

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20120423

仙芝楼牌破壁灵芝孢子粉胶囊

【原料】 破壁灵芝孢子粉

【辅料】 无

【生产工艺】 本品经过筛、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】 聚对苯二甲酸乙二醇酯瓶、聚丙烯瓶盖应符合GB 4806.7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	内容物呈棕色或棕褐色
滋味、气味	具本品固有的气味，无异味
状态	硬胶囊，整洁，无粘结、变形、囊壳破裂现象；内容物为均匀粉末，无结块；无正常视力可见外来杂质

【鉴别】 取本品粉末5g，加甲醇50mL，超声提取30min，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇1mL使溶解，作为供试品溶液。如果供试品斑点在展开时出现扩散，影响鉴别，需先将供试品进行预处理后再用甲醇提取：取本品粉末5g，加正己烷50mL，超声提取30min，滤过，弃去正己烷液，残渣挥干正己烷，加甲醇50mL，超声提取30min，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇1mL使溶解，作为供试品溶液。另取破壁孢子粉标准对照物5g，同法制成标准对照物溶液。照薄层色谱法（2015版中华人民共和国药典四部通则0502）试验，吸取上述两种溶液各5μL，分别点于同一硅胶G薄层板上，以石油醚（60~90℃）-丙酮-三氯甲烷（15:4:1）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以10%硫酸乙醇溶液，在105℃加热5s，置紫外光灯（365nm）下检视。供试品色谱中，在与标准对照物色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

【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
蛋白质，g/100g	≥14.0	GB 5009.5
水分，g/100g	≤8.0	GB 5009.3
灰分，g/100g	≤5.0	GB 5009.4
崩解时限，min	≤30	《中华人民共和国药典》

破壁率，%	≥99.0	1 破壁率的测定
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	≤0.1	GB/T 5009.19

1 破壁率的测定

1.1 原理：利用血球计数板对未破壁的孢子进行计数，分别计算出单位质量孢子粉中灵芝孢子的数量和单位质量破壁孢子粉中未破壁灵芝孢子的数量，从而获得破壁孢子粉的破壁率。

1.2 仪器与设备

1.2.1 血球计数板：25个中格×16个小格，16个中格×25个小格

1.2.2 电子分析天平：精度0.1mg

1.2.3 超声波清洗器：功率≥45W

1.2.4 光学显微镜：放大倍数≥200

1.3 试剂和溶液

除非另有说明，所有试剂均使用分析纯试剂；实验用水应符合GB/T 6682规定的三级水规格。

1.3.1 吐温80

1.3.2 蔗糖

1.4 样品制备：分别取同一批次有代表性灵芝孢子粉和破壁灵芝孢子粉的样品各至少100g，分别充分混匀，置于密闭的容器内。

1.5 测定：取适量同一批次的灵芝孢子粉A和破壁灵芝孢子粉B，于烘箱60℃下烘干5h。准确称取经烘干的孢子粉A和破壁灵芝孢子粉B，其中W_A=0.1000g，W_B=0.1500g，分别称取5.0g经过研磨后过100目筛的蔗糖粉末分别与孢子粉A、B充分混合至色泽均一。用蒸馏水分别溶解上述样品，在样品溶液中加入0.1mL吐温80，用蒸馏水定容到100mL容量瓶中，并在室温超声振荡30min，使孢子充分分散。将待测孢子悬液用吸管吸取一滴置于盖玻片的边缘，使液体缓缓渗入，多余的液体用吸水纸吸取，进样完成后静置约30s，然后将血球计数板置于200倍及以上放大倍数的光学显微镜下进行观察计数。使用25个中格×16个小格的计数板时，应计算出血球计数板4个角上与中央5个中格中含完整灵芝孢子的数目（即以80个小格为一个计数单位）；当使用16个中格×25个小格的计数板时，应计算出血球计数板4个角上的4个中格中含完整灵芝孢子的数目（即以100个小格为一个计数单位）。如有部分孢子处于中格边线上，计数时应仅统计位于中格四个边线的其中两个边线的孢子数，每个样品观察计数时应去掉离群较大的值，每个样品有效观察计数不少于3次，然后计算它们的平均数n。

1.6 结果计算

1.6.1 使用25个中格×16个小格的计数板时每克孢子粉中含完整灵芝孢子数的计算

$$N = \frac{n \cdot V}{80 \cdot W} \times 400 \times 1000 \times \text{---}$$

式中：

N—每克孢子粉含完整的灵芝孢子数，个/g；

n—80个小格内含完整灵芝孢子的总数，个；

V—孢子稀释液的体积，mL；

W—样品重量，g。

1.6.2 使用16个中格×25个小格的计数板时每克孢子粉中含完整灵芝孢子数的计算

$$N = \frac{n \cdot V}{100 \cdot W} \times 400 \times 10000 \times \text{---}$$

式中：

- N—每克孢子粉中含完整的灵芝孢子数，个/g；
n—100 个小格内含完整灵芝孢子的总数，个；
V—孢子稀释液的体积，mL；
W—样品重量，g。

1.6.3 破壁率的计算

$$X = \left(1 - \frac{N_B}{N_A}\right) \times 100$$

式中：

- X—破壁灵芝孢子粉的破壁率，g/100g；
N_B—每克破壁灵芝孢子粉中含完整的灵芝孢子数，个/g；
N_A—每克灵芝孢子粉中含完整的灵芝孢子数，个/g。

【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	≥1100	1 粗多糖的测定
总三萜（以熊果酸计），mg/100g	≥4000	2 总三萜的测定

1 粗多糖的测定

1.1 原理：多糖经乙醇沉淀分离后，在硫酸作用下，先水解成单糖，并迅速脱水生成糖醛衍生物，与蒽酮缩合成蓝绿色化合物，在625nm波长处有特征吸收，与标准系列比较定量。

1.2 仪器

- 1.2.1 电子分析天平：精度0.1mg
1.2.2 紫外可见分光光度计：±2nm
1.2.3 离心机：0~4000r/min
1.2.4 电热恒温水浴锅：±0.5℃

1.3 试剂

除非另有说明，所有试剂均使用分析纯试剂；分析用水应符合GB/T 6682规定的三级水规格。

- 1.3.1 无水乙醇。
- 1.3.2 硫酸。
- 1.3.3 蒽酮。
- 1.3.4 葡聚糖对照品：平均分子量500000。
- 1.3.5 蒽酮-硫酸溶液：称取0.10g蒽酮试剂，加入100mL80%硫酸溶液，溶解，即得。临用现配。
- 1.3.6 葡聚糖对照品溶液：准确称取经五氧化二磷减压干燥12h以上的葡聚糖对照品适量，加水制成每1mL含葡聚糖0.2mg的溶液，即得。
- 1.4 样品制备：取有代表性的样品至少100g，充分混匀，置于密闭的容器内。
- 1.5 样品处理
 - 1.5.1 样品提取：取混合均匀的样品2g，准确称取，置于圆底烧瓶中，加水80mL左右，装上磨口的空气冷凝管或回流冷凝管，于沸水浴上加热8h，冷却至室温后转移至100mL的容量瓶中，补加水至刻度，混匀，过滤，弃去初滤液，收集续滤液。
 - 1.5.2 沉淀粗多糖：精密吸取1.5.1项续滤液10mL，置于250mL碘量瓶中，加入无水乙醇150mL，混匀，4℃放置12h，取出，以3500r/min离心10min，弃去上清液。残渣用水溶解并定容至100mL，混匀后供测定。
- 1.6 标准曲线的绘制：分别精密吸取葡聚糖对照品溶液（0.2mg/mL）0.00、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00mL于试管中，补充水至2.00mL，加入蒽酮-硫酸溶液6.00mL，混匀，置沸水浴中加热15min，取出，立即放入冰水浴中冷却15min，取出，以相应的试剂为空白溶液，用紫外可见分光光度计在625nm波长处测定吸光度值。以葡聚糖质量为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。
- 1.7 样品的测定：精密移取供试品溶液2mL，按1.6标准曲线的绘制项下方法，自“加入蒽酮-硫酸溶液6.00mL”起，依法测定吸光度值。

1.8 结果计算

$$X = \frac{W_1 - W_2}{V_2 V_4} \times \frac{V_1 V_3}{M} \times \frac{V_3}{V_4}$$

式中：

- X—样品中粗多糖含量（以葡聚糖计），mg/g；
 W_1 —从标准曲线上查得样品测定液中粗多糖的质量，mg；
 W_2 —从标准曲线上查得样品空白液中粗多糖的质量，mg；
 M—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 —样品测定液总体积，mL；
 V_4 —测定时所移取样品测定液的体积，mL

2 总三萜的测定

2.1 原理：将样品溶于乙酸乙酯并于100℃水浴上蒸干后，加入5%香草醛-冰醋酸溶液和高氯酸，于60℃水浴加热10min，再加入冰醋酸，用分光光度计测定样品中的总三萜含量。

2.2 仪器

- 2.2.1 电子分析天平：精度0.1mg。
- 2.2.2 紫外可见分光光度计：±2nm。
- 2.2.3 超声波清洗器：功率≥45W。
- 2.2.4 电热恒温水浴锅：±0.5℃。

2.3 试剂

除非另有说明，所有试剂均使用分析纯试剂；分析用水应符合GB/T 6682规定的三级水规格。

- 2.3.1 熊果酸对照品：纯度≥98%。
- 2.3.2 高氯酸。
- 2.3.3 冰醋酸。
- 2.3.4 香草醛。
- 2.3.5 乙酸乙酯。
- 2.3.6 熊果酸对照品溶液：准确称取经五氧化二磷减压干燥12h以的熊果酸对照品适量，置容量瓶中，用

乙酸乙酯溶解，超声15min并稀释至刻度，摇匀，制成0.1mg/mL的对照品溶液。

2.3.7 5%香草醛-冰醋酸溶液：准确称取香草醛0.50g，加10mL冰醋酸溶解，即得。

2.4 样品制备：取有代表性的样品至少100g，充分混匀，置于密闭的容器内。

2.5 样品处理：取样品0.1g，准确称取，置100mL容量瓶中，用乙酸乙酯溶解，超声30min并稀释至刻度，摇匀，过滤。

2.6 标准曲线的绘制：分别精密吸取熊果酸对照品溶液0.00、0.10、0.30、0.50、0.70、0.90mL于10mL试管中，于100℃水浴上蒸干后，加入0.20mL 5%香草醛-冰醋酸溶液、1.00mL高氯酸，摇匀，在60℃水浴中加热10min并移入冰水浴中冷却3min，再加入5.00mL冰醋酸，摇匀并置于室温。15min后用分光光度计于548nm波长处测定对照品溶液的吸光度值。分别以熊果酸质量为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。

2.7 样品测定：精密吸取2.5项滤液1mL于10mL试管中，于100℃水浴上蒸干后，加入0.20mL 5%香草醛-冰醋酸、1.00mL高氯酸，摇匀，于60℃水浴中加热10min，然后立即移入冰水浴中冷却3min，再加入5.00mL冰醋酸，摇匀并置于室温。15min后用分光光度计于548nm波长处测定样品溶液的吸光度值。

2.8 结果计算

$$X = \frac{W_1 - W_2}{V_2} \times \frac{V_4}{M} \times \frac{V_1}{V_3}$$

式中：

- X— 样品中总三萜含量（以熊果酸计），g/100g；
W₁—从曲线上查得样品测定液中总三萜的质量，mg；
W₂—从曲线上查得样品空白液中总三萜的质量，mg；
M—样品质量，g；
V₁—样品测定液总体积，mL；
V₂—测定时所移取样品测定液的体积，mL。

【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

项 目	指 标
来源	为多孔菌科真菌赤芝 <i>Ganoderma lucidum (Leyss. ex Fr.) Karst</i> 的干燥成熟孢子
制法	经过筛除杂、蒸汽灭菌(115℃、30min)、真空干燥(0.08MPa, 60min)、物理破壁(反复碾压)、包装等主要工艺加工制成
感官要求	棕色或棕褐色粉末，均匀、无结块，具本品固有的气味，无异味，无正常视力可见外来杂质
粗多糖（以葡聚糖计），g/100g	≥1.1
总三萜，g/100g	≥4.0
蛋白质，g/100g	≥14.0
破壁率，%	≥99.0
水分，g/100g	≤6.0
灰分，g/100g	≤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	≤0.2
滴滴涕，mg/kg	≤0.1
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. 羟丙甲纤维素空心胶囊：应符合YBH04342011《国家食品药品监督管理局标准 羟丙甲纤维素空心胶囊》的规定。
