



中华人民共和国供销合作行业标准

GH/T 1114—2015

蜂胶中阿替匹林 C 的测定方法 高效液相色谱法

Method for the determination of artepillin C in propolis—
High-performance liquid chromatography

2015-08-21 发布

2015-10-01 实施



中华全国供销合作总社 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由浙江大学提出。

本标准由中华全国供销合作总社归口。

本标准起草单位：浙江大学、蜂乃宝本铺(南京)保健食品有限公司。

本标准主要起草人：胡福良、张翠平、刘嘉。

引 言

本文件的发布机构提请注意,声明符合本文件时,涉及本文件相关的专利(ZL 201310075055.4)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。

蜂胶中阿替匹林 C 的测定方法 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了高效液相色谱法测定蜂胶中阿替匹林 C 的方法。

本标准适用于蜂胶中阿替匹林 C 的定性和定量测定。

本标准的检出限为 0.024 mg/g, 定量限为 0.080 mg/g。

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

酒神菊属型蜂胶 *Baccharis-type propolis*

巴西绿蜂胶(俗称)

以酒神菊属(*Baccharis*)为主要植物来源的蜂胶。

3.2

杨属型蜂胶 *poplar-type propolis*

以杨属(*Populus*)为主要植物来源的蜂胶。

3.3

阿替匹林 C *artepillin C*

3,5-二异戊烯基-4-羟基肉桂酸, 分子结构式见图 1。

相对分子质量为 300.40, 是一种 2,4,6-三取代苯酚类物质。

阿替匹林 C 存在于 *Baccharis*、*Relhania* 和 *Flourensia heterolepis* 等植物中, 特别是在巴西东南部的 *Baccharis dracunculifolia* DC. 中大量存在, 被认为是巴西绿蜂胶的特征性成分。

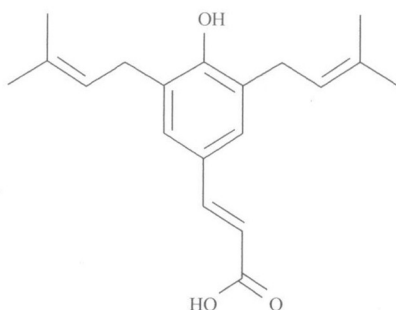


图 1 artepillin C 的分子结构

4 原理

试样经 85%乙醇超声提取、离心、过滤、定容,用 0.45 μm 有机系滤膜过滤后得澄清液,用反相高效液相色谱仪经紫外检测器在 310 nm 处检测阿替匹林 C,外标法定量,根据保留时间和峰面积进行定性和定量。

5 试剂与材料

除非另有规定,所有试剂均为分析纯,实验用水应符合 GB/T 6682 中一级水的规定要求。

5.1 甲醇:色谱纯。

5.2 无水乙醇:分析纯。

5.3 乙酸:分析纯。

5.4 1%乙酸溶液(体积分数):量取 10 mL 乙酸(5.3)倒入加有 900 mL 水的容量瓶中,用水定容于 1 000 mL,经 0.45 μm 滤膜过滤。

5.5 阿替匹林 C 标准品:纯度 $\geq 98\%$,CAS:72944-19-5。

5.6 阿替匹林 C 标准储备液(1.0 mg/mL):准确称取阿替匹林 C 标准品(5.5)10.0 mg 于 10 mL 棕色容量瓶中,加甲醇溶液(5.1)使其溶解并定容至刻度,混匀,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,保存期不超过 6 个月。

5.7 阿替匹林 C 标准工作液:吸取适量 1.0 mg/mL 的标准储备液(5.6),用甲醇溶液(5.1)分别稀释成 0.05 mg/mL、0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.3 mg/mL、0.4 mg/mL、0.5 mg/mL 六个浓度的标准工作液,现用现配。

5.8 滤膜:0.45 μm 有机系滤膜。

6 仪器与设备

6.1 高效液相色谱仪:配有紫外检测器。

6.2 粉碎机。

6.3 超声波清洗器。

6.4 离心机。

6.5 分析天平:精确至 0.000 1 g。

7 试样制备与保存

从待测蜂胶样品中取出约 50 g,密封,并做标记,于 -18°C 冷冻保存。

取出冷冻贮存的试样 20 g~30 g,迅速用粉碎机粉碎,过 40 目筛。

8 操作步骤

8.1 试样溶液的制备

准确称取 0.25 g 蜂胶试样,精确到 0.01 g,用 5 mL 85%乙醇超声提取 15 min(25 kHz,功率为 50 W),然后在离心机上以 4 000 r/min 的转速离心 15 min,取上清液置于 50 mL 容量瓶中,重复提取离心 3 次,合并上清液,用 85%乙醇定容至 50 mL,经 0.45 μm 滤膜(5.8)过滤,滤液用于液相色谱测定。

8.2 色谱参考条件

色谱柱: Sepax HP-C18, 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: 以 1% 乙酸溶液 (5.4) 为流动相 A, 以甲醇 (5.1) 为流动相 B, 按附录 A 表 A.1 进行梯度洗脱。

流动相流速: 1 mL/min。

检测波长: 310 nm。

柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

进样量: 5 μL 。

8.3 测定

8.3.1 定性测定

分别取 5 μL 阿替匹林 C 标准工作液 (5.7) 和试样溶液 (8.1), 在上述色谱条件 (8.2) 下进行分析比较, 阿替匹林 C 标准物质色谱图和含有阿替匹林 C 的蜂胶样品色谱图参见附录 B, 根据保留时间定性。

8.3.2 定量测定

取 5 μL 试样溶液 (8.1), 在上述色谱条件 (8.2) 下进行分析, 根据标准工作液 (5.7) 绘制的标准工作曲线对样品进行定量。

8.3.3 平行试验

按上述步骤, 对同一试样进行平行试验测定。

8.3.4 空白试验

除不称取试样外, 均按上述步骤, 应不干扰测定。

9 结果计算与表示

试样中阿替匹林 C 含量 (X) 以克每百克 (g/100 g) 表示, 按式 (1) 计算:

$$X = \frac{C \times V}{m \times 1\,000} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

C —— 标准工作曲线上计算得到的样液阿替匹林 C 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);

m —— 样品质量, 单位为克 (g)。

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 (g/100 g), 保留三位有效数字。

10 精密度

在对同一试样进行两次平行试验获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的 10%。

附 录 A

(规范性附录)

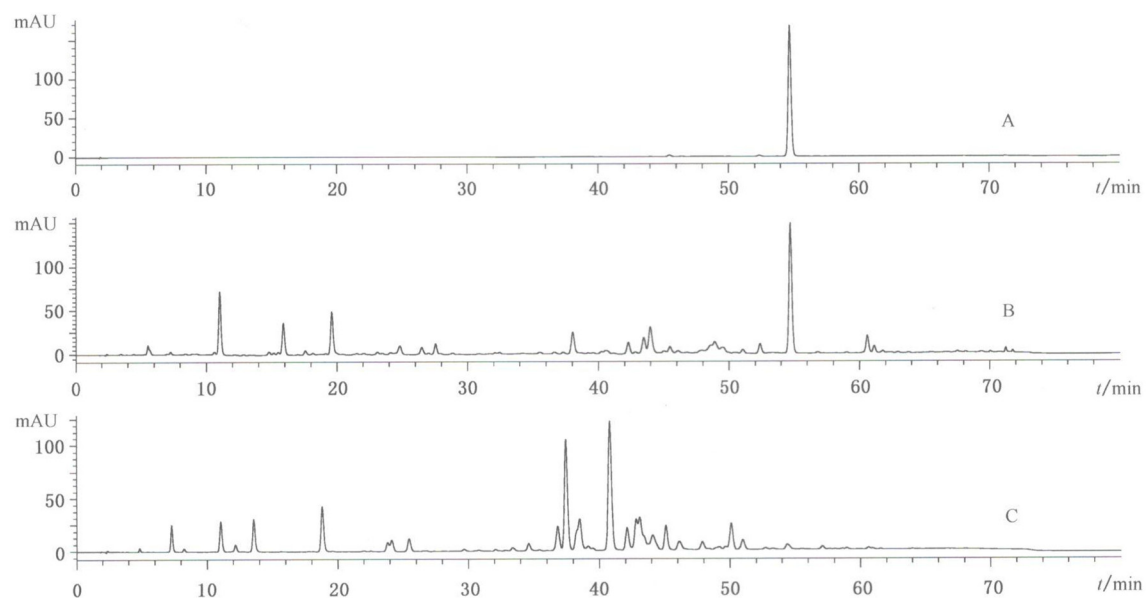
高效液相色谱梯度洗脱条件

表 A.1 高效液相色谱法梯度洗脱条件

时间 min	流速 mL/min	甲醇 %	1%乙酸 %
0	1	25	75
30	1	55	45
60	1	80	20
70	1	95	5
80	1	25	75

附录 B
(资料性附录)

阿替匹林 C 标准品、酒神菊属型蜂胶、杨属型蜂胶的色谱图



说明：

A —— 阿替匹林 C 标准品；

B —— 酒神菊属型蜂胶；

C —— 杨属型蜂胶。

图 B.1 阿替匹林 C 标准品、酒神菊属型蜂胶、杨属型蜂胶的色谱图

中华人民共和国供销合作
行 业 标 准
蜂胶中阿替匹林 C 的测定方法
高效液相色谱法
GH/T 1114—2015

*

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

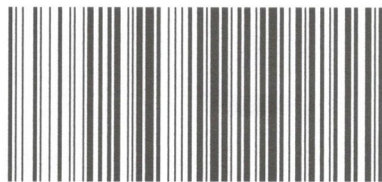
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 10 千字
2016 年 5 月第一版 2016 年 5 月第一次印刷

*

书号: 155066·2-30009 定价 16.00 元



GH/T 1114—2015

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