

团 体 标 准

T/CCCMHP1E 1.XX—2023

植物提取物 青钱柳叶提取物

Plant Extract—Cyclocarya paliurus Leaf Extract

(征求意见稿)

2023 - XX - XX 发布

2023 - XX - XX 实施



## 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。

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。

本文件由中国医药保健品进出口商会提出并归口。

本文件起草单位：无限极（中国）有限公司、广州牌牌生物科技有限公司、弘正道（中国）中药研究有限公司、天方健（中国）药业有限公司、湖北融硒农业科技有限公司、武冈绿科生态农业有限公司。

本文件主要起草人：赵宏伟、杨小冰、蒋伶俐、娄勇军、罗其昌、范勇成、符翠欢、周兴栋、刘岑岑、廖伟玲、王磊、寻正华、宁德山、张龙开、李达、蔡莲珍、高融、陆明亮。



# 植物提取物 青钱柳叶提取物

## 1 范围

本文件规定了青钱柳叶提取物的技术要求、试验方法、检验规则和包装、标签、运输、贮存及保质期要求。

本文件适用于以胡桃科植物青钱柳植物的干燥的叶子为原料，经提取、过滤、浓缩、干燥等工序制成的青钱柳叶提取物。

## 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 191 包装储运图示标志
- GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定
- GB 4789.3 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数
- GB 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验
- GB 4789.10 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验
- GB 4789.15 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数
- GB 4789.38 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠埃希氏菌计数
- GB 4806.1 食品安全国家标准 食品接触材料及制品通用安全要求
- GB 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定
- GB 5009.4 食品安全国家标准 食品中灰分的测定
- GB 5009.268 食品安全国家标准 食品中多元素的测定
- GB 7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则
- GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
- 《中华人民共和国药典（2020年版）》第四部 通则 0982 粒度和粒度分布测定法

## 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 技术要求

### 4.1 工艺要求

#### 4.1.1 植物原料

以胡桃科植物青钱柳[*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk.]植物的干燥叶为原料。春、夏季采收，洗净，干燥。

#### 4.1.2 工艺过程

原料→前处理→提取→过滤→浓缩→干燥→成品。

### 4.2 产品要求

#### 4.2.1 感官要求

应符合表1的规定。

表1 感官要求

项目	要求
色泽	棕色至深棕色，色泽均匀
滋味与气味	应具有本品特有的香气及滋味，无不良口感
外观	粉末，无正常视力可见外来异物

## 4.2.2 理化要求

应符合表2的规定。

表2 理化要求

项目		指标
鉴别	薄层色谱	供试品薄层色谱中，在与对照品（槲皮素）色谱相应的位置上，显示相同的荧光斑点。
	HPLC特征图谱	供试品色谱中应呈现7个特征峰，以绿原酸峰相对应的峰为S峰，计算各特征峰与S峰的相对保留时间，应在规定值的±5%之内，相对保留时间规定值为：0.76（峰1），1.00[峰2（S）]，1.05（峰3），1.77（峰4），1.89（峰5），2.08（峰6），2.25（峰7）。
槲皮素（以干燥品计）/%		0.2-2
多糖（以干燥品计）/%		4.5-15
水分/%		≤5.0
灰分/%		≤8.0
粒度（80目筛通过率）/%		≥90
铅（Pb）/（mg/kg）		≤1.0
镉（Cd）/（mg/kg）		≤0.3
砷（As）/（mg/kg）		≤2.0
汞（Hg）/（mg/kg）		≤0.2

## 4.2.3 微生物要求

应符合表3的规定。

表3 微生物要求

项目	指标
菌落总数/（CFU/g）	≤1000
霉菌和酵母/（CFU/g）	≤100
大肠菌群/（MPN/g）	≤0.3
大肠埃希菌/25g	不得检出
沙门菌/25g	不得检出
金黄色葡萄球菌/25g	不得检出

## 4.2.4 其他污染物

其他污染物限量要求，依据不同要求，应符合我国相关法规的规定。对于出口产品，应符合出口目的国相关法规的规定。

## 5 检验方法

## 5.1 感官检验

取本品嗅其气味和尝其滋味；另取试样适量置于白色瓷盘中观察其色泽、外观，并检查有无异物。

## 5.2 理化检验

## 5.2.1 鉴别

薄层色谱按A.2中规定的方法测定。HPLC特征图谱按A.3中规定的方法测定。

#### 5.2.2 槲皮素

按A.4中规定的方法进行测定。

#### 5.2.3 多糖

按A.5中规定的方法进行测定。

#### 5.2.4 水分

按GB 5009.3中第一法进行测定。

#### 5.2.5 灰分

按GB 5009.4中第一法进行测定。

#### 5.2.6 粒度

按《中华人民共和国药典（2020年版）》第四部 通则 0982中规定的方法进行测定。

#### 5.2.7 铅、镉、砷、汞

按GB 5009.268第一法进行测定。

### 5.3 微生物检验

#### 5.3.1 菌落总数

按GB 4789.2中规定的方法测定。

#### 5.3.2 霉菌和酵母

按GB 4789.15中规定的方法测定。

#### 5.3.3 大肠菌群

按GB 4789.3第一法进行测定。

#### 5.3.4 大肠埃希菌

按GB 4789.38中规定的方法测定。

#### 5.3.5 沙门菌

按GB 4789.4中规定的方法测定。

#### 5.3.6 金黄色葡萄球菌

按GB 4789.10中规定的方法测定。

## 6 检验规则

### 6.1 组批

同品种、同等级、同一批投料生产的产品，以同一生产日期为一检验批次。

### 6.2 出厂检验

6.2.1 产品应逐批检验，并出具检验报告。检验合格后，方可出厂。

6.2.2 出厂检验项目包括感官要求、槲皮素、多糖、水分、灰分、粒度、菌落总数、霉菌和酵母。

### 6.3 型式检验

- 6.3.1 型式检验项目包括本文件中规定的全部项目。
- 6.3.2 正常生产时每年应进行一次型式检验。
- 6.3.3 有下列情况之一时，应进行型式检验。
  - a) 原料来源变动较大时；
  - b) 正式投产后，如配方、生产工艺有较大变化，可能影响产品质量时；
  - c) 出厂检验与上一次型式检验结果有较大差异时；
  - d) 产品停产6个月以上，恢复生产时；
  - e) 食品安全监督部门提出进行型式检验的要求时。

#### 6.4 判定规则

- 6.4.1 检验结果全部项目符合本文件规定时，判该批产品为合格品。
- 6.4.2 出厂检验项目如有（微生物项目除外）不符合本文件，可在原批次产品中加倍抽样复检一次。复检后仍有一项或一项以上不符合本文件，判为不合格品。
- 6.4.3 微生物项目有任何一项不符合本文件，判为不合格品，不应复验。

### 7 包装、标签、运输、贮存和保质期

#### 7.1 包装

内包装材料应符合GB 4806.1的要求。

#### 7.2 标签

标签应符合GB 7718的规定，包装标签应标注：产品名称、批号、规格、净含量、执行标准、生产厂家、厂址、产地、生产日期、保质期、贮存条件等。产品外箱包装储运图示标志应符合GB/T 191的规定。

#### 7.3 运输

运输工具应清洁、卫生、干燥，在运输过程中应轻装轻卸，严禁摔撞。在运输过程中应有遮盖物，防止日晒雨淋受潮，应与有毒、有害、有异味、有放射性的物质混运。

#### 7.4 贮存

贮存产品的仓库应保持清洁卫生、干燥通风、隔热、阴凉。产品应堆放在距地面不少于0.1m、距墙壁不少于0.3m的托板上。避免与有毒、有害、易腐、易污染等物品一起堆放。

#### 7.5 保质期

在正常贮运条件下，按本文件规定贮存。产品在包装完整和未经启封的情况下，自生产之日起，保质期为24个月。

## 附录 A (规范性) 检验方法

### A.1 一般规定

本文件所用试剂和水,在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和符合GB/T 6682规定的实验用水。实验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时,均指水溶液。

### A.2 薄层色谱鉴别

#### A.2.1 试剂、对照品

A.2.1.1 甲醇。

A.2.1.2 盐酸。

A.2.1.3 甲苯。

A.2.1.4 乙酸乙酯。

A.2.1.5 甲酸。

A.2.1.6 乙醇。

A.2.1.7 三氯化铝。

A.2.1.8 槲皮素(Quercetin, CAS号117-39-5)对照品。

A.2.1.9 三氯化铝乙醇溶液:取三氯化铝1g,加入乙醇使溶解成100mL,即得。

#### A.2.2 仪器与用具

A.2.2.1 分析天平,感量为0.1mg。

A.2.2.2 超声波清洗仪。

A.2.2.3 层析缸。

A.2.2.4 薄层色谱仪。

A.2.2.5 高效硅胶G薄层板。

#### A.2.3 操作步骤

##### A.2.3.1 对照品溶液配制

取槲皮素对照品适量,加甲醇制成每1mL含2mg的溶液,即得。

##### A.2.3.2 供试品溶液配制

取青钱柳叶提取物粉末1g,依次加入甲醇20mL、盐酸5mL后,摇匀。回流1h后冷却至室温,过滤,取续滤液,即得。

##### A.2.3.3 薄层色谱操作

吸取上述对照品溶液1 $\mu$ L、供试品溶液10 $\mu$ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯:乙酸乙酯:甲酸(5:4:0.5,体积比)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以三氯化铝乙醇溶液,挥干,置紫外光灯(365nm)下检视。

##### A.2.3.4 测定

置紫外灯(365nm)下检视,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。

### A.3 HPLC 特征图谱鉴别

### A.3.1 方法提要

样品经0.1%甲酸水溶液-乙腈（97:3，体积比）的混合溶液超声溶解后过滤，采用高效液相色谱法检测，鉴别各目标成分。

### A.3.2 试剂、对照品

A.3.2.1 乙腈。

A.3.2.2 甲酸。

A.3.2.3 一级水，或符合色谱要求的其他水。

A.3.2.4 甲醇。

A.3.2.5 绿原酸（Chlorogenic Acid, CAS号：327-97-9）对照品，纯度98.86%，HPLC。

A.3.2.6 稀释剂：0.1%甲酸水溶液-乙腈（97:3，体积比）。

### A.3.3 仪器与用具

A.3.3.1 百万分之一分析天平，感量0.001mg。

A.3.3.2 十万分之一分析天平，感量0.01mg。

A.3.3.3 超声波清洗仪。

A.3.3.4 高效液相色谱仪，配有紫外检测器或者二极管阵列检测器。

### A.3.4 操作步骤

#### A.3.4.1 对照品溶液配制

取绿原酸适量，精密称定，用适量甲醇超声（360W，40kHz）溶解，再加稀释剂稀释，摇匀，制成绿原酸含量为128.7μg/mL的溶液。

#### A.3.4.2 供试品溶液配制

取供试品约55mg，精密称定，置10mL量瓶中，加入稀释剂5mL，超声（360W，40kHz）处理1min~2min，取出，冷却后定容至刻度，摇匀，取适量过0.45μm的微孔滤膜，过滤弃1mL，取续滤液，即得。

#### A.3.4.3 参考色谱条件

色谱条件如下：

——色谱柱：十八烷基键合硅胶色谱柱（250×4.6mm，5μm）；

——流动相：以0.1%甲酸水溶液为流动相A，以乙腈为流动相B，按表A.1要求进行梯度洗脱；

——波长：245nm；

——柱温：35℃；

——流速：1.0mL/min；

——进样量：10μL。

表A.1 梯度洗脱条件

时间/min	流动相A/%	流动相B/%
0	97	3
10	91	9
12	90	10
16	87	13
30	81	19
60	65	35
70	3	97
79	3	97
80	97	3

时间/min	流动相A/%	流动相B/%
88	97	3

#### A.3.4.4 测定

分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各10 $\mu$ L，注入液相色谱仪，测定，记录色谱图。

#### A.4 槲皮素的测定

##### A.4.1 试剂、对照品

A.4.1.1 甲醇，色谱纯。

A.4.1.2 盐酸，分析纯。

A.4.1.3 磷酸，优级纯。

A.4.1.4 一级水，或符合色谱要求的其他水。

A.4.1.5 槲皮素(Quercetin, CAS号117-39-5)对照品：纯度 $\geq$ 95%，HPLC。

A.4.1.6 0.2%磷酸溶液：吸取2.353mL磷酸，用水稀释并定容至1000mL。

A.4.1.7 槲皮素对照品储备液(40 $\mu$ g/mL)：准确称取槲皮素对照品10mg(精确至0.1mg)，用甲醇溶解并定容至250mL，摇匀。置于0 $^{\circ}$ C~4 $^{\circ}$ C冰箱中保存。

A.4.1.8 甲醇-盐酸(4:1, 体积比)混合溶液：量取400mL甲醇，加入100mL浓盐酸，充分混匀后备用。

##### A.4.2 仪器和设备

A.4.2.1 分析天平，感量0.01g、0.0001g。

A.4.2.2 恒温水浴锅。

A.4.2.3 高效液相色谱仪，配有紫外检测器或者二极管阵列检测器。

##### A.4.3 液相色谱法测定

###### A.4.3.1 供试品溶液配制

取青钱柳叶提取物粉末0.2g，精密称定，置150mL具塞锥形瓶中，加入甲醇-盐酸(4:1, 体积比)混合溶液25mL，密塞，摇匀至锥形瓶内壁和底部样品溶解，加入数粒沸石以防暴沸，称定重量，置于85 $^{\circ}$ C水浴中加热回流1h(保持微沸)，放冷，再称定重量，加入甲醇补足减失的重量，摇匀，于离心机4000r/min，10min离心，精密量取上清液5mL，置50mL容量瓶中，加甲醇定容至刻度，摇匀，用0.45 $\mu$ m有机相过滤器滤过，取续滤液，即得。

###### A.4.3.2 色谱条件

色谱条件如下：

——色谱柱：十八烷基键合硅胶柱(150mm $\times$ 4.6mm, 3.5 $\mu$ m)或其他同类型色谱柱；

——流动相：甲醇-0.2%磷酸溶液(38:62, 体积比)；

——波长：360nm；

——柱温：35 $^{\circ}$ C；

——流速：1.0mL/min；

——进样量：5 $\mu$ L。

###### A.4.3.3 槲皮素标准曲线的制作

精密吸取槲皮素对照品储备液0 $\mu$ L、50 $\mu$ L、125 $\mu$ L、250 $\mu$ L、375 $\mu$ L、500 $\mu$ L分别至1mL容量瓶中，用甲醇定容，摇匀。该标准曲线工作液浓度为0 $\mu$ g/mL、2 $\mu$ g/mL、5 $\mu$ g/mL、10 $\mu$ g/mL、15 $\mu$ g/mL和20 $\mu$ g/mL，

在规定色谱条件下进行液相色谱分析,以保留时间定性分析,以试样峰面积对标准液浓度制作标准曲线,求出线性回归方程。

#### A.4.3.4 样品测定

采用多点校正外标法进行定量,分别精密吸取标准曲线工作液和供试品溶液各5 $\mu$ L,注入高效液相色谱仪,测定,记录色谱图。供试品溶液中槲皮素的响应值若超出线性范围,则应适当稀释后再进行分析。

#### A.4.3.5 计算

槲皮素含量以质量分数 $w$ 计,数值以g/100g表示,按公式(A.1)计算。

$$w = \frac{C \times V_3 \times V_1}{m \times V_2 \times 10^6 \times (1 - \omega)} \times 100 \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

- $w$  —— 槲皮素含量,单位为克每100克(g/100g);
- $C$  —— 从标准曲线中计算样品中槲皮素的浓度,单位为微克每毫升( $\mu$ g/mL);
- $V_1$  —— 供试品溶液的定容体积,单位为毫升(mL);
- $V_2$  —— 供试品提取液的使用体积,单位为毫升(mL);
- $V_3$  —— 供试品提取液的定容体积,单位为毫升(mL);
- $m$  —— 供试品的称样量,单位为克(g);
- $\omega$  —— 供试品的水分含量, %。

#### A.4.3.6 精密度

重复性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对值差不超过算术平均值的5%。

### A.5 多糖的测定

#### A.5.1 试剂、对照品

- A.5.1.1 硫酸,分析纯。
- A.5.1.2 无水乙醇,分析纯。
- A.5.1.3 50g/L 苯酚溶液:称取精制苯酚 5.0g,加水溶解并定容至 100mL,混匀,即得。
- A.5.1.4 D-无水葡萄糖(D-Glucose, CAS号 50-99-7):购自中国食品药品检定研究院。
- A.5.1.5 100 $\mu$ g/mL 葡萄糖标准储备液:精密称取D-无水葡萄糖对照品约10mg,加水溶解并定容至100mL混匀,即得100 $\mu$ g/mL的葡萄糖标准储备液。

#### A.5.2 仪器和设备

- A.5.2.1 分析天平,感量0.01mg。
- A.5.2.2 超声波清洗仪。
- A.5.2.3 紫外可见分光光度计。

#### A.5.3 分光光度法测定

##### A.5.3.1 供试品溶液配制

称取青钱柳叶提取物粉末0.6g,精密称定,置150mL量瓶中,用移液器精密加水50mL,称重,超声处理20min(250W,40kHz),取出,用水补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液1mL,置15mL离心管中,加无水乙醇8mL,轻轻摇匀,于4 $^{\circ}$ C放置2h,离心(4000r/min)20min,弃去上清液,沉淀加沸水适量振荡溶解,转移到20mL的量瓶中,以水定容至刻度,摇匀,即得供试品溶液。

#### A.5.3.2 葡萄糖标准曲线的制作

分别精密量取葡萄糖标准储备液0mL、0.40mL、0.80mL、1.20mL、1.60mL、1.80mL分别置于25mL具塞试管中，准确补水至2.00mL，充分摇匀，向每支管内依次加入5%苯酚溶液1mL、浓硫酸10mL，于旋转混匀器上混匀，置沸水浴中煮15min，取出，于旋转混匀器上混匀，静置30min冷却至室温后，于90min内以相应试剂为空白，照紫外-可见分光光度法，在485nm波长处测定吸光度，以吸光度为纵坐标、浓度为横坐标，绘制标准曲线。

#### A.5.3.3 样品测定

精密量取供试品溶液2.0mL，置25mL具塞试管中，按照A.5.3.2方法操作。以试剂空白调零，用10mm光径的比色皿，于紫外可见分光光度计485nm波长下测定吸光值。以D-无水葡萄糖作对照，在标准曲线中求出多糖含量。

#### A.5.3.4 计算

多糖含量以质量分数 $w$ 计，数值以g/100g表示，按公式(A.2)计算。

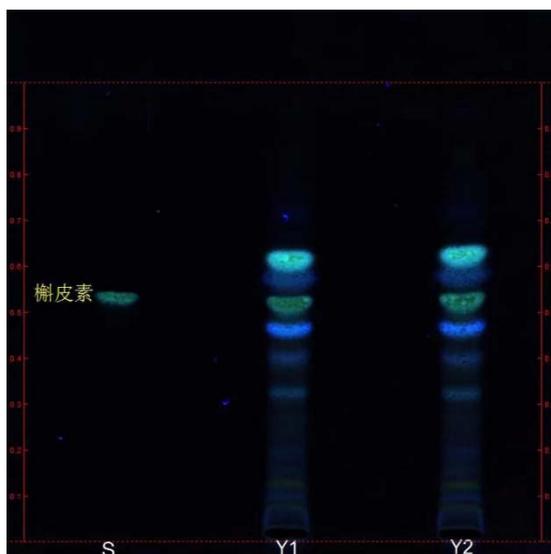
$$w = \frac{C \times V_1 \times V_3 \times 10^{-6}}{m \times V_2 \times V_4} \times 100 \dots\dots\dots (A.2)$$

式中：

- $w$  —— 多糖含量，单位为克每100克 (g/100g)；
- $C$  —— 从标准曲线中计算样品中多糖的浓度，单位为微克 ( $\mu\text{g}$ )；
- $m$  —— 供试品的称样量，单位为克 (g)；
- $V_1$  —— 供试品溶液的定容体积，单位为毫升 (mL)；
- $V_2$  —— 稀释液使用体积，单位为毫升 (mL)；
- $V_3$  —— 稀释液的定容体积，单位为毫升 (mL)；
- $V_4$  —— 供试品上机溶液体积，单位为毫升 (mL)。

附录 B  
(资料性)  
色谱图

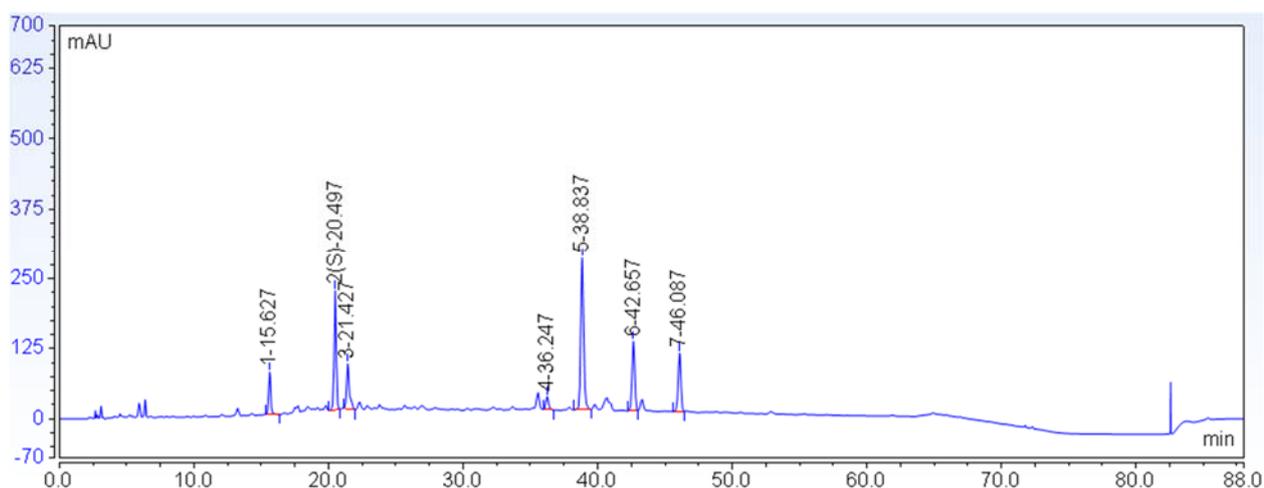
B.1 青钱柳叶提取物薄层鉴别图见图 B.1。



说明：S—槲皮素对照品，Y1和Y2—青钱柳叶提取物。

图B.1 青钱柳叶提取物薄层鉴别图

B.2 青钱柳叶提取物对照 HPLC 特征图谱见图 B.2。



说明：峰1—新绿原酸；峰2(S)—绿原酸；峰3—隐绿原酸；峰4—异槲皮苷；峰5—槲皮素-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷酸；峰6—山奈酚-3-O- $\beta$ -D-葡萄糖醛酸苷。

图 B.2 青钱柳叶提取物对照 HPLC 特征图谱