

TB

团体标准

T/ NAIA×××-××××

枸杞中生物碱N-反式阿魏酸酪酰胺及N-反式阿魏酰真蛸胺的含量测定 高效液相色谱法

Determination of N-trans-Feruloyltyramine and N-trans-Feruloyloctopamine in
Lycium barbarum L.

—High performance liquid chromatography

××××-××-××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 给出的规则起草。

本文件由宁夏回族自治区药品检验研究院提出。

本文件由宁夏化学分析测试协会归口。

本文件起草单位：宁夏回族自治区药品检验研究院（国家枸杞产品质量检验检测中心（宁夏）），中国科学院兰州化学物理研究所，宁夏卫生健康职业技术学院，宁夏回族自治区药品质量控制与评价重点实验室、宁夏农林科学院农业生物技术研究中心。

本文件主要起草人：黄钰馨、马玲、尚博杨、王宁丽、郑国保、陈欢、臧娅妮、孙莹、王曼泽、李苗、马宗卫、[刘建飞](#)

本文件为首次发布。

枸杞中生物碱 N-反式阿魏酸酪酰胺及 N-反式阿魏酰真蛸胺的含量测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了枸杞中生物碱 N-反式阿魏酸酪酰胺和 N-反式阿魏酰真蛸胺的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于枸杞（鲜、干果）中生物碱 N-反式阿魏酸酪酰胺和 N-反式阿魏酰真蛸胺的高效液相色谱法测定。

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

本文件没有需要规定的术语和定义。

4 原理

试样中的生物碱类物质用 70% 甲醇溶液超声提取，通过碱性氧化铝固相萃取柱过滤，用高效液相色谱检测和确证，外标法定量。

5 试剂与材料

除非另有规定外，所有试剂均为分析纯，水符合 GB/T 6682 中规定的一级水。

5.1 甲醇（CH₃OH）：色谱纯。

5.2 乙腈（CH₃CN）：色谱纯。

5.3 磷酸（H₃PO₄）：色谱纯。

5.4 N-反式阿魏酸酪酰胺（N-trans-Feruloyltyramine，CAS 号 66648-43-9）、N-反式阿魏酰真蛸胺（N-trans-Feruloyloctopamine，CAS 号 66648-44-0），纯度 ≥ 95.0% 或经国家认证

并授予标准物质证书的标准物质。

5.5 碱性氧化铝固相萃取柱（100-200 目）

5.6 标准溶液配制

5.6.1 标准储备溶液：分别准确称取适量的 N-反式阿魏酸酪酰胺、N-反式阿魏酰真蛸胺标准品（精确至 0.01 mg），用甲醇溶解，分别配制成 1mg/mL 的标准储备溶液，-4℃下保存。

5.6.2 混合标准中间溶液：分别取 N-反式阿魏酸酪酰胺和 N-反式阿魏酰真蛸胺的标准储备溶液适量，用甲醇稀释成 0.01 mg/mL 的混合标准中间溶液，-4℃下保存。

5.6.3 标准工作溶液：吸取 1mL 混合标准中间溶液于 10mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度。

5.7 70%甲醇溶液（体积分数）：量取 70 mL 甲醇，用水定容至 100 mL。

5.8 0.03%磷酸水溶液（体积分数）：量取 0.3 mL 磷酸，用水定容至 1000mL。

6 仪器与设备

6.1 高效液相色谱仪：配有 UV 检测器。

6.2 分析天平：感量 0.00001 g。

6.3 高速万能粉碎机：15000 r/min。

6.4 超声波清洗机。

6.5 涡旋混合器。

7 分析步骤

7.1 试样的制备

枸杞样品于-18℃冷冻冰箱中保存。试验时将鲜、干枸杞样品取出，鲜样用高速组织捣碎机打浆，干样用高速万能粉碎机（可加少量的液氮）粉碎（30 g 样品粉碎时间为 30 s），分别置于样品瓶中，-18℃冷冻备用。

7.2 试样的提取

准确称取试样 1 g（精确至 0.1mg），具塞锥形瓶中，精密加入 70%甲醇溶液(5.7)10 mL，密塞，称定重量，充分振摇混匀，超声提取 30 分钟，放冷，用 70%的甲醇补足缺失的重量，摇匀，滤过，精密量取续滤液 2mL，置碱性氧化铝固相萃取柱上，滤过，滤液置 2ml 量瓶中，用 70%甲醇稀释至刻度，摇匀，即得，待上机测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱: C18 柱, 填料粒径为 $5\ \mu\text{m}$, $250\text{mm}\times 4.60\text{mm}$, 或性能相当者;
- b) 柱温: $30\ ^\circ\text{C}$;
- c) 流速: $1\ \text{mL}/\text{min}$;
- d) 流动相: A 相为 0.03% 磷酸水 (5.8), B 相为乙腈, (A 相:B 相为 65: 35);
- e) 进样量: $5\ \mu\text{L}$ 。

f) 检测波长: 318nm 。7.3.2 定量测定

取标准工作溶液和试样溶液分别注入液相色谱仪, 测定相应的峰面积, 根据标准溶液色谱峰的保留时间和峰面积, 对试样溶液的色谱峰根据保留时间进行定性, 外标法定量, 平行测定两次。

7.4 空白试验

除不加入试样外, 其他过程与试样处理相同。

8 结果计算和表达

试样中 N-反式阿魏酸酐酰胺、N-反式阿魏酰真蛸的含量以质量分数 ω 计, 数值以微克每克 ($\mu\text{g}/\text{g}$) 计, 按式 (1) 计算:

$$\omega = \frac{\rho \times V}{m} \quad (1)$$

式中:

ω —— 试样中被测物的含量, 单位为微克每克 ($\mu\text{g}/\text{g}$);

ρ —— 试样溶液中被测物的浓度, 单位为微克每毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$);

V —— 试样中置碱性氧化铝固相萃取柱上的溶液体积, 单位为毫升 (mL);

m —— 试样质量的数值, 单位为克 (g)。

注: 测定结果用平行测定的算术平均值表示, 保留三位有效数字。

9 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 10%。

10 色谱图

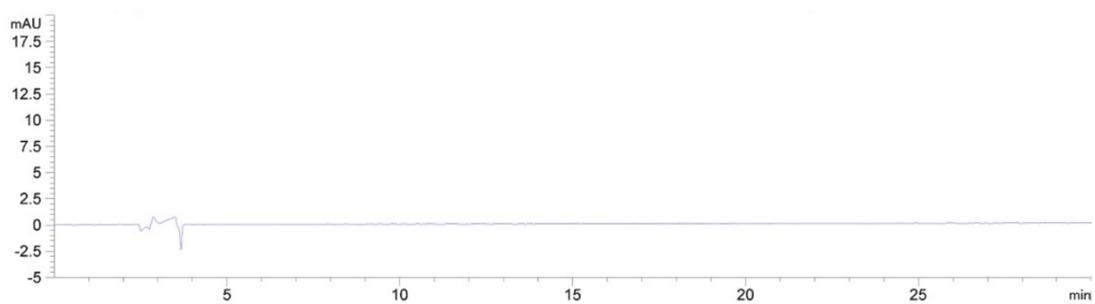


图 A 空白溶剂色谱图

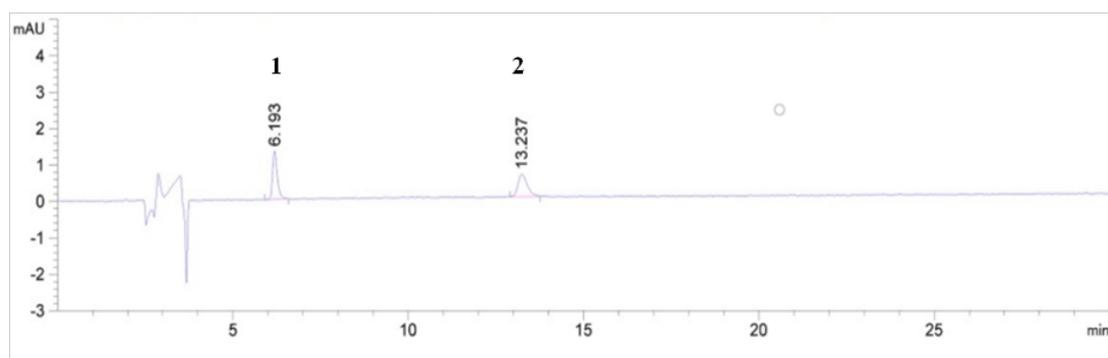


图 B 混合标准工作溶液色谱图

标引序号说明：

1——N-反式阿魏酰真蛸

2——N-反式阿魏酸酪酰胺