附2

国家市场监督管理总局 保健食品产品技术要求

国食健注G20160284

伊能[®]启元胶囊

【原料】

【辅料】

【生产工艺】 本品经粉碎、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	内容物呈褐色
滋味、气味	具本品特有的滋味、气味，无异味
性状	硬胶囊，外观完整光洁、无粘结、无变形、无破裂、无渗漏；内容物为粉末
杂质	无肉眼可见外来杂质

【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
水分，%	≤9.0	GB 5009.3
灰分，%	≤9.0	GB 5009.4
崩解时限，min	≤60	《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
六六六，mg/kg	≤0.1	GB/T 5009.19

滴滴涕, mg/kg	≤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/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
沙门氏菌	≤0/25g	GB 4789.4
金黄色葡萄球菌	≤0/25g	GB 4789.10

【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
1-脱氧野尻霉素, mg/100g	≥420	1 1-脱氧野尻霉素的测定
总皂苷（以人参皂苷Re计）, g/100g	≥1.0	《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版）中“保健食品总皂苷的测定”
黄芪甲苷, mg/100g	≥23	2 黄芪甲苷的测定

1 1-脱氧野尻霉素的测定

1.1 仪器

- 1.1.1 高效液相色谱仪：美国安捷伦公司1260型
- 1.1.2 PH计：PHS-3C
- 1.1.3 电子分析天平：BP211D
- 1.1.4 数控超声波清洗仪：KQ-250DB
- 1.1.5 电子天平：METTLER200

1.2 试剂

除乙腈为色谱纯外，其余试剂均为分析纯。

- 1.2.1 1-脱氧野尻霉素对照品
- 1.2.2 芴甲氧羰酰氯Fmoc-CL
- 1.2.3 乙腈
- 1.2.4 甘氨酸
- 1.2.5 甲醇
- 1.2.6 硼酸
- 1.2.7 醋酸
- 1.2.8 氯化钾
- 1.2.9 水

1.3 色谱条件

- 1.3.1 色谱柱：十八烷基硅烷键合硅胶，4.6×150mm，5μm。
- 1.3.2 流动相：乙腈-0.2%的醋酸=32:68
- 1.3.3 流速：1.0mL/min
- 1.3.4 柱温：30℃
- 1.3.5 检测波长：265nm

- 1.4 对照品溶液制备：取1-脱氧野尻霉素（DNJ）标准品适量，精密称定，置于25mL容量瓶中，加80%甲

醇制成1mL含0.20mg,即为储备液。

1.5 样品溶液的制备:精密称定样品0.6g于25mL容量瓶中,加80%甲醇超声处理(功率100W,频率40kHz)10min,取出,放冷,定容,即得。

1.6 1-脱氧野尻霉素的衍生化:分别各取对照品1mL和样品溶液0.5mL于25mL容量瓶中,加0.2mol/L的硼酸-氯化钾缓冲液(PH=8.5)1mL和20mmol/L的茚甲氧羰酰氯的乙腈溶液4mL,摇匀,超声处理(功率100W,频率40kHz)20min,立即加入0.05mol/L甘氨酸2mL,摇匀。用0.1%醋酸溶液定容至刻度,摇匀,滤过取续滤液,即得。

1.7 标准曲线的绘制:取标准储备液,配置成浓度为0、20、40、80、120、160、200 μ g/mL的标准使用液,分别取10 μ L注入高效液相色谱仪中,以浓度及峰面积绘制标准曲线。

1.8 样品测定:分别称取样品溶液10 μ L,注入高效液相色谱仪中,记录相应的峰面积,根据标准曲线,并由样品液的峰面积计算出样品中被测物的含量。

1.9 结果计算

$$X = \frac{c \times n \times V}{m} \times 10^{-4}$$

式中:

X—样品中1-脱氧野尻霉素含量, g/100g;

V—样品处理的体积, mL;

n—测试样品稀释倍数;

m—样品质量, g;

c—测试液中1-脱氧野尻霉素的浓度, μ g/mL。

2 黄芪甲苷的测定

2.1 仪器

2.1.1 高效液相色谱仪:附紫外检测器

2.1.2 水浴锅

2.1.3 带冷凝管的提取回流装置(150mL)

2.1.4 C18预处理小柱

2.2 试剂

2.2.1 黄芪甲苷对照品溶液:准确称取黄芪甲苷对照品(购自中国食品药品检定研究院,含量测定用)8.0mg,用甲醇溶解并定容于20mL容量瓶中,再用甲醇稀释成80、160、240、320、400 μ g/mL。

2.2.2 甲醇:分析纯、色谱纯

2.2.3 乙腈:色谱纯

2.2.4 乙醚:分析纯

2.2.5 正丁醇:分析纯

2.2.6 氨水:分析纯

2.2.7 氨试液:浓氨水400mL加水至1000mL,按《中华人民共和国药典》配制。

2.2.8 水:双蒸水。

2.3 样品处理:取20粒以上的样品研磨混匀,称取一定量(准确至0.001g,约5g)置冷凝回流装置中,用甲醇50mL $\times$ 3h、30mL $\times$ 2h、20mL $\times$ 1h提取3次,合并甲醇液并回收甲醇至干,残渣加水20mL微热使溶解,先用乙醚洗涤2次,每次20mL,弃醚液,再用水饱和的正丁醇振摇提取5次,每次25mL,合并正丁醇提取液,用氨试液洗涤3次,每次40mL,弃氨液,将正丁醇液回收溶剂至干,残渣加水5mL使溶解,通过预处理好的C18小柱(先用5mL甲醇、5mL水预洗),以水3mL洗脱,弃去水液,再用80%甲醇10mL洗脱,收集洗脱液蒸干,用甲醇溶解,并转移至2~5mL容量瓶中(根据含量而定),用甲醇稀释至刻度,摇匀,此为样品溶液。

2.4 色谱条件

2.4.1 色谱柱:Kromasil C18, 5 μ m, 250 $\times$ 4.6mm。

2.4.2 流动相:乙腈-水=1:2(v/v)

2.4.3 流速:1.0mL/min

2.4.4 检测波长:200nm

2.4.5 进样量:10~20 μ L

2.5 样品测定：分别称取样品溶液和各对照品溶液10 μ L，注入高效液相色谱仪中，记录相应的峰面积，以对照品溶液的浓度和峰面积值作图，并由样品溶液的峰面积计算出样品中被测物的含量。

2.6 结果计算

$$X = \frac{c \times V}{m \times 1000} \times 100$$

式中：

X—样品中黄芪甲苷的含量，mg/100g；

c—从标准曲线查得样液中黄芪甲苷的质量， μ g；

V—样品定容体积，mL；

M—样品质量，g；

1000— μ g换算成mg的换算系数。

【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】