

中华人民共和国国家标准

GB/T 22248—2008

保健食品中甘草酸的测定

Determination of glycyrrhizic acid in health foods

2008-07-31 发布

2008-11-01 实施



中华人民共和国卫生部
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准负责起草单位：中国疾病预防控制中心营养与食品安全所。

本标准参加起草单位：吉林省疾病预防控制中心、河北省疾病预防控制中心。

本标准主要起草人：杨大进、肖晶、王竹天、李青、秦振顺。

本标准为首次发布。

保健食品中甘草酸的测定

1 范围

本标准规定了保健食品中甘草酸的测定方法。

本标准适用于以甘草为主要原料的保健食品中甘草酸的测定。

当取样量 3.0 g, 定容至 25 mL, 进样量 10 μ L 时, 方法的检出限 (LOD) 为 1.0×10^{-3} g/kg, 方法的定量限 (LOQ) 为 3.0×10^{-3} g/kg, 线性范围为 $5.0 \mu\text{g/mL} \sim 50 \mu\text{g/mL}$ 。

2 原理

根据甘草酸易溶于醇、水等极性溶剂的理化特性, 不含油试样中的甘草酸采用流动相进行提取, 对于含油试样则需用石油醚去油后再用流动相提取, 过滤后进高效液相色谱仪, 经反相 C_{18} 色谱柱分离后, 由紫外检测器检测, 根据保留时间和峰面积进行定性和定量。

3 试剂和材料

- 3.1 甲醇 (CH_3OH): 优级纯。
- 3.2 乙酸 (CH_3COOH): 分析纯。
- 3.3 石油醚 (沸程 $60^\circ\text{C} \sim 90^\circ\text{C}$): 分析纯。
- 3.4 醋酸铵 ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$): 分析纯。
- 3.5 0.2 mol/L 醋酸铵溶液: 取醋酸铵 15.42 g, 加水溶解成 1 000 mL。
- 3.6 水 (H_2O): 为实验室一级用水, 电导率 (25°C) 为 $0.01 \mu\text{S/cm}$ 。
- 3.7 甘草酸铵标准品: 纯度 $\geq 99\%$ 。
- 3.8 甘草酸铵标准储备液 (1.0 mg/mL): 准确称量甘草酸铵标准品 0.01 g (精确至 0.000 1 g) 于 10.0 mL 容量瓶中, 加入流动相溶解并定容至刻度, 混匀 (标准储备液存放于 $2^\circ\text{C} \sim 10^\circ\text{C}$ 冰箱中, 有效期 90 d)。
- 3.9 甘草酸铵标准使用液 ($100 \mu\text{g/mL}$): 准确吸取 1.00 mL 甘草酸铵标准储备液于 10.0 mL 容量瓶中, 用流动相定容至刻度 (标准使用液存放于 $2^\circ\text{C} \sim 10^\circ\text{C}$ 冰箱中, 有效期 90 d)。

4 仪器和设备

- 4.1 高效液相色谱仪: 附紫外检测器。
- 4.2 超声波清洗器。
- 4.3 离心机: 4 000 r/min。
- 4.4 氮吹仪。

5 分析步骤

5.1 试样处理

5.1.1 一般试样: 根据试样中甘草酸的含量, 称取 0.5 g \sim 3.0 g 均匀试样 (精确至 0.001 g) 置于 50 mL 容量瓶中, 加入流动相 20 mL, 使溶液每毫升含甘草酸 $20 \mu\text{g/mL}$, 超声波提取 20 min, 加入流动相定容至刻度, 摇匀, 以 3 000 r/min 离心 5 min, 过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜, 取滤液备用 (如试样中甘草酸含量较高, 可适当将试样稀释后进样)。

5.1.2 含油试样: 根据试样中甘草酸的含量, 称取 0.5 g \sim 3.0 g 均匀试样 (精确至 0.001 g) 置于 25 mL

离心管中,加入 15 mL 石油醚振摇 1 min 后,以 3 000 r/min 离心 5 min,弃去石油醚,重复该程序三次,吹氮仪吹干后,用流动相将所有内容物转移至 50 mL 容量瓶中,其余步骤同 5.1.1。

5.2 标准曲线的制备

临用前将甘草酸铵标准使用液(3.9),用流动相配成 5.00 μg/mL、10.0 μg/mL、20.0 μg/mL、40.0 μg/mL、50.0 μg/mL 的标准系列。

5.3 液相色谱参考条件

5.3.1 色谱柱: ODS C₁₈ 柱, 250 mm×4.6 mm, 5 μm。

5.3.2 柱温: 25 °C。

5.3.3 紫外检测器: 检测波长 250 nm。

5.3.4 流动相: 甲醇+0.2 mol/L 醋酸铵溶液+乙酸=67+33+1。

5.3.5 进样量: 10 μL。

5.3.6 流速: 1.0 mL/min。

5.3.7 色谱分析: 将标准溶液及试样溶液注入色谱中,以保留时间定性,以试样峰面积或峰高与标准比较定量。

6 结果计算

试样中甘草酸的含量按式(1)进行计算:

$$X = \frac{c \times V \times 1\,000 \times F \times 0.98}{m \times 1\,000 \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X——试样中甘草酸的含量,单位为克每千克(g/kg);

c——由标准曲线求得进样液中甘草酸的浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

V——试样定容体积,单位为毫升(mL);

F——稀释倍数;

0.98——甘草酸铵(分子质量:839.97)换折算为甘草酸(分子质量:822.93)的比值;

m——试样质量,单位为克(g)。

计算结果保留三位有效数字。

7 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超过算术平均值的 10%。

8 色谱图

在上述色谱条件下的色谱图见图 1~图 2。

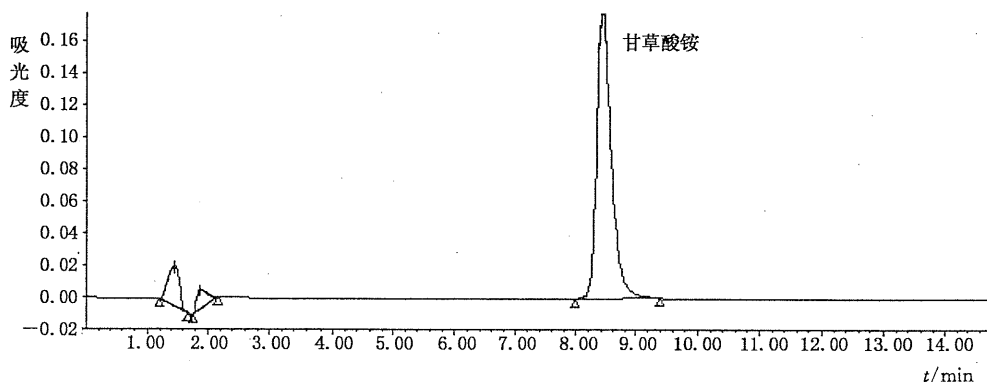


图 1 甘草酸铵标准色谱图

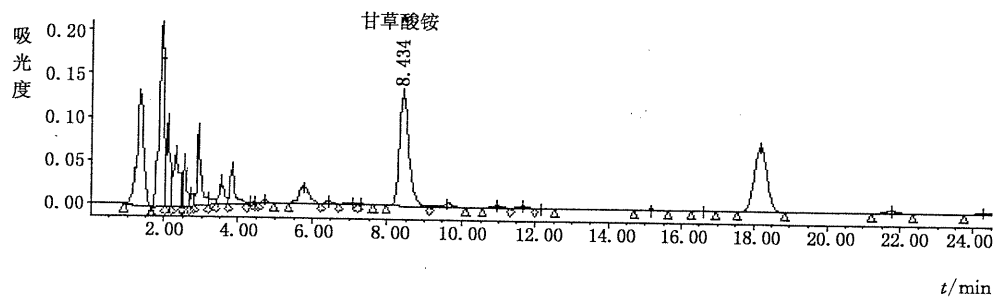


图 2 甘草酸铵试样色谱图