

国家市场监督管理总局  
保健食品产品技术要求

国食健注G20210243

## 步源堂牌胶原蛋白灵芝维生素C粉

【原料】 胶原蛋白粉、灵芝提取物（经辐照）、维生素C（L-抗坏血酸）

【辅料】 糊精、木糖醇、甜橙果粉、柠檬酸、甜橙香精、甜菊糖苷

【生产工艺】 本品经粉碎、过筛、混合、分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】 复合膜应符合YBB00192004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	白色
滋味、气味	具本品特有的滋味、气味，无异味
性状	粉末，干燥、均匀，无吸潮、结块、潮解等现象
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
灰分，%	$\leq 5.0$	GB 5009.4
铅（以Pb计），mg/kg	$\leq 2.0$	GB 5009.12
总砷（以As计），mg/kg	$\leq 1.0$	GB 5009.11
总汞（以Hg计），mg/kg	$\leq 0.3$	GB 5009.17
六六六，mg/kg	$\leq 0.2$	GB/T 5009.19
滴滴涕，mg/kg	$\leq 0.2$	GB/T 5009.19

【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/g	≤30000	GB 4789. 2
大肠菌群, MPN/g	≤0. 92	GB 4789. 3 “MPN计数法”
霉菌和酵母, CFU/g	≤50	GB 4789. 15
沙门氏菌	≤0/25g	GB 4789. 4
金黄色葡萄球菌	≤0/25g	GB 4789. 10

【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
羟脯氨酸, g/100g	≥4. 0	1 羟脯氨酸的测定
粗多糖（以葡萄糖计）, g/100g	≥0. 5	2 粗多糖的测定
维生素C, g/100g	1. 5~2. 5	3 维生素C的测定

## 1 羟脯氨酸的测定

### 1.1 试剂

1.1.1 硫酸溶液（ $c \approx 3\text{mol/L}$ ）：量取750mL水于2L容量瓶中，在搅拌下慢慢加入320mL浓硫酸，冷却至室温后，用水定容。

1.1.2 缓冲溶液：26.0g一水柠檬酸+14.0g氢氧化钠+78.0g无水乙酸钠，用500mL水溶解并转移至1L容量瓶中，加入250mL正丙醇，用水定容。

1.1.3 氯胺T溶液：称取1.41g三水·N-氯-对甲苯磺酰胺钠盐（氯胺T），用100mL缓冲溶液溶解。临用前配制。

1.1.4 显色剂：称取10.0g对二甲氨基苯甲醛，用35mL高氯酸溶液[60%质量分数]溶解，缓慢加入65mL异丙醇。临用前配制。

1.1.5 标准溶液：称取50mg羟脯氨酸置于100mL容量瓶中，用水溶解，加一滴硫酸溶液，用水定容。移取上述溶液5.00mL至500mL容量瓶中，用水定容。分别吸取该溶液10.00、20.00、30.00、40.00、50.00mL于100mL容量瓶中，用水定容，所得标准工作液浓度依次为0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 $\mu\text{g/mL}$ ，临用前配制。

1.1.6 供试品溶液：取样品约0.4g，精密称定，于烧瓶中，加入30mL $\pm$ 1mL硫酸溶液，用表面皿盖住，于105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥箱内恒温16h，用圆形滤纸趁热将水解产物过滤至250mL容量瓶中。用10mL硫酸溶液分三次洗涤锥形瓶和滤纸，合并至上述容量瓶中，用水定容，摇匀。用移液管移取5mL的水解产物至250mL容量瓶中，定容后摇匀。

1.2 样品测定：移取4.00mL上述溶液于比色管中，加2.00mL氯胺T试剂，混合后于室温放置20min，加入2.00mL显色剂于比色管中，混匀，封口后迅速放入60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中，加热20min，取出用流动水冷却比色管3min，在室温下放置30min。用水做参比，在558nm波长处测定吸光度。扣除空白溶液的吸收，从所得标准曲线查得水解产物中羟脯氨酸的含量。

1.3 空白测试：用水代替稀释溶液，进行“样品测定”下操作。（注：若空白溶液的吸收值超过0.040，则需重新配制显色剂。）

1.4 标准曲线：用4.00mL羟脯氨酸标准溶液依次代替稀释后的水解产物，进行“样品测定”下操作。以扣除了空白溶液的吸收度为纵坐标，以相应的浓度为横坐标，绘制标准曲线。

### 1.5 结果计算

$6.25 \times c$

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

$m \times V$

式中:

X—样品中羟脯氨酸的含量, g/100g;

c—由标准曲线得到的试样溶液中羟脯氨酸的浓度,  $\mu\text{g/mL}$ ; m—样品质量, g;

V—从250mL容量瓶中吸取滤液的体积mL。

## 2 粗多糖的测定

2.1 原理: 样品多糖沉淀物经酸解后, 全部转成单糖, 单糖具还原性, 在加热条件下直接滴定标定过的碱性酒石酸铜液, 以亚甲蓝作指示剂, 根据样品液消耗的体积计算还原糖含量。

### 2.2 仪器

2.2.1 离心机: 4000r/min。

2.2.2 离心瓶: 100mL或具塞10mL离心管。

2.2.3 水解瓶: 500mL, 带冷凝回流装置。

2.2.4 电炉: 1000W。

2.2.5 pH计。

2.2.6 水浴锅。

### 2.3 试剂

实验用水为双蒸水; 所用试剂为分析纯级。

2.3.1 碱性酒石酸铜甲液: 称取硫酸铜 ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 15g, 亚甲蓝 (次甲基蓝) 0.05g, 加水溶解, 并稀释至1000mL。

2.3.2 碱性酒石酸铜乙液: 称取50g酒石酸钾钠及75g氢氧化钠, 溶于水中, 再加入4g亚铁氰化钾, 完全溶解后, 用水稀释至1000mL, 储存于橡胶塞玻璃瓶内。

2.3.3 无水乙醇。

2.3.4 浓盐酸。

2.3.5 40%氢氧化钠 (W/V)。

2.3.6 葡萄糖标准液: 准确称取0.5000g干燥恒重的分析纯葡萄糖, 加水溶解后, 并以水稀释至500mL, 此溶液1mL含1mg葡萄糖。现用现配。

### 2.4 测定步骤

2.4.1 样品处理: 称取样品25g, 置于100mL具塞锥形瓶中, 加50mL热水 ( $>90^\circ\text{C}$ ) 溶解, 在沸水浴中加热15min, 冷却至 $60^\circ\text{C}$ 以下, 加1.0mL10%淀粉酶溶液, 加0.5mL乙酸钠缓冲液 (pH7.4), 加塞, 于 $55\sim 60^\circ\text{C}$ 保温1h, 中间间歇搅拌, 然后再加入1%的葡萄糖酶在 $37^\circ\text{C}$ 温箱中, 保温24h后加热至沸 (使酶失活)。再移样液于100mL容量瓶中, 用水洗容器, 并定容至刻度 ( $V_1$ ), 过滤。取此待测液15mL ( $V_2$ ) 加75mL无水乙醇搅拌均匀, 在离心机中以4000r/min离心10min, 并小心倾去上清液, 并用85%的乙醇洗沉淀物2次。将沉淀物取出并转移至500mL酸水解瓶底部, 取50mL热水 ( $>90^\circ\text{C}$ ), 其中部分用来冲洗离心管, 并将沉淀物一并转移至500mL酸水解瓶中, 加入15mL浓盐酸于酸水解瓶中, 开启冷凝水, 在沸水浴中加热2h, 冷却, 然后先用40%氢氧化钠粗调, 后用稀的氢氧化钠细调, 再置于pH计上调整pH在6.8~7.2之间。将已中和的酸解液转移至100mL容量瓶中, 加水定容 ( $V_3$ ), 用滤纸过滤, 滤液为待测液。

2.4.2 标定碱性酒石酸铜液: 用定量移液管吸取碱性酒石酸铜甲、乙液各5mL于150mL的锥形瓶中, 加10mL蒸馏水及数粒玻璃珠。用滴定管加入9.0mL标准葡萄糖溶液于锥形瓶中, 并将锥形瓶置电炉上迅速加热, 务必在2min内至沸, 并保持溶液在微沸的状态, 再用标准葡萄糖溶液滴定, 待溶液颜色变浅时, 以每2秒1滴的速度滴至蓝色刚退去为终点, 记录消耗标准葡萄糖溶液的体积。同时平行操作3次, 取其平均值 ( $V_G$ )。

2.4.3 样品溶液的预测: 用定量移液管吸取碱性酒石酸铜甲、乙液各5mL于150mL的锥形瓶中, 加10mL蒸馏水及数粒玻璃珠。将锥形瓶置电炉上迅速加热, 务必在2min内至沸, 并保持溶液在微沸的状态, 从滴定管中滴加样品溶液, 待溶液颜色变浅时, 以每2秒1滴的速度滴至蓝色刚退去为终点, 记录消耗体积即为预测体积。

2.4.4 样品测定: 用定量移液管吸取碱性酒石酸铜甲、乙液各5mL于150mL的锥形瓶中, 加10mL蒸馏水及数粒玻璃珠。从滴定管中滴加比预测体积小1.0mL的样品溶液, 将锥形瓶置电炉上迅速加热, 务必在2min内至沸, 并保持溶液在微沸的状态, 从滴定管中滴加样品溶液, 待溶液颜色变浅时, 以每2秒1滴的速度滴至

蓝色刚退去为终点，记录样液消耗的总液。同时平行操作3次，取其平均值（ $V_4$ ）。

## 2.5 结果计算

$$X = \frac{V_G \times C \times V_1 \times V_3}{m \times V_2 \times V_4 \times 1000} \times 100$$

式中：

X—样品中粗多糖含量，g/100g；

$V_G$ —标定10mL碱性酒石酸铜液（甲、乙各5mL）消耗标准葡萄糖溶液的体积，mL；

C—标准葡萄糖溶液的浓度，mg/mL；

$V_1$ —样品提取液总体积，mL；

$V_2$ —沉淀粗多糖所用样品提取液体积，mL；

$V_3$ —酸解后定容体积，mL；

$V_4$ —测定时平均消耗样品溶液体积，mL；

m—样品质量，g；

1000—mg换算成g的换算系数。

## 3 维生素C的测定

参照标准GB/T 5009.86-2003第二法进行测定。

3.1 原理：总抗坏血酸包括还原型，脱氢型和二酮古乐糖酸，试样中还原型抗坏血酸经活性炭氧化为脱氢抗坏血酸，再与2,4-二硝基苯肼作用生成红色脎，根据脎在硫酸溶液中的含量与抗坏血酸含量成正比，进行比色定量。

### 3.2 试剂

3.2.1 4.5mol/L硫酸：250mL硫酸于700mL水中，冷却后用水稀释至1000mL。 3.2.2 85%硫酸：900mL硫酸（相对密度1.84）于100mL水中。

3.2.3 2,4-二硝基苯肼溶液（20g/L）：溶解2g 2,4-二硝基苯肼于100mL 4.5mol/L硫酸中，过滤，不用时存于冰箱中，每次用前必须过滤。 3.2.4 草酸溶液（20g/L）：溶解20g草酸于700mL水中，稀释至1000mL。

3.2.5 草酸溶液（10g/L）：溶解10g草酸于700mL水中，稀释至1000mL。

3.2.6 硫脲溶液（10g/L）：溶解5g硫脲于500mL 10g/L草酸溶液中。

3.2.7 硫脲溶液（20g/L）：溶解10g硫脲于500mL 10g/L草酸溶液中。

3.2.8 1mol/L盐酸：取100mL盐酸，加入水中，并稀释至1200mL。 3.2.9 活性炭：将100g活性炭加到750mL 1mol/L盐酸中，回流1h~2h，过滤，用水洗数次，至滤液中无铁离子为止，然后置于110℃烘箱中烘干。 3.2.10 检验铁离子的方法：利用普鲁士蓝反应。将20g/L亚铁氰化钾与1%盐酸等量混合，将上述洗出滤液滴入，如有铁离子则产生蓝色沉淀。

全部实验过程应避光。

3.3 试剂 3.3.1 维生素C标准储备溶液：称定100mg维生素C溶解于100mL 20g/L的草酸溶液中，此溶液每毫升相当于1mg维生素C。

3.3.2 维生素C标准使用液：加2g活性炭于50mL标准溶液中，振摇1min，过滤。取10mL滤液放入500mL容量瓶中，加5.0g硫脲，用10g/L草酸溶液稀释至刻度，维生素C浓度20μg/mL。

3.3.3 标准曲线制备：取0、10、20、25、40、50、60mL稀释液，分别放入7个100mL容量瓶中，用10g/L硫脲溶液稀释至刻度，使最后稀释液中维生素C的浓度分别为0、2、4、5、8、10、12μg/mL。于七个试管中各加入4mL稀释液。一个试管作为空白，在其余试管中加入1.0mL 20g/L 2,4-二硝基苯肼溶液，将所有试管放入37℃±0.5℃水浴中，保温3h。3h后取出，除空白管外，将所有试管放入冰水中。空白管取出后使其冷到室温，然后加入1.0mL 20g/L 2,4-二硝基苯肼溶液，在室温中放置10~15min后放入冰水中。当试管放入冰水后，向每一试管中加入5mL 85%硫酸，滴加时间至少需要1min，需边加边摇动试管。将试管自冰水中取出，在室温放置30min后比色。用紫外分光光度计在500nm波长处以试剂空白溶液为参比，测定吸光度值。以维生素C浓度（μg/mL）为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。

3.4 样品处理：准确称取样品55mg，置于100mL容量瓶中，加10g/L草酸溶液溶解，并定容至刻度，混匀。取25mL上述滤液，加入0.5g活性炭，振摇1min，过滤，弃去最初数毫升滤液。取10mL此氧化提取液，加入10mL 20g/L硫脲溶液，混匀，此试样为稀释液。于三个试管中各加入4mL稀释液。一个试管作为空白，在其余试管中加入1.0mL 20g/L 2,4-二硝基苯肼溶液，将所有试管放入37℃±0.5℃水浴中，保温3h。3h后取

出，除空白管外，将所有试管放入冰水中。空白管取出后使其冷到室温，然后加入1.0mL 20g/L 2,4-二硝基苯肼溶液，在室温中放置10~15min后放入冰水中。当试管放入冰水后，向每一试管中加入5mL 85%硫酸，滴加时间至少需要1min，需边加边摇动试管。将试管自冰水中取出，在室温放置30min后比色。用1cm比色杯，以空白液调零点，于500nm波长测定吸收值。

### 3.5 结果计算

$$C \times V \times F \times 100$$

$$X = \frac{\quad}{\quad}$$

$$m \times 1000 \times 1000$$

式中：

X—试样中总抗坏血酸含量，g/100g；

C—从标准曲线中查到试样氧化液中总抗坏血酸的浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；

V—供试品溶液定容的体积，mL；

F—试样氧化处理过程中的稀释倍数；

m—试样的质量，g。

**【装量或重量差异指标/净含量及允许负偏差指标】** 净含量为75g/盒，允许负偏差4.5g。

### 【原辅料质量要求】

#### 1. 胶原蛋白粉

项目	指标
来源	鱼皮
制法	经水洗、提胶（75~85℃热水提取4~6h）、脱色、过滤、离子交换、酶解（1%胃蛋白酶，料液比1:10，pH2~3，37℃，6h）、过滤（0.22 $\mu\text{m}$ 滤膜）、浓缩、高温灭菌（138℃，7s）、喷雾干燥（进风温度140~180℃，出风温度70~85℃）、包装等主要工艺制成
感官要求	白色或淡黄色均匀粉末，具本品特有的滋味、气味；无正常视力可见外来异物
目数	100目
铅（以Pb计），mg/kg	$\leq 1.0$
总砷（以As计），mg/kg	$\leq 0.5$
水分，%	$\leq 8.0$
灰分，%	$\leq 2.0$
菌落总数，CFU/g	$\leq 1000$
大肠菌群，MPN/g	$\leq 0.92$
霉菌和酵母，CFU/g	$\leq 50$
沙门氏菌	$\leq 0/25\text{g}$
金黄色葡萄球菌	$\leq 0/25\text{g}$
蛋白质，%	$\geq 95$
羟脯氨酸，%	$\geq 8.0$

#### 2. 灵芝提取物（经辐照）

项目	指标
来源	多孔菌科真菌赤芝（ <i>Ganoderma Lucidum</i> (Curtis) P. Karst）的干燥子实体
制法	经粉碎、提取（15倍量纯化水100℃提取2次，每次1h）、减压浓缩、喷雾干燥（进风温度140~190℃，出风温度75~85℃）、过筛、包装、辐照灭菌（ $^{60}\text{Co}$ ，5kGy）等主要工艺制成
提取得率，%	约3~4

感官要求	褐色粉末；具本品特有的滋味、气味；无正常视力可见外来异物
粗多糖(以葡萄糖计)，%	≥20
目数	80目
铅（以Pb计），mg/kg	≤2.0
总砷（以As计），mg/kg	≤1.0
总汞（以Hg计），mg/kg	≤0.3
六六六，mg/kg	≤0.2
滴滴涕，mg/kg	≤0.2
水分，%	≤6.0
灰分，%	≤6.0
菌落总数，CFU/g	≤30000
大肠菌群，MPN/g	≤0.92
霉菌和酵母，CFU/g	≤50
沙门氏菌	≤0/25g
金黄色葡萄球菌	≤0/25g

3. 维生素C(L-抗坏血酸)：应符合GB 14754《食品安全国家标准 食品添加剂 维生素C(抗坏血酸)》的规定。

4. 糊精：应符合《中华人民共和国药典》的规定。

5. 木糖醇：应符合GB 1886.234《食品安全国家标准 食品添加剂 木糖醇》的规定。

#### 6. 甜橙果粉

项目	指标
来源	鲜甜橙、食用玉米淀粉
制法	经榨汁、浓缩、加助干剂、匀质、灭菌（121℃，0.1MPa，20min）、喷雾干燥（进风温度180~190℃，出风温度80~90℃）、过筛、质检、包装等主要工艺制成
感官要求	松散粉末状，无吸潮及结块现象；具甜橙特有的香气及滋味
水分，%	≤8.0
灰分，%	≤8.0
铅（以Pb计），mg/kg	≤0.5
总砷（以As计），mg/kg	≤0.3
六六六，mg/kg	≤0.2
滴滴涕，mg/kg	≤0.2
二氧化硫，mg/kg	≤30
细菌总数，CFU/g	≤1000
大肠菌群，MPN/g	≤0.92
霉菌和酵母，CFU/g	≤50
沙门氏菌	≤0/25g
金黄色葡萄球菌	≤0/25g

7. 柠檬酸：应符合GB 1886.235《食品安全国家标准 食品添加剂 柠檬酸》的规定。

8. 甜橙香精：应符合GB 30616《食品安全国家标准 食品用香精》的规定。

9. 甜菊糖苷：应符合GB 8270《食品安全国家标准 食品添加剂 甜菊糖苷》的规定。