

中华人民共和国国家标准

GB 1903.31—2018

食品安全国家标准

食品营养强化剂 醋酸视黄酯 (醋酸维生素 A)

2018-06-21 发布

2018-12-21 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局 发布

食品安全国家标准

食品营养强化剂 醋酸视黄酯

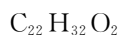
(醋酸维生素 A)

1 范围

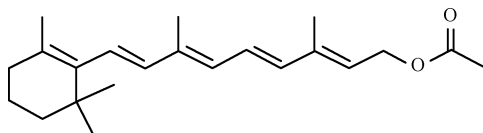
本标准适用于以β-紫罗兰酮为主要原料,经化学合成制得的食品营养强化剂醋酸视黄酯(醋酸维生素 A 或维生素 A 醋酸酯)。

2 分子式、结构式和相对分子质量

2.1 分子式



2.2 结构式



2.3 相对分子质量

328.50(按 2016 年国际相对原子质量)

3 技术要求

3.1 感官要求

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	淡黄色	将适量试样置于清洁、干燥的白瓷盘中,在自然光线下,观察其色泽和状态,嗅其气味
气味	稍有特殊气味但无酸败味	
状态	结晶性粉末	

3.2 理化指标

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	
醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)含量 ^a /(IU/g)	≥	2.8×10 ⁶	附录 A 中 A.4
酸值(以 KOH 计)/(mg/g)	≤	2.0	附录 A 中 A.5
过氧化值/(mmol/kg)	≤	5.0	附录 A 中 A.6
铅(Pb)/(mg/kg)	≤	1.0	GB 5009.12
砷(As)/(mg/kg)	≤	1.0	GB 5009.76
^a 维生素 A 以国际单位(IU)表示,1 IU 维生素 A =0.344 μg 醋酸视黄酯(醋酸维生素 A),醋酸视黄酯实际含量为标示量的 95.0%~105.0%。			
注: 商品化的醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)产品应以符合本标准的醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)为原料,添加工艺所必需的食品原料和/或食品添加剂作为辅料,其质量、范围和使用量应符合相应的食品安全国家标准。			

附录 A 检验方法

A.1 操作提示

试样应在密闭、避光和冷冻条件下贮存。配制的试样溶液应尽快使用。含量测定过程中,应最小程度地接触光和空气中的氧及其他氧化剂,使用低光化玻璃仪器。

A.2 一般规定

本标准除另有规定外,所用试剂的纯度应在分析纯以上,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.3 鉴别试验

A.3.1 试剂和材料

A.3.1.1 醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)。

A.3.1.2 三氯甲烷。

A.3.1.3 三氯化铈溶液:取三氯化铈适量,制成 25%(*m/v*)的三氯甲烷溶液。

A.3.1.4 石油醚。

A.3.1.5 异丙醇。

A.3.1.6 环己烷。

A.3.1.7 乙醚。

A.3.1.8 展开剂:环己烷-乙醚(12+1)。

A.3.1.9 色谱用硅胶板。

A.3.2 仪器和设备

A.3.2.1 紫外分光光度计。

A.3.3 鉴别方法

A.3.3.1 呈色试验

A.3.3.1.1 方法原理

醋酸维生素 A 和亲电试剂三氯化铈作用形成不稳定的蓝色碳铈离子。

A.3.3.1.2 分析步骤

称取适量醋酸维生素 A 试样溶于三氯甲烷稀释剂,配制成浓度为 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液,加入 10 mL 三氯化铈指示剂,立即出现蓝色,并迅即褪去蓝色。

A.3.3.2 薄层色谱分析

称取相当于 15 000 IU 维生素 A 的醋酸维生素 A,加石油醚 5 mL 溶解,作为试样溶液。取试样溶液 5 μ L 进行薄层色谱分析。将环己烷-乙醚混合液(12+1)作为展开剂。当展开剂的最前端上升到距离点样点原线约 10 cm 时,停止展开,风干薄层板。均匀喷洒三氯化锑指示剂溶液,供试样溶液和标准品溶液显示相同的蓝色主斑点且 R_f 值相同。

A.3.3.3 最大吸收波长

称取适量试样,精确至 0.1%,加入异丙醇溶解并定量稀释至浓度为 10 IU/mL~15 IU/mL 的溶液,使用紫外分光光度计测定,试样溶液在波长 324 nm~328 nm 范围内有最大的吸收峰。

A.4 醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)含量的测定

A.4.1 试剂和材料

A.4.1.1 无水乙醇:色谱纯。

A.4.1.2 异丙醇:色谱纯。

A.4.1.3 甲醇:色谱纯。

A.4.1.4 水:GB/T 6682 中的一级水。

A.4.1.5 异丙醇溶液:每升异丙醇中含 1 g 二丁基羟基甲苯。

A.4.1.6 全反式醋酸维生素 A 标准品:按 A.4.3.1 紫外分光光度法测定标准品中醋酸维生素 A 的含量。在测定过程中,用全反式醋酸维生素 A 标准品作为试样,试样溶液的最大吸收峰应在 324 nm~328 nm 之间,且吸光度比值 A_{λ}/A_{326} 符合表 A.1 的要求。

A.4.2 仪器和设备

A.4.2.1 紫外分光光度计。

A.4.2.2 高效液相色谱仪,配紫外检测器(检测波长 326 nm)。

A.4.3 分析步骤

A.4.3.1 紫外分光光度法

A.4.3.1.1 方法原理

醋酸维生素 A 分子中含有 5 个共轭双键,在 324 nm~328 nm 波长之间具有最大吸收峰,其最大吸收峰的位置随溶剂不同而异,因而可用于含量测定。本法是在 3 个波长处测得吸光度,根据校正公式计算吸光度 A 校正值后,再计算含量。

A.4.3.1.2 试样溶液的制备

称取试样 25 mg~100 mg,精确至 0.1%,加入异丙醇溶解并定量稀释成每 1 mL 中含 10 IU~15 IU 的溶液。

A.4.3.1.3 测定

取适量试样溶液,采用紫外分光光度法验证试样溶液的最大吸收峰是否在 324 nm~328 nm 之间。如果试样溶液的最大吸收峰在 324 nm~328 nm 之间,则测定试样溶液在波长 300 nm,310 nm,

320 nm, 330 nm, 340 nm 和 350 nm 处的吸光度, 并计算不同波长下的吸光度 A_λ 与 326 nm 处吸光度 A_{326} 之比 A_λ/A_{326} 。每一吸光度比值与表 A.1 所列值的偏差应在 ± 0.03 内。

如果不同波长的吸光度比值符合表 A.1 的要求, 则按 A.4.4 结果计算中的式(A.1)计算试样中醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)的含量。

表 A.1 不同波长的吸光度比值

λ/nm	A_λ/A_{326}
300	0.578
310	0.815
320	0.948
330	0.972
340	0.786
350	0.523

A.4.3.2 液相色谱法

A.4.3.2.1 方法原理

将醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)溶解后直接注入反相色谱柱上, 用流动相洗脱分离, 紫外检测器测定, 外标法计算醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)含量。

A.4.3.2.2 参考色谱条件

A.4.3.2.2.1 色谱柱: C18 液相色谱柱, 150 mm \times 4.6 mm, 粒径 5 μm , 或同等性能的色谱柱。

A.4.3.2.2.2 流动相: 甲醇+水=95+5(体积比)。

A.4.3.2.2.3 流速: 1 mL/min。

A.4.3.2.2.4 检测波长: 326 nm。

A.4.3.2.2.5 进样量: 10 μL 。

A.4.3.2.2.6 保留时间: 醋酸维生素 A 的保留时间约为 5.3 min。

A.4.3.2.3 试样溶液的制备

称取约 0.01 g 试样, 精确至 0.000 01 g, 置于 25 mL 棕色容量瓶中, 加入 15 mL~20 mL 无水乙醇, 置于超声水浴中处理 2 min 使之完全溶解, 用无水乙醇稀释定容, 摇匀, 得到试样储备液。根据试样浓度, 用无水乙醇进行稀释, 经 0.2 μm 微孔滤膜过滤后用于高效液相色谱的测定。

A.4.3.2.4 标准溶液的制备

称取全反式醋酸维生素 A 标准品 0.01 g, 精确至 0.000 01 g, 置于 25 mL 棕色容量瓶中, 加入 15 mL~20 mL 无水乙醇, 置于超声水浴中处理 2 min 使之完全溶解, 用无水乙醇稀释定容, 摇匀, 得到标准储备液。移取一定量标准储备液, 按照需要用无水乙醇稀释, 制备标准曲线溶液。标准溶液使用前依照 A.4.3.1 紫外分光光度法测定并校准其含量。

A.4.3.2.5 测定

在 A.4.3.2.2 参考色谱条件下, 分别对试样溶液和标准溶液进行测定, 重复进样两次, 分别记录相

应色谱图中醋酸维生素 A 的峰面积值。按 A.4.4 结果计算中的式(A.2)计算试样中醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)的含量。

A.4.4 结果计算

A.4.4.1 紫外分光光度法

醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)含量 w_1 以国际单位每克(IU/g)计,按式(A.1)计算:

$$w_1 = \frac{A_{326} \times 1\,900 \times V}{m \times 100} \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

A_{326} —— 试样溶液在 326 nm 处的吸光度;

1 900 —— 醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)的吸光度与含量之间的换算系数;

V —— 试样溶液的稀释体积,单位为毫升(mL);

m —— 试样的质量,单位为克(g);

100 —— 换算系数。

实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 2%。

A.4.4.2 液相色谱法

醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)含量 w_2 以国际单位每克(IU/g)计,按式(A.2)计算:

$$w_2 = \frac{A_1 \times c \times V}{A_2 \times m} \dots\dots\dots (A.2)$$

式中:

A_1 —— 试样溶液色谱图中醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)的平均峰面积值;

c —— 全反式醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)标准品的溶液浓度,单位为国际单位每毫升(IU/mL);

V —— 最终样液的定容体积,单位为毫升(mL);

A_2 —— 标准溶液色谱图中醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)的平均峰面积值;

m —— 试样的质量,单位为克(g)。

实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 5%。

注 1: 在试样中可能会存在少量醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)的顺式异构体,同样具有维生素 A 的效价,因此在计算时应将醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)的顺-反异构体峰面积合并计算;

注 2: 对照品和试样的稀释液最后进样浓度应控制在仪器的线性范围内。

A.5 酸值的测定

A.5.1 试剂和材料

A.5.1.1 95%乙醇。

A.5.1.2 乙醚。

A.5.1.3 氢氧化钾-乙醇标准滴定溶液: $c(\text{KOH})=0.1 \text{ mol/L}$ (使用前需标定)。

A.5.1.4 乙醚与 95%乙醇混合液(1+1):将乙醚与 95%乙醇等体积混合。使用前,需加入 3 滴~5 滴酚酞指示剂,滴加 0.1 mol/L 氢氧化钾乙醇液至微显粉红色,保持 30 s 不消失。

A.5.1.5 酚酞指示液:10 g/L。

A.5.2 分析步骤

准确称取约 5 g 试样(精确到 0.001 g)于 250 mL 带塞锥形瓶中,加入 100 mL 乙醚与 95%乙醇混合液(1+1),盖上塞子轻摇至试样完全溶解。如需要,可加热溶解。加入 3 滴~5 滴酚酞指示剂,用 0.1 mol/L 氢氧化钾乙醇液对上述试样液进行滴定,边滴定边摇动锥形瓶,连续滴定至微显粉红色,保持 30 s 不消失,即为终点;如溶液本身颜色较深,可在接近滴定时,加入 10 mL 饱和氯化钠溶液,观察水层颜色变化至微显粉红色,保持 30 s 不消失,即为终点。

A.5.3 结果计算

酸值(以 KOH 计) w_3 以毫克每克(mg/g)计,按式(A.3)计算:

$$w_3 = \frac{V \times c \times M}{m} \quad \dots\dots\dots (A.3)$$

式中:

- V —— 试样所消耗氢氧化钾-乙醇标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);
- c —— 氢氧化钾-乙醇标准滴定溶液的实际浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
- M —— 氢氧化钾的摩尔质量,单位为毫克每毫摩尔(mg/mmol)[$M(\text{KOH})=56.1$];
- m —— 试样的质量,单位为克(g)。

实验结果以平行测定结果的算术平均值表述。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 5%。

A.6 过氧化值的测定

A.6.1 试剂和溶剂

- A.6.1.1 冰乙酸。
- A.6.1.2 异辛烷。
- A.6.1.3 乙酸与异辛烷混合液(3+2):将 3 份冰醋酸与 2 份异辛烷混合。
- A.6.1.4 碘化钾饱和溶液:现配现用,确保溶液中有结晶存在,存放于避光处。
- A.6.1.5 硫代硫酸钠标准滴定溶液: $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$ 约 0.1 mol/L,将浓度稀释至 0.01 mol/L,标定后待用。
- A.6.1.6 淀粉指示液:5 g/L。

A.6.2 分析步骤

称取试样 5 g(精确至 0.001 g),置于 250 mL 带塞锥形瓶中,加入 50 mL 乙酸与异辛烷混合液(3+2),盖上塞子轻摇至试样完全溶解。通入氮气至锥形瓶中,以去除空气。在通氮气的情况下加入 0.1 mL 碘化钾饱和溶液,立即盖上塞子,摇动锥形瓶,反应 1 min,然后立即加入 30 mL 水,摇动 5 s~10 s,再加入 0.5 mL 淀粉指示液,摇匀,出现深蓝色。用 0.01 mol/L 硫代硫酸钠溶液对上述试样溶液进行滴定,边滴定边摇动锥形瓶,连续滴定至蓝色消失,即为终点。

需进行空白试验,当空白试验消耗 0.01 mol/L 硫代硫酸钠溶液超过 0.1 mL,应重新配制试剂,重新对试样进行测定。

A.6.3 结果计算

过氧化值 P 以(mmol/kg)计,按式(A.4)计算:

$$P = \frac{1\,000 \times (V - V_0) \times c}{2m} \quad \dots\dots\dots (A.4)$$

式中：

- V —— 试样消耗硫代硫酸钠溶液的体积,单位为毫升(mL);
- V_0 —— 空白试验消耗硫代硫酸钠溶液的体积,单位为毫升(mL);
- c —— 硫代硫酸钠溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
- m —— 试样的质量,单位为克(g);
- 1 000 —— 换算系数。

附录 B

醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)标准品色谱图

醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)标准品色谱图(10.0 mg/kg)见图 B.1。

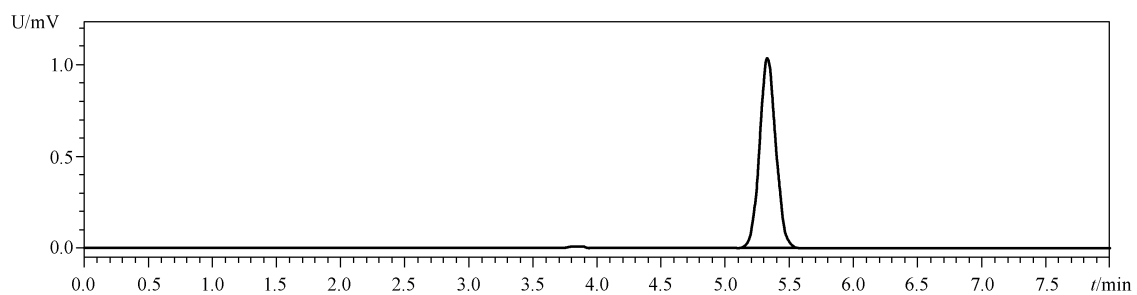


图 B.1 醋酸视黄酯(醋酸维生素 A)标准品色谱图(10.0 mg/kg)