

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2116—2012

虫草制品中虫草素和腺苷的测定 高效液相色谱法

Determination of cordycepin and adenosine in cordyceps products
by high performance liquid chromatography method

2012-02-21 发布

2012-05-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业部种植业司提出并归口。

本标准起草单位：农业部食用菌产品质量监督检验测试中心(上海)、上海市农业科学院农产品质量标准与检测技术研究所。

本标准主要起草人：邢增涛、饶钦雄、黄志英、赵晓燕、白冰、邵毅。

虫草制品中虫草素和腺苷的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了虫草原料、虫草产品中虫草素和腺苷高效液相色谱的测定方法。
本标准适用于虫草原料、虫草产品中虫草素和腺苷的测定。
本标准中虫草素和腺苷的定量测定范围均为 30 mg/kg~1 000 mg/kg。
本标准中虫草素和腺苷的检测限均为 10 mg/kg。

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试验方法

3 原理

试样中虫草素和腺苷经水超声提取后,用高效液相色谱进行测定,外标法定量。

4 试剂

除非另有规定,仅使用分析纯试剂和符合 GB/T 6682 中规定的一级水。

- 4.1 乙腈(C_2H_3N),色谱纯。
- 4.2 虫草素和腺苷标准物质(色谱级,纯度 $\geq 95\%$)。
- 4.3 虫草素和腺苷标准溶液,准确称取虫草素(4.2)和腺苷(4.2)标准品各 10 mg(按实际含量折算),用流动相溶解定容至 100 mL,摇匀。该混合标准储备液中虫草素和腺苷的质量浓度均为 100 $\mu\text{g/mL}$,4℃冰箱保存,有效期 1 个月。

5 仪器和设备

- 5.1 高效液相色谱仪,配有紫外检测器或者二极管阵列检测器。
- 5.2 超声波清洗器,功率大于 450 W,频率 50 Hz~100 Hz。
- 5.3 分析天平,感量 0.000 1 g。
- 5.4 微孔滤膜,0.45 μm ,水相。
- 5.5 离心机。
- 5.6 实验室样品粉碎机。

6 测定步骤

6.1 试样制备

固体试样:称取粉碎均匀的样品 0.5 g(精确至 0.000 1 g)于 100 mL 容量瓶中,加水约 80 mL,置于超声波仪中超声提取 3 h,取出后用水定容,摇匀。取 1 mL 样液离心后,将上清液过 0.45 μm 微孔滤膜(5.4),滤液供高效液相色谱法分析。

液体试样:准确吸取 5 g 样品于 50 mL 容量瓶中,加水约 40 mL,置于超声波仪中超声提取 30 min,取出用水定容摇匀。取样液过 0.45 μm 微孔滤膜(5.4),滤液供高效液相色谱法测定。

6.2 液相色谱测定

6.2.1 液相色谱条件

色谱柱:C₁₈柱,250 mm×4.6 mm(i. d.),5 μm,或相当规格色谱柱。

流动相:乙腈+水=5+95,用前过 0.45 μm 滤膜,脱气。

流速:1.0 mL/min。

柱温:35℃。

波长:260 nm。

进样量:10 μL。

6.2.2 标准曲线的绘制

准确吸取 0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL 和 5.0 mL 混合标准溶液(4.3)于 10 mL 容量瓶中,用水定容、摇匀,该标准曲线浓度为 1.00 μg/mL、2.00 μg/mL、5.00 μg/mL、10.0 μg/mL、20.0 μg/mL 和 50.0 μg/mL,按参考色谱条件测定,以虫草素和腺苷质量浓度为横坐标,相应的峰面积为纵坐标,计算标准曲线,求线性回归方程。标准品色谱图参见附录 A。

6.2.3 测定

按照保留时间进行定性,样品与标准品保留时间的相对偏差不大于 2%,多点校正外标法定量。待测样液中虫草素和腺苷的响应值应在标准曲线范围内,超过线性范围则应稀释后再进样分析。

6.2.4 结果计算

试料中虫草素或腺苷的量以质量分数 w 计,单位以毫克每千克(mg/kg)表示,按式(1)计算。

$$w = \frac{A \times \rho_s \times V}{A_s \times m} \times f \dots\dots\dots (1)$$

式中:

A ——试样中虫草素或腺苷的峰面积;

A_s ——标准工作液中虫草素或腺苷的峰面积;

ρ_s ——标准工作液中虫草素或腺苷的质量浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

V ——试样液最终定容体积,单位为毫升(mL);

m ——试料的质量,单位为克(g);

f ——样品稀释倍数。

计算结果保留三位有效数字。

7 精密度

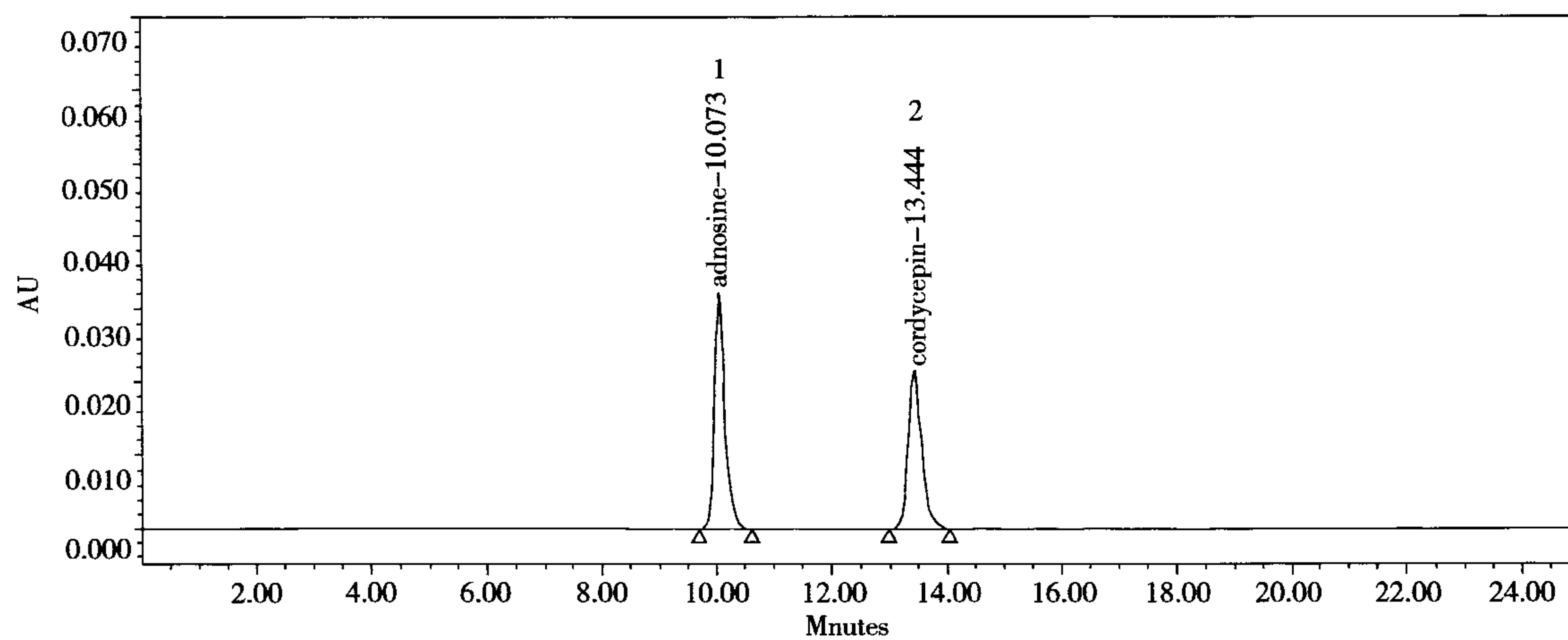
7.1 重复性

在重复性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过算术平均值的 5%。

7.2 再现性

在再现性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过算术平均值的 5%。

附 录 A
(资料性附录)
腺苷和虫草素标准品色谱图



注:1 为腺苷,2 为虫草素。