

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G20100705

至臣牌灵芝菌丝体硒胶囊

【原料】 灵芝菌丝体粉、硒化卡拉胶

【辅料】 硬脂酸镁

【生产工艺】 本品经干燥、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】 药用铝箔应符合YBB00152002的规定，聚氯乙烯固体药用硬片应符合YBB00212005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、棕褐色至褐色
滋味、气味	具本品固有的滋味和气味，无异味
性状	硬胶囊，完整，无破裂；内容物为粉末
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，%	≤7.0	GB 5009.4
崩解时限，min	≤60	《中华人民共和国药典》
铅(以Pb计)，mg/kg	≤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	≤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
硒（以Se计）, mg/kg	10.35~17.25	GB 5009.93
粗多糖（以葡聚糖计）, g/100g	≥2.54	1 粗多糖的测定
总三萜（以熊果酸计）, g/100g	≥2.64	2 总三萜的测定

1 粗多糖的测定

1.1 原理：食品中分子量大于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，其显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。

1.2 试剂

本方法所用试剂除特殊注明外，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 铜试剂储备液：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：取铜试剂储备液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 葡聚糖标准品来源及储备溶液：葡聚糖标准品购自Sigma公司，含量99.9%。精密称取分子量50000、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。

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ml含葡聚糖0.10mg。

1.3 仪器

1.3.1 分光光度计。

1.3.2 离心机（3000r/min）。

1.3.3 旋转混匀器。

1.4 标准曲线的制备：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: 称取混合均匀的固体样品2.0g, 置于100mL容量瓶中, 加水80mL左右, 于沸水浴上加热2h, 冷却至室温后补加水至刻度, 混匀后, 过滤, 弃去初滤液, 收集余下滤液供沉淀多糖。

1.5.2 沉淀粗多糖: 精密吸取1.5.1项终滤液5.0mL, 置于50mL离心管中, 加入无水乙醇20mL, 混匀5min后, 以3000rpm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。

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3000rpm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3次操作后, 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含量, 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

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

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—样品取样量, 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 总三萜的测定

2.1 原理: 灵芝三萜类物质具有一定比例四环三萜类的分子结构, 能与香草醛冰醋酸溶液和高氯酸于60℃水浴中加温产生紫红色, 在548nm处有最大吸收, 可进行定量比色测定, 因此可以间接测出灵芝三萜物质的含量。

2.2 试剂

2.2.1 熊果酸。

2.2.2 5%香草醛-冰醋酸液: 分析纯。

2.2.3 高氯酸: 分析纯。

2.2.4 氯仿: 分析纯。

2.2.5 6NHCL。

2.2.6 水为蒸馏水或去离子水。

2.2.7 甲醇: 分析纯。

2.2.8 无水乙醇: 分析纯。

2.2.9 乙酸乙酯: 分析纯。

2.2.10 标准品来源纯度: 熊果酸对照品来源于中国食品药品检定研究院, 含量>98%。

2.3 仪器

2.3.1 10mL比色管。

2.3.2 200mL容量瓶。

- 2.3.3 分析天平。
2.3.4 索氏提取器。
2.3.5 100mL分液漏斗。
2.3.6 微量移液器。

2.4 标准曲线的制备：准确称取熊果酸对照品10mg置于容量瓶中，用无水乙醇定容至100mL，精密吸取该熊果酸液0.10、0.35、0.60、0.85、1.10mL置于10mL具塞比色管中，水浴挥干乙醇，各加5%香草醛冰醋酸0.4mL，高氯酸1.0mL，混匀、盖塞，置60℃水浴中加热15min后，取出冷却至室温。各加冰醋酸5mL，摇匀，于548nm处测定吸光度，绘制标准曲线。

2.5 样品处理：准确称取1g左右，用索氏提取器、以乙酸乙酯为溶剂提取两次，每次40mL，提取30min，合并抽提液，将抽提液浓缩至干后，置于100mL容量瓶中，加无水乙醇溶解并定容，备用。

2.6 样品测定：取无水乙醇提取液1mL置于10mL具塞比色管中，水浴挥干乙醇，各加5%香草醛冰醋酸0.4mL，高氯酸1.0mL，混匀、盖塞，置60℃水浴中加热15min后，取出冷却至室温。加冰醋酸5mL，摇匀，于548nm处测定吸光度。根据回归方程 $y=Bx+A$ 计算x值。

2.7 结果计算：

$$\text{三萜百分含量} = \frac{X \times A \times B}{C} \times 100\%$$

式中：

X—样品吸光度值通过回归方程计算得出的X值， μg ；

A—样品定容体积，即稀释倍数，mL；

B—校正系数4.2；

C—样品质量（以 μg 计算）。

注：a) 吸光度值在0.1~1.0之间显线性关系，样品如果稀释到200mL后取1mL测吸光度，其值 >1 ，可将样品稀释度增加，以使吸光度值在0.1~1.0之间。

b) 线性回归方程可通过计算机或带线性回归的计算器计算（例如CASIO fx-3800Pv计算器）。

c) 样品称取的量应考虑含水量，例如样品称取了x克，其含水量为5%，则公式中C值为 $\times 95\%$ 。

【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. 灵芝菌丝体粉

项 目	指 标
来源	灵芝菌种 <i>Ganoderam lucidum</i>
制法	经培养（培养基：葡萄糖、黄豆饼粉、玉米粉、硫酸镁、磷酸二氢钾、酵母粉、消沫油等）、发酵（ $28 \pm 1^\circ\text{C}$ ，48~72h）、过滤、干燥（ $60 \sim 80^\circ\text{C}$ ）、粉碎等主要工艺加工制成。
感官	棕黄色或棕褐色粉末，具本品特有的香味、味酸咸、微苦、无异味，无结块，无正常视力可见的杂质。
多糖，g/100g	≥ 0.4
总三萜（以熊果酸计），g/100g	≥ 2.8
粒度（通过孔径80目标准筛），%	≥ 90.0
水分，g/100g	≤ 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	≤ 0.2
六六六，mg/kg	≤ 0.2
滴滴涕，mg/kg	≤ 0.1

二氧化硫 (SO ₂)	不得检出
菌落总数, CFU/g	≤1000
大肠菌群, MPN/g	≤0.3
霉菌, CFU/g	≤25
酵母, CFU/g	≤25
致病菌 (系指沙门氏菌、金黄色葡萄球菌)	不得检出

2. 硒化卡拉胶: 应符合GB 1903.23《食品安全国家标准 食品营养强化剂 硒化卡拉胶》的规定。

3. 硬脂酸镁: 应符合《中华人民共和国药典》的规定。
