

# 中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX  
代替 GB/T 22250-2008

## 保健食品中绿原酸的测定

Determination of chlorogenic acid 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2月)

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 22250-2008《保健食品中绿原酸的测定》。

本文件与GB/T 22250-2008相比，除结构调整和编辑性修改外，主要技术变化如下：

- 修改了适用范围；
- 增加了试样制备；
- 优化了前处理条件和色谱条件；
- 修改了检出限和定量限；

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。

# 保健食品中绿原酸的测定

## 1 范围

本文件描述了保健食品中绿原酸的测定方法。  
本文件适用于添加了植物提取物的保健食品中绿原酸含量的测定。

## 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

试样通过 70%甲醇水溶液提取，经高效液相色谱分离，紫外检测器或二极管阵列检测器检测，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色谱纯，水为GB/T 6682规定的二级水。

### 5.1 试剂

- 5.1.1 乙腈( $C_2H_3N$ )。
- 5.1.2 甲醇 ( $CH_4O$ )。
- 5.1.3 石油醚(沸程  $30^{\circ}C\sim 60^{\circ}C$ ): 分析纯。
- 5.1.4 磷酸 ( $H_3PO_4$ )。

### 5.2 试剂配制

- 5.2.1 70%甲醇溶液: 量取 700 mL 甲醇 (5.1.2)，用水稀释至 1 L，混匀。
- 5.2.2 0.1%磷酸溶液: 吸取磷酸 (5.1.4) 1 mL，用水稀释至 1 L，混匀。

### 5.3 标准品

绿原酸（ $C_{16}H_{18}O_9$ ，3-咖啡酰奎宁酸，3-CQA，CAS号:327-97-9）：纯度 $\geq 98\%$ ，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 绿原酸标准储备液（2 000  $\mu\text{g/mL}$ ）：准确称取 20 mg（折算纯度后，精确至 0.01 mg）绿原酸标准品（5.3），用甲醇（5.1.2）溶解并定容至 10 mL 容量瓶中，于 $-18^\circ\text{C}$ 避光保存，有效期 1 个月。

5.4.2 绿原酸标准中间液（200  $\mu\text{g/mL}$ ）：吸取标准储备液（5.4.1）1.0 mL 于 10 mL 容量瓶中，用 70% 甲醇溶液（5.2.1）定容至刻度，于 $-18^\circ\text{C}$ 避光保存，有效期 1 周。

5.4.3 绿原酸标准工作液：分别吸取绿原酸标准中间液（5.4.2）0.020 mL、0.1 mL、0.5 mL、1.25 mL、2.5 mL 于 10 mL 容量瓶中，用 70% 甲醇溶液（5.2.1）定容至刻度。绿原酸标准系列工作液的浓度分别为 0.4  $\mu\text{g/mL}$ 、2.0  $\mu\text{g/mL}$ 、10.0  $\mu\text{g/mL}$ 、25.0  $\mu\text{g/mL}$ 、50.0  $\mu\text{g/mL}$ 。临用现配。

### 6 仪器和设备

6.1 液相色谱仪：配有二极管阵列检测器或紫外检测器。

6.2 天平：感量为 0.01 g 及 0.01 mg。

6.3 超声波发生器。

6.4 离心机：转速 $\geq 8\ 000\ \text{r/min}$ 。

6.5 涡旋振荡器。

6.6 氮吹仪。

6.7 有机相微孔滤膜：0.45  $\mu\text{m}$ 。

### 7 分析步骤

#### 7.1 试样制备

7.1.1 片剂、硬糖：取 20 片试样，研磨成粉状。

7.1.2 胶囊：取 20 粒胶囊内容物，混匀。

7.1.3 软胶囊：挤出 20 粒胶囊内容物，搅拌均匀，如内容物含油，应将内容物尽可能挤完全。

7.1.4 口服液：摇匀后取样。

#### 7.2 试样处理

7.2.1 一般试样（固体粉末）：准确称取 1 g（精确至 0.01 g）均匀试样于 50 mL 离心管中，加入 25 mL 70% 甲醇溶液（5.2.1），摇匀，超声波振荡提取 30 min，8 000 r/min 离心 5 min，取上清液过 0.45  $\mu\text{m}$  有机滤膜后，待上机。

7.2.2 一般试样（液体）：准确称取 1 g（精确至 0.01 g）均匀试样于 25 mL 容量瓶中，加入 20 mL 70% 甲醇溶液（5.2.1），摇匀，超声波振荡提取 30 min，用 70% 甲醇溶液（5.2.1）定容，摇匀。如定容后溶液混浊，可转移至 50 mL 离心管，8 000 r/min 离心 5 min。取上清液过 0.45  $\mu\text{m}$  有机滤膜后，待上机。

7.2.3 油性试样（软胶囊）称取 1 g（精确至 0.01 g）均匀试样于 50 mL 离心管中，加入 15 mL 石油醚（5.1.3），涡旋振荡 1 min，以 3 000 r/min 离心 10 min，弃去溶剂后再重复一次，氮吹将石油醚挥干，加入 25 mL 70% 甲醇溶液（5.2.1），摇匀，超声波振荡提取 30 min，8 000 r/min 离心 5 min，取上清液过 0.45  $\mu\text{m}$  有机滤膜后，待上机。

7.2.4 硬糖：准确称取 1 g（精确至 0.01 g）均匀试样于 50 mL 离心管中，加入 7.5 mL 水振荡溶解后，加入 17.5 mL 甲醇（5.1.2），摇匀，超声波振荡提取 30 min，8 000 r/min 离心 5 min，取上清液过 0.45 μm 有机滤膜后，待上机。

### 7.3 测定

#### 7.3.1 仪器参考条件

- a) 色谱柱：C<sub>18</sub> 柱，250 mm×4.6 mm(i.d)， 粒径 5 μm；
- b) 流动相：A相为乙腈（5.1.1），B相为0.1%磷酸溶液（5.2.2），梯度洗脱条件参见表1；
- c) 流速：1.0 mL/min；
- d) 检测波长：327 nm；
- e) 柱温：35℃；
- f) 进样量：10 μL。

表1 梯度洗脱程序

时间/ min	流动相 A/ %	流动相 B/ %
0	10	90
5	10	90
18	40	60
18.5	80	20
20	80	20
21	10	90
25	10	90

#### 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，测定相应的峰面积（标品色谱图见附录A图A.1），以标准系列工作液中绿原酸的浓度为横坐标，以绿原酸色谱峰的峰面积为纵坐标，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，通过保留时间定性，得到待测物峰面积（样品色谱图见附录A图A.2），根据标准曲线得到待测液中绿原酸的浓度。若待测物含量超出标准曲线的测定范围，应使用提取液进行稀释，使其上机浓度在线性范围内再进行定量。

### 6 结果计算和表述

试样中绿原酸的含量按公式（1）计算：

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

式中：

$X$ ——试样中绿原酸的含量，单位为毫克每百克（mg/100 g）；

$c$ ——由标准曲线得到的试样溶液中绿原酸的浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

$V$ ——提取液体积，单位为毫升（mL）；

$f$ ——样液稀释倍数；

$m$ ——试样的取样量，单位为克（g）；

100, 1000——单位转换系数。

结果保留 3 位有效数字。

## 7 精密度

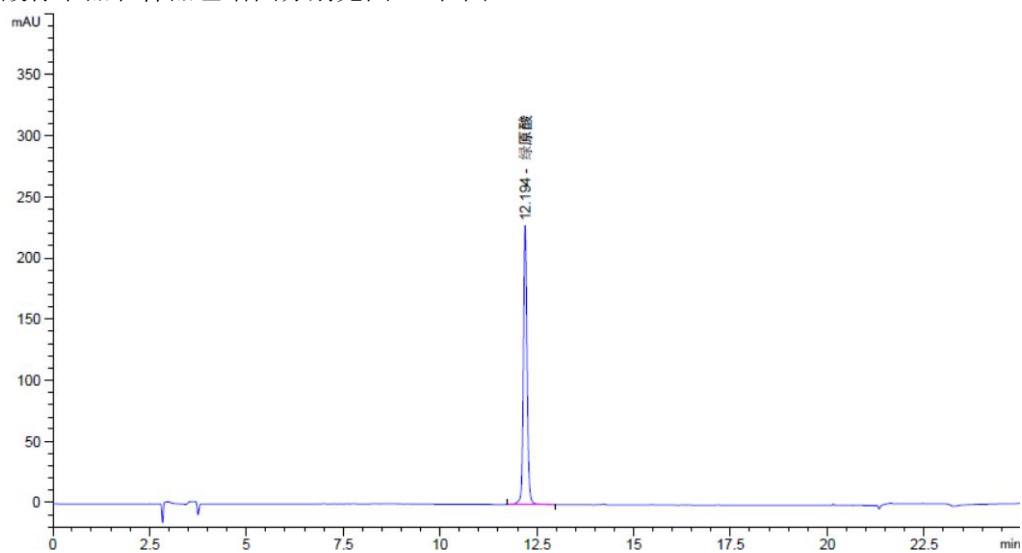
在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%

## 8 其他

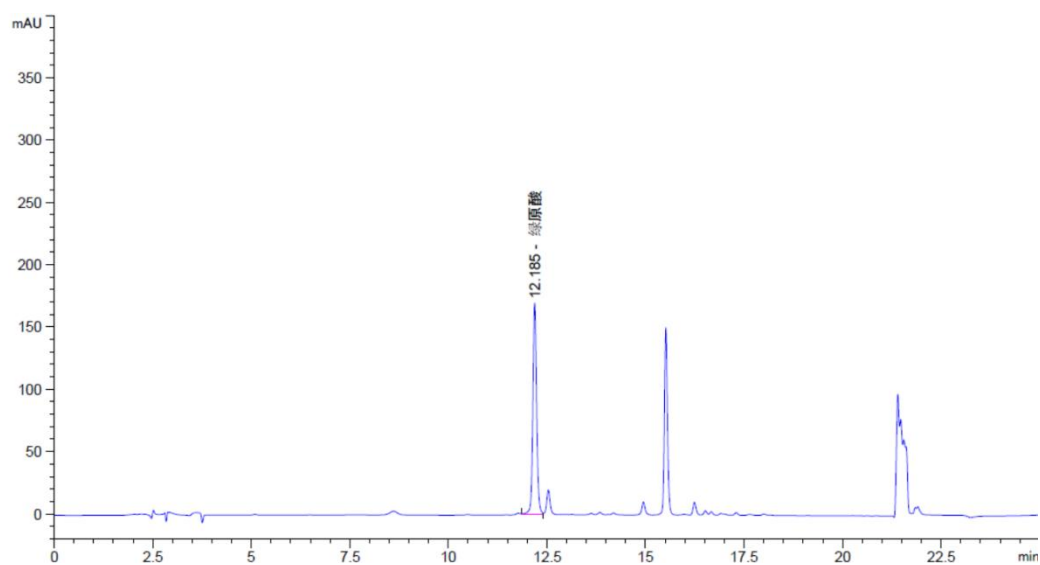
当取样量为1.0 g，提取液体积为25 mL时，本方法的检出限为0.3 mg/100 g，定量限为1 mg/100 g。

附录 A  
(资料性附录)  
绿原酸标准品和样品色谱图

绿原酸标准品和样品色谱图分别见图A.1和图A.2。



图A.1 绿原酸标准品色谱图 ( $c=50 \mu\text{g/mL}$ )



图A.2 绿原酸样品色谱图