

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20210267

九旭牌越橘叶黄素软胶囊

【原料】 越橘提取物、叶黄素

【辅料】 玉米油、明胶、纯化水、甘油、蜂蜡

【生产工艺】 本品经混合、均质、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】 口服固体药用聚酯瓶应符合YBB00262002的规定，药用聚酯/铝/聚乙烯封口垫片应符合YBB00152005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 | 囊皮呈透明，内容物呈深紫色 |
| 滋味、气味 | 具有本产品应有的滋味、气味，无异味 |
| 性状 | 软胶囊，完整光洁，内容物为油状物 |
| 杂质 | 无正常视力可见外来异物 |

【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 |
|---------------|-------------|--------------------------------------|
| 灰分，% | ≤ 3 | GB 5009.4 |
| 崩解时限，min | ≤ 60 | 《中华人民共和国药典》 |
| 酸价，mgKOH/g | ≤ 6.0 | 按GB/T 5009.56前处理，按GB 5009.229规定的方法测定 |
| 过氧化值，g/100g | ≤ 0.25 | 按GB/T 5009.56前处理，按GB 5009.227规定的方法测定 |
| 铅（以Pb计），mg/kg | ≤ 2.0 | GB 5009.12 |
| | | |

| | | |
|-----------------------------|------|------------|
| 总砷(以As计), mg/kg | ≤1.0 | GB 5009.11 |
| 总汞(以Hg计), mg/kg | ≤0.3 | GB 5009.17 |
| 黄曲霉毒素B ₁ , μg/kg | ≤5.0 | 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 |
| 沙门氏菌 | ≤0/25g | GB 4789.4 |
| 金黄色葡萄球菌 | ≤0/25g | GB 4789.10 |

【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 |
|--------------|-------|-----------|
| 叶黄素, g/100g | ≥0.4 | 1 叶黄素的测定 |
| 原花青素, g/100g | ≥17.0 | 2 原花青素的测定 |

1 叶黄素的测定

1.1 原理：脂肪含量高(脂肪含量以干基计不低于3%)的食品经氢氧化钾溶液室温皂化使叶黄素游离后，再以乙醚-正己烷-环己烷(40+40+20，体积比)提取，液相色谱法分离，紫外检测器或二极管阵列检测器检测，外标法定量。样品在提取与分析过程中，反式结构的叶黄素可能发生异构化，转化为顺式叶黄素。对于转化产生的顺式叶黄素，可通过保留时间定性、峰面积加合定量。处方中使用的原料为叶黄素，与其他原辅料混合，同时玉米油几乎不溶于乙醇，叶黄素易溶于乙醇，故提取方法采用了于对照品配制类似的方法，未对相应的玉米油进行皂化后再提取叶黄素。

1.2 仪器

1.2.1 液相色谱仪，带二极管阵列检测器或紫外检测器。

1.2.2 紫外可见分光光度计。

1.2.3 分析天平：感量0.01mg和0.01g。

1.3 试剂

1.3.1 无水乙醇、碘、二丁基羟甲基甲苯(BHT)为分析纯。

1.3.2 甲醇、甲基叔丁醚为色谱级。

1.3.3 水为超纯水。

1.3.4 标准品来源：叶黄素(CAS号：127-40-2)。

1.3.5 0.45μm 滤膜，有机系。

1.3.6 0.1% BHT乙醇溶液：称取0.1gBHT，以100mL无水乙醇溶解，混匀。

1.3.7 碘的乙醇溶液：称取1mg碘，加无水乙醇溶解稀释至1L。

1.4 仪器参考条件

1.4.1 色谱柱：C30色谱柱，5μm，250mm×4.6mm(内径)或相当者；

1.4.2 柱温：30℃；

1.4.3 流动相：甲醇/水(88+12，体积比，含0.1% BHT)-甲基叔丁基醚(含0.1% BHT)，梯度洗脱，0min~18min，甲醇/水由100%变换至10%；18.1min，甲醇/水由10%变换至100%，保留10min。

1.4.4 流速：1.0mL/min；

1.4.5 检测波长：445nm；

1.4.6 进样量：50μL。

1.5 标准品溶液制备

1.5.1 叶黄素标准储备液(50μg/mL)：准确称取5mg(精确至0.01mg)叶黄素对照品，以0.1% BHT乙醇溶液溶解并定容至100mL。该标准储备液充氮避光置于-20℃或以下的冰箱中可保存六个月。注：叶黄素标准储备液使用前需校正，具体操作如下：取1mL 标准贮备液，以无水乙醇定容至25mL。移取该溶液至1cm 的石英比色皿中，以无水乙醇为空白，以分光光度计在445nm 波长下测定吸光值A。按下式计算标准贮备溶液浓度：

$$c = \frac{A \times \text{稀释倍数} \times F}{E_1^{1\% \text{ cm}}}$$

式中：

c—标准贮备溶液浓度，μg/mL；

A—标准贮备溶液的吸光值；

$E_1^{1\% \text{ cm}}$ —乙醇中叶黄素的吸光系数，为2550；

F—校正系数，可按下述方式获得：用液相色谱分析校准后的标准溶液，将顺式与反式叶黄素色谱峰面积加合作为总峰面积，其中反式叶黄素峰面积除以总峰面积所得值为校正系数。

1.5.2 标准工作液：从叶黄素标准贮备液中准确移取0.050mL、0.100mL、0.200mL、0.400mL、1.00mL溶液入5个25mL棕色容量瓶中，用0.1%BHT乙醇溶液(1.3.6)定容至刻度，得到浓度为0.100μg/mL、0.200μg/mL、0.400μg/mL、0.800μg/mL、2.00μg/mL的系列标准工作液。标准工作液充氮避光置于-20℃或以下的冰箱中可保存一个月。

1.6 样品溶液制备：取本品20粒胶囊内容物，混匀，精密称取本品0.5g置500mL棕色容量瓶中，加0.1%BHT乙醇溶液70mL，混匀，冲入氮气，并密封好瓶口，在60度水浴中超声振荡提取10分钟，冷却到室温，加0.1%BHT乙醇溶液至刻度，摇匀。精密吸取1mL置25mL棕色容量瓶中，用0.1%BHT乙醇溶液定容至刻度，充分混匀，用0.45μm滤膜有机系滤过，即得。制备好的试样可充氮密封后置于-20℃或以下的冰箱中保存。注：由于叶黄素对光敏感，除非另行说明，所有试验操作应在无500nm 以下紫外光的黄色光源或红色光源环境中进行。

1.7 样品测定

1.7.1 标准曲线的制作：将标准系列工作液分别注入液相色谱中，测定相应的峰面积，以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。

1.7.2 试样溶液的测定：精密移取标准工作液与待测样液50μL分别注入液相色谱仪，记录色谱图。根据标准溶液色谱峰的保留时间和峰面积，对试样溶液的色谱峰根据保留时间进行定性(待测样品中化合物色谱峰的保留时间与标准溶液相比变化范围应在±2.5%之内)，外标法定量。平行测定次数不少于两次。叶黄素标准溶液液相色谱图参见1.10图1。注：由于在样品的提取与分析过程中，温度、光照等原因均可使反式结构的叶黄素发生异构化，转化为顺式叶黄素。可按以下步骤获得顺式叶黄素：以乙醇为溶剂，配制800μg/L的叶黄素标准溶液50mL，加入2mL碘的乙醇溶液，摇匀，混合液在日光或日光灯下放置30min。可获得顺式结构的叶黄素。由此制备的含顺式结构的叶黄素在检测时可作为对照品。经光碘异构化的反式叶黄素标准溶液色谱图参见1.10图2。

1.8 结果计算

$$X = \frac{c \times V \times 0.0001}{m \times F}$$

式中：

X—试样中叶黄素的含量，g/100g；

c—由标准曲线而得的样液中标准品的含量，μg/mL；

V—样品最终定容体积，mL；

m—称样量, g;

F—校正系数。可通过以下方式获得:用液相色谱分析试样溶液,将顺式与反式叶黄素色谱峰面积加合作为总峰面积,其中反式叶黄素峰面积除以总峰面积所得值为校正系数。

1.9 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15%。

1.10 标准溶液液相色谱图

1.10.1 叶黄素(反式)标准溶液液相色谱图见图1。

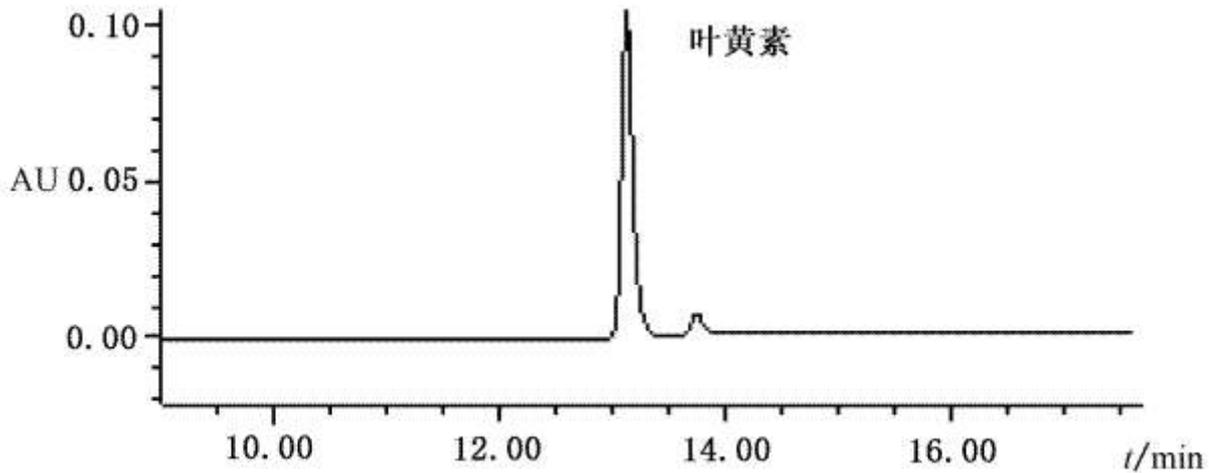


图1 叶黄素(反式)标准溶液液相色谱图

1.10.2 经光碘异构化的叶黄素(反式)标准溶液液相色谱图见图2

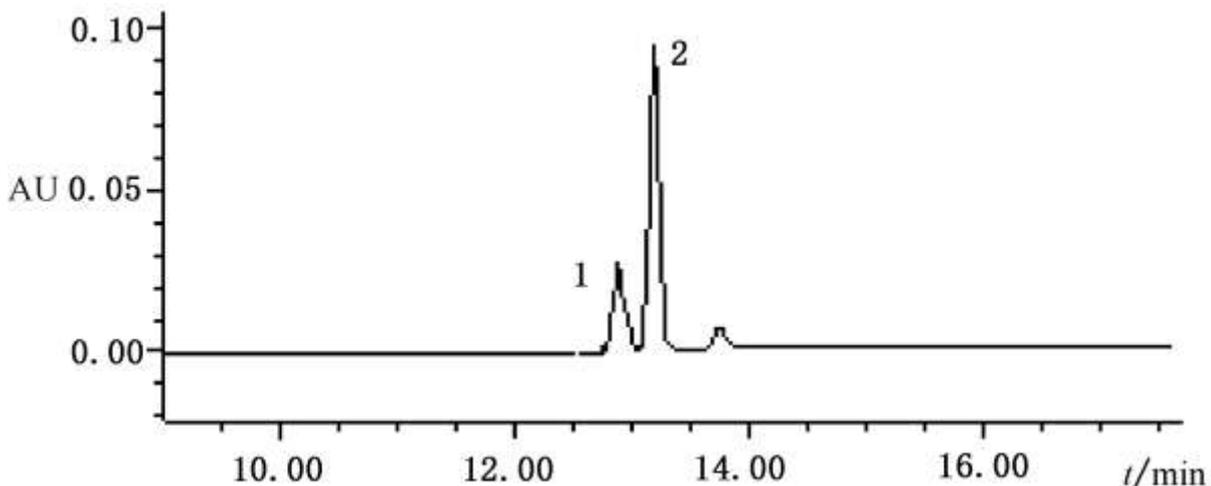


图2 经光碘异构化的叶黄素(反式)标准溶液液相色谱图

说明:1—顺式结构的叶黄素;2—反式结构的叶黄素。

2 原花青素的测定(来源于《保健食品检验与评价技术规范》(2003年版))

2.1 范围

本方法规定了保健食品中原花青素的测定方法。

本方法适用于保健食品中原花青素的含量测定。

本方法最低检出量为 $3\mu\text{g}$,最低检出浓度为 $3\mu\text{g/mL}$ 。

本方法最佳线性范围: $3\sim 150\mu\text{g/mL}$ 。

2.2 原理:原花青素是含有儿茶素和表儿茶素单元的聚合物。原花青素本身无色,但经过用热酸处理后,可以生成深红色的花青素离子。本法用分光光度法测定原花青素在水解过程中生成的花青素离子。计算试样中原花青素含量。

2.3 试剂

2.3.1 甲醇:分析纯。

2.3.2 正丁醇:分析纯。

2.3.3 盐酸:分析纯。

2.3.4 硫酸铁铵: $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 溶液:用浓度为 2mol/L 盐酸配成 2% (w/v)的溶液。

2.3.5 原花青素标准品：葡萄籽提取物，纯度95%。

2.4 仪器

2.4.1 分光光度计。

2.4.2 回流装置。

2.5 分析步骤

2.5.1 试样的制备

2.5.1.1 片剂：取20片试样，研磨成粉状。

2.5.1.2 胶囊：挤出20粒胶囊内容物，研磨或搅拌均匀，如内容物含油，应将内容物尽可能挤出。

2.5.1.3 口服液：摇匀后取样。

2.5.2 提取

2.5.2.1 粉状试样：称取50~100mg试样，置于50mL容量瓶中，加入30mL甲醇，超声处理20min，放冷至室温后，加甲醇至刻度，摇匀，离心或放置至澄清后取上清液备用。

2.5.2.2 含油试样：称取50mg试样，置于小烧杯中，用20mL甲醇分数次搅拌，将原花青素洗入50mL容量瓶中，直至甲醇提取液无色，加甲醇至刻度，摇匀。

2.5.2.3 口服液：吸取适量样液（取样量不超过1mL），置于50mL容量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀。

2.5.3 测定

2.5.3.1 标准曲线：称取原花青素标准品10.0mg溶于10mL甲醇中，吸取该溶液0、0.1、0.25、0.5、1.0、1.5mL，置于10mL容量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀。各取1mL测定。与试样测定方法相同。

2.5.3.2 试样测定：将正丁醇与盐酸按95：5的体积比混合后，取出6mL置于具塞锥瓶中，再加入0.2mL硫酸铁铵溶液和1mL试样溶液，混匀，置沸水浴回流，精确加热40min后，立即置冰水中冷却，在加热完毕15min后，于546nm波长处测吸光度，由标准曲线计算试样中原花青素的含量。显色在1h内稳定。

2.6 分析结果表述：试样中原花青素测定结果按（1）式计算。

2.6.1 计算：

$$X(\%) = \frac{m_1 \times v \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

式中：

X—试样中原花青素的百分含量，g/100g；

m₁—反应混合物中原花青素的量，μg；

v—待测样液的总体积，mL；

m—试样的质量，mg。

2.6.2 结果表示：计算结果保留三位有效数字。

2.7 技术参数

2.7.1 相对标准偏差：<10%。

2.7.2 回收率：84.6~94.4%。

【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. 越橘提取物

| 项目 | 指标 |
|------------|--|
| 来源 | 笃斯越橘（蓝莓） <i>Vaccinium uliginosum L.</i> |
| 制法 | 经粉碎、提取（10倍量75%乙醇60℃提取2次，每次2h）、合并提取液、浓缩、搅拌溶解（95%乙醇，5倍体积）、过滤（静置12h后）、浓缩、喷雾干燥（进口温度200℃，出口温度80℃）、过筛（80目）、包装等主要工艺制成 |
| 提取率（或得率），% | 8-10 |
| 感官要求 | 紫红色到紫黑色粉末；具有本品特有的滋味和气味，无异味；无肉眼可见外来异物 |

| | |
|-----------------|--------|
| 原花青素, % | ≥25.0 |
| 水分, % | ≤5.0 |
| 灰分, % | ≤5.0 |
| 粒度 | 80目 |
| 铅(以Pb计), mg/kg | ≤2.0 |
| 总砷(以As计), mg/kg | ≤1.0 |
| 总汞(以Hg计), mg/kg | ≤0.3 |
| 溶剂残留(乙醇), % | 0.5 |
| 农药残留 | 不得检出 |
| 菌落总数, CFU/g | ≤1000 |
| 大肠菌群, MPN/g | ≤0.92 |
| 霉菌和酵母, CFU/g | ≤50 |
| 金黄色葡萄糖球菌 | ≤0/25g |
| 沙门氏菌 | ≤0/25g |

2. 叶黄素: 应符合GB 26405《食品安全国家标准 食品添加剂 叶黄素》的规定。
 3. 玉米油: 应符合GB/T 19111《玉米油》的规定。
 4. 明胶: 应符合《中华人民共和国药典》的规定。
 5. 纯化水: 应符合《中华人民共和国药典》的规定。
 6. 甘油: 应符合GB 29950《食品安全国家标准 食品添加剂 甘油》的规定。
 7. 蜂蜡: 应符合GB 1886.87《食品安全国家标准 食品添加剂 蜂蜡》的规定。
-