

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G20200073

杠上花牌蝙蝠蛾拟青霉菌丝体咖啡粉

【原料】 速溶咖啡、蝙蝠蛾拟青霉菌丝体提取物

【辅料】 无

【生产工艺】 本品经粉碎、过筛、混合、分装、辐照灭菌（ ^{60}Co ，5kGy）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】

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	内容物呈棕色
滋味、气味	具本品特有的滋味、气味，无异味
性状	内容物为粉末状固体
杂质	无肉眼可见的外来杂质

【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，%	≤ 8.0	GB 5009.3
灰分，%	≤ 9.0	GB 5009.4
铅（以Pb计），mg/kg	≤ 1.5	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	≤1000	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
咖啡因, g/100g	2.0~4.0	GB 5009.139
粗多糖(以葡聚糖计), g/100g	≥0.21	1 粗多糖的测定
腺苷, g/100g	≥0.13	2 腺苷的测定

1 粗多糖的测定

1.1 原理：样品中分子量大于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，以此计算样品中粗多糖含量。

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 乙醇溶液（800mL/L）：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（100mL/L）：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一个月。

1.2.8 葡聚糖标准储备液：精密称取分子量500000、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。此溶液每毫升含葡聚糖10.0mg。

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

1.3 仪器

1.3.1 分光光度计。

1.3.2 离心机。

1.3.3 旋转混匀器。

1.4 标准曲线制备：精密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。

1.5 样品处理

1.5.1 样品提取：取胶囊内容物2.0g混匀，置于100mL容量瓶中，加水80mL左右，于沸水浴上加热2h，冷却至室温后补加水至刻度，混匀后，过滤，弃去初滤液，收集续滤液供沉淀粗多糖。

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3000r/min离心5min，弃去上清液。残渣用800mL/L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：精密取1.5.2项下溶液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，冷却后以3000r/min离心5min，弃去上清液。残渣用洗涤液数毫升洗涤，离心后弃上清液，反复操作3次后，残渣用100mL/L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：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后，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，冷却至室温后用分光光度计在485nm波长处，以试剂空白为参比，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。

1.7 结果计算

$$X = \frac{(W_1 - W_2) \times V_1 \times V_3 \times V_5}{M \times V_2 \times V_4 \times V_6}$$

式中：

X—样品中粗多糖含量（以葡聚糖计），mg/g；

W_1 —样品测定液中葡聚糖质量，mg；

W_2 —样品空白液中葡聚糖质量，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 —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（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版））

2.1 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：0.04 μ g。

本方法的线性范围：0.40~60.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.2 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。

2.3 试剂

除非另有说明，在分析中仅使用双蒸水。

2.3.1 磷酸二氢钾：分析纯。

2.3.2 无水乙醇：优级纯。

2.3.3 甲醇：优级纯。

2.3.4 提取液：乙醇-水=3:2。

2.3.5 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。

2.4 仪器

2.4.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器（UV）。

2.4.2 超声波清洗器。

2.4.3 离心机。

2.5 分析步骤

2.5.1 试样处理：取20粒以上片剂或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0.45 μm 滤膜过滤后供液相色谱分析用。

2.5.2 液相色谱参考条件

2.5.2.1 色谱柱：C₁₈柱，4.6 \times 150mm，5 μm 。

2.5.2.2 柱温：室温。

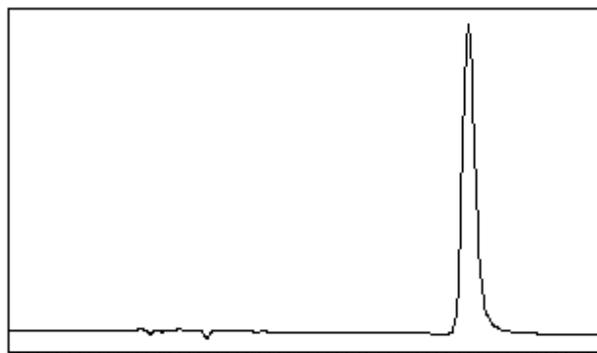
2.5.2.3 紫外检测器：检测波长254nm。

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

2.5.2.5 流速：1.0mL/min。

2.5.2.6 进样量：10 μL 。

2.5.2.7 色谱分析：取10 μL 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

2.5.3 标准曲线制备：分别配制浓度为0.400、2.00、4.00、20.0、60.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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。

2.5.4 分析结果的表示

2.5.4.1 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；

h_1 —试样峰高或峰面积；

C—标准溶液浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；

V—试样定容体积，mL；

h_2 —标准溶液峰高或峰面积；

m—试样质量，g。

2.5.4.2 结果表示：计算结果保留三位有效数字。

2.6 技术参数

2.6.1 准确度：方法的回收率在92.7%~98.3%之间。

2.6.2 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 $\pm 10\%$ 。

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

【原辅料质量要求】

1. 速溶咖啡：应符合DBS 53/021《云南省食品安全地方标准速溶咖啡》的规定。

2. 蝙蝠蛾拟青霉菌丝体提取物

项 目	指 标
来源	蝙蝠蛾拟青霉菌丝体 应符合相关食品安全国家标准的规定
制法	经提取（10倍量水90℃提取3h）、过滤（板框过滤，滤布孔径为600目）、提取（8倍量水90℃提取2h）、过滤（板框过滤，滤布孔径为600目）、合并滤液过滤、真空浓缩（80℃，0.05~0.08MPa）、喷雾干燥（进风温度180℃~200℃，出风温度80℃~100℃）、包装等主要工艺制成
提取比例	3:1
感官要求	浅黄色至棕黄色粉末；具有特有的香甜味道
多糖（以无水葡萄糖计），g/100g	≥ 10.0
腺苷，g/100g	≥ 0.3
甘露醇类物质，g/100g	≥ 15.0
水分，%	≤ 9.0
铅（以Pb计），mg/kg	≤ 1.0
总砷（以As计），mg/kg	≤ 0.5
总汞（以Hg计），mg/kg	≤ 0.2
六六六，mg/kg	≤ 0.2
滴滴涕，mg/kg	≤ 0.1
菌落总数，CFU/g	≤ 1000
大肠菌群，MPN/g	≤ 0.92
霉菌，CFU/g	≤ 25
酵母，CFU/g	≤ 25