

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20220020

千菌方牌硒酵母破壁灵芝孢子胶囊

【原料】 破壁灵芝孢子粉（经辐照）、富硒酵母

【辅料】 无

【生产工艺】 本品经过筛、混合、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 | 棕褐色 |
| 滋味、气味 | 具本品特有的滋味、气味，无异味 |
| 性状 | 硬胶囊，外观完整光洁；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，% | ≤9 | GB 5009.3 |
| 灰分，% | ≤10 | 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 |
| 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 |
|---------------------|-----------|------------|
| 粗多糖 (以葡萄糖计), g/100g | ≥0.70 | 1 粗多糖的测定 |
| 硒 (以Se计), mg/100g | 0.80-2.30 | GB 5009.93 |
| 总三萜 (以熊果酸计), g/100g | ≥1.80 | 2 总三萜的测定 |

1 粗多糖的测定

1.1 原理: 多糖经乙醇沉淀分离后, 去除其他可溶性糖及杂质的干扰, 再与苯酚-硫酸作用成橙红色化合物, 其呈色强度与溶液中糖的浓度成正比, 在485nm波长下比色定量。

1.2 仪器

- 1.2.1 离心机: 4000r/min。
- 1.2.2 离心管: 50mL或具塞15mL。
- 1.2.3 分光光度计。
- 1.2.4 水浴锅。
- 1.2.5 旋涡混合器

1.3 试剂

实验用水为双蒸水; 所用试剂为分析纯级。

- 1.3.1 无水乙醇。
- 1.3.2 80% (V/V) 乙醇溶液。
- 1.3.3 葡萄糖标准液: 准确称取干燥恒重的分析纯葡萄糖0.5000g, 加水溶解, 并定容至50mL, 此溶液1mL含10mg 葡萄糖, 用前稀释100倍为使用液 (0.1mg/mL)。
- 1.3.4 5%苯酚溶液 (W/V): 称取精致苯酚5.0g, 加水溶解并稀释至100mL, 混匀。溶液至冰箱中可保存1个月。
- 1.3.5 浓硫酸 (比重1.84)。
- 1.3.6 0.2mol/L磷酸盐缓冲液 (pH6.5): 31.5mL (0.2mol/L) 磷酸氢二钠与68.5mL (0.2mol/L) 磷酸二氢钠混合

1.4 测定步骤

1.4.1 样品提取: 称取混合均匀的样品1.0-2.0g, 置于100mL容量瓶中, 加水80mL左右, 于沸水浴中加热1h, 冷却至室温后补加水至刻度 (V_1), 混匀后过滤, 弃去初滤液, 收集余下滤液供沉淀粗多糖。

1.4.1.1 添加淀粉或淀粉+糊精的样品: 可取50mL样品提取液置于100mL具塞锥形瓶中, 冷却至60℃以下, 加1mL10%淀粉酶液和0.5mL0.2M磷酸盐缓冲液, 加塞, 置55℃-60℃酶解1h, 再加适量的糖化酶于60℃以下再水解60min后取出 (用碘液检验是否水解完全, 如不完全延长水解时间至酶解液加碘液不变蓝色为止), 于电炉上小心加热至沸, 冷却, 定容, 过滤, 取滤液沉淀粗多糖。

1.4.1.2 添加糊精的样品: 如上法处理 (免加淀粉酶)。

1.4.2 沉淀粗多糖: 准确吸取上滤液5.0mL (V_2), 置于50mL离心管中 (或2.0mL于15mL具塞离心管中),

加入无水乙醇20mL（或8mL），混匀，于4℃冰箱静置4h以上，以4000r/min离心5min，弃去上清液，残渣用80%（V/V）乙醇溶液数毫升洗涤，离心后弃去上清液，反复操作3次。残渣用水溶解并定容至10-25mL（V₃）。

1.4.3 标准曲线的绘制：准确吸取葡萄糖标准使用液0mL、0.10mL、0.20mL、0.40mL、0.60mL、0.80mL、1.0mL置于25mL比色管中，补加水至2.0mL，加入5%苯酚溶液1.0mL，在旋涡混合器中混匀，小心加入浓硫酸10mL在旋涡混合器中混匀，置沸水浴中加热2min，冷却至室温，用分光光度计在485nm波长处以试剂空白为参比，1cm比色皿测定吸光度值。以葡萄糖质量为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。

1.4.4 样品测定：准确吸取上液适量（V₄）（含糖0.02~0.08mg），置于25mL比色管中，补加水至2.0mL，然后按1.4.3法测定吸光度值。从标准曲线上查出葡萄糖含量，计算样品中粗多糖含量。

1.5 结果计算

$$X = \frac{m_1 \times V_1 \times V_3}{m_2 \times V_2 \times V_4} \times 0.9 \times 100$$

式中：

X—样品中粗多糖含量，mg/100g（mL）；

m₁—样品测定液中葡萄糖的质量，mg；

m₂—样品质量，g或mL；

V₁—样品提取液总体积，mL；

V₂—沉淀粗多糖所用样品提取液体积，mL；

V₃—粗多糖溶液体积，mL；

V₄—测定用样品液体积，mL；

0.9—葡萄糖换算为粗多糖的系数。

2 总三萜的测定

2.1 原理：将样品溶于乙酸乙酯中并于100℃水浴上蒸干后，加入5%香草醛-冰乙酸溶液和高氯酸，在65℃水浴加热45min后移入冰水浴中，再加入冰乙酸置室温15min，然后用分光光度计测定样品中的三萜含量。

2.2 试剂

除非另有说明，本附录中规定使用分析纯的试剂和符合GB/T 6682中蒸馏水。

2.2.1 熊果酸标准品。

2.2.2 高氯酸（分析纯）。

2.2.3 冰醋酸（分析纯）。

2.2.4 乙酸乙酯（分析纯）。

2.3 仪器

2.3.1 可见分光光度仪。

2.4 对照品溶液的制备与标准曲线的绘制：精密称取熊果酸标准品11.7mg置100mL容量瓶中，加乙酸乙酯溶解并稀释至刻度，摇匀，制成0.117mg/mL的标准品溶液。分别吸取0.00mL、0.10mL、0.20mL、0.40mL、0.50mL标准品溶液，于60℃水浴上蒸干后，加入0.40mL5%香草醛-冰乙酸和高氯酸1.00mL，在65℃水浴中加热45min并移入冰水浴中，再加入冰乙酸5.00mL，摇匀并置于室温，15min后用分光光度计于548nm波长下测定标准品溶液的吸光度。根据测定的结果分别以浓度和吸光度绘制标准曲线。

2.5 样品溶液的制备与测定：取样品内容物约1.0g，准确称取0.3-0.5g，置于50mL容量瓶中，加约30mL氯仿，用超声（250w，40KHz）震动30min，取出，放冷至室温，然后用氯仿稀释至刻度，摇匀、过滤，弃去初滤液，取上清液0.3-0.5mL置于10mL比色管中，再取3mL稀释至10mL混匀。从该10mL溶液中取出1mL作为供试品溶液，于60℃水浴上蒸干后，加入5%香草醛-冰醋酸0.40mL和1.00mL高氯酸，在65℃水浴加热15min后移入冰水浴中，再加入5.00mL冰醋酸，摇匀并置于室温15-30min内，然后用分光光度计于548nm波长下测试样品溶液的吸光度。

2.6 计算

样品中灵芝三萜含量以质量分数W计，单位以克每百克（%）表示，按公式（1）计算：

$$X = \frac{A_1 \times V_1 \times 100\%}{m \times V_2 \times 1000\%} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X—总三萜化合物（以熊果酸计），mg/100g；

A₁—样品测定液中比色相当于熊果酸的量，μg；

V₁—样品测定液体积，mL；

m—样品质量，mg；

V₂—测定用样品测定液体积，mL；

1000—μg换算成mg的换算系数。

“胶囊剂”的规定。

【原辅料质量要求】

1. 破壁灵芝孢子粉（经辐照）

| 项 目 | 指 标 |
|-----------------|---|
| 来源 | 灵芝孢子粉 |
| 制法 | 经淘洗、滤水、烘干（50℃）、破壁（超微粉碎机超低温-15~-25℃破壁）、除重金属、过筛、包装、辐照灭菌（ ⁶⁰ Co, 6kGy）、检验合格、入库等主要工艺制成 |
| 感官要求 | 棕褐色粉末 |
| 水分, % | ≤9 |
| 灰分, % | ≤10 |
| 破壁率, % | ≥95 |
| 粗多糖（以葡萄糖计）, % | ≥0.40 |
| 铅（以Pb计）, mg/kg | ≤2.0 |
| 总砷（以As计）, mg/kg | ≤1.0 |
| 总汞（以Hg计）, mg/kg | ≤0.3 |
| 细菌总数, CFU/g | ≤30000 |
| 霉菌和酵母, CFU/g | ≤50 |
| 大肠菌群, MPN/g | ≤0.92 |

2. 富硒酵母：应符合GB 1903.21《食品安全国家标准 食品营养强化剂 富硒酵母》的规定，硒含量≥0.2%。
