

ICS 67.050
B20

团体标准

T/ NAIA XXX—2022

贺兰山东麓葡萄酒中原花青素的测定 液相色谱法

Determination of proanthocyanidins in Helan Mountain wine
by liquid chromatography

2022-XX-XX 发布

2022-XX-XX 实施

宁夏化学分析测试协会 发布

前 言

本标准按照 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》规定编写。

本标准由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本标准起草单位：宁夏回族自治区食品检测研究院、宁夏工商职业技术学院、宁夏回族自治区食品质量监督检验二站、宁夏化学分析测试协会

本标准主要起草人：汤丽华、张瑶、吴明、汪洪、吕毅、马桂娟、马雪梅、辛世华、赵瑞、张小飞。

本标准于 2022 年 XX 月 XX 日首次发布。

贺兰山东麓葡萄酒中原花青素的测定 液相色谱法

1 范围

本标准规定了贺兰山东麓葡萄酒中原花青素含量测定的高效液相色谱的方法。
本标准适用于贺兰山东麓葡萄酒（包括白葡萄酒、红葡萄酒）中原花青素的测定。

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实验方法

GB/T 22244-2008 保健食品中前花青素的测定

DB65/T 4039-2017 黑果枸杞原花青素含量测定 液相色谱法

3 原理

试样经乙酸乙酯提取，旋蒸浓缩至干，以甲醇定容，应用高效液相色谱法测定，经 C₁₈ 色谱柱分离，以保留时间定性，外标法定量。

4 试剂和材料

本方法所用的试剂，除另有规定外，均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1 甲醇：色谱纯。

4.1.2 乙酸乙酯：色谱纯。

4.2 标准品

4.2.1 原花青素标准品：纯度≥98%。

4.2.2 原花青素标准溶液（1.0mg/mL）：称取 0.01g 原花青素标准品（精确至 0.001g），用甲醇溶解定容至 10mL 棕色容量瓶中，此溶液临用现配。

4.2.3 原花青素标准工作液：根据需要，用甲醇配制适当浓度的标准工作液，现用现配。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪：配有二极管阵列检测器。

5.2 旋转蒸发器。

5.3 超声波清洗器。

5.4 分析天平：感量 0.1mg 和 0.01g。

5.5 离心机：最大转速 10000r/min。

5.6 纯水仪。

5.7 涡旋混合器。

6 分析步骤

6.1 试样制备

将所取原始样品 1kg 在瓷混样桶内充分混匀，将混匀样品置于洁净容器内密封，作为试样，并标明标记。

6.2 试样的提取

准确称取 10g（精确到 0.01g）试样于 50mL 聚四氟乙烯离心管内，分别加入 20mL 乙酸乙酯，涡旋混匀 1min，超声提取 10min 后，5000r/min 离心 5min，取上层全部提取液转移至鸡形瓶中，重复上述操作，合并两次提取液，40℃旋转浓缩至近干，用甲醇溶解并定容至 10mL，取 1mL 样液经 0.22μm 微孔滤膜过滤，待液相分析。

6.3 仪器参考条件

6.3.1 液相色谱参考条件

6.3.1.1 色谱柱：C₁₈ 柱（250mm×4.6mm，粒径 5 μm），或性能相当者。

6.3.1.2 流动相：A 为 V（水）：V（乙酸）=98%：2%，B 为乙腈，梯度洗脱条件见表 1。

6.3.1.3 检测波长：280 nm。

6.3.1.4 柱温：30℃。

6.3.1.5 进样量：10 μL。

表 1 流动相及梯度洗脱条件

| 时间/min | 流速/(mL/min) | 流动相 A/% | 流动相 B/% |
|--------|-------------|---------|---------|
| 0 | 1.0 | 90 | 10 |
| 8 | 1.0 | 80 | 20 |
| 12 | 1.0 | 60 | 40 |
| 15 | 1.0 | 0 | 100 |
| 16 | 1.0 | 90 | 10 |
| 20 | 1.0 | 90 | 10 |

6.4 标准曲线的制作

将标准曲线工作液按浓度由低到高的顺序各取 10 μL 分别注入液相色谱仪，测定相应的峰面积，以标准曲线工作液的质量浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

6.5 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱仪中，得到峰面积，根据标准曲线得到待测液中原花青素的质量浓度。在上述条件下，原花青素的色谱图参见附录 A 种图 1。

7 分析结果的表述

试样中原花青素含量按式（1）进行计算：

$$X = \frac{(c - c_0) \times v \times 1000}{m \times 1000} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

X ——样本中原花青素含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

c ——测定溶液浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

c_0 ——空白基质溶液浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V ——样本溶液提取溶液体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，单位为克（g）；

注：计算结果应扣除空白值，测定结果用平行测定的算数平均值表示，保留两位有效数字。

8 精密度

在重复性测定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%。

9 其他

当称样量为 10 g，定容体积为 10mL，方法的检出限为 6mg/kg。

附录 A
(资料性附录)
原花青素的色谱图

原花青素的色谱图，见图 1。

