

国家市场监督管理总局  
保健食品产品技术要求

国食健注G20210265

## 银龄牌黄芪雨生红球藻提取物软胶囊

【原料】 黄芪提取物、灵芝提取物、雨生红球藻提取物油（雨生红球藻提取物、红花籽油）、番茄提取物油（番茄提取物、葵花籽油）

【辅料】 紫苏籽油、明胶、纯化水、甘油、蜂蜡、焦糖色、二氧化钛

【生产工艺】 本品经粉碎、过筛、混合、压丸、干燥、包装等主要工艺加工制成。

【直接接触产品包装材料种类、名称及标准】 口服固体药用高密度聚乙烯瓶应符合YBB00122002的规定。

【感官要求】 应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
色泽	囊皮呈棕褐色，内容物呈红褐色
滋味、气味	具本品固有的滋味、气味，无异味
性状	软胶囊，整洁，无粘结、变形、漏囊等现象；内容物为油状混悬液
杂质	无肉眼可见外来杂质

【鉴别】 无

【理化指标】 应符合表2的规定。

表2 理化指标

项 目	指 标	检测方法
$\alpha$ -亚麻酸, g/100g	$\geq 22$	GB 28404
灰分, g/100g	$\leq 8.0$	GB 5009.4
崩解时限, min	$\leq 60$	《中华人民共和国药典》
酸价, mgKOH/g	$\leq 4.0$	GB 5009.229
过氧化值, g/100g	$\leq 0.25$	GB 5009.227
铅(以Pb计), mg/kg	$\leq 2.0$	GB 5009.12
总砷(以As计), mg/kg	$\leq 1.0$	GB 5009.11

总汞(以Hg计), mg/kg	≤0.3	GB 5009.17
镉(以Cd计), mg/kg	≤0.1	GB 5009.15
六六六, mg/kg	≤0.2	GB/T 5009.19
滴滴涕, mg/kg	≤0.2	GB/T 5009.19
黄曲霉毒素B <sub>1</sub> , μg/kg	≤10	GB 5009.22

【微生物指标】应符合表3的规定。

表3 微生物指标

项 目	指 标	检测方法
菌落总数, CFU/g	≤30000	GB 4789.2
大肠菌群, MPN/g	≤0.92	GB 4789.3 “MPN计数法”
霉菌和酵母, CFU/g	≤50	GB 4789.15
金黄色葡萄球菌	≤0/25g	GB 4789.10
沙门氏菌	≤0/25g	GB 4789.4

【标志性成分含量测定】应符合表4的规定。

表4 标志性成分含量测定

项 目	指 标	检测方法
虾青素, mg/100g	≥250	1 虾青素的测定
总皂苷(以人参皂苷Re计), g/100g	≥1.0	2 总皂苷的测定
番茄红素, mg/100g	≥160	GB/T 22249

**1 虾青素的测定**

**1.1 试剂**

1.1.1 Tris HCl 缓冲液。 1.1.2 1.0N NaOH 溶液。 1.1.3 甲醇与 0.05%丁化羟基甲苯。 1.1.4 干冰或蒸馏水。 1.1.5 pH 缓冲液校准溶液。 1.1.6 丙酮(最低限度技术等级), 含有 500mg/L丁化羟基甲苯。 1.1.7 虾青素标准品。 1.1.8 胆固醇酯酶。 1.1.9 石油醚。 1.1.10 无水硫酸钠。 1.1.11 己烷, HPLC等级。 1.1.12 丙酮, HPLC等级。 1.1.13 二氯甲烷。 1.2 设备

1.2.1 带搅拌棒的玻璃瓶, 125mL, 250mL和1000mL。 1.2.2 磁搅拌盘。 1.2.3 pH计。 1.2.4 离心机容量4200r/min。 1.2.5 涡流搅拌器。 1.2.6 移液管。 1.2.7 容量瓶。 1.2.8 可调节吸液管。 1.2.9 水浴锅。 1.2.10 氮气多支管。 1.2.11 HPLC色谱柱: Luna柱, 3μm (Phenomenex part#00F-4162-E0, 150×4.60mm)。 1.2.12 带有UV/VIS探测器的高效液相色谱仪。 1.2.13 紫外分光光度计。 1.3 溶液的配制

1.3.1 制备0.05M Tris缓冲液, pH7.0依次用MeOH和去离子水冲洗下列玻璃器皿: 带搅拌棒的玻璃瓶, 量筒, 和漏斗。称取7.88g Tris HCl缓冲液并将其定量地移入一个1000mL的带搅拌棒的玻璃瓶中。添加1000mL去离子水至玻璃瓶中并搅拌直至所有固体材料溶解。校对pH至pH7.00±0.01。用1.0N NaOH溶液调节pH溶液。在4℃温度下冷藏备用。(注: 储存时间不超过3个月。使用前要检查溶液的完整性和pH值, 必要时制备新鲜的溶液, 并以适当的方式丢弃旧的溶液。) 1.3.2 制备胆固醇酯酶: 用MeOH冲洗500mL烧杯, 搅拌棒, 和500mL量筒。用去离子水一步冲洗这些器皿。用少量的Tris缓冲剂冲洗 500mL量筒和烧杯。量出300mLTris缓冲剂倒入500mL量筒。小心开启胆固醇酯酶的瓶盖, 将其向上放置在操作台上。用移液管从量筒中吸出适量Tris缓冲液冲洗小瓶和瓶盖。将冲洗小瓶和瓶盖的Tris缓冲液倒入500mL的烧杯中。重复三遍。搅拌至完全溶解(约15min), 将其制备成每毫升含有3.33酶单位的胆固醇酯酶溶液。并分装成小

瓶，每瓶1mL，用瓶盖密封，置<20℃的冰箱中储存备用。

1.4 标准品浓度日常校准

1.4.1 量取120mL HPLC 流动溶剂(82%己烷:18%丙酮)至带有小搅拌棒的250mL玻璃瓶中，并置于搅拌盘上进行适度的搅拌。称取虾青素标准品，并用玻璃移液管转移测试管中。量取1.5mL二氯甲烷(DCM)至装有标准品的试管中，使其完全溶解。得到化合物溶液AX。用氮气N<sub>2</sub>将瓶中的空气轻轻地吹出，并快速盖上瓶盖。

1.4.2 在确定标准溶液的吸光率时，使用HPLC 流动溶剂(82%己烷:18%丙酮)作为一种空白对照。在装有流动溶剂(82%己烷:18%丙酮)的250mL玻璃瓶中加入足够的化合物溶液AX以便在波长474-476nm处产生大约为1.0的吸光率。一旦达到大约1.0的吸光率，要至少测量三次，记录下相应的吸光率，并计算下吸光率的平均数值。并记录复合溶液的批号。

1.4.3 在另外一个事先用铝箔包裹着的清洁干燥的试管中，用移液管移入10mL标准溶液，盖紧试管帽，按照下面的HPLC分析方法，在HPLC系统上注射并分析制备的标准溶液，确定标准溶液的分光光度及测量的纯度。

1.4.4 计算 (吸光率1+吸光率2+吸光率3) 平均吸光度=  $\frac{\text{吸光率1} + \text{吸光率2} + \text{吸光率3}}{3}$

HPLC标准复合溶液的浓度 分光光度纯度=  $\frac{\text{HPLC所有可测峰值的峰值面积}}{\text{标准溶液的平均吸光率} \times \text{纯度}} \times \text{标准溶液的浓度 (mg/mL)}$

217

式中：

纯度是指标准品检测报告上显示的纯度。

217—标准品溶于流动相(82%己烷，18%丙酮)时在474nm时的消光系数。

当标准品的检测报告上没有标明有效期或纯度时，或标准品过期，需要使用吸光度纯度。

1.5 样品中虾青素含量估算：以丙酮作为空白对照，取1.6.3.2中的二次稀释液测定，观察分光光度计在471~477nm波长范围内的最大吸光度值(吸光度值在0.25~1.25之间)。当样液的吸光值测定结果在0.80~1.25之间时，该样品适于进行HPLC分析。如不在此范围内，通过对容量瓶中的提取液稀释度进行调整即可。

1.5.1 类胡萝卜素量化总计 最大吸光率×丙酮体积×稀释倍数 类胡萝卜素(mg) 萃取 =  $\frac{\text{最大吸光率} \times \text{丙酮体积} \times \text{稀释倍数}}{\text{210}}$  式中：210—虾青素在丙酮中的消光系数。

1.5.2 大约的虾青素百分数 萃取的类胡萝卜素(mg)×85% 虾青素百分数 =  $\frac{\text{萃取的类胡萝卜素(mg)} \times 85\%}{\text{试样重量(mg)}}$  式中：

85%是全部类胡萝卜素中的虾青素含量百分数。

1.6 HPLC分析

1.6.1 色谱条件

1.6.1.1 色谱柱：Luna 柱，3μm (Phenomenex part#00F-4162-E0, 150×4.60 mm)。

1.6.1.2 流动相：己烷-丙酮=82:18 (v/v)。

1.6.1.3 检测器：UV/Vis检测仪在474nm和458nm。

1.6.1.4 温度：室温(20~25℃)。

1.6.1.5 流速：1.2mL/min。

1.6.1.6 保留时间(根据流动相和其他条件的变化有细微变化)，见下表：

化合物	滞留时间 (min)
β-胡萝卜素	1.4
反式-β-阿林胡萝卜醛	1.9
角黄色素	2.9
血红素	4.0
半-血红素	4.4
Di-Cis 虾青素 #1	5.2
Di-Cis 虾青素 #2	5.4
反式虾青素	5.6
9-Cis 虾青素	6.3
13-Cis 虾青素	6.6
15-Cis 虾青素	7.1
叶黄素	8.6

1.6.2 制备标准品溶液制备：精密称取2.2mg标准品，用流动相溶解于100mL容量瓶中，用超声波水浴加速其溶解，用流动相定容至刻度，用氮气轻轻地将瓶中空气吹出，并快速盖上瓶盖。制得标准品溶液，在100mL容量瓶中精密移取标准品溶液25mL至容量瓶中，用流动相定容至100mL，用超声波水浴加速溶解，摇匀，即得标准品溶液。

1.6.3 制备供试品溶液：

1.6.3.1 精密称取四粒软胶囊，放入50mL烧杯中，用小剪刀仔细地剪开软胶囊皮，加入20mL丙酮，并用丙酮冲洗剪刀至烧杯中。用丙酮冲洗软胶囊皮至烧杯中，直至冲洗液无色。过滤。将空胶囊皮置烧杯中放在一边干燥至少30min，准确称出干燥的空软胶囊并记录下其重量。用移液管将冲洗液定量地移入一个100mL容量瓶中。用移液管吸取干净的丙酮，并将油脂转移到容量瓶中。反复操作，直至玻璃管或烧杯干净为止。让溶液平衡至室温(20℃)，然后用丙酮进行定容并混合均匀。

1.6.3.2 从容量瓶中量取10mL移入一清洁干燥的试管中，在3800~4200r/min的转速下低温离心5min，用移液管吸取1mL上清液，移入一个清洁干燥的10mL量瓶中并用丙酮加至规定的容量，配成一种1/10稀释液，盖上瓶塞并混合均匀。

1.6.3.3 用移液管准确吸取3mL第二次稀释液移至另外一个干净、干燥的试管中。然后加入2mL0.05M缓冲溶液，pH7.0，盖上试管帽并混合均匀。向试管中加入600μL胆固醇酯

酶溶液，试管上加盖并混合均匀。将试管放置在35~37℃的水浴中45min，经常搅拌溶液。从水浴中取出试管，加入0.5g硫酸钠和2mL石油醚。盖上试管帽并用力混合。将试管放入转速为3800~4200r/min的离心机中离心30s。将试管从离心机中取出，移除上层有色（石油醚）层，将其移入另一个清洁干燥的试管中。重复操作直到上层（石油醚）层无色。打开氮气流入氮气歧管。将氮气歧管上的一个巴斯德吸液管置于盛有混合石油醚溶液的试管中。检查试管里的干燥石油醚残余或石油醚萃取的所带的水分残留。如果试管中有水，加入不超过0.5g无水硫酸钠和1.5mL石油醚至试管内并轻轻混合。无水硫酸钠将与水发生反应，形成含水的硫酸钠“结块”并解除石油醚无水。将石油醚移入一个清洁干燥的试管中，并用石油醚冲洗硫酸钠直到无色为止，转移并化合石油醚溶液。按照上述步骤蒸发石油醚溶液。如果没有水的存在，运用HPLC流动溶剂（82%己烷：18%丙酮）将萃取物定量地转移到一个3mL容量瓶中。用HPLC流动溶剂加至规定的容积并混合均匀。即得供试品溶液。

**1.6.4 测定：**分别精密吸取标准品溶液与供试品溶液各10μL，注入液相色谱仪，测定，即得。  
**1.6.5 计算：**虾青素E/Z异构体的峰面积单独确定，计算得出平均值，从平均值和分光光度计测得的虾青素浓度，E-虾青素的响应值（RF）可依据下列公式计算出。以标准品标准曲线为基础，样品溶液可按照“步骤1.5”的方法进行定量。

$$RF = \frac{P(E) + 1.2P(9-Z) + 1.6P(13-Z) + P(di-Z)}{C}$$
 式中：P(E)—E-虾青素的峰值；P(9-Z)—9-顺式虾青素的峰值；P(13-Z)—13-顺式虾青素的峰值；P(di-Z)—双键顺式虾青素的峰面积；C—虾青素标准溶液的浓度（由分光光度计法测得）。加入1.2和1.6乘数因子是因为9-顺式虾青素和13-顺式虾青素的响应值分别比E-虾青素的低1.2和1.6倍；接下来可以作出浓度曲线，或者输入系统的软件得出自动计算结果。E-虾青素和Z-虾青素分别经过定量测定，并将二者的测定值相加，从而得出样品的总虾青素含量。检测样品（μg/mL或mg/L）的实际虾青素浓度，可以通过总虾青素的峰面积在标准曲线上的对应数值而得到，通常可以通过HPLC系统的软件自动生成。

**2 总皂苷的测定**

**2.1 试剂**

**2.1.1 Amberlite-XAD-2大孔树脂：**Sigma化学公司、U.S.A。  
**2.1.2 正丁醇：**分析纯。  
**2.1.3 乙醇：**分析纯。  
**2.1.4 中性氧化铝：**层析用，100~200目。  
**2.1.5 人参皂苷Re：**购自中国食品药品检定研究院。  
**2.1.6 香草醛溶液：**称取5g香草醛，加冰乙酸溶解并定容至100mL。  
**2.1.7 高氯酸：**分析纯。  
**2.1.8 冰乙酸：**分析纯。  
**2.1.9 人参皂苷Re标准溶液：**精确称取人参皂苷Re标准品0.020g，用甲醇溶解并定容至10.0mL，即每毫升含人参皂苷Re2.0mg。

**2.2 仪器**

**2.2.1 比色计。**  
**2.2.2 层析柱。**

**2.3 实验步骤**

**2.3.1 试样处理：**称取1.000g左右的试样（根据试样含人参量定），置于100mL容量瓶中，加少量水，超声30min，再用水定容至100mL，摇匀，放置，吸取上清液1.0mL进行柱层析。

**2.3.2 柱层析：**用10mL注射器作层析管，内装3cmAmberlite-XAD-2大孔树脂，上加1cm中性氧化铝。先用25mL70%乙醇洗柱，弃去洗脱液，再用25mL水洗柱，弃去洗脱液，精确加入1.0mL已处理好的试样溶液（见2.3.1），用25mL水洗柱，弃去洗脱液，用25mL70%乙醇洗脱人参皂苷，收集洗脱液于蒸发皿中，置于60℃水浴挥干。以此作显色用。

**2.3.3 显色：**在上述已挥干的蒸发皿中准确加入0.2mL5%香草醛冰乙酸溶液，转动蒸发皿，使残渣都溶解，再加0.8mL高氯酸，混匀后移入5mL带塞刻度离心管中，60℃水浴上加热10min，取出，冰浴冷却后，准确加入冰乙酸5.0mL，摇匀后，以1cm比色池于560nm波长处与标准管一起进行比色测定。

**2.3.4 标准管：**吸取人参皂苷Re标准溶液（2.0mg/mL）100μL放蒸发皿中，放在水浴挥干（低于60℃），或热风吹干（勿使过热），以下操作从“2.3.2柱层析…”起，与试样相同。测定吸光度值。

**2.4 计算**  
$$X = \frac{A_1 \cdot V \cdot 100}{A_2 \cdot m} \times C$$
 式中：X—试样中总皂苷含量（以人参皂苷Re计），g/100g；A<sub>1</sub>—被测液的吸光度值；A<sub>2</sub>—标准液的吸光度值；C—标准管人参皂苷Re的量，μg；V—试样稀释体积，mL；m—试样质量，g。计算结果保留二位有效数字。

**【装量或重量差异指标/净含量及允许负偏差指标】** 应符合《中华人民共和国药典》中“制剂通则”项下“胶囊剂”的规定。

**【原辅料质量要求】**

1. 黄芪提取物

项目	指标
来源	黄芪
制法	经粉碎、提取（75%乙醇90~95℃提取2次，第一次8倍量3h，第二次6倍量2h）、过滤、浓缩、喷雾干燥（进口温度180~190℃，出口温度80~90℃）、包装等主要工艺加工制成

得率, %	6.25
感官要求	黄色至棕黄色粉末, 无肉眼可见外来杂质
黄芪总皂苷, %	≥5
粒度	100%能通过80目筛
水分, %	≤5.0
灰分, %	≤5.0
铅(以Pb计), mg/kg	≤1.5
砷(以As计), mg/kg	≤1.0
汞(以Hg计), mg/kg	≤0.3
六六六(总BHC), mg/kg	≤0.1
滴滴涕(总DDT), mg/kg	≤0.2
菌落总数, CFU/g	≤30000
霉菌和酵母, CFU/g	≤50
大肠菌群, MPN/g	≤0.92
金黄色葡萄球菌	≤0/25g
沙门氏菌	≤0/25g

## 2. 灵芝提取物

项目	指标
来源	灵芝
制法	经提取(70%乙醇85~95℃提取2次, 第一次12倍量2h, 第二次10倍量2h)、过滤、浓缩、喷雾干燥(进口温度165±3℃, 出口温度65±3℃)、包装等主要工艺加工制成
得率, %	5
感官要求	棕褐色粉末, 无肉眼可见外来杂质
三萜(以齐墩果酸计), %	≥6.0
粒度	100%能通过80目筛
水分, %	≤9.0
灰分, %	≤10.0
铅(以Pb计), mg/kg	≤1.5
砷(以As计), mg/kg	≤1.0
汞(以Hg计), mg/kg	≤0.3
六六六(总BHC), mg/kg	≤0.1
滴滴涕(总DDT), mg/kg	≤0.2
菌落总数, CFU/g	≤30000
霉菌和酵母, CFU/g	≤50
大肠菌群, MPN/g	≤0.92
金黄色葡萄球菌	≤0/25g
沙门氏菌	≤0/25g

## 3. 雨生红球藻提取物油(雨生红球藻提取物、红花籽油)

项目	指标
来源	雨生红球藻菌种、红花籽油
制法	经培养、扩大培养、变红、收获、杀菌(巴氏杀菌80℃, 2min)及干燥、超临界萃取(50~70Mpa; 40~80℃; 循环气速3.5kg·h <sup>-1</sup> , 80min)、调配、包装等主要工艺加工制成
感官要求	红色或深红色油状液体, 无肉眼可见外来杂质
虾青素, %	≥5.0
砷(以As计), mg/kg	<4.0
铅(以Pb计), mg/kg	<0.1

汞(以Hg计), mg/kg	<0.025
镉(以Cd计), mg/kg	<0.025
菌落总数, CFU/g	≤30000
霉菌和酵母, CFU/g	≤50
大肠菌群, MPN/g	≤0.92
金黄色葡萄球菌	≤0/25g
沙门氏菌	≤0/25g

#### 4. 番茄提取物油（番茄提取物、葵花籽油）

项目	指标
来源	番茄酱
制法	经萃取（按1:1加入乙酸乙酯，50℃，15~20min）、浓缩、结晶（-10℃~-15℃，15min）、脱溶、配料、包装等主要工艺加工制成
得率, %	0.7
感官要求	深红色油状液体，无肉眼可见外来杂质
番茄红素, %	5.0~15.0
总有机溶剂残留量, %（已正己烷计）	≤0.005
铅(以Pb计), mg/kg	≤1.5
砷(以As计), mg/kg	≤1.0
汞(以Hg计), mg/kg	≤0.3
菌落总数, CFU/g	≤30000
霉菌和酵母, CFU/g	≤50
大肠菌群, MPN/g	≤0.92
金黄色葡萄球菌	≤0/25g
沙门氏菌	≤0/25g

#### 5. 紫苏籽油

项目	指标
来源	紫苏籽
制法	经除杂、压榨、过滤、脱胶（8~12%水，40~60℃，10~20min）、脱酸（0.3~0.5%碳酸氢钠）、水洗脱水、脱色（0.5~2%吸附剂，40~50℃，搅拌10~30min）脱臭、包装等主要工艺加工制成
感官要求	淡黄色澄清液体，无肉眼可见外来杂质
酸价, mgKOH/g	≤1.0
过氧化值, mmol/kg	≤5.0
水分及挥发物, %（m/m）	≤1.0
冷冻试验	澄清透明
不溶性杂质, %（m/m）	≤0.05
溶剂残留量, mg/kg	不得检出
亚麻酸, %	≥65.0
菌落总数, CFU/g	≤30000
霉菌和酵母, CFU/g	≤50
大肠菌群, MPN/g	≤0.92
金黄色葡萄球菌	≤0/25g
沙门氏菌	≤0/25g

6. 明胶：应符合GB 6783《食品安全国家标准 食品添加剂 明胶》的规定。

7. 甘油、纯化水、二氧化钛：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

8. 蜂蜡：应符合GB/T 24314《蜂蜡》的规定。

9. 焦糖色：应符合GB 1886.64《食品安全国家标准 食品添加剂 焦糖色》的规定。

---