

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20100494

御华叁草®淫羊藿灵芝西洋参片

【原料】 蝙蝠蛾拟青霉菌丝体粉、淫羊藿、灵芝、西洋参、螺旋藻粉、枸杞子、覆盆子、油菜花粉、乳酸锌

【辅料】 微晶纤维素、硬脂酸镁、欧巴代（聚乙烯醇、二氧化钛、滑石粉、聚乙二醇）

【生产工艺】 本品经辐照灭菌（⁶⁰Co，6kGy）、提取（灵芝、枸杞子、覆盆子分别加12、10倍量水煎煮提取2次，每次1.5h；淫羊藿、西洋参分别加10、8倍量70%乙醇回流提取2次，每次1.5h）、过滤、浓缩、喷雾干燥（进风温度170～190℃，出风温度75～85℃）、混合、制粒、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】 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	包衣呈褐色，片芯呈浅棕色至棕色，夹杂有白色颗粒，色泽均匀
滋味、气味	微苦，微腥
性状	包衣片剂，完整光洁，有适宜的硬度
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
蛋白质，%	≥17	GB 5009.5
水分，%	≤9	GB 5009.3

灰分，%	≤12	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. 1	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
粗多糖（以葡聚糖计），mg/100g	≥800	1 粗多糖的测定
腺苷，mg/100g	≥100	2 腺苷的测定
锌（以Zn计），mg/100g	65~100	GB/T 5009. 14
总皂苷（以人参皂苷Re计），mg/100g	≥400	3 总皂苷的测定

1 粗多糖的测定

1.1 试剂

除特殊注明外，所用试剂均为分析纯；所用水为去离子水或同等纯度蒸馏水。

1.1.1 乙醇溶液（80%）：20mL水中加入无水乙醇80mL，混匀。

1.1.2 氢氧化钠溶液（100g/L）：称取100g氢氧化钠，加水溶解并稀释至1L，加入固体无水硫酸钠至饱和，备用。

1.1.3 铜储备溶液：称取3. 0gCuSO₄·5H₂O、30. 0g柠檬酸钠，加水溶解并稀释至1L，混匀，备用。

1.1.4 铜试剂溶液：取铜储备溶液50mL，加水50mL，混匀后加入固体无水硫酸钠12. 5g并使其溶解。临用新配。

- 1.1.5 洗涤剂：取水50mL，加入10mL铜试剂溶液、10mL氢氧化钠溶液，混匀。
- 1.1.6 硫酸溶液（10%）：取100mL浓硫酸加入到800mL左右水中，混匀，冷却后稀释至1L。
- 1.1.7 苯酚溶液（50g/L）：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。
- 1.1.8 葡聚糖标准储备液：准确称取相对分子量 5×10^5 、已干燥至恒重的葡聚糖标准品0.5000g，加水溶解并定容至50mL，混匀，置冰箱中保存。此溶液1mL含葡聚糖10.0mg。
- 1.1.9 葡聚糖标准使用液：吸取葡聚糖标准储备液1.0mL，置于100mL容量瓶中，加水至刻度，混匀，置冰箱中保存。此溶液1mL含葡聚糖0.10mg。
- 1.2 仪器
- 1.2.1 分光光度计。
- 1.2.2 离心机：3000r/min。
- 1.2.3 旋转混匀器。
- 1.3 样品处理
- 1.3.1 样品提取：称取混合均匀的固体样品2.0g，置于100mL容量瓶中，加水80mL左右，于沸水浴上加热2h，冷却至室温后补加水至刻度，混匀，过滤，弃去初滤液，收集续滤液供沉淀粗多糖。
- 1.3.2 沉淀粗多糖：准确吸取3.1.3.1项终滤液5.0mL，置于50mL离心管中，加入无水乙醇20mL，混合5min后，以3000r/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3~4次。残渣用水溶解并定容至5.0mL，混匀后，供沉淀葡聚糖。
- 1.3.3 沉淀葡聚糖：准确吸取3.1.3.2项终滤液2mL，置于20mL离心管中，加入100g/L氢氧化钠溶液2.0mL、铜试剂溶液2.0mL，置沸水浴中煮沸2min，冷却，以3000r/min离心5min，弃去上清液。残渣用洗涤液数毫升洗涤，离心后弃去上清液，反复操作3次。残渣用10%（V/V）硫酸溶液2.0mL溶解并转移至50mL容量瓶中，加水稀释至刻度，混匀。此溶液为样品测定液。
- 1.4 标准曲线的绘制：准确吸取葡聚糖标准使用液0、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00mL（相当于葡聚糖0、0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10mg），分别置于25mL比色管中，准确补充水至2.0mL，加入50g/L苯酚溶液1.0mL，在旋转混匀器上混匀，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2min，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。以葡聚糖浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。
- 1.5 样品测定：准确吸取样品测定液2.0mL，置于25mL比色管中，加入50g/L苯酚溶液1.0mL，在旋转混匀器上混匀，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2min，冷却至室温，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。从标准曲线上查出葡聚糖含量，计算样品中粗多糖含量。同时做样品空白试验。
- 1.6 结果计算

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \times V_1 \times V_3 \times V_5}{m_3 \times V_2 \times V_4 \times V_6}$$

式中：

X—样品中粗多糖含量（以葡聚糖计），mg/g；

m_1 —样品测定液中葡聚糖质量，mg；

m_2 —样品空白液中葡聚糖质量，mg；

m_3 —样品质量，g；

V_1 —样品提取液总体积，mL；

V_2 —沉淀粗多糖所用样品提取液体积，mL；

V_3 —粗多糖溶液体积，mL；

V_4 —沉淀葡聚糖所用粗多糖溶液体积，mL；

V_5 —样品测定液总体积，mL；

V_6 —测定用样品测定液体积，mL。

2 腺苷的测定（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版））

2.1 范围

本方法规定了保健食品中腺苷的测定方法。

本方法适用于以冬虫夏草为主要原料的保健食品中腺苷的测定。

本方法的检出限：0.04 μ g。

本方法的线性范围：0.40~60.0 μ g/mL。

2.2 原理：将粉碎的胶囊、片剂试样使用乙醇-水进行提取，根据高效液相色谱紫外检测器定性定量检测。

2.3 试剂

除非另有说明，在分析中仅使用双蒸水。

2.3.1 磷酸二氢钾：分析纯。

2.3.2 无水乙醇：优级纯。

2.3.3 甲醇：优级纯。

2.3.4 提取液：乙醇-水=3:2。

2.3.5 腺苷标准溶液：准确称量腺苷标准品0.0100g，加入水溶解并定容至25mL。此溶液每mL含0.4mg腺苷。

2.4 仪器

2.4.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器（UV）。

2.4.2 超声波清洗器。

2.4.3 离心机。

2.5 分析步骤

2.5.1 试样处理：取20粒以上片剂或胶囊试样进行粉碎混匀，准确称取适量试样（精确至0.001g）于25mL容量瓶中，加入约20mL提取液，超声提取10min。取出后加入提取液定容至刻度，混匀后以3000r/min离心3min。经0.45 μ m滤膜过滤后供液相色谱分析用。

2.5.2 液相色谱参考条件

2.5.2.1 色谱柱：C₁₈柱，4.6 $\times$ 150mm，5 μ m。

2.5.2.2 柱温：室温。

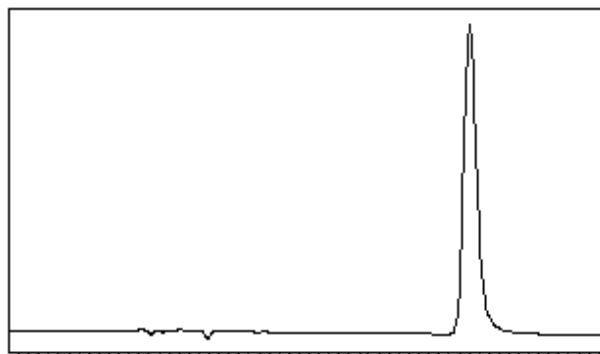
2.5.2.3 紫外检测器：检测波长254nm。

2.5.2.4 流动相：甲醇-0.01mol/L磷酸二氢钾溶液=10:90。

2.5.2.5 流速：1.0mL/min。

2.5.2.6 进样量：10 μ L。

2.5.2.7 色谱分析：取10 μ L标准溶液及试样溶液注入色谱仪中，以保留时间定性，以试样峰高或峰面积与标准比较定量。



腺苷标准溶液色谱图

2.5.3 标准曲线制备：分别配制浓度为0.400、2.00、4.00、20.0、60.0 μ g/mL腺苷标准溶液，在给定的仪器条件下进行液相色谱分析，以峰高或峰面积对浓度作标准曲线。

2.5.4 分析结果的表示

2.5.4.1 计算

$$X = \frac{h_1 \times C \times V \times 100}{h_2 \times m \times 1000}$$

式中:

X—试样中腺苷的含量, mg/100g;

h_1 —试样峰高或峰面积;

C—标准溶液浓度, $\mu\text{g/mL}$;

V—试样定容体积, mL;

h_2 —标准溶液峰高或峰面积;

m—试样质量, g。

2.5.4.2 结果表示: 计算结果保留三位有效数字。

2.6 技术参数

2.6.1 准确度: 方法的回收率在92.7%~98.3%之间。

2.6.2 允许差: 在重复性条件下获得的2次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 $\pm 10\%$ 。

3 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))

3.1 试剂

3.1.1 Amberlite-XAD-2大孔树脂, Sigma化学公司、U. S. A.。

3.1.2 正丁醇: 分析纯。

3.1.3 乙醇: 分析纯。

3.1.4 中性氧化铝: 层析用, 100~200目。

3.1.5 人参皂苷Re: 购自中国食品药品检定研究院。

3.1.6 香草醛溶液: 称取5g香草醛, 加冰乙酸溶解并定容至100mL。

3.1.7 高氯酸: 分析纯

3.1.8 冰乙酸: 分析纯

3.1.9 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。

3.2 仪器

3.2.1 比色计

3.2.2 层析柱

3.3 实验步骤

3.3.1 试样处理

3.3.1.1 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。

3.3.1.2 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。

3.3.2 柱层析: 用10mL注射器作层析管, 内装3cmAmberlite-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3.3.1), 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。

3.3.3 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。

3.3.4 标准管：吸取人参皂苷Re标准溶液（2.0mg/mL）100μL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“3.3.2柱层析…”起，与试样相同。测定吸光度值。

3.4 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，μg；

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。

【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. 蝙蝠蛾拟青霉

项 目	指 标
来源	蝙蝠蛾拟青霉（ <i>Paecilomyces hepiali</i> Chen & Dai）
制法	经深层发酵培养（25℃，pH5，72h）、分离、干燥、粉碎等主要工艺加工制成
感官要求	浅棕色至棕色均匀性粉末，具特有的气味、滋味，无异味，无肉眼可见杂色杂质
水分，%	≤8.0
灰分，%	≤8.0
蛋白质，g/100g	≥25
多糖（以无水葡萄糖计），g/100g	≥4
甘露醇类物质，g/100g	≥8
腺苷，mg/100g	≥220
铅（以Pb计），mg/kg	≤1.0
总砷（以As计），mg/kg	≤0.5
总汞（以Hg计），mg/kg	≤0.1
六六六，mg/kg	≤0.1
滴滴涕，mg/kg	≤0.1
其他污染物限量	符合GB 2762的规定
菌落总数，CFU/g	≤1000
大肠菌群，MPN/100g	≤40
霉菌，CFU/g	≤25
酵母，CFU/g	≤25
沙门氏菌	不得检出
志贺氏菌	不得检出
金黄色葡萄球菌	不得检出

溶血性链球菌

不得检出

2. 淫羊藿：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. 西洋参：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
5. 螺旋藻粉：应符合GB/T 16919《食用螺旋藻粉》的规定。
6. 枸杞子：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
7. 覆盆子：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
8. 油菜花粉：应符合GB 31636《食品安全国家标准 花粉》的规定。

项 目	指 标
来源	十字花科植物油菜(<i>Brassica campestris</i> L.)的干燥花粉
制法	经净选、干燥、辐照杀菌(^{60}Co , 6kGy)等主要工艺加工制成
色泽	黄色或棕黄色
菌落总数, CFU/g	≤ 1000
大肠菌群, MPN/g	≤ 4.3
霉菌, CFU/g	≤ 200

9. 乳酸锌：应符合GB 1903.11《食品安全国家标准 食品营养强化剂 乳酸锌》的规定。
10. 微晶纤维素：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
11. 硬脂酸镁：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
12. 欧巴代（聚乙烯醇、二氧化钛、滑石粉、聚乙二醇）：

项 目	指 标
来源	聚乙烯醇、二氧化钛、滑石粉、聚乙二醇
制法	经混合、包装等主要工艺加工制成
感官要求	棕色粉末
色差	$\text{DE} \leq 3.0$ 或目测合格
灰分, %	36.10~44.10
重金属, mg/kg	≤ 20
菌落总数, CFU/g	≤ 1000
大肠菌群, MPN/100g	≤ 40
霉菌和酵母, CFU/g	≤ 50
致病菌	不得检出