

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20200079

萃芝堂®蝙蝠蛾拟青霉灵芝胶囊

- 【原料】 蝙蝠蛾拟青霉菌粉、灵芝菌丝体粉、姬松茸提取物、灰树花提取物
- 【辅料】 玉米淀粉
- 【生产工艺】 本品经粉碎、过筛、混合、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】 聚酯瓶应符合YBB00262002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	内容物呈浅棕色至棕色
滋味、气味	具本品特有的滋味、气味，无异味
性状	硬胶囊，外观完整光洁，无粘结、无变形、无破裂、无渗漏； 内容物为粉末
杂质	无正常视力可见外来杂质

- 【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，%	≤9.0	GB 5009.3
灰分，%	≤6.0	GB 5009.4
崩解时限，min	≤60	《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
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
粗多糖（以葡聚糖计）， g/100g	≥2.0	1 粗多糖的测定
总三萜（以熊果酸计）， mg/100g	≥616	2 总三萜的测定
腺苷, mg/100g	≥72	3 腺苷的测定

1 粗多糖的测定

1.1 原理：多糖经乙醇沉淀分离后，去除其它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，在485nm波长下比色定量。

1.2 仪器

1.2.1 离心机：4000r/min。

1.2.2 50mL离心管或具塞15mL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 葡聚糖标准液：准确称取干燥恒重的分析纯葡聚糖0.5000g，加水溶解并定容至50mL，此溶液每1mL含葡聚糖10mg，用前稀释100倍为使用液（0.1mg/mL）。

1.3.4 5%苯酚溶液 (W/V)：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。

1.3.5 浓硫酸 (比重1.84)。

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

1.4 测定步骤

1.4.1 样品提取：取硬胶囊内容物，称取1.0~2.0g，置于100mL容量瓶中，加水80mL左右，于沸水浴中加热1h，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。

1.4.2 前处理：取50mL样品提取液置于100mL具塞锥形瓶中，冷却至60℃以下，加1mL10%淀粉酶液和0.5mL0.2M磷酸盐缓冲液，加塞，置55℃~60℃酶解1h，再加适量的糖化酶于60℃以下再水解60min后取出 (用碘液检验是否水解完全，如不完全可延长水解时间至酶解液加碘液不变蓝色为止)，于电炉上小心加热至沸 (灭酶)，冷却，定容，过滤，取滤液沉淀粗多糖。

1.4.3 沉淀粗多糖：准确吸取上滤液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)。

1.4.4 标准曲线的绘制：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) 置于25mL比色管中，补加水至2.0mL，加入5%苯酚溶液1.0mL，在漩涡混合器上混匀，小心加入浓硫酸10mL，在漩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。以葡聚糖质量为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。

1.4.5 样品测定：准确吸取上液适量 (V_4) (含糖0.02~0.08mg)，置于25mL比色管中，补加水至2.0mL，然后按1.4.4项标准曲线的绘制的方法测定吸光度值。从标准曲线上查出葡聚糖含量，计算样品中粗多糖含量。

1.5 结果计算

$$X = \frac{m_1 \times V_1 \times V_3}{m_2 \times V_2 \times V_4} \times 100$$

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。

2 总三萜的测定

2.1 原理：以熊果酸为对照品，用分光光度法测定样品中的总三萜含量。

2.2 仪器

2.2.1 分光光度计。

2.2.2 离心机。

2.2.3 水浴锅。

2.2.4 超声波提取器。

2.3 试剂

实验用水均为双蒸水，所有试剂为分析纯级别。

2.3.1 熊果酸标准品。

- 2.3.2 冰醋酸。
- 2.3.3 高氯酸。
- 2.3.4 三氯甲烷。
- 2.3.5 香草醛。
- 2.3.6 熊果酸标准品溶液：准确称取熊果酸标准品11.7mg，置于100mL容量瓶中，用乙酸乙酯溶解并定容至100mL，配成0.117mg/mL的标准贮备液。
- 2.3.7 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 样品处理：准确称取均匀的样品0.3g~0.5g左右，置于50mL容量瓶中，加约30mL氯仿，置超声波提取器中强力超声波提取30min，取出冷却至室温，并加氯仿至刻度，摇匀，取上清液0.3~0.5mL（若提取液混浊可过滤）置于10mL比色管中，于60℃水浴中蒸干（或加氮气吹干），然后加入0.4mL5%香草醛冰醋酸溶液，混匀，加1.0mL高氯酸，混匀，在60℃水浴中加热15min后移入冰浴中冷却，并加入冰醋酸5mL，混匀后置室温下，在15~30min内，在分光光度计548nm处测定并记录吸光度值。
- 2.5 标准曲线的绘制：分别吸取熊果酸标准溶液0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5mL（相当于熊果酸0~58.5μg），置于10mL比色管中，于60℃水浴中蒸干（或加氮气吹干），同2.4项标准品的测定，并分别记录各吸光度值，以熊果酸质量为横坐标，吸光度值为纵坐标绘制标准曲线图。
- 2.6 结果计算

$$X = \frac{A_1 \times V_1 \times 100}{m \times V_2 \times 1000}$$

式中：

X—样品中总三萜含量（以熊果酸计），mg/100g；

A₁—样品测定液中比色相当于熊果酸的量，μg；

V₁—样品测定液体积，mL；

m—样品质量，g；

V₂—测定用样品测定液体积；

1000—μg换算成mg的换算系数。

3 腺苷的测定

3.1 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。

3.2 试剂

除非另有说明，在分析中仅使用双蒸水。

3.2.1 磷酸二氢钾：分析纯。

3.2.2 无水乙醇：优级纯。

3.2.3 甲醇：优级纯。

3.2.4 提取液：乙醇-水=3:2。

3.2.5 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。

3.3 仪器

3.3.1 高效液相色谱仪：附紫外检测器（UV）。

3.3.2 超声波清洗器。

3.3.3 离心机。

3.4 分析步骤

3.4.1 试样处理：取20粒以上胶囊试样进行粉碎混匀，准确称取0.500g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0.45μm滤膜过滤后供液相色谱分析用。

3.4.2 液相色谱参考条件

3.4.2.1 色谱柱：C₁₈柱，4.6×150mm，5μm。

- 3.4.2.2 柱温：室温。
- 3.4.2.3 紫外检测器：检测波长254nm。
- 3.4.2.4 流动相：甲醇-0.01mol/L磷酸二氢钾溶液=10:90。
- 3.4.2.5 流速：1.0mL/min。
- 3.4.2.6 进样量：10μL。
- 3.4.2.7 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。
- 3.4.3 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。
- 3.4.4 分析结果的表示
- 3.4.4.1 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；
- h₁—试样峰高或峰面积；
- C—标准溶液浓度，μg/mL；
- V—试样定容体积，mL；
- h₂—标准溶液峰高或峰面积；
- m—试样质量，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“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（ <i>Paecilomyces hepiali</i> Chen & Dai）
制法	经接种、发酵培养（25℃±1℃，60h）、过滤、常压干燥（86~100℃，30~35h）、粉碎、混合、包装等主要工艺加工制成
感官要求	棕色粉末，具有原料特有的滋味、气味，无异味
多糖，g/100g	≥2.0
腺苷，g/100g	≥0.18
粒度	80目
水分，%	≤7.0
灰分，%	≤9.0
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. 灵芝菌丝体粉

--	--

项 目	指 标
来源	灵芝菌种 (<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis)P. Kars t.)
制法	经接种、发酵培养(25℃±1℃, 72~96h)、过滤、常压干燥(80~95℃, 16~24h)、粉碎、包装等主要工艺加工制成
感官要求	淡黄色至棕褐色粉末, 具有原料特有的滋味、气味, 无异味
多糖, g/100g	≥2.0
三萜, g/100g	≥2.0
粒度	80目
水分, %	≤9.0
灰分, %	≤9.0
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

3. 姬松茸提取物

项 目	指 标
来源	姬松茸 (<i>Agaricus blazei</i> Murr.) 的干燥子实体
制法	经粉碎、提取(75~80℃下加水提取2次, 分别10倍量1.5h、8倍量1h, 合并2次滤液)、过滤、浓缩(浓缩至相对密度1.2)、醇沉、过滤、减压干燥(70℃, 0.08MPa, 时间8~18h)、粉碎、过筛等主要工艺加工制成
提取率, %	约6.7
感官要求	棕黄色粉末, 具原料特有的滋味、气味
多糖, %	≥15
粒度	80目
水分, %	≤10.0
灰分, %	≤9.0
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

4. 灰树花提取物

项 目	指 标
来源	灰树花 (<i>Grifola frondosa</i>) 干燥子实体
制法	经粉碎、提取(75~80℃下加水提取2次, 分别10倍量1.5h、8倍量1h, 合并2次滤液)、过滤、浓缩(浓缩至相对密度1.02)、喷雾干燥(进风口温度: 230℃, 出风口温度: 90℃, 时间3~10s)等主要工艺加工制成
提取率, %	约20

感官要求	棕黄色粉末，具原料特有的滋味、气味
多糖，%	≥10
粒度	80目
水分，%	≤10.0
灰分，%	≤9.0
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

5. 玉米淀粉：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
