ICS 67.230
CCX X10

QB

中 华 人 民 共 和 国 行 业 标 准

QB/T 5728—××××

阿胶糕

E Jiao cake

（报批稿）

××××－××－××发布　　××××－××－××实施

中华人民共和国工业和信息化部　发布

工业和信息化部标准报批公示

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。

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件起草单位：东阿阿胶股份有限公司、山东省食品药品检验研究院、山东省标准化研究院、中国焙烤食品糖制品工业协会、山东阿胶行业协会、青岛海关技术中心、东阿阿胶保健品有限公司、新疆和田阿华阿胶有限公司、山东东阿天龙食品有限公司、中轻食品工业管理中心。

本文件主要起草人：王延涛、段小波、田守生、刘海滨、高登锋、郭尚伟、徐云鹏、林永强、徐家莹、王鹏、罗艳艳、魏立立、李贵海、张鸿伟、张晓梅、张守元、牛伟霞、贺文慧、张大伟、高鹏。

文件为首次发布。

工业和信息化部标准报批公示

阿胶糕

1 范围

本文件规定了阿胶糕的术语和定义、要求、试验方法、检验规则、标签、标志、运输和贮存。

本文件适用于阿胶糕的生产、检验和销售。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 191　包装储运图示标志

GB 4789.1　食品安全国家标准　食品微生物学检验　总则

GB 4789.2　食品安全国家标准　食品微生物学检验　菌落总数测定

GB 4789.3　食品安全国家标准　食品微生物学检验　大肠菌群计数

GB 4789.4　食品安全国家标准　食品微生物学检验　沙门氏菌检验

GB 4789.10　食品安全国家标准　食品微生物学检验　金黄色葡萄球菌检验

GB 4789.15　食品安全国家标准　食品微生物学检验　霉菌和酵母计数

GB 5009.3　食品安全国家标准　食品中水分的测定

GB 5009.5　食品安全国家标准　食品中蛋白质的测定

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 5009.227　食品安全国家标准　食品中过氧化值的测定

GB 5009.229　食品安全国家标准　食品中酸价的测定

GB/T 6682　分析实验室用水规格和试验方法

GB 7718　食品安全国家标准　预包装食品标签通则

GB 14881　食品安全国家标准　食品生产通用卫生规范

GB 28050　食品安全国家标准　预包装食品营养标签通则

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

阿胶 E Jiao

以驴的干燥皮或鲜皮，经浸泡去毛，切块洗净，水煎，浓缩，添加或不添加适量的黄酒、冰糖及豆油而制成的固体胶。

3.2

阿胶糕 E Jiao cake

以阿胶（3.1），添加或不添加黑芝麻、核桃仁、黄酒等原料和食品添加剂，经原料处理、熬制、冷冻、切制等工艺制成的食品。

4 要求

4.1 原辅料

4.1.1 阿胶

应符合附录A的要求。

4.1.2 其他原辅料

应符合相应的食品标准和有关规定；不应添加黄明胶、明胶等增稠剂以及猪皮、马（骡）皮或其制品等原料。

4.2 感官要求

应符合表1的规定。

表 1. 感官要求

项　目	要　求
色泽	黑色并混有添加原料的相应色泽
滋味、气味	具阿胶和其他原料的复合香味及气味，无异味
性状	块状，有韧性、大小均匀
杂质	无正常视力可见外来异物

4.3 理化指标

应符合表2的要求。

表 2. 理化指标

项　　目	指　　标
水分/(g/100g) ≤	20.0
蛋白质/(g/100g) ≥	12.0
阿胶含量(以阿胶对照药材计）/（g/100g） ≥	10.0
酸价（以脂肪计）（KOH）/（mg/g） ≤	5
过氧化值（以脂肪计）/（g/100g） ≤	0.25
驴皮源	检出
牛皮源、猪皮源、马源成分	不应检出

4.4 食品安全指标

4.5.1 污染物

应符合表3 的要求。

表 3. 污染物指标

单位为毫克每千克

项　目		指　标
铅（以Pb计）	≤	2.0
总砷（以As计）	≤	1.0

4.5.2 微生物

应符合表4 的要求。

表 4. 微生物指标

项目	采样方案[a]及限量			
	n	c	m	M
菌落总数/（CFU/g）	5	2	10^4	10^5
大肠菌群/（CFU/g）	5	2	10	10^2
霉菌/（CFU/g）　≤	150			
[a] 样品的采集与处理按 GB 4789.1 执行。				

4.5.3 致病菌

表 5. 致病菌指标

项目	采样方案[a]及限量（若非指定，均以/25g 表示）			
	n	c	m	M
沙门氏菌	5	0	0	---
金黄色葡萄球菌/（CFU/g）	5	1	100	1000
注：n 为同一批产品应采集的样品件数，c 为最大可允许超出 m 值得样品数；m 为致病菌指标可接受水平的限量值；M 为致病菌指标的最高安全限量值。				
[a] 样品的采集与处理均按 GB 4789.1 执行。				

4.5 生产过程

应符合GB 14881的规定。

5 试验方法

5.1 感官要求

将样品置于清洁、干燥的白瓷盘中，用目测检查形态、色泽；将样品按四分法切开，观察组织、杂质；品尝滋味与口感，做出评价。

5.2 理化指标

工业和信息化部标准报批公示

5.2.1 水分

按 GB 5009.3 的方法测定。

5.2.2 蛋白质

按 GB 5009.5 的方法测定。

5.2.3 阿胶含量

按附录 B 的方法测定。

5.2.4 酸价

按 GB 5009.229 的方法测定。

5.2.5 过氧化值

按 GB 5009.227 的方法测定。

5.2.6 驴皮源、牛皮源、猪皮源、马源成分

按附录 C 的方法测定。

5.3 食品安全指标检验

5.3.1 铅

按 GB 5009.12 的方法测定。

5.3.2 总砷

按 GB 5009.11 的方法测定。

5.3.3 菌落总数

按 GB 4789.2 的方法检验。

5.3.4 大肠菌群

按 GB 4789.3 的方法检验。

5.3.5 霉菌

按GB 4789.15的方法检验。

5.3.6 沙门氏菌

按GB 4789.4的方法检验。。

5.3.7 金黄色葡萄球菌

按GB 4789.10的方法检验。

6 检验规则

工业和信息化部标准报批公示

6.1 组批

同品种，同一批投料生产的产品为一组批。

6.2 出厂检验

6.2.1 出厂检验项目包括感官、水分、蛋白质、菌落总数、大肠菌群、霉菌。

6.2.2 每批产品经检验合格后方可出厂。

6.3 型式检验

6.3.1 型式检验正常生产时每年进行一次，有下列情况之一时应进行：

——新产品投产前；
——出厂检验与上次型式检验有较大差异时；
——更换设备、主要原辅材料或更改关键工艺可能影响产品质量时；
——停产半年及以上，再恢复生产时；
——国家质量技术监督机构提出进行型式检验要求时。

6.3.2 型式检验项目：4.2、4.3、4.4 规定的全部项目。

6.4 判定规则

6.4.1 检验项目全部合格，判定为合格。

6.4.2 检验项目如有 1 项以上（微生物项目除外）不合格，加倍抽样复验。若复验后如仍有不合格项，判定为不合格。

6.4.3 微生物项目有 1 项不合格，则判定为不合格，不应复验。

7 标签、标志、包装、运输和贮存

7.1 标签

预包装产品的标签应符合 GB 7718、GB 28050 的规定；产品应标明阿胶添加量。

7.2 标志

包装储运图示应符合 GB/T 191 的规定。

7.3 运输

运输工具应清洁无污染，运输产品时应避免日晒、雨淋，不应与有毒、有害、有异味或影响产品质量的物品混装混运。搬运时应轻拿轻放，严禁扔摔、撞击、挤压。

7.4 贮存

贮存于整洁、干燥的库房内，不应与有腐蚀、有毒、易挥发、有异味等物品同库贮存。

工业和信息化部标准报批公示

附 录 A

（规范性）

阿 胶

A.1 要求

A.1.1 工艺要求

将驴皮浸泡去毛，切块洗净，水煎，滤过，浓缩（可分别加入适量的黄酒、冰糖及豆油）至稠膏状，冷凝，切块，晾干。

A.1.2 感官要求

呈长方形块、方形块或丁状。棕色至黑褐色，有光泽。质硬而脆，断面光亮，碎片对光照视呈棕色半透明状。气微，味微甘。

A.1.3 理化指标

应符合表A.1的规定。

表A.1 理化指标

项 目			指 标
水分/(g/100g)		≤	15.0
水不溶物/(g/100g)		≤	2.0
氨基酸/（g/100g，按干燥品计）	甘氨酸	≥	18.0
	L-脯氨酸	≥	10.0
	L-羟脯氨酸	≥	8.0
	丙氨酸	≥	7.0
驴源多肽（g/100g，以驴源多肽A_1和A_2含量之和计，按干燥品计）		≥	0.15
动物皮源成分	驴皮源		检出
	牛皮源、猪皮源、马源		不应检出
铅（以Pb计），mg/kg		≤	5.0
砷（以As计），mg/kg		≤	2
汞(以Hg计），mg/kg		≤	0.2
镉(以Cd计），mg/kg		≤	0.3
铜(以Cu计），mg/kg		≤	20
铬(以Cr计），mg/kg		≤	2.0

工业和信息化部标准报批公示

A.1.4 微生物指标

应符合表A.2的规定。

表A.2 微生物指标

项 目	指 标
菌落总数/（CFU/g） ≤	10^3
大肠菌群/（CFU/g） ≤	0.92
霉菌和酵母/（CFU/g） ≤	10^2

A.2 试验方法

A.2.1 水分

A.2.1.1 方法概要

试样粉末经水溶化后，均匀涂于称量瓶内壁，采用烘干法去除试样中的水分，再通过烘干前后的称量数值计算出水分的含量。

A.2.1.2 仪器和设备

A.2.1.2.1 打粉机

A.2.1.2.2 电子天平：感量为0.1 mg

A.2.1.2.3 恒温水浴锅

A.2.1.2.4 称量瓶：带玻璃棒

A.2.1.2.5 干燥器：内附有效干燥剂

A.2.1.2.6 电热鼓风干燥箱

A.2.1.3 分析步骤

A.2.1.3.1 **试样制备：**供试品粉碎均匀，密封后备用。

A.2.1.3.2 **测定：**称取1 g（精确至0.000 1 g）试样置于已恒重的称量瓶（带玻璃棒）中，加水0.5 mL~1.0 mL后置于恒温水浴锅上加热至完全溶化，再用玻璃棒将胶液均匀涂于瓶底和瓶壁上，厚度不应超过2 mm，蒸干并用干净的纱布擦去瓶外水渍。加盖（半开）后置于100 ℃～105 ℃电热恒温干燥箱中干燥5 h，加盖（全盖）取出称量瓶，放入干燥器中0.5 h后称量。再将称量瓶置于100 ℃～105 ℃电热恒温干燥箱中干燥1 h，加盖（全盖）取出称量瓶，放入干燥器中0.5 h后称量。重复以上操作至前后两次质量差不超过5 mg，即为恒重。

A.2.1.4 结果计算

按公式（A.1）计算水分：

$$X_1 = \frac{w_0 + w - w_1}{w} \times 100 \quad \text{（A.1）}$$

式中：

X_1 ——供试品的水分，单位为克每百克（g/100g）；

w_0 ——恒重后称量瓶的重量，单位为克（g）；

w ——供试品的重量，单位为克（g）；

w_1 ——恒重后供试品与称量瓶总重，单位为克（g）；

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的10%。

A.2.2 水不溶物

A.2.2.1 方法概要

试样粉末经水溶化后，弃去溶液，采用烘干法去除水分,再通过烘干前后的称量数值计算出水不溶物的含量。

A.2.2.2 仪器和设备

A.2.2.2.1 打粉机

A.2.2.2.2 电子天平：感量为0.1 mg

A.2.2.2.3 烧杯：50 mL

A.2.2.2.4 具塞离心管：10 mL

A.2.2.2.5 恒温水浴锅

A.2.2.2.6 离心机：转速≥2000 r/min

A.2.2.2.7 电热鼓风干燥箱

A.2.2.2.8 干燥器：内附有效干燥剂

A.2.2.3 分析步骤

A.2.2.3.1 **试样制备**：供试品粉碎均匀，密封后备用。

A.2.2.3.2 **测定**：称取1 g（精确至0.000 1 g）试样置于烧杯中，加水5 ml并加热至完全溶解。将溶液移入已恒重的具塞离心管中，然后用温水5 ml分3次洗涤，洗液并入离心管中，摇匀后置40 ℃水浴保温15 min。取出并以2000 r/min离心10 min，弃去上清液和上浮物。沿管壁加入温水至刻度，再次离心，重复操作3次。倾去上清液，将离心管置于105 ℃保温2 h。取出离心管，放入干燥器中0.5 h后称量。

A.2.2.4 结果计算

按公式A.2计算水分：

$$X_2 = \frac{m_1 - m_2}{m} \times 100 \quad \text{（A.2）}$$

式中：

X_2 ——供试品的水不溶物含量，单位为克每百克（g/100g）；

m_1 ——水不溶物和离心管的总量，单位为克（g）；

m_2 ——恒重后离心管的重量，单位为克（g）；

m——供试品的重量，单位为克（g）。

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的10%。

A.2.3 氨基酸

A.2.3.1 方法概要

试样中的蛋白质经盐酸水解游离氨基酸，经异硫氰酸苯酯衍生后，以高效液相色谱法测定，外标法定量。

A.2.3.2 试剂和材料

除另有说明外，在分析中仅使用分析纯试剂和GB/T 6682中规定的一级水。

A.2.3.2.1 试剂

需要试剂材料如下：

a) 浓盐酸：浓度36%~37%；
b) 异硫氰酸苯酯（PITC）；
c) 乙腈：色谱纯；
d) 三乙胺；
e) 正己烷；
f) 醋酸；
g) 醋酸钠：色谱纯。

A.2.3.2.2 试剂配制

试剂配置步骤如下：

a) 盐酸溶液（0.1 mol/L）：量取浓盐酸9 mL，用水定容1000 mL，备用。
b) 异硫氰酸苯酯-乙腈溶液（0.1 mol/L）：取0.3 mL异硫氰酸苯酯，用乙腈定容25 mL，混匀，备用。
c) 三乙胺-乙腈溶液（1 mol/L）：取三乙胺14 mL，加乙腈86 mL，混匀，备用；
d) 乙腈溶液（体积分数50%）：量取50 mL乙腈，加水50 mL，混匀，备用；
e) 乙腈-醋酸钠溶液：量取7 mL乙腈，93 mL醋酸钠溶液（0.1 mol/L），混匀后用醋酸调节pH至6.5，备用；
f) 乙腈-水溶液：量取800 mL乙腈，加水200 mL，混匀，备用。

A.2.3.2.3 对照品

氨基酸对照品：L-羟脯氨酸，甘氨酸，丙氨酸，L-脯氨酸（含量测定用）

A.2.3.3 仪器和设备

仪器和设备要求如下：

a) 电子天平：感量0.1 mg
b) 超声波处理器
c) 酒精喷灯
d) 电热恒温干燥箱
e) 恒温水浴锅
f) 高效液相色谱仪：配紫外检测器

A.2.3.4 分析步骤

A.2.3.4.1 对照品溶液的制备

取L-羟脯氨酸对照品、甘氨酸对照品、丙氨酸对照品、L-脯氨酸对照品适量，精密称定，加0.1 mol/L盐酸溶液制成每1 ml分别含L-羟脯氨酸80 μg、甘氨酸0.16 mg、丙氨酸70 μg、L-脯氨酸0.12 mg的混合溶液，备用。

A.2.3.4.2 供试品溶液的制备

取供试品粉末约0.25 g（精确至0.000 1 g），置25 ml容量瓶中，加0.1 mol/L盐酸溶液20 ml，超声处理（功率500 W，频率40 KHz）30 min，放冷，加0.1 mol/L盐酸溶液至刻度，摇匀。精密量取2 ml，置5 ml安瓿中，加盐酸2 ml，封口后放入电热恒温干燥箱中150 ℃水解1 h。放冷，移入蒸发皿中，用水10 ml分次洗涤，洗液并入蒸发皿中，置于恒温水浴锅上蒸至近干。用0.1 mol/L盐酸溶液溶解，并移入25 mL容量瓶中，加0.1 mol/L盐酸溶液定容至刻度，摇匀，备用。

A.2.3.4.3 衍生化

精密量取上述对照品溶液和供试品溶液各5 ml，分别置25 ml容量瓶中，各加0.1 mol/L异硫氰酸苯酯（PITC）-乙腈溶液2.5 ml，1 mol/L三乙胺-乙腈溶液2.5 ml，摇匀，室温放置1 h，加50%乙腈至刻度，摇匀。取10 ml置于试管内，加正己烷10 mL，振摇，静置10 min。取下层溶液，滤过，备用。

A.2.3.4.4 色谱条件与系统适用性试验

色谱条件与系统适用性试验说明如下：

a) 色谱柱：十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；

b) 柱温：43 ℃；

c) 检测波长：254 nm；

d) 流动相：A相：乙腈-0.1 mol/L醋酸钠溶液（用醋酸调节pH至6.5）（7:93），B：乙腈-水（4:1），洗脱程序见表A.3；理论板数按L-羟脯氨酸峰计算不应低于4000，分离度按丙氨酸与L-脯氨酸计不应低于1.5。

表A.3 氨基酸检测液相梯度洗脱程序

时间（min）	流动相A（%）	流动相B（%）
0～11	100→93	0→7
11～13.9	93→88	7→12
13.9～14	88→85	12→15
14～29	85→66	15→34
29～30	66→0	34→100

A.2.3.4.5 测定

分别精密吸取衍生化后的对照品溶液与供试品溶液各5 μl,注入液相色谱仪，测定，备用。

A.2.3.5 结果计算

按公式A.3计算氨基酸含量：

$$X_3 = \frac{c \times v \times 12.5}{m \times 10^3} \times 100 \quad \text{（A.3）}$$

式中：

X_3 ——供试品的氨基酸含量，单位为克每百克（g/100g）；

c ——待测液中氨基酸的测定值，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

v ——供试品的溶解体积，单位为毫升（mL）；

12.5 ——稀释倍数；

m——供试品（折干后）的重量，单位为克（g）；

平行样的相对偏差不应过2.0%。

A.2.4 驴源多肽

A.2.4.1 方法概要

试样溶解后用胰蛋白酶酶解，采用高效液相色谱-串联质谱测定驴源多肽A_1和驴源多肽A_2，外标法定量。

A.2.4.2 试剂和材料

除另有说明外，在分析中仅使用分析纯试剂和GB/T 6682中规定的一级水。

A.2.4.2.1 试剂

需要试剂材料如下：

a） 碳酸氢铵；

b） 胰蛋白酶；酶活不低于10000IU；

c） 甲酸：质谱纯；

d） 乙腈：色谱纯。

A.2.4.2.2 试剂配制

试剂配置步骤如下：

a） 碳酸氢铵溶液（1 %）：称取5.0 g碳酸氢铵，用水溶解并定容至500 mL。

b） 胰蛋白酶溶液(2 mg/mL)：称取2 mg胰蛋白酶，加入1 mL 1%碳酸氢铵溶液溶解，现用现配。

c） 甲酸溶液(0.1 %)：移取1 mL甲酸，用超纯水定容至1000 mL。

A.2.4.2.3 标准品

标准品要求如下：

a） 驴源多肽A_1（$C_{41}H_{68}N_{12}O_{13}$）：含量测定用。

b） 驴源多肽A_2（$C_{51}H_{82}N_{18}O_{18}$）：含量测定用。

c） 驴源多肽混合对照品储备液（0.1 mg/mL）：精密称取驴源多肽A_1、驴源多肽A_2各10 mg于100 mL容量瓶中，加1 % 碳酸氢铵溶液80 mL，超声至完全溶解，用1 % 碳酸氢铵溶液稀释至刻度，分装后冷冻保存。

A.2.4.2.4 标准溶液

取驴源多肽混合对照品储备液适量，加1%碳酸氢铵溶液制成每毫升含驴源多肽A_1为0.05 μg，0.1 μg，0.25 μg，0.5 μg，1.0 μg，1.25 μg，含驴源多肽A_2为0.05 μg，0.1 μg，0.25 μg，0.5 μg，1.0 μg，1.25 μg的标准溶液。

A.2.4.3 仪器和设备

A.2.4.3.1 粉碎机

A.2.4.3.2 分析天平：感量分别为0.01 g和0.000 1 g

A.2.4.3.3 超声波处理器

A.2.4.3.4 电热鼓风干燥箱

A.2.4.3.5 高效液相色谱-串联质谱仪，配有电喷雾（ESI）离子源

A.2.4.4 分析步骤

A.2.4.1 试样制备

称取样品粉末0.1 g，精密称定，置50 mL容量瓶中，加1 %碳酸氢铵溶液40 mL，超声处理（功率 250 W，频率 40 kHz）30 min，加1 %碳酸氢铵溶液稀释至刻度，摇匀。精密量取上述溶液1 mL置5 mL容量瓶中，加胰蛋白酶溶液2 mL ~4 mL（实际用量应根据酶活性确定），用1 %碳酸氢铵溶液稀释至刻度，摇匀，37 ℃恒温酶解12 h，过0.22 μm滤膜，备用。

A.2.4.2 仪器参考条件

A.2.4.2.1 液相色谱条件

液相色谱条件说明如下：

a) 色谱柱：C_{18}（100 mm×2.1 mm，1.7 μm），或相当者；
b) 进样量：5 μL；
c) 流动相、流速及梯度洗脱条件见表A.4。

表A.4 驴源多肽检测液相梯度洗脱程序

时间/min	流速/（mL/min）	0.1%甲酸水溶液/（%）	乙腈/（%）
0	0.3	97	3
5.0	0.3	95	5
25.0	0.3	83	17
25.1	0.3	0	100
34.0	0.3	0	100
34.1	0.3	97	3
40.0	0.3	97	3

A.2.4.2.2 质谱条件

质谱条件说明如下：

a) 电离方式：电喷雾离子源；
b) 扫描方式：正离子扫描；
c) 检测方式：多反应离子监测（MRM）；
d) 喷雾电压、离子源温度等参数应优化至最优灵敏度；
e) 脱溶剂气、碰撞气均为高纯氮气或其他合适气体；
f) 监测离子对参数情况见表 A.5。

表A.5 监测离子对参数

成分	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能（eV）
驴源多肽 A_1	469.25	712.3（定量）	25
		783.4（定性）	25
驴源多肽 A_2	618.35	779.4（定量）	26
		850.4（定性）	26

A.2.4.2.3 测定与峰的检出判定

按照上述条件测定标准溶液、阿胶对照药材溶液，各多肽离子峰的信噪比均应大于或等于10（S/N≥10）。理论塔板数按驴源多肽A_1峰计算不应低于4000。

A.2.4.3 标准曲线的制作

将标准溶液注入液相色谱-质谱联用仪中，测定驴源多肽的信号响应值。以标准溶液的浓度为横坐标，以多肽的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

A.2.4.4 试样溶液的测定

将待测液注入液相色谱-质谱联用仪中，测定驴源多肽的信号响应值，根据标准曲线分别得到待测液中驴源多肽A_1和驴源多肽A_2的浓度。

A.2.4.5 结果计算

试样中驴皮源成分含量按公式（A.6）计算：

$$X_4 = \frac{(C_1+C_2)\times 5\times V}{m\times 10^6}\times 100 \quad \cdots\cdots (A.6)$$

式中：

X_4 ——试样中驴源多肽含量，单位为克每百克（g/100g）；

C_1 ——从标准曲线中读出的待测液中驴源多肽A_1的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

C_2 ——从标准曲线中读出的待测液中驴源多肽A_2的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

V ——试样的定容体积，50 mL；

5——稀释倍数；

m ——称取试样（折干后）质量，单位为克（g）；

以两个平行试样测定结果的算术平均值报告结果，保留两位小数。

A.2.5 动物皮源成分

A.2.5.1 方法概要

试样溶解后经胰蛋白酶酶解，用高效液相色谱-串联质谱测定驴皮源、牛皮源、猪皮源和马源特征肽，利用阿胶对照药材、牛皮特征肽A、新阿胶对照药材和马源寡肽A，分别检查是否含有驴皮源、牛皮源、猪皮源成分和马源成分。

A.2.5.2 试剂和材料

除另有说明外，在分析中仅使用分析纯试剂和GB/T 6682中规定的一级水。

A.2.5.2.1 试剂

同A.2.4.2.1。

A.2.5.2.2 试剂配制

同A.2.4.2.2。

A.2.5.2.3 标准品

标准品要求如下：

a) 阿胶对照药材；

b) 牛皮特征肽A：供检查用；

c) 新阿胶对照药材；
d) 马源寡肽A：供检查用。

A.2.5.2.4 标准溶液配制

标准溶液配置要求如下：

a) 阿胶对照药材溶液（2.0 mg/mL）：精密称取阿胶对照药材粉末0.20 g于100 mL容量瓶中，加1%碳酸氢铵溶液80 mL，超声至完全溶解，用1 % 碳酸氢铵溶液稀释至刻度。
b) 混合对照品溶液：分别精密称取马源寡肽A、牛皮特征肽A、新阿胶对照药材适量，用阿胶对照药材溶液溶解，制成每毫升含马源寡肽A 0.2 μg，牛皮特征肽A 0.3 μg，新阿胶0.1 mg的溶液。过0.22 μm滤膜，取续滤液200 μL，加入20 μL胰蛋白酶溶液，混匀，37℃恒温酶解12 h，备用。

A.2.5.3 仪器和设备

同A.2.4.3。

A.2.5.4 试验步骤

取样品粉末0.10 g，精密称定，置50 mL容量瓶中，加1 %碳酸氢铵溶液40 mL，超声处理30 min，用1 %碳酸氢铵溶液稀释至刻度，摇匀。过0.22 μm滤膜，取续滤液200 μL，加入20 μL胰蛋白酶溶液（实际用量应根据酶活性确定），混匀，37℃恒温酶解12 h，备用。

A.2.5.5 仪器参考条件

A.2.5.2.1 液相色谱条件

液相色谱条件说明如下：

a) 色谱柱：C_{18}色谱柱（50 mm×2.1 mm,1.7 μm）或相当者；
b) 流动相：A: 0.1 %甲酸-水 B: 0.1 %甲酸-乙腈，梯度洗脱程序见表A.4；
c) 流速：300 μL/min；
d) 进样量：5 μL。

A.2.5.2.2 质谱条件

质谱条件说明如下：

a) 电离方式：电喷雾离子源；
b) 扫描方式：正离子扫描；
c) 检测方式：多反应离子监测（MRM）；
d) 喷雾电压、离子源温度等参数应优化至最优灵敏度；
e) 脱溶剂气、碰撞气均为高纯氮气或其他合适气体；
f) 监测离子对参数情况见表 A.6。

表A.6 监测离子对参数

成分	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能（eV）
驴皮源	539.8	612.4	25
		923.8	22
牛皮源	641.3	726.2	24

		783.3	26
猪皮源	774.5	977.8	20
		1034.6	20
马源	386.3	322.3	12
		377.3	10

A.2.5.2.3 色谱测定与峰的检出判定

按照上述条件测定待测液、混合对照品溶液，混合对照品溶液的各离子对的提取离子色谱峰的信噪比均应大于或等于10（S/N≥10）。如果待测液中同一母离子的两个离子对的色谱保留时间与混合对照品溶液相比在±2.5%的允许偏差之内，且待测液的两个离子对的提取离子色谱峰的信噪比大于或等于10（S/N≥10），则可判定为待测液中检出相应的色谱峰。

A.2.5.6 测定

将待测液、混合对照品溶液分别注入液相色谱-质谱联用仪中，测定各皮源成分离子对的信号响应值。

A.2.5.7 结果判定

A.2.5.7.1 驴皮源成分

若供试品的m/z 539.8→m/z 612.4、923.8提取离子流图色谱中，同时出现与混合对照品溶液色谱保留时间相同的色谱峰，视为检出；否则视为未检出。

A.2.5.7.2 牛皮源成分

若供试品的m/z 641.3→m/z 726.2、783.3提取离子流图色谱中，同时出现与混合对照品溶液色谱保留时间相同的色谱峰，且供试品色谱中m/z 641.3（双电荷）→m/z 726.2的色谱峰面积值大于混合对照品溶液的峰面积值，视为检出；否则，视为未检出。

A.2.5.7.3 猪皮源成分

若供试品的m/z 774.5→m/z 977.8、1034.6提取离子流图色谱中，同时出现与混合对照品溶液色谱保留时间相同的色谱峰，且供试品色谱中m/z 774.5（双电荷）→m/z 977.8的色谱峰面积值大于混合对照品溶液的峰面积值，视为检出；否则，视为未检出。

A.2.5.7.4 马源成分

若供试品的m/z 386.3→m/z 322.3、377.3提取离子流图色谱中，同时出现与混合对照品溶液色谱保留时间相同的色谱峰，且供试品色谱中m/z 386.3（双电荷）→m/z 377.3的色谱峰面积值大于混合对照品溶液的峰面积值，视为检出；否则，视为未检出。

A.2.6 铅、砷、镉、汞、铜、铬

按照GB/T 5009.268（第一法）规定的方法测定。

A.2.7 菌落总数

按照GB 4789.2规定的方法测定。

A.2.8 大肠菌群

按照GB 4789.3（第一法）规定的方法测定。

工业和信息化部标准报批公示

A.2.9 霉菌和酵母菌

按照GB 4789.15（第一法）规定的方法测定。

工业和信息化部标准报批公示

附　录　B

（规范性）

阿胶糕中阿胶含量测定方法

B.1 方法概要

试样中的阿胶经三氯乙酸分离提取，胰蛋白酶酶解，采用液相色谱-质谱/质谱仪测定阿胶多肽，以阿胶对照药材溶液制备标准溶液，外标法定量。

B.2 试剂和材料

除另有说明外，在分析中仅使用分析纯试剂和GB/T 6682中规定的一级水。

B.2.1 试剂

B.2.1.1 乙腈：色谱纯。

B.2.1.2 甲酸：色谱纯。

B.2.1.3 碳酸氢铵：优级纯。

B.2.1.4 三氯乙酸。

B.2.1.5 丙酮。

B.2.1.6 胰蛋白酶：酶活不低于10000IU。

B.2.2 溶液配制

B.2.2.1 1 %碳酸氢氨溶液：称取碳酸氢铵10.0 g，用水定容至1 000 mL。

B.2.2.2 30 %三氯乙酸溶液：称取三氯乙酸214.3 g，用水定容至500 mL。

B.2.2.3 1 mg/mL胰蛋白酶溶液：称取1 mg胰蛋白酶，用1 %碳酸氢铵溶液1 mL溶解混匀，现用现配。

B.2.2.4 0.1 %甲酸-水溶液：量取甲酸1 mL，用水定容至1 000 mL。

B.2.2.5 0.1 %甲酸-乙腈溶液：取甲酸1 mL，用乙腈定容至1 000 mL。

B.2.3 标准品

阿胶（对照药材）。

B.2.4 标准储备溶液的配制

准确称取阿胶对照药材0.10 g，用1 %碳酸氢铵溶液超声溶解，再用1 %碳酸氢铵溶液定容至50 mL，配制成浓度为2.0 mg/mL的阿胶标准储备溶液。-20 ℃以下避光保存，有效期3个月。

B.2.5 材料

滤膜：0.22 μm。

B.3 仪器和设备

B.3.1 液相色谱-质谱/质谱分析仪：配有电喷雾离子源（ESI）

B.3.2 分析天平：感量为 0.01 g 和 0.000 01 g

B.3.3 高速粉碎机

B.3.4 超声波仪

B.3.5 离心机

B.3.6 涡旋混合器

B.3.7 电热恒温水槽

B.4 试样制备与保存

B.4.1 试样的制备

取出代表性样品，固体样品冷冻后经粉碎机粉碎，用四分法缩分出不少于5.0 g试样，粉状样品均分成两份，每份不少于5.0 g，装入清洁容器内，加封后作出标记，一份作试样，一份作留样。

B.4.2 试样的保存

按照样品产品标签规定的贮藏条件保存，未标明贮藏条件的，常温避光保存。

B.5 试验步骤

B.5.1 试样溶解

称取试样50g~100g（或经均质后试样5.0 g），精确至0.01 g，准确加入10倍量水，超声溶解，用水补足损失的重量。

B.5.2 提取

精密移取2 mL样品溶液，缓缓加入等体积的30 %三氯乙酸溶液，充分振荡混匀，4 ℃静置20 min，7 000×g离心5 min，弃上清液，用2 mL冰浴丙酮洗涤沉淀，7 000×g离心5 min后弃丙酮清液；继续用2 mL冰浴丙酮洗涤，待丙酮挥发，加入1 %碳酸氢铵溶液20 mL超声至溶解，制得阿胶提取液样品。

B.5.3 酶解

阿胶提取液样品通过0.22 μm滤膜过滤，取400 μL滤液，加入40 μL胰蛋白酶溶液，混匀，37 ℃恒温酶解16 h，待测。

B.5.4 标准工作溶液制备

取标准储备溶液2 mL，按B.5.2制得阿胶提取液2 mL，过0.22 μm滤膜，分别取滤液50 μL、100 μL、200 μL、300 μL、400 μL，分别加入1 %碳酸氢铵溶液350 μL、300 μL、200 μL、100 μL、0 μL，制得阿胶含量分别为0.25 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL标准工作溶液，分别加入40 μL胰蛋白酶溶液，混匀，37 ℃恒温酶解16 h，备用。

B.5.5 测定

B.5.5.1 色谱参考条件

色谱参考条件如下：

g) 色谱柱：C_{18}色谱柱（50 mm×2.1 mm，1.7 μm）或相当者；

h) 流动相：A 相：0.1%甲酸-水 B 相：0.1%甲酸-乙腈；

i) 流速：0.3 mL/min；

j) 进样量：5 μL；

k) 柱温：30 ℃；

l) 流动相梯度洗脱程序见表 B.1。

表B.1 梯度洗脱程序

时间/min	A 相/%	B 相/%
0.0	95	5
1.0	95	5
4.5	70	30
5.5	70	30
5.6	5	95
6.6	5	95
6.7	95	5
8.0	95	5

B.5.5.2 质谱条件

质谱参考条件如下：

a) 电离方式：电喷雾离子源；

b) 扫描方式：正离子扫描；

c) 检测方式：多反应离子监测（MRM）；

d) 喷雾电压、离子源温度等参数应优化至最优灵敏度；

e) 脱溶剂气、碰撞气均为高纯氮气或其他合适气体；

f) 监测离子对参数情况见表 B.2。

表B.2 监测离子对参数

离子对	质荷比（m/z）	碰撞能量(eV)
定性离子对	591.8/556.3	22
定量离子对	591.8/910.5	22

B.5.5.3 定性测定

在同样测试条件下，试样溶液中阿胶特征肽的保留时间与标准工作液中的保留时间偏差在±2.5%以内，且离子对丰度比与浓度接近的标准溶液离子对相对丰度比偏差符合表B.3要求。

表B.3 定性确证时相对离子丰度的允许偏差

相对离子丰度（%）	＞50	＞20～50	＞10～20	≤10
允许的最大偏差（%）	±20	±25	±30	±50

B.5.5.4 定量测定

以阿胶标准溶液浓度为横坐标，以定量离子对的峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线，按外标法计算试样中阿胶的含量，在上述色谱-质谱条件下，阿胶标准工作溶液特征离子质量色谱图见附录。

B.5.6 空白试验

除不加试样外，采用完全相同的测定步骤进行测定。

B.6 结果计算和表述

试样中阿胶的含量按式（B.1）计算：

$$X_5 = \frac{C \times V \times K}{m \times 1000} \times 100 \quad \text{(B.1)}$$

式中：

X_5 ——试样中阿胶的含量，单位为克每百克（g/100g）；

C ——从标准曲线得到的试样测定液中阿胶的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

V ——样品溶液的体积，单位为毫升（mL）；

K ——稀释倍数；

m ——称取试样的质量，单位为克（g）。

B.7 检测方法的定量限、回收率和精密度

B.7.1 定量限

本方法的定量限为0.02 mg/mL。

B.7.2 回收率

本方法在0.2 mg/mL～0.6 mg/mL添加阿胶浓度水平的回收率为95.0 %～107.9 %。

B.7.3 精密度

本方法批内相对标准偏差≤15 %，批间相对标准偏差≤20 %。

工业和信息化部标准报批公示

附　录　C

（规范性）

阿胶糕中驴皮源、牛皮源、猪皮源、马源成分检测方法

C.1 方法概要

试样中的蛋白成分经分离、胰蛋白酶酶解后，得到多肽，采用高效液相色谱-串联质谱检测牛皮源、猪皮源、马源特征肽，利用阿胶对照药材、牛皮特征肽A、新阿胶对照药材、马源寡肽A分别检查是否含有驴皮源、牛皮源、猪皮源、马源成分。

C.2 试剂和材料

除另有说明外，在分析中仅使用分析纯试剂和GB/T 6682中规定的一级水。

C.2.1 试剂

同B.2.1。

C.2.2 试剂配制

同B.2.2。

C.2.3　标准品

C.2.3.1　阿胶（对照药材）。

C.2.3.2　牛皮特征肽A：供检查用。

C.2.3.3　新阿胶（对照药材）。

C.2.3.4　马源寡肽A：供检查用。

C.2.4　标准溶液配制

C.2.4.1 阿胶对照药材溶液（1.0 mg/mL）：精确称量阿胶对照药材粉末0.10 g于100 mL容量瓶中，加1%碳酸氢铵溶液80 mL，超声至完全溶解，用1 % 碳酸氢铵溶液定容至刻度。

C.2.4.2 混合对照品溶液：分别精确称量马源寡肽A、牛皮特征肽A、新阿胶对照药材适量，用阿胶对照药材溶液（C.2.4.1）溶解，制成每毫升含马源寡肽A 0.1 μg，牛皮特征肽A 0.15 μg，新阿胶0.05 mg的溶液。过0.22 μm滤膜，取续滤液200 μL，加入20 μL胰蛋白酶溶液，混匀，37℃恒温酶解12 h，备用。

C.3 仪器和设备

同B.3。

C.4 试样制备与保存

按B.4.1~B.4.2的方法制备。

C.5 试验步骤

C.5.1 试样溶解

称取试样50~100g（或经均质后试样5.0g），精确至0.01 g，准确加入10倍量水，超声溶解，用水补足损失的重量，制得试样溶液。

C.5.2 净化及酶解

量取10mL试样溶液，于12 000×g离心10 min。取离心上清液1mL，用0.22 μm滤膜过滤，取400 μL滤液，加入40 μL胰蛋白酶溶液，混匀，37 ℃恒温酶解16 h，制得待测液。

C.5.3 测定

C.5.3.1 色谱参考条件

同B.5.5.1。

C.5.3.2 质谱参考条件

质谱参考条件说明如下：

a) 电离方式：电喷雾离子源；
b) 扫描方式：正离子扫描；
c) 检测方式：多反应离子监测（MRM）；
d) 喷雾电压、离子源温度等参数应优化至最优灵敏度；
e) 脱溶剂气、碰撞气均为高纯氮气或其他合适气体；
f) 监测离子对参数情况见表C.1。

表C.1 监测离子对参数

成分	母离子(m/z)	子离子(m/z)	参考保留时间（min）	碰撞能（eV）
驴皮源	539.8	612.4	3.29	25
		923.8	3.29	22
牛皮源	641.3	726.2	2.96	24
		783.3	2.96	26
猪皮源	774.5	977.8	3.75	20
		1034.6	3.72	20
马源	386.3	322.3	2.02	12
		377.3	2.02	10

C.5.3.3 测定与峰的检出判定

按照上述条件测定待测液、混合对照品溶液，混合对照品溶液的各离子对的峰的信噪比均应大于或等于10（S/N≥10）。如果待测液中同一母离子的两个离子对的保留时间与混合对照品溶液相比在±2.5%的允许偏差之内，且待测液的两个离子对峰的信噪比大于或等于10（S/N≥10），则可判定为待测液中检出相应的离子对峰。

C.6 结果判定

C.7.1 驴皮源成分

若供试品的m/z 539.8→m/z 612.4、923.8提取离子流图色谱中，同时出现与混合对照品溶液色谱保留时间相同的色谱峰，视为检出；否则视为未检出。

C.7.2 牛皮源成分

若供试品的m/z 641.3→m/z 726.2、783.3提取离子流图色谱中，同时出现与混合对照品溶液色谱保留时间相同的色谱峰，且供试品色谱中m/z 641.3（双电荷）→m/z 726.2的色谱峰面积值大于混合对照品溶液的峰面积值，视为检出；否则，视为未检出。

C.7.3 猪皮源成分

若供试品的m/z 774.5→m/z 977.8、1034.6提取离子流图色谱中，同时出现与混合对照品溶液色谱保留时间相同的色谱峰，且供试品色谱中m/z 774.5（双电荷）→m/z 977.8的色谱峰面积值大于混合对照品溶液的峰面积值，视为检出；否则，视为未检出。

C.7.4 马源成分

若供试品的m/z 386.3→m/z 322.3、377.3提取离子流图色谱中，同时出现与混合对照品溶液色谱保留时间相同的色谱峰，且供试品色谱中m/z 386.3（双电荷）→m/z 377.3的色谱峰面积值大于混合对照品溶液的峰面积值，视为检出；否则，视为未检出。

工业和信息化部标准报批公示

参 考 文 献

【1】 《中华人民共和国药典》

【2】 国家食品药品监督管理局药品补充检验方法和检验项目 批准件号：2011012 阿胶中铬（Cr）含量检查的补充检验方法

【3】 国家食品药品监督管理局药品补充检验方法和检验项目 批准件号：2012001 阿胶中牛皮源含量的补充检验方法

【4】 国家食品药品监督管理局药品补充检验方法 批准件号：BJY201917 阿胶中猪皮源成分检查项补充检验方法

【5】 中国中药协会团体标准《阿胶质量规范》（标准编号：T/CATCM 008-2019）

【6】 山东省地方标准《阿胶及含阿胶的食品中动物皮源性成分鉴定方法》（标准编号：DB37/T 4009-2020）

【7】 山东省地方标准《含阿胶的食品中阿胶含量的测定方法》（标准编号：DB37/T 4010-2020）

工业和信息化部标准报批公示