



中华人民共和国国家标准

GB 5413.16—2010

GB 5413.16—2010

食品安全国家标准

婴幼儿食品和乳品中叶酸 (叶酸盐活性)的测定

National food safety standard

Determination of folic acid (folate activity) in foods for infants and young children, milk and milk products

中华人民共和国
国家标准
食品安全国家标准

婴幼儿食品和乳品中叶酸
(叶酸盐活性)的测定
GB 5413.16—2010

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

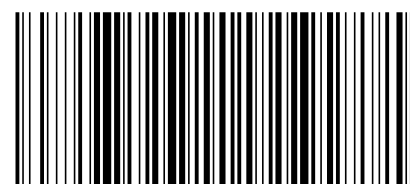
开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 12 千字
2010年5月第一版 2010年5月第一次印刷

*

书号: 155066·1-40165 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



GB 5413.16-2010

2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留三位有效数字。

8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过算术平均值的10%。

9 其他

本标准检出限为 2 μg/100 g。

前 言

本标准代替 GB/T 5413.16—1997《婴幼儿配方食品和乳粉 叶酸(叶酸盐活性)测定》。

本标准与 GB/T 5413.16—1997 相比,主要变化如下:

——对磷酸盐缓冲液作了调整;

——增加了米粉的处理方法;

——增加了光密度法测定步骤。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

——GB 5413—1985、GB/T 5413.16—1997。

品,转入 100 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,溶液中叶酸的质量浓度大约为 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。吸取 1 mL 该样液和 1 mL 鸡胰腺(4.1)于一个 180 mm \times 15 mm 的带螺旋盖的试管中,充分混合。加 18 mL 含抗坏血酸的磷酸缓冲液 I (4.3.1),再加 1 mL 甲苯(4.6)。同时制备空白对照管,吸 1 mL 蒸馏水和 1 mL 鸡胰腺(4.1)于空白管中,加 18 mL 含抗坏血酸的磷酸缓冲液 I (4.3.1)及 1 mL 甲苯(4.6)。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下,样品管和空白管保温 16 h 后,于 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 5 min。用磷酸盐缓冲液 I (4.3.1)作适当稀释,得到浓度约为 0.1 ng/mL 的叶酸盐溶液。

若确定样品中强化叶酸与原生叶酸相比所占比例很大,则可以用 1 mL 样液加 19 mL 含抗坏血酸的磷酸缓冲液 I (4.3.1)于 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 5 min,再用磷酸盐缓冲液 I (4.3.1)稀释,得到浓度约为 0.1 ng/mL 的叶酸盐溶液。

6.2.2 谷物及谷物制品

称取大约含 1 μg 叶酸的试样于 150 mL 三角烧瓶中。加 20 mL pH 7.8 磷酸缓冲液 II (4.3.2),混匀后加 50 mL 水和 1.0 mL 甲苯(4.6)。加盖后 121 $^{\circ}\text{C}$ 15 min 灭菌,然后迅速冷却。加 1 mL 木瓜蛋白酶溶液(4.11),于 36 $^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 保温 3 h 后 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 3 min,冷却。加 1 mL α -淀粉酶溶液(4.12),36 $^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 保温 2 h 后加 4 mL 鸡胰腺(4.1),加盖,36 $^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 保温 16 h 后 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 3 min,冷却。用 1 mol/L 盐酸(4.15)调 pH 至 4.5,用水稀释定容到 100 mL。过滤得到澄清滤液,然后吸取 1 mL 澄清滤液用磷酸盐缓冲液 III (4.3.3)定容至 100 mL,得到浓度约为 0.1 ng/mL 的叶酸盐溶液。

若确定样品中强化叶酸与原生叶酸相比所占比例很大,则可以直接在样品中加 20 mL 0.05 mol/L 含抗坏血酸的磷酸缓冲液 II (4.3.2)和 50 mL 水,于 121 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 15 min,然后吸取 1 mL 澄清滤液,再用 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液 III (4.3.3)稀释,得到浓度约为 0.1 ng/mL 的叶酸盐溶液。

6.3 标准曲线管的制作

按表 1 顺序加入蒸馏水、标准工作液(4.14.3)[测定谷物及谷物制品的标准溶液用磷酸盐缓冲液 IV (4.3.4)代替磷酸盐缓冲液 I (4.3.1)]和叶酸测定用培养基(4.9.3)于培养管中。表 1 中每一编号需制作三管。试管 S2 至 S10 中,相当叶酸含量为 0.00 ng、0.05 ng、0.10 ng、0.15 ng、0.20 ng、0.25 ng、0.30 ng、0.40 ng、0.50 ng。

表 1 标准曲线管的制作

试管号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
蒸馏水(mL)	5	5	4	3	2	1	0	2	1	0
标准溶液(mL)	0	0	1	2	3	4	5	3	4	5
培养基(mL)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
注 1: 试管 S3~S7 中加低浓度标准工作液。 注 2: 试管 S8~S10 中加高浓度标准工作液。										

6.4 试样管的制作

按表 2 顺序加入蒸馏水、试样和叶酸测定用培养基于试管中,表中每一编号需制作三管。

表 2 试样管的制作

试管号	1	2	3	4
蒸馏水(mL)	4	3	2	1
样品(mL)	1	2	3	4
培养基(mL)	5	5	5	5

6.5 灭菌

将标准曲线管和试样管 121 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 5 min,迅速冷却到室温(商品化培养基按标签说明进行灭菌)。

注:保证加热和冷却过程中条件均匀,灭菌管数过多或距离太近,在灭菌锅中都可产生不良影响。

食品安全国家标准

婴幼儿食品和乳品中叶酸 (叶酸盐活性)的测定

1 范围

本标准规定了婴幼儿食品和乳品中叶酸(叶酸盐活性)的测定方法。

本标准适用于婴幼儿食品和乳品中叶酸(叶酸盐活性)的测定。

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 原理

利用干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*) ATCC 7469 对叶酸的特异性,在含有叶酸的样品中生长产生的酸度和形成的光密度来测定叶酸的含量。

4 试剂和材料

除非另有规定,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的二级水。

4.1 鸡胰腺:称取 100 mg 干燥的鸡胰腺,加 20 mL 蒸馏水,搅拌 15 min,离心 10 min(3 000 转/分钟),取上清液,临用前配制。

4.2 0.9%生理盐水:称取 9.0 g 氯化钠溶解于 1 000 mL 水中,分装于具塞试管中,每管 10 mL,121 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 15 min。每周准备一次。

4.3 磷酸盐缓冲液。

4.3.1 磷酸盐缓冲液 I (0.05 mol/L):称取 5.85 g 磷酸二氢钾,1.22 g 磷酸氢二钾,用 1 000 mL 水溶解。临用前按 0.5 g/100 mL 加入抗坏血酸。

4.3.2 磷酸盐缓冲液 II (用于谷物及谷物制品前处理):称取 14.2 g 磷酸氢二钠,用 1 000 mL 水溶解。临用前按 1.0 g/100 mL 加入抗坏血酸,用氢氧化钠溶液 A(4.16)调 pH 至 7.8 \pm 0.1。

4.3.3 磷酸盐缓冲液 III (用于谷物及谷物制品测试):称取 14.2 g 磷酸氢二钠,用 1 000 mL 水溶解。临用前按 1.0 g/100 mL 加入抗坏血酸,用氢氧化钠溶液 A(4.16)调 pH 至 6.8 \pm 0.1。

4.3.4 磷酸盐缓冲液 IV (0.1 mol/L)(用于谷物及谷物制品标准溶液制备):溶解 13.61 g 磷酸二氢钾于水中稀释到 1 000 mL。用氢氧化钾溶液(4.10)调 pH 至 7.0 \pm 0.1。

4.4 叶酸标准品。

4.5 氨水(10.8%)。

4.6 甲苯(C_7H_8)。

4.7 抗坏血酸($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$)。

4.8 菌株:干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*) ATCC 7469。

4.9 培养基。

4.9.1 乳酸杆菌琼脂培养基:陈化乳 15 g,酵母浸膏 5 g,葡萄糖 10 g,番茄汁 100 mL,磷酸二氢钾 2 g,