

## 附件 3

# L-苏糖酸镁等 3 种食品营养强化剂新品种

## 一、 L-苏糖酸镁

英文名称: Magnesium-L-Threonate

功能分类: 食品营养强化剂

### (一) 用量及使用范围

食品分类号	食品类别 (名称)	使用量
01.03.02	调制乳粉 (儿童用乳粉和孕产妇用乳粉除外)	300mg/kg ~ 1100mg/kg (以镁计)
14.0	饮料类 (14.01 及 14.06 涉及品种除外)	30mg/kg ~ 60mg/kg (以镁计)

### (二) 质量规格要求

#### 1 范围

本质量规格要求适用于以维生素 C、碳酸钙、碳酸镁等经过合成反应制成的食品营养强化剂 L-苏糖酸镁。

#### 2 化学名称、分子式、结构式、相对分子质量

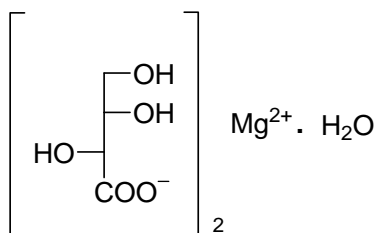
##### 2.1 化学名称

L-苏糖酸镁

##### 2.2 分子式

$Mg(C_4H_7O_5)_2 \cdot H_2O$

##### 2.3 结构式



##### 2.4 相对分子质量

312.51 (按 2007 年国际相对原子质量)

#### 3 技术要求

3.1 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	乳白色	取适量试样置于 50 mL 透明烧杯中, 在自然光下观察其色泽和状态, 嗅其气味。
气味	无臭	
状态	粉末、无结块、无肉眼可见杂质	

3.2 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
L-苏糖酸镁的含量, w/%	98.0~102.0	附录 A 中 A.3
镁 (Mg) / (mg/kg)	7.2~8.3	GB 5413.21
水分, w/%	≤ 1.0	GB 5009.3 直接干燥法
pH (1%溶液)	5.8~7.0	GB/T 9724
砷(As) /(mg/kg)	≤ 0.6	GB 5009.76
铅(Pb) /(mg/kg)	≤ 0.2	GB 5009.12
汞(Hg) /(mg/kg)	≤ 0.25	GB 5009.17

3.3 微生物指标：应符合表 3 的规定

表 3 微生物指标

项目	指标 (若非指定, 均以/25g 表示)	检验方法
菌落总数/ (CFU/g)	≤ 1000	GB 4789.2
大肠菌群/ (MPN/100g)	≤ 40	GB 4789.3-2003
霉菌和酵母/ (CFU/g)	≤ 25	GB 4789.15
致病菌 (沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌和溶血性链球菌)	不得检出	GB 4789.4, GB 4789.5, GB 4789.10, GB 4789.11

附录A  
检验方法

A.1 一般规定

本质量规格要求除另有规定外, 所用试剂的纯度均为分析纯, 所用标准滴定溶液、杂质测定用标准溶液、制剂及制品, 应按 GB/T 601、GB/T 602、GB/T 603 的规定制备, 实验用水应符合 GB/T 6682 中三级水的规定。试验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时, 均指水溶液。

A.2 鉴别试验

A.2.1 试剂和材料

A.2.1.1 氨-氯化铵缓冲液 (pH=10)。

A.2.1.2 铬黑 T 指示剂。

A.2.1.3 乙二胺四乙酸二钠 (EDTA) 标准溶液 (0.05 mol/L)。

A.2.2 鉴别试验

A.2.2.1 方法原理

络合滴定显色反应原理。

A.2.2.2 分析步骤

称 0.2g 试样加 50mL 水加热至澄清, 加 5mL pH=10 的氨水-氯化铵缓冲液, 加铬黑 T 指示剂约 0.1g, 显酒红色, 加入 40mL (0.05 mol/L) EDTA 溶液, 显示纯蓝色。

A.2.2.3 结果判定

呈正反应。即加铬黑 T 指示剂显酒红色, 再加入 EDTA 溶液显示纯蓝色。

A.3 L-苏糖酸镁含量的测定

### A. 3. 1 方法原理

在碱性条件下，以钙为指示剂，用乙二胺四乙酸二钠标准滴定液滴定样品（干品）水溶液，根据乙二胺四乙酸二钠标准滴定液的用量，以  $\text{Mg}(\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_5)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  计含量。

### A. 3. 2 试剂和材料

A. 3. 2. 1 氢氧化钠溶液：（10%）。

A. 3. 2. 2 钙指示剂。

A. 3. 2. 3 乙二胺四乙酸二钠（EDTA）标准滴定液：（0.05 mol/L）。

### A. 3. 3 分析步骤

称 0.2g 蔗糖酸镁加 50mL 水溶解，加入 10mL 氢氧化钠溶液调 pH 为 12，摇匀后加钙指示剂 0.1g，用 EDTA 标准溶液滴定至红色至蓝色。

在测定的同时，按与测定相同的步骤，对不加样品而相同的试剂溶液做空白试验。

### A. 3. 4 结果计算

L-蔗糖酸镁的质量分数  $w$  按式（A.1）计算：

$$w = c \times \frac{V}{1000} \times \frac{M}{w_1} \times 100\% \dots\dots\dots \text{(A.1)}$$

式中：

$c$ ——EDTA 滴定液的浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；

$V$ ——用去 EDTA 滴定液的体积，单位为毫升（mL）。

$w_1$ ——样品重量，单位为克（g）；

$M$ ——无水 L-蔗糖酸镁的摩尔质量，单位为克每摩尔（g/mol）（ $M=294.5$ ）；

1000——换算系数。

## 二、 低聚半乳糖

英文名称: Galacto-oligosaccharides (GOS)

功能分类: 食品营养强化剂

### (一) 用量及使用范围

用量及使用范围符合 GB14880 中低聚半乳糖(乳糖来源)的规定。

### (二) 质量规格要求

#### 1 范围

本质量规格要求适用于以乳糖为原料,经米曲霉(*Aspergillus oryzae*)生产的 $\beta$ -半乳糖苷酶催化水解半乳糖苷键,将乳糖水解成为半乳糖和葡萄糖,同时通过转移半乳糖苷的作用,将水解下来的半乳糖苷转移到乳糖分子,制得食品营养强化剂低聚半乳糖。

#### 2 技术要求

2.1 感官要求:应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项 目	指 标	检验方法
色泽与状态	无色透明至黄色黏稠液体	取适量试样置于清洁、干燥的白瓷盘或烧杯中,在自然光线下,观察其色泽和状态,并嗅(品)其味。
气味	无异味	
滋味	味甜	

2.2 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
低聚半乳糖含量(以干基计), w/%	$\geq$ 57	附录 A 中 A.2
乳糖含量(以干基计), w/%	$\leq$ 25	GB/T 22221-2008
葡萄糖含量(以干基计), w/%	$\leq$ 22	GB/T 22221-2008
硫酸灰分, w/%	$\leq$ 0.3	附录 A 中 A.3
pH	2.8~5.5	附录 A 中 A.4
铅(Pb)/(mg/kg)	$\leq$ 0.5	GB 5009.12

2.3 微生物限量:应符合表 3 的规定。

表 3 微生物限量

项目	指 标(若非指定,均以 /25g 表示)	检验方法
菌落总数/(CFU/g)	$\leq$ 3000	GB4789.2
大肠菌群/[MPN/g(mL)]	$\leq$ 3.0	GB4789.3
霉菌/(CFU/g)	$\leq$ 50	GB4789.15
酵母/(CFU/g)	$\leq$ 50	GB4789.15
金黄色葡萄球菌	不得检出	GB4789.10
沙门氏菌	不得检出	GB4789.4

### 附录 A

#### 检验方法

##### A.1 一般规定

本质量规格要求所用试剂和水,在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和GB/T 6682中规定的三级水。试验中所用标准滴定溶液、杂质测定用标准溶液、制剂及制品,在没有注明其他要求时,均按GB/T 601、GB/T 602、GB/T 603的规定制备。试验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时,均

指水溶液。

## A. 2 低聚半乳糖含量的测定

### A. 2. 1 高效离子交换色谱法

#### A. 2. 1. 1 方法提要

用磷酸盐缓冲液提取试样中游离的低聚半乳糖和乳糖,采用半乳糖苷酶将提取液中低聚半乳糖和乳糖酶解,将提取的初始溶液和酶处理过的溶液分别用高效离子色谱仪测定。第一步测定初始溶液中游离的半乳糖和乳糖,第二步测定从低聚半乳糖和乳糖中释放出的半乳糖总量。利用乳糖和半乳糖的含量计算试样中低聚半乳糖的含量。

#### A. 2. 1. 2 试剂和材料

除另有说明外,所有试剂均为分析纯,水为GB/T 6682规定的一级水。

A. 2. 1. 2. 1 磷酸二氢钾。

A. 2. 1. 2. 2 三水磷酸氢二钾。

A. 2. 1. 2. 3 浓盐酸。

A. 2. 1. 2. 4 氢氧化钠。

A. 2. 1. 2. 5 无水醋酸钠。

A. 2. 1. 2. 6 乙腈: 色谱级。

A. 2. 1. 2. 7 半乳糖苷酶: 活性约50000 U/g, 来源于米曲霉。

A. 2. 1. 2. 8 无水半乳糖: 纯度 $\geq 99\%$ 。

A. 2. 1. 2. 9 乳糖: 纯度 $\geq 99\%$ 。

A. 2. 1. 2. 10 葡萄糖: 纯度 $\geq 99\%$ 。

A. 2. 1. 2. 11 磷酸盐缓冲液 (0.2 mol/L, pH6.0): 分别称取22.0 g磷酸二氢钾和6.0 g三水磷酸氢二钾,用适量的水溶解,定容至1 L,120℃高压灭菌器中灭菌30 min,备用。

A. 2. 1. 2. 12 氢氧化钠溶液 (50%, 碳酸钠杂质含量小于1%): 称取100 g氢氧化钠,加100 mL水,搅拌至完全溶解,静置至碳酸钠沉淀,上层液体澄清(约需10天)。不用时密封。

A. 2. 1. 2. 13  $\beta$ -半乳糖苷酶溶液 (500 U/mL): 取适量半乳糖苷酶 (A. 2. 1. 2. 7) 混悬于磷酸盐缓冲液中,制成最终活力单位为500 U/mL的酶溶液,使用前充分振摇,酶溶液制备后8 h内使用。

A. 2. 1. 2. 14 乙腈溶液 (20%, 体积百分数): 取200 mL乙腈 (A. 2. 1. 2. 6) 加水稀释定容至1 L。

A. 2. 1. 2. 15 氢氧化钠溶液 (125 mmol/L): 取6.95 mL 50%氢氧化钠溶液 (A. 2. 1. 2. 12), 转移至1 L容量瓶中,去离子水定容至刻度,使用前脱气30 min。

A. 2. 1. 2. 16 乙酸钠-氢氧化钠溶液: 称取32.8g无水乙酸钠,用适量的水溶解,再移入氢氧化钠溶液 (A. 2. 1. 2. 12) 14 mL,用水定容至1 L,0.2  $\mu$ m滤膜过滤,使用前脱气30 min。

A. 2. 1. 2. 17 半乳糖标准储备液: 取一定量半乳糖在105℃烘箱中干燥4 h,准确称取0.1g干燥后的半乳糖,精确至 $\pm 0.1$ mg,加水溶解并转移至100 mL容量瓶中,用水稀释定容。

A. 2. 1. 2. 18 乳糖标准储备液: 取一定量乳糖在105℃烘箱中干燥4 h。准确称取0.1g干燥后的乳糖,精确至 $\pm 0.1$ mg,加水溶解并转移至100 mL容量瓶中,用水稀释定容。

注: 上述烘干后的乳糖乘以0.95即为无水乳糖重量。

A. 2. 1. 2. 19 葡萄糖标准储备液: 称取一定量葡萄糖在105℃烘箱中干燥4 h,准确称取0.1g干燥后的葡萄糖,精确至 $\pm 0.1$ mg,加水溶解并转移至100 mL容量瓶中,用水稀释定容。

A. 2. 1. 2. 20 半乳糖、乳糖、葡萄糖混合工作液: 分别移取半乳糖、乳糖、葡萄糖的标准储备液各10.0 mL,于100 mL容量瓶中,用水稀释定容。

#### A. 2. 1. 3 仪器和设备

A. 2. 1. 3. 1 高效离子色谱仪: 配备脉冲安培检测器。

A. 2. 1. 3. 2 pH计。

A. 2. 1. 3. 1分析天平: 感量为0.1 mg。

- A. 2. 1. 3. 1水浴振荡器： 40 °C~100 °C。
- A. 2. 1. 3. 1移液器： 100 μL及1000 μL。
- A. 2. 1. 3. 1离心机： 转速≥5000 r/min。
- A. 2. 1. 3. 1超声清洗机。
- A. 2. 1. 3. 1涡旋混合器。
- A. 2. 1. 4 色谱参考条件
- A. 2. 1. 4. 1 色谱柱： PA20阴离子交换色谱柱（150 mm×3 mm， 颗粒3.5 μm）， 保护柱（30 mm×3 mm）或等效色谱柱。
- A. 2. 1. 4. 2 柱温： 30°C；
- A. 2. 1. 4. 3 流动相： 洗脱梯度见表A. 1；
- A. 2. 1. 4. 4 流动相流速： 0.4 mL/min；
- A. 2. 1. 4. 5 进样量： 20 μL；
- A. 2. 1. 4. 6 检测器：脉冲安培检测器，金工作电极，Ag/AgCl 参比电极，检测器时间程序，参见表A. 2。

表A. 1梯度洗脱程序表

时间 (min)	A%氢氧化钠溶液(125 mmol/L)	B% 乙酸钠+氢氧化钠溶液(400 mmol/L 醋酸钠, 含 250mmol/L 氢氧化钠溶液)	C%水
0	8	0	92
13	8	0	92
15	12	0	88
34	12	0	88
34.1	0	100	0
40	0	100	0
40.1	100	0	0
45	100	0	0
45.10	8	0	92
55	8	0	92

表 A. 2 检测器电位波形程序

时间(s)	电位(V)	积分
0.00	0.1	—
0.20	0.1	开始
0.40	0.1	结束
0.41	-2.0	—
0.42	-2.0	—
0.43	0.6	—
0.44	-0.1	—

A. 2. 1. 5分析步骤

A. 2. 1. 5. 1标准溶液的制备

分别量取半乳糖、乳糖和葡萄糖混合标准工作液（A. 2. 1. 2. 20）0.5 mL、1.0mL、2.0 mL、5.0mL、10.0mL置于100 mL容量瓶中，用水稀释至刻度，制成系列混合标准工作溶液，见表A. 3，按照色谱条件A. 2. 1. 4进行测定，以各组分的浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线。

表 A. 3 半乳糖、乳糖和葡萄糖标准溶液

半乳糖 (μg/mL)	乳糖 (μg/mL)	葡萄糖 (μg/mL)
-------------	------------	-------------

0.50	0.475	0.50
1.00	0.95	1.00
2.00	1.90	2.00
5.00	4.95	5.00
10.00	9.50	10.00

#### A. 2. 1. 5. 2 试样液的制备

准确称取0.1 g试样，精确至±0.001 g，用适量的磷酸盐缓冲溶液（A. 2. 1. 2. 11）溶解并转移到100 mL容量瓶中定容至刻度，混匀。

#### A. 2. 1. 5. 3 试样液的前处理

##### A. 2. 1. 5. 3. 1 酶解试样前处理

吸取制备的试样液10 mL（A. 2. 1. 5. 2），移入100 mL容量瓶中，标记为A<sub>1</sub>，吸取1 mL β-半乳糖苷酶溶液（A. 2. 1. 2. 13），放入A<sub>1</sub>中，用铝箔纸密闭摇匀；同时做酶试剂空白，吸取制备的10 mL磷酸盐缓冲溶液（A. 2. 1. 2. 11），移入100 mL容量瓶中，标记为A<sub>0</sub>，吸取1 mL β-半乳糖苷酶溶液（A. 2. 1. 2. 13），放入A<sub>0</sub>中，用铝箔纸密闭摇匀。

将含有活性酶A<sub>1</sub>和A<sub>0</sub>的2个100 mL容量瓶在（60±2）℃水浴中持续温和振摇60 min（从混合物温度达到60℃开始计算加热时间，振摇过程中避免形成水沫或空气泡沫），然后将A<sub>0</sub>、A<sub>1</sub>两个处理溶液，用冰浴冷却至室温，向A<sub>0</sub>、A<sub>1</sub>两个100 mL容量瓶中，各加入20%乙腈溶液（A. 2. 1. 2. 14）5 mL，用水定容，混匀。分别取适量上述处理后溶液至离心管中，10000 r/min离心10 min，上层水相用0.2 μm滤膜过滤。

##### A. 2. 1. 5. 3. 2 初始试样溶液前处理

吸取制备的试样液10 mL（A. 2. 1. 5. 2），移入100 mL容量瓶中，标记为A<sub>2</sub>，加入20%乙腈溶液（A. 2. 1. 2. 14）5 mL，用水定容，混匀，取适量上述处理后溶液至离心管中，10000 r/min离心10 min，上层水相用0.2 μm滤膜过滤。

#### A. 2. 1. 5. 4 试样测定

吸取离心后的酶空白、酶解试样和初始试样溶液，分别稀释为D<sub>0</sub>、D<sub>1</sub>和D<sub>2</sub>倍，使半乳糖、乳糖和葡萄糖含量在标准曲线线性范围内，按照色谱条件（A. 2. 1. 4）进样测定样液中的半乳糖、乳糖和葡萄糖含量，根据标准品的保留时间进行试样中各组分定性，色谱图参见附录B；根据标准工作曲线计算试样中的半乳糖、乳糖和葡萄糖含量。

#### A. 2. 1. 6 结果计算

按照下列公式计算β-半乳糖苷酶试剂空白A<sub>0</sub>，酶解生成的葡萄糖的含量，样品酶解液A<sub>1</sub>中总半乳糖和葡萄糖的含量，初始试样溶液A<sub>2</sub>中游离的半乳糖、乳糖和葡萄糖的含量，最终计算出低聚半乳糖的含量。

##### A. 2. 1. 6. 1 样液A<sub>2</sub>中游离半乳糖、乳糖和葡萄糖的计算

试样A<sub>2</sub>中游离半乳糖、乳糖和葡萄糖含量的质量分数w<sub>1</sub>、w<sub>2</sub>和w<sub>3</sub>，按式（A. 1）（A. 2）（A. 3）计算：

$$w_1 = \frac{C_1 \times V_1 \times V_2 \times D_2 \times 10^{-6}}{m \times V_3} \times 100 \dots\dots\dots (A. 1)$$

$$w_2 = \frac{C_2 \times V_1 \times V_2 \times D_2 \times 10^{-6}}{m \times V_3} \times 100 \dots\dots\dots (A. 2)$$

$$w_3 = \frac{C_3 \times V_1 \times V_2 \times D_2 \times 10^{-6}}{m \times V_3} \times 100 \dots\dots\dots (A.3)$$

式中:

- $C_1$  —— 标准曲线上查得的半乳糖的含量, 单位为微克每毫升 ( $\mu\text{g/mL}$ );
- $C_2$  —— 标准曲线上查得的乳糖的浓度, 单位为微克每毫升 ( $\mu\text{g/mL}$ );
- $C_3$  —— 标准曲线上查得的葡萄糖的含量, 单位为微克每毫升 ( $\mu\text{g/mL}$ );
- $V_1$  —— 试样制备定容体积 (mL);
- $V_2$  —— 试样前处理后定容体积 (mL);
- $V_3$  —— 试样前处理时取试样的体积 (mL)。
- $D_2$  —— 样液  $A_2$  的稀释倍数;
- $m$  —— 试样质量, 单位为克 (g)。

#### A. 2. 1. 6. 2 游离的乳糖酶解释放的半乳糖和葡萄糖含量

试样 $A_2$ 中游离的乳糖酶解释放的半乳糖和葡萄糖含量的质量分数 $w_4$ 和 $w_5$ 按式 (A. 4)、(A. 5) 计算:

$$w_4 = w_2 / 1.9 \dots\dots\dots (A.4)$$

$$w_5 = w_2 / 1.9 \dots\dots\dots (A.5)$$

式中:

- $w_2$  —— 试样中游离乳糖的含量, 单位为 (g/100g);
- 1.9 —— 乳糖折算成半乳糖的折算系数。

#### A. 2. 1. 6. 3 酶解试样释放的半乳糖和葡萄糖的计算

酶解试样释放的半乳糖和葡萄糖含量的质量分数 $w_6$ 和 $w_7$ 按式 (A. 6)、(A. 7) 计算:

$$w_6 = \frac{C_4 \times V_1 \times V_2 \times D_1 \times 10^{-6}}{m \times V_3} \times 100 \dots\dots\dots (A.6)$$

$$w_7 = \frac{(C_5 \times D_1 - C_6 \times D_0) \times V_2 \times V_1 \times 10^{-6}}{m \times V_3} \times 100 \dots\dots\dots (A.7)$$

式中:

- $C_4$  —— 标准曲线上查的  $A_1$  溶液中半乳糖的浓度, 单位为微克每毫升 ( $\mu\text{g/mL}$ );
- $C_5$  —— 标准曲线上查  $A_1$  溶液中葡萄糖的浓度, 单位为微克每毫升 ( $\mu\text{g/mL}$ );
- $C_6$  —— 标准曲线上查  $A_0$  溶液中的葡萄糖的浓度, 单位为微克每毫升 ( $\mu\text{g/mL}$ );
- $V_1$  —— 试样制备定容体积 (mL);
- $V_2$  —— 试样酶解处理后定容体积 (mL);
- $V_3$  —— 试样酶解时取试样体积 (mL)。
- $D_1$  —— 酶解液稀释倍数;
- $D_0$  —— 酶试剂空白稀释倍数;
- $m$  —— 试样质量, 单位为克 (g)。

#### A. 2. 1. 6. 4 低聚半乳糖酶解释放半乳糖和葡萄糖的计算

低聚半乳糖酶解释放半乳糖和葡萄糖的含量的质量分数 $w_8$ 和 $w_9$ 按式 (A.8)、(A.9) 计算:



$$w_8 = w_6 - w_1 - w_4 \dots\dots\dots (A. 8)$$

$$w_9 = w_7 - w_5 - w_3 \dots\dots\dots (A. 9)$$

式中:

- $w_6$  —— 酶解试样中总半乳糖含量, 单位为 (g/100g);
- $w_7$  —— 酶解试样中总葡萄糖含量, 单位为 (g/100g);
- $w_4$  —— 游离的乳糖酶解释放的半乳糖含量, 单位为 (g/100g);
- $w_5$  —— 游离的乳糖酶解释放的葡萄糖含量, 单位为 (g/100g);
- $w_1$  —— 试样中游离半乳糖的含量, 单位为 (g/100g);
- $w_2$  —— 试样中游离乳糖的含量, 单位为 (g/100g);
- $w_3$  —— 试样中游离葡萄糖的含量, 单位为 (g/100g)。

#### A. 2. 1. 6. 5 试样中低聚半乳糖含量的计算

试样中低聚半乳糖的质量分数 $w_{10}$ , 按式 (A.10)、(A.11) 计算 $k$ 值, (A.12) 计算低聚半乳糖的质量分数 $w_{10}$ 。

$$q = \frac{w_8}{w_9} \dots\dots\dots (A. 10)$$

$$k = \frac{0.9 \times q + 1}{q} \dots\dots\dots (A. 11)$$

$$w_{10} = w_8 \times k \dots\dots\dots (A. 12)$$

式中:

- $w_8$  —— 低聚半乳糖酶解释放半乳糖的含量 (g/100g);
- $w_9$  —— 低聚半乳糖酶解释放葡萄糖的含量 (g/100g);
- $q$  —— 试样中低聚半乳糖酶解释放半乳糖和葡萄糖含量的比值;
- $k$  —— 低聚半乳糖酶解释放的半乳糖换算系数。

#### A. 2. 1. 7 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过其算术平均值的 5%。

### A. 3 硫酸灰分的测定

#### A. 3. 1 仪器和设备

高温炉。

#### A. 3. 2 试剂和材料

硫酸。

#### A. 3. 3 分析步骤

称取试样 1 g (精确至 0.0001 g), 放入已灼烧至恒重的瓷坩埚中, 在电炉上缓缓灼烧至完全炭化, 冷却至室温。加入 0.5 mL 硫酸使湿润, 低温加热至硫酸蒸汽出尽。然后移入高温炉中 800 °C ± 25 °C 灼烧至恒重。

#### A. 3. 4 结果计算

硫酸灰分的质量分数  $w_8$  按公式 (A.13) 计算:

$$w_8 = \frac{m_5 - m_6}{m_4 - m_6} \times 100\% \dots\dots\dots (A. 13)$$

式中：

$m_5$ —— 灼烧后瓷坩埚与残渣质量，单位为克（g）；

$m_6$ —— 空坩埚质量，单位为克（g）；

$m_4$ —— 试样与空坩埚质量，单位为克（g）。

试验结果以平行测定结果的算术平均值为准。

#### A. 3.5 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过其算术平均值的1.0%。

### A. 4 pH的测定

#### A. 4.1 仪器和设备

酸度计：精度0.01pH，备有玻璃电极和甘汞电极（或复合电极）。

#### A. 4.2 分析步骤

按仪器使用说明书调试和校正酸度计。

用新煮沸冷却的中性蒸馏水配制30%的低聚半乳糖液待测液。然后，用水冲洗电极探头，用滤纸轻轻吸干，将电极插入待测样液中，调节温度调节器，使仪器指示温度与溶液温度相同，稳定后读数。

所得结果表示至一位小数。



### 三、 维生素 K<sub>2</sub>（发酵法）

英文名称：Vitamin K<sub>2</sub>（Fermentation）

功能分类：食品营养强化剂

#### （一） 用量及使用范围

食品分类号	食品类别（名称）	使用量
01.03.02	调制乳粉（仅限儿童用乳粉）	420μg/kg~750μg/kg
	调制乳粉（仅限孕产妇用乳粉）	340μg/kg~680μg/kg

#### （二） 质量规格要求

##### 1 范围

本质量规格要求适用于以大豆粉、白砂糖、葡萄糖经纳豆枯草芽孢杆菌发酵的发酵物，经提取精制而成的食品营养强化剂维生素K<sub>2</sub>（发酵法）。商品化的维生素K<sub>2</sub>（发酵法）包括：以食用油为辅料的维生素K<sub>2</sub>（发酵法）油剂和以变性淀粉或糊精、乳化剂、抗氧化剂等为辅料的维生素K<sub>2</sub>（发酵法）粉剂。

##### 2 分类

###### 2.1 维生素K<sub>2</sub>（发酵法）油剂

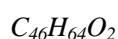
维生素K<sub>2</sub>（发酵法）油剂产品其主要成分为维生素K<sub>2</sub>族的七烯甲萘醌，辅料包括大豆油。

###### 2.2 维生素K<sub>2</sub>（发酵法）粉剂

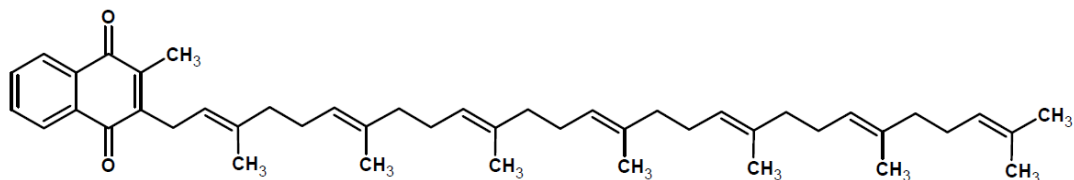
维生素K<sub>2</sub>（发酵法）粉剂产品其主要成分为维生素K<sub>2</sub>族的七烯甲萘醌，辅料含变性淀粉、淀粉、糊精、微晶纤维素、乳化剂、抗氧化剂等。

##### 3 分子式、结构式和相对分子质量

###### 3.1 分子式



###### 3.2 结构式



###### 3.3 相对分子质量

649.00（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
	维生素K <sub>2</sub> （发酵法）油剂	维生素K <sub>2</sub> （发酵法）粉剂	
色泽	浅黄色	白色至浅黄色	取样品适量置于50mL烧杯中，于自然光下，用肉眼观察其色泽、形态、组织、杂质，嗅其气味。
滋味、气味	本品特有的气味、滋味，无异味		
性状	澄清或微混浊油状	粉末状	
杂质	无正常视力可见的杂质		

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
		维生素K <sub>2</sub> （发酵法）油剂	维生素K <sub>2</sub> （发酵法）粉剂	
维生素 K <sub>2</sub> 的含量 <sup>a</sup> / (μg/g)	≥	1500	1000	附录 A 中 A.4
酸价 / (mg KOH/g)	≤	1.0	-	GB/T 5009.37
过氧化值 / (meq /kg)	≤	5.0	-	GB/T 5009.37
水分, w/%	≤	-	5.0	GB 5009.3
灰分, w/%	≤	-	3.0	GB 5009.4
总砷（以 As 计） / (mg/kg)	≤	0.1		GB 5009.11
铅（Pb） / (mg/kg)	≤	0.1		GB 5009.12
汞（Hg） / (mg/kg)	≤	0.05		GB 5009.17
镉（Cd） / (mg/kg)	≤	0.1		GB 5009.15
六六六 / (mg/kg)	≤	0.05		GB/T 5009.19
滴滴涕 / (mg/kg)	≤	0.05		
黄曲霉毒素（B1+B2+G1+G2） / (μg/kg)	≤	5.0		GB/T 5009.23

<sup>a</sup> 维生素 K<sub>2</sub> 的含量以七烯甲萘醌含量标示，七烯甲萘醌实际含量为标示量的 95%~110%。

4.3 微生物指标：应符合表 3 的规定。

表3 微生物指标

项 目		指 标（若非指定，均以/25g表示）		检验方法
		维生素K <sub>2</sub> （发酵法）油剂	维生素K <sub>2</sub> （发酵法）粉剂	
菌落总数 / (CFU/g)	≤	300	1000	GB 4789.2
霉菌和酵母 / (CFU/g)	≤	25	100	GB 4789.15
大肠菌群 / (MPN/g)	<	3.0		GB 4789.3
大肠埃希氏菌 / (MPN/g)	<	3.0		GB 4789.38
致病菌（沙门氏菌、金黄色葡萄球菌）		不得检出		GB 4789.4、GB 4789.10

## 5 其他要求

产品应装于适宜的避光容器中充氮或真空保存，产品的最佳保存温度为 20℃ 以下。

### 附录A

#### 检验方法

##### A.1 安全提示

本质量规格要求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。在使用易燃品时，严禁使用明火加热。

## A. 2 一般规定

本质量规格要求所用试剂和水，在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和GB/T6682中规定的一级水。试验中所用标准滴定溶液、杂质测定用标准溶液、制剂及制品，在没有注明其他要求时，均按GB/T 601、GB/T 602、GB/T 603的规定制备。试验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时，均指水溶液。

## A. 3 鉴别试验

### A. 3.1 方法提要

试样用正己烷提取，按含量测定项下色谱条件进行高效液相色谱分析，与七烯甲萘醌标准品保留时间进行对照。试样色谱图的主峰应与标准品主峰保留时间一致。

### A. 3.2 试剂和材料

A. 3.2.1 维生素 K<sub>2</sub> 标准品（七烯甲萘醌，MK-7）。

A. 3.2.2 正己烷：分析纯。

### A. 3.3 分析步骤

#### A. 3.3.1 试样溶液处理

精密称取试样适量（精确至 0.001 g）于 10 mL 容量瓶中，加入正己烷超声提取 30 min，定容至刻度，摇匀，过 0.45 μm 滤膜，得上样试样。

#### A. 3.3.2 试样检测

按照含量测定项下方法，配制标准溶液。按照含量测定色谱条件将标准溶液和样品溶液 10 μL 注入高效液相色谱仪中测定，以保留时间定性鉴别。

## A. 4 维生素 K<sub>2</sub> 含量的测定

### A. 4.1 试剂和材料

A. 4.1.1 维生素 K<sub>2</sub> 标准品（七烯甲萘醌，MK-7）。

A. 4.1.2 异丙醇：分析纯。

A. 4.1.3 甲醇：色谱纯。

### A. 4.2 仪器和设备

A. 4.2.1 高效液相色谱仪。

A. 4.2.2 紫外光检测器：可变波长。

A. 4.2.3 数据处理系统：色谱工作站或数据处理机。

### A. 4.3 参考色谱条件

推荐的色谱柱及典型操作条件如下表 A. 1，其他能达到同等分离程度的色谱柱和色谱操作条件均可使用。

A. 1 色谱柱和色谱操作条件

色谱柱	C <sub>18</sub> ODS 柱，柱长 150 mm，内径 4.6mm，内装 C <sub>18</sub> 填充物，粒径 5μm 或是相当者
柱温/°C	50
流动相	甲醇
流速/ mL/min	1.0
检测波长/nm	254
进样量/ μL	10

### A. 4.4 分析步骤

#### A. 4. 4. 1 试样溶液处理

精密称取试样适量（精确至 0.001 g）于 10 mL 容量瓶中，加入异丙醇超声 30 min，用异丙醇定容至刻度，摇匀，过 0.45 μm 滤膜，得上样试样。

#### A. 4. 4. 2 标准品溶液配制

精密称取七烯甲萘醌标准品适量，用异丙醇溶解并定容，配制成浓度为 20 μg/mL 的标准品溶液。

#### A. 4. 4. 3 试样测定

用标准品和试样溶液 10 μL 注入高效液相色谱仪中测定，以保留时间定性，峰面积外标法定量。

#### A. 4. 5 结果计算

维生素 K<sub>2</sub> 的含量  $w$ ，单位为微克每克 (μg/g)，按式 (A.1) 计算：

$$w = \frac{A_1 \times c_1 \times V_1}{A_2 \times m_1} \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

$A_1$ ——试样中维生素 K<sub>2</sub>（七烯甲萘醌）对应峰面积；

$A_2$ ——标准品中维生素 K<sub>2</sub>（七烯甲萘醌）对应峰面积；

$c_1$ ——进样标准品中维生素 K<sub>2</sub>（七烯甲萘醌）的浓度，单位为微克每毫升 (μg/mL)；

$V_1$ ——供试试样定容体积，单位为毫升 (mL)；

$m_1$ ——试样的质量，单位为克 (g)。

试验结果以平行测定结果的算术平均值为准。在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于算术平均值的 10%。