



中华人民共和国林业行业标准

LY/T 1699—2007

银杏叶提取物

Extract of *Ginkgo biloba* L.

2007-06-04 发布

2007-10-01 实施



国家林业局 发布

前 言

本标准由中国林业科学研究院林产化学工业研究所提出并归口。
本标准负责起草单位：中国林业科学研究院林产化学工业研究所。
本标准主要起草人：王成章、沈兆邦、郑光耀。

引 言

中国是银杏的原产地,又是世界上银杏的主产区,目前我国的银杏资源占全世界的 70%。银杏叶提取物是以银杏叶为原料,采用适当的溶剂,提取和富集银杏黄酮、萜内酯等有效成分的植物提取物产品。以银杏叶提取物为原料制成的各种制剂,广泛应用于药物、保健品、食品添加剂、功能性饮料、化妆品等领域,很受消费者欢迎。为了保护原产地域产品,提高银杏叶提取物质量和出口创汇能力,特制定本标准。

银杏叶提取物

1 范围

本标准规定了银杏叶提取物的术语、定义、技术要求、试验方法、检验规则、标志、包装、贮存、运输及保质期。

本标准适用于以银杏叶为原料,经乙醇或水等溶剂加热回流、浓缩、离心、大孔树脂吸附和解附、溶剂脱银杏酸及干燥等工艺加工的银杏叶提取物。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

- GB/T 5009.3 食品中水分的测定
- GB/T 5009.4 食品中灰分的测定
- GB/T 5009.11 食品中总砷及无机砷的测定
- GB/T 5009.74 食品添加剂中重金属限量试验
- GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

银杏总黄酮醇苷 total flavone glycosides from GBE

银杏叶提取物中所含的黄酮类化合物,用黄酮醇苷来表示,主要指槲皮素(querctetin)、山柰素(kaempferol)和异鼠李素(isorhamnetin)为母体的黄酮醇苷元的桂皮酰糖苷类总和,也称为银杏总黄酮,如图 1。

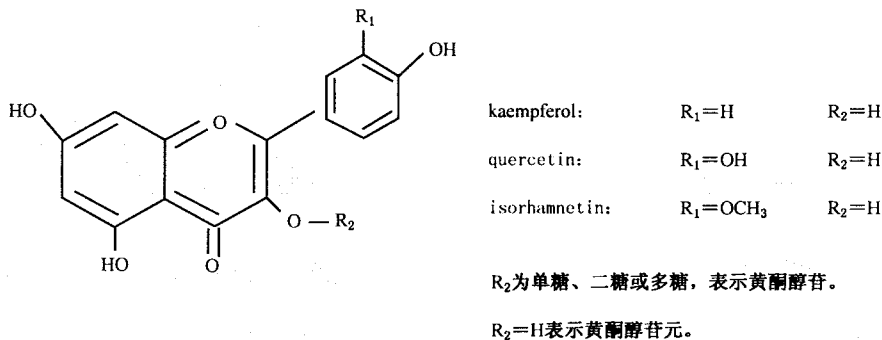


图 1 银杏叶黄酮醇苷的化学结构

3.2

银杏总萜内酯 total terpene lactone from GBE

银杏叶提取物中总萜内酯是指二萜内酯 ginkgolide 和倍半萜内酯 bilobalide 的总和。二萜内酯包括银杏内酯 A、银杏内酯 B、银杏内酯 C;倍半萜内酯主要指白果内酯,如图 2。

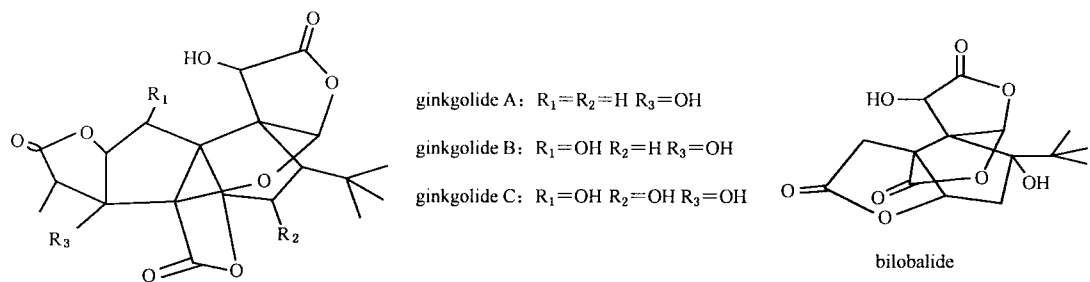


图 2 银杏萜内酯的化学结构

3.3

银杏酸 ginkgolic acid

6-烷基水杨酸的衍生物,6 位上的侧链主要是 $C_{13:0}$ 、 $C_{15:0}$ 、 $C_{15:1}$ 、 $C_{17:1}$ 、 $C_{17:2}$ 等烷烃化合物。银杏酸是指这些同系混合物的总称,如图 3。

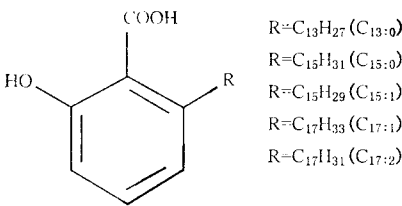


图 3 银杏酸的化学结构

4 技术要求

4.1 感官指标

浅棕黄色至棕褐色的粉末,味微苦。

4.2 理化指标

理化指标应符合表 1 的规定。

表 1 理化指标

项 目	指 标		
	优级品	一级品	合格品
干燥失重/%	≤	5	
总黄酮醇苷含量/%	≥	24	
槲皮素与山柰素峰面积比		0.8~1.5	
总萜内酯含量/%	≥	6	—
总银杏酸含量/(mg/kg)	<10	10~500	—
灼烧残渣/%	<	2	
重金属(以 Pb 计)/(mg/kg)	<	20	
砷(As)/(mg/kg)	<	2	

5 试验方法

除特别注明外,本标准所用试剂均为分析纯,所用水应符合 GB/T 6682 规定的三级水。

5.1 感官检验

自然光下目测,蘸一点在舌头品尝。

5.2 干燥失重含量的测定

按照 GB/T 5009.3 的规定执行。测定时称取约 1 g 试样,精确到 0.001 g,干燥温度为 105℃ ± 5℃。干燥失重以质量分数 X_1 计,数值以 % 表示。

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于 0.2%。取其算术平均值为测定结果。

5.3 总黄酮醇苷含量的测定

5.3.1 原理

银杏叶提取物经酸水解后生成黄酮醇苷元,通过 HPLC 分离和测定槲皮素、山萘素和异鼠李素三种苷元的含量,再根据银杏黄酮醇桂皮酰基糖苷的平均分子量是 760,由三种苷元的含量和乘以平均转化因子 2.51,即为银杏总黄酮醇苷的含量。

5.3.2 试剂和溶液

- 浓盐酸(GB/T 622);
- 甲醇(GB/T 683);
- 磷酸(GB/T 1282);
- 甲醇-25%盐酸溶液(4:1,体积分数);
- 甲醇-0.5%磷酸溶液(50:50,体积分数);
- 槲皮素、山萘素和异鼠李素标准样品。

5.3.3 仪器设备

- 高压液相色谱仪(HPLC),匹配紫外检测仪;
- 分析天平:感量 0.000 1 g;
- 水浴锅;
- 超声波清洗器;
- 旋转蒸发器。

5.3.4 HPLC 分析条件

色谱柱以十八烷基化学键合固定相为填充剂,即 ODS C_{18} 柱(200 mm×4.6 mm);ODS C_{18} 预处理柱;紫外检测波长为 360 nm,室温,流动相为甲醇—0.5%磷酸溶液,流速为 1 mL/min,山萘素与异鼠李素的分离度要求大于 1.5。

5.3.5 标准样品标准曲线

分别称取槲皮素、山萘素和异鼠李素对照品,精确到 0.000 1 g,分别加入甲醇配成 1 mg/mL 溶液,再分别稀释成 10 mg/L~100 mg/L 的标准系列溶液。槲皮素、山萘素和异鼠李素每个标准品溶液吸取 10 μ L,按 5.3.4 HPLC 分析条件进样,计算峰面积,分别由槲皮素、山萘素和异鼠李素峰面积和浓度关系,确定回归方程,绘制槲皮素的标准曲线。本方法的最佳线性范围为 0.1 μ g~1.0 μ g。

5.3.6 供试样品的制备

在 50 mL 锥形瓶中称取 25 mg~35 mg 银杏叶提取物,精确到 0.000 1 g,加甲醇—25%盐酸溶液 25 mL,在 80℃~90℃水浴锅内水解 45 min,迅速冷却至室温,转移至 50 mL 的容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,微孔滤膜(0.45 μ m)过滤,即得供试样品。

5.3.7 HPLC 测试

取 10 μ L 供试样品,按 5.3.4 HPLC 分析条件操作,进行 HPLC 测定。根据槲皮素、山萘素和异鼠李素标准曲线,分别计算槲皮素、山萘素和异鼠李素三种黄酮醇苷元的含量。

5.3.8 总黄酮醇苷元含量计算

总黄酮醇苷元含量按式(1)和式(2)计算:

$$C_i = \frac{\rho_i \times V_1}{m_1} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

C_i ——分别对应于槲皮素、山萘素和异鼠李素三种黄酮醇苷元的含量($i=1,2,3$), %;

ρ_i ——分别由槲皮素、山萘素和异鼠李素标准曲线查出供试样品中槲皮素、山萘素和异鼠李素三种黄酮醇苷元的浓度($i=1,2,3$), 单位为毫克每毫升(mg/mL);

V_1 ——供试样品溶液体积, 单位为毫升(mL);

m_1 ——样品的质量, 单位为毫克(mg)。

$$X_2 = (C_1 + C_2 + C_3) \times 2.51 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

X_2 ——供试样品中总黄酮醇苷的含量, %;

C_1 ——槲皮素黄酮醇苷元的含量, %;

C_2 ——山萘素黄酮醇苷元的含量, %;

C_3 ——异鼠李素黄酮醇苷元的含量, %。

5.3.9 精密度的测定

用配制好的槲皮素、山萘素和异鼠李素标准样品, 重复测试 5 次, 其 RSD 值应小于 3%。

5.3.10 重复性试验

取同一批次银杏叶提取物, 平行测试 5 次, 其 RSD 值应小于 5%。

5.4 槲皮素与山萘素峰面积比

对各供试样品, 按 5.3.4 HPLC 分析条件操作, 计算槲皮素、山萘素和异鼠李素的峰面积, 其中槲皮素和山萘素的峰面积比按式(3)计算:

$$X_3 = \frac{A_1}{A_2} \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

X_3 ——供试样品 HPLC 中槲皮素和山萘素的峰面积比值;

A_1 ——供试样品 HPLC 中槲皮素峰面积;

A_2 ——供试样品 HPLC 中山萘素峰面积。

5.5 总萜内酯含量的测定

5.5.1 原理

银杏萜内酯具有不同的折光系数, 采用示差检测器, 外标法定量, 分析萜内酯含量。

5.5.2 试剂和溶液

- a) 甲醇(GB/T 683);
- b) 甲醇-水溶液(35 : 65, 体积分数);
- c) 乙酸乙酯(GB/T 12589);
- d) 浓盐酸(GB/T 622);
- e) 酸性氧化铝: 80 目~100 目;
- f) GA、GB、GC、BB 标准对照样品。

5.5.3 仪器设备

- a) 高压液相色谱仪(HPLC), 匹配示差检测仪;
- b) 10 μ L 进样器;
- c) 分析天平: 感量 0.000 1 g;
- d) 水浴锅;
- e) 超声波清洗器;
- f) ODS C_{18} 色谱柱(5.0 μ m, 200 mm $\times$ 4.6 mm);
- g) 旋转蒸发器。

5.5.4 HPLC 分析条件

色谱柱以十八烷基化学键合固定相为填充剂,即 ODS C₁₈柱;示差器检测,Range 8;流动相为甲醇-水溶液;流速为 1 mL/min,柱温 35℃。

5.5.5 标准样品溶液的制备

分别称取白果内酯、银杏内酯 A、银杏内酯 B 和银杏内酯 C 标准样品适量,精确到 0.000 1 g,分别加甲醇制成 1 mg/mL 的标准溶液。再分别稀释成 100 μg/mL~1 000 μg/mL 的标准系列溶液。本方法的最佳线性范围为 1 μg~10 μg。

5.5.6 标准样品标准曲线

分别吸取上述白果内酯、银杏内酯 A、银杏内酯 B 和银杏内酯 C 标准样品溶液 10 μL 进样,每个进样量平行测定 3 次,记录白果内酯、银杏内酯 A、银杏内酯 B 和银杏内酯 C 标准样品的峰面积的平均值,计算峰面积对浓度的回归方程,分别绘制白果内酯、银杏内酯 A、银杏内酯 B 和银杏内酯 C 标准样品标准曲线。本方法的最佳线性范围为 1 μg~10 μg。

5.5.7 供试样品的制备

取一根带活塞阀的玻璃柱(1 cm×30 cm),下端用少许脱脂棉衬垫,半开活塞阀。称取 5.0 g 已活化的酸性氧化铝粉,放入 50 mL 的小烧杯,加入 15 mL 甲醇,边搅拌边加入层析柱内,再用 15 mL 甲醇将烧杯内残留的氧化铝粉转移到层析柱,待甲醇液面接近氧化铝上层时,关闭活塞阀,备用。

称取银杏叶提取物供试样品 0.15 g,精确到 0.001 g,用 5 mL 甲醇溶解,转移到酸性氧化铝层析柱进行层析,再用 30 mL 甲醇洗脱,收集全部的洗脱液,50℃下旋转真空浓缩至干后,残渣用甲醇溶解并转移至 5 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,微孔滤膜(0.45 μm)过滤,制成供试样品溶液。

5.5.8 HPLC 测试

用 10 μL 微量进样器,取 5 μL 供试样品溶液,注入 HPLC 液相色谱仪,根据 5.5.6 标准样品标准曲线,分别计算白果内酯、银杏内酯 A、银杏内酯 B 和银杏内酯 C 的含量。

5.5.9 总萜内酯含量计算

总萜内酯含量按式(4)和式(5)计算:

$$G_j = \frac{\rho_j \times V_2}{m_2} \times 100 \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中:

G_j ——分别对应于白果内酯、银杏内酯 A、银杏内酯 B 和银杏内酯 C 的含量($j=1,2,3,4$),%;

ρ_j ——分别由白果内酯、银杏内酯 A、银杏内酯 B 和银杏内酯 C 标准曲线计算出供试样品中白果内酯、银杏内酯 A、银杏内酯 B 和银杏内酯 C 的浓度($j=1,2,3,4$),单位为毫克每毫升(mg/mL);

V_2 ——供试样品溶液体积,单位为毫升(mL);

m_2 ——样品的质量,单位为毫克(mg)。

$$X_4 = G_1 + G_2 + G_3 + G_4 \quad \dots\dots\dots(5)$$

式中:

X_4 ——供试样品中总萜内酯的含量,%;

G_1 ——样品中白果内酯的含量,%;

G_2 ——样品中银杏内酯 A 的含量,%;

G_3 ——样品中银杏内酯 B 的含量,%;

G_4 ——样品中银杏内酯 C 的含量,%。

5.5.10 精确度的测定

用配制好的上述白果内酯、银杏内酯 A、银杏内酯 B 和银杏内酯 C 标准样品溶液,重复 5 次测试,其 RSD 值应小于 3%。

5.5.11 重复性试验

取同一批次银杏叶提取物,平行测试 5 次,其 RSD 值应小于 5%。

5.6 总银杏酸含量的测定

5.6.1 原理

银杏酸侧链主要为 $C_{13:0}$ 、 $C_{15:1}$ 和 $C_{17:1}$ 银杏酸,选择其中之一($C_{13:0}$)作为银杏酸的标准品,用 HPLC/UV 定量检测。

5.6.2 试剂和溶液

- 甲醇(GB/T 683);
- 冰醋酸(GB/T 676—1990);
- 甲醇-1%醋酸溶液(90:10,体积分数);
- 石油醚(30℃~60℃,GB/T 15894);
- $C_{13:0}$ 银杏酸标准样品和 $C_{13:0}$ 、 $C_{15:1}$ 和 $C_{17:1}$ 银杏酸混合标准品。

5.6.3 仪器设备

- 分析天平:感量 0.000 1 g;
- 水浴锅;
- 超声波清洗器;
- 旋转蒸发器;
- ODS C_{18} 色谱柱(5.0 μm , 200 mm×4.6 mm);
- 高压液相色谱仪(HPLC),匹配紫外检测仪。

5.6.4 HPLC 分析条件

色谱柱以十八烷基化学键合固定相为填充剂,即 ODS C_{18} 柱;ODS C_{18} 预处理柱;紫外检测波长 310 nm,流动相为甲醇-1%冰醋酸溶液,流速为 1 mL/min。

5.6.5 对照品标准溶液的制备

称取 $C_{13:0}$ 银杏酸标准样品适量,精确到 0.000 1 g,加甲醇制成 5 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,作为标准样品溶液。另取总银杏酸标准样品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 100 μg 的溶液,作为定性用对照溶液。

5.6.6 标准样品标准曲线

分别吸取 $C_{13:0}$ 银杏酸标准样品标准溶液(5 $\mu\text{g/mL}$) 1 μL 、5 μL 、10 μL 、15 μL 、20 μL ,每个进样量平行测定 3 次,计算其峰面积的平均值,由峰面积对浓度绘制 $C_{13:0}$ 银杏酸标准样品标准曲线,计算其回归方程。本方法的最佳线性范围为 10 ng~100 ng。

5.6.7 供试样品的制备

称取银杏叶提取物 10 g,精确到 0.01 g,置于具塞锥形瓶中,加入 50 mL 石油醚(30℃~60℃),加热回流 2 h,过滤,重复提取一次,合并两次提取滤液,挥干石油醚,残渣加适量甲醇溶解,并转移至 5 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,微孔滤膜(0.45 μm)过滤,制成供试样品溶液。

5.6.8 HPLC 测试

吸取 10 μL 供试样品溶液,按 5.6.4 HPLC 分析条件进样,由 HPLC 中 $C_{13:0}$ 、 $C_{15:1}$ 和 $C_{17:1}$ 银杏酸峰面积总和,根据 5.6.6 标准样品标准曲线,计算供试样品中总银杏酸的含量。

5.6.9 总银杏酸含量计算

总银杏酸含量按式(6)计算:

$$X_5 = \frac{\rho \times V_3}{m_3} \quad \dots\dots\dots(6)$$

式中:

X_5 ——供试样品中总银杏酸的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

ρ ——由 $C_{13:0}$ 、 $C_{15:1}$ 和 $C_{17:1}$ 银杏酸峰面积总和,根据 5.6.6 标准样品标准曲线回归方程,计算供试样品中总银杏酸的浓度,单位为纳克每微升(ng/ μL);

V_3 ——样品定容体积,单位为毫升(mL);

m_3 ——样品的质量,单位为克(g)。

5.6.10 精确度的测定

吸取 $C_{13,0}$ 银杏酸标准样品标准溶液 ($5\ \mu\text{g/mL}$), 重复 5 次测试, 其 RSD 值应小于 3%。

5.6.11 重复性试验

取同一批次银杏叶提取物, 平行测试 5 次, 其 RSD 值应小于 5%。

5.7 灼烧残留的测定

按照 GB/T 5009.4 的规定执行。

5.8 重金属的测定

按照 GB/T 5009.74 的规定执行。

5.9 砷的测定

按照 GB/T 5009.11 的规定执行。

6 检验规则

6.1 检验分类

产品检验分出厂检验和型式检验。

6.2 检验项目

6.2.1 出厂检验项目为感官指标、干燥失重、总黄酮醇苷。

6.2.2 型式检验应包括 4.1~4.2 所有项目。有下列情况之一时, 亦应进行型式检验:

- a) 原料、工艺有较大变化, 可能影响产品质量时;
- b) 正常生产每年进行 1 次;
- c) 停产 3 个月以上, 恢复生产时;
- d) 国家质量监督机构进行抽查时。

6.3 组批与抽样规则

在规定时间内, 投料生产的产品组成一个批次。在同一批次产品中, 随机从 3 个以上的包装单位中各抽取 200 g, 混合均匀后, 取其中的 400 g 作试样。

6.4 判定规则

6.4.1 每批产品应经生产单位质量检验部门按本标准检验, 检验合格并签发合格证书后方可出厂。

6.4.2 产品的级别是根据各项技术指标断定。只要产品技术指标有一项不符, 则用低一级指标判定, 直至完全符合。只要有一项低于合格品指标, 则判为不合格品。

6.4.3 试验结果如有技术指标不符合要求时, 应重新在两倍样件中取样, 重新检验不合格指标。如仍不符合要求时, 则按重新检验指标所属级别, 作为该产品的等级。

7 标志、包装、贮存和运输

7.1 标志

包装上应标明产品名称、标准号、生产日期或批号、保质期、净含量、生产厂名、厂址。

7.2 包装

产品内包装材料应符合食品卫生要求, 外包装应保证运输和贮存安全。

7.3 贮存

产品应贮存在阴凉、通风、干燥、清洁的室内, 严禁与有毒、有害、有异味的物品混贮。

7.4 运输

运输工具应清洁卫生, 防止日晒、雨淋、受潮, 严禁与有毒、有害、有异味的物品混运。

8 保质期

在上述贮运条件下, 产品保质期为 24 个月。

中华人民共和国林业
行 业 标 准
银杏叶提取物
LY/T 1699—2007

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

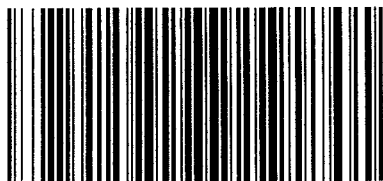
*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 17 千字
2007 年 12 月第一版 2007 年 12 月第一次印刷

*

书号: 155066·2-18320 定价 14.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533



LY/T 1699—2007