

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20190455

御甄堂牌破壁灵芝孢子粉

- 【原料】 破壁灵芝孢子粉（经辐照）
- 【辅料】 无
- 【生产工艺】 本品经过筛、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】 药品包装用复合膜应符合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	呈棕褐色
滋味、气味	具本品特有的滋味、气味，无异味
性状	粉剂，干燥、松散粉末，无结块
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，%	≤3.0	GB 5009.4
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), mg/100g	≥500	1. 粗多糖的测定
灵芝三萜(以齐墩果酸计), g/100g	≥1.0	2. 灵芝三萜的测定

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，于485nm波长处比色定量。

1.2 仪器

1.2.1 离心机：4000r/min。

1.2.2 50mL离心管15mL具塞离心管。

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含葡萄糖10mg，用前稀释100倍为使用液（0.1mg/mL）。

1.3.4 5% (w/v) 苯酚溶液：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。

1.3.5 浓硫酸（比重1.84）。

1.3.6 0.2mol/L磷酸盐缓冲液 (pH6.5): 31.5mL磷酸氢二钠 (0.2mol/L) 与68.5mL磷酸二氢钠 (0.2mol/L) 混合。

1.4 样品处理

1.4.1 样品提取: 称取混合均匀的固体样品1.0~2.0g, 置于100mL容量瓶中, 加水80mL左右, 置沸水浴中加热15min, 冷却至室温后补加水至刻度 (V_1), 混匀后过滤, 弃去初滤液, 收集续滤液供沉淀粗多糖。

1.4.2 沉淀粗多糖: 准确吸取1.4.1项下续滤液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, 离心后弃去上清液, 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)。

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), 置于25mL比色管中, 补加水至2.0mL, 加入5%苯酚溶液1.0mL, 于旋涡混合器上混匀, 小心加入浓硫酸10mL, 于旋涡混合器上小心混匀, 置沸水浴中2min, 冷却至室温, 用分光光度计于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。

1.6 样品测定: 准确吸取上述样液适量 (V_4) (含糖0.02~0.08mg), 置于25mL比色管中, 自“补加水至2.0mL”起, 以下操作按1.5标准曲线的绘制方法测定吸光度值。从标准曲线上查出葡萄糖含量, 计算样品中粗多糖含量。

1.7 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。

2 灵芝三萜的测定

2.1 原理: 以齐墩果酸为对照品, 用紫外分光光度法测定样品中的总三萜含量。

2.2 仪器

2.2.1 紫外分光光度计。

2.2.2 恒温水浴锅。

2.3 试剂

2.3.1 齐墩果酸标准品。

2.3.2 高氯酸: 分析纯。

2.3.3 冰醋酸: 分析纯。

2.3.4 香草醛: 分析纯。

2.3.5 5%香草醛-冰醋酸溶液: 称取香草醛5.0g, 以冰醋酸定容至100mL。

2.4 标准曲线的制备: 精密称取10mg齐墩果酸标准品, 置于100mL容量瓶中, 用氯仿溶解并稀释至刻度, 准确吸取该对照品溶液0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mL, 置于20mL具塞试管, 100℃水浴蒸干溶剂, 加5%香草醛-冰醋酸溶液0.3mL、高氯酸1.4mL, 密塞, 混匀, 置60℃水浴保温20min, 取出后冰水浴冷却, 加冰醋酸5mL, 摇匀。以试剂空白液为参比调节零点, 于548nm波长处测定吸光度值, 以对照品溶液浓度对吸光

度值作图，得到一条通过原点的直线，绘制标准曲线。

2.5 样品测定：精密称取样品适量，置于100mL容量瓶中，加氯仿超声30min并稀释至刻度，摇匀后过滤，精密吸取滤液1mL和同等量的空白试剂，置于20mL具塞试管，置100℃水浴蒸干溶剂，加5%香草醛-冰醋酸溶液0.3mL、高氯酸1.4mL，密塞，混匀，置60℃水浴保温20min，取出后冰水浴冷却，加冰醋酸5mL，摇匀。以试剂空白液为参比调节零点，于548nm波长处测定吸光度值，查标准曲线或按照回归方程计算测定结果。

2.6 结果计算

总三萜浓度×稀释倍数

样品灵芝三萜含量（以齐墩果酸计，g/100g）= -----×100

样品称样量

【装量或重量差异指标/净含量及允许负偏差指标】 净含量为0.9g/袋，允许负偏差为9%。

【原辅料质量要求】

破壁灵芝孢子粉（经辐照）：应符合《黑龙江省中药饮片炮制规范及标准》及下表的规定：

项 目	指 标
来源	灵芝孢子
制法	经干燥、一次过筛、破壁、烘干、二次过筛、辐照灭菌（ ⁶⁰ Co，≤6.0kGy）、包装等主要工艺加工制成。
破壁率，%	≥98
感官要求	棕褐色粉末，捻之有滑腻感、体轻，味淡、气微
粒度，目数	100目
粗多糖（以葡萄糖计），mg/100g	≥500
灵芝三贴（以齐墩果酸计），g/100g	≥1.0
水分，%	≤8.0
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
