

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20190318

威门牌铁皮石斛蝙蝠蛾拟青霉颗粒

【原料】 蝙蝠蛾拟青霉菌丝体粉、铁皮石斛

【辅料】 葡萄糖

【生产工艺】 本品经提取（铁皮石斛、蝙蝠蛾拟青霉菌粉加20倍量水煎煮提取2次，每次1h）、浓缩、真空干燥（60～80℃，0.06～0.08Mpa）、粉碎、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】 药用复合膜应符合YBB00132002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	棕黄色
滋味、气味	具本品特有的滋味、气味，无异味
性状	颗粒剂，干燥，无吸潮、结块、潮解等现象
杂质	无肉眼可见杂色杂质

【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，%	≤6	GB 5009.3
灰分，%	≤3	GB 5009.4
	不能通过一号筛与能通过	

粒度	过五号筛的总和不超过15%	《中华人民共和国药典》
溶化性	全部融化或轻微浑浊，且不得有异物，不得有焦屑	《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
粗多糖（以葡聚糖计），mg/100g	≥150	1 粗多糖的测定
腺苷，mg/100g	≥30	2 腺苷的测定

1 粗多糖的测定

1.1 原理：样品中相对分子质量 $>1 \times 10^4$ 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含量。

1.2 试剂

除特殊说明外，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 乙醇溶液（80%）：20mL水中加入无水乙醇80mL，混匀。
- 1.2.2 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。
- 1.2.3 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。
- 1.2.4 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。
- 1.2.5 洗涤剂：取水50mL，加入10mL铜试剂溶液、10mL氢氧化钠溶液，混匀。
- 1.2.6 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。
- 1.2.7 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。
- 1.2.8 葡聚糖标准储备液：精密称取相对分子质量 5×10^5 已干燥至恒重的葡聚糖标准品0.5000g，加水溶解并定容至50mL，混匀，置冰箱中保存。此溶液每1mL含葡聚糖10.0mg。
- 1.2.9 葡聚糖标准使用液：吸取葡聚糖标准储备液1.0mL，置于100mL容量瓶中，加水至刻度，混匀，置冰箱中保存。此溶液每1mL含葡聚糖0.10mg。
- 1.3 仪器
 - 1.3.1 分光光度计。
 - 1.3.2 离心机（3600r/min）。
 - 1.3.3 旋转混匀器。
- 1.4 标准曲线的制备：准确吸取葡聚糖标准使用液0、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00mL（相当于葡聚糖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，在旋转混匀器中混匀，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，以葡聚糖浓度为横坐标，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：准确称取本品适量，置于100mL容量瓶中，加水80mL，于沸水浴上加热2h，冷却至室温后补加水至刻度，混匀后过滤，弃去初滤液，收集续滤液供沉淀多糖。
 - 1.5.2 沉淀粗多糖：准确吸取1.5.1项续滤液5.0mL，置于50mL离心管中，加入无水乙醇20mL，混匀后以3600r/min离心6min，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3~4次。残渣用水溶解并定容至5.0mL，混匀后，供沉淀葡聚糖。
 - 1.5.3 沉淀葡聚糖：准确吸取1.5.2项终滤液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，沸水浴中煮沸2min，冷却，放置2h，以3600r/min离心6min，弃去上清液。残渣用洗涤液数毫升洗涤，离心后弃去上清液，反复操作3次，残渣用10%（V/V）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。
- 1.6 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，小心加入浓硫酸10.0mL后，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聚糖含量，计算样品中粗多糖含量，同时做样品空白实验。
- 1.7 结果计算

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \times V_1 \times V_3 \times V_5 \times 100}{m_3 \times V_2 \times V_4 \times V_6}$$

式中：

X—样品中粗多糖含量（以葡聚糖计），mg/100g；

m_1 —样品测定液中葡聚糖的质量，mg；

m_2 —样品空白液中葡聚糖的质量，mg；

m_3 —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 —沉淀葡聚糖所用粗多糖溶液体积, mL;
 V_5 —样品测定液总体积, mL;
 V_6 —测定用样品测定溶液体积, mL。

2 腺苷的测定

2.1 原理: 试样用乙醇-水进行提取, 根据高效液相色谱紫外检测器定性定量检测。

2.2 试剂

2.2.1 磷酸二氢钾: 分析纯。

2.2.2 无水乙醇: 优级纯。

2.2.3 甲醇: 优级纯。

2.2.4 纯化水及以上。

2.2.5 提取液: 乙醇-水=3:2。

2.2.6 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。

2.3 仪器

2.3.1 高效液相色谱仪: 附紫外检测器。

2.3.2 电子天平: 感量0.1mg及以上。

2.3.3 超声波清洗器。

2.3.4 离心机。

2.4 试样处理: 取本品内容物, 研细, 混匀, 准确称取适量试样(根据腺苷的浓度调整取样量), 置于25mL (V_0) 容量瓶中, 加入约20mL提取液, 超声提取10min, 取出, 放冷, 加提取液定容至刻度, 摇匀, 离心(3000r/min, 3min)。再精密量取上清液适量 (V_1), 置于10mL (V_2) 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 经0.45 μ m滤膜过滤后供液相色谱分析用。

2.5 液相色谱参考条件

2.5.1 色谱柱: C_{18} 柱, 4.6 $\times$ 150mm, 5 μ m, 或性能相当的色谱柱。

2.5.2 柱温: 室温。

2.5.3 紫外检测器: 检测波长254nm。

2.5.4 流动相: 甲醇-0.01mol/L磷酸二氢钾溶液=10:90(或可根据设备适当调整比例)。

2.5.5 流速: 1.0mL/min。

2.5.6 进样量: 10 μ L。

2.6 色谱分析: 取10 μ L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, 由标准曲线查得试样处理终溶液中腺苷的浓度, 按下式计算腺苷的含量。

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

2.8 结果计算

$$X = \frac{C \times V_2 \times V_0 \times 100}{V_1 \times m \times 1000}$$

式中:

X—试样中腺苷的含量, mg/100g;

C—由标准曲线算得的试样测定液中腺苷的浓度, μ g/mL;

V_0 —试样提取液体积, mL;

V_1 —用于稀释的试样提取液体积, mL;

V_2 —试样处理液终体积, mL;

m—试样称样量，g。

【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. 蝙蝠蛾拟青霉菌丝体粉

项 目	指 标
来源	蝙蝠蛾拟青霉（ <i>Paecilomyces hepiali</i> Chen&Dai）
制法	经接种、培养、发酵培养（25℃~30℃，72±12h）、分离、干燥（80±15℃）、粉碎、混合、包装等主要工艺加工制成
感官要求	浅棕色至棕色均匀性粉末，具本品特有的香味、味微苦，无异味，无肉眼可见外来杂质
腺苷，mg/100g	≥180
水分，%	≤8.0
灰分，%	≤8.0
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
沙门氏菌	≤0/25g
金黄色葡萄球菌	≤0/25g

2. 铁皮石斛：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

3. 葡萄糖：GB/T 20880《食用葡萄糖》中“一水葡萄糖”的规定。
