

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20210132

佑元牌蛹虫草破壁灵芝孢子粉胶囊

- 【原料】 蛹虫草粉（经辐照）、破壁灵芝孢子粉（经辐照）
- 【辅料】 硬脂酸镁
- 【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	内容物呈棕黄色至棕褐色
滋味、气味	具有本品特有的香气，无异味
性状	硬胶囊，完整、无破裂；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，%	≤7	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
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
腺苷, mg/100g	≥21	《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版）中“保健食品中腺苷的测定”
粗多糖（以葡萄糖计）, g/100g	≥2.8	1 粗多糖的测定

1 腺苷的测定（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：0.04μg。

本方法的线性范围：0.40~60.0μg/mL。

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

1.3 试剂

除非另有说明，在分析中仅使用双蒸水。

1.3.1 磷酸二氢钾：分析纯。

1.3.2 无水乙醇：优级纯。

1.3.3 甲醇：优级纯。

1.3.4 提取液：乙醇-水=3：2。

1.3.5 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。

1.4 仪器

1.4.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器（UV）。

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：取20粒以上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0.45μm滤膜过滤后供液相色谱分析用。

1.5.2 液相色谱参考条件

1.5.2.1 色谱柱：C₁₈柱，4.6×150mm，5μm。

1.5.2.2 柱温：室温。

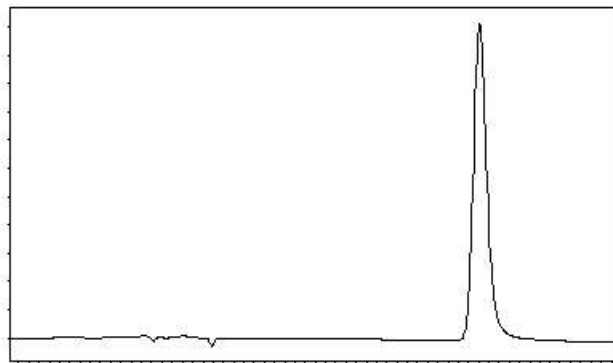
1.5.2.3 紫外检测器：检测波长254nm。

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

1.5.2.5 流速：1.0mL/min。

1.5.2.6 进样量：10μL。

1.5.2.7 色谱分析：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。



腺苷标准溶液色谱图

1.5.3 标准曲线制备：分别配制浓度为0.400、2.00、4.00、20.0、60.0μg/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。

1.5.4 分析结果的表示

1.5.4.1 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，μg/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。

1.5.4.2 结果表示：计算结果保留三位有效数字。

1.6 技术参数

1.6.1 准确度：方法的回收率在92.7%~98.3%之间。

1.6.2 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±10%。

2 粗多糖的测定

2.1 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，糖与硫酸在沸水浴中加热脱水生成羟甲基呋喃甲醛（羟甲基糖醛），再与蒽酮缩合成蓝绿色化合物，其呈色强度与溶液中糖的浓度呈正比，在620nm波长下比色定量。

2.2 试剂

除特殊注明外，本方法所用试剂均为分析纯；实验用水为双蒸水。

2.2.1 无水乙醇。

2.2.2 80%乙醇溶液（v/v）。

2.2.3 80%硫酸（w/v）。

2.2.4 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含葡萄糖10mg，用前稀释100倍为使用液（0.1mg/mL）。

2.2.5 0.1%蒽酮硫酸溶液（w/v）：准确称取0.1g蒽酮，置于烧杯中，缓慢加入100mL80%硫酸溶解，溶解后呈黄色透明溶液，现用现配。

2.3 仪器

- 2.3.1 离心机：4000r/min。
- 2.3.2 50mL离心管或15mL具塞离心管。
- 2.3.3 分光光度计。
- 2.3.4 水浴锅。
- 2.3.5 旋涡混合器。
- 2.4 标准曲线的制备：准确吸取葡萄糖标准使用液0、0.20、0.40、0.60、0.80、1.0、1.2mL（相当于葡萄糖0、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10、0.12mg），置于10mL比色管中，加水至2.0mL，加入0.1%蒽酮硫酸溶液6mL，在旋涡混合器上混匀，在沸水浴中加热10min，取出在流水中冷却20min后，在620nm波长处，以试剂空白溶液为参比，1cm比色皿测定吸光度值。以葡萄糖质量为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。
- 2.5 样品处理
- 2.5.1 样品提取：准确称取适量样品粉末，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，收集续滤液。取50mL样品提取液置于100mL具塞锥形瓶中，冷却至60℃以下，加适量的糖化酶（如葡萄糖苷酶）（约为样液体积的1%）于60℃以下再水解60min后取出（用碘液检验是否水解完全，如不完全可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（灭酶），冷却，定容，过滤，取滤液沉淀粗多糖。
- 2.5.2 沉淀粗多糖：准确吸取2.5.1项续滤液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，离心后弃上清液，反复操作3次，残渣用水溶解并定容至10~25mL（ V_3 ）（根据糖浓度而定）。
- 2.6 样品测定：准确吸取样品待测液2.0mL（含糖20~100μg），按2.4项标准曲线的制备步骤于620nm波长下测定吸光度值并求出样品含糖量。
- 2.7 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（以葡萄糖计），mg/100g；
- m_1 —样品测定液中葡萄糖的质量，mg；
- m_2 —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 —测定用样品液体积，mL；
- 0.9—葡萄糖换算为粗多糖的系数。

【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. 蛹虫草粉（经辐照）

项 目	指 标
来源	人工培养的蛹虫草子实体
制法	经干燥、粉碎、过筛、包装、辐照灭菌（ ^{60}Co ，6kGy）等主要工艺制成
感官要求	黄色或者桔黄色粉末，具有特香味，无异味，无正常视力可见外来异物。
腺苷，mg/100g	≥ 55
水分，%	≤ 8
灰分，%	≤ 10
多糖，%	≥ 2.5
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
菌落总数, CFU/g	≤30000
大肠菌群, MPN/g	≤0.92
霉菌和酵母, CFU/g	≤50
金黄色葡萄球菌	≤0/25g
沙门氏菌	≤0/25g

2. 破壁灵芝孢子粉（经辐照）

项 目	指 标
来源	灵芝孢子粉
制法	经去杂、真空干燥（<-0.06MPa、50℃、10 h）、过筛、破壁、包装、辐照灭菌（ ⁶⁰ Co, 6 kGy）等主要工艺制成
感官要求	棕褐色粉状物，自然松散，无结块、无杂质，无沙砾等异物触手的感觉，具有灵芝特殊的气味、无异味、微苦
多糖, g/100g	≥2
破壁率, %	≥95
水分, %	≤8.0
灰分, %	≤5.0
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
菌落总数, CFU/g	≤30000
大肠菌群, MPN/g	≤0.92
霉菌和酵母, CFU/g	≤50
金黄色葡萄球菌	≤0/25g
沙门氏菌	≤0/25g

3. 硬脂酸镁：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
