



中华人民共和国国家标准

GB/T 22250—2008

保健食品中绿原酸的测定

Determination of chlorogenic 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：河北省疾病预防控制中心、吉林省疾病预防控制中心。

本标准主要起草人：杨大进、方从容、王竹天、韩会新、李青。

本标准为首次发布。

保健食品中绿原酸的测定

1 范围

本标准规定了保健食品中绿原酸的测定方法。

本标准适用于以金银花、菊花、杜仲、山楂等一种或几种为主要原料的保健食品中绿原酸的测定。

当取样量为 2.0 g 时,定容体积为 25 mL 时,方法的检出限(LOD)为 1.4×10^{-3} g/kg,方法的定量限(LOQ)为 4.0×10^{-3} g/kg。方法的线性范围为 2.0 μ g/mL~80 μ g/mL。

2 原理

根据绿原酸易溶于甲醇、乙醇等极性有机溶剂的理化特性,一般试样中的绿原酸用 70% 甲醇提取,如果试样为油性软胶囊,可用石油醚脱脂挥干后再用 70% 甲醇提取。提取液定容,过滤后进高效液相色谱仪,经反相色谱分离后,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 乙酸(CH_3COOH):优级纯。

3.2 乙腈(CH_3CN):色谱纯。

3.3 甲醇(CH_3OH):色谱纯。

3.4 石油醚:分析纯,沸程 30 $^{\circ}\text{C}$ ~60 $^{\circ}\text{C}$ 。

3.5 水(H_2O):为实验室一级用水,电导率(25 $^{\circ}\text{C}$)为 0.01 mS/m。

3.6 绿原酸标准品:纯度 $\geq 99\%$ 。

3.7 绿原酸标准储备液(2.00 mg/mL):称取绿原酸标准品 0.02 g(精确至 0.000 1 g)于 10.0 mL 容量瓶中,加流动相溶解并定容至刻度,混匀(此标准储备液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,可保存 5 d)。

3.8 绿原酸标准使用液(200 μ g/mL):准确量取 1.00 mL 绿原酸标准储备液于 10.0 mL 容量瓶中,用流动相稀释至刻度,混匀(此标准使用液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,可保存 5 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。

5 分析步骤

5.1 试样处理

5.1.1 一般试样:称取 0.5 g~2 g 粉碎均匀的试样(精确到 0.001 g)于 25.0 mL 容量瓶中,加入 20 mL 70% 甲醇,超声波提取 30 min,用 70% 甲醇定容至刻度,混匀(如试样中绿原酸含量较高,可适当进行稀释),过 0.45 μ m 滤膜,滤液供液相色谱分析。

5.1.2 油性试样:称取 0.5 g~2 g 均匀的试样(精确到 0.001 g)于 25 mL 离心试管中,加入 15 mL 石油醚,振摇 1 min 后,以 3 000 r/min 离心 10 min,弃去溶剂后再重复一次。将试样中溶剂挥干后加入 70% 甲醇,其余步骤同 5.1.1。

5.1.3 液体试样:以 3 000 r/min 离心 10 min 后(如试样中绿原酸含量较高,可适当进行稀释),过 0.45 μ m 滤膜,滤液供液相色谱分析。

5.2 标准曲线的制备

分别吸取绿原酸标准使用液(3.8),用流动相稀释并在容量瓶中定容的浓度分别为 2.00、10.0、20.0、40.0、80.0 $\mu\text{g/mL}$ 标准系列。

5.3 液相色谱参考条件

5.3.1 色谱柱:ODS C_{18} 色谱柱,250 mm $\times$ 4.6 mm,5 μm 。

5.3.2 流动相:0.5%乙酸溶液+乙腈=9+1。

5.3.3 流速:1.0 mL/min。

5.3.4 柱温:35 $^{\circ}\text{C}$ 。

5.3.5 检测波长:327 nm。

5.3.6 进样量:10 μL 。

5.3.7 色谱分析:取标准溶液和试样溶液注入色谱柱中,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

试样中绿原酸的含量按式(1)进行计算:

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

式中:

X ——试样中的含量,单位为克每千克或克每升(g/kg 或 g/L);

c ——由标准曲线求得进样液中绿原酸的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V ——试样定容体积,单位为毫升(mL);

m ——试样质量或体积,单位为克或毫升(g 或 mL)。

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得超过算术平均值的 10%。

8 色谱图

在上述色谱条件下的色谱图见图 1~图 2。

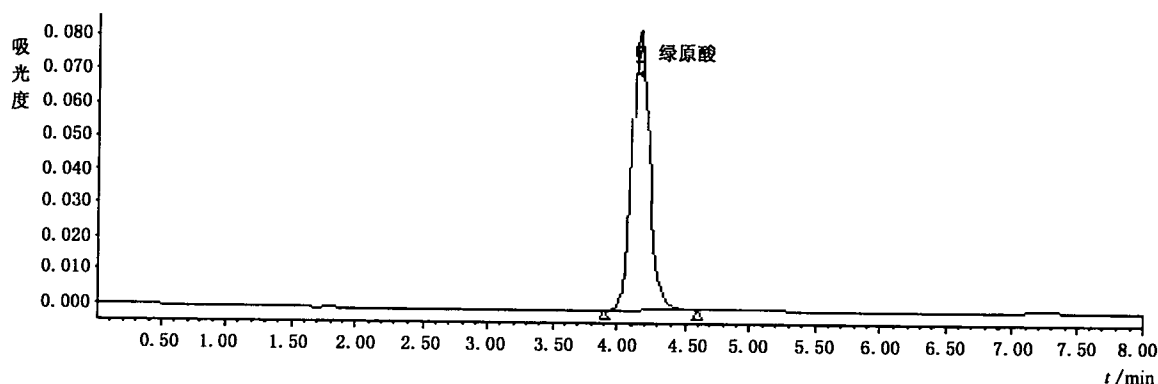


图 1 绿原酸标准色谱图

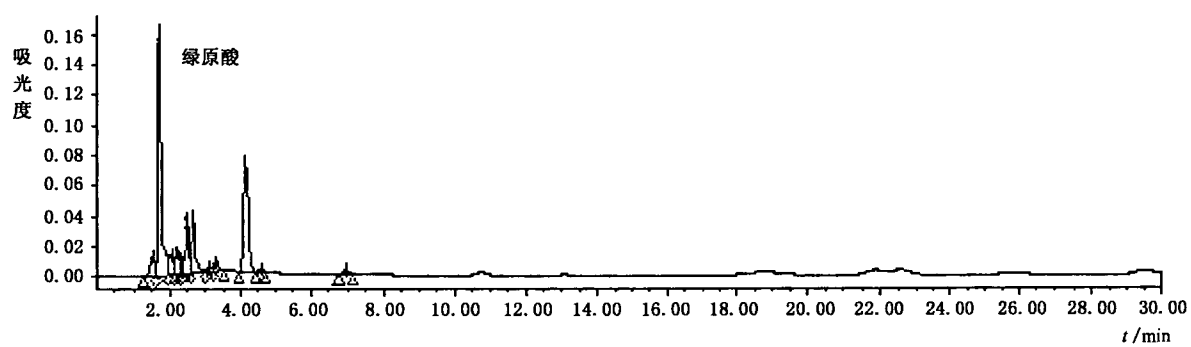


图 2 绿原酸试样色谱图