



中国医药保健品进出口商会团体标准

T/CCCMHPIE 1.19-2016

植物提取物 葡萄籽提取物 (葡萄籽低聚原花青素)

Plant extract--Grape seed extract

(Grape seeds oligomeric proanthocyanidins)

2017-06-21 发布

2017-07-01 实施

中国医药保健品进出口商会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 和 GB/T 20004.1—2016 给出的规则起草。

本标准由中国医药保健品进出口商会提出。

本标准由中华人民共和国商务部归口。

本标准起草单位：天津市尖峰天然产物研究开发有限公司、浙江天草生物科技股份有限公司、重庆骄王天然产物股份有限公司；由晨光生物科技集团股份有限公司、湖南朗林生物制品有限公司、湖南华诚生物资源有限公司负责复核。

本标准主要起草人：吴巍、邢新锋、翟巧丽、谢国华、高伟、黄华学等。

植物提取物 葡萄籽提取物（葡萄籽低聚原花青素）

1 范围

本标准规定了葡萄籽提取物（葡萄籽低聚原花青素）的技术要求、检验方法、检验规则包装、运输、贮存和保质期要求。

本标准适用于以葡萄籽为原料经提取分离制成的葡萄籽提取物（葡萄籽低聚原花青素）。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

《中华人民共和国药典（2010年版）》第一部附录 IX H 水分测定法 第一法

《中华人民共和国药典（2010年版）》第一部附录 IX K 灰分测定法

《中华人民共和国药典（2010年版）》第一部附录 IX E 重金属检查法

《中华人民共和国药典（2010年版）》第一部附录 VIII P 残留溶剂测定法

GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验菌落总数测定

GB 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验

GB 4789.15 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数

GB 4789.38 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠埃希氏菌计数

GB 4806.1 食品安全国家标准 食品接触材料及制品通用安全要求

3 技术要求

3.1 工艺要求

3.1.1 植物原料

为葡萄科葡萄属植物葡萄 (*Vitis vinifera* L.(Fam. Vitaceae)) 的种子。

3.1.2 工艺过程

用水或乙醇和水一定比例混合溶液提取，浓缩，稀释，沉淀，经大孔吸附树脂吸附、洗脱，洗脱液回收乙醇，干燥，即得。

3.2 产品要求

3.2.1 感官要求

应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项 目	要 求
色泽	浅棕黄色至棕褐色粉末
气味	气微，味微而苦涩
外观	均匀，无可见异物的粉末

3.2.2 理化要求

应符合表 2 的规定。

表 2 理化要求

项 目	指 标	
鉴别	应符合规定	
儿茶素和表儿茶素 /%	≤ 19.0	
原花青素值	≥ 95.0	
多酚含量 /%	≥ 70.0	
水分 /%	≤ 6.0	
灰分 /%	≤ 2.0	
残留溶剂	甲醇 / (mg/kg)	≤ 50
	乙醇 / (mg/kg)	≤ 1000
重金属 (以 Pb 计) / (mg/kg)	≤ 20	

3.2.3 微生物要求

应符合表 3 的规定

表 3 微生物要求

项目	指标
细菌总数 / (CFU/g)	≤ 1000
霉菌及酵母菌数 / (CFU/g)	≤ 100
大肠埃希氏菌	不得检出
沙门氏菌	不得检出

3.2.4 其他污染物

其他污染物限量要求, 依据不同要求, 应符合我国相关法规的规定。对于出口产品, 应符合出口目的国相关法规的规定。

4 检验方法

4.1 感官检验

启开试样后, 立即嗅其气和尝其味; 另取试样适量置于白色瓷盘中观察其色泽、外观, 并检查有无异物。

4.2 理化检验

4.2.1 鉴别

按第 A.4 章中规定的检测方法进行测定。供试品溶液液相色谱图中应显示与 USP 葡萄籽低聚原花青素对照品相应保留时间处一致的色谱峰, 其中应体现原花青素二聚体 B1 的峰、原花青素二聚体 B2 的峰、(-)-表儿茶素 3'-O-没食子酸的峰, 还有一个混合低聚原花青素形成的宽峰。

4.2.2 水分

按《中华人民共和国药典(2010年版)》第一部附录 IX H 水分测定法第一法进行测定。

4.2.3 灰分

按《中华人民共和国药典（2010年版）》第一部附录 IX K 灰分测定法进行测定。

4.2.4 儿茶素和表儿茶素限量

按第 A.4 章中规定的检测方法进行测定。

4.2.5 原花青素值

按第 A.2 章中规定的检测方法进行测定。

4.2.6 多酚含量

按第 A.3 章中规定的检测方法进行测定。

4.2.7 残留溶剂

按《中华人民共和国药典（2010年版）》第一部附录 VIII P 残留溶剂测定法进行测定。

4.2.8 重金属

按《中华人民共和国药典（2010年版）》第一部附录 IX E 重金属检查法进行测定。

4.3 微生物检验

4.3.1 菌落总数

按 GB 4789.2 中规定的方法进行测定。

4.3.2 霉菌和酵母菌

按 GB 4789.15 中规定的方法进行测定。

4.3.3 大肠埃希氏菌

按 GB 4789.38 中规定的方法进行测定。

4.3.4 沙门氏菌

按 GB 4789.4 中规定的方法进行测定。

5 检验规则

5.1 组批

同品种、同等级、同一批投料生产的产品，以同一生产日期为一检验批次。

5.2 出厂检验

5.2.1 产品须逐批检验，检验合格并签发合格证后产品方可出厂。

5.2.2 出厂检验项目：外观、水分、灰分、儿茶素和表儿茶素、原花青素值、多酚含量、重金属和残留溶剂。

5.3 型式检验

5.3.1 型式检验项目包括本标准中规定的全部项目。

5.3.2 正常生产时每年应进行一次型式检验。

5.3.3 有下列情况之一时，应进行型式检验。

- a) 原料来源变动较大时；
- b) 正式投产后，如配方、生产工艺有较大变化，可能影响产品质量时；
- c) 出厂检验与上一次型式检验结果有较大差异时；
- d) 产品停产 6 个月以上，恢复生产时；
- e) 食品安全监督部门提出进行型式检验的要求时。

5.4 判定规则

T/CCCMHPIE 1.19-2016

5.4.1 检验结果全部项目符合本标准规定时，判该批产品为合格品。

5.4.2 检验结果不符合本标准要求时，可以在原批次产品中双倍抽样复检一次，判定以复检结果为准。复检后仍有一项或一项以上不符合标准时，判该批产品为不合格品。

6 包装、标签、运输、贮存和保质期

6.1 包装

包装材料应符合 GB 4806.1 食品安全国家标准 食品接触材料及制品通用安全要求。

6.2 标签

6.2.1 包装标志上应标注：产品名称、批号、规格、净含量、、执行标准、生产厂名、厂址、产地、生产日期、保质期、贮存条件。

6.2.2 外包装箱体上应标有：防潮、防晒、勿重压、朝上（朝下）等字样或标志。标志内容清晰可见，标志应粘贴牢固。

6.3 运输

运输时必须轻装轻卸，不得与有毒、有害、有异味、易污染物品混装载运，严防挤压、雨淋、暴晒。

6.4 贮存

产品应贮存于阴凉、清洁和干燥的仓库中。堆码距墙壁和地面 20cm 以上、并有垫隔物。避免与有毒、有害、易腐、易污染等物品一起堆放。

6.5 保质期

在符合规定的贮运条件、包装完整、未经开启封口的情况下，保质期不超过 36 个月。

附 录 A
(规范性附录)
检 验 方 法

A.1 一般规定

本标准所用试剂和水，在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和符合 GB/T 6682 规定的实验用水。实验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时，均指水溶液。

A.2 原花青素值的测定方法

A.2.1 方法提要

样品经甲醇溶解后，采用紫外 - 可见分光光度计法测定。

A.2.2 仪器和用具

A.2.2.1 分析天平，感量为 0.01mg。

A.2.2.2 紫外 - 可见分光光度计。

A.2.2.3 超声波清洗器

A.2.2.4 顶空瓶和压盖器

A.2.3 试剂和溶液

A.2.3.1 甲醇，分析纯。

A.2.3.2 盐酸，分析纯。

A.2.3.3 正丁醇 (n-BuOH)，分析纯。

A.2.3.4 硫酸铁铵，分析纯。

A.2.3.5 水。

A.2.3.6 5% 盐酸 - 正丁醇 (V/V) 溶液：在一个 100mL 容量瓶中加入大约 2/3 体积的正丁醇，量取 5.0mL 盐酸加入，放冷至室温，并用正丁醇定容至刻度，摇匀。溶液可稳定保存一个月。

A.2.3.7 2% 硫酸铁铵溶液：精确称取 2.0g 硫酸铁铵，置 100mL 容量瓶中，加入 2mol/L 盐酸溶解，放冷至室温，用 2mol/L 盐酸定容至刻度，摇匀。溶液可稳定保存 6 个月。

A.2.4 操作方法

A.2.4.1 供试品溶液制备

精密称取供试品约 10mg，置于 100mL 棕色容量瓶中，加入 80mL 甲醇，超声溶解，用甲醇定容至刻度，摇匀，即得供试品溶液。

A.2.4.2 测定方法

A.2.4.2.1 精密移取下列溶液至 10mL 顶空瓶中

A.2.4.2.1.1 1.0mL 供试品溶液；

A.2.4.2.1.2 6.0mL 5% 的盐酸 - 正丁醇溶液；

A.2.4.2.1.3 0.2mL 2% 硫酸铁铵溶液；

A.2.4.2.2 盖上顶空瓶的盖和垫，用压盖器（封口钳）封口，将顶空瓶放于水浴（ $100 \pm 2^\circ\text{C}$ ）锅中（瓶中试剂部分应处于水面以下），水浴 40 分钟，取出，在冷水浴（ $2 \sim 10^\circ\text{C}$ ）中迅速冷却 20 分钟。

A.2.4.2.3 试剂空白：照上述方法精密移取 1mL 甲醇，6mL 盐酸 - 正丁醇和 0.2mL 硫酸铁铵溶液于 10mL 顶空瓶中，同法制备一个试剂空白。

A.2.4.2.4 用试剂空白作对照，在 546nm 处测定供试品溶液的吸光度 A_1 。

A.2.5 结果计算

葡萄籽提取物（葡萄籽低聚原花青素）中原花青素值以 w_1 计，按公式（A.1）计算：

$$w_1 = \frac{A_1 \times V_1 \times 7200}{m_1 \times 275} \dots\dots\dots(A.1)$$

式中：

- w_1 ——供试品中原花青素值的质量分数；
- A_1 ——供试品溶液在吸收波长 546nm 处的吸光度；
- V_1 ——供试品溶液的稀释体积（mL）；
- m_1 ——供试品的称样量（mg）；
- 275——标准原花青素 100 的检测值。

A.3 多酚含量的测定方法

A.3.1 方法提要

样品经纯化水溶解后，采用紫外-可见分光光度计法测定，以多点回归曲线法测定多酚的含量。

A.3.2 仪器和用具

- A.3.2.1 分析天平，感量为 0.01mg。
- A.3.2.2 紫外-可见分光光度计。
- A.3.2.3 超声波清洗器。

A.3.3 试剂和溶液

- A.3.3.1 无水碳酸钠，分析纯。
- A.3.3.2 钨酸钠，分析纯。
- A.3.3.3 钼酸钠，分析纯。
- A.3.3.4 硫酸锂，分析纯。
- A.3.3.5 溴酸钾，分析纯。
- A.3.3.6 溴化钾，分析纯。
- A.3.3.7 磷酸，分析纯。
- A.3.3.8 盐酸，分析纯。
- A.3.3.9 水。
- A.3.3.10 碳酸钠溶液：称取 20.0g 无水碳酸钠，用水溶解于 100mL 容量瓶中，超声溶解，冷却至室温，用水定容至刻度，摇匀即得。
- A.3.3.11 溴滴定液：取溴酸钾 3.0g 与溴化钾 15g，加水适量使溶解成 1000mL，摇匀，即得。
- A.3.3.12 福林酚试液（磷钼钨酸试液）：取钨酸钠 100g、钼酸钠 25g，加水 700mL，85% 磷酸 50mL 与盐酸 100mL，置磨口圆底烧瓶中，缓缓加热回流 10 小时，放冷，再加硫酸锂 150g、水 50mL 和溴滴定液 1 滴，加热煮沸 15 分钟，冷却，加水稀释至 1000mL，滤过，滤液作为贮备液，置棕色瓶中。本贮备液（应为黄绿色）不得显绿色（如放置后变为绿色，可加溴滴定液 1 滴，煮沸除去多余的溴即可）。临用前取贮备液 2.5mL，加水稀释至 10mL，摇匀，即得。
- A.3.3.13 标准品：没食子酸，CAS 号 149-91-5，纯度 $\geq 97.5\%$ 。

A.3.4 操作方法

A.3.4.1 标准品溶液的制备

精密称取没食子酸约 10mg，置于 100mL 棕色容量瓶中，加入水，超声溶解，冷却至室温，用水定容至刻度，摇匀，配成的标准品溶液中没食子酸浓度约为 0.1mg/mL。

A.3.4.2 供试品溶液制备

精密称取供试品约 20-30mg，置 100mL 棕色容量瓶中，加入水适量，超声使其完全溶解，冷却至室温，以水定容至刻度，摇匀即得。

A.3.4.3 测定方法

A.3.4.3.1 标准曲线测定

A.3.4.3.1.1 精密吸取标准品溶液 0.20mL、0.40mL、0.60mL、0.80mL 分别置于 10mL 的棕色容量瓶中，各加入 3-4mL 的水，摇匀；

A.3.4.3.1.2 加入 0.5mL 福林酚试液，摇匀；在 1-8 分钟内，各加入 1.5mL Na₂CO₃ 溶液，摇匀。用水定容至刻度，摇匀，分别得到没食子酸浓度约为 0.002mg/mL，0.004mg/mL，0.006mg/mL，0.008mg/mL 的标准品溶液，将各容量瓶置于 30℃ 水浴中保持 2 小时。

A.3.4.3.1.3 同时配制空白溶液：加入 3-4mL 水于 10mL 棕色容量瓶中，照 A.3.4.3.1.2 方法制备空白溶液。

A.3.4.3.1.4 以空白溶液调零，于 760nm（10 分钟内）处测定吸光度，以吸光度为纵坐标，浓度为横坐标，绘制回归曲线，计算线性回归方程。

A.3.4.3.2 样品分析：精密吸取 0.2mL 供试品溶液，置 10mL 棕色容量瓶中，各加入 3-4mL 水，摇匀，照标准曲线测定项下的 A.3.4.3.1.2 ~ A.3.4.3.1.3 方法制备供试品和空白溶液，以空白溶液调零，于 760nm（10 分钟内）处测定吸光度。

A.3.5 结果计算

A.3.5.1 根据没食子酸的线性回归方程，计算出被测定供试品溶液中的多酚浓度 C₁。

A.3.5.2 葡萄籽提取物（葡萄籽低聚原花青素）中多酚以质量分数 w₂ 计，数值以 % 表示，按公式(A.2)计算：

$$w_2 = \frac{C_1 \times V_2}{m_2} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(A.2)$$

式中：

w₂——供试品中多酚组分的质量分数（%）；

C₁——供试品溶液中多酚组分浓度（mg/mL）；

V₂——供试品溶液的稀释体积（mL）；

m₂——供试品的称样量（mg）。

A.4 儿茶素和表儿茶素限量的测定方法

A.4.1 方法提要

样品经超声溶解后，采用高效液相色谱法测定，用外标法定量。其中儿茶素和表儿茶素含量均以儿茶素标准品计算。

A.4.2 仪器和用具

A.4.2.1 分析天平，感量为 0.01mg。

A.4.2.2 超声波清洗仪。

A.4.2.3 高效液相色谱仪（附紫外检测器）。

A.4.2.4 0.45 μm 微孔滤膜，有机相。

A.4.3 试剂和溶液

A.4.3.1 乙腈，色谱纯。

A.4.3.2 磷酸，分析纯。

A.4.3.3 纯水，GB/T 6682 规定的二级水。

A.4.3.4 溶液 A：色谱纯乙腈，过 0.45 μm 微孔滤膜。

A.4.3.5 溶液 B：0.3% 磷酸（精密移取 3mL 磷酸于 1000mL 容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀），过 0.45 μm 微孔滤膜，即得。

A.4.3.6 溶解液：溶液 A-B 溶液（1:9，V/V）

A.4.3.7 (+)- 儿茶素标准品：CAS 号 154-23-4，纯度 ≥ 97.0%。

T/CCCMHPIE 1.19-2016

A.4.3.8 USP 葡萄籽低聚原花青素 (Grape Seeds Oligomeric Proanthocyanidins) 对照品, 购自美国药典委员会。

A.4.4 色谱条件及系统适用性

A.4.4.1 色谱条件

- a) 色谱柱: Kromasil C18(250×4.6 mm, 5 μm) 或同类型色谱柱。
- b) 流动相: A 相: 甲溶液 A; B 相: 溶液 B。梯度条件见表 A.1。

表 A.1 梯度条件

时间 /min	A/%	B/%
0 - 45	10 → 20	90 → 80
45 - 65	20 → 60	80 → 40
65 - 66	60 → 10	40 → 90
66 - 85	10	90

- c) 检测波长: 278nm。
- d) 流速: 0.7mL/min。
- e) 温度: 30℃

A.4.4.2 系统适用性

A.4.4.2.1 色谱图比对: 进样标准品溶液 B, 获得的液相色谱图应该和当批 USP 的葡萄籽低聚原花青素对照品报告上提供的参考色谱图接近。

A.4.4.2.2 进样标准溶液 A, (+)- 儿茶素峰的拖尾因子应小于等于 2.0。

A.4.5 操作方法

A.4.5.1 标准品溶液的制备

A.4.5.1.1 标准品溶液 A: 精密称取 (+)- 儿茶素标准品约 12.5mg, 置于 25mL 容量瓶中, 加溶解液适量, 超声溶解, 以溶解液定容至刻度, 配成浓度约为 0.5 mg/mL 的标准溶液, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤即得。

A.4.5.1.2 标准品溶液 B: 精密称取 USP 的葡萄籽低聚原花青素对照品约 10mg, 置于 2mL 棕色容量瓶中, 加溶解液适量, 超声溶解, 以溶解液定容至刻度, 摇匀, 配成浓度约为 5mg/mL 的标准溶液, 离心, 取上清液, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤即得。

A.4.5.2 供试品溶液的制备

精密称取供试品约 50mg, 置于 10mL 容量瓶中, 加溶解液适量, 超声溶解, 以溶解液定容至刻度, 摇匀, 配成浓度约为 5mg/mL 的样品溶液, 离心, 取上清液, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤即得供试品溶液。

A.4.5.3 测定方法

A.4.5.3.1 分别精密吸取标准溶液 A、B、供试品溶液 10 μL, 依次注入高效液相色谱仪, 测定, 通过被用的同批 USP 葡萄籽低聚原花青素报告上提供的参考色谱图, 确认 (+)- 儿茶素和 (-)- 表儿茶素的峰的保留时间, 二者的相对保留时间大约为 1.0 和 1.43。

A.4.5.3.2 外标法计算含量, 其中 (+)- 儿茶素和 (-)- 表儿茶素均以 (+)- 儿茶素为标准品计算。

A.4.6 结果计算

葡萄籽提取物 (葡萄籽低聚原花青素) 中 (+)- 儿茶素和 (-)- 表儿茶素含量和以质量分数 w_3 计, 数值以 % 表示, 按公式 (A.3) 计算:

$$w_3 = \frac{A_2 \times C_2 \times V_3}{A_3 \times m_3} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(A.3)$$

式中:

- w_3 ——供试品中 (+)- 儿茶素和 (-)- 表儿茶素的组分的质量分数和 (%) ;
- A_2 ——供试品溶液中 (+)- 儿茶素和 (-)- 表儿茶素的峰面积和;

A_3 ——标准品溶液 A 中图谱 (+)- 儿茶素的峰面积；

C_2 ——标准品溶液 A 中 (+)- 儿茶素的浓度 (mg/mL)；

V_3 ——供试品溶液的稀释体积 (mL)。

M_3 ——供试品的称样量 (mg)；

注 1: USP 葡萄籽低聚原花青素 (Grape Seeds Oligomeric Proanthocyanidins) 对照品谱图及各有效成分出峰顺序参见附录 B 中的 B.1。

附录 B
(资料性附录)
特征图谱及参考保留时间 / 比移值

B.1 USP 葡萄籽低聚原花青素 (Grape Seeds Oligomeric Proanthocyanidins) 对照品液相色谱图

USP 葡萄籽低聚原花青素 (Grape Seeds Oligomeric Proanthocyanidins) 对照品 HPLC 图谱见图 B.1。

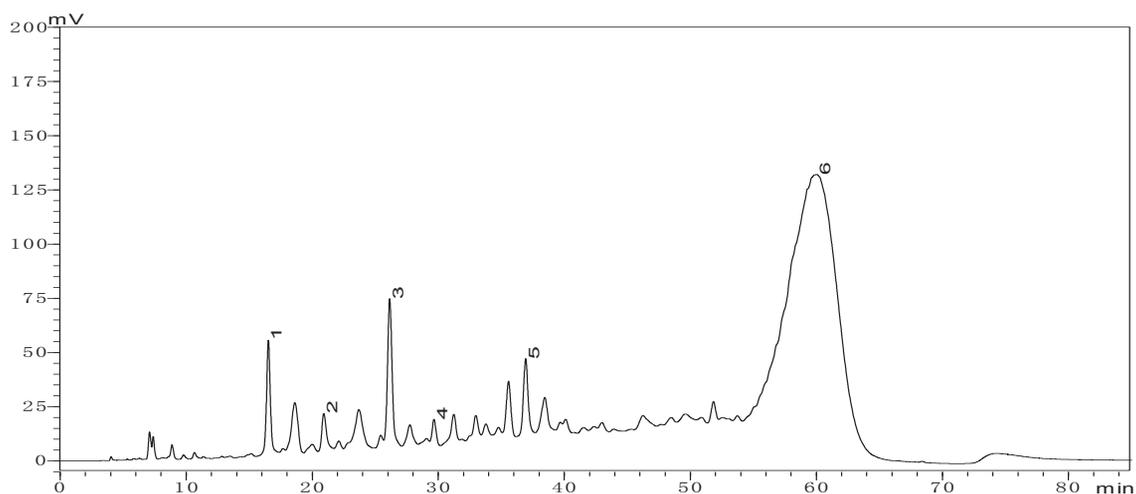


图 B.1 USP 葡萄籽低聚原花青素 (Grape Seeds Oligomeric Proanthocyanidins) 对照品 HPLC 图
1 原花青素 B1; 2 (+)- 儿茶素; 3 原花青素 B2; 4 (-)- 表儿茶素;
5 (-)- 表儿茶素 3'-O- 没食子酸; 6 原花青素低聚体混合

非商业性声明：上述所采用的设备、色谱柱、标准对照品等，涉及具体商业品牌、型号的，仅供参考，无商业目的，鼓励标准使用者尝试使用不同品牌、型号的设备、色谱柱及标准品。

中国医药保健品进出口商会
团 体 标 准

植物提取物 葡萄籽提取物
(葡萄籽低聚原花青素)

T/CCCMHPIE 1.19-2016

*

北京市东城区朝阳门内大街南竹竿胡同 6 号
北京 INN 大厦 3 号楼 11-12 层 (100010)
网址: www.cccmhpie.org.cn