

中华人民共和国国家标准

食品添加剂 叶酸

GB 15570—1995

Food additive—Folic acid

1 主题内容与适用范围

本标准规定了食品添加剂叶酸的技术要求、试验方法、检验规则及标志、包装、运输和贮藏的要求。本标准适用于化学合成法制得的叶酸，在食品工业中作为维生素类营养强化剂。

2 引用标准

中华人民共和国药典一九九〇年版二部

GB 8450 食品添加剂中砷的测定方法

GB 8451 食品添加剂中重金属限量试验法

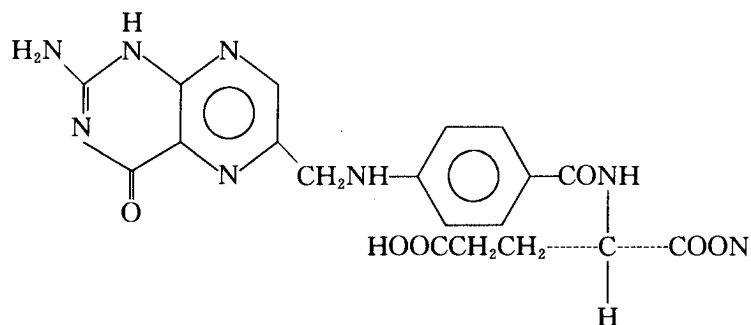
3 化学名称、分子式、结构式、分子量

化学名称：*N*-[4-[(2-氨基-1,4-二氢-4-氧代-6-蝶啶)甲氨基]苯甲酰基]-*L*-谷氨酸

N-[4-[(2-Amino-1,4-dihydro-4-oxo-6-pteridiny] methyl amino]benzoyl]-*L*-glutamic Acid

分子式： $C_{19}H_{19}N_7O_6$

结构式：



分子量：441.40(按 1987 年国际原子量计)

4 技术要求

4.1 性状

本品为黄色或橙黄色结晶性粉末；无臭、无味。在水、乙醇、丙酮、三氯甲烷或乙醚中不溶；在氢氧化钠和碳酸钠的稀溶液中溶解。

4.2 项目和指标

国家技术监督局 1995-06-02 批准

1995-12-01 实施

项 目	指 标
含量(以 $C_{19}H_{19}N_7O_6$ 计), %	96.0~102.0(第一法)
	95.0~102.0(第二法)
水 分, %	≤ 8.5
炽灼残渣, %	≤ 0.1
重金属(以 Pb 计), %	≤ 0.001
砷(以 As 计), %	≤ 0.0003

5 试验方法

本标准试验中所用试剂为分析纯试剂,水为蒸馏水或相应纯度的水,溶液为水溶液。

5.1 鉴别

5.1.1 试剂和溶液

氢氧化钠(GB 629);0.1 mol/L 溶液。

5.1.2 仪器设备

紫外分光光度计,附 1 cm 比色池。

5.1.3 鉴别方法

取样品,加氢氧化钠溶液制成每 1 mL 中含 10 μg 样品的溶液,用紫外分光光度计测定,在 256±2 nm,283±2 nm,365±4 nm 的波长处有最大吸收,吸收度 256 nm 与吸收度 365 nm 的比值应为 2.8~3.0。

5.2 叶酸含量测定

5.2.1 第一法 比色分光法

5.2.1.1 试剂和溶液

氢氧化钠(GB 629);0.1 mol/L 溶液。

盐酸(GB 622);2 mol/L 溶液。

锌粉(无砷锌)。

亚硝酸钠(GB 633);0.1%溶液。

氨基磺酸铵;0.5%溶液。

二盐酸萘基乙二胺;0.1%溶液。

对照品溶液的制备:称取叶酸对照品(同时测定水分)0.08 g(准确至 0.0002 g),置 100 mL 量瓶中,加氢氧化钠溶液使溶解,并稀释至刻度,摇匀(溶液 A)。精密吸取溶液 A 2 mL,置另一 100 mL 量瓶中,加盐酸溶液 20 mL,用水稀释至刻度,摇匀,即得。每 1 mL 中约含叶酸对照品 16 μg(溶液 B)。

样品溶液的制备:称取叶酸样品,按对照品溶液的制备法制备,即得。

5.2.1.2 仪器设备

分光光度计,附 1 cm 比色池。

5.2.1.3 测定方法

精密量取对照品溶液 B 与样品溶液 B 各 60 mL,分别置 250 mL 具塞锥形瓶中,各加锌粉 0.5 g(可稍过量),连续振摇 20 min,用干燥滤纸过滤,弃去初滤液,各精密吸取续滤液 2 mL,分别置 10 mL 量瓶中,各依次加水 3 mL,盐酸溶液 1 mL 与亚硝酸钠 1 mL,混匀,放置 2 min,各加氨基磺酸铵溶液 1 mL,混匀,放置 10 min,各加二盐酸萘基乙二胺溶液 1 mL,混匀,放置 10 min,用水稀释至刻度,摇匀。

另精密吸取对照品溶液 A 与样品溶液 A 各 20 mL, 分别置 100 mL 量瓶中, 各加盐酸溶液 20 mL, 用水稀释至刻度, 摇匀。各精密吸取 2 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 自“依次加水 3 mL”起, 依法操作;

另取水 2 mL 置 10 mL 量瓶中, 自“依次加水 3 mL”起, 依法操作, 作为空白, 用分光光度计测定, 以 1 cm 的比色池在 550 ± 1 nm 的波长处测定上述二组溶液的吸收度。

5.2.1.4 计算结果的表示

叶酸含量 X_1 (以质量百分数表示) 按式(1)计算:

$$X_1 = \frac{(A_2 - A_4/10) \cdot m_1(100 - X_2)}{(A_1 - A_3/10) \cdot m_2(100 - X_3)} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中: A_1 ——用锌粉还原的对照品溶液吸收度;

A_2 ——用锌粉还原的样品溶液吸收度;

A_3 ——未用锌粉还原的对照品溶液吸收度;

A_4 ——未用锌粉还原的样品溶液吸收度;

m_1 ——对照品质量, g;

m_2 ——样品质量, g;

X_2 ——对照品水分含量, %;

X_3 ——样品水分含量, %。

注: X_2 、 X_3 按 5.3 测定。

5.2.1.5 允许差

两次平行试验的相对偏差应小于 2%。

5.2.2 第二法 高效液相色谱法

5.2.2.1 试剂

磷酸二氢钾(GB 1274)。

氢氧化钾(HGB 3006): 0.1 mol/L 溶液。

甲醇(HPLC 色谱级)。

烟酰胺(药用级)。

氨水(GB 631): 0.5% 溶液。

叶酸对照品(中国卫生部生物制品鉴定所)。

5.2.2.2 仪器设备

高效液相色谱仪, 附十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱。

5.2.2.3 系统适用性试验

以磷酸二氢钾 6.8 g 与氢氧化钾液(0.1 mol/L) 70 mL, 加水稀释成约 850 mL 并调节 pH 至 6.3 ± 0.1 , 加甲醇 80 mL, 用水稀释成 1 000 mL 的溶液为流动相; 检测波长为 254 nm, 叶酸峰和内标物质峰的分离度应大于 1.5。

分离度(R)按式(2)计算:

$$R = \frac{2(t_{R_2} - t_{R_1})}{W_1 + W_2} \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中: t_{R_2} ——叶酸峰的保留时间;

t_{R_1} ——烟酰胺峰的保留时间;

W_1 ——叶酸峰的宽度;

W_2 ——烟酰胺峰的宽度。

5.2.2.4 校正因子测定

取烟酰胺适量,加水溶解并稀释成为 1 mL 中含 1.0mg 的溶液作为内标溶液;另称取叶酸对照品 5 mg(精确至 0.000 02 g)置 25 mL 量瓶中,加 0.5%氨溶液约 15 mL 溶解,精密加入内标溶液 5 mL,用同一溶剂稀释至刻度,摇匀,取 10 μ l 注入液相色谱仪,计算校正因子。

校正因子(F_1)按式(3)计算:

$$F_1 = \frac{A_5/m_3}{A_6/m_4} \dots\dots\dots(3)$$

式中: A_5 ——烟酰胺的峰面积;

A_6 ——叶酸对照品的峰面积;

m_3 ——烟酰胺的质量,g;

m_4 ——叶酸对照品的质量,g。

5.2.2.5 供试品溶液的制备与测定

取本品约 5 mg(精确至 0.000 02 g),按 5.2.2.4 校正因子测定项下的叶酸对照品溶液的制备和测定。

5.2.2.6 计算结果的表示

叶酸含量 X_4 (以质量百分数表示)按式(4)计算:

$$X_4 = F_1 \times \frac{A_7/m_5}{A_8/m_6} \times 100 \dots\dots\dots(4)$$

式中: F_1 ——校正因子;

A_7 ——叶酸峰面积;

A_8 ——烟酰胺峰面积;

m_5 ——样品的质量,g;

m_6 ——烟酰胺质量,g。

5.2.2.7 允许差

两次平行试验的相对偏差应小于 2%。

5.3 水分的测定

5.3.1 试剂

费休氏试液:配制方法和标定按中华人民共和国药典一九九〇年版二部附录 55 页。

无水甲醇(分析纯)。

三氯甲烷(GB 682)。

5.3.2 仪器设备

费休氏水分测定仪。

5.3.3 测定方法

称取样品 0.1 g(准确至 0.000 2 g),置干燥的具塞玻璃瓶中,加三氯甲烷无水甲醇(4:1)5 mL,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。同法作空白试验。

5.3.4 计算结果的表示

样品中水分含量 X_6 (以质量百分数表示)按式(5)计算:

$$X_6 = \frac{(T_1 - T_2) \cdot F_2}{m_7} \times 100 \quad \dots\dots\dots(5)$$

式中： F_2 ——每 1 mL 费休氏试液相当于水的质量，mg；
 T_1 ——样品消耗费休氏试液的体积，mL；
 T_2 ——空白所消耗费休氏试液的体积，mL；
 m_7 ——样品的质量，mg。

5.3.5 允许差

两次平行试验的相对偏差应小于 0.2%。

5.4 炽灼残渣的测定

5.4.1 试剂

硫酸(GB 625)。

5.4.2 测定方法

称取样品 1 g(准确至 0.01 g)，置于已在 700~800℃炽灼至恒重的瓷坩锅中，用小火缓缓加热至完全炭化，放冷后，加硫酸 0.5~1mL 使湿润，低温加热至硫酸蒸气除尽后，在 700~800℃下灼烧到恒重。

5.4.3 计算结果的表示

炽灼残渣 X_6 (以质量百分数表示)按式(6)计算：

$$X_6 = \frac{m_8 - m_9}{m_{10}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(6)$$

式中： m_8 ——坩埚加残渣质量，g；
 m_9 ——坩埚质量，g；
 m_{10} ——样品质量，g。

5.5 重金属的测定

5.5.1 第一法

按 GB 8451 测定，样品处理采用干法消解。此法为仲裁法。

5.5.2 第二法

按 5.4.2 方法操作(但在 500~600℃灼烧)，按中华人民共和国药典一九九〇年版二部附录 52 页第二法检查。

5.6 砷的测定

按 GB 8450 测定，样品按二乙氨基二硫代甲酸银比色法项下干灰化法处理。

6 检验规则

6.1 本产品应由生产厂的质量检验部门进行检验，生产厂家应保证所有的出厂产品均应符合本标准的要求，每批(件)出厂的产品都应附有产品检验合格证。

6.2 使用单位可按照本标准规定的检验规则和试验方法，对所收到的产品进行质量检验，检验其指标是否符合本标准的要求。

6.3 本产品经最后混合具有均一性的成品为一批。

6.4 取样方法及取样量

取样须备有清洁、干燥，具有可密闭性和避光性的样品瓶，瓶上贴有标签，注明生产厂名称、产品名称、批号及取样日期，每一包装为一件数，总件数 $n \leq 3$ ，取样数为每件取样，总件数 $n \leq 300$ 时，取样数为 $\sqrt{n} + 1$ ；总件数 $n > 300$ 时，取样数 $\frac{\sqrt{n}}{2} + 1$ ，每件等量取样，用四分法缩样，每批产品抽样 2 份，每份抽

样量应为检验所需样品的 3 倍量装入样品瓶中,一份送化验室检验,另一份密封保存,以备仲裁分析用。

6.5 如果在检验中有一项指标不符合标准时,应重新从两倍量以上的包装中抽样进行核验,产品重新检验结果即使只有一项指标不符合标准时,则该批不合格。

6.6 如供需双方对产品质量发生异议时,可由法定仲裁单位按本标准的验收规定和检验方法进行仲裁验收。

7 标志、包装、运输和贮藏

7.1 包装上应有牢固、鲜明标志,内容包括:产品名称、厂名、厂址、批准文号、商标、生产日期、批号、净重、质量等级、保质期等。

7.2 本品内包装用双层聚乙烯薄膜袋,封口,外包装用铁皮桶、纸板桶。

7.3 运输过程中应避免日晒雨淋、受热及撞击,搬运装卸小心轻放,不准与有毒、有害或其他有污染的物品混装、混运。

7.4 本品应在阴凉、干燥处保存。

7.5 本品在原包装条件下,保质期为三年。

附加说明:

本标准由国家医药管理局提出,由中国医药工业公司组织。

本标准由国家医药管理局天津药物研究院归口。

本标准由常州制药厂负责起草。

本标准主要起草人贺家英、张春华、许瑞群。

本标准非等效采用美国食品化学法典 **FCC1983** 年(Ⅱ)。