

ICS 65.120

CCS B 46



# 中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—202X

## 植物提取物类饲料添加剂特征图谱 制定技术要求

Technical Requirements of Characteristic Spectrum of Plant Extracts Feed Additives

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

(公开征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 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。

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专利的责任。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）提出并归口。

本文件起草单位：湖南农业大学、中国农业科学院畜牧兽医研究所

本文件主要起草人：

# 植物提取物类饲料添加剂特征图谱制定技术要求

## 1 范围

本文件给出了植物提取物类饲料添加剂特征图谱的术语和定义，规定了技术要求。  
本文件适用于用高效液相色谱法和气相色谱法制定植物提取物类饲料添加剂特征图谱。

## 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（包括所有的修订单）适用于本文件。

《中华人民共和国兽药典》

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**植物提取物类饲料添加剂** plant extracts feed additives

以单一植物的特定部位或全植株为原料，经过提取和（或）分离纯化等过程，定向获取和浓集植物中的某一种或多种成分，一般不改变植物原有成分结构特征，在饲料加工、制作、使用过程中添加的少量或者微量物质。

注1：包括纯化提取物、组分提取物和简单提取物。

注2：产品形态可为固态、液态和膏状。

注3：可添加辅料或辅赋形剂。

### 3.2

**纯化提取物** purified extracts

指植物经过提取、分离和纯化等过程得到的单一成分产品，单一成分的含量应占提取物的90%（以干基计）以上。

### 3.3

**组分提取物** component extracts

指植物经过提取、分离和（或）纯化得到可定性的有效组分混合物产品。

注：以类组分或多个有效成分进行量化质控标示。

### 3.4

**简单提取物** simple extracts

指植物经提取、浓缩和（或）干燥，未经分离纯化得到的产品。

注：以代表性质量标示物进行可量化质控标示。

### 3.5

**特征图谱** characteristic spectra

植物提取物经过适当的前处理后,采用色谱等分析方法,得到的能够辨识该产品来源植物共有组分群体特征的图谱。

## 3.6

**特征成分** characteristic component

规定基原、部位、采收期和工艺等来源的不同批次的植物提取物中含有的共有物质。

## 3.7

**类组分** class components

一组结构相似化合物组成的混合物。

## 3.8

**有效成分** effective ingredient

植物提取物中具有特定的生物活性、能代表其应用效果的单一成分。

## 3.9

**有效组分** effective components

植物提取物中具有特定的生物活性、能代表其应用效果的多个有效成分,或一组、多组类组分。

## 3.10

**标示成分** indicator ingredient

用于表征植物提取物的原料或产品质量的特征成分。

## 3.11

**特有成分** specific ingredient

植物提取物产品及其来源植物中独有的物质。

## 3.12

**对照提取物** reference extract

经特定提取工艺制备的含有多种主要有效成分或标示成分,用于植物提取物产品鉴别或含量测定用的标准物质。

注:提取物的原料必须来源准确,制备工艺、辅料等应与登记产品一致。

## 3.13

**相对保留时间** relative retention time

待测成分色谱峰的保留时间与指定色谱峰的保留时间之比。

注:相对保留时间的英文简写一般为RRT。

## 3.14

**相对峰面积** relative peak area

待测成分色谱峰的峰面积与指定色谱峰的峰面积之比。

注：相对峰面积的英文简写一般为RPA。

### 3.15

**参照物** reference substance

特征图谱中用于与试样图谱进行色谱峰保留时间比对的对照品。

注：一般选取特征图谱中容易获取的一个或多个主要有效成分、次要有效成分或主要标示成分的对照品作为参照物。

### 3.16

**对照品** reference substance

指采用理化方法进行鉴别、检查或含量测定时所用的标准物质。

注：对照品的特性量值一般按纯度(%)计。

### 3.17

**标准峰** standard peak

特征图谱中特征峰相对保留时间计算时作为参照峰的色谱峰。

注：标准峰通常用S峰表示。

## 4 技术要求

### 4.1 特征图谱内容

#### 4.1.1 总体要求

特征图谱的内容应包括但不限于标题、来源、测定方法、色谱条件及系统适用性试验、参照物溶液的制备、试样溶液的制备、测定、对照特征图谱“图”的信息要求。特征图谱内容示例参见附录A。

#### 4.1.2 标题

“产品名称”加“特征图谱”。

#### 4.1.3 来源

说明提取物来源植物的基原和使用部位及制备工艺等信息。

#### 4.1.4 测定方法

色谱法测定特征图谱应采用高效液相色谱法或气相色谱法，按照《中华人民共和国兽药典》通则中高效液相色谱法或气相色谱法中相关要求。

#### 4.1.5 色谱条件及系统适用性试验

应写明色谱柱、流动相、柱温、检测器等色谱条件及系统适用性要求。采用梯度洗脱或程序升温时，流动相比比例或柱温的变化及所对应的时间程序以表格的形式列出。系统适用性要求应写明S峰的理论板数。

#### 4.1.6 参照物溶液的制备

写明作为参照物的对照品溶液配制过程、溶液浓度及配制溶剂。如准确称取适量对照品，用适宜溶剂配制成一定浓度的溶液，混匀。

#### 4.1.7 试样溶液的制备

写明待测样品溶液制备过程、溶液浓度及配制溶剂，所配制的溶液需确保植物提取物的主要化学成分及特征成分在特征图谱中得到体现。如准确称取适量植物提取物，用适当溶剂溶解定容，混匀。

#### 4.1.8 测定

##### 4.1.8.1 数据采集

分别精密吸取适宜进样量的参照物溶液和试样溶液，注入色谱仪，按照“色谱条件及系统适用性试验”项的色谱条件进行测定，记录色谱图。

##### 4.1.8.2 对照特征图谱

应提供对照特征图谱，规定对照特征谱图中特征峰的数目，用阿拉伯数字标明S峰及各特征峰的位置；标明对照特征图谱中的各特征峰与S峰相对保留时间的规定值，规定测定值与规定值允许的偏差范围；必要时，可规定指定特征峰之间相对峰面积的值在一定范围内。

对照特征图谱“图”的信息要求：

- 1) “图”的横坐标为保留时间，单位为分钟（min）；
- 2) “图”的纵坐标为色谱峰响应，单位根据使用的检测器类型确定；
- 3) “图”中用阿拉伯数字标明S峰及各特征峰。
- 4) “图”的图注中应注明化学结构明确特征峰的化学名称，提供建立对照特征图谱使用的色谱柱类型，必要时可注明所用色谱柱型号及厂家。

##### 4.1.8.3 测定结果评判标准

将试样图谱与对照特征图谱或对照提取物图谱进行目测比较，两者应具有相似的轮廓和相同数量的特征峰；试样图谱中应包含有与所有作为参照物的对照品色谱峰保留时间一致的特征峰。计算试样图谱中的各特征峰与S峰的相对保留时间测定值，应在规定的范围之内；必要时，计算试样图谱中指定特征峰之间相对峰面积的值，测得值应在规定的范围之内。

注：要求提供对照提取物的，还须将试样图谱与对照提取物图谱进行比较，确保两者各特征峰保留时间一致。

#### 4.1.9 其他

视情况提供上述要求中未能体现的其他需要说明的事项，如有必要提供对照提取物的，应说明对照提取物的来源及其溶液的制备、测定方法。

注：对照提取物溶液的制备参照4.1.7。

## 4.2 特征图谱制定起草说明

### 4.2.1 总体要求

目的在于说明特征图谱中各个项目确定的理由，明确各项目指标的确定依据、技术条件和注意事项等，起草说明既要有理论解释，又要有实践工作的总结及试验数据。

### 4.2.2 标题中产品名称的命名依据

根据拟申报或已登记的植物提取物类饲料添加剂产品的通用名称命名。

### 4.2.3 提取物来源的依据

应说明植物提取物类饲料添加剂的来源植物基原、使用部位及简单描述制备工艺。

#### 4.2.3.1 来源植物

应规定植物提取物类饲料添加剂原料的植物基原和使用部位。有多种合规基原的原料在产品中应注明单一基原，不能多基原的原料混合提取；规定了植物特定部位的，不应与该植物的其它部位混用。来源植物包括以下两种情形：

#### 4.2.3.1.1 饲用植物

《饲料原料目录》中收录的植物品种及特定部位。

注：《饲料原料目录》中的食用菌和藻类，以及具有传统食用习惯的食品、按照传统既是食品又是中药材的物质和新食品原料的来源植物可参照饲用植物。

#### 4.2.3.1.2 其他植物

饲用植物以外的植物，应对其基原、使用部位提供说明和依据，根据实际情况的需要，对采收时间和方法、产地及产地初加工方法提供说明或依据，并在起草说明中说明理由。

#### 4.2.3.2 制备工艺

应简单说明植物提取物类饲料添加剂的初加工方式及生产工艺。

#### 4.2.4 测定方法的选择依据

根据植物提取物类饲料添加剂中所含化学成分的理化性质，按照《中华人民共和国兽药典》通则中高效液相色谱法或气相色谱法测定的要求，说明选择高效液相色谱法或气相色谱法作为测定方法的理由和依据。

#### 4.2.5 色谱条件与系统适用性试验确定依据

##### 4.2.5.1 制定特征图谱选择的仪器类型

根据试样中被测成分的性质，说明选择使用仪器类型的理由。

##### 4.2.5.2 色谱条件的确定

在合适的时间范围内，色谱图应获得尽可能多的色谱峰，确保主要成分获得较好的色谱分离，满足有效信息量最大化原则。

高效液相色谱法：考察检测器类型及参数、色谱柱填料种类及规格、流动相种类及洗脱方式、数据采集时间、柱温、流速、进样量等。

气相色谱方法：考察检测器类型及参数、色谱柱填料种类及规格、升温方式（如程序升温）、数据采集时间、进样口温度、分流比、载气流量、进样量等。

##### 4.2.5.3 测定时间确定

采用高效液相色谱法和气相色谱法制定特征图谱，其特征图谱的测定时间通常不超过1小时。根据4.2.5.2中确定色谱条件下的测定时间 $t$ ，测定时间 $t$ 后继续以最强的洗脱条件持续洗脱，考察测定时间 $t$ 以后的色谱峰情况，获得一张记录时间为2倍测定时间（ $2t$ ）的图谱，以确保样品所包含的主要成分均在图谱中体现，并满足有效信息量最大化原则。

##### 4.2.5.4 需建立多张特征图谱的理由

对于成分类别相差较大的样品，可根据类别成分的性质，选择多种色谱条件，建立多张特征图谱。

##### 4.2.5.5 参照物S峰理论板数的确定

液相色谱法和气相色谱法系统适用性试验中理论板数的测定参照《中华人民共和国兽药典》通则中高效液相色谱法或气相色谱法。

#### 4.2.6 分析方法建立的依据

##### 4.2.6.1 试样溶液制备的依据

根据试样中所含成分的理化性质建立溶解、提取方法，应对主要影响因素包括溶剂种类和用量、提取方式和温度等进行考察，确定适宜的制备方法，确保试样中主要成分、特征成

分转移至溶液中,尽可能使试样中被测成分转移至溶液中,并提供相应的研究数据。对特殊组分,还可采用特殊的前处理方法,如多糖可采用水解、衍生后的单糖建立特征图谱进行表征。

#### 4.2.6.2 参照物溶液制备的依据

特征图谱必须设立参照物,说明作为参照物的对照品溶液制备方法的依据。应说明作为参照物的对照品的化学结构、化学名称、来源和纯度,根据检测方法的需要,选择合适的方法,对配制所需溶剂、浓度等进行考察。

#### 4.2.7 方法学验证的要求

分析方法的确定须经过稳定性、精密度、重复性和再现性试验等方法学验证,提供方法学验证的相关资料。

##### 4.2.7.1 精密度试验

取同一试样溶液,连续进样6次,考察各特征峰与S峰相对保留时间和相对峰面积的一致性,相对保留时间的RSD不得大于3%,相对峰面积的RSD不得大于5%,确定测试仪器的精密度。

##### 4.2.7.2 稳定性试验

取同一试样溶液,分别在不同时间检测,考察各特征峰与S峰相对保留时间和相对峰面积的一致性,相对保留时间的RSD不得大于3%,相对峰面积的RSD不得大于5%,确定试样溶液在规定测试时间内的稳定性。

##### 4.2.7.3 重复性试验

取同一批号的试样6份,按照确定的试样溶液制备方法和检测方法,对试样进行检测,考察各特征峰与S峰相对保留时间和相对峰面积的一致性,相对保留时间的RSD不得大于3%,相对峰面积的RSD不得大于5%,确定测试方法的重复性。

##### 4.2.7.4 再现性试验

应在不少于3家实验室按照方法标准进行方法重现,试验内容应包括重复性试验、考察特征峰数、考察各特征峰与S峰相对保留时间测定值及与规定值的偏差,并出具试验报告。

#### 4.2.8 特征图谱及技术参数的确定依据

##### 4.2.8.1 对照特征图谱建立

###### 4.2.8.1.1 特征峰的选择和标定

###### 4.2.8.1.1.1 代表性样品应符合以下要求:

- a) 样品批数不少于15批次
- b) 以相同原料、相同工艺、连续生产或同一批次生产的同一规格的产品为一批。
- c) 植物提取物原料一般应覆盖来源植物合规品种、产地、采收时间及初加工方式的代表性样品。
- d) 基于特定来源植物原料开发的植物提取物类饲料添加剂,其原料来源应覆盖来源植物特定的品种、产地、采收时间、部位及初加工方式的代表性样品。

4.2.8.1.1.2 根据来源准确且具代表性样品的测定结果,通过中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件或仪器厂家数据分析软件对色谱图进行叠加,选择各批次样品图谱中共有的色谱峰作为特征峰,根据图谱中共有色谱峰的数量和色谱峰位置分布,明确特征图谱的特征峰或特征峰组合(一般指未获得良好色谱分离的共有色谱峰),采用阿拉伯数字标定各共有色谱峰,一般选择4-8个共有色谱峰作为特征峰,共有色谱峰应尽可能地分布在色谱图的不同位置,应包括但不限于植物提取物类饲料添加剂的特有成分、主要有效成分、次要有效成分或主要

标示成分,对于组分少的提取物可根据实际情况确定特征峰数量;纯化提取物视情况可选择除主要有效成分外的微量组分作为特征峰。

#### 4.2.8.1.2 特征峰的验证

以仪器厂家数据分析软件或第三方色谱数据分析软件将已标定的特征峰进行积分,一般要求已标定的共有色谱峰在每批次样品中均能被自动积分识别(积分参数根据实际情况进行设定,如一般以信噪比 $\geq 3$ 的色谱峰能被积分为准),若已标定的共有色谱峰在一批次或多批次样本中不能被数据处理软件自动识别和积分,则该共有色谱峰不能被标定为特征峰。

#### 4.2.8.1.3 特征峰的指认

特征图谱应尽可能阐明其特征峰的化学结构及化学名称,一般采用对照品进行确认。对无法获取对照品的未知特征峰,根据实际情况采用LC-MS或GC-MS进行推测说明可能的化合物结构,从而根据确认或推测的特征峰成分确定所建立图谱的专属性。

#### 4.2.8.1.4 参照物和S峰的选择

制定特征图谱必须设立参照物,根据特征图谱中各特征峰的反应和稳定性,通过特征峰指认后,一般选取容易获取的一个或多个主要有效成分、特有成分、次要有效成分或主要标示成分的对照品作为参照物;纯化提取物视情况可选择除主要有效成分外的微量组分特征峰的对照品作为参照物。

按照先主要有效成分、特有成分、次要有效成分、大量存在或各批次中含量较稳定的成分的顺序选择1个参照物为S峰。

注:如果没有合适的对照品,可选择适宜的内标物作为参照物,内标物一般选择与特征图谱中的特征峰色谱保留行为相似,分离度良好的化合物。

#### 4.2.8.1.5 特征峰相对保留时间和相对峰面积的规定

——特征峰相对保留时间的规定。以参照物S峰的保留时间作为1,计算各特征峰与参照物S峰的相对保留时间,以不少于15批次样品间各特征峰相对保留时间的平均值为规定值,各批次样品相对保留时间的相对标准偏差RSD不得大于3%。以相对保留时间作为特征图谱的辨识依据。

——特征峰相对峰面积值范围的规定。根据实际情况需要,有必要确定指定特征峰与S峰或特征峰之间的相对峰面积要求时,应说明相关理由。根据15批次以上样品的色谱图,计算指定特征峰与S峰或特征峰之间的峰面积比值,确定相对稳定的比值范围。未达基线分离的特征峰组合,应计算其总峰面积作为峰面积。

#### 4.2.8.1.6 对照特征图谱的生成

根据15批以上来源准确且具代表性样品的测定结果,使用中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件进行数据处理,通过手动方式对已标定和验证的特征峰进行峰匹配,使用“生成对照”功能得到对照特征图谱。

对于成分类别相差较大、一张图谱难以体现其所有特征成分的样品,可根据特征成分的性质,选择多种色谱条件下的测定结果建立多张对照特征图谱。

对于纯化提取物,由于其主成分结构明确,可通过含量测定判定其是否达标,但无法对其来源进行评价。因此,可根据实际情况需要建立除主成分外的来源植物其他微量组分的特征图谱,用以判断其来源植物和生产工艺的一致性。

### 4.2.8.2 测定结果判定

#### 4.2.8.2.1 图谱轮廓

试样图谱应与对照特征图谱从特征峰的数量及轮廓进行目测比较,并将特征峰与对应参照物的对照品色谱峰保留时间进行比对;

若有对照提取物,还可与随行对照提取物测定获得的图谱从特征峰的数量和保留时间进行手动叠加比较轮廓相似性进行判定。

#### 4.2.8.2.2 相对保留时间

以4.2.8.1.5中各特征峰与S峰相对保留时间的规定值作为判定依据,待测样品图谱中各特征峰与S峰相对保留时间测定值与规定值的偏差在±10%之内,偏差按公式(1)进行计算。

偏差计算公式:

$$x = \frac{RRT_1 - RRT_0}{RRT_0} \leq 10\% \dots\dots\dots(1)$$

式中:

$x$ ——待测样品图谱中各特征峰与S峰相对保留时间测定值与规定值的偏差;

$RRT_1$ ——试样图谱中指定特征峰与S峰相对保留时间的测定值;

$RRT_0$ ——对照图谱中指定特征峰与S峰相对保留时间的规定值;

#### 4.2.8.2.3 相对峰面积

有相对峰面积比值要求的,以4.2.8.1.5规定指定特征峰与S峰或特征峰之间的峰面积比值范围作为评判依据,按规定范围给出判定。

注:针对4.2.8无法通过试样中原有组分直接建立适宜特征图谱的,可采用特殊前处理方法,如试样中多糖通过水解方式得到单糖或通过对多个单糖衍生物来表征多糖,将单糖视为试样的有效成分参照以上方法进行特征图谱的结果判定。

#### 4.2.9 对照提取物制备的依据

有提供对照提取物要求时,一般由首次申报单位自行研制,可按照相关要求报送相应的对照提取物研究资料 and 提供足量的对照提取物实物样品、对照特征图谱、原料来源和制备过程等信息。

附录 A  
(资料性)  
特征图谱内容示例

**甘草提取物特征图谱**

【来源】为豆科植物甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)、胀果甘草 (*Glycyrrhiza inflata* Bat.) 或光果甘草 (*Glycyrrhiza glabra* L.) 的干燥根和根茎经70%乙醇提取加工制成的干粉。

【特征图谱】按照《中华人民共和国兽药典》高效液相色谱法测定。

**色谱条件与系统适用性试验**

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(柱长为 25 cm, 内径为 4.6 mm, 粒径为 5 μm); 以乙腈为流动相 A, 以 0.05%磷酸溶液为流动相 B, 按下表中的规定进行梯度洗脱; 流速为 1.0 mL/min; 柱温为 30 °C; 检测波长为 276 nm。理论板数按甘草苷峰计算应不低于 50000。

表 A.1 甘草提取物特征图谱高效液相色谱梯度洗脱程序表

| 时间(分钟)  | 流动相 A (%) | 流动相 B (%) |
|---------|-----------|-----------|
| 0 ~ 15  | 10→25     | 90→75     |
| 15 ~ 35 | 25→50     | 75→50     |
| 35 ~ 60 | 50→90     | 50→10     |
| 60 ~ 65 | 90→90     | 10→10     |

**参照物溶液的制备**

分别精密称定蔗糖甘草苷、甘草苷、甘草酸对照品 5 mg, 置于 25 mL 棕色容量瓶中, 加甲醇超声溶解并定容至刻度, 制成每 1 mL 含 0.2 mg 对照品的参照物储备液。

**试样溶液的制备**

取甘草提取物约 0.2 g, 准确称量, 置具塞锥形瓶中, 准确加入 70%乙醇溶液 25 mL, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 10 min, 放冷, 再称定重量, 用 70%乙醇补足减失的重量, 摇匀, 静置, 取上清液滤过, 取滤液作为试样溶液。

**测定**

分别精密吸取试样溶液、参照物溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。

试样图谱中应呈现 8 个特征峰, 并与对照特征图谱(图 A.1)中的 8 个特征峰相对应, 其中峰 2、峰 3、峰 5 应分别与蔗糖甘草苷、甘草苷、甘草酸的对照品保留时间相一致, 与甘草苷色谱峰相应的峰标定为 S 峰(峰 3), 计算峰 1、2、4、5、6、7、8 与 S 峰的相对保留时间, 相对保留时间应在规定值的±10%以内。规定值为 0.596(峰 1)、0.976(峰 2)、1.533(峰 4)、2.109(峰 5)、2.622(峰 6)、2.882(峰 7) 和 3.179(峰 8)。

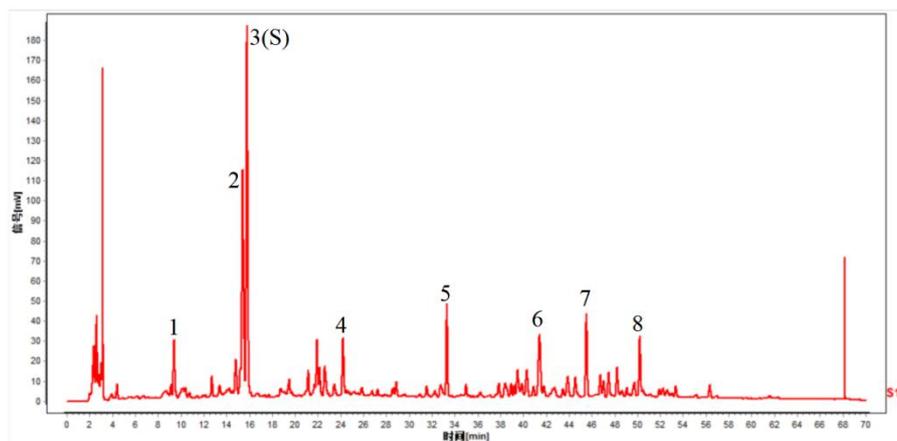


图 A.1 对照特征图谱

峰 2: 芹糖甘草苷; 峰 3 (S 峰): 甘草苷; 峰 5: 甘草酸

色谱柱: C<sub>18</sub> (4.6 mm× 250 mm, 5 μm)

### 参考文献

- [1] 《植物提取物类饲料添加剂申报指南》，农业农村部（农办牧〔2023〕2号）
- [2] 《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》（GB/T 1.1-2020）
- [3] 《国家药品标准工作手册》
- [4] 《标准编写规则 第1部分：术语》（GB/T 20001.1）
- [5] 《中华人民共和国兽药典》（2020年版）
- [6] 《中华人民共和国药典》（2020年版）
- [7] 《国家药品标准物质通则》
- [8] 《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求》（暂行）
- [9] 《天然植物饲料原料通用要求》（GB/T19424-2018）