

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G20200651

大珍牌破壁灵芝孢子粉

【原料】 灵芝孢子粉

【辅料】 无

【生产工艺】 本品经蒸汽灭菌（100℃，30min）、干燥（80℃，3h）、破壁粉碎、制粒、干燥、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/铝/聚乙烯药用复合膜、袋应符合YBB00172002的规定，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	棕色至棕褐色
滋味、气味	具有本品特殊的滋味、气味，无异味
性状	均匀颗粒，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
蛋白质，%	≥10.0	GB 5009.5
破壁率，%	≥95	1 破壁率的测定
水分，%	≤9.0	GB 5009.3
灰分，%	≤2.0	GB 5009.4
粒度	不能通过一号筛与能通过五号筛的	《中华人民共和国药典》

	总和不得超 过15%	
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

1 破壁率的测定

1.1 原理：单位质量样品未破壁孢子数与同单位质量标样（未经破壁的孢子）中的孢子数之比为样品中孢子的未破壁率。破壁率=1-未破壁率。未破壁率孢子表现为完整的卵形且外壁光滑。

1.2 仪器

1.2.1 分析天平。

1.2.2 血球计数板。

1.2.3 超声波仪。

1.2.4 显微镜型号：CX31（日本奥林巴斯株式会社）。

1.3 试剂

1.3.1 蒸馏水等

1.4 标样配制与计数：精密称取0.1g标样，蒸馏水稀释至100mL。充分搅拌均匀，立即取少许悬浮液均匀涂抹在血球计数板框内，盖上玻片。在显微镜下（600倍以上）观察，计数，一般每一检样观察不少于50个计数单位。

1.5 样品的检测：同1.4的操作。

1.6 计算

$$X = \left(1 - \frac{W_0 \times n}{W \times n_0}\right) \times 100\%$$

式中：

X—样品中孢子破壁率，%；

W_0 —标样的质量；

W—样品的质量重量；

n_0 —标样50个（或m个）计数单位的孢子总数；

n—样品50个（或m个）计数单位的完整未破壁孢子总数。

附：在无未破壁孢子予以对照的情况下，可用下面方法检测破壁孢子计算其破壁率。

按1.4程序，每检测样分别计破壁和未破壁孢子数。观察视野数根据破壁情况自行调整，一般不少于10个视野。在视野下的破壁孢子表现为不呈完整卵形的大小不等形状各异的碎片，或表现为外壁粗糙的卵形个体。

破壁孢子数=碎片数/相当于一个完整孢子的碎片数（取平均值，通常为2-4）+外壁粗糙的卵形体数。

未破壁孢子数=完整卵形且外壁光滑的个体数

$$\text{破壁率}\% = \left(1 - \frac{P_{\text{未破}}}{P_{\text{破}} \times P_{\text{未破}}}\right) \times 100\%$$

式中：

$P_{\text{破}}$ —所观察的视野下破壁孢子数总和 $\sum_{i=1}^n P_{i\text{破}}$ ；

$P_{\text{未破}}$ —所观察的视野下未破壁孢子数总和 $\sum_{i=1}^n P_{i\text{未破}}$ ；

n—观测视野数总和。

测一个平行样，得出破壁率后取两破壁率的平均值。

【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（以葡萄糖计），mg/100g	≥1200	1 粗多糖的测定
灵芝三萜（齐墩果酸计），mg/100g	≥420	2 灵芝三萜的测定

1 粗多糖的测定

1.1 原理：多糖经乙醇沉淀分离后，去除其他可溶性糖及杂质的干扰，再与苯酚硫酸溶液作用生成有色化合物，其呈色强度与溶液中糖的浓度成正比，在485nm处比色定量。

1.2 试剂

本方法所用的试剂除特殊注明外，均为分析纯；所用水为双蒸水。

1.2.1 葡萄糖标准液：准确称取100mg经过98~100℃干燥至恒重的无水葡萄糖，加水溶解后以水稀释至100mL，此溶液1mL含1mg葡萄糖，用前稀释10倍（0.1mg/mL），现用现配。

1.2.2 苯酚溶液：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1个月。

1.2.3 标准品来源纯度：无水葡萄糖对照品（中国食品药品检定研究院，99.9%）

1.2.4 硫酸。

1.2.5 无水乙醇。

1.3 仪器

1.3.1 分光光度计。

1.3.2 离心机（4000r/min）。

1.3.3 旋转混匀器。

1.3.4 水浴锅。

1.4 测定步骤

1.4.1 标准曲线：精密移取葡萄糖标准溶液0、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL，分置于具塞试管中。加蒸馏水补充至体积2.00 mL，再加苯酚溶液1.00mL，摇匀，依次加入浓硫酸5.00mL，摇匀，置沸水浴2min，取出置室温，于波长485nm处，以试剂空白为参比测定吸收度。以含糖量为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线。

1.4.2 供试品溶液的制备

1.4.2.1 样品提取：称取样品约2.0g，精密称定，置圆底烧瓶中，精密加水100mL，称定重量，分散均匀后加热回流3h，放冷，再称定重量，加水补足减失的重量，摇匀，静置数小时，取上清液供沉淀多糖。

1.4.2.2 准确吸取以上清液5.00mL，加入无水乙醇25 mL，摇匀，4℃静置过夜，以4000r/min离心15min，弃去上清液。沉淀用水溶解并定容至25.0 mL，混匀后，供测定。

1.4.3 样品测定：吸取供试品溶液1.00mL，加水补充至2.00mL，再加苯酚溶液1.00mL，摇匀，依次加入浓硫酸5.00mL，摇匀，置沸水浴2min，取出置室温，于波长485nm处，以试剂空白为参比测定吸收度。

1.5 结果计算

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

式中：

X—粗多糖（以葡萄糖计）含量，mg/100g；

m₁—测定用样品溶液中相当葡萄糖的量，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 —测定用样品溶液体积，mL。

2 灵芝三萜的测定

2.1 原理：将样品溶于乙酸乙酯中并于100℃水浴上蒸干后，加入5%香草醛-冰醋酸溶液和高氯酸，于65℃水浴加热15min，再加入冰乙酸。在一定浓度范围内其吸光度与三萜类化合物的含量成正比，以此进行比色定量。

2.2 试剂

- 2.2.1 齐墩果酸标准品（中国食品药品检定研究院提供，纯度98.9%）。
- 2.2.2 高氯酸（分析纯）。
- 2.2.3 冰乙酸（分析纯），香草醛（分析纯）。
- 2.2.4 乙酸乙酯（分析纯）。

2.3 仪器

- 2.3.1 分光光度计（±2nm）。
- 2.3.2 离心机（4000r/min）。
- 2.3.3 旋转混匀器。
- 2.3.4 水浴锅。

2.4 方法

2.4.1 测定方法（可见分光光度法）：将样品溶于乙酸乙酯中并于100℃水浴上蒸干后，加入5%香草醛-冰醋酸溶液和高氯酸，于65℃水浴加热15min，再加入冰乙酸用分光光度计测定样品中的三萜含量。

2.4.2 对照品溶液的制备与标准曲线的绘制：精密称取齐墩果酸对照品一定量，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。分别吸取0.00、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00和1.20mL对照品溶液，于100℃水浴上蒸干后放置室温，加入0.40mL5%香草醛-冰乙酸和1.00mL高氯酸，在65℃水浴中加热15min并移入冰水浴中冷却3min，取出放置室温，再加入5.00mL冰乙酸，摇匀并置于室温。15min后用分光光度计于552±2nm波长下测定对照品溶液的吸光度。分别以浓度和吸光度绘制标准曲线。

2.4.3 样品溶液的制备与测定：取样品约0.2g，精密称定，置100mL容量瓶中，用约85mL乙酸乙酯溶解，超声30min，过滤，少量乙酸乙酯淋洗滤渣，定容至刻度，摇匀。吸取1mL该溶液，于100℃水浴上蒸干后放置室温，加入0.40mL5%香草醛-冰乙酸和1.0mL高氯酸，在65℃水浴加热15min并移入冰水浴中3min，取出放置室温，再加入5.00mL冰乙酸，摇匀并置于室温。15min后用分光光度计于552±2nm波长下测定样品液的吸光度。

2.4.4 灵芝三萜（以齐墩果酸计）含量的计算

$$\text{灵芝三萜 (mg/100g)} = \frac{\text{样品相当于对照品的量 (mg)} \times \text{稀释倍数} \times 100}{\text{样品重 (g)}}$$

【装量或重量差异指标/净含量及允许负偏差指标】

净含量为28g/包，允许负偏差为9%。净含量为100g/瓶，允许负偏差为4.5g。

【原辅料质量要求】

1. 灵芝孢子粉

项 目	指 标
来源	多孔菌科真菌赤芝 <i>Ganoderma lucidum</i> (Leyss. ex Franch.) Karst. 的干燥成熟孢子
制法	灵芝弹射孢子时经采收、除杂、干燥、过筛等主要工艺制成
性状	棕色至棕褐色粉末状，均匀无结块，气略香，味淡，微苦，无杂质
显微鉴别	卵形，顶端平截或钝圆形，孢壁双层，外壁透明、平滑，内壁淡褐色或近褐色，长6~11μm，宽4~7μm，纯度大于99%
水分，%	≤9.0
灰分，%	≤2.0
蛋白质，%	≥10.0
粗多糖（以葡萄糖计），mg/100g	≥1000
灵芝三萜（以齐墩果酸计），mg/100g	≥400
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	≤0.2