

附件 1

海藻酸钙等 10 种食品添加剂新品种

一、 海藻酸钙（又名褐藻酸钙）

英文名称：Calcium alginate

功能分类：增稠剂、稳定和凝固剂

（一） 用量及使用范围

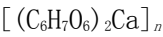
食品分类号	食品名称	最大使用量/(g/kg)	备注
06.03.02	小麦粉制品	5.0	
07.01	面包	5.0	

（二） 质量规格要求

1 范围

本质量规格要求适用于从海带(*Laminaria*)、巨藻(*Macrocystis*)、泡叶藻(*Ascophyllum*)等褐藻类植物中经提取加工制成的食品添加剂海藻酸钙（又名褐藻酸钙）。

2 分子式



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	白色至黄色	将适量样品均匀置于清洁、干燥的白瓷盘内，于光线充足、无异味的环境中，观察其色泽和状态。
状态	纤维状或粒状粉末	

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
海藻酸钙含量（以氧化钙计，以干基计），w/%	8.0 ~ 13.0	附录 A 中 A.3
干燥减量，w/% ≤	15.0	GB 5009.3 直接干燥法
灰分（以干基计），w/%	10.0 ~ 20.0	GB 5009.4 ^a
铅（Pb）/(mg/kg) ≤	4.0	GB 5009.12
砷（以 As 计）/(mg/kg) ≤	2.0	GB 5009.11
^a 灼烧温度为 700℃~800℃		

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，试验用水应符合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 1,3-二羟基萘乙醇溶液(10 g/L): 称取约1 g 1,3-二羟基萘溶于100 mL无水乙醇, 混匀(现用现配)。

A. 2. 1. 2 盐酸。

A. 2. 1. 3 异丙醚。

A. 2. 2 鉴别

A. 2. 2. 1 可溶性试验

本品不溶于水, 但是溶于碱性溶液或者溶于有与钙结合的物质的溶液中, 不溶于有机溶剂。

A. 2. 2. 2 海藻酸盐鉴定

取样品5mg放入试管中, 加入5mL水, 加入1 mL新制的1,3-二羟基萘乙醇溶液和5 mL浓盐酸摇匀。把上述混合物加热至沸, 轻轻煮沸3min, 冷却到15℃左右, 转移至30 mL的分液漏斗中, 容器用5 mL水洗涤, 洗液并入分液漏斗中。加入15 mL异丙醚, 振摇提取, 分取醚层, 同时做空白对照, 样品管的异丙醚层与对照管比较, 应显深紫色。

A. 3 海藻酸钙含量的测定

A. 3. 1 方法提要

将海藻酸钙试样灰化后, 与酸反应形成可溶性的钙盐, 利用乙二胺四乙酸二钠标准滴定溶液滴定反应产生的钙离子, 折算成海藻酸钙(以氧化钙计, 以干基计)的含量。

A. 3. 2 试剂和材料

A. 3. 2. 1 氢氧化钾溶液(2mol/L): 精确称取 112g 氢氧化钾置于 1000mL 水中, 溶解并混匀。

A. 3. 2. 2 混合酸消化液: 硝酸、高氯酸以 4:1 的质量比混合均匀, 备用。

A. 3. 2. 3 三乙醇胺溶液(10%): 量取 10mL 三乙醇胺置于 90mL 水中, 混合均匀。

A. 3. 2. 4 钙红指示剂(1%): 称取 1g 钙红指示剂($C_{21}O_7N_2SH_{14}$), 加 99g 固体氯化钠, 于研钵中混匀研细, 盛于棕色广口瓶中, 备用。

A. 3. 2. 5 乙二胺四乙酸二钠标准滴定溶液(0.01mol/L): 参照 GB/T601-2002 中 4.15 配制

A. 3. 3 仪器和设备

A. 3. 3. 1 碱式滴定管(50mL)。

A. 3. 3. 2 万用电阻炉。

A. 3. 4 分析步骤

A. 3. 4. 1 试样消化

取测定灰分项下的坩埚连同遗留残渣, 小心加入混合酸消化液 25mL±5mL, 置于通风橱内万用电阻炉上小火加热, 酸液过少时可反复补加少量混合酸消化液继续加热消化, 至消化液无色透明为止。此时消化液中可能会残留剩余酸消化液, 为将其蒸出, 应将消化液继续加热; 若消化液较少, 可反复补充 10mL±5mL 水缓慢加热, 直至不再有高氯酸的白烟冒出, 即可取下; 待冷却后, 将坩埚内消化液小心转移至 250mL 容量瓶中, 并用少量水反复冲洗坩埚, 并不断用 PH 试纸检测, 直至洗涤液不再呈明显酸性为止, 洗液并入容量瓶并定容。

取与消化试样相同量的混合酸消化液, 按上述操作做试剂空白试验。

A. 3. 4. 2 测定

A. 3. 4. 2. 1 试样及空白滴定

分别移取 5mL 试样消化液及空白于 250mL 三角瓶中, 加 50mL 蒸馏水混合均匀, 加入 2mol/L 氢氧化钾溶液 5mL, 再加入 10%三乙醇胺 1mL, 加钙红指示剂 0.1g, 充分振摇。使溶液混合均匀, 在不断振摇下, 用 0.01 mol/L 乙二胺四乙酸二钠标准滴定溶液滴定, 溶液由酒红色变为纯蓝色, 即为终点。

A. 3. 4. 2. 2 结果计算

海藻酸钙含量（以氧化钙计，以干基计）的质量分数 w_2 ，按式（A.1）计算：

$$w_2 = \frac{c \times (V - V_0) \times M \times 250}{m \times 50 \times 1000(1 - w_1)} \times 100\% \quad \cdots \cdots (A.1)$$

式中：

- m ——试样的质量，单位为克（g）；
- c ——乙二胺四乙酸二钠标准滴定溶液的浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；
- V ——滴定试样所消耗的乙二胺四乙酸二钠标准滴定溶液的体积，单位为毫升（mL）；
- V_0 ——滴定空白所消耗的乙二胺四乙酸二钠标准滴定溶液的体积，单位为毫升（mL）；
- 250——容量瓶的容积，单位为毫升（mL）；
- 5——移取试样消化液的体积，单位为毫升（mL）；
- M ——氧化钙的摩尔质量，单位为克每摩尔（g/mol） [$M(\text{CaO})=56.08$]；
- 1000——换算因子；
- w_1 ——试样的干燥减量的质量分数，单位为百分比（%）。

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得超过算术平均值的 3.0%。

二、 皂树皮提取物

英文名称：Quillaia extract

功能分类：乳化剂

（一） 用量及使用范围

食品分类号	食品名称	最大使用量（g/kg）	备注
14.02.03	果蔬汁（浆）类饮料	0.05	按皂素计，固体饮料按稀释倍数增加使用量
14.03	蛋白饮料	0.05	按皂素计，固体饮料按稀释倍数增加使用量
14.04	碳酸饮料	0.05	按皂素计，固体饮料按稀释倍数增加使用量
14.07	特殊用途饮料	0.05	按皂素计，固体饮料按稀释倍数增加使用量
14.08	风味饮料	0.05	按皂素计，固体饮料按稀释倍数增加使用量

（二） 质量规格要求

1 范围

本质量规格要求适用于以皂树（*Quillajasaponaria* Molina）的树皮、树干或枝条为原料，磨碎后使用水溶剂提取法提取出来经净化、精制等工艺生产的食品添加剂皂树皮提取物。商品化的皂树皮提取物产品可为液体或粉末状，粉末状产品可含有例如乳糖、麦芽糖醇、麦芽糊精、糊精、聚葡萄糖等作为载体。液体产品可以使用苯甲酸钠或乙醇以便保存。

2 产品分类

皂树皮提取物按照不同皂素含量范围分为 1 型和 2 型两种产品类型。

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	指 标	检验方法
状态	液体或粉末状	取适量样品置于白色瓷盘中，于自然光线下采用目测的方法观察状态、色泽及杂质，采用鼻嗅的方法闻其气味。
色泽	浅棕色至棕色	
气味	具有皂树皮提取物特有的气味	
杂质	无肉眼可见外来杂质	

3.2 理化指标：应符合表 2 的规定。

表 2 理化指标

项目	指标		检测方法
	1型	2型	
水分，w/% （限粉末形态产品） ≤	6		GB 5009.3 卡尔•费休法
干燥失重，w/% （限液体形态产品）	50~80	50~90	GB 5009.3直接干燥法
pH	3.7~5.5		附录A中A.3
灰分（以干基计），w/% ≤	14	5	GB 5009.4 ^a

丹宁酸（以干基计）， w/%≤	8		附录A中A.4
皂素含量（以干基计）， w/%	20~26	65~90	附录A中A.5
铅（Pb） /（mg/kg） ≤	2.0		GB 5009.12
*粉状样品，使用1.0g；液体样品，使用干燥失重后的残余物			

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，在色谱分析中均使用色谱纯试剂和 GB/T 6682 中规定的一级水，其余检验所用试剂的纯度均为分析纯，试验用水应符合 GB/T 6682 中三级水的规定。

A.2 鉴别试验

A.2.1 试样应具有较强水溶性，但不溶于乙醇、丙酮、甲醇和丁醇。

A.2.2 称取0.5g粉末试样溶解在9.5g水中或量取1mL液体试样溶解在9mL水中，加入装有350mL水的1000mL量筒中，量筒加盖后用力摇晃30次后静置，30min后记录泡沫体积（mL），泡沫体积应达到150mL。

A.2.3 按照皂素含量高效液相色谱测定法（A.5），试样主峰的保留时间应与皂素标准品的皂素主要组分(QS-18)主峰一致。

A.2.4 观察A.2.2中粉末试样溶液，溶液不应出现浑浊。将该溶液置于在520nm波长下测定其吸光度，吸光度应小于1.2。（此方法仅限粉末试样）

A.3 pH的测定

A.3.1 仪器和设备

pH计。

A.3.2 操作步骤

A.3.2.1 调整pH计

按仪器使用说明书调试和校正pH计。

A.3.2.2 测定

称取适量试样，用水配制成4%（w/%）的皂树皮提取物待测液。然后用水冲洗电极探头，用滤纸轻轻吸干，将电极插入待测溶液中，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。

A.4 丹宁酸的测定

A.4.1 试剂和材料

A.4.1.1 乙酸。

A.4.1.2 聚乙烯吡咯烷酮。

A.4.2 仪器和设备

A.4.2.1 电热恒温干燥箱。

A.4.2.2 离心机。

A.4.3 分析步骤

称取3.0g粉末试样，或含有3.0g固形物(使用干燥失重数值换算)的液体试样，精确至0.01 g，溶解在250mL水中，用乙酸调整pH为3.5，量取25 mL溶液，在105℃的温度条件下，干燥5 h，冷却，称重（ m_1 ）。量取50 mL溶液与360 mg聚乙烯吡咯烷酮混合，在室温下搅拌30 min，然后以3000 rpm的转速离心10 min。收集上层清液，并在105℃的温度条件下干燥5h，冷却，称重（ m_2 ）。

A.4.4 结果计算

丹宁酸（以干基计）的质量分数 w 按式（A.1）计算：

$$w = \frac{m_1 - \frac{m_2}{2}}{m_1} \times 100\%$$

式中：

m_1 ——加入聚乙烯聚吡咯烷酮前的溶液干燥后的质量，单位为克（g）；

m_2 ——加入聚乙烯聚吡咯烷酮后的溶液干燥后的质量，单位为克（g）；

2——换算系数。

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 5.0 %。

A. 5 皂素含量的测定

A. 5. 1 测定方法原理：

使用高效液相色谱将皂素的主要组分 QS-7、QS-17、QS-18 和 QS-21 分离，皂树皮提取物中皂素总水平以 QS-7、QS-17、QS-18 和 QS-21 总量计算。

A. 5. 2 试剂和材料

A. 5. 2. 1 皂素标准品（或类似皂素含量已知的皂素标准品）。

A. 5. 2. 2 三氟乙酸。

A. 5. 2. 3 高效液相色谱级乙腈。

A. 5. 2. 4 0.2 μ m 孔径的过滤膜。

A. 5. 3 仪器和设备

高效液相色谱仪：配备紫外检测器。

A. 5. 4 参考色谱条件

A. 5. 4. 1 色谱柱：C4键合硅胶色谱柱（长4.6×250 mm，孔径300A，粒径5 μ m）或其他等效色谱柱。

A. 5. 4. 2 柱温：室温。

A. 5. 4. 3 进样方式：梯度进样。

A. 5. 4. 4 流动相：

流动相A：将0.15%三氟乙酸溶解于高效液相色谱级用水；

流动相 B：将 0.15%三氟乙酸溶解于高效液相色谱级乙腈。

A. 5. 4. 5 流速：1.0 mL/min。

A. 5. 4. 6 检测波长：220nm。

A. 5. 4. 7 梯度洗脱条件见表A.1。

表A. 1 梯度洗脱条件

时间（min）	流动相 A%	流动相 B%	流速（mL/min）
0	70	30	1.0
40	55	45	1.0
45	70	30	1.0

A. 5. 4. 8 进样体积：20 μ L。

A. 5. 5 分析步骤

A. 5. 5. 1 试样溶液的制备

A. 5. 5. 1. 1 粉末试样

称取 0.5g 试样，精确至 0.001 g，在 9.5g 水中溶解，使用 0.2 μ m 孔径的过滤膜进行过滤，制备好的试样溶液约为 10mL。

A. 5. 5. 1. 2 液体试样

称取 1.0g 试样，精确至 0.001 g，用 9mL 水稀释，使用 0.2μm 孔径的过滤膜进行过滤，制备好的试样溶液约为 10mL。

A. 5. 5. 2 标准溶液的制备

称取 1.5g 皂素标准品，精确至 0.001 g，在 100mL 水中溶解，使用 0.2μm 孔径的过滤膜进行过滤。

A. 5. 6 结果计算

A. 5. 6. 1 根据上述样品制备方法制备的溶液中皂素的含量 C_{sap} ，单位为毫克每毫升(mg/mL)，按式 (A.2) 计算：

$$C_{sap} = \frac{A_{\text{样品}}}{A_{\text{标准}}} \times C_{\text{标准}} \dots\dots\dots (A.2)$$

式中：

$C_{\text{标准}}$ ——标准品的皂素浓度，单位为毫克每毫升 (mg/mL)（例如 $C_{\text{标准}}=13.5 \text{ mg/mL}$ 表示：1.5g 标准样品中皂素含量为 90%）；

$A_{\text{样品}}$ ——试样中 4 个主要皂素组分 QS-7、QS-17、QS-18 和 QS-21 峰面积的总和，如附录 B 中示意图所示（皂素的主峰将在多酚主峰出现后出峰，参见附录 B 中图 B.2 所示）。

$A_{\text{标准}}$ ——标准品中 4 个主要皂素峰面积的总和；

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 2.0 %。

A. 5. 6. 2 试样中皂素的质量分数 w_1 按式 (A.3) 计算：

$$w_1 = \frac{C_{sap} \times v_{\text{样品}}}{m_{\text{样品}}} \times 100\% \dots\dots\dots (A.3)$$

式中：

C_{sap} ——试样溶液中的皂素含量，单位为毫克每毫升 (mg/mL)；

$m_{\text{样品}}$ ——从制备的样品中取出的样品质量，单位为毫克 (mg)；

$v_{\text{样品}}$ ——制备的试样溶液体积，单位为毫升 (mL)。

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 2.0 %。

附录 B

皂树皮提取物高效液相色谱示意图

B. 1 皂素标准品色谱图

皂素标准品色谱图见图 B.1。

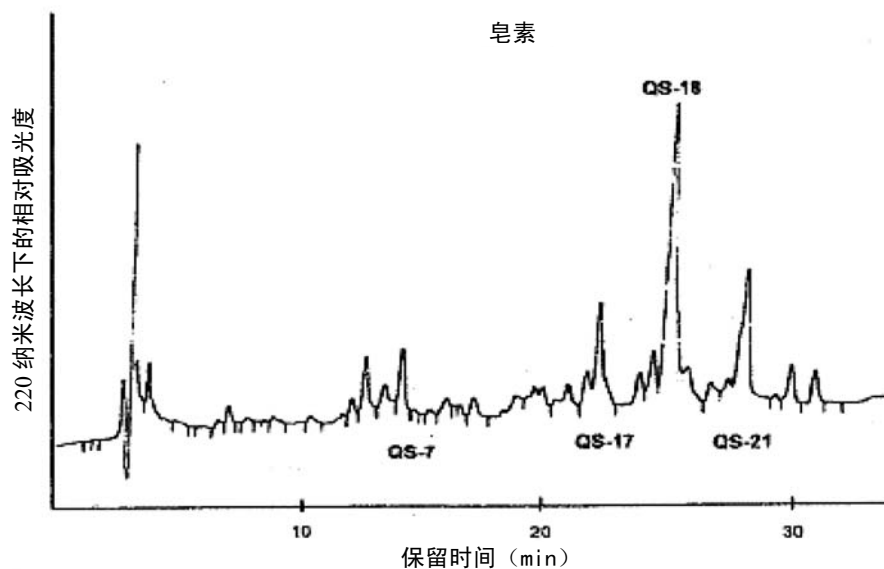


图 B.1 皂素标准品色谱图 (15mg/mL 干物质含量, 相当于 13.5mg/mL 皂素含量)

B.2 皂树皮提取物 (1 型) 的色谱图

皂树皮提取物 (1 型) 的色谱图见图 B.2。皂树皮提取物 (2 型) 的色谱图参照皂树皮提取物 (1 型) 色谱图。

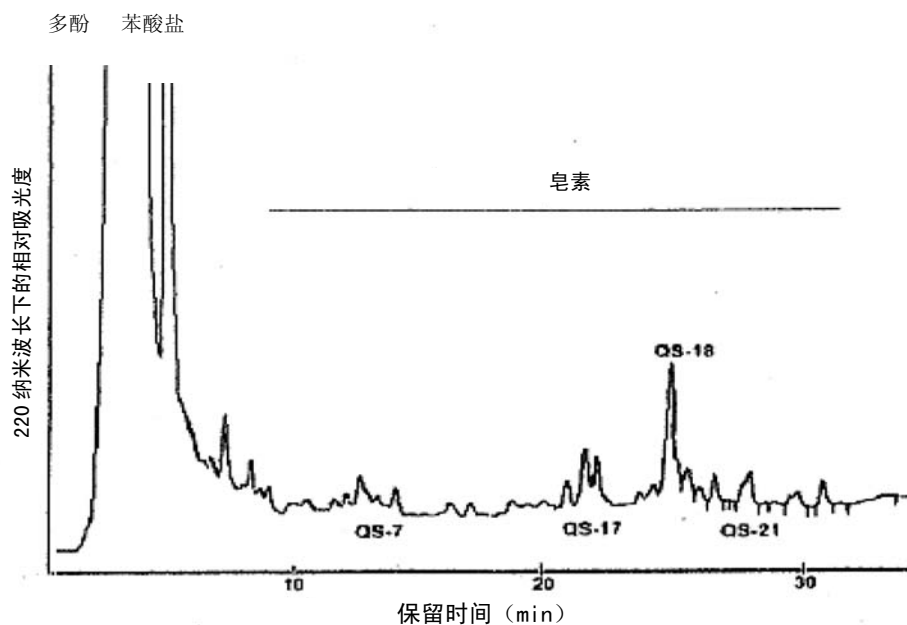


图 B.2 皂树皮提取物 (1 型) 的色谱图 (约 55 mg/mL 干物质含量)

三、 磷酸（湿法）

英文名称：Phosphoric acid (Wet process)

功能分类：酸度调节剂

(一)用量及使用范围

食品分类号	食品名称	最大使用量/(g/kg)	备注
14.04.01	可乐型碳酸饮料	5.0	以 PO_4^{3-} 计

(二) 质量规格要求

1 范围

本质量规格要求适用于经溶剂萃取、除杂和精制制得的食品添加剂磷酸（湿法）。

2 分子式和相对分子质量

2.1 分子式

H_3PO_4

2.2 相对分子质量

97.99

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	无色透明或略带浅色	取适量试样，置于清洁、干燥的比色管中，在自然光线下，目视观察其色泽和状态。
状态	稠状液体	

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
磷酸(H_3PO_4)含量, w/%	75.0~86.0	GB 1886.15
色度, 黑曾 $\leq$	20	GB/T 605
总有机碳（以 C 计）, w/% $\leq$	0.006	附录 A 中 A.4
易氧化物(以 H_3PO_3 计), w/% $\leq$	0.008	GB 1886.15
硫酸盐(以 SO_4 计), w/% $\leq$	0.01	附录 A 中 A.5
氯化物（以 Cl 计）, w/% $\leq$	0.0007	GB/T 2091
铁（以 Fe 计）, w/% $\leq$	0.001	附录 A 中 A.6
砷（以 As 计）/（mg/kg） $\leq$	0.5	GB 1886.15
氟化物（以 F 计）/（mg/kg） $\leq$	10	GB 1886.15
铅（Pb）(w) /（mg/kg） $\leq$	2.0	SN/T 2049
镉（以 Cd 计）/（mg/kg） $\leq$	2.0	SN/T 2049
汞（以 Hg 计）, w/% $\leq$	0.0001	附录 A 中 A.7
重金属（以 Pb 计）/（mg/kg） $\leq$	5.0	GB 1886.15

附录 A

检验方法

A. 1 安全提示

本试验方法中使用的部分试剂具有毒性、腐蚀性及易燃，操作者须小心谨慎！如溅到皮肤上应立即用水冲洗，严重者应立即治疗。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/T 6682 规

定的三级水。试验中所用标准溶液、杂质测定用标准溶液、制剂和制品，在没有注明其他要求时均按 GB/T 601、GB/T 602、GB/T 603 之规定制备。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 试剂和材料

A. 3.1.1 氢氧化钠溶液：40 g/L。

A. 3.1.2 硝酸银溶液：10 g/L。

A. 3.1.3 酚酞指示液：10 g/L。

A. 3.2 鉴别方法

称取约1 g试样，置于100 mL烧杯中，加10 mL水，1滴酚酞指示液，用氢氧化钠溶液调至中性，滴加硝酸银溶液，有黄色沉淀生成，该沉淀能溶于稀硝酸（5%）或氨水。

A. 4 总有机碳的测定

A. 4.1 方法提要

试样中的总有机碳，在过硫酸盐和紫外光的作用下，被氧化为二氧化碳，用有机碳TOC分析仪测定总碳含量。

A. 4.2 试剂和材料

A. 4.2.1 无二氧化碳蒸馏水或高纯水。

A. 4.2.2 邻苯二甲酸氢钾标准溶液：1mL溶液含碳（C）1.0mg。称取在120℃干燥2h的基准试剂邻苯二甲酸氢钾2.1254g，加入水溶解，移入1000mL容量瓶内，用水稀释至刻度，摇匀。

A. 4.2.3 高纯氮气：纯度99.999%。

A. 4.3 仪器和设备

有机碳（TOC）分析仪。

A. 4.4 分析步骤

A. 4.4.1 工作曲线的绘制

分别移取0.00mL、1.00mL、2.00mL、3.00mL、4.00mL的邻苯二甲酸氢钾标准溶液，置于100mL的容量瓶中，用高纯水定容到刻度，摇匀。用有机碳（TOC）分析仪器制定工作曲线。

A. 4.4.2 测定

称取约3g样品，精确至0.0001g。置于100mL容量瓶中，用纯水稀释至刻度，摇匀。用有机碳（TOC）分析仪测定。

A. 4.5 结果计算

总有机碳（以C计）的质量分数 w_1 按式（A.1）计算：

$$w_1 = \frac{m_1 \times 10^3}{m} \times 100 \quad \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

m_1 ——测定试验溶液中的总有机碳的质量，单位为毫克（mg）；

m ——试样的质量，单位为克（g）；

取平行测定结果的算术平均值为测定结果，平行测定结果的绝对差值不大于0.0002%。

A. 5 硫酸盐的测定

A. 5.1 方法提要

原子由低能级跃迁到高能级所需要的能量，是由RF发生器产生高频电磁能，通过线圈耦合到由氩气气流的矩管，从而产生等离子体。测量标准溶液所发射的特征谱线的光强，再测量待测浓度的特征谱线强度，从而确定待测溶液的浓度。

A. 5.2 试剂和材料

A. 5.2.1 硝酸溶液：1+1。

A. 5. 2. 2 标准溶液: SO_4 标准储备液含量为1mg/mL。临用时用纯水配制成需要浓度的标准溶液。

A. 5. 3 仪器和设备

电感耦合等离子体发射光谱仪。

A. 5. 4 分析步骤

称取约3~4g试样, 精确至0.0002g。置于100mL容量瓶中, 加入5mL硝酸溶液, 用水稀释到刻度, 摇匀。在电感耦合等离子体发射光谱仪上选择 SO_4 曲线进行测定。

A. 5. 5 结果计算

硫酸盐(以 SO_4 计)的质量分数 w_2 按式(A.2)计算:

$$w_2 = \frac{m_1 \times 10^4}{m} \times 100 \quad \dots\dots\dots (\text{A.2})$$

式中:

m_1 ——仪器读数, 单位为毫克每升(mg/L);

m ——试样的质量, 单位为克(g);

取平行测定结果的算术平均值为测定结果, 平行测定结果的绝对差值不大于0.0005%。

A. 6 铁(以Fe计)的测定

A. 6. 1 试剂和材料

A. 6. 1. 1 硝酸溶液: 1+1。

A. 6. 1. 2 标准溶液: Fe标准储备液含量为1mg/mL。临用时用纯水配制成需要浓度的标准溶液。

A. 6. 2 仪器和设备

电感耦合等离子体发射光谱仪。

A. 6. 3 分析步骤

称取约3~4g试样, 精确至0.0002g。置于100mL容量瓶中, 加入5mL硝酸溶液, 用水稀释到刻度, 摇匀。在电感耦合等离子体发射光谱仪上选择Fe曲线进行测定。

A. 6. 4 结果计算

Fe(以Fe计)的质量分数 w_3 按式(A.3)计算:

$$w_3 = \frac{m_1 \times 10^4}{m} \times 100 \quad \dots\dots\dots (\text{A.3})$$

式中:

m_1 ——仪器读数, 单位为毫克每升(mg/L);

m ——试样的质量, 单位为克(g);

取平行测定结果的算术平均值为测定结果, 平行测定结果的绝对差值不大于0.0002%。

A. 7 汞(以Hg计)的测定

A. 7. 1 方法提要

在酸性介质中, 试样中汞被硼氢化钾(KBH_4)还原成原子态汞, 由载气(氩气)带入原子化器中, 在特制汞空心阴极灯照射下, 基态汞原子被激发至高能态, 在去活化回到基态时, 发射出特征波长的荧光, 其荧光强度与汞含量成正比, 与标准系列比较定量。

A. 7. 2 试剂和材料

A. 7. 2. 1 盐酸溶液: 1+1。

A. 7. 2. 2 氢氧化钠溶液: 5g/L。

A. 7. 2. 3 硼氢化钾溶液: 称取5.0g硼氢化钾, 溶于5g/L的氢氧化钠溶液中, 并稀释至1000mL, 混匀, 现用现配。

A. 7. 2. 4 汞标准溶液：1mL溶液含汞（Hg）0.010mg，即用即配。用移液管移取1mL按照HG/T 3696.2配制的汞标准溶液，置于100mL容量瓶中，用水稀释至刻度、摇匀。

A. 7. 2. 5 汞标准溶液：1mL溶液含汞（Hg）0.1 μ g,即用即配。

A. 7. 2. 6 氩气：纯度应大于99.99%。

A. 7. 3 仪器和设备

双道原子荧光光度计

A. 7. 4 分析步骤

A. 7. 4. 1 仪器工作参数见表A.1。

表 A. 1 仪器工作参数表

待测 元素	负高压 (V)	灯电流 (mA)	柱高 (mm)	载气 (mL/min)	屏蔽气 (mL/min)
Hg	230	15	10	300	900

A. 7. 4. 2 标准系列溶液的配制

移取0.00mL，1.00mL，2.00mL，4.00mL，8.00mL，10.00mL Hg标准溶液(100 μ g /mL)于6个100mL的容量瓶中，分别加入10mL（1+1）HCl，用水稀释刻度，摇匀。在上述仪器工作参数条件下测标液的光强度，绘制标准曲线。

A. 7. 4. 3 样品的处理和测定

称取0.5g试样（精确至0.0001g）于100mL容量瓶中，加入10mL（1+1）HCl，用水稀释至刻度，摇匀。在绘制好的工作曲线上测定。

A. 7. 5 结果计算

汞(以Hg计)的质量分数 w_4 按式（A.4）计算：

$$w_4 = \frac{c \times 10^{-4}}{m} \times 100 \quad \dots\dots\dots (A.4)$$

式中：

c ——仪器读数，单位为毫克每升（mg/L）；

m ——试样的质量，单位为克（g）；

四、 酒石酸铁

英文名称：Iron tartrate

功能分类：抗结剂

(一) 用量及使用范围

食品分类号	食品名称	最大使用量/(g/kg)	备注
12.01	盐及代盐制品	0.106	最大使用量以酒石酸铁含量计

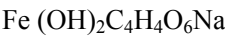
(二) 质量规格要求

1 范围

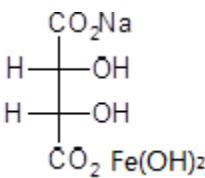
本质量规格要求适用于以 L-酒石酸、氢氧化钠与氯化铁为原料，经络合制得食品添加剂酒石酸铁。

2 分子式、结构式和相对分子量

2.1 分子式



2.2 结构式



2.3 相对分子量

261.93（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	深绿色	取适量试样置于 50mL 烧杯中，用目测法观察。
状态	液体	

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
内消旋酒石酸（以干基计二钠盐），w/%	≥ 37	附录 A 中 A.2
D-及 L-酒石酸（以干基计二钠盐），w/%	≥ 14	附录 A 中 A.2
草酸盐（以干基计草酸），w/%	≤ 1.5	附录 A 中 A.2
铁（Fe）（以干基计），w/%	≥ 8	GB/T 5009.90
水分，w/%	≥ 65	GB 5009.3
氯（Cl）（以干基计），w/%	≤ 25	GB/T 12457
钠（Na）（以干基计），w/%	≤ 23	GB/T 5009.91

砷 (As) / (mg/kg)	≤	3.0	GB 5009.76
铅 (Pb) / (mg/kg)	≤	5.0	GB 5009.12
汞 (Hg) / (mg/kg)	≤	1.0	GB 5009.17

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 内消旋酒石酸、D-及 L-酒石酸、草酸含量的测定

A. 2. 1 方法提要

酒石酸铁与过量的氢氧化物反应分解，经过滤形成的 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 。使用有机酸色谱柱为固定相，将 0.01 mol/L 的硫酸作为流动相，利用液相色谱法分离组分。使用示差折光检测器检测，借助外标进行计算。

A. 2. 2 仪器与设备

A. 2. 2. 1 高效液相色谱仪：示差折光检测器。

A. 2. 2. 2 泵。

A. 2. 2. 3 自动进样器：配备20 μL 的样品回路。

A. 2. 2. 4 分离柱：不锈钢管，长度300 mm，内径7.8 mm有机色谱柱。

A. 2. 2. 5 柱温箱。

A. 2. 2. 6 数据采集与集成系。

A. 2. 2. 7 注射器式滤器，直径30 mm，精度0.45 μm ，色号：绿色。

A. 2. 3 试剂和材料

A. 2. 3. 1 硫酸，浓度 0.01 mol/L。

A. 2. 3. 2 一水合内消旋酒石酸，浓度> 98 % 。

A. 2. 3. 3 D-酒石酸，浓度> 99 %。

A. 2. 3. 4 L-酒石酸，浓度> 99 %。

A. 2. 3. 5 二水合草酸，浓度> 99 %。

A. 2. 3. 6 氢氧化钠溶液，浓度 5 mol/L。

A. 2. 4 样品

试样贮存在密闭的棕色瓶中，与氧气隔离。如果样品瓶无法装满，需充入氮气将样品覆盖。避光（紫外线）并置于冰箱低温（4℃）保存。样品溶液在2周内保持稳定。

A. 2. 5 分析步骤

A. 2. 5. 1 色谱条件

A. 2. 5. 1. 1 分离柱色谱柱：有机酸色谱柱，内径300 $\times$ 7.8 mm；

A. 2. 5. 1. 2 柱温：10℃；

A. 2. 5. 1. 3 流动相：硫酸（A.2.3.1）；

A. 2. 5. 1. 4 流速：0.3 ml/min；

A. 2. 5. 1. 5 进样体积：20 μL ；

A. 2. 5. 1. 6 检测器：示差折光检测器。

A. 2. 5. 2 标准溶液的配制

A. 2. 5. 2. 1 多组分标准溶液A（2份）

向 50 mL 烧瓶中加入 50mg 至 60 mg 的一水合内消旋酒石酸 (A.2.3.2) 与 20mg 至 30mg 的 D-酒石酸 (A.2.3.3) 或 L-酒石酸 (A.2.3.4)，精确到 0.01mg。加入 50ml 的硫酸 (A.2.3.1) 溶解。确定总质量，精确到 0.1mg。

配置第二份浓度不同的多组分标准溶液A，其中，一水合内消旋酒石酸 (A.2.3.2) 与D-酒石酸 (A.2.3.3) 或L-酒石酸 (A.2.3.4) 的含量应有轻微区别，使测试样品的内消旋酒石酸和D-或L-酒石酸的含量在以上两个标准溶液A之间。

A. 2. 5. 2. 2草酸标准溶液B

称取 250 mg 的二水合草酸 (A.2.3.5)，精确到 0.1mg，用硫酸 (A.2.3.1) 溶解并定容至 500 mL。确定总质量，精确到 1 mg。

A. 2. 5. 3 多组分标准溶液 A 中内消旋酒石酸、D-及 L-酒石酸的浓度

按照A.2.5.6分析两个多组分标准溶液A。

用移液管抽取标准溶液A注入小玻璃瓶中，待分析。

多组分标准溶液A中内消旋酒石酸、D-及L-酒石酸的浓度分别按照公式 (A.1)、(A.2)、(A.3)、(A.4) 计算。

内消旋酒石酸的质量 M_1 :

$$M_1 = M_{cq1} \times \left[\frac{180.1 \times X}{168.1 \times 100} \right] \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

- M_1 ——多组分标准溶液A中内消旋酒石酸的质量，单位为毫克 (mg)；
- M_{cq1} ——多组分标准溶液A一水内消旋酒石酸的质量，单位为毫克 (mg)；
- X ——标准物质中内消旋酒石酸的质量百分数；
- 150.1 ——内消旋酒石酸的分子量；
- 168.1 ——一水合内消旋酒石酸的分子量；
- 100 ——换算因子。

D-及L-酒石酸的质量 M_2 :

$$M_2 = M_{cq2} + M_{cq1} \times \left[\frac{160.1 \times Y}{168.1 \times 100} \right] \dots\dots\dots (A.2)$$

式中:

- M_2 ——多组分标准溶液A中无水D-及L-酒石酸的质量，单位为毫克 (mg)；
- M_{cq1} ——多组分标准溶液A中一水内消旋酒石酸的质量，单位为毫克 (mg)；
- M_{cq2} ——多组分标准溶液A中无水D-或L-酒石酸的质量，单位为毫克 (mg)；
- Y ——标准物质中无水D-及L-酒石酸的质量百分数；
- 150.1 ——内消旋酒石酸的分子量；
- 168.1 ——一水合内消旋酒石酸的分子量；
- 100 ——换算因子。

多组分标准溶液A中，内消旋酒石酸的浓度 x_1 、D-及L-酒石酸的浓度 x_2 ，按式 (A.3)、(A.4) 计算:

$$x_1 = \frac{M_1}{M_t} \dots\dots\dots (A.3)$$

$$x_2 = \frac{M_2}{M_t} \dots\dots\dots (A.4)$$

式中:

- M_t ——多组分标准溶液A的质量, 单位为克 (g) ;
- M_1 ——多组分标准溶液A中, 内消旋酒石酸的质量, 单位为毫克 (mg) ;
- M_2 ——多组分标准溶液A中, D-及L-酒石酸的质量, 单位为毫克 (mg) 。

A. 2. 5. 4 草酸标准溶液 B 中草酸的浓度

按照表A.1制备校准溶液(I-VII): 用移液枪分别转移以下体积的草酸标准溶液B至7个50mL的烧瓶中, 待分析。

表A. 1 校准溶液

溶液(mL)	I	II	III	IV	V	VI	VII
草酸标准溶液B(A.2.5.2.2)	0	0.2	1.0	2.5	5.0	7.5	10.0

添加50mL的硫酸(A. 2. 3. 1) 确定总质量, 将结果精确到0. 1mg。用表A. 1中7个标准溶液来绘制曲线计算方程(A. 2. 6. 1. 2) 。

草酸标准溶液B中草酸的浓度按公式(A.5)、(A.6)计算:

草酸的质量 M_3 :

$$M_3 = M_{cqs} \times \frac{90.0}{126.1} \dots\dots\dots (A.5)$$

式中:

- M_3 ——草酸标准溶液B中草酸的含量, 单位为毫克 (mg) ;
- M_{cqs} ——草酸标准溶液B中二水合草酸的含量, 单位为毫克 (mg) ;
- 90.0 ——草酸的分子量;
- 126.1 ——二水合草酸的分子量。

草酸标准溶液B中, 草酸浓度 x_3 :

$$x_3 = \frac{M_3 \cdot V_c}{M_t \cdot M_{aq}} \dots\dots\dots (A.6)$$

式中:

- M_t ——草酸标准溶液B的质量, 单位为克 (g) ;
- M_3 ——草酸标准溶液B中草酸的质量, 单位为毫克 (mg) ;
- V_c ——表A.1中, 抽取的草酸标准溶液B的质量, 单位为克 (g) ;
- M_{aq} ——表A.1中, 配制好的草酸标准溶液B的质量, 单位为毫克 (mg) 。

A. 2. 5. 5 测试样品

称取500mg样品, 置于50 mL烧瓶中, 使用25mL水稀释, 加入1mL NaOH溶液(A.2.3.6),

静置至少1h使得Fe(OH)₃充分沉淀。确定总质量，精确到0.1 mg。测试样品溶液经注射器式滤器过滤后，注入小玻璃瓶中，待分析。

A. 2. 5. 6 测定

分别注射 20 μL 的多组分标准溶液 A (A.2.5.2.1)，草酸标准溶液 B (A.2.5.4)，和过滤后的测试样品溶液 (A.2.5.5) 到液相色谱仪中。使用折光率检测器记录液相色谱法的结果，并确定各组分的峰值面积 (=A)。

A. 2. 6 结果计算

A. 2. 6. 1 标准曲线绘制

A. 2. 6. 1. 1标准曲线的测量范围见表A.2。

表 A. 2 标准曲线的测量范围

组分	标样浓度范围	mTA浓溶液测量范围
内消旋-酒石酸	45 mg~55mg	9%~11%
D-及L-酒石酸	20 mg~30mg	4%~6%
草酸	0.05 mg~2.5mg	0.01%~0.5%

按照A.2.5.6，测试两份多组分标准溶液A (A.2.5.2.1)，对相应峰面积进行积分。以组分q的浓度为横坐标，组分q的峰面积为纵坐标绘制标准曲线并计算回归方程式 (A.7)。

A. 2. 6. 1. 2组分q(内消旋酒石酸、D-及L-酒石酸和草酸)校准函数

组分q标准曲线的截距 a_q 和斜率 b_q ，按照校准函数 (A.7) 计算：

$$Y = a_q + b_q x \dots\dots\dots (A.7)$$

式中：

- a_q ——组分q标准曲线的截距；
- b_q ——组分q标准曲线的斜率；
- Y ——标准样中组分q的峰面积 (Ac) ；
- x ——标准样中组分q的浓度，单位为毫克每克 (mg/g)，由式 (A.3) (A.4) (A.6) 计算。

A. 2. 6. 2 测试样品中各组分q的浓度

测试样品中各组分浓度 $c(q)$ 按式 (A.8) 计算：

$$c(q) = \frac{(A_{sq} - a_q) \times M}{M_s \times b_q} \times 100\% \dots\dots\dots (A.8)$$

式中：

- a_q ——组分q标准曲线的截距；
- b_q ——组分q标准曲线的斜率；
- A_{sq} ——测试样品溶液中组分q的峰面积；
- M_s ——测试部分的质量，单位为毫克 (mg) ；
- M ——50mL烧瓶 (A.2.5.5) 中组分的质量，单位为克 (g) 。

A. 2. 7 精密度

取两次平行测定结果的算术平均值为报告结果。两次平行测定结果的绝对差值不大于0.2%。

五、 茶黄素

英文名称：Theaflavins

功能分类：抗氧化剂

（一） 用量及使用范围

食品分类号	食品名称	最大使用量/(g/kg)	备注
02.0	脂肪，油和乳化脂肪制品	0.4	
02.01	基本不含水的脂肪和油	0.4	
04.05.02.01	熟制坚果与籽类(仅限油炸坚果与籽类)	0.2	
04.05.02.03	坚果与籽类罐头	0.2	
05.02.01	胶基糖果	0.4	
06.03.02.05	油炸面制品	0.2	
06.06	即食谷物，包括碾轧燕麦（片）	0.2	
06.07	方便米面制品	0.2	
07.0	焙烤食品	0.4	
08.02	预制肉制品	0.3	
08.03	熟肉制品	0.3	
09.0	水产及其制品(包括鱼类、甲壳类、贝类、软体类、棘皮类等水产及其加工制品等)	0.3	
09.03	预制水产品（半成品）	0.3	
12.10	复合调味料	0.1	
14.03.02	植物蛋白饮料	0.1	
14.04	碳酸饮料	0.2	
14.06	固体饮料	0.8	
14.07	特殊用途饮料	0.2	
14.08	风味饮料	0.2	
14.09	其他类饮料	0.2	
16.01	果冻	0.2	如用于果冻粉，按冲调倍数增加使用量
16.02.02	茶制品（包括调味茶和代用茶）	0.2	
16.06	膨化食品	0.2	

（二） 质量规格要求

1 范围

本质量规格要求适用于以新鲜茶叶或茶多酚为原料，利用新鲜茶叶中天然含有的多酚氧化酶系，经生物发酵，乙酸乙酯浸提、食品工业用吸附树脂纯化，再经浓缩、干燥制得的食品添加剂茶黄素。

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	要求	检验方法
----	----	------

色泽	茶褐色或棕黄色	取适量试样置于清洁、干燥的白瓷盘中，在自然光线下，观察其色泽和状态。
状态	粉末	

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
茶黄素，w/% $\geq$	20.0	附录 A 中 A.3
咖啡碱，w/% $\leq$	5.0	GB/T 8312
水分，w/% $\leq$	6.0	GB/T 8304 ^a
总灰分，w/% $\leq$	2.0	GB/T 8306
砷（以 As 计）/（mg/kg） $\leq$	2.0	GB 5009.11
重金属（以 Pb 计）/（mg/kg） $\leq$	10	GB5009.74

^a干燥温度和时间分别为 105℃±2℃和 4h。

2.3 微生物指标：应符合表 3 的规定。

表 3 微生物指标

项 目	限量（若非指定，均以/25g 表示）	检验方法
菌落总数/（CFU/g） $\leq$	1000	GB 4789.2
霉菌和酵母/（CFU/g） $\leq$	100	GB 4789.15
大肠菌群/（MPN/g） $\leq$	3.0	GB 4789.3
大肠埃希氏菌	不得检出	GB 4789.38
沙门氏菌	不得检出	GB 4789.4

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，试验用水应符合 GB/T 6682 的规定。试验中所用溶液在未注明用何种溶液配制时，均指水溶液。

A.2 鉴别试验

A.2.1 颜色反应

铝盐与茶黄素复合产生红色，于波长 525nm 具有最大吸收。

取 1mL 浓度为 0.2mg/mL 的茶黄素甲醇溶液，置于 10mL 容量瓶，加入 2mL 浓度为 0.1mol/L 的三氯化铝溶液，甲醇定容，充分显色 20min，于 525nm 具有最大吸收。

A.2.2 指纹图谱分析

A.2.2.1 标准溶液的制备：称取茶黄素标准品（茶黄素含量 $\geq$ 80%）10mg，用 95%的乙醇溶液溶解成 50mL，经 0.45 μ m 的滤膜过滤。

A.2.2.2 样品的制备：称取样品 0.1g，用 15mL 乙醇溶解后移入 100mL 容量瓶内，用蒸馏水定容至 100mL，混匀，经 0.45 μ m 的滤膜过滤。

A.2.2.3 色谱条件：

- a) 色谱柱：C18 反相色谱柱 5.0 μ m×4.6mm×200mm；
- b) 流动相：A 0.1%磷酸溶液，经 0.45 μ m 的滤膜过滤；

B 乙腈(色谱纯)。

- c) 柱温: 35.0℃;
- d) 流速: 2.0mL/min;
- e) 波长: 380nm;
- f) 洗脱梯度见表 A.1。

表 A.1 洗脱梯度

时间 (min)	A%	B%
0	90	10
0.5	90	10
5	79	21
25	74	26
28	90	10

A. 2. 2. 4 测定: 取标准溶液和样品溶液 10μL, 注入色谱仪, 测定, 绘制标准图谱, 和样品的图谱相比较。

A. 2. 2. 5 指纹图谱见图 A. 1。

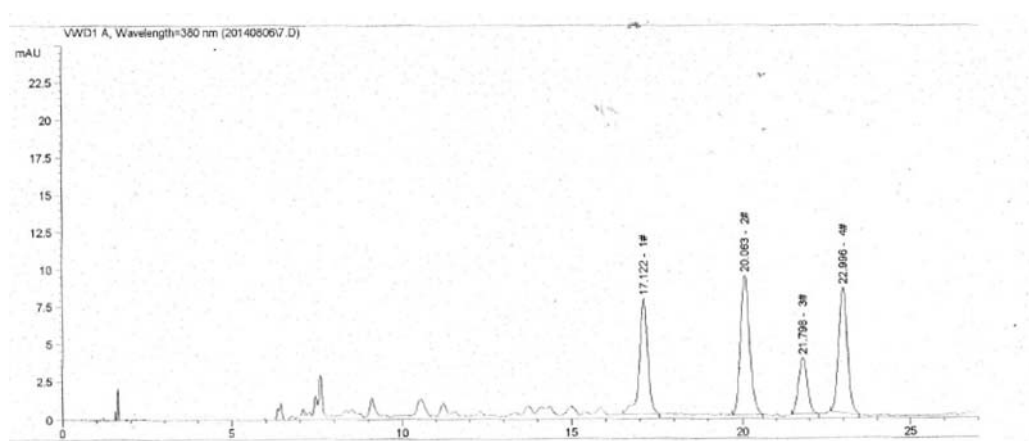


图 A.1 指纹图谱

A. 3 茶黄素含量的测定

A. 3. 1 试剂和材料

- A. 3. 1. 1 95%的乙醇。
- A. 3. 1. 2 乙酸乙酯(分析纯)。
- A. 3. 1. 3 碳酸氢钠(分析纯)。

A. 3. 2 仪器和设备

紫外可见分光光度计。

A. 3. 3 操作步骤

准确称量 0.1g 样品, 用水定容至 100mL, 摇匀, 准确移取均匀试液 30mL 于 60mL 筒形分液漏斗中, 迅速加入 30mL 乙酸乙酯, 震荡 5min, 静置分层, 移取酯相 15mL 至另一 30mL 筒形分液漏斗中, 并加入 15mL 现配的 2.5%碳酸氢钠溶液, 再震荡 30s, 最后移取酯相 4mL 至 25mL 容量瓶中, 并加入乙醇溶液定容, 充分摇匀。以乙醇溶液为空白, 1cm 比色杯 380nm 下测定吸光值 A。

A. 3. 4 标准曲线的制作

称取 80%的标准品 0.1g, 于 100mL 容量瓶中做母液。分别移取 0 mL、5mL、10mL、15mL、20mL 用乙醇定容至 100mL, 配成标准溶液, 于 380nm 处测定吸光值, 绘成标准曲线, 其中斜率为 a, 截距为 b。

A. 3. 5 计算

茶黄素的质量分数 w 按式(A.1)计算:

$$w = \frac{E \times 100 \times 25/4}{m \times (1 - w_1) \times 1000} \times 100\% \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

E——根据标准曲线计算的样品浓度, 单位为毫克每毫升 (mg/mL), $E=aA+b$ (A 为吸光值);

m——试样的质量, 单位为克 (g);

w_1 ——试样的干燥失重, %;

100——定容至 100mL;

25/4 ——4mL 稀释到 25mL;

1000 ——单位值换算 1g=1000mg。

六、 2(4)-乙基-4(2), 6-二甲基二氢-1, 3, 5-二噻嗪

英文名称：2(4)-Ethyl-4(2),6-dimethyldihydro-1,3,5-dithiazinane

功能分类：食品用香料

（一） 用量及使用范围

配制成食品用香精用于各类食品（GB2760-2014 表 B.1 食品类别除外），用量为按生产需要适量使用。

（二） 质量规格要求

1 范围

本质量规格要求适用于由丙醛、硫化氢、乙醛和氨等为原料经化学反应制得的食物添加剂 2(4)-乙基-4(2),6-二甲基二氢-1,3,5-二噻嗪。

2 化学名称、分子式、结构式、分子量

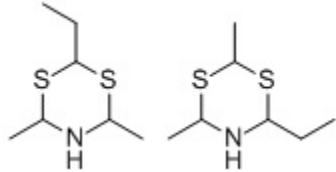
2.1 化学名称

2(4)-乙基-4(2),6-二甲基二氢-1,3,5-二噻嗪

2.2 分子式

C₇H₁₅NS₂

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	浅黄色	将试样置于比色管内，用目测法观察。
状态	液体	
香气	葱蒜样气息	GB/T 14454.2

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
含量，w/%	≥ 90.0（2-乙基-4,6-二甲基二氢-1,3,5-二噻嗪和 4-乙基-2,6-二甲基二氢-1,3,5-二噻嗪两个异构体之和） ^a	附录 A

折光指数(20℃)	1.543~1.546	GB/T 14454.4
相对密度(25℃/25℃)	1.072~1.075	GB/T 11540
a 次要组分为 3,5-二乙基-1,2,4-三硫杂环戊烷 和 2,4,6-三甲基二氢-4H-1,3,5-二噻嗪		

附录A

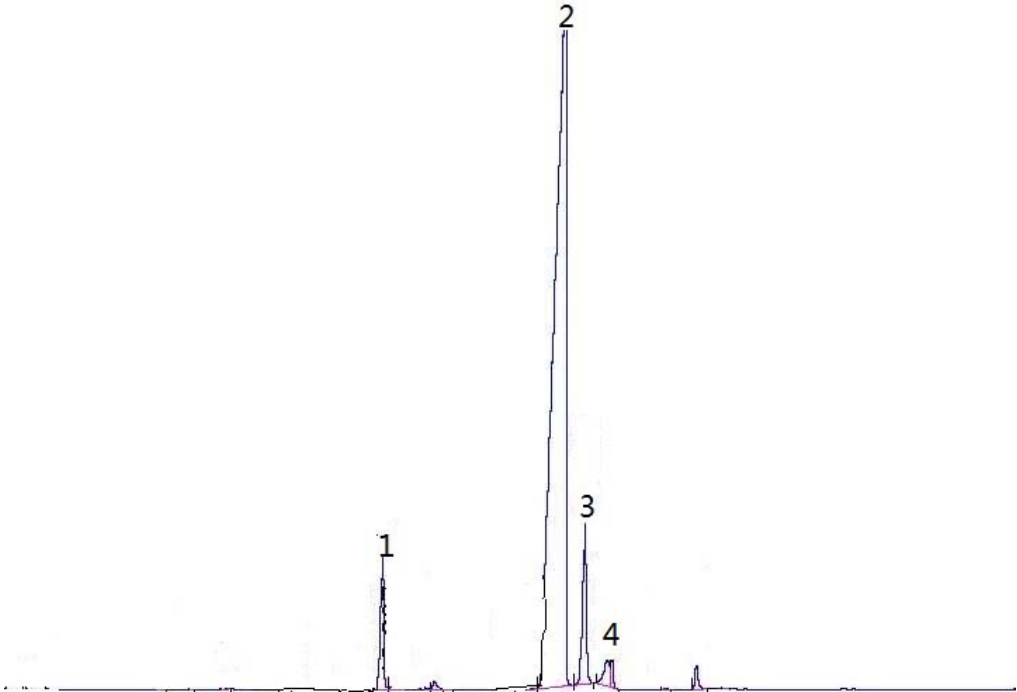
2(4)-乙基-4(2), 6-二甲基二氢-1, 3, 5-二噻嗪含量的测定

- A. 1 仪器和设备
- A. 1. 1 色谱仪：按 GB/T 11538—2006 中第 5 章的规定。
- A. 1. 2 柱：毛细管柱。
- A. 1. 3 检测器：氢火焰离子化检测器。
- A. 2 测定方法
- 面积归一化法：按 GB/T 11538—2006 中 10.4 测定含量。
- A. 3 重复性及结果表示
- 按 GB/T 11538—2006 中 11.4 规定进行，应符合要求。
- 食品添加剂 2(4)-乙基-4(2),6-二甲基二氢-1,3,5-二噻嗪气相色谱图及操作条件参见附录 B。

附录 B

食品添加剂 2(4)-乙基-4(2), 6-二甲基二氢-1, 3, 5-二噻嗪气相色谱图及操作条件
(面积归一化法)

- B. 1 食品添加剂 2(4)-乙基-4(2), 6-二甲基二氢-1, 3, 5-二噻嗪气相色谱图
- 食品添加剂 2(4)-乙基-4(2),6-二甲基二氢-1,3,5-二噻嗪气相色谱图见图 B.1。



- 说明：
- 1——2,4,6-三甲基二氢-4H-1,3,5-二噻嗪；
- 2——2-乙基-4,6-二甲基二氢-1,3,5-二噻嗪；
- 3——4-乙基-2,6-二甲基二氢-1,3,5-二噻嗪；
- 4——3,5-二乙基-1,2,4-三硫杂环戊烷。

图 B.1 食品添加剂 2(4)-乙基-4(2), 6-二甲基二氢-1, 3, 5-二噻嗪气相色谱图

B.2 操作条件

B.2.1 柱：毛细管柱，长 50 m，直径 0.32 mm。

B.2.2 固定相：聚乙二醇 20000。

B.2.3 膜厚：0.50 μm 。

B.2.4 色谱炉温度：75 $^{\circ}\text{C}$ 恒温 4 min，然后线性程序升温从 75 $^{\circ}\text{C}$ 至 225 $^{\circ}\text{C}$ ，速率 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ，最后在 225 $^{\circ}\text{C}$ 恒温 10 min。

B.2.5 进样口温度：250 $^{\circ}\text{C}$ 。

B.2.6 检测器温度：250 $^{\circ}\text{C}$ 。

B.2.7 检测器：氢火焰离子化检测器。

B.2.8 载气：氮气。

B.2.9 柱前压：0.06 MPa。

B.2.10 进样量：0.1 μL 。

B.2.11 分流比：75:1。

七、 3-庚基二氢-5-甲基-2(3H)-呋喃酮

英文名称：3-Heptyldihydro-5-methyl-2(3H)-furanone

功能分类：食品用香料

（一） 用量及使用范围

配制成食品用香精用于各类食品（GB2760-2014 表 B.1 食品类别除外），用量为按生产需要适量使用。

（二） 质量规格要求

1 范围

本质量规格要求适用于由 3-乙酰基-5-甲基二氢-2(3H)-呋喃酮和庚醛为原料经化学反应制得食品添加剂 3-庚基二氢-5-甲基-2(3H)-呋喃酮。

化学名称、分子式、结构式和相对分子质量

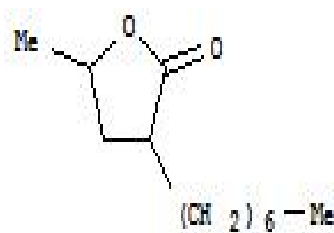
2.1 化学名称

3-庚基二氢-5-甲基-2(3H)-呋喃酮

2.2 分子式

C₁₂H₂₂O₂

2.3 结构式



2.4 相对分子质量

198.31(按 2007 年国际相对原子质量)

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	无色	将试样置于比色管内，用目测法观察。
状态	液体	
香气	果香	GB/T 14454.2

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
含量，w/% ≥	95.0（顺反异构体之和）	附录 A
折光指数(20 ℃)	1.443～1.450	GB/T 14454.4
相对密度(25 ℃/25 ℃)	0.928～0.942	GB/T 11540

附录 A

3-庚基二氢-5-甲基-2(3H)-呋喃酮含量的测定

A.1 仪器和设备

A.1.1 色谱仪：按GB/T 11538—2006中第5章的规定。

A.1.2 柱：毛细管柱。

A.1.3 检测器：氢火焰离子化检测器。

A.2 测定方法

面积归一化法：按 GB/T 11538—2006 中 10.4 测定含量。

A.3 重复性及结果表示

按 GB/T 11538—2006 中 11.4 规定进行，应符合要求。

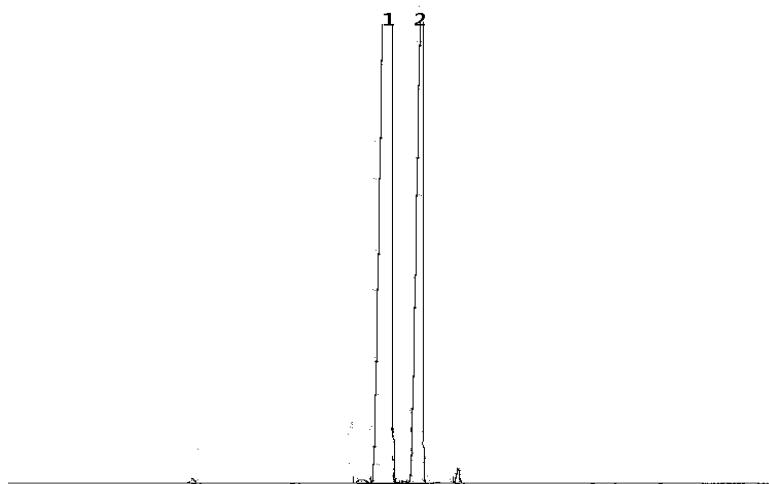
食品添加剂 3-庚基二氢-5-甲基-2(3H)-呋喃酮气相色谱图及操作条件参见附录 B。

附录 B

食品添加剂 3-庚基二氢-5-甲基-2(3H)-呋喃酮气相色谱图及操作条件 (面积归一化法)

B.1 食品添加剂 3-庚基二氢-5-甲基-2(3H)-呋喃酮气相色谱图

食品添加剂 3-庚基二氢-5-甲基-2(3H)-呋喃酮气相色谱图见图 B.1。



说明：

- 1——顺式-3-庚基二氢-5-甲基-2(3H)-呋喃酮；
- 2——反式-3-庚基二氢-5-甲基-2(3H)-呋喃酮。

图 B.1 食品添加剂 3-庚基二氢-5-甲基-2(3H)-呋喃酮气相色谱图

B.2 操作条件

B.2.1 柱：毛细管柱，长25 m，内径0.20 mm。

B.2.2 固定相：聚乙二醇20000。

B.2.3 膜厚：0.20 μm。

B.2.4 色谱炉温度：75 °C 恒温4 min，然后线性程序升温从75 °C至225 °C，速率8 °C/min，最后在225 °C 恒温8 min。

B.2.5 进样口温度：250 °C。

B.2.6 检测器温度：250 °C。

B.2.7 检测器：氢火焰离子化检测器。

B.2.8 载气：氮气。

B.2.9 柱前压：0.06 MPa。

B.2.10 进样量：0.1 μL。

B.2.11 分流比：75:1。

八、 香兰醇

英文名称：Vanillyl alcohol

功能分类：食品用香料

（一） 用量及使用范围

配制成食品用香精用于各类食品（GB2760-2014 表 B.1 食品类别除外），用量为按生产需要适量使用。

（二） 质量规格要求

1 范围

本质量规格要求适用于由香兰素为原料经化学反应制得食品添加剂香兰醇。

化学名称、分子式、结构式和相对分子质量

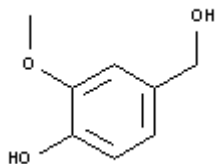
2.1 化学名称

4-羟基-3-甲氧基苄醇

2.2 分子式

C₈H₁₀O₃

2.3 结构式



2.4 相对分子质量

154.17(按 2007 年国际相对原子质量)

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	白色至浅黄色，久置成棕黄色	将试样置于一洁净白纸上，用目测法观察。
状态	结晶性粉末	
香气	温和的甜香、膏香、香兰素样香气	GB/T 14454.2

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
含量，w/%	≥ 98.0	附录 A

附录 A

香兰醇含量的测定

A.1 仪器和设备

A.1.1 色谱仪：按GB/T 11538—2006中第5章的规定。

A.1.2 柱：毛细管柱。

A.1.3 检测器：氢火焰离子化检测器。

A.2 测定方法

面积归一化法：按 GB/T 11538—2006 中 10.4 测定含量。

试样制备：称取试样 2 g 溶于 1 mL 无水乙醇中，摇匀备用

A.3 重复性及结果表示

按 GB/T 11538—2006 中 11.4 规定进行，应符合要求。

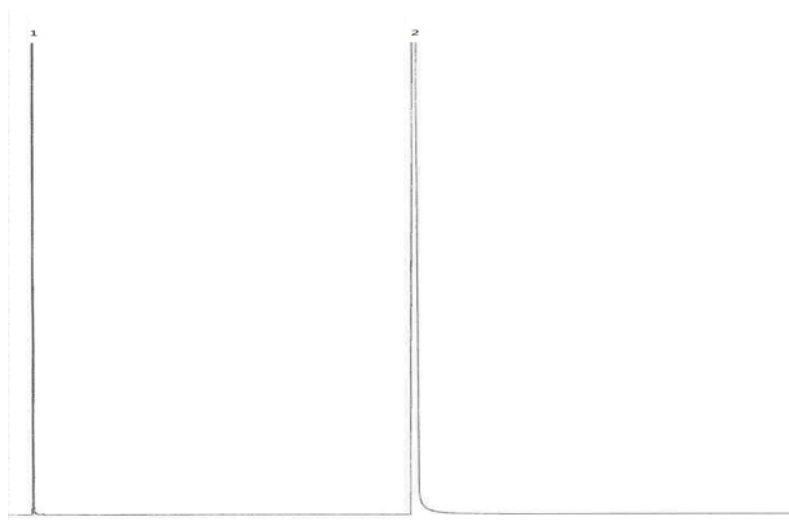
食品添加剂香兰醇气相色谱图及操作条件参见附录 B。

附录 B

食品添加剂香兰醇气相色谱图及操作条件 (面积归一化法)

B.1 食品添加剂香兰醇气相色谱图

食品添加剂香兰醇气相色谱图见图B. 1。



说明：

1——乙醇(溶剂)；

2——香兰醇。

图 B.1 食品添加剂香兰醇气相色谱图

B.2 操作条件

B.2.1 柱：毛细管柱，长25 m，内径0.20 mm。

B.2.2 固定相：聚乙二醇20000。

B.2.3 膜厚：0.33 μm 。

B.2.4 色谱炉温度：75 $^{\circ}\text{C}$ 恒温4 min，然后线性程序升温从75 $^{\circ}\text{C}$ 至225 $^{\circ}\text{C}$ ，速率8 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ，最后在225 $^{\circ}\text{C}$ 恒温8 min。

B.2.5 进样口温度：250 $^{\circ}\text{C}$ 。

B.2.6 检测器温度：250 $^{\circ}\text{C}$ 。

B.2.7 检测器：氢火焰离子化检测器。

B.2.8 载气：氮气。

B.2.9 柱前压：0.06 MPa。

B.2.10 进样量：0.1 μL 。

B.2.11 分流比：75:1。

九、 6-[5(6)-癸烯酰氧基]癸酸

英文名称：6-[5(6)-Decenoyloxy]decanoic acid

功能分类：食品用香料

（一） 用量及使用范围

配制成食品用香精用于各类食品（GB2760-2014 表 B.1 食品类别除外），用量为按生产需要适量使用。

（二） 质量规格要求

1 范围

本质量规格要求适用于由戊位癸内酯为原料经过水解、脱水、蒸馏制得食品添加剂 6-[5(6)-癸烯酰氧基]癸酸。

2 化学名称、分子式、结构式和相对分子质量

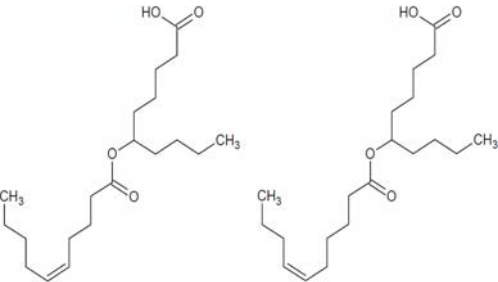
2.1 化学名称

6-[5(6)-癸烯酰氧基]癸酸

2.2 分子式

C₂₀H₃₆O₄

2.3 结构式



2.4 相对分子质量

340.5（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	无色至淡黄色	将试样置于比色管内，用目测法观察。 GB/T14454.2
状态	液体	
气味	乳样香气	

1.2 技术要求：应符合表 2 的规定。

表 2 技术要求

项 目	指 标	检验方法
6-(5(6)-癸烯酰氧基)癸酸含量(GC，面积归一化法)， w/%	≥ 96	GB/T 11538
折光指数（20 ℃）	1.4550~1.4620	GB/T 14454.4
相对密度（20 ℃/20 ℃）	0.9520~0.9620	GB/T 11540

十、 葡萄糖基甜菊糖苷

英文名称：Glucosyl Steviol Glycosides

功能分类：食品用香料

（一） 用量及使用范围

配制成食品用香精用于各类食品（GB2760-2014 表 B.1 食品类别除外），用量为按生产需要适量使用。

（二） 质量规格要求

1 范围

本质量规格要求适用于以甜叶菊（*Stevia Rebaudiana Bertoni*）叶为原料，经酶法对在甜叶菊叶中提取的甜菊糖苷进行葡萄糖基化，然后经蒸发浓缩、喷雾干燥而得食品添加剂葡萄糖基甜菊糖苷。

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	白色或淡黄色	取适量样品置于清洁、干燥的玻璃皿中，在自然光线下，观察其色泽和状态。
性状	粉末状	

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
葡萄糖基甜菊糖苷（GSG），w/%	≥	附录 A 中 A.3
瑞鲍迪苷A+甜菊苷，w/%	≤	
瑞鲍迪苷A，w/%	≤	
甜菊苷，w/%	≤	
麦芽糊精，w/%	≤	
旋光度	+65° ~ +75°	GB/T 14454.5
相对密度	0.2~0.6	GB/T 11540
pH	4.5~7.0	GB/T 9724

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

白色或淡黄色粉末，易溶于水，微溶于乙醇。

A.3 葡萄糖基甜菊糖苷，甜菊糖苷，麦芽糊精的测定方法

A.3.1原理

通过吸附色谱法和高效液相色谱法能够测定甜菊糖苷总含量（TSG）、残余麦芽糊精（RD）、未反应的甜菊糖苷以及葡萄糖基甜菊糖苷比例。

A.3.2范围

围绕含有α-1, 4-葡萄糖基甜菊糖苷（GSG）混合物的终产品，并适用于甜菊糖苷总含量以干基计在60~102%范围内的固体样品。

A. 3. 3设备和试剂

- A. 3. 3. 1 高效液相色谱法（HPLC）；设备需配备二元泵，自动取样器，柱温箱和DAD检测器，接口与数据采集软件；
- A. 3. 3. 2 HPLC氨基柱，4.6mm x 250mm，5μm颗粒；
- A. 3. 3. 3 精确度为0.0001g的分析天平；
- A. 3. 3. 4 卡尔费休库仑滴定仪；
- A. 3. 3. 5 实验室用真空旋转蒸发仪；
- A. 3. 3. 6 真空烘箱；
- A. 3. 3. 7 水分仪；
- A. 3. 3. 8 真空溶剂过滤系统，全玻璃材质；
- A. 3. 3. 9 真空系统过滤器：聚丙烯材质，0.2μm，47mm；
- A. 3. 3. 10 A级容量瓶和移液管；
- A. 3. 3. 11 装满200 mL 大孔吸附树脂的玻璃柱（内径为25mm）；
- A. 3. 3. 12 乙腈，HPLC等级；
- A. 3. 3. 13 水，HPLC等级；
- A. 3. 3. 14 乙醇、试剂等级、系统设备，或其他等效物；
- A. 3. 3. 15 瑞鲍迪苷A标准品；
- A. 3. 3. 16 甜菊苷标准品；
- A. 3. 3. 17 瑞鲍迪苷C标准品；
- A. 3. 3. 18 瑞鲍迪苷F标准品；
- A. 3. 3. 19 杜克苷A标准品；
- A. 3. 3. 20 甜茶苷标准品；
- A. 3. 3. 21 醋酸铵，试剂等级；
- A. 3. 3. 22 冰醋酸，试剂等级。

A. 3. 4 安全注意事项

- A. 3. 4. 1 在处理材料、清理溢出液体和废物时，应始终遵循危险化学品安全措施与应急处置原则。
- A. 3. 4. 2 对于上述步骤中所使用的化学品，应遵守物料安全数据表中列出的所有预防措施及危险注意事项。
- A. 3. 4. 3 甜菊糖苷通常为粉末状，在抖动、投料及搅拌过程中，易产生空气粉尘，可能会吸入到人的口、鼻中产生不适，因此需要谨慎操作避免产生粉尘。

A. 3. 5 步骤

A. 3. 5. 1 TSG

试验溶液——准确称取约5g GSG，并将其倒入250mL水中溶解。以小于15mL/min的速率，将溶液加入装有200mL的大孔树脂的玻璃柱内（内径为25mm），然后用1000mL水冲洗树脂。以15mL/min或更低的速率使用1000mL50%（体积）乙醇洗脱所吸附的甜菊糖苷。将所收集的乙醇洗脱物和水洗液蒸发至干燥，然后将它们置于真空烘箱中，在105℃的温度下干燥两个小时。对每一组分的干重进行称重并记录。通过公式计算TSG和RD的含量（%）。

TSG的质量分数 w_1 按式（A.1）计算，RD含量的质量分数 w_2 按式（A.2）计算：

$$w_1 = \frac{m_1}{m_2 \times (100 - w_h) \times 10^{-2}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

m_1 ——干燥后乙醇组分总量，单位为克（g）；

m_2 ——原样品的湿重，单位为克（g）；

w_h ——含水率（%）；

$$w_2 = \frac{m_3}{m_2 \times (100 - w_h) \times 10^{-2}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.2)$$

式中：

m_3 ——干燥后水组分总量，单位为克（g）；

m_2 ——原样品的湿重，单位为克（g）；

w_h ——含水率（%）；

验收标准:

样品回收率必须在98.0%到102.0%之间, 样品回收率 w_3 按式(A.3)计算:

$$w_3 = w_1 + w_2 \quad \dots\dots\dots (A.3)$$

式中:

w_1 ——TSG总含量的质量分数(%) ;

w_2 ——RD的含量的质量分数(%) ;

水洗液中甜菊糖苷含量低于10mg/L的, 必须通过HPLC对其水洗液进行检测。

A. 3. 5. 2未反应的甜菊糖苷含量

称取约3g GSG, 并将其倒入缓冲液(A.3.6.1.2)中溶解, 以配制100mL的溶液, 将其作为试验溶液。HPLC测定法按照甜菊糖苷的HPLC测定步骤(A.3.6.1)来测定未反应的甜菊糖苷(SG)的含量。样品的色谱图符合示例色谱图。通过下列从甜菊糖苷(A.3.5.1)的总含量中计算 α -葡萄糖基甜菊糖苷的含量, α -葡萄糖基甜菊糖苷的含量的质量分数 w_α 按式(A.4)计算:

$$w_\alpha = w_1 - w_4 \quad \dots\dots\dots (A.4)$$

式中:

w_1 ——TSG的质量分数(%) ;

w_4 ——未反应的甜菊糖苷含量的质量分数(%) ;

A. 3. 5. 3 α -葡萄糖基甜菊糖苷的比例

称取约5g 的GSG, 并溶解于水, 以配制出100mL的溶液, 将其作为试验溶液。

HPLC分析依据葡萄糖基甜菊糖苷的HPLC测定步骤(A.3.6.2)来测定 α -葡萄糖基甜菊糖苷的面积比(%)。

从 α -葡萄糖基甜菊糖苷的含量(A.3.5.2)中计算 α -葡萄糖基甜菊糖苷的比例, α -葡萄糖基甜菊糖苷的比例 w_5 按式(A.5)计算:

$$w_5 = w_\alpha \times A_1 \times 10^{-2} \quad \dots\dots\dots (A.5)$$

式中:

w_α —— α -葡萄糖基甜菊糖苷的含量的质量分数(%) ;

A_1 —— α -葡萄糖基甜菊糖苷的面积比;

A. 3. 6 HPLC分析

A. 3. 6. 1 甜菊糖苷HPLC分析

A. 3. 6. 1. 1 标准品和样品的水分平衡

甜菊糖苷是亲水化合物。标准品和样品在分析前应达到水分平衡。标准品和样品应与分析天平置于同一室内, 称重前应暴露放置在空气中不得少于24h, 间歇搅拌干粉确保样品均匀吸湿。在称重时, 应当使用卡尔费休库仑滴定仪测定所有标准品的水分值。样品中的水分值应用干燥失重法在105℃ 的温度下进行测定。也可使用其它水分仪, 将温度设置在105℃ 。

A. 3. 6. 1. 2 配制流动相溶液

根据需要可以适当配制流动相溶液体积。

含水缓冲液(0.0125%醋酸、0.0125%醋酸铵)——该缓冲液是由在1L水中溶解0.125g 醋酸铵(NH_4OAc)和125 μL 冰醋酸(乙酸)制备的。

流动相(乙腈: 缓冲液)——乙腈和缓冲液混合以制备乙腈比含水缓冲液为80: 20比例(%体积)的流动相溶液。将乙腈和含水缓冲液以适当的量添加在一起, 使溶液达到室温并对溶液进行脱气处理。

稀释液(100%缓冲液)——过滤1000 mL含水缓冲液, 并即刻使用。

A. 3. 6. 1. 3 配制标准溶液

Reb-A标准曲线——Reb-A曲线由5个浓度在200mg/L~2000mg/L的点组成。分别称取Reb-A(已经水分平衡)样品5 mg、10 mg、25 mg、40 mg和50mg($\pm 2\text{mg}$), 用稀释液将其分别溶于25 mL的容量瓶中并定容。

甜菊苷标准曲线——甜菊苷校准曲线由分布在2.5mg/L、5mg/L、50mg/L、100mg/L、500mg/L、1000mg/L和2000mg/L的7个浓度点组成。配制与Reb-A标准对照品类似的2000mg/L甜菊苷标准原液。稀释至所需浓度。

甜菊糖苷——保留时间标记溶液(M6), 含以下甜菊糖苷每一种约100mg/L(用稀释

液配制而成)：甜茶苷、杜克苷A、甜菊苷、瑞鲍迪苷C、瑞鲍迪苷F及瑞鲍迪苷A。

配制样品——按第A.3.5.1节和A.3.5.2节所述的步骤配制样品溶液。

A.3.6.1.4 仪器使用条件见表A.1。

表A.1 仪器使用条件

色谱柱	氨基柱，250 x 4.6 mm，5μm
温度	30°C
等度流动相	20%缓冲液、80%乙腈
流速	1.5 mL/min
进样量	12 μL
检测波长	UV210 nm (4 nm bw)，参考：260 nm (100 nm bw)
运行时间	60 min
自动进样器温度	室温

A.3.6.1.5 分析步骤

A.3.6.1.5.1 系统启动/适用性

检测器灵敏度检查：进样2.5 mg/L甜菊苷标准溶液，确认甜菊苷峰值与噪音的信噪比≥3；如果没有，则需对仪器进行检查，确保信噪比达到≥3后再进行下一步操作。

拖尾因子：用Reb-A2000mg/L的标品溶液进样，并利用该峰计算拖尾因子-T。拖尾因子： $0.8 \leq T \leq 2$ 。

信噪比：计算甜菊苷标准溶液进样的信噪比。检测限（LOD）是5 mg/L的甜菊苷标准溶液：该标准溶液的信噪比必须为≥10。检测限（LOD）是2.5 mg/L的甜菊苷标准溶液：信噪比必须为≥3。

分离甜菊糖苷：进样M6标准品溶液，甜菊苷和瑞鲍迪苷C两峰应明显分离。记录每个甜菊糖苷的保留时间（A.3.8.1）。

A.3.6.1.5.2 分析序列

进行系统适用性检查后，依据浓度从低到高的原则将所有剩余标准溶液依次进样，之后是样品进样；在最多12次样品进样后及在样品分析序列结束后，分别再进样2000 mg/L的甜菊苷和Reb A标准品溶液进行备份标定。

A.3.6.1.5.3 积分参数

使用液相色谱分析仪自带软件工具完成积分。

A.3.6.1.6 计算

A.3.6.1.6.1 峰面积的相对标准偏差

峰面积的相对标准偏差 r_1 按式（A.6）计算：

$$r_1 = \frac{S_1}{x} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.6)$$

式中：

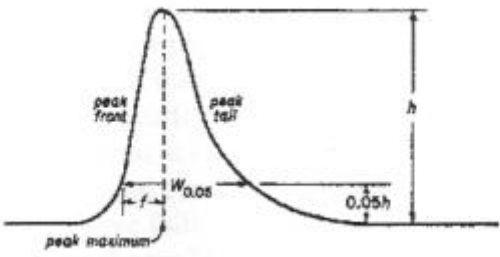
S_1 ——标准偏差值= $(\sum (x-x)^2) / (N-1))^{1/2}$ ；

x ——平均值= $(x_1 + x_2 + x_3 + x_n) / N$ ；

x_n ——峰面积；

N ——样品总数量。

A.3.6.1.6.2 拖尾因子（T）



拖尾因子 T 按式（A.7）计算：

$$T = \frac{W_{0.05}}{2f} \quad \dots\dots\dots (A.7)$$

式中：

$W_{0.05}$ ——5%高度时的峰值宽度；

f ——从最大峰值到峰值前沿在x轴上的数值之间的距离，并在峰值基线以上5%处进行测量。

A. 3. 6. 1. 6. 3 标准回收率

标准回收率 p 按式（A.8）计算：

$$p = \frac{c_1}{c_2} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.8)$$

式中：

c_1 ——曲线中的浓度计算值；

c_2 ——理论浓度。

A. 3. 6. 1. 6. 4 分析计算

通过M6标准品溶液匹配保留时间确定目标分析物。

测定标准品溶液和样品中目标分析物的峰响应面积。

测定Reb A标准品的系统漂移。测定2000mg/L时Reb A的响应面积，并计算相对标准偏差，相对标准偏差要求： $\leq 2.0\%$ 。

以Reb A或者甜菊苷浓度（单位mg/L）为纵坐标及其对应的响应面积为横坐标绘制充分拟合的线性回归标准曲线。或者，也可使用数据采集软件来绘制校准曲线。

从标准曲线的线性回归方程，计算出被分析物在样品中的浓度（单位mg/L）（Reb A采用Reb A曲线，所有其它分析物采用甜菊苷曲线）。或者使用数据采集软件来计算（使用软件绘制的校准曲线）分析物的浓度。分析物的浓度 Y 按式（A.9）计算：

$$Y = AX + B \quad \dots\dots\dots (A.9)$$

式中：

X ——峰响应面积；

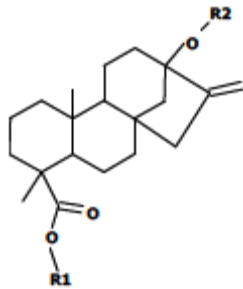
A ——斜率；

B ——y轴截距。

校正样品中各分析物的浓度，如下所示：

将各个糖苷（甜茶苷、杜克苷A、瑞鲍迪苷C、瑞鲍迪苷F）的浓度乘以该糖苷的校正因子，来校正它和甜菊苷之间的分子量上的差异（见表A.2）。

甜菊糖苷的结构式如下：



表A. 2 甜菊糖苷R1和R2基团，分子式与对应分子量

名称	缩写	R1	R2	摩尔重量（g/mol）	校正因子
杜克苷 A	Dul A	β glc-	α rha- β glc-	788.88	0.98
瑞鲍迪苷 A	Reb A	β glc-	(β glc) 2- β glc-	967.03	-
瑞鲍迪苷 C	Reb C	β glc-	(β glc, α rha) - β glc-	951.02	1.18
瑞鲍迪苷 F	Reb F	β glc-	(β glc, β xyl) - β glc-	936.99	1.16
甜茶苷	Rub	β glc- β glc-	β glc- β glc-	642.73	0.80
甜菊苷	Stev	β glc-	β glc- β glc-	804.88	-

样品中Reb A和其他糖苷的重量百分比 w 按式（A.10）计算：

$$w = c_3 / c_4 \times 100 \quad \dots\dots\dots (A.10)$$

式中:

c_3 ——分析物浓度, mg/L;

c_4 ——样品浓度, mg/L。

可通过下述因子(F)乘以 W (重量百分比)来校正RebA和所有其他糖苷的重量百分比(扣除水分), 校正因子 F 按式(A.11) 计算:

$$F = 100 / (100 - M) \quad \dots\dots\dots (A.11)$$

式中:

M ——样品水分, %。

样品中甜菊糖苷(SG)重量百分比 w_{SG} 按式(A.12) 计算:

$$W_{SG} = W_{Rub} + W_{DulA} + W_{RebC} + W_{RebF} + W_{Stev} + W_{RebA} \quad \dots\dots\dots (A.12)$$

式中:

W_{DulA} ——样品中DulA重量百分比, (%) ;

W_{RebC} ——样品中Reb C重量百分比, (%) ;

W_{RebF} ——样品中Reb F重量百分比, (%) ;

W_{Stev} ——样品中Stev重量百分比, (%) ;

W_{RebA} ——样品中Reb A重量百分比, (%) 。

A. 3. 6. 1. 7 验收标准

A. 3. 6. 1. 7. 1 标准曲线验收标准

RebA的标准曲线——对于所有校准曲线中所用的不同RebA浓度水平, 其标准品回收率必须在 $100 \pm 3\%$, 标准曲线的相关系数可接受标准是 ≥ 0.9900 。

甜菊苷标准曲线——对于所有校准曲线中所用的不同甜菊苷浓度水平, 其标准品回收率必须在 $100.0 \pm 10\%$ 内, 除了最低浓度水平(2.5mg/L)时标准品回收率必须在 $100.0 \pm 20\%$ 内。标准曲线的相关系数可接受标准是 ≥ 0.9900 。

A. 3. 6. 1. 7. 2 序列标准品(标准品检查)——甜菊苷和Reb A的序列标准品回收率(见A.3.6.1.6.3) 必须在 $100.0 \pm 2\%$ 内。

A. 3. 6. 1. 7. 3 样品——平行样品的SG及Reb-A检测结果的%相对标准偏差RSD应不超过2.0%。其他糖苷的%相对标准偏差, 当含量低于5mg/L时(在样品中含量对应为0.1%), 应不超过50%; 当含量高于5mg/L的时, 应不超过20%。当样品的%相对标准偏差不属于上述范围时, 重新配制新鲜样品, 直到新样品通过质量控制检查。

A. 3. 6. 2 葡萄糖基甜菊糖苷梯度HPLC测定步骤

A. 3. 6. 2. 1 流动相(A-乙腈, B-水)

对乙腈和水进行过滤和脱气。

A. 3. 6. 2. 2 稀释液(100%水)

过滤1000mL水, 并即刻使用。

A. 3. 6. 2. 3 标准品配制(M6)

称取甜茶苷、杜克苷A、甜菊苷、瑞鲍迪苷C、瑞鲍迪苷F和瑞鲍迪苷A标准品中的每一种约100mg/L用稀释液配制成混合标样溶液。

A. 3. 6. 2. 4 样品配制

按A.3.5.3中描述的方法配制样品溶液(约5%)。

A. 3. 6. 2. 5 仪器使用条件见表A.3。

表A. 3仪器使用条件

色谱柱	氨基柱, 250 x 4.6 mm, 5 μ m
温度	30°C
梯度流动相	A-乙腈, B-水 0 min A: B-80: 20 0~2 min A: B-80: 20 2~70 min A: B-50: 50
流速	1.0 mL/min

进样量	10 μ L
检测波长	UV210 nm（4 nm bw），参考：260 nm（100 nm bw）
运行时间	70 min
自动进样器温度	室温

A. 3. 6. 2. 6 分析步骤

甜菊糖苷分离：进样M6溶液。甜菊苷和瑞鲍迪苷C两峰之间应有明确分离。记录每个甜菊糖苷保留时间（A.3.8.2）。

A. 3. 6. 2. 7 分析序列

先进样样品，然后在最多进样12个样品后，及样品序列测试结束后进样标准品用于定量检测。

A. 3. 6. 2. 8 积分参数

使用液相色谱分析仪自带软件工具完成积分。示例色谱图附于（图A.3）附录部分。

A. 3. 6. 2. 9 计算

通过将洗脱图与示例色谱图（图A.2，图A.3）进行比较的方式，识别每个 α -葡萄糖基甜菊糖苷。

对所有峰进行积分（未反应糖苷除外）。使用色谱仪自带数据采集软件工具测定 α -葡萄糖基甜菊糖苷的比例（% 面积）。

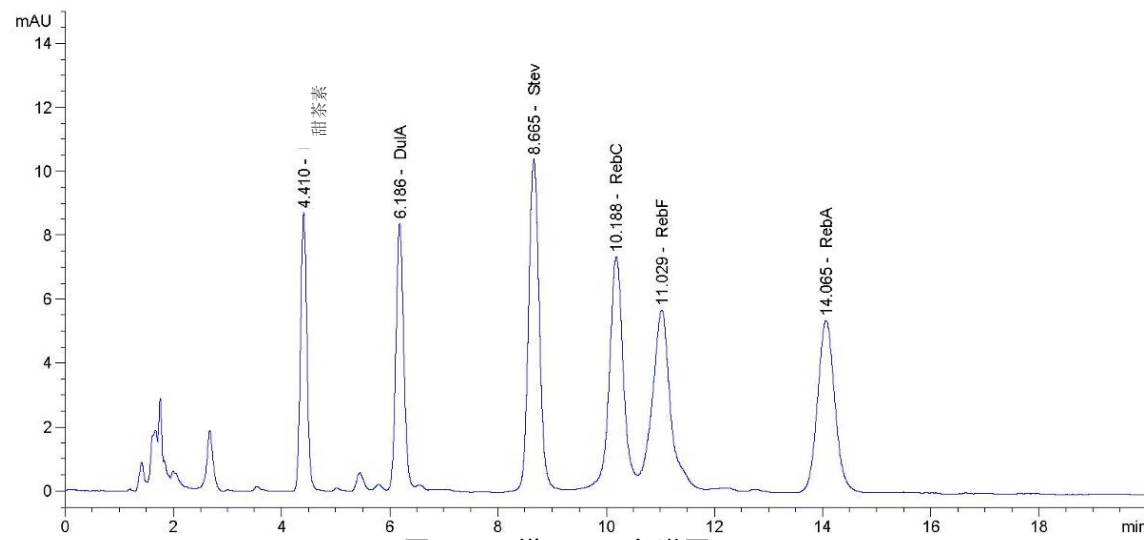
记录下每个 α -葡萄糖基甜菊糖苷的比例。

A. 3. 7结果报告

未反应的甜菊糖苷的浓度和TSG浓度应按照干基重量%进行报告。 α -葡萄糖基甜菊糖苷的比例以面积%为基础进行报告。两个样品重复检测结果的平均值作为报告值。

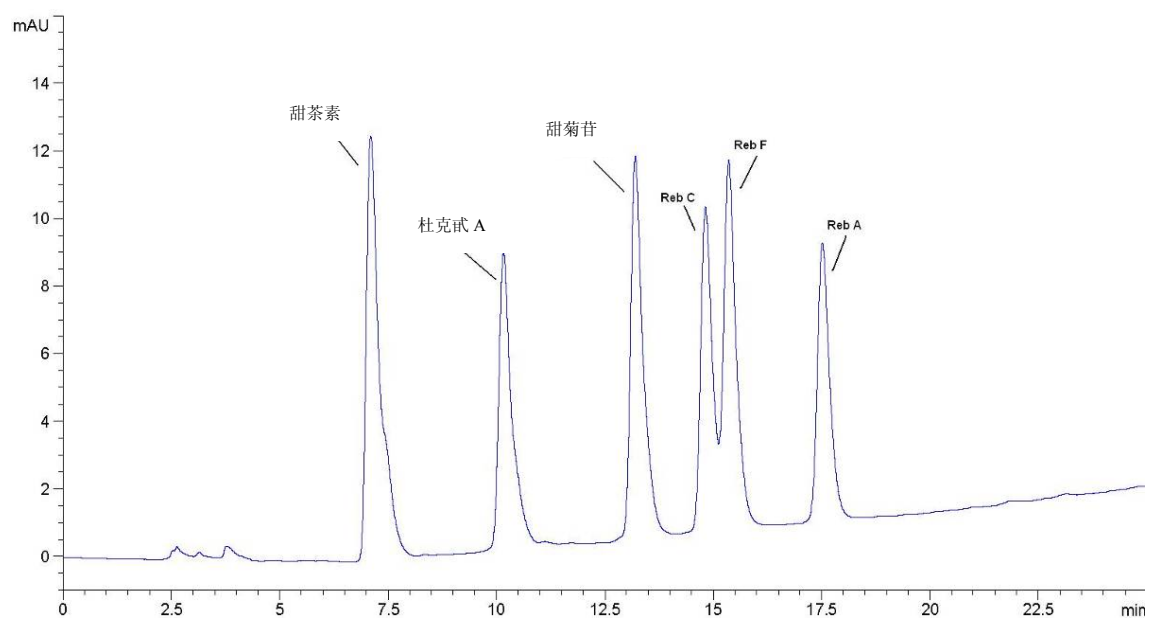
A. 3. 8附件

A. 3. 8. 1 M6样品HPLC色谱图



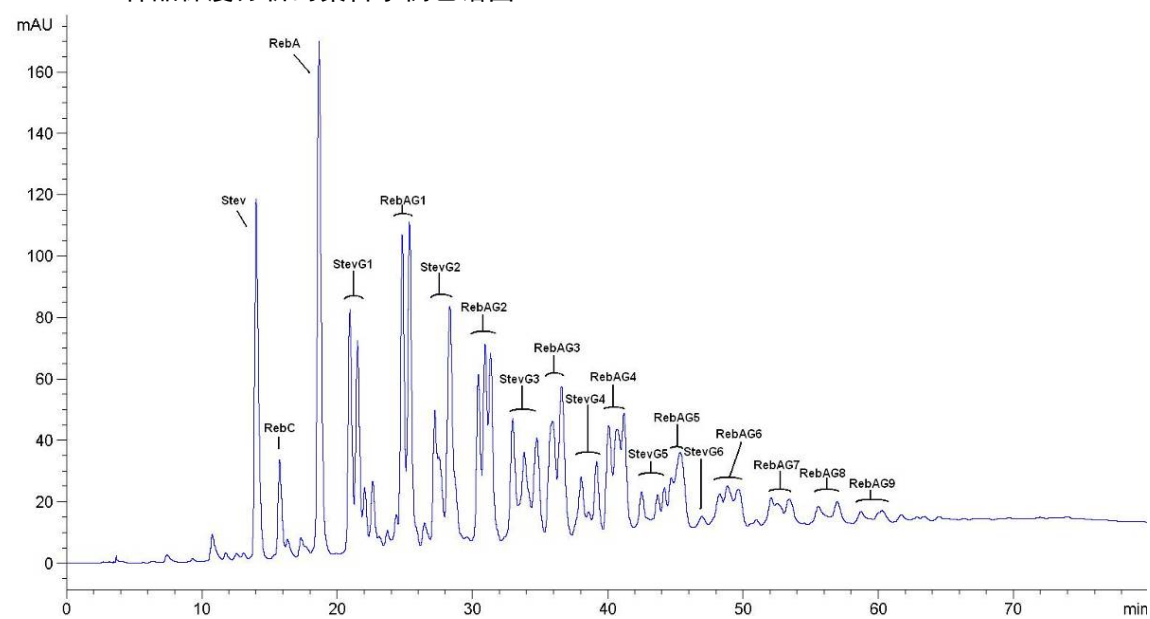
图A. 1 M6样品HPLC色谱图

A. 3. 8. 2 M6样品HPLC色谱图（梯度）



图A. 2 M6样品HPLC色谱图（梯度）

A. 3. 8. 3 样品梯度分析的集合示例色谱图



图A. 3 样品梯度分析的集合示例色谱图

