



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX
代替 GB/T 5009.193—2003

保健食品中脱氢表雄甾酮（DHEA）的测定

Determination of dehydroepiandrosterone 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 5009.193—2003《保健食品中脱氢表雄甾酮（DHEA）的测定》。

本文件与GB 5009.170-2003相比，除结构调整和编辑性修改外，主要技术变化如下：

- 扩充了适用范围，除了片剂和胶囊，增加了凝胶软糖、口服液剂型，软胶囊三种基质；
- 增加了凝胶软糖、口服液剂型、软胶囊的前处理方法；
- 修改了色谱条件及最大吸收波长；
- 修改了方法的检出限、定量限。

本文件由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。

保健食品中脱氢表雄甾酮（DHEA）的测定

1 范围

本文件描述了保健食品中脱氢表雄甾酮（DHEA）的测定方法。

本文件适用于添加在软胶囊、硬胶囊、片剂、凝胶软糖、口服液等试样类型的保健食品中脱氢表雄甾酮（DHEA）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

根据不同的基质特点采用合适的前处理方式对试样进行提取和净化后，经高效液相色谱分离，紫外检测器检测，以保留时间定性，外标法定量。

5 试剂与材料

除非另有说明，本方法所有试剂均为色谱纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 乙腈（ CH_3CN ）。

5.1.2 甲酸（ HCOOH ）。

5.1.3 硫酸铵（ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ）：分析纯。

5.1.4 氯化钠（ NaCl ）：分析纯。

5.1.5 正己烷（ C_6H_{14} ）。

5.1.6 异丙醇（ $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$ ）。

5.2 试剂配制

5.2.1 0.1%甲酸水溶液：量取 1 mL 甲酸（5.1.2），用水定容至 1000 mL，混匀。

5.2.2 流动相 A：乙腈（5.1.1）：0.1%甲酸水溶液（5.2.1）=60：40（体积比）

5.2.3 流动相 B: 正己烷 (5.1.5) : 异丙醇 (5.1.6) =20: 1 (体积比)。

5.3 标准品及标准溶液配制

5.3.1 标准品

脱氢表雄甾酮标准品 (Dehydroepiandrosterone, DHEA, 化学式 $C_{19}H_{28}O_2$, CAS号: 53-43-0), 纯度 $\geq 99\%$, 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.3.2 标准溶液配制

5.3.2.1 脱氢表雄甾酮标准储备液 (1.0 mg/mL): 准确称取脱氢表雄甾酮 (DHEA) 标准品 10 mg (精确至 0.01 mg), 用乙腈 (5.1.1) 溶解并定容至 10 mL, 在 -18°C 冰箱中贮存, 有效期一年。

5.3.2.2 脱氢表雄甾酮标准系列中间液 (200.0 $\mu\text{g/mL}$): 准确吸取脱氢表雄甾酮标准储备液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用流动相 A (5.2.2) 或流动相 B (5.2.3) 稀释并定容。在 -18°C 冰箱中贮存, 有效期 3 个月。

5.3.2.3 脱氢表雄甾酮标准系列工作液: 分别吸取脱氢表雄甾酮标准中间液 (5.3.2.2) 适量, 用流动相 A (5.2.2) 或流动相 B (5.2.3) 配制浓度分别为 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、20.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 、200.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准系列工作液。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪: 配备紫外检测器。

6.2 超声波清洗器。

6.3 离心机: 转速 $\geq 6\ 000\ \text{r/min}$ 。

6.4 旋涡振荡器。

6.5 电子天平: 感量分别为 0.01 mg 和 0.1 mg。

6.6 滤膜: 0.45 μm 有机滤膜。

7 分析步骤

7.1 试样制备

软胶囊和硬胶囊: 取不少于 20 粒或不低于 5 g 样品, 剪开取其内容物, 研细 (必要时), 混匀, 封存备用; 片剂: 取不少于 20 片或不低于 10 g 试样, 经高速粉碎机或研钵磨成粉状, 混匀, 封存备用; 凝胶软糖: 取样品不低于 10 粒 (对于不同色泽或风味混装的试样, 则按色泽或种类均匀取样), 剪碎, 备用。口服液等液体: 取 5 支独立包装或不少于 20 mL 试样充分混匀, 封存备用。

7.2 试样处理

7.2.1 含油试样 (软胶囊等)

准确称取 0.2 g 试样 (精确至 0.01 g) 于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL 流动相 B (5.2.3), 涡旋 1 min, 至分散, 经 0.45 μm 滤膜过滤后上机测定。

7.2.2 固体试样 (硬胶囊和片剂等)

准确称取 0.2 g 试样 (精确至 0.01 g) 于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL 流动相 A (5.2.2), 涡旋 1 min, 至分散, 超声提取 5 min 后以 $\geq 6\ 000\ \text{r/min}$ 离心 5 min, 上清液经 0.45 μm 滤膜过滤, 待测。

7.2.3 固体试样 (凝胶软糖等)

取混合均匀的软糖试样，按照0.2 g试样和20 mL水的比例用温水溶解，取一定量溶解后的液体样品加入等比例乙腈（5.1.1）提取，再加入硫酸铵（5.1.3）至饱和，使明胶完全沉淀同时实现乙腈和水分层。涡旋30 s，超声提取5 min后，以 $\geq 6\ 000$ r/min离心5 min，取上层有机相经0.45 μm 滤膜过滤，待测。

7.2.4 液体试样（口服液等）

准确称取5 mL或5 g试样（精确至0.1 mg）于50 mL离心管中，加入等比例乙腈（5.1.1）提取，再加入氯化钠（5.1.4）至饱和并分层。涡旋30 s，超声提取5 min后，以 $\geq 6\ 000$ r/min离心5 min，取上层有机相经0.45 μm 滤膜过滤，待测。

7.3 色谱参考条件

7.3.1 反相色谱条件（适用于固体试样和液体试样）

- 色谱柱： C_{18} 柱（2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm ）（UPLC）、 C_{18} 柱（4.6 mm \times 150 mm, 5 μm ）（HPLC）或性能相当者。
- 柱温：35 $^{\circ}\text{C}$ 。
- 紫外检测器：200 nm。
- 流动相 A，等度洗脱。
- 流速：0.3 mL/min（UPLC）、1 mL/min（HPLC）。
- 进样量：5 μL （UPLC）、10 μL （HPLC）。

7.3.2 正向色谱条件（适用于含油试样）

- 色谱柱：Silica柱（4.6 mm \times 250 mm, 5.0 μm ）或性能相当者。
- 柱温：35 $^{\circ}\text{C}$ 。
- 紫外检测器：210 nm。
- 流动相 B，等度洗脱。
- 流速：1 mL/min。
- 进样量：10 μL 。

7.4 标准曲线的制作

将标准系列工作液分别注入高效液相色谱仪中，测定各组分的峰面积（标准品色谱图见附录图A.1和图A.2），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（样品色谱图见附录图A.3和A.4），根据标准曲线，以外标法计算待测试样溶液中脱氢表雄甾酮（DHEA）的浓度。

注：可根据试样中组分的含量，适当增加稀释倍数 f ，使其不超出标准曲线测定范围。

8 结果计算和表述

试样中脱氢表雄甾酮的含量按式（1）计算：

$$X = \frac{C \times V \times f \times 100}{m \times 1000} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

X ——试样中脱氢表雄甾酮的含量，单位为毫克每百克或毫克每百毫升（m /100 g或mg/100 mL）；

C ——由标准曲线计算得到的试样溶液中待测组分的质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V ——试样提取中加入提取液的体积，单位为毫升（mL）；

f——稀释倍数；

m——试样的质量或体积，单位为克或毫升（g或mL）；

100, 1000——单位换算系数。

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%。

10 其他

对于含油试样和固体试样，称样量为0.2 g 时，检出限为0.15 g/kg，定量限为0.5 g/kg。

对于液体试样，称样量为5 mL时，检出限为1.5 mg/L，定量限为5 mg/L。

附录 A

(资料性)

脱氢表雄甾酮 (DHEA) 标准品和样品色谱图

脱氢表雄甾酮 (DHEA) 标准品色谱图见图A.1和图A.2，样品色谱图见图A.3和A.4。

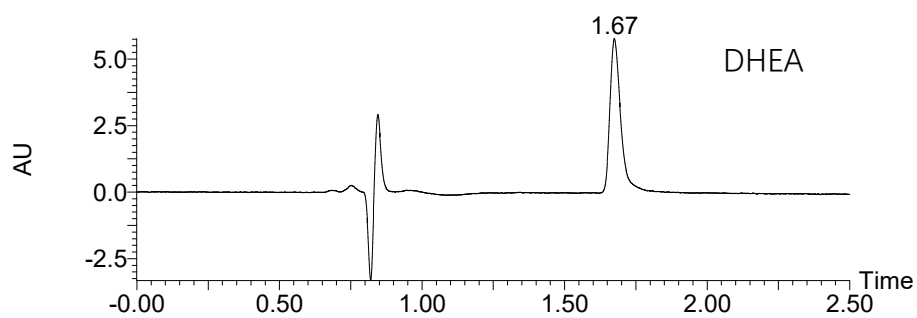


图 A.1 脱氢表雄甾酮 (DHEA) 标准品色谱图 (UPLC) (反相色谱)

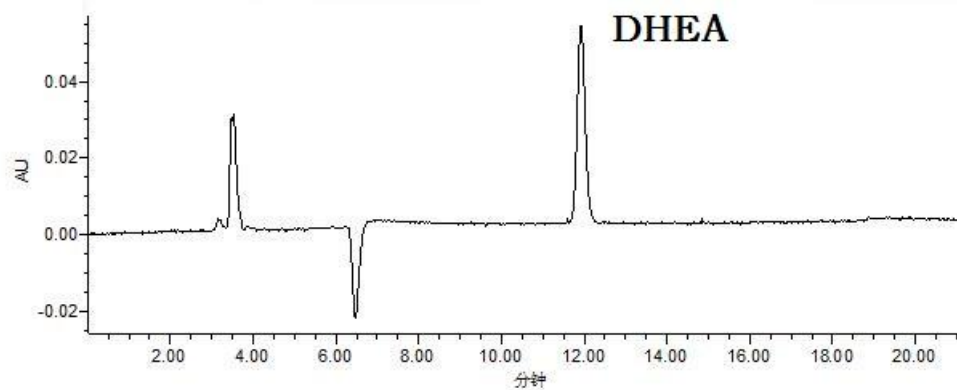


图 A.2 脱氢表雄甾酮 (DHEA) 标准品色谱图 (HPLC) (正相色谱)

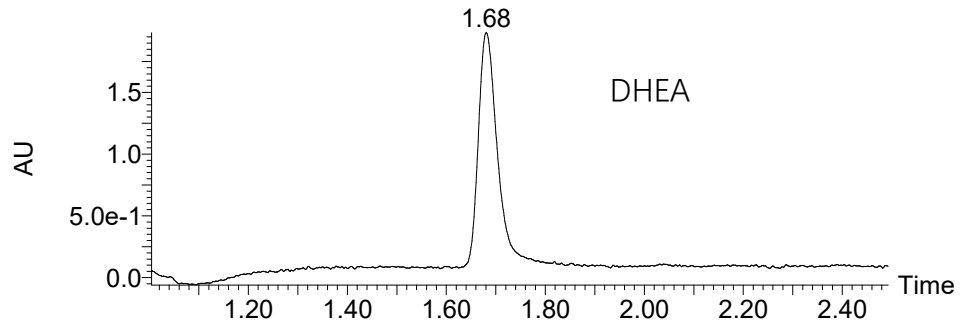


图 A.3 某片剂样品色谱图

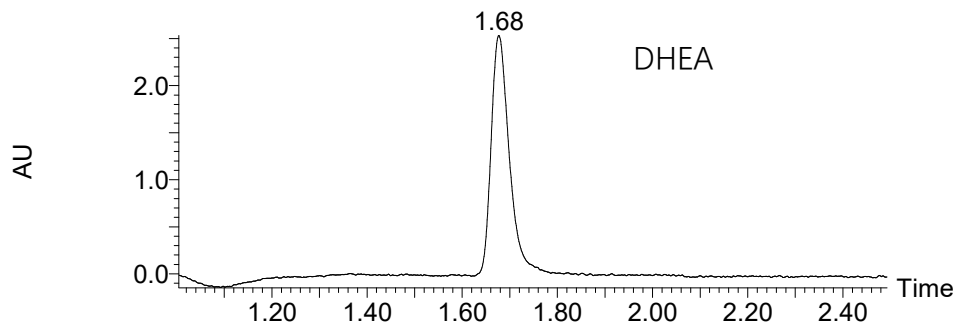


图 A.4 某胶囊样品色谱图