

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20190390

全芝坊®破壁灵芝孢子粉

- 【原料】 破壁灵芝孢子粉
- 【辅料】 无
- 【生产工艺】 本品经过筛、分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】 食品包装用复合膜应符合GB/T 21302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	具本品特有的滋味、气味，无异味
性状	粉剂，均匀粉末、松散自然，无结块
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
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

【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	≥1.53	1 粗多糖的测定
总三萜（以齐墩果酸计），g/100g	≥1.64	2 总三萜的测定

1 粗多糖的测定

1.1 原理：食品中相对分子质量大于 1×10^4 的高分子物质在80%乙醇溶液中沉淀，与水溶液中单糖和低聚糖分离，用碱性二价铜试剂选择性地从其他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的含量。

1.2 仪器

1.2.1 分光光度计。

1.2.2 离心机（3000r/min）。

1.2.3 旋涡混合器。

1.3 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。

1.3.1 乙醇溶液（80%）：20mL水中加入无水乙醇80mL，混匀。

1.3.2 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。

1.3.3 铜试剂储备液：称取3.0g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、30.0g枸橼酸钠，加水溶解并稀释至1L，混匀，备用。

1.3.4 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。

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

- 1.3.6 硫酸溶液（10%）：取100mL浓硫酸加入到800mL左右水中，混匀，冷却后稀释至1L。
- 1.3.7 苯酚溶液（50g/L）：称取粗制苯酚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。
- 1.3.8 葡聚糖标准储备液：准确称取相对分子质量 5×10^5 已干燥至恒重的葡聚糖标准品0.5000g，加水溶解，并定容至50mL，摇匀，即得每1mL含10.0mg葡聚糖的溶液。置冰箱中保存。
- 1.3.9 葡聚糖标准使用液：吸取葡聚糖标准储备液1.0mL，置于100mL容量瓶中，加水至刻度，摇匀，即得每1mL含0.10mg葡聚糖的溶液。置冰箱中保存。
- 1.4 样品处理
- 1.4.1 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，于沸水浴中加热2h，冷却至室温后补加水至刻度，混匀后过滤，弃去初滤液，收集续滤液供沉淀多糖。
- 1.4.2 沉淀粗多糖：准确吸取1.4.1项续滤液5.0mL，置于50mL离心管中，加入无水乙醇20mL，混匀5min后，以3000r/min离心5min，弃去上清液，残渣用80%（v/v）乙醇溶液数毫升洗涤，离心后弃上清液，反复操作3~4次。残渣用水溶解并定容至5.0mL，摇匀，供沉淀葡聚糖。
- 1.4.3 沉淀葡聚糖溶液：准确吸取1.4.2项溶液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，以3000r/min离心5min，弃去上清液。残渣用洗涤液数毫升洗涤，离心后弃去上清液，反复操作3次，残渣用10%（v/v）硫酸溶液2.0mL溶液并转移至50mL容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀。此溶液为样品测定液。
- 1.5 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）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，在旋涡混合器上混匀，小心加入浓硫酸10.0mL，于旋涡混合器上小心混匀，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。
- 1.6 样品测定：准确吸取样品测定液2.0mL置于25mL比色管中，加入50g/L苯酚溶液1.0mL，在旋涡混合器上混匀，小心加入浓硫酸10.0mL，于旋涡混合器上小心混匀，置沸水浴中煮沸2min，冷却至室温，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。同时做样品空白实验。
- 1.7 结果计算

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \times V_1 \times V_3 \times V_5}{m_3 \times V_2 \times V_4 \times V_6}$$

式中：

- X—样品中粗多糖含量（以葡聚糖计），mg/g；
 m_1 —样品测定液中葡聚糖的质量，mg；
 m_2 —样品空白液中葡聚糖质量，mg；
 m_3 —样品称样量，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 —测定用样品测溶液体积，mL。

2 总三萜的测定

2.1 原理：以齐墩果酸为对照品，用紫外分光光度法测定样品中的总三萜含量。

2.2 试剂

- 2.2.1 齐墩果酸标准品（纯度：99.99%）。
- 2.2.2 高氯酸、冰醋酸、香草醛：均为分析纯。
- 2.2.3 5%香草醛—冰醋酸溶液：称取香草醛5.0g，以冰醋酸定容至100mL，摇匀，即得。
- 2.3 仪器
- 2.3.1 紫外分光光度计。
- 2.3.2 恒温水浴锅。
- 2.4 标准曲线的绘制：精密称取10mg齐墩果酸标准品，置于100mL容量瓶中，用氯仿溶解并稀释至刻度，准确吸取对照品溶液0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mL，分别置于20mL具塞试管中，100℃水浴蒸干溶剂，加5%香草醛—冰醋酸溶液0.3mL、高氯酸1.4mL，密塞，混匀，60℃水浴保温20min，取出后冰水浴冷却，加冰醋酸5mL，摇匀。以试剂空白液为参比调节零点，于548nm处测吸光度值，以对照品溶液浓度对吸光度值作图，得到一条通过原点的直线，绘制标准曲线。
- 2.5 样品测定：精密称取样品适量置于100mL容量瓶中，加氯仿超声30min并稀释至刻度，摇匀，过滤，精密吸取样品滤液1mL和同等量的空白试剂，分别置于20mL具塞试管中，100℃水浴蒸干溶剂，加5%香草醛—冰醋酸溶液0.3mL、高氯酸1.4mL，密塞，混匀，60℃水浴保温20min，取出后冰水浴冷却，加冰醋酸5mL，摇匀。以试剂空白液为参比调节零点，于548nm处测吸光度值。查标准曲线或按照回归方程计算测定结果。
- 2.6 结果计算

$$\text{总三萜含量（\%）} = \frac{\text{总三萜浓度} \times \text{稀释倍数}}{\text{样品称样量}} \times 100\%$$

【装量或重量差异指标/净含量及允许负偏差指标】 净含量为25g/盒，允许负偏差为9%。

【原辅料质量要求】

破壁灵芝孢子粉

破壁灵芝孢子粉的质量要求

项 目	指 标
来源	灵芝孢子
制法	以灵芝孢子粉为原料，经干燥、过筛、流通蒸汽灭菌（121.3℃，15min）、破壁（破壁辊压机，反复30次）、包装等主要工艺加工制成。
破壁率，%	≥98
感官	棕色至棕褐色粉末，具原料特有的滋味、气味
粗多糖，%	≥1.7
总三萜，%	≥1.8
水分，%	≤9
灰分，%	≤6
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
金黄色葡萄球菌	≤0/25g
沙门氏菌	≤0/25g
