

## 仁果类中类黄酮的测定 NY/T 2741-2015

### 1、适用范围

适用于仁果类水果中类黄酮的测定（本实验采用梨为样品）

参考标准：《NY/T 2741-2015 仁果类水果中类黄酮的测定 高效液相色谱法》

### 2、溶液的配制

- 1) 标准贮备液：准确称取 8 种标准品 10mg，用甲醇溶解并定容至 10mL，该浓度为 1mg/mL。
- 2) 标准工作液：准确移取 1mL 标准贮备液，用流动相稀释并定容至 10mL，该浓度为 100 $\mu$ g/mL。
- 3) 80%乙醇水：移取 800mL 乙醇，200mL 水，混匀。
- 4) 2%甲酸水：移取 20mL 甲酸，用水稀释至 1L。

### 3、提取步骤

- 1) 称取 5g 样品（粉碎均匀后的样品），加入一颗均质子，再加入 25mL80%乙醇水，涡旋，振荡后，离心 3min（10000r/min），移取上清液于鸡心瓶中；往残渣中再加入 15mL80%乙醇水，和 10mL80%乙醇水再重复提取两次，合并三次上清液，并用 80%乙醇水定容至 50mL，再次离心 3min（10000r/min）。
- 2) 准确移取 10mL 提取液于鸡心瓶中，将提取液于 38 $^{\circ}$ C 水浴旋蒸至除去乙醇，待净化。

### 4、SPE 净化步骤

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

SPE 柱：月旭 Welchrom<sup>®</sup> BRP 规格：500mg/6mL。

活化：5mL 甲醇、5mL 水，弃去；

上样：待净化液全部上样，控制流速，弃去；

淋洗：先用 5mL 水润洗鸡心瓶，加入至净化小柱中，再加入 3mL 水，淋洗，弃去；

洗脱：用 10mL 甲醇洗脱，收集于 15mL 离心管中，并抽干。

浓缩：在 39℃ 水浴下氮气吹至 5mL 左右，用初始流动相复溶(2%甲酸水-乙腈=95-5)，定容至 10mL，待检测。

## 5、注意事项

- 1) 加标水平：5g 样中加入 0.5mL 100 $\mu$ g/mL，最后定容至 10mL，该加标水平为 10mg/kg，机读数为 1 $\mu$ g/mL。
- 2) 旋蒸至大约剩余 2mL 左右。
- 3) 洗脱后，纯甲醇上样，峰型不好看，用流动相定容后，会改善峰型。
- 4) 净化小柱，GB 上要求的是 C18E 小柱，但当时做标过柱时，C18E(500/6)上样淋洗均有泄露，后改为用 BRP((500/6),就没有泄露问题了。

## 6、色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate<sup>®</sup> XB-C18,4.6 $\times$ 250mm,5 $\mu$ m

流动相：2%甲酸水-乙腈（梯度见下表 1）

流速：0.8mL/min

柱温：40℃

进样量：20 $\mu$ L

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

检测波长：280nm

表 1 流动相梯度

时间	乙腈	2%甲酸水
0	5	95
40	25	75
50	40	60
51	5	95
65	5	95

## 7、色谱图或者加标回收率结果

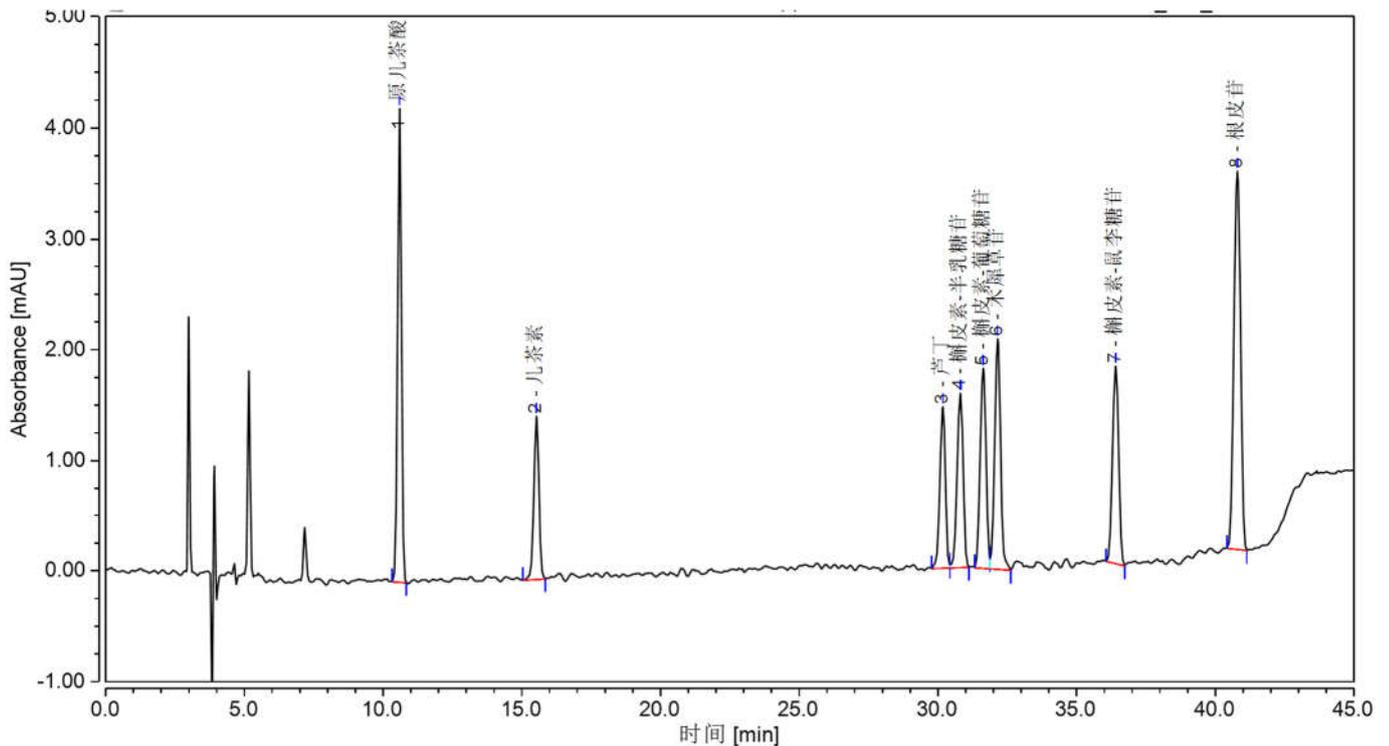


图 1 .8 种类黄酮物质混合标准品 1 $\mu$ g/mL 图谱

峰名称	保留时间	峰面积	峰高	相对峰面积	拖尾因子	不对称度	分离度	塔板数
	min	mAU*min	mAU	%		(EP)	(EP)	(EP)

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编:321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

原儿茶酸	10.662	0.722	4.367	17.15	0.87	0.94	16.13	26231
儿茶素	15.612	0.314	1.430	7.46	0.80	0.89	39.92	31486
芦丁	30.213	0.345	1.469	8.19	0.96	0.97	1.63	100294
槲皮素-半乳 糖苷	30.873	0.401	1.541	9.53	0.83	0.91	1.91	82906
槲皮素-葡萄 糖苷	31.680	0.452	1.772	10.73	0.97	n.a.	1.27	92286
木犀草苷	32.197	0.505	2.089	11.99	0.86	0.91	10.09	105998
槲皮素-鼠李 糖苷	36.463	0.478	1.751	11.36	0.83	0.92	9.37	103930
根皮苷	40.850	0.994	3.378	23.60	0.91	0.95	n.a.	113076

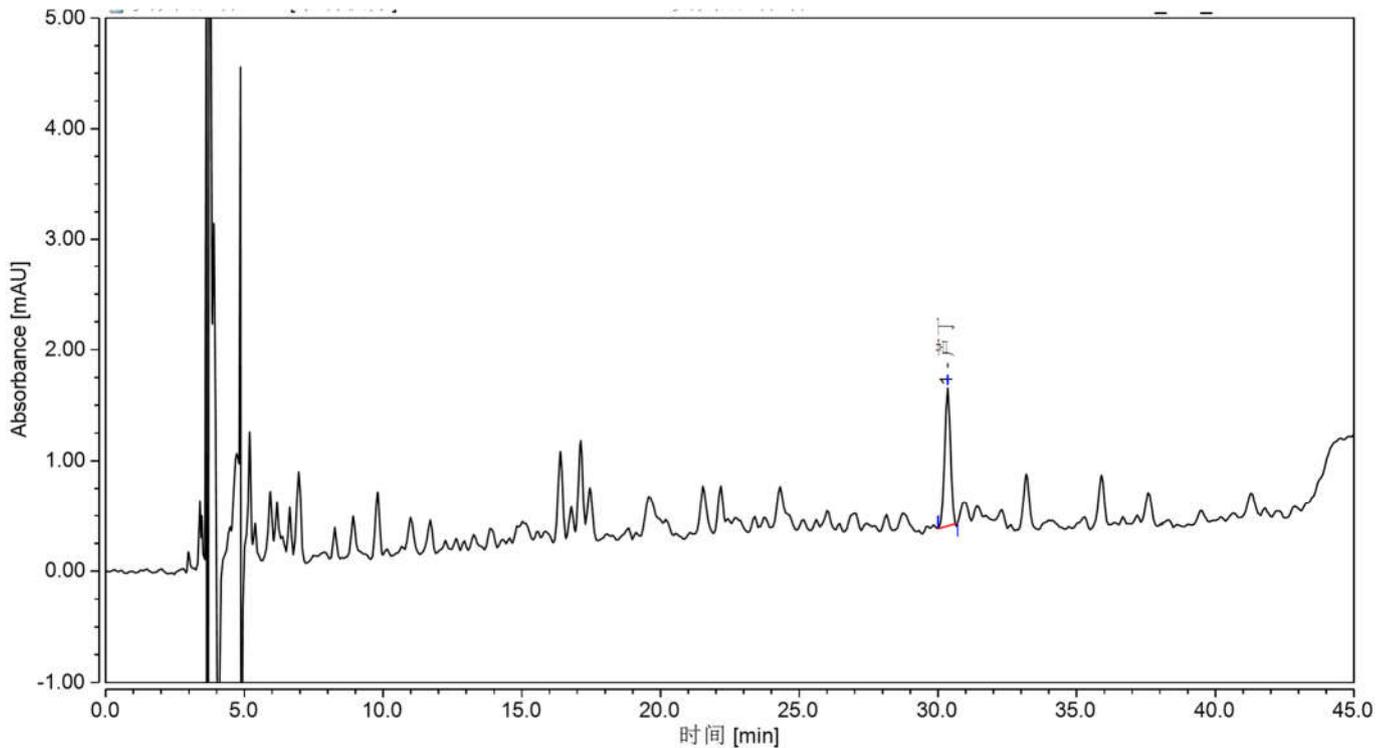


图 2 梨样过柱图谱

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

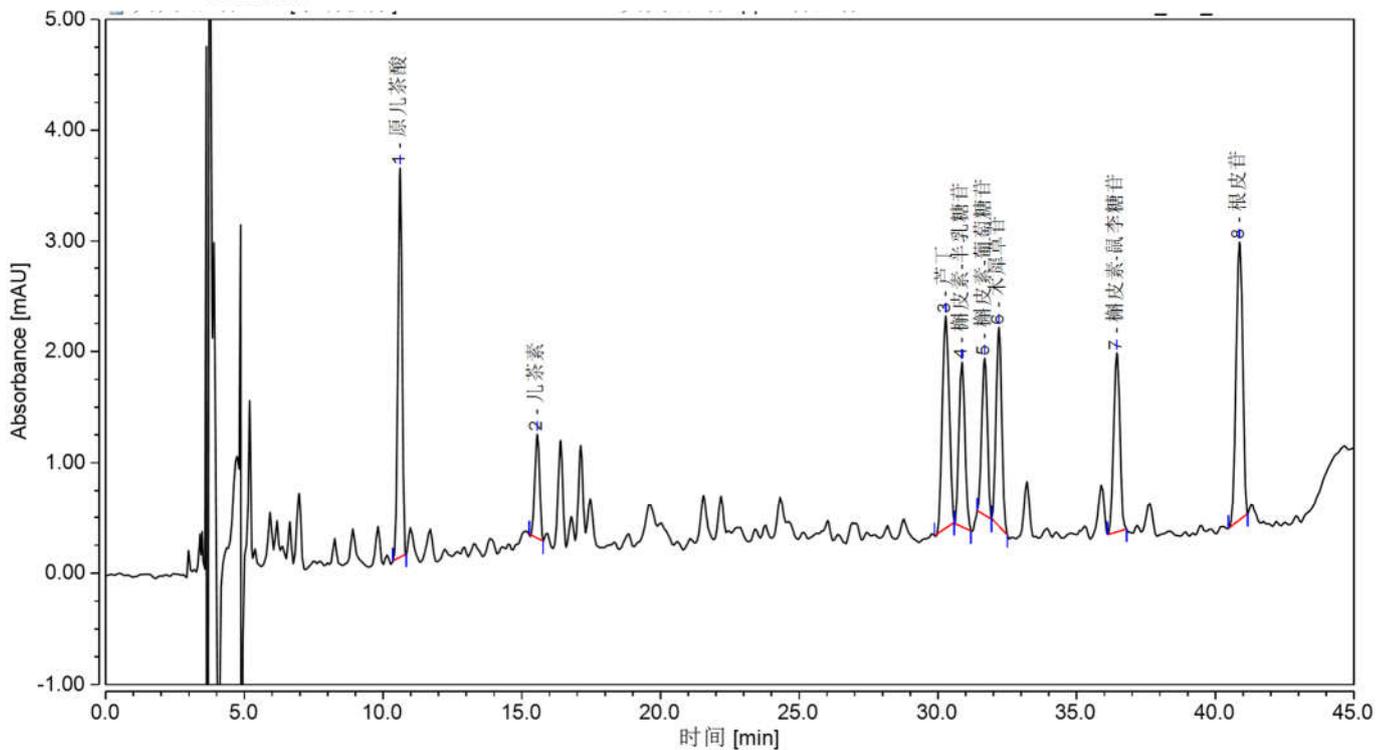


图 3 .梨样加标 10mg/kg 过柱图谱

表 2. 回收表

物质	加标水平 mg/kg	平均回收率	RSD 值
原儿茶酸	10	82%	1.19%
儿茶素		63%	0.68%
芦丁		84%	0.64%
槲皮素-半乳糖苷		103%	2.59%
槲皮素-葡萄糖苷		103%	2.20%
木犀草苷		97%	5.47%
槲皮素-鼠李糖苷		91%	1.86%
根皮苷		72%	1.06%

## 8、相关产品信息

货号	名称	规格
00522-20006	SPE 小柱	Welchrom®BRP, 500mg/6mL,30pk
00837-05006	50mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管,平盖,锥形底,RCF12000xg,袋装,未灭菌, 50mL, 50/包

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

00837-05002	15mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管, 平盖, 锥形底,RCF12000xg,袋装,未灭菌, 15mL, 50/包
00824-31001	Welch 固相萃取装置	12 位方缸
00821-32291	盖子+垫片	预切口红色特氟龙/白色硅胶隔垫, 9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm 100pk
00821-40927	样品瓶	2mL 透明短螺纹广口样品瓶 带书写处 11.6*32mm 一级水解玻璃 100pk
00201-31043	液相色谱柱	Ultimate®XB- C18 , 4.6×250mm,5μm
	儿茶素	CAS 号: 7295-85-4
	原儿茶酸	CAS 号: 490-46-0
	芦丁	CAS 号: 153-18-4
	槲皮素-半乳糖苷	CAS 号: 482-36-0
	槲皮素-葡萄糖苷	CAS 号: 21637-25-2
	槲皮素-鼠李糖苷	CAS 号: 522-12-3
	根皮苷	CAS 号: 7061-54-3
	木犀草	CAS 号: 5373-11-5

声明:除非另有说明, 此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可, 不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com