

附2

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20210042

孟氏牌灵芝蝙蝠蛾拟青霉菌胶囊

- 【原料】 蝙蝠蛾拟青霉菌粉、灵芝提取物、香菇提取物
- 【辅料】 无
- 【生产工艺】 本品经过筛、混合、装囊、包装、辐照灭菌（⁶⁰Co，≤4kGy）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】
- 口服固体药用高密度聚乙烯瓶应符合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	具本品固有滋味、气味，无异味
状态	硬胶囊，完整光洁、无破裂；内容物为粉末，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
总三萜（以熊果酸计），g/100g	≥0.1	1 芝总三萜的测定
水分，%	≤9.0	GB 5009.3
灰分，%	≤12.0	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

1 灵芝总三萜的测定

1.1 原理：本实验以无水乙醇为溶剂，通过旋转蒸发法提取灵芝总三萜；选用熊果酸为对照品,5%香草醛-冰醋酸和高氯酸为显色剂，60℃水浴15min，548nm为测定波长，建立了一种测定灵芝总三萜含量的分光光度法。

1.2 试剂

除另有说明外，本方法所用试剂均为分析纯。

1.2.1 熊果酸标准品。

1.2.2 高氯酸。

1.2.3 冰醋酸。

1.2.4 香草醛。

1.2.5 无水乙醇。

1.3 仪器

1.3.1 可见紫外分光光度计。

1.3.2 旋转蒸发器。

1.4 分析步骤

1.4.1 标准品溶液的制备：精密称取熊果酸标准品8.0mg，用无水乙醇定容于100mL容量瓶中，即得80μg/mL熊果酸标准品溶液。

1.4.2 标准曲线的绘制：精密吸取熊果酸对照品溶液0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6mL（相当于熊果酸8、16、24、32、40、48μg）后，水浴蒸干后，各加5%香草醛-冰醋酸0.5mL，然后再各加高氯酸0.8mL，于60℃中水浴中加热15min，取出置冰水中冷却，加冰醋酸5.0mL，摇匀后在548nm处测定吸光度。以熊果酸的微克数为横坐标，吸光度为纵坐标，建立标准曲线。

1.4.3 样品溶液的制备：准确称取烘干的灵芝样品约1.0g，溶解于80mL无水乙醇。全部转入旋转蒸发器中加热3h（80℃，20r/min）。过滤提取液，并将滤液离心（4000r/min，10min）。上清定容至100mL，即得样品溶液。

1.4.4 样品含量测定：准确吸取样品液1.0mL，按标准曲线方法一式三份进行测定。根据吸光度在标准曲线上查出熊果酸的含量，计算样品中灵芝总三萜含量，取三次结果的平均值即可。

1.5 结果计算

$$X = \frac{m \times 100 \times 100}{1.0 \times 10^6 \times W}$$

式中：

X—样品中灵芝总三萜的含量（以熊果酸计），g/100g；

m—浓度-吸光度曲线上查得样品溶液的灵芝总三萜的质量，μg；

W—灵芝样品的重量，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
沙门氏菌	≤0/25g	GB 4789.4
金黄色葡萄球菌	≤0/25g	GB 4789.10

【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
腺苷, mg/100g	≥103	1 腺苷的测定
粗多糖（以葡聚糖计）, g/100g	≥4.0	2 粗多糖的测定

1 腺苷的测定

1.1 原理：将粉碎的胶囊试样使用乙醇-水进行提取，根据高效液相色谱紫外检测器定性定量检测。

1.2 试剂

除非另有说明，在分析中仅使用双蒸水。

1.2.1 磷酸二氢钾：分析纯。

1.2.2 无水乙醇：优级纯。

1.2.3 甲醇：优级纯。

1.2.4 提取液：乙醇：水=3：2。

1.2.5 腺苷标准溶液：准确称取腺苷标准品0.0100g，加入水溶解并定容至25mL。此溶液每mL含0.4mg腺苷。

1.3 仪器

1.3.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器（UV）。

1.3.2 超声波清洗器。

1.3.3 离心机。

1.4 分析步骤

1.4.1 试样处理：取20粒以上胶囊粉碎混匀，取0.5~1.0g试样，精密称定（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。

1.4.2 色谱条件

1.4.2.1 色谱柱：C18柱，4.6×150mm，5μm。

1.4.2.2 柱温：室温。

1.4.2.3 紫外检测器：检测波长254nm。

1.4.2.4 流动相：甲醇：0.01mol/L磷酸二氢钾溶液=10：90。

1.4.2.5 流速：1.0mL/min。

1.4.2.6 进样量：10μL。

1.4.3 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。

1.4.4 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。

1.5 结果计算

$$X = \frac{h_1 \times C \times V \times 100}{h_2 \times m \times 1000}$$

式中：

X—试样中腺苷的含量，mg/100g；

h_1 —试样峰高或峰面积；

h_2 —标准溶液峰高或峰面积；

C—标准溶液浓度，μg/mL；

V—试样定容体积, mL;

m—试样质量, g。

计算结果保留三位有效数字。

2 粗多糖的测定

2.1 原理: 食品中分子量>10000的高分子物质在800mL/L乙醇溶液中沉淀, 与水溶性单糖和低聚糖分离, 用碱性二价铜试剂选择性的从其它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, 其颜色强度与粗多糖中葡聚糖的含量成正比, 以此计算食品中粗多糖含量。

2.2 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。

2.2.1 乙醇溶液(800mL/L): 20mL水中加入无水乙醇80mL, 混匀。

2.2.2 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。

2.2.3 铜储备液: 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。

2.2.4 铜试剂溶液: 取铜储备液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。

2.2.5 洗涤剂: 取水50mL, 加入10mL铜试剂溶液, 10mL氢氧化钠溶液, 混匀。

2.2.6 硫酸溶液(100mL/L): 取100mL浓硫酸加入到800mL左右水中, 混匀, 冷却后稀释至1.0L。

2.2.7 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一月。

2.2.8 葡聚糖标准储备溶液: 精密称取分子量 5×10^5 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mL含10.0mg葡聚糖。

2.2.9 葡聚糖标准使用液: 吸取葡聚糖标准储备溶液1.00mL, 置于100mL容量瓶中, 加水至刻度, 混匀, 置冰箱中保存。此溶液每mL含0.10mg葡聚糖。

2.3 仪器

2.3.1 分光光度计。

2.3.2 离心机。

2.3.3 旋转混匀器。

2.4 分析步骤

2.4.1 标准曲线制备: 精密吸取葡聚糖标准使用液0.0、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00mL(相当于葡聚糖0.0、0.010、0.020、0.040、0.060、0.080、0.10mg)分别置于25mL比色管中, 准确补水至2.0mL, 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, 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。

2.4.2 样品处理

2.4.2.1 样品提取: 准确称取胶囊内容物样品2.0g, 置于100mL容量瓶中, 加水80mL左右, 于沸水浴上加热2h, 冷却至室温后加水定容至刻度, 混匀, 过滤, 弃去初滤液, 收集余下滤液供沉淀多糖。

2.4.2.2 沉淀粗多糖: 精密取2.4.2.1项下滤液5.0mL, 置于50mL离心管中, 加入无水乙醇20mL, 混匀后, 以3000rpm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3~4次操作。残渣用水溶解并定容至5.0mL, 混匀后, 供沉淀葡聚糖。

2.4.2.3 沉淀葡聚糖: 精密取2.4.2.2项下溶液2.0mL, 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, 冷却后以3000rpm离心5min, 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3次操作后, 残渣用100mL/L硫酸溶液2.0mL溶解并转移至25mL容量瓶中, 加水稀释至刻度, 混匀。此溶液为样品测定液。

2.4.3 样品测定: 精密吸取样品测定液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, 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。从标准曲线上查出葡聚糖质量, 计算样品中粗多糖含量。同时作样品空白实验。

2.5 结果计算

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

$$M \times V_2 \times V_4 \times V_6$$

式中:

X—样品中粗多糖的含量(以葡聚糖计), mg/g;

m_1 —样品测定液中粗多糖的质量, mg;

m_2 —样品空白液中粗多糖的质量, mg;

M—样品量, 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。

【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. 蝙蝠蛾拟青霉菌粉

项 目	指 标
来源	蝙蝠蛾拟青霉菌
制法	经接种(7d, 25℃)、一级种子培养液培养(3d, 25℃)、二级种子培养液培养(4d, 25℃)、灭菌的液体发酵培养(72h, 25℃)、过滤、浓缩、离心、喷雾干燥(进风温度180℃, 出风温度65~70℃)、粉碎、过筛、混合、包装、检验入库等主要工艺制成
产率, %	2~3
感官要求	浅棕色; 具有本品特有的香味, 味微苦, 无异味; 粉末状, 无正常视力可见外来异物
腺苷, mg/100g	≥180.0
水分, %	≤7.0
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. 灵芝提取物

项 目	指 标
来源	赤芝或紫芝的干燥子实体 应符合《中华人民共和国药典》的规定
制法	经清洗、晾干、切片、提取(8倍量纯化水95~98℃提取3次, 每次2h)、过滤、浓缩、离心、喷雾干燥(进风温度120℃, 出风温度80~85℃)、包装等主要工艺制成
提取率(得率), %	7.0
感官要求	褐色, 气味纯正, 味苦, 粉末状, 无正常视力可见外来异物
多糖(以无水葡萄糖计), g/100g	≥20.0
总三萜(以熊果酸计), g/100g	≥0.5
水分, %	≤9.0
灰分, %	≤20.0
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	≤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

3. 香菇提取物

项 目	指 标
来源	香菇 应符合相关食品安全国家标准的规定
制法	经粉碎、过筛、提取（10倍量纯化水煮沸提取2次，每次2h）、过滤、浓缩、醇沉（4倍量食用乙醇醇沉）、溶解（10倍量纯化水）、浓缩、喷雾干燥（进风温度200℃，出风温度80～90℃）、过筛、包装等主要工艺制成
提取率（得率），%	7.0～10.0
感官要求	黄色或棕褐色，味微甘或微苦，气微香，含香菇原有的气味；粉末状，易吸潮；无正常视力可见外来异物
多糖（以无水葡萄糖计），g/100g	≥30.0
水分，%	≤9.0
灰分，%	≤10.0
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