

国家市场监督管理总局

保健食品产品技术要求

BJG20150319

康缘牌金牛片

KangYangPaiHuanJieTiLiPiLaoPian

【配方】 蜂王浆冻干粉、葡萄籽提取物、左旋肉碱、维生素C（L-抗坏血酸）、维生素E（d-α-生育酚琥珀酸酯）、微晶纤维素、羟丙纤维素、胃溶型薄膜包衣粉预混剂（羟丙基甲基纤维素、聚乙烯醇、三乙酸甘油酯、二氧化钛、果绿铝色淀、亮蓝铝色淀、滑石粉）

【生产工艺】 本品经混合、制粒、干燥、压片、包衣、包装等主要工艺加工制成。

【感官要求】 应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
色泽	包衣呈绿色，外表完整光洁；片芯呈黄色至棕黄色
滋味、气味	味微苦，无异味，具本品特有的香气
性状	薄膜包衣片剂
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
维生素C（L-抗坏血酸），g/100g	5.4~8.6	1 维生素C的测定
灰分，%	≤10.0	GB 5009.4
崩解时限，min	≤60	《中华人民共和国药典》（2010年版）一部
铅（以Pb计），mg/kg	≤0.5	GB 5009.12
砷（以As计），mg/kg	≤0.3	GB/T 5009.11
汞（以Hg计），mg/kg	≤0.3	GB/T 5009.17
六六六，mg/kg	≤0.01	GB/T 5009.19
滴滴涕，mg/kg	≤0.01	GB/T 5009.19

1 维生素C的测定：称取去包衣样品细粉0.2g，置于100mL容量瓶中，加2%草酸溶液至近刻度，超声提取10min，取出，用2%草酸定容至刻度，摇匀，离心，取上清液。加0.4g白陶土于上清液中，摇匀放置5min，过滤，吸取10mL滤液放入50mL锥形瓶中，用已标定过的2,6-二氯酚溶液滴定，直至溶液呈粉红色15sec不褪色为止。同时做空白试验。

【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	≤1000	GB 4789.2
大肠菌群, MPN/100g	≤40	GB/T 4789.3-2003
霉菌, cfu/g	≤25	GB 4789.15
酵母, cfu/g	≤25	GB 4789.15
致病菌（指沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌等）	不得检出	GB 4789.4、GB 4789.5、GB 4789.10、GB/T 4789.11

【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
10-羟基- α -癸烯酸, g/100g	≥0.8	1 10-羟基- α -癸烯酸的测定
左旋肉碱, g/100g	≥6.0	2 左旋肉碱的测定
原花青素, g/100g	≥3.5	3 原花青素的测定
维生素E（以d- α -生育酚琥珀酸酯计）, g/100g	≥3.5	4 维生素E的测定

1 10-羟基- α -癸烯酸的测定

1.1 原理：蜂王浆制品中10-羟基- α -癸烯酸用甲醇或二氯甲烷提取，于高效液相色谱仪中反相分离后，紫外检测，外标法定量。

1.2 仪器

1.2.1 高效液相色谱仪：附多波长紫外检测器

1.2.2 超声振荡器

1.2.3 微孔过滤器（滤膜0.45 μ m）

1.3 试剂

1.3.1 甲醇：色谱纯

1.3.2 水：三蒸水，经Milli-Q超纯处理。

1.3.3 二氯甲烷：分析纯

1.3.4 磷酸：优级纯

1.3.5 10-羟基- α -癸烯酸标准品：购自中国食品药品检定研究院

1.3.6 30%氢氧化钠

1.3.7 1mol/L盐酸

1.3.8 标准溶液：准确称取10-羟基- α -癸烯酸标准品12.5mg，置于25mL容量瓶中，用甲醇溶解摇匀并稀释至刻度，此储备液每1mL含10-羟基- α -癸烯酸为0.5mg。

1.4 色谱条件

- 1.4.1 色谱柱: Hypersil ODS 2 4.6mm×200mm, 5μm。
- 1.4.2 流动相: 甲醇-水-磷酸=50:50:0.2 (v/v/v)
- 1.4.3 检测器波长: 210nm
- 1.4.4 灵敏度: 0.001
- 1.4.5 流速: 1mL/min
- 1.4.6 进样量: 10μL
- 1.5 样品处理: 取样品10片, 除去包衣, 研细, 混匀, 准确称取100mg, 置于50mL容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至近刻度, 超声助溶, 放冷, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。
- 1.6 标准曲线的绘制: 分别准确吸取储备液0.1、0.2、0.3、0.4、0.6mL于10mL容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度使10-羟基-α-癸烯酸浓度5、10、15、20、30μg/mL, 各取10μL注入HPLC中, 以10-羟基-α-癸烯酸峰面积为纵坐标, 标准浓度为横坐标绘制标准曲线图。
- 1.7 样品测定: 以上样品提取液经滤膜(0.45μm)精滤后, 取10μL于HPLC进样测定, 记录组分峰面积, 在标准曲线上查出相应的10-羟基-α-癸烯酸的质量。
- 1.8 结果计算

$$X = \frac{M_1 \times n \times 100}{M \times 1000000}$$

式中:

X—10-羟基-α-癸烯酸含量, g/100g;

M₁—由标准曲线上查出相应的10-羟基-α-癸烯酸质量, μg;

n—稀释倍数;

M—样品质量, g;

1000000—换算系数, μg换算成g。

2 左旋肉碱的测定

2.1 原理: 试样中的左旋肉碱以无水甲醇回流提取, 反相色谱分离, 与标准品的保留时间比较定性, 以峰面积外标法定量。

2.2 试剂

除特殊说明, 所用试剂均为分析纯; 实验用水为去离子水或同等纯度的蒸馏水。

2.2.1 磷酸氢二钾

2.2.2 辛烷磺酸钠

2.2.3 无水甲醇

2.2.4 左旋肉碱标准溶液: 精密称取左旋肉碱标准品适量, 用甲醇溶解配制成每1mL含1.5mg的左旋肉碱标准品溶液, 摇匀, 即得。

2.3 仪器

2.3.1 HPLC系统: 附紫外检测器和色谱工作站

2.3.2 溶剂微孔过滤器带0.45μm水相滤膜

2.4 色谱条件

2.4.1 色谱柱: phenomenex Synergi 4u Fusion—RP80A C18, 4.6×250mm。

2.4.2 流动相: 流动相A (0.002mol/L辛烷磺酸钠与0.05mol/L磷酸氢二钾水溶液, 磷酸调pH为2.5~2.6) -流动相B (乙腈) =95:5

2.4.3 流速: 1.0mL/min

2.4.4 检测波长: 210nm

2.5 试样处理: 取样品10片, 除去包衣, 研细, 混匀, 取约0.7g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 加入无水甲醇35mL, 回流提取2h, 滤过, 滤渣以同样条件再提取3次 (2h、2h、1h), 合并滤液, 减压浓缩至约100mL, 转移至100mL容量瓶中, 加无水甲醇定容至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.6 样品测定: 精密吸取供试品溶液、对照品溶液各10μL, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。

2.7 结果计算

$$X = \frac{C \times V \times 100}{\text{—————}}$$

$$M \times 1000$$

式中:

X—样品中左旋肉碱的含量, g/100g;

M—样品质量, g;

C—样品处理液中肉碱的浓度, mg/mL;

V—样品处理液体积, mL。

3 原花青素的测定

3.1 原理: 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, 计算样品中原花青素含量。

3.2 试剂

3.2.1 甲醇: 分析纯

3.2.2 正丁醇: 分析纯

3.2.3 盐酸: 分析纯

3.2.4 硫酸铁铵溶液: 用浓度为2mol/L盐酸配成2% (w/v) 的溶液。

3.2.5 原花青素标准品

3.3 仪器

3.3.1 分光光度计

3.3.2 回流装置

3.4 样品处理: 取样品20片, 除去包衣, 研磨成粉状, 称取50mg样品, 置于50mL容量瓶中, 加入甲醇至刻度, 超声处理30min, 放冷至室温后, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 离心或放置至澄清后取上清液备用。

3.5 标准曲线的绘制: 称取原花青素标准品10mg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, 余同3.6项方法相同。

3.6 样品测定: 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波长处测定吸光度值, 由标准曲线计算试样中原花青素的含量, 显色在1h内稳定。

3.7 结果计算

$$X = \frac{m_1 \times v \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \times 100$$

式中:

X—样品中原花青素的含量, g/100g;

m_1 —反应混合物中原花青素的质量, μg ;

v—待测样液的总体积, mL;

m—样品质量, mg。

4 维生素E的测定

4.1 原理: 样品中的d- α -生育酚琥珀酸酯以甲醇超声提取, 反相色谱分离, 与标准品的保留时间比较定性, 以峰面积外标法定量。

4.2 试剂

除特殊说明, 所用试剂均为分析纯; 实验用水为去离子水或同等纯度的蒸馏水。

4.2.1 甲醇

4.2.2 冰醋酸

4.2.3 d- α -生育酚琥珀酸酯标准溶液: 精密称取d- α -生育酚琥珀酸酯标准品适量, 置于50mL容量瓶中, 加入甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得每1mL含d- α -生育酚琥珀酸酯0.27mg标准品溶液。

4.3 仪器

4.3.1 HPLC系统: 附紫外检测器和色谱工作站

4.3.2 溶剂微孔过滤器: 带0.45 μm 水相滤膜

4.4 色谱条件

4.4.1 色谱柱: 4.6mm×250mm×5μm, C18柱。

4.4.2 流动相: 甲醇-水-冰醋酸=98:1:1

4.4.3 流速: 1.0mL/min

4.4.4 检测波长: 284nm

4.5 样品处理: 取样品10片, 除去包衣, 研磨成粉状, 混匀, 取约0.5g, 精密称定, 置于50mL容量瓶中, 加入甲醇至近刻度, 静置1h后超声处理50min, 放冷, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

4.6 样品测定: 取10μL 4.5项下样品处理液注入色谱仪中, 以保留时间定性, 峰面积定量。

4.7 结果计算

$$X = \frac{C_{\text{标}} \times A_{\text{样}} \times V \times 100}{A_{\text{标}} \times M_{\text{样}} \times 1000}$$

式中:

X—样品中d-α-生育酚琥珀酸酯的含量, mg/g;

M_样—样品质量, g;

A_样—样品溶液的峰面积

A_标—标准品溶液的峰面积

C_标—标准品的浓度, mg/mL;

V—样品处理液体积, mL。

【保健功能】 缓解体力疲劳

【适宜人群】 易疲劳者

【不适宜人群】 少年儿童、孕妇、乳母

【食用方法及食用量】 每日2次, 每次3片, 口服

【规格】 0.35g/片

【贮藏】 密封

【保质期】 24个月
