

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20060489

老山牌丽颜软胶囊

【原料】 紫苏油、葡萄籽提取物、大豆异黄酮、蜂花粉

【辅料】 明胶、纯化水、甘油、蜂蜡

【生产工艺】 本品经干热灭菌（160℃，2h）、混合、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】 内包装应符合YBB00122002的规定；药用铝箔应符合YBB00152005的规定；聚氯乙烯固体药用硬片应符合YBB00212005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	外观呈棕褐色，内容物呈棕褐色
滋味、气味	味苦、略涩
性状	软胶囊，外表光洁，无破损、无瘪囊、无霉变；内容物为油状
杂质	无肉眼可见杂质

【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
灰分, g/100g	≤2.0	GB 5009.4
崩解时限, min	≤60	《中华人民共和国药典》
酸价（以脂肪计）， mgKOH/g	≤5.0	GB/T 5009.37
过氧化值（以脂肪计）， g/100g	≤0.25	GB/T 5009.37
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	≤0.05	GB/T 5009.19
滴滴涕, mg/kg	≤0.05	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	≤1000	GB 4789.2
大肠菌群, MPN/100g	≤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	≤0/25g	GB 4789.10
沙门氏菌	≤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
总黄酮, g/100g	≥1.01	1 总黄酮的测定
原花青素, g/100g	≥9.52	2 原花青素的测定
大豆异黄酮总量, g/100g	≥2.6	3 大豆异黄酮、大豆苷、大豆苷元、染料木素、染料木苷的测定
大豆苷, g/100g	≥2.0	3 大豆异黄酮、大豆苷、大豆苷元、染料木素、染料木苷的测定
大豆苷元, g/100g	≥0.3	3 大豆异黄酮、大豆苷、大豆苷元、染料木素、染料木苷的测定
染料木素, g/100g	≥0.06	3 大豆异黄酮、大豆苷、大豆苷元、染料木素、染料木苷的测定
染料木苷, g/100g	≥0.3	3 大豆异黄酮、大豆苷、大豆苷元、染料木素、染料木苷的测定

1 总黄酮的测定（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 聚酰胺粉

1.1.2 芦丁标准溶液：称取5.0mg芦丁，加甲醇溶解并定容至100mL，即得50μg/mL。

1.1.3 乙醇：分析纯。

1.1.4 甲醇：分析纯。

1.2 分析步骤

1.2.1 试样处理：称取一定量的试样，加乙醇定容至25mL，摇匀后，超声提取20min，放置，吸取上清液1.0mL，于蒸发皿中，加1g聚酰胺粉吸附，于水浴上挥去乙醇，然后转入层析柱。先用20mL苯洗，苯液弃去，然后用甲醇洗脱黄酮，定容至25mL。此液于波长360nm测定吸收值。同时以芦丁为标准品，测定标准曲线，求回归方程，计算试样中总黄酮含量。

1.2.2 芦丁标准曲线：吸取芦丁标准溶液：0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL于10mL比色管中，加甲醇至刻度，摇匀，于波长360nm比色。求回归方程，计算试样中总黄酮含量。

1.3 计算和结果表示：

$$A \times V_0 \times 100$$

$$X = \frac{A}{V_1 \times M \times 1000}$$

式中：

- X—试样中总黄酮的含量，mg/100g；
- A—由标准曲线算得被测液中黄酮量， μg ；
- M—试样质量，g；
- V_1 —测定用试样体积，mL；
- V_2 —试样定容总体积，mL。

计算结果保留二位有效数字。

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 $3\mu\text{g}$ ，最低检出浓度为 $3\mu\text{g/mL}$ 。
- 本方法最佳线性范围： $3\sim 150\mu\text{g/mL}$ 。

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

- 2.5.1.1 片剂：取20片试样，研磨成粉状。
- 2.5.1.2 胶囊：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。
- 2.5.1.3 口服液：摇匀后取样。

2.5.2 提取

- 2.5.2.1 粉状试样：称取 $50\sim 100\text{mg}$ 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。
- 2.5.2.3 口服液：吸取适量样液（取样量不超过 1mL ），置于 50mL 容量瓶中，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 $0、0.1、0.25、0.5、1.0、1.5\text{mL}$ ，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（1）式计算。

2.6.1 计算：

$$X (\%) = \frac{m_1 \times v \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

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%。

3 大豆异黄酮、大豆苷、大豆苷元、染料木素、染料木苷的测定（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版）中“金雀异黄酮的测定”）

3.1 范围

本方法规定了保健食品和普通食品中金雀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金雀异黄酮的含量测定。

最低检出限量为：0.1 μ g；

本方法最佳线性范围：1.00~125 μ g/mL。

3.2 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0.45 μ m滤膜、定容后进行液相色谱分析。试样中的金雀异黄酮用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。

3.3 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。

3.3.1 甲醇：色谱纯。

3.3.2 无水乙醚。

3.3.3 甲醇+水（80+20）。

3.3.4 金雀异黄酮（Genistein）标准品。

3.3.5 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。

3.4 仪器

3.4.1 高效液相色谱仪（二极管阵列检测器或紫外检测器）。

3.4.2 超声波清洗器。

3.4.3 离心机4000r/min。

3.5 分析步骤

3.5.1 高效液相色谱参考条件。

3.5.1.1 色谱柱：不锈钢柱，内径4.6mm，长250mm C₁₈柱，填料粒径10 μ m。

3.5.1.2 流动相：甲醇+0.050mol/L乙酸铵，pH 4.6（46+54，v/v）。

3.5.1.3 流量：1.2mL/min。

3.5.1.4 进样量：20.0 μ L。

3.5.2 试样制备

3.5.2.1 保健食品：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0.45 μ m滤膜，测定。

3.5.2.2 豆奶粉类食品：准确称取磨碎的豆粉或奶粉类试样5~10g，用60~100mL乙醚分三次脱脂，弃去乙醚层，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，洗涤液一并抽滤，定容后过0.45 μ m滤膜，测定。

3.5.2.3 各种豆腐：准确称取试样10g，用玻棒搅匀后用60mL乙醚分三次脱脂，加50mL甲醇水（1.3.3）超声提取30min，过滤，测量体积后过0.45 μ m滤膜，测定。

3.5.2.4 豆腐丝、豆腐干：准确称取试样10g，加无水硫酸钠研磨，转入具塞三角瓶中，加50mL甲醇水（1.3.3）超声提取30min，过滤，定容后过0.45 μ m滤膜，测定。

3.5.2.5 金雀异黄酮储备液：精密称取金雀异黄酮标准品10.0mg，用甲醇溶解并定容至10mL。此液为1.0mg/mL。

3.5.2.6 金雀异黄酮应用液：分别取金雀异黄酮储备液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、125 μ g/mL）。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。

3.6 分析结果的表述

3.6.1 计算

$$X = \frac{A \times C_1 \times V \times K}{A_i \times m}$$

式中:

- X—试样中金雀异黄酮的含量, mg/kg;
- A—试样的峰面积或峰高;
- C₁—金雀异黄酮标准溶液的浓度, 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。

3.6.2 结果表示: 报告算术平均值的两位有效数。

3.7 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%。

3.8 准确度: 将试样中加入不同浓度的金雀异黄酮, 做回收率实验, 回收率应在85~110%范围内。

3.9 其它

3.9.1 使用二极管阵列检测器波长设定范围210~400nm。

3.9.2 可以建立金雀异黄酮标准的吸收光谱谱库, 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。

3.9.3 根据色谱峰的峰纯度可以判定是否有干扰物质存在。

3.9.4 在标准储备液中可同时加入黄豆苷(Daidzin)、染料木苷(Genistin)、黄豆苷原(Daidzein)标准品, 黄豆苷, 染料木苷, 黄豆苷原不干扰金雀异黄酮的测定。

【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. 紫苏油: 应符合LS/T 3254《紫苏籽油》的规定。
 2. 葡萄籽提取物: 应符合SW/T 1-2015《植物提取物 葡萄籽提取物(葡萄籽低聚原花青素)》的规定。
 3. 大豆异黄酮: 应符合NY/T 1252《大豆异黄酮》的规定。
 4. 蜂花粉: 应符合GB/T 30359《蜂花粉》的规定。
 5. 明胶、纯化水、甘油: 应符合《中华人民共和国药典》的规定。
 6. 蜂蜡: 应符合GB/T 24314《蜂蜡》的规定。
-