

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20060533

润馨堂牌褪黑素口服液

- 【原料】 褪黑素
- 【辅料】 蔗糖、柠檬酸、焦糖色、苯甲酸钠、纯化水
- 【生产工艺】 本品经溶解、混合、配制、过滤、灌装、热压灭菌（120℃，30min）、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】 钠钙玻璃管制口服液体瓶应符合YBB00032004的规定；口服液瓶用撕拉铝盖应符合YBB00382003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	褐色
滋味、气味	具微甜味
状态	澄明液体，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
pH值	5~7	《中华人民共和国药典》
可溶性固形物（20℃折光计法），%	≥11.00	GB/T 12143
铅（以Pb计），mg/kg	≤0.5	GB 5009.12
总砷(以As计)，mg/kg	≤0.3	GB 5009.11

总汞(以Hg计), mg/kg	≤0.3	GB 5009.17
苯甲酸钠, g/L	≤0.5	GB 5009.28

【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/mL	≤1000	GB 4789.2
大肠菌群, MPN/mL	≤0.43	GB 4789.3 “MPN计数法”
霉菌和酵母, CFU/mL	≤50	GB 4789.15
沙门氏菌	≤0/25g	GB 4789.4
金黄色葡萄球菌	≤0/25g	GB 4789.10

【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
褪黑素, mg/100mL	27.7~29.9	1 褪黑素的测定

1 褪黑素的测定（来源于《保健食品检验与技术评价规范》）

1.1 范围

本方法规定了以褪黑素为功效成分的胶囊或片剂包装的保健食品中褪黑素的测定方法。

本方法适用于以褪黑素为功效成分的胶囊或片剂包装的保健食品中褪黑素的含量测定。

本方法高效液相色谱-紫外检测法的检出限为0.5ng；取样量0.5g时，检出浓度为0.07mg/kg。本方法高效液相色谱-荧光法的检出限为30pg，线性范围为0.05~0.50ng。

第一篇 高效液相色谱-紫外检测法

1.2 原理：试样中的褪黑素经溶解、稀释、过滤后，使用具有紫外检测器的高效液相色谱仪检测，根据色谱峰的保留时间定性，外标法定量。

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蒸馏水或去离子水或相当纯度的水。

1.3.1 甲醇：色谱纯。

1.3.2 无水乙醇：优级纯。

1.3.3 三氟乙酸：优级纯。

1.3.4 高效液相色谱流动相：甲醇-水-三氟乙酸=45:55:0.05。

1.3.5 褪黑素（Melatonin）标准品：Sigma公司产品。

1.3.6 褪黑素标准溶液的配制：精确称量30mg褪黑素标准品于100mL容量瓶中，加入70%乙醇溶解后定容至刻度。准确吸取2mL上述溶液于10mL容量瓶中，加入流动相（1.3.4）定容至刻度，此溶液浓度为0.060mg/mL。

1.4 仪器

1.4.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器。

1.4.2 超声波清洗器。

1.4.3 离心机。

1.5 分析步骤

1.5.1 试样处理：使用研钵将片剂或胶囊研成粉末并使之混合均匀。

1.5.2 精确称量约一粒片剂或胶囊的重量于10mL容量瓶中，以70%乙醇定容至刻度，使用超声波清洗器提取10min。将提取液离心至澄清。准确量取上清液2mL于10mL容量瓶中，以流动相定容至刻度，混匀后经0.45μm滤膜过滤后进行色谱分析。

1.5.3 测定

1.5.3.1 液相色谱参考条件

1.5.3.1.1 色谱柱：C18，4.6mm×250mm。

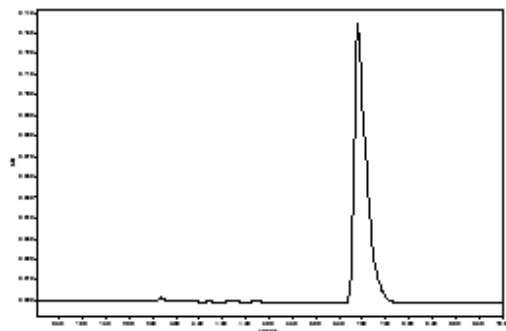
1.5.3.1.2 紫外检测器：检测波长：222nm。

1.5.3.1.3 流速：0.8mL/min。

1.5.3.1.4 柱温：室温。

1.5.3.2 色谱分析：量取10μL标准溶液及试样净化液注入高效液相色谱仪中，以保留时间定性，以试样峰高或峰面积与标准比较定量。

1.5.3.3 色谱图



褪黑素标准色谱图

1.6 分析结果的表述

1.6.1 计算

$$X = \frac{\frac{h}{hs} \times c \times 10 \times \frac{10}{2} \times 1000}{M} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X—试样中褪黑素的含量，mg/kg；
- h—试样的峰高或峰面积；
- hs—标准的峰高或峰面积；
- c—褪黑素标准溶液的浓度，mg/mL；
- m—试样质量，g。

1.6.2 结果表示：计算结果保留二位有效数字。

1.7 技术参数

准确度：本方法的回收率在92.7%~102.6%之间。

精密度：在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的5%。

第二篇 高效液相色谱荧光法

1.8 原理：试样中褪黑素经甲醇反复提取，制成甲醇溶液，按一定比例进行稀释后，注入高效液相色谱仪，经反相色谱分离，以荧光检测器进行检测，根据保留时间定性和与标准品峰面积比较进行定量。

1.9 试剂

1.9.1 甲醇：重蒸。

1.9.2 褪黑素标准品：纯度为99.7%。

1.9.2.1 储备溶液：精密称取褪黑素标准品0.0100g，用甲醇溶解并配成1g/L的储备溶液，于-20℃保存。

1.9.2.2 使用溶液：使用前精密量取一定量标准品储备溶液，根据褪黑素在仪器上的响应情况，用甲醇稀释成标准使用溶液。

1.10 仪器

1.10.1 高效液相色谱仪：附荧光检测器和微处理机。

1.10.2 离心机。

1.10.3 超声波清洗机。

1.11 试样制备：片剂研细备用；胶囊内容物混合均匀备用。

1.12 分析步骤

1.12.1 提取：精密称取试样0.2000g于5mL的刻度试管中，加甲醇约3mL，超声振荡10min，离心，取上清液于10mL容量瓶中，再加甲醇约3mL于残渣中，按前述方法重复提取2次，合并上清液，加甲醇至刻度，摇匀。取此溶液适量，用甲醇稀释并定容，制成试样溶液待测。

1.12.2 测定

1.12.2.1 高效液相色谱条件。

1.12.2.1.1 色谱柱：C18，4.6mm×250mm不锈钢柱。

1.12.2.1.2 流动相：甲醇。

1.12.2.1.3 流速：1mL/min。

1.12.2.1.4 进样量：10μL

1.12.2.1.5 检测器：荧光检测器，激发光波长286nm，发射光波长352nm。

1.12.2.2 色谱分析：将仪器调至最佳状态后，分别将10μL标准溶液及净化后试样液注入色谱仪中，以保留时间定性，以试样峰高或峰面积与标准比较定量。本方法线性范围为0.05-0.50ng。

1.13 分析结果的表述

1.13.1 计算

$$X = \frac{m_1 \times V_2 \times 1000}{m \times V_1 \times 1000} \times n \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

X—试样中褪黑素的含量，mg/kg；

m₁—被测样液中褪黑素的含量，ng；

m—试样重量，g；

V₁—样液进样体积，L；

V₂—试样稀释液总体积，mL

n—稀释倍数

1.13.2 结果表示：计算结果保留二位有效数字。

1.14 技术参数

准确度：本方法的回收率在93.4%~103.7%之间。

精密度：在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

【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“口服溶液剂 口服混悬剂 口服乳剂”的规定。

【原辅料质量要求】

1. 褪黑素：

项 目	指 标
来源	丙二酸二乙酯、丙烯腈
制法	经加成反应、氢化、偶合反应、环合、开环反应、脱羧反应、酰化反应、粗品、乙醇重结晶、烘干（0.04~0.08Mpa，50~60℃，2~3h）、包装等工艺制成。
感官要求	白色或类白色结晶粉末
得率，%	≥25.0
含量，%	≥99.5
粒度，目	80~120

熔点, °C	117~120
干燥失重, %	≤0.5
炽灼残渣, %	≤0.1
重金属, ppm	≤10
菌落总数, CFU/g	≤30000
大肠菌群, MPN/g	≤0.92
霉菌和酵母, CFU/g	≤50
沙门氏菌	≤0/25g
金黄色葡萄球菌	≤0/25g

2. 蔗糖：应符合GB 13104《食品安全国家标准 食糖》的规定。
3. 柠檬酸：应符合GB 1886.235《食品安全国家标准 食品添加剂 柠檬酸》的规定。
4. 苯甲酸钠：应符合GB 1886.184《食品安全国家标准 食品添加剂 苯甲酸钠》的规定。
5. 纯化水：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
6. 焦糖色：应符合GB 1886.64《食品安全国家标准 焦糖色》的规定。

确认打印

显示Office编辑区

返回上一页修改