



中华人民共和国国家标准

GB/T ×××××—202×

代替 GB/T 22247—2008

保健食品中淫羊藿苷的测定

Determination of icariin 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 22247—2008《保健食品中淫羊藿苷的测定》，与 GB/T 22247—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) 增加了试样制备(见 7.1)；
- c) 更改了试样处理方法(见 7.2,2008 年版的 5.1)；
- d) 更改了液相色谱参考条件(见 7.3,2008 年版的 5.3)；
- e) 更改了检出限、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：河北省食品检验研究院、中轻技术创新中心有限公司、中国食品发酵工业研究院有限公司、安利(中国)日用品有限公司、河南大学、南京市食品药品监督检验院、劲牌有限公司、广东省科学院测试分析研究所(中国广州分析测试中心)、宁波御坊堂生物科技有限公司。

本文件主要起草人：张岩、钟其顶、武竹英、范素芳、康文艺、李强、罗蓉、王道兵、应月、王李平、安红梅、岳红卫、吴一凡、杨静、刘绪强、李先芝、贾福怀、刘其南、张方圆、马俊展、晏永球。

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 22247—2008；

——本次为第一次修订。

保健食品中淫羊藿苷的测定

1 范围

本文件描述了保健食品中淫羊藿苷的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于片剂、硬胶囊、软胶囊、粉剂、颗粒剂、口服液、丸剂、膏剂、酒剂、茶剂等剂型形态的保健食品中淫羊藿苷的测定。

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

试样中的淫羊藿苷采用 70% 乙醇溶液提取，含油试样用正己烷除脂，过滤，经高效液相色谱分离，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 水，按 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1.2 乙醇(C₂H₅OH)。

5.1.3 甲醇(CH₃OH)。

5.1.4 正己烷[CH₃(CH₂)₄CH₃]：分析纯。

5.1.5 乙腈(CH₃CN)。

5.1.6 70% (体积比)乙醇溶液：量取 700 mL 乙醇(5.1.2)，加水稀释至 1 000 mL，混匀备用。

5.2 标准物质或标准样品

淫羊藿苷标准品：纯度不小于 98%，或经国家认证并授予证书的标准物质或标准样品。标准物质的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式和结构式见附录 A 中表 A.1。

5.3 标准溶液配制

5.3.1 淫羊藿苷标准储备液(200 $\mu\text{g}/\text{mL}$):称取 0.02 g(精确至 0.000 1 g)淫羊藿苷标准品(5.2)至烧杯中,用甲醇(5.1.3)溶解,转移至 100 mL 容量瓶中,甲醇(5.1.3)定容。2 $^{\circ}\text{C}$ ~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期 3 个月。

5.3.2 淫羊藿苷系列标准工作溶液:分别吸取淫羊藿苷标准储备液(5.3.1)50 μL 、100 μL 、250 μL 、1 250 μL 、2 500 μL 、5 000 μL ,用甲醇(5.1.3)定容至 10mL 容量瓶中,配制成质量浓度分别为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列标准工作溶液。临用现配。

5.4 材料

5.4.1 通过式固相萃取柱:填料为反相混合型 *N*-乙炔吡咯烷酮和二乙烯基苯共聚物,6 mL/200 mg,或性能相当者。

5.4.2 滤膜:0.22 μm ,有机系。

6 仪器设备

6.1 高效液相色谱仪:配有紫外检测器或相当者。

6.2 电子天平:感量 0.000 1 g 和 0.001 g。

6.3 离心机:转速不低于 9 000 r/min。

6.4 超声波清洗器。

6.5 涡旋混合器。

6.6 匀浆机。

6.7 粉碎机。

7 分析步骤

7.1 试样制备

不同剂型形态试样制备步骤如下:

- a) 片剂:取不少于 20 粒或不少于 5 g 样品,研磨成粉状,混匀;
- b) 粉剂:取不少于 5 g 样品,研磨成粉状,混匀;
- c) 颗粒剂:取不少于 5 g 样品,研磨成粉状,混匀;
- d) 丸剂:取不少于 20 粒或不少于 5 g 样品,研磨成粉状,混匀;
- e) 茶剂:取不少于 5 g 样品,研磨成粉状,混匀;
- f) 硬胶囊:取不少于 20 粒或不少于 5 g 样品,取其内容物,必要时研细,混匀;
- g) 膏剂:取不少于 20 g 样品,用匀浆机搅拌,混匀;
- h) 半固体试样(软胶囊等):取不少于 20 粒或不少于 5 g 样品,剪开,挤出其内容物,混匀;
- i) 液体试样(口服液、酒剂等):取不少于 5 个最小规格包装或不少于 50 mL,混匀。

7.2 试样处理

7.2.1 固体试样(硬胶囊、片剂、粉剂、颗粒剂、丸剂、膏剂、茶剂等)

称取 1 g~2 g 混合均匀的试样(精确至 0.001 g),或根据样品标签标识使所取试样中淫羊藿苷的含量约为 10 mg,置于 50 mL 刻度管中,加入 70%(体积比)乙醇溶液(5.1.6)25 mL,涡旋混合 1 min,超声提取 20 min,9 000 r/min 离心 5 min,将上清液全部转移至 25mL 容量瓶中,用 70%(体积比)乙醇溶液

(5.1.6)定容,吸取 3 mL 上清液过通过式固相萃取柱(5.4.1),经滤膜(5.4.2)过滤,待测。

7.2.2 半固体试样(软胶囊等)

称取 1 g~2 g 混合均匀的试样(精确至 0.001 g),或根据样品标签标识使所取试样中淫羊藿苷的含量约为 5 mg,置于 50 mL 离心管中,加入 4 mL 正己烷(5.1.4),涡旋混合 1 min,加入 70%(体积比)乙醇溶液(5.1.6)10 mL,涡旋混合 1 min,超声提取 20 min,9 000 r/min 离心 5 min,弃去上层正己烷,加入 5 mL 正己烷(5.1.4),涡旋混合 1 min,9 000 r/min 离心 5 min,弃去上层正己烷,将试液转移至 10 mL 容量瓶中,用 70%(体积比)乙醇溶液(5.1.6)定容,吸取 3 mL 供试液过通过式固相萃取柱(5.4.1),经滤膜(5.4.2)过滤,待测。

7.2.3 液体试样(口服液、酒剂等)

移取 1 mL~2 mL 试样置于刻度管中,或根据样品标签标识使所取试样中淫羊藿苷的含量约为 0.5 mg,加入 70%(体积比)乙醇溶液(5.1.6)8 mL,涡旋混合 1 min,超声提取 20 min,9 000 r/min 离心 5 min,将上清液转移至 10 mL 容量瓶中,用 70%(体积比)乙醇溶液(5.1.6)定容,吸取 3 mL 上清液过通过式固相萃取柱(5.4.1),经滤膜(5.4.2)过滤,待测。

7.3 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱: C_{18} 柱(250 mm×4.6 mm,5 μ m),或性能相当者;
- b) 检测波长:270 nm;
- c) 流动相:A 相为水,B 相为乙腈(5.1.5),液相色谱梯度洗脱条件见表 1;
- d) 柱温:35 $^{\circ}$ C;
- e) 流速:1 mL/min;
- f) 进样量:10 μ L。

表 1 液相色谱梯度洗脱条件

时间 min	A 相 %	B 相 %
0	76	24
25	74	26
25.1	30	70
34	30	70
34.1	76	24
46	76	24

7.4 标准曲线的制作

将淫羊藿苷系列标准工作溶液(5.3.2)分别注入高效液相色谱仪中,测定其峰面积,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。淫羊藿苷标准溶液(25 μ g/mL)液相色谱图见附录 B 中图 B.1。

7.5 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,根据标准曲线,以外标法计算待测试样溶液中的淫羊藿苷。试样(片剂)中淫羊藿苷液相色谱图见图 B.2。

可根据试样中组分的含量,适当增加稀释倍数 f ,使其不应超出标准曲线测定范围。

7.6 空白试验

不称取试样,按 7.2 和 7.3 的步骤做空白实验。应确认不含有干扰待测组分的物质。平行做两份试验。

8 结果计算与表述

试样中淫羊藿苷按公式(1)计算:

$$X = \frac{\rho \times V \times f}{m \times 10\ 000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X —— 试样中的淫羊藿苷,单位为克每百克或克每百毫升(g/100 g 或 g/100 mL);
 - ρ —— 由标准曲线得到的试样溶液中淫羊藿苷的质量浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);
 - V —— 样液的定容体积,单位为毫升(mL);
 - f —— 稀释倍数;
 - m —— 称样量,单位为克或毫升(g 或 mL);
 - 10 000—— 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

固体试样(硬胶囊、片剂、粉剂、颗粒剂、丸剂、膏剂、茶剂等):当称样量为 1 g 时,方法的检出限为 0.001 25 g/100 g,定量限为 0.002 5 g/100 g。

半固体试样(软胶囊等):当称样量为 1 g 时,方法的检出限为 0.000 5 g/100 g,定量限为 0.001 g/100 g。

液体试样(口服液、酒剂等):当取样量为 1 mL 时,方法的检出限为 0.000 5 g/100 mL,定量限为 0.001 g/100 mL。

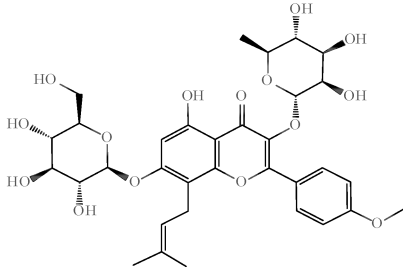
附录 A

(资料性)

标准物质的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式和结构式

标准物质的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、结构式见表 A.1。

表 A.1 标准物质的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式和结构式

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	结构式
淫羊藿苷	Icariin	489-32-7	$C_{33}H_{40}O_{15}$	

附录 B

(资料性)

淫羊藿苷标准溶液和试样溶液液相色谱图

B.1 淫羊藿苷标准溶液(25 μg/mL)液相色谱图见图 B.1。

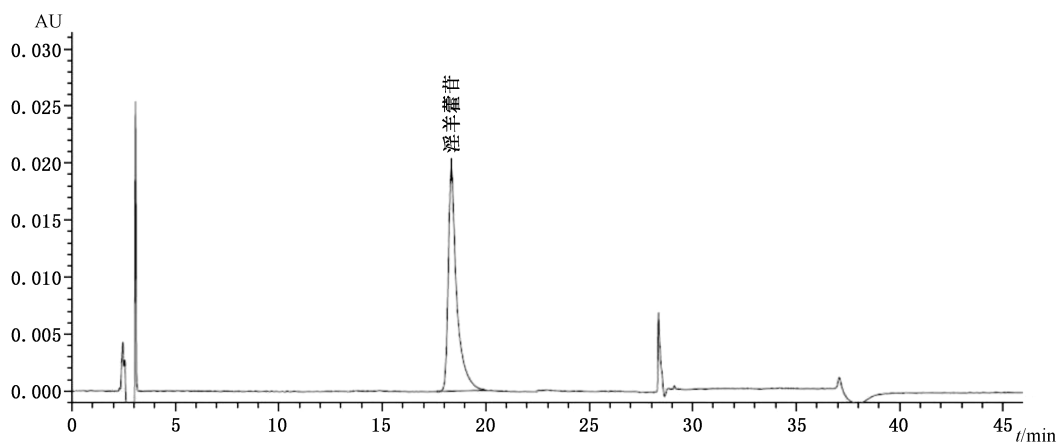


图 B.1 淫羊藿苷标准溶液(25 μg/mL)液相色谱图

B.2 试样(片剂)中淫羊藿苷液相色谱图见图 B.2。

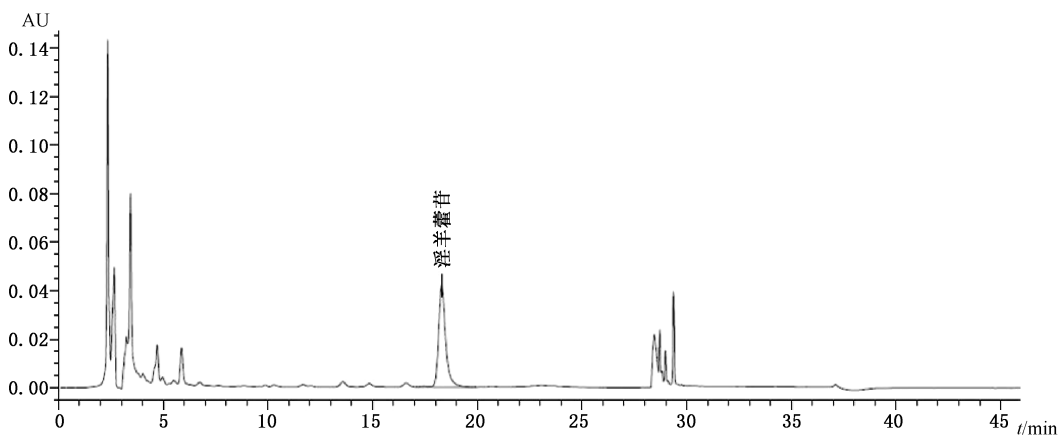


图 B.2 试样(片剂)中淫羊藿苷液相色谱图