

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G20060541

康王牌桑叶绞股蓝红曲胶囊

【原料】 桑叶、绞股蓝、红曲、三七、蜂胶乙醇提取物、葡萄糖酸锌、吡啶甲酸铬

【辅料】 微晶纤维素

【生产工艺】 本品经提取（桑叶加水浸泡3h，用15、10、10倍量水煎煮3次，每次1h；绞股蓝加水浸泡3h，用10、8、8倍量水煎煮3次，每次1h）、浓缩、减压干燥（桑叶，0.08Mpa，60~90℃；绞股蓝，0.06Mpa，60~90℃）、粉碎、辐照灭菌（⁶⁰Co，4~5kGy）、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】 口服固体药用高密度聚乙烯瓶应符合YBB00122002的规定。

【感官要求】 应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
色泽	内容物呈棕褐色
滋味、气味	具本品特有的滋味、气味，无异味
性状	硬胶囊，完整光洁，内容物为颗粒或粉末
杂质	无正常视力可见外来杂质

【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, g/100g	≤6	GB 5009.3
灰分, g/100g	≤10	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 5009.11
总汞(以Hg计), mg/kg	≤0.3	GB 5009.17

六六六（总BHC），mg/kg	≤0.2	GB/T 5009.19
滴滴涕（总DDT），mg/kg	≤0.2	GB/T 5009.19
黄曲霉毒素B ₁ ，μg/kg	≤5	GB 5009.22
桔青霉素，μg/kg	≤50	GB 5009.222

【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	≤0/25g	GB 4789.10
沙门氏菌	≤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
总皂苷（以人参皂苷Re计），g/100g	≥2.15	1 总皂苷的测定
总黄酮（以芦丁计），g/100g	≥0.80	2 总黄酮的测定
吡啶甲酸铬，mg/100g	25.6~44.5	3 吡啶甲酸铬的测定
洛伐他汀，mg/100g	92.0~220.0	4 洛伐他汀的测定
锌（以Zn计），mg/100g	170.9~284.9	GB 5009.14

1 总皂苷的测定（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版））

1.1 试剂

1.1.1 Amberlite-XAD-2大孔树脂，Sigma化学公司、U. S. A.。

1.1.2 正丁醇：分析纯。

1.1.3 乙醇：分析纯。

1.1.4 中性氧化铝：层析用，100~200目。

1.1.5 人参皂苷Re：购自中国食品药品检定研究院。

1.1.6 香草醛溶液：称取5g香草醛，加冰乙酸溶解并定容至100mL。

1.1.7 高氯酸：分析纯

1.1.8 冰乙酸：分析纯

1.1.9 人参皂苷Re标准溶液：精确称取人参皂苷Re标准品0.020g，用甲醇溶解并定容至10.0mL，即每毫升含人参皂苷Re2.0mg。

1.2 仪器

1.2.1 比色计

1.2.2 层析柱

1.3 实验步骤

1.3.1 试样处理

1.3.1.1 固体试样：称取1.000g左右的试样（根据试样含人参量定），置于100mL容量瓶中，加少量水，超声30min，再用水定容至100mL，摇匀，放置，吸取上清液1.0mL进行柱层析。

1.3.1.2 液体试样：含乙醇的补酒类保健食品，吸取1.0mL试样放水浴挥干，用水浴溶解残渣，用此液进行柱层析。

非乙醇类的液体试样：吸取1.0mL试样（假如浓度高、或颜色深，需稀释一定体积后再取1.0mL）进行柱层析。

1.3.2 柱层析：用10mL注射器作层析管，内装3cmAmberlite-XAD-2大孔树脂，上加1cm中性氧化铝。先用25mL70%乙醇洗柱，弃去洗脱液，再用25mL水洗柱，弃去洗脱液，精确加入1.0mL已处理好的试样溶液（见1.3.1），用25mL水洗柱，弃去洗脱液，用25mL70%乙醇洗脱人参皂苷，收集洗脱液于蒸发皿中，置于60℃水浴挥干。以此作显色用。

1.3.3 显色：在上述已挥干的蒸发皿中准确加入0.2mL5%香草醛冰乙酸溶液，转动蒸发皿，使残渣都溶解，再加0.8mL高氯酸，混匀后移入5mL带塞刻度离心管中，60℃水浴上加热10min，取出，冰浴冷却后，准确加入冰乙酸5.0mL，摇匀后，以1cm比色池于560nm波长处与标准管一起进行比色测定。

1.3.4 标准管：吸取人参皂苷Re标准溶液（2.0mg/mL）100μL放蒸发皿中，放在水浴挥干（低于60℃），或热风吹干（勿使过热），以下操作从“1.3.2柱层析…”起，与试样相同。测定吸光度值。

1.4 计算：

$$X = \frac{A_1}{A_2} \times C \times \frac{V}{m} \times \frac{100}{1000} \times \frac{1}{1000}$$

式中：

X—试样中总皂苷含量（以人参皂苷Re计），g/100g；

A₁—被测液的吸光度值；

A₂—标准液的吸光度值；

C—标准管人参皂苷Re的量，μg；

V—试样稀释体积，mL；

m—试样质量，g。

计算结果保留二位有效数字。

2 总黄酮的测定（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版））

2.1 试剂

2.1.1 聚酰胺粉

2.1.2 芦丁标准溶液：称取5.0mg芦丁，加甲醇溶解并定容至100mL，即得50μg/mL。

2.1.3 乙醇：分析纯。

2.1.4 甲醇：分析纯。

2.2 分析步骤

2.2.1 试样处理：称取一定量的试样，加乙醇定容至25mL，摇匀后，超声提取20min，放置，吸取上清液1.0mL，于蒸发皿中，加1g聚酰胺粉吸附，于水浴上挥去乙醇，然后转入层析柱。先用20mL苯洗，苯液弃去，然后用甲醇洗脱黄酮，定容至25mL。此液于波长360nm测定吸收值。同时以芦丁为标准品，测定标准曲线，求回归方程，计算试样中总黄酮含量。

2.2.2 芦丁标准曲线：吸取芦丁标准溶液：0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL于10mL比色管中，加甲醇至刻度，摇匀，于波长360nm比色。求回归方程，计算试样中总黄酮含量。

2.3 计算和结果表示：

$$X = \frac{A \times V_2 \times 100}{V_1 \times M \times 1000}$$

式中：

X—试样中总黄酮的含量，mg/100g；

A—由标准曲线算得被测液中黄酮量，μg；

M—试样质量，g；

V₁—测定用试样体积，mL；

V₂—试样定容总体积，mL。

计算结果保留二位有效数字。

3 吡啶甲酸铬的测定（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版））

3.1 范围

本方法规定了保健食品中吡啶甲酸铬含量的测定方法。

本方法适用于吡啶甲酸铬作为功效成分添加于片剂、胶囊等试样类型中含量的测定。

本方法的最低检出量10.0mg/kg。

本方法的最佳线性范围：2.00~100μg/mL。

3.2 原理：将粉碎的胶囊和片剂试样使用甲醇:水=1:1进行提取和稀释，根据高压液相色谱紫外检测器外标法定性定量检测。

3.3 试剂

3.3.1 甲醇：优级纯。

3.3.2 磷酸氢二钾、磷酸二氢钾：分析纯。

3.3.3 吡啶甲酸铬标准溶液：准确称量吡啶甲酸铬标准品0.0100g，加入甲醇:水=1:1并定容至100.0mL，如有少量残渣，可使用超声波加速溶解。此溶液每mL含100μg吡啶甲酸铬。

3.4 仪器设备

3.4.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器（UV）。

3.4.2 超声波清洗器。

3.4.3 离心机。

3.5 分析步骤

3.5.1 试样处理：取20粒片剂或胶囊试样进行粉碎或混匀，准确称取一定量试样于刻度试管中，加入甲醇:水=1:1并定容至20.0mL，超声提取5min后以3000rpm/min离心3min。经0.45μm滤膜过滤后，备用。

3.5.2 液相色谱参考条件

3.5.2.1 色谱柱：C₁₈柱，4.6×250mm。

3.5.2.2 柱温：室温。

3.5.2.3 紫外检测器：检测波长254nm。

3.5.2.4 流动相：0.125mol/L磷酸盐缓冲溶液:乙腈=425:75。

3.5.2.5 流速：0.5mL/min。

3.5.2.6 进样量：10μL。

3.5.2.7 色谱分析：量取10μL标准溶液及试样溶液注入色谱仪中，以保留时间定性，以试样峰高或峰面积与标准比较定量。3.5.3 标准曲线制备 配制浓度为0.0、2.00、5.00、10.0、50.0、100μg/mL吡啶甲酸铬标准溶液，在给定的仪器条件下进行液相色谱分析，以峰高或峰面积对浓度作标准曲线。

3.5.4 分析结果表示

3.5.4.1 计算
$$X = \frac{h_1 \times C \times V}{h_2 \times m \times 1000}$$

式中：

X—试样中吡啶甲酸铬的含量，mg/g；

h₁—试样峰高或峰面积；

C—标准溶液浓度，μg/mL；

V—试样定容体积，mL；

h₂—标准溶液峰高或峰面积；

m—试样量，g。

3.5.4.2 结果表示：检测结果保留三位有效数字。3.6 技术参数

3.6.1 准确度：方法的回收率在91.5%~98.4%之间

3.6.2 允许差：平行样测定相对误差≤±5%。

4 洛伐他汀的测定（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版））

4.1 范围

本方法规定了保健食品中洛伐他汀含量的测定方法。

本方法适用于洛伐他汀作为功效成分添加于片剂、胶囊以及红曲发酵原料等试样类型中含量的测定。

本方法的最低检出量2.0mg/kg。

本方法的最佳线性范围2.00~300μg/mL。

4.2 原理：将酸性介质中的试样使用三氯甲烷进行提取，挥干提取溶剂，以流动相定容，根据高效液相色谱紫外检测器在238nm处的响应进行定性定量。

4.3 试剂

4.3.1 甲醇：色谱纯。

4.3.2 三氯甲烷：分析纯。

4.3.3 磷酸：分析纯。

4.3.4 洛伐他汀标准储备液：准确称量洛伐他汀标准品0.0400g，加入检测用流动相并定容至100mL。此溶液每1mL含0.4mg洛伐他汀。

4.3.5 洛伐他汀标准使用液：将洛伐他汀标准储备溶液用流动相稀释10倍。此溶液每1mL含40μg洛伐他汀。

4.4 仪器设备

4.4.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器（UV）。

4.4.2 超声波清洗器。

4.4.3 涡旋混匀器。

4.4.4 离心机。

4.4.5 真空泵。

4.5 分析步骤

4.5.1 试样处理：将片剂、胶囊或红曲发酵产物试样粉碎并混合均匀，根据试样中洛伐他汀含量准确称取一定量试样于50mL试管中，加入10.0mL pH=3磷酸水溶液。超声提取10min后再加入10.0mL三氯甲烷，置于涡旋混匀器3min。静置后去掉上层水相，将三氯甲烷层以3000rpm/min离心3min。准确吸取上清液1.0mL至5mL试管中，将试管置于50℃左右水浴中使用真空泵减压干燥至挥去全部溶剂。向试管中加入流动相并定容至5.0mL，彻底混匀，经0.45μm滤膜过滤后待进样。

4.5.2 液相色谱参考条件

4.5.2.1 色谱柱：C₁₈柱，4.6×250mm。

4.5.2.2 柱温：室温。

4.5.2.3 紫外检测器：检测波长238nm。

4.5.2.4 流动相：甲醇：水：磷酸=385：115：0.14。

4.5.2.5 流速：1.0mL/min。

4.5.2.6 进样量：10μL。

4.5.2.7 色谱分析：量取10μL标准溶液系列及试样溶液注入色谱仪中，以保留时间定性，以试样峰高或峰面积与标准比较定量。4.5.3 标准曲线制备：配制浓度为2.0、10、50、100、300μg/mL洛伐他汀标准溶液，在给定的仪器条件下进行液相色谱分析，以峰高或峰面积对浓度作标准曲线。

4.5.4 分析结果表示

4.5.4.1 计算

$$X = \frac{h_1 \times c \times 50 \times 100}{h_2 \times m \times 1000}$$

式中：

X—试样中洛伐他汀的含量，g/100g；

h_1 —试样峰高或峰面积；

c —标准溶液浓度，mg/mL；

50—试样稀释倍数；

h_2 —标准溶液峰高或峰面积；

m —试样量，g。

4.5.4.2 结果表示：检测结果保留三位有效数字。

4.6 技术参数

4.6.1 准确度：方法的回收率在93.3%~108.4%之间。

4.6.2 允许差：平行样测定相对误差≤±5%。

【装量或重量差异指标/净含量及允许负偏差指标】

应符合《中华人民共和国药典》中“制剂通则”项下胶囊剂的规定。

- 桑叶：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 绞股蓝：应符合《湖南省中药材标准》“绞股蓝”项下规定。
- 三七：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 蜂胶乙醇提取物：应符合GB/T 24283《蜂胶》中“蜂胶乙醇提取物”的规定。
- 葡萄糖酸锌：应符合GB 8820《食品安全国家标准 食品添加剂 葡萄糖酸锌》的规定。
- 吡啶甲酸铬

项目	指标
来源	紫红曲霉的大米发酵产物
制法	经蒸制、湿热灭菌(121℃, 30min)、冷却、接种、培养(20~32℃, 14~20天)、烘干、混合、粉碎等主要工艺加工制成
感官要求	深红色粉状, 微有酸气
洛伐他汀, mg/kg	≥4.0
水分, %	≤7.0
灰分, %	≤3.0
铅(以Pb计), mg/kg	≤2.0
总砷(以As计), mg/kg	≤1.0
铜(以Cu计), mg/kg	≤10
黄曲霉毒素B ₁ , μg/kg	≤5
桔青霉素, μg/kg	≤50
菌落总数, CFU/g	≤30000
大肠菌群, MPN/g	≤0.92
霉菌和酵母, CFU/g	≤50
沙门氏菌	≤0/25g
金黄色葡萄球菌	≤0/25g

- 三七：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
- 蜂胶乙醇提取物：应符合GB/T 24283《蜂胶》中“蜂胶乙醇提取物”的规定。
- 葡萄糖酸锌：应符合GB 8820《食品安全国家标准 食品添加剂 葡萄糖酸锌》的规定。
- 吡啶甲酸铬

项目	指标
来源	2-氰基吡啶
制法	将2-氰基吡啶加入甲醇或乙醇中溶解后加入NaOH或KOH水溶液, 反应1h加水、控温后调pH至8~9, 在50~70℃滴加硫酸铬钾水溶液、搅拌、降温、抽滤、洗涤、干燥等主要工艺加工制成
感官要求	紫红色结晶性细小粉末, 流动性良好
干燥失重, %	≤4.0
含量[Cr(C ₆ H ₄ NO ₂) ₃ 干基计], %	≥80
六价铬	不得检出
氯化物(Cl), %	≤0.006
硫酸盐(SO ₄), %	≤0.2
铅(以Pb计), mg/kg	≤2.0
总砷(以As计), mg/kg	≤1.0
总汞(以Hg计), mg/kg	≤0.3
菌落总数, CFU/g	≤30000
大肠菌群, MPN/g	≤0.92

霉菌和酵母, CFU/g	≤50
沙门氏菌	≤0/25g
金黄色葡萄球菌	≤0/25g

8. 微晶纤维素: 应符合《中华人民共和国药典》的规定。
