

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20210238

达仁堂牌酸枣仁灵芝胶囊

【原料】 酸枣仁、刺五加、灵芝、五味子

【辅料】 微晶纤维素、玉米淀粉、硬脂酸镁

【生产工艺】 本品经提取（酸枣仁、五味子，破碎，合并，加8倍量70%乙醇80~90℃提取2h，2次；灵芝破碎与刺五加合并，加10倍量水煎煮2h，2次，分别滤过、合并滤液）、浓缩、减压干燥（-0.06~-0.1MPa，70~80℃）、粉碎、过筛、混合、制粒、干燥、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	内容物呈浅棕色至棕褐色
滋味、气味	具本品特有滋味、气味
性状	硬胶囊，完整光洁，无粘结、无变形；内容物为颗粒
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
水分，%	≤9.0	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	≤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

【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
总皂苷(以人参皂苷Re计), g/100g	≥0.5	1 总皂苷的测定
粗多糖(以葡萄糖计), g/100g	≥0.7	2 粗多糖的测定
五味子醇甲, g/100g	≥0.13	3 五味子醇甲的测定

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3cm Amberlite-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）100 μ L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， μ g；

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 粗多糖的测定

2.1 仪器

2.1.1 离心机：4000r/min。

2.1.2 50mL离心管或15mL具塞离心管。

2.1.3 分光光度计。

2.1.4 水浴锅。

2.1.5 旋涡混合器。

2.2 试剂

实验用水为双蒸水，所用试剂为分析纯级。

2.2.1 无水乙醇。

2.2.2 80%乙醇溶液（V/V）。

2.2.3 葡萄糖标准液：准确称取干燥恒重的分析纯葡萄糖0.5000g，加水溶解，并定容至50mL，此溶液每1mL含葡萄糖10mg，用前稀释100倍为使用液（0.1mg/mL）。

2.2.4 5%苯酚溶液（W/V）：称取精制苯酚5.0g，加水溶解并稀释至100mL，混匀。溶液置冰箱中可保存1个月。

2.2.5 浓硫酸（比重1.84）。

2.2.6 0.2mol/L磷酸盐缓冲液（pH6.5）：31.5mL（0.2mol/L）磷酸氢二钠与68.5mL（0.2mol/L）磷酸二氢钠混合。

2.3 样品处理

2.3.1 样品提取：取本品研细，取混合均匀的样品2g，精密称定，置于100mL容量瓶中，加水80mL左右，于沸水浴中加热1h，冷却至室温后，补加水至刻度（V₁），混匀后过滤，弃去初滤液，收集续滤液供沉淀粗多糖。

2.3.2 酶解：取50mL（V₂）样品提取液置100mL具塞锥形瓶中，冷却至60℃以下，加1mL 10%淀粉酶溶液（Sigma公司的液状淀粉酶可直接加0.1~0.2mL）和0.5mL0.2M磷酸盐缓冲液，加塞，置55~60摄氏度酶解1h，再加适量的糖化酶（如葡萄糖苷酶）（约为样液体积的1%）于60℃以下再水解60min后取出（用碘液检验是否水解完全，如不完全可延长水解时间至酶解液加碘液不变蓝色为止），于电炉上小心加热至沸

(灭酶)，冷却，定容为100mL (V_3)，过滤，取滤液沉淀粗多糖。

2.3.3 沉淀粗多糖：准确吸取上述滤液5.0mL (V_4)，置于50mL离心管中(或2.0mL于15mL具塞离心管中)，加入无水乙醇20mL(或8mL)，混匀，于4℃冰箱静置4h以上，以4000r/min离心5min，弃去上清液，残渣用80% (V/V) 乙醇溶液数毫升洗涤，离心后弃上清液，反复操作3次。残渣用水溶解并定容至10~25mL (V_5) (根据糖浓度而定)。

2.4 标准曲线的绘制：准确吸取葡萄糖标准使用液0、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00mL (相当于葡萄糖0、0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1mg)，置于25mL比色管中，补加水至2.0mL，加入5%苯酚溶液1.0mL，在旋涡混合器上混匀，小心加入浓硫酸10mL，在旋涡混合器上小心混匀，置沸水浴中2min，冷却至室温，用分光光度计在485nm波长处以试剂空白为参比，1cm比色皿测定吸光度值。以葡萄糖质量为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。

2.5 样品测定：准确吸取上液1.0mL (V_6)置于25mL比色管中，补加水至2.0mL，然后按2.4项标准曲线的绘制测定吸光度值。从标准曲线上查得葡萄糖含量，计算样品中粗多糖含量。

2.6 结果计算

$$X = \frac{M_1 \times V_1 \times V_3 \times V_5}{M_2 \times V_2 \times V_4 \times V_6} \times 0.9 \times 100$$

式中：

X—样品中粗多糖含量(以葡萄糖计)，g/100g；

M_1 —由标准曲线查得样品液中葡萄糖质量，g；

M_2 —样品质量，g；

V_1 —样品提取液总体积，mL；

V_2 —酶解所用样品提取液体积，mL；

V_3 —酶解后样品溶液定容体积，mL；

V_4 —沉淀粗多糖所用样品提取液体积，mL；

V_5 —粗多糖溶液体积，mL；

V_6 —测定用样品液体积，mL。

3 五味子醇甲的测定(来源于《保健食品检验与评价技术规范》(2003年版)中“五味子醇甲、五味子甲素和乙素的测定”)

3.1 范围

本方法规定了以五味子为主要原料生产的保健食品中五味子醇甲、五味子甲素和乙素含量的HPLC测定方法。

本方法适用于以五味子为主要原料生产的保健食品中五味子醇甲、五味子甲素和乙素含量的HPLC测定。

本方法的检测限分别为五味子醇甲0.02μg，五味子甲素 0.03μg，五味子乙素0.02μg。

本方法的最佳线性范围为0.2~10μg。

3.2 原理：将试样中的木脂素提取后，使用等度洗脱反相高效液相色谱进行分离，紫外检测器(UV)检测，根据色谱峰的保留时间定性，外标法定量，适用于以北五味子为主要原料生产的保健食品中五味子醇甲、五味子甲素和乙素定量分析。

3.3 试剂

3.3.1 水为双重蒸馏水

3.3.2 甲醇：色谱纯。

3.3.3 高效液相色谱流动相：等度淋洗。

3.3.4 五味子醇甲、五味子甲素和乙素标准品：含量均大于98%(HPLC)。

3.3.5 五味子醇甲、五味子甲素和乙素标准溶液的配制：配制五味子醇甲、五味子甲素和乙素标准储备液，浓度分别为3mg/mL，再以此储备液配制成混合标准系列溶液，浓度范围为0.02~1mg/mL；所有标准溶液均用甲醇配制。

3.4 仪器

3.4.1 高效液相色谱仪：双高压输液泵，附紫外检测器。

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：精密称取粉碎后的五味子0.25g，置20mL具塞锥形瓶中，加入甲醇约18mL，超声提取20分钟，取出，静置待冷，加甲醇至刻度。试样溶液过0.45μm油膜，滤液进行色谱分析。

3.5.2 测定

3.5.2.1 液相色谱参考条件

3.5.2.1.1 色谱柱：反相C₁₈柱，5μm，100Å，4.6×250mm。

3.5.2.1.2 紫外检测器：检测波长254nm

3.5.2.1.3 等度淋洗条件：甲醇/水=77/23（v/v），流速：1mL/min

3.5.2.1.4 柱温：35℃

3.5.2.2 色谱分析

3.5.2.2.1 标准曲线的制备：将标准混合系列溶液均取10μL进HPLC分析，用峰面积对浓度计算五味子醇甲、五味子甲素和乙素的标准回归曲线。

3.5.2.2.2 试样测定：取10μL试样净化液进行高效液相色谱分析，以绝对保留时间定性，用峰面积通过五味子醇甲、五味子甲素和乙素的标准曲线定量计算试样中的含量。

3.6 分析结果的表述

3.6.1 计算

$$\text{试样中五味子醇甲、五味子甲素和乙素的含量 (mg/100g)} = \frac{C \times 20 \times 100}{m}$$

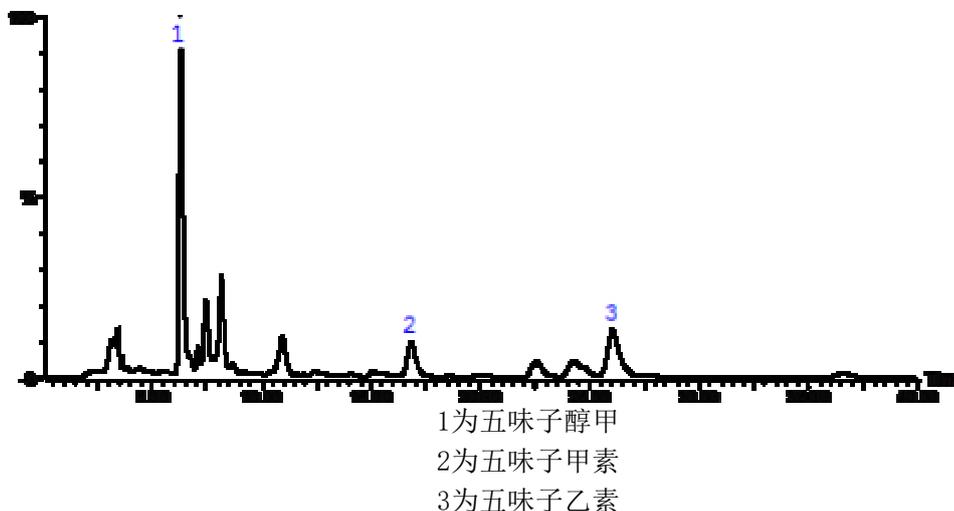
式中：

C—试样溶液中五味子醇甲、五味子甲素和乙素的含量，mg/mL；

m—试样质量，g。

3.6.2 结果表示：分析结果保留三位有效数字。

3.7 色谱图



【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. 酸枣仁：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
2. 刺五加：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
3. 灵芝：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
4. 五味子：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
5. 微晶纤维素：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
6. 玉米淀粉：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

7. 硬脂酸镁：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
