

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20210169

健尔马牌纳豆牛磺酸胶囊

- 【原料】 纳豆冻干粉、牛磺酸
- 【辅料】 微晶纤维素、硬脂酸镁
- 【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】 口服固体药用聚酯瓶应符合YBB00262002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	内容物呈淡黄色或黄白色
滋味、气味	具本品应有的滋味、气味，无异味
性状	硬胶囊，整洁，无粘结、变形、囊壳破裂等现象，内容物为粉末
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
水分，%	≤9.0	GB 5009.3
灰分，%	≤7.0	GB 5009.4
崩解时限，min	≤30	《中华人民共和国药典》
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	≤0.2	GB/T 5009.19

滴滴涕, mg/kg	≤0.2	GB/T 5009.19
黄曲霉毒素B ₁ , μg/kg	≤5	GB 5009.22
纳豆激酶, FU/g	≥400	1 纳豆激酶的测定

1 纳豆激酶的测定

1.1 原理：纳豆激酶的活性，由于纳豆激酶和血纤维蛋白作用，血纤维蛋白肽链水解断裂，而产生降解物，利用分光光度计测降解物的吸光值。FU定义：酶在特殊的反应条件下，每克每分钟以0.01个单位吸光值增长，经过反应一段时间后，在275nm下的吸光值。

1.2 仪器

1.2.1 水浴锅。

1.2.2 高速微型离心机。

1.2.3 分光光度计。

1.3 试剂

1.3.1 0.05mol/L Borate buffer 硼酸盐缓冲液（pH8.5含有NaCl）：称取Na₂BO₇·10H₂O（硼砂）19.07g和9gNaCl,溶于900mL蒸馏水中，用浓盐酸调pH为8.5，然后加蒸馏水至1000mL。

1.3.2 0.2mol/L三氯乙酸（TCA）溶液：称取32.68g三氯乙酸，加蒸馏水至1000mL。

1.3.3 0.72%Fibrinogen solution(0.72%纤维蛋白原溶液)：吸取10mL硼酸盐缓冲液，放入一个锥形瓶中，加96mg纤维蛋白原（SIGMA,纤维蛋白原型号I-S：牛血浆，产品编号F8630）用玻璃棒搅拌，直到完全溶解，过滤混合液，（滤纸：ADVANTEC,规格6或7cm）备用。

1.3.4 Thrombin（凝血酶）溶液：用硼酸盐缓冲液溶解凝血酶（SIGMA,From牛血浆，产品编号T6634），制成1000U/mL的溶液，保存备用，在使用前，用0.05mol/L硼酸盐缓冲液，按50倍稀释。

1.3.5 1mol/L醋酸溶液：称取60.1g醋酸，溶于1000mL蒸馏水。

1.3.6 1mol/L醋酸盐缓冲液（pH6.0）：称取129.6gCH₃COONa·3H₂O溶于蒸馏水中，加47.6mL1mol/L醋酸溶液,加蒸馏水至1000mL。

1.3.7 10%Fritonx-100（聚乙二醇辛基苯基醚）溶液：称取10g聚乙二醇辛基苯基醚，溶于蒸馏水中，加热，使其充分溶解混匀，加蒸馏水至1000mL。

1.3.8 稀释液：称取0.334g（最终浓度2mmol/L）CaSO₄·2H₂O和0.585g（最终浓度10mmol/L）NaCl，溶于蒸馏水中，加2mL 1mol/L醋酸盐缓冲液（pH6.0）,0.5mL10%Fritonx-100溶液（最终浓度0.005%）然后加蒸馏水至1000mL。

1.3.9 样品溶液制备：用稀释液稀释样品，使样品吸光值0.04~0.08之间，一般浓度在0.67FU/g~1.33FU/g之间。

1.4 操作步骤：将1.4mLBorate buffer硼酸钠缓冲液（0.05mol/L；pH8.5）和0.4mL Fibrinogen solution纤维蛋白原溶液（0.72%）混匀，置于37℃水浴中5min。加入0.1mLThrombin solution凝血酶溶液，混

匀。经过10min，立即加入0.1mL样品溶液，混合后，置于37℃水浴中。反应须开始20min和40min，分别混匀5s，立即加入2mL TCA solution三氯乙酸溶液（0.2mol/L）于37℃终止反应20min。将此混合物置于微量离心管，进行15000rpm，5min。小心地取1mL上清液（用巴斯德吸管），测其在吸光值为275nm下的吸光度。

（空白）吸取1.4mL 0.05mol/L Borate buffer硼酸钠缓冲液pH8.5和0.4mL 0.72%Fibrinogen solution纤维蛋白原，加入一个试管中置于37℃的水浴中。加入0.1mL Thrombin solution，混匀。10min后，加2mL的0.2mol/L三氯乙酸（TCA）溶液终止反应，混匀，在37℃水浴中5min。加0.1mL样品到溶液中，混匀5s，然后置于37℃水浴中继续放置5min。将此混合物置于微量离心管，进行15000rpm，5min。小心地取1mL上清液（用巴斯德吸管），测其在吸光值为275nm下的吸光度。

1.5 结果计算

$$X = (AT-AB) / 0.01 \times 1/60 \times 1/m \times D$$

式中：

X—纳豆激酶活性，FU/g；

AT—样品吸光值；

AB—空白组的吸光值；

D—样品稀释倍数。

【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），g/100g	≥0.3	1 总皂苷的测定
牛磺酸，g/100g	≥12	GB 5009.169

1 总皂苷的测定（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版））

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：购自中国食品药品检定研究院。
- 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10.0mL，即每毫升含人参皂苷Re2.0mg。
- 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
- 1.3.1.1 固体试样：称取1.000g左右的试样（根据试样含人参量定），置于100mL容量瓶中，加少量水，超声30min，再用水定容至100mL，摇匀，放置，吸取上清液1.0mL进行柱层析。
- 1.3.1.2 液体试样：含乙醇的补酒类保健食品，吸取1.0mL试样放水浴挥干，用水溶解残渣，用此液进行柱层析。
- 非乙醇类的液体试样：吸取1.0mL试样（假如浓度高、或颜色深，需稀释一定体积后再取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（见1.3.1），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（2.0mg/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

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

A_2 —标准液的吸光度值；
 式中：

X—试样中总皂苷含量（以人参皂苷Re计），g/100g；

A_1 —被测液的吸光度值；

A_2 —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。

【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	经清洗、浸泡、蒸煮（0.25MPa，125～130℃，18～20min）、配制菌液、接种、分装、发酵（37～54℃，18～19h，枯草芽孢杆

	菌)、速冻(-35℃, 2h)、真空干燥(50~90℃, 50~70Pa)、包装入库等主要工艺制成
感官要求	淡黄色有少许深黄色颗粒, 粉状、无结块、无硬粒, 具有独特的纳豆味道、无异味, 口感纯正, 无肉眼可见外来杂质, 易溶解, 无团块
总皂苷, %	≥0.6
纳豆激酶, FU/g	≥2000
水分, %	≤7
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
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. 牛磺酸: 应符合GB 14759《食品安全国家标准 食品添加剂 牛磺酸》的规定。
3. 微晶纤维素: 应符合GB 1886.103《食品安全国家标准 食品添加剂 微晶纤维素》的规定。
4. 硬脂酸镁: 应符合GB 1886.91《食品安全国家标准 食品添加剂 硬脂酸镁》的规定。