

SW

国 际 商 务 标 准

SW/T 1—2015

植物提取物 葡萄籽提取物

(葡萄籽低聚原花青素)

Grape seeds oligomeric proanthocyanidins



2015-11-20 发布

2015-12-1 实施

中国医药保健品进出口商会 发布

前 言

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。

本标准由中国医药保健品进出口商会国际商务标准化技术委员会负责解释。

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。

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



国际商务标准

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、检验规则和产品标志、包装、运输、贮存要求。

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

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

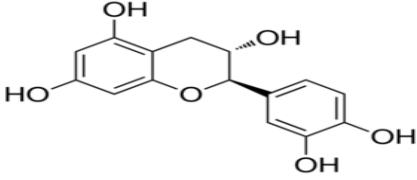
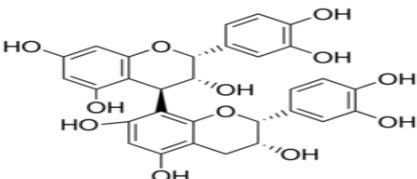
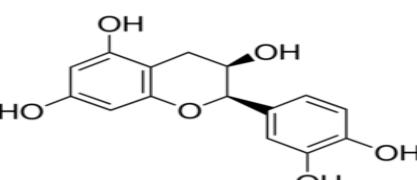
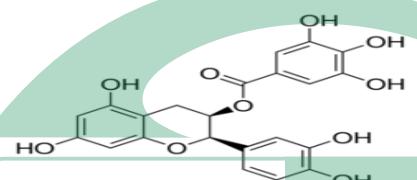
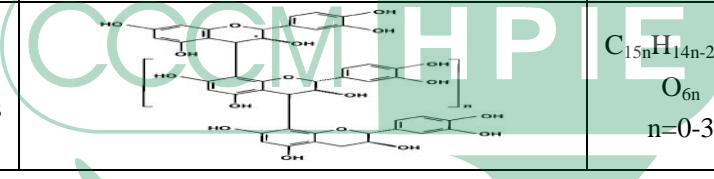
- GB4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验菌落总数测定
- GB 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验
- GB 4789.15 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数
- GB 4789.38 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠埃希氏菌计数
- GB 9685 食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准
- 中华人民共和国药典（2010年版）一部 附录IX H 水分测定法 第一法
- 中华人民共和国药典（2010年版）一部 附录IX K 灰分测定法
- 中华人民共和国药典（2010年版）一部 附录IX E 重金属检查法
- 中华人民共和国药典（2010年版）二部 附录VIII P 残留溶剂测定法
- 保健食品检验与评价技术规范（2003年版）

3 名称、结构式、分子式和相对分子质量

葡萄籽提取物（葡萄籽低聚原花青素）由一系列有效成分组成，其名称、结构式、分子式、相对分子质量见表1。

表 1 葡萄籽提取物（葡萄籽低聚原花青素）组分名称、结构式、分子式及相对分子质量

组分名称	结构式	分子式	相对分子质量
没食子酸 (Gallic acid)		C ₇ H ₆ O ₅	170.12
原花青素 B1 (Procyanidin B1)		C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	578.52

(+)-儿茶素 ((+)-Catechin)		C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.27
原花青素 B2 (Procyanidin B2)		C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	578.52
(-)-表儿茶素 ((-)-Epicatechin)		C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.27
(-)-表儿茶素 3-O-没食子酸酯 ((-)-Epicatechin-3-O-gallate)		C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	442.37
低聚原花青素 (Oligomeric proanthocyanidins ; n=0-3)		C _{15n} H _{14n-2(n+1)} O _{6n} n=0-3	290.27n-2(n+1) n=0-3

4 技术要求

4.1 工艺要求

4.1.1 植物原料

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

4.1.2 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。

4.2 产品要求

4.2.1 感官要求：应符合表 2 规定。

表 2 感官要求

项 目	要 求	检 查 方 法
色 泽	浅棕黄色至棕褐色粉末	启开试样后，立即嗅其气和尝其味；
气 味	气微，味微而苦涩	另取试样适量置于白色瓷盘中观察其

外 观	均匀, 无可见异物的粉末	色泽、外观, 并检查有无异物
-----	--------------	----------------

4.2.2 理化指标: 应符合表 3 规定。

表 3 理化指标

项 目	指 标		检 验 方 法
鉴别	应符合规定		附录A中A.3
水分, %	≤6.0		中华人民共和国药典2010版 一部附录IX H
灰分, %	≤2.0		中华人民共和国药典2010版 一部附录IX K
儿茶素和表儿茶素, %	≤19.0		附录A中A.3
原花青素值	≥95.0		附录A中A.1
多酚含量, %	≥70.0		附录A中A.2
残留溶剂	甲醇, mg/kg 乙醇, mg/kg	≤50 ≤1000	中华人民共和国药典2010版 二部附录VIII P
重金属(以Pb计), mg/kg		≤20	中华人民共和国药典2010版 一部附录IX E

4.2.3 微生物指标要求: 应符合表 4 的规定

表 4 微生物指标

项 目	指 标	检 验 方 法
细菌总数, cfu/g	<1000	GB 4789.2
霉菌及酵母菌数, cfu/g	<100	GB 4789.15
大肠埃希氏菌	不得检出	GB 4789.38
沙门氏菌	不得检出	GB4789.4

4.2.4 其他污染物

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

5 检验方法

5.1 感官检验:

按表 2 中规定进行检验。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。

5.2 理化检验

5.2.1 鉴别

按附录A.3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。

5.2.2 水分

按中华人民共和国药典2010版一部附录IX H 水分测定法第一法进行测定。

5.2.3 灰分

按中华人民共和国药典2010版一部附录IX K 灰分测定法进行测定。

5.2.4 儿茶素和表儿茶素限量

按附录A.3规定的检测方法进行测定。

5.2.5 原花青素值

按附录A.1规定的检测方法进行测定。

5.2.6 多酚含量

按附录A.2规定的检测方法进行测定。

5.2.7 残留溶剂

按中华人民共和国药典2010版二部附录VIII P 残留溶剂测定法进行测定。

5.2.8 重金属

按中华人民共和国药典2010版一部附录IX E 重金属检查法进行测定。

5.3 卫生检验:

5.3.1 菌落总数

按GB4789.2进行测定。

5.3.2 霉菌和酵母菌

按GB4789.15进行测定。

5.3.3 大肠埃希氏菌

按GB4789.38进行测定。

5.3.4 沙门氏菌

按GB4789.4进行测定。

6 包装、标签、运输、贮存

6.1 包装

包装材料应符合食品卫生要求。使用前应对所有包装材料进行严格的卫生检查。桶装后，应加封封口签。

6.2 标签

6.2.1 包装标志上应标注：葡萄籽提取物（葡萄籽低聚原花青素）、批号、规格、净重、毛重、产地、生

产日期、保质期、贮存条件等内容。

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

6.3.1 运输工具应清洁、卫生，不得与有毒、有害、有腐蚀性或有异味的物品混装混运。

6.3.2 搬运时应轻装轻卸，运输时防止挤压、曝晒、雨淋。

6.4 贮存

6.4.1 产品不得与有毒、有害、有腐蚀性或有异味的物品混合存放。

6.4.2 产品应贮存于阴凉、干燥的仓库中。

6.5 保质期

在符合规定的贮运条件、包装完整、未开封的情况下，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GB/T 6682规定的三级水。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±2℃）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（2~10℃）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:

式中：

w_1 ——供试品中原花青素值；

A_1 ——供试品溶液在吸收波长546nm下的吸光度；

m_1 ——供试品的称样量，单位为毫克（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 硫酸钾，分析纯

A 3.3.5 溴酸钾，分析纯。

A 3.3.6 溶化钼 分析纯

A 3.3.7 磷酸 分析纯

A.3.3.8 盐酸 分析纯

A. S. S. 血量

A.3.3.10 碳酸钠溶液：称取20.0克无水碳酸钠，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。

△ 3.3.1.1 滤液定量取溴酸钾3.0g与溴化钾15克，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 3.3.12 标准品：没食子酸，CAS号149-91-5，纯度≥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：

$$w_2 = \frac{C_1 \times V_1 \times 50}{m_2} \times 100\% \quad \text{(A.2)}$$

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，单位为mg/mL；

V₁——供试品溶液的稀释体积，单位为毫升（mL）；

m₂——供试品的称样量，单位为毫克（mg）；

A. 3 儿茶素和表儿茶素限量的测定方法

A. 3. 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. 3. 2 仪器和用具

A. 3. 2. 1 分析天平，感量为0.01mg。

A. 3. 2. 2 超声波清洗仪。

A. 3. 2. 3 高效液相色谱仪（附紫外检测器）。

A. 3. 2. 4 0.45μm微孔滤膜，有机相。

A. 3. 3 试剂和溶液

- A. 3. 3. 1 乙腈，色谱纯。
- A. 3. 3. 2 磷酸，分析纯。
- A. 3. 3. 3 纯水，GB/T 6682 规定的二级水。
- A. 3. 3. 4 溶液 A：色谱纯乙腈，过 0.45 μm 微孔滤膜。
- A. 3. 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. 3. 3. 6 溶解液：溶液 A-溶液 (1:9, V/V)
- A. 3. 3. 7 (+)-儿茶素标准品：CAS号154-23-4，纯度≥97.0%。
- A. 3. 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. 3. 4 色谱条件及系统适用性

A. 3. 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 A1。

表 A1 梯度条件

时间 (min)	0	45	65	66	85
A 比例 (%)	10	20	60	10	10
B 比例 (%)	90	80	40	90	90

c) 检测波长：278nm。

d) 流速：0.7mL/min。

e) 温度：30°C

A. 3. 4. 2 系统适用性

A. 3. 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. 3. 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. 3. 5 操作方法

A. 3. 5. 1 标准品溶液的制备

A. 3. 5. 1. 1 标准溶液 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. 3. 5. 1. 2 标准溶液 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 5 mg/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. 3. 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 5 mg/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. 3. 5. 3 测定方法

A. 3. 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. 3. 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. 3. 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：

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, 单位为毫克每毫升 (mg/mL);

M_3 ——供试品质量, 单位为毫克 (mg);

V_2 ——供试品溶液的稀释体积, 单位为毫升 (mL);

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)

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

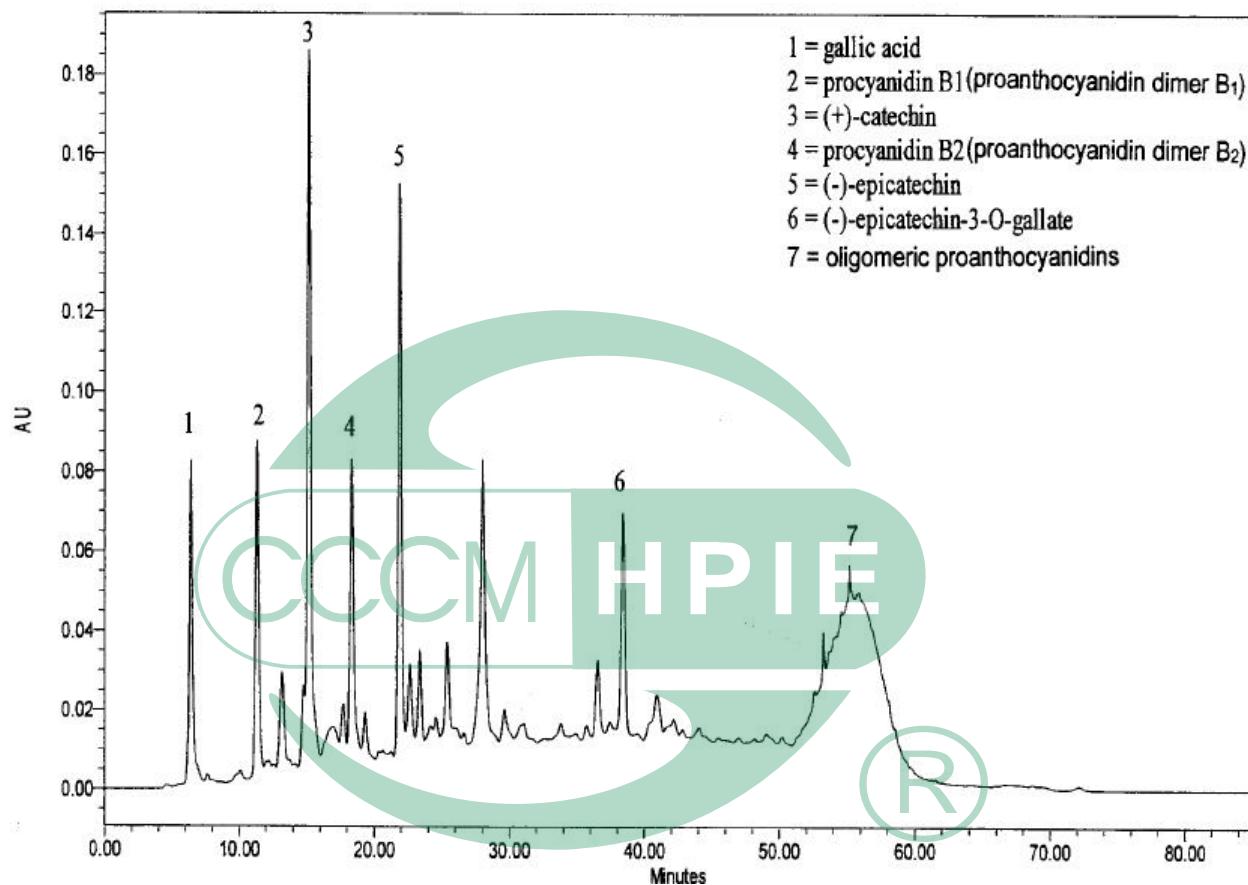


图 B.1 USP 葡萄籽低聚原花青素 (Grape Seeds Oligomeric Proanthocyanidins) 对照品液相色谱图

1 没食子酸; 2 原花青素 B1; 3 (+)-儿茶素; 4 原花青素 B2; 5 (-)-表儿茶素;
6 (-)-表儿茶素 3'-O-没食子酸; 7 混合低聚原花青素

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。