

国家市场监督管理总局 保健食品产品技术要求

国食健注G20070269

精正牌灵芝蝙蝠蛾拟青霉菌丝体颗粒

【原料】 灵芝、灵芝孢子粉、蝙蝠蛾拟青霉菌丝体粉

【辅料】 乳糖、糊精

【生产工艺】 本品经提取（加10、8倍量水煎煮2次，第一次浸泡30min，每次2h）、过滤、浓缩、混合、制粒、干燥（70~80℃，40~60min）、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】 铝塑复合膜应符合YBB00192004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	微苦，回味微甜，具灵芝和虫草菌粉固有的气味
状态	颗粒及少许粉末；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
粒度	不能通过一号筛与能通过五号筛的总和不超过15%	《中华人民共和国药典》
溶化性	5min内可全部溶化或轻微浑浊，不得有异物、焦屑	《中华人民共和国药典》
水分，g/100g	≤5.0	GB 5009.3

灰分, g/100g	≤5.0	GB 5009.4
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

【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	≤1000	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。

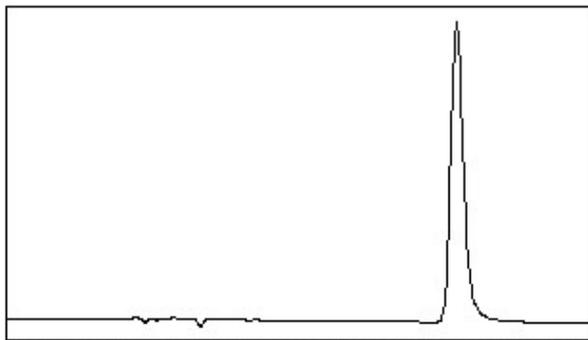
表4 标志性成分含量测定

项 目	指 标	检测方法
粗多糖(以葡萄糖计), g/100g	≥26.6	1 粗多糖的测定
腺苷, mg/100g	≥30.6	2 腺苷的测定

1 粗多糖的测定 1.1 原理: 样品中相对分子量大于 1×10^4 的高分子物质在80%乙醇溶液中沉淀, 与水溶液中单糖和低聚糖分离, 用碱性二价铜试剂选择性地从其他高分子物质中沉淀具有葡聚糖结构的多糖, 用苯酚-硫酸反应, 以碳水化合物形式比色测定其含量, 其显色强度与粗多糖中葡聚糖的含量成正比, 以此计算样品中粗多糖的含量。 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 试剂 除特殊注明外, 本方法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。 1.3.1 乙醇溶液(80%): 20mL水中加入无水乙醇80mL, 混匀。 1.3.2 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。 1.3.3 铜试剂储备液: 称取3.0g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、30.0g柠檬酸钠, 加水溶解并稀释至1L, 混匀, 备用。 1.3.4 铜试剂溶液: 取铜试剂储备液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。 1.3.5 洗涤剂: 取水50mL, 加入10mL铜试剂溶液、10mL氢氧化钠溶液, 混匀。 1.3.6 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。 1.3.7 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。 1.3.8 葡萄糖标准储备液: 准确称取已干燥至恒重的葡萄糖标准品0.5000g, 加水溶解并定容至50mL, 混匀, 置冰箱中保存。此溶液1mL含葡萄糖10.0mg。 1.3.9 葡萄糖标准使用液: 吸取葡萄糖标准储备液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含葡萄糖0.10mg。 1.4 样品处理 1.4.1 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, 置沸水浴上加热2h, 冷却至室温后补加水至刻度, 混匀后, 过滤, 弃去初滤液, 收集续滤液供沉淀粗多糖。 1.4.2 沉淀粗多糖: 准确吸取1.4.1项续滤液5.0mL, 置于50mL离心管中, 加入无水乙醇20mL, 混匀5min后, 以3000r/min离心5min, 弃去上清液。残渣用80%乙醇溶液数毫升洗涤, 离心后弃去上清液, 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。 1.4.3 沉淀葡聚糖: 准确吸取1.4.2项终溶液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。残渣用洗涤剂数毫升洗涤, 离心后弃去上清液, 反复操作3次, 残渣用10%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。 1.5 标准曲线的绘制: 准确吸取葡萄糖标准使用液0、

0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00mL（相当于葡萄糖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，然后再小心加入浓硫酸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。以葡萄糖浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。1.6 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，然后再小心加入浓硫酸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萄糖含量，计算样品中粗多糖含量。同时做样品空白试验。1.7 结果计算 $(M_1 - M_2) \times V_1 \times V_3 \times V_5 \times 100 \times X = \frac{M_3 \times V_2 \times V_4 \times V_6}{V_3 \times V_4 \times V_5 \times V_6}$ 式中：X—样品中粗多糖含量（以葡萄糖计），mg/100g；M₁—样品测定液中葡萄糖的质量，mg；M₂—样品空白液中葡萄糖的质量，mg；M₃—样品质量，g；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—沉淀葡聚糖所用粗多糖溶液体积，mL；V₅—样品测定液总体积，mL；V₆—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：0.04μg。本方法的线性范围：0.40~60.0μg/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0.45μm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，4.6×150mm，5μm。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：10μL。2.5.2.7 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



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、60.0μg/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。2.5.4 分析结果的表示 2.5.4.1 计算 $h_1 \times C \times V \times 100 \times X = \frac{h_2 \times m \times 1000}{V}$ 式中：X—试样中腺苷的含量，mg/100g；h₁—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；h₂—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±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”项下颗粒剂的规定。

【原辅料质量要求】

1. 灵芝：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
2. 灵芝孢子粉：

项目	指标
来源	多孔菌科真菌赤芝 <i>Ganoderma lucidum</i> (Leyss. ex Fr.) Karst. 或紫芝 <i>Ganoderma sinense</i> Zhao, Xu et Zhang的孢子
制法	套袋采收（在灵芝菌盖边缘黄白色生长圈消失后15d左右，有孢子粉弹射时开始套袋采收，25-33℃，湿度75-85%，15d左右采收一次）、过筛除杂、干燥（50-60℃）、包装等主要工艺制成。
感官要求	黄褐色粉末，味苦，具有灵芝特有的气味，无正常视力可见外来异物
多糖，g/100g	≥0.5
粒度（目）	200
水分，g/100g	≤9.0
灰分，g/100g	≤5.0
铅（以Pb计），mg/kg	≤0.5
总砷（以As计），mg/kg	≤0.3
总汞（以Hg计），mg/kg	≤0.3
菌落总数，CFU/g	≤1000
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. 蝙蝠蛾拟青霉菌丝体粉：应符合WS₃-C₁-0001-95（Z）《发酵虫草菌粉（C₅-4）》的规定。

4. 乳糖：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

5. 糊精：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

