

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20190305

昇生源牌植物甾醇酯红曲软胶囊

- 【原料】 植物甾醇酯、红曲
- 【辅料】 玉米油、蜂蜡、明胶、甘油、纯化水、焦糖色、二氧化钛
- 【生产工艺】 本品经辐照灭菌（⁶⁰Co、5kGy）、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	囊皮呈棕色，内容物呈棕红色
滋味、气味	具本品特有的滋味、气味，无异味
性状	软胶囊，完整光洁，无粘连，无破损；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，%	≤3.0	GB 5009.4
崩解时限，min	≤60	《中华人民共和国药典》
酸价，mgKOH/g	≤15.0	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
六六六，mg/kg	≤0.1	GB/T 5009.19
滴滴涕，mg/kg	≤0.1	GB/T 5009.19
桔青霉素，μg/kg	≤50.0	1 桔青霉素的测定
黄曲霉毒素B ₁ ，μg/kg	≤5.0	GB 5009.22

1 红曲产品中桔青霉素的测定（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版））

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：Eclipse XDB C₁₈反相色谱柱，250×4.6mm，粒度直径为5μm。

1.4.3 试样环：20μL。

1.4.4 检测器：荧光检测器，λ_{ex}=331，λ_{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 0.45μm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：准确称取粉碎的红曲米粉（细度达到测定色价时的要求）0.5～3.0g（根

据红曲样品中的桔青霉素含量高低而定)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20μL进行HPLC分析。

1.5.1.2 液态发酵液的预处理: 用均质器将发酵液中的菌丝打碎, 取10mL均匀打碎的发酵液于比色管中, 用乙醇定容至25mL, 60℃加热1h(期间不断振摇), 3000rpm离心15min, 上清液微滤后取20μL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不同发酵产品提取液20μL, 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: 样品中桔青霉素含量采用与标准桔青霉素样品峰面积相比较的原理进行计算。

1.5.3.1 固态样品中桔青霉素含量计算

公式1(根据标准样的浓度和峰面积以及上样的峰面积、稀释倍数计算)

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

公式2(根据一系列标准样浓度与其峰面积所得出的计算公式计算)

$$X = D_S \times (Y_2 + 0.2669) / 89.72$$

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;

W—样品重量, g;

V—固态萃取时的萃取剂总体积, mL;

1.5.3.2 液态红曲样品桔青霉素浓度计算

公式1(根据标准样的浓度和峰面积以及上样的峰面积, 稀释倍数计算)

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

公式2(根据一系列标准样浓度与其峰面积所得出的计算公式计算)

$$X = D_S \times (Y_2 + 0.2669) / 89.72$$

式中:

D_L —稀释倍数 (V_E/V_L);

V_E —液态萃取时总体积 (mL);

V_L —发酵液体积 (mL);

其余参数同固体样品计算方法。

1.5.4 确证: 为进一步确认从HPLC图谱上观察到的与标准桔青霉素出峰时间相当的物质是否为桔青霉素, 阳性试样还需用薄层色谱法中样液与标准液点重叠的方法确证, 或用HPLC配二级管阵列检测器和液相色谱-质谱联机进行确认, 若样品中疑为桔青霉素物质的光谱、质谱图与桔青霉素标准的光谱、质谱图完全吻合, 则证明所测样品中与桔青霉素标准品保留时间相当位置处的峰即是桔青霉素。

1.6 检测限: 本方法的最低检测浓度为50μg/kg (μg/L)。

【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	$\leq 0/25g$	GB 4789.10
沙门氏菌	$\leq 0/25g$	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
洛伐他丁，mg/100g	50~110	1 洛伐他丁的测定
植物甾醇（以 β -谷甾醇计），g/100g	≥ 4.0	2 植物甾醇的测定

1 洛伐他丁的测定（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版））

1.1 范围

本方法规定了保健食品中洛伐他丁含量的测定方法。

本方法适用于洛伐他丁作为功效成分添加于片剂、胶囊以及红曲发酵原料等试样类型中含量的测定。

本方法的最低检出量2.0mg/kg。

本方法的最佳线性范围2.00~300 μ g/mL。

1.2 原理：将酸性介质中的试样使用三氯甲烷进行提取，挥干提取溶剂，以流动相定容，根据高效液相色谱紫外检测器在238nm处的响应进行定性定量。

1.3 试剂

1.3.1 甲醇：色谱纯。

1.3.2 三氯甲烷：分析纯。

1.3.3 磷酸：分析纯。

1.3.4 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。

1.3.5 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40 μ g洛伐他丁。

1.4 仪器设备

1.4.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器（UV）。

1.4.2 超声波清洗器。

1.4.3 涡旋混匀器。

1.4.4 离心机。

1.4.5 真空泵。

1.5 分析步骤

1.5.1 试样处理：将片剂、胶囊或红曲发酵产物试样粉碎并混合均匀，根据试样中洛伐他丁含量准确称取一定量试样于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/min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。

1.5.2 液相色谱参考条件

1.5.2.1 色谱柱：C₁₈柱，4.6×250mm。

1.5.2.2 柱温：室温。

1.5.2.3 紫外检测器：检测波长238nm。

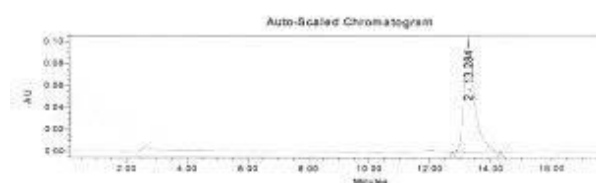
1.5.2.4 流动相：甲醇:水:磷酸=385:115:0.14。

1.5.2.5 流速：1.0mL/min。

1.5.2.6 进样量：10μL。

1.5.2.7 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。

1.5.2.8 色谱图



色谱图中洛伐他丁浓度为25μg/mL

1.5.3 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。

1.5.4 分析结果表示

1.5.4.1 计算

$$X = \frac{h_1 \times c \times 50 \times 100}{h_2 \times m \times 1000}$$

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。

1.5.4.2 结果表示：检测结果保留三位有效数字。

1.6 技术参数

1.6.1 准确度：方法的回收率在93.3%~108.4%之间。

1.6.2 允许差：平行样测定相对误差≤±5%。

2 植物甾醇的测定

2.1 试剂

除非另有说明，所有试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

2.1.1 β-谷甾醇标准品：纯度≥90%。

- 2.1.2 乙腈：色谱纯。
- 2.1.3 异丙醇：色谱纯。
- 2.1.4 无水乙醇：分析纯。
- 2.1.5 正己烷：分析纯。
- 2.1.6 无水硫酸钠：分析纯。
- 2.1.7 氢氧化钾：分析纯。
- 2.1.8 谷甾醇标准溶液：精密称取 β -谷甾醇对照品0.0100g，移入10mL容量瓶中，加入乙醇，超声波振荡助溶，并用乙醇定容至10mL，即为浓度1.0mg/mL的标准储备液。
- 2.2 色谱条件
- 2.2.1 色谱柱：ODS C18液相色谱柱。
- 2.2.2 流动相：乙腈-异丙醇=70:30（v/v）。
- 2.2.3 检测波长：210nm。
- 2.2.4 流速：1mL/min。
- 2.3 样品处理：根据估计含量计算在线性范围内的数值称取样品（精确到0.001g），放入250mL的圆底烧瓶中，加入约50mL无水乙醇，再加入氢氧化钾6g，在70±5℃水浴锅加热回流2h。停止加热，从冷凝器顶端加入40mL水、20mL正己烷，转移至分液漏斗中。收集水层后，分别用20mL正己烷萃取两次。合并正己烷层，用去离子水洗至中性。正己烷提取液过无水硫酸钠，置于旋转蒸发仪上蒸干，用无水乙醇定容至50mL。用0.45 μ m的滤膜过滤，滤液用做上机分析。
- 2.4 标准曲线的绘制：精密吸取 β -谷甾醇标准溶液（1.0mg/mL）1.0、2.0、5.0mL，分别置于10mL容量瓶中，用乙醇定容，摇匀。分别取10 μ L标准工作系列溶液进样分析，以测得的 β -谷甾醇的峰面积，对 β -谷甾醇的浓度绘制标准曲线。
- 2.5 样品测定：取样品滤液10 μ L进液相色谱仪分离测定，根据色谱峰保留时间定性，以外标峰面积法进行定量。根据待测样品色谱峰面积，由标准曲线回归方程式得样液中 β -谷甾醇含量，计算出样品中的含量。
- 2.6 结果计算

$$X = \frac{c \times V \times 100}{m \times 1000}$$

式中：

- X—样品中 β -谷甾醇的含量，g/100g；
- c—进样液中 β -谷甾醇的浓度，mg/mL；
- V—样品的定容体积，mL；
- m—样品称取量，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. 植物甾醇酯：符合国家卫生计生委《关于批准DHA藻油、棉籽低聚糖等7种物品为新资源食品及其他相关规定的公告》（2010年第3号）的规定。
2. 红曲：符合QB/T 2847《功能性红曲米（粉）》的规定。
3. 二氧化钛、明胶、甘油、纯化水：符合《中华人民共和国药典》的规定。

4. 蜂蜡：符合GB 1886.87《食品安全国家标准 食品添加剂 蜂蜡》的规定。
 5. 焦糖色：符合GB 1886.64《食品安全国家标准 食品添加剂 焦糖色》的规定。
 6. 玉米油：符合GB/T 19111《玉米油》的规定。
-