

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20210217

贝复[®]牛磺酸菊花叶黄素片

【原料】 叶黄素粉(叶黄素、维生素E、蔗糖、食品用改性淀粉、玉米淀粉)、葡萄籽提取物、牛磺酸、菊花提取物

【辅料】 微晶纤维素、羧甲基淀粉钠、交联聚维酮、薄膜包衣预混剂(二氧化钛、亮蓝铝色淀、靛蓝铝色淀、滑石粉、聚乙二醇6000、羟丙甲基纤维素)、硬脂酸镁

【生产工艺】 本品经粉碎、过筛、混合、制粒、干燥、压片、包衣、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 | 包衣呈蓝色，片芯呈浅红棕色至红棕色 |
| 滋味、气味 | 具本品特有的滋味、气味，无异味 |
| 性状 | 薄膜衣片，完整光洁，无黏连、破损 |
| 杂质 | 无正常视力可见外来异物 |

【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 |
|----------------|------|-------------|
| 灰分，% | ≤8.0 | GB 5009.4 |
| 崩解时限，min | ≤60 | 《中华人民共和国药典》 |
| 原花青素，% | ≥2.4 | 1 原花青素的测定 |
| 亮蓝，g/kg | ≤0.1 | GB 5009.35 |
| 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, mg/kg | ≤0.2 | GB/T 5009.19 |
| 滴滴涕, mg/kg | ≤0.2 | GB/T 5009.19 |

1 原花青素的测定（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版））

1.1 范围

本方法规定了保健食品中原花青素的测定方法。

本方法适用于保健食品中原花青素的含量测定。

本方法最低检出量为3μg，最低检出浓度为3μg/mL。

本方法最佳线性范围：3~150μg/mL。

1.2 原理：原花青素是含有儿茶素和表儿茶素单元的聚合物。原花青素本身无色，但经过用热酸处理后，可以生成深红色的花青素离子。本法用分光光度法测定原花青素在水解过程中生成的花青素离子。计算试样中原花青素含量。

1.3 试剂

1.3.1 甲醇：分析纯。

1.3.2 正丁醇：分析纯。

1.3.3 盐酸：分析纯。

1.3.4 硫酸铁铵： $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 溶液：用浓度为2mol/L盐酸配成2%（w/v）的溶液。

1.3.5 原花青素标准品：葡萄籽提取物，纯度95%。

1.4 仪器

1.4.1 分光光度计。

1.4.2 回流装置。

1.5 分析步骤

1.5.1 试样的制备

1.5.1.1 片剂：取20片试样，研磨成粉状。

1.5.1.2 胶囊：挤出20粒胶囊内容物，研磨或搅拌均匀，如内容物含油，应将内容物尽可能挤出。

1.5.1.3 口服液：摇匀后取样。

1.5.2 提取

1.5.2.1 粉状试样：称取50~100mg试样，置于50mL容量瓶中，加入30mL甲醇，超声处理20min，放冷至室温后，加甲醇至刻度，摇匀，离心或放置至澄清后取上清液备用。

1.5.2.2 含油试样：称取50mg试样，置于小烧杯中，用20mL甲醇分数次搅拌，将原花青素洗入50mL容量瓶中，直至甲醇提取液无色，加甲醇至刻度，摇匀。

1.5.2.3 口服液：吸取适量样液（取样量不超过1mL），置于50mL容量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀。

1.5.3 测定

1.5.3.1 标准曲线：称取原花青素标准品10.0mg溶于10mL甲醇中，吸取该溶液0、0.1、0.25、0.5、1.0、1.5mL，置于10mL容量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀。各取1mL测定。与试样测定方法相同。

1.5.3.2 试样测定：将正丁醇与盐酸按95:5的体积比混合后，取出6mL置于具塞锥形瓶中，再加入0.2mL硫酸铁铵溶液和1mL试样溶液，混匀，置沸水浴回流，精确加热40min后，立即置冰水中冷却，在加热完毕15min后，于546nm波长处测吸光度，由标准曲线计算试样中原花青素的含量。显色在1小时内稳定。

1.6 分析结果表述：试样中原花青素测定结果按（1）式计算。

1.6.1 计算：

$$X(\%) = \frac{m_1 \times v \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

式中：

X—试样中原花青素的百分含量，g/100g；

m_1 —反应混合物中原花青素的量，μg；

v—待测样液的总体积，mL；

m—试样的质量，mg。

1.6.2 结果表示：计算结果保留三位有效数字。

1.7 技术参数

1.7.1 相对标准偏差：<10%。

1.7.2 回收率：84.6~94.4%。

【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 |
|-------------|------|----------|
| 叶黄素, g/100g | ≥0.5 | 1 叶黄素的测定 |
| 牛磺酸, g/100g | ≥3.3 | 2 牛磺酸的测定 |

1 叶黄素的测定

1.1 原理：样品加水打开包埋后，用有机试剂超声提取，经高效液相色谱仪分离测定，用外标法计算含量。

1.2 试剂

1.2.1 甲醇为色谱纯；二氯甲烷、丙酮为优级纯；水为双蒸水。

1.2.2 叶黄素标准品，计算含量时需折算纯度；

1.2.3 2,6-二叔丁基对甲酚（BHT）纯度>99%；

1.2.4 含0.1% BHT的丙酮溶液：称取0.500g BHT置500mL容量瓶中加入丙酮溶解并定容；

1.2.5 标准储备溶液（0.1mg/mL）：精密称取叶黄素标准品5mg，置50mL棕色量瓶中，加二氯甲烷15mL溶解，加含0.1% BHT的丙酮溶液至刻度，摇匀，即可。避光操作。

1.2.6 标准工作溶液（0.01mg/mL）：精密量取标准储备溶液5mL，置50mL棕色量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，即可。临用现配避光操作。

1.3 仪器

1.3.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器（UV）。

1.3.2 分析天平：精密0.01mg。

1.4 样品处理：避光操作。取本品20片，研细，取0.1-0.12g，精密称定，置100mL棕色量瓶中，加入5mL水，在60℃水浴加热3min，并时时振摇使成混悬液，取出放冷，加入二氯甲烷10mL，振摇30s，然后加含0.1% BHT的丙酮溶液约60mL，超声处理5min，取出放冷，加含0.1% BHT的丙酮溶液至刻度，摇匀，用0.45μm微孔滤膜滤过，取续滤液，即可。

1.5 样品测定

1.5.1 液相色谱参考条件

1.5.1.1 色谱柱：C₁₈（150mm×4.6mm, 5μm）或相当者。

1.5.1.2 流动相：甲醇-水=95:5。

1.5.1.3 波长：445nm。

1.5.1.4 流速：1.0mL/min。

1.5.1.5 柱温：30℃。

1.5.2 液相色谱测定：分别精密吸取标准工作溶液及试样溶液各10μl，注入液相色谱仪中测定。

1.6 结果计算

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

式中：

X—试样中叶黄素的含量，mg/mL；

A₁—试样溶液峰面积；

A₂—标准工作溶液峰面积；

C—标准工作溶液浓度，mg/mL；

V—试样溶液定容体积，mL；

m—称样量，g。

2 牛磺酸的测定

2.1 原理：样品加水超声提取后，经衍生处理，再通过高效液相色谱仪分离测定，用外标法计算含量。

2.2 试剂

2.2.1 乙腈为色谱纯；水为双蒸水；其它试剂均为分析纯。

2.2.2 牛磺酸标准品纯度>99%，由中国食品药品检定研究院提供。

2.2.3 盐酸（1mol/L）：吸取9mL盐酸，用水稀释并定容到100mL。

2.2.4 碳酸钠缓冲液（pH9.5）（80mmol/L）：称取0.424g无水碳酸钠，加40mL水溶解，用1mol/L盐酸调pH值至9.5，用水定容至50mL。该溶液在室温下3个月内稳定。

2.2.5 丹磺酰氯溶液（1.5mg/mL）：称取0.15g丹磺酰氯，用乙腈溶解并定容至100mL。临用前配制。

2.2.6 盐酸甲胺溶液（20mg/mL）：称取2.0g盐酸甲胺，用水溶解并定容至100mL。该溶液在4℃下3个月内稳定。

2.2.7 乙酸钠缓冲液（pH4.2）（10mmol/L）：称取0.820g乙酸钠，加800mL水溶解，用冰乙酸调节pH值至4.2，用水定容至1000mL，经0.45μm微孔滤膜过滤。

2.2.8 牛磺酸标准储备溶液（1mg/mL）：精密称取牛磺酸标准品25mg，加水溶解并定容至25mL量瓶。储备液在4℃下可保存7天。

2.2.9 牛磺酸标准工作液（0.04mg/mL）：精密量取标准储备溶液1mL，置25mL量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，即可。临用前配制。

2.3 仪器设备或装置

2.3.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器（UV）。

2.3.2 分析天平：精度0.01mg。

2.4 样品处理

2.4.1 试样溶液制备：取本品20片，研细，取约0.1g~0.12g，精密称定，置100mL量瓶中，加入水适量，振摇后超声处理15min，取出放冷，加水至刻度，摇匀，离心（5000转/min，3min），取上清液，即可。

2.4.2 试液衍生化：吸取1.00mL上述试样上清液到10mL具塞玻璃试管中，加入1.00mL碳酸钠缓冲液，1.00mL丹磺酰氯溶液，充分混合，室温避光衍生反应2h（1h后需摇晃1次），加入0.10mL盐酸甲胺溶液涡旋混合，以终止反应，避光静置至沉淀完全。取上清液经0.45μm微孔滤膜滤过，取续滤液备用。衍生物可在4℃避光保存48 h。

另取1.00mL牛磺酸标准工作液，与试液同步进行衍生。

2.5 样品测定

2.5.1 液相色谱参考条件

2.5.1.1 色谱柱：C₁₈（250mm×4.6mm，5μm）或相当者；

2.5.1.2 流动相：10mmol/L乙酸钠缓冲液-乙腈=70：30；

2.5.1.3 波长：254nm；

2.5.1.4 流速：1.0mL/min；

2.5.1.5 柱温：室温；

2.5.2 液相色谱测定：分别精密吸取标准工作液衍生溶液及试样衍生溶液各10μL，注入液相色谱仪中测定。

2.6 结果计算

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

式中：

X—试样中牛磺酸的含量，g/100g；

A₁—试样溶液峰面积；

A₂—标准工作溶液峰面积；

C—标准工作溶液浓度，mg/mL；

V—试样溶液定容体积，mL；

m—称样量，g。

【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“片剂”的规定。

【原辅料质量要求】

1. 叶黄素粉（叶黄素、维生素E、蔗糖、食品用改性淀粉、玉米淀粉）

| 项 目 | 指 标 |
|----------------|--------------------------|
| 来源 | 叶黄素、维生素E、蔗糖、食品用改性淀粉、玉米淀粉 |
| 制法 | 经溶解、乳化、造粒等主要工艺制成 |
| 感官要求 | 红色或红棕色流动性颗粒，有少量白色淀粉粒 |
| 叶黄素，% | ≥5.0 |
| 干燥失重，% | ≤8.0 |
| 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 |
| 金黄色葡萄球菌 | ≤0/25g |
| 沙门氏菌 | ≤0/25g |

2. 葡萄籽提取物

| 项 目 | 指 标 |
|----------------------------|--|
| 来源 | 葡萄籽 |
| 制法 | 经提取（加8倍量70%乙醇85-95℃回流提取2次，每次2h）、过滤、浓缩、喷雾干燥（进风温度150-195℃，出风温度95-105℃）、混合、过筛、包装等主要工艺制成 |
| 提取率，% | 5-6.67 |
| 感官要求 | 红棕色粉末 |
| 原花青素(UV)，% | ≥60 |
| 灰分，% | ≤5.0 |
| 干燥失重，% | ≤5.0 |
| 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 |
| 镉（以Cd计），mg/kg | ≤0.5 |
| 六六六，mg/kg | ≤0.2 |
| 滴滴涕，mg/kg | ≤0.2 |
| 黄曲霉毒素B ₁ ，μg/kg | ≤5.0 |
| 菌落总数，CFU/g | ≤30000 |

| | |
|--------------|--------|
| 大肠菌群, MPN/g | ≤0.92 |
| 霉菌和酵母, CFU/g | ≤50 |
| 金黄色葡萄球菌 | ≤0/25g |
| 沙门氏菌 | ≤0/25g |

3. 牛磺酸：应符合GB 14759《食品安全国家标准 食品添加剂 牛磺酸》的规定。

4. 菊花提取物

| 项 目 | 指 标 |
|-----------------|---|
| 来源 | 菊花 |
| 制法 | 经提取（分别加6、5、5倍量50%乙醇回流提取3次，每次1h）、过滤、浓缩、喷雾干燥（进口温度110-140℃，出口温度70-85℃）、过筛、包装等等主要工艺制成 |
| 提取率 | 10:1 |
| 感官要求 | 棕黄色粉末 |
| 总黄酮(UV), % | ≥10 |
| 灰分, % | ≤5.0 |
| 干燥失重, % | ≤5.0 |
| 铅（以Pb计）, mg/kg | ≤0.5 |
| 总砷（以As计）, mg/kg | ≤0.3 |
| 总汞（以Hg计）, mg/kg | ≤1 |
| 菌落总数, CFU/g | ≤30000 |
| 大肠菌群, MPN/g | ≤0.92 |
| 霉菌和酵母, CFU/g | ≤50 |
| 金黄色葡萄球菌 | ≤0/25g |
| 沙门氏菌 | ≤0/25g |

5. 微晶纤维素：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

6. 羧甲淀粉钠：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

7. 交联聚维酮：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

8. 薄膜包衣预混剂（二氧化钛、亮蓝铝色淀、靛蓝铝色淀、滑石粉、聚乙二醇6000、羟丙甲纤维素）

| 项 目 | 指 标 |
|--------------|--------------------------------------|
| 来源 | 二氧化钛、亮蓝铝色淀、靛蓝铝色淀、滑石粉、聚乙二醇6000、羟丙甲纤维素 |
| 制法 | 经干燥、振磨预混、粉碎、振筛、总混、配料微调、内包装等主要工艺制成 |
| 感官要求 | 蓝色均匀的干燥粉末，无臭 |
| 鉴别 | 形成一层有韧性的薄膜 |
| 外观均匀性 | 应呈现均匀色泽，无花纹与色斑 |
| 粒度 | 三号筛通过的比例不得少于99% |
| 分散均匀性 | 溶液应为无杂质的均匀混悬液，并能全部通过四号筛 |
| 酸碱度 | 4.0-8.0 |
| 粘度 | 不得过70mPa·s |
| 颜色 | 应为蓝色粉末 |
| 水分 | 不得过8.0% |
| 炽灼残渣 | 不得过45.0% |
| 重金属（以Pb计） | 不得过百万分之二十 |
| 砷盐（以As计） | 不得过0.0008% |
| 需氧菌, CFU/g | ≤1000 |
| 霉菌和酵母, CFU/g | ≤100 |
| 大肠埃希菌, MPN/g | 不得检出 |

9. 硬脂酸镁：应符合《中华人民共和国药典》的规定。