

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G20080401

珍科牌核苷酸杜仲胶囊

【原料】 葛根、核苷酸、杜仲、L-赖氨酸盐酸盐

【辅料】 无

【生产工艺】 本品经粉碎、干燥灭菌（3.5~4h、80℃）、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】

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	内容物呈灰白色
滋味、气味	微苦、略有鲜味
性状	硬胶囊，色泽均匀，无异臭、变形等现象；内容物为粉末
杂质	无肉眼可见的外来杂质

【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，%	≤8.5	GB 5009.3
灰分，%	≤10.0	GB 5009.4
崩解时限，min	≤30	《中华人民共和国药典》
铅（以Pb计），mg/kg	≤1.5	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, mg/kg	≤0.2	GB/T 5009.19
滴滴涕, mg/kg	≤0.2	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
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
L-赖氨酸, g/100g	≥9.3	GB/T 5009.124
核苷酸, g/100g	≥27.1	1 核苷酸的测定
总皂苷（以人参皂苷Re计）, mg/100g	≥112	2 总皂苷的测定
总黄酮（以芦丁计）, mg/100g	≥42	3 总黄酮的测定

1 核苷酸的测定

1.1 原理：将样品溶解、去除蛋白后，使用氨基固相萃取柱对核苷酸进行净化富集，根据高效液相色谱紫外检测器在254nm处的影响进行定性定量。

1.2 试剂

1.2.1 甲醇：优级纯。

1.2.2 乙酸。

1.2.3 磷酸二氢钾。

1.2.4 磷酸氢二钾。

1.2.5 季铵盐固相萃取柱。

1.2.6 标准品来源纯度：胞嘧啶核苷、尿嘧啶核苷、腺嘌呤核苷、鸟嘌呤核苷、次黄嘌呤核苷。

1.3 仪器：高效液相色谱仪，附紫外检测器（UV）。

1.4 标准曲线的制备：分别配制浓度为1.0、2.0、5.0、10.0、16.0μg/mL的4种核苷酸标准溶液，在给定的仪器条件下进行液相色谱分析，以高峰或峰面积对浓度做标准曲线。

1.5 样品处理：准确称取10g样品于100mL容量瓶中，加入约50℃热水80mL，彻底混匀。当样品液达到室温后用水定容至刻度。准确吸取10mL样品溶液至100mL容量瓶中，加入0.5%乙醇5mL、水10mL，混匀后静置5min以沉淀蛋白。用水定容至刻度，混匀后过滤，弃去数毫升初滤液后收集约30mL滤液。将季铵盐固相萃取柱先用10mL甲醇、10mL水活化后，再将20mL样品滤液过滤，以1mL水清洗萃取柱，用0.25mol/L，pH=3.5磷酸二氢钾溶液洗脱出5mL滤液。全部过程需要控制流速1滴/秒。

1.6 结果计算

$$X = \frac{h_1 \times C \times K \times 5 \times 100}{\text{-----}}$$

$$h_2 \times m \times 1000$$

式中：

X—样品中核苷酸的含量，mg/100g；

h_1 —样品峰高或峰面积；

C—标准溶液浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；

K—稀释倍数；

h_1 —标准溶液峰高或峰面积；

m—样品称取量，g。

2 总皂苷的测定

2.1 原理：就是以有色化合物的显色反应为基础，通过测量有色物质溶液颜色深度来确定待测组分含量。

2.2 试剂

2.2.1 Amberlite-XAD-2大孔树脂。

2.2.2 正丁醇：分析纯。

2.2.3 乙醇：分析纯。

2.2.4 中性氧化铝：层析用，100-200目。

2.2.5 香草醛溶液。

2.2.6 乙醇：分析纯。

2.2.7 高氯酸：分析纯。

2.2.8 正丁醇：分析纯。

2.2.9 乙醇：分析纯。

2.2.10 冰乙酸：分析纯。

2.2.11 人参皂苷Re标准品：购自中国食品药品检定研究院。

2.3 仪器

2.3.1 比色计。

2.3.2 层析柱。

2.4 标准曲线的制备：吸取人参皂苷Re标准溶液（2.0mg/mL）100 μL 放蒸发皿中，放在水浴挥干（低于60 $^{\circ}\text{C}$ ），或热风吹干（勿使过热），用10mL注射器作层析管，内装3cm Amberlite-XAD-2大孔树脂，上加1cm中性氧化铝。先用25mL 70%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已处理好的样品溶液，用25mL水洗柱，弃去洗脱液，用25mL 70%乙醇洗脱人参皂苷，收集洗脱液于蒸发皿中，置于60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴挥干。以此作显色用。在上述已挥干的蒸发皿中准确加入0.2mL 5%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比色管中，塞紧盖子于60 $^{\circ}\text{C}$ 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。测定吸光度值。

2.5 样品处理：称取1.000g左右的样品（根据样品含人参量定），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。用10mL注射器作层析管，内装3cm Amberlite-XAD-2大孔树脂，上加1cm中性氧化铝。先用25mL 70%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已处理好的样品溶液，用25mL水洗柱，弃去洗脱液，用25mL 70%乙醇洗脱人参皂苷，收集洗脱液于蒸发皿中，置于60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴挥干。以此作显色用。在上述已挥干的蒸发皿中准确加入0.2mL 5%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比色管中，塞紧盖子于60 $^{\circ}\text{C}$ 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，样液备用。

2.6 样品测定：样液以1cm比色池于560nm波长处与标准管一起进行比色测定。

2.7 结果计算

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

式中：

X—样品中总皂苷含量（以人参皂苷Re计），g/100g；

A_1 —被测液的吸光度值；

A_2 —标准液的吸光度值；

C—标准管人参皂甙Re的量, μg ;

V—样品稀释体积, mL;

m—样品质量, g。

3 总黄酮的测定

3.1 原理: 以高效液相色谱法分离, 在紫外检测器360nm条件下, 以保留时间定性、峰面积定量。

3.2 试剂

3.2.1 聚酰胺粉。

3.2.2 乙醇: 分析纯。

3.2.3 甲醇: 分析纯。

3.2.4 芦丁标准品。

3.3 仪器

3.3.1 超声波清洗仪。

3.3.2 紫外可见分光光度计。

3.3.3 分析天平: 感量分别为0.0001g和0.00001g。

3.3.4 水浴锅。

3.3.5 高效液相色谱仪。

3.4 标准曲线的制备: 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360nm波长比色。求回归方程。

3.5 样品处理: 称取一定量的样品, 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。样液备用。

3.6 样品测定: 样液于360nm波长测定吸光度值。同时以回归方程, 计算样品中总黄酮含量。

3.7 结果计算

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

式中:

X—样品中总黄酮的含量(以芦丁计), mg/100g;

A—由标准曲线算得被测液中黄酮量, μg ;

M—样品质量, g;

V_1 —测定用样品体积, mL;

V_2 —样品定容总体积, mL。

【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。

【原辅料质量要求】

1. 核苷酸

核苷酸质量要求

项 目	指 标
来源	核酸
制法	经酶解(核酸酶、pH6.5、70°C、2h)、离子交换、浓缩、NMP酒精(酸)结晶、过滤、洗涤、微波干燥、粉碎分装等主要工艺制成。
核苷酸含量, %	98.0
pH值	6.0~8.0
水分, g/100g	≤ 20.0
铅, mg/kg	≤ 2.0
总砷, mg/kg	≤ 2.0
总汞, mg/kg	≤ 0.03
菌落总数, CFU/g	≤ 1000
大肠菌群, MPN/100g	≤ 10

霉菌, CFU/g	≤10
酵母, CFU/g	≤10
致病菌 (沙门氏菌、金黄色葡萄球菌), CFU/g	≤10

2. 葛根: 应符合《中华人民共和国药典》的规定。

3. 杜仲: 应符合《中华人民共和国药典》的规定。

4. L-赖氨酸盐酸盐: 应符合GB 1903.1《食品安全国家标准 食品营养强化剂 L-盐酸赖氨酸》的规定。
