



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX
代替 GB/T 22248—2008

保健食品中甘草酸的测定

Determination of glycyrrhizic acid in health foods

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

(征求意见稿)

(本草案完成时间：2024年2月)

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。

本文件代替GB/T 22248—2008《保健食品中甘草酸的测定》。

本文件与GB/T 22248—2008相比，除结构调整和编辑性修改外，主要技术变化如下：

- 明确了适用范围，包括片剂和胶囊、口服液、膏剂等；
- 修改了前处理方法；
- 修改了色谱条件；
- 修改了方法的检出限、定量限。

本文件由全国特殊食品标准化技术委员会提出并归口。

本文件起草单位：略。

本文件主要起草人：略。

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测定方法。

本文件适用于片剂、胶囊、口服液、膏剂等类型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

试样中的甘草酸经甲醇水溶液提取，固相萃取柱净化，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 试剂与材料

除非另有说明，本方法所有试剂均为色谱纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 甲醇（CH₃OH）。

5.1.2 甲酸（HCOOH）。

5.1.3 乙酸（CH₃COOH）。

5.1.4 乙酸铵（CH₃COONH₄）。

5.2 试剂配制

5.2.1 0.1%甲酸水溶液：取 1 mL 甲酸（5.1.2），用水定容至 1 000 mL。

5.2.2 50%甲醇水溶液：取 500 mL 甲醇（5.1.1），用水定容至 1 000 mL。

5.2.3 0.1 mol/L 乙酸铵-0.5%乙酸溶液：取乙酸铵（5.1.4）7.71 g 和 5 mL 乙酸（5.1.3），用水溶解并定容至 1 000 mL。

5.3 标准品及标准溶液配制

5.3.1 标准品

甘草酸标准品 (glycyrrhizic acid, 化学式 $C_{42}H_{62}O_{16}$, CAS号: 1405-86-3), 纯度 $\geq 98\%$, 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.3.2 标准溶液配制

5.3.2.1 甘草酸标准使用液 (10.0 mg/mL): 准确称取甘草酸标准品 100 mg(精确至 0.01 mg), 用甲醇 (5.1.1) 溶解并定容至 10 mL, 在 2℃~8℃冰箱中贮存, 有效期 6 个月。

5.3.2.2 甘草酸标准系列工作液: 分别吸取甘草酸标准使用液适量, 用 50%甲醇水溶液 (5.2.2) 配制浓度为: 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、20.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 、200.0 $\mu\text{g/mL}$ 的甘草酸标准系列工作液。

5.4 材料

5.4.1 HLB固相萃取小柱 (150 mg, 6 mL), 或相当者。

5.4.2 0.45 μm 有机滤膜。

5.4.3 10 mL刻度小管。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪: 配备紫外检测器。

6.2 超声波清洗器。

6.3 离心机: 转速 $\geq 8\ 000$ r/min。

6.4 旋涡仪。

6.5 电子天平: 感量分别为 0.01 mg 和 0.1 mg。

6.6 固相萃取装置。

7 分析步骤

7.1 试样提取

7.1.1 固体试样 (片剂和硬胶囊等)

取不少于20粒或不少于10 g试样进行粉碎混匀, 称取1.0 g样品 (准确至0.01 g) 于50 mL离心管中, 加入10 mL 50%甲醇水溶液 (5.2.2)。涡旋1 min, 至分散; 超声提取15 min后以10 000 r/min离心5 min。取5 mL上清液, 待净化。

7.1.2 液体试样 (口服液等)

取5~10支或不低于50 mL (单瓶体积 ≥ 100 mL) 液体试样充分混匀, 取1 mL于50 mL离心管中, 加入9 mL 50%甲醇水溶液 (5.2.2)。涡旋1 min, 超声提取5 min后以10 000 r/min离心5 min。取5 mL上清液, 待净化。

7.1.3 半固体试样 (膏剂等)

取不少于10 g样品充分混匀, 称取1.0 g样品 (准确至0.01 g) 于50 mL离心管中, 加入10 mL 50%甲醇水溶液 (5.2.2)。涡旋1 min, 至分散; 超声提取15 min后以10 000 r/min离心5 min。取5 mL上清液, 待净化。

7.2 试样净化

将HLB固相萃取小柱（5.4.1）置于固相萃取装置上，使5 mL上清液匀速通过小柱，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，收集洗脱液于10 mL刻度小管中，加水定容至10 mL，0.45 μm有机滤膜过滤，待测。

7.3 液相色谱参考条件

7.3.1 超高效液相色谱（UPLC）参考条件：

- 色谱柱：C₁₈柱（2.1 mm×100 mm, 1.7 μm）或性能相当者。
- 柱温：35 °C。
- 紫外检测器：250 nm。
- 流动相 A：甲醇，流动相 B：0.1%甲酸水溶液。67% A 保持 5min，0.1 min 内上升至 98%，保持 2 min，然后降至 67%，平衡 2.5 min，等待下一针进样。
- 流速：0.3 mL/min。
- 进样量：5 μL（UPLC）、10 μL（HPLC）。

7.3.2 高效液相色谱（UPLC）参考条件：

- 色谱柱：C₁₈柱（4.6 mm×150 mm, 5 μm）或性能相当者。
- 柱温：35 °C。
- 紫外检测器：250 nm。
- 流动相 A：甲醇，流动相 B：0.1 mol/L 乙酸铵-0.5%乙酸溶液。67% A 保持 10 min，0.2 min 内上升至 95%，保持 4 min，然后降至 67%，平衡 5 min，等待下一针进样。
- 流速：1 mL/min。
- 进样量：10 μL。

7.4 标准曲线的制作

将标准系列工作液分别注入高效液相色谱仪中，测定各组分的峰面积（标准品色谱图见附录A图A.1和A.2），以相应标准工作液的浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

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（样品色谱图见附录A图A.3和A.4），根据标准曲线，以外标法计算待测试样溶液中甘草酸的浓度。

8 结果计算

8.1 固体和半固体试样

固体和半固体试样中甘草酸的含量按式（1）计算：

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

式中：

X——试样中甘草酸的含量，单位为克每千克(g/kg)；

C——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（μg/mL）；

V——试样净化后洗脱液定容体积，单位为毫升（mL）；

m——试样的质量，单位为克（g）；

f ——稀释因子；

计算结果保留三位有效数字。

8.2 液体试样

液体试样中甘草酸的含量按式（2）计算：

$$X = \frac{C \times V_2 \times f \times 1000}{V_1 \times 1000} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

X ——试样中甘草酸的含量，单位为毫克每升(mg/L)；

C ——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_2 ——试样净化后洗脱液定容体积，单位为毫升（mL）；

V_1 ——试样的体积，单位为毫升（mL）；

f ——稀释因子；

计算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 其他

固体和半固体试样：称样量为1.0 g时，检出限为3 mg/kg，定量限为10 mg/kg。

液体试样：称样量为1 mL时，检出限为3 mg/L，定量限为10 mg/L。

附录 A
(资料性)
甘草酸标准品和样品色谱图

甘草酸标准品色谱图见图A.1和A.2。

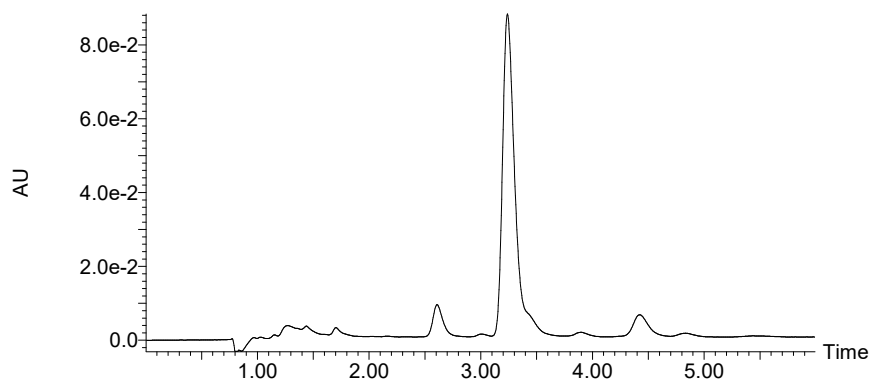


图 A.1 甘草酸标准品色谱图 (UPLC)

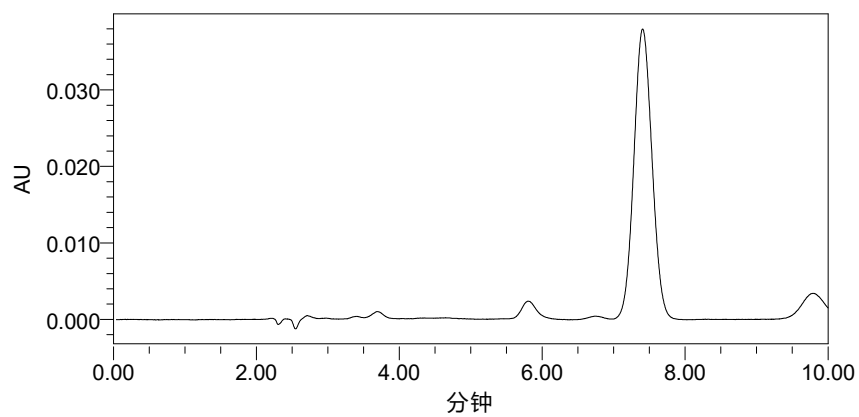


图 A.2 甘草酸标准品色谱图 (HPLC)

样品色谱图见图A.3和A.4。

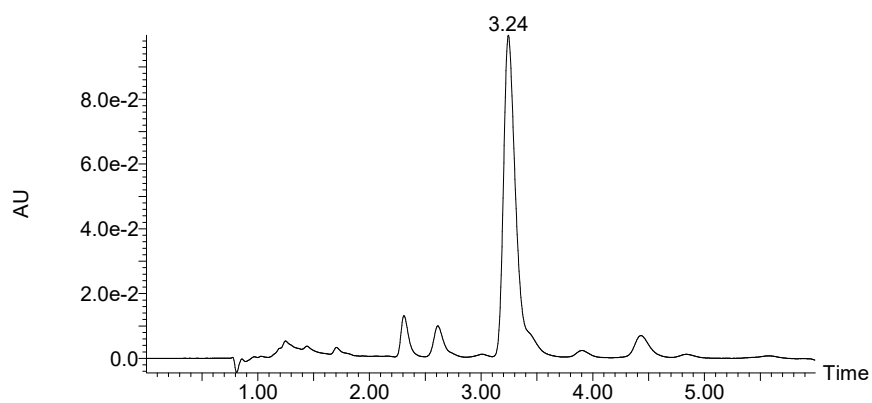


图 A.3 样品色谱图 (UPLC)

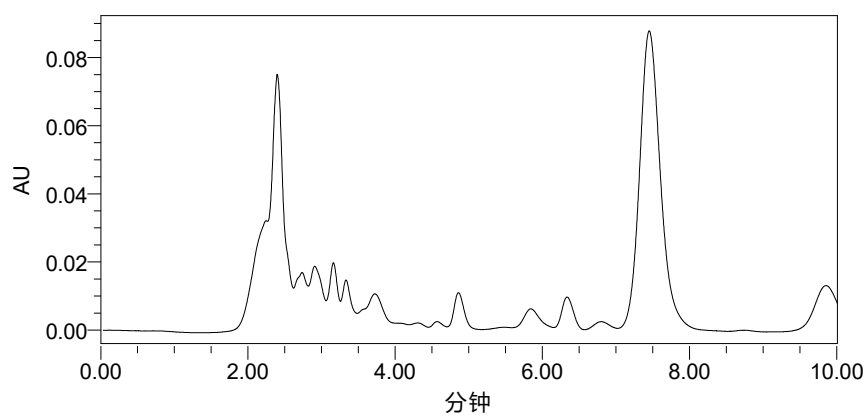


图 A.4 样品色谱图 (HPLC)
