

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20160165

氨基酸胶囊

【原料】

【辅料】

【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】

【感官要求】 应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
色泽	浅黄色至棕黄色
滋味、气味	具本品应有的滋味、气味，无异味
性状	硬胶囊，外观完整光洁，无粘结、变形、囊壳破裂等现象；内容物为粉末状
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，%	≤6.0	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/T 5009.11
总汞（以Hg计），mg/kg	≤0.3	GB/T 5009.17

【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
氨基酸, g/100g	≥ 35	1 氨基酸的测定

1 氨基酸的测定

1.1 原理：样品中的蛋白质经盐酸水解成游离氨基酸，用OPA/3-MPA-FMOC-CL分别进行一级氨基酸和二级氨基酸衍生，经HPLC反相分离后，用紫外或荧光检测。

1.2 仪器

1.2.1 高效液相色谱仪：附四元梯度泵、荧光检测器、自动进样器、柱加温器、色谱工作站；或附色谱工作站、自动进样器、可变波长的紫外或荧光检测器、柱加温器。

1.2.2 冷冻离心机

1.2.3 超滤设备

1.3 试剂

1.3.1 水：三蒸水并经Milli-Q超纯处理

1.3.2 乙腈：色谱纯

1.3.3 甲醇：色谱纯

1.3.4 0.1mol/L盐酸：分析纯

1.3.5 无水乙醇：分析纯

1.3.6 磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)：分析纯

1.3.7 磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)：分析纯

1.3.8 12.5mmol/L磷酸盐缓冲液 (pH=7.2)：称取磷酸氢二钠6.267g、磷酸二氢钠1.170g，溶于1800mL水中，用1mol/L HCl或NaOH调pH值为 7.20 ± 0.02 ，用水稀释至2000mL，用0.45 μm 滤膜过滤后备用。

1.3.9 0.1mol/L四硼酸钠缓冲液 (pH=10.4)：称取38.137g四硼酸钠 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ，分析纯)溶于800mL水中，再以0.1mol/L NaOH调pH值至 10.40 ± 0.1 ，并用水稀释至1000mL，用0.45 μm 滤膜过滤后备用。

1.3.10 巯基丙酸：3-Mercaptopropionic acid (3-MPA)，或巯基乙醇 (β -MCE)。SIGMA。

1.3.11 OPA (邻-苯二甲醛) SIGMA：称取10mg OPA用0.2mL无水乙醇溶解，再加入0.8mL 0.1mol/L四硼酸钠缓冲液混匀，最后加入10 μL 巯基丙酸或巯基乙醇，在4℃冰箱中可稳定一周。

1.3.12 FMOC-CL (9-芴基甲氧基羰酰氯) (氯甲酸芴甲酯) SIGMA：配成10mg/mL的乙腈溶液。

1.3.13 四氢呋喃 (THF)：色谱纯

1.3.14 氨基酸标准溶液：HP0.250 $\mu\text{mol/mL}$ 18种氨基酸混合标准液。

1.4 色谱条件

1.4.1 色谱柱：HP Hypersil ODS 5 μm (125 $\times$ 4.0)mm

1.4.2 流动相

流动相A：取1000mL12.5mmol/L pH7.20的磷酸盐缓冲液+5mL四氢呋喃。

流动相B：取500mL12.5mmol/L pH7.20的磷酸盐缓冲液+350mL甲醇+150mL乙腈。

先用流动相B平行30min，再用流动相A平行30min。按下表进行梯度洗脱：

--	--	--

时间, min	流动相A, %	流动相B, %
0	100	0
25	0	100
35	0	100
35.1	100	0
45	100	0

1.4.3 流量: 1mL/min

1.4.4 柱温: 40℃

1.4.5 检测波长

荧光: 激发波长340nm, 发射波长450nm, 21min后激发波长260nm, 发射波长305nm。

紫外: 340nm, 21min后265nm。

1.4.6 衰减: 荧光检测器: 12, 21min: 10。

1.4.7 进样量: 自动衍生1μL; 手动衍生10~20μL。

1.5 样品测定

1.5.1 样品处理: 取适量样品加0.1mol/L HCL用超声波处理提取氨基酸, 如有蛋白质可加乙醇沉淀除去: 取5mL样品的提取液于25mL容量瓶中, 用无水乙醇稀释至刻度, 混匀, 至4℃冰箱中30min, 然后冷冻离心, 取上清液或稀释至合适浓度, 精滤后用于分析。

1.5.2 用HPLC1050 HPLC自动在线衍生。

衍生程序:

DRAW	0.0μL	from	Vial	4（水）
DRAW	2.0μL	from	Vial	3（四硼酸钠缓冲液 pH 10.4）
DRAW	2.0μL	from	Vial	1（OPA/3MPA）
DRAW	0.0μL	from	Vial	4（水）
DRAW	1.0μL	from sample (0.25μmol/ mL standard) 或（sample）		
MIX	5.0μL	in seat	200μL/min速度，5次	
WATT	1.0 min			
DRAW	0.0μL	from	Vial	4（水）
DRAW	1.0μL	from	Vial	2（FMOC-CL）
MIX	6.0μL	in seat	200μL/min速度，5次	
WATT	1.0min			
INJECT				

1.5.3 手动进样: 用微量吸样器取100μL OPA于1.5mL具塞的塑料离心管中, 加10μL 0.25μmol/mL的混合标准 (或样品), 立即计时并迅速在漩涡混合器中混匀, 准确计时2min后, 立即加入10μL FMOC-CL, 再计时, 并迅速在漩涡混合器中混匀, 准确计时2min后立即进样测定。

1.5.4 标准溶液的出峰顺序: 以16种氨基酸为例: 天冬氨酸 (Asp)、谷氨酸 (Glu)、丝氨酸 (Ser)、甘氨酸 (Gly)、苏氨酸 (Thr)、组氨酸 (His)、丙氨酸 (Ala)、精氨酸 (Arg)、酪氨酸 (Tyr)、缬氨酸 (Val)、蛋氨酸 (Met)、苯丙氨酸 (Phe)、异亮氨酸 (Ile)、亮氨酸 (Leu)、赖氨酸1 (Lys 1)、赖氨酸2 (Lys2)、脯氨酸 (Pro)。

1.6 结果计算

自动衍生: 在HPLC色谱工作站直接读数。

手动衍生:

$$X = \frac{A_1 \times c \times M_r \times V \times 100}{A_2 \times m \times 100} \times D$$

式中:

X—样品中氨基酸含量, mg/100g;

A₁—样品中氨基酸峰面积;

A₂—标准品中氨基酸峰面积;

c —氨基酸标准液浓度, $\mu\text{mol/mL}$;

M_r —该氨基酸的相对分子质量;

V —水解后定容体积, mL ;

m —样品质量, g ;

D —稀释倍数;

1000— μg 换算成 mg 。

【装量或重量差异指标/净含量及允许负偏差指标】

【原辅料质量要求】
