

ICS 67.100
CCS C 144

团体标准

T/NAIA XXX—2026

枸杞及枸杞叶中 5 种生物碱的测定 高效液相色谱法

Determination of five alkaloids in *Lycium barbarum* L. and *Lycium barbarum*
leaves by HPLC

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：

枸杞及枸杞叶中 5 种生物碱的测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了枸杞及枸杞叶中 5 种生物碱（阿魏酰腐胺、枸杞素 A、枸杞素 B、色胺、对香豆酰酪胺）的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于枸杞及枸杞叶中 5 种生物碱（阿魏酰腐胺、枸杞素 A、枸杞素 B、色胺、对香豆酰酪胺）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 方法提要

试样用乙酸甲醇溶液超声提取，经分散固相萃取净化，色谱柱分离，高效液相色谱仪测定，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 乙酸：色谱纯。

5.1.4 乙酸胺：色谱纯。

5.1.5 分散固相萃取（QuEChERS）试剂：石墨化碳黑 GCB、十八烷基硅烷键合硅胶 C18，纯度均≥98%。

5.1.6 0.5%乙酸甲醇溶液（体积分数）：量取 0.5 mL 乙酸，用甲醇定容至 100 mL。

5.1.7 25mM 乙酸铵溶液（体积分数）：称取 1.85 g 乙酸铵，用水定容至 1000 mL。

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 标准品 阿魏酰腐胺 (Feruloylputrescine, CAS 号 501-13-3, $C_{14}H_{20}N_2O_3$)、枸杞素 A (Lyciumin A, CAS 号 125708-06-7, $C_{42}H_{51}N_9O_{12}$)、枸杞素 B (Lyciumin B, CAS 号 125756-66-3, $C_{44}H_{52}N_{10}O_{11}$)、色胺 (Tryptamine, CAS 号 61-54-1, $C_{10}H_{12}N_2$)、对香豆酰酪胺 (N-p-Coumaroyltyramine, CAS 号 36417-86-4, $C_{17}H_{17}NO_3$)，纯度均 $\geq 98\%$ 。

5.3.2 标准储备液 (1.0mg/mL)：分别准确称取阿魏酰腐胺、枸杞素 A、枸杞素 B、色胺、对香豆酰酪胺标准品 10mg (准确至 0.1mg) 于 10mL 容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，4℃保存。

5.3.3 标准混合中间液 (10 μ g/mL)：分别准确吸取阿魏酰腐胺、枸杞素 A、枸杞素 B、色胺、对香豆酰酪胺标准储备液各 100 μ L 于 10mL 容量瓶中，用甲醇定容，4℃保存。

5.3.4 标准混合使用液 分别准确吸取一定体积的 10 μ g/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 0.2 μ g/mL、1 μ g/mL、2 μ g/mL、5 μ g/mL、10 μ g/mL、20 μ g/mL、50 μ g/mL，临用现配。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器。

6.2 分析天平：感量 0.1 mg 和 0.01 g。

6.3 涡旋混合器。

6.4 离心机：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

枸杞干果样品于-18℃冰箱中保存。试验时将样品取出，用高速万能粉碎机（可加少量的液氮）粉碎，分别置于样品瓶中，-18℃冷冻备用。

取枸杞叶干样研磨均匀分装，密封常温保存。

7.2 试样的提取

准确称取 1 g 枸杞或枸杞叶样品（精确到 0.01 g），加 10 mL 0.5% 乙酸甲醇（5.1.6），涡旋 3 min，超声 20 min，10000 r/min 离心 10 min，取上清液，待净化。取上清液 4 mL，加入至预先装有 20 mg GCB 和 20 mg C18（5.1.5）的净化管中，涡旋 3 min，10000 r/min 离心 10 min，准确移取 1 mL 上清液于 45℃氮吹至近干，初始流动相复溶至 1 mL，经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤后，供 HPLC 分析。

7.3 仪器参考条件

7.3.1 液相色谱参考条件

7.3.1.1 色谱柱：C18 色谱柱，250 mm \times 4.6mm，粒径 5 μ m 或性能相当者。

7.3.1.2 柱温：30℃。

7.3.1.3 流动相：A：25 mM 乙酸铵，B：乙腈；梯度洗脱见表 1。

7.3.1.4 流速：1 mL/min。

7.3.1.5 进样量：10 μ L。

7.3.1.6 检测波长：280 nm。

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	1.00	90	10
10.00	1.00	75	25
15.00	1.00	70	30
20.00	1.00	30	70
22.00	1.00	90	10
25.00	1.00	90	10

7.4 标准曲线制作

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。

7.5 试样溶液测定

将试样溶液注入液相色谱仪中，得到峰面积，根据标准曲线得到试样溶液中被测化合物的质量浓度。

8 结果计算和表达

试样中被测化合物的含量按式（1）计算：

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

X ——样本中各种化合物含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

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

V ——提取溶液体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，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

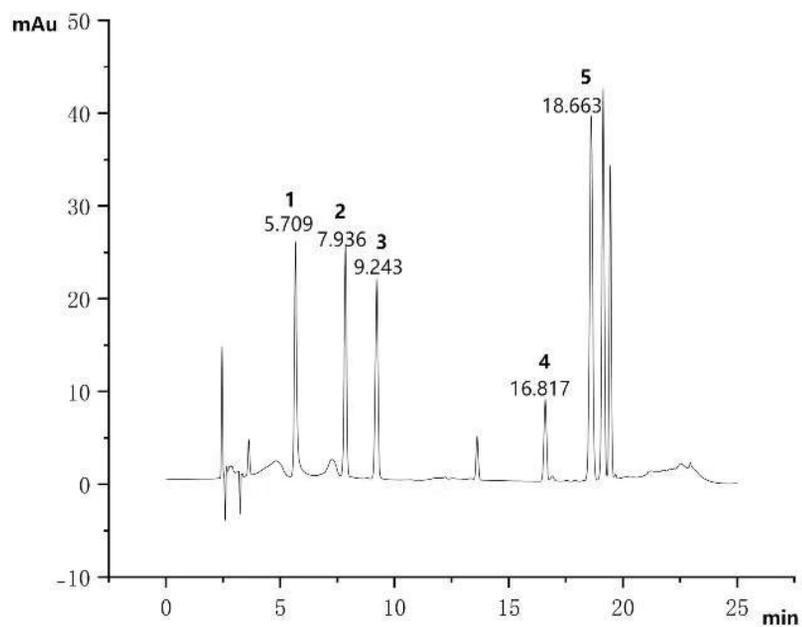
在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

10 定量限

本方法的阿魏酰腐胺、枸杞素 A、枸杞素 B、对香豆酰酪胺定量限均为 0.2 mg/kg，色胺定量限均为 0.5 mg/kg。

附录 A
(资料性附录)

表 A.1 混合标准工作溶液色谱图



图注:

- 1——阿魏酰腐胺
- 2——枸杞素 A
- 3——枸杞素 B
- 4——色胺
- 5——对香豆酰酪胺