

中华人民共和国国家标准

GB/T ××××—××××

代替 GB/T 22248—2008

保健食品中甘草酸的测定

Determination of glycyrrhizic acid in health foods

××××-××-××发布

××××-××-××实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

前 言

本文件按照 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》的规定起草。

本文件规定了食品质量相关技术要求，食品安全相关要求见有关法律法规、政策和食品安全标准等文件。

本文件代替 GB/T 22248—2008《保健食品中甘草酸的测定》，与 GB/T 22248—2008 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 更改了适用范围(见第 1 章,2008 年版的第 1 章)；
- b) 更改了试样制备、提取和净化的方法(见 7.1~7.3,2008 年版的 5.1)；
- c) 更改了色谱参考条件(见 7.4,2008 年版的 5.3)；
- d) 更改了结果计算的公式和单位(见第 8 章,2008 年版的第 6 章)；
- e) 更改了方法的检出限、定量限(见第 10 章,2008 年版的第 1 章)。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由全国特殊食品标准化技术委员会(SAC/TC 466)提出并归口。

本文件起草单位：北京市疾病预防控制中心、中轻技术创新中心有限公司、中检科(上海)测试技术有限公司、中国食品发酵工业研究院有限公司、南京市食品药品监督检验院、完美(广东)日用品有限公司、中原食品实验室、中轻检验认证有限公司、浙江省食品药品检验研究院、沈阳药科大学、浙江工业大学、广西-东盟食品检验检测中心。

本文件主要起草人：郭巧珍、李晓敏、孙洁、钟其顶、宗凌丽、孟娟、常巧英、武竹英、刘明、梁晶晶、宋少江、周绪霞、陈小聪、陈楠楠、罗艳娟、郭新光、吴一凡、刘洋、张晶、柯润辉、严楠、陈碧莲、王海波、顾长瑜。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2008 年首次发布为 GB/T 22248—2008；

——本次为第一次修订。

保健食品中甘草酸的测定

1 范围

本文件描述了保健食品中甘草酸的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于硬胶囊、片剂、粉剂、膏剂、茶剂、颗粒剂、口服液、酒剂、醋剂等剂型形态的保健食品中甘草酸的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中的甘草酸经 50% 甲醇溶液提取，必要时经固相萃取柱净化，高效液相色谱分离，紫外检测器检测，以保留时间定性，外标法定量。

5 试剂或材料

除非另有规定，仅使用色谱纯试剂。

5.1 试剂

5.1.1 甲醇(CH₃OH)。

5.1.2 乙酸(CH₃COOH)。

5.1.3 乙酸铵(C₂H₇O₂N)。

5.1.4 水，按 GB/T 6682 规定的一级水。

5.2 试剂配制

5.2.1 50% 甲醇溶液：取 500 mL 甲醇(5.1.1)，用水定容至 1 000 mL，混匀。

5.2.2 乙酸铵-0.5% 乙酸溶液(0.1 mol/L)：取 7.71 g 乙酸铵(5.1.3)和 5 mL 乙酸(5.1.2)，用水溶解并定容至 1 000 mL，混匀。

5.3 标准品及标准溶液配制

5.3.1 标准物质/标准样品

甘草酸铵标准品($C_{42}H_{65}NO_{16}$, CAS号:53956-04-0):纯度不低于99%,或经国家认证并授予证书的标准物质或标准样品。

5.3.2 标准溶液配制

5.3.2.1 甘草酸铵标准储备液(1 mg/mL):称取甘草酸铵标准品(5.3.1)约10 mg(精确至0.1 mg),用甲醇(5.1.1)溶解并定容至10 mL容量瓶中,混匀,−18 °C保存,有效期12个月。

5.3.2.2 甘草酸铵系列标准工作溶液:分别吸取甘草酸铵标准储备液(5.3.2.1)适量,用50%甲醇溶液(5.2.1)配制浓度为1 μg/mL、2 μg/mL、10 μg/mL、50 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/mL的甘草酸铵系列标准工作溶液。临用现配。

5.4 材料

5.4.1 固相萃取小柱(150 mg, 6 mL):填料为二乙烯苯和N-乙烯基吡咯烷酮共聚物,或性能相当者。

5.4.2 滤膜:0.45 μm,有机系。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪:配备紫外检测器或相当者。

6.2 超声波清洗器。

6.3 离心机:转速不低于8 000 r/min。

6.4 旋涡仪。

6.5 电子天平:感量0.1 mg和0.01 g。

7 分析步骤

7.1 试样制备

7.1.1 固体试样(硬胶囊、片剂、粉剂、颗粒剂、茶剂等):片剂取不少于20粒或不少于5 g样品,研磨成粉状,混匀;硬胶囊样品取不少于20粒或不少于5 g样品,取其内容物,混匀,必要时研磨;粉剂、颗粒剂样品,取不少于20 g,必要时研细;茶剂取不少于20 g试样,研磨成粉状。

7.1.2 半固体试样(膏剂等):取不少于20 g样品,混合均匀。

7.1.3 液体类试样(口服液、酒剂、醋剂等):取不少于5个最小规格包装或不低于50 mL,混合均匀。

7.2 试样提取

7.2.1 固体和半固体试样(片剂、硬胶囊、粉剂、颗粒剂、茶剂、膏剂等)

称取1 g样品(精确至0.01 g)于50 mL离心管中,加入10 mL 50%甲醇溶液(5.2.1)。涡旋至分散,超声提取15 min,8 000 r/min离心5 min。取上清液滤膜(5.4.2)过滤,待测。

7.2.2 液体试样(口服液、酒剂、醋剂等)

移取1 mL样品于50 mL离心管中,加入9 mL 50%甲醇溶液(5.2.1)。涡旋1 min,超声提取

5 min,以 8 000 r/min 离心 5 min。取上清液经滤膜(5.4.2)过滤,待测。

7.3 试样净化

预处理后溶液浑浊或测定时存在干扰峰时,需要经过固相萃取小柱净化。移取 5 mL 上述试样(7.2)加 2 mL 水后通过固相萃取小柱(5.4.1),匀速通过小柱,并挤出柱中残留的液体,弃去流出液。用 5 mL 甲醇(5.1.1)洗脱小柱,经滤膜(5.4.2)过滤,待测。

7.4 色谱参考条件

色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:C₁₈柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)或性能相当者;
- b) 柱温:35 ℃;
- c) 检测波长:250 nm;
- d) 流动相:A 相为甲醇(5.1.1),B 相为乙酸铵-0.5%乙酸溶液(5.2.2),梯度洗脱条件应符合表 1 的规定;
- e) 进样量:10 μL;
- f) 流速:1 mL/min。

表 1 梯度洗脱程序

时间 min	A 相 %	B 相 %
0	67	33
10	67	33
10.5	95	5
14.5	95	5
15	67	33
20	67	33

7.5 标准曲线的绘制

将标准工作溶液分别注入高效液相色谱仪中,测定各组分的峰面积(甘草酸铵标准溶液(100 μg/mL)高效液相色谱图见附录 A 中图 A.1),以相应标准工作溶液的质量浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。

7.6 试样溶液的测定

将试样溶液注入高效液相色谱仪中,得到相应峰面积[试样(粉剂)中甘草酸铵高效液相色谱图见图 A.2],根据标准曲线,以外标法计算待测试样溶液中甘草酸的质量浓度。可根据试样中组分的含量,在不超出标准曲线测定范围要求的条件下,减少样品称样量或适当增加试样稀释倍数 f 。

平行做两份试验。

8 结果计算与表述

试样中甘草酸的含量按公式(1)计算:

$$X = \frac{\rho \times V \times f \times 0.980 \times 100}{m \times 1\,000 \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X —— 试样中甘草酸的含量,单位为克每百克或克每百毫升(g/100 g 或 g/100 mL);
 - ρ —— 由标准曲线计算得到的试样溶液中待测组分的质量浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
 - V —— 试样净化后洗脱液定容体积,单位为毫升(mL);
 - f —— 稀释倍数;
 - m —— 试样的取样量,单位为克或毫升(g 或 mL);
 - 0.980 —— 甘草酸铵(分子质量:839.97)折算为甘草酸(分子质量:822.93)的比值;
 - 100、1 000 —— 单位换算系数。
- 结果保留三位有效数字。

9 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应超过算术平均值的 10%。

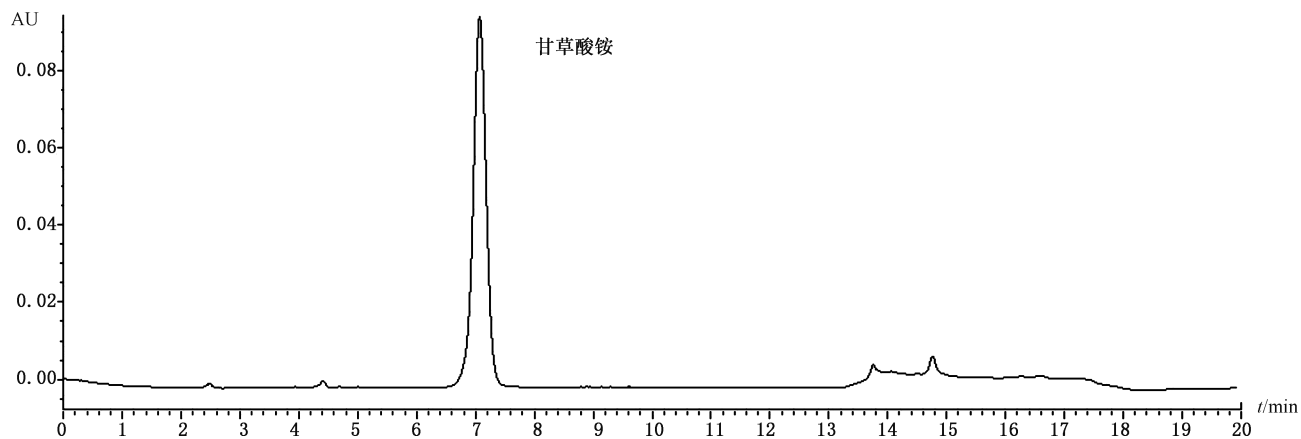
10 检出限与定量限

固体和半固体试样:称样量为 1 g 时,方法的检出限为 0.001 g/100 g,定量限为 0.002 g/100 g。
液体试样:取样量为 1 mL 时,方法的检出限为 0.001 g/100 mL,定量限为 0.002 g/100 mL。

附录 A

(资料性)

甘草酸铵标准溶液和试样色谱图

A.1 甘草酸铵标准溶液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)高效液相色谱图见图 A.1。图 A.1 甘草酸铵标准溶液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)高效液相色谱图

A.2 试样(粉剂)中甘草酸铵高效液相色谱图见图 A.2。

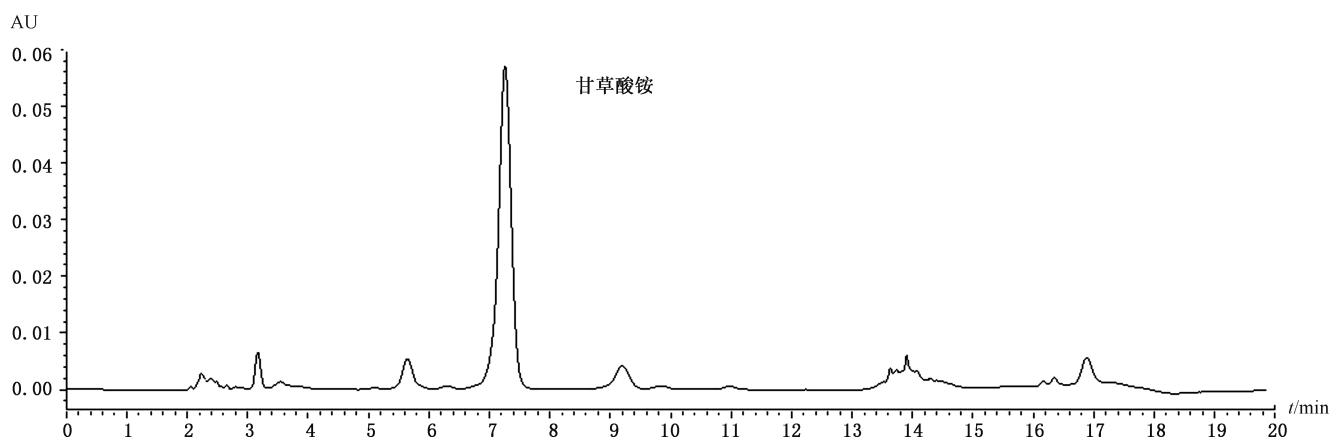


图 A.2 试样(粉剂)中甘草酸铵高效液相色谱图