

附2

国家市场监督管理总局 保健食品产品技术要求

国食健注G20230063

玛滕牌玛咖黄芪牛磺酸饮品

【原料】 玛咖粉、黄芪、牛磺酸

【辅料】 纯化水、白砂糖

【生产工艺】 本品经提取（玛咖粉、黄芪，加10倍量水100℃煎煮2次，每次1.5h）、过滤、配制、过滤、灌装、湿热灭菌（121℃，20min）、包装等主要工艺加工制成。

【直接接触产品包装材料种类、名称及标准】

铝易开盖三片罐应符合GB/T 17590的规定。

【感官要求】 应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
色泽	黄色至棕黄色
滋味、气味	味甜、具有本品特有的气味、无异味
性状	半透明液体，允许有少许沉淀经震荡后能均匀分布
杂质	无正常视力可见外来异物

【鉴别】 无

【理化指标】 应符合表2的规定。

表2 理化指标

项 目	指 标	检测方法
pH值	4.0~6.0	《中华人民共和国药典》
可溶性固形物，%	≥8.0	GB/T 12143
铅（以Pb计），mg/L	≤0.3	GB 5009.12
总砷（以As计），mg/kg	≤0.3	GB 5009.11
铜（以Cu计），mg /L	≤5	GB 5009.13
锌（以Zn计），mg /L	≤5	GB 5009.14

铁（以Fe计），mg /L	≤15	GB 5009.90
锡（以Sn计），mg /L	≤100	GB 5009.16

【微生物指标】应符合表3的规定。

表3 微生物指标

项 目	指 标	检测方法
菌落总数，CFU/mL	≤1000	GB 4789.2
大肠菌群，MPN/mL	≤0.43	GB 4789.3 “MPN计数法”
霉菌和酵母，CFU/mL	≤50	GB 4789.15
金黄色葡萄球菌	≤0/25mL	GB 4789.10
沙门氏菌	≤0/25mL	GB 4789.4

【标志性成分含量测定】应符合表4的规定。

表4 标志性成分含量测定

项 目	指 标	检测方法
蛋白质，mg/100mL	≥145.0	1 蛋白质的测定
牛磺酸，mg/100mL	≥125.0	2 牛磺酸的测定

1 蛋白质的测定

1.1 原理：食品中的蛋白质在催化加热条件下被分解，产生的氨与硫酸结合生成硫酸铵。碱化蒸馏使氨游离，用硼酸吸收后以硫酸或盐酸标准滴定溶液滴定，根据酸的消耗量计算氮含量，再乘以换算系数，即为蛋白质的含量。

1.2 试剂

本方法所用的试剂除特殊注明外，均为分析纯；所用水为纯化水或同等纯度蒸馏水。

1.2.1 硫酸铜。

1.2.2 硫酸钾。

1.2.3 硫酸。

1.2.4 硼酸溶液（20g/L）：称取20g硼酸，加水溶解后并稀释至1000mL。

1.2.5 氢氧化钠溶液（400g/L）：称取40g氢氧化钠加水溶解后，放冷，并稀释至100mL。

1.2.6 硫酸标准滴定溶液（0.0500mol/L）或盐酸标准滴定溶液（0.0500mol/L）

1.2.7 甲基红乙醇溶液（1g/L）：称取0.1g甲基红，溶于95%乙醇，用95%乙醇稀释至100mL。

1.2.8 亚甲基蓝乙醇溶液（1g/L）：称取0.1g亚甲基蓝，溶于95%乙醇，用95%乙醇稀释至100mL。

1.2.9 溴甲酚绿乙醇溶液（1g/L）：称取0.1g溴甲酚绿，溶于95%乙醇，用95%乙醇稀释至100mL。

1.2.10 混合指示液：2份甲基红乙醇溶液（1.2.7）与1份亚甲基蓝乙醇溶液（1.2.8）临用时混合。也可用1份甲基红乙醇溶液（1.2.7）与5份溴甲酚绿乙醇溶液（1.2.8）临用时混合。

1.3 仪器

1.3.1 天平。

1.3.2 定氮蒸馏装置。

1.3.3 自动凯氏定氮仪。

1.4 测定步骤

1.4.1 凯氏定氮法

1.4.1.1 试样处理：称取液体试样10g~25g（约相当于30mg~40mg氮），精确至0.001g，移入干燥的250mL定氮瓶中，加入0.2g硫酸铜、6g硫酸钾及20mL硫酸，轻摇后于瓶口放一小漏斗，将瓶以45°角斜支于有小孔的石棉网上。小心加热，待内容物全部炭化，泡沫完全停止后，加强火力，并保持瓶内液体微沸，至液体呈蓝绿色并澄清透明后，再继续加热0.5h~1h。取下放冷，小心加入20mL水。放冷后，移入100mL容量瓶中，并用少量水洗定氮瓶，洗液并入容量瓶中，再加水至刻度，混匀备用。同时做试剂空白试验。

1.4.1.2 测定：装好定氮蒸馏装置，向水蒸气发生器内装水至2/3处，加入数粒玻璃珠，加甲基红乙醇溶液数滴及数毫升硫酸，以保持水呈酸性，加热煮沸水蒸气发生器内的水并保持沸腾。向接收瓶内加入10.0mL硼酸溶液及1滴~2滴混合指示液，并使冷凝管的下端插入液面下，根据试样中氮含量，准确吸取2.0mL~10.0mL试样处理液由小玻杯注入反应室，以10mL水洗涤小玻杯并使之流入反应室内，随后塞紧棒状玻

塞。将10.0mL氢氧化钠溶液倒入小玻杯，提起玻塞使其缓缓流入反应室，立即将玻塞盖紧，并加水于小玻杯以防漏气。夹紧螺旋夹，开始蒸馏。蒸馏10min后移动蒸馏液接收瓶，液面离开冷凝管下端，再蒸馏1min。然后用少量水冲洗冷凝管下端外部，取下蒸馏液接收瓶。以硫酸或盐酸标准滴定溶液滴定至终点，其中2份甲基红乙醇溶液与1份亚甲基蓝乙醇溶液指示剂，终点颜色为灰蓝色；1份甲基红乙醇溶液与5份溴甲酚绿乙醇溶液指示剂，终点颜色为浅灰红色。同时作试剂空白。

1.4.2 自动凯氏定氮仪法：称取固体试样0.2g~2g、半固体试样2g~5g或液体试样10g~25g（约相当于30mg~40mg氮），精确至0.001g。按照仪器说明书的要求进行检测。

1.5 计算

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 0.0140 \times 100}{m \times V_3} \times F \times 100$$

式中：

X—试样中蛋白质的含量，g/100g；

c—硫酸或盐酸标准滴定溶液浓度，mol/L；

V_1 —试液消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积，mL；

V_2 —试剂空白消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积，mL；

V_3 —吸取消化液的体积，mL；

0.0140—1.0mL硫酸[$c(1/2H_2SO_4)=1.000\text{mol/L}$]或盐酸[$c(HCl)=1.000\text{mol/L}$]标准滴定溶液相当的氮的质量，g；

m—试样的质量，g；

F—氮换算为蛋白质的系数，6.25；

100—换算系数。

2 牛磺酸的测定

2.1 原理：试样用水溶解，用亚铁氰化钾和乙酸锌沉淀蛋白质，取上清液用丹磺酰氯衍生反应，衍生物经 C_{18} 反相色谱柱分离。用紫外检测器（254nm）或荧光检测器（激发波长：330nm；发射波长：530nm）检测，外标法定量。

2.2 试剂

本方法所用的试剂除特殊注明外，均为分析纯；所用水为纯化水或同等纯度蒸馏水。

2.2.1 乙腈：色谱纯。

2.2.2 冰乙酸。

2.2.3 盐酸。

2.2.4 无水碳酸钠。

2.2.5 乙酸钠。

2.2.6 盐酸甲胺（甲胺盐酸盐）。

2.2.7 丹磺酰氯（5-二甲氨基萘-1-磺酰氯）：色谱纯。

注：丹磺酰氯对光和湿敏感不稳定，在干燥器中避光保存

2.2.8 亚铁氰化钾。

2.2.9 乙酸锌。

2.3 试剂配制

2.3.1 盐酸溶液（1mol/L）：吸取9mL盐酸（2.2.3），用水稀释并定容到100mL。

2.3.2 碳酸钠缓冲液（pH9.5）（80mmol/L）：称取0.424g无水碳酸钠（2.2.4），加40mL水溶解，用1mol/L盐酸溶液（2.3.1）调pH至9.5，用水定容至50mL。该溶液在室温下3个月内稳定。

2.3.3 丹磺酰氯溶液（1.5mg/mL）：称取0.15g丹磺酰氯（2.2.7），用乙腈（2.2.1）溶解并定容至100mL。临使用前配制。

2.3.4 盐酸甲胺溶液（20mg/L）：称取2.0g盐酸甲胺（2.2.6），用水溶解并定容至100mL。该溶液保存在4℃下3个月内稳定。

2.3.5 乙酸钠缓冲液（10mmol/L，pH4.2）：称取0.820g乙酸钠（2.2.5），用800mL水溶解，用冰乙酸（2.2.2）调节pH至4.2，加水定容至1000mL，经0.45μm微孔滤膜过滤。

2.3.6 沉淀剂

2.3.6.1 沉淀剂I：称取15.0g亚铁氰化钾（2.2.8），用水溶解并定容至100mL。该沉淀剂在室温下3个月内稳定。

2.3.6.2 沉淀剂II：称取30.0g乙酸锌（2.2.9），用水溶解并定容至100mL。该沉淀剂在室温下3个月内保持稳定。

2.4 标准品：纯度≥99%，CAS：107-35-7

2.5 标准溶液配制

2.5.1 牛磺酸标准储备溶液（1mg/mL）：准确称取0.1000g牛磺酸标准品（2.4），用水溶解并定容至100mL。

2.5.2 牛磺酸标准工作液：将牛磺酸标准储备溶液（2.5.1）用水稀释制备一系列标准溶液，标准系列浓度为：0μg/mL、5.0μg/mL、10.0μg/mL、15.0μg/mL、20.0μg/mL、25.0μg/mL，临用前现配。（紫外检测器用）

将牛磺酸标准储备溶液（2.5.1）用水稀释制备一系列标准溶液，标准系列浓度为：0μg/mL、0.5μg/mL、2.0μg/mL、5.0μg/mL、10.0μg/mL、20.0μg/mL，临用前现配。（荧光检测器用）

2.6 仪器和设备

- 2.6.1 高效液相色谱仪：带有荧光检测器或紫外检测器或二极管阵列检测器。
- 2.6.2 涡旋混合器。
- 2.6.3 超声波振荡器。
- 2.6.4 pH计：精度0.01。
- 2.6.5 离心机：不低于5000r/min。
- 2.6.6 微孔滤膜：0.45μm。
- 2.6.7 天平：感量0.0001g、0.001g。

2.7 测定步骤

- 2.7.1 试样制备：准确称取本品液体试样5g~30g（精确至0.01g）于锥形瓶中，加20mL水，充分摇匀。加1.0mL沉淀剂I（2.3.6.1），涡旋混合，1.0mL沉淀剂II（2.3.6.2），涡旋混合，转入100mL容量瓶中，加水定容至刻度，充分混匀。样液于5000r/min下离心10min，取上清液备用。上清液在4℃暗处保存放置24h内稳定。
- 2.7.2 试液衍生化：准确吸取1.00mL 2.7.1所得上清液到10mL具塞玻璃试管中，加入1.00mL碳酸钠缓冲液（2.3.2），丹磺酰氯溶液（2.3.3），充分混合，室温避光衍生反应2h（1h后需摇晃1次），加入0.1mL盐酸甲胺溶液（2.3.4）涡旋混合，以终止反应，避光静置至沉淀安全。取上清液经0.45μm微孔滤膜（2.6.6）过滤，取滤液备用，衍生物在4℃以下可避光保存48h。另取1.00mL标准工作液（2.5.2），与试液同步进行衍生。
- 2.7.3 仪器参考条件
 - 2.7.3.1 色谱柱：C₁₈反相色谱柱（250mm×4.6mm，5μm）或相当者。
 - 2.7.3.2 流动相：乙酸钠缓冲液（2.3.5）+乙腈（2.2.1）=70+30（体积比）。
 - 2.7.3.3 流动相流速：1.0mL/min。
 - 2.7.3.4 柱温：室温。
 - 2.7.3.5 检测波长：荧光检测器：激发波长：330nm，发射波长：530nm。紫外检测器或二极管阵列检测器：254nm
 - 2.7.3.6 进样量：20μL。
- 2.7.4 标准曲线的制作：将标准系列工作液分别注入高效液相色谱仪中，测定相应的色谱峰高或峰面积，以标准工作液的浓度为横坐标，以响应值（峰面积或峰高）为纵坐标，绘制标准曲线。
- 2.7.5 试样溶液的测定：将试样溶液注入高效液相色谱仪中，得到色谱峰高或峰面积，根据标准曲线得到待测液中牛磺酸的浓度。

2.8 分析结果的表述

试样中牛磺酸含量按以下公式计算：

$$X = \frac{c \times V}{m \times 1000} \times 100$$

式中：

- A—试样中牛磺酸的含量，mg/100g；
- c—试样测定液中牛磺酸的浓度，μg/mL；
- V—试样定容体积，mL；
- m—试样质量，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，结果保留三位有效数字。

【装量或重量差异指标/净含量及允许负偏差指标】

净含量为245mL/罐，允许负偏差为9mL。

【原辅料质量要求】

- 1. 玛咖粉：应符合《关于批准玛咖粉作为新资源食品的公告》（2011年第13号）的规定。
 - 2. 黄芪：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
 - 3. 牛磺酸：应符合GB 14759《食品安全国家标准 食品添加剂 牛磺酸》的规定。
 - 4. 纯化水：应符合《中华人民共和国药典》的规定。
 - 5. 白砂糖：应符合GB/T 317《白砂糖》的规定。
-