

# 国家市场监督管理总局 保健食品产品技术要求

国食健注G20220190

## 甦力康牌酸枣仁破壁灵芝孢子颗粒

【原料】 酸枣仁、破壁灵芝孢子粉、 $\gamma$ -氨基丁酸、猴头菇提取物

【辅料】 无

【生产工艺】 本品经提取（酸枣仁，15倍量60~65%酒精80℃提取3h，滤渣加10倍量饮用水100℃提取2次，分别2.5h、1.5h）、过滤、浓缩、灭菌（100℃，30min）、喷雾干燥（进风温度180~220℃，出风温度80~120℃）、过筛、混合、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】

铝箔卷材应符合GB/T 28118的规定。

【感官要求】 应符合表1的规定。

表1 感官要求

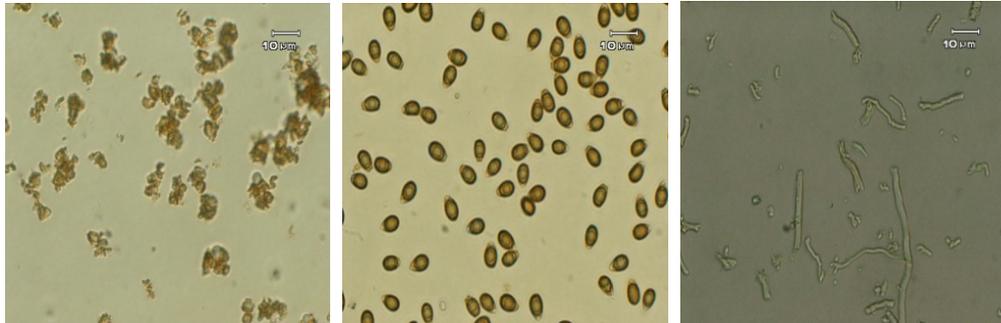
项 目	指 标
色泽	棕色至棕褐色，色泽一致
滋味、气味	具本品特有的滋味、气味，无异味
性状	颗粒状，均匀，无吸潮、软化、结块、潮解等现象
杂质	无正常视力可见外来异物

【鉴别】

### 1 破壁灵芝孢子的鉴别

破壁灵芝孢子粉为本产品中重要原料，根据本品与未破壁灵芝孢子粉、灵芝超细粉的特性，特制定本产品的显微鉴别和理化鉴别方法如下。

1.1 显微鉴别：取本品粉末适量，加水合氯醛试液，加热透化，挑取少许置载玻片上，盖上盖玻片。在16×40倍显微镜下本品形态为碎块状；未破壁灵芝孢子粉的显微形态为椭圆形；灵芝超细粉的显微形态为线状菌丝体段。三者具有明显差别。



本品显微形态

灵芝孢子粉显微形态

灵芝超细粉显微形态

## 1.2 理化鉴别

1.2.1 破壁率测定：按照中华人民共和国农业行业标准NY/T 1677“破壁灵芝孢子粉破壁率的测定”规定的方法测定产品的破壁率，产品的破壁率在98%以上。

## 2 酸枣仁的薄层鉴别

2.1 本品粉末棕红色。

2.2 取本品粉末1g，加甲醇30mL，加热回流1h，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇0.5mL使溶解，作为供试品溶液。另取酸枣仁皂苷A对照品、酸枣仁皂苷B对照品，加甲醇制成每1mL各含1mg的混合溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法（通则0502）试验，吸取上述两种溶液各5 $\mu$ L，分别点于同一硅胶G薄层板上，以水饱和的正丁醇为展开剂，展开，取出，晾干，喷以1%香草醛硫酸溶液，立即检视。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

2.3 取本品粉末1g，加石油醚（60~90 $^{\circ}$ C）30mL，加热回流2h，滤过，弃去石油醚液，药渣挥干，加甲醇30mL，加热回流1h，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇2mL使溶解，作为供试品溶液。另取酸枣仁对照药材1g，同法制成对照药材溶液。再取斯皮诺素对照品，加甲醇制成每1mL含0.5mg的溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法（通则0502）试验，吸取上述三种溶液各2 $\mu$ L，分别点于同一硅胶G薄层板上，以水饱和的正丁醇为展开剂，展开，取出，晾干，喷以1%香草醛硫酸溶液，置紫外光灯（365nm）下检视。供试品色谱中，在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上，显相同的蓝色荧光斑点。

【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
总皂苷（以人参皂苷Re计），mg/100g	$\geq 85$	1 总皂苷的测定
水分，%	$\leq 6.0$	GB 5009.3
灰分，%	$\leq 7.0$	GB 5009.4
铅（以Pb计），mg/kg	$\leq 2.0$	GB 5009.12
总砷（以As计），mg/kg	$\leq 1.0$	GB 5009.11
总汞（以Hg计），mg/kg	$\leq 0.3$	GB 5009.17
六六六，mg/kg	$\leq 0.2$	GB/T 5009.19
滴滴涕，mg/kg	$\leq 0.1$	GB/T 5009.19
溶化性	部分溶化，有棕褐色细小不容物，无异物	《中华人民共和国药典》
粒度	不能通过一号筛与能通过五号筛的总和不得超过15%	《中华人民共和国药典》

## 1 总皂苷的测定

### 1.1 试剂

1.1.1 Amberlite-XAD-2大孔树脂。

1.1.2 正丁醇：分析纯。

1.1.3 乙醇：分析纯。

1.1.4 中性氧化铝：层析用，100~200目。

- 1.1.5 人参皂苷Re：纯度97%，分析标准品来源于中国食品药品检定研究院。
- 1.1.6 香草醛溶液：称取5g香草醛，加冰乙酸溶解并定容至100mL。
- 1.1.7 高氯酸：分析纯。
- 1.1.8 冰乙酸：分析纯。
- 1.1.9 人参皂苷Re标准溶液：精确称取人参皂苷Re标准品0.020g，用甲醇溶解并定容至10.0mL，即每毫升含人参皂苷Re2.0mg。
- 1.2 仪器
- 1.2.1 紫外可见分光光度计。
- 1.2.2 层析柱。
- 1.3 方法
- 1.3.1 样品处理：称取5.000g左右的试样，置于100mL容量瓶中，加少量水，超声30min，再用水定容至100mL，摇匀，放置，吸取上清液1.0mL进行柱层析。
- 1.3.2 柱层析：用10mL注射器作层析管，内装3cmAmberLite-XAD-2大孔树脂，上加1cm中性氧化铝。先用25mL70%乙醇洗柱，弃去洗脱液，再用25mL水洗柱，弃去洗脱液，精确加入1.0mL已处理好的试样溶液（见1.3.1），25mL水洗柱，弃去洗脱液，用25mL70%乙醇洗脱人参皂苷，收集洗脱液于蒸发皿中，置于60℃水浴挥干。以此作显示用。
- 1.3.3 显色：在上述已挥干的蒸发皿中准确加入0.2mL5%香草醛冰乙酸溶液，转动蒸发皿，使残渣都溶解，再加0.8mL高氯酸，混匀后移入5mL带塞刻度离心管中，60℃水浴上加热10min，取出，冰浴冰却后，准确加入冰乙酸5.0mL，摇匀后，以1cm比色池于560nm波长处与标准管一起进行比色测定。
- 1.3.4 标准管：吸取人参皂苷Re标准溶液（2.0mg/mL）100μL放蒸发皿中，放在水浴挥干（低于60℃），或热风吹干（勿使过热），以下操作从1.3.2柱层析…”起，与试样相同。测定吸光值。
- 1.4 计算

$$X = \frac{A_1}{A_2} \times C \times \frac{V}{m} \times \frac{100}{1000}$$

式中：

- X—试样中总皂苷含量（以人参皂苷Re计），mg/100g；  
 A<sub>1</sub>—被测液的吸光度值；  
 A<sub>2</sub>—标准液的吸光度值；  
 C—标准管人参皂苷Re的量，μg；  
 V—试样稀释体积，mL；  
 m—试样质量，g。

【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
金黄色葡萄球菌	≤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

粗多糖(以葡聚糖计), g/100g	≥8.0	1 粗多糖的测定
γ-氨基丁酸, g/100g	≥5.0	2 γ-氨基丁酸的测定

## 1 粗多糖的测定

1.1 原理：食品中相对分子质量 $>1 \times 10^4$ 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的含量成正比。

### 1.2 仪器

1.2.1 分光光度计、离心机、水浴锅、漩涡混合器

### 1.3 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 葡萄糖标准品来源纯度：标准品为D-无水葡萄糖，来源中国食品药品检定研究院，纯度为99.8%。

1.3.4 5%苯酚(W/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1个月。

1.3.5 葡萄糖标准溶液：准确称取葡萄糖标准品0.1g，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倍至0.1mg/mL，现配现用。

1.4 标准曲线绘制：精密移取葡萄糖标准溶液0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0mL相当于糖质量0、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1mg)，各加水补至2.0mL，混匀，加入5%苯酚溶液1.0mL，混匀，再加10mL浓硫酸，迅速混匀，置沸水浴中保温2min，取出冷却至室温，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，以葡萄糖浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。

### 1.5 样品处理和测定

1.5.1 样品提取：精确称取样品内容物1g（记为W），溶解转移到100 mL容量瓶中，加水80mL左右，于沸水浴上加热2h，冷却至室温后定容至100mL（记为 $V_1$ ，单位mL），混匀后，过滤，弃去初滤液，收集余下滤液供沉淀粗多糖。

1.5.2 沉淀粗多糖：准确吸取上述过滤液5.0mL（记为 $V_2$ ，单位mL），置于100mL离心管中，加入无水乙醇20mL，混匀后，静置5min，以3000r/min离心20min，弃去上清液。残渣用80%（体积比）乙醇数毫升洗涤，离心后弃去上清，反复操作1~2次。残渣用水充分溶解（可适当加热 $\leq 60^\circ\text{C}$ ，冷却至室温），并转移定容到25mL（记为 $V_3$ ，单位mL）。

1.5.3 样品测定：吸取样品液1.0mL（记为 $V_4$ ，单位mL）（相当于50 $\mu\text{g}$ 左右的多糖，若多糖量过高或过低使光密度OD测超过0.3~0.7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，混匀，加入5%苯酚溶液1.0mL，混匀，再加10mL浓硫酸，迅速混匀，置沸水浴中保温2min，取出冷却至室温，混匀，用分光光度计在485nm波长处测定吸光度值（A测）。根据A测和标准曲线查得 $V_4$ 样品溶液中葡萄糖含量M，单位mg。

### 1.6 结果计算

$$X = \frac{M \times V_1 \times V_3}{V_2 \times V_4 \times W} \times 0.9$$

式中：

X—样品中粗多糖的含量，g/100g；

M—样品测定液中葡萄糖的质量，mg；

$V_1$ —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；

W—称取样品的质量，g；

0.9—为葡萄糖换算为粗多糖的系数。

## 2 γ-氨基丁酸的测定

2.1 原理：样品用水溶解，上清液中γ-氨基丁酸与丹磺酰氯衍生反应，衍生物经C18反相色谱柱分离，用紫外检测器（波长254nm）检测，外标法定量。

### 2.2 仪器

2.2.1 高效液相色谱仪、紫外检测器、pH计、恒温装置、涡旋混合器。

### 2.3 试剂

本方法所用的试剂除特殊注明外，均为分析纯；所用水为去离子水或同等纯度蒸馏水

2.3.1 乙腈：色谱纯。

2.3.2 乙酸钠：分析纯。

2.3.3 碳酸氢钠：分析纯。

2.3.4 丹磺酰氯：色谱纯。

2.3.5 盐酸：分析纯。

2.3.6 冰乙酸：分析纯。

2.3.7  $\gamma$ -氨基丁酸（GABA）标准品来源纯度：来源sigma公司，纯度 $\geq 99\%$ 。

2.3.8 碳酸氢钠缓冲液（pH9.8）（120mmol/L）：称取1.008g无水碳酸氢钠，加80mL水溶解，用1mol/L NaOH调pH值至9.8，用水定容至100mL。该溶液在室温下3个月内稳定。（碳酸氢钠分子量84）。

2.3.9 丹磺酰氯溶液（1.5mg/mL）：称取0.15g丹磺酰氯，用乙腈溶解并定容至100mL。使用棕色容量瓶配制，配好后用棕色试剂瓶保存，置于低温冰箱储存，最好现配现用。

2.3.10 盐酸（1mol/L）：9mL浓盐酸加蒸馏水定容到100mL。

2.3.11 乙酸钠缓冲液（pH4.2）（10mmol/L）：称取0.820g乙酸钠，加800mL水溶解，用冰乙酸调节pH值至4.2，用水定容至1000mL，经0.45 $\mu$ m微孔滤膜过滤。

2.3.12 GABA标准溶液：GABA标准储备溶液（1mg/mL）：用分析天平准确称取0.1000g GABA标准品（记下读数），用水溶解并定容至100mL，储备液在4℃下可保存。

2.3.13 GABA标准工作液（紫外检测用）：将GABA标准储备液用水稀释制备一系列标准溶液，标准系列浓度为：5、10、20、40 $\mu$ g/mL。标准稀释倍数见表1，GABA标准工作液临用前配制。

表1 GABA标准储备溶液稀释倍数

GABA标准工作液， $\mu$ g/mL	5	10	20	40
稀释倍数	200	100	50	25

2.4 样品处理：精确称量固体样品100mg（记为M，单位g）于100mL（记为V，单位mL）容量瓶，加入一定的蒸馏水超声溶解，然后定容到刻度备用。

2.5 试液衍生化：吸取1mL上述上清液或标准溶液，加入1mL碳酸氢钠缓冲液，1mL丹磺酰氯溶液，充分混合，40℃水浴避光反应30min，加入0.2mL 1mol/L盐酸充分混合以终止反应，取上清液经0.22 $\mu$ m微孔滤膜过滤，取滤液进样进行HPLC测定。

### 2.6 测定

#### 2.6.1 色谱条件

2.6.1.1 色谱柱： $C_{18}$ 反相色谱柱（粒径5 $\mu$ m，150mm $\times$ 4.6mm）或同等性能色谱柱。

2.6.1.2 流动相：10mmol/L乙酸钠缓冲液（pH4.2）/乙腈（70：30等梯度洗脱）。

2.6.1.3 流速：1.00mL/min。

2.6.1.4 柱温：30℃。

2.6.1.5 检测波长：紫外检测器或二极管阵列检测器：254nm。

2.6.1.6 进样量：20 $\mu$ L。

2.6.2 标准曲线：将GABA标准系列工作液（紫外检测用）的衍生物依次按上述推荐色谱条件上机测定，记录色谱峰面积，以峰面积为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线。

2.6.3 样品测定：将样品衍生物按上述推荐色谱条件上机测定，从标准曲线中查得试液相应的浓度C。

### 2.7 结果计算

$$X = \frac{C \times V}{M \times 100}$$

式中：

X—样品中 $\gamma$ -氨基丁酸的含量，g/100g；

C—样品测定液中 $\gamma$ -氨基丁酸的浓度， $\mu$ g/mL；

V—样品定容体积，mL；

M—称取样品的质量。

**【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“颗粒剂”的规定。

**【原辅料质量要求】**

1. 酸枣仁：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

2. 破壁灵芝孢子粉

项 目	指 标
来源	赤芝 <i>Ganoderma lucidum</i> (Leyss. ex Fr.) Karst. 的成熟种子灵芝孢子粉
制法	经拣选、物理破壁(20~30min)、灭菌(湿热灭菌115℃, 30min)、干燥(80℃以下减压干燥30min)、过筛、混合等主要工艺制成
感官要求	棕色至褐色, 粉末状, 无结块, 有灵芝孢子粉特有的滋味、气味, 无异味, 无正常视力可见外来异物
粗多糖(以葡聚糖计), g/100g	≥1.5
破壁率, %	≥98
水分, %	≤6.0
灰分, %	≤5.0
六六六, mg/kg	≤0.2
滴滴涕, mg/kg	≤0.1
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.  $\gamma$ -氨基丁酸：应符合QB/T 4587《 $\gamma$ -氨基丁酸》的规定。

4. 猴头菇提取物

项 目	指 标
来源	猴头菇子实体 应符合食品安全国家相关标准的规定
制法	经称量、提取(10倍量饮用水100℃提取2次, 每次2.5h)、浓缩、灭菌(100℃、30min)、喷雾干燥(进风温度180~220℃, 出风温度80~120℃)等主要工艺制成
提取率(或得率), %	16.0~17.0
感官要求	褐色或黄褐色, 粉末状, 无结块, 有本品应有的滋味、气味, 无异味, 无正常视力可见外来异物
粗多糖(以葡聚糖计), g/100g	≥25
水分, %	≤5.0
铅(以Pb计), mg/kg	≤1.0
总砷(以As计), mg/kg	≤0.5
菌落总数, CFU/g	≤30000
大肠菌群, MPNg	≤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