



# 中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX  
代替 GB/T 22251-2008

## 保健食品中葛根素的测定

Determination of puerarin 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1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 22251-2008《保健食品中葛根素的测定》

本文件与GB/T 22251-2008相比，除结构调整和编辑性修改外，主要技术变化如下：

- 增加了试样制备的内容；
- 修改了前处理的条件；
- 修改了设备和色谱条件；
- 修改了方法的检出限、定量限。

本文件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。

# 保健食品中葛根素的测定

## 1 范围

本文件描述了保健食品中葛根素的液相色谱测定方法。

本文件适用于以葛根素作为主要原料的软胶囊、硬胶囊、片剂、粉剂、颗粒剂、液体、糖果、丸剂等类型的保健食品中葛根素的测定。

## 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

根据葛根素溶于甲醇、水等极性溶剂的特性，试样采用50%甲醇溶液进行超声提取，经HLB固相萃取柱净化后利用高效液相色谱仪分离，二极管阵列（或紫外）检测器检测，以保留时间定性，外标法定量。

## 5 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

### 5.1 试剂

5.1.1 甲醇（ $\text{CH}_3\text{OH}$ ）：色谱纯。

5.1.2 乙腈（ $\text{CH}_3\text{CN}$ ）：色谱纯。

5.1.3 磷酸（ $\text{H}_3\text{O}_4\text{P}$ ）：优级纯。

5.1.4 石油醚（ $\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$ ）。

### 5.2 试剂配制

5.2.1 0.1%磷酸水溶液：吸取 1.0 mL 磷酸（5.1.3），加水稀释并定容至 1 000 mL，混匀。

5.2.2 50%甲醇水溶液：量取 50 mL 的甲醇（5.1.1），加水稀释并定容至 100 mL，混匀。

5.2.3 15%甲醇水溶液：量取 15 mL 的甲醇（5.1.1），加水稀释并定容至 100 mL，混匀。

5.2.4 70%甲醇水溶液：量取 70 mL 的甲醇（5.1.1），加水稀释并定容至 100 mL，混匀。

### 5.3 标准品

葛根素标准品（ $C_{21}H_{20}O_9$ ，CAS号：3681-99-0）：纯度 $\geq 95\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

### 5.4 标准溶液配制

5.4.1 葛根素标准储备溶液（2.00 mg/mL）：准确称取 0.02 g 葛根素标准品（精确至 0.0001 g），用 70%甲醇（5.2.4）溶解并定容至 10 mL，混匀，2°C~8°C条件下保存。

5.4.2 葛根素标准使用液（200  $\mu\text{g/mL}$ ）：准确吸取 1.00 mL 葛根素标准储备溶液于 10 mL 容量瓶中，用 70%甲醇（5.2.4）定容，混匀，2°C~8°C条件下，有效期 1 个月。

### 5.5 标准系列工作液配制

吸取标准使用液（5.4.2），用70%甲醇溶液（5.2.4）稀释并定容，浓度分别为1  $\mu\text{g/mL}$ （必要时）、5  $\mu\text{g/mL}$ 、10  $\mu\text{g/mL}$ 、50  $\mu\text{g/mL}$ 、100  $\mu\text{g/mL}$ 、200  $\mu\text{g/mL}$ 。临用现配。

### 5.6 材料

5.6.1 HLB 固相萃取柱：500 mg，6 mL；或性能相当者。HLB 固相萃取小柱使用前依次使用 5 mL 甲醇、5 mL 水活化。

5.6.2 微孔滤膜：0.45  $\mu\text{m}$ 。

## 6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪：配二极管阵列检测器或紫外检测器。

6.2 电子天平：精度 0.001 g 和 0.1 mg。

6.3 超声波清洗器。

6.4 涡旋混合器。

6.5 氮吹仪。

6.6 粉碎机。

6.7 离心机，转速不低于 8000 r/min。

6.8 固相萃取装置。

## 7 分析步骤

### 7.1 试样制备

a) 固态或半固态试样（软胶囊、硬胶囊等）：取不少于 20 粒或不低于 5 g 样品剪开，取出内容物研细（必要时），混匀，按样品标示的保存条件保存备用；

b) 固态或半固态试样（片剂、粉剂、颗粒剂、糖果类、丸剂等）：取不少于 20 片（粒）样品，研细（必要时），混匀，按样品标示的保存条件保存备用；

c) 液体试样（口服液、酒剂、饮料等）：取 5~10 支独立包装或不低于 50 mL（规格 $\geq 100$  mL 时）样品混合均匀，按样品标示的保存条件保存备用。

### 7.2 试样处理

### 7.2.1 试样预处理

7.2.1.1 固体试样：称取 0.50 g~1.00 g 试样（精确至 0.001 g）置于刻度管中，准确加入 10 mL 50% 甲醇水溶液（5.2.2），充分混匀，超声提取 20 min，冷却至室温，混匀，8 000 r/min 离心 5 min 取上清液，过 0.45 μm 滤膜后，待测。

7.2.1.2 液体试样：称取 0.50 g~1.00 g 试样（精确至 0.001 g）置于刻度管中，加入 8 mL 50% 甲醇水溶液（5.2.2），充分混匀，超声提取 20 min，冷却至室温，再用 50% 甲醇水溶液（5.2.2）定容至 10 mL，混匀，过 0.45 μm 滤膜后，待测。

7.2.1.3 含油试样：称取 0.50 g~1.00 g 试样（精确至 0.001 g）置于刻度管中，加入 8 mL 50% 甲醇水溶液（5.2.2），充分混匀，超声提取 20 min，冷却至室温，加入 1.5 mL 石油醚（5.1.4），涡旋混匀，8 000 r/min 离心 5 min，弃去上层石油醚层，用 50% 甲醇水溶液（5.2.2）定容至 10 mL，混匀，过 0.45 μm 滤膜后，待测。

### 7.2.2 试样净化

当存在干扰峰或者预处理后溶液浑浊的，需要经过固相萃取柱净化。准确吸取 1.0 mL 上述待净化液过已活化的 HLB 固相萃取柱（5.6.1），待样液完全流出后用 5 mL 15% 甲醇水溶液（5.2.3）淋洗，弃去流出液，用 10 mL 甲醇（5.1.1）洗脱于 15 mL 离心管中，60°C 氮吹或转移至旋蒸瓶旋蒸至近干，准确加入 1.0 mL 70% 甲醇水溶液（5.2.4），于离心管中涡旋混匀，过 0.45 μm 滤膜后高效液相色谱仪分析。

### 7.3 色谱参考条件

- 色谱柱：C<sub>18</sub> 色谱柱（250×4.6 mm，5 μm），或等效色谱柱；
- 流动相 A：乙腈（3.1.2）；流动相 B：0.1% 磷酸水溶液（3.2.1）；梯度洗脱见表 1。
- 柱温：30°C；
- 进样体积：10 μL；
- 检测波长：247 nm。

表 1 液相色谱梯度洗脱条件

时间 min	流动相 A %	流动相 B %	流速 mL/min
0.00	12.0	88.0	1.0
12.0	12.0	88.0	1.0
20.0	40.0	60.0	1.0
25.0	40.0	60.0	1.0
25.1	12.0	88.0	1.0
35.0	12.0	88.0	1.0

### 7.4 标准曲线的制作

将标准系列工作液（5.5）分别注入高效液相色谱仪中，测定各组分的峰面积（葛根素标准品色谱图见附录图 A.1），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，根据标准曲线，以外标法计算待测试样溶液中葛根素的含量。

注：操作者可根据试样中组分的含量，在不超出标准曲线测定范围要求的条件下，适当增加稀释倍数  $f$ 。

## 8 分析结果的表述

试样中葛根素的含量按式（1）计算：

$$X = \frac{c \times V \times f}{m \times 10000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$X$ ——试样中葛根素的含量，单位为克每一百克（g/100g）；

$c$ ——由标准曲线求得进样液中葛根素的浓度，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，单位为克（g）。

$f$ ——稀释倍数。

10000——单位换算系数。

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得超过算术平均值的10%。

附录 A  
(资料性)  
葛根素标准品和样品色谱图

葛根素标准品色谱图见图A.1。

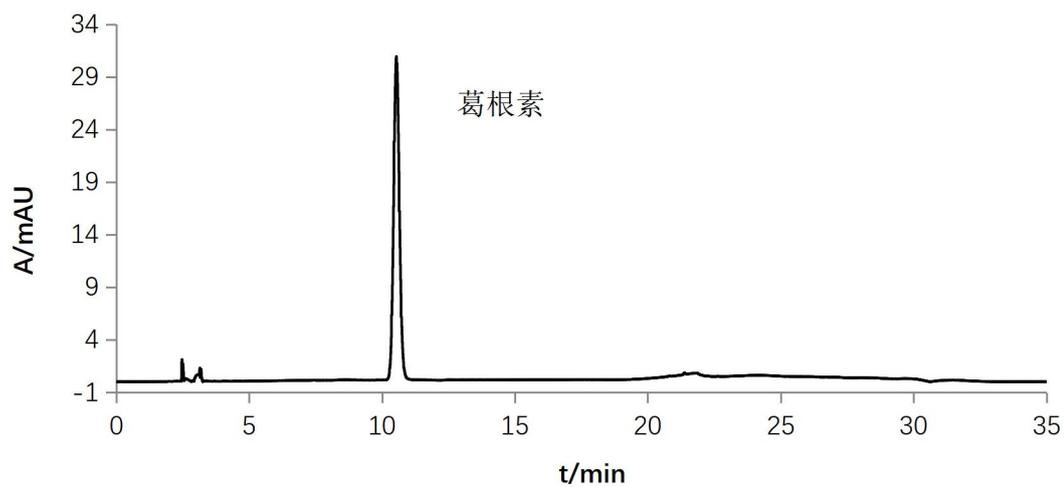


图 A.1 葛根素标准品色谱图

葛根素样品色谱图见图A.2。

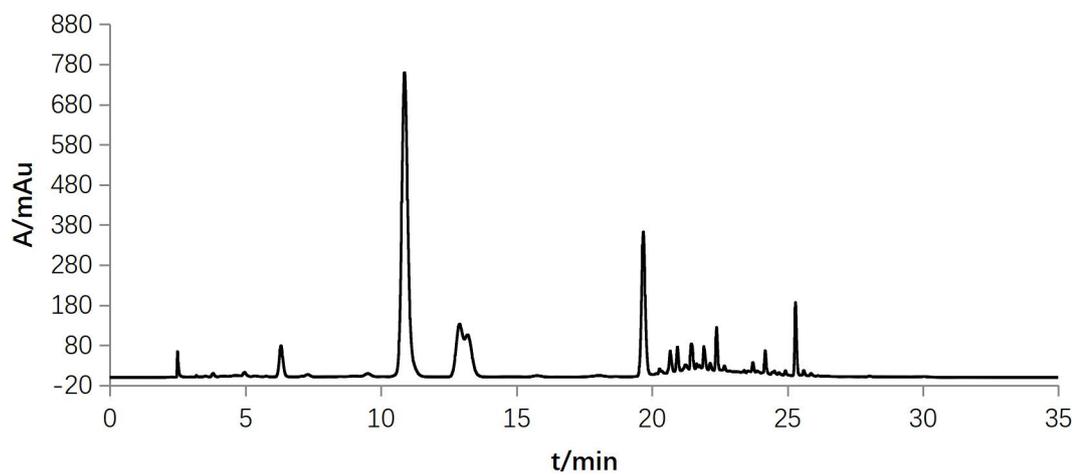


图 A.2 葛根素样品色谱图