

含靈芝酸之松杉靈芝保健機能性食品規格基準

一、適用範圍

本規格基準適用於以松杉靈芝(*ganoderma tsugae*)子實體原料所製成之含靈芝酸食品。

二、定義

(一) 含靈芝酸之松杉靈芝保健機能性食品

松杉靈芝保健機能食品係指利用松杉靈芝真菌所生產的子實體具有生物活性成分之產品。

(二) 靈芝酸(ganoderic acid)

三萜類(triterpenoids) 為靈芝的苦味成分，其結構以羊毛固烷(lanostane)為骨架。這物質依其基本骨架碳數的不同，可分為 C₃₀ 的靈芝酸類，C₂₇ 的赤芝酸(lucidenic acid)類及 C₂₄ 的赤芝酮(lucidone)類。松杉靈芝之主要三萜類成分為靈芝酸，文獻發現靈芝酸能有效的抑制抑制血管收縮素轉換酶(angiotensin converting enzyme, ACE)的活性進而造成血壓降低。

三、產品規格

(一) 外觀性狀

應具原有之風味及色澤，不得有腐敗、變色、異味、污染、發霉或含有異物。

(二) 規格成分含量

1. 符合標示。
2. 產品中靈芝酸含量須達 2% 以上。

(三) 微生物限量

應符合衛生署公告之「食品衛生管理法」及「食品衛生標準」。

(四) 重金屬

1. 應符合衛生署公告之「食品衛生標準」中之「食用菇類重金屬限量標準」。

(1) 本標準依食品衛生管理法第十條規定訂定之。

(2) 本標準適用食用菇類之子實體，不適用其菌絲體。

(3) 食用菇類中重金屬含量應符合以下限量：

項目	限量(以乾重計)
鉛	3 ppm 以下
鎘	2 ppm 以下

2. 應符合衛生署公告之相關規定：重金屬最大容許量為 20 ppm(以鉛計)；砷最大容許量為 2 ppm。

(五) 殘留農藥

1. 應符合衛生署公告之「殘留農藥安全容許量」之葷菜類標準。

國際普通名稱	普通名稱	容許量 (ppm)	備註
Allethrin	亞烈寧	3.0	殺蟲劑
Carbendazim	貝芬替	0.5	殺菌劑
Diazinon	大利松	0.2	殺蟲劑
Dicloran	大克爛	0.5	殺菌劑
Malathion	馬拉松	2.0	殺蟲劑
Prochloraz	撲克拉	0.5	殺菌劑
Pyrethrins	除蟲菊精	1.0	殺蟲劑
Thiabendazole	腐絕	5.0	殺菌劑

2. 產品使用之各項原料應符合衛生署公告之「殘留農藥安全容許量」。

(六) 包裝

食品器具、容器、包裝：應符合衛生署公告之「食品衛生標準」。

(七) 其他

四、標示

- (一) 應符合衛生署公告之「食品衛生管理法」及相關規定。
- (二) 應列出靈芝酸之含量。

五、檢驗方法

(一) 實驗材料及藥品：

1. 氰甲烷(CH_3CN)(E.Merck, Darmstadt)
2. 醋酸(CH_3COOH) (E.Merck, Darmstadt)
3. 95 %酒精(台灣菸酒股份有限公司，台北)
4. 靈芝酸市售標準品(Chromadex)

(二) 方法

1. 樣品前處理

取已研磨好的靈芝子實體粉末約 1 g，加 30 mL 的乙醇，在 60°C 下用超音波振盪萃取 1 小時，萃取液經 3000 rpm 離心 10 分鐘後，取上清液，再將殘渣加乙醇重覆上述萃取步驟共 3 次，收集上清液，減壓濃縮後定量至 5 mL，以 0.45 mm 濾膜過濾後，進行 HPLC 分析。

2. 高效能液相層析(HPLC)分析條件

HPLC 分析使用紫外線偵測器，偵測波長為 252 nm；分析級管柱使用 Cosmosil 5 C18 (i.d. 250 × 4.5 mm)，流速為 0.6 mL/min，移動相為 氰甲烷：2% 醋酸 = 1：2.7 (v/v)；製備級管柱使用 Cosmosil 5 C18 (i.d. 250 × 8 mm)，流速為 2 mL/min，移動相為 A：氰甲烷 及 B：2% 醋酸，梯度條件起始值為 20% A：80% B，0~10 min 升為 27% A：73% B，10~150 min 升為 33% A：67% B(每分鐘提升 0.05% A)，150~180 min 維持 33% A：67% B，181 min 降為 20% A：80% B。

3. 靈芝酸標準品之收集

樣品經前處理後，以製備級管柱利用梯度分析條件進行純化並

收集到足夠量的靈芝酸標準品後，濃縮吹乾並稱重備用。

4. 對應係數及相對對應係數之計算

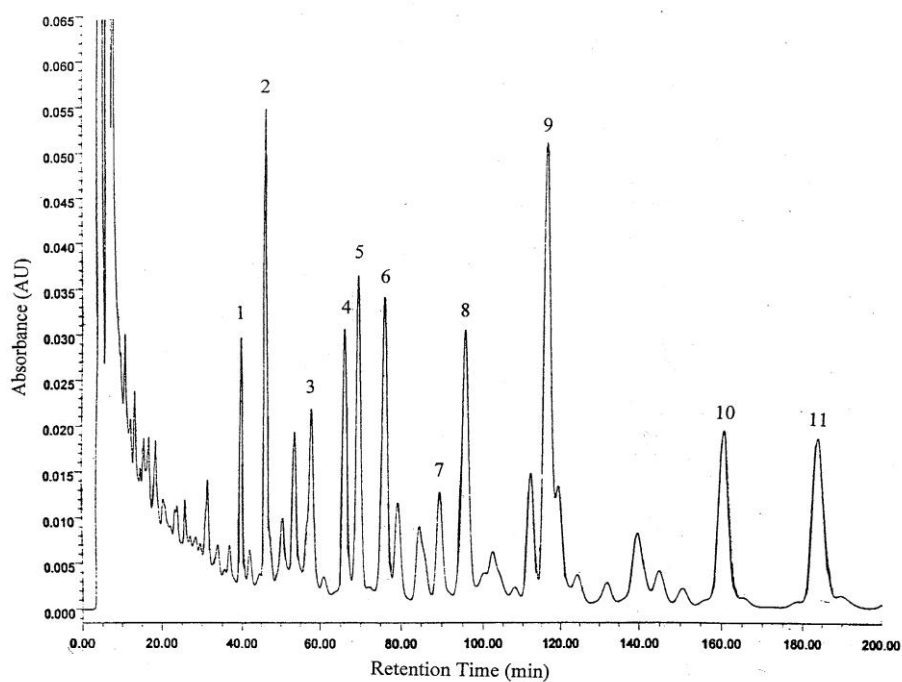
將收集所得之靈芝酸標準品混合後，以 HPLC 進行分析，所得圖譜中個別波峰的面積與濃度比，即為對應係數(response factor, 以下簡稱 RF)。將其中某一標準品(如波峰 2)定為 1，其他靈芝酸化合物之對應係數除以波峰 2 之對應係數，所得到之數值即為各靈芝酸化合物之相對對應係數(relative response factor，以下簡稱 RRF)。

5. 靈芝酸標準品配製

取純化所得之標準品或市售靈芝標準品，以酒精定量至 5 mL，稀釋至適當濃度。

6. 靈芝酸化合物圖譜之分析、收集及純化

本研究採移動相梯度分析條件來進行分離純化，見圖一。除了針對此 7 種已被確認之靈芝酸化合物⁽¹⁾進行收集外，同時亦增加收集另外 4 種含量較多的靈芝酸化合物波峰 1、波峰 5、波峰 7 與波峰 8，共計有 11 種不同靈芝酸化合物被收集做為供試樣品。



圖一 松杉靈芝中靈芝酸化合物之HPLC分析圖譜

Fig. 1. HPLC chromatogram of the ganoderic acids of *Ganoderma tsugae*

(三) 計算：

本方法利用各標準品間相對對應係數的關係，以單一標準品迴歸求得其濃度後，再以相對對應係數之計算方式求得其他靈芝酸化合物之濃度。

所謂各標準品的對應係數是指收集所得之靈芝酸標準品(或市售靈芝酸標準品)混合後，以 HPLC 分析所得圖譜的個別波峰訊號面積與濃度比，如公式(1)

$$\text{對應係數(RF)} = \frac{A_n}{C_n} = \frac{\text{訊號面積}}{\text{標準品濃度}} \dots\dots (1)$$

若將其中某一標準品(如波峰 2)定為 1，其他靈芝酸化合物之對應係數除以波峰 2 之對應係數，所得到之數值即為各靈芝酸化合物之相對對應係數。

進行樣品中靈芝酸化合物之定量時，則只須求出波峰 2 樣品之迴歸曲線，計算出分析樣品中屬於波峰 2(P2)的濃度後，再除以其他靈芝酸化合物相對於波峰 2 之相對對應係數，即可個別獲得各靈芝酸化合物的濃度，即可個別獲得各靈芝酸化合物的濃度。如公式(2)

$$(\text{RRF})_n = \text{RF}_n / \text{RF}_2 = (A_n/C_n)/(A_2/C_2) \dots\dots(2)$$

RRF: 為相對對應係數

RF: 為對應係數

A: 為訊號面積

C: 為標準品濃度

n: 為各化合物之代號: 1-11

將各別靈芝酸化合物(共 11 個)的含量相加，即可得樣品靈芝酸之總量。

(四) 備註：

若有特殊情況，廠商可提出增列方法之申請，但增列的方法必須經過委員會之同意。

六、補充說明事項

(一)

項 目	檢 驗 方 法
重 金 屬	1. 食品中重金屬之檢驗方法--鎘之檢驗(二) (中華民國 92 年 4 月 4 日署授食字第 0929206232 號) 1. 食品中重金屬檢驗方法--鉛之檢驗(二) (中華民國 92 年 12 月 23 日署授食字第 0929227157 號) 2. AOAC999.10 4. AOAC999.11
殘留農藥	食品中殘留農藥檢驗方法(中華民國 94 年 8 月 24 日署授食字第 0949424750 號)
一般生菌數	食品微生物之檢驗法－生菌數之檢驗 CNS10890(1991)
大腸桿菌群	食品微生物之檢驗法－大腸桿菌群之檢驗 CNS10984(1998)
大腸桿菌	食品微生物之檢驗法－大腸桿菌之檢驗(中華民國 90 年 4 月 20 日衛署食字第 0900025538 號)
病原菌	依照行政院衛生署公告以及 CNS 國家標準。

(二) 靈芝酸檢驗方法：

1. 靈芝酸化合物定量方法乃依據期刊文獻測定方法。呂淑芳、楊筱冬、宮昭雲、傅偉光，2005. 松杉靈芝中靈芝酸化合物定量方法。台灣農業化學與食品科學，43(3):200-205。
2. 本方法之特點說明：靈芝中所含之靈芝酸化合物為其重要機能性成分之一，目前已有 119 種靈芝酸化合物由 *ganoderma lucidum* 的子實體及菌絲體中被分離鑑定出來，包括 ganoderic acids、lucidenic acids、ganodermic acids、ganoderenic acids、lucidones、ganoderal 及 ganoderiols(1)。由於靈芝酸化合物種類繁多，目前並無標準品

之商業販售，必須由樣品中自行純化製備，過程耗時且所得量少，以致定量困難。本方法利用主要靈芝酸化合物的波峰面積，計算其相對對應係數(relative response factors)，再利用相對對應係數的關係式，即可以單一標準品的含量算出其他靈芝酸化合物的含量及總量，簡化靈芝酸化合物的定量分析步驟及減少標準品的使用量。計算所得結果並與實際以個別標準品定量分析結果相較差異不大，顯示此方法可在降低實驗成本及縮短分析時間的優勢下，有效率地定量出松杉靈芝中靈芝酸化合物的含量。

3. 靈芝酸化合物之結構鑑定：以高效能液相層析法分析松杉靈芝的子實體，結果發現不同來源之松杉靈芝圖譜模式極為類似，將松杉靈芝子實體經乙醇超音波震盪萃取出之靈芝酸化合物，以高效能液相層析法分析所得之圖譜如圖一所示。圖中顯示松杉靈芝含有 20 種以上的靈芝酸化合物可被偵測到，經文獻資料⁽¹⁾比對之後，顯示其中標示波峰 2 之訊號應為 ganoderic acid C，標示波峰 3 之訊號應為 ganoderic acid C6，標示波峰 4 之訊號應為 ganoderic acid G，標示波峰 6 之訊號應為 ganoderic acid B，標示波峰 9 之訊號應為 ganoderic acid A，標示波峰 10 之訊號應為 ganoderic acid D，標示波峰 11 之訊號應為 ganoderic acid D。

(三) 衛生署公告之「食品衛生管理法」之規定：有容器或包裝之食品、食品添加物，應以中文及通用符號顯著標示下列事項於容器或包裝之上：

1. 品名。
2. 內容物名稱及重量、容量或數量；其為二種以上混合物時，應分別標明。
3. 食品添加物名稱。
4. 廠商名稱、電話號碼及地址。輸入者，應註明國內負責廠商名稱、電話號碼及地址。
5. 有效日期。經中央主管機關公告指定須標示製造日期、保存期限或保存條件者，應一併標示之。

6. 其他經中央主管機關公告指定之標示事項。經中央主管機關公告指定之食品，應以中文及通用符號顯著標示營養成分及含量；其標示方式及內容，並應符合中央主管機關之規定。

(四) 衛生署公告之「營養成分及含量之標示方式」(中華民國 92 年 12 月 23 日衛署食字號第 0920402301 號公告):健康食品應於包裝容器外表之明顯處所提供以下標示內容：

1. 營養標示之標題。
2. 熱量。
3. 蛋白質、脂肪、碳水化合物、鈉之含量（註：此碳水化合物包括膳食纖維）。
4. 其它出現於營養宣稱中之營養素含量。
5. 廠商自願標示之其他營養素含量。
6. 保健功效之相關成分含量。

(五) 器具、容器、包裝：應符合衛生署公告之「食品衛生標準」中之「食品器具、容器、包裝衛生標準」，可參閱中華民國 94 年 7 月 15 日衛署食字第 0940405538 號令修正。

(六) 衛生署公告之「食品衛生標準」中之「食用菇類重金屬限量標準」乃為中華民國 96 年衛署食字第 88036170 號公告。

(七) 衛生署公告之「殘留農藥安全容許量」乃為中華民國 96 年 10 月 17 日衛署食字第 0960407051 號令。

七、參考資料

1. D. H. Chen and K. D. Chen: Determination of Ganoderic acids in triterpenoid constituents of *Ganoderma tsugae*. *J.Food Drug Anal.*, 11(3):195-201(2003)。

2. 呂淑芳、楊筱冬、宮昭雲、傅偉光，松杉靈芝中類三萜化合物定量方法。台灣農業化學與食品科學，43(3):200-205 (2005)
3. 行政院衛生署：健康食品管理法(2006)
4. 行政院衛生署：健康食品衛生標準(1999)
5. 行政院衛生署：食品衛生管理法(2002)
6. AOAC International. 2003. Determination of Lead, Cadmium, Copper, Iron, and Zinc in Foods. In. "Official Methods of Analysis of AOAC International" 17th ed. 999.10. William Horwitz ed. Gaithersburg, MD U.S.A
7. AOAC International. 2003. Determination of Lead, Cadmium, Copper, Iron, and Zinc in Foods. In. "Official Methods of Analysis of AOAC International" 17th ed. 999.11. William Horwitz ed. Gaithersburg, MD U.S.A
8. 行政院衛生署：食品殘留農藥安全容許量(2007)
9. 行政院衛生署：食品中殘留農藥檢驗方法--多重殘留分析方法(三) (2005)
10. 經濟部標準檢驗局：食品微生物之檢驗法—生菌數之檢驗
CNS10890(1991)
11. 經濟部標準檢驗局：食品微生物之檢驗法—大腸桿菌群之檢驗
CNS10984(1998)
12. 經濟部工業局：食品良好作業規範專則(2006)。
13. 行政院衛生署：食品微生物之檢驗法—大腸桿菌之檢驗(2001)
14. 行政院衛生署：健康食品工廠良好作業規範(1999)
15. 行政院衛生署：健康食品營養成分及含量之標示方式(2003)
16. 行政院衛生署：食品器具、容器、包裝衛生標準(2005)
17. 行政院衛生署：市售包裝食品營養宣稱規範 (2007)
18. 行政院衛生署：市售包裝食品營養標示規範 (2007)
19. 水野卓、川合正允，菇類的化學·生化學。pp.237-248。國立編譯館，台北，台灣(1996)
20. 黃惠君，食藥用菇的營養與藥用價值。食品工業，36(5):25-32(2004)