附录)

表 B.1 19 种多酚化合物的质谱参数

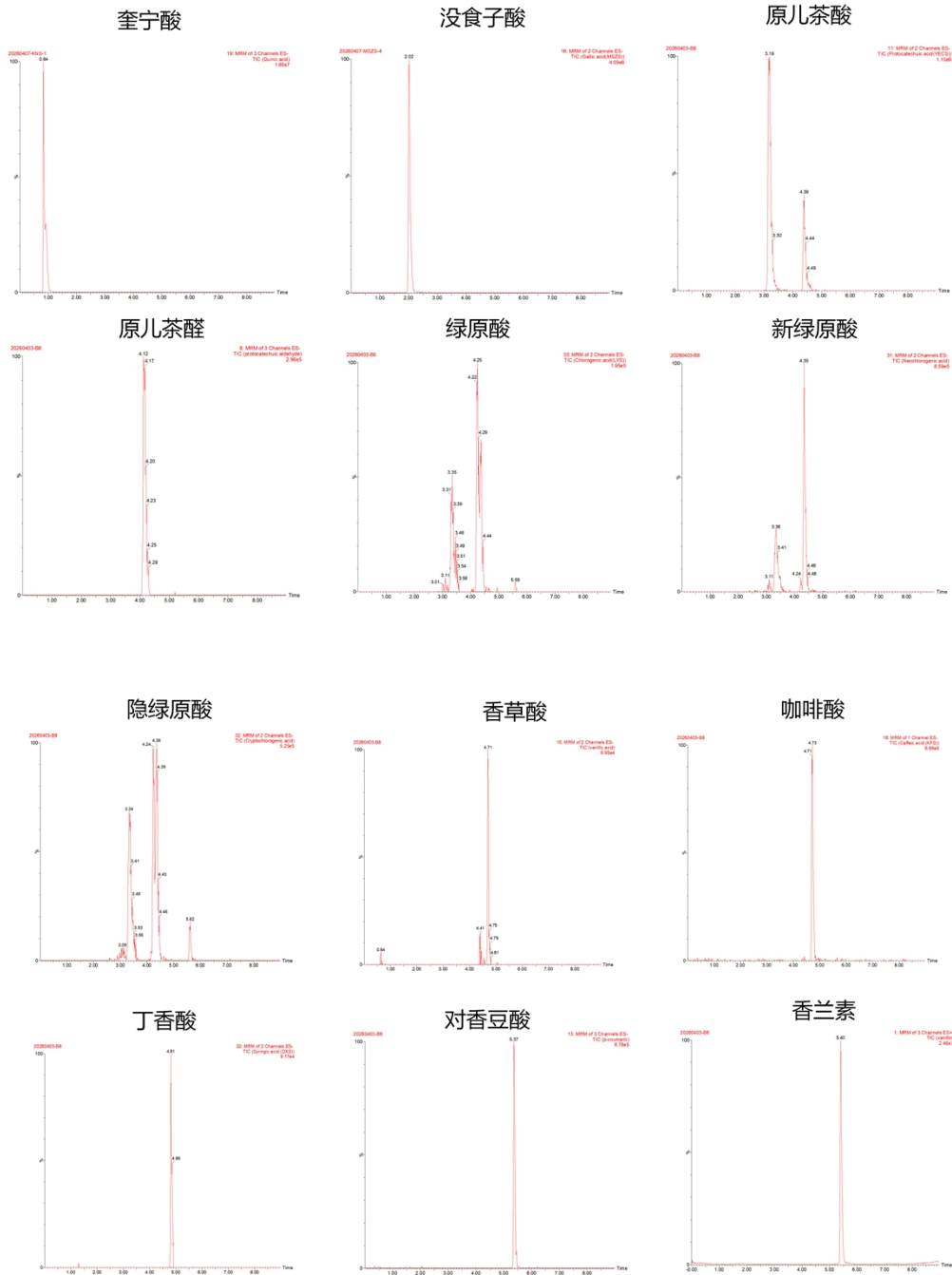
被测物名称	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (eV)
奎宁酸	191	173*	24	15
		111	12	15
没食子酸	170	126*	24	14
		107	28	20
原儿茶酸	153	109*	35	22
		91	35	26
原儿茶醛	137	108*	50	32
		91	50	36
绿原酸	354	191*	30	26
		85	30	26
新绿原酸	353	161*	26	20
		135	26	22
隐绿原酸	353	191*	46	36
		179	46	36
香草酸	167	152*	30	25
		123	30	20
咖啡酸	179	135*	35	15
		117	35	25
丁香酸	198	183*	30	14
		154	30	20
对香豆酸	164	120*	44	16
		93	40	22
香兰素	153	125*	30	12
		93	30	13
芥子酸	223	193*	32	22
		163	32	20
阿魏酸	193	134*	20	15
		178	20	15
异阿魏酸	193	134*	44	36
		105	44	40
1, 5-二咖啡酰 奎宁酸	515	191*	40	40
		353	32	32
对羟基苯甲酸	137	93*	30	10
		65	30	26
水杨酸	314	136*	15	10
		93	15	10

2, 5-二羟基苯 甲酸	153	108*	36	32
		81	36	40

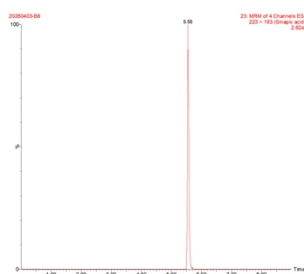
注：*为定量离子对信息

附录 C(资料性附录)

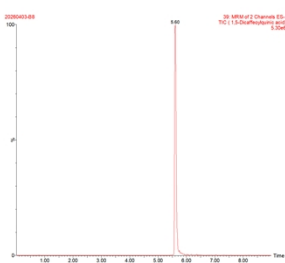
图 C.1 19种多酚化合物的离子对典型色谱图



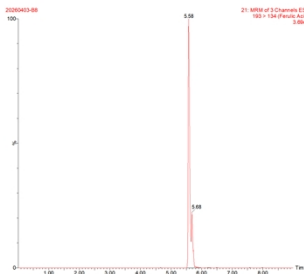
芥子酸



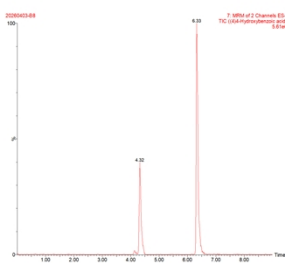
1,5 - 二咖啡酰奎宁酸



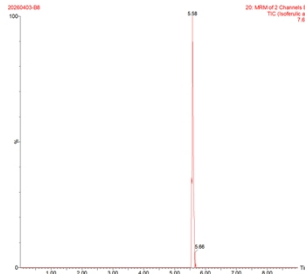
阿魏酸



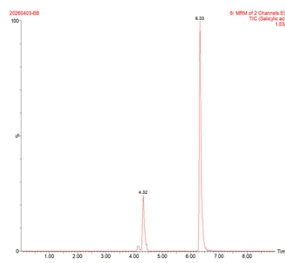
对羟基苯甲酸



异阿魏酸



水杨酸



2, 5-二羟基苯甲酸

