

ICS **, ***, **
C**



团体标准

T/CACM *****—20**

雪莲培养物

Cell culture of *Saussurea involucrata*

（文件类型：公示稿）

20**-**-**发布

20**-**-**实施

中华中医药学会发布

目 次

前 言.....	IV
引 言.....	V
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	2
3.1 雪莲培养物.....	2
4 质量要求.....	2
4.1 原料要求.....	2
4.2 感官要求.....	2
4.3 理化鉴别.....	2
4.4 理化要求.....	2
4.5 微生物限量.....	3
4.6 植物生长调节剂最大残留限量.....	3
4.7 生产加工过程的卫生要求.....	4
4.8 净含量.....	4
5 检验方法.....	4
5.1 感官.....	4
5.2 理化鉴别.....	4
5.3 理化检测.....	4
5.3.1 总黄酮.....	4
5.3.2 绿原酸.....	4
5.3.3 蛋白质.....	4
5.3.4 水分.....	4
5.3.5 灰分.....	4
5.3.6 铅.....	5
5.3.7 砷.....	5
5.3.8 汞.....	5
5.4 微生物限量检查.....	5
5.4.1 菌落总数.....	5
5.4.2 大肠菌群.....	5
5.4.3 霉菌.....	5
5.4.4 酵母.....	5
5.4.5 沙门氏菌.....	5
5.4.6 金黄色葡萄球菌.....	5
5.5 植物生长调节剂最大残留限量检查.....	5
5.5.1 萘乙酸.....	5
5.5.2 6-苄氨基嘌呤.....	5
5.6 净含量.....	5
6 检验规则.....	5
6.1 组批和抽样.....	6
6.2 交收检验.....	6
6.3 型式检验.....	6

6.4 判定规则.....	6
7 标志、标签、产品说明书、包装、运输、贮存.....	6
7.1 标志、标签.....	6
7.2 产品说明书.....	6
7.3 包装.....	6
7.4 运输.....	7
7.5 贮存.....	7
附录 A	8

前 言

本文件按照 GB/T1.1-2020《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。

本文件由珍稀濒危药用植物国家地方联合工程研究中心提出。

本文件由中华中医药学会归口。

本文件起草单位：珍稀濒危药用植物国家地方联合工程研究中心，中国中医科学院中药资源中心，大连普瑞康生物技术有限公司、完美（中国）有限公司、北京同仁堂健康药业有限公司、汤臣倍健股份有限公司、大连源盛泰医疗投资股份有限公司、贵州省仁怀市百草老酱酒业有限公司、楚香（上海）生物科技有限公司、深圳仙迪化妆品有限公司、南京中生联合股份有限公司、如新（中国）日用保健品有限公司、神威药业集团有限公司、中国中医科学院中医药健康产业研究所、广西药用植物园、安徽中医药大学、浙江中医药大学、河源市和顺农业有限公司。

本文件主要起草人：刘汉石、袁媛、刘禹、刘雅萍、李晓琳、范文霞、刘天睿、赵玉洋、秦双双、杨梦楠、南铁贵、谢冬梅、曹坦、周骏辉、刘学冬、张宏、龙则河、黄利、徐彩萍、齐莹、苏荣生、何健、李晓敏、严建刚、朱爱松、朱昆明。

引言

利用植物细胞工程技术生产药用活性成分或补充药物资源已成为珍稀濒危药用植物可持续发展的重要途径。雪莲资源日趋枯竭，导致以雪莲为原料的上百家医药及保健品企业原料严重短缺。应用植物细胞工程技术生产雪莲细胞培养物，其化学成分和雪莲药材相似，是缓解雪莲药材短缺、保护雪莲资源的较好途径。雪莲培养物 2010 年被批准为新资源食品（现为新食品原料），并已实现工业化生产，广泛用于食品、保健品和化妆品领域。

除企业标准外，目前尚无统一的雪莲培养物的产品标准。雪莲培养物的标准化、规范化是生产和销售的需求，有利于雪莲培养物的生产和质量控制。本文件将为雪莲培养物的标准化生产、质量控制、使用和销售提供科学、具体的指导，从而确保雪莲培养物作为保健品和生产原料使用时的优质、安全、稳定。

雪莲培养物

1 范围

本文件规定了雪莲培养物的术语和定义、质量要求、检验方法、检验规则、标志、标签、产品说明书、包装、运输、贮存。

本文件适用于雪莲培养物的生产、使用、销售和科学研究。

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。

《中华人民共和国药典》

GB 2763	食品安全国家标准	食品中农药最大残留量	
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	大肠菌群测定
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 5009.5	食品安全国家标准	食品中蛋白质的测定	
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 5009.17	食品安全国家标准	食品中总汞及有机汞的测定	
GB/T 6682	分析实验室用水规格和试验方法		
GB 7718	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	食品企业通用卫生规范	
GB/T 22250	保健食品中绿原酸的测定		
GB/T 28118	食品包装用塑料与铝箔复合膜、袋		
JJF 1070	定量包装商品净含量计量检验规则		
DB12/T 986—2021	豆芽中 6-苳基腺嘌呤、4-氯苯氧乙酸钠、2,4-滴和赤霉素的测定	液相色谱-串联质谱法	

中华人民共和国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》

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局令（2007）第 123 号《食品标识管理规定》
关于批准金花茶、显脉旋覆花(小黑药)等 5 种物品为新资源食品的公告（2010 年第 9 号）

3 术语及定义

3.1 雪莲培养物 *cell culture of Saussurea involucrata*

雪莲培养物鲜品是指在离体条件下对天山雪莲 *Saussurea involucrata* (Kar.et Kir.) Sch.-Bip.的幼茎或叶片的单个细胞或小的细胞团进行培养，使其增殖，获得的紫红色、球形薄壁细胞团，经干燥、粉碎后得到的粉末。

4 质量要求

4.1 原料要求

新鲜的雪莲培养物的外观特征为：呈紫红色，团粒状，质疏松，生长健壮，易分离，无杂质，应符合《关于批准金花茶、显脉旋覆花(小黑药)等 5 种物品为新资源食品的公告（2010 年第 9 号）》的规定。

4.2 感官要求

感官要求应符合表 1 规定。

表 1 感官要求

项 目	要 求
色 泽	紫灰色
形 态	过 80 目筛的细粉
气味、味道	气微香，无特殊味道
杂 质	无肉眼可见的外来杂质

4.3 理化鉴别

供试品薄层色谱中，在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点（图1）。

4.4 理化要求

理化要求应符合表 2 规定。

表 2 理化指标及含量要求

项 目	含量要求
总黄酮/(%)	≥ 7.00
绿原酸/(%)	≥ 0.70
蛋白质/(%)	≥ 20.0
水分/(%)	≤ 10.0
灰分/(%)	≤ 10.0
铅(以 Pb 计)/(mg/kg)	≤ 2.0
砷(以 As 计)/(mg/kg)	≤ 1.0
汞(以 Hg 计)/(mg/kg)	≤ 0.3

4.5 微生物限量

微生物限量应符合表 3 规定。

表 3 微生物限量

项 目	采样方案及限量(若非指定, 均以 CFU/g 表示)			
	n	c	m	M
菌落总数	5	2	10^3	5×10^4
大肠菌群 (Coliforms)	5	2	10	10^2
霉菌 (Moulds)	≤ 50			
酵母 (Yeasts)	≤ 20			
沙门氏菌 (<i>Salmonella</i>)	5	0	0	—
金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	5	1	10^2	10^3
注: n 为同一批次产品采集的样品件数; c 为最大允许超出 m 值的样品数。m 为微生物指标可接受水平的限量值; M 为微生物指标的最高安全限量值。				

4.6 植物生长调节剂最大残留限量

植物生长调节剂最大残留限量应符合表4规定。

表 4 植物生长调节剂最大残留限量

项 目	最大残留限量
萘乙酸 (1-Naphthaleneacetic acid) / (mg/kg)	0.05

6-苄氨基嘌呤 (<i>N</i> -(Phenylmethyl)-9 <i>H</i> -purin-6-amine) / (mg/kg)	0.2
---	-----

4.7 生产加工过程的卫生要求

应符合 GB 14881 的规定。

4.8 净含量

净含量应符合《定量包装商品计量监督管理办法》的规定。

5 检验方法

5.1 感官

取适量样品置于洁净的白瓷盘中，在自然光线下用肉眼观察其色泽和形态，嗅其气味，用温开水漱口，品其滋味。

5.2 理化鉴别

取雪莲培养物粉末0.5 g，加甲醇20 ml，超声处理10 min，过滤，滤液蒸干，残渣加甲醇5 ml使溶解，作为供试品溶液。另取天山雪莲对照药材0.5 g，加甲醇20 ml，超声处理10 min，过滤，滤液蒸干，残渣加甲醇1 ml使其溶解，作为对照药材溶液。再取绿原酸、1,5-二咖啡酰奎尼酸对照品，加甲醇制成2 mg/ml的溶液，作为对照品溶液。参照《中华人民共和国药典》薄层色谱法（通则0502），吸取上述三种溶液各3~5 μ l，点于同一硅胶G薄层板上，以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水（10: 6: 1: 2）的上层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，再喷以1%亚硝酸钠的1%甲醇溶液，加热后至斑点显色清晰。供试品色谱中，在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

5.3 理化检测

5.3.1 总黄酮

应按附录A的方法执行。

5.3.2 绿原酸

应按GB/T 22250规定的方法执行。

5.3.3 蛋白质

应按GB 5009.5规定的方法执行。

5.3.4 水分

应按GB 5009.3规定的方法执行。

5.3.5 灰分

应按GB 5009.4规定的方法执行。

5.3.6 铅

应按GB 5009.12规定的方法执行。

5.3.7 砷

应按GB 5009.11规定的方法执行。

5.3.8 汞

应按GB 5009.17规定的方法执行。

5.4 微生物限量检查

5.4.1 菌落总数

应按GB 4789.2规定的方法执行。

5.4.2 大肠菌群

应按GB 4789.3中的平板计数法执行。

5.4.3 霉菌

应按GB 4789.15规定的第一法执行。

5.4.4 酵母

应按GB 4789.15规定的方法执行。

5.4.5 沙门氏菌

应按GB 4789.4规定的方法执行。

5.4.6 金黄色葡萄球菌

应按GB 4789.10规定的第二法执行。

5.5 植物生长调节剂最大残留量检查

5.5.1 萘乙酸

应按GB 2763规定的方法执行。

5.5.2 6-苄氨基嘌呤

应按DB12/T 986-2020规定的方法执行。

5.6 净含量

按JJF 1070 规定的方法执行。

6 检验规则

6.1 组批与抽样

以同班次生产的相同规格的产品为一组批，从每批产品中随机抽样 200 g 作为检验样品。

6.2 交收检验

每批产品交收前应进行交收检验。交收检验内容包括感官要求、理化鉴别、总黄酮、绿原酸、水分、微生物指标中菌落总数、大肠菌群、净含量及允许负偏差、标志和包装。检验合格并附合格证后方可交收。

6.3 型式检验

型式检验项目为第 4 项质量要求中的全部项目。当有下列情况之一时，应进行型式检验：

- a) 正常生产时，每年进行一次；
- b) 产品批量投产时；
- c) 因人为或自然因素使生产环境发生较大变化；
- d) 原料产地、工艺发生及生产设备变化，可能影响产品质量时；
- e) 国家监督机构提出型式检验要求时。

6.4 判定规则

检验结果全部符合交收检验或型式检验项目的要求时，判定该批产品为合格，否则为不合格。感官和理化检测不合格，可在同批产品中重新加倍抽样进行一次复检，如仍不合格，则判为不合格。微生物限量、植物生长调节剂最大残留限量、卫生要求如不合格不得复检。

7 标志、标签、产品说明书、包装、运输、贮存

7.1 标志、标签

产品销售包装标志应符合 GB 7718 和《食品标识管理规定》要求。产品包装储运图示标志应符合 GB/T 191 规定。

7.2 产品说明书

产品说明书包括如下内容：

- a) 产品概述；
- b) 食用量：≤4g/天；
- c) 不适宜人群：婴幼儿、孕妇；
- d) 保存方法：阴凉、通风处保存。

7.3 包装

产品包装应严密、牢固，包装材料应符合 GB/T 28118 《食品包装用塑料与铝箔复合膜、袋》的标准规定。

7.4 运输

运输工具应符合食品卫生要求，不得与有毒有害有异味物品混运。运输时应有遮盖物，防晒、防潮、防雨淋和防压。

7.5 贮存

应保存在阴凉、干燥、通风的仓库中。不应挤压，防止日晒、雨淋，不得与有毒、有害、有挥发气味的物质混贮。贮存期限为 2 年。

附录 A
(规范性附录)
雪莲培养物总黄酮的测定方法

A.1 试剂和仪器

A.1.1 试剂

亚硝酸钠 (NaNO_2)

硝酸铝 ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)

氢氧化钠 (NaOH)

甲醇 (CH_3OH)

以上试剂均为分析纯。水为 GB/T 6682 规定的二级水或三级水。

A.1.2 仪器

紫外/可见分光光度计

超声波清洗器

离心机

分析天平：感量分别为 0.01 mg、0.001 g

A.1.3 试剂配制

5%亚硝酸钠溶液：称取 5.0 g 亚硝酸钠，加水溶解，配制成 100 mL 溶液。

10%硝酸铝溶液：称取硝酸铝 17.6 g，加水溶解，配制成 100 mL 溶液。

氢氧化钠溶液：称取氢氧化钠 4.3 g，加水溶解，配制成 100 mL 溶液。

A.1.4 对照品

芦丁对照品的分子式、相对分子量、CAS 登录号见表 1，含量 $\geq 90\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

表 1 芦丁对照的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子量

中文名称	英文名称	CAS 登录号	分子式	相对分子量
芦丁	Rutoside	153-18-4	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	610.52

A.1.5 对照品溶液制备

芦丁对照品储备液：取芦丁对照品精密称定 20 mg，加甲醇溶解，并转移至 50 mL 容量瓶中，定容至刻度，摇匀，此溶液浓度为 0.4 mg/mL。

A.2 分析步骤

A.2.1 供试品溶液制备

取待测样品（粒度小于 80 目）精密称定 0.10 g，置索氏提取器中，加甲醇适量，加热回流至提取液无色，室温冷却，提取液定量转移入 50 mL 容量瓶中，并用甲醇少量洗涤容器，洗液并入同一容量瓶中，加甲醇至刻度，定容，摇匀。过滤后取上清液作为供试品溶液。

A.2.2 标准曲线的制作

精密量取 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 的芦丁对照品储备液，分别置于 25 mL 容量瓶中，加水至 6.0 mL，加入 5%亚硝酸钠溶液 1 mL，摇匀，放置 6 min，加 10%硝酸铝溶液 1 mL，摇匀，放置 6 min，加 4%氢氧化钠试液 10 mL，加水至刻度，摇匀，放置 15 min，制成芦丁浓度分别为 0.0 μg/mL、16.0 μg/mL、32.0 μg/mL、48.0 μg/mL、64.0 μg/mL、80.0 μg/mL、96.0 μg/mL 的对照品溶液。以芦丁浓度为 0.0 μg/mL 对照品溶液为空白，在波长 510 nm 处分别测定系列浓度对照品溶液的吸光度。以吸光度为纵坐标，以对照品溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线，并计算线性回归方程 $y=kx+b$ 。

A.2.3 供试品溶液的测定

精密量取供试品溶液 5 mL，置 25 mL 容量瓶中，按照 A.2.2 项下的方法，加入 5%亚硝酸钠溶液 1 mL，摇匀，放置 6 min，加 10%硝酸铝溶液 1 mL，摇匀，放置 6 min，加 4%氢氧化钠试液 10 mL，加水至刻度，摇匀，放置 15 min，制备供试品溶液，以芦丁浓度为 0.0 μg/mL 对照品溶液为空白，在波长 510 nm 处测定吸光度值，从线性回归方程计算供试品溶液中总黄酮的含量。

注：供试品取样量、供试品溶液取样体积可根据试样中总黄酮的含量适当调整，以保证测定的吸光度值在线性范围内。

A.3 结果计算

试样中总黄酮含量按下式计算：

$$X = \frac{(A-b) \times V}{k \times M} \times 100\%$$

式中：

X —试样中总黄酮的含量，以芦丁（ $C_{27}H_{30}O_{16}$ ）计；

A —供试品溶液的吸光度；

V —样品提取过程中稀释的倍数；

k , b —标准曲线中斜率及截距；

M —待测样品取样量，单位为克（g）

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，保留三位有效数字。

A.4 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%。

注：样品有颜色时，可采用样品标准添加法，以 0 号管调零，绘制标准曲线，以消除样品颜色干扰。

本方法参考“保健食品理化及卫生指标检验与评价技术指导原则（2020 年版）”中“保健食品中总黄酮的测定”中第二法，并结合雪莲培养物性质制定。