

ICS 67.050
B 04
备案号: 24147-2009

DB32

江 苏 省 地 方 标 准

DB32/T 1275—2008

蛹虫草中虫草素含量的测定 高效液相色谱法

Determination of cordycepin in *Cordyceps militaris*
High performance liquid chromatography

2008-12-18 发布

2009-02-18 实施

江苏省质量技术监督局 发布

前 言

本标准遵循GB/T1.1-2000《标准化工作条则 第1部分：标准的结构和编写规则》和GB/T1.2-2002《标准化工作导则 第2部分：标准中规范性技术要素内容的确定方法》编写规则。

本标准由江苏省农业科学院提出。

本标准由江苏省农业科学院、淮阴师范学院分析测试中心、海安县泓寿生物技术有限公司负责起草。

本标准主要起草人：刘红锦、夏敏、温鲁、尹起范、蒋宁、周泓栋。

蛹虫草中虫草素含量的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了蛹虫草中虫草素（3'-脱氧腺嘌呤核苷）的含量的测定高效液相色谱法的原理、试剂和材料、仪器和设备及测定步骤。

本方法适用于蛹虫草中虫草素（3'-脱氧腺嘌呤核苷）含量的测定。

本方法的检出限为0.01 mg/g。

2 规范性引用文件

下列文件中条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682—1992 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

将干燥后的试样粉碎，经水超声振荡提取，高效液相色谱紫外检测器测定，外标法定量。

4 试剂和材料

4.1 磷酸二氢钾：分析纯。

4.2 磷酸氢二钾：分析纯。

4.3 四氢呋喃：色谱纯。

4.4 无水乙醇：分析纯。

4.5 实验用水：应符合 GB/T 6682—1992 一级水的要求。

4.6 虫草素标准品：纯度≥98%。

4.7 虫草素标准储备液：精确称取虫草素标准品 15mg，用 50%乙醇水溶液超声波振荡溶解，定容至 100mL，置于 -18℃冰箱中保存，保存期为 2 个月。

4.8 流动相：精确称取 1.36gKH₂PO₄、2.28gK₂HPO₄•3H₂O 于 1L 容量瓶中，加水溶解、定容，再加入 10mL 四氢呋喃，混匀备用。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱仪，带有紫外检测器，0.22 μm滤膜。

5.2 超声波仪。

5.3 高速离心机，转速不低于10000 rpm。

5.4 鼓风干燥箱。

6 测试步骤

6.1 试样的制备

将样品用60℃低温烘干1小时，粉碎后过孔径为60目筛备用。精密称取粉末0.1 g，放入试剂瓶中，加10.00 mL蒸馏水，超声提取30分钟，0.22 μm微孔滤膜滤过，提取液作为供试品溶液。

6.2 色谱条件

6.2.1 标准曲线

用水稀释标准储备液，配制系列浓度的标准工作溶液：3 μg/mL、6 μg/mL、30 μg/mL、75 μg/mL、150 μg/mL。0.22 μm膜过滤，取滤液，在色谱条件下用微量进样器依次吸取10 μL进样检测(n=3)。以峰面积为纵坐标，相应的标准工作溶液浓度为横坐标。虫草素标样的高效液相色谱图见附录A。

6.2.2 色谱柱

C₁₈柱(3.9mm×300mm, 4μm)。

6.2.3 流动相

KH₂PO₄-K₂HPO₄缓冲液(pH=6.86, 0.01mol/L), 等度洗脱;流速: 1.00 mL/min。

6.2.4 检测波长

260 nm。

6.3 进样

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10 μL，注入液相色谱仪，测定。用峰面积在标准曲线上计算试样溶液中大蒜素的浓度。

7 结果计算

按(1)式计算结果。

$$X = \frac{C \times V}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X—— 试样中

虫草素含量，单位为克每千克 (g/kg)；

C—— 试样溶液中虫草素的浓度，单位为微克每毫升 (μg/mL)；

V—— 试样溶液体积，单位为毫升 (mL)；

m—— 试样质量，单位为克 (g)。

计算结果保留两位有效数字。

8 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%。

附 录 A
(资料性附录)
虫草素标样的液相色谱图

虫草素标样的液相色谱图见图 A. 1。

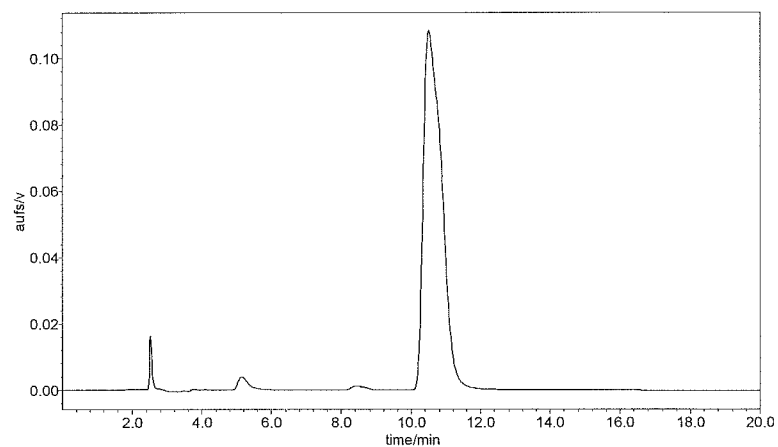


图 A. 1 虫草素标样的液相色谱图