

# 国家市场监督管理总局

## 保健食品产品技术要求

BJG20080505

### 养固健牌时臻胶囊

WuXianJiPaiShiZhenJiaoNang

【配方】 破壁灵芝孢子粉

【生产工艺】 本品经过筛、混合、装囊、包装等主要工艺加工制成。

【感官要求】 应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
色泽	内容物呈棕褐色
滋味、气味	具本品特有的气味，味苦，微涩，无异味
性状	硬胶囊，完整光洁，无破裂；内容物为粉末状
杂质	无肉眼可见的外来杂质

【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，%	≤4.0	GB 5009.4
崩解时限，min	≤30	《中华人民共和国药典》一部
铅（以Pb计），mg/kg	≤1.5	GB 5009.12
砷（以As计），mg/kg	≤0.5	GB/T 5009.11
汞（以Hg计），mg/kg	≤0.3	GB/T 5009.17
六六六，mg/kg	≤0.1	GB/T 5009.19
滴滴涕，mg/kg	≤0.2	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	≤1000	GB 4789.2
大肠菌群, MPN/100g	≤40	GB/T 4789.3-2003
霉菌, cfu/g	≤25	GB 4789.15
酵母, cfu/g	≤25	GB 4789.15
致病菌(指沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌)	不得检出	GB 4789.4、GB 4789.5、GB 4789.10、GB/T 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(以葡聚糖计), mg/100g	≥800	1 粗多糖的测定
总三萜(以齐墩果酸计), mg/100g	≥3600	2 总三萜的测定

## 1 粗多糖的检测方法

1.1 原理: 样品中相对分子量大于 $1 \times 10^4$ 的高分子物质在80%乙醇溶液中沉淀, 从而分离出水溶液中的单糖和低聚糖, 然后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, 以硫酸-苯酚溶液显色, 采用紫外-可见分光光度法测定样品的吸光度值, 其吸光度大小与粗多糖中葡聚糖的含量成正比, 以此计算样品中粗多糖含量。

### 1.2 试剂

除特殊注明外, 本方法所用其他试剂均为分析纯, 所用水为去离子水或同等纯度蒸馏水。

#### 1.2.1 无水乙醇

1.2.2 80%乙醇溶液: 800mL无水乙醇加水200mL, 混匀。

1.2.3 2.5mol/L NaOH溶液: 100g NaOH加蒸馏水稀释至1L, 加入固体无水硫酸钠至饱和。

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

1.2.5 铜试剂溶液: 取铜试剂储备液50mL, 加水50mL, 混匀后加入无水硫酸钠12.5g并使其溶解。临用新配。

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

1.2.7 1.8mol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$ : 取100mL浓硫酸用水稀释至1L。

1.2.8 20g/L苯酚溶液: 称取2.0g苯酚, 加水溶解并稀释至100mL, 混匀, 备用。

1.2.9 葡聚糖标准液: 称取500mg葡聚糖标准品于称量皿中, 105℃干燥4h至恒重, 置于装有干燥硅胶的干燥器中冷却。准确称取100mg干燥后的葡聚糖, 用水定容至100mL, 葡聚糖标准浓度为1.0mg/mL。

1.2.10 葡聚糖标准应用液: 吸取葡聚糖标准液10mL, 用水稀释10倍, 葡聚糖终浓度为1.0mg/mL。

1.2.11 葡聚糖: 供含量测定用, 购自Sigma公司提供。

### 1.3 仪器

### 1.3.1 分光光度计

### 1.3.2 离心机

### 1.3.3 旋转混匀器

### 1.3.4 恒温水浴锅

## 1.4 样品处理

1.4.1 样品提取：称取混合均匀的样品约2g，精密称定，加水100mL，置沸水浴加热2h，冷却至室温，定容至200mL ( $V_1$ )，混匀后过滤，弃初滤液，收集续滤液供沉淀粗多糖。

1.4.2 沉淀粗多糖：准确吸取1.4.1项下续滤液100mL ( $V_2$ )，置于烧杯中，加热浓缩至10mL，冷却后加入无水乙醇40mL，将溶液转至离心管中，以3000r/min离心5min，弃去上清液，残渣用80%乙醇洗涤3次，残渣供沉淀葡聚糖用。

1.4.3 沉淀葡聚糖：1.4.2项下残渣用水溶解并定容至50mL ( $V_3$ )，混匀后过滤，弃去初始滤液后，取滤液2.0mL ( $V_4$ )，加入2.5mol/L NaOH2.0mL、铜试剂溶液2.0mL，置沸水浴中煮沸2min，冷却后以3000r/min离心5min，弃上清液，残渣用洗涤液洗涤3次，残渣供测定葡聚糖用。

1.5 样品测定：1.4.3项下残渣用2.0mL 1.8mol/L  $H_2SO_4$ 溶解，用水定容至100mL ( $V_5$ )，准确吸取2.0mL ( $V_6$ )，置于25mL比色管中，加入1.0mL苯酚溶液、10mL浓硫酸，置沸水浴煮沸2min，冷却比色。从标准曲线上查得相应含量，计算粗多糖含量。

1.6 标准曲线的制备：精密吸取葡聚糖标准应用液0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00、1.50、2.00mL（分别相当于葡聚糖0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10、0.15、0.20mg），补充水至2.0mL，加入苯酚溶液1.0mL、浓硫酸10mL，混匀，置沸水浴2min，混匀，置沸水浴2min，冷却后用分光光度计于485nm波长处，以试剂空白溶液为参比，测定吸光度值(A)。以葡聚糖浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标绘制标准曲线。

## 1.7 结果计算

$$X = \frac{C \times V_5 \times V_3 \times V_1 \times 0.1}{V_6 \times V_4 \times V_2 \times m} = \frac{c \times 250}{m}$$

式中：

X—样品中粗多糖的含量（以葡聚糖计），g/100g；

c—从标准曲线上查得样品测定管中葡聚糖含量，mg；

$V_1$ —样品提取时定容体积，mL；

$V_2$ —沉淀高分子物质取液量，mL；

$V_3$ —沉淀葡聚糖时定容量，mL；

$V_4$ —沉淀葡聚糖时取液量，mL；

$V_5$ —测定葡聚糖时定容体积，mL；

$V_6$ —样品比色管中取样液体积，mL；

m—样品称取量，g；

0.1—将mg/g换成g/100g的系数。

## 2 总三萜的测定

2.1 原理：三萜类化合物含量测定采用比色法，以齐墩果酸作为标准品，用香草醛-高氯酸发色体系进行比色，确定灵芝三萜含量。

### 2.2 试剂

2.2.1 氯仿：分析纯

2.2.2 高氯酸：分析纯

2.2.3 冰醋酸：分析纯

2.2.4 香草醛：分析纯

2.2.5 甲醇：分析纯

2.2.6 齐墩果酸标准品溶液：精确称取干燥至恒重的齐墩果酸（购自中国食品药品检定研究院）10mg，置于50mL容量瓶中，加甲醇定容至刻度。

2.2.7 5%香草醛-冰醋酸溶液：称取香草醛0.5g，加入冰醋酸10mL，溶解，即得。

### 2.3 仪器

2.3.1 分析天平

2.3.2 恒温水浴锅

2.3.3 分光光度计

2.3.4 索氏提取器

2.3.5 减压浓缩蒸发仪

2.4 标准曲线的绘制：精密吸取齐墩果酸标准品溶液0.10、0.20、0.30、0.40、0.50、0.60、0.70mL于20mL具塞刻度试管中，70℃水浴加热挥发去甲醇，冷却至室温，加入0.30mL5%香草醛-冰醋酸溶液和1.0mL高氯酸密封，于70℃水浴恒温加热25min，取出后立即冰水冷却约3min，再加入8.70mL冰醋酸摇匀，于550nm波长处测定吸光度值，同时做空白样。以吸光度值为纵坐标，齐墩果酸质量（μg）为横坐标，绘制标准曲线。

2.5 样品处理：精密称定1.0000g烘干的样品5份，分别用氯仿进行索氏提取8h，分别减压浓缩转移至50mL容量瓶内，定容。取5种样品各0.1mL，分装到5只磨口试管内，水浴加热挥发去氯仿，加入0.30mL5%香草醛-冰醋酸溶液、1.00mL高氯酸。密封，于70℃水浴恒温加热25min，取出后立即冰水冷却，加冰醋酸8.70mL，摇匀，于550nm波长处分别测定吸光度值。按2.4项标准曲线的绘制计算齐墩果酸含量。

### 2.6 结果计算

$$X = \frac{C \times V}{m \times 10^6} \times 100$$

式中：

X—样品中总三萜的含量，g/100g；

C—根据标准曲线查得的样品相当于齐墩果酸的量，μg；

V—稀释倍数；

m—样品重量，g。

**【保健功能】** 增强免疫力

**【适宜人群】** 免疫力低下者

**【不适宜人群】** 少年儿童

**【食用方法及食用量】** 每日1次，每次3粒，口服

**【规格】** 0.3g/粒

【贮藏】 密闭，置阴凉干燥处

【保质期】 24个月

---