

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G20080007

立顿牌立雅茶

【原料】

【辅料】

【生产工艺】 本品经混合、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】

【感官要求】 应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
色泽	茶叶呈绿色，颗粒物呈褐色
滋味、气味	清爽，略苦，带回甘，具茶香味
性状	袋泡茶，绿茶叶短碎，颗粒物匀整，无霉变
杂质	无肉眼可见外来杂质

【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
水分，%	≤8	GB/T 8304
灰分，%	≤7	GB/T 8306
铅（以Pb计），mg/kg	≤1.9	GB 5009.12
砷（以As计），mg/kg	≤1.0	GB/T 5009.11

汞（以Hg计），mg/kg	≤0.3	GB/T 5009.17
六六六，mg/kg	≤0.2	GB/T 5009.19
滴滴涕，mg/kg	≤0.2	GB/T 5009.19
咖啡因，g/100g	≤6.5	GB/T 5009.197
阿斯巴甜，g/100g	≤1.0	1 阿斯巴甜的测定

1 阿斯巴甜的测定

1.1 原理：在本方法中，用沸水浸泡茶包后，弃去茶包，所得茶汤中使用HPLC检测，选用Atlantis dC18 3 μ m 3.9 \times 150mm柱子，用等度洗脱法，波长选择在220nm波长处，根据标准物质被定义的纯度和水分，使用外标法进行定量分析。

1.2 试剂

1.2.1 水：符合ISO 3696（1987）

1.2.2 乙腈：HPLC级

1.2.3 磷酸：分析纯

1.2.4 辛基磺酸钠

1.2.5 磷酸二氢钾：分析纯

1.2.6 标准储备液：精确至0.0001g，称取100mg阿斯巴甜（纯度98%）于100mL容量瓶内，加水溶解，混匀，并稀释至刻度，此溶液阿斯巴甜浓度为1000 μ g/mL。

1.2.7 标准溶液：取阿斯巴甜储备液1、2、5、8、10mL，分别加入5只100mL的容量瓶，加水溶解，混匀，稀释至刻度，标准溶液的浓度对应为10、20、50、80、100 μ g/mL。

1.3 仪器

1.3.1 分析天平：可精确称量至0.0001g

1.3.2 各种尺寸的移液枪：1mL及5mL

1.3.3 100mL容量瓶

1.3.4 pH计

1.4 色谱条件

1.4.1 色谱柱：Atlantis dC18，3 μ m，3.9 \times 150mm。

1.4.2 流动相

1.4.2.1 流动相A：乙腈-水=3:2（v/v）溶液，pH值为3.0。准确称取2.062g辛基磺酸钠，加入1L乙腈-水（3:2）溶液，混匀，用稀释过的磷酸溶液调节pH值至3，备用。（精确到0.001g）

1.4.2.2 流动相B：加有离子对试剂和磷酸盐的水溶液，pH值为2.5。准确称取2.062g辛基磺酸钠、0.45g磷酸二氢钾，加入1L水，混合均匀，用稀释过的磷酸溶液调节pH值至2.5，备用。（精确到0.001g）

1.4.2.3 等度洗脱法：流动相A-流动相B=45:55

1.4.3 检测波长：220nm（UV）

1.4.4 柱温：30 $^{\circ}$ C

1.4.5 流速：0.8mL/min

1.4.6 进样量：10 μ L

1.5 样品处理：精密量取1250mL水于2000mL烧杯中，称其重量，加热至刚刚沸腾，立即将茶包5包置于其中，静置浸泡5min，弃去茶包，再次称定重量，加刚煮沸水补重，混匀，冷却。所得茶汤取1.5mL装入安培瓶中待测。

1.6 系统适用性实验：在1.4项色谱条件下，分别取待测样品和空白溶液10 μ L，注入色谱仪，记录色谱图。

1.7 标准曲线的绘制：采用外标法，分别取五个标准溶液A、B、C、D、E，相当于阿斯巴甜含量为10、20、50、80、100 μ g/mL，按1.4项色谱条件进样10 μ L。以阿斯巴甜峰面积为纵坐标，其浓度为横坐标进行回

归，得到线性方程。

1.8 样品测定：取1.5项进行样品处理，进样10 μ L，记录色谱图，计算峰面积。

1.9 结果计算

$$X = (A_s - A_i) \times W \times V \times 50 / (1000000 \times S)$$

式中：

X—样品阿斯巴甜的含量，g/100g；

A_s—样品的峰面积；

A_i—标准品线性回归方程在Y轴上的截距；

W—标准品阿斯巴甜的纯度；

V—泡茶体积，mL；

S—标准品线性回归方程的斜率。

【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	≤1000	GB 4789.2
大肠菌群，MPN/100g	≤40	GB/T 4789.3-2003
霉菌，cfu/g	≤25	GB 4789.15
酵母，cfu/g	≤25	GB 4789.15
致病菌（指沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌）	不得检出	GB 4789.4、GB 4789.5、GB 4789.10、GB/T 4789.11

【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
总儿茶素，g/100g	≥20	1 总儿茶素的测定

1 总儿茶素的测定

1.1 原理：本法中，用沸水浸泡茶包后，弃去茶包，所得茶汤中的儿茶素总量立即使用HPLC在苯基己基柱上，用梯度洗脱法于278nm波长处进行定量分析。共8个标准物质C (catechin) 儿茶素、GC (gallocatechin) 没石子酸儿茶素、GCG (gallocatechingallate) 没石子酸儿茶素没食子酸酯、EC (epicatechin) 表儿茶素、EGC (epigallocatechin) 表没石子酸儿茶素、ECG (epicatechingallate) 表儿茶素没食子酸酯、EGCG (epigallocatechingallate) 表没石子酸儿茶素没食子酸酯，以及咖啡因，根据各个标准物质被定义的纯度和水份，使用外标法进行定量。

1.2 试剂

1.2.1 水：符合ISO 3696

1.2.2 乙腈：HPLC级

1.2.3 醋酸：HPLC级

1.2.4 EDTA溶液（10mg/mL）：称取1.00±0.01gEDTA于100mL容量瓶中，加入足够热蒸馏水以充分溶解EDTA，冷却至室温，再加入蒸馏水至刻度，混合均匀。该溶液需要在每次使用前配制。

1.2.5 Vc溶液（10mg/mL）：称取1.00±0.01g的L抗坏血酸于100mL容量瓶中，加入去离子水充分溶解并混匀，稀释至刻度。

1.2.6 稳定液：10%的乙腈溶液中含有500µg/mL的EDTA和Vc，用移液管吸取25mL EDTA溶液（10mg/mL）和25mL Vc溶液（10mg/mL）至500mL容量瓶中，加入50mL乙腈，用去离子水稀释至刻度并混匀。

1.2.7 标准样品：Catechin (C)、Galliccatechin (GC)、Galliccatechin gallate (GCG)、Epicatechin (EC)、Epigallocatechin (EGC)、Epicatechin gallate (ECG)、Epigallocatechin gallate (EGCG)、Caffeine

1.2.8 混合标样：精确称取单个标样10mg（±0.001mg）于10mL容量瓶中，用去离子水稀释，需要时使用超声波保证标样被彻底溶解，然后加去离子水至刻度，按下表配制成混合标准溶液：

GC	1000mL (1.0mL)
GCG	500mL (0.5mL)
Epigallocatechin	1000mL (1.0mL)
Catechin	500mL (0.5mL)
Caffeine	500mL (0.5mL)
Epicatechin	500mL (0.5mL)
Epigallocatechin gallate	500mL (0.5mL)
Epicatechin gallate	500mL (0.5mL)
Stabiliser solution	5.75mL
Total volume	10.75mL

* 混合标样配制在合适的器皿里并储存于-20° C的冰箱内。

1.3 仪器

1.3.1 分析天平：可精确称量至0.0001g和0.00001g

1.3.2 各种尺寸的移液枪：200µL、1mL、5mL

1.3.3 各种体积的容量瓶：10mL至100mL

1.3.4 0.45µm的滤膜和针式滤器（建议使用PTFE和尼龙膜）

* 确信所使用的滤膜和滤器在儿茶素的保留时间处没用共流出

1.4 色谱条件

1.4.1 色谱柱：Luna Phenyl hexyl 5µm, 250mm×4.60mm, 4mm×3.0mm保护柱。

1.4.2 流动相

1.4.2.1 流动相A：2%（v/v）乙酸水溶液（含20µg/mL EDTA）。2L容量瓶中先加入一半蒸馏水，然后加入40mL乙酸和4.0mLEDTA溶液用蒸馏水稀释至刻度，混合均匀。用0.45µm孔径滤膜过滤所得溶液，脱气，备用。

1.4.2.2 流动相B：2%（v/v）乙酸的乙腈溶液。1L容量瓶中先加入一半乙腈，再加入20毫升乙酸，然后用乙腈稀释至刻度，混合均匀。用0.45微米孔径滤膜过滤所得溶液，脱气，备用。按下表进行梯度洗脱：

时间, min	流动相		流速
	A, %	B, %	

0	92	8	1.00
5	92	8	1.00
20	82	18	1.00
25	50	50	1.00
30	50	50	1.00
38	92	8	1.00

1.4.3 柱温：30℃

1.4.4 流速：1.0mL/min

1.4.5 进样量：10μL

1.4.6 检测波长：278nm (UV)

标样的保留时间

	GC	EGC	+C	Caffeine	EC	EGCG	GCG	ECG
保留时间, mins	6.35	9.97	12.18	15.25	16.70	18.27	19.37	25.02

1.5 标准曲线的绘制

1.5.1 根据下表分别进混合标样5、10、20、40、60和80μL。

标准样品进样量和各标准绝对含量对应表

μL	GC	GCG	EGC	C	Caf	EC	EGCG	ECG
5	0.4651	0.2326	0.4651	0.2326	0.2326	0.2326	0.2326	0.2326
10	0.9302	0.0465	0.9302	0.4651	0.4651	0.4651	0.4651	0.4651
20	1.8605	0.0930	1.8605	0.9302	0.9302	0.9302	0.9302	0.9302
40	3.7209	0.1860	3.7209	1.8605	1.8605	1.8605	1.8605	1.8605
60	5.5814	0.2791	5.5814	2.7907	2.7907	2.7907	2.7907	2.7907
80	7.4419	0.3721	7.4419	3.7209	3.7209	3.7209	3.7209	3.7209

* 假定没有纯度和湿度的影响，标样为100%的标样

1.5.2 建立每个标样相应的标准曲线

1.6 样品处理：取样品5包置于杯中，注入1250mL刚烧开水，静置浸泡5min，弃去茶包。所得茶汤取5mL用0.45μm滤头过滤于安培瓶中待测。

1.7 结果计算

$$\mu\text{g/injection} = \text{峰面积} \times \text{儿茶素单体标准曲线斜率}$$

$$\text{样品中儿茶素单体 (mg)} = \mu\text{g/injection} \times \text{泡茶体积 (mL)} \times \text{进样量 (}\mu\text{L)}$$

$$\text{样品中总儿茶素 (mg/包)} = \text{GC} + \text{EGC} + \text{C} + \text{EC} + \text{EGCG} + \text{GCG} + \text{ECG}$$

【装量或重量差异指标/净含量及允许负偏差指标】

【原辅料质量要求】
