

亚麻籽木酚素含量的测定 ——高效液相色谱法

Determination of lignan in selected flax seeds
High performance liquid chromatography

地方标准信息服务平台

2024-08-20 发布

2024-09-20 实施

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》的规定起草。

本文件替代DB15/T 828-2015《亚麻品种选育 亚麻籽中木酚素含量的测定 高效液相色谱法》，本文件与DB15/T 828-2015相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 增加了方法的定量限（见第1章）；
- b) 更改了提取由回流提取更改为超声波提取（见7.2.1，2015年版的5.2.1）；

本文件由内蒙古自治区农业标准化技术委员会（SAM/TC 20）归口。

本文件起草单位：内蒙古自治区农牧业科学院、内蒙古农业大学。

本文件主要起草人：冯小慧、乔慧蕾、张立华、董泰音、王雪娇、庞杰、李强、李国银、莎娜、连海飞、高风云、周宇、何瑞超。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- 2015年首次发布为DB15/T 828-2015；
- 本次为第一次修订。

地方标准信息服务平台

亚麻籽木酚素含量的测定——高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了亚麻籽木酚素含量的高效液相色谱测定方法。
本文件适用于亚麻籽木酚素含量的测定。

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于本文件；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

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样经无水乙醚脱脂，乙醇溶液超声波加热提取，纯化，高效液相色谱仪紫外检测器测定，外标法定量。

5 试剂和材料

5.1 试剂

5.1.1 无水乙醚 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$)。

5.1.2 无水乙醇 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$)。

5.1.3 氢氧化钠 (NaOH)。

5.1.4 盐酸 (HCl)。

5.1.5 甲醇 (CH_3OH)：色谱纯。

注：除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为符合GB/T 6682规定的一级水。

5.2 试剂配制

5.2.1 60%乙醇溶液：取 600 ml 乙醇 (5.1.2)，用水定容至 1000 ml。

5.2.2 1.8 mol/L 氢氧化钠溶液：准确称取 72.00 g 氢氧化钠 (5.1.3)，用水定容至 1000 ml。

5.2.3 甲醇水溶液 (40+60)：取 400 ml 甲醇 (5.1.5)，加到 600 ml 水中，混匀。

5.3 标准品

木酚素 (C₃₂H₄₆O₁₇) (CAS 158932-33-3) : 纯度 ≥98.0%。

5.4 标准溶液配制

5.4.1 木酚素标准储备液 (1500.00 μg/ mL) : 准确称取木酚素标准品 15 mg, 加适量甲醇溶解并定容至 10 ml, 配制成浓度为 1500 μg/ ml 的木酚素标准储备液, -20 °C 贮存, 有效期 1 年。

5.4.2 木酚素标准工作溶液: 分别准确吸取 0.50 ml、1.00 ml、2.00 ml、5.00 ml、8.00 ml 木酚素标准储备液, 用甲醇水溶液 (5.2.3) 定容至 100 ml, 工作曲线浓度为 7.5 μg/ ml、15 μg/ml、30 μg/ml、75 μg/ml、120 μg/ml, 根据样品实际含量可增减曲线点, 标准曲线临用现配。

5.5 材料

5.5.1 有机系微孔滤膜: 0.45 μm。

5.5.2 塑料离心管: 50 mL。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱仪: 配紫外检测器。

6.2 电子天平: 感量 0.0001 g 和 0.01 g。

6.3 高速离心机, ≥6000 r/min 转速, 配 50 mL 离心管。

6.4 旋转蒸发器, 配 250 mL 茄形瓶。

6.5 高速万能粉碎机。

6.6 超声波发生器。

6.7 恒温水浴振荡器。

6.8 电热鼓风干燥箱。

6.9 索氏提取器。

7 分析步骤

7.1 试样制备

将亚麻籽用高速万能粉碎机磨碎, 低温避光保存。

7.2 试样提取

7.2.1 提取

准确称取样品 1.00 g 于滤纸筒内, 置于索氏提取器中, 用无水乙醚浸泡 12 h 后, 再用索氏提取器加热回流提取至脱脂完全。取出样品 (连同滤纸筒), 在室温通风条件下放置 5 h, 在 105±5 °C 下烘 2 h 后, 取出, 放入干燥器中, 冷却至室温。打开滤纸筒, 将样品置于 50 ml 试管中, 加入 15 ml 60% 乙醇溶液, 在 50 °C 条件下超声波提取 15 min。以 6000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 向残渣中加入 15 ml 60% 乙醇溶液, 重复上述操作一次, 合并上清液, 待纯化处理。同时做空白试验。

7.2.2 纯化

向提取液中加入 1.8 mol/l 氢氧化钠溶液 10 ml, 在 40 °C 条件下碱解 40 min。用盐酸 (1+1) 调 pH 至 4~6, 过滤, 将滤液移入茄形瓶中, 45 °C 真空浓缩至近干。用甲醇水溶液 (40+60) 溶解并定容至 25 ml, 可根据样品含量适当稀释, 摇匀, 过 0.45 μm 有机系微孔滤膜, 待上机分析。

7.3 仪器参考条件

7.3.1 色谱柱: C₁₈柱, 柱长 250 mm, 内径 4.6 mm, 粒径 5 μm, 或等效色谱柱。

7.3.2 流动相: 甲醇+水=40+60。

7.3.3 流速: 1.0 mL/min。

7.3.4 检测波长: 290 nm。

7.3.5 进样量: 20 μL。

7.3.6 柱温: 35 °C。

7.4 标准曲线的制备

将混合标准系列工作溶液浓度由低到高依次注入液相色谱仪中, 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。标准谱图参见附录 A 中图 A. 1。

7.5 测定

将试样溶液注入液相色谱仪中, 保留时间定性, 变化范围应在±2.5%, 峰面积定量, 待测液浓度应在曲线范围内。

8 分析结果的表述

试样中木酚素的含量按下式计算:

$$X = \frac{(C - C_0) \times V \times F \times 10^{-6}}{m} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X——样品中木酚素的含量, 单位为克每百克 (g/100 g);

C——样液中木酚素的检出浓度, 单位为微克每毫升 (μg/mL);

C₀——空白溶液中木酚素的检出浓度, 单位为微克每毫升 (μg/ml);

V——定容体积, 单位为毫升 (ml);

F——稀释倍数;

10⁻⁶——含量单位 μg 变为 g;

m——称样量, 单位为克 (g)。

注: 计算结果保留3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得超过算术平均值的 10 %。

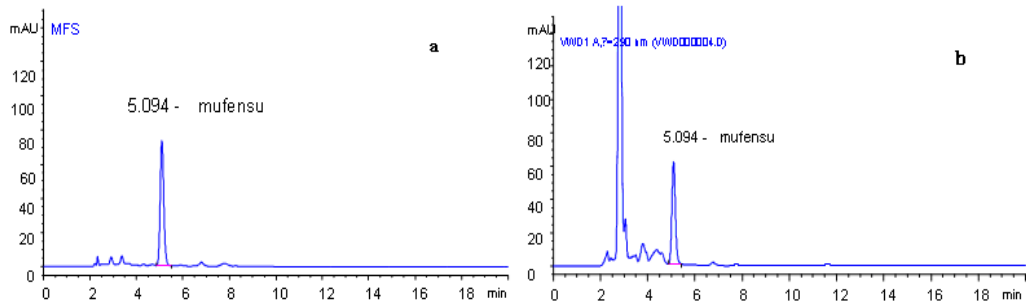
10 其他

按取样量 1.00 g, 定容至 200 ml 时, 木酚素的检出限均为 0.01 g/100 g, 定量限均为 0.03 g/100 g。

附录 A
(资料性)

木酚素标样、样品色谱图

木酚素标样、样品色谱图见图A.1。



图A.1 木酚素标样、样品色谱图

地方标准信息服务平台