

国家市场监督管理总局
国产保健食品注册证书

产品名称	乐纤®膳食纤维蛋白饮品（玉米味）		
注册人	安利（中国）日用品有限公司		
注册人地址	广州经济技术开发区北围工业区一区		
审批结论	经审核，该产品符合《中华人民共和国食品安全法》和《保健食品注册与备案管理办法》的规定，现予批准注册。		
注册号	国食健注G20240009	有效期至	2029年1月5日
附件	附1 产品说明书、附2 产品技术要求		
备注			



国家市场监督管理总局
保健食品产品说明书

国食健注G20240009

乐纤®膳食纤维蛋白饮品（玉米味）

【原料】大豆分离蛋白（大豆分离蛋白、磷脂）、速溶麦片、麦芽糊精、燕麦麸、燕麦纤维、菊粉、矿物质预混物（柠檬酸钾、碳酸钙、麦芽糊精、氧化镁、硫酸锌、富马酸亚铁、葡萄糖酸铜）、大豆组织蛋白、食用盐、针叶樱桃提取物（针叶樱桃提取物、麦芽糊精）、维生素预混物（L-抗坏血酸、DL- α -生育酚醋酸酯、烟酰胺、麦芽糊精、维生素A醋酸酯、泛酸钙、叶酸、维生素D₃、硝酸硫胺素、盐酸吡哆醇、核黄素）

【辅料】植脂末、白砂糖、食品用香精（玉米味）

【标志性成分及含量】每100g含：蛋白质 21.4g、总膳食纤维 8.0g、钙 320.1mg、维生素A 341.4 μ g-RE、维生素B₁ 0.56mg、维生素B₂ 0.56mg、维生素B₆ 0.51mg、维生素C 42.6mg、维生素D₃ 1.2 μ g、维生素E 5.98mg α -TE、烟酸 5.98mg、叶酸 170.7 μ g、泛酸 2.14mg、镁 120mg、铁 7.5mg、锌 6.0mg、铜 0.81mg、钾 675mg、磷 280.0mg

【适宜人群】单纯性肥胖者

【不适宜人群】少年儿童、孕妇、乳母

【保健功能】有助于控制体内脂肪

【食用量及食用方法】每日替代两餐，男性每餐食用3包、女性每餐食用2包，鼓励代餐期间食用适量蔬菜和水果。每包产品用150mL热水冲调，搅拌均匀后饮用

【规格】30g/包

No. 24002313

【贮藏方法】贮存于30℃以下的阴凉干燥处。每包开封后请立即食用

【保质期】18个月

【注意事项】本品不能代替药物；适宜人群外的人群不推荐食用本产品；本品添加了营养素和蛋白质，与同类产品同时食用不宜超过推荐量；食用本品期间注意平衡膳食；肾功能异常者慎用；请放置于儿童触及不到的地方

国家市场监督管理总局
保健食品产品技术要求

国食健注G20240009

乐纤®膳食纤维蛋白饮品（玉米味）

【原料】 大豆分离蛋白（大豆分离蛋白、磷脂）、速溶麦片、麦芽糊精、燕麦麸、燕麦纤维、菊粉、矿物质预混物（柠檬酸钾、碳酸钙、麦芽糊精、氧化镁、硫酸锌、富马酸亚铁、葡萄糖酸铜）、大豆组织蛋白、食用盐、针叶樱桃提取物（针叶樱桃提取物、麦芽糊精）、维生素预混物（L-抗坏血酸、DL-α-生育酚醋酸酯、烟酰胺、麦芽糊精、维生素A醋酸酯、泛酸钙、叶酸、维生素D₃、硝酸硫胺素、盐酸吡哆醇、核黄素）

【辅料】 植脂末、白砂糖、食品用香精（玉米味）

【生产工艺】 本品经称量、过筛、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】 复合食品包装袋应符合GB 9683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	灰白色间棕色
滋味、气味	甜中带咸，麦香味
性状	粉末间颗粒
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
能量, kcal/100g	≤480	按能量 (kcal/100g) = {17×蛋白质 (g/100g) + 17×总碳水化合物 (g/100g) + 37×脂肪 (g/100g) } / 4.184 进行计算
脂肪, g/100g	≤13.5	GB 5009.6
胆固醇, mg/100g	≤5	GB 5009.128
总碳水化合物, g/100g	≥40.0	按总碳水化合物 (g/100g) = 100 - 蛋白质 (g/100g) - 脂肪 (g/100g) - 水分 (g/100g) - 灰分 (g/100g) 进行计算

NG/124002315

水分, g/100g	≤8.0	GB 5009.3
灰分, g/100g	≤10.0	GB 5009.4
铅(以Pb计), mg/kg	≤2.0	GB 5009.12
总砷(以As计), mg/kg	≤1.0	GB 5009.11
总汞(以Hg计), mg/kg	≤0.3	GB 5009.17
滴滴涕, mg/kg	≤0.2	GB/T 5009.19
六六六, mg/kg	≤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
蛋白质, g/100g	≥21.4	GB 5009.5
总膳食纤维, g/100g	≥8.0	GB/T 5009.88
钙(以Ca计), mg/100g	320.1~533.3	GB/T 5009.92
维生素A, μg-RE/100g	341.4~768.0	GB 5009.82
维生素B ₁ (硫胺素), mg/100g	0.56~1.26	1 用HPLC方法进行维生素B ₁ 的定量分析
维生素B ₂ , mg/100g	0.56~1.26	GB 5009.85
维生素B ₆ (吡哆醇), mg/100g	0.51~1.15	2 维生素B ₆ 的测定
维生素C, mg/100g	42.6~95.9	3 用HPLC方法进行维生素C的定量分析
维生素E, mg α-TE/100g	5.98~13.44	GB 5009.82
烟酸(烟酰胺), mg/100g	5.98~13.44	GB 5009.89
叶酸, μg/100g	170.7~383.9	4 叶酸的测定
泛酸, mg/100g	2.14~4.80	GB 5009.210
镁(以Mg计), mg/100g	120~200	GB/T 5009.90
铁(以Fe计), mg/100g	7.5~12.5	GB/T 5009.90
锌(以Zn计), mg/100g	6.0~10.0	5 锌、铜、钾、磷的测定
铜(以Cu计), mg/100g	0.81~1.33	5 锌、铜、钾、磷的测定

No. 24002316

钾（以K计），mg/100g	675~1125	5 锌、铜、钾、磷的测定
磷（以P计），mg/100g	280.0~466.6	5 锌、铜、钾、磷的测定
维生素D ₃ ，μg/100g	1.2~6.1	6 维生素D ₃ 的测定

1 用HPLC方法进行维生素B₁的定量分析

1.1 原理：样品经稀盐酸混合液萃取后，高速离心后过滤上层清液，用高效液相色谱，荧光检测器定量测定。

1.2 范围

本附录规定了用HPLC测定维生素VB₁的含量，适用于乐纤®系列产品检测。

1.3 仪器和设备

1.3.1 高效液相色谱仪，配置柱后衍生反应器和荧光检测器。

1.3.2 液相色谱柱：Agilent Eclipse XDB-C₁₈或同类型色谱柱。

1.3.3 研磨机。

1.3.4 搅拌器。

1.3.5 分析天平（感量为0.1mg）。

1.3.6 离心机。

1.3.7 pH计。

1.3.8 针头式过滤器。

1.3.9 实验室标准玻璃器皿。

1.4 试剂溶液和标准品

1.4.1 纯水。

1.4.2 甲醇，色谱纯。

1.4.3 氢氧化钠。

1.4.4 浓盐酸，分析纯。

1.4.5 三水乙酸钠，分析纯。

1.4.6 冰乙酸，分析纯。

1.4.7 铁氰化钾，分析纯。

1.4.8 铁氰化钾溶液（10g/L）：称取2g铁氰化钾，用水溶解并定容至100mL，临用前配置。

1.4.9 氢氧化钠溶液（100g/L）：称取25g氢氧化钠，用水溶解并定溶至250mL。

1.4.10 碱性铁氰化钾溶液：将2mL铁氰化钾溶液（10g/L）与200mL氢氧化钠溶液（100g/L）混合，临用前配置。

1.4.11 盐酸（0.1mol/L）：吸取9mL浓盐酸溶液，溶于1000mL水中。

1.4.12 盐酸（0.01mol/L）：吸取0.1mol/L盐酸50mL，用水稀释并定溶至500mL。

1.4.13 流动相的配制：乙酸钠溶液（0.05mol/L）：称取6.80g三水乙酸钠，加900mL水溶解，用冰乙酸调PH值至4.0~5.0，定容至1000mL，经0.45μm微孔滤膜过滤。

1.4.14 标准对照品：硫胺素盐酸盐（Thiamine HCL）或等同标准品。

1.5 试样制备

1.5.1 标准储备液配制：准确称取50mg（精确至0.1mg）VB₁标准品，用0.01mol/L盐酸溶液溶解并定溶于100mL。置于0~4℃冰箱中，保存期为1个月。

1.5.2 标准储备液配制：移取2.0mL标准储备溶液至100mL容量瓶中，用0.01mol/L盐酸溶液定容摇匀，此溶液为标准中间溶液，临用前配置。

1.5.3 标准工作液配制：移取5.0mL标准中间溶液至100mL容量瓶中，用0.01mol/L盐酸溶液定容摇匀，此溶液为标准中间溶液，临用前配置。

1.5.4 试样配制

1.5.4.1 样品磨粉混合均匀，称取1.0g（准确至0.0001g）样品到50mL离心管，加25mL 0.01mol/L盐酸溶液，混匀；

1.5.4.2 超声波振荡器中超声提取15分钟；

1.5.4.3 再用摇床搅拌器混合15分钟；

1.5.4.4 以14000r/min转速离心试管5分钟；

1.5.4.5 抽取工作溶液上面部分，用针头式过滤器过滤至液相样品瓶中。

1.6 测定

No. 24002317

1.6.1 液相色谱参数

1.6.1.1 流动相: 0.05ml/L乙酸钠溶液(1.4.13)/甲醇(85/15)。

1.6.1.2 流速: 1.0mL/min。

1.6.1.3 进样量: 10 μ L。

1.6.1.4 检测波长: 激发波长375nm, 发射波长435nm。

1.6.1.5 柱后衍生条件:

1.6.1.5.1 衍生试剂: 碱性铁氰化钾溶液。

1.6.1.5.2 衍生试剂流速: 0.3mL/min。

1.6.1.5.3 衍生管的温度: 50 $^{\circ}$ C。

1.6.1.5.4 保留时间: 维生素VB₁约3分钟。

1.6.1.5.5 运行时间: 约5分钟。

1.6.2 维生素VB₁标准曲线的绘制: 将维生素VB₁标准工作液(1.5.3)注入液相色谱仪中, 得到峰面积, 峰面积为纵坐标, 以维生素VB₁标准工作液浓度为横坐标绘制维生素VB₁标准测定的工作标准曲线。

1.6.3 试样的测定: 将样品工作液(1.5.4.5)注入液相色谱仪中, 得到峰面积, 根据标准曲线得到待测溶液中维生素VB₁的浓度。

1.7 计算

1.7.1 维生素VB₁标准工作液浓度计算

$$C=[StdWt \times p/V] \times D.F. \times 0.7865$$

式中:

C---维生素VB₁标准工作液浓度(mg/mL)

StdWt---称取标准品的重量, mg;

P---标准品的纯度(100%纯度, P=1);

V---标准储备液定容体积, mL;

D.F.---稀释倍数;

0.7865---盐酸硫胺素与硫胺素的转换系数。

1.7.2 维生素VB₁含量计算

$$X=[Asmp \times C/Astd] \times [D/SmpWt] \times 100$$

式中:

X---维生素VB₁含量, mg/100g;

Asmp---样品工作液中维生素VB₁色谱峰峰面积;

Astd---标准工作液中维生素VB₁色谱峰峰面积;

SmpWt---称取样品的重量, g;

D---加入萃取液体积, mL。

2 维生素B₆的测定

2.1 测定方法: 除预处理以外, 其它按照GB 5413.13-2010方法进行测定

2.2 预处理方法

2.2.1 含颗粒的试样: 取样品1袋, 磨成均匀细粉; 二分法均匀取样后, 准确称取至250mL容量瓶中, 加入约200mL萃取溶液(10mL乙酸、50mL乙腈和940mL纯水混合均匀);

2.2.2 把上述容量瓶放入超声波振荡器中, 超声振荡约20分钟;

2.2.3 取出冷却至室温, 用萃取溶液定容至刻度, 摇匀;

2.2.4 取溶液离心, 3000转5分钟, 再经0.45 μ m微孔滤膜加压过滤, 用液相样品瓶收集, 即为试样待测液。

3 用HPLC方法进行维生素C的定量分析

3.1 原理: 样品经草酸和偏磷酸混合液萃取后, 高速离心后过滤上层清液, 用高效液相色谱, 紫外检测器定量测定。

3.2 范围

本附录规定了用HPLC测定维生素V_C的含量, 适用于乐纤[®]系列产品检测。

3.3 仪器和设备

3.3.1 高效液相色谱仪, 配置紫外检测器或二极管阵列检测器。

3.3.2 液相色谱柱: Agilent ZORBAX SB-Aq 4.6*150mm, 5 μ m或同类型色谱柱。

3.3.3 研磨机。

No. 24002318

- 3.3.4 搅拌器。
- 3.3.5 分析天平（感量为0.1mg）。
- 3.3.6 离心机。
- 3.3.7 pH计。
- 3.3.8 针头式过滤器。
- 3.3.9 实验室标准玻璃器皿。
- 3.4 试剂溶液和标准品
- 3.4.1 纯水。
- 3.4.2 甲醇，色谱纯。
- 3.4.3 偏磷酸。
- 3.4.4 氢氧化钠。
- 3.4.5 浓磷酸。
- 3.4.6 维生素C(L-Ascorbic Acid)或等同标准品。
- 3.4.7 流动相的配制：移取1mL浓磷酸溶液，溶于800mL水中，用10%的氢氧化钠溶液调pH到2.5，定容至1000mL，用0.45um滤膜过滤；
- 3.4.8 草酸和偏磷酸混合液：称取5g草酸和30g的偏磷酸，用水溶解并定容至1000mL。
- 3.5 试样制备
- 3.5.1 标准储备液配制：准确称取100mg维生素C标准品到100mL棕色容量瓶中，加入萃取液溶解并定容。（注：标准储备液在冰箱中只能保存一周）。
- 3.5.2 标准工作液配制：吸3mL维生素C标准储备液于100mL容量瓶，加入萃取液溶解并定容，浓度约为0.030mg/mL。（注：标准工作液准需用现配）。
- 3.5.3 试样配制
- 3.5.3.1 称取2g（准确至0.0001g）样品到50mL离心管，加45mL萃取液，混匀；
- 3.5.3.2 超声波振荡器中超声提取5分钟；
- 3.5.3.3 再用摇床搅拌器混合30分钟；
- 3.5.3.4 以5000rpm转速离心试管5分钟；
- 3.5.3.5 抽取工作溶液上面部分，用针头式过滤器过滤至液相样品瓶中。
- 3.6 测定
- 3.6.1 液相色谱参数
- 3.6.1.1 流动相：磷酸水溶液，pH=2.5（3.4.7）。
- 3.6.1.2 波长= 245nm。
- 3.6.1.3 进样量= 10μL。
- 3.6.1.4 保留时间= 维生素C约5分钟。
- 3.6.1.5 运行时间= 10分钟。
- 3.6.2 维生素C标准曲线的绘制：将维生素C标准工作液（3.5.2）注入液相色谱仪中，得到峰面积，峰面积为纵坐标，以维生素C标准工作液浓度为横坐标绘制维生素C标准测定的工作标准曲线。
- 3.6.3 试样的测定：将样品工作液（3.5.3.5）注入液相色谱仪中，得到峰面积，根据标准曲线得到待测溶液中维生素C的浓度。

3.7 计算

3.7.1 维生素C标准工作液浓度计算

$$C = [\text{StdWt} \times p / V] \times D_1 / D_2$$

式中：

C---维生素C标准工作液浓度，mg/mL；

StdWt---称取标准品的重量，mg；

P---标准品的纯度（100%纯度，P=1）；

V---标准储备液定容体积，mL；

D₁---移取标准储备液体积，mL；

D₂---标准工作液定容体积，mL。

3.7.2 维生素C含量计算

$$X = [\text{Asmp} \times C / \text{Astd}] \times [D_3 / \text{SmpWt}] \times 100$$

式中：

X---维生素C含量，mg/100g；

Asmp---样品工作液中维生素C色谱峰峰面积；

No. 24002319

Astd——标准工作液中维生素C色谱峰面积；

SmpWt——称取样品的重量，g；

D₃——加入萃取液体积，mL。

4 叶酸的测定

4.1 原理：通过海氏肠球菌（ATCC 8043）检测片剂、原料及预混料中叶酸含量。在除叶酸成份以外完整的基础培养基中，实验所用菌株将随着叶酸含量的增加呈对数生长，通过检测光密度来测定叶酸含量。

4.2 仪器和设备

4.2.1 水浴锅；

4.2.2 标准实验室玻璃器皿；

4.2.3 恒温培养培养；

4.2.4 加热振荡台；

4.2.5 试管架；

4.2.6 自动分液器；

4.2.7 离心机；

4.2.8 振荡器；

4.2.9 分光光度计；

4.2.10 高温高压灭菌器；

4.2.11 Autoturb系统；

4.2.12 试管；

4.2.13 滤纸；

4.2.14 漏斗；

注：所有玻璃器皿须仔细清洁（水洗、漂洗、烘干）。

4.3 培养基和试剂

4.3.1 0.12N氢氧化氨缓冲液；

4.3.2 海氏肠球菌（ATCC 8043）；

4.3.3 叶酸参考标准品（USP）；

4.3.4 去离子水；

4.3.5 叶酸分析培养基；

4.3.6 0.85%的无菌生理盐水；

4.3.7 乳酸菌培养肉汤。

4.4 分光光度计法

4.4.1 分析步骤

4.4.1.1 接种前准备：接种前，解冻培养物（ATCC 8043）并倒入125mL容量瓶（含0.85%无菌生理盐水）。

4.4.1.2 制备接种物

4.4.1.2.1 转移培养物至乳酸菌培养肉汤。

4.4.1.2.2 在35℃水浴条件下进行培养至混浊（6-8小时）。

4.4.1.2.3 进行离心分离10min。

4.4.1.2.4 吸出培养肉汤，用生理盐水将沉淀物重悬浮。

4.4.1.2.5 振荡均匀后再离心分离10min。

4.4.1.2.6 重复4.4.1.2.4。

4.4.1.2.7 振荡均匀倒入装有生理盐水的125mL容量瓶中。

4.4.1.3 制备标准溶液

4.4.1.3.1 称取叶酸标准品0.0625g，并移至500mL容量瓶中。加入50mL 0.12N的氢氧化氨缓冲液，溶解标准物后使用去离子水稀释至刻度。

4.4.1.3.2 将1mL步骤4.4.1.3.1制取的溶液用去离子水定容到500mL，这就是标准的贮备液。

4.4.1.3.3 贴上标签，标签内容包含：叶酸贮备标准，250ng/mL，制备日期，有效期（1个月），制备者名称。盖紧后置于冰箱中保存。使用当天可放至室温并取1.0mL溶液稀释至250mL，作为标准工作溶液，浓度为1.0ng/mL。

4.4.1.3.4 采用Karl Fischer方法检测叶酸标准品含水量因子。注：每月制备新标准溶液。

4.4.1.4 制备样品溶液

4.4.1.4.1 称取碾磨成粉状样品。对于原料与预混料，若材料为颗粒状则取适量大约20克进行碾磨。

No. 24002320

4.4.1.4.2 大多数情况下的样品称样重量 (W_s) 可通过公式A.1计算。目标称样重量范围在0.5-2.0g。对范围以外的重量需进行调整。

$$W_s = [0.25 \times N_t \times F \times 10] / [3 \times W_p] \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

- W_s —称样重量, g;
- 0.25—标准曲线中间浓度值, ng/mL;
- N_t —样品标准的单位;
- F—二次稀释倍数;
- 10—样品最后稀释总体积, 10mL;
- 3—最后稀释时的样品添加量, 3mL;
- W_p —预期重量, μ g。

4.4.1.4.3 称取适量样品, 移入1L容量瓶中。

4.4.1.4.4 每个容量瓶 (1L) 中加入100mL 0.12N氢氧化氨缓冲液。使用缓冲液冲洗瓶颈中残留样品。在45℃条件下摇动30分钟。冷却至室温并采用去离子水稀释至刻度。加盖并摇动容量瓶。放置一段时间使微粒沉淀至瓶底。注: 有必要可进行2次或3次稀释。

4.4.1.5 准备检测管

4.4.1.5.1 根据表A.1制作2份标准检测管。

表A.1 检测管制备表

试管	去离子水	工作标准
生长控制	5.0 mL	0 mL
0.00ng	5.0 mL	0 mL
1.0ng	4.0 mL	1.0 mL
1.5ng	3.5 mL	1.5 mL
2.0ng	3.0 mL	2.0 mL
2.5ng	2.5 mL	2.5 mL
3.0ng	2.0 mL	3.0 mL
3.5ng	1.5 mL	3.5 mL
4.0ng	1.0 mL	4.0 mL
5.0ng	0mL	5.0 mL

4.4.1.5.2 制作3份样品管, 含2.0mL去离子水与3.0mL样品溶液。

4.4.1.5.3 按照叶酸分析培养基包装上说明制备培养基, 采用自动分液器注入5.0mL培养基至每个检测管。进行高压灭菌前, 使用金属塞盖紧试管, 并贴上灭菌指示带。

4.4.1.6 高压灭菌、接种与培养

4.4.1.6.1 将标准品与样品进行高压灭菌5分钟 (121℃) 后, 慢慢排出气体。在冷水浴中冷却至室温。

4.4.1.6.2 根据步骤4.4.1.2制备接种菌液。

4.4.1.6.3 用新制备接种物接种每根试管 (生长控制管除外), 每根接种50 μ L。振荡均匀。

4.4.1.6.4 在35℃条件下培养16小时。读数前检查试管浊度。标准管浊度应呈现有梯度变化。

4.4.1.7 分光光度计读取透光率: 读取浊度前对每根试管进行涡流混合。通过生长控制调零。在650nm时读取空白分析 (叶酸含量为0.00ng的试管), 读数应不低于60%。再调零。读数期间应不时调零。读取标准品与样品读数, 记录结果。

4.4.1.8 计算

4.4.1.8.1 标准品读数取平均值, 得出平均读数对数。

4.4.1.8.2 取3份样品读数平均值。

4.4.1.8.3 通过线性回归方程计算结果。以叶酸标准系列的不同纳克数为横坐标, lg (平均透光率值) 为纵坐标, 用EXCEL绘制标准曲线。由样品测定管中的lg (平均透光率值) 在曲线上查出相对应的样品测定管中的叶酸含量, 再按以下公式计算样品中叶酸含量:

4.4.1.9 计算叶酸含量

叶酸含量按公式A.2计算。

$$M_f = [M_p \times D \times N_t \times 100] / W_s \dots\dots\dots (A.2)$$

式中:

- M_f —叶酸含量, μ g/100g;
- M_p —图表值, ng/mL;
- D—稀释因子, $1/3 \times 2$ 次稀释倍数 $\times 10$ mL;
- N_t —样品标准的单位;

No. 24002321

100—转化为 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 的系数;

W_s —称样重量, g。

4.5 Autoturb系统法

4.5.1 分析步骤

4.5.1.1 制备接种物: 操作见4.4.1.2。

4.5.1.2 制备标准溶液: 操作见4.4.1.3。并按表A.2吸取贮备标准溶液(250ng/mL)制备标准工作溶液。

表A.2 标准工作溶液制备

吸取体积 (mL)	定容体积 (mL)	标准溶液浓度 (ng/mL)
1	100	2.5
2	100	5.0
2	50	10.0
3	50	15.0
4	50	20.0
5	50	25.0

4.5.1.3 制备样品溶液

4.5.1.3.1 称取碾磨成粉状样品。对于原料与预混料, 若材料为颗粒状则取适量大约20克进行碾磨。

4.5.1.3.2 大多数情况下的样品称样重量(W_s)可通过公式A.3计算。目标称样重量范围在0.5–2.0g。对范围以外的重量需进行调整。

$$W_s = [12.5 \times N_t \times F] / W_p \dots\dots\dots (A.3)$$

式中:

W_s —称样重量, g;

12.5—标准曲线的中间浓度值, ng/mL;

W_p —预期重量, μg ;

F—二次稀释倍数;

N_t —样品标准的单位。

4.5.1.3.3 称取适量样品, 移入1L容量瓶中。

4.5.1.3.4 每个容量瓶(1L)中加入100mL 0.12N氢氧化氨缓冲液。使用缓冲液冲洗瓶颈中残留样品。在45℃条件下摇动30分钟。冷却至室温并采用去离子水稀释至刻度。加盖并摇动容量瓶。放置一段时间使微粒沉淀至瓶底。注: 有必要可进行2次或3次稀释。

4.5.2 Autoturb系统稀释

4.5.2.1 将配制好的标准溶液, 样品溶液和半料的叶酸分析培养基通过Autoturb系统进行稀释和混合。

4.5.2.2 稀释完成后, 标准曲线水平分别为0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5ng (0.1mL试管), 以及0.375, 0.75, 1.5, 2.25, 3.0, 3.75ng (0.15mL试管)。稀释后, 盖紧试管并在121℃条件下灭菌5分钟, 慢慢将气体排除。不可过度加热, 并在水浴中冷却至室温。

4.5.2.3 根据步骤4.5.1.1制备接种物。

4.5.2.4 用新制备接种物给每根试管接种50 μL (除了开始的4根管及最后2根管)。

4.5.2.5 在35℃条件培养16–18小时。读数前检查试管浊度。标准管浊度应呈现梯度变化。

4.5.3 Autoturb系统读数: 经过16小时培养后, 检查未接种对照物。如有生长, 分析无效。如果未接种试管澄清, 则通过在80℃水浴中加热5分钟使接种物终止生长。

4.5.3.1 开启Autoturb系统。

4.5.3.2 打开分光光度计并设置波长为650nm。

4.5.3.3 用空白调零后, 固定好探针和试管架, 开始自动读数。

4.5.3.4 读数完毕后结果将会自动打印出来。

4.5.4 计算: 取0.1mL与0.15mL各标准与样品的平均读数的对数值, 用标准读数的对数值作纵坐标, 浓度为横坐标作出两种稀释条件下的标准曲线。由曲线图可得出每一稀释条件下的样品浓度, 最后取两个曲线结果的平均值。

叶酸的含量按公式A.4计算。

$$M_f = [C_a \times F \times 10 \times 100] / [W_s \times A] \dots\dots\dots (A.4)$$

式中:

M_f —叶酸含量, $\mu\text{g}/100\text{g}$;

C_a —图表值, ng/mL;

F—二次稀释倍数;

No. 24002322

10—样品最后稀释总体积, mL;
100—转换为 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 的系数;
 W_s —称样重量, g;
A—样品和标准的稀释量, 0.1mL或0.15mL。

5 锌、铜、钾、磷的测定

5.1 适用范围

本方法适用于乐纤®系列产品中锌、铜、钾、磷的含量测定。

5.2 引用标准

本法引用安利公司内部关于营养食品矿物质含量的ICP测试方法。

5.3 原理: 试样经酸消解稀释定容后, 使用电感耦合等离子体-原子发射光谱 (ICP-AES) 进行测定, 并采用标准曲线法计算元素含量。

5.4 仪器和设备: ICP-AES光谱仪。

5.5 试剂溶液和标准品

5.5.1 硝酸 (分析纯)。

5.5.2 锌标准溶液 (1000mg/L)。

5.5.3 铜标准溶液 (1000mg/L)。

5.5.4 钾标准溶液 (1000mg/L)。

5.5.5 磷标准溶液 (1000mg/L)。

5.6 标准溶液的制备

5.6.1 配制标准贮备溶液

根据下表所列内容配制, 用2% HNO_3 溶液定容摇匀。

元素	贮备溶液浓度(mg/L)	移取溶液名称	移取体积(mL)	定容体积(mL)
Zn	200	1000mg/L Zn 标准溶液	20	100
Cu	30	1000mg/L Cu 标准溶液	3	100
K	40	1000mg/L K 标准溶液	4	100

5.6.2 配制标准工作溶液: 根据下表所列内容分别移取一定体积不同标准贮备溶液至一定体积的同一容量瓶中, 加入2% HNO_3 溶液定容摇匀, 共有三种不同浓度的工作溶液。

①Zn Cu P标准工作溶液

Zn: 0, 2, 10, 20 mg/L Cu: 0, 0.3, 1.5, 3.0 mg/L

P: 0, 30, 150, 250 mg/L

标准空白溶液: 2% HNO_3 溶液

	元素	最终浓度(mg/L)	移取溶液名称	移取体积(mL)	定容体积(mL)
浓度一	Zn	2	200mg/L Zn贮备溶液	1	100
	Cu	0.3	30mg/L Cu贮备溶液	1	
	P	30	1000mg/L P标准溶液	3	
浓度二	Zn	10	200mg/L Zn贮备溶液	5	100
	Cu	1.5	30mg/L Cu贮备溶液	5	
	P	150	1000mg/L P标准溶液	15	
浓度三	Zn	20	200mg/L Zn贮备溶液	10	100
	Cu	3.0	30mg/L Cu贮备溶液	10	
	P	250	1000mg/L P标准溶液	25	

②K 标准工作溶液

标准空白溶液: 2% HNO_3 溶液

	元素	最终浓度(mg/L)	移取溶液名称	移取体积(mL)	定容体积(mL)
浓度一	K	2.0	40mg/L K 贮备溶液	5	100
浓度二		4.0		10	100
浓度三		8.0		20	100

5.7 样品溶液的制备

5.7.1 称取适量的样品，放入150mL锥形瓶中；

5.7.2 在通风橱中，每个锥形瓶中加入30mL的硝酸溶液，将样品浸泡5分钟；

5.7.3 在电加热板（大约300℃）上消化样品，直到所有的棕色烟雾消失，最后锥形瓶中剩余液体约5mL；

5.7.4 将样品溶液从电加热板上移开，冷却至室温；

5.7.5 用去离子水将锥形瓶中的消解溶液转移至50mL容量瓶中，定容至刻度，若有沉淀需过滤；

5.7.6 取与消化试样相同量的酸消化液，按上述操作做试剂空白测定。

5.8 测定：调整好仪器工作条件，使用标准系列制作校正曲线，然后在同样条件下测定试样溶液。

5.9 计算

$$X = [C \times V \times f \times 100] / m$$

式中：

X——被测元素含量，mg/100g；

C——被测试液中元素浓度，mg/L；

V——被测试液体积，L；

f——试样液稀释倍数；

m——试样质量，g。

6 维生素D₃的测定

6.1 目的

本规程采用UPLC-TQD检测微量维生素D₃的含量。

6.2 范围

适用于乐纤®均衡谷物食品中维生素D₃含量的测定。

6.3 规程指引

6.3.1 仪器及相关设备。

6.3.1.1 分析天平，感量0.01mg。

6.3.1.2 多联磁力板。

6.3.1.3 涡旋振荡仪。

6.3.1.4 超声波振荡仪。

6.3.1.5 超高效液相色谱仪-串联四级杆液质联用仪，Waters ACQUITY UPLC-TQD。

6.3.2 试剂

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯，水为纯化水。

6.3.2.1 乙醇。

6.3.2.2 焦性没食子酸（Pyrogalllic Acid）。

6.3.2.3 氢氧化钾。

6.3.2.4 正己烷，色谱纯。

6.3.2.5 二丁基羟基甲苯（BHT）。

6.3.2.6 乙腈，色谱纯。

6.3.2.7 甲醇，色谱纯。

6.3.2.8 甲酸，色谱纯。

6.3.2.9 水。

6.3.3 标准物质：维生素D₃，USP或者相同级别；氘代维生素D₃，Sigma（731285）或者相同级别

6.3.4 溶液准备

6.3.4.1 2%焦性没食子酸-乙醇溶液：称取2g焦性没食子酸，溶于100mL乙醇溶液中；

6.3.4.2 50%氢氧化钾-水溶液：称取100g氢氧化钾，溶于100mL水中；

6.3.4.3 二丁基羟基甲苯-正己烷溶液：称取12.5mg焦性没食子酸，溶于1000mL正己烷溶液中；

6.3.4.4 碱性洗液：称取15g氢氧化钾，溶于85mL水中；

6.3.4.5 乙腈-水溶液：乙腈-水以7：3的比例配置。

6.3.5 标准溶液准备

6.3.5.1 维生素D₃标准储备液：称取约30mg维生素D₃标准物质，用正己烷定容于100mL容量瓶中，-20℃避光可保存两个月。

6.3.5.2 氘代维生素D₃标准储备液：移取250μL氘代维生素D₃标准物质，用乙醇定容于100mL容量瓶中，-20℃避光可保存两个月。

6.3.6 样品的制备：取足量（至少两包）产品，磨粉备用。称取约10g样品于150mL三角瓶中，准确加入300μL氘代维生素D₃标准储备液，加入40mL 2%焦性没食子酸-乙醇溶液及20mL 50%氢氧化钾-水溶液，放入磁力转子后充入氮气，并用凡士林密封好瓶盖，保持25℃室温搅拌过夜。过夜样品于第二天加入40mL二丁基羟基甲苯-正己烷溶液，继续搅拌2分钟，静置至溶液分层。吸取上层清液约20mL，加入碱性洗液5mL，振荡5秒钟，静置至溶液分层。再次吸取上层清液10mL，氮吹至干，加入乙腈-水溶液1mL，超声复溶。所得溶液，用0.22μm滤膜过滤，备用。

6.3.7 标准工作溶液的制备：移取2.0mL维生素D₃标准储备液于25mL容量瓶中，氮吹至干，用乙腈定容，此为D₃标准溶液。移取5.0mL氘代维生素D₃标准储备液于50mL容量瓶中，用乙腈定容，此为标准稀释液。

	浓度 μg/mL	D ₃ 标准溶液 mL	氘代维生素D ₃ 标准储备液， mL	乙腈 mL	STD5 mL	STD3 mL	标准稀释 液 mL
STD1	0.008	-	-	-	-	2.0	8.0
STD2	0.02	-	-	-	-	5.0	5.0
STD3	0.04	-	-	-	2.0	-	8.0
STD4	0.1	-	-	-	5.0	-	5.0
STD5	0.2	0.1	1.0	8.9	-	-	-

所得5个浓度的标准工作溶液，用0.22μm滤膜过滤，备用。

6.4 仪器参数设定

6.4.1 UPLC

- 6.4.1.1 流动相A：0.1%甲酸-甲醇溶液。
- 6.4.1.2 流动相B：0.1%甲酸-甲醇：水（20：80）溶液。
- 6.4.1.3 采用等度洗脱，流动相A/流动相B=99：1。
- 6.4.1.4 色谱柱：Waters ACQUITY CSH C₁₈，2.1mm*100mm*1.7μm，型号186005297。
- 6.4.1.5 柱温：40℃。
- 6.4.1.6 流速：0.4mL/min。
- 6.4.1.7 进样体积：10.0μL。
- 6.4.1.8 运行时间：标准3分钟，样品10分钟。

6.4.2 TQD

- 6.4.2.1 离子源：电喷雾离子源（ESI）。
- 6.4.2.2 扫描方式：正离子（ESCI+）。
- 6.4.2.3 检测方式：选择离子检测（MRM）。
- 6.4.2.4 源温度（source temperature）：120℃。
- 6.4.2.5 脱溶剂气温度（Desolvation temperature）：350℃。
- 6.4.2.6 脱溶剂气流量（Desolvation）：800L/hr。
- 6.4.2.7 锥孔碰撞气流量（Cone）：2L/hr。

	母离子，D a	子离子，Da	Dwell, sec	Cone, V	Coll Energy
维生素D ₃	385.30	259.25	0.045	32	15
氘代维生素D ₃	388.40	259.25	0.045	321	15

6.5 仪器分析：按照上述仪器条件进样，得到标准溶液和样品溶液的色谱图；样品溶液进样，除了TQD采样的3分钟外，一共需运行10分钟，以洗脱杂质。

6.6 结果计算：此方法采用内标物（氘代维生素D₃）校准，即在计算标准溶液及最终结果时，均需将内标物的峰面积与浓度换算成比值，再进行计算。

6.6.1 标准溶液计算：标准溶液采用线性计算。先计算每个浓度的峰面积比值及浓度比值，再计算其5个浓度所构成的线性。

峰面积比值=A_{std}/A_{is}，此为线性方程的Y值。

式中：

A_{std}—维生素D₃标准工作溶液的峰面积；
A_{is}—氘代维生素D₃标准工作内标溶液的峰面积。
浓度比值=C_{std}/C_{is}，此为线性方程的X值。

式中：

C_{std}—维生素D₃标准工作溶液的浓度，μg/mL；
C_{is}—氘代维生素D₃标准工作内标溶液的浓度，μg/mL。

上述两个比值，可得线性方程 $Y=aX+b$ 。

6.6.2 样品结果的计算：通过样品峰面积与内标峰面积的比值 Y ，和6.6.1中的线性方程计算，可获得样品浓度与内标物浓度的比值 X 。

$$S=[X \times C_{is(s)} \times V/M] \times 100$$

式中：

S —样品中各待测成分的含量， $\mu\text{g}/100\text{g}$ ；

$C_{is(s)}$ —样品中内标溶液的浓度， $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；

V —样品中加入内标溶液的体积， mL ；

M —样品的重量， g ；

100—单位转换系数， $\mu\text{g}/\text{g}$ 转换成 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 。

【装量或重量差异指标/净含量及允许负偏差指标】 净含量为30g，允许负偏差为9%。

【原辅料质量要求】

1. 大豆分离蛋白（大豆分离蛋白、磷脂）：应符合GB 20371《食品安全国家标准 食品加工用植物蛋白》的规定。
2. 速溶麦片：应符合GB 19640《食品安全国家标准 冲调谷物制品》的规定。
3. 麦芽糊精：应符合GB 15203《食品安全国家标准 淀粉糖》的规定。
4. 燕麦麸：应符合GB 19640《食品安全国家标准 冲调谷物制品》的规定。
5. 燕麦纤维：应符合QB/T 5028《粮谷纤维》的规定。
6. 菊粉：应符合《关于批准菊粉、多聚果糖为新资源食品的公告》（2009年第5号）的规定。
7. 矿物质预混物（柠檬酸钾、碳酸钙、麦芽糊精、氧化镁、硫酸锌、富马酸亚铁、葡萄糖酸铜）

项 目	指 标
来源	柠檬酸钾、碳酸钙、麦芽糊精、氧化镁、硫酸锌、富马酸亚铁、葡萄糖酸铜
制法	经称重、混合、包装等主要工艺制成
感官要求	灰白色至棕色细颗粒
钙，mg/g	98.68~120.62
铜，mg/g	0.12~0.16
锌，mg/g	1.34~1.64
铁，mg/g	0.78~0.97
镁，mg/g	22.10~27.02
钾，mg/g	134.21~164.04
水分，%	≤8.0
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
菌落总数，CFU/g	≤2000
大肠菌群，MPN/g	≤3.0
霉菌和酵母，CFU/g	≤200
沙门氏菌	不得检出
金黄色葡萄球菌	不得检出

8. 大豆组织蛋白：应符合GB 20371《食品安全国家标准 食品加工用植物蛋白》的规定。

9. 食用盐：应符合GB 2721《食品安全国家标准 食用盐》的规定。

10. 针叶樱桃提取物（针叶樱桃提取物、麦芽糊精）

项 目	指 标
来源	针叶樱桃浓缩液（ <i>Malpighia emarginata</i> ）、麦芽糊精
制法	经混合、调pH、杀菌（104±3℃，30s）、干燥、过筛、包装等主要工艺制成
提取比率，%	2.4-3.4；1
感官要求	符合参照的标准品
维生素C，%	15.0~17.0
水分，%	≤4.0
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
菌落总数，CFU/g	≤1000
大肠菌群，MPN/g	≤3.0
霉菌和酵母，CFU/g	≤50
沙门氏菌	不得检出
金黄色葡萄球菌	不得检出

11. 维生素预混物（L-抗坏血酸、DL-α-生育酚醋酸酯、烟酰胺、麦芽糊精、维生素A醋酸酯、泛酸钙、叶酸、维生素D₃、硝酸硫胺素、盐酸吡哆醇、核黄素）

项 目	指 标
来源	L-抗坏血酸、DL-α-生育酚醋酸酯、烟酰胺、麦芽糊精、维生素A醋酸酯、泛酸钙、叶酸、维生素D ₃ 、硝酸硫胺素、盐酸吡哆醇、核黄素
制法	经称重、混合、包装等主要工艺制成
感官要求	灰白色至黄色细颗粒
维生素A，μgRE/g	5318.71~6500.65
维生素B ₁ （硫胺素），mg/g	7.8~9.54
维生素B ₂ ，mg/g	8.15~9.97
维生素B ₆ （吡哆醇），mg/g	7.44~9.10
维生素C，mg/g	319.09~390.00
维生素D ₃ ，μg/g	28.36~34.67
维生素E，mgα-TE/g	91.63~112.00
叶酸，μg/g	2290.90~2800.00
泛酸，mg/g	31.93~39.04
烟酸（烟酰胺），mg/g	83.67~102.27
水分，%	≤8.0
灰分，%	≤5.0
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
菌落总数，CFU/g	≤2000
大肠菌群，MPN/g	≤3.0
霉菌和酵母，CFU/g	≤200
沙门氏菌	不得检出
金黄色葡萄球菌	不得检出

12. 植脂末：应符合GB 15196《食品安全国家标准 食用油脂制品》的规定。

13. 白砂糖：应符合GB 13104《食品安全国家标准 食糖》的规定。

14. 食品用香精（玉米味）：应符合GB 30616《食品安全国家标准 食品用香精》的规定。