

中华人民共和国国家标准



GB/T ××××—××××

代替 GB/T 5009.196—2003

保健食品中肌醇的测定

Determination of inositol in health foods

××××-××-××发布

××××-××-××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。

本文件规定了食品质量相关技术要求，食品安全相关要求见有关法律法规、政策和食品安全标准等文件。

本文件代替 GB/T 5009.196—2003《保健食品中肌醇的测定》，与 GB/T 5009.196—2003 相比，除结构调整和编辑性修改外，主要技术变化如下：

- a) 更改了适用范围(见第 1 章,2003 年版的第 1 章)；
- b) 更改了原理(见第 4 章,2003 年版的第 2 章)；
- c) 更改了试剂(见 5.1,2003 年版的第 3 章)；
- d) 更改了仪器设备(见第 6 章,2003 年版的第 4 章)；
- e) 增加了试样制备的方法(见第 7 章)；
- f) 更改了试样处理条件和仪器参考条件(见 8.1、8.2、8.3、8.5,2003 年版的 5.1、5.2)；
- g) 更改了计算公式(见第 9 章,2003 年版的第 6 章)；
- h) 更改了检出限、定量限(见第 11 章,2003 年版的第 1 章)。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由全国特殊食品标准化技术委员会(SAC/TC 466)提出并归口。

本文件起草单位：河北省食品检验研究院、中国食品发酵工业研究院有限公司、中原食品实验室、中轻技术创新中心有限公司、南京市食品药品监督检验院、广东省科学院测试分析研究所(中国广州分析测试中心)、东鹏饮料(集团)股份有限公司、方圆标志检验检测(山东)有限公司、中轻检验认证有限公司。

本文件主要起草人：史国华、钟其顶、邵兵、刘明、刘真、武竹英、王李平、张岩、胡海娥、陈楠楠、盛建伟、刘洋、吴一凡、范素芳、郭新光、李贺佳、杨军丽、李学莉、周漪波、李俏、吴奕萱、段嘉耘。

本文件及其所代替的文件历次版本发布情况为：

——2003 年首次发布为 GB/T 5009.196—2003；

——本次为第一次修订。

保健食品中肌醇的测定

1 范围

本文件描述了保健食品中肌醇的气相色谱测定方法。

本文件适用于片剂、硬胶囊、颗粒剂、软胶囊、口服液、饮料等剂型形态的保健食品中的肌醇的测定。

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

固体试样中的肌醇用水提取、经乙醇沉淀，半固体试样和液体试样中的肌醇用70%乙醇溶液提取，上清液离心干燥后，与硅烷化试剂衍生，衍生物经正己烷提取，采用气相色谱-氢火焰离子化检测器检测，以保留时间定性，外标法定量。

5 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

5.1 试剂

5.1.1 水，按 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1.2 无水乙醇(C_2H_6O)。

5.1.3 95%乙醇(C_2H_6O)。

5.1.4 正己烷(C_6H_{14})：色谱纯。

5.1.5 三甲基氯硅烷(C_3H_9ClSi)。

5.1.6 六甲基二硅胺烷($C_6H_{19}NSi_2$)。

5.1.7 *N,N*-二甲基甲酰胺(C_3H_7NO)。

5.1.8 无水硫酸钠(Na_2SO_4)。

5.2 试剂配制

5.2.1 70%(体积分数)乙醇溶液：量取 700 mL 无水乙醇(5.1.2)，用水稀释至 1 000 mL，混匀。

5.2.2 硅烷化试剂:三甲基氯硅烷-六甲基二硅胺烷-*N,N*-二甲基甲酰胺溶液(1:2:8,体积比)。分别量取 10 mL 三甲基氯硅烷(5.1.5)和 20 mL 六甲基二硅胺烷(5.1.6)加入至 80 mL *N,N*-二甲基甲酰胺(5.1.7),超声混匀,临用前配制。

注:硅烷化试剂若出现白色浑浊现象,需重新配制。

5.3 标准物质或标准样品

肌醇($C_6H_{12}O_6$,CAS 号:87-89-8):纯度不低于 99%,或经国家认证并授予证书的标准物质或标准样品。

5.4 标准溶液配制

5.4.1 肌醇标准储备液(10 mg/mL):称取已进行 $105\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 干燥 4 h(或按照标准说明书操作)的肌醇标准物质或标准样品 100 mg(精确至 0.1 mg)至烧杯中,用水溶解,转移至 10 mL 容量瓶中,用水定容,混匀, $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮存,有效期 1 个月。

5.4.2 肌醇标准工作溶液(1 mg/mL):移取 1 mL 肌醇标准储备液于 10 mL 容量瓶中,用 70%(体积分数)乙醇(5.2.1)定容,混匀,临用前配制。

5.5 材料

滤膜:0.45 μm ,有机系。

6 仪器设备

- 6.1 气相色谱仪:配氢火焰离子化检测器。
- 6.2 分析天平:感量 0.1 mg 和 0.001 g。
- 6.3 离心机:转速不小于 4 000 r/min。
- 6.4 烘箱:温度最大允许误差为 $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 6.5 恒温水浴锅:温度最大允许误差为 $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 6.6 旋转蒸发器。
- 6.7 涡旋振荡器。
- 6.8 超声波仪。
- 6.9 氮吹仪。

7 试样制备

7.1 固体试样(片剂、硬胶囊、颗粒剂等)

片剂、颗粒剂取不少于 20 粒或不少于 5 g 样品,研磨成粉状,混匀;硬胶囊取不少于 20 粒或不少于 5 g 样品,取其内容物,必要时研细,混匀。

7.2 半固体试样(软胶囊等)

取不少于 20 粒或不少于 5 g 样品,剪开,挤出内容物,混匀。

7.3 液体类试样(口服液、饮料等)

取不少于 5 个最小规格包装或不少于 50 mL,混匀。

8 分析步骤

8.1 提取

8.1.1 固体试样:称取 0.5 g~1 g 混合均匀的试样(精确至 0.001 g),或根据样品标签标识使所取试样中肌醇的含量约为 12.5 mg,置于 50 mL 刻度管中,加入 6 mL 40 °C~45 °C 的温水溶解,超声提取 20 min,用 95%乙醇(5.1.3)稀释并定容至 25 mL 容量瓶中,混匀,静置沉淀 20 min,9 000 r/min 离心 5 min,取 5 mL 上清液,待浓缩。

8.1.2 半固体试样:称取 0.5 g~1 g 混合均匀的试样(精确至 0.001 g),或根据样品标签标识使所取试样中肌醇的含量约为 12.5 mg,置于 50 mL 刻度管中,加入 4 mL 正己烷(5.1.4),涡旋振荡 1 min,加入 10 mL 70%(体积分数)乙醇溶液(5.2.1),涡旋振荡 1 min,超声提取 20 min,9 000 r/min 离心 5 min,弃去上层正己烷,加入 5 mL 正己烷(5.1.4),涡旋振荡 1 min,9 000 r/min 离心 5 min,弃去上层正己烷后,转移至 10 mL 容量瓶中,用 70%(体积分数)乙醇溶液(5.2.1)定容,移取 2 mL 供试液,待浓缩。

8.1.3 液体试样:量取 5 mL~10 mL 混合均匀的试样(精确至 0.01 mL)于 50 mL 刻度管中,或根据样品标签标识使所取试样中肌醇含量约为 2.5 mg,加入 70%(体积分数)乙醇溶液(5.2.1)至 50 mL,混匀,超声提取 20 min,9 000 r/min 离心 5 min,上清液转移至 50 mL 容量瓶中,用 70%(体积分数)乙醇溶液(5.2.1)定容,取 5 mL 供试液,待浓缩。

8.2 浓缩

向待浓缩试样中加 5 mL 无水乙醇(5.1.2),在不超过 80 °C 下采用旋转蒸发仪或氮吹仪浓缩至近干,上述操作重复 2 次~3 次至浓缩瓶中液体完全除去。

8.3 衍生

向干燥后的试样中加入 5 mL 硅烷化试剂(5.2.2),超声 5 min,于 25 mL 螺口玻璃瓶中密封混匀,液体试样、半固体试样于 80 °C 水浴或烘箱中反应 20 min,固体试样于 80 °C 水浴或烘箱中反应 75 min(每隔 20 min 取出振荡 10 s),冷却至室温,加入 3 mL 正己烷(5.1.4),涡旋 2 min,待静置分层后,取正己烷萃取液于预先加入少许无水硫酸钠(5.1.8)的离心管中,涡旋后,4 000 r/min 转速离心 5 min,将溶液转移至进样瓶中,即得试样测定液,经滤膜(5.5)过滤,待气相色谱仪测定。

8.4 肌醇标准测定液制备

分别移取 0.05 mL、0.1 mL、0.5 mL 的肌醇标准工作溶液(5.4.2)和 0.25 mL、0.5 mL、1 mL 的肌醇标准储备液(5.4.1)于旋蒸瓶,其他步骤同 8.2 和 8.3,得到的系列标准测定液中肌醇质量分别为 0.05 mg、0.1 mg、0.5 mg、2.5 mg、5 mg、10 mg。

8.5 仪器参考条件

气相色谱参考条件如下:

- 检测器:氢火焰离子化检测器;
- 色谱柱:石英毛细管柱(5%苯基-95%甲基聚硅氧烷,柱长 30 m,内径 0.25 mm,膜厚 0.25 μ m),或具同等性能的色谱柱;
- 进样口温度:260 °C;
- 检测器温度:300 °C;
- 分流比:10:1,可根据实际情况调整;
- 进样量:1.0 μ L;

- g) 载气:高纯氮气;
- h) 载气流速:1 mL/min;
- i) 氢气流量:40 mL/min;
- j) 空气流量:400 mL/min;
- k) 程序升温条件:见表 1。



表 1 程序升温条件

升温速率 °C/min	温度 °C	保持时间 min
—	160	3
10	240	5
20	280	8

8.6 标准曲线的制作

将肌醇标准测定液(8.4)分别注入气相色谱仪中,测定其峰面积,以肌醇标准测定液中肌醇的质量为横坐标,测得的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。肌醇标准溶液(肌醇质量 2.5 mg)衍生物气相色谱图参见附录 A 中图 A.1。

8.7 试样溶液的测定

将试样测定液注入气相色谱仪中,测得保留时间和峰面积。试样测定液中肌醇衍生物的保留时间应与肌醇标准品衍生物的保留时间一致。试样测定液中肌醇的质量根据标准曲线得到。肌醇试样衍生物气相色谱图见图 A.2。

8.8 空白试验

不称取试样,按 8.1、8.2 和 8.3 的步骤做空白实验。应确认不含有干扰待测组分的物质。平行做两份试验。

9 结果计算

试样中肌醇的含量按公式(1)进行计算:

$$X = \frac{M_x \times V_1}{m \times V_2} \times f \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X —— 试样中肌醇的含量,固体试样单位为毫克每百克(mg/100 g),液体试样单位为毫克每百毫升(mg/100 mL);
- M_x —— 由标准曲线得到的试样测定液中肌醇的质量,单位为毫克(mg);
- V₁ —— 提取液体积(mL);
- V₂ —— 浓缩液体积,单位为毫升(mL);
- m —— 试样量,单位为克或毫升(g 或 mL);
- f —— 试样制备过程中的稀释倍数;
- 100 —— 单位换算系数。

结果保留三位有效数字。

10 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应超过算术平均值的 10%。

11 检出限与定量限

固体或半固体试样:当称样量为 1 g 时,方法的检出限为 5 mg/100 g,定量限为 10 mg/100 g。

液体试样:当称样量为 10 mL 时,方法的检出限为 2 mg/100 mL,定量限为 5 mg/100 mL。

附录 A

(资料性)

肌醇标准溶液和试样衍生物气相色谱图

A.1 肌醇标准溶液(肌醇质量 2.5 mg)衍生物气相色谱图见图 A.1。

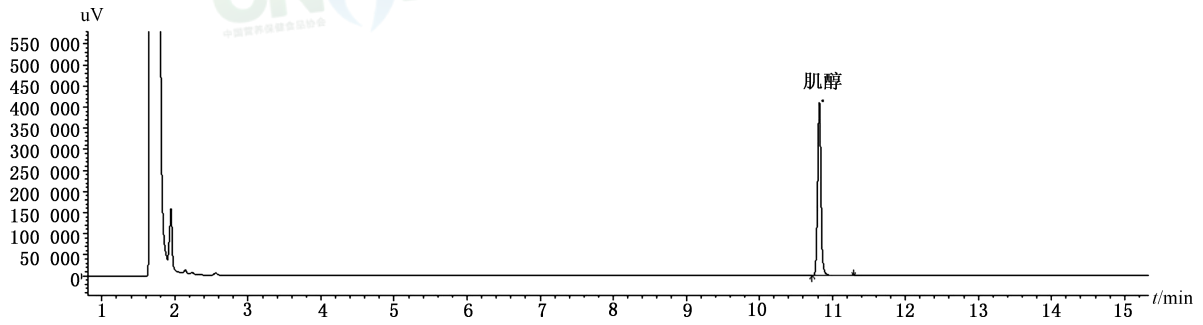


图 A.1 肌醇标准溶液(肌醇质量 2.5 mg)衍生物气相色谱图

A.2 肌醇试样衍生物气相色谱图见图 A.2。

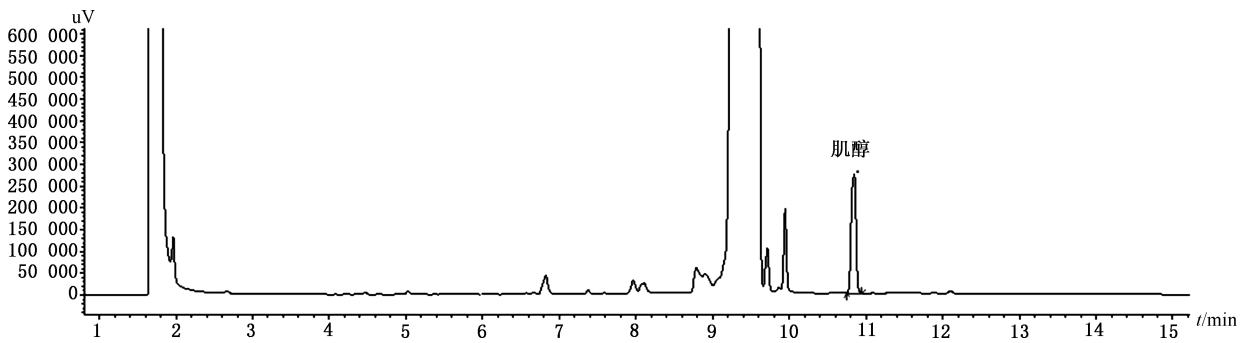


图 A.2 肌醇试样衍生物气相色谱图