

ICS 号 01.040.67

中国标准文献分类号 C1399



# 团 体 标 准

T/AHPCA 009-2019

## 破壁灵芝孢子粉

2019-6-1 发布

2019-7-1 实施

安徽省营养保健食品化妆品协会 发布

## 前 言

本标准依据《中华人民共和国食品安全法》、GB/T1.1《标准化工作导则第1部分：标准的结构和编写》，比较GB 2761《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》、GB 2762《食品安全国家标准 食品中污染物限量》、GB 29921《食品安全国家标准 食品中致病菌限量》的要求，进行编写。

本标准所有内容应符合强制性国家标准、行业标准及地方标准，若与其相抵触时，以国家标准、行业标准、地方标准为准。

本标准由安徽省营养保健食品化妆品协会提出并归口。

本标准起草单位：安徽金寨乔康药业有限公司

本标准主要起草人：江庆伍

本标准于2019年6月1日首次发布，2019年7月1日实施。

# 破壁灵芝孢子粉

## 1、范围

本标准规定了破壁灵芝孢子粉的技术要求、试验方法、检验规则、标签、包装、运输及贮存。

本标准适用于以多孔菌科真菌赤芝的干燥成熟孢子，经灭菌(辐照灭菌和湿热灭菌等灭菌方法)，干燥，低温物理破壁等工艺制得的粉末状破壁灵芝孢子粉。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 191	包装储运图示标志
GB 2761	食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量
GB 2762	食品安全国家标准 食品中污染物限量
GB 4789.1	食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 总则
GB 4789.2	食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 菌落总数测定
GB 4789.3	食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 大肠菌群计数
GB 4789.4	食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 沙门氏菌检验
GB 4789.10	食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验
GB 4789.15	食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 霉菌和酵母计数
GB 5009.3	食品安全国家标准 食品中水分的测定
GB 5009.4	食品安全国家标准 食品中灰分的测定
GB 5009.12	食品安全国家标准 食品中铅的测定
GB 5009.11	食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定
GB 5009.17	食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定
GB 5749	生活饮用水卫生标准
GB 14881	食品安全国家标准 食品生产通用卫生规范
GB 16740	食品安全国家标准 保健食品
GB 17405	食品安全国家标准 保健食品良好生产规范
JJF 1070	定量包装商品净含量计量检验规则
	《中华人民共和国药典》2015年版一部，四部
	国家质量监督检验检疫总局[2005]第75号令《定量包装商品计量监督管理办法》

## 3、术语和定义

破壁灵芝孢子粉，是以多孔菌科真菌赤芝的干燥成熟孢子为原料，经灭菌(辐照灭菌和湿热灭菌等灭菌方法)，干燥，低温物理破壁等工艺制得制成的粉末状产品。

## 4、技术要求

### 4.1 原料要求

葛根应符合《中华人民共和国药典》2015年版一部要求。

### 4.2 感官指标

应符合表1的规定。

表1 感官指标

项目	指标	检验方法
性状	本品为棕褐色粉末，无结块	取本品适量，置于自然光下观察其颜色、性状、杂质，尝其滋味，嗅其气味。
滋味、气味	本品气微，味淡或微苦，无异味	
杂质	在自然光下，无肉眼可见外来杂质	

### 4.3 鉴别

显微鉴别：粉末棕褐色，孢壁多破碎，双层，外壁平滑、透明，内壁淡褐色或近褐色。不得检出菌丝、淀粉粒等异物。

### 4.4 理化指标

应符合表2规定。

表2 理化指标

项目	指标	检验方法
破壁率%	$\geq$ 95	1 破壁率的测定
水分，%	$\leq$ 9.0	GB 5009.3
总灰分，%	$\leq$ 3.0	GB 5009.4
铅（以Pb计），mg/kg	$\leq$ 2.0	GB5009.12
砷（以As计），mg/kg	$\leq$ 1.0	GB 5009.11
汞（以Hg计），mg/kg	$\leq$ 0.1	GB 5009.17

#### 1 破壁率的测定

##### 1.1 仪器与设备

1.1.1 血球计数板：25个中格×16个小格或16个中格×25个小格。

1.1.2 电子分析天平：精度0.1 mg。

1.1.3 超声波清洗器：功率 $\geq$ 45 W。

1.1.4 光学显微镜：放大倍数 $\geq$ 200。

1.1.5 烘箱。

##### 1.2 试剂和溶液

除非另有规定，本方法中所用试剂均为分析纯。

1.2.1 实验用水应符合 GB/T6682 规定的三级水规格。

1.2.2 吐温 80。

1.2.3 蔗糖。

##### 1.3 样品制备

分别取同一批次有代表性灵芝孢子粉和破壁灵芝孢子粉的样品各至少 100 g，分别充分混匀，置于密闭的容器内。

##### 1.4 分析步骤

1.4.1 取适量同一批次的灵芝孢子粉 A 和破壁灵芝孢子粉 B，于烘箱 60℃ 下烘干 5 h。

1.4.2 准确称取经烘干的孢子粉 A 和破壁灵芝孢子粉 B，其中  $m_A=0.1000$  g， $m_B=0.1500$  g。

1.4.3 分别称取 5.0 g 经过研磨后过 100 目筛的蔗糖粉末，分别与孢子粉 A、B 充分混合至色泽均一。用蒸馏水分别溶解上述样品，在样品溶液中加入 0.1 mL 吐温 80，用蒸馏水定容到 100 mL 的容量瓶中，并在室温超声震荡 30 min，使孢子充分分散。

1.4.4 将待测孢子悬液，用吸管吸取一滴置于盖玻片的边缘，使液体缓缓渗入，多余的液体用吸水纸吸取，进样完成后静置约 30 s，然后将血球计数板置于 200 倍及以上放大倍数的光学显微镜下进行观察计数。

1.4.5 使用 25 个中格×16 个小格的计数板时，应计算出血球计数板 4 个角上与中央 5 个中格中含完整灵芝孢子的数目（即以 80 个小格为一个计数单位）；当使用 16 个中格×25 个小格的计数板时，应计算出血球计数板 4 个角上的 4 个中格中含完整灵芝孢子的数目（即以 100 个小格为一个计数单位）。如有部分孢子处于中格边线上，计数时应该仅统计位于中格四个边线的其中两个边线的孢子数，每个样品观察计数时应去掉离群较大的值，每个样品有效观察计数不少于 3 次，然后计算它们的平均数  $\bar{n}$ 。

#### 1.5 结果计算

1.5.1 使用 25 个中格×16 个小格的计数板时，每克孢子粉中含完整灵芝孢子数按式（1.1）计算：

$$N = \frac{\bar{n}}{80} \times 400 \times 10\,000 \times \frac{V}{m} \dots\dots\dots (1.1)$$

式中：

- N——每克孢子粉含完整的灵芝孢子数，单位为个每克（个/g）；
- $\bar{n}$ ——80 个小方格内含完整灵芝孢子的总数，单位为个；
- V——孢子稀释液的体积，单位为毫升（mL）；
- m——样品的质量，单位为克（g）；
- 400——血球计数板的计数室内共有 400 个小方格；
- 10000——血球计数板计数室的容积为 0.1 mm<sup>3</sup>，1 mL 相当于 10000 个血球计数板计数室的容积。

1.5.2 使用 16 个中格×25 个小格的计数板时，每克孢子粉中含完整灵芝孢子数按式（1.2）计算：

$$N = \frac{\bar{n}}{100} \times 400 \times 10\,000 \times \frac{V}{m} \dots\dots\dots (1.2)$$

式中：

- N——每克孢子粉含完整的灵芝孢子数，单位为个每克（个/g）；
- $\bar{n}$ ——100 个小方格内含完整灵芝孢子的总数，单位为个；
- V——孢子稀释液的体积，单位为毫升（mL）；
- m——样品的质量，单位为克（g）；
- 400——血球计数板的计数室内共有 400 个小方格；
- 10000——血球计数板计数室的容积为 0.1 mm<sup>3</sup>，1 mL 相当于 10000 个血球计数板计数室的容积。

1.5.3 破壁率按式（1.3）计算：

$$X = \left(1 - \frac{N_b}{N_a}\right) \times 100\% \dots\dots\dots (1.3)$$

式中：

- X——破壁灵芝孢子粉的破壁率，%；
- $N_b$ ——每克破壁灵芝孢子粉中含完整的灵芝孢子数，单位为个每克（个/g）；
- $N_a$ ——每克灵芝孢子粉中含完整的灵芝孢子数，单位为个每克（个/g）。

#### 4.5 微生物指标

应符合表 3 规定。

表 3 微生物指标

项目	指标	检验方法
菌落总数，CFU/g	≤ 30000	GB 4789.2
霉菌和酵母，CFU/g	≤ 50	GB 4789.15
大肠菌群，MPN/g	≤ 0.92	GB 4789.3 MPN 计数法
沙门氏菌	0/25g	GB 4789.4
金黄色葡萄球菌	0/25g	GB 4789.10

#### 4.6 标志性成分指标

应符合表4规定。

表4 标志性成分指标

项目	指标	检验方法
多糖, %	≥ 0.9 (以无水葡萄糖 (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> ) 计)	2 多糖的测定
三萜, %	≥ 3.0	3 三萜的测定

##### 2 多糖的测定

###### 2.1 试剂和材料

2.1.1 硫酸 (分析纯)

2.1.2 葡萄糖 (分析纯)

2.1.3 无水乙醇 (分析纯)

2.1.4 硫酸蒽酮溶液: 精密称取蒽酮 0.1 g, 加硫酸溶液 100 mL 使溶解, 摇匀, 置于棕色瓶中即得。

###### 2.2 仪器和设备

2.2.1 分析天平 (感量 0.0001g)

2.2.2 分光光度计

2.2.3 玻璃回流装置

2.2.4 电热恒温水浴锅

2.2.5 容量瓶 25 mL, 50 mL 容量瓶

2.2.6 各规格移液管

2.2.7 具塞试管 25 mL

2.2.8 滤纸 (中速定性滤纸)。

###### 2.3 标准曲线的制备

###### 2.3.1 对照品溶液的制备

取无水葡萄糖对照品适量, 精密称定加水制成每 1 mL 含 0.12 mg 的溶液, 即得。

###### 2.3.2 标准曲线绘制

精密量取对照品溶液 0.2、0.4、0.6、0.6、0.8、1.0、1.2 mL, 分别置于 10 mL 的具塞试管中, 各加水至 2.0 mL, 迅速精密加入硫酸蒽酮溶液 6 mL, 立即摇匀, 放置 15 min, 立即置冰水浴中冷却 15 min, 取出, 以相应的试剂为空白, 在 625 nm 处测定吸光度, 以吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线。

###### 2.4 供试品溶液的制备

取本品粉末约 1~2g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 加水 60 mL, 静置 1h, 加热回流 4 h, 趁热过滤, 用少量热水洗涤滤器和滤渣, 将滤纸和滤渣置圆底烧瓶中, 加水 60 mL, 加热回流 3 h, 趁热过滤, 合并滤液, 置水浴锅上蒸干, 残渣用水 5 mL 溶解, 边搅拌边缓慢加入乙醇 75 mL, 摇匀, 在 4℃ 放置 12 h, 离心, 弃去上清液, 沉淀物用热水溶解并转移至 50 mL, 放冷, 加水至刻度, 摇匀取溶液适量, 离心, 精密量取上清液 3 mL, 置 25 mL 量瓶, 加水至刻度, 摇匀, 即得。

###### 2.5 测定

精密量取供试品溶液 2 mL, 置 10 mL 具塞试管中, 照标准曲线制备项下的方法, 自“迅速精密加入硫酸蒽酮溶液 6 mL”起, 同法操作, 测定吸光度, 从标准曲线上读出供试品溶液中无水葡萄糖的含量, 计算即得。

###### 2.6 结果计算

$$W = \frac{c \times \frac{8}{2} \times \frac{25}{3} \times 50}{m} \times 100$$

式中:

$W$ —灵芝多糖的含量, %;

$c$ —从标准曲线上查的样品的多糖浓度, mg/mL;

$m$ -样品质量, mg;

$\frac{8}{2}$ 、 $\frac{25}{3}$ -表示稀释倍数。

50-水提醇沉后获得的沉淀物经热水溶解定容的体积数值

### 3 三萜

3.1 仪器与用具: 电子天平、超声清洗器、水浴锅、紫外分光光度计。

3.2 试剂与试液: 齐墩果酸对照品、甲醇、乙醇、香草醛、冰醋酸、高氯酸、乙酸乙酯。

3.3 操作步骤:

对照品溶液的制备: 取齐墩果酸对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液, 即得。

标准曲线的制备: 精密量取对照品溶液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5ml, 分别置 15ml 具塞试管中, 挥干, 放冷, 精密加入新配制的香草醛冰醋酸溶液 (精密称取香草醛 0.5g, 加冰醋酸使溶解成 10ml, 即得) 0.2ml、高氯酸 0.8ml, 摇匀, 在 70℃ 水浴中加热 15 分钟, 立即置冰浴中冷却 5 分钟, 取出, 精密加入乙酸乙酯 4ml, 摇匀, 以相应试剂为空白, 照紫外-可见分光光度法, 在 546nm 波长处测定吸光度, 以吸光度为纵坐标、浓度为横坐标绘制标准曲线。

供试品溶液的制备: 取本品粉末约 0.5~1g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加乙醇 50ml, 超声处理 (功率 140W, 频率 42kHz) 45 分钟, 滤过, 滤液置 100ml 量瓶中, 用适量乙醇, 分次洗涤滤器和滤渣, 洗液并入同一量瓶中, 加乙醇至刻度, 摇匀, 即得。

测定法: 精密量取供试品溶液 0.2ml, 置 15ml 具塞试管中, 照标准曲线制备项下的方法, 自“挥干”起, 同法操作, 测定吸光度, 从标准曲线上读出供试品溶液中齐墩果酸的含量, 计算, 即得。

3.5 结果计算:

$$X = \frac{A \times 100}{W \times 0.2 \times 1000} \times 100\%$$

式中:  $X$ —以干燥品计算, 供试品中总三萜以齐墩果酸计的含量, %;

$A$ —标准曲线上读出供试品溶液中含量, mg;

$W$ —供试品重量, g;

【贮存条件】: 阴凉干燥处。

### 4.7 净含量

应符合国家质量监督检验检疫总局令 (2005) 第 75 号《定量包装商品计量监督管理办法》的规定, 并按照 JJF 1070 的规定检验。

## 5、生产加工过程的卫生要求

应符合 GB 14881、GB17405 的规定。

## 6、检验规则

### 6.1 批次、抽样

6.1.1 批次的确定: 同一条生产线、同一批投料、同一个班次生产、同一种规格的产品为一个批次。

6.1.2 抽样: 在生产线每批次随机抽取不少于 300g, 1/3 用于检验, 2/3 用于留样。

### 6.2 检验分类

产品检验分为出厂检验和型式检验。

#### 6.2.1 出厂检验

每批产品应由生产厂质检部门按本标准规定检验。出厂检验项目为: 感官、净含量、干燥失重、细度、灰分、总黄酮、菌落总数、大肠菌群。检验合格产品方可出厂。

#### 6.2.2 型式检验

型式检验是对产品进行全面考核，检验项目为本标准规定的全部项目。正常生产时每半年进行一次，有下列情形之一者必须检验：

- a) 产品正式投入生产时；
- b) 原料产地环境发生重大变化时；
- c) 前后两次抽样检验结果差异较大；
- d) 质量监督机构提出型式检验要求时；
- e) 有关行政主管部门提出型式检验要求。

### 6.3 判定规则

6.3.1 检验结果有一项不符合本标准规定时（微生物指标除外），允许从同批次产品中加倍抽样复检，若复检结果仍不合格时，则判定该批产品为不合格品。

6.3.2 微生物指标不符合本标准规定时，判该批产品为不合格品，不得复检。

## 7、标签标志、包装、运输、贮存、保质期

### 7.1 标签标志

产品标志应符合 GB 7718、GB 16740、GB 28050 的规定。

### 7.2 包装

包装材料和容器应符合国家有关规定及相关卫生要求。

### 7.3 运输、贮存

按 GB 14881、GB 17405 等有关规定执行。

### 7.4 保质期

在符合本标准运输贮存条件及包装完好的情况下，保质期为 24 个月。

附录 A  
(规范性附录)  
细度的测定方法

A.1 试验设备

A.1.1 分样筛（带筛盖与接收盒），80 目。

A.1.2 天平，分度值 1mg。

A.2 操作程序

取接收盒，将分样筛置于接收盒上，称取约 20g 提取物粉末置分样筛内，将筛盖盖好，分样筛保持水平状态，左右往返轻轻筛动 3min，称取接收盒内的提取物粉末质量  $m_2$  (g)。

A.3 计算

通过率按下式计算：

$$\text{通过率} = \frac{m_2}{m_1} \times 100\%$$

式中： $m_1$  为称取试样质量，g

$m_2$  为筛下提取物质量，g

附录 B  
(规范性附录)  
黄酮的测定方法

B.1 实验设备

B.1.1 超声波清洗器，紫外-可见分光光度计。

B.1.2 天平（分度值 0.1mg），天平（分度值 0.01mg）。

B.2 操作程序

B.2.1 标准曲线的绘制

精密称取葛根素标准品 5mg 置 50ml 容量瓶中，加 95%乙醇溶解并定容，即得标准液浓度为 100ug/ml。

精密吸取标准溶液 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0ml 于 10ml 容量瓶中，加 95%乙醇至 1ml，再加水至刻度，摇匀，以加 0ml 葛根标准溶液的溶液为空白，在 250nm 下测定吸光度。以吸光度为横坐标，标准液浓度为纵坐标绘制标准曲线。

B.2.2 供试品溶液的制备

精密称取破壁灵芝孢子粉 50mg 置 25ml 的容量瓶中，加入 95%乙醇超声使溶解，放冷至室温，用 95%乙醇定容至刻度，摇匀。精密吸取 2.0ml 上述溶液置 10ml 容量瓶中，加 95%乙醇稀释至刻度，摇匀。精密吸取 1.0ml 上述溶液置 10ml 容量瓶中，加水稀释定容置刻度，摇匀，待测。

B.2.3 测定

以水为空白，紫外可见分光光度计在 250nm 处测定吸光度。

B.3 计算

黄酮按下式计算：

$$\text{黄酮} = \frac{C_{\text{样}} \times V_{\text{样}} \times D_{\text{样}}}{M_{\text{样}} \times (1 - \text{水分}\%)}$$

式中：C<sub>样</sub>为从标准曲线中读出的样品量，mg

V<sub>样</sub>为供试品定容体积，ml

D<sub>样</sub>为供试品稀释倍数，

M<sub>样</sub>为供试品的称样量，mg