《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》
国家标准编制说明

《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》 I
国家标准编制说明 I
1 任务来源 1
2 起草的目的意义 1
2.1 企业产品质量控制的需要 1
2.2 完善国家标准的需要 2
3 对香豆酸研究、应用与标准现状 2
3.1 对香豆酸研究 2
3.2 对香豆酸开发应用 2
3.3 对香豆酸标准 2
4 主要起草过程 3
4.1 成立标准制定工作组 3
4.2 确定工作计划和标准制定原则 3
4.3 查询国内外相关标准和文献资料 3
4.4 研究建立标准方法，开展条件实验 4
4.5 方法验证 4
4.6 形成标准讨论稿和编制说明 4
4.7 形成标准草案 5
4.8 形成标准征求意见稿和编制说明 5
4.9 征求意见并形成标准送审稿和编制说明 5
5 本标准与国内外分析方法的关系 6
6 主要技术指标依据与说明 6
6.1 标准名称 6
6.2 前言 6
6.3 主体内容 6
6.4“范围”的界定 6
6.5 原理 7
6.6 试剂 7
6.7 仪器和设备 7
6.8 甘蔗皮渣样品制备 8
6.9 甘蔗皮渣粗品的的提取 8
6.10 对香豆酸 HPLC 定量分析方法的建立 8
6.10.1 检测波长选择 8
6.10.2 色谱柱的选择 9
6.10.3 不同洗脱条件 11
6.10.3.1 等度洗脱 11
6.10.3.2 梯度洗脱 12
6.10.4 对香豆酸 HPLC 法检测优化后的色谱条件 13
6.10.5 标准曲线 14
6.10.6 检出限和定量限 14
6.10.7 精密度 14
6.10.8 稳定性 15
6.10.9 重复性 15

6.10.10 方法的准确度.....15
6.10.11 小结.....17
6.11 方法验证.....17
6.11.1 参加验证的实验室.....17
7 采用国际标准和国外先进标准程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况.....18
8 与现行法律法规和强制性标准的关系.....18
9 标准作为强制性或推荐性标准的意见.....18
10 实施标准的建议.....18
11 参考文献.....18

1 任务来源

本国家标准的制定任务是根据国家标准化管理委员会下达的国家标准制定计划《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》项目（计划号为20193344-T-424）起草。国家标准计划《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》由北京化工大学上报，中国标准化研究院归口及执行，主管部门为国家市场监督管理总局(质检)。本标准由北京化工大学，中华全国供销合作总社济南果品研究院，中国标准化研究院，中国农业大学、大连依利特分析仪器有限公司等单位共同起草。本标准主要起草人：魏芸、郑晓冬、席兴军、兰韬、倪汉文、车芬芳、刘聪、唐涛。

2 起草的目的意义

甘蔗，（学名：Saccharum officinarum）甘蔗属，多年生高大实心草本植物。甘蔗中含有丰富的糖分、水分，还含有对人体新陈代谢非常有益的各种维生素、脂肪、蛋白质、有机酸、钙、铁等物质，深受人们的喜爱。甘蔗在加工过程中会产生大量的甘蔗皮渣等副产品，这些副产品并没有得到有效的利用，造成了巨大的资源损失和浪费，同时对环境造成严重的污染。甘蔗皮渣提取物的主要活性成分为对香豆酸 (p-Coumaric acid，CAS 501-98-4)。研究表明, 对香豆酸具有抗氧化、清除自由基、抗菌消炎、抗心血管类疾病、抗突变防癌，抗血栓、调节免疫、利胆美白、提高精子活力、促进双歧杆菌增殖等生物活性。针对甘蔗皮渣中的对香豆酸检测，由于不同产地、不同品种的甘蔗皮中活性成分的类型、含量均存在差异，因此，建立甘蔗皮中对香豆酸的高效液相色谱定性定量检测方法对于农副产品中对香豆酸的质量控制非常重要。

2.1 企业产品质量控制的需要

我国台湾、福建、广东、海南、广西、四川、云南等南方热带地区广泛种植甘蔗，甘蔗种植面积大、产量高，是我国主要制糖原料，年产量超过 1 亿吨。在加工过程中会产生大量的甘蔗皮渣等废弃物，年产量在 2000-3000 万吨左右（约占甘蔗重量 20%-25%）。同时，以甘蔗为原料生产甘蔗皮提取物，从而实现农副产品再利用，这越来越受到重视。但是，对香豆酸含量测定尚无国家标

准，且对香豆酸原料的提取工艺不同，导致原料质量标准不统一，药品临床疗效不稳定。因此，本标准的制定是企业进行产品质量控制的需要。

2.2 完善国家标准的需要

我国现行检测方法标准中，尚无对香豆酸检测方法标准。为了贯彻落实《国务院办公厅关于促进热带作物产业发展的意见》（国办发[2010]45 号）文件精神，科学指导甘蔗生产、加工产业的发展，急需制定《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》国家标准，建立甘蔗皮渣中对香豆酸含量检测标准，为对香豆酸原料的质量控制提供方法，为对香豆酸产品研发及甘蔗综合开发利用提供依据，进而引导生产，规范市场。所以，本标准的制定也是完善甘蔗皮渣加工产品检测方法国家标准的需要。

3 对香豆酸研究、应用与标准现状

3.1 对香豆酸研究

国内外对对香豆酸的研究十分广泛，可查询到大量的论文与专利，研究范围包括提取分离、纯品制备、分析检测、结构表征、药理活性、毒性、分子结构改性、产品加工等方面。

3.2 对香豆酸开发应用

以对香豆酸为活性成分的加工产品有甘蔗皮渣提取物、白花蛇舌草提取物、海金沙草提取物、杜仲叶提取物、复方中成药等。

对香豆酸可以用于食品添加剂和食品保鲜剂，也可用于医药防治疾病和化妆品添加剂以抑制黑色素的形成，抵抗紫外线辐射。广泛存在于于食品、化工、医药行业。总的说来，对香豆酸的开发利用尚处于初级发展阶段，没有一定规模的应用，而且产业化目前还没形成。

3.3 对香豆酸标准

可查询到甘蔗及其相关产品标准四项：《糖料甘蔗》（GB/10498-2010）、《食用甘蔗》（CNS2876）、《造纸用原料蔗渣标准》（QB/T3701-1999）、《甘蔗糖蜜行业标准》（QB/T 2684-2005），见附表 1、附表 2、附表 3。然而，未查到与对香豆酸相关的国家标准、行业标准、地方标准和企业标准。对香豆酸分析方法标准的缺失，使得相关企业在市场竞争中无标准可用，相关产品缺乏技术支撑，

质量参差不齐。

因此，有必要尽快制定《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》国家标准，以满足相关企业和检测、管理结构的需要。

4 主要起草过程

4.1 成立标准制定工作组

国家重点研发项目立项后，2017 年 11 月 10 日在北京市西藏大厦召开了国家标准《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》第一次工作会。参加单位有北京化工大学、中华全国供销合作总社济南果品研究院，中国标准化研究院，中国农业大学等。会议成立了由北京化工大学、中华全国供销合作总社济南果品研究院，中国标准化研究院，中国农业大学等单位参加的标准工作组，主要由从事标准制修订、仪器分析、具有丰富技术经验的专业研究人员组成，工作组制定了初步的标准编制工作计划。

4.2 确定工作计划和标准制定原则

按照工作任务要求，工作组制定了标准起草工作计划和任务分工。

在充分研究与讨论的基础上，制定了标准制定原则：

（1）先进性：其准确度、精密度和灵敏度达到较高水平。

（2）适用性：要适应我国农业加工副产品发展的要求，满足农产品加工废弃物再利用的需要。

（3）可操作性：符合我国目前检测仪器设备和试剂、材料的供应条件。

（4）实用性：符合检测从业人员的技术水平，能被国内主要的分析实验室使用，并达到规定的要求；有利于提高农产品加工废弃物的再利用率。

4.3 查询国内外相关标准和文献资料

2017 年，开始开展“甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法”方法研究。由于在现行国家标准、行业标准、地方标准、团体标准和企业标准中，均无相应的测定方法标准，所以我们查阅相关文献并开展研究工作。分析对香豆酸的结构特点，在 225 nm，308 nm 具有特征吸收。

中国知网、万方等中文数据库中查询到的公开发表文献中，关于甘蔗皮渣中对香豆酸的测定几大部分都是高效液相色谱法。通过对 SpringerLink、Elsevier

ScienceDirect(SD)、Wiley 等国外数据库检索到少量以液相色谱-串联质谱法对对香豆酸进行检测。

液相色谱-串联质谱法价格昂贵，对溶剂的纯度要求高，高效液相色谱法凭借着其高效、便捷、节省试样使用量等优点，考虑到标准的适用性与可操作性，因此确定采用液相色谱法检测样品中对香豆酸。借鉴文献中对香豆酸含量测定的方法，以甘蔗皮渣为样品，经过初步试验，证明方法是可行的。而后对方法进行优化，对方法进行验证，结果表明方法的准确性、回收率、精密度等方面都能达到国家标准的要求，并且基本符合制定国家标准的条件，并于 2018 年向国家标准化管理委员会提出立项申请。

4.4 研究建立标准方法，开展条件实验

标准工作组按照计划任务书的要求，结合制定标准的要求，研究建立标准方法的实验方案，并进行方法前处理条件的选择、仪器条件的确定和方法精密度、准确度及检出限的测定等试验。

2017 年 11 月始，标准起草工作组赴广西省等甘蔗主产地进行调研，获取了大量相关信息与数据，采集了 10 份甘蔗皮渣样品。

第一批样品采集后，开始开展实验室研究及验证工作，建立对香豆酸高效液相色谱分析方法，包括线性范围、相关系数、加标回收率、准确度、精密度、检出限、定量限等；甘蔗皮渣中对香豆酸的粗提。

4.5 方法验证

2019 年 4～5 月，由 5 家单位对“甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法”进行验证，分别是 XXXXX，通过统计检验技术确认外部实验室试验结果的准确性。

4.6 形成标准讨论稿和编制说明

2019 年 7 月 5 日，起草工作组组织相关单位和专家，在山东青岛中国科学院兰州化学物理研究所召开第二次标准起草工作会。参会单位包括北京化工大学、中国标准化研究院、中国科学院兰州化学物理研究所、中国农业大学、浙江大学等。

与会专家对《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》标准草案中的英文名称、范围、术语和定义、基本要求、主要技术指标、附录等章条提出

了详细的意见，会后根据修改意见形成了《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》标准讨论稿及其编制说明。

4.7 形成标准草案

标准起草工作组查阅、收集和整理了国内外有关研究进展和专利、标准、法规等文献资料，掌握了相关标准的现状；对文献中对香豆酸测定方法进行了对比和总结，为标准文本的编制奠定理论基础。在《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》国家标准第一次起草工作会议的基础上，起草工作组相关单位共同讨论起草形成了《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》国家标准的技术框架和主要内容，初步形成了《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》标准草案。

4.8 形成标准征求意见稿和编制说明

在前期工作的基础上，起草工作组组织相关单位和专家于 2019 年 10 月 22 日在北京的中国标准化研究院召开第三次标准起草工作会。参会单位包括北京化工大学、中国标准化研究院、中国科学院兰州化学物理研究所、浙江大学等。与会成员认真讨论《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》标准讨论稿后，根据讨论结果修改形成了《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》征求意见稿及编制说明。会议同时讨论了下一阶段征求意见的单位和专家名单。

4.9 征求意见并形成标准送审稿和编制说明

2020 年 3 月 27 日-2020 年 4 月 30 日，起草工作组根据讨论的专家和单位名单，分别向相关的行业主管部门、科研机构、检测部门和企业等 XX 个单位和专家发出了标准征求意见稿，向相关单位和专家征求标准修改意见。截止到 2020 年 4 月 30 日，共收集到中国农科院、…等 XX 家科研机构、检测机构、管理部门、生产企业等单位提出的反馈意见 XX 条。起草工作组对提出的意见经过反复研究、讨论和处理后，修改形成了《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》送审稿及编制说明。具体意见汇总和处理表见《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》征求意见稿及编制说明。

5 本标准与国内外分析方法的关系

本标准研究旨在建立一项满足我国常用水果甘蔗的副产物甘蔗皮渣中对香豆酸含量检测要求，在质量控制目标和技术手段上与国际接轨，适应我国大部分农副产品质控实验室仪器设备和技术能力的检测方法标准。通过查阅国内外相关文献资料，制定条件优化方案，确保本方法前处理所采用的装置操作简便，能够满足国内实验室的条件要求。本标准拟采用高效液相色谱-紫外检测分析方法（HPLC-UV）测定对香豆酸。样品的前处理，即甘蔗皮渣中对香豆酸的提取，检测方法参考文献资料，选择合适的色谱柱以及仪器条件。力求方法在稳定、可靠和实用的基础上，达到国际先进水平，以适应我国农副产品甘蔗皮渣中对香豆酸含量检测、质控与管理的需要。

6 主要技术指标依据与说明

6.1 标准名称

本标准主要解决甘蔗皮渣中对香豆酸测定的技术问题，所以将本标准的名称定为：《甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法-高效液相色谱法》。翻译为“Determination of p-coumaric acid in sugarcane rinds-High performance liquid chromatography method”。

6.2 前言

明确了本标准的归口单位及主要起草单位、起草人。

6.3 主体内容

标准的主体内容包括：范围、规范性引用文件、原理、试剂、仪器和设备、测定步骤、空白试验、结果计算与表示、精密度和回收率、检出限、检验报告等。

6.4“范围”的界定

本标准规定了用高效液相色谱法测定甘蔗皮渣中对香豆酸含量的原理、材料、仪器与设备、测定步骤、结果计算与表示、精密度和回收率、检验报告。

本标准适用于甘蔗皮渣中对香豆酸含量的测定。

6.5 原理

样品经提取后，将提取液过滤，经高效液相色谱分离测定，在 254nm 下检测，根据保留时间定性，外标峰面积定量。

6.6 试剂

6.6.1 甲醇（CH4O）：色谱纯。

6.6.2 乙酸（CH_3COOH）：色谱纯。

6.6.3 乙腈（CH_3CN）：色谱纯。

6.6.4 对香豆酸（CAS : 501-98-4）标准品：纯度≥98%。

6.6.5 有机滤模：孔径0.45μm。

6.6.6 流动相：A. 甲醇 B. 0.1%乙酸溶液，0-30 min：30%-80% A，流速：1.0 mL/min；乙酸溶液使用前经滤膜过滤。

6.6.7 对香豆酸标准储备溶液（1.0 mg/mL）：准确称取对香豆酸标准品25 mg（精确至0.1 mg）于25 mL容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，配制成浓度为1.0 mg/mL的标准储备液。放置于4℃冰箱避光保存，有效期为一个月。

6.6.8 对香豆酸中间浓度标准溶液（400 μg/mL）：准确吸取10.0 mL对香豆酸标准储备液（6.6.7）于25 mL容量瓶中，用甲醇定容。放置于4℃冰箱避光保存，有效期为一个月。

6.6.9 对香豆酸系列标准工作液：分别吸取对香豆酸标准中间液（6.6.8）0.1 mL、0.25 mL、0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL、2.5 mL、5.0 mL、7.5 mL至10 mL容量瓶中，用甲醇定容。该标准系列浓度分别为4.0 μg/mL、10.0 μg/mL、20.0 μg/mL、40.0 μg/mL、60.0 μg/mL、80.0 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/mL、300 μg/mL。临用时配制。

6.6.10 除另外有规定外，所用试剂均为分析纯，水应复合GB/T6682中一级水的要求。

6.7 仪器和设备

6.7.1 液相色谱仪：配紫外（UV）检测器或 PDA 检测器。

6.7.2 超声波清洗器

6.7.3 分析天平：根据方法准确度的要求，对香豆酸对照品的称样量需精确到0.0001 mg，因此使用感量为 0.0001 mg 的分析天平。

6.7.4 电子天平：感量 0.01 mg。

6.7.5 组织捣碎机，榨汁机

6.7.6 旋转蒸发仪

6.7.7 色谱柱：C18 液相色谱柱（250mm×4.6mm，5μm）或其他等效色谱柱。

6.7.8 针式微孔滤器：0.45 μm 有机相过滤器。

6.7.9 油浴锅

6.7.10 容量瓶：10 mL，25 mL。

6.7.11 圆底烧瓶：25 mL。

6.8 甘蔗皮渣样品制备

直接购买甘蔗皮渣或将甘蔗用清水冲洗数次，擦干，按取样要求取 200 g 样品将其切小块，用榨汁机榨汁留皮渣，接着置于 45℃烘箱中烘干，保存待用。

6.9 甘蔗皮渣粗品的的提取

称取 1.00 g（精确至 0.01 g）甘蔗皮样品于 25 mL 圆底烧瓶中，加入 10 mL 2 mol/L NaOH 溶液混合均匀，在室温下磁力搅拌 6 h。之后逐滴加入 6 mol/L 的 HCI 溶液，调节 pH 值至 2 左右。将上述酸性溶液移入分液漏斗中，加入等体积的乙酸乙酯，剧烈振荡，静置、分层，移取乙酸乙酯。然后重复上述步骤萃取三次，合并三次所得乙酸乙酯相，用旋转蒸发仪将萃取液在 50℃蒸干，最后得到 0.2638 g 膏状物，密封保存于 4℃冰箱待后续使用。准确称取 100 mg 用 10.0 mL 色谱甲醇定容，过 0.45μm 针筒式有机相过滤器，即为试样液。

6.10 对香豆酸 HPLC 定量分析方法的建立

6.10.1 检测波长选择

为了了解对香豆酸标样在全波长下主成分与杂质的响应强度，采用 HPLC 法以 PDA 检测器对样品进行全波长扫描（200～400nm），结果如图 1。

b

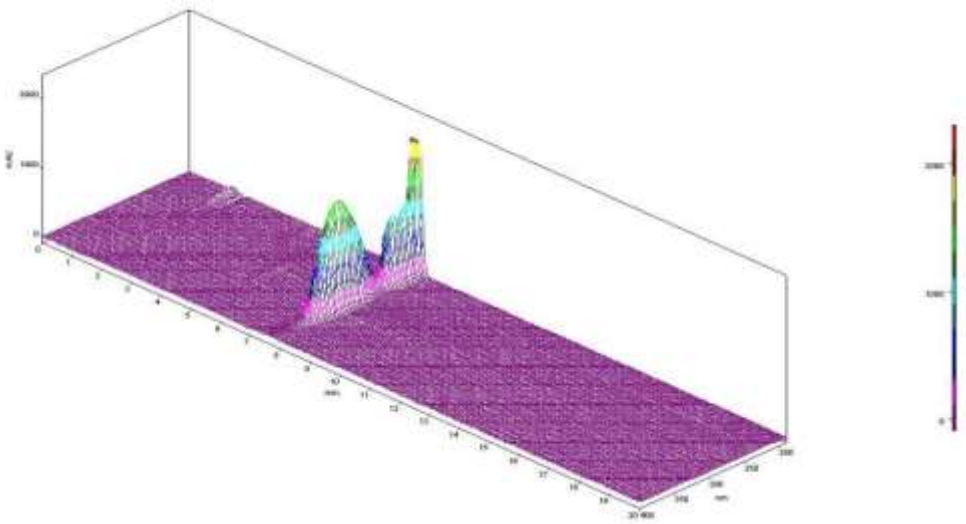


图 1 对香豆酸标准品的三维色谱图

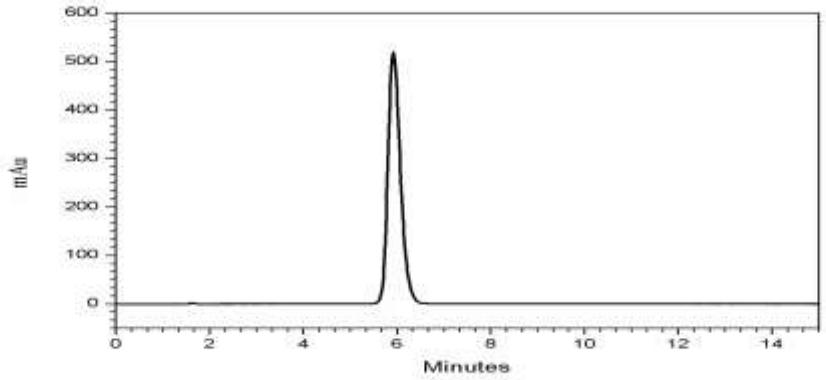
分析条件：液相色谱柱，ODS-3 C18 (250×4.6 mm ID, 5 μm)；流动相，甲醇:0.1%乙酸水=55:45 (v/v)；流速，1.0 mL/min；柱温，30℃；进样体积，10 μL；运行时间，20 min；检测波长，190-800 nm。除溶剂峰外，其他波长下无杂峰出现。由于大多数杂质在 254 nm 下有紫外响应，因此选用 254 nm 作为检测波长。

6.10.2 色谱柱的选择

采用两根不同的 C18 色谱柱，建立检测对香豆酸的方法。

（1）Agilent Eclipse XDB C18 (150 ×4.6 mm ID, 5 μm)柱

分析条件：流动相，甲醇:0.1%乙酸水=35:65 (v/v)；流速，1.0 mL/min；柱温，30℃；进样体积，10 μL；运行时间，15 min；检测波长，254 nm。



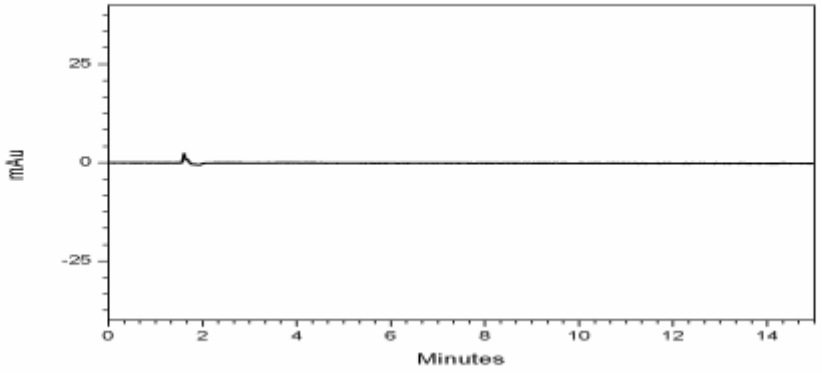


图 2 Agilent Eclipse XDB C18 色谱柱对香豆酸标准样品及空白 HPLC 图谱

（2）Apollo C18 (150×4.6 mm ID, 5 μm)柱

分析条件：流动相，甲醇:0.1%乙酸水=42:58 (v/v)；流速，1.0 mL/min；柱温，30℃；进样体积，10 μL；运行时间，15 min；检测波长，254 nm。

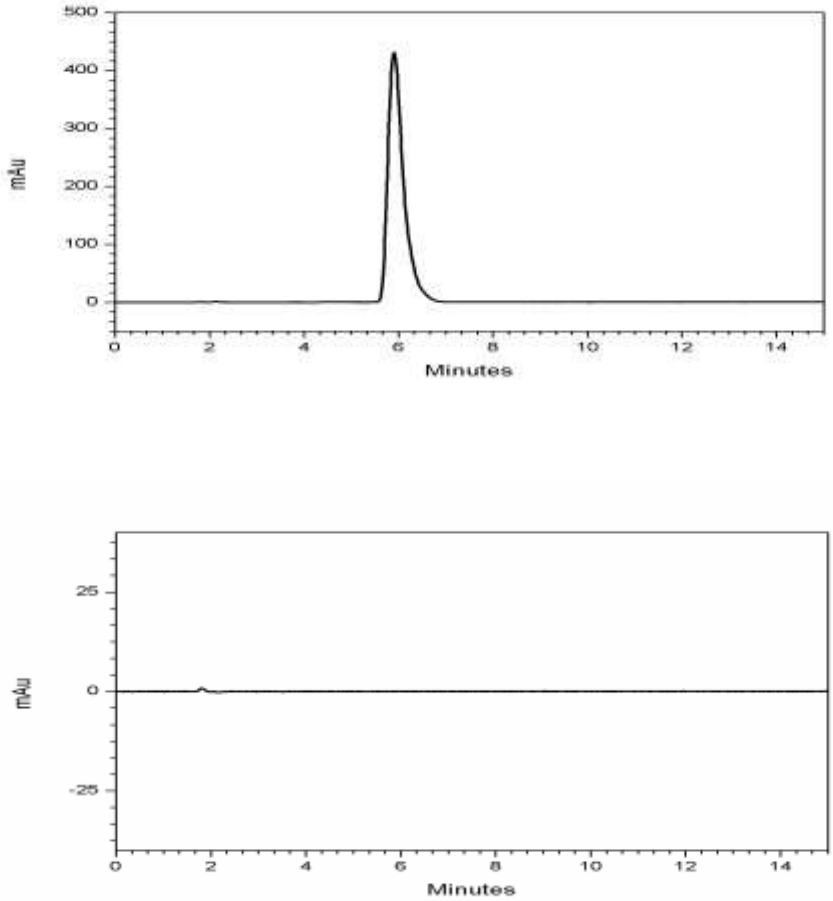


图 3 Apollo C18 色谱柱对香豆酸标准样品及空白 HPLC 图谱

6.10.3 不同洗脱条件

6.10.3.1 等度洗脱

分析条件：液相色谱柱，ODS-3 C18 (250×4.6 mm ID, 5 μm)；流动相，甲醇: 0.1%乙酸水=55:45 (v/v)；流速，1.0 mL/min；柱温，30°C；进样体积，10 μL；运行时间，15 min；检测波长，254 nm。

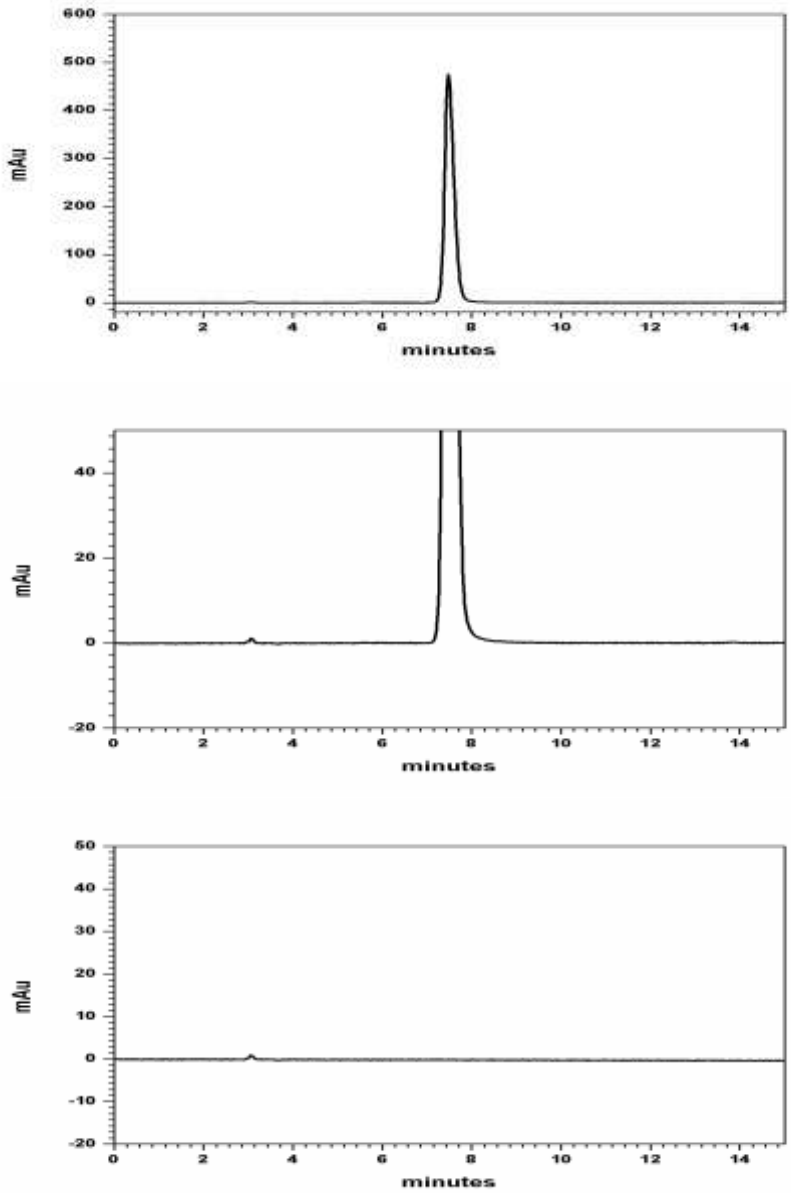


图 4 对香豆酸标准品及空白甲醇等度洗脱 HPLC 图谱

分析条件：液相色谱柱，ODS-3 C18 (250×4.6 mm ID, 5 μm)；流动相，乙腈: 0.1%乙酸水=30:70 (v/v)；流速，1.0 mL/min；柱温，30°C；进样体积，10 μL；运行时间，15 min；检测波长，254 nm。

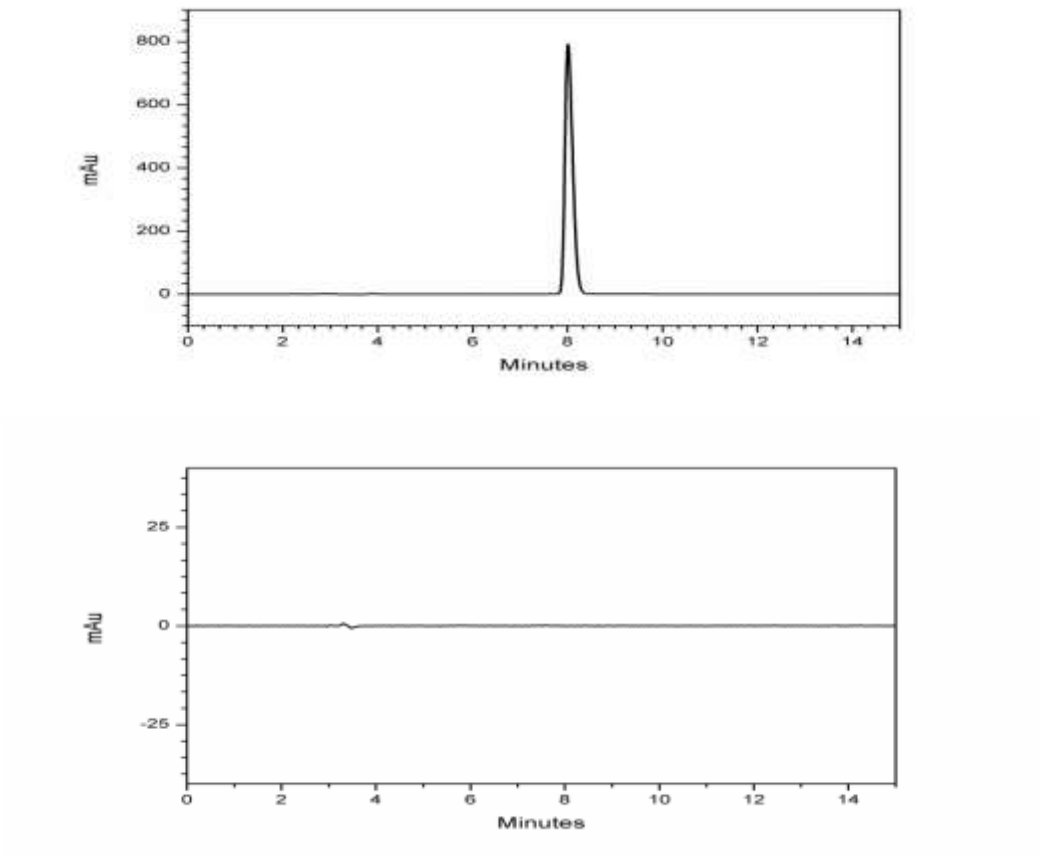
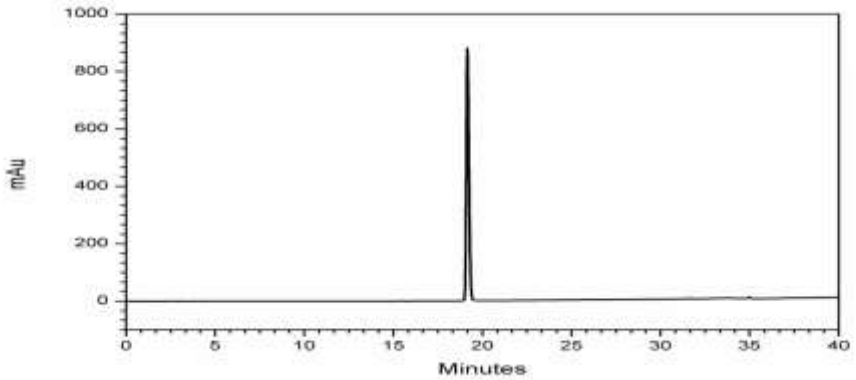


图 5 对香豆酸标准品及空白乙腈等度洗脱 HPLC 图谱

6.10.3.2 梯度洗脱

液相色谱柱，ODS-3 C18 (250×4.6 mm ID, 5 μm)；流动相，A 为甲醇，B 为 0.1%乙酸水，0-35 min，20%A-100%A，35-40 min，100%A；流速，1.0 mL/min；柱温，30℃；进样体积，10 μL；运行时间：40 min；检测波长：254 nm。



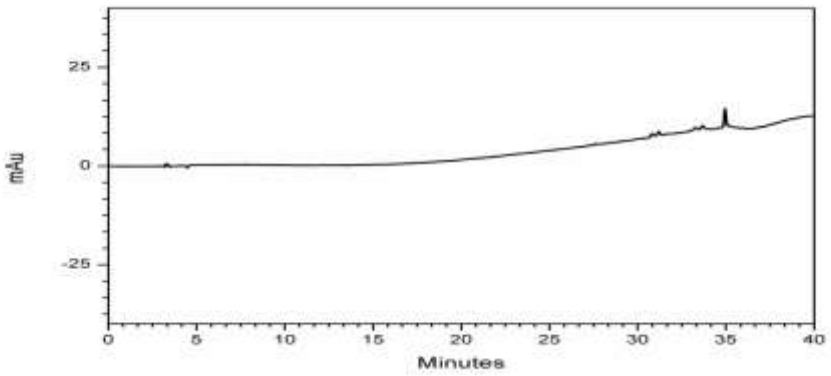


图 6 对香豆酸标准样品及空白梯度洗脱 HPLC 图谱

6.10.4 对香豆酸 HPLC 法检测优化后的色谱条件

对香豆酸 HPLC 法检测优化后的色谱条件为：

高效液相色谱仪：配紫外检测器；

色谱柱：C18 液相色谱柱（250mm×4.6mm，5μm）或其他等效色谱柱。

紫外检测波长：254 nm；

流动相：A 甲醇 B 0.1%乙酸溶液 0-30min：30%-80% A；

流速：1.0 mL/min；

进样体积：10 μL；

柱温：30℃±1℃。

在该优化色谱条件下，对实际甘蔗皮渣样品中对香豆酸含量进行测定，典型的液相色谱谱图如图所示，可以看出对香豆酸与杂质分离很好。

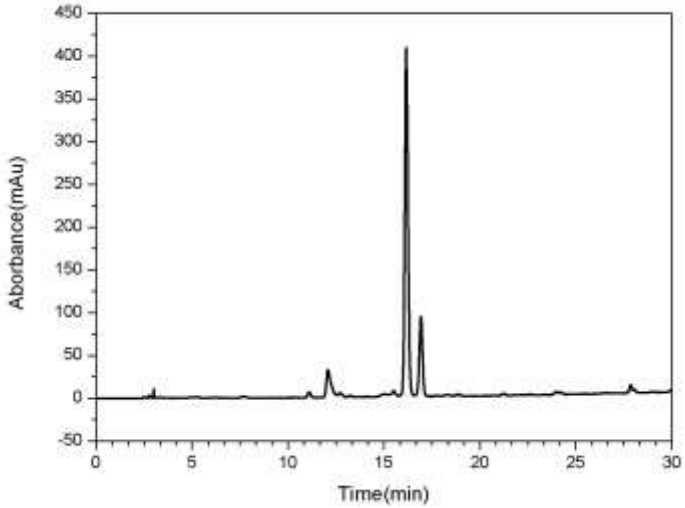


图 7 实际样品 HPLC 谱图

6.10.5 标准曲线

按照“6.6.9 标准溶液的配制”配制一系列浓度分别为 4.0 μg/mL、10.0 μg/mL、20.0 μg/mL、40.0 μg/mL、60.0 μg/mL、80.0 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/mL、300 μg/mL 及 400 μg/mL、1000 μg/mL、2000 μg/mL 的对香豆酸标准溶液，按照“6.10.4 参考色谱条件”进行 HPLC 分析，以对香豆酸标准溶液浓度 X（μg/mL）为横坐标、色谱峰面积 Y 为纵坐标进行线性拟合，拟合结果见表 4。

表 1. 对香豆酸的标准曲线、线性范围、相关系数、检出限及定量限

目标物	标准曲线	线性范围 (μg/mL)	相关系数 (r^2)	检出限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
对香豆酸	Y = 9.64X + 202.64	4.0 - 2000	0.9991	12.45	41.49

6.10.6 检出限和定量限

将对照品溶液逐步稀释，进行液相色谱分析，计算其峰高与基线噪音高的比，S/N=3（S 为对照品峰高，N 为基线噪音高）时的对照品浓度为检出限（LOD），得到对香豆酸的检测限 12.45 ng/mL；S/N=10 时的浓度为定量限（LOQ），得到对香豆酸的定量限为 41.49 ng/mL。

6.10.7 精密度

取1000 μg/mL的对香豆酸标准样品溶液，按照“6.10.4参考色谱条件”进行HPLC分析，重复进样6次，测得其保留时间和峰面积，计算其相对标准偏差（RSD），结果见表2。由结果表2可知，该方法的精密度良好。

表 2 对香豆酸精密度实验结果

序号	保留时间		峰面积	
	Time	RSD (%)	Area	RSD (%)
1	16.292		10427	
2	16.287		10416	
3	16.310	0.121	10426	0.753
4	16.313		10284	
5	16.293		10527	
6	16.258		10449	

6.10.8 稳定性

取1000 μg/mL的对香豆酸标准样品溶液，分别在0、2、4、6、8、10 h时，按照“6.10.4参考色谱条件”进行HPLC分析，测得其保留时间和峰面积，计算其相对标准偏差（RSD），结果见表3。由结果表3可知，该方法的稳定性良好。

表 3 对香豆酸稳定性实验结果

检测时间（h）	保留时间		峰面积	
	Time	**RSD (%)**	**Area**	**RSD (%)**
0	16.498		10780	
2	16.505		10752	
4	16.557	0.243	10771	0.396
6	16.511		10870	
8	16.476		10801	
10	16.436		10824	

6.10.9 重复性

准确称量 10.0 mg 对香豆酸标准样品 6 份，分别用甲醇定容到 10 mL，制备得到浓度为 1000 μg/mL 的对香豆酸标准样品溶液 6 份。按照“6.10.4 参考色谱条件”进行 HPLC 分析，测得其保留时间和峰面积，计算其相对标准偏差（RSD），结果见表 4。由结果表 4 可知，该方法的重复性良好。

表 4 对香豆酸重复性实验结果

序号	保留时间		峰面积	
	Time	**RSD (%)**	**Area**	**RSD (%)**
1	16.382		9734	
2	16.393		9608	
3	16.399	0.168	9655	0.709
4	16.434		9757	
5	16.439		9797	
6	16.448		9715	

6.10.10 方法的准确度

精密取甘蔗皮样品1mL，按照“6.10.4参考色谱条件”进行HPLC分析，根据对香豆酸的标准曲线计算出甘蔗皮渣样品溶液中对香豆酸的浓度为503.9 μg/mL，换算成甘蔗皮渣中对香豆酸的含量为13292.88 mg/kg。另精密取该已知

对香豆酸含量的甘蔗皮渣样品9份，每份1 mL，每3份分别精密加入浓度为1000 μg/mL的对香豆酸标准样品0.4 mL、0.5 mL和0.6 mL，混合均匀后，按照按照“6.10.4参考色谱条件”进行HPLC分析，计算其回收率，结果见表5。

表 5 对香豆酸加标回收结果（n=5）

序号	样品含量 (μg)	添加量 (μg)	实测值 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	503.9	400	930.15	102.90	99.73	2.76
2			884.87	97.89		
3			889.47	98.40		
4		500	975.49	97.17	97.17	0.85
5			983.68	97.99		
6			967.14	96.34		
7		600	1109.75	100.53	101.93	1.43
8			1123.79	101.80		
9			1141.91	103.44		

6.10.11 小结

上述结果表明，高效液相色谱法测定甘蔗皮渣中对香豆酸，实验室内方法检出限为12.45 ng/mL，定量限为41.49 ng/mL。对甘蔗皮渣实际样品进行加标回收实验，在添加浓度400 mg/kg～600 mg/kg 浓度范围内，回收率在 95%～105% 之间，相对标准偏差小于 5%，说明方法的精密度和准确度良好。

综上所述，本标准方法能够满足甘蔗皮渣中对香豆酸含量测定要求。

6.11 方法验证

6.11.1 参加验证的实验室

选择 5 家具有资质的实验室参加方法的验证工作（表 6）。向验证单位提供方法草案、验证方案、标准溶液和验证报告格式。验证单位按照方法草案准备实验用品，在规定时间内完成验证实验并反馈验证结果报告。在方法验证前，参加验证的操作人员应熟悉和掌握方法原理、操作步骤及流程。方法验证过程中所用的试剂和材料、仪器和设备及分析步骤应符合方法相关要求。

7 采用国际标准和国外先进标准程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况

目前对香豆酸含量测定方法无国际标准和国外先进标准可参照。本标准在制订过程中对以对香豆酸为活性成分的甘蔗皮渣的质量、检测和市场进行了充分的调查研究，并广泛征求和采纳了国内相关领域专家的意见和建议，所制定的标准适合我国国情，具有先进性、科学性、实用性和可操作性，

8 与现行法律法规和强制性标准的关系

标准所确定的各项技术指标和内容符合我国现行的有关方针、政策，并与相关法律、法规、标准吻合。

本标准颁布实施后，填补我国甘蔗皮渣中对香豆酸检测方法的空白，更有利于行业应用；与现行的法律、法规及其他国家标准没有矛盾。

9 标准作为强制性或推荐性标准的意见

建议本标准作为推荐性国家标准发布。

10 实施标准的建议

如果本标准被批准并发布，为了贯彻好本标准，使其有效发挥作用，建议在标准发布后，在相关企业和检测机构进行宣传和贯彻，并组织有关部门和人员进行学习和培训。

11 参考文献

参考文献

[1] 易晶晶，欧仕益，董颖妍等. 对香豆酸、阿魏酸和低聚糖阿魏酸酯对酪氨酸酶的抑制效果[J]. 食品与机械, 2016，32(11):9-12.

[2] 王东，苗新月，郭晓丹等.对香豆酸酰胺类衍生物的制备及其在化妆品中的应用.《化学世界》, 2019.

[3] 楚秉泉，李云虹，李交杰等. 对香豆酸对小鼠急性缺氧性肺水肿的预防作用研究，中

国药学杂志, 2018,53(17):1463-1469.

[4] 袁志鹰, 刘湘丹, 裴刚, et al. HPLC 测定百合中对香豆酸、没食子酸含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(5).

[5] 管西芹, 毛近隆, 唐迎雪, et al. 对香豆酸的药理作用研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(17):191-199.

[6] 汪 江, 盛杰曹, 谢二磊, 等. HPLC 法测定不同来源 红花中对香豆酸的含量 [J]. 药物分析杂志, 2011,31(5): 938-940.

[7] 付小凯, 刘 勇, 李 阳, 等. HPLC 同时测定半枝莲中对香豆酸和肉桂酸的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(3): 44-47.

[8] 刘 静, 郭森辉, 李国强, 等. 均匀设计优化白花蛇舌草中对香豆酸的提取工艺 [J]. 青岛科技大学学报: 自然科学版, 2007, 28(5): 394-396.

[9] 谭喜莹, 陆红柳, 赵陆华, 等. 高效液相色谱法测定菟 丝子中对-香豆酸含量 [J]. 中国现代应用药学, 2006, 23(9): 918-920.

[10] Swisłocka R, Sadowy M K, Kalinowska M, et al. Spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, 1H and 13C NMR) and theoretical studies of p-coumaric acid and alkali metal p-coumarates[J]. Spectroscopy, 2012, 27:35-48.

[11] 李明富,万广聪,贾转,郭晨艳,运晓静,覃程荣,王双飞,闵斗勇.蔗渣原料中阿魏酸和对香豆酸的定量分析[J].中国造纸学报,2019,34(02):1-7.

[12] 陈智,林圣云,蒋剑平,王博,沈英英,裘玫,李建新.白花蛇舌草对香豆酸组合物对急性髓系白血病细胞 Kasumi-1 生长抑制作用[J].中国中西医结合杂志,2017,37(09):1089-1094.

[13] 周燕红,徐建兰,赵叶.HPLC 同时测定白花蛇舌草中熊果酸、异熊果酸和对香豆酸的含量[J].中国现代应用药学,2016,33(08):1045-1048.

[14] 黄曹兴,何娟,闵斗勇,李鑫,杜丽婷,勇强.毛竹竹青和竹黄细胞壁中阿魏酸和对香豆酸定量分析[J].林产化学与工业,2016,36(03):16-22.

[15] 付小凯,刘勇,李阳,闫辉,容蓉,巩丽丽,蒋海强,吕青涛.HPLC 同时测定半枝莲中对香豆酸和肉桂酸的含量[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(03):44-47.

附表 1 ：农产品甘蔗标准

	GB/10498-2010	CNS2876
产品名称	糖料甘蔗	食用甘蔗
外观质量	蔗茎不带泥沙、须根和叶鞘，蔗梢削至生长点下明显见肉，蔗头不带“烟斗头； 不带干枯茎、腐败茎（包括水浸、火烧、霜冻严重变质茎）、1m 以下的蔗笋、严重病虫鼠害茎和其他非蔗物。	本品不得有萌芽，并应清洁去叶除根； 本品应无裂痕（生长裂缝）。虫孔率（3.2%以下）及机械之伤害，以上合计之容许度为10%以下。
甘蔗蔗糖分	大于或等于 12%	大于或等于 8.7(锤度 16 度以上）
蔗汁重力纯度	大于或等于 80%	

附表 2 ：造纸用原料蔗渣标准 QB/T3701-1999

项目	一级	二级	三级
水分，%≤	52	52	52
蔗渣含髓率，%≤	27	34	41
碱抽出物含量,%≤	37	37	37
白度，%≥	23	23	15
蔗渣纤维均整度，% 保留于 10 目筛≥ 保留于 20 目筛≥	 34 35	 33 34	 30 33

附表 3：甘蔗糖蜜行业标准

	QB/T 2684-2005	United States Standards for Grades Of Sugarcane Molasses
名称	甘蔗糖蜜	
感官要求	色泽深棕、呈粘稠液体、无异味。	
总糖分（蔗糖分+还原糖分）/%≥	48.0	A 级：63 B 级：61.5 C 级：58.0
纯度（总糖分/折射锤度）%≥	60.0	
酸度	15	
总灰分（硫酸灰分）%≤	12	A 级：5.00 B 级：7.00 C 级：9.00
铜（以 Cu 计）(mg/kg）≤	10	
菌落总数/（cfu/g）≤	$5.0X10^5$	