

ICS 67.040  
C 53



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.211—2008

GB/T 5009.211—2008

## 食品中叶酸的测定

Determination of folates in foods

中华人民共和国  
国家标准  
食品中叶酸的测定  
GB/T 5009.211—2008

\*

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](http://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 1 字数 16 千字  
2009年3月第一版 2009年3月第一次印刷

\*

书号: 155066·1-36048 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/T 5009.211—2008

2008-11-21 发布

2009-03-01 实施

中华人民共和国卫生部  
中国国家标准化管理委员会 发布

## 前 言

本标准修改采用国际分析家学会(AOAC INTERNATIONAL)中 AOAC 944.12《维生素预混料中叶酸的测定》(Folic acid in vitamin preparations)。

本标准与 AOAC 944.12 相比主要差异为：

——增加了普通食品试样提取步骤；

——扩大了适用范围。

本标准的附录 A 和附录 B 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准由中华人民共和国卫生部负责解释。

本标准起草单位：中国疾病预防控制中心营养与食品安全所、辽宁省疾病预防控制中心、浙江省医学科学院、北京市营养源研究所。

本标准主要起草人：王竹、杨晶明、张旭、马景宏、唐靓、李跃中、王克诚。

**B. 1.35.1 酶解酪蛋白液:**称取 60 g 不含维生素的酪蛋白(B. 1.2)至 1 L 烧杯中,慢慢加入 1 L 碳酸氢钠溶液(B. 1.4),以防止结块,用 10 mol/L 氢氧化钠溶液(B. 1.7)调节 pH 值至 8.0。加入 300 mg 胰酶(B. 1.8),搅拌 20 min,使胰酶充分混匀。加入 2.5 mL 甲苯(B. 1.9),置 37 ℃±1 ℃恒温培养箱中酶解 48 h~72 h。从恒温培养箱中取出酪蛋白酶解液,于 121 ℃高压 30 min 以终止反应,冷却至室温。加入 10 g 硅藻土(B. 1.10),搅拌均匀,用布氏漏斗过滤,滤液用约 60 mL 冰乙酸(B. 1.11)调节 pH 值至 3.7。称取 12 g 活性炭(B. 1.13),加入滤液中准确搅拌 10 min,用铺有 10 g 硅藻土的布氏漏斗过滤,滤液从“称取 12 g 活性炭……”开始重复操作两次。最终滤液用水稀释至 1 200 mL。取 10 mL 酶解酪蛋白液于平皿中 150 ℃烘干至恒重,如固体含量<40 mg/mL,则弃除酪蛋白液,重新制备。制备好的酪蛋白液加 1 mL~3 mL 甲苯(B. 1.9),2 ℃~4 ℃冰箱冷藏保存一年。

**B. 1.35.2 酸解酪蛋白液:**称取 50 g 不含维生素的酪蛋白(B. 1.2)于 500 mL 烧杯中,加 200 mL 盐酸溶液(B. 1.6),于 121 ℃高压水解 6 h。将水解物转移至蒸发皿内,在沸水浴上蒸发至膏状。加 200 mL 水使之溶解后再蒸发至膏状,如此反复三次,以除去盐酸。以溴酚蓝(B. 1.34)作外指示剂,用 10 mol/L 氢氧化钠(B. 1.7)调节 pH 值至指示剂颜色转为草绿色(pH 3.5)。加 20 g 活性炭(B. 1.13),振摇约 20 min,过滤。重复活性炭处理直至滤液呈淡黄色或无色。滤液加水稀释至 1 000 mL,加 1 mL~3 mL 甲苯,置 2 ℃~4 ℃冰箱中保存一年。

注:每次蒸发时不可蒸干或焦糊,以避免所含营养素破坏。

**B. 1.36 腺嘌呤-鸟嘌呤-尿嘧啶溶液。**分别称取硫酸腺嘌呤(B. 1.14)、盐酸鸟嘌呤(B. 1.15)以及尿嘧啶(B. 1.16)各 0.1 g 于 250 mL 烧杯中,加 75 mL 水和 2 mL 盐酸(B. 1.5),加热使其完全溶解后冷却。若有沉淀产生,再加盐酸数滴,加热,如此反复直至冷却后无沉淀产生为止,加水至 100 mL。加 3 滴~5 滴甲苯,贮存于棕色试剂瓶中,置 2 ℃~4 ℃于冰箱中可保存一年。

**B. 1.37 黄嘌呤(C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>)溶液:**称取 0.4 g 黄嘌呤(B. 1.17),加 10 mL 氨水(B. 1.18),加热溶解,加水至 100 mL。加 3 滴~5 滴甲苯,贮存于棕色试剂瓶中,2 ℃~4 ℃冰箱保存一年。

**B. 1.38 乙酸缓冲液(1.6 mol/L,pH 4.5):**称取 63 g 三水合乙酸钠(B. 1.19),用 200 mL 水溶解,加大约 20 mL 冰乙酸(B. 1.11),调节 pH 至 4.5,混合后,用水稀释至 500 mL。

**B. 1.39 维生素液:**称取 100 mg 核黄素(B. 1.20)用 400 mL 乙酸缓冲液(B. 1.38)溶解。取 25 mg 碳酸氢钠(B. 1.3)溶解于 500 mL 水中,加入 2 mg 生物素(B. 1.21)、200 mg 对氨基苯甲酸(B. 1.22)、400 mg 盐酸吡哆醇(B. 1.23)、40 mg 盐酸硫胺素(B. 1.24)、80 mg 泛酸钙(B. 1.25)、80 mg 尼克酸(B. 1.26)溶解。将上述溶液混合,加水至 1 000 mL。加入 3 滴~5 滴甲苯,贮存于棕色试剂瓶中,2 ℃~4 ℃冰箱保存一年。

**B. 1.40 聚山梨酯-80(吐温-80)溶液:**将 10 g 聚山梨酯-80(B. 1.27)溶于无水乙醇(B. 1.1)中并稀释至 100 mL,2 ℃~4 ℃冰箱保存。

**B. 1.41 还原型谷胱甘肽(C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S)溶液:**称取 0.1 g 还原型谷胱甘肽(B. 1.28),加 100 mL 水溶解,贮于棕色瓶中,2 ℃~4 ℃冰箱保存。

**B. 1.42 甲盐溶液:**按 4.33 配制。

**B. 1.43 乙盐溶液:**按 4.34 配制。

## B.2 基础培养液

配制 250 mL 基础培养液,按表 B.1 吸取液体试剂,混合后加水 150 mL,依次加入固体试剂,煮沸搅拌 2 min。以溴麝香草酚蓝为外指示剂,用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节基础培养液 pH 值,直至指示剂变为草绿色(pH 6.8);如果指示剂变蓝说明加入的氢氧化钠溶液过量,以 1 mol/L 盐酸溶液回调 pH 值至 6.8。加入乙盐溶液 5 mL,用磷酸缓冲液(4.23)补至 250 mL。2 ℃~4 ℃冰箱内可保存 7 d。配制时可根据基础培养液用量按比例增减。

## 食品中叶酸的测定

### 1 范围

本标准规定了食品中叶酸的测定方法。

本标准适用于食品中叶酸的测定。

本标准的检出限:普通食品,当称样量为 5 g 时,检出限为 2 μg/100 g;营养素补充剂、强化剂及预混料,当称样量为 1 g 时,检出限为 2 μg/100 g。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—2008,ISO 3696:1987,MOD)

### 3 原理

叶酸是细菌生长所必需的营养素,在一定控制条件下,细菌的生长响应与培养基中叶酸含量呈线性关系。用比浊法测定试样液中细菌增殖后的混浊度,通过与标准曲线相比较计算出试样中叶酸的含量。

### 4 试剂

除另有说明外,所用试剂均为分析纯,实验用水为 GB/T 6682 规定的二级水。

- 4.1 甲苯(C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>)。
- 4.2 磷酸钠(Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O)。
- 4.3 磷酸氢二钠(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O)。
- 4.4 抗坏血酸(C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>)。
- 4.5 无水乙醇(C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O)。
- 4.6 氢氧化钠(NaOH)。
- 4.7 盐酸(HCl)。
- 4.8 鸡胰酶(chicken pancrease)<sup>1)</sup>。
- 4.9 木瓜蛋白酶(papain)<sup>2)</sup>。
- 4.10 淀粉酶(taka-diastrase)<sup>2)</sup>。
- 4.11 叶酸(C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>):纯度>98%。
- 4.12 葡萄糖(C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>)。
- 4.13 蛋白胨(peptone)。
- 4.14 酵母提取物(yeast extract)。

1) 由 Difco 公司提供的产品。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效的产品。

2) 由 Sigma 公司提供的产品。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效的产品。