

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20220068

蓬生源牌纳豆红曲软胶囊

【原料】 纳豆冻干粉、红曲粉

【辅料】 明胶、纯化水、紫苏籽油、甘油、蜂蜡、红氧化铁

【生产工艺】 本品经过筛、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	囊皮呈红色，内容物呈棕红色
滋味、气味	具本品特有的滋味及气味，无异味
性状	软胶囊，囊皮完整光洁，无破裂；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，%	≤6	GB 5009.4
崩解时限，min	≤60	《中华人民共和国药典》
酸价，mgKOH/g	≤5.0	GB 5009.229
过氧化值，g/100g	≤0.25	GB 5009.227
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

桔青霉素, $\mu\text{g}/\text{kg}$	≤ 50	1 红曲产品中桔青霉素的测定
黄曲霉毒素 B_1 , $\mu\text{g}/\text{kg}$	≤ 10	GB 5009.22

1 红曲产品中桔青霉素的测定

1.1 范围：本方法适用于红曲米、红曲红、红曲发酵液和功能性红曲中桔青霉素的测定。

1.2 原理：试样中的桔青霉素经提取、净化及浓缩后，根据在高压液相色谱上的峰面积测定含量。

1.3 试剂

1.3.1 乙腈：HPLC级。

1.3.2 磷酸：分析纯或色谱纯。

1.3.3 甲醇：HPLC级。

1.3.4 甲苯：分析纯。

1.3.5 乙酸乙酯：分析纯。

1.3.6 甲酸：分析纯。

1.3.7 水：去离子水。

1.3.8 乙醇：色谱纯。

1.3.9 桔青霉素标准溶液：准确称取桔青霉素标准品（美国Sigma公司），用甲醇溶解，制成500mg/L的储藏液，工作液稀释到100mg/L，置4℃冰箱中备用。

1.3.10 高压液相色谱洗脱剂：乙腈-去离子水（用色谱纯磷酸调pH至2.5）[35+65, v/v]

1.4 仪器

1.4.1 高效液相色谱仪。

1.4.2 色谱柱： C_{18} 反相色谱柱，250×4.6mm，粒度直径为 $5\mu\text{m}$ 。

1.4.3 试样环：20 μL 。

1.4.4 检测器：荧光检测器， $\lambda_{\text{ex}}=331$ ， $\lambda_{\text{em}}=500$ 。

1.4.5 VCX 400超声波细胞破碎仪。

1.4.6 电子天平：千分之一或万分之一。

1.4.7 pH计：精度为0.01。

1.4.8 匀浆器。

1.4.9 离心机。

1.4.10 旋转蒸发器。

1.4.11 分光光度计。

1.4.12 0.45 μm 的微孔偏氟滤膜。

1.4.13 具塞试管。

1.4.14 烧杯。

1.4.15 比色管。

1.5 分析步骤

1.5.1 桔青霉素的提取

1.5.1.1 红曲米样品的预处理：准确称取混合均匀内容物3g于50mL烧杯中，加入20mL复合萃取剂甲苯:乙酸乙酯:甲酸（7:3:1, v/v），称重，记录下连烧杯在内的重量，超声波处理10min（强度40%，5s，5s），自然澄清后称重，如果重量低于原重量，需用复合萃取剂补足。将上清液移入50mL具塞试管中，残渣中另加入15mL复合萃取剂，第二次称重并超声波处理（10min），自然澄清后称重，用复合萃取剂补足至超声处理前的重量，上清液移入50mL具塞试管，残渣用15mL复合萃取剂再重复提取一次。合并三次提取液，充分混匀后取30mL离心（3000rpm，20min），上清液真空浓缩至干后溶于30mL甲醇中，微滤后取20 μL 进行HPLC分析。

1.5.2 高压液相色谱测定

高压液相色谱分析条件：流速1.0mL/min，柱温28℃。分析时，首先用洗脱液平衡分析柱，基线稳定后将不同浓度的桔青霉素标准液（0.05、0.10、0.25、1.0、5.0、10.0mg/L）进行HPLC分析，测定峰面积，以峰面积为纵坐标，以桔青霉素含量为横坐标做图，结果显示在0.1~10mg/L范围内线性关系良好， $R^2=0.9995$ 。在桔青霉素标准峰面积的直线范围内分别注入提取液20 μL ，将样液与标准的峰面积相比以求出试样中桔青霉素的含量，桔青霉素的保留时间为18.2min左右。

1.5.3 结果计算

$$X = D_S \times (Y_2 \times X_1) / Y_1$$

式中：

X—样品中桔青霉素浓度，mg/kg；

D_S —稀释倍数，V/W；

X_1 —标样浓度，mg/L；

Y_1 —标样峰面积；

Y_2 —样品峰面积。

【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
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
总皂苷（以人参皂苷Re计），mg/100g	≥50	1 总皂苷的测定
洛伐他汀，mg/100g	35~100	2 洛伐他汀的测定

1 总皂苷的测定

1.1 试剂

1.1.1 Amberlite-XAD-2大孔树脂，Sigma化学公司、U. S. A.。

1.1.2 正丁醇：分析纯。

1.1.3 乙醇：分析纯。

1.1.4 中性氧化铝：层析用，100~200目。

1.1.5 人参皂苷Re：含量>90%。

1.1.6 香草醛溶液：称取5g香草醛，加冰乙酸溶解并定容至100mL。

1.1.7 高氯酸：分析纯

1.1.8 冰乙酸：分析纯

1.1.9 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50.0mL。

1.2 仪器

1.2.1 比色计

1.2.2 层析柱

1.3 实验步骤

1.3.1 试样处理：称取4.000g左右的试样，置于50mL容量瓶中，加少量水，超声30min，再用水定容至50mL，摇匀，放置，吸取上清液1.0mL进行柱层析。

1.3.2 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，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。

1.3.3 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。

1.3.4 标准管：吸取人参皂苷Re标准溶液（0.4mg/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“1.3.2柱层析…”起，与试样相同。测定吸光度值。

1.4 计算：

$$X = \frac{A_1}{A_2} \times C \times \frac{V}{m} \times \frac{100}{1000} \times \frac{1}{1000}$$

式中：

X—试样中总皂苷含量（以人参皂苷Re计），g/100g；

A₁—被测液的吸光度值；

A₂—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。

2 洛伐他丁的测定

2.1 试剂

2.1.1 甲醇：色谱纯。

2.1.2 三氯甲烷：分析纯。

2.1.3 磷酸：分析纯。

2.1.4 洛伐他丁标准储备液：准确称量洛伐他丁标准品0.0400g，加入检测用流动相并定容至100mL。此溶液每1mL含0.4mg洛伐他丁。

2.1.5 洛伐他丁标准使用液：将洛伐他丁标准储备溶液用流动相稀释10倍。此溶液每1mL含40μg洛伐他丁。

2.2 仪器设备

2.2.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器（UV）。

2.2.2 超声波清洗器。

2.2.3 涡旋混匀器。

2.2.4 离心机。

2.2.5 真空泵。

2.3 试样处理：称取3.000g左右的混合均匀的试样于50mL试管中，加入10.0mL pH=3磷酸水溶液。超声提取10min后再加入10.0mL三氯甲烷，置于涡旋混匀器3min。静置后去掉上层水相，将三氯甲烷层以3000rpm离心3min。准确吸取上清液1.0mL至5mL试管中，将试管置于50℃左右水浴中使用真空泵减压干燥至挥去全部溶剂。向试管中加入流动相并定容至5.0mL，彻底混匀，经0.45μm滤膜过滤后待进样。

2.4 液相色谱参考条件

2.4.1 色谱柱：C₁₈柱，4.6×250mm。

2.4.2 柱温：25℃。

2.4.3 紫外检测器：检测波长238nm。

2.4.4 流动相：甲醇：水：磷酸=385：115：0.14。

2.4.5 流速：1.0mL/min。

2.4.6 进样量：10μL。

2.4.7 色谱分析：量取10μL标准溶液系列及试样溶液注入色谱仪中，以保留时间定性，以试样峰高或峰面积与标准比较定量。

2.5 标准曲线制备：配制浓度为2.0、10、50、100、300μg/mL洛伐他丁标准溶液，在给定的仪器条件下进行液相色谱分析，以峰高或峰面积对浓度作标准曲线。

2.6 计算

$$X = \frac{h_1 \times c \times 50 \times 100}{\dots}$$

$$h_2 \times m \times 1000$$

式中：

X—试样中洛伐他丁的含量，g/100g；

h_1 —试样峰高或峰面积；

c—标准溶液浓度，mg/mL；

50—试样稀释倍数；

h_2 —标准溶液峰高或峰面积；

m—试样量，g。

【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. 纳豆冻干粉：

项 目	指 标
来源	大豆
制法	经大豆浸泡、接种、发酵（温度30-40℃，湿度75%-95%）、冷冻干燥、过筛等主要工艺制成
感官要求	具本品特有的气味，无异味
收率，%	70左右
蛋白质，%	≥35
粒度，目	100
干燥失重，%	≤5
总砷(以As计)，mg/kg	≤1.0
铅(以Pb计)，mg/kg	≤2.0
总汞(以Hg计)，mg/kg	≤0.3
黄曲霉毒素B ₁ ，μg/kg	≤10
霉菌及酵母，CFU/g	≤50
大肠菌群，CFU/g	≤0.43
沙门氏菌	≤0/25g
金黄色葡萄球菌	≤0/25g

2. 红曲粉：应符合GB 1886.19《食品安全国家标准 食品添加剂 红曲米》的规定。

3. 明胶：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

4. 纯化水：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

5. 紫苏籽油：应符合LS/T 3254《紫苏籽油》的规定。

6. 甘油：应符合《中华人民共和国药典》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。

8. 红氧化铁：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

