

ICS 67.040

X 83



ZZB

浙江 制造 团体 标准

T/ZZB 0474—2018

破壁灵芝孢子粉

Sporoderm-broken Lingzhi spore powder

2018 – 08 – 24 发布

2018 – 09 – 30 实施

浙江省品牌建设联合会

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 1

4 基本要求 2

5 产品技术要求 2

6 检验方法 3

7 检验规则 5

8 标志、包装、运输和贮存 6

9 质量承诺与服务 6

附录 A（规范性附录） 破壁率的测定方法..... 7

附录 B（规范性附录） 过氧化值的测定方法..... 8

附录 C（规范性附录） 功效性成分的测定方法..... 9

附录 D（规范性附录） 指纹图谱的测定方法..... 11

前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出规则起草和编写。

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这些专利的责任。

本标准由浙江省品牌建设联合会提出并归口。

本标准由浙江蓝箭万帮标准技术有限公司组织制定。

本标准主要起草单位：浙江寿仙谷医药股份有限公司。

本标准参与起草单位：浙江蓝箭万帮标准技术有限公司、武义县标准化研究院、金华寿仙谷药业有限公司、武义寿仙谷中药饮片有限公司、浙江省中药研究所有限公司、浙江康恩贝制药股份有限公司、杭州方回春堂集团有限公司、浙江胡庆余堂本草药物有限公司（排名不分先后）。

本标准主要起草人：李明焱、李振皓、郑化先、王瑛、徐靖、刘志风、陈美红、徐凌艳、李振宇、郑玲、朱盛霞、王志安、王如伟、潘君海、诸葛磊、范潜威、史月娇、胡凌娟、王晓彤、俞飞龙。

本标准由浙江蓝箭万帮标准技术有限公司负责解释。

破壁灵芝孢子粉

1 范围

本标准规定了破壁灵芝孢子粉的术语和定义、基本要求、技术要求、检验方法、检验规则、标志、包装、运输、贮存、质量承诺与服务。

本标准适用于以去壁技术生产的破壁灵芝孢子粉全产业链的保健食品生产、质量控制。

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 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 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 5009.268 食品安全国家标准 食品中多元素的测定

GB 50457 医药工业洁净厂房设计规范

JJF 1070 定量包装商品净含量计量检验规则

国家质量监督检验检疫总局令[2005]年第75号 定量包装商品计量监督管理办法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

灵芝孢子粉

为多孔菌科真菌赤芝 *Ganoderma Lucidum* (Leyss.ex Franch.) Karst.的子实体发育产生，在成熟时弹射、采收、除去杂质并干燥的孢子。

3.2

破壁灵芝孢子粉

取灵芝孢子粉原料去瘪去杂，采用挤压、碾磨、剪切、气流粉碎等方式将孢子破壁后经萃取和提取去除壁壳、浓缩干燥等工艺制得的产品。

4 基本要求

4.1 研发技术

选用2000倍以上扫描电子显微镜对灵芝孢子粉原料及破壁后孢子的形态结构特征进行观察分析测算，通过研究试验设计方法，分析得率及功效性成分转移率等，并进行验证，确定去瘪、破壁、去壁等工艺的最佳参数。

4.2 原料要求

4.2.1 选用经省级以上农业部门审定的灵芝品种。选用在道地产区、国家生态原产地保护区域或国家地理标志产品保护的区域栽培，获得有机认证的灵芝孢子粉原料。

4.2.2 原料要求应符合表1的规定。

表1 原料要求

项目	指标	检验方法
色泽	黄棕色。	取试样，在室温和非阳光直射下采用手握、鼻嗅、目测的方法进行检验。
形态	呈粉末状，均匀、疏松、无结块。	
滋、气味	气微，味淡。	
杂质	不得检出菌丝、淀粉粒等异物。	取试样，挑取少量置载玻片上，滴加甘油醋酸试液、水合氯醛试液或其他适宜的试液，盖上盖玻片。必要时，按上法加热透化。置显微镜下观察。
显微特征	粉末黄棕色。孢子褐色，呈卵形，长（6~11） μm ，宽（4~7） μm ，顶端平截或钝圆形，孢壁双层，外壁透明、平滑，内壁淡褐色或近褐色。	
水分（%）	≤ 9.0	按GB 5009.3规定的方法测定。
灰分（%）	≤ 3.0	按GB 5009.4规定的方法测定。

4.3 生产工艺

采用去瘪去杂防氧化的前处理工艺，经超音速气流等破壁，再对破壁后的灵芝孢子粉进行萃取和提取、分离去壁、浓缩干燥、包装。

4.4 生产环境

破壁、浓缩物干燥、内包装等生产环境应符合GB 50457十万级洁净车间标准要求。

4.5 检测能力

应配备2000倍以上扫描电子显微镜、电感耦合等离子体质谱仪、高效液相色谱仪（蒸发光散射检测器）、紫外可见分光光度计等检测仪器设备，具备铅、镉、砷、汞、铜、铬、镍等重金属及有害元素以及功效性成分含量、指纹图谱等的检测能力。

5 产品技术要求

5.1 质量要求

应符合表2的规定。

表 2 质量要求

项目	指标	
感官	色泽	棕褐色，色泽均匀。
	形态	呈粉末状，均匀、疏松、无结块。
	滋、气味	气微、味淡或微苦。
杂质	不得检出菌丝、淀粉粒等异物。	
水分/（%）	≤ 9.0	
灰分/（%）	≤ 3.0	
破壁率/（%）	≥ 98	
过氧化值/（g/100g）	≤ 0.15	
三萜，以齐墩果酸计/（g/100g）	≥ 4.0	
多糖，以无水葡萄糖计/（g/100g）	≥ 8.0	
指纹图谱	按中药色谱指纹图谱相似度评价系统计算，供试品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度不得低于0.95。	

5.2 安全要求

应符合表3的规定。

表 3 安全要求

项目	指标
铅（以Pb计）/（mg/kg）	≤ 2.0
镉（以Cd计）/（mg/kg）	≤ 0.5
砷（以As计）/（mg/kg）	≤ 1.0
汞（以Hg计）/（mg/kg）	≤ 0.1
铜（以Cu计）/（mg/kg）	≤ 20.0
铬（以Cr计）/（mg/kg）	≤ 2.0
镍（以Ni计）/（mg/kg）	≤ 1.0
菌落总数（CFU/g）	≤ 10000
霉菌和酵母菌总数（CFU/g）	≤ 50
大肠菌群（MPN/g）	≤ 0.92
金黄色葡萄球菌	$\leq 0/25g$
沙门氏菌	$\leq 0/25g$

5.3 净含量

按国家质量监督检验检疫总局令[2005]年第75号《定量包装商品计量监督管理办法》执行。

6 检验方法

6.1 感官

取试样，在室温和非阳光直射下采用手握、鼻嗅、目测的方法进行检验。

6.2 杂质

取试样，挑取少量置载玻片上，滴加甘油醋酸试液、水合氯醛试液或其他适宜的试液，盖上盖玻片。必要时，按上法加热透化。置显微镜下观察。

6.3 水分

按GB 5009.3规定的方法测定。

6.4 灰分

按GB 5009.4规定的方法测定。

6.5 破壁率

按附录A规定的方法测定。

6.6 过氧化值

按附录B规定的方法测定。

6.7 功效性成分

6.7.1 三萜

按附录C规定的方法测定。

6.7.2 多糖

按附录C规定的方法测定。

6.8 指纹图谱

按附录D规定的方法测定。

6.9 铅、镉、砷、汞、铜、铬、镍

按GB 5009.268规定的方法测定。

6.10 微生物检验

6.10.1 菌落总数

按GB 4789.2规定的方法测定。

6.10.2 霉菌和酵母菌总数

按GB 4789.15规定的计数法测定。

6.10.3 大肠菌群

按GB 4789.3规定的方法测定。

6.10.4 金黄色葡萄球菌

按GB 4789.10规定的方法测定。

6.10.5 沙门氏菌

按GB 4789.4规定的方法测定。

6.11 净含量

按JJF 1070中规定的方法检验。

7 检验规则

7.1 出厂检验

7.1.1 产品出厂需经工厂检验部门逐批检验合格，附产品合格证方能出厂。

7.1.2 出厂检验项目包括感官、杂质、水分、灰分、破壁率、过氧化值、三萜、多糖、菌落总数、霉菌和酵母菌总数、大肠菌群、净含量。如果大肠菌群呈阳性，应检验致病菌。

7.2 型式检验

7.2.1 正常生产时每年度进行一次型式检验，有下列情况时也应进行型式检验：

- a) 新产品试制鉴定；
- b) 正式生产时，如原料、工艺有较大改变可能影响到产品的质量；
- c) 长期停产，恢复生产时；
- d) 出厂检验的结果与上次型式检验有较大差异时；
- e) 国家质量监督机构提出要求时。

7.2.2 型式检验项目应包括 5 中的全部项目。

7.3 抽样方法和判定原则

7.3.1 抽样原则

以相同工艺条件、品种、规格、生产日期的成品组成批。产品质量检验应在同批产品中按规定抽取试样。

7.3.2 抽样方法

7.3.2.1 样品按批随机抽取，设批量件数（包装单位：箱、盒、板等）为 X ， $X \leq 3$ 时，每件取样，当 $3 \leq X \leq 300$ 时，按 $\sqrt{X}$ 随机抽样；当 $X \geq 300$ 时，按 $(\sqrt{X}/2) + 1$ 随机抽样。每批样品取样 2 份，每份样品应为全检所需样品的 3 倍量，一份送化验室检验，一份贮存备查。

7.3.2.2 型式检验时，可从任一批产品中随机抽取用于各项指标检验和留样的单位产品，按 6 检验方法检验。

7.3.3 判定规则

7.3.3.1 感官、杂质、水分、灰分、破壁率、过氧化值、三萜、多糖、菌落总数、霉菌和酵母菌总数、大肠菌群、净含量指标的检验结果按 5 技术要求判定。

7.3.3.2 检验结果如有指标出现不符合本标准要求，允许对留样进行复检。如复检结果仍为不符合，则判该批产品不合格；微生物指标不得复检，检验结果不符合本标准规定时，即判该批产品为不合格。

7.3.3.3 出厂检验项目全部检验合格，则认定该批产品出厂检验合格。

7.3.3.4 型式试验项目全部检验合格，则判定该批产品型式试验合格。

8 标志、包装、运输和贮存

8.1 销售包装的标志

最小销售包装外应标明：产品名称、生产单位名称和地址、生产日期或生产批号、净含量、保质期及执行标准。

8.2 包装

8.2.1 运输包装外应标明：产品名称、生产厂名、厂址、生产日期或批号、数量、净含量、保质期及贮运要求的图形类标志等。包装储运图形标志应符合 GB/T 191 的要求。

8.2.2 直接接触产品的包装材料应符合食品级要求。

8.3 运输

运输工具应清洁卫生，应轻装轻卸，按箱子图示标志堆放。运输过程防止日晒雨淋、避免剧烈震动、撞击，不得与有毒、有害物品混运。

8.4 贮存

产品应贮存于密封、避光、阴凉干燥处，不得与有毒有害物品混放。

9 质量承诺与服务

9.1 质量承诺

在正常运输、贮存且包装完善和未经启封的情况下，产品保质期不少于2年。若在产品保质期内出现因厂家原因造成的产品质量问题，生产商应予以免费更换。

9.2 服务

根据客户需求，利用电话、微信、呼叫中心等途径及时给予客户技术咨询和技术支持。用户对产品质量有异议时，生产商应在24小时内做出处理和响应，及时为客户提供服务和解决方案。

附 录 A
(规范性附录)
破壁率的测定方法

方法如下：

- 取试样 0.15g，精密称定，置 100mL 容量瓶中，加聚山梨酯 80 0.1mL，加水至刻度，强力振荡 3min，使混匀；
- 取血球计数板（25 个中方格×16 个小方格）；
- 用吸管吸取混匀的孢子液滴于盖玻片边缘，使液体缓缓渗入，多余的液体用吸水纸擦净；
- 置 200 倍以上放大倍数显微镜下观察，计数任意 9 个中方格中具完整形态的灵芝孢子个数；
- 应至少做 3 次，计算平均数。每 9 个中方格检出完整形态灵芝孢子总数不得超过 10 个，即破壁率不得少于 98%。孢子壁壳破裂、有缺口者均视为已破碎。

附 录 B

（规范性附录）

过氧化值的测定方法

B.1 油脂提取

取试样20g，置500mL具塞锥形瓶中，加正己烷150mL，置超声波清洗器中，将功率调节至4000W，超声45min，放冷，置500mL离心瓶中，将转速调节至4000转，离心5min。滤过，滤液置500mL磨口锥形瓶中，于旋转蒸发仪上，将水浴温度调节至40℃减压回收溶剂至尽，即得。

B.2 过氧化值测定

取油脂1g，精密称定，置250mL的干燥碘瓶中，加三氯甲烷-冰醋酸（1：1）混合溶液30mL，使溶解。精密加新制碘化钾饱和溶液1mL，密塞，轻轻振摇半分钟，在暗处放置3分钟。取出加100mL水，摇匀后立即用硫代硫酸钠滴定液（用0.1 mol/L标准溶液 1mL，移入100mL量瓶中，加新沸过的冷水，稀释至刻度）滴定析出的碘，滴定至淡黄色时，加1mL淀粉指示剂，继续滴定并强烈振摇至溶液蓝色消失为终点；同时做空白试验。

B.3 计算

按下式计算。

$$X = \frac{(V - V_0) \times C \times 0.1269}{m} \times 100 \cdots \cdots (1)$$

式中：

X —— 过氧化值，单位为克每百克（g/100g）；

V —— 试样消耗的硫代硫酸钠标准溶液体积，单位为毫升（mL）；

V₀ —— 空白试验消耗的硫代硫酸钠标准溶液体积，单位为毫升（mL）；

C —— 硫代硫酸钠标准溶液的浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；

0.1269 —— 与1.00 mL硫代硫酸钠标准滴定溶液 [c(Na₂S₂O₃)=1.000 mol/L] 相当的碘的质量；

m —— 试样质量，单位为克（g）；

100——换算系数。

附 录 C
(规范性附录)
功效性成分的测定方法

C.1 三萜的测定方法

C.1.1 所需仪器如下:

- a) 紫外分光光度计;
- a) 恒温水浴锅;
- b) 离心机;
- c) 万分之一电子天平;
- d) 十万分之一电子天平。

C.1.2 所需试剂如下:

- a) 齐墩果酸;
- e) 无水乙醇;
- f) 高氯酸;
- g) 冰醋酸;
- h) 香草醛;
- i) 醋酸乙酯。

C.1.3 测定步骤如下:

- 对照品溶液的制备:精密称取 10mg 齐墩果酸,以无水乙醇为溶剂,配制成 50mL 浓度为 0.2mg/mL 的齐墩果酸乙醇溶液;
- 标准曲线的制备:精密吸取齐墩果酸标准液 0.1mL、0.2mL、0.4mL、0.6mL、0.8mL 分别置于具塞试管中,加热挥去溶剂,再加入 0.4mL 新制的 5%香草醛—冰醋酸液及 1.6mL 高氯酸,在 70℃恒温水浴中加热 15min,流水冷却至室温,再加入 4mL 醋酸乙酯稀释,摇匀,在 560nm 波长处测定,绘制标准曲线;
- 样品溶液的制备:取试样约 0.5g,精密称定,置 100mL 具塞三角瓶中,加入 75%乙醇溶液 50mL 在 80℃恒温水浴中回流提取 2h,过滤,滤液转移至 100mL 容量瓶中;残渣及滤纸置原三角瓶中加入 75%乙醇溶液 40mL 在 80℃恒温水浴中回流提取 1.5h,滤液合并至同一量瓶中,加 75%乙醇至刻度,摇匀,配制成样品溶液;
- 试样测定:精密量取待测样 (0.1~1) mL,加热挥去溶液,再加入 0.4mL 新制的 5%香草醛—冰醋酸液及 1.6mL 高氯酸,在 70℃恒温水浴中加热 15min,流水冷却至室温,再加入 4mL 醋酸乙酯稀释,摇匀,在 560nm 波长处测定。其中试剂空白以蒸馏水为参比液,根据标样标准曲线计算三萜含量。按下式计算。

$$X = \frac{C \times V_1}{M \times V_2 \times 10^4} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- X——样品中三萜的含量, (g/100g);
- C——通过标准曲线计算所得的三萜含量, (μg);
- V₁——样品溶液定容的体积, (mL);

V_2 ——吸取样品溶液的体积，（mL）；

M ——样品的重量，（g）。

C.2 多糖的测定方法

C.2.1 所需仪器如下：

- 紫外分光光度计；
- 离心机；
- 恒温水浴锅；
- 电加热板；
- 万分之一电子天平；
- 十万分之一电子天平。

C.2.2 所需试剂如下：

- 无水葡萄糖；
- 蒽酮；
- 硫酸；
- 无水乙醇；
- 硫酸蒽酮溶液：精密称取蒽酮 0.1g，加 80% 的硫酸溶液 100mL 使溶解，摇匀。

C.2.3 测定步骤如下：

- 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 1mL 含 0.1mg 的溶液；
- 标准曲线的制备：分别精密量取对照品溶液 0.2mL、0.4mL、0.6mL、0.8mL、1.0mL、1.2mL，置 10mL 具塞试管中，各加水补至 2.0mL，精密加入硫酸蒽酮溶液 5mL，摇匀，置沸水浴中加热 15 分钟，取出，放入冰浴中冷却 15 分钟，以相应的试剂为空白，在 625nm 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；
- 样品溶液的制备：取试样约 0.5g，精密称定，置 250mL 具塞三角瓶中，精密加水 100mL，称定重量，加热回流提取 1 小时，放冷，再称定重量，用水补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取续滤液 2mL，置 15mL 离心管中，精密加入乙醇 10mL，摇匀，4℃ 放置 12 小时，取出，离心（4000r/min）10 分钟，弃去上清液，沉淀加水溶解，转移至 50mL 容量瓶中，加水至刻度，摇匀；
- 试样测定：精密量取待测液 2mL，置 10mL 具塞试管中，照标准曲线的制备项下的方法，自“精密加入硫酸蒽酮溶液 5mL”起，依法测定吸光度，从标准曲线上读出样品溶液中相当于无水葡萄糖的量，计算，即得。按下式计算。

$$X = \frac{C \times V_1 \times V_3}{M \times V_2 \times V_4 \times 10^4} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——样品中多糖的含量（以葡萄糖计），（g/100g）；

M ——样品重量，（g）；

C ——通过标准曲线计算所得的样品溶液中葡萄糖的含量，（μg）；

V_1 ——样品定容体积，（mL）；

V_2 ——样品定容液取样体积，（mL）；

V_3 ——沉淀定容体积，（mL）；

V_4 ——测定用样品溶液体积，（mL）；

附 录 D

（规范性附录）

指纹图谱的测定方法

D.1 所需仪器如下：

- a) 高效液相色谱仪；
- b) 恒温水浴锅；
- c) 电加热板；
- d) 万分之一电子天平；
- e) 十万分之一电子天平。

D.2 所需试剂如下：

- a) 乙腈；
- b) 异丙醇

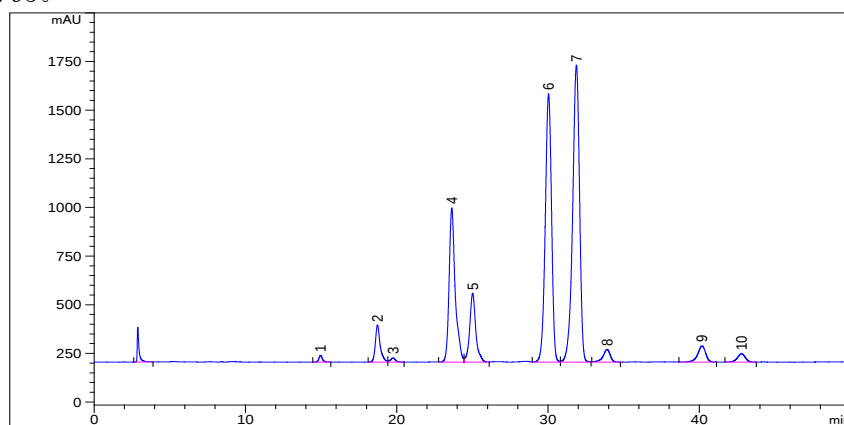
D.3 测定步骤：用高效液相色谱法测定。色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以乙腈-异丙醇（51:49）为流动相；蒸发光散射检测器。理论塔板数按甘油三油酸酯峰计算应不低于 3000。

D.4 参照物溶液的制备：取甘油三油酸酯对照品适量，精密称定，加流动相制成每 1mL 含 0.3mg 的溶液，即得。

D.5 供试品溶液的制备：取试样约 0.3g，精密称定，置具塞烧瓶中，精密加入流动相 25mL，称定重量，水浴回流提取 60 分钟，放冷，用流动相补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

D.6 测定法：分别精密吸取参照物溶液与供试品溶液各 2~5 μ L，注入液相色谱，测定，即得。

D.7 计算：按中药色谱指纹图谱相似度评价系统计算，供试品指纹图谱与对照指纹图谱（见下图）的相似度不得低于 0.95。



说明：

- | | |
|------------------------|-------------------------|
| 1——亚甘油三油酸酯； | 5——1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯； |
| 2——1, 2-二亚油酸-3-油酸甘油酯； | 6——甘油三油酸酯； |
| 3——1, 2-二亚油酸-3-棕榈酸甘油酯； | 7——1, 2-二油酸-3-棕榈酸甘油酯； |
| 4——1, 2-二油酸-3-亚油酸甘油酯； | 9——1, 2-二油酸-3-硬脂酸甘油酯。 |

图D.1 破壁灵芝孢子粉对照指纹图谱