

国家食品药品监督管理总局

保健食品产品技术要求

BJG20141184

沃福百瑞牌启乐饮料

wofubairuipaiqileyinliao

【配方】 鲜枸杞、西洋参提取物、麦冬提取物、叶黄素粉(叶黄素、明胶、食用级可溶性淀粉)、维生素C（抗坏血酸）、柠檬酸、苹果汁、纯化水

【生产工艺】 本品经混合、均质、杀菌、灌装、包装等主要工艺加工制成。

【感官要求】 应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
色泽	橙红色
滋味、气味	具其特有的滋味与气味，无异味
性状	浊状均匀液体，放置允许有果肉沉淀
杂质	无肉眼可见的外来杂质

【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
总酸（以柠檬酸计），g/100g	≤1	GB/T 12456
pH值	3.5~6	《中华人民共和国药典》（2010年版）
可溶性固形物，g/100mL	≥8	GB/T 12143
铅（以Pb计），mg/kg	≤0.5	GB 5009.12
砷（以As计），mg/kg	≤0.3	GB/T 5009.11
六六六，mg/L	≤0.1	GB/T 5009.19
滴滴涕，mg/L	≤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/mL	≤100	GB 4789.2
大肠菌群, MPN/100mL	≤6	GB/T 4789.3-2003
霉菌, cfu/mL	≤10	GB 4789.15
酵母, cfu/mL	≤10	GB 4789.15
致病菌（指沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌）	不得检出	GB 4789.4、GB 4789.5、GB 4789.10、GB/T 4789.11

【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
粗多糖（以葡聚糖计），mg/100mL	≥370	1 粗多糖的测定
总皂苷（以人参皂苷Re计），mg/100mL	≥25.5	《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版）中“保健食品中总皂苷的测定”
叶黄素, mg/100mL	≥5	2 叶黄素的测定

1 粗多糖的测定

1.1 原理：样品中相对分子量大于 1×10^4 的高分子物质在80%乙醇溶液中沉淀，与水溶液中单糖和低聚糖分离，用碱性二价铜试剂选择性地从其他高分子物质中沉淀具有葡聚糖结构的多糖，用苯酚-硫酸反应，以碳水化合物形式比色测定其含量，其显色强度与粗多糖中葡聚糖的含量成正比，以此计算样品中粗多糖的含量。

1.2 仪器

1.2.1 分光光度计

1.2.2 离心机（3000r/min）

1.2.3 旋转混匀器

1.3 试剂

除特殊注明外，本方法所用试剂均为分析纯；所用水为去离子水或同等纯度蒸馏水。

1.3.1 乙醇溶液（80%）：20mL水中加入无水乙醇80mL，混匀。

1.3.2 氢氧化钠溶液（100g/L）：称取100g氢氧化钠，加水溶解并稀释至1L，加入固体无水硫酸钠至饱和，备用。

1.3.3 铜试剂储备液：称取3.0g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、30.0g柠檬酸钠，加水溶解并稀释至1L，混匀，备用。

1.3.4 铜试剂溶液：取铜试剂储备液50mL，加水50mL，混匀后加入固体无水硫酸钠12.5g并使其溶解。临用新配。

1.3.5 洗涤剂：取水50mL，加入10mL铜试剂溶液、10mL氢氧化钠溶液，混匀。

1.3.6 硫酸溶液（10%）：取100mL浓硫酸加入到800mL左右水中，混匀，冷却后稀释至1L。

1.3.7 苯酚溶液（50g/L）：称取精制苯酚5.0g，加水溶解并稀释至100mL，混匀。溶液置冰箱中可保存1个月。

1.3.8 葡聚糖标准储备液：准确称取相对分子量 5×10^5 、已干燥至恒重的葡聚糖标准品0.5000g，加水溶解并定容至50mL，混匀，置冰箱保存。此溶液1mL含葡聚糖10.0mg。

1.3.9 葡聚糖标准使用液：吸取葡聚糖标准储备液1.0mL，置于100mL容量瓶中，加水至刻度，混匀，置冰箱中保存。此溶液1mL含葡聚糖0.10mg。

1.4 样品处理

1.4.1 样品提取：取样品内容物2.0g，混匀，置于100mL容量瓶中，加水80mL左右，置沸水浴上

加热2h, 冷却至室温后补加水至刻度, 混匀后过滤, 弃去初滤液, 收集续滤液供沉淀粗多糖。

1.4.2 沉淀粗多糖: 准确吸取1.4.1项下续滤液5.0mL, 置于50mL离心管中, 加入无水乙醇20mL, 混匀5min后以3000r/min离心5min, 弃去上清液。残渣用80% (v/v) 乙醇溶液数毫升洗涤, 离心后弃上清液, 反复操作3~4次。残渣用水溶解并定容至5.0mL, 混匀后供沉淀葡聚糖。

1.4.3 沉淀葡聚糖: 准确吸取1.4.2项下终溶液2mL, 置于20mL离心管中, 加入100g/L氢氧化钠溶液2.0mL、铜试剂溶液2.0mL, 置沸水浴中煮沸2min, 冷却, 以3000r/min离心5min, 弃去上清液。残渣用洗涤液数毫升洗涤, 离心后弃去上清液, 反复操作3次, 残渣用10% (v/v) 硫酸溶液2.0mL溶解并转移至50mL容量瓶中, 加水稀释至刻度, 混匀。此溶液为样品测定液。

1.5 标准曲线的绘制: 准确吸取葡聚糖标准使用液0、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00mL (相当于葡聚糖0、0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10mg) 分别置于25mL比色管中, 准确补水至2.0mL, 加入50g/L苯酚溶液1.0mL, 在旋转混匀器上混匀, 小心加入浓硫酸10.0mL, 于旋转混匀器上小心混匀, 置沸水浴中煮沸2min, 冷却后用分光光度计在485nm波长处以试剂空白溶液为参比, 1cm比色皿测定吸光度值。以葡聚糖为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制标准曲线。

1.6 样品测定: 准确吸取样品测定液2.0mL, 置于25mL比色管中, 加入50g/L苯酚溶液1.0mL, 于旋转混匀器上混匀, 小心加入浓硫酸10.0mL, 于旋转混匀器上小心混匀, 置沸水浴中煮沸2min, 冷却至室温, 用分光光度计于485nm波长处, 以试剂空白溶液为参比, 1cm比色皿测定吸光度值。从标准曲线上查出葡聚糖含量, 计算样品中粗多糖含量, 同时做样品空白试验。

1.7 结果计算

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \times V_1 \times V_3 \times V_5}{m_3 \times V_2 \times V_4 \times V_6}$$

式中:

X—样品中粗多糖含量 (以葡聚糖计), mg/g;

m_1 —样品测定液中葡聚糖的质量, mg;

m_2 —样品空白液中葡聚糖的质量, mg;

m_3 —样品质量, g;

V_1 —样品提取液总体积, mL;

V_2 —沉淀粗多糖所用样品提取液体积, mL;

V_3 —粗多糖溶液体积, mL;

V_4 —沉淀葡聚糖所用粗多糖溶液体积, mL;

V_5 —样品测定液总体积, mL;

V_6 —测定用样品测定液体积, mL。

2 叶黄素的测定

1.1 原理: 本方法采用正己烷-乙酸乙酯 (75:25) 混和溶剂提取食品中的叶黄素及其异构体玉米黄质, 经特定的溶剂多次萃取提纯后用高效液相色谱测其中的叶黄素类含量。

1.2 仪器

1.2.1 水浴超声波仪

1.2.2 分光光度计

1.2.3 研磨机

1.2.4 分析天平 (精确到万分之一)

1.2.5 高效液相色谱仪

1.2.6 过滤器

1.2.7 旋转蒸发仪

1.2.8 其它一些必要的玻璃仪器

1.3 试剂

1.3.1 无水乙醇: 分析纯

1.3.2 正己烷: 分析纯, 色谱纯

1.3.3 乙酸乙酯: 分析纯, 色谱纯

1.3.4 去离子水

1.3.5 叶黄素标准品: 总类胡萝卜素含量大于90%, 其中全反式叶黄素含量为90%以上, 玉米黄质

含量为7%左右。

1.4 标准样品中类胡萝卜素含量测定：称取样品0.05g（准确至0.0001g），置于100mL容量瓶中，加入20mL无水乙醇，超声使其溶解后，用无水乙醇定容。取此溶液用紫外-可见光光度计，于445nm波长处测定吸光度值，以无水乙醇作空白对照，如吸光度值在0.3~0.7范围之外，则取部分此溶液用无水乙醇稀释，使其吸光度值在0.3~0.7之间，并记录最终稀释倍数，用下式计算总类胡萝卜素含量。

$$\text{总类胡萝卜素含量 (g/100g)} = \frac{A \times N \times 100}{W \times 2450}$$

式中：

A—吸光度值；

N—稀释倍数；

W—样品重量，g。

2450—叶黄素在无水乙醇中吸收系数，E1cm445nm。

1.5 标准样品中全反式叶黄素含量的测定

1.5.1 高效液相色谱仪

1.5.2 色谱条件

1.5.2.1 色谱柱：硅胶柱（4.6mm×250mm）

1.5.2.2 流动相：正己烷-乙酸乙酯=75:25（v/v）

1.5.2.3 柱温：室温

1.5.2.4 检测波长：446nm

1.5.2.5 流速：1.5mL/min

1.5.2.6 进样量：10μL

1.5.3 测定：称取标准样品（27~25mg），置于100mL容量瓶中，加入20mL正己烷-乙酸乙酯（75:25）溶液，超声使其溶解后，用流动相定容至刻度。取此溶液5mL过0.45μm滤膜后，取其中的10μL进行高效液相分析，于446nm波长处测定。用下式计算叶黄素的含量。

$$\text{全反式叶黄素含量 (g/100g)} = \text{总类胡萝卜素含量} \times \text{叶黄素的峰面积}$$

百分比（%）

1.6 标准溶液的制备：分别准确称取约15、20mg的标准样品于两个100mL的棕色容量瓶中，各加入5mL的乙酸乙酯，超声使其溶解，再用正己烷-乙酸乙酯（75:25）分别定容至刻度，摇匀，使其中全反式叶黄素的含量分别达100、150mg/kg。再以此两个浓度为原始溶液，分别配制成全反式叶黄素含量为10、20、30、50mg/kg的标准溶液，待测。

1.7 标准曲线的绘制：分别取上述配制的系列标准溶液进行高效液相检测，高效液相的检测条件同1.5.2，根据全反式叶黄素峰面积与对应的全反式叶黄素含量作图，得到标准曲线和相应的线性回归方程。

$$A = a \times C + b$$

式中：

A—高效液相色谱图中全反式叶黄素峰峰面积；

C—配制的标准样品的浓度，mg/kg；

a, b—常数。

1.8 样品中叶黄素类含量的测定

1.8.1 样品的粗处理：用研钵研磨易碎的食品如蛋糕、饼干、糖果或者谷物类食品，或者将该类食品夹于对折的称重纸中，用锤子或类似的工具将其弄碎。含奶油的食品如冰淇淋、酸奶、人造奶油等用分散仪将其分散均匀，如有必要可加热到50℃。果冻和其他一些软食品如胶皮糖和凝胶糖用小刀将其切割成小碎片。液体样品可直接使用，如有必要也可使用分散仪将其分散均匀。

1.8.2 样品中叶黄素类的提取：称取上述处理过的样品100g左右，置于250mL的广口容量瓶中，加入50mL去离子水，根据样品中含水量的多少可适当减少去离子水的加入量，在50℃的水浴中超声30min，不时振摇一下，如果样品不能很好地分散，须将超声时间延长为45min。超声后加入50mL水和100mL无水乙醇，剧烈振摇，转移到1000mL分液漏斗中，再加入100mL正己烷-乙酸乙酯（75:25）的混和溶剂，如遇奶粉等不易萃取的物质，可以用二氯甲烷代替混和溶剂萃取。振摇后静

置分层。取上层有机层，水层中再加入上述混和溶剂进行多次萃取，直至样品中无叶黄素颜色为止。合并有机层，再向此有机层中多次加入去离子水洗掉其中的水溶性杂质，每次去离子水的加入量为200mL。在用混和溶剂多次萃取一些含胶类或淀粉类物质较多的样品如果冻、面包、饼干中叶黄素类时，可在多次萃取前将固体物质过滤后加入一定量的混和有机溶剂用超声仪再次超声，加速叶黄素类的溶出。

1.8.3 样品溶液的配制：用旋转蒸发仪将1.8.2中得到的有机层中有机溶剂回收，并重新用正己烷-乙酸乙酯（75:25）将得到的叶黄素类物质转移至50mL棕色容量瓶中，用高效液相色谱的流动相定容，待测。

1.8.4 样品中叶黄素类物质的HPLC法检测：用高效液相色谱法检测样品中叶黄素类物质的含量，色谱条件同1.5.2项色谱条件。

图谱中相对保留时间（相对于all-E-叶黄素）：

all-E-叶黄素 1.00

all-E-玉米黄质 1.08~1.09

Z-叶黄素 1.26~1.31

Z-玉米黄质 1.74

1.8.5 结果计算：计算高效液相图谱中全反式叶黄素和其异构体（包括玉米黄质、顺式叶黄素、顺式玉米黄质）的峰面积总和 ΣA ，用下式计算配制的溶液中叶黄素类物质的浓度 $C_{总}$ ，用下式计算样品中叶黄素含量。

$$\text{样品中叶黄素含量 (mg/kg, ppm)} = \frac{C_{总} \times 50}{W}$$

式中：

$C_{总}$ —配制的溶液中叶黄素类物质的浓度；

50—释稀倍数；

W—样品质量，g。

【保健功能】 增强免疫力、抗氧化

【适宜人群】 免疫力低下者、中老年人

【不适宜人群】 婴幼儿、少年儿童、孕妇、乳母

【食用方法及食用量】 每日1次，每次200mL，摇匀后服用

【规格】 200mL/瓶

【贮藏】 阴凉、干燥处保存

【保质期】 12个月
