



中华人民共和国国家标准

GB/T 34782—2017

蜂胶中杨树胶的检测方法 高效液相色谱法

Method for the determination of poplar tree gum in propolis—
High performance liquid chromatography

2017-11-01 发布

2018-05-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华供销合作总社提出。

本标准由全国蜂产品标准化工作组(SAC/SWG 2)归口。

本标准起草单位:浙江大学、中国蜂产品协会、农业部蜂产品质量监督检验测试中心(北京)、江山福赐德蜂业科技开发有限公司、厦门思健生物科技有限公司、上海沪郊蜂业联合社有限公司。

本标准主要起草人:胡福良、张翠平、郑火青、吕泽田、李熠、徐水荣、颜鉴翔、孙德官。

引 言

本文件的发布机构提请注意,声明符合本文件时,可能涉及到第4~9章与以水杨苷和邻苯二酚为指标鉴别杨树胶的原理及检测方法相关的专利(ZL 201010180675.0 和 ZL 201310721079.2)的使用。

本文件的发布机构对于该专利的真实性、有效性和范围无任何立场。

该专利持有人已向本文件的发布机构保证,他愿意同任何申请人在合理且无歧视的条款和条件下,就专利授权许可进行谈判。该专利持有人的声明已在本文件的发布机构备案。相关信息可以通过以下联系方式获得:

专利持有人:浙江大学。

地址:浙江省杭州市西湖区余杭塘路866号。

请注意除上述专利外,本文件的某些内容仍可能涉及专利,本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

蜂胶中杨树胶的检测方法 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了蜂胶中是否含有杨树胶的高效液相色谱鉴别方法的原理、试剂、材料、仪器、设备和试验方法。

本标准适用于蜂胶及蜂胶乙醇提取物中杨树胶的检测。

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 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

蜂胶 propolis

工蜂采集树脂等植物分泌物与其上颚腺、蜡腺分泌物等混合形成的胶粘性物质。

3.2

蜂胶乙醇提取物 ethanol extracted propolis

乙醇萃取蜂胶后得到的物质。

3.3

杨树胶 extracted populus buds, leaves or barks

杨属(*Populus*)植物的芽、叶子或树皮等组织经人工熬制加工,再经乙醇提取而成的提取物。

3.4

杨树型蜂胶 poplar type propolis

杨属(*Populus*)为主要植物来源的蜂胶。

4 原理

水杨苷和邻苯二酚广泛存在于杨属和柳属植物的芽、叶子和树皮中。当这些芽、叶子和树皮经过煎煮之后,水杨苷和邻苯二酚依然存在。而蜂胶中并不存在水杨苷和邻苯二酚,因此可以作为蜂胶中是否掺有杨树胶的鉴别指标。

试样经75%乙醇提取后,用配有紫外检测器的高效液相色谱仪在213 nm处检测水杨苷和邻苯二酚的含量,从而判断蜂胶中是否含有杨树胶。

5 试剂和材料

实验室用水应符合 GB/T 6682 规定的一级水。除非另有规定,所有试剂均为分析纯。

- 5.1 甲醇:色谱纯。
- 5.2 乙腈:色谱纯。
- 5.3 乙醇。
- 5.4 磷酸。
- 5.5 水杨苷标准品:纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.6 邻苯二酚标准品:纯度 $\geq 99\%$ 。
- 5.7 0.5%磷酸(5.4)溶液:量取 5 mL 磷酸,用水定容至 1 L。
- 5.8 标准贮备液:准确称取水杨苷(5.5)和邻苯二酚标准品(5.6)各 10 mg,分别用甲醇溶液(5.1)配制成 1.0 mg/mL 的标准溶液,于 4℃ 冰箱保存,保持期 3 个月。
- 5.9 标准工作液:分别吸取适量的水杨苷和邻苯二酚标准贮备液(5.8),用甲醇溶液(5.1)分别稀释成水杨苷浓度为 0.005 mg/mL、0.01 mg/mL、0.02 mg/mL、0.04 mg/mL 和 0.06 mg/mL 五个浓度,邻苯二酚浓度为 0.005 mg/mL、0.01 mg/mL、0.02 mg/mL、0.04 mg/mL 和 0.06 mg/mL 五个浓度,现用现配。
- 5.10 滤膜:0.45 μm ,有机系。

6 仪器和设备

- 6.1 高效液相色谱仪:配有紫外检测器。
- 6.2 粉碎机。
- 6.3 旋转蒸发器。
- 6.4 超声波清洗器。

7 样品的取样及预处理

从被检样品的不同部位均匀取样 50 g,冷冻,粉碎,混匀,作为备检样品。

8 试验方法

8.1 供试样品溶液的制备

称取 2 g 蜂胶试样,用 75%乙醇超声波提取 30 min,料液比为 1:15(质量:体积),反复提取 3 次,合并滤液,离心过滤后旋转蒸发浓缩,或者称取 1 g 蜂胶乙醇提取物试样,然后用 75%乙醇超声溶解定容至 50 mL,取上清液,0.45 μm 滤膜过滤,供液相色谱测定。

8.2 色谱条件

色谱柱:Sepax HP- C_{18} ,柱长 150 mm,内径 4.6 mm,粒度 5 μm ;或性能相当的色谱柱。

流动相流速:1 mL/min。

梯度洗脱,洗脱程序参见附录 A 中表 A.1。

检测波长:213 nm。

柱温:30℃。

进样量:5 μL 。

8.3 测定

取 5 μL 样品溶液(8.1)、水杨苷和邻苯二酚标准工作液(5.9)分别进样分析。

水杨苷标准品、邻苯二酚标准品、杨树型蜂胶、杨树胶的色谱图分别参见附录 B 中图 B.1~图 B.4。

8.4 结果计算

试样中水杨苷或邻苯二酚含量(X)以毫克每克(mg/g)表示,按式(1)计算:

$$X = \frac{c_s \times V \times A}{m \times A_s} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

c_s —— 水杨苷或邻苯二酚标准溶液的浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);

V —— 试样最终定容体积,单位为毫升(mL);

A —— 试样溶液对应的峰高或峰面积;

m —— 样品质量,单位为克(g);

A_s —— 水杨苷或邻苯二酚标准溶液对应的峰高或峰面积。

将符合重复性要求的两个独立测定值的算术平均值作为测定结果(mg/g),保留两位有效数字。平行试验相对偏差不得超过 2.0%。

8.5 结果判定

本方法所检测的水杨苷和邻苯二酚为杨树胶中含有而蜂胶中不含有的物质。如果待测样品中检测不到水杨苷,且邻苯二酚检测浓度在蜂胶乙醇提取物中低于 0.21 mg/g ,或在蜂胶原料样品中低于 0.12 mg/g ,则该样品为未检出杨树胶的样品;如果待测样品中检测不到水杨苷,但蜂胶乙醇提取物样品中邻苯二酚检测浓度大于 0.21 mg/g ,或待测原料蜂胶样品中邻苯二酚检测浓度大于 0.12 mg/g ,则该样品判定为含有杨树胶的样品;如果待测样品中检测到水杨苷,则该样品判定为含有杨树胶的样品。

9 检测限

本标准在进样量为 5 μL 时,蜂胶乙醇提取物中水杨苷的最低检测限为 0.065 mg/g ,邻苯二酚的最低检测限为 0.063 mg/g ;蜂胶原料中水杨苷的最低检测限为 0.032 mg/g ,邻苯二酚的最低检测限为 0.031 mg/g 。

附 录 A
(资料性附录)

高效液相色谱梯度洗脱程序

高效液相色谱梯度洗脱程序见表 A.1。

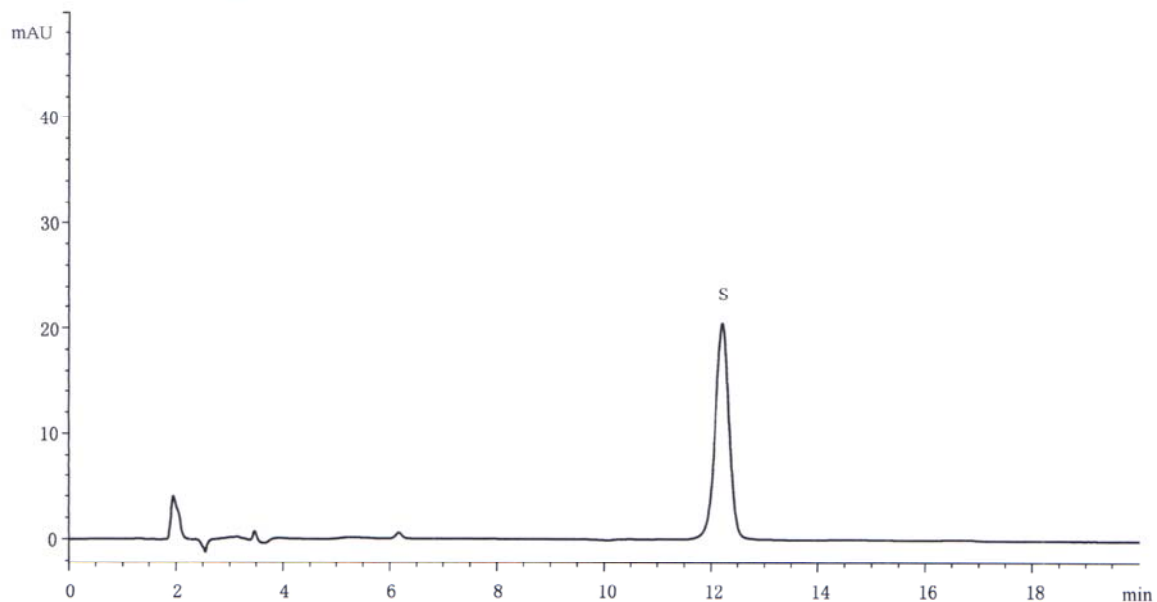
表 A.1 高效液相色谱法梯度洗脱程序

时间/min	流速/(mL/min)	乙腈/%	0.5%磷酸/%
0	1	5	95
20	1	5	95
20.1	1	100	0
30	1	100	0
30.1	1	5	95
38	1	5	95

附录 B
(资料性附录)

水杨苷标准品、邻苯二酚标准品、杨树型蜂胶、杨树胶的色谱图

水杨苷(标准品)色谱图见图 B.1。



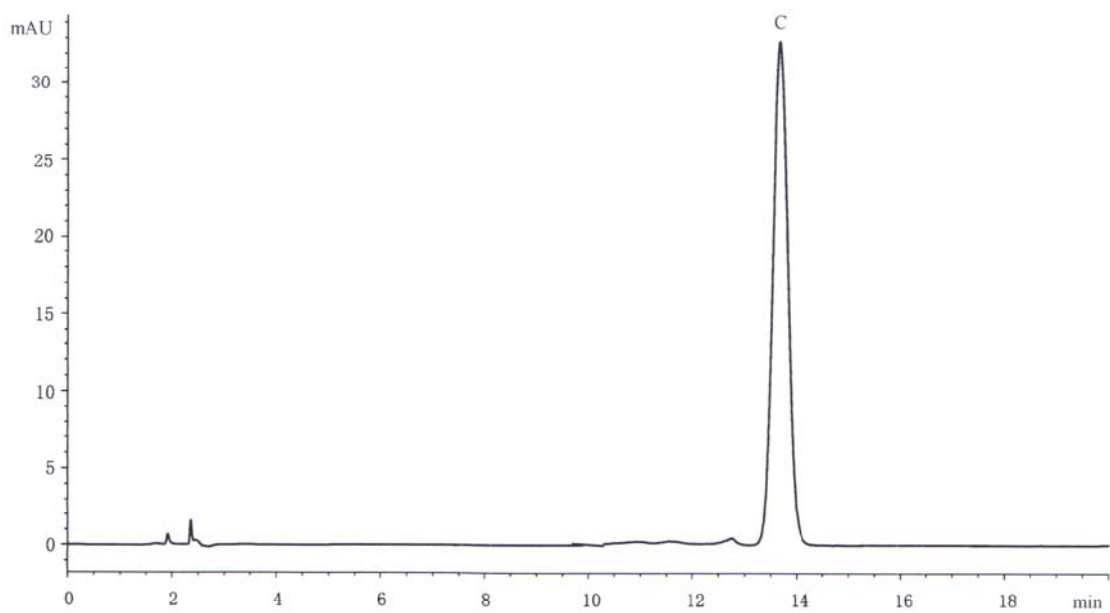
说明:

S——水杨苷。

注: 标液浓度 0.04 mg/mL, 出峰时间 12.219 min。

图 B.1 水杨苷(标准品)色谱图

邻苯二酚(标准品)色谱图见图 B.2。



说明:

C——邻苯二酚。

注: 标液浓度 0.03 mg/mL, 出峰时间 13.851 min。

图 B.2 邻苯二酚(标准品)色谱图

杨树型蜂胶色谱图见图 B.3。

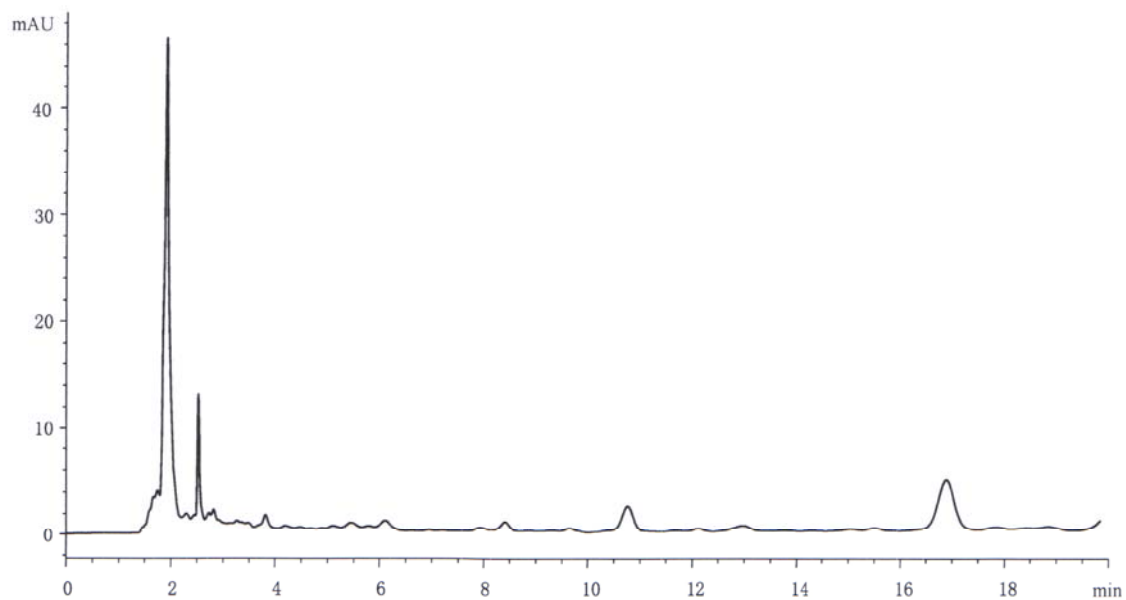
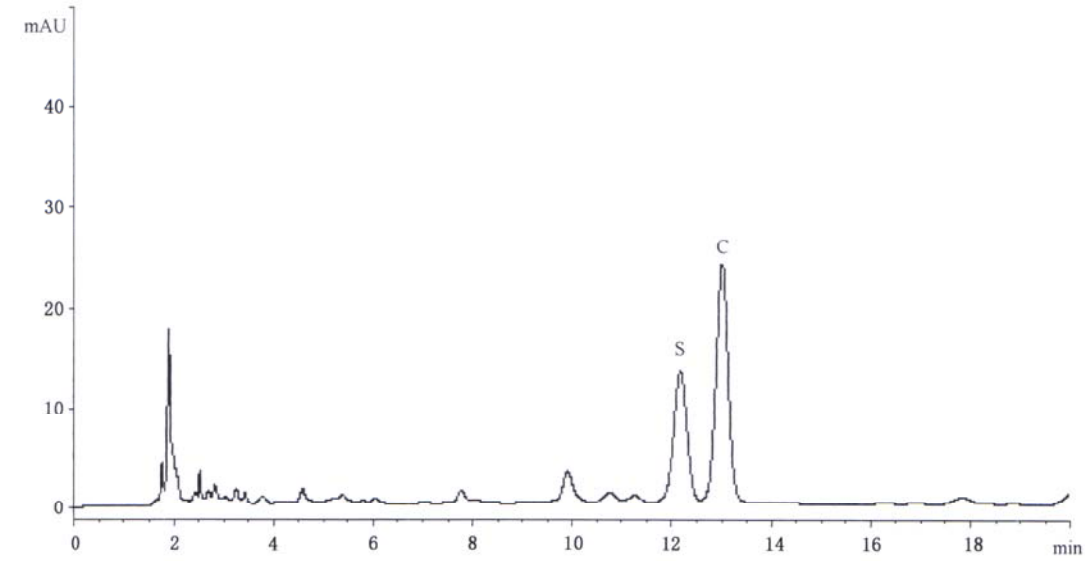


图 B.3 杨树型蜂胶色谱图

杨树胶色谱图见图 B.4。



说明：
S —— 水杨苷；
C —— 邻苯二酚。

图 B.4 杨树胶色谱图

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
蜂胶中杨树胶的检测方法
高效液相色谱法
GB/T 34782—2017

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 16 千字
2017 年 11 月第一版 2017 年 11 月第一次印刷

*

书号: 155066 · 1-57163 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



GB/T 34782-2017