

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20200388

天真牌灵芝孢子蝙蝠蛾拟青霉菌西洋参胶囊

【原料】 破壁灵芝孢子粉(经辐照)、蝙蝠蛾拟青霉菌粉、西洋参提取物

【辅料】 玉米淀粉、硬脂酸镁

【生产工艺】 本品经过筛、混合、制粒、干燥、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】 药用塑料瓶应符合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	内容物呈褐色
滋味、气味	具本品特有的滋味、气味，无异味
性状	硬胶囊，完整光洁，无裂变，无霉变，内容物为颗粒和粉末
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，%	≤9.0	GB 5009.3
灰分，%	≤5.0	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	≤0.1	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”
霉菌和酵母, CFU/g	≤50	GB 4789.15
金黄色葡萄球菌	≤0/25	GB 4789.10
沙门氏菌	≤0/25	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），mg/100g	≥623	1 粗多糖的测定
总皂苷（以人参皂苷Re计），g/100g	≥0.9	2 总皂苷的测定
腺苷, mg/100g	≥40	3 腺苷的测定

1 粗多糖的测定

1.1 原理：按《保健食品功效成分检测方法》（白鸿主编）规定的方法进行测定。

1.2 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。

1.2.1 无水乙醇。

1.2.2 80%（V/V）乙醇溶液。

1.2.3 80%（W/V）硫酸。

1.2.4 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10mg葡萄糖，用前稀释100倍为使用液（0.1mg/mL）

1.2.5 0.1%蒽酮硫酸溶液（W/V）：准确称取0.1g蒽酮置于小烧杯中，缓缓加入100mL 80%硫酸溶液，溶解后呈黄色透明溶液。现用现配

1.3 仪器

1.3.1 容量瓶、离心管、比色管。

1.3.2 电炉。

1.3.3 水浴锅。

1.4 标准曲线的绘制：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，补加水至2.0mL，加入0.1%蒽酮硫酸溶液6mL，混匀，置沸水浴中加热10min，取出，在流水中冷却20min后，用分光光度计在625nm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。

1.5 样品处理

1.5.1 样品提取：称取混合均匀的胶囊内容物2.0g，置于100mL容量瓶中，加水80mL左右，于沸水浴中加热30min，取50mL提取液置于100mL具塞锥形瓶中，冷却至60℃以下，加1mL 10%淀粉酶和0.5mL 0.2M磷酸盐缓冲液，加塞，置55~60℃酶解1h，再加适量的糖化酶（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，冷却，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

1.5.2 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20mL（ V_3 ）。

1.6 样品测定：准确吸取样品待测液2.0mL（ V_4 ），置于10mL比色管中，按标准曲线绘制步骤于625nm波长下测定吸光度值，计算样品中粗多糖含量

1.7 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，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总体积，mL；

V_3 —粗多糖溶液体积，mL；

V_4 —测定用样品溶液体积，mL。

2 总皂苷的测定（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版））

2.1 试剂

2.1.1 Amberlite-XAD-2大孔树脂，Sigma化学公司、U.S.A.。

2.1.2 正丁醇：分析纯。

2.1.3 乙醇：分析纯。

2.1.4 中性氧化铝：层析用，100~200目。

2.1.5 人参皂苷Re：购自中国食品药品检定研究院。

2.1.6 香草醛溶液：称取5g香草醛，加冰乙酸溶解并定容至100mL。

2.1.7 高氯酸：分析纯

2.1.8 冰乙酸：分析纯

2.1.9 人参皂苷Re标准溶液：精确称取人参皂苷Re标准品0.020g，用甲醇溶解并定容至10.0mL，即每毫升含人参皂苷Re2.0mg。

2.2 仪器

2.2.1 比色计。

2.2.2 层析柱。

2.3 实验步骤

2.3.1 试样处理：称取1.000g左右的试样（根据试样含人参量定），置于100mL容量瓶中，加少量水，超声30min，再用水定容至100mL，摇匀，放置，吸取上清液1.0mL进行柱层析。

2.3.2 柱层析：用10mL注射器作层析管，内装3cmAmberlite-XAD-2大孔树脂，上加1cm中性氧化铝。先用25mL70%乙醇洗柱，弃去洗脱液，再用25mL水洗柱，弃去洗脱液，精确加入1.0mL已处理好的试样溶液（见2.3.1），用25mL水洗柱，弃去洗脱液，用25mL70%乙醇洗脱人参皂苷，收集洗脱液于蒸发皿中，置于60℃水浴挥干。以此作显色用。

2.3.3 显色：在上述已挥干的蒸发皿中准确加入0.2mL5%香草醛冰乙酸溶液，转动蒸发皿，使残渣都溶解，再加0.8mL高氯酸，混匀后移入5mL带塞刻度离心管中，60℃水浴上加热10min，取出，冰浴冷却后，准确加入冰乙酸5.0mL，摇匀后，以1cm比色池于560nm波长处与标准管一起进行比色测定。

2.3.4 标准管：吸取人参皂苷Re标准溶液（2.0mg/mL）100μL放蒸发皿中，放在水浴挥干（低于60℃），或热风吹干（勿使过热），以下操作从“2.3.2柱层析…”起，与试样相同。测定吸光度值。

2.4 计算：

$$X = \frac{A_1}{A_2} \times C \times \frac{V}{m} \times \frac{100}{1000} \times \frac{1}{1000}$$

式中：

X—试样中总皂苷含量（以人参皂苷Re计），g/100g；

A₁—被测液的吸光度值；

A₂—标准液的吸光度值；

C—标准管人参皂苷Re的量，μg；

V—试样稀释体积，mL；

m—试样质量，g。

计算结果保留二位有效数字。

3 腺苷的测定（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版））

3.1 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。

3.2 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。

3.3 试剂

除非另有说明，在分析中仅使用双蒸水。

3.3.1 磷酸二氢钾：分析纯。

3.3.2 无水乙醇：优级纯。

3.3.3 甲醇：优级纯。

3.3.4 提取液：乙醇-水=3:2。

3.3.5 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。

3.4 仪器

3.4.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器（UV）。

3.4.2 超声波清洗器。

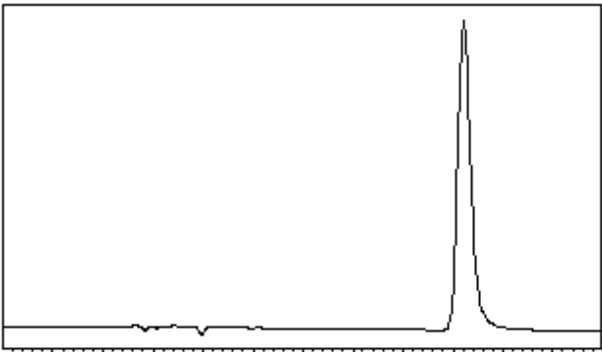
3.4.3 离心机。

3.5 分析步骤

3.5.1 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。

3.5.2 液相色谱参考条件

- 3.5.2.1 色谱柱：C₁₈柱，4.6×150mm，5μm。
- 3.5.2.2 柱温：室温。
- 3.5.2.3 紫外检测器：检测波长254nm。
- 3.5.2.4 流动相：甲醇-0.01mol/L磷酸二氢钾溶液=10:90。
- 3.5.2.5 流速：1.0mL/min。
- 3.5.2.6 进样量：10μL。
- 3.5.2.7 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

3.5.3 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。

3.5.4 分析结果的表示

3.5.4.1 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；
- 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。

- 3.5.4.2 结果表示：计算结果保留三位有效数字。
- 3.6 技术参数
 - 3.6.1 准确度：方法的回收率在92.7%~98.3%之间。
 - 3.6.2 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“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【赤芝： <i>Ganoderma lucidum</i> (<i>Leyss. ex Fr.</i>) <i>Karst</i> 】
制法	经减压干燥（50~70℃，-0.04~0.10MPa，5~7h）、物理破壁、分装、辐照灭菌（ ⁶⁰ Co，6kGy）、包装等主要工艺制成
感官要求	棕黄色粉末
粗多糖（以葡萄糖计），g/100g	≥1.0
破壁率，%	≥95.0
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
六六六，mg/kg	≤0.1
滴滴涕，mg/kg	≤0.1
菌落总数，CFU/g	≤3×10 ⁴
霉菌和酵母，CFU/g	≤50
大肠菌群，MPN/g	≤0.92
沙门氏菌	≤0/25g
金黄色葡萄球菌	≤0/25g

2. 蝙蝠蛾拟青霉菌粉：应符合WS3-181(Z-60)-94(Z)《发酵虫草菌粉》的规定。

3. 西洋参提取物

项 目	指 标
来源	西洋参 <i>Panax quinquefolium L.</i> 应符合《中华人民共和国药典》的规定
制法	经粉碎、提取（75%乙醇回流提取3次，第1次10倍量2h，第2、3次8倍量乙醇1.5h）、过滤、浓缩、喷雾干燥（进口温度150~160℃，出口温度80~90℃）、包装等主要工艺制成
得率，%	12
感官要求	棕黄色粉末
总皂苷（以人参皂苷Re计），%	≥15.0
干燥失重，%	≤5.0
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
六六六，mg/kg	≤0.1
滴滴涕，mg/kg	≤0.1
菌落总数，CFU/g	≤3×10 ⁴
大肠菌群，MPN/g	≤0.92
霉菌和酵母菌，CFU/g	≤50
沙门氏菌	≤0/25
金黄色葡萄球菌	≤0/25

4. 玉米淀粉：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

5. 硬脂酸镁：应符合GB 1886.91《食品安全国家标准 食品添加剂 硬脂酸镁》的规定。