

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20110241

奥诺康[®]胶原蛋白大豆葡萄籽维生素E胶囊

- 【原料】 胶原蛋白、大豆提取物、葡萄籽提取物、维生素E粉（dl- α -醋酸生育酚，辛烯基琥珀酸淀粉钠）
- 【辅料】 微晶纤维素、二氧化硅、硬脂酸镁
- 【生产工艺】 本品经粉碎、过筛、混合、装囊、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	内容物呈灰粉色至灰紫色
滋味、气味	内容物具原料特有的滋味、气味，无异味
性状	硬胶囊，完整光洁，无粘结、无变形、无破裂；内容物为粉末
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
蛋白质，g/100g	≥ 40	GB 5009.5
水分，%	≤ 9.0	GB 5009.3
灰分，%	≤ 9.0	GB 5009.4
崩解时限，min	≤ 60	《中华人民共和国药典》

铅（以Pb计），mg/kg	≤1.5	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
六六六，mg/kg	≤0.1	GB/T 5009.19
滴滴涕，mg/kg	≤0.1	GB/T 5009.19

【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
羟脯氨酸，g/100g	≥3.0	GB/T 9695.23
大豆异黄酮（以大豆苷、大豆苷元、染料木素、染料木苷计），g/100g	≥1.5	1 大豆异黄酮的测定
大豆苷，g/100g	≥0.1	1 大豆异黄酮的测定
大豆苷元，g/100g	≥1.0	1 大豆异黄酮的测定
染料木素，g/100g	≥0.25	1 大豆异黄酮的测定
染料木苷，g/100g	≥0.04	1 大豆异黄酮的测定
原花青素，g/100g	≥3.8	2 原花青素的测定
维生素E（以α-生育酚计），g/100g	1.8~3.8	GB/T 5009.82

1 大豆异黄酮的测定

1.1 范围

本方法规定了保健食品和普通食品中大豆异黄酮的高效液相色谱测定方法。

本方法适用于保健食品和普通食品中大豆异黄酮的含量测定。

最低检出限量为：0.1μg；

本方法最佳线性范围：1.00~125μg/mL。

1.2 方法提要：试样经乙醚脱脂，弃取乙醚后用甲醇水（80+20，v/v）超声提取30分钟，过0.45μm滤膜、定容后进行液相色谱分析。试样中的大豆异黄酮用C₁₈柱分离，二极管阵列检测器或紫外检测器（260nm）测定，峰面积定量，外标法计算结果。

1.3 试剂

除特殊说明，所用试剂均为分析纯（A.R），水为石英亚沸蒸馏水。

1.3.1 甲醇：色谱纯。

1.3.2 无水乙醚。

1.3.3 甲醇+水（80+20）。

1.3.4 大豆苷标准品、大豆苷元标准品、染料木苷标准品、染料木素标准品。

1.3.5 0.050mol/L醋酸铵，pH4.6：准确称取3.85g醋酸铵于小烧杯中，适量水溶解，转移至1000mL容量瓶中，加水500mL，加入3.00mL冰醋酸，摇匀，加水至容量瓶刻度，摇匀即可。

1.4 仪器

1.4.1 高效液相色谱仪（二极管阵列检测器或紫外检测器）。

1.4.2 超声波清洗器。

1.4.3 离心机4000r/min。

1.5 分析步骤

1.5.1 高效液相色谱参考条件。

1.5.1.1 色谱柱：不锈钢柱，内径4.6mm，长250mm C₁₈柱，填料粒径10μm。

1.5.1.2 流动相：甲醇+0.05mol/L乙酸铵，pH 4.6（46+54，v/v）。

1.5.1.3 流量：1.2mL/min。

1.5.1.4 进样量：20.0μL。

1.5.2 试样制备：准确称取1g试样，加50mL甲醇水（1.3.3）超声提取30min，上清液抽滤，残渣用甲醇水（1.3.3）洗，洗液一并抽滤，定容至100.0mL，过0.45μm滤膜，测定。

1.5.2.5 标准品储备液：分别精密称取大豆苷标准品、大豆苷元标准品、染料木苷标准品、染料木素标准品10.0mg，分别用甲醇溶解并定容至10mL。此液为1.0mg/mL。

1.5.2.6 标准品应用液：分别大豆异黄酮储备液0.01、0.05、0.10、0.30、0.50、1.25mL，用甲醇定容至10.0mL（浓度各为1.00、5.00、10.0、30.0、50.0、125μg/mL）。大豆异黄酮、大豆苷元、染料木苷、染料木素应用液的制备同上。在上述色谱条件下注入标准溶液和试样溶液，以保留时间定性，峰高或峰面积定量，外标法计算。

1.6 分析结果的表述

1.6.1 计算

$$X = \frac{A \times C_i \times V \times K}{A_i \times m}$$

式中：

X—试样中大豆苷/大豆苷元/染料木苷/染料木素的含量，μg/g；

A—试样的峰面积或峰高；

C_i—金雀异黄素标准溶液的浓度，μg/mL；

A_i—标准溶液的峰面积或峰高；

m—试样质量，g；

V—试样定容体积，mL；

K—稀释因子。

样品中大豆异黄酮含量X（μg/g）=X₁+X₂+X₃+X₄（X₁、X₂、X₃、X₄分别表示样品中大豆苷、大豆苷元、染料木苷、染料木素的含量）

1.6.2 结果表示：报告算术平均值的两位有效数。

- 1.7 允许差：同一实验室，同时测定或重复测定结果的相对偏差不得超过10%。
- 1.8 准确度：将试样中加入不同浓度的金雀异黄素，做回收率实验，回收率应在85~110%范围内。
- 1.9 其它
- 1.9.1 使用二极管阵列检测器波长设定范围210~400nm。
- 1.9.2 可以建立大豆苷、大豆苷元、染料木苷、染料木素的吸收光谱谱库，测定试样时试样吸收光谱与标准的吸收光谱进行比较，可以克服单靠保留时间定性的不足，增加定性的准确性。
- 1.9.3 根据色谱峰的峰纯度可以判定是否有干扰物质存在。

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3μg，最低检出浓度为3μg/mL。

本方法最佳线性范围：3~150μg/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：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。

2.5.2 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。

2.5.3 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置于具塞锥形瓶中，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1小时内稳定。

2.6 分析结果表述：试样中原花青素测定结果按式计算。

2.6.1 计算：

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

式中：

X—试样中原花青素的百分含量，g/100g；

m_1 —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】 装量差异指标应符合《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. 胶原蛋白：

项 目	指 标
来源	食用级明胶
制法	经浸泡（加入纯化水浸泡12h）、溶解、水解（加入木瓜蛋白酶，50℃、25min）、灭酶（100℃）、过滤、喷雾干燥（进风口温度：165℃，出风口温度：70℃）、过筛、检验等工艺制成。
感官要求	白色或淡黄色粉末
提取率，%	85
蛋白质，%	≥90
羟脯氨酸，%	≥7.0
pH值（1%溶液）	2
水分，%	≤8
灰分，%	≤2
铅（以Pb计），mg/kg	≤1.5
总砷（以As计），mg/kg	≤1.0
总汞（以Hg计），mg/kg	≤0.3
菌落总数，CFU/g	≤1000
大肠菌群，MPN/g	≤0.92
霉菌和酵母，CFU/g	≤50
沙门氏菌	≤0/25g
金黄色葡萄球菌	≤0/25g

2. 大豆提取物：

项 目	指 标
来源	豆粕 应符合相关食品安全国家标准
制法	经提取（12倍量75%乙醇80~85℃提取3次，分别2h、1.5h、1h）、浓缩、过柱（聚酰胺柱）、洗脱（75%乙醇）、浓缩、减压干燥（70℃，-0.08Mpa）、粉碎、过筛等工艺制成。

感官要求	棕黄色粉末
提取率，%	0.4
粒度	80目筛
大豆异黄酮，%	≥20
水分，%	≤5
灰分，%	≤8
铅（以Pb计），mg/kg	≤1.5
总砷（以As计），mg/kg	≤1.0
总汞（以Hg计），mg/kg	≤0.3
六六六，mg/kg	≤0.1
滴滴涕，mg/kg	≤0.1
菌落总数，CFU/g	≤1000
大肠菌群，MPN/g	≤0.92
霉菌和酵母，CFU/g	≤50
沙门氏菌	≤0/25g
金黄色葡萄球菌	≤0/25g

3. 葡萄籽提取物：

项 目	指 标
来源	葡萄籽 应符合相关食品安全国家标准
制法	经粉碎、、脱脂（石油醚，沸程60~90℃）、提取（70%乙醇回流提取2次，10倍量70%乙醇1.5h，8倍量70%乙醇1h）、浓缩、萃取（等量乙酸乙酯）、减压干燥（60℃，-0.08Mpa）、粉碎、过筛等工艺加工制成。
感官要求	浅棕红色粉末
目数	80目
提取率，%	9.0
原花青素，g/100g	≥30
水分，%	≤8.0
灰分，%	≤8.0
铅（以Pb计），mg/kg	≤1.5
总砷（以As计），mg/kg	≤1.0
总汞（以Hg计），mg/kg	≤0.3
六六六，mg/kg	≤0.1
滴滴涕，mg/kg	≤0.1
菌落总数，CFU/g	≤1000
大肠菌群，MPN/g	≤0.92
霉菌和酵母，CFU/g	≤50
沙门氏菌	≤0/25g
金黄色葡萄球菌	≤0/25g

4. 维生素E粉（d1-α-醋酸生育酚、辛烯基琥珀酸淀粉钠）：

项 目	指 标

来源	维生素E（dl- α -醋酸生育酚）、辛烯基琥珀酸 淀粉钠
制法	经溶解、乳化、喷雾干燥、混合、过筛等工艺 加工制成。
微囊率，%	50
感官要求	乳白色或奶白色粉末，几乎无嗅味
维生素E含量，%	≥ 50
铅（以Pb计），mg/kg	≤ 1.5
总砷（以As计），mg/kg	≤ 1.0
总汞（以Hg计），mg/kg	≤ 0.3
菌落总数，CFU/g	≤ 1000
大肠菌群，MPN/g	≤ 0.92
霉菌和酵母，CFU/g	≤ 50
沙门氏菌	$\leq 0/25g$
金黄色葡萄球菌	$\leq 0/25g$
