

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20120617

柯氏牌蝙蝠蛾被毛孢菌丝体胶囊

【原料】 蝙蝠蛾被毛孢菌丝体粉

【辅料】 无

【生产工艺】 本品经制粒、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】 聚氯乙烯固体药用硬片（PVC）应符合YBB00212005的规定；铝箔应符合YBB00152002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
状态	硬胶囊，完整光洁，无破损；内容物为颗粒状，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，g/100g	≥30	GB 5009.5
水分，%	≤9.0	GB 5009.3
灰分，%	≤7.0	GB 5009.4
崩解时限，min	≤30	《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

【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）, g/100g	≥5.0	1 粗多糖的测定
腺苷, mg/100g	≥150	2 腺苷的测定

1 粗多糖的测定

1.1 原理：样品中粗多糖用水在沸水浴中提取，再经乙醇沉淀、水复溶后，与苯酚-硫酸显色，以比色法求出含量。

1.2 仪器

1.2.1 分光光度计

1.2.2 离心机（3000r/min）

1.2.3 旋转混匀器

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 无水乙醇：分析纯

1.3.2 浓硫酸：分析纯，95.5%。

1.3.3 乙醇溶液（80%）：20mL水中加入无水乙醇80mL，混匀。

1.3.4 6%苯酚：6g重蒸苯酚（150g苯酚加铝粉0.2g和碳酸氢钠1.0g，蒸馏，收集182℃馏分）用煮沸过的蒸馏水定容至100mL，置冰箱（4℃）中避光保存（保质期半个月）。

1.3.5 标准葡萄糖溶液：准确称取0.1g经过105℃干燥至恒重的葡萄糖（分析纯），加水溶解后以水稀释至100mL，此溶液1mL含1mg葡萄糖，用时从中吸取10mL，用蒸馏水定容至250mL，此时葡萄糖标准溶液的浓度记为C，μg/mL（约40μg/mL左右）。

1.4 标准曲线的制备：精密移取葡萄糖标准溶液0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8mL，各以水补至2.0mL，用旋涡混匀器振匀，然后加入6%苯酚1.0mL，用旋涡混匀器振匀，再加5mL浓硫酸，迅速振匀。室温放置5min，然后在沸水浴中保温15min，用自来水冷却5min，再用旋涡混匀器振匀，于490nm波长

处测光密度，以2.0mL水按同样显色操作作为空白，以光密度值为横坐标，葡萄糖标准溶液体积数（mL数）为纵坐标绘制标准曲线。

1.5 样品溶液的制备：精确称取样品1.0g（相当于多糖质量约50mg的量，记为m，单位g），置试管中加重蒸水45mL，于沸水浴上加热3h，冷却至室温后进行离心，上清液收集备用。沉淀加30mL重蒸水进行二次提取，方法同上。合并两次上清液，定容至100mL（记为V₁，单位mL）。准确吸取上述滤液1.0mL，置于10mL离心管中，加入无水乙醇4mL，混匀后，4℃静置6h，离心，弃去上清液。残渣用80%（v/v）乙醇数毫升润洗，倒扣于滤纸上，反复操作3~4次。残渣用水充分溶解，可适当加热（<60℃，冷却至室温，并定容到50mL，记为V₂，单位mL。

1.6 样品测定：吸取样品液1.0mL（记为V₃，单位mL）（相当于40μg左右的多糖，若多糖量过高或过低使光密度OD_测超过0.2~0.6的最佳范围，酌情增减样品液的吸取量，但不得超过2mL，若超过则需要增加样品称取量，即增加W的称取量），加水补充至2.00mL，用旋涡混匀器振匀，然后加入6%苯酚1.0mL，用旋涡混匀器振匀，再加5mL浓硫酸，迅速振匀。室温放置5min，然后在沸水浴中保温15min，用自来水冷却5min，再用旋涡混匀器振匀，于波长490nm处测定光密度（OD_测）。根据OD_测和标准曲线查得V₃相当于葡萄糖标准溶液的体积数V₄，单位mL。

1.7 结果计算

$$X = \frac{C \times V_1 \times V_2 \times V_4}{V_3 \times m \times 10000}$$

式中：

X—样品中粗多糖的含量（以葡萄糖计），g/100g；

C—葡萄糖标准溶液的浓度，μg/mL；

V₁—样品提取时定容的体积，mL；

V₂—样品醇沉物溶解时定容的体积，mL；

V₃—被测样品的体积，mL；

V₄—根据OD_测和标准曲线查得V₃相当于葡萄糖标准溶液的体积数，mL；

M—样品质量，g。

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：0.04μg。

本方法的线性范围：0.40~60.0μg/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0.45μm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，4.6×150mm，5μm。
- 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：10μL。
- 2.5.3 标准曲线制备：分别配制浓度为0.400、2.00、4.00、20.0、60.0μg/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。
- 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；
- 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。

- 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±10%。

【装量或重量差异指标/净含量及允许负偏差指标】 装量差异指标应符合《中华人民共和国药典》“制剂通则”项下胶囊剂的规定。

【原辅料质量要求】

1. 蝙蝠蛾被毛孢菌丝体粉：

项 目	指 标
来源	蝙蝠蛾被毛孢菌
制法	经斜面培养（18℃，30天）、摇瓶种子培养（18℃，8天）、一级种子培养（18℃，7天）、二级种子培养（18℃，7天）、三级增殖培养（18℃，9天）、板框分离、菌丝体烘干（95℃）、粉碎、混合、包装等工艺制成。
感官要求	棕色，具有本品特有的滋气味、无异味，粉状，无正常视力可见外来异物
净含量负偏差，%	4.5

水分，%	≤6.0
灰分，%	≤6.0
蛋白质，%	≥30
腺苷，mg/100g	≥100
甘露醇，g/100g	≥4.0
粗多糖（以葡萄糖计），g/100g	≥5.0
铅（以Pb计），mg/kg	≤1.0
总砷（以As计），mg/kg	≤0.5
总汞（以Hg计），mg/kg	≤0.3
菌落总数，CFU/g	≤10000
大肠菌群，MPN/g	≤0.92
霉菌和酵母，CFU/g	≤50
致病菌（沙门氏菌、金黄色葡萄球菌）	不得检出

2. 明胶空心胶囊：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
