

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20100434

柏沛牌氨糖钙镁胶囊

【原料】 碳酸钙、盐酸氨基葡萄糖、氧化镁、L-抗坏血酸钙、大豆异黄酮、维生素D₃粉(胆钙化醇、明胶、蔗糖、 DL- α -生育酚、玉米淀粉、二氧化硅、大豆油)

【辅料】 无

【生产工艺】 本品经过筛、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】 聚乙烯瓶应符合GB 4806.7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	内容物呈乳白色至淡黄色
滋味、气味	具本品特有的滋味与气味，无异味
性状	硬胶囊，表面光洁，无破损、无粘连、无瘪囊、无霉变；内容物为粉末
杂质	无正常视力可见外来杂质

【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
水分，%	≤8.0	GB 5009.3
灰分，%	≤75	GB 5009.4
崩解时限，min	≤30	《中华人民共和国药典》
维生素C，g/100g	2.0~3.1	GB 5009.86
维生素D ₃ ，μg/100g	62.0~96.0	1 维生素D ₃ 的测定
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
六六六, mg/kg	≤0.1	GB/T 5009.19
滴滴涕, mg/kg	≤0.1	GB/T 5009.19

1 维生素D₃的测定

1.1 原理：将样品用水及二甲亚砷加热超声溶解后，以正己烷提取，反相高效液相色谱测定。样品中的维生素D₃以C₁₈柱分离，二极管阵列检测器或紫外检测器（265nm）测定，峰面积定量，外标法计算结果。

1.2 试剂

1.2.1 去离子水。

1.2.2 正己烷：分析纯。

1.2.3 二甲亚砷：分析纯。

1.2.4 甲醇：色谱纯，Merck公司。

1.2.5 维生素D₃（胆钙化醇）标准品：购自Sigma公司，纯度大于99%，1μg相当于40IU。

1.3 仪器

1.3.1 高效液相色谱仪：双高压输液泵，配二极管阵列检测器或紫外检测器。

1.3.2 超声波清洗器。

1.3.3 Milli-Q plus 纯水装置。

1.3.4 恒温水浴锅。

1.3.5 离心机。

1.4 色谱条件

1.4.1 色谱柱：反相Phenomenex Luna C₁₈柱，5m，250×4.6mm。

1.4.2 预柱：Phenomenex Luna C₁₈柱，4.0×3.0mm。

1.4.3 流动相：甲醇-水=98:2。

1.4.4 柱温：40℃。

1.4.5 流速：1.0mL/min。

1.4.6 检测波长：265nm。

1.5 维生素D₃（胆钙化醇）标准溶液：精确称取维生素D₃（胆钙化醇）标准品约10.0mg，置于25mL棕色容量瓶中，以甲醇溶解，并定容至刻度，摇匀，于-20℃冰箱中可保存一个月。上机前用甲醇成80IU/mL（相当于2μg/mL）的标准使用液。

1.6 样品处理：取20粒胶囊内容物，充分研磨使混合均匀。精密称取4.0g，加入5mL水、10mL二甲亚砷，密塞后摇匀，置于60℃水浴锅加热10min，并不断振摇使混合均匀，然后超声提取10min，取出后，加入正己烷提取4次，每次20mL，合并正己烷提取液，在35℃下于旋转蒸发仪上蒸至近干，再以氮气吹干，精密加入甲醇2mL溶解样品，经0.45μm滤膜过滤后备用。

1.7 样品测定：分别将制备好的样品与维生素D₃（胆钙化醇）的标准使用液80μL[或维生素D₃（胆钙化醇）]，注入高效液相色谱仪进行分析，以各组标准溶液峰的保留时间进行定性，峰面积定量，外标法计算。

1.8 结果计算

$$X_i = \frac{A_i \times C_{si} \times V \times 100}{A_{si} \times m}$$

式中：

X_i—样品中维生素D₃（胆钙化醇）的含量，μg/100g；

A_i—样品中维生素D₃（胆钙化醇）的峰面积；

C_{si}—标准溶液中维生素D₃（胆钙化醇）的浓度，μg/mL；

A_{si}—标准溶液中维生素D₃（胆钙化醇）的峰面积；

V—样品定容的体积，mL；

m—样品质量，g。

【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
钙（以Ca计）， g/100g	22. 2~29. 6	GB 5009. 92 “第一法 火焰原子吸收光谱法”
镁（以Mg计）， g/100g	6. 9~9. 3	GB 5009. 90
大豆异黄酮（以染料木素、大豆苷元、大豆苷、染料木苷计）， g/100g	≥0. 83	1 大豆异黄酮、染料木素、大豆苷元、大豆苷、染料木苷的测定
染料木素， g/100g	≥0. 01	1 大豆异黄酮、染料木素、大豆苷元、大豆苷、染料木苷的测定
大豆苷元， g/100g	≥0. 02	1 大豆异黄酮、染料木素、大豆苷元、大豆苷、染料木苷的测定
大豆苷， g/100g	0. 20~0. 40	1 大豆异黄酮、染料木素、大豆苷元、大豆苷、染料木苷的测定
染料木苷， g/100g	0. 40~0. 70	1 大豆异黄酮、染料木素、大豆苷元、大豆苷、染料木苷的测定
盐酸氨基葡萄糖， g/100g	11. 0~16. 7	2 盐酸氨基葡萄糖的测定

1 大豆异黄酮、染料木素、大豆苷元、大豆苷、染料木苷的测定

1.1 原理：试样以80%甲醇-水（80:20，V/V）超声提取，以C18柱分离染料木素（Genistein）、染料木苷（Genistin）、大豆苷（Daidzin）、大豆苷元（Daidzein），二极管阵列检测器或紫外检测器（260nm）测定，以峰面积定量，外标法计算结果。四组分之和即为试样中大豆异黄酮的含量。

1.2 试剂

1.2.1 甲醇：分析纯。

1.2.2 水：去离子水。

1.2.3 80%甲醇-水（80:20）。

1.2.4 0.050mol/L醋酸铵（pH4.6）：准确称取3.85g醋酸铵，置于小烧杯中，加适量水溶解并转移至1000mL容量瓶中，加500mL水、3.00mL冰醋酸，摇匀，加水至容量瓶刻度，摇匀即可。

1.2.5 大豆异黄酮对照品：染料木素（Genistein）、染料木苷（Genistin）、大豆苷（Daidzin）、大豆苷元（Daidzein），含量均大于含量大于98.0%。

1.3 仪器

1.3.1 高效液相色谱仪：附双高压输液泵、二极管阵列检测器或紫外检测器。

1.3.2 超声波清洗器。

1.3.3 Milli-Q plus纯水装置。

1.4 色谱条件

1.4.1 色谱柱：反相Phenomenex Luna C₁₈柱，5μm，250×4.6mm。

1.4.2 预柱：Phenomenex Luna C₁₈柱，4.0×3.0mm。

1.4.3 流动相：甲醇-0.05mol/L乙酸铵(pH4.6)，按下表进行梯度洗脱：

时间 (min)	甲醇 (%)	0.05mol/L乙酸铵 (%)
0	10	90
10	35	65
40	55	45
50	90	10
51	10	90

1.4.4 记录时间为51min，延迟时间为5min。

1.4.5 柱温：30℃。

1.4.6 流速：1.0mL/min。

1.4.7 检测波长：260nm。

1.5 试样处理：取10粒胶囊内容物，研磨，混合均匀。精密称取磨碎的试样300mg，精密加入10mL80%甲醇溶液，密塞，溶解，混合均匀，超声45min，放置至室温后，过滤，弃去初滤液，取续滤液即为供试品溶液。

1.6 标准溶液的配制

1.6.1 染料木素和大豆苷元标准储备溶液：分别准确称取染料木素标准品约5.0mg、大豆苷元标准品约5.0mg，置于同一10mL容量瓶中，用80%甲醇溶解并定容至刻度，摇匀。

1.6.2 染料木苷和大豆苷标准储备溶液：分别准确称取染料木苷标准品约9.0mg、大豆苷标准品约8.0mg，置于同一10mL容量瓶中，用80%甲醇溶解并定容至刻度，摇匀。

1.6.3 混合标准品溶液：准备5个10mL容量瓶，分别吸取染料木素和大豆苷元标准储备溶液0.1、0.2、0.4、0.6、0.8mL及染料木苷和大豆苷标准储备溶液0.5、1.0、1.4、2.0、3.0mL，置于5个10mL容量瓶中，加入80%甲醇稀释并定容至刻度，混匀。

1.7 标准曲线的制备：分别取5个不同浓度的混合标准品溶液各5μL，进行HPLC分析，以各组标准溶液峰的保留时间进行定性，各组分的峰面积对进样量绘制标准曲线。

1.8 试样测定：取供试品溶液5μL，进行HPLC分析，以各组标准溶液峰的保留时间定性，峰面积定量，外标法计算。

1.9 结果计算

$$X_i = \frac{A_i \times C_{s_i} \times V \times 100}{A_{s_i} \times m}$$

式中：

X_i —试样中各组分的含量，g/100g；

A_i —试样中各组分的峰面积；

C_{s_i} —标准溶液中各组分的浓度，mg/mL；

A_{s_i} —标准溶液中各组分的峰面积；

V —试样定容的体积，mL；

m —试样的质量，mg。

$$X = X_{\text{Genistein}} + X_{\text{Genistin}} + X_{\text{Daidzin}} + X_{\text{Daidzein}}$$

X —试样中大豆异黄酮的含量(以染料木素、大豆苷元、大豆苷、染料木苷计)，g/100g；

$X_{\text{Genistein}}$ 、 X_{Genistin} 、 X_{Daidzin} 、 X_{Daidzein} —试样中染料木素(Genistein)、染料木苷(Genistin)、大豆苷(Daidzin)、大豆苷元(Daidzein)的含量，g/100g。

2 盐酸氨基葡萄糖的测定

2.1 原理：将试样中的盐酸氨基葡萄糖以去离子水超声提取，使用梯度反相高效液相色谱进行分离，蒸发光散射检测器(ELSD)检测，根据色谱峰的保留时间定性，峰面积外标法定量。

2.2 试剂

2.2.1 甲醇：色谱纯，Merck公司。

2.2.2 五氟丙酸：分析纯，Sigma公司。

2.2.3 去离子水。

2.2.4 0.3%五氟丙酸溶液。

2.2.5 盐酸氨基葡萄糖对照品：含量98.0%，分子量为215.64，Sigma公司。

2.3 仪器

2.3.1 高效液相色谱仪：附双高压输液泵、蒸发光散射检测器。

2.3.2 超声波清洗器。

2.3.3 Milli-Q plus纯水装置。

2.4 氨基葡萄糖盐酸盐对照品溶液：准确称取63mg盐酸氨基葡萄糖对照品，置于25mL容量瓶中，用去离子水溶解并定容，配制成浓度约为2.4mg/mL的对照品储备溶液。精密吸取0.8、1.5、2.0、3.2、4.0mL对照品储备溶液，分别置于10mL容量瓶中，用水稀释至刻度，混合均匀，制成浓度约为0.2、0.4、0.5、0.8、1.0mg/mL的对照品系列溶液。

2.5 试样制备：精密称取约80mg试样内容物（相当于含有氨基葡萄糖盐酸盐约12.5mg），置于25mL容量瓶中，加入约20mL去离子水，溶解，混合均匀，超声30min，放置至室温后，用水稀释并定容至刻度，过滤，弃去初滤液，取续滤液作为供试品溶液。

2.6 色谱条件

2.6.1 色谱柱：反相Phenomenex C₁₈柱，5μm，250×4.6mm。

2.6.2 蒸发光散射检测器：气体流速为2.6~2.8mL/min，漂移管温度为120℃。

2.6.3 流动相：甲醇-0.3%五氟丙酸溶液=10:90。

2.6.4 柱温：25℃。

2.6.5 流速：0.6mL/min。

2.7 标准曲线的制备：分别取0.2、0.4、0.5、0.8、1.0mg/mL的对照品系列溶液各5μL，进行HPLC分析，以峰面积对浓度进行二次回归得标准曲线回归方程。

2.8 试样测定：取供试品溶液5μL，进行HPLC分析，根据标准曲线计算试样中氨基葡萄糖盐酸盐的含量。

2.9 结果计算

2.9.1 标准曲线回归方程的计算

$$Y = aX^2 + bX + c$$

式中：

Y—标准溶液中氨基葡萄糖盐酸盐的峰面积；

X—标准溶液的浓度，mg/mL；

a、b、c—标准曲线二次回归方程的系数。

2.9.2 氨基葡萄糖盐酸盐含量计算

$$Y_i = aX_i^2 + bX_i + c$$

式中：

Y_i—试样溶液中氨基葡萄糖盐酸盐的峰面积；

X_i—试样溶液的浓度，mg/mL；

a、b、c—标准曲线二次回归方程的系数。

$$X = X_i \times 25 \times 100 / m$$

式中：

X—试样中氨基葡萄糖盐酸盐的含量，g/100g；

X_i—试样溶液的浓度，mg/mL；

m—试样质量，mg。

【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. 碳酸钙：应符合GB 1886.214《食品安全国家标准 食品添加剂 碳酸钙（包括轻质和重质碳酸钙）》的规定。

2. 盐酸氨基葡萄糖：应符合WS₁-XG-028-2001《国家药品标准 盐酸氨基葡萄糖》的规定。

3. 氧化镁：应符合GB 1886.216《食品安全国家标准 食品添加剂 氧化镁（包括重质和轻质）》中重质氧化镁的规定。

4. L-抗坏血酸钙：应符合GB 1886.43《食品安全国家标准 食品添加剂 抗坏血酸钙》的规定。

5. 维生素D₃粉（胆钙化醇、明胶、蔗糖、DL-α-生育酚、玉米淀粉、二氧化硅、大豆油）

项 目	指 标
来源	胆钙化醇、明胶、蔗糖、DL- α -生育酚、玉米淀粉、二氧化硅、大豆油
制法	经乳化（50~70℃，300~500bar，乳液粒径小于1um）、喷雾干燥（进风口温度77~93℃，出风口温度50~60℃）、微囊化（以二氧化硅为助流剂，混合15min）、筛分、包装等主要工艺加工制成
感官要求	类白色至黄色细颗粒状粉末，无肉眼可见杂质
粒度	100%过20目，90%通过40目
干燥失重，%	≤5.0
重金属（以Pb计），ppm	≤10
胆钙化醇，IU/mg	≥100
菌落总数，CFU/g	≤1000
大肠菌群，MPN/g	≤0.92
霉菌及酵母，CFU/g	≤50
沙门氏菌	≤0/25g
金黄色葡萄球菌	≤0/25g

6. 大豆异黄酮

项 目	指 标
来源	干燥大豆
制法	经粉碎、提取（3~4倍量30~50%乙醇75~85℃提取2次，每次2h）、过滤、浓缩、精制（D101大孔树脂，60~70%乙醇洗脱）、浓缩、加热灭菌（>80℃，30min）、喷雾干燥（进风温度180~205℃，出风温度80~95℃）、混合、过筛、包装等主要工艺制成。
感官要求	黄色粉末，具本品特有滋味
得率，%	2~3
大豆异黄酮，%	≥40.0
二乙烯苯，μg/kg	≤50
重金属（以Pb计），mg/kg	≤10.0
水分，%	≤5.0
灰分，%	≤5.0
溶剂残留，%	≤0.05
菌落总数，CFU/g	≤1000
大肠菌群，MPN/g	≤0.92
霉菌及酵母，CFU/g	≤50
沙门氏菌	≤0/25g
金黄色葡萄球菌	≤0/25g