

WMI

中华人民共和国国际商务标准

WM XXXX—XXXX

国际商务标准

植物提取物 越橘提取物

Bilberry Extract

2013-XX-XX 发布

2013-XX-XX 实施

中国医药保健品进出口商会 发布

前言

本标准由中国医药保健品进出口商会提出。

本标准由中华人民共和国商务部归口。

本标准由中国医药保健品进出口商会国际商务标准化技术委员会负责解释。

本标准由北京绿色金可生物技术股份有限公司负责起草。

本标准主要起草人：侯翔燕、李艳梅、吴启林、姚军芳、李春华

国际商务标准

植物提取物 越橘提取物

1 范围

本标准规定了越橘提取物的技术要求、检验方法、检验规则和标签、包装、运输、贮存要求。本标准适用于以杜鹃花科植物欧洲越橘 (*Vaccinium myrtillus* L.) 的新鲜冷冻果实为原料经提取树脂精制后,干燥而成的越橘提取物。

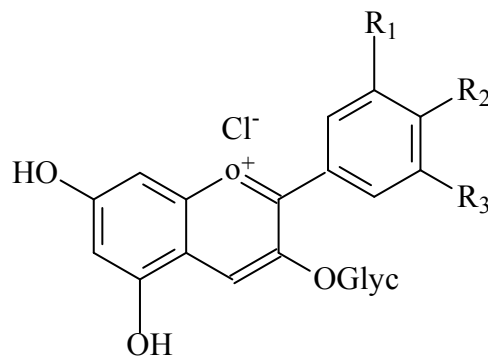
2 规范性引用文件

下列文件中的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 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验菌落总数测定
- GB 4789.3 食品安全国家标准 食品微生物学检验大肠菌群计数
- GB 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验沙门氏菌检验
- GB 4789.10 食品安全国家标准 食品微生物学检验金黄色葡萄球菌检验
- GB 4789.15 食品安全国家标准 食品微生物学检验霉菌和酵母计数
- GB 4789.38 食品安全国家标准 食品微生物学检验大肠埃希氏菌计数
- GB 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定
- GB 5009.4 食品安全国家标准 食品中灰分的测定
- GB 5009.12 食品安全国家标准 食品中铅的测定
- GB/T 5009.15 食品中镉的测定
- GB/T 5009.74 食品添加剂中重金属限量试验
- GB 9685 食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准
- 中华人民共和国药典(2010年版)一部 附录IXB 铅、镉、砷、汞、铜测定法

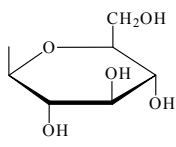
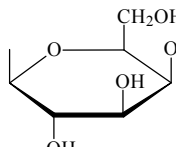
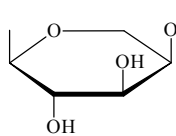
3 有效成分名称、结构式、分子式和相对分子质量

越橘提取物(Bilberry Extract)由一组有效成分组成,其结构通式为:



各组份名称、结构式特征基团、分子式、相对分子质量见表 1。

表 1 花青素和花色苷各组分名称、结构式特征基团、分子式、相对分子质量

组分		R ₁	R ₂	R ₃	Glyc	分子式	分子量
花青素	飞燕草素 Delphinidin	OH	OH	OH	H	C ₁₅ H ₁₁ O ₇ Cl	338.70
	矢车菊素 Cyanidin	OH	OH	H	H	C ₁₅ H ₁₁ O ₆ Cl	322.70
	矮牵牛素 Petunidin	OH	OH	OCH ₃	H	C ₁₆ H ₁₃ O ₇ Cl	352.72
	芍药素 Peonidin	OCH ₃	OH	H	H	C ₁₆ H ₁₃ O ₆ Cl	336.72
	锦葵素 Malvidin	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	C ₁₇ H ₁₅ O ₇ Cl	366.75
花色苷	飞燕草素-3-O-葡萄糖苷 Delphinidin-3-O-glucoside	OH	OH	OH		C ₂₁ H ₂₁ O ₁₂ Cl	500.84
	矢车菊素-3-O-葡萄糖苷 Cyanidin-3-O-glucoside	OH	OH	H		C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁ Cl	484.84
	矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷 Petunidin-3-O-glucoside	OH	OH	OCH ₃		C ₂₂ H ₂₃ O ₁₂ Cl	514.86
	芍药素-3-O-葡萄糖苷 Peonidin-3-O-glucoside	OCH ₃	OH	H		C ₂₂ H ₂₃ O ₁₁ Cl	498.86
	锦葵素-3-O-葡萄糖苷 Malvidin-3-O-glucoside	OCH ₃	OH	OCH ₃		C ₂₃ H ₂₅ O ₁₂ Cl	528.89
	飞燕草素-3-O-半乳糖苷 Delphinidin-3-O-galactoside	OH	OH	OH		C ₂₁ H ₂₁ O ₁₂ Cl	500.84
	矢车菊素-3-O-半乳糖苷 Cyanidin-3-O-galactoside	OH	OH	H		C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁ Cl	484.84
	矮牵牛素-3-O-半乳糖苷 Petunidin-3-O-galactoside	OH	OH	OCH ₃		C ₂₂ H ₂₃ O ₁₂ Cl	514.86
	芍药素-3-O-半乳糖苷 Peonidin-3-O-galactoside	OCH ₃	OH	H		C ₂₂ H ₂₃ O ₁₁ Cl	498.86
	锦葵素-3-O-半乳糖苷 Malvidin-3-O-galactoside	OCH ₃	OH	OCH ₃		C ₂₃ H ₂₅ O ₁₂ Cl	528.89
	飞燕草素-3-O-阿拉伯糖苷 Delphinidin-3-O-arabinoside	OH	OH	OH		C ₂₀ H ₁₉ O ₁₁ Cl	470.81
	矢车菊素-3-O-阿拉伯糖苷 Cyanidin-3-O-arabinoside	OH	OH	H		C ₂₀ H ₁₉ O ₁₀ Cl	454.81
	矮牵牛素-3-O-阿拉伯糖苷 Petunidin-3-O-arabinoside	OH	OH	OCH ₃		C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁ Cl	484.85
	芍药素-3-O-阿拉伯糖苷 Peonidin-3-O-arabinoside	OCH ₃	OH	H		C ₂₁ H ₂₁ O ₁₀ Cl	468.84
	锦葵素-3-O-阿拉伯糖苷 Malvidin-3-O-arabinoside	OCH ₃	OH	OCH ₃		C ₂₂ H ₂₃ O ₁₁ Cl	498.86

4 技术要求

4.1 工艺要求

4.1.1 植物原料

以杜鹃花科植物欧洲越橘 (*Vaccinium myrtillus* L.) 的新鲜成熟果实为原料, 每年 7 月~9 月收集, 除杂后快速冷冻 (IQF) 即得。

4.1.2 工艺过程

越橘果实 → 水或者乙醇提取 → 树脂精制 → 干燥 → 产品

4.2 产品要求

4.2.1 感官要求: 应符合表 2 的要求。

表 2 感官要求

项目	要求	检验方法
色泽	紫黑色	取适量样品置于清洁、干燥的白瓷盘中, 在自然光线下, 观察其色泽和状态, 并嗅其气味。
气味	越橘特殊气味	
状态	均匀, 无可见异物的粉末	

4.2.2 理化要求: 应符合表 3 规定。

表 3 理化要求

项目		指标	检验方法
鉴别		符合规定	附录 A 中 A.2
指标成分含量	花色苷含量, %	≥36.0	附录 A 中 A.2
	花青素含量 (以飞燕草素计), %	≥25.0	附录 A 中 A.3
游离花青素含量, %		≤1.0	附录 A 中 A.2
粒度 (80 目筛通过率), %		≥98	附录 A 中 A.4
堆密度, g/mL	松密度	0.35~0.55	附录 A 中 A.5
	紧密度	0.60~1.00	附录 A 中 A.5
pH		3.0~4.5	附录 A 中 A.6
干燥失重, %		≤5.0	GB 5009.3
灰分, %		≤3.0	GB5009.4
乙醇残留, mg/kg		≤1000	附录 A 中 A.7
重金属 (以 Pb 计), mg/kg		≤20	GB/T5009.74
铅 (Pb), mg/kg		≤3.0	GB5009.12
镉 (Cd), mg/kg		≤1.0	GB/T5009.15
砷 (As), mg/kg		≤1.0	中华人民共和国药典 2010 版 一部附录 IXB
汞 (Hg), mg/kg		≤0.1	中华人民共和国药典 2010 版 一部附录 IXB

4.2.3 微生物指标要求:应符合表 4 规定。

表 4 微生物指标

项目	指标	检验方法
细菌总数, cfu/g	<1000	GB 4789.2
霉菌及酵母菌数, cfu/g	<100	GB 4789.15
大肠菌群, MPN/g	<3	GB 4789.3
大肠埃希氏菌	不得检出	GB 4789.38
沙门氏菌	不得检出	GB4789.4
金黄色葡萄球菌	不得检出	GB4789.10

4.2.4 其他污染物

其他污染物限量要求, 依据不同用途, 应符合我国相关法规的规定。对于出口产品, 应符合出口目的国相关法规的规定。

5. 检验方法

5.1 感官检验

按表 1 中规定进行检验。启开试样后, 立即嗅其气味; 另取试样适量置于白色瓷盘中, 在自然光线下, 观察其色泽、外观, 并检查有无异物。

5.2 理化检验

5.2.1 鉴别

按附录 A.2 中规定的试验方法进行测定, 所得的供试品谱图中的峰 1~8,10~15 和 17 应与标准品谱图中的相对应峰的保留时间一致。

5.2.2 指标成分含量

按附录 A.2、A.3 中规定的检验方法进行测定。

5.2.3 粒度

按附录 A.4 中规定的试验方法进行测定。

5.2.4 堆密度

堆密度分为松密度和紧密度, 按附录 A.5 中规定的试验方法进行测定。

5.2.5 pH 值

按附录 A.6 中规定的检验方法进行测定。

5.2.6 干燥失重

按 GB 5009.3 进行测定。称样量 1g (精确至 0.0001g), 干燥温度 105℃。

5.2.7 灰分

按 GB 5009.4 进行测定。称样量 2g (精确至 0.0001g), 灰化温度 550℃。

5.2.8 乙醇残留

按附录 A.7 中规定的检验方法进行测定。

5.2.9 重金属 (以 Pb 计)

按 GB/T 5009.74 进行测定。

5.2.10 铅

按 GB 5009.12 进行测定。

5.2.11 镉

按 GB/T 5009.15 进行测定。

5.2.12 砷

按中华人民共和国药典 2010 版一部附录 IXB 铅、镉、砷、汞、铜的测定。

5.2.13 汞

按中华人民共和国药典 2010 版一部附录 IXB 铅、镉、砷、汞、铜的测定。

5.3 微生物检验

5.3.1 细菌总数

按 GB 4789.2 进行测定。

5.3.2 霉菌及酵母菌数

按 GB 4789.15 进行测定

5.3.3 大肠菌群

按 GB 4789.3 进行测定。

5.3.4 大肠埃希氏菌

按 GB 4789.38 进行测定。

5.3.5 沙门氏菌

按 GB 4789.4 进行测定。

5.3.6 金黄色葡萄球菌

按 GB 4789.10 进行测定。

6 包装、标签、运输、贮存

6.1 包装

包装材料应符合 GB 9685 食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准的要求。

6.2 标签

包装标签上应标注：产品名称、产品批号、产品规格、净含量、生产日期、保质期、生产厂名、厂址、产地。

标签内容清晰可见，标签应粘贴牢固。

6.3 运输

运输时必须轻装轻卸，不得与有毒、有害和易污染物品混装载运，严防雨淋、暴晒。

6.4 贮存

产品应存放在干燥、通风、清洁的地方，堆码距墙壁和地面 20cm 以上、并有垫隔物。避免与有毒、有害、易腐、易污染等物品一起堆放。

6.5 保质期

在符合规定的贮运条件和包装完整、未经开启封口的情况下，保质期为三年。

附录 A

(规范性附录)

检验方法

A.1 一般规定

本标准所用试剂和水,在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和GB/T 6682规定的三级水。实验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时,均指水溶液。

A.2 花色苷和游离花青素的测定方法

A.2.1 方法提要

样品经超声溶解后,采用高效液相色谱法测定,用外标法定量。

A.2.2 仪器和用具

- A.2.2.1 分析天平,感量为0.01mg。
- A.2.2.2 超声波清洗仪。
- A.2.2.3 高效液相色谱仪(附紫外检测器)。
- A.2.2.4 0.45 μ m 微孔滤膜,有机相。

A.2.3 试剂和溶液

- A.2.3.1 甲醇,色谱纯。
- A.2.3.2 乙腈,色谱纯。
- A.2.3.3 无水甲酸,色谱纯。
- A.2.3.4 盐酸。
- A.2.3.5 磷酸。
- A.2.3.6 甲醇。
- A.2.3.7 纯水,GB/T 6682 规定的二级水。
- A.2.3.8 2%盐酸-甲醇溶液(V/V):准确量取盐酸20mL加入800mL甲醇中,再用甲醇定容到1000mL,摇匀,即得。
- A.2.3.9 10%磷酸水溶液(V/V):准确量取磷酸10mL,加入80mL水中,再用水稀释至100mL,摇匀,即得。
- A.2.3.10 标准品:

a) 花色苷标准品 Bilberry dry extract CRS (用于测定15种花色苷组分含量,购自欧洲药品质量管理局EDQM)或其他等同标准品(如USP Cyanidin-3-O-glucoside chloride RS等);

b) 花青素标准品 Cyanidin chloride CRS (用于测定5种花青素组分含量,购自欧洲药品质量管理局EDQM)或其他等同标准品(如USP Cyanidin Chloride RS等)。

A.2.4 色谱条件及系统适用性

A.2.4.1 色谱条件

- a) 色谱柱: Zorbax Extend-C₁₈, 4.6×250mm, 5 μ m 或同类型色谱柱。
- b) 流动相: A相: 甲酸-水溶液(8.5:91.5, V/V); B相: 乙腈-甲醇-甲酸-水溶液(22.5:22.5:8.5:41.5, V/V/V/V)。梯度条件见表A1。

表 A1 梯度条件

时间/min	A 相/%	B 相/%
0	93	7
35	75	25
45	35	65
46	0	100
50	0	100
51	93	7
60	93	7

c) 检测波长: 535nm。

d) 流速: 1.0mL/min。

A. 2. 4. 2 系统适用性

理论塔板数按花色苷峰计算应不低于 2000。

A. 2. 5 操作方法

A. 2. 5. 1 标准品溶液(a)的制备

精密称取标准品 Bilberry dry extract CRS 约 125mg (精确至 0.01mg), 置于 25mL 容量瓶中, 加入 2%盐酸-甲醇溶液 (V/V) 并稀释至刻度, 摇匀。准确移取 2mL 的上述溶液于 10mL 的容量瓶中, 用 10%磷酸水溶液 (V/V) 定容。配成的标准品溶液中 Cyanidin-3-O-glucoside chloride 的浓度约为 0.035mg/mL。

A. 2. 5. 2 标准品溶液 (b) 的制备

精密称取标准品 Cyanidin chloride CRS 约 10mg (精确至 0.01mg), 置于 25mL 容量瓶中, 加入 2%盐酸-甲醇溶液 (V/V) 并稀释至刻度, 摇匀。移取 2mL 的上述溶液于 100mL 的容量瓶中, 用 10%磷酸水溶液 (V/V) 定容。

A. 2. 5. 3 供试品溶液的制备

称取供试品约 125mg (精确至 0.01mg), 于 25mL 的容量瓶中, 用 2%盐酸-甲醇溶液 (V/V) 定容, 移取 2mL 的上述溶液于 10mL 的容量瓶中, 用 10%磷酸水溶液 (V/V) 定容。用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤即得供试液。

A. 2. 5. 4 测定方法

分别精密吸取标准品溶液 (a)、标准品溶液 (b)、供试品溶液 10 μ L, 依次注入高效液相色谱仪, 测定, 按外标法计算含量。

A. 2. 6 结果计算

越橘提取物中花色苷含量以质量分数 w_1 计, 数值以%表示, 按公式 (A.1) 和 (A.2) 计算:

$$w_i = \frac{A_i \times C_{\text{stda}} \times V_1 \times P_1 \times MW_i}{A_{\text{stda}} \times m_1 \times MW_{\text{stda}}} \times 100\% \quad \text{..... (A.1)}$$

$$w_1 = \sum w_i \quad \text{..... (A.2)}$$

式中:

w_i ——供试品中各花色苷组分的质量分数, %;

A_i ——供试品溶液中各花色苷组分的峰面积 (谱图中峰 1~8,10~15,17);

A_{stda} ——标准品溶液 (a) 中 Cyanidin-3-O-glucoside chloride 的峰面积;

C_{stda} ——标准品溶液 (a) 中 Cyanidin-3-O-glucoside chloride 的浓度, 单位为毫克每毫升 (mg/mL);
 m_1 ——供试品的称样量, 单位为毫克 (mg);
 V_1 ——供试品的定容体积, 单位为毫升 (mL);
 P_1 ——标准品 (a) 中 Cyanidin-3-O-glucoside chloride 的纯度, %;
 MW_i ——供试品溶液中相应的花色苷组分的分子量;
 MW_{stda} ——Cyanidin-3-O-glucoside chloride 的分子量。

越橘提取物中游离花青素含量以质量分数 w_2 计, 数值以%表示, 按公式 (A.3) 和 (A.4) 计算:

$$w_j = \frac{A_j \times C_{\text{stdb}} \times V_1 \times P_2 \times MW_j}{A_{\text{stdb}} \times m_1 \times MW_{\text{stdb}}} \times 100\% \dots\dots\dots (A.3)$$

$$w_2 = \sum w_j \dots\dots\dots (A.4)$$

式中:

w_j ——供试品中各游离花青素组分的质量分数, %
 A_j ——供试品溶液中各游离花青素组分的峰面积 (谱图中峰 9,16,18,19,20);
 A_{stdb} ——标准品溶液 (b) 中 Cyanidin chloride 的峰面积;
 C_{stdb} ——标准品溶液 (b) 中 Cyanidin chloride 的浓度, 单位为毫克每毫升 (mg/mL);
 m_1 ——供试品的称样量, 单位为毫克 (mg);
 V_1 ——供试品的定容体积, 单位为毫升 (mL);
 P_2 ——标准品 (b) 中 Cyanidin chloride 的纯度, %;
 MW_j ——供试品溶液中相应的游离花青素组分的分子量;
 MW_{stdb} ——Cyanidin chloride 的分子量。

注 1: 越橘提取物谱图及各组份出峰顺序参见附录 B 中的 B.2。

注 2: 欧洲药典和美国药典中都规定越橘提取物中花色苷的含量以 Cyanidin-3-O-glucoside chloride 计, 游离花青素的含量以 Cyanidin chloride 计。

A. 3 花青素的测定方法

A. 3.1 方法提要

样品经超声溶解后, 采用紫外可见分光光度法测定。

A. 3.2 仪器和用具

A. 3.2.1 分析天平, 感量 0.01mg。

A. 3.2.2 超声波清洗仪。

A. 3.2.3 紫外可见分光光度计。

A. 3.3 试剂

A. 3.3.1 甲醇。

A. 3.3.2 盐酸。

A. 3.3.3 纯水, GB/T 6682 规定的二级水。

A. 3.3.4 2%的盐酸-甲醇溶液 (m/V): 准确量取盐酸 47mL, 加入 800mL 甲醇中, 再用甲醇稀释至 1000mL, 摇匀, 即得。

A. 3.4 操作方法

A. 3. 4. 1 供试品溶液的制备

精密称取供试品 15~20mg (精确至 0.01mg) 放入烧瓶中, 加入 60mL 2% 盐酸-甲醇溶液 (m/V), 在 80℃ 水浴中回流水解 0.5 小时后冷却至室温, 用 2% 盐酸-甲醇溶液 (m/V) 转移完全并定容至 100mL, 摇匀, 得试液 A。然后精密吸取 5mL 到 50mL 容量瓶中, 用 2% 盐酸-甲醇溶液 (m/V) 定容至刻度, 摇匀, 得待测试液 B; 溶液应澄清透明。若混浊, 则用滤纸过滤, 开始的滤液约 10mL 弃去, 之后的滤液用作检测。

A. 3. 4. 2 测定方法

以 2% 盐酸-甲醇溶液 (m/V) 作空白, 在 540nm 吸收波长、1cm 比色杯条件下测吸光度 A。

A. 3. 5 结果计算

越橘提取物中花青素的含量以飞燕草素的质量分数 w_3 计, 数值以%表示, 按式 (A.5) 计算:

$$w_3 = \frac{A \times 1 \times f}{1020 \times m_2} \times 100\% \dots\dots\dots (A.5)$$

式中:

A——供试品溶液 B 在吸收波长 540nm 下的吸光度;

f——供试品溶液 A 至试液 B 的稀释倍数;

m_2 ——供试品质量, 单位为克 (g);

1020——飞燕草素的百分吸光系数 ($E_{1cm}^{1\%}$), 既在 540nm 吸收波长下, 飞燕草素的溶液浓度为 1g/100mL、比色杯厚度为 1cm 时, 溶液的吸光度;

1——百分吸光系数 ($E_{1cm}^{1\%}$) 定义规定的, 在 100mL 溶液中溶解溶质 (飞燕草素) 的质量, 单位为克 (g)。

A. 4 粒度的测定方法

A. 4. 1 设备

A.4.1.1 分样筛 (带筛盖与接收盒), 80 目。

A.4.1.2 天平, 感量为 0.1mg。

A. 4. 2 操作程序

取接收盒, 将分样筛放在接收盒上, 称取约 50g 供试品粉末, 精确至 0.01g, 置于分样筛内, 将筛盖盖好。将分样筛保持水平状态, 左右往返轻轻筛动 5min, 称量接收盒内的样品质量。

A. 4. 3 计算

通过率以 w_4 计, 数值以%表示, 按式 (A.6) 计算:

$$w_4 = \frac{m_4}{m_3} \times 100\% \dots\dots\dots (A.6)$$

式中:

m_3 ——供试品质量, 单位为克 (g);

m_4 ——过筛后接收盒内样品质量, 单位为克 (g)。

A. 5 堆密度的测定方法

A. 5. 1 设备

A. 5. 1. 1 天平, 感量为 0.1mg。

A. 5. 1. 2 玻璃量筒，100mL。

A. 5. 2. 操作程序

A. 5. 2. 1 量筒的准备：取洁净、干燥的量筒，并称量其质量 (m_5)。

A. 5. 2. 2 松密度的测定：将通过 80 目筛的样品松缓地转入量筒中至 $90\pm 5\text{mL}$ 处，弄平粉末表面，读取固体粉末的体积 (V_2)，称量量筒与样品的质量 (m_6)，精确到 0.01g。

A. 5. 2. 3 紧密度的测定：将上述盛有样品的量筒放在台面上（铺有约 5mm 厚的橡胶），由 2cm 左右的高度自坠到台面上，反复此操作约 100 次，量得压紧后的粉末体积 (V_3)，继续上述操作约 30 次，量得粉末体积 (V_4)。当 V_3 与 V_4 相差小于 2mL 时，读取最终体积 (V_4)，否则重复上述操作，直到符合为止。

A. 5. 3 计算

松密度 w_5 和紧密度 w_6 分别按式 (A.7) 和式 (A.8) 计算。

$$w_5 = \frac{m_6 - m_5}{V_2} \times 100\% \quad \text{..... (A.7)}$$

$$w_6 = \frac{m_6 - m_5}{V_4} \times 100\% \quad \text{..... (A.8)}$$

式中：

w_5 ——松密度，单位为克每毫升 (g/mL)；

w_6 ——紧密度，单位为克每毫升 (g/mL)；

m_5 ——量筒质量，单位为克 (g)；

m_6 ——量筒与粉末样品的质量，单位为克 (g)；

V_2 ——加入粉末后，量筒量得的最初的体积，单位为毫升 (mL)；

V_4 ——量筒量得的压紧后的粉末最终体积，单位为毫升 (mL)。

A. 6 pH 的测定方法

A. 6. 1 设备

A. 6. 1. 1 分析天平，感量为 0.1mg。

A. 6. 1. 2 pH 计。

A. 6. 2 试剂和溶液

A. 6. 2. 1 去离子水。

A. 6. 2. 2 pH4.01 标准缓冲溶液：精密称取在 $115^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ 干燥 2~3 小时的邻苯二甲酸氢钾 10.21g，加水使溶解并稀释至 1000mL，该溶液在 25°C 时 pH 值为 4.01。

A. 6. 2. 3 pH6.86 标准缓冲溶液：精密称取在 $115^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ 干燥 2~3 小时的磷酸氢二钠 3.55g 与磷酸二氢钾 3.40g，加水使溶解并稀释至 1000mL，该溶液在 25°C 时 pH 值为 6.86。

A. 6. 3 操作程序

A. 6. 3. 1 pH 计校准：按 pH 计的使用说明，调节室温在 25°C 或缓冲溶液在水浴中保温至 25°C ，先用 pH6.86 的标准缓冲溶液定位，然后用 pH4.01 的标准缓冲溶液校正斜率。

A. 6. 3. 2 测量：精密称取供试品 0.5g，加新沸冷却后的去离子水 50mL 溶解后，将供试品溶液在水浴中保温至 25°C ，用经校准的 pH 计测量溶液 pH。

A.7 乙醇残留测定方法

A.7.1 仪器和用具

- A.7.1.1 气相色谱仪（带氢火焰检测器）。
- A.7.1.2 进样系统：顶空进样器。
- A.7.1.3 色谱柱：DB-624 或同类型色谱柱。
- A.7.1.4 分析天平，感量为 0.1mg。

A.7.2 试剂和溶液

- A.7.2.1 标准品：乙醇，色谱级。
- A.7.2.2 纯水，GB/T 6682 规定的二级水。

A.7.3 色谱条件

A.7.3.1 检测条件

- A.7.3.1.1 载气：氦气。
- A.7.3.1.2 进样方式：顶空分流（分流比=1：10）。
- A.7.3.1.3 载气流量：1.2mL/min。
- A.7.3.1.4 进样体积：1mL。
- A.7.3.1.5 进样口温度：250℃。
- A.7.3.1.6 检测器温度：280℃。
- A.7.3.1.7 升温程序：见表 A2。

表 A2 升温程序

序号	升温程序 (°C/min)	柱温 (°C)	保持时间 (min)	运行时间 (min)
1	/	35	0	0
2	2	50	3	10.5
3	10	220	4	31.5

- A.7.3.2 顶空条件：见表 A3。

表 A3 顶空进样条件

样品制备程序	操作参数
平衡温度 (°C)	85
平衡时间 (min)	45
传输线温度 (°C)	125

A.7.4 溶液制备及测定

A.7.4.1 标准品溶液的制备

精密称取乙醇约 2.0000g，于 100mL 容量瓶中，用水定容，混匀。取该液 1.0mL 于 100mL 容量瓶中，用水稀释至 100mL，配制成乙醇浓度为 200 μ g/mL 的标准品使用溶液。取该标准品溶液 1.0 mL 加入到 20mL 顶空瓶中，加入水 2.0mL，立即塞紧瓶盖，同时压紧铝盖，备用。

A.7.4.2 供试品溶液的制备

精密称取供试品 1.0g（称准至 0.1mg）于 20mL 的顶空瓶中，加入水 3.0mL，立即塞紧瓶盖，同

时压紧铝盖，备用。

A. 7. 4. 3 测定

标准品溶液和供试品溶液顶空进样，注入气相色谱仪，记录色谱图。

A. 7. 5 结果计算

乙醇残留量以 w_7 计，按式 (A.9) 计算：

$$w_7 = \frac{A_1 \times C_1 \times V_5}{A_2 \times m_7} \dots\dots\dots (A.9)$$

式中：

w_7 ——供试品中乙醇的残留量，单位为毫克每千克 (mg/kg)；

A_1 ——供试品溶液中乙醇的峰面积；

A_2 ——标准品溶液中乙醇的峰面积；

C_1 ——标准品溶液中乙醇的浓度，单位为微克每毫升 ($\mu\text{g/mL}$)；

V_5 ——加入顶空瓶中的标准品溶液的体积 (1mL)；

m_7 ——供试品质量，单位为克 (g)；

注 3：本方法同时适用于甲醇和丙酮残留量测定，甲醇和丙酮标准品使用溶液浓度可配制成：甲醇 20 $\mu\text{g/mL}$ 、丙酮 5 $\mu\text{g/mL}$ 。

附录 B

(资料性附录)

B.1 标准品 (Bilberry dry extract CRS) 液相色谱图。

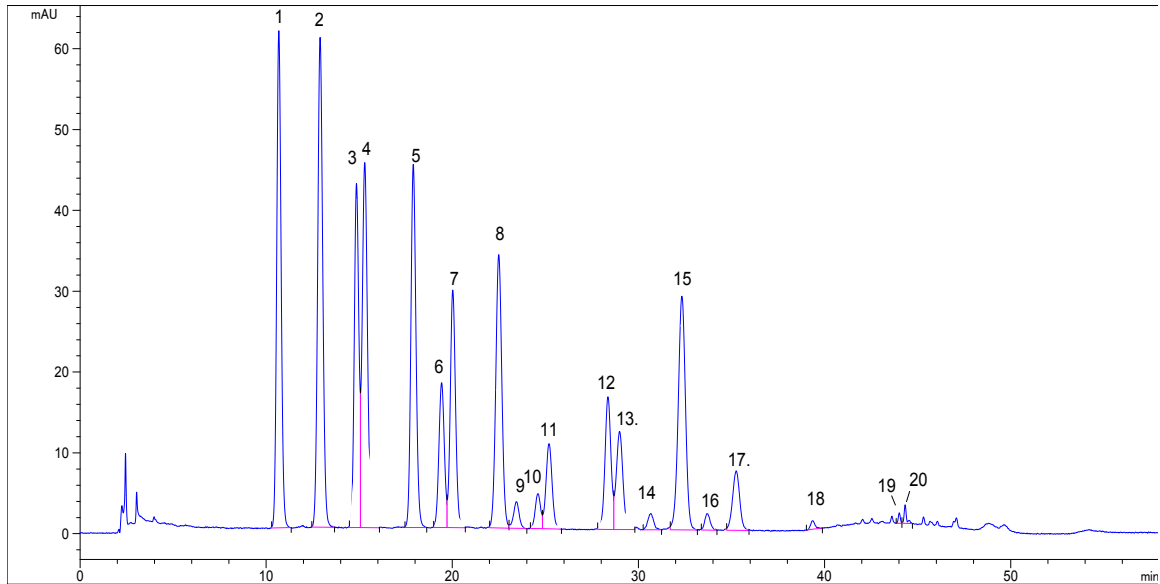


图 B.1 标准品 (Bilberry dry extract CRS) 液相色谱图

B.2 越橘提取物样品液相色谱图。

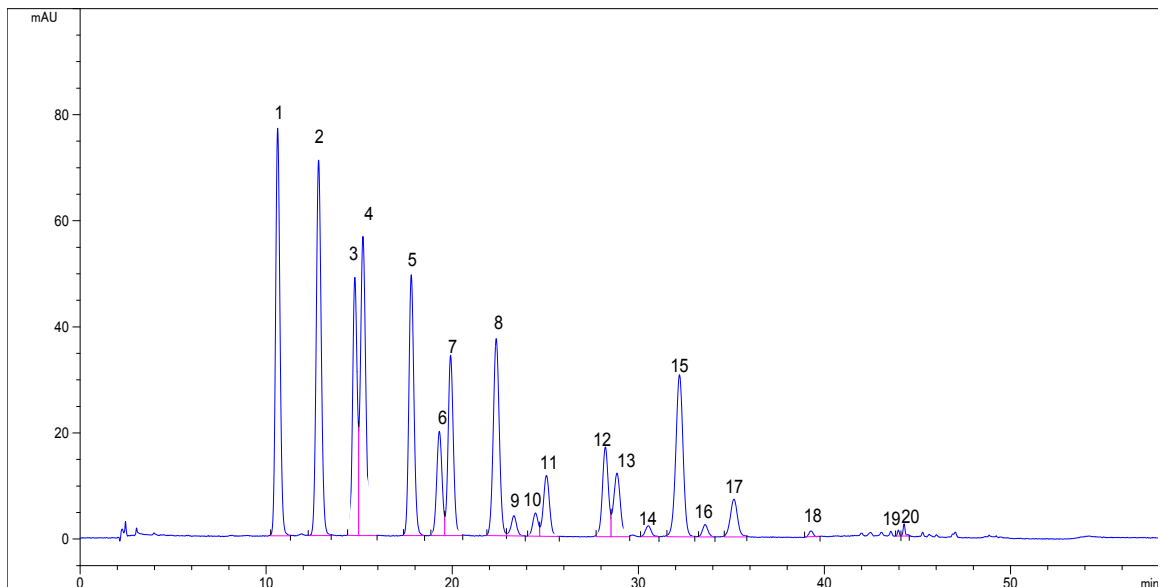


图 B.2 越橘提取物样品液相色谱图

图中组份及出峰顺序见表 B1。

表 B1 越橘提取物中各组份参考保留时间

序号	组份名称	保留时间 (min)	相对保留值
1	飞燕草素-3-O-半乳糖苷	10.67	0.60
2	飞燕草素-3-O-葡萄糖苷	12.88	0.72
3	矢车菊素-3-O-半乳糖苷	14.83	0.83
4	飞燕草素-3-O-阿拉伯糖苷	15.27	0.85
5	矢车菊素-3-O-葡萄糖苷	17.87	1.00
6	矮牵牛素-3-O-半乳糖苷	19.38	1.08
7	矢车菊素-3-O-阿拉伯糖苷	19.98	1.12
8	矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷	22.44	1.26
9	飞燕草素	23.37	1.31
10	芍药素-3-O-半乳糖苷	24.55	1.37
11	矮牵牛素-3-O-阿拉伯糖苷	25.15	1.41
12	芍药素-3-O-葡萄糖苷	28.31	1.58
13	锦葵素-3-O-半乳糖苷	28.93	1.62
14	芍药素-3-O-阿拉伯糖苷	30.61	1.71
15	锦葵素-3-O-葡萄糖苷	32.28	1.81
16	矢车菊素	33.65	1.88
17	锦葵素-3-O-阿拉伯糖苷	35.21	1.97
18	矮牵牛素	39.32	2.20
19	芍药素	43.99	2.46
20	锦葵素	44.30	2.48

非商业性声明：上述所采用的设备、色谱柱、标准对照品等，涉及具体商业品牌、型号的，仅供参考，无商业目的，鼓励标准使用者尝试使用不同品牌、型号的设备、色谱柱及标准品。