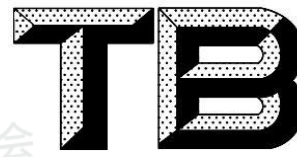


ICS 01.040.67

CCS X 83



中国营养保健食品协会团体标准

T/CNHFA 111.144—2024

保健食品用原料 阿胶

Raw Materials for Health Food
Asini Corii Colla

2024-07-31 发布

2024-08-01 实施

中国营养保健食品协会

发布

目 次

前 言 2

1 范围 3

2 规范性引用文件 3

3 技术要求 3

4 其他 5

附录 A 6

附录 B 8

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—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。

本文件由中国营养保健食品协会提出并归口。

本文件起草单位：中国食品药品检定研究院中药民族药检定所、北京中医药大学、中国中药协会中药质量与安全专业委员会、深圳市药品检验研究院、中国营养保健食品协会保健食品研发专业委员会。

本文件主要起草人：程显隆、刘越、马双成、魏锋、王淑红、康帅、聂黎行、王莹、王亚丹、汪祺、刘静、左甜甜、杨建波、陈佳、荆文光、康荣、石佳、杨洋、关潇滢、谢耀轩、李君瑶、曾利娜、卢友锋、苏龙、姬海南、王丹、邓少伟。

本文件为首次发布。

保健食品用原料 阿胶

1 范围

本文件适用于保健食品用原料阿胶。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。下列文件中所包含的部分条款通过相关标准的引用而成为本标准的部分内容。凡是注明日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注明日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改版本）适用于本文件。

GB 2761 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量

GB 2762 食品安全国家标准 食品中污染物限量

GB 2763 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量

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 5009.13 食品安全国家标准 食品中铜的测定

GB 5009.15 食品安全国家标准 食品中镉的测定

GB 5009.17 食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定

GB 16740 食品安全国家标准 保健食品

《中华人民共和国药典》一部

《中华人民共和国药典》四部

3 技术要求

3.1 来源

阿胶为马科动物驴 *Equus asinus* L. 的干燥皮或鲜皮经煎煮、浓缩制成的固体胶。

3.2 感官要求

应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项目	要求	检验方法
色泽	棕色至黑褐色	在日光下观察颜色；如断面不易观察，可削平后观察
滋味、 气味	气微，味微甘	滋味可取少量直接口尝，或加热水浸泡后尝浸出液；气味可直接嗅闻，或在折断、破碎或搓揉时进行
形态	本品呈长方形块、方形块或丁状。有光泽。质硬而脆，断面光亮，碎片对光照视呈棕色半透明状	在日光下观察；长度、宽度及厚度测量时应用毫米刻度尺；质地是指用手折断时的感官感觉

3.3 高效液相色谱-质谱联用鉴别

应符合表 2 的规定。

表 2 高效液相色谱-质谱联用鉴别

项 目	要 求	检验方法
高效液相色谱-质谱联用（HPLC-MS）鉴别	以质荷比（ m/z ）539.8（双电荷）→612.4 和 m/z 539.8（双电荷）→923.8 离子对提取的供试品离子流色谱中，应同时呈现与阿胶对照药材色谱保留时间一致的色谱峰	附录 A

3.4 理化指标

应符合表 3 的规定。

表 3 理化指标

项目	指标	检验方法
----	----	------

水分, %	≤	15.0	《中华人民共和国药典》2020 年版四部 通则 0832 第二法
铅(以 Pb 计), mg/kg	≤	5.0	GB 5009.12
总砷(以 As 计), mg/kg	≤	2.0	GB 5009.11
总汞(以 Hg 计), mg/kg	≤	0.2	GB 5009.17
镉(以 Cd 计), (mg/kg)	≤	0.3	GB 5009.15
铜(以 Cu 计), (mg/kg)	≤	20	GB 5009.13
注: 其他未列污染物限量应符合 GB 2762 相应类别(名称)的规定或有关规定; 未列农药最大残留限量应符合 GB 2763 相应类别/名称的规定或国家有关规定。			

3.5 标志性成分指标

应符合表 4 的规定。

表 4 标志性成分指标

项目	指标	检验方法
特征多肽(以干燥品计), %	≥ 0.15	附录 B

3.5 真菌毒素限量

真菌毒素限量应符合 GB 2761 中相应食品类别(名称)的规定或有关规定。

4 其他

保健食品所用原料为本品的炮制加工品, 其炮制加工前的原料应符合本标准。炮制方法为净制、切制的, 除另有规定外, 炮制加工品应符合本标准。炮制方法为其他炮制工艺的, 炮制加工品应符合相应标准的规定。

附录 A

(规范性附录)

高效液相色谱-质谱联用鉴别检验方法

A.1 一般规定

本标准所用试剂在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和 GB/T 6682 规定的三级水。
实验中所用的溶液在未注明用何种溶剂配制时，均指水溶液。

A.2 方法提要

本品经 1%碳酸氢铵溶液超声提取、胰蛋白酶水解后，采用高效液相色谱-质谱联用鉴别法测定，以阿胶对照药材为对照对样品进行鉴别分析。

A.3 仪器

A.3.1 分析天平：感量为 0.01 mg 和 0.0001 g。

A.3.2 超声波清洗仪。

A.3.3 高效液相色谱-质谱联用仪：配有三重四级杆质谱检测器，电喷雾离子化（ESI）正离子模式下多反应监测（MRM）。

A.4 试剂和耗材

A.4.1 碳酸氢铵。

A.4.2 胰蛋白酶。

A.4.3 0.45 μm 微孔滤膜（有机相）。

A.4.4 对照药材

阿胶对照药材。

A.5 色谱和质谱条件

色谱柱：以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；

流动相：A 相：乙腈；B 相：含 0.1%甲酸水溶液。梯度洗脱，梯度程序见表 A.1；

表 A.1 梯度条件

时间/min	A 相/%	B 相/%
0	5	95
25	20	80
40	50	50

检测模式：采用三重四极杆质谱检测器，电喷雾离子化（ESI）正离子模式下多反应监测（MRM），选择质荷比（ m/z ）539.8（双电荷）→612.4 和 m/z 539.8（双电荷）→923.8 作为检测离子；

对进样量：5 μL ；

信噪比：取阿胶对照药材溶液，进样 5 μL ，按上述检测离子对测定的 MRM 色谱峰的信噪比均应大于 3：1。

流速：0.3 mL/min。

A. 6 操作方法

A. 6.1 对照药材溶液的制备：

取阿胶对照药材 0.1 g，加 1%碳酸氢铵溶液 50 mL，超声处理 30 分钟，用微孔滤膜滤过，取续滤液 100 μL ，置微量进样瓶中，加胰蛋白酶溶液 10 μL （取序列分析用胰蛋白酶，加 1%碳酸氢铵溶液制成每 1 mL 中含 1 mg 的溶液，临用时配制），摇匀，37°C 恒温酶解 12 小时，备用。

A. 6.2 供试品溶液的制备：

取本品粉末 0.1 g，加 1%碳酸氢铵溶液 50 mL，超声处理 30 分钟，用微孔滤膜滤过，取续滤液 100 μL ，置微量进样瓶中，加胰蛋白酶溶液 10 μL （取序列分析用胰蛋白酶，加 1%碳酸氢铵溶液制成每 1 mL 中含 1 mg 的溶液，临用时配制），摇匀，37°C 恒温酶解 12 小时，备用。

A. 6.3 鉴别分析方法：

照高效液相色谱-质谱法（《中华人民共和国药典》2020 年版 第四部 0512 和 0431）试验，吸取供试品溶液 5 μL ，注入高效液相色谱-质谱联用仪，测定。

附录 B

(规范性附录)

标志性成分特征多肽检验方法

B.1 一般规定

本标准所用试剂和水，在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和 GB/T 6682 规定的三级水。实验中所用的溶液在未注明用何种溶剂配制时，均指水溶液。

B.2 方法提要

本品经 1%碳酸氢铵溶液超声提取、胰蛋白酶水解后，采用高效液相色谱-质谱联用法测定，以标准曲线法驴源多肽 A₁ 和驴源多肽 A₂ 的总量。

特征多肽含量以驴源多肽 A₁ (C₄₁H₆₈N₁₂O₁₃) 和驴源多肽 A₂ (C₅₁H₈₂N₁₈C₁₈) 的总量计。

B.3 仪器

B.3.1 分析天平：感量为 0.01 mg 和 0.0001 g。

B.3.2 高效液相色谱-质谱联用仪：配有三重四级杆质谱检测器，电喷雾离子化 (ESI) 正离子模式下多反应监测 (MRM)。

B.4 试剂和耗材

B.4.1 水。

B.4.2 碳酸氢铵。

B.4.3 胰蛋白酶。

B.4.4 乙腈：色谱纯。

B.4.5 甲酸。

B.4.6 水。

B.4.7 0.45 μm 微孔滤膜 (有机相)。

B.4.8 对照品

驴源多肽 A₁ 对照品、驴源多肽 A₂ 对照品英文名称、CAS 号、分子式和相对分子量见

表 B.1。

表 B.1 化学对照品（标准品）信息

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子量
驴源多肽 A ₁	Peptide A1 (1052-1062) asinm	/	C ₄₁ H ₆₈ N ₁₂ O ₁₃	937.05
驴源多肽 A ₂	Peptide A2 (692-706) asinm	/	C ₅₁ H ₈₂ N ₁₈ C ₁₈	1235.31

B.5 色谱条件及系统适用性

B.5.1 色谱条件

色谱柱：以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；

流动相：A 相：乙腈；B 相：含 0.1 %甲酸水溶液。梯度洗脱，梯度程序见表 B.2；

表 B.2 梯度条件

时间/min	A 相/%	B 相/%
0	5	95
25	20	80
40	50	50

检测模式：采用三重四极杆质谱检测器，电喷雾离子化（ESI）正离子模式下多反应监测（MRM），监测离子对见表 B.3；

表 B.3 监测离子对

测定成分	定量离子对 m/z	定性离子对 m/z
驴源多肽 A ₁	469.25（双电荷）→712.30	469.25（双电荷）→783.40
驴源多肽 A ₂	618.35（双电荷）→779.40	618.35（双电荷）→850.40

进样量：5 μL；

流速：0.3 mL/min。

B.5.2 系统适用性

理论板数按驴源多肽 A₁ 峰计算应不低于 4000。

B.6 操作方法

B.6.1 对照品溶液的制备

取驴源多肽 A₁ 对照品、驴源多肽 A₂ 对照品适量，精密称定，加 1% 碳酸氢铵溶液分别制成每 1 mL 含 2.5 μg 的混合溶液，即得。

B.6.2 标准曲线的制备

精密量取对照品溶液 1 mL、2 mL、5 mL、10 mL、20 mL 和 25 mL，分别置 50 mL 量瓶中，加 1% 碳酸氢铵溶液稀释至刻度，制成标准曲线溶液。分别精密吸取不同浓度的标准曲线溶液与供试品溶液各 5 μL，注入高效液相色谱-质谱联用仪，以对照品峰面积为纵坐标，对照品浓度为横坐标制备标准曲线。

B.6.3 供试品溶液的制备

取供试品粉碎，取粉末 0.1 g，精密称定，置 50 mL 量瓶中，加 1% 碳酸氢铵溶液 40 mL，超声处理（功率 250 W，频率 40 kHz）30 分钟，加 1% 碳酸氢铵溶液稀释至刻度，摇匀。精密量取 1 mL 至 5 mL 量瓶中，加胰蛋白酶溶液（取序列分析级胰蛋白酶，加 1% 碳酸氢铵溶液制成每 1 mL 中含 1 mg 的溶液，临用前新制）1 mL，加 1% 碳酸氢铵溶液稀释至刻度，摇匀，37℃ 恒温酶解 12 小时，经 0.45 μm 滤膜（B.4.7）滤过，取续滤液，即得。

B.6.4 供试品溶液的测定

从标准曲线读出供试品溶液中相当于驴源多肽 A₁ 和驴源多肽 A₂ 的量，计算即得。

B.7 测定结果的计算

阿胶中特征多肽含量以驴源多肽 A₁（C₄₁H₆₈N₁₂O₁₃）和驴源多肽 A₂（C₅₁H₈₂N₁₈C₁₈）的总量计，数值以%表示，按公式（B.1）和（B.2）计算：：

$$W_i = \frac{m_i \times V_1}{m_2 \times V_2 \times 10^3} \times 100\% \quad \text{..... (B.1)}$$

$$W = \sum W_i \quad \text{..... (B.2)}$$

式中：

W_i ：供试品中各待测成分（驴源多肽 A₁ 和驴源多肽 A₂）的质量分数，%；

m_i ：从标准曲线上查得供试品溶液中各待测成分（驴源多肽 A₁ 和驴源多肽 A₂）

的含量 (mg);

V_1 : 供试品溶液的稀释体积 (mL);

m_2 : 供试品的称样量 (g);

V_2 : 测定时所移取供试品测定液的体积 (mL);

W : 供试品中特征多肽的质量分数, %。

B.7.1 重复性

每个试样取两个平行样进行测定, 以算数平均值为测定结果, 小数点后保留 2 位。在重复条件下两次独立测定的结果绝对差值不得超过算数平均值的 10%。
