

苹果中主要酚类物质的测定 NY/T 2795-2015

1、适用范围

适用于苹果食品中主要酚类的测定（本实验采用苹果为样品）

参考标准：《NY/T 2795-2015 苹果中主要酚类物质的测定 高效液相色谱法》

2、溶液的配制

- 1) 标准贮备液：准确称取 11 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 2mL 标准贮备液，用流动相稀释并定容至 25mL，该浓度为 80 μ 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® 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 1.25mL 80μg/mL，最后定容至 10mL，该加标水平为 20mg/kg，机读数为 1μg/mL。
- 2) 旋蒸至大约剩余 2mL 左右。
- 3) 过膜有影响最后一种物质。
- 4) 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。
- 5) 净化小柱，GB 上要求的是 C18E 小柱，但当时做标过柱时，C18E(500/6),C18(500/6),BRP(200/6)，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® XB-C18,4.6×250mm,5μm

流动相：2%甲酸水-乙腈（梯度见下表 1）

流速：0.8mL/min

柱温：40℃

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

进样量: 20 μ L

检测波长: 280nm

表 1.流动相梯度

时间	乙腈	2%甲酸水
0	5	95
30	25	75
45	40	60
50	40	60
51	5	95
65	5	95

7、色谱图或者加标回收率结果

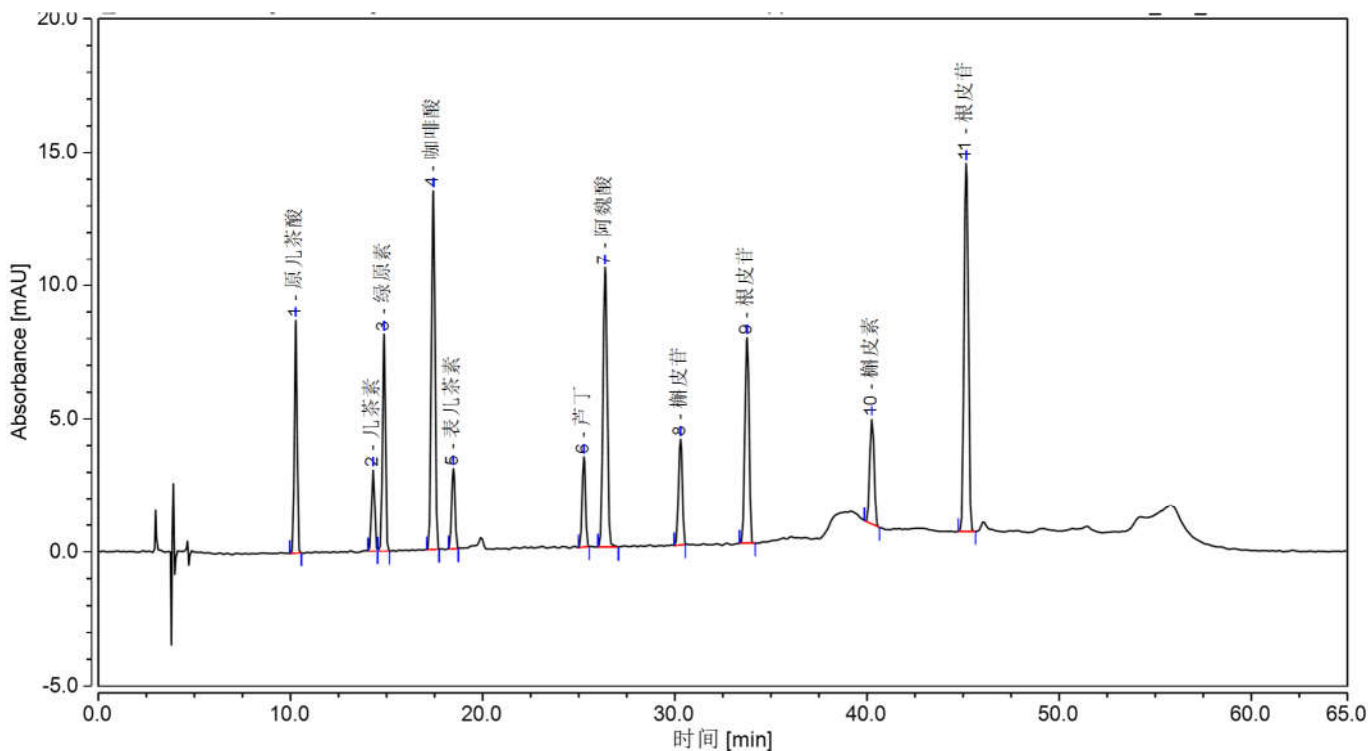


图 1.11 种苹果酚类物质混合标准品 1 μ g/mL 图谱

峰名称	保留时	峰面积	峰高	相对峰面积	拖尾因子	不对称度	分离度	塔板数
-----	-----	-----	----	-------	------	------	-----	-----

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

	间							
	min	mAU*min	mAU	%		(EP)	(EP)	(EP)
原儿茶酸	10.282	1.381	8.735	7.75	0.88	0.94	14.18	26160
儿茶素	14.305	0.586	3.058	3.29	0.93	0.96	1.91	33049
绿原素	14.875	1.436	8.147	8.06	0.85	0.92	8.01	44241
咖啡酸	17.432	2.937	13.481	16.49	0.92	0.96	3.02	38121
表儿茶素	18.477	0.618	3.031	3.47	0.93	0.96	20.56	47976
芦丁	25.270	0.674	3.399	3.79	0.86	0.93	2.99	96556
阿魏酸	26.375	2.687	10.495	15.09	0.96	0.98	9.92	64723
槲皮苷	30.300	0.916	3.985	5.14	0.83	0.91	8.69	102289
根皮苷	33.755	1.940	7.714	10.89	0.93	0.96	15.12	104388
槲皮素	40.250	1.049	3.946	5.89	1.06	1.03	11.25	131723
根皮苷	45.155	3.587	13.828	20.14	1.05	1.02	n.a.	176106

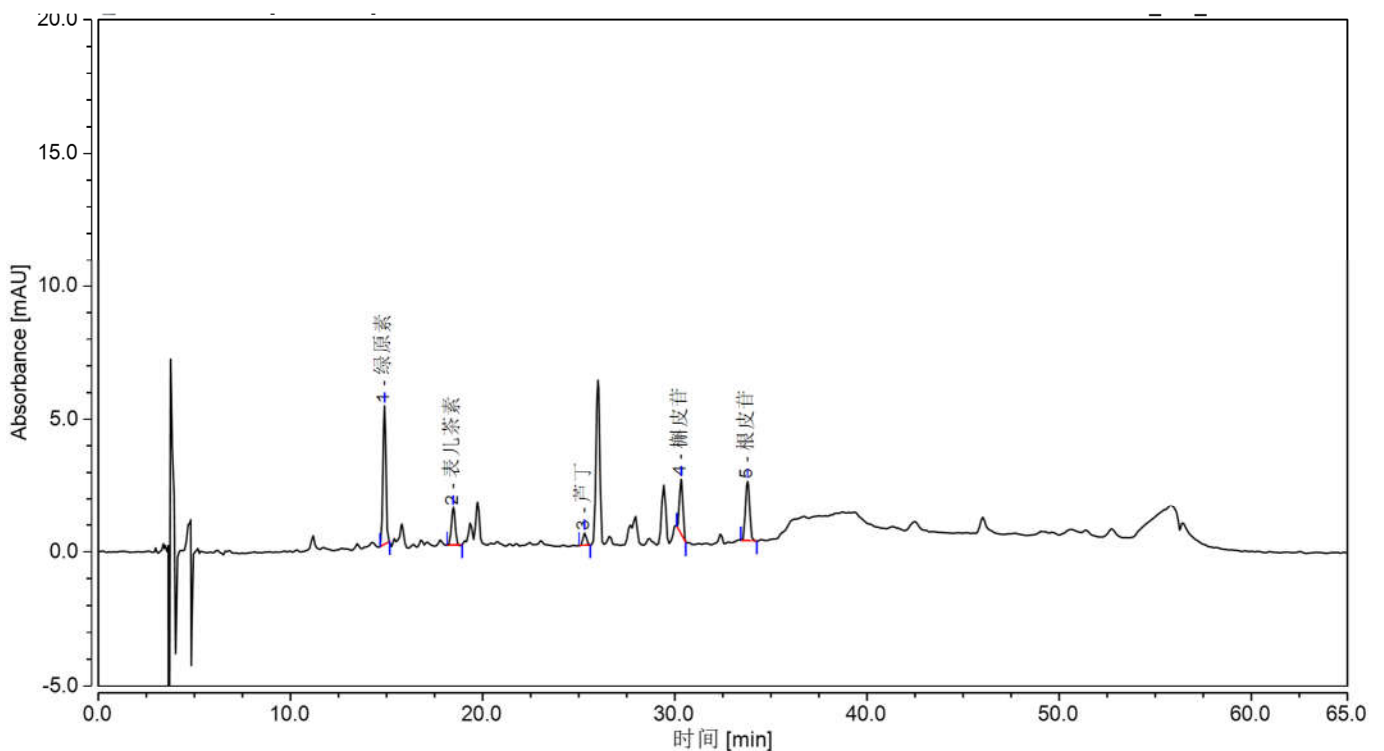


图 2 苹果样过柱图谱

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

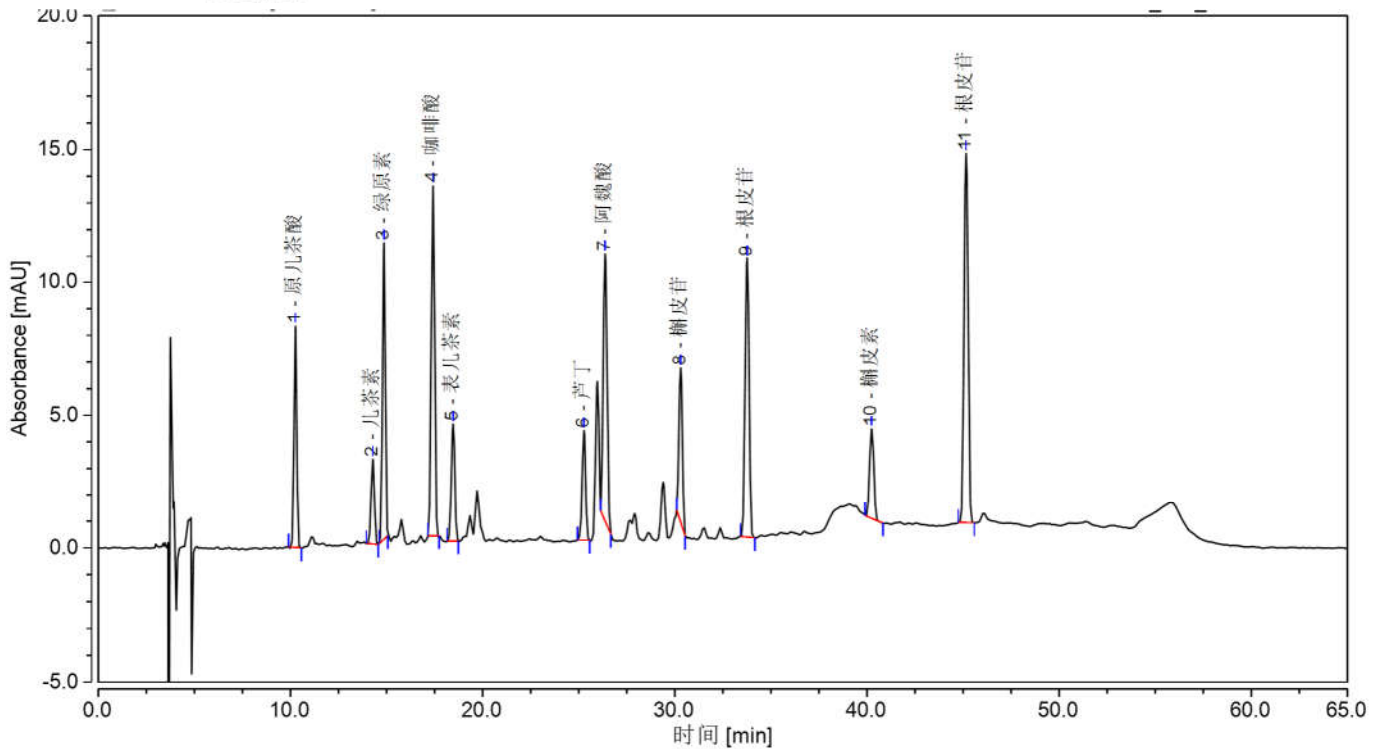


图 3 .苹果样加标 20mg/kg 过柱图谱

表 2. 回收表

物质	加标水平 mg/kg	平均回收率	RSD 值
原儿茶酸	20	96%	1.75%
儿茶素		108%	1.60%
绿原素		67%	3.49%
咖啡酸		94%	0.79%
表儿茶素		99%	1.04%
芦丁		110%	2.78%
阿魏酸		83%	2.66%
槲皮苷		88%	6.62%
根皮苷		101%	0.16%
槲皮素		86%	4.94%
根皮素		97%	0.48%

8、相关产品信息

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

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
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
00802-02201	针头式过滤器	进口 NY,13mm*0.22μm,100pk
	原儿茶酸	CAS 号: 99-50-3
	儿茶素	CAS 号: 154-23-4
	绿原素	CAS 号: 327-97-9
	咖啡酸	CAS 号: 331-39-5
	表儿茶素	CAS 号: 490-46-0
	芦丁	CAS 号: 153-18-4
	阿魏酸	CAS 号: 537-98-4
	槲皮苷	CAS 号: 522-12-3
	根皮苷	CAS 号: 7061-54-3
	槲皮素	CAS 号: 6151-25-3
	根皮素	CAS 号: 60-82-2

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