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G20110057

蜜宝牌破壁灵芝孢子胶囊

【原料】 破壁灵芝孢子粉

【辅料】 无

【生产工艺】 本品经过筛、装囊、辐照灭菌（⁶⁰Co，8KGy）、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】 口服固体药用聚酯瓶应符合YBB00262002的规定；封口垫片应符合GB/T 15267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	内容物呈棕黑色
滋味、气味	口尝微苦，具本品固有的气味
性状	硬胶囊，完整，具光泽，无破裂；内容物为粉末状物，有时可有少许不规则的、手指细磨即散的小颗粒
杂质	无肉眼可见外来杂质

【鉴别】 本品内容物为棕黑色粉末，有少许不规则的、手指细磨即散的小颗粒。显微观察下，可见破壁灵芝孢子的细胞碎片和黄色油状物粘结成不规则的团状物。偶尔有未破壁灵芝孢子为褐色，卵形，长8~12μm，宽5~8μm。

【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
破壁率，%	≥94	1 破壁率的测定
水分，%	≤9.0	GB 5009.3
灰分，%	≤9.0	GB 5009.4
崩解时限，min	≤30	《中华人民共和国药典》
铅（以Pb计），mg/kg	≤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	≤0.05	GB/T 5009.19
滴滴涕, mg/kg	≤0.05	GB/T 5009.19

1 破壁率的测定：取样品内容物适量，置有计数网格的载玻片上，加水适量，盖上盖玻片，在400倍光学显微镜下观察。视野中，未破壁的细胞，其细胞完整；已破壁的细胞，其细胞壁不完整。记录未破壁细胞个数及细胞总数，按下式计算破壁率：

$$\text{破壁率}(\%) = \frac{N - N_1}{N} \times 100\%$$

式中：

N—灵芝孢子细胞总数，个；

N₁—未破壁的细胞个数，个。

【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
志贺氏菌	≤0/25g	GB 4789.5
金黄色葡萄球菌	≤0/25g	GB 4789.10
溶血性链球菌	≤0/25g	GB 4789.11

【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	≥1.1	1 粗多糖的测定
总三萜（以齐墩果酸计），g/100g	≥2.5	2 总三萜的测定

1 粗多糖的测定

1.1 原理：多糖经乙醇沉淀分离后，与硫酸在沸水浴中加热脱水生成羟甲基呋喃甲醛（羟甲基糖醛），再与蒽酮缩合成蓝绿色化合物，其呈色强度与溶液中糖的浓度成正比，在620nm波长下比色定量。

1.2 试剂和标准品：

除特殊说明外，试剂配制用水为去离子水，试剂为分析纯。

1.2.1 无水乙醇。

1.2.2 葡萄糖标准溶液：精密称取105℃干燥至恒重的葡萄糖标准品50mg，加水溶解并定容至50mL，混匀后置冰箱保存。

1.2.3 蒽酮溶液：称取蒽酮0.2g，缓慢加入100mL浓硫酸，溶解后呈黄色透明溶液，现用现配。

1.3 仪器

1.3.1 可见分光光度计。

1.3.2 离心机：4000r/min。

1.4 标准曲线的制备：准确吸取葡萄糖标准溶液0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mL，分别置比色管中，加水至1.0mL，加入蒽酮试剂5mL，于沸水浴10min，冷却后，在620nm波长下，以试剂空白调零，测定各管吸光度值，绘制标准曲线。

1.5 样品处理：精密称取胶囊内容物2.0g，置100mL锥形瓶中，加20mL水，沸水浴30min，过滤，再重复提取两次，三次滤液合并。用4倍量的无水乙醇沉淀多糖，4000r/min离心10min，弃上清，然后用热水分次溶解沉淀，定容至100mL即为待测液。

1.6 样品测定：取样品待测液1.0mL，按标准曲线绘制步骤测定吸光度值。

1.7 结果计算：

$$X = \frac{M_1 \times n}{M \times 1000} \times 100$$

式中：

X—样品中粗多糖的含量（以葡萄糖计），g/100g；

M_1 —从标准曲线上查得的样品溶液中粗多糖的量，mg；

M—样品称量质量，g；

n—稀释倍数。

2 总三萜的测定

2.1 原理：样品经三氯甲烷提取，在香草醛-浓硫酸作用下生成橙色化合物，在一定浓度范围内，其吸光值与三萜类化合物的含量符合比耳定律。

2.2 试剂与对照品：

除特殊说明外，试剂配制用水为去离子水，试剂为分析纯。

2.2.1 72%硫酸（v/v）：取水28mL，加入72mL浓硫酸，混匀即得。

2.2.2 80g/L香草醛溶液：取香草醛8g，加甲醇溶解至100mL，混匀即得。

2.2.3 1.00mg/mL齐墩果酸对照溶液：精密称取105℃干燥至恒重的齐墩果酸对照品10mg，置于10mL容量瓶中，加三氯甲烷溶解，并定容至刻度。

2.3 仪器

2.3.1 紫外可见分光光度计。

2.4 标准曲线的制备：精密吸取对照品溶液0、20、50、100、150μL，分别置10mL比色管中，加热挥干溶剂后，加入80g/L香草醛溶液0.5mL、72%硫酸5.0mL，于60℃水浴中保温30min，取出后冷水浴放置15min。用1cm比色皿以试剂空白为参比调零，于550nm波长处测定吸光度值，以含量（μg）对吸光度值绘制标准曲线。

2.5 样品制备：精密称取0.2~0.5g样品，置100mL烧杯中，加三氯甲烷90mL，置热水浴中回流1h，冷却至室温后，转移至100mL容量瓶中，加三氯甲烷稀释至刻度，用干燥滤纸过滤，弃去初滤液，滤液备用。

2.6 样品的测定：精密吸取试样制备的滤液0.5mL置10mL比色管中，加热挥干溶剂后，加入80g/L香草醛溶液0.5mL、72%硫酸5.0mL，于60℃水浴中保温30min，取出后冷水浴放置15min。用1cm比色皿以试剂空白为参比调零，于550nm波长处测定吸光度值，按标准曲线的回归方程计算含量。

2.7 结果计算

$$X = \frac{c \times V_1}{V_2 \times W \times 1000 \times 1000} \times 100$$

式中：

X—样品中总三萜的含量（以齐墩果酸计），g/100g；

c—根据标准曲线查出的含量，μg；

V_1 —样品提取液的定容体积，mL；

V_2 —用于显色的滤液体积，mL；

W—样品称取量，g。

“胶囊剂”的规定。

【原辅料质量要求】

1. 破壁灵芝孢子粉：

项 目	指 标
来源	灵芝孢子纯粉
制法	经研磨破壁、辐照灭菌（ ⁶⁰ Co，8kGy）等主要工艺加工制成
感官要求	棕黑色粉末状，品尝微苦，具有破壁灵芝孢子固有的气味，有时可有少许不规则的，手指细磨即散的小颗粒（破壁后油状灵芝三萜的原因）
破壁率，%	≥94
粗多糖（以葡萄糖计），g/100g	≥1.1
总三萜（以齐墩果酸计），g/100g	≥2.5
水分，g/100g	≤9.0
灰分，g/100g	≤9.0
铅（以Pb计），mg/kg	≤2.0
总砷（以As计），mg/kg	≤1.0
总汞（以Hg计），mg/kg	≤0.3
六六六，mg/kg	≤0.05
滴滴涕，mg/kg	≤0.05
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
志贺氏菌	≤0/25g
金黄色葡萄球菌	≤0/25g
β型溶血性链球菌	≤0/25g