

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20090097

康圣牌核苷酸花粉胶囊

【原料】油菜花粉（经辐照）、核苷酸、维生素C（抗坏血酸）、硫酸锌、烟酰胺、维生素B₁（盐酸硫胺素）、维生素B₆（盐酸吡哆醇）、维生素B₂（核黄素）

【辅料】玉米淀粉、果胶酶、木瓜蛋白酶、糊精

【生产工艺】本品经粉碎、酶解（木瓜蛋白酶、果胶酶，40±2℃，48h）、干燥、辐照灭菌（⁶⁰Co，≤6 kGy）、混合、制粒、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	内容物呈黄色或棕黄色，色泽均匀
滋味、气味	具本品特有的清香气味，味酸，无异味
性状	硬胶囊，整洁，无粘结、变形、囊壳破裂现象；内容物为粉末
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，g/100g	≤8.0	GB 5009.3
灰分，g/100g	≤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	≤0.1	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
核苷酸, g/100g	≥24.7	1 核苷酸的测定
总黄酮（以芦丁计）, g/100g	≥1.08	2 总黄酮的测定
维生素B ₁ （盐酸硫胺）, g/100g	0.4312~0.8624	GB 5009.84
维生素B ₂ （核黄素）, g/100g	0.1184~0.2368	GB 5009.85
维生素B ₆ （盐酸吡哆醇）, g/100g	0.2376~0.4752	GB 5009.154
维生素C（抗坏血酸）, g/100g	8.232~16.464	GB 5009.86
烟酰胺, g/100g	0.88~1.76	GB 5009.89
锌（以Zn计）, g/100g	0.33~0.55	GB 5009.14

1 核苷酸的测定（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版））

1.1 范围

本方法规定了保健食品中核苷酸的高效液相色谱测定方法。

本方法适用于作为功效成分添加于婴幼儿配方奶粉中核苷酸的含量测定。

本方法检出限：胞嘧啶核苷（CMP）0.04μg/mL、尿嘧啶核苷（UMP）0.05μg/mL、腺嘌呤核苷（AMP）0.05μg/mL、鸟嘌呤核苷（GMP）0.06μg/mL、次黄嘌呤核苷（IMP）0.04μg/mL。

本方法线性范围：胞嘧啶核苷（CMP）0.992~12.4μg/mL、尿嘧啶核苷（UMP）1.17~14.6μg/mL、腺嘌呤核苷（AMP）1.01~12.6μg/mL、鸟嘌呤核苷（GMP）0.948~12.3μg/mL、次黄嘌呤核苷（IMP）1.30~16.3μg/mL。

1.2 原理：将试样溶解、去除蛋白后，使用氨基固相萃取柱对核苷酸进行净化富集，根据高效液相色谱紫外检测器在254nm处的响应进行定性定量。

1.3 试剂

除非另有说明，在分析中仅使用确定为分析纯的试剂和双蒸水。

1.3.1 甲醇：优级纯。

1.3.2 乙酸。

1.3.3 磷酸二氢钾。

1.3.4 磷酸氢二钾。

1.3.5 季铵盐固相萃取柱。

1.3.6 核苷酸标准储备溶液：准确称量经100℃，4h干燥处理的标准品胞嘧啶核苷（CMP）100mg，腺嘌呤核苷（AMP）、鸟嘌呤核苷（GMP）、次黄嘌呤核苷（IMP）各40mg，加水定容至100mL。

1.3.7 核苷酸标准使用液：将核苷酸标准储备溶液用0.25mol/L，pH=3的磷酸二氢钾稀释100倍。

1.4 仪器

1.4.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器（UV）。

1.5 分析步骤

1.5.1 试样处理

1.5.1.1 准确称取10g试样于100mL容量瓶中，加入约50℃热水80mL，彻底混匀。当试样液达到室温后用水定容至刻度。

1.5.1.2 准确吸取10mL试样溶液至100mL容量瓶中，加入0.5%乙酸5mL、水10mL，混匀后静置5min以沉淀蛋白。用水定容至刻度，混匀后过滤，弃去数mL初滤液后收集约30mL滤液。

1.5.1.3 将季铵盐固相萃取柱先用10mL甲醇、10mL水活化后，再将20mL试样滤液过滤，以1mL水清洗萃取柱，用0.25mol/L，pH=3.5磷酸二氢钾溶液洗脱出5mL滤液。全部过程需要控制流速1滴/秒。

1.5.2 液相色谱参考条件

1.5.2.1 色谱柱：C₁₈柱，3.9×150mm。

1.5.2.2 柱温：25℃。

1.5.2.3 紫外检测器：检测波长254nm。

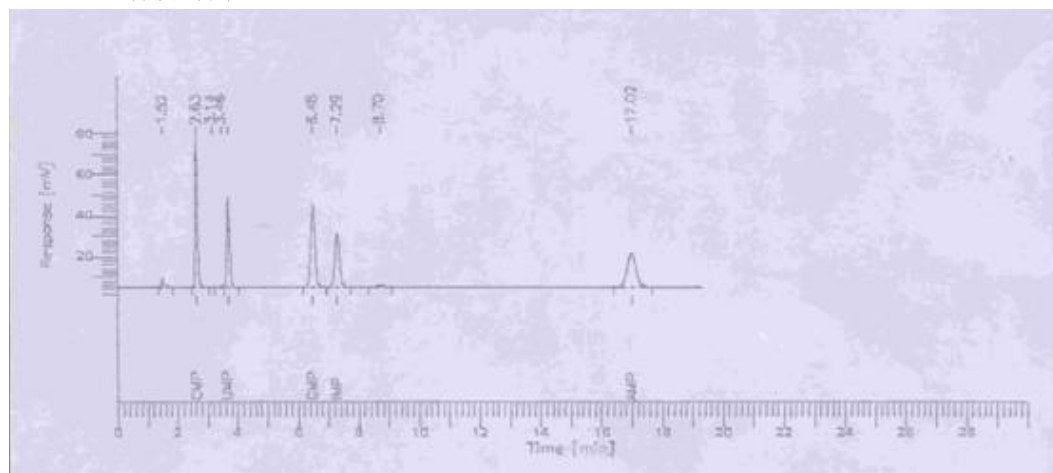
1.5.2.4 流动相：0.01mol/L磷酸二氢钾：0.1mol/L磷酸氢二钾=480:20。

1.5.2.5 流速：0.6mL/min。

1.5.2.6 进样量：10μL。

1.5.2.7 色谱分析：量取10μL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。

1.5.2.8 保留时间



在上述色谱条件下，5种核苷酸的保留时间见色谱图，浓度分别为胞嘧啶核苷（CMP）12.4μg/mL，腺嘌呤核苷（AMP）14.6μg/mL、鸟嘌呤核苷（GMP）12.6μg/mL、次黄嘌呤核苷（IMP）12.3μg/mL。

1.5.3 分别配制浓度为1.0、2.0、5.0、10.0、16.0μg/mL的4种核苷酸标准溶液，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。

1.6 分析结果表述

1.6.1 计算

$$X = \frac{h_1 \times C \times K \times 5 \times 100}{h_2 \times m \times 1000}$$

式中：

X—试样中核苷酸的含量，mg/100g；

h₁—试样峰高或峰面积；
C—标准溶液浓度，μg/mL；
K—稀释倍数；
h₂—标准溶液峰高或峰面积；
m—试样量，g。

1.6.2 结果表示：检测结果保留三位有效数字。

1.7 技术参数

回收率：回收率在85.0~96.7%之间。
使用相同方法对同一试样平行测定的绝对差值在平均值的10%范围内。

2 总黄酮的测定（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版））

2.1 试剂

2.1.1 聚酰胺粉

2.1.2 芦丁标准溶液：称取5.0mg芦丁（购自中国食品药品检定研究院），加甲醇溶解并定容至100mL，即得50μg/mL。

2.1.3 乙醇：分析纯。

2.1.4 甲醇：分析纯。

2.2 分析步骤

2.2.1 试样处理：挤出20粒样品内容物，研细，称取一定量的试样，加乙醇定容至25mL，摇匀后，超声提取20min，放置，吸取上清液1.0mL，于蒸发皿中，加1g聚酰胺粉吸附，于水浴上挥去乙醇，然后转入层析柱。先用20mL苯洗，苯液弃去，然后用甲醇洗脱黄酮，定容至25mL。此液于波长360nm测定吸收值。同时以芦丁为标准品，测定标准曲线，求回归方程，计算试样中总黄酮含量。

2.2.2 芦丁标准曲线：吸取芦丁标准溶液：0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL于10mL比色管中，加甲醇至刻度，摇匀，于波长360nm比色。求回归方程，计算试样中总黄酮含量。

2.3 计算和结果表示：

$$X = \frac{A \times V_2 \times 100}{V_1 \times M \times 1000}$$

式中：

X—试样中总黄酮的含量，mg/100g；
A—由标准曲线算得被测液中黄酮量，μg；
M—试样质量，g；
V₁—测定用试样体积，mL；
V₂—试样定容总体积，mL。

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”项下胶囊剂的规定。

【原辅料质量要求】

1. 油菜花粉：应符合GH/T 1014《蜂花粉》的规定。

2. 核苷酸

项 目	指 标
来源	核糖核酸（RNA）
制法	经5′-磷酸二酯酶酶解、分离、纯化、而制得的5′-腺苷酸、5′-胞苷酸、5′-尿苷酸二钠、5′-鸟苷酸二钠等核苷酸单体。将各种核苷酸单体按比例配合， 既得混合核苷酸
感官要求	白色结晶粉末

干燥失重，%	≤25.0
透光率，%	≥95.0
折干后配比	AMP：22.51±1%
	CMP：38.05±1%
	GMP：6.52±1%
	UMP：21.12±1%
	IMP：11.80±1%
核苷酸含量总和，%	≥98.0
重金属（以Pb计），mg/kg	≤10.0
砷（以As计），mg/kg	≤2.0
菌落总数，CFU/g	≤1000

3. 维生素C（抗坏血酸）：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
 4. 硫酸锌：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
 5. 烟酰胺：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
 6. 维生素B₁（盐酸硫胺）：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
 7. 维生素B₆（盐酸吡哆醇）：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
 8. 维生素B₂（核黄素）：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
 9. 玉米淀粉：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
 10. 果胶酶：应符合GB 1886.174《食品安全国家标准 食品添加剂食品工业用酶制剂》的规定。
 11. 木瓜蛋白酶：应符合GB 1886.174《食品安全国家标准 食品添加剂食品工业用酶制剂》的规定。
 12. 糊精：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
-