



中华人民共和国国家标准

GB 15570—2010

食品安全国家标准

食品添加剂 叶酸

2010-12-21 发布

2011-02-21 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

本标准代替 GB 15570—1995《食品添加剂 叶酸》。

本标准与 GB 15570—1995 相比，主要变化如下：

- 叶酸的质量分数指标由 95%~102%修改为 96%~102%；
- 灼烧残渣指标由 $\leq 0.1\%$ 修改为 $\leq 0.2\%$ ；
- 叶酸的测定方法取消了比色分光法，高效液相色谱的定量方法由内标法修改为外标法；
- 完善了水分测定方法。

本标准的附录 A 为规范性附录，附录 B 为资料性附录。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB 15570—1995。

食品安全国家标准

食品添加剂 叶酸

1 范围

本标准适用于化学合成法制得的食品添加剂叶酸。

2 规范性引用文件

本标准中引用的文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本标准。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

3 化学名称、分子式、结构式和相对分子质量

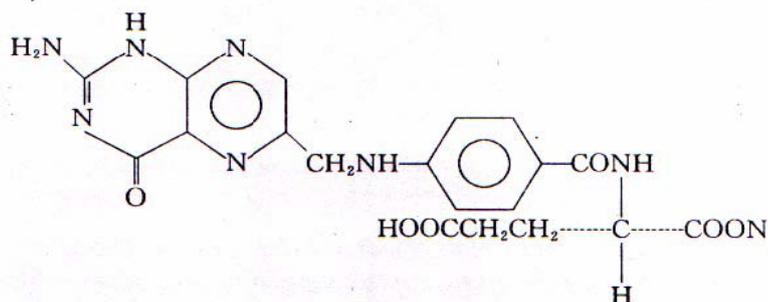
3.1 化学名称

N-{-(2-氨基-1,4-二氢-4-氧代-6-嘧啶) 甲氨基] 苯甲酰基}-L-谷氨酸

3.2 分子式

$C_{19}H_{19}N_7O_6$

3.3 结构式



3.4 相对分子质量

441.40（按2007年国际相对原子质量）

4 技术要求

4.1 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	黄色或橙黄色	取适量样品置于清洁、干燥的白瓷盘中，在自然光线下，观察其色泽和组织状态。
组织状态	结晶性粉末	

4.2 理化指标：应符合表 2 的规定。

表2 理化指标

项 目	指 标	检验方法
叶酸 (C ₁₉ H ₁₉ N ₇ O ₆ , 以干基计), w/%	96.0~102.0	附录 A 中 A.4
水分, w/%	≤ 8.5	附录 A 中 A.5
灼烧残渣, w/%	≤ 0.2	附录 A 中 A.6
重金属(以Pb计)/ (mg/kg)	≤ 10	附录 A 中 A.7
砷(As)/ (mg/kg)	≤ 3	GB/T 5009.76

附录 A
(资料性附录)
检验方法

A.1 安全提示

本标准试验方法中使用的部分试剂具有毒性或腐蚀性,按相关规定操作,操作时需小心谨慎。若溅到皮肤上应立即用水冲洗,严重者应立即治疗。在使用挥发性酸时,要在通风橱中进行。

A.2 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 6682-2008 中规定的三级水;试验中所用标准滴定溶液和其他所需溶液,在未注明时,均按 GB/T 601、GB/T 602、GB/T 603 之规定配制。

A.3 鉴别试验

A.3.1 试剂和材料

氢氧化钠溶液: $c(\text{NaOH})=0.1 \text{ mol/L}$ 。

A.3.2 仪器和设备

紫外分光光度计,附1cm 吸收池。

A.3.3 紫外吸收试验

称取实验室样品,加氢氧化钠溶液制成每1 mL中含10 μg 实验室样品的溶液,用紫外分光光度计测定,在256 nm \pm 2 nm, 283 nm \pm 2 nm, 365 nm \pm 4 nm的波长处有最大吸收,在256 nm与365 nm波长处的吸光度比值应为2.8~3.0。

A.4 叶酸的测定

A.4.1 试剂和材料

A.4.1.1 甲醇: 色谱级。

A.4.1.2 磷酸二氢钾。

A.4.1.3 氢氧化钾溶液: $c(\text{KOH})=0.1 \text{ mol/L}$ 。

A.4.1.4 氨水溶液: 0.5→100。

A.4.1.5 叶酸对照品。

A.4.2 仪器和设备

高效液相色谱仪。

A.4.3 色谱分析条件

推荐的色谱柱及典型色谱操作条件见表 A.1,叶酸典型高效液相色谱图参见附录 B,其他能达到同等分离程度和柱效的色谱柱和色谱条件均可使用。

表 A.1 色谱柱和典型色谱操作条件

色谱柱	柱长 25cm, 柱内径 4.6mm, 十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱。
流动相	6.8g 磷酸二氢钾与 70 mL 氢氧化钾溶液, 加水稀释至 850 mL, 并调节 pH 至 6.3 \pm 0.1, 加 80 mL 甲醇, 用水稀释成 1000 mL 的溶液。
流速	1mL/min。
检测波长	254 nm。

柱温	30℃, 控制精度±1℃。
----	---------------

A. 4. 4 分析步骤

A. 4. 4. 1 对照品溶液的制备:

称取约 10 mg 叶酸对照品, 精确至 0.02 mg, 置 50 mL 容量瓶中, 加 30 mL 氨水溶液溶解后, 用水稀释至刻度, 摇匀。

A. 4. 4. 2 实验室样品溶液的制备:

称取约 10 mg 实验室样品, 精确至 0.02 mg, 置 50 mL 容量瓶中, 加 30 mL 氨水溶液溶解后, 用水稀释至刻度, 摇匀。

A. 4. 4. 3 系统适用性试验

理论塔板数按叶酸峰计算应不低于 2000, 叶酸峰与相邻杂质峰的分离度应大于 1.5。

A. 4. 4. 4 测定

按表A.1色谱柱和典型色谱操作条件, 精密量取10 μL实验室样品溶液注入液相色谱仪, 记录色谱图; 另取叶酸对照品溶液, 同法测定。

A. 4. 5 结果计算

叶酸含量 (以C₁₉H₁₉N₇O₆计, 干基计) 的质量分数以 w_1 计, 数值以%表示, 按式 (A.1) 计算:

$$w_1 = \frac{A_1 \times m_1 \times w_2}{A_2 \times m \times (1 - w_3)} \times 100\% \dots\dots\dots (A.1)$$

式中: m ——实验室样品的进样量的数值, 单位为毫克 (mg);

m_1 ——叶酸对照品的进样量的数值, 单位为毫克 (mg);

w_2 ——叶酸对照品 (以C₁₉H₁₉N₇O₆计, 湿基计) 的质量分数的数值, 数值以%表示;

w_3 ——按A.5下测定实验品样品含水量的质量分数的数值, 数值以%表示;

A_1 ——实验室样品溶液中叶酸的峰面积的数值;

A_2 ——对照品溶液中叶酸的峰面积的数值。

取两次平行测定结果的算术平均值为测定结果, 两次平行测定结果的相对偏差不大于 2.0%。

A. 5 水分的测定

A. 5. 1 试剂和材料

A. 5. 1. 1 费休氏试液。

A. 5. 1. 2 无水甲醇。

A. 5. 2 仪器和设备

费休氏水分测定仪。

A. 5. 3 分析步骤

按《中华人民共和国药典》2005年版二部附录VIII M 水分测定法第一法A测定。称取约0.1 g 实验室样品, 精确至0.0002 g, 溶剂为无水甲醇, 用水分测定仪直接测定, 或将实验室样品置干燥的具塞玻璃瓶中, 加25mL~30mL无水甲醇, 在不断振摇 (或搅拌) 下用费休氏试液滴定至溶液由浅黄色变为红棕色, 或用永停滴定法指示终点; 另作空白试验。

A. 5.4 结果计算

实验室样品中水分的质量分数以 w_3 计，数值以%表示，按式 (A.2) 计算：

$$w_3 = \frac{(V_1 - V_0) \times F}{m} \times 100\% \dots\dots\dots (A.2)$$

式中： F ——每1mL费休氏试液相当于水的的质量的数值，单位为毫克每毫升 (mg/mL)；
 V_1 ——实验室样品消耗费休氏试液的体积的数值，单位为毫升 (mL)；
 V_0 ——空白所消耗费休氏试液的体积的数值，单位为毫升 (mL)；
 m ——实验室样品的质量的数值，单位为毫克 (mg)。

取两次平行测定结果的算术平均值为测定结果，两次平行试验的相对偏差应小于0.2%。

A. 6 灼烧残渣的测定

A. 6.1 试剂和材料

硫酸。

A. 6.2 分析步骤

称取约 1.0 g 实验室样品，精确至 0.0002 g，置已灼烧至恒重的坩埚中，缓缓灼烧至完全碳化，冷却至室温；加硫酸 0.5mL~1mL 使湿润，低温加热至硫酸蒸气除尽后，在 550℃±50℃灼烧使完全灰化，移至干燥器内，冷却至室温，精确称定后，再在 550℃±50℃灼烧至恒重。

A. 6.3 结果计算

灼烧残渣的质量分数以 w_4 计，数值以%表示，按式 (A.3) 计算：

$$w_4 = \frac{(m_2 - m_3)}{m} \times 100\% \dots\dots\dots (A.3)$$

式中： m_2 ——恒重坩埚和残渣的质量的数值，单位为克 (g)；
 m_3 ——恒重坩埚的质量的数值，单位为克 (g)；
 m ——实验室样品的质量的数值，单位为克 (g)。

取两次平行测定结果的算术平均值为测定结果，两次平行测定结果的绝对差值不大于0.02%。

A. 7 重金属的测定

A. 7.1 试剂和材料

A. 7.1.1 硝酸。

A. 7.1.2 硫酸。

A. 7.1.3 盐酸。

A. 7.1.4 甘油。

A. 7.1.5 乙酸铵。

A. 7.1.6 硝酸铅。

A. 7.1.7 硫代乙酰胺。

A. 7.1.8 氨试液：400→1000。

A. 7.1.9 氢氧化钠溶液： $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/L}$ 。

A. 7.1.10 盐酸溶液： $c(\text{HCl}) = 2 \text{ mol/L}$ 。

A. 7. 1. 11 盐酸溶液: $c(\text{HCl}) = 7 \text{ mol/L}$ 。

A. 7. 1. 12 氨水溶液: $c(\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}) = 5 \text{ mol/L}$ 。

A. 7. 1. 13 酚酞指示液: 10g/L 乙醇溶液。

A. 7. 1. 14 乙酸盐缓冲液 (pH3.5):

称取约 25 g 乙酸铵, 加 25 mL 水溶解后, 加 7 mol/L 盐酸溶液 38 mL, 用 2 mol/L 盐酸溶液或氨水溶液准确调节 pH 至 3.5 (pH 计), 用水稀释至 100 mL, 即得。

A. 7. 1. 15 硫代乙酰胺试液:

称取约 4 g 硫代乙酰胺, 精确至 0.01 g, 加水使溶解成 100 mL, 置冰箱中保存。临用前取 5.0 mL 混合液 (由 1 mol/L 15 mL 氢氧化钠溶液、5.0 mL 水及 20 mL 甘油组成), 加上述 1.0 mL 硫代乙酰胺溶液, 置水浴上加热 20s, 冷却, 立即使用。

A. 7. 1. 16 铅标准溶液:

称取约 0.160 g 硝酸铅, 精确至 0.000 2g, 置于 1000 mL 容量瓶中, 加 5 mL 硝酸与 50 mL 水溶解后, 用水稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液。临用前, 移取 $10 \text{ mL} \pm 0.02 \text{ mL}$ 贮备液, 置于 100 mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 即得 (每 1 mL 相当于 $10 \mu\text{g}$ 的 Pb)。配置与贮存用的玻璃仪器均不得含铅。

A. 7. 2 分析步骤

按《中华人民共和国药典》2005 年版二部附录 VIII H 重金属检查法第二法测定, 具体方法如下:

取 A.6 下遗留的残渣, 加 0.5 mL 硝酸, 蒸干, 至氧化氮蒸气除尽后 (或取实验室样品 1g, 缓缓灼烧至完全炭化, 冷却至室温, 加 0.5 mL~1.0 mL 硫酸, 使恰湿润, 用低温加热至硫酸除尽后, 加 0.5 mL 硝酸, 蒸干, 至氧化氮蒸气除尽后, 冷却至室温, 在 $500 \sim 600^\circ\text{C}$ 灼烧至完全灰化), 冷却至室温, 加 2 mL 盐酸, 置水浴上蒸干后加 15 mL 水, 滴加氨试液至对酚酞指示液显中性, 再加 2 mL 乙酸盐缓冲液 (pH3.5), 微热溶解后, 移置纳氏比色甲管中, 加水稀释成 25 mL; 另取配制实验室样品溶液的试剂, 置瓷皿中蒸干后, 加 2 mL 乙酸盐缓冲液 (pH3.5) 与 15 mL 水, 微热溶解后, 移置纳氏比色乙管中, 加 $1 \text{ mL} \pm 0.01 \text{ mL}$ 标准铅溶液, 再用水稀释成 25 mL; 再在甲乙两管中分别加各 2 mL 硫代乙酰胺试液, 摇匀, 放置 2min, 同置白纸上, 自上向下透视, 甲管中显示的颜色与乙管比较, 不得更深。

附录 B
(资料性附录)

叶酸含量测定典型高效液相色谱图

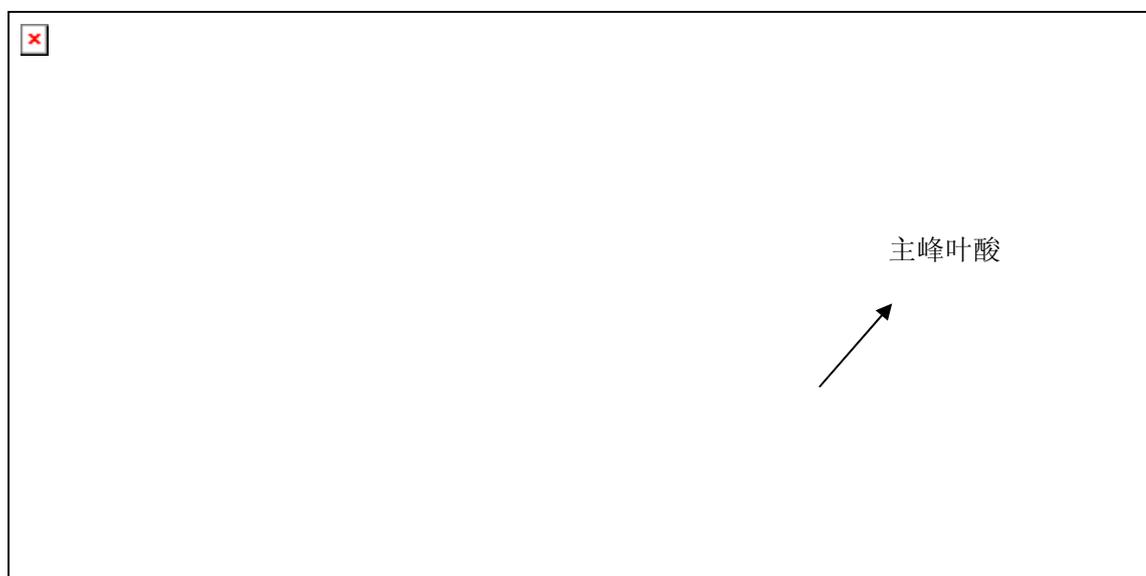


图 B.1 叶酸含量测定典型高效液相色谱图