

《保健食品中吡啶甲酸铬的测定》国家标准

（征求意见稿）编制说明

一、工作简况

（一）任务来源

根据《国家标准化管理委员会关于下达 2023 年第二批推荐性国家标准计划及相关标准外文版计划的通知》（国标委发〔2023〕37 号），《保健食品中吡啶甲酸铬含量的测定》（计划号 20230858-T-424）列入修订计划，由全国特殊食品标准化技术委员会归口，由中国食品发酵工业研究院有限公司等单位共同组织完成起草修订工作。

（二）主要工作过程

2023 年 8 月~2023 年 10 月，成立标准修订组，确定标准制修订方案和工作计划，并开展了方法学验证。

2023 年 11 月，全国特殊食品标准化技术委员会在北京召开《14 项保健食品分析方法标准启动会》修订工作启动会，会上讨论了《保健食品中吡啶甲酸铬的测定》的修订方案。

2023 年 11 月~2024 年 1 月，开展实验室内方法验证的工作。

2024 年 1 月，开展新修订保健食品中吡啶甲酸铬测定方法的实验室间方法验证工作。

2024 年 2 月，起草工作组在前期工作基础上形成标准征求意见稿。

二、国家标准编制原则、主要内容及其确定依据

（一）标准编制原则

本标准是根据 GB/T1.1-2020《标准化工作导则第1部分：标准的结构与编写规则》进行编写。

本方法的主要参数、公式、性能要求等主要依据 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则》和 GB/T 20001.4-2015《标准编写规则》的要求进行编写。并且按照 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范、食品理化检测》、GB 5009.295-2023《食品安全国家标准 化学分析方法验证通则》、GB/T 27417-2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》对方法学进行了考察。

标准修订符合我国国情，方法满足片剂、胶囊、口服液剂型的保健食品中添加的吡啶甲酸铬测定，具有普遍适用性。

（二）主要修订内容

1. 标准名称

《保健食品中吡啶甲酸铬的测定》。

2. 适用范围

删除了原标准 GB/T 5009.195-2003 中关于检出限和线性范围的内容，适用范围增加了口服液样品类别，以适应后续市售产品类型变化，对适用范围表述进行了修改，修改后内容为：

本文件规定了保健食品中吡啶甲酸铬含量的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于作为功效成分添加于片剂、胶囊、口服液等试样类型中吡啶甲酸铬含量的测定。

3. 色谱参考条件

为满足市售各种基质保健食品中吡啶甲酸铬检测分离度、灵敏度、定性确证等要求，对原标准的流动相种类、流速、柱温、检测波长进行了修订，并将等度洗脱修改为梯度洗脱，修订后推荐的色谱参考条件如下：

a) 色谱柱：C18 柱（粒径 5.0 μm ，4.6 mm \times 250 mm），或相当者；

b) 流动相 A：乙腈(3.1.2)；流动相 B：磷酸二氢钾溶液(10 mmol/L，含磷酸 0.1%)（3.2.2）；

c) 流速：0.8 mL/min；

d) 柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ ；

e) 进样体积：10 μL ；

f) 检测波长：264 nm。

g) 梯度洗脱条件，见表 1。

表 1 梯度洗脱条件

时间, min	流动相 A, %	流动相 B, %
0.0	10	90
10.0	15	85
12.0	90	10
15.0	10	90
22.0	10	90

三、试验验证的分析

方法线性关系：吡啶甲酸铬在1.0~100.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内，相关系数 R^2 大于0.9999，线性关系良好。方法准确度和精密度：该方法的三水平加标回收率在90.5%~98.1%之间，6次平行实验结果的RSD%在1.4%~3.2%之间，符合GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》对方法回收率和精密度要求，说明修订后的方法线性范围宽、回收率好，精密度高，满足保健食品中吡啶甲酸铬的准确测定。

方法重现性：方法验证基础上，起草工作组组织实验室间比对，结果符合验证比对要求。具体方法验证和实验室比对情况见附件。

四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况

无。

五、以国际标准为基础的起草情况

本标准没有采用国际标准。

六、与有关法律、行政法规及相关标准的关系

本标准与现行法律、法规和强制性国家标准协调一致。

七、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准制定过程中无重大分歧意见。

八、涉及专利的有关说明

本标准不涉及专利。

九、实施国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议

建议本标准发布 6 个月后实施，由归口单位组织行业相关单位积极开展宣贯工作。

十、其他应当说明的事项

本标准发布实施后，GB/T 5009.195-2003 废止。

附件：方法学验证报告

附件

保健食品中吡啶甲酸铬的测定 方法学验证

1. 特异性

(1) 特征吸收波长选择

用优化的液相色谱条件，设定测试波长范围为190nm~400nm，对浓度为10 $\mu\text{g/mL}$ 的吡啶甲酸铬标准溶液进行测试，吡啶甲酸铬在264nm处有最大吸收。在相同条件下，进一步的对标准曲线最低浓度点1 $\mu\text{g/mL}$ 测试吸收波长，最大吸收波长、光谱峰形轮廓与10 $\mu\text{g/mL}$ 的一致，表明在标准曲线的最低浓度点时，也能通过特征吸收峰进行准确定性。

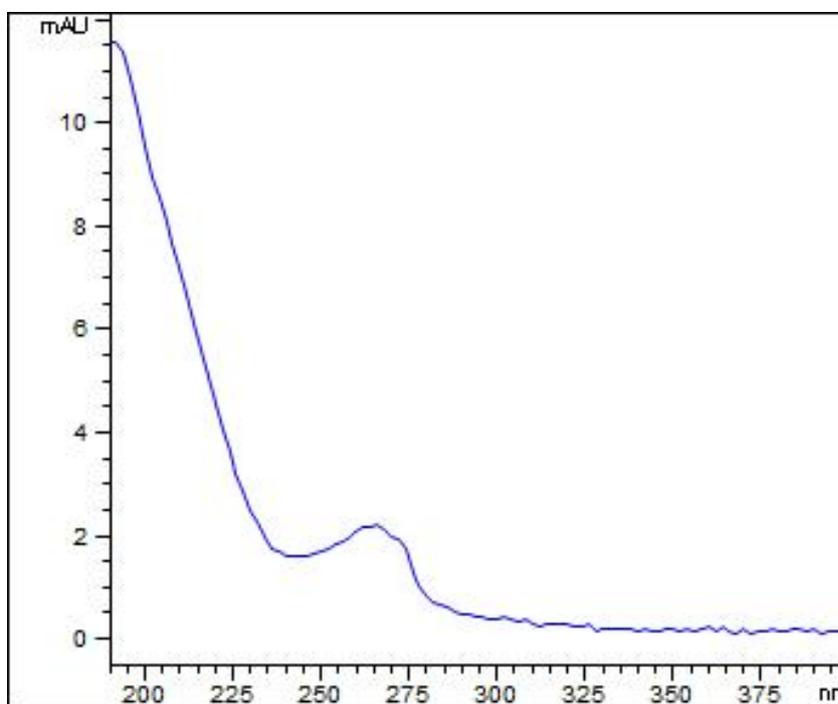


图1 吡啶甲酸铬标准溶液1 $\mu\text{g/mL}$ 的吸收光谱图

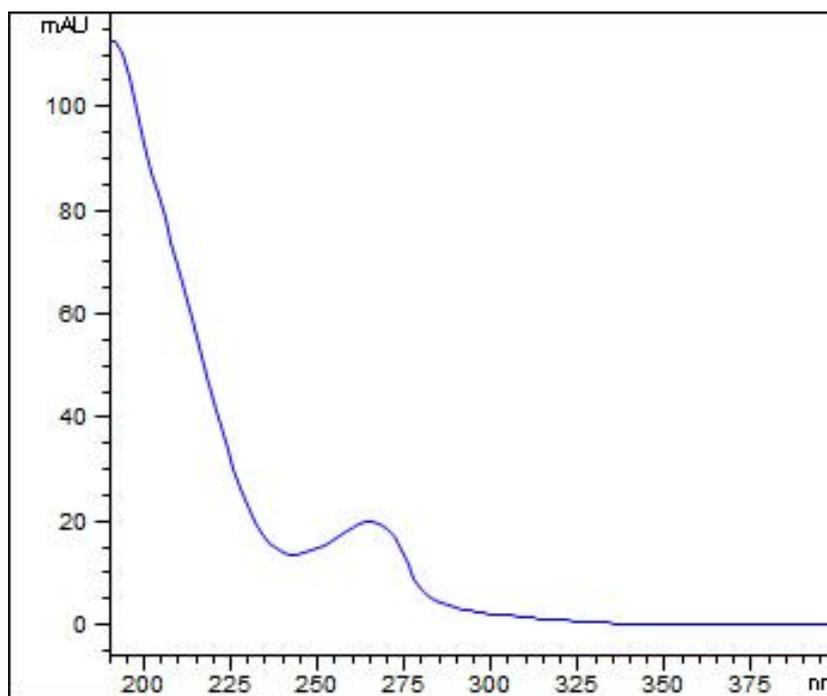


图2 吡啶甲酸铬标准溶液10 µg/mL的吸收光谱图

(2) 空白样品试验

选择口服液、硬胶囊、片剂、软胶囊空白样品与吡啶甲酸铬标准溶液进行比对。空白试剂及空白样品的色谱图显示，在吡啶甲酸铬保留时间 9.251min 处无色谱峰对检测造成干扰，见图 3~图 8 所示。

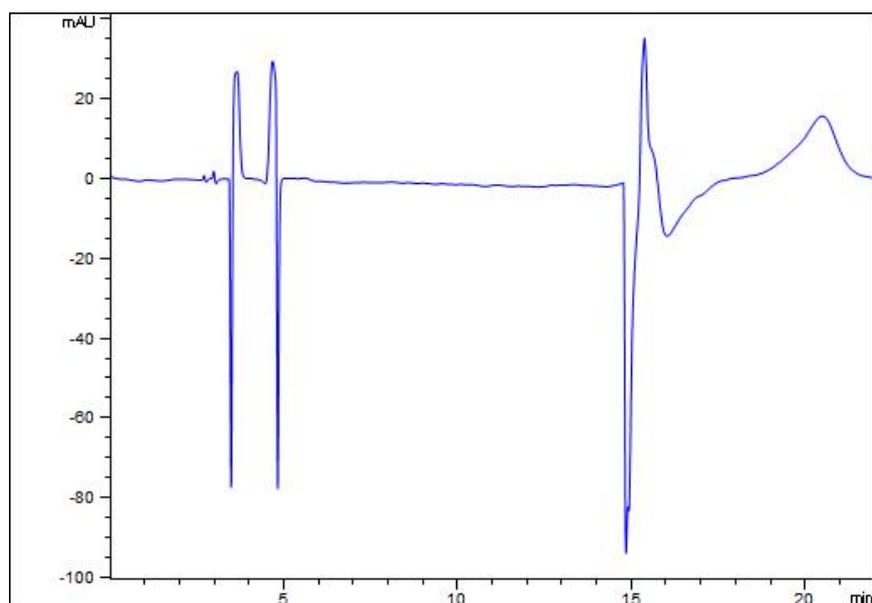


图3 空白试剂

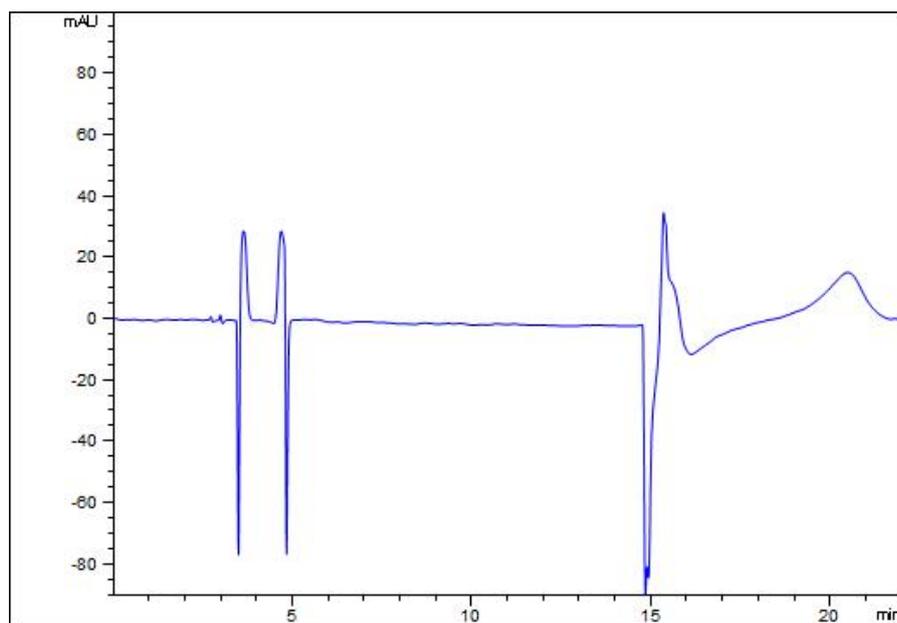


图4 口服液空白样

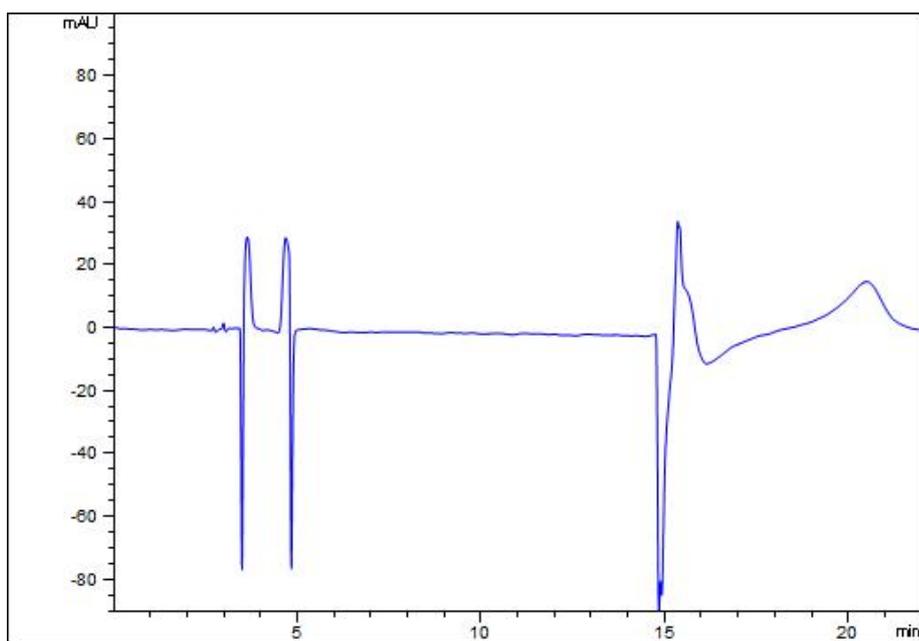


图5 硬胶囊空白样

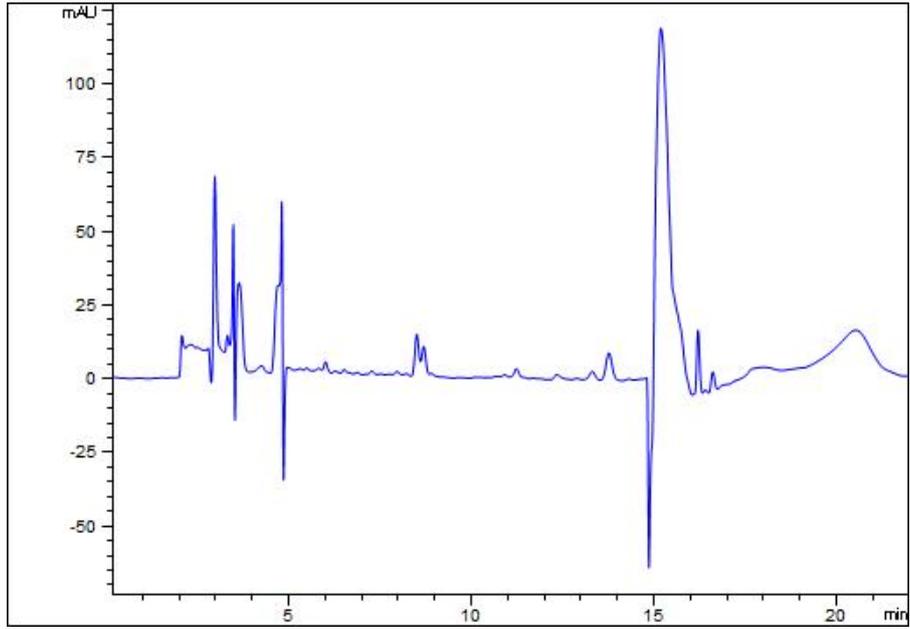


图6 片剂空白样

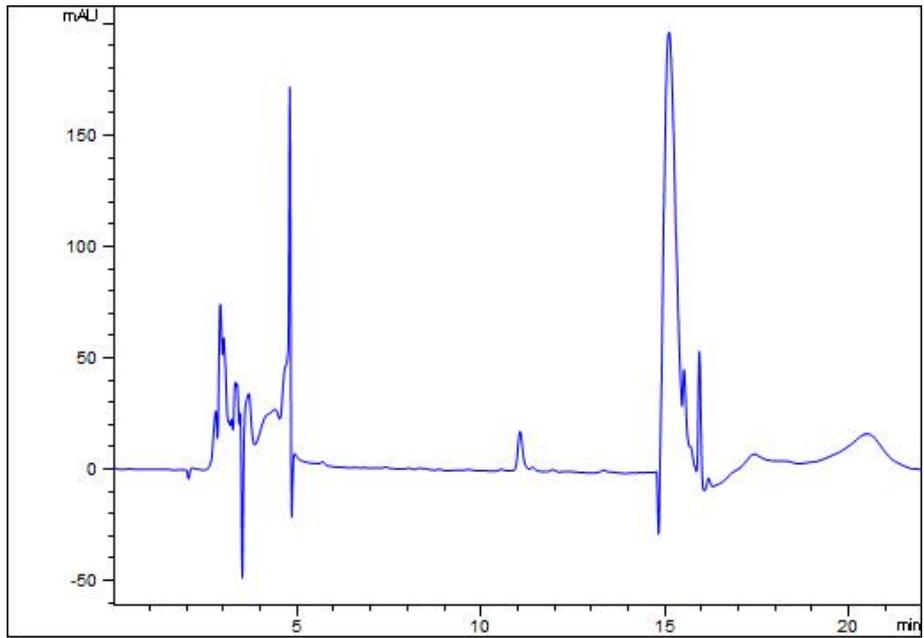


图7 软胶囊空白样

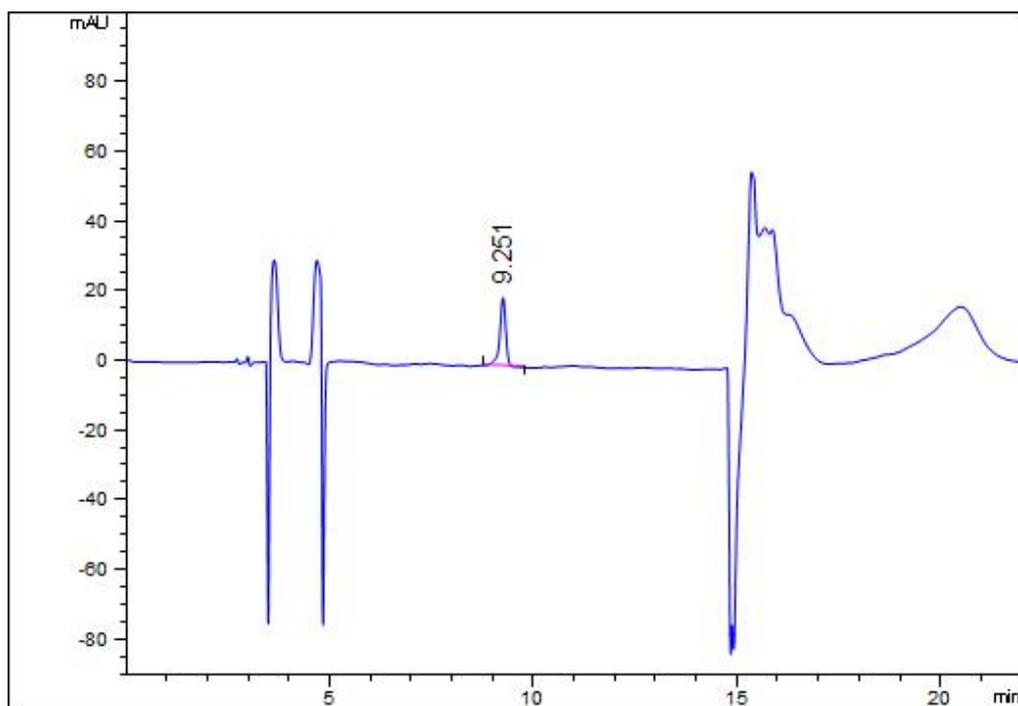


图 8 吡啉甲酸铬标准溶液色谱图 (10 µg/mL)

(3) 空白样品加标试验

在口服液、硬胶囊、片剂、软胶囊空白样品中添加标准溶液，考察吡啉甲酸铬与杂质峰的分离度，结果如图9~12所示。结果表明，杂质峰未对目标化合物造成定性定量干扰，分离效果较好。

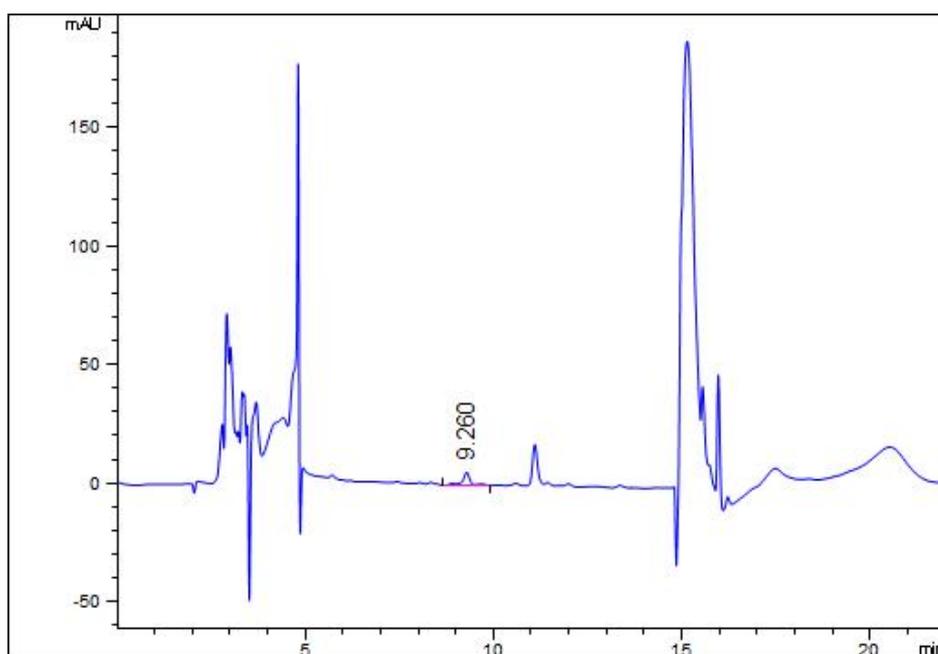


图9 口服液空白样添加吡啉甲酸铬2 mg/100 g

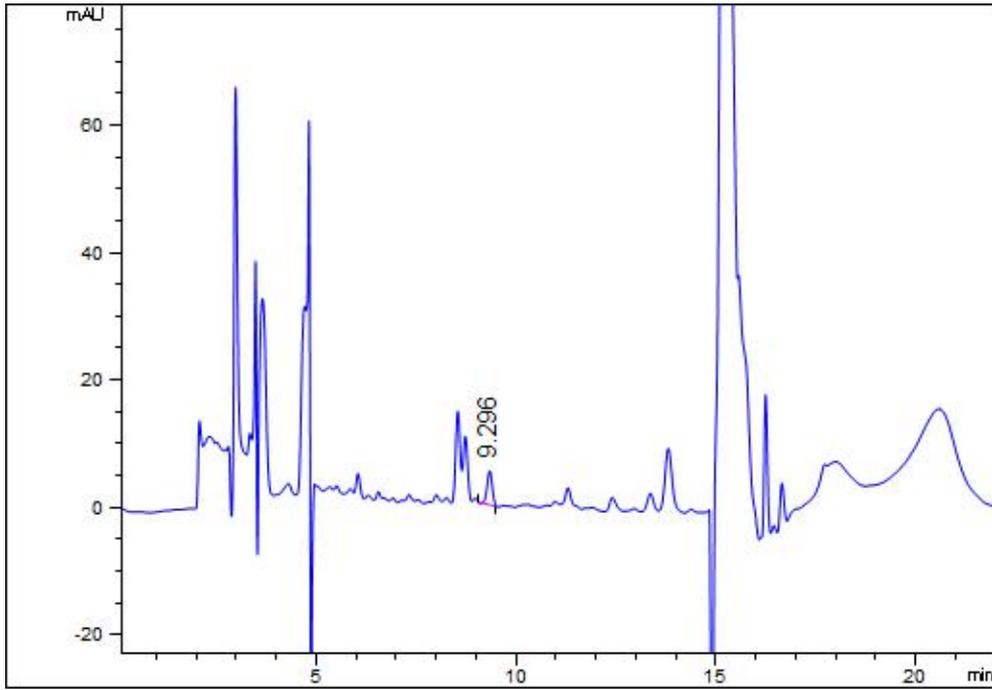


图10 片剂空白样添加吡啶甲酸铬6 mg/100 g

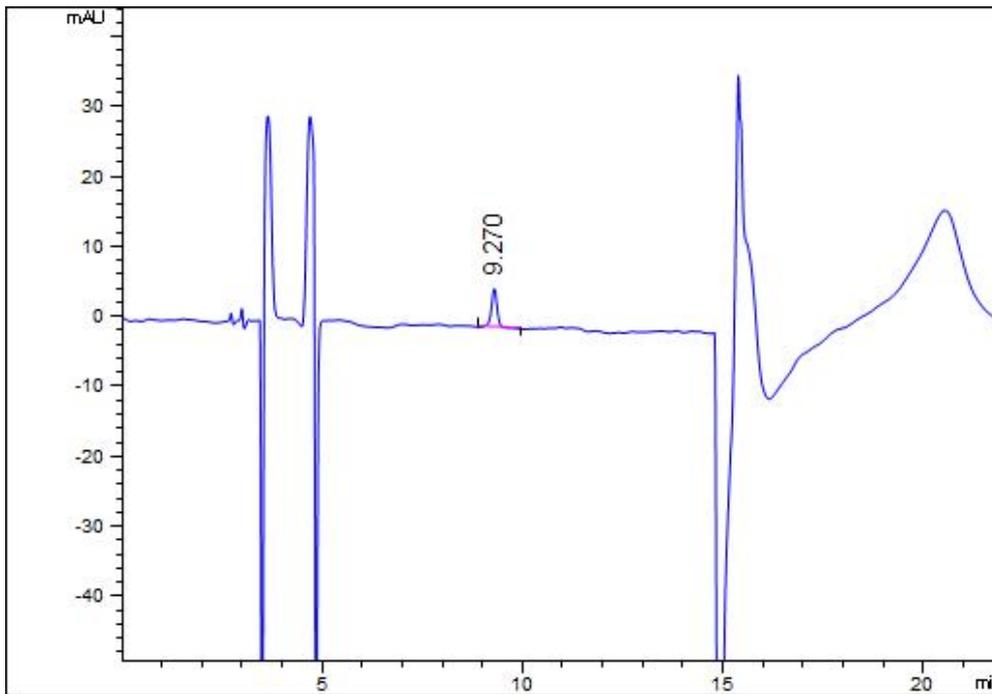


图11 硬胶囊空白样添加吡啶甲酸铬6 mg/100 g

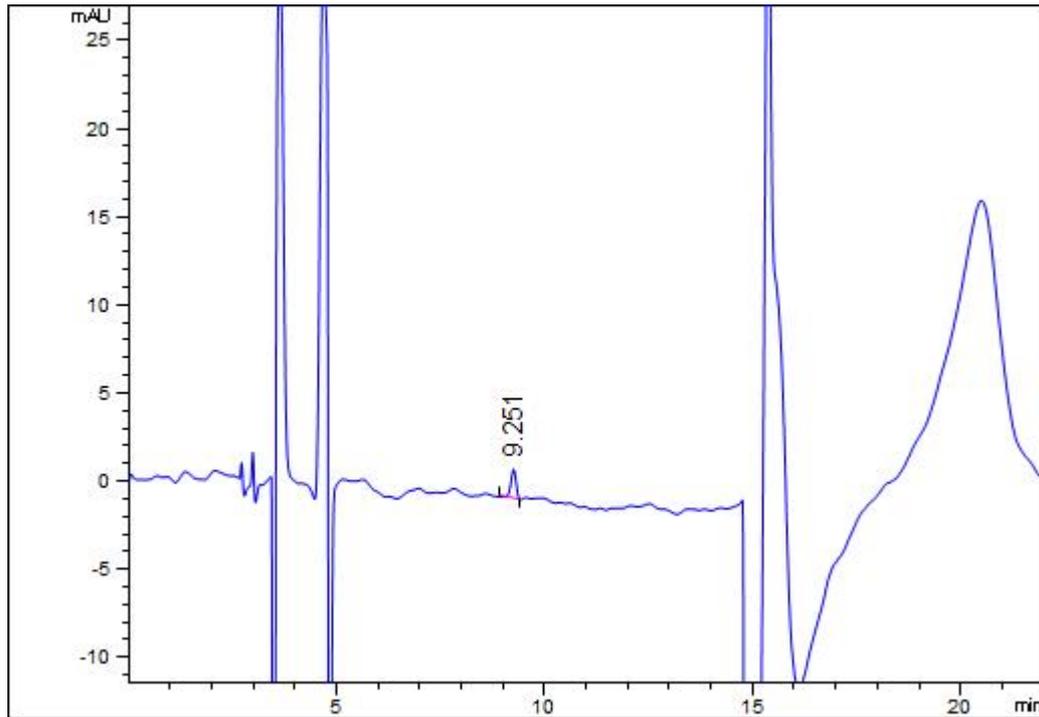


图12 软胶囊空白样添加吡啶甲酸铬4 mg/100 g

2. 前处理方法的优化

吡啶甲酸铬是被允许添加到保健食品中的一种功效成分，容易被人体吸收，具有调节血糖，辅助降血糖功效。吡啶甲酸铬是吡啶甲酸和三价铬的络合物。吡啶甲酸铬又称吡啶羧酸铬、甲基吡啶铬，为紫红色结晶性细小粉末，流动性良好，常温下性质稳定，微溶于水，不溶于乙醇。因此，根据吡啶甲酸铬理化性质，在保留原标准提取液不变的基础上，超声提取时间由 5min 延长至 30min，确保保健品中高含量的吡啶甲酸铬被充分溶解和萃取。

根据《营养素补充剂申报与审评规定（试行）》中规定，三价铬（ Cr^{3+} ）的日摄入量范围为 $15 \mu\text{g}$ ~ $150 \mu\text{g}$ ，换算为吡啶甲酸铬的日摄入量应为 $120 \mu\text{g}$ ~ $1200 \mu\text{g}$ 。市场上添加吡啶甲酸铬的保健食品主要以片剂、胶囊（包括硬胶囊、软胶囊）为主。根据市售产品标签标示

值，吡啶甲酸铬含量范围一般在 20 μg /片（粒）~1000 μg /片（粒）之间，按每片或每粒 0.5 g 计，市场上吡啶甲酸铬含量范围相当于 4~200 mg/100 g 之间，产品中吡啶甲酸铬的含量主要集中在 50~100 mg/100 g 之间。因此，将前处理方法的称样量修改为 0.5~2g，以便满足不同含量产品的检测灵敏度需求。

部分胶囊和片剂样品的提取液经离心后，过滤阻力较大，难过滤，可选择材质为尼龙的 0.45 μm 有机系滤头。进一步的比较相同浓度标准溶液使用有机系滤头过滤前和过滤后响应值变化情况，验证有机系滤头对吡啶甲酸铬是否有吸附作用，结果表明，过滤前和过滤后响应值偏差小于 2%，有机系滤头对吡啶甲酸铬无吸附作用。

3. 检出限和定量限

3.1 检出限

选择口服液、硬胶囊、片剂、软胶囊空白样品，口服液空白样称取 1g，硬胶囊、片剂、软胶囊空白样品分别称取 0.5g，置于 50mL 具塞离心管中，在这些空白样中添加标准溶液，按照优化的试样处理步骤和优化的色谱参考条件进行检测。采用信噪比法估计方法检出限，当信噪比 ≥ 3 时，对应的添加浓度作为检出限。

表 1 吡啶甲酸铬方法检出限验证估算结果

样品基质 (剂型)	称样量 (g)	定容体积 (mL)	最低检出浓度 (mg/100g)	信噪比 (S/N)
口服液	1	20	1.0	8.3
硬胶囊	0.5	20	2.0	5.6
片剂	0.5	20	2.0	6.2

软胶囊	0.5	20	2.0	7.1
-----	-----	----	-----	-----

3.2 定量限

选择口服液、硬胶囊、片剂、软胶囊空白样品，口服液空白样称取 1 g，硬胶囊、片剂、软胶囊空白样品分别称取 0.5 g，分别置于 50 mL 具塞离心管中，在空白样中添加标准溶液，按照优化的试样处理步骤和优化的色谱参考条件进行检测。采用信噪比法估计方法定量限，信噪比 ≥ 10 时的添加浓度作为估算定量限。

表 2 吡啶甲酸铬方法定量限验证估算结果

样品基质 (剂型)	称样量 (g)	定容体积 (mL)	最低检出浓度 (mg/100g)	信噪比 (S/N)
口服液	1	20	2.0	26.3
硬胶囊	0.5	20	4.0	18.2
片剂	0.5	20	4.0	20.1
软胶囊	0.5	20	4.0	22.4

因此，当称样量为 0.5g，定容体积为 20 mL 时，片剂、胶囊试样的检出限为 2.0 mg/100 g，定量限为 4.0 mg/100 g。

当称样量为 1g，定容体积为 20 mL 时，口服液试样的检出限为 1.0 mg/100 g，定量限为 2.0 mg/100 g。

4. 测定范围

准确移取适量标准储备溶液或标准中间溶液，用甲醇-水溶液 (1+1, 体积比) 稀释，配制成浓度为 1.0 μ g/mL、2.0 μ g/mL、5.0 μ g/mL、10.0 μ g/mL、20.0 μ g/mL、50.0 μ g/mL、100.0 μ g/mL 标准系列工作液，临用现配。测定峰面积，以相应标准工作液的浓度为横

坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。标准曲线线性方程为 $Y=20.93701X+0.24410$ ；相关系数 $R^2=0.9999$ ，线性良好。

5. 正确度和重复性

选择口服液、硬胶囊、片剂、软胶囊空白样品，口服液空白样称取 1g，硬胶囊、片剂、软胶囊空白样品分别称取 0.5g，分别置于 50mL 具塞离心管中，在空白样中添加最低浓度（定量限）、中间浓度（关注浓度）和最高浓度的吡啶甲酸铬三水平试验，按照标准草案中的方法操作。每个水平平行制备 6 份，计算每个浓度的平均回收率，结果表明，正确度和重复性精密度结果均符合 GB 5009.295 中定量分析方法要求，见表 3。

表 3 正确度与重复性精密度结果

剂型	添加水平 (mg/100g)	平均回收率 (%)	重复性精密度 RSD (%)
口服液	2.0	93.1	2.3
	4.0	95.8	3.2
	20.0	97.3	1.9
硬胶囊	4.0	90.5	1.5
	50.0	94.1	1.6
	200.0	98.1	1.9
片剂	4.0	90.5	1.4
	50.0	94.2	2.1
	200.0	96.5	1.7
软胶囊	4.0	91.4	2.7
	50.0	92.1	1.9
	200.0	97.5	2.3

6. 中间精密度

选择口服液、硬胶囊、片剂、软胶囊样品，其中口服液样品采用空白样品添加方法，添加浓度为 10.0 mg/100 g，硬胶囊、片剂、软胶囊为阳性样品。采取不同人员、不同仪器设备、不同环境的条件，按照标准草案中的方法对样品进行检测，每个样品平行测定 6 次，考察中间精密度，结果见表 4，中间精密度在 2.7%~3.6%之间，符合 GB5009.295 要求。

表 4 中间精密度试验结果

剂型	样品含量 (mg/100g)	6 次检测含量 (mg/100g)	平均含量 (mg/100g)	精密度 RSD (%)
口服液	10.0	9.23、9.52、8.93、9.34、9.06、8.75	9.11	3.6
		8.84、9.17、8.96、9.44、9.67、8.58		
		9.31、9.02、8.73、9.65、8.84、8.92		
硬胶囊	50.0	53.7、49.3、55.2、57.8、55.3、57.0	55.9	3.6
		55.4、56.0、55.3、57.5、57.3、56.8		
		57.3、55.0、56.8、55.5、56.2、58.1		
片剂	40.0	46.7、47.3、45.2、48.4、47.8、49.1	47.7	2.9
		48.2、46.6、49.5、46.7、46.3、45.7		
		47.5、48.1、47.7、49.3、50.3、48.6		
软胶囊	50.0	52.1、54.8、55.3、54.9、56.5、53.6	55.7	2.7
		56.4、55.8、57.1、56.3、57.0、54.2		
		54.4、56.7、58.5、57.5、53.8、56.1		

7. 再现性（实验室间方法验证）

本方法经过中国海关科学技术研究中心、广东产品质量监督检验研究院、南京食品药品监督检验院、北京疾病预防控制中心、广东长兴生物科技股份有限公司等单位根据标准草案进行实验室间方法验证，结果符合要求，实际样品再现性验证结果见表 5。

表 5 实际样品实验室间比对结果

编号	吡啶甲酸铬含量 (mg/100 g)					RSD (%)
	Lab1	Lab2	Lab3	Lab4	Lab5	
软胶囊 BD-01S	83.4	92.9	64.8 (离群值)	95.9	95.9	6.43
硬胶囊 BD-02S	69.9	69.1	72.1	81.4	82.9	8.75
片剂 BD-03S	165.3	162	159.3	181.37	203 (离群值)	5.92