

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G20120379

雅芳益美高牌叶黄素蓝莓枸杞片

【原料】 枸杞子提取物、叶黄素、牛磺酸、蓝莓提取物、维生素C（L-抗坏血酸）、维生素A（醋酸视黄酯）

【辅料】 微晶纤维素、羧甲基淀粉钠、硬脂酸镁、薄膜包衣预混剂（聚乙烯醇、聚乙二醇、乳糖、滑石粉）

【生产工艺】 本品经粉碎、过筛、混合、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】 聚乙烯塑料瓶应符合GB 4806.7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	灰褐色至棕褐色
滋味、气味	具本品特有的滋味、气味，无异味
状态	椭圆形片剂，无肉眼可见的杂质

【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
维生素C, g/100g	6.1~12.2	GB/T 5009.86
维生素A, mg/100g	3.8~8.6	GB/T 5009.82
水分, %	≤8.0	GB 5009.3
灰分, %	≤8.0	GB 5009.4
崩解时限, min	≤60	《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
叶黄素, g/100g	0.78~1.28	1 叶黄素的测定
粗多糖(以葡萄糖计), g/100g	≥16.0	2 粗多糖的测定

1 叶黄素的测定

1.1 原理: 经皂化-萃取法提取食品中的叶黄素, 由高效反相色谱 C_{18} 柱分离, 紫外检测器或二极管阵列检测器检测, 外标法定量叶黄素的含量。

1.2 仪器

1.2.1 高效液相色谱仪(附紫外检测器或二极管阵列检测器)。

1.2.2 超声清洗仪(溶剂脱气用)。

1.2.2 天平(精确到0.0001g)。

1.2.3 抽滤瓶。

1.2.4 水浴锅。

1.3 试剂

如未注明规格, 所有试剂均指分析纯; 如未注明其他要求, 所有实验用水均指纯水。

1.3.1 氢氧化钾溶液: 称取50g氢氧化钾(分析纯), 加50g去离子水溶解。

1.3.2 甲醇: 色谱纯。

1.3.3 乙腈: 色谱纯。

1.3.4 无水乙醇: 分析纯。

1.3.5 抗坏血酸: 分析纯。

1.3.6 色谱用水：纯水器制备。

1.3.7 乙醚-石油醚（60~90℃）溶液：乙醚（分析纯）-石油醚（60~90℃，分析纯）=1:1（v/v）

1.3.8 叶黄素标准品：纯度90%，购自Fluka公司。

1.4 标准储备液的制备：精密称取叶黄素标准品约0.0010g，移入100mL容量瓶中，加入20mL无水乙醇，60℃超声溶解5min，冷却后用无水乙醇定容到100mL，得浓度约为10μg/mL的标准储备液。

1.5 标准储备液的校准：用1cm比色皿，以无水乙醇为空白，在445nm波长处测定吸光度值 A_{\max} 。按下式计算标准储备液的浓度：

$$\text{标准储备液的浓度} (\mu\text{g/mL}) = \frac{A_{\max} \times 10000}{2550}$$

1.6 标准工作曲线的制备：取标准储备液配制标准工作溶液，取10μL进样分析，以测得的叶黄素峰面积，分别对叶黄素的浓度绘制标准曲线。

1.7 样品的前处理

1.7.1 皂化：取样品适量，使其中叶黄素含量约为5mg，准确称定，加入150~250mL锥形瓶中，加入0.5g抗坏血酸，再加入5mL水，摇匀，加入30mL无水乙醇，摇匀到颗粒分散，再加入10mL氢氧化钾溶液，摇匀，于75℃水浴皂化30min，取出后冷却。

1.7.2 提取：皂化好的样品移入250mL分液漏斗中，用5~10mL水洗皂化瓶，洗液并入分液漏斗中。用50mL乙醚-石油醚（60~90℃）溶液洗皂化瓶及残渣，并入分液漏斗中，振摇2min，静置分层，水层再用150mL乙醚-石油醚（60~90℃）溶液分3次萃取，合并醚层。

1.7.3 洗涤：每次用水约50mL洗涤醚层，用pH试纸检验直到水层中性。

1.7.4 浓缩：将醚层倒入250mL圆底烧瓶中，于55℃减压蒸馏到2mL，用氮气吹干，加入10mL无水乙醇，充分混合。根据分析需要，再取1.00mL溶液于100mL容量瓶中，用无水乙醇定容，得分析液。分析液过0.45μm滤膜，待用。

1.8 色谱条件

1.8.1 色谱柱：ZORBAX SB-C₁₈液相色谱柱，4.6×250mm，5μm。

1.8.2 流动相：甲醇-乙腈-水=10:9:1（v/v/v）。

1.8.3 流速：2.5mL/min。

1.8.4 柱温：35℃。

1.8.5 检测波长：446nm。

1.8.6 进样体积：10.0μL。

1.9 结果计算

$$X = \frac{A \times V}{M \times 100}$$

式中：

X—样品中叶黄素的含量，g/100g；

A—进样样品溶液中叶黄素的含量，μg/mL；

V—样品的定量体积，mL；

M—样品的取样量，g。

2 粗多糖的测定

2.1 原理：样品中多糖沉淀物经酸解后，全部转成单糖，单糖具还原性，在加热条件下直接滴定标定过的碱性酒石酸铜液，以亚甲蓝为指示剂，根据样品溶液消耗的体积计算还原糖含量，再乘以换算系数0.9计算多糖含量。

2.2 仪器

2.2.1 离心机：4000r/min。

2.2.2 100mL离心瓶或10mL具盖离心管。

2.2.3 500mL水解瓶：附冷凝回流装置。

2.2.4 电炉：1000W。

2.2.5 pH计。

2.2.6 水浴锅。

2.3 试剂

实验用水为双蒸水，所用试剂为分析纯级。

2.3.1 碱性酒石酸铜甲液：称取 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 15g、亚甲蓝（次甲基蓝）0.05g，加水溶解并稀释至1000mL。

2.3.2 碱性酒石酸铜乙液：称取50g酒石酸钾钠、75g氢氧化钠，溶于水中，再加入4g亚铁氰化钾，完全溶解后，用水稀释至1000mL，储存于橡胶塞玻璃瓶内。

2.3.3 无水乙醇。

2.3.4 浓盐酸。

2.3.5 40%氢氧化钠。

2.3.6 葡萄糖标准溶液：准确称取1.0000g经过98~100℃干燥至恒重的分析纯葡萄糖，加水溶解后，以水稀释至1000mL，此溶液1mL含葡萄糖1mg，现用现配。

2.4 样品处理：准确称取均匀研碎的样品粉末3~5g，置于100mL离心瓶中，加15mL热水（温度>90℃）搅拌直至溶解无沉淀物为止，如样品难溶，可在沸水浴中加热30min后过滤，定容。取此待测液15mL，加7.5mL无水乙醇搅拌均匀（若只有10mL离心管，则每管加入1.5mL样品溶液，后加7.5mL无水乙醇，加盖反复倾倒管子数次）。在离心机中以4000r/min离心10min，小心弃去上清液，再加15mL热水（温度>90℃）冲洗离心瓶中沉淀物，或用1.5mL热水冲洗离心管中沉淀物，重复一次后再以4000r/min离心10min，小心地用吸管将上层液体吸去。用玻璃棒或小羹匙将沉淀物取出并转移至500mL酸水解瓶底部，取50mL热水（温度>90℃），其中部分用来冲洗离心管或离心管壁剩余的沉淀物，将沉淀物一并转移至500mL酸水解瓶中，加入15mL浓盐酸于酸水解瓶中，开启冷凝水，在沸水浴中加热2h，冷却，然后先用40%氢氧化钠粗调，后用稀的氢氧化钠细调，再置于pH计上调整pH值在6.8~7.2之间（不要用pH纸调试）。将已中和的酸解液转移至100~250mL容量瓶中（视糖浓度而定），加水定容（ V_1 ）。用滤纸过滤，滤液为待测液。

2.5 标定碱性酒石酸铜液：用定量移液管吸取碱性酒石酸铜甲、乙液各5mL于150mL的锥形瓶中，加10mL蒸馏水及数粒玻璃珠。用滴定管加入9.0mL标准葡萄糖溶液于锥形瓶中，并将锥形瓶置电炉上迅速加热，务必在2min内至沸，保持溶液在微沸的状态下再用标准葡萄糖溶液滴定，待溶液颜色变浅时，以1滴/2sec的速度滴至蓝色刚褪去为终点，记录消耗标准葡萄糖溶液的体积，同时平行操作3次，取其平均值（ V_G ）。

2.6 样品溶液的预测：用定量移液管吸取碱性酒石酸铜甲、乙液各5mL于150mL的锥形瓶中，加10mL蒸馏水及数粒玻璃珠。将锥形瓶置电炉上迅速加热，务必在2min内至沸，保持溶液在微沸的状态下，从滴定管中滴加样品溶液，待溶液颜色变浅时，以1滴/2sec的速度滴至蓝色刚褪去为终点，记录样品溶液消耗体积即为预测体积。

2.7 样品测定：用定量移液管吸取碱性酒石酸铜甲、乙液各5mL于150mL的锥形瓶中，加10mL蒸馏水及数粒玻璃珠。从滴定管中滴加比预测体积小1.0mL的样品溶液，将锥形瓶置电炉上迅速加热，务必在2min内至沸，保持溶液在微沸的状态下，从滴定管中滴加样品溶液，待溶液颜色变浅时，以1滴/2sec的速度滴至蓝色刚褪去为终点，记录样品溶液消耗的总容积，同时平行操作3次，取其平均值（ V_2 ）。

2.8 结果计算

$$X = \frac{V_G \times c \times V_1}{m \times V_2 \times 1000} \times 0.9 \times 100$$

式中：

X—样品中粗多糖的含量（以葡萄糖计），g/100g；

V_G —标定10mL碱性酒石酸铜液（甲、乙各5mL）消耗标准葡萄糖溶液毫升数；

c—标准葡萄糖溶液的浓度，mg/mL；

m—样品质量，g；

V_1 —酸解液中和后定容的体积，mL；

V_2 —测定时平均消耗样品溶液体积, mL;

1000—mg换算成g的换算系数;

0.9—还原糖换算成多糖的系数。

【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”项下片剂的规定。

【原辅料质量要求】

1. 枸杞子提取物

项 目	指 标
来源	枸杞子 应符合《中华人民共和国药典》的规定
制法	经提取(加8倍量纯水100℃提取2次,每次2h)、浓缩、离心、醇沉、沉淀、喷雾干燥(进风温度180~200℃,出风温度95~110℃)、检测、混批、粉碎、过筛、混合等主要工艺加工制成
得率	30:1
感官要求	棕色粉末,具本品特有的气味和滋味,无异味
粗多糖, g/100g	≥50
干燥失重, %	≤5.0
灰分, %	≤5.0
细菌总数, CFU/g	≤1000
大肠菌群, MPN/100g	≤30
霉菌, CFU/g	≤25
酵母, CFU/g	≤25
致病菌(指沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌)	不得检出

2. 叶黄素:应符合GB 26405《食品安全国家标准 食品添加剂 叶黄素》的规定。

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. 蓝莓提取物

项 目	指 标
来源	蓝莓
制法	经提取(加入4倍量含0.5%盐酸的50%乙酸,控制温度65℃,提取3次,第一次60℃80min,第二次60min,第三次40min)、浓缩、离心、层析、制膏、喷雾干燥(进风温度200~220℃,出风温度95~110℃)、检测、混批、粉碎、过筛、混合等主要工艺加工制成。
得率	65:1
感官要求	紫红色粉末,具有本品特有的气味和滋味,无异味
花青素, g/100g	≥25
干燥失重, %	≤5.0
灰分, %	≤5.0
细菌总数, CFU/g	≤1000

大肠菌群, MPN/100g	≤30
霉菌, CFU/g	≤25
酵母, CFU/g	≤25
致病菌 (指沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌)	不得检出

5. 维生素C (L-抗坏血酸)：应符合GB 14754《食品安全国家标准 食品添加剂 维生素C (抗坏血酸)》的规定。

6. 维生素A (醋酸视黄酯)：应符合GB 14750《食品安全国家标准 食品添加剂 维生素A》的规定。

7. 微晶纤维素：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

8. 羧甲基淀粉钠：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

9. 硬脂酸镁：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

10. 薄膜包衣预混剂 (聚乙烯醇、聚乙二醇、乳糖、滑石粉)

项 目	指 标
来源	聚乙烯醇、聚乙二醇、乳糖、滑石粉
制法	经搅拌、混合等主要工艺加工制成。
感官要求	无嗅白色粉末, 可在水溶液中均匀分散
粉末分散度	应均匀分散, 无杂质, 95%以上通过80目筛
菌落总数, CFU/g	≤1000
霉菌和酵母, CFU/g	≤100