

TB

团体标准

T/NAIAxxx-xxx

枸杞中玉米黄质类成分含量测定
高效液相色谱法

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-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》的规定起草。

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：宁夏医科大学、宁夏回族自治区药品检验研究院、宁夏沃福百瑞枸杞产业股份有限公司、宁夏中宁枸杞产业创新研究院。

本文件主要起草人：马学琴、马玲、陈欢、杨玲玲、郭荣、潘泰安、韩璐、黄钰馨、张霞、孙莹、马小荣、孙涛、陈国宁、苏晓娟、李艳婷、宗蓉、吴琛、沈晓华。

本文件为首次发布。

枸杞中玉米黄质类成分含量测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了枸杞中多种玉米黄质类成分含量的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于枸杞及其制品中玉米黄质类成分：玉米黄质、 β -胡萝卜素、 β -隐黄素棕榈酸酯、玉米黄素双棕榈酸酯含量的测定。

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

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中玉米黄质类成分采用正己烷:无水乙醇:丙酮:甲苯（10:6:7:7）提取，用0.1%BHT无水乙醇溶液稀释并定容，微孔滤膜过滤，高效液相色谱法测定，外标法加校正因子定量。

5 试剂与材料适用范围

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T6682规定的一级水。

5.1 正己烷：色谱纯。

5.2 甲醇：色谱纯。

5.3 乙腈：色谱纯。

5.4 二氯甲烷：色谱纯。

5.5 β -胡萝卜素（ β -carotene, CAS 号 7235-40-7）；叶黄素（lutein, CAS

号 127-40-2); 玉米黄质 (zeaxanthin, CAS 号 144-68-3); 玉米黄素双棕榈酸酯 (zeaxanthin dipalmitate, CAS 号 144-67-2); β -隐黄素棕榈酸酯 (β -cryptoxanthin palmitate)。

5.6 0.1%BHT 无水乙醇溶液: 称取 100 g 二丁基羟基甲苯 (BHT), 用无水乙醇定容至 1000 mL。

5.7 玉米黄质单标储备溶液

避光操作。精密称取玉米黄质对照品 10 mg, 用二氯甲烷溶解并定容至 25 mL 棕色量瓶中, 即得浓度为 0.4 mg/mL 的玉米黄质单标储备溶液, 于-20℃下贮存于密封的棕色玻璃瓶中, 有效期为 3 个月。

5.8 玉米黄质标准工作液

避光操作。以 0.1%BHT 无水乙醇溶液 (5.10) 作为溶剂, 将玉米黄质单标储备溶液稀释成 0.8 μ g/mL 的标准工作液, 于-20℃下贮存于密封的棕色玻璃瓶中, 有效期为 3 个月。

6 仪器与设备

6.1 高效液相色谱仪 (配紫外检测器)。

6.2 分析天平。

6.3 超声波清洗器。

6.4 超纯水机。

6.5 0.45 μ m 滤膜, 有机相。

7 供试品溶液的制备

避光操作。取枸杞样品, 50 ℃烘干后, 粉碎, 混匀备用。取约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入溶剂 [正己烷: 无水乙醇: 丙酮: 甲苯 (10:6:7:7)] 20 mL, 密塞, 称定重量, 超声 30 min, 放冷, 用溶剂补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液 2 mL, 置 5 mL 量瓶中, 用 0.1%BHT 无水乙醇溶液 (5.10) 稀释至刻度, 摇匀, 经滤膜 (6.5) 过滤, 上机待测。

8 测定

8.1 液相色谱参考条件

色谱柱：YMC C30 色谱柱（5 μm，4.6 mm×250 mm），或性能相当者

流动相：A 为甲醇:乙腈:水（81:14:5），B 为二氯甲烷；梯度洗脱，条件见表 1。

柱温：20 ℃

检测波长：450 nm

流速：1.0 mL/min

进样量：20 μL

表 1 梯度洗脱表

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	70.0	30.0
20	50.0	50.0
48	50.0	50.0
50	70.0	30.0
55	70.0	30.0

8.2 玉米黄质标准工作液和试样测定

分别取玉米黄质标准工作液和平行两份的供试品溶液 20 μL，按 8.1 条件测定，以相对保留时间确定待测定成分峰，以外标法加校正因子计算待测成分含量。

9 结果计算和表达

试样中玉米黄质、叶黄素、β-胡萝卜素、β-隐黄质棕榈酸酯、玉米黄素双棕榈酸酯色谱峰以各待测成分与玉米黄质的相对保留时间 r 确认，如下表 2 所示。

表 2 4 种待测成分与玉米黄质的相对保留时间

r （叶黄素/玉米黄质）	r （β-胡萝卜素/玉米黄质）	r （β-隐黄质棕榈酸酯/玉米黄质）	r （玉米黄素双棕榈酸酯/玉米黄质）
0.9094	2.4381	3.9237	6.3448

试样中玉米黄质、叶黄素、β-胡萝卜素、β-隐黄质棕榈酸酯、玉米黄素

5

双棕榈酸酯的含量以质量分数 ω_i 计，数值以微克每克 ($\mu\text{g/g}$) 计，按式 (1) 计算：

$$\omega_i = \frac{A_i \times C_s \times f_{(s/i)} \times 50}{A_s \times m} \quad (1)$$

式 (1) 中：

A_i —试样中待测成分的峰面积；

A_s —玉米黄质标准工作液峰面积；

C_s —玉米黄质标准工作液浓度；

$f_{(s/i)}$ —玉米黄质与待测成分的相对校正因子，其中待测成分为玉米黄质时， $f_{(s/i)}=1$ ；待测成分为叶黄素时， $f_{(s/i)}=1.3651$ ；待测成分为 β -胡萝卜素时， $f_{(s/i)}=1.1083$ ；待测成分为 β -隐黄质棕榈酸酯时， $f_{(s/i)}=1.3894$ ；待测成分为玉米黄素双棕榈酸酯时， $f_{(s/i)}=1.1581$ 。

m —试样的质量，单位为克 (g)；

50—体积，单位为毫升 (mL)。

测定结果保留三位有效数字。

10 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超过算术平均值的 5%。

附录 A

(资料性)

玉米黄质标准工作液色谱图

玉米黄质标准工作液色谱图，见图 A.1。

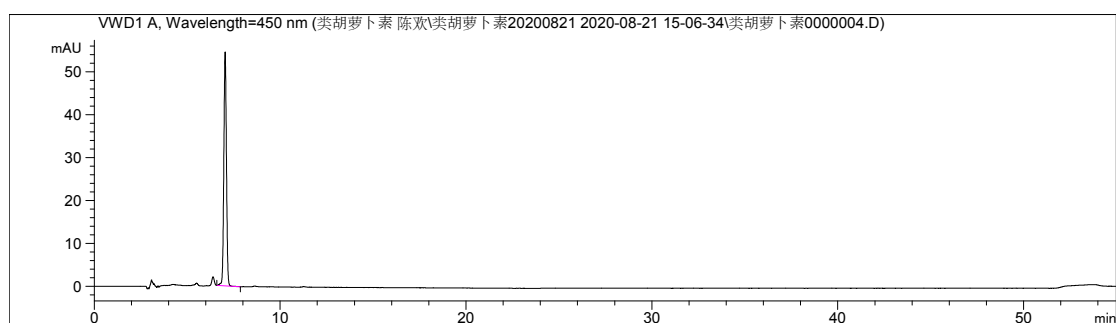


图 A.1 玉米黄质标准工作液色谱图

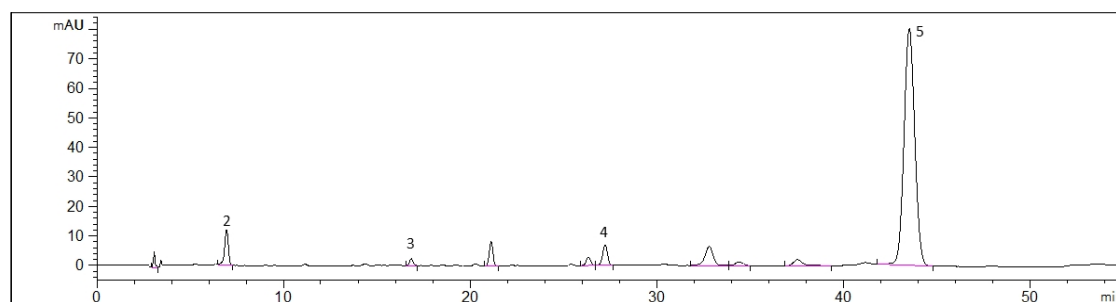


图 2 枸杞供试品溶液色谱图

标引序号说明：

2.玉米黄质；3.β-胡萝卜素；4.β-隐黄素棕榈酸酯；5.玉米黄素双棕榈酸酯