

ICS
CCS

团 体 标 准

T/HIFSA XXX-XXXX

诺丽酵素中环烯醚萜的测定

Determination of iridoid in Noni enzyme juice
(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布 XXXX-XX-XX 实施
海南省食品安全协会 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。

本文件由海南省检验检测研究院产品质量监督检验所提出。

本文件由海南省食品安全协会归口。

本文件起草单位：海南省检验检测研究院产品质量监督检验所、海南省检验检测研究院食品检验检测中心、海南永准质检技术服务有限公司、海南丰席树诺丽产业有限责任公司、海南西沙诺丽生物科技有限公司、海南省食品安全协会。

本文件主要起草人：吴毓炜、毛海梅、唐闻宁、黄健泓、李声崎、黄庆柏、罗腾、吕诗锦、潘在榄、陈春泉、谭高好、梁晓涵、尹青春、林青、吴基任、汤祝华、密可水、田亮、赵文阳。

诺丽酵素中环烯醚萜的测定

1 范围

本标准规定了诺丽酵素中环烯醚萜含量的液相色谱测定方法。

本标准适用于诺丽酵素中环烯醚萜含量的测定。

本方法中环烯醚萜检出限为0.5mg/kg，定量限为2.0mg/kg。

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于本文件；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 原理

试样经离心分离得到上清液，经稀释定容后，用液相色谱紫外检测器分析，保留时间定性，外标法定量。

4 试剂和材料

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。

4.1 试剂

4.1.1 乙腈，色谱纯。

4.1.2 磷酸，色谱纯。

4.2 标准品

4.2.1 车叶草苷酸标准品：纯度 $\geq 98.0\%$ 。

4.2.2 去乙酰车叶草苷酸标准品：纯度 $\geq 98.0\%$ 。

4.3 标准溶液配制

4.3.1 车叶草苷酸和去乙酰车叶草苷酸混合标准溶液（2.5mg/ml）：分别准确称取 25 mg 车叶草苷酸和 25 mg 去乙酰车叶草苷酸，用水溶解并定容至 10ml。

5 仪器

5.1 高效液相色谱仪：配有紫外光检测器。

5.2 离心机。

5.3 分析天平：感量 0.1 mg。

5.4 超声波溶解器。

5.5 色谱柱：C18 柱。

6 分析步骤

6.1 试样制备

6.1.1 诺丽酵素汁

准确称取约 20g（精确到 0.001）试样，于离心机 5000r/min 离心 5min，吸取上清液 10mL 于 100mL 容量瓶中，加水稀释至刻度摇匀，过 0.22μm 滤膜。

6.1.2 诺丽酵素粉

准确称取约 5g（精确到 0.001）试样于 50mL 容量瓶中，加水溶解并稀释至刻度，于离心机 5000r/min 离心 5min，取上清液，过 0.22μm 滤膜。

6.2 液相色谱参考条件

6.2.1 色谱柱：C18 色谱柱 250 mm×4.6 mm, 5 μm。

6.2.2 流动相：A:0.1 %磷酸溶液；B:乙腈。

6.2.3 检测波长：237nm。

6.2.4 进样量：10 μL。

6.2.5 柱温：35 ℃。

6.2.6 梯度洗脱表见表 1。

表1 梯度洗脱表

时间min	流速mL/min	0.1 %磷酸溶液%	乙腈%
0	0.5	96	4
10	0.5	85	15
22	0.5	96	4
40	0.5	96	4

6.3 标准曲线的制作

分别准确吸取 0.1mL、0.2mL、0.4mL、0.6mL、0.8mL、1.0mL 车叶草苷酸和去乙酰车叶草苷酸混合标准溶液，用水定容至 10mL，配制成质量浓度分别 0.025mg/mL、0.050mg/mL、0.10mg/mL、0.15mg/mL、0.20mg/mL 和 0.25mg/mL 混合标准系列工作溶液。将混合标准系列工作溶液分别注入液相色谱仪中，测定相应的峰面积，以混合标准系列工作溶液的质量浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

6.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱仪中，测得峰面积，根据标准曲线得到试样中环烯醚萜的质量浓度。

7 分析结果的表述

试样中环烯醚萜的含量（以车叶草苷酸和去乙酰车叶草苷酸的总量计）按式（1）计算：

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

式中：

X ——试样中待测组分含量，单位为毫克每升（mg/kg）；

ρ ——由标准曲线得出的试样液中待测物的质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；
 V ——试样定容体积，单位为毫升（mL）；
 m ——试样质量，单位为克（g）；
结果保留三位有效数字。

8 精密度

在重复性条件下获得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 准确度

本方法的回收率要求在70%~110%之间。

附录 A

附录 B（规范性）

附录 C 环烯醚萜液相色谱图

10mg/L车叶草苷酸和50mg/L去乙酰车叶草苷酸见图1

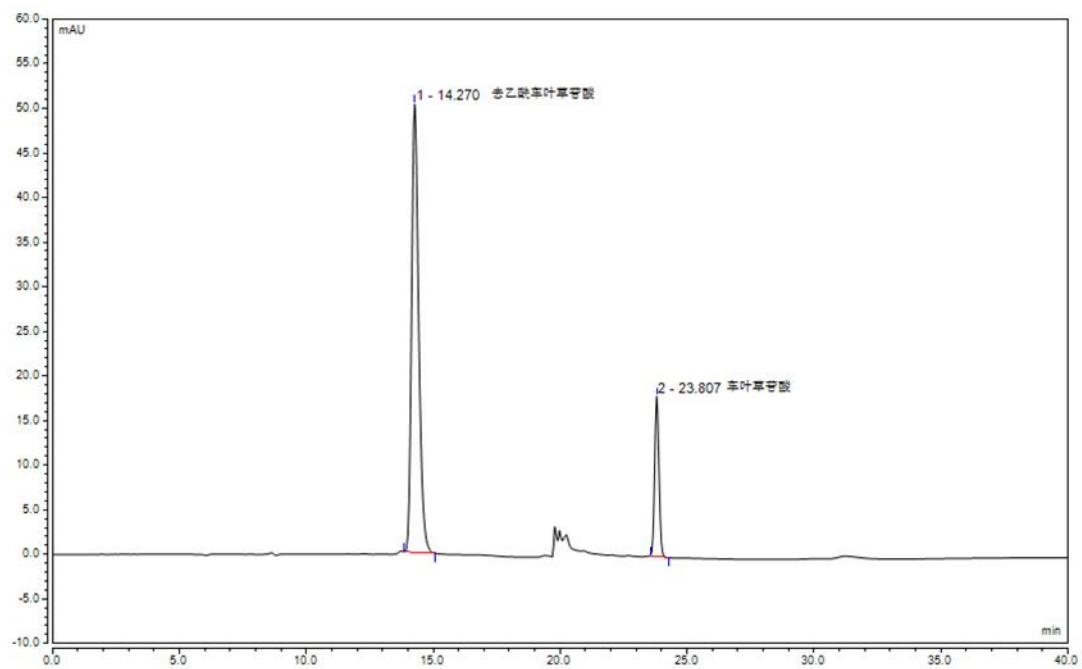


图1 10mg/L车叶草苷酸和50mg/L去乙酰车叶草苷酸