

团 体 标 准

T/GDFCA XXX—202X

灵芝孢子细胞外囊泡质量与安全控制规范

Specification for quality and safety control of ganoderma spore extracellular vesicles

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

2026 - XX - XX 发布

2026 - XX - XX 实施

广东省食品流通协会 发布

目 次

前 言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	2
4 技术要求	2
5 检验规则	5
6 标签和标志	6
7 包装、运输、贮存和销售	6
8 产品溯源	6
9 管理体系要求	6
附 录 A 灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡形态学鉴定(透射电镜观察法)	7
附 录 B 灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡粒径与浓度鉴定(纳米颗粒跟踪分析技术)	8
附 录 C 灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡纯度鉴定(颗粒蛋白比)	9
参 考 文 献	10

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广东省食品流通协会提出并归口。

本文件起草单位：中科健康产业集团（广州）医药有限公司、中科健康产业集团股份有限公司、XXX。

本文件主要起草人：XXX、XXX。

灵芝孢子细胞外囊泡质量与安全控制规范

1 范围

本文件规定了灵芝孢子细胞外囊泡的原料要求、制备方法、质量要求和安全要求，以及检验规则，标志、包装、运输和贮存等内容，描述了相应的检验方法，并界定了有关的术语和定义。

本文件适用于灵芝孢子细胞外囊泡生产、检验和经营等环节的质量与安全控制。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 1886.228 食品安全国家标准 食品添加剂 二氧化碳
- GB 2760 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准
- GB 4789.1 食品安全国家标准 食品微生物学检验 总则
- GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 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 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数
- GB 4806.1 食品安全国家标准 食品接触材料及制品通用安全要求
- 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 5009.11 食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定
- GB 5009.12 食品安全国家标准 食品中铅的测定
- GB 5009.15 食品安全国家标准 食品中镉的测定
- GB 5009.17 食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定
- GB/T 5009.19 食品中有机氯农药多组分残留量的测定
- GB 5009.22 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素B族和G族的测定
- GB 5009.27 食品安全国家标准 食品中苯并(a)芘的测定
- GB 5009.34 食品安全国家标准 食品中二氧化硫的测定
- GB 5009.123 食品安全国家标准 食品中铬的测定
- GB 5009.138 食品安全国家标准 食品中镍的测定
- GB 5009.168 食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定
- GB 5009.227 食品安全国家标准 食品中过氧化值的测定
- GB 5009.229 食品安全国家标准 食品中酸价的测定
- GB 5009.236 食品安全国家标准 动植物油脂水分及挥发物的测定
- GB 5009.271 食品安全国家标准 食品中邻苯二甲酸酯的测定
- GB 7718-2025 食品安全国家标准 预包装食品标签通则
- GB 14881 食品安全国家标准 食品生产通用卫生规范
- GB 23350 限制商品过度包装要求 食品和化妆品
- GB/T 29344 灵芝孢子粉采收及加工技术规范
- GB 31621 食品安全国家标准 食品经营过程卫生规范
- GB/T 46671 植物提取物生产工艺技术规范
- GB/T 43808 植物提取物 术语
- SN/T 4260 出口植物源食品中粗多糖的测定 苯酚-硫酸法

NY/T 3676-2020 灵芝中总三萜含量的测定 分光光度法
T/GBAS 31 食品质量安全要求通则
《中华人民共和国药典》（2025年版）

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

细胞外囊泡 Exosome-like Nanovesicles, EVs

一类由细胞分泌的体积最小的，直径通常在30-150nm之间，由脂质双分子层包裹，在释放到细胞外环境时携带来源细胞的多种生物分子，包括蛋白质、脂质、RNA和DNA。

3.2

灵芝孢子细胞外囊泡 Ganoderma spore extracellular vesicles

从灵芝孢子粉中提取出的，呈双层膜结构的杯托状结构的一类膜外双层脂质小囊泡。

4 技术要求

4.1 原料要求

4.1.1 原料来源

多孔菌科真菌赤芝 [*Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst.]、紫芝 (*Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang) 或松杉灵芝 (*Ganoderma tsugae*) 的干燥成熟孢子。

4.1.2 原料质量安全控制

4.1.2.1 灵芝孢子粉采收及加工技术应遵守 GB/T 29344 的规定。

4.1.2.2 灵芝孢子粉质量安全指标应符合表 1 规定。

表 1 灵芝孢子粉质量安全指标

项目		指标	检验方法
感官要求	色泽	棕黄色至褐色	取适量试样置于50 mL烧杯或白色瓷盘中，在自然光下观察色泽和状态。嗅其气味，用温开水漱口，品其滋味，手指拈其细腻性
	滋味、气味	气微，味淡或微苦	
	状态	无结块，干燥疏松细腻粉末，无粘连，无沙粒感，无正常视力可见外来异物	
破壁率，%	≥	95	NY/T 1677
多糖（以无水葡萄糖计），%	≥	1.2	GB/T 29344
总三萜（以齐墩果酸计），g/100 g	≥	2.0	NY/T 3676
水分，g/100 g	≤	9.0	GB 5009.3
总灰分，g/100 g	≤	3.0	GB 5009.4
过氧化值（以灵芝孢子油计），g/100g	≤	0.20	GB 5009.227
总砷（以As计），mg/kg	≤	1.0	GB 5009.11
铅（以Pb计），mg/kg	≤	2.0	GB 5009.12
镉（以Cd计），mg/kg	≤	0.5	GB 5009.15
总汞（以Hg计），mg/kg	≤	0.1	GB 5009.17
铬（以Cr计），mg/kg	≤	2.0	GB 5009.123
镍（以Ni计），mg/kg	≤	1.0	GB 5009.138
菌落总数 ^a ，CFU/g	≤	30 000	GB 4789.2
大肠菌群 ^a ，MPN/g	≤	0.92	GB 4789.3 MPN计数法
霉菌和酵母 ^a ，CFU/g	≤	50	GB 4789.15
沙门氏菌 ^a	≤	0/25g	GB 4789.4
金黄色葡萄球菌 ^a	≤	0/25g	GB 4789.10

表1 破壁灵芝孢子粉质量安全指标（续）

项目	指标	检验方法	
六六六, mg/kg	≤	0.05	GB/T 5009.19
滴滴涕, mg/kg	≤	0.05	GB/T 5009.19
注：表中“0/25 g”代表“不得检出每25 g”。			
* 样品的采样及处理按 GB 4789.1 执行。			

4.1.2.3 二氧化碳应符合 GB 1886.228 的规定。

4.1.2.4 纯化水应符合《中华人民共和国药典》（2025年版）的规定。

4.1.2.5 采购的原料和辅料应查验供货者的资质并索取产品合格证明文件；应按照原料和辅料验收标准进行验收，经验收不合格的原料和辅料应在指定区域与合格品分离或分隔放置且予以明显标记，并及时进行退、换货等处理。

4.1.2.6 加工前应对原料和辅料进行感官检验。

4.1.2.7 对于已按验收要求开封取样的原料和辅料，以及生产过程中开封后未使用完毕需退库或暂存的原料和辅料，应制定并实施有效管控措施，防止交叉污染并确保其仍适用于后续生产。

4.2 制备方法

4.2.1 预处理

将灵芝孢子粉浸泡于适量磷酸缓冲盐溶液中，依次进行 3000×g，40 min 离心，10,000×g，70 min 离心，去除细胞碎片、细胞核等大颗粒杂质，收集上清液，全程要求在4℃条件下完成。

4.2.2 提取纯化

4.2.2.1 差速离心富集

4℃条件下，130,000×g 离心 90 min,取管底白色沉淀用预冷磷酸缓冲溶液重悬后，依次过 0.22μm，0.45μm 滤膜。所得溶液于 4℃ 条件下以 130,000×g 超速离心 90min。弃去上清，取管底白色沉淀用预冷磷酸缓冲溶液重悬。

4.2.2.2 蔗糖密度梯度超离纯化

将溶液转移到预冷的不连续蔗糖梯度（8%、30%、45%、60%）溶液中，并在 4℃、130,000×g 下离心 90min;收集 30% 至 45% 层之间的可见条带,用预冷磷酸缓冲溶液洗涤后 4℃ 条件下 130,000×g, 离心 90min, 最终沉淀即为灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡。

4.2.2.3 生产过程应符合 GB 14881 和 GB/T 46671。

4.2.2.4 全程不得使用有毒有害溶剂，不得添加非食品级助剂。

4.2.2.5 产品应无细胞毒性、无遗传毒性、无热源。

4.2.3 质量要求

4.2.3.1 感官要求

灵芝孢子细胞外囊泡理感官要求应符合表2规定。

表2 理化指标

项目	指标	检验方法	
感官要求	色泽	白色或淡黄色	取适量试样置于 50 mL烧杯或白色瓷盘中，在自然光下观察色泽和状态，嗅其气味
	气味	无味	
	状态	无正常视力可见外来异物	

4.2.4 理化指标

4.2.4.1 理化指标要求

灵芝孢子细胞外囊泡理化指标应符合表3规定。

表3 理化指标

项目	指标	检验方法
粒径, nm	≤ 200	
颗粒浓度, particles/mL	≥ 1×10 ¹⁰	
蛋白浓度, mg/mL	≥ 0.5	
颗粒蛋白比, particles/mg	≥ 2×10 ⁹	

4.2.4.2 形态学鉴定

采用透射电子显微镜观察, 灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡应呈现典型的杯状或双凹圆盘形, 形态完整清晰, 同时背景干净无杂质。

4.2.4.3 粒径与浓度鉴定

使用纳米颗粒跟踪分析仪或动态光散射仪进行检测, 主要颗粒的峰值粒径分布应以 30 - 150nm 为主峰, 并 ≤ 200nm, 浓度应 ≥ 1×10¹⁰ particles/mL; 采用 BCA 蛋白定量试剂盒检测其蛋白浓度, 灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡悬液蛋白浓度应 ≥ 0.5mg/mL。

4.2.4.4 纯度鉴定

纳米颗粒跟踪分析仪计数与 BCA 法蛋白定量结合测定颗粒蛋白比应 ≥ 2×10⁹ particles/mg。

4.2.4.5 标志性成分

灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡标志性成分指标应符合表3规定。

表4 标志性成分指标

项目	要求	检验方法
多糖, %	≥ 20	SN/T 4260
总三萜, %	≥ 2	NY/T 3676

4.3 检测方法

4.3.1 灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡形态检测

按照附录A的方法检测。

4.3.2 灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡粒径和浓度检测

按照附录B的方法检测。

4.3.3 灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡纯度鉴定

按照附录C的方法检测。

4.4 安全要求

灵芝孢子油的安全要求应符合T/GBAS 31的规定外, 还应符合表5的规定。

表5 安全要求

项目	要求	检验方法
总砷(以As计), mg/kg	≤ 0.5	GB 5009.11
铅(以Pb计), mg/kg	≤ 1.0	GB 5009.12
镉(以Cd计), mg/kg	≤ 0.5	GB 5009.15

项目	要求	检验方法	
总汞（以Hg计），mg/kg	≤	0.1	GB 5009.17
黄曲霉毒素B ₁ ，μg/kg	≤	5.0	GB 5009.22
总黄曲霉毒素（B ₁ 、B ₂ 、G ₁ 及G ₂ 之和），μg/kg	≤	10.0	GB 5009.22
苯并(α)芘，μg/kg	≤	5.0	GB 5009.27
芥酸/总脂肪酸，%	≤	5.0	GB5009.168
邻苯二甲酸二正丁酯（DBP），mg/kg	≤	0.3	GB 5009.271
邻苯二甲酸二（2-乙基）己酯（DEHP），mg/kg	≤	1.5	GB 5009.271
邻苯二甲酸二异壬酯（DINP），mg/kg	≤	9.0	GB 5009.271
菌落总数 ^a ，CFU/mL	≤	1 000	GB 4789.2
霉菌和酵母 ^a ，CFU/mL	≤	50	GB 4789.15
大肠菌群 ^a ，MPN/mL	≤	0.43	GB 4789.3 MPN计数法
沙门氏菌 ^a	≤	0/25 mL	GB 4789.4
金黄色葡萄球菌 ^a	≤	0/25 mL	GB 4789.10
支原体		0/25 mL	《中华人民共和国药典》 3301 细菌支原体检查法
内毒素，EU/mL		0.25 mL	《中华人民共和国药典》 1143 细菌内毒素检查法
注：表中“0/25 mL”代表“不得检出每25 mL”。			
^a 样品的采样及处理按 GB 4789.1 执行。			

4.5 净含量

实际含量应准确反映其标注净含量，实际含量不应低于所标注的净含量。按JJF 1070有关的规定执行。

5 检验规则

5.1 组批

以同一投料、同一品种、同一天、同一班次生产的产品为一批次。

5.2 抽样

每批产品按生产批次及数量比例随机抽样，抽样数量应满足检验和留样的要求。

5.3 出厂检验

5.3.1 产品出厂按本文件规定的方法逐批检验，检验合格后方可出厂。

5.3.2 检验项目为感官要求、理化指标、标志性成分指标、形态、粒径及其浓度、纯度、安全要求和净含量。

5.4 型式检验

型式检验项目为本文件中规定的全部项目，一般情况下每6个月进行一次。有下列情况之一时，也应进行型式检验：

- 新产品投产时；
- 主要原料来源、关键工艺或设备有明显改变，可能影响产品质量时；
- 连续停产三个月以上又恢复生产时；
- 产品质量出现明显波动时，如出厂检验与上次型式检验结果有较大差异时；
- 食品安全监管机构提出要求时。

5.5 判定规则

5.5.1 检验结果全部符合本文件规定时，判该批产品为符合本文件。

5.5.2 检验结果中有一项或一项以上不符合本文件规定时，判该批产品为不符合本文件。

6 标签和标志

- 6.1 预包装食品标签应符合 GB 7718 的规定。
- 6.2 非预包装食品标签上应标明：产品名称（含“灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡”字样）、批号、规格、净含量、执行标准、生产企业名称、生产企业地址、产地、生产日期、保质期、贮存条件。
- 6.3 运输外包装上应印有产品名称、生产企业名称及地址、生产日期、保质期、贮存条件等。
- 6.4 外包装储运图示标志应符合 GB/T 191 的要求。

7 包装、运输、贮存和销售

7.1 包装

- 7.1.1 食品包装选择及设计宜参见 GB/T 39947，应符合 GB 23350 的规定。
- 7.1.2 包装材料应符合 GB 4806.1 的规定。单件包装应完整，封口严密、牢固、无破损。

7.2 运输

- 7.2.1 长途运输（ $\geq 24\text{h}$ ）
干冰运输（ -80°C ），三层防震包装，内置温度记录仪（记录间隔 ≤ 30 分钟），确保运输过程温度 $\leq -18^{\circ}\text{C}$ 。
- 7.2.2 短途运输（ $< 24\text{h}$ ）
 $2-8^{\circ}\text{C}$ 冷链运输，避免剧烈震荡和阳光直射。
- 7.2.3 运输过程中需符合 GB 14881-2025 关于食品运输的卫生要求，防止交叉污染。

7.3 贮存

- 7.3.1 短期储存（ ≤ 7 天）
 4°C PBS 密封保存，避免光照。
- 7.3.2 中期储存（ ≤ 1 月）
 -20°C PBS 密封保存，避免光照。
- 7.3.3 长期储存（ ≤ 1 年）
 -80°C 封保存或冻干保存（水分含量 $\leq 3\%$ ），可选择地添加防冻剂以延长保质期。
- 7.3.4 稳定性要求
 -80°C 储存 12 个月，粒径变化 $\leq 10\%$ ，特征活性成分保留率 $\geq 80\%$ ，多允许 2 次冻融，每次冻融活性损失 $\leq 15\%$ 。
- 7.3.5 产品不应与有毒、有害、易腐、易污染、有异味等物品一起堆放混贮。

7.4 销售

应符合 GB 31621 的规定。

8 产品溯源

生产企业应建立产品信息化追溯系统，确保对产品从原料采购到产品销售的所有环节都可进行有效追溯。

9 管理体系要求

生产企业生产活动应获得食品安全管理体系或危害分析与关键控制点等体系认证。

附录 A

灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡形态学鉴定(透射电镜观察法)

A.1 仪器和设备

A.1.1 透射电子显微镜。

A.1.2 Formvar-carbon载样铜网。

A.2 试剂

本方法所用试剂均为分析纯，除特别说明外，实验用水均为 GB/T6682 规定的一级水。

A.2.1 磷酸盐缓冲液（pH为7.4）。

A.2.2 1% 戊二醛溶液。

A.2.3 饱和草酸双氧铀溶液。

A.3 检测步骤

A.3.1 将灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡样本滴加在 Formvar-carbon 载样铜网上，室温静置20分钟。

A.3.2 滴加适量磷酸盐缓冲液于样本上，清洗3次。

A.3.3 滴加适量1%戊二醛溶液于样本上，固定5分钟，随后用超纯水清洗8次。

A.3.4 用饱和草酸双氧铀溶液染色5分钟。

A.3.5 铜网在室温下干燥10分钟。

A.3.6 将铜网至于透射电子显微镜样本室内，观测灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡的形态。按照仪器说明书进行。

附 录 B

灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡粒径与浓度鉴定(纳米颗粒跟踪分析技术)

B.1 仪器和设备

B.1.1 无菌、无颗粒污染的微量移液器及低吸附枪头。

B.1.2 纳米颗粒跟踪分析仪（NTA），配备405 nm或488 nm激光光源及配套软件。

B.2 试剂

B.2.1 本方法所用试剂均为分析纯，除特别说明外，实验用水均为无菌、无 Nase/DNase 且经 0.02 μ m过滤处理的超纯水（符合 GB/T 6682 规定的一级水）。

B.2.2 PBS缓冲液（pH为7.4）

B.3 检测步骤

B.3.1 将待测灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡样本用预冷磷酸缓冲液适当稀释（通常稀释 10,000-20,000 倍，使检测浓度控制在 1×10^7 – 1×10^9 particles/mL 范围内）。

B.3.2 开启NTA仪器，预热激光光源至少10分钟，确保系统稳定。

B.3.3 使用低吸附枪头吸取适量稀释后样本（通常1000 μ L），缓慢注入样品池，避免产生气泡。

B.3.4 在NTA软件中设置合适的采集参数（如：检测温度、相机灵敏度、捕获时间（通常为60秒）、重复次数（建议 ≥ 3 次）等）。

B.3.5 启动自动采集程序，记录粒子布朗运动视频，并通过NTA软件进行粒径分布与浓度分析。

B.3.6 检测完成后，用超纯水彻底冲洗样品池及管路，防止交叉污染。

附 录 C

灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡纯度鉴定(颗粒蛋白比)

用 BCA 试剂盒按照说明书测定样品的蛋白量P。按照下列公式计算灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡数量与蛋白量比值T:

$$T=X/P;$$

T—孢子粉外泌体样细胞外囊泡数量与蛋白量比值;

X—灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡的数量;

P—灵芝孢子粉外泌体样细胞外囊泡的蛋白量。

参 考 文 献

- [2] 《定量包装商品计量监督管理办法》（国家市场监督管理总局令第70号）
 - [3] 《度量衡条例》（香港特别行政区第68章）
 - [4] 《食物内有害物质规例》（香港特别行政区第132章，附属法例AF）
 - [5] 《食物搀杂(金属杂质含量)规例》（香港特别行政区第132章，附属法例V）
 - [6] 《食物及药物(成分组合及标签)规例》（香港特别行政区第132章，附属法例W）
 - [7] 《食品微生物含量指引 一般即食食品及指定食品》（二零一四年修订本）
 - [8] 《食品中禁用物质清单》（澳门特别行政区第6/2014号行政法规）
 - [9] 《食品中真菌毒素最高限量》（澳门特别行政区第13/2016号行政法规）
 - [10] 《食品中重金属污染物最高限量》（澳门特别行政区第23/2018号行政法规）
 - [11] 《食品中食品添加剂使用标准》（澳门特别行政区第5/2024号行政法规）
-