

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20120246

蓝之灵牌绿豆丹参黄芪胶囊

- 【原料】 绿豆、丹参、黄芪
- 【辅料】 玉米淀粉、硬脂酸镁
- 【生产工艺】 本品经酶解（绿豆酶解60℃，加入浓度0.1%木瓜蛋白酶，酶解4h）、提取（丹参、黄芪加8倍量水煎煮提取2次，每次2h）、过滤、浓缩、混合、干燥（70℃）、粉碎、过筛、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】 聚氯乙烯固体药用硬片应符合YBB00212005的规定，药用铝箔应符合YBB00152002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	内容物呈棕黄色至黄褐色
滋味、气味	具本品特有的滋味和气味，无异味
状态	硬胶囊，内容物为粉末，无结块，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
蛋白质，g/100g	≥20.2	GB 5009.5
水分，%	≤9.0	GB 5009.3
灰分，%	≤8.0	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
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
绿豆蛋白多肽, g/100g	≥9.0	1 绿豆蛋白多肽的测定
粗多糖（以葡萄糖计）, g/100g	≥2.08	2 粗多糖的测定
黄芪甲苷, mg/100g	≥9.6	3 黄芪甲苷的测定

1 绿豆蛋白多肽测定

1.1 原理：样品经酸化后，滤液中的酸溶蛋白质含量减去游离氨基酸含量即为肽含量。

1.2 试剂

实验用水应符合GB/T 6682《分析实验室用水规格和试验方法》中二级用水的规格；除特殊规定外，使用试剂均为分析纯。

1.2.1 三氯乙酸：150g/L。

1.2.2 硫酸铜（ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ）。

1.2.3 硫酸钾。

1.2.4 硫酸：密度为1.8419g/L。

1.2.5 硼酸溶液：20g/L。

1.2.6 氢氧化钠溶液：400g/L。

1.2.7 盐酸：优级纯。

1.2.8 硫酸标准滴定溶液[$c(1/2 \text{H}_2\text{SO}_4) = 0.0500\text{mol/L}$]或盐酸标准滴定溶液（0.0500mol/L）。

1.2.9 混合指示剂：1份1g/L甲基红乙醇溶液与5份1g/L溴甲酚绿乙醇溶液临用时混合，或2份1g/L甲基红乙醇溶液与1份1g/L亚甲基蓝乙醇溶液临用时混合。

1.2.10 混合氨基酸标准液：0.0025mol/L。

1.2.11 pH2.2的柠檬酸钠缓冲液：称取19.6g柠檬酸钠（ $\text{Na}_3\text{C}_5\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ），加入16.5mL浓盐酸并加水稀释到1000mL，用浓盐酸或500g/L的氢氧化钠溶液调节pH至2.2。

1.2.12 pH3.3的柠檬酸钠缓冲液：称取19.6g柠檬酸钠，加入12mL浓盐酸并加入水稀释到1000mL，用浓盐酸或500g/L的氢氧化钠调节pH至3.3。

1.2.13 pH4.0的柠檬酸钠缓冲液：称取19.6g柠檬酸钠，加入9mL浓盐酸并加水稀释到1000mL，用浓盐酸或500g/L氢氧化钠溶液调节pH至4。

1.2.14 pH6.4的柠檬酸钠缓冲液：称取19.6g柠檬酸钠和46.8g氯化钠（优级纯），加水溶解并稀释到1000mL，用浓盐酸或500g/L的氢氧化钠溶液调节pH至6.4。

1.2.15 pH5.2的乙酸锂溶液：称取氢氧化锂（ $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ ）168g，加入冰乙酸（优级纯）279mL，加水稀释到1000mL，用盐酸或500g/L的氢氧化钠溶液调节pH值至5.2。

1.2.16 茛三酮溶液：取150mL二甲基亚砷（ $\text{C}_2\text{H}_5\text{OS}$ ）和50mL乙酸锂溶液，加入4g水合茛三酮（ $\text{C}_9\text{H}_4\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ）和0.12g还原茛三酮（ $\text{C}_{18}\text{H}_{10}\text{O}_5 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ）搅拌至完全溶解。

1.3 酸溶蛋白质含量的测定：准确称取样品1.000g（精确至0.001g），加入15%三氯乙酸（TCA）溶液溶解并定容至50mL，混匀并静置5min，过滤，去除初滤液，续滤液作为备用液。吸取10.00~25.00mL滤液，移入干燥的100mL或500mL定氮瓶中，加入0.2g硫酸铜、6g硫酸钾及20mL硫酸，稍摇匀后于瓶口放一小漏斗，将瓶以45度角斜支于有小孔的石棉网上。小心加热，待内容物全部碳化，泡沫完全停止后，加强火力，并保持瓶内液体微沸，至液体呈蓝绿色澄清透明后，再继续加热0.5~1h。取下放冷，小心加20mL水。放冷后，移入100mL容量瓶中，并用少量水洗定氮瓶，洗液并入容量瓶中，再加水至刻度，混匀备用。同时做试剂空白试验。

1.4 测定：装好定氮蒸馏装置，于水蒸气发生瓶内装水至2/3处，加入数粒玻璃珠，加甲基红指示液数滴及数毫升硫酸，以保持水呈酸性，用调压器控制，加热煮沸水蒸气发生瓶内的水。向接收瓶内加入10mL硼酸溶液（20g/L）及1~2滴混合指示液，并使冷凝管的下端插入液面下，准确吸取10mL样品处理液由小漏斗流入反应室，并以10mL水洗烧杯使流入反应室，立即将玻璃塞盖紧，并加水于小玻璃杯以防漏气。夹紧螺旋夹，开始蒸馏。蒸馏5min。移动接收瓶，使液面离开冷凝管下端，再蒸馏1min。然后用少量水冲洗冷凝管下端外部。取下接收瓶，滴加指示剂，以硫酸或盐酸标准滴定溶液（0.05mol/L）滴定至灰色或蓝紫色为终点。同时准确吸取10mL试剂空白消化液按同样步骤操作。

1.5 样品中蛋白质的含量按下式计算

$$X_1 = \frac{(V_1 - V_2) \times C \times 0.0140}{m \times 10/100} \times F \times 100$$

式中：

X_1 —样品中蛋白质的含量，g/100g；

V_1 —样品消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积，mL；

V_2 —试剂空白消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积，mL；

C —硫酸或盐酸标准滴定溶液浓度，mol/L；

0.0140—1.0mL硫酸[$c(1/2\text{H}_2\text{SO}_4) = 0.0500\text{mol/L}$]或盐酸[$c(\text{HCl}) = 0.050\text{mol/L}$]标准滴定溶液相当的氮的质量，g；

m —样品质量，g/mL；

F —氮换算为蛋白质的系数，取6.25。

1.6 游离氨基酸含量的测定：准确称取样品（使样品游离氨基酸含量在10~20mg范围内），用pH为2.2的缓冲液溶解定容至50mL，供仪器测定用。准确吸取0.200mL混合氨基酸标准溶液，用pH2.2的缓冲液稀释到5mL，此标准稀释液浓度为5.00nmol/50μL，作为上机测定用的氨基酸标准，用氨基酸自动分析仪以外标法测定样品测定液的氨基酸含量。

1.7 样品中游离氨基酸含量按下式计算

$$X_2 = \frac{c \times 1/50 \times F \times V \times M}{m \times 10^9} \times 100$$

式中：

X_2 —样品氨基酸的含量，g/100g；

C —样品测定液中氨基酸含量，nmol/50μL；

F —样品稀释倍数；

V —样品定容体积，mL；

M —氨基酸相对分子质量；

m —样品质量，g；

1/50—折算成每毫升样品测定的氨基酸含量，μmol/L；

10^9 —将样品含量由ng折算成g的系数。

1.8 结果计算

$$X = X_1 - X_2$$

式中：

X —样品中绿豆蛋白多肽的含量，g/100g；

X_1 —样品中酸溶蛋白质的含量, g/100g;

X_2 —样品中游离氨基酸的含量, g/100g。

2 粗多糖的测定

2.1 原理: 样品提取液经淀粉酶解后用乙醇沉淀分离, 去除其他可溶性糖及杂质的干扰, 再与苯酚-硫酸作用形成有色化合物, 其呈色强度与溶液中糖的浓度成正比, 在485nm波长下比色定量。

2.2 试剂

2.2.1 硫酸溶液。

2.2.2 无水乙醇: 分析纯。

2.2.3 苯酚: 分析纯。

2.2.4 浓硫酸: 分析纯。

2.2.5 α -淀粉酶。

2.2.6 磷酸盐缓冲溶液0.2M (pH值参考淀粉酶最适pH值)。

2.2.7 硫酸溶液 (20mol/L): 取112mL浓硫酸加入到800mL水中, 混匀, 冷却后稀释至1000mL。

2.2.8 苯酚溶液 (50g/L): 称取精制苯酚5.0g, 加水溶解并定容至100mL, 混匀。溶液置冰箱中可保存1个月。

2.2.9 葡萄糖对照品溶液: 取D-无水葡萄糖标准品0.010g, 精密称量后加水溶解并定容至100mL, 混匀, 每1mL约含0.1mg葡萄糖。

2.2.10 标准品来源纯度: 中国食品药品检定研究院。D-无水葡萄糖 (D-Glucose anhydrous) 对照品系供《中华人民共和国药典》(2015年版) 一部玉竹等项下含量测定用。使用前不需干燥处理。含量以99.9%计。

2.3 仪器

2.3.1 紫外分光光度计。

2.3.2 离心机。

2.3.3 水浴锅。

2.4 标准曲线的制备: 精密吸取葡萄糖标准使用液0.00、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00mL, 分别置于25mL比色管中, 补加水至2.0mL, 加入50g/L苯酚溶液1.0mL, 在漩涡混匀器上混匀, 小心加入浓硫酸10.0mL, 于旋转混匀器上小心混匀, 置沸水浴中煮沸15min, 冷却后用分光光度计在485nm波长处, 以试剂空白溶液为参比, 1cm比色皿测定吸光度值。以葡萄糖浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制标准曲线。

2.5 样品处理

2.5.1 样品提取: 取10g样品, 粉碎后过60目筛, 取粉末约2.0g, 精密称定, 置150mL三角瓶中 (加玻璃珠数粒), 加水50mL, 盖塞。100℃水浴提取60min, 取出, 放冷, 加磷酸盐缓冲溶液0.5mL, 加 α -淀粉酶0.1mL或0.1g, 置淀粉酶最适宜温度的水浴锅中酶解60min后取出, 于电炉上小心加热至沸 (灭酶), 冷却后转移至100mL容量瓶中, 洗涤三角瓶数次, 补加水至刻度, 摇匀后过滤, 弃去初滤液, 收集续滤液供沉淀粗多糖。

2.5.2 沉淀粗多糖: 准确吸取续滤液2.0mL于10mL离心管中, 加入无水乙醇8mL, 摇匀后静置2h以上, 离心 (3000r/min) 5min, 沉淀以80%乙醇溶液洗涤, 离心、弃去上清液, 反复操作数次。沉淀以2mol/L的硫酸5mL溶液, 转移至50mL的容量瓶中, 以水定容至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液。

2.6 样品测定: 准确吸取供试品溶液2.0mL, 按标准曲线的步骤于485nm波长处测定吸光度值, 根据标准曲线计算样品中粗多糖含量。

2.7 结果计算

$$X = \frac{C \times V_1 \times V_3}{M_S \times V_2 \times 10^3} \times 100$$

式中:

X—样品中粗多糖含量 (以葡萄糖计), g/100g;

C—供试品溶液中多糖浓度, mg/mL;

M_S —样品量, g;

V_1 —样品提取液体积, mL;

V_2 —沉淀粗多糖所用样品提取液体积, mL;

V_3 —粗多糖溶液的定容体积, mL。

3 黄芪甲苷的测定

- 3.1 原理：样品中的黄芪甲苷采用固相萃取预处理，用高效液相色谱紫外检测，外标法定量。
- 3.2 仪器
- 3.2.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器。
- 3.2.2 水浴锅。
- 3.2.3 带冷凝管的提取回流装置（150mL）。
- 3.2.4 C₁₈预处理小柱。
- 3.3 试剂
- 3.3.1 黄芪甲苷对照品溶液：准确称取黄芪甲苷对照品（含量测定用，购自中国食品药品检定研究院）8.0mg，用甲醇溶解并定容至20mL容量瓶中，再用甲醇稀释成80、160、240、320、400ug/mL的溶液。
- 3.3.2 甲醇：分析纯、色谱纯。
- 3.3.3 乙腈：色谱纯。
- 3.3.4 乙醚：分析纯。
- 3.3.5 正丁醇：分析纯。
- 3.3.6 氨水：分析纯。按《中华人民共和国药典》配制氨试液，浓氨水400mL加水至1000mL。
- 3.3.7 水：双蒸水
- 3.4 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×3h、30mL×2h、20mL×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5mL容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀，即为供试品溶液。
- 3.5 色谱条件
- 3.5.1 色谱柱：Kromasil C₁₈，5μm，250×4.6mm。
- 3.5.2 流动相：乙腈-水=1:2(v/v)。
- 3.5.3 检测波长：200nm。
- 3.5.4 流速：1.0mL/min。
- 3.5.5 进样量：10μL。
- 3.5.6 测定：分别取供试品溶液和各对照品溶液10μL，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，根据供试品溶液的峰面积计算样品中被测物的含量。
- 3.5.7 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，μg；
- V—样品定容体积，mL；
- m—样品质量，g；
- 1000—μg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】 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. 绿豆：应符合NY/T 598《食用绿豆》的相关规定。
2. 丹参：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
3. 黄芪：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
4. 玉米淀粉：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
5. 硬脂酸镁：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

6. 明胶空心胶囊：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
