

附件 1

紫甘薯色素等 9 种食品添加剂新品种

一、 紫甘薯色素

英文名称：Purple Sweet Potato Color

功能：着色剂

（一） 使用范围和使用量

食品分类号	食品名称	最大使用量 (g/kg)	备注
03.0	冷冻饮品(03.04 食用冰除外)	0.2	
05.02	糖果	0.1	
07.02.04	糕点彩装	0.2	
14.02.03	果蔬汁(肉)饮料(包括发酵型产品等)	0.1	
15.02	配制酒	0.2	

（二） 质量规格要求

1. 生产工艺

以番薯属植物紫甘薯(*Ipomoea batatas Poiret*)的块根为原料，用柠檬酸水溶液或含柠檬酸的乙醇水溶液抽提、纯化及大孔吸附树脂进一步纯化的液体紫甘薯色素，经喷雾干燥制得粉状紫甘薯色素。

2. 性状

红至紫红色液体、粉末或颗粒状固体，无肉眼可见杂质。

3. 技术要求：应符合表 1 的规定。

表 1 理化指标

项 目	指 标	检 验 方 法
色价 $E_{1cm}^{1\%}$ (530 nm \pm 5nm)	\geq 5.0	附录 A 中 A.2
pH	2.0~5.0	附录 A 中 A.3
矢车菊素-3-葡萄糖苷, w/%	\geq 1	附录 A 中 A.4
灰分, w/%	\leq 4	GB 5009.4
铅 (Pb) /(mg/kg)	\leq 3.0	GB 5009.12
砷 (以 As 计) /(mg/kg)	\leq 2.0	GB/T 5009.11

附录 A

检验方法

A.1 一般规定

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和GB/T 6682中规定的三级水。

试验方法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和GB/T 603之规定制备。

A.2 色价的测定

A.2.1 pH 3.0柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲溶液配制

A.2.1.1 0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液：精确称取磷酸氢二钠（ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ）35.60 g，用蒸馏水定容至1000 mL。

A.2.1.2 0.1 mol/L 柠檬酸溶液：精确称取柠檬酸（ $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ）21.0140 g，用蒸馏水定容至1000 mL。

A.2.1.3 pH 3.0 柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲溶液：取0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液4.11 mL与0.1 mol/L 柠檬酸溶液15.89 mL混合。用pH计测pH值有误差时，应将pH值准确调整至3.00。

A.2.2 测定

精确称取样品0.1 g~0.2 g，用pH 3.0 柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲溶液稀释至100 mL（吸光度应控制在0.3~0.7之间），用1cm比色皿以缓冲溶液作空白，在530 nm±5 nm下测定吸光度。

A.2.3 结果计算

$$E_{1\text{cm}}^{1\%}(530\pm 5)\text{nm} = A/m$$

式中：

A——吸光度；

m——样品的质量，g；

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ——色价，即在被测样品浓度为1%、1 cm比色皿、在530 nm±5 nm 范围内的最大吸收峰的吸光度。

A.3 pH的测定

称取1g样品，用100mL容量瓶以去离子水定容至刻度，摇匀，此液为待测样液。用精度为0.01pH的酸度计测定样液pH值。

A.4 矢车菊—3—葡萄糖苷的测定

A.4.1 测试液制备

准确称取一定量的液体或固体样品，用水溶解后，稀释定容至50 mL，此为待测样品的储备液。吸取两份等量的储备液，分别用pH 1.0的缓冲溶液和pH 4.5的缓冲溶液稀释定容至50mL，此为试样液。储备液的最大取样量应不超过10 mL，以保证不超出缓冲溶液的缓冲能

力。

用pH 1.0的缓冲溶液对储备液进行适当稀释，直到520 nm下的吸光度值在分光光度计的线性范围内。采用这个稀释倍数，制备两份试样液，一个用pH 1.0的缓冲溶液稀释，另一个用pH 4.5的缓冲溶液稀释。

A. 4. 2 pH 1.0 氯化钾缓冲溶液和pH 4.5 乙酸钠缓冲溶液配制

A. 4. 2. 1 pH1.0缓冲溶液（氯化钾，0.025 M）：称取1.86 g KCl放入烧杯中，加入约980 mL蒸馏水。测量pH值，用HCl（约6.3 mL）调pH至1.0。转移到1 L的容量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度。

A. 4. 2. 2 pH4.5缓冲溶液（乙酸钠，0.4 M）：称取54.43 g CH₃CO₂Na·3H₂O放入烧杯中，加入约960 mL水。测量pH值，用HCl（约20 mL）调pH至4.5（±0.05）。转移到1 L的容量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度。

A. 4. 3 测定

测定分别经过 pH 1.0 和 pH 4.5 的缓冲溶液稀释的样品在 520 nm 和 700 nm 波长下的吸光度值，以水做空白。样品制备完毕后要求在 20 min~50 min 的时间以内测定吸光度值。

注：在700 nm波长下测定吸光度值是为了校正混浊对测定结果的干扰。如果稀释后的样品过于混浊，测定前采用离心或过滤的方法进行澄清处理。采用的过滤器不能吸收花青素。

A. 4. 4 结果计算

$$\text{矢车菊-3-葡萄糖苷, \%} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times l} \times \frac{V \times 10^{-3}}{m} \times 100\%$$

式中，

A—— $(A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4.5}$ ；

MW(分子量)——449.2 g/mol，矢车菊-3-葡萄糖苷的分子量；

DF——样品储备液的稀释倍数，按A.4.1中方法计算；

l——光路长，cm；

ϵ ——269000，矢车菊-3-葡萄糖苷的摩尔消光系数，L×mol⁻¹×cm⁻¹；

1000——由g换算成mg的转换系数。

V——储备液的体积（50），单位 mL；

m——样品的重量，单位 mg

二、 葡萄糖酸钠

英文名称: Sodium Gluconate

功能分类: 酸度调节剂

(一) 使用范围和使用量

在各类食品(除外 GB 2760 中表 A.3 所列的食品类别)中按生产需要适量使用。

(二) 质量规格要求

1. 生产工艺

通过淀粉发酵产生的葡萄糖酸和氢氧化钠反应生成葡萄糖酸钠,经浓缩、结晶干燥后制得。

2. 技术要求

2.1 感官指标: 应符合表 1 的规定。

表 1 感官指标

项 目	指 标	检验方法
气 味	本品固有气味、无异味	将 10g 试样置于白搪瓷盘内,于光线充足、无异味的环境中
色 泽	白色至黄白色	
性 状	结晶性粉末或颗粒	
杂 质	无肉眼可见杂质、无异物	

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
葡萄糖酸钠(以 $C_6H_{11}NaO_7$,干基计), w/%	98.0~102.0	附录A中的A.4
干燥减量, w/%	≤ 0.3	附录A中的A.5
澄清度试验	符合试验	附录A中的A.6
pH值(10% w/v水溶液)	6.2~7.8	GB/T 9724
重金属(以Pb计)/(mg/kg)	≤ 20	附录A中的A.7
铅(Pb)/(mg/kg)	≤ 10	GB 5009.12
砷(以As计)/(mg/kg)	≤ 3	附录A中的A.8
还原糖(以葡萄糖计), w/%	≤ 0.5	附录A中的A.9

2.3 微生物指标: 应符合表 3 的规定。

表 3 微生物指标

项 目	指 标	检验方法
菌落总数, (CFU/g)	≤ 10000	GB 4789.2
大肠菌群, (MPN/g)	≤ 3	GB 4789.3
霉菌和酵母, (CFU/g)	≤ 1000	GB 4789.15

附录 A 检验方法

A.1 警示

试验方法规定的一些试验过程可能导致危险情况。操作者应采取适当的安全和防护措施。

A.2 一般规定

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和GB/T 6682-2008中规定的三级水。

试验方法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 和GB/T 603 之规定制备。

A.3 鉴别试验

A.3.1 试剂和材料

A.3.1.1 冰乙酸。

A.3.1.2 苯肼：临用时蒸馏。

A.3.2 钠离子鉴别方法

取铂丝，用盐酸润湿后，先无色火焰上燃烧至无色。再蘸试样，在无色火焰中燃烧，火焰即显亮黄色。

A.3.3 葡萄糖酸的鉴别

A.3.3.1 方法原理

样品在乙酸介质中，与苯肼共热，生成黄色葡萄糖酰苯肼结晶。

A.3.3.2 分析步骤

取约0.5 g 实验室样品，精确至0.01 g，置10 mL 试管中，加5 mL 水，溶解（必要时加热），加0.7 mL 冰乙酸和1 mL 苯肼，在水浴上加热30min，放至室温，用玻璃棒摩擦试管内壁，则析出黄色的结晶。

A.4 葡萄糖酸钠的测定

A.4.1 方法提要

试样以冰乙酸为溶剂，以结晶紫为指示剂，用高氯酸标准滴定溶液滴定，根据消耗高氯酸标准滴定溶液的体积计算葡萄糖酸钠的含量。

A.4.2 试剂和材料

A.4.2.1 冰乙酸。

A.4.2.2 结晶紫指示液：2g/L。

A.4.2.3 高氯酸标准滴定溶液： $c(\text{HClO}_4)=0.1 \text{ mol/L}$ 。

A.4.3 分析步骤

A.4.3.1 称取约0.4g A.5.1 中干燥物A，精确至0.0001g，置于250mL干燥的锥形瓶中，加50mL 冰乙酸（可用电热板稍微加热），加2~3滴结晶紫指示液，用高氯酸标准滴定溶液滴定至溶液由紫色经蓝色最后变为绿色即为终点。

A.4.3.2 在测定的同时，按与测定相同的步骤，对不加试料而使用相同数量的试剂溶液做空白试验。

A.4.4 结果计算

葡萄糖酸钠（以 $C_6H_{11}NaO_7$ 计）的质量分数 w_1 ，数值以%表示，按公式(A.1)计算：

$$w_1 = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times M}{m \times 1000} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(A.1)$$

式中：

V_1 ——试料消耗高氯酸标准滴定溶液(A.4.2.3)体积的数值，单位为毫升(mL)；

V_2 ——空白消耗高氯酸标准滴定溶液体积的数值，单位为毫升(mL)；

c ——高氯酸标准滴定溶液浓度的准确数值，单位为摩尔每升(mol/L)；

m ——试料质量的数值，单位为克(g)；

M ——葡萄糖酸钠的摩尔质量的数值，单位为克每摩尔(g/mol)($M=218.14$)。

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0.3%。

A.5 干燥减量的测定

A.5.1 分析步骤

称取约4.0g实验室样品，精确至0.0001g，置于预先在 $105^\circ C \pm 2^\circ C$ 干燥至质量恒定的称量瓶中，铺成5mm以下的层。在 $105^\circ C \pm 2^\circ C$ 的恒温干燥箱中干燥2h，置于干燥器中冷却30min称量。保留部分干燥物（此为干燥物A）用作葡萄糖酸钠含量的测定。

A.5.2 结果计算

干燥减量的质量分数 w_2 ，数值以%表示，按式（A.2）计算：

$$w_2 = \frac{m - m_1}{m} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(A.2)$$

式中：

m ——干燥前试料的质量的数值，单位为克(g)；

m_1 ——干燥后试料的质量的数值，单位为克(g)。

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0.05%。

A.6 澄清度试验

A.6.1 试剂和材料

A.6.1.1 硝酸溶液：1+2。

A.6.1.2 糊精溶液：20g/L。

A.6.1.3 硝酸银溶液：20g/L。

A.6.1.4 浊度标准溶液：含氯（Cl）0.01mg/mL。量取 $c(\text{HCl})=0.1\text{mol/L}$ 盐酸标准滴定溶液14.1 mL $\pm 0.02\text{mL}$ ，置于50mL容量瓶中，稀释至刻度。量取该溶液10 mL $\pm 0.02\text{mL}$ 于1000mL容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀。

A.6.2 分析步骤

称取约2.5g实验室样品，精确至0.01g，置于比色管中，加水溶解并稀释至25mL，作为试验溶液；取另一只比色管，准确加入0.50mL浊度标准溶液，加水至20mL，加1mL硝酸溶液，0.2mL糊精溶液及1mL硝酸银溶液，加水至25mL，摇匀，避光放置15min，作为标准比浊溶液。

在无阳光直射情况下，轴向及侧向观察，试验溶液的浊度不得大于标准比浊溶液的浊度。

A.7 重金属的测定

A.7.1 试剂和材料

A.7.1.1 硝酸。

A.7.1.2 甘油。

A.7.1.3 乙酸铵。

A.7.1.4 硝酸铅。

A.7.1.5 硫代乙酰胺。

A.7.1.6 盐酸溶液： $c(\text{HCl})=2\text{mol/L}$ 。

A.7.1.7 氨水溶液： $c(\text{NH}_3\text{H}_2\text{O})=5\text{mol/L}$ 。

A.7.1.8 氢氧化钠溶液： $c(\text{NaOH})=1\text{mol/L}$ 。

A.7.1.9 盐酸溶液： $c(\text{HCl})=7\text{mol/L}$ 。

A.7.1.10 乙酸盐缓冲液（pH3.5）：称取25 g乙酸铵，精确至0.01 g，加25 mL水溶解后，加7 mol/L盐酸溶液38 mL，用2 mol/L盐酸溶液或5 mol/L氨水溶液准确调节pH至3.5（pH计），用水稀释至100 mL。

A.7.1.11 硫代乙酰胺试液：称取4 g硫代乙酰胺，精确至0.01 g，加水使溶解成100 mL，置冰箱中保存。临用前取5.0 mL混合液（由15 mL 1 mol/L氢氧化钠溶液、5.0 mL水及20mL甘油组成），加上述1.0 mL硫代乙酰胺溶液，置水浴上加热20s，冷却，立即使用。

A.7.1.12 铅标准溶液：称取0.160 g硝酸铅，精确至0.0002g，置于1000 mL容量瓶中，加硝酸5 mL与50 mL水溶解后，用水稀释至刻度，摇匀，作为贮备液。临用前，移取10 mL $\pm 0.02\text{mL}$ 贮备液，置于100 mL容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，即得（每1mL相当于10 μg 的Pb）。配制与贮存用的玻璃仪器均不得含铅。

A.7.2 分析步骤

按《中华人民共和国药典》2010年版二部附录 VIII H 重金属检查法第一法进行。具体方法如下：

取25 mL 纳氏比色管两支，甲管中加入2 mL \pm 0.02mL（含铅10.0 μ g）铅（Pb）标准溶液与2 mL 乙酸盐缓冲液后，加水稀释成25 mL，另称取1 g实验室样品，精确至0.01 g，置于纳氏比色管乙管中，加20 mL水，微热溶解后，放冷，加2 mL乙酸盐缓冲液（pH 3.5），用水稀释成25 mL，若该溶液带颜色，可在甲管中滴加少量的稀焦糖溶液或其他无干扰的有色溶液，使之与乙管一致；再在甲乙两管中分别加硫代乙酰胺试液各2 mL，摇匀，放置2 min，同置白纸上，自上向下透视，乙管中显出的颜色与甲管比较，不得更深。

A.8 砷的测定（砷斑法）

称取1g \pm 0.01g 实验室样品，加盐酸试剂5mL，再加水至30 mL 溶解后，按GB/T 5009.76 第二法砷斑法测定。量取3mL \pm 0.05mL 砷标准溶液（含0.003 mg 砷），制备砷限量标准液。供试品溶液与砷标准溶液3 mL（含砷0.003 mg）制成的对照液比较，不得更深。

A.9 还原糖的测定

A.9.1 方法原理

还原糖将二价铜离子还原成氧化亚铜，剩余的二价铜离子在酸性条件下与碘离子反应生成定量的碘，以硫代硫酸钠标准溶液滴定生成的碘，从而计算出样品中还原糖的含量。

A.9.2 试剂和材料

A.9.2.1 碱性柠檬酸铜溶液的配制：

溶液A：称取173 g柠檬酸钠（枸橼酸钠）和100g无水碳酸钠，加温水使溶解成700mL（若溶液显浑浊过滤使澄清）。

溶液B：称取17.3 g硫酸铜结晶，加水使溶解成100mL。

临用前取100 mL溶液B，在不断振摇下，缓缓加入700mL溶液A，冷却后，加水定容至1000mL。

A.9.2.2 碘标准液： $c(1/2I_2)=0.05$ mol/L。

A.9.2.3 硫代硫酸钠标准滴定溶液：0.1mol/L。

A.9.2.4 淀粉指示液：10g/L。

A.9.2.5 乙酸溶液：1+27。

A.9.2.6 盐酸溶液：3mol/L。

A.9.3 分析步骤

称取约1.0g 实验室样品，精确至0.001g，置250mL碘瓶中，加20mL水（必要时加热）使溶解，冷却至室温，精确加入25.0 mL碱性柠檬酸铜溶液，瓶口用小表面皿盖住，准确煮沸5 min后，迅速冷却至室温，加25.0 mL乙酸溶液，摇匀，精确加入10.0 mL碘标准液，密塞，摇匀，放置10 min，加入10.0mL盐酸溶液，再加3.0mL淀粉指示液，立即用硫代硫酸钠标准溶液滴定至溶液显亮蓝色，并将滴定结果用空白试验校正。每毫升硫代硫酸钠标准溶液（0.1mol/L）相当于2.7mg葡萄糖。

A.9.4 结果计算

还原糖（以C₆H₁₂O₆计）的质量分数 w_3 ，数值以%表示，按公式（A.3）计算：

$$w_3 = \frac{(V_0 - V_1) \times c \times M}{m \times 1000} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(A.3)$$

式中：

V_0 ——空白试验所消耗的硫代硫酸钠标准滴定溶液的体积的数值，单位为毫升（mL）；

V_1 ——滴定试验溶液所消耗的硫代硫酸钠标准滴定溶液的体积的数值，单位为毫升（mL）；

c ——硫代硫酸钠标准滴定溶液实际浓度的数值，单位为摩尔每升（mol/L）；

m ——实验室样品质量的数值，单位为克（g）；

M ——还原糖（ $3/20C_6H_{12}O_6$ ）的摩尔质量的数值，单位为克每摩尔（g/mol）（ $M=27$ ）。

三、 红曲黄色素

英文名称： *Monascus Yellow Pigment*

功能： 着色剂

（一） 红曲黄色素使用范围和使用量

食品分类号	食品类别	最大使用量
07.02	糕点	按生产需要适量使用
14.02.03	果蔬汁（肉）饮料（包括发酵型产品等）	按生产需要适量使用
14.03	蛋白饮料类	按生产需要适量使用
14.04.01	碳酸饮料	按生产需要适量使用
14.04.02.02	风味饮料（包括果味饮料、乳味、茶味及其他饮料）	按生产需要适量使用
14.06	固体饮料类	按生产需要适量使用
15.02	配制酒	按生产需要适量使用
16.01	果冻	按生产需要适量使用

（二） 质量规格要求

1. 生产工艺

红曲米用碱溶液洗脱，分离得出红曲红色素，再加入硫化物黄化，干燥制成红曲黄色素。

2. 性状

褐黄色粉末。

3. 技术要求：应符合表 1 的规定。

表 1 理化指标

项 目	指 标	检 验 方 法	
色价, $E_{1cm}^{1\%}$ 476nm	≥	150	附录 A 中 A.2
灰分, w/%	≤	10.4	GB 5009.4
水分, w/%	≤	3	GB 5009.3
重金属(以 Pb 计) / (mg/kg)	≤	10	GB/T 5009.74
铅(Pb) / (mg/kg)	≤	5.0	GB 5009.12
砷(以 As 计) / (mg/kg)	≤	3.0	GB/T 5009.11
桔青霉素 / (μg/kg)	≤	200	卫生部《保健食品检验与评价技术规范》 (2003 年版) 红曲产品中桔青霉素的测定

附录 A

检验方法

A.1 鉴别试验

A.1.1 物理性状

橙黄至褐色黄色粉末，易溶于水，溶液透明无沉淀。

A.1.2 最大吸收波长

A.1.2.1 仪器和设备

紫外-可见分光光度计。

A.1.2.2 试验步骤

称取 0.01g 试样，溶于 100mL 乙醇中，此溶液最大吸收波长为在 476nm 附近。

A.2 色价

A.2.1 试剂和材料

乙醇(GB/T 679—2002):70%溶液。

A.2.2 试验步骤

称取样品 0.1g(精确至 0.001 g)，醇溶样品用 70%乙醇溶液溶解，水溶样品用水溶解，定容至 1000mL 摇匀。取此液置于 1cm 比色杯中，用分光光度计于 476nm 处，以 70%乙醇溶液或水为空白对照，测定其吸光度。

A.2.3 结果计算

$$E_{1cm}^{1\%} 476nm = \frac{A \times n}{m} \times \frac{1}{100} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$E_{1cm}^{1\%} 467nm$ ——试样色价；

A ——稀释后试样溶液的吸光度；

m ——试样的质量，单位为克 (g)；

n ——稀释倍数。

实验结果以两次平行测定结果的算术平均值为准。两次平行测定结果的允许差不大于 2%。

四、 β -阿朴-8'-胡萝卜素醛

英文名称： β -Apo-8'-carotenal

功能：着色剂

(一) 使用范围和使用量

食品分类号	食品名称/分类	最大使用量 (mg/kg)	备注
01.02.02	风味发酵乳	15	以 β -阿朴-8'-胡萝卜素醛计
01.06.04	再制干酪	18	
03.0	冷冻饮品	20	
05.02	糖果	15	
07.0	焙烤食品	15	
12.10.02	半固体复合调味料	5	
14.0	饮料类(除外 14.01 包装饮用水类)	10	以 β -阿朴-8'-胡萝卜素醛计，固体饮料按冲调倍数增加使用量

(二) 质量规格要求

1. 生产工艺

由类胡萝卜素生产中常用的合成中间体，经过维蒂希聚合反应制备而成的阿朴胡萝卜素醛。包含少量的其它类胡萝卜素。商业上用于食品的配方型制剂，是添加了抗氧化剂、乳化剂等辅料，将其配制成悬浮于食用油中的悬浮液或水溶型的粉末。

2. 性状

深紫色带有金属光泽的晶体或结晶性粉末，对氧气和光敏感。不溶于水，微溶于乙醇，略溶于植物油，溶解于氯仿。

3. 技术要求：应符合表 1 的规定。

表1 理化指标

项 目	指 标	检验方法
总着色剂含量, w/%	\geq 96	附录 A 中 A.1
辅助性着色剂, w/% (占总着色剂的含量)	\leq 3	附录 A 中 A.2
硫酸灰分, w/%	\leq 0.1	附录 A 中 A.3
铅 (Pb) / (mg/kg)	\leq 2	GB 5009.12

附录 A

检验方法

A.1 总着色剂含量的测定

A.1.1 试剂和材料

A.1.1.1 氯仿，分析纯。

A.1.1.2 环己烷，试剂级。

A.1.2 试验步骤

精密称定 $0.08\text{g} \pm 0.01\text{g}$ 样品 (W)，置于一 100mL 的容量瓶中 (V_1)，加入 20mL 氯仿，旋转烧瓶至样品溶解，应确保溶液是澄清的。用环己烷加至刻度并混合。取 5.0 mL 该溶液 (v_1) 置于第二只 100mL 容量瓶中 (V_2) 中，用环己烷稀释至刻度并混合。取 5.0 mL 该稀释溶液 (v_2) 置于最终的 100mL 容量瓶中 (V_3) 中，用环己烷稀释至刻度。用 1cm 比色池，在最大吸收波长处，测定经过两次稀释的溶液的吸收值 (A)，以环己烷作为空白对照。

该操作过程应尽快完成，尽可能地避免暴露在空气中，应保证所有操作均避免阳光直射。

吸收系数 (a) = 2640

大约的最大吸收波长 = 461 nm

A.1.3 结果计算

通过以下两个公式来计算样品中总着色剂含量：

% 总着色剂含量 = $100 \times (A \times V_1 \times V_2 \times V_3) / (a \times 10^{-3} \times v_1 \times v_2 \times W)$

或者

% 总着色剂含量 = $(A \times V_1 \times V_2 \times V_3) / (v_1 \times v_2 \times W \times A^{1\%}_{1\text{cm}})$

式中：

A ——样品溶液在最大吸收波长处的吸收值；

$A^{1\%}_{1\text{cm}}$ ——质量标准中给出的标准的特征吸收值；

a ——吸收系数， $a=2640$ ；

V_1 、 V_2 和 V_3 ——分别为 3 个容量瓶的体积（每个 100 mL ）；

v_1 和 v_2 ——两次用移液管移取的体积（每次 5mL ）

a ——吸收系数， $a=2640$ ，单位为 $\text{L}/(\text{g}\cdot\text{cm})$ ；

10^{-3} —— mL/L 之间的换算系数。

A.2 辅助性着色剂的测定

A.2.1 试剂和材料

A.2.1.1 氯仿（分析纯），3% KOH 的甲醇溶液。

A.2.1.2 薄层色谱板（硅胶 0.25mm ），分光光度计。

A.2.1.3 展开剂：展开剂为正己烷/氯仿/乙酸乙酯（70+20+10）。

A.2.2 试验步骤

溶解大约 80g 样品在 100mL 氯仿中。取 $400\mu\text{L}$ 该溶液点样于薄层色谱板（硅胶 0.25mm ）上，点样基线距离薄层板底部 2cm 。预处理薄层板，将薄层板浸泡于 3% KOH 的甲醇溶液中使之完全湿润，然后在空气中干燥 5min 后在烘箱中于 110°C 活化 1h 。在有 CaCl_2 存在的干燥器冷却并保存待用。

用该类胡萝卜素溶液点样后，立刻在预先用展开剂饱和的展开缸中展开，展开剂为正己烷/氯仿/乙酸乙酯（70+20+10），并适当避光，直到溶剂前沿移动至距离基线大约 10cm 处。

取出色谱板,在室温下蒸发大部分溶剂,标记主要的色谱带和其它类胡萝卜素相应的色谱带。取下包含主要色谱带的硅胶吸收剂,移入一带玻璃塞的100mL的离心管中,加入40.0mL氯仿(溶液1)。取下结合了其它类胡萝卜素相应的色谱条带,移至一带玻璃塞的50mL的离心管中,加入20.0mL氯仿(溶液2)。机械振摇离心管10min后,再离心5min。取10.0mL溶液1用氯仿稀释至50.0mL(溶液3)。

选择合适的分光光度计,在大约474nm处测定溶液2和溶液3的吸收值,用1cm比色池,以氯仿作为空白对照。

A. 2. 3 结果计算:

β -阿朴-8'-胡萝卜素醛以外的类胡萝卜素按下式计算:

$$\frac{A_2 \times 10}{A_3}$$

式中:

A_2 ——溶液2的吸收度;

A_3 ——溶液3的吸收度。

A. 3 硫酸灰分的测定

A. 3. 1 试剂和材料

A. 3. 1. 1 硫酸溶液:一定量已知浓度的硫酸加入适量水中,调正最终浓度为95.5~95.5之间即得。

A. 3. 1. 2 碳酸铵。

A. 3. 2 仪器和设备

A. 3. 2. 1 蒸发皿。

A. 3. 2. 2 加热板/阿尔冈氏灯/红外加热灯。

A. 3. 2. 3 马弗炉、干燥器。

A. 3. 3 试验步骤

取2g样品,置于50mL~100mL铂金蒸发皿或其它类似容器。加入充分稀释的硫酸试液润湿整个样品。缓慢加热,使用加热板、阿尔冈氏灯、或者红外加热灯,加热直至样品干燥并完全烧焦,然后继续加热直到所有的样品挥发或者几乎所有的碳都被氧化,然后冷却。用0.5mL的硫酸试液湿润残渣,然后用同样的方式加热直至剩余物和剩余的硫酸都被挥发。最后在马弗炉中 $800^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ 灼烧15min或更长时间,如果必要,在干燥器中干燥,然后称重。

注意:为了促进硫酸的挥发,可以在完全灼烧之前加入少许碳酸铵。

五、 索马甜

英文名称: Thaumatococcus

功能分类: 甜味剂

(一) 使用范围和使用量

食品分类号	使用范围	最大使用量使用量/ (g/kg)
03.0	冷冻饮品	0.025
04.05.02	加工坚果与籽类	0.025
07.0	焙烤食品	0.025
11.04	餐桌甜味剂	0.025
14.0	饮料类(14.01 包装饮用水类除外)	0.025

(二) 质量规格要求

1. 生产工艺

通过水提取法从非洲竹箬(Thaumatococcus daniellii)成熟果实假种皮中分离获得的一种物质,由一系列相关的索马甜蛋白构成,最主要的是索马甜蛋白I(T_I),其次是索马甜蛋白II(T_{II}≤45%)。

2. 性状

奶黄色到棕色粉状,具典型气味以及强烈甜味,溶于水。

3. 技术要求

3.1 理化指标:应符合表1的规定。

表1 理化指标

项 目	指 标	检验方法
索马甜含量, w/%	≥ 93	附录 A 中 A.3
水分, w/%	≤ 9	GB 5009.3 食品中水分的测定(第一法)
比吸收率	11.5~13.0	附录 A 中 A.4
吸光度	≤ 0.2	附录 A 中 A.5
碳水化合物(干重), w/%	≤ 3	附录 A 中 A.6
硫酸盐灰分(干重), w/%	≤ 2	附录 A 中 A.7
总氮(干重), w/%	≥ 15.1	附录 A 中 A.8
PH(1%溶液)	2.5~4.0	SB/T10322-1999 《pH 测定法》
铝(Al) / (mg/kg)	≤ 100	附录 A 中 A.9
铅(Pb) / (mg/kg)	≤ 3	GB 5009.12 食品中铅的测定(第一法)

附录 A

1. 检验方法

A.1 一般规定

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和GB/T 6682中规定的三级水。

试验方法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 和 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.2 鉴别试验

A.2.1 溶解性

极易溶于水。

A.2.2 高效液相色谱图对照

高效液相色谱图与附录 B 图 B.1 给出的索马甜高效液相典型色谱图一致。

A.2.3 pH

1%样品溶液的pH为2.5~4.0。

A.3 索马甜含量的测定

A.3.1 测定原理

用离子交换色谱法和紫外检测以外标校准法确定高效液相色谱含量。

A.3.2 试剂和材料

高效液相色谱级水。

A.3.3 仪器和设备

A.3.3.1 配有紫外-可见检测器的高效液相色谱仪,或类似仪器。

A.3.3.2 高效液相色谱柱, 8 x 75 mm, 8 μ m, 或类似色谱柱。

A.3.3.3 超声波浴。

A.3.3.4 分析天平。

A.3.3.5 用于高效液相色谱分析的2 mL自动进样器样品瓶。

A.3.3.6 10 mL, 50 mL 和 100 mL棕色容量瓶。

A.3.3.7 5 mL和10 mL 移液管。

A.3.3.8 0.45 μ m 针式过滤器。

A.3.4 色谱分析条件

推荐的色谱柱及典型操作条件见表 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。

表 A.1 色谱柱和典型色谱操作条件

色谱柱	高效液相色谱柱(8 x 75 mm,8 μ m)或类似色谱柱
柱温	25 $^{\circ}$ C
流动相	见 A.3.5.1
流动速度/(mL /min)	1.0

检测器检测波长/nm	279
进样量/ μL	20

A. 3. 5 分析步骤

A. 3. 5. 1 流动相

A: 0.02M 磷酸钠缓冲液, pH 8.80 (Na_2HPO_4)

B: 缓冲液 A + 1 M(mol/L) NaCl

时间 (min)	%A	%B
0	100	0
6	100	0
21	60	40
22	0	100
27	0	100
27.5	100	0
35	100	0

A. 3. 5. 2 公称压力

本方法允许的压力范围是4 Mpa \pm 0.2 Mpa。

A. 3. 5. 3 系统适应性试验

A. 3. 5. 3. 1 步骤

用流动相平衡高效液相色谱系统至少10 min, 注入稀释液作为空白以确认无干扰峰及无拖尾现象, 把用不同量样品配制的5种溶液各注入一次, 确认各图谱中索马甜蛋白的峰面积以及保留时间, 如表A.2中所示。

表 A. 2 各组分的近似保留时间

组分名称	保留时间/min
索马甜 1	12.5
索马甜 2	13.0
索马甜 3	14.2

A. 3. 5. 3. 2 样品中各成分的线性度

确认样品溶液中索马甜的校正因子(峰面积对比样品中成份浓度), 各化合物的曲线校正因子不得小于0.995, 样品曲线的相对标准偏差百分比不得大于 2%。

A. 3. 5. 4 测定

A. 3. 5. 4. 1 索马甜标准品的校准曲线

精确称取约5 mg 索马甜标准品于 100 mL容量瓶内(标准溶液 A); 4 mg 索马甜标准品于 50 mL容量瓶内(标准溶液B); 5 mg 索马甜标准品于 10 mL容量瓶内(标准溶液C); 取标准溶液各5 mL于10 mL容量瓶内; 用水定容(标准溶液A₁; B₁; C₁), 标准溶液A₁; B₁; C₁以及线性标准溶液各进样20 μL 。根据直线回归分析计算各成分的校准曲线, 按式 (A.1) :

$$A = a \times (c \times P) + b \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

A——各成份的峰面积;

c——各成份的浓度(g/L);

(=索马甜浓度 \times 标准液中各成分的再分配比例 (%))

- a——回归直线斜率；
- b——回归直线的y轴截距；
- P——索马甜标准品的纯度。

A. 3. 5. 4. 2 索马甜产品样品的制备

饮料及粉末状提取物样品制备：精确称取约 100 mg 样品(根据样品中索马甜含量调整取样量)，用水稀释至 50 mL，超声波振荡10 min，再将其冷却至室温，用针式过滤器过滤至高效率液相色谱样品瓶内并加盖。

A. 3. 5. 5 计算结果

A. 3. 5. 5. 1 索马甜1，索马甜2，索马甜3的含量以T_X计，数值以%表示，按式（A.2）计算：

$$T_X\% = [A_X - b] / [a \times c] \dots\dots\dots (A.2)$$

式中：

- T_X——索马甜1或索马甜2或索马甜3的含量（%）；
- A_X——索马甜1或索马甜2或索马甜3的面积；
- c——各成份的浓度(g/L)；
- a——回归直线斜率；
- b——回归直线的y轴截距。

A. 3. 5. 5. 2 索马甜的含量以T计，数值以%表示，按式（A.3）计算：

$$T\% = T_1\% + T_2\% + T_3\% \dots\dots\dots (A.3)$$

式中：

- T——索马甜含量（%）；
- T₁——索马甜1含量（%）；
- T₂——索马甜2含量（%）；
- T₃——索马甜2含量（%）。

A. 4 比吸收率的测定

A. 4. 1 测定原理

在最大波长(典型波长为279 nm)处进行分光光度法检测。

A. 4. 2 试剂和材料

- A. 4. 2. 1 浓盐酸，分析纯。
- A. 4. 2. 2 去矿物质/去离子水（相当于GB6682中的二级水）。

A. 4. 3 仪器和设备

- A. 4. 3. 1 双光束紫外/可见分光光度计。
- A. 4. 3. 2 光路为10 mm的石英比色皿。
- A. 4. 3. 3 容量瓶。
- A. 4. 3. 4 移液管。
- A. 4. 3. 5 分析天平。
- A. 4. 3. 6 巴氏移液管。
- A. 4. 3. 7 pH 计。

A. 4. 4 分析步骤

A. 4. 4. 1 用去矿物质/去离子水(相当于GB6682中的二级水)做空白液，盐酸调pH值至2.5。

- A. 4. 4. 2 打开分光光度计，预热10 min。
- A. 4. 4. 3 精确称取约0.5 g索马甜于50 mL容量瓶中，用适量的已用盐酸调pH值至2.5的去矿物质/去离子水(相当于GB6682中的二级水)溶解，用巴氏移液管补加并准确定容至50 mL。
- A. 4. 4. 4 取5 mL索马甜样品溶液于100 mL容量瓶中，用空白溶液定容。
- A. 4. 4. 5 将空白样品置于样品比色皿和参比比色皿中，在250 nm~300 nm间对分光光度计进行背景校正。
- A. 4. 4. 6 将空白液从样品比色皿中倒出，用少量稀释过的索马甜溶液冲洗比色皿，之后加入稀释过的索马甜样品溶液，在279 nm附近的主峰处读取吸光度数据。

A. 4. 5 计算结果

吸收度按式 (A.4) 计算：

$$S = \frac{C \times 20 (\text{稀释倍数}) \times 100}{(100 - W) \times WCF} \dots\dots\dots (A.4)$$

其中

$$WCF = \frac{W_T}{0.5g} \dots\dots\dots (A.5)$$

式中：

- S——吸收度；
- C——0.05%，索马甜吸收率；
- W——索马甜水分含量（%）；
- WCF——重量校正因子，按式 (A.5) 计算；
- W_T——实际使用的索马甜样品质量(g)。

A. 5 吸光度的测定

A. 5. 1 试剂和材料

浓盐酸，分析纯。

A. 5. 2 仪器和设备

- A. 5. 2. 1 双光束紫外/可见分光光度计。
- A. 5. 2. 2 光路长为10 mm的石英比色皿。
- A. 5. 2. 3 50 mL 容量瓶。
- A. 5. 2. 4 分析天平。
- A. 5. 2. 5 巴氏移液管。
- A. 5. 2. 6 pH计。

A. 5. 3 分析步骤

- A. 5. 3. 1 用去矿物质/去离子水做空白液，盐酸调pH值至2.5。
- A. 5. 3. 2 打开分光光度计，预热10 min。
- A. 5. 3. 3 精确称取约0.5 g索马甜于50 mL容量瓶中，用适量的已用盐酸调pH值至2.5的去矿物质/去离子水溶解，用巴氏移液管补加并准确定容至50 mL。
- A. 5. 3. 4 将空白样品置于样品比色皿和参比比色皿中，在300 nm~600 nm间对分光光度计进行背景校正。

A. 5. 3. 5 将空白液从样品比色皿中倒出，用少量索马甜溶液冲洗比色皿，之后加入索马甜溶液，读取分光光度计吸光数值 (A_{420})。

A. 5. 4 计算结果

吸光度按式 (A.6) 计算：

$$C \quad A (A_{420}) \times 100 \quad \dots\dots\dots (A.6) \\ (E_{10\text{mm}}^{1\%} 420\text{nm}) = \frac{\quad}{(100 - W) \times \text{WCF}}$$

式中：

C——吸光度；

A——1% 索马甜样品的吸收率；

W——索马甜水分含量 (%) ；

WCF——重量校正因子，按式 (A.5) 计算。

A. 6 碳水化合物的测定

A. 6. 1 试剂和材料

A. 6. 1. 1 硫酸。

A. 6. 1. 2 L-半胱氨酸盐酸一水合物。

A. 6. 1. 3 盐酸。

A. 6. 2 仪器和设备

A. 6. 2. 1 双光束紫外/可见分光光度计。

A. 6. 2. 2 光路长为10 mm的1 mL一次性塑料半微量比色皿。

A. 6. 2. 3 75 ×10 mm一次性试管。

A. 6. 2. 4 50 mL容量瓶。

A. 6. 2. 5 50 mL量筒。

A. 6. 2. 6 100 mL锥形烧瓶。

A. 6. 2. 7 50 mL容量瓶。

A. 6. 2. 8 旋涡混合机。

A. 6. 2. 9 电加热水浴。

A. 6. 2. 10 1 mL可调容积的吸管。

A. 6. 2. 11 吸头盒。

A. 6. 2. 12 分析天平。

A. 6. 2. 13 巴氏移液管。

A. 6. 2. 14 pH计。

A. 6. 3 标准曲线制备

用0.2 mL的10 mg/mL~100 mg/mL的葡萄糖溶液按上述方法检测，制备标准曲线。根据此标准曲线计算碳水化合物含量。

A. 6. 4 分析步骤

A. 6. 4. 1 用硫酸制备86% (v/v) 硫酸溶液。

A. 6. 4. 2 制备3% (w/v) L-半胱氨酸盐酸一水合物水溶液。

A. 6. 4. 3 打开分光光度计预热10 min。调整仪器设置以检测412 nm处的吸光度。

A. 6. 4. 4 精确称取约0.2 g索马甜于100 mL容量瓶中,用适量的去矿物质/去离子水(pH值2.5)溶解,用巴氏移液管补充并准确定容至100 mL。

注:准确定容至50 mL前不要摇动容量瓶溶解索马甜。

A. 6. 4. 5 打开水浴加热至沸腾。

A. 6. 4. 6 使用前配制半胱氨酸-硫酸试剂,配制方法为:取 0.5 mL3% (w/v) L-半胱氨酸盐酸一水合物溶液与25 mL86% (v/v) 硫酸在100 mL锥形烧瓶中混合。在冰浴中冷却。

A. 6. 4. 7 取0.2 mL索马甜溶液于一次性试管内,制备一套四个索马甜样品。

A. 6. 4. 8 用0.2 mL去矿物质/去离子水 (pH2.5) 制备一套空白液。

A. 6. 4. 9 用吸管向空白和样品中各加1.2 mL冰半胱氨酸-硫酸试剂,用旋涡混合机彻底混匀,在冰中放置2min后移至室温放置3min,之后浸入沸水中3min。

A. 6. 4. 10 空白液和样品溶液在冰中冷却5min。

A. 6. 4. 11 将空白液置于样品比色皿和参比比色皿对分光光度计调零。

A. 6. 4. 12 拿出含空白液的样品比色皿,另放入一个含索马甜样品的比色皿,读取吸光度数值 (E412)。重复检测每套的样品取平均值。

A. 7 硫酸灰分的测定

A. 7. 1 试剂和材料

浓硫酸,分析纯。

A. 7. 2 仪器和设备

A. 7. 2. 1 铂坩埚。

A. 7. 2. 2 干燥器。

A. 7. 2. 3 坩埚钳。

A. 7. 3 分析步骤

A. 7. 3. 1 精确称取约1.0 g样品于已预先灼烧、冷却并称重的铂坩埚内,每个样品分三份检测。

A. 7. 3. 2 向每个坩埚内加入约40滴浓硫酸。

A. 7. 3. 3 将坩埚置于处于低温的熔炉内,在4 h~5 h内逐渐升温至550 °C ±10 °C,在该温度范围维持约5 h。

A. 7. 3. 4 取出坩埚,待冷却后向残留物中再加入5滴浓硫酸。炉温降至100 °C以下时,再将坩埚置于炉内,在3 h~4 h内缓慢升温至550 °C左右,维持1 h。

A. 7. 3. 5 将坩埚取出置于干燥器内,冷却后重新称重,计算每一份样品的硫酸灰份残渣重量。

A. 7. 4 计算结果

硫酸灰分含量以A计,数值以%表示,按式(A.7):

$$A\% = \frac{W_A \times 100\%}{W_B} \dots\dots\dots (A.7)$$

式中:

A——硫酸灰分含量(%);

W_A——硫酸灰分重量;

W_B——索马甜水分含量(%)。

注：该结果未对样品进行水份含量校正，如报告“以干品计”，则必须进行相应的校正。

A. 8 总氮的测定

A. 8.1 分析步骤

A. 8.1.1 精确称取约0.5 g索马甜于已配衡无灰滤纸上，仔细折叠滤纸以包好样品，之后倒入烧瓶中，向烧瓶内加少许防崩沸颗粒、2片硒催化剂及20 mL硫酸。

A. 8.1.2 将烧瓶置于消化单元内加热约2 h，直至内容物变成灰白或不透明。

A. 8.1.3 关掉仪器冷却15 min，从消化单元移走烧瓶，冷却至室温，加约10 mL冲洗烧瓶壁。

A. 8.1.4 将烧瓶置于蒸汽蒸馏单元，加入足量的32% NaOH溶液中和剩余的酸，蒸汽蒸馏4 min，馏出物进入预先加入40 mL的2%硼酸溶液和6滴甲基红屏蔽指示剂的锥形烧瓶。

A. 8.1.5 用已知浓度的稀盐酸滴定馏出物至刚好粉红色，盐酸浓度约为25 M (mol/L)

A. 8.2 计算结果

总氮含量以P计，数值以%表示，按式 (A.8) 计算：

$$N\% = \frac{P\%}{6.25} \dots\dots\dots (A.8)$$

其中
$$P\% = \frac{14.007 \times 6.25 \times M_A \times 100 \times T}{W}$$

式中：

N——氮含量(%)；

P——蛋白质含量 (%)；

M_A——酸的摩尔浓度(mol/L)；

T——滴定量(mL)；

W——样品质量 (mg)。

A. 9 铝的测定

A. 9.1 使用范围和领域

A. 9.1.1 本标准检测方法详细列出了原子吸收光谱法检测铝含量的步骤。

A. 9.1.2 本方法适用于检测液体和固体样品。

A. 9.2 测定原理

从样品中精确称取部分有代表性的样品先用本生灯灰化，再放入约500℃的马弗炉中，残渣用浓盐酸溶解，用原子吸收光谱法检测铝含量。

A. 9.3 试剂和材料

A. 9.3.1 盐酸。

A. 9.3.2 10% v/v 盐酸：用蒸馏水将浓盐酸稀释10倍（量筒的精确度即可）。配好的试剂应储存于玻璃容器中，保质期为6个月。

A. 9.3.3 氯化镧。

A. 9.3.4 2% w/v氯化镧溶液：用5% v/v的盐酸溶解26.8 g氯化镧并稀释至500 mL。配好的试剂应储存于玻璃容器中，保质期为3个月。

A. 9.3.5 1000 mg/L ± 5 mg/L铝标准液（原子吸收光谱法用标准溶液）。

A. 9. 4 仪器和设备

- A. 9. 4. 1 石英坩埚。
- A. 9. 4. 2 分析天平。
- A. 9. 4. 3 本生灯、石棉替代垫、三角架和陶制三角架。
- A. 9. 4. 4 马弗炉运行温度 $500\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ 。
- A. 9. 4. 5 量筒。
- A. 9. 4. 6 容量瓶。
- A. 9. 4. 7 配聚乙烯螺纹盖的聚乙烯瓶。
- A. 9. 4. 8 原子吸收分光光度计或类似仪器。

A. 9. 5 分析步骤

A. 9. 5. 1 固体样品的测定用样品溶液制备

- A. 9. 5. 1. 1 对样品进行均质处理。
- A. 9. 5. 1. 2 精确称取不低于5 g样品于石英坩埚内，样品重量精确到0.1 mg，同时用空石英坩埚做空白样品进行检测。
- A. 9. 5. 1. 3 将坩埚放在电炉上加热以除去水分，之后用小火加热直至内容物完全碳化。
- A. 9. 5. 1. 4 将坩埚移至马弗炉中，在 $500^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ 灰化4 h~24 h，直至样品灰化成为浅灰色/白色。
- A. 9. 5. 1. 5 冷却后加入10 mL蒸馏水(足够湿润灰份)和5.0 mL浓盐酸。盖上表面皿在蒸汽浴中加热30 min。
- A. 9. 5. 1. 6 冷却后用蒸馏水将坩埚内容物移入50 mL容量瓶中。用移液管加入约5 mL的2%氯化镧溶液。稀释定容并混匀。

A. 9. 5. 2 加标样品制备

- A. 9. 5. 2. 1 精确称取不低于5 g样品于石英坩埚内，样品重量精确到0.1 mg，加入1 mL的1000 mg/L铝标准溶液。根据A.9.6.2描述的方法计算回收率。

注：根据样品基质中铝含量可能需调整加标量。

- A. 9. 5. 2. 2 重复A.9.5.1.3及后续步骤进行制备。

A. 9. 5. 3 液体样品的测定用样品溶液制备

- A. 9. 5. 3. 1 用移液管量取适量的样品于50 mL容量瓶中。用移液管加入约5 mL的2%氯化镧溶液，用10% v/v盐酸稀释定容。
- A. 9. 5. 3. 2 本测定用样品溶液中铝含量应低于1.0 mg/L。
- A. 9. 5. 3. 3 用10% v/v盐酸做空白样品。

A. 9. 5. 4 制备质量控制溶液

- A. 9. 5. 4. 1 向100 mL容量瓶中移入300 μL 的1000 mg/L ± 5 mg/L铝标准液。用10% v/v盐酸稀释定容，得3.0 mg/L铝标准液。
- A. 9. 5. 4. 2 该3.0 mg/L铝标准液应该与测定用样品溶液同时新鲜配制。

A. 9. 5. 5 制备标准曲线溶液

- A. 9. 5. 5. 1 标准空白溶液。
- A. 9. 5. 5. 2 向200 mL容量瓶中移入10 mL的2%氯化镧溶液，用10% v/v盐酸稀释定容。
- A. 9. 5. 5. 3 校正用标准溶液 1
- A. 9. 5. 5. 4 向1 L容量瓶中移入1.0 mL的1000 mg/L铝标准溶液，用移液管加入100 mL的2%氯化镧溶液，用10% v/v盐酸稀释定容，得1.0 mg/L铝标准溶液。
- A. 9. 5. 5. 5 校正用标准溶液 2

A. 9. 5. 5. 6 向500 mL容量瓶中移入1.0 mL的1000 mg/L铝标准溶液，用移液管加入50 mL的2%氯化镧溶液，用10% v/v盐酸稀释定容，得2.0 mg/L铝标准溶液。

A. 9. 5. 5. 7 校正用标准溶液 3

A. 9. 5. 5. 8 向1 L容量瓶中移入3.0 mL的1000 mg/L铝标准溶液，用移液管加入100 mL的2%氯化镧溶液，用10% v/v盐酸稀释定容，得3.0 mg/L铝标准溶液。

A. 9. 5. 5. 9 校正用标准溶液 4

A. 9. 5. 5. 10 向500 mL容量瓶中移入2.0 mL的1000 mg/L铝标准溶液，用移液管加入100 mL的2%氯化镧溶液。用10% v/v盐酸稀释定容，得4.0 mg/L铝标准溶液。

A. 9. 5. 5. 11 校正用标准溶液 5

A. 9. 5. 5. 12 向1 L容量瓶中移入5.0 mL的1000 mg/L铝标准溶液，用移液管加入100 mL的2%氯化镧溶液，用10% v/v盐酸稀释定容，得5.0 mg/L铝标准溶液。

A. 9. 5. 5. 13 标准空白和校正用标准溶液应该存放于配聚乙烯螺纹盖的聚乙烯瓶中保存。

A. 9. 5. 6 分析步骤

A. 9. 5. 6. 1 使用原子吸收分光光度计进行检测分析，制备标准曲线。

A. 4. 4. 1. 1. 1 注：重复进行仪器校正直到每次测得的校正含量的平均值在铝含量的± 10%以内。

校正标准	标准含量	限度
1	1.0 mg/L	0.9 - 1.1 mg/L
2	2.0 mg/L	1.8 - 2.2 mg/L
3	3.0 mg/L	2.7 - 3.3 mg/L
4	4.0 mg/L	3.6 - 4.4 mg/L
5	5.0 mg/L	4.5 - 5.5 mg/L
曲线相关系数不低于0.998		

A. 9. 6 计算结果

A. 9. 6. 1 铝含量以X计，计算按式 (A.9) 计算：

$$X = \frac{ND \times V}{W} \dots\dots\dots (A.9)$$

式中：

X——铝含量 (mg/kg) ；

N——仪器读数 (mg/L) ；

D——稀释倍数；

V——样品体积 (L) ；

W——样品质量 (kg) 。

A. 9. 6. 2 铝回收率以R计，数值以%表示，计算按式 (A.10) 计算：

$$R\% = \frac{S_1 - S_2}{A} \times 100 \dots\dots\dots (A.10)$$

其中

$$A = \frac{V}{W} \times C$$

式中：

R——回收率，（%）；

S₁——加标样品结果；

S₂——样品结果；

A——加标物的含量，（mg/kg）；

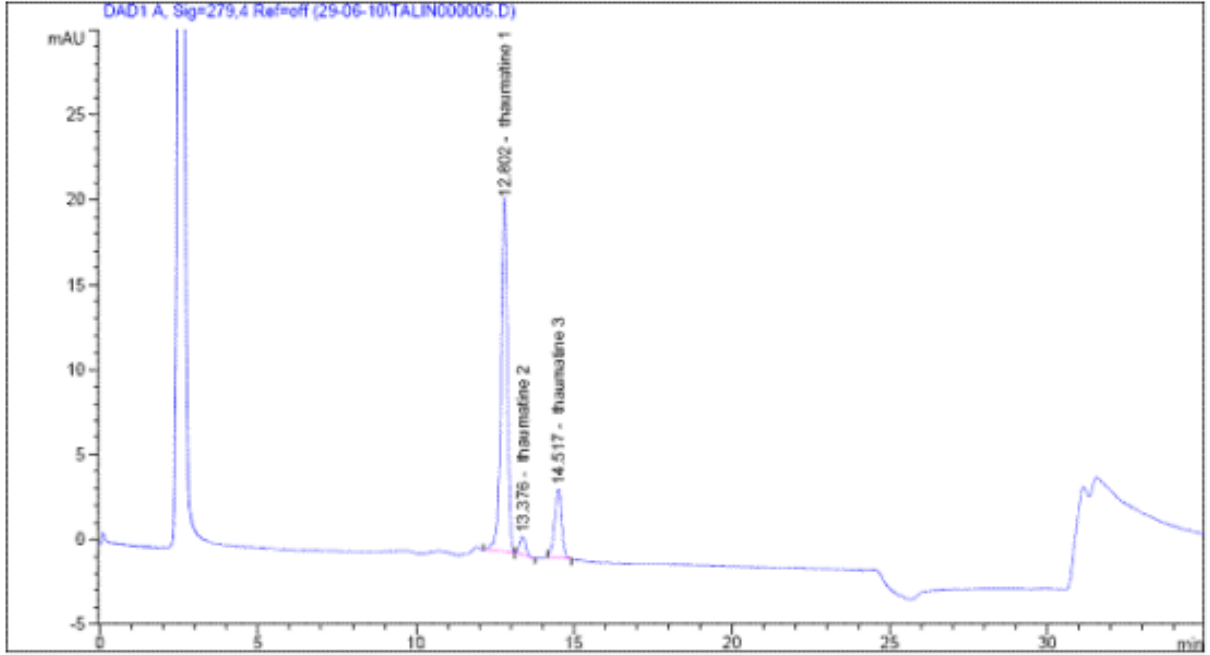
V——加标物的体积，（mL）；

W——样品的质量，（kg）；

C——加标物的浓度，（mg/mL）。

附录 B

索马甜高效液相典型色谱图



图B.1 索马甜高效液相色谱图

六、 酵母β-葡聚糖

英文名称: yeast *beta*-glucan

功能分类: 营养强化剂

(一) 使用范围和使用量:

食品名称	使用量 (g/kg)
较大婴儿和幼儿配方食品 (仅限幼儿配方粉)	0.21~0.67
调制乳粉 (仅限儿童用乳粉)	0.21~0.67

(二) 质量规格要求

1. 生产工艺

以面包酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 为原料, 经过酵母培养和提取、碱处理、酸处理、灭菌处理和 PH 值调节、喷雾干燥等几个关键加工步骤, 生产得到的高浓度 β-1,3-葡聚糖 (≥75%) 为主要成分的酵母 β-葡聚糖。

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	要 求	检验方法
色泽	浅黄色/黄褐色粉末	取适量样品置于清洁、干燥的白瓷盘中, 在自然光线下, 观察其色泽和状态, 并尝其味
滋味	特有的很淡的气味和味道	
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
β-1,3/1,6-葡聚糖, w/%	≥ 75	附录 A中A.1
总碳水化合物, w/%	≥ 75	总碳水化合物(%)=100-蛋白质(%)-脂肪(%)-水分(%)-灰分(%)
蛋白质, w/%	≤ 3.5	GB 5009.5
脂肪, w/%	≤ 10	GB/T 5009.6
水分, w/%	≤ 8	GB 5009.3
灰分, w/%	≤ 3	GB 5009.4
铅 (Pb) / (mg/kg)	≤ 0.5	GB 5009.12
砷(以 As 计)/(mg/kg)	≤ 1	GB/T 5009.11
汞(以 Hg 计)/(mg/kg)	≤ 0.05	GB/T 5009.17

2.3 微生物指标：应符合表 3 的规定。

表 3 微生物指标

项 目	采样方案 ^a 及限量（若非指定，均以CFU/g 表示）				检验方法
	n	c	m	M	
菌落总数	5	2	10000	50000	GB 4789.2
大肠菌群	5	2	3	10	GB 4789.3 平板计数法
金黄色葡萄球菌	5	0	0/25 g	-	GB 4789.10 平板计数法
沙门氏菌	5	0	0/25 g	—	GB 4789.4
^a 样品的分析及处理按GB 4789.1和GB 4789.18执行。					

附录 A

检验方法

A.1 β -葡聚糖的测定方法

A.1.1 方法提要

本方法确定了测定 β -葡聚糖的标准操作程序，适用于测定分子量 ≥ 10 kD 的可溶性和不可溶性酵母 β -葡聚糖。

A.1.2 试剂和材料

A.1.2.1 1 mg/mL 葡萄糖储存液：100 mg 葡萄糖溶于蒸馏水中至 100 mL。

A.1.2.2 蒸馏水。

A.1.2.3 硫酸。

A.1.2.4 溶壁酶。

A.1.2.5 5% 酚溶液：5 g 酚溶于 100 mL 蒸馏水中。

A.1.2.6 10 \times N-三(羟甲基)甲基-2-氨基乙磺酸 (三羟甲基氨基甲烷/生理盐水/乙二胺四乙酸) 溶液 (TES 溶液)：蒸馏水 10 倍稀释成 1 \times N-三(羟甲基)甲基-2-氨基乙磺酸。

A.1.3 仪器和设备

A.1.3.1 分析天平 (万分之一)。

A.1.3.2 离心机。

A.1.3.3 混旋器。

A.1.3.4 加样枪。

A.1.3.5 酶标仪。

A.1.3.6 水浴锅 (50 $^{\circ}$ C \pm 5 $^{\circ}$ C)。

A.1.3.7 超声处理器 (≥ 1000 瓦)。

A.1.3.8 磁力搅拌器。

A.1.3.9 玻璃试管。

A.1.3.10 1.5 mL 离心管。

A.1.3.11 1.5 mL 超滤管。

A.1.3.12 96 孔酶标管。

A.1.4 试验步骤

A.1.4.1 用分析天平准确称取 100 mg 样品溶于 10 \times N-三(羟甲基)甲基-2-氨基乙磺酸溶液中，定容至 10 mL，因此，溶液的浓度为 10 mg/mL；

A.1.4.2 于 50 $^{\circ}$ C 水浴锅孵育 60 min \sim 120 min；

A.1.4.3 用混旋器充分振摇后，在超声处理器中超声处理 5 min；

A.1.4.4 将样品 10 倍稀释 (取 400 μ l 样品加入 3.6 mL 蒸馏水中)；

A.1.4.5 按下表依次在相应的试管中加入样品或试剂：

	A	A	A	B	B	C	C	C	E
样品 (μ l)	300	300	300	300	300	300	300	300	-
1 \times N-三(羟甲基)甲基-2-氨基乙磺酸 (μ l)	40	40	40	40	40	-	-	-	300

溶壁酶 (μl)	-	-	-	-	-	20	20	20	40
溶壁酶 (μl, 2h 后)	-	-	-	-	-	20	20	20	-

注: A: 参照管, 加好样品后置于冰箱过夜; B: 溶剂空白管, 50 °C 水浴锅孵育过夜; C: 样品管, 50 °C 水浴锅孵育过夜; E: 酶液空白管, 50 °C 水浴锅孵育过夜。

A. 1. 4. 6 B、C、E 管孵育完成后, 充分振摇, 14000 rpm 离心, 各取 200 μl 上清液, 不同管的 B、C、E 分别混匀在一起;

A. 1. 4. 7 再取 200 μl 混匀的 B、C、E, 用超滤管进行过滤;

A. 1. 4. 8 单独加 200 μl 蒸馏水至盛 C 的超滤管中 (稀释 1 倍), 离心 6 min;

A. 1. 4. 9 将 A 管从冰箱中取出, 室温孵育;

A. 1. 4. 10 按下表配制葡萄糖标准系列:

	标准系列						
	0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
蒸馏水 (mL)	1	0.9	0.8	0.6	0.4	0.2	0
葡萄糖储存液 (mL)	0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1

A. 1. 4. 11 酚/硫酸反应: 如 A.1.4.5 所示, 准备并标注不同的试管 (A、B、C、E 和标准), 首先向各试管中加入 600 μl 酚溶液, 而后按要求加入 40 μl 样品 (A.1.4.7 和 A.1.4.8) 或标准 (A.1.4.10), 而后加入 2 mL 浓硫酸, 室温孵育 15 min, 振摇后继续孵育至少 5 min (不超过 4 h);

A. 1. 4. 12 将上述样品 (或标准) 按要求加入 96 孔酶标板中, 于酶标仪 490 nm 波长测相应的 OD 值。

A. 1. 5 计算

根据标准浓度和相应的 OD 值做标准曲线, 根据各样品的 OD 值, 计算相应的浓度, 按照下列公式计算:

$$\text{酵母 } \beta\text{-葡聚糖在样品中的含量 (\%)} = (C \times 2 - B - E) / \text{溶液浓度}$$

式中:

C——样品管的浓度 (mg/mL);

2——稀释倍数 (见步骤 A.1.4.8);

B——溶剂空白管管的浓度 (mg/mL);

E——酶液空白管的浓度 (mg/mL);

溶液浓度——10 mg/mL (见步骤 A.1.4.1)。

A. 1. 6 质量控制

在以下两种情况下, 重新进行测定: 样品中酵母 β -葡聚糖的含量 \geq 参照值 (A 管); B 管 (溶剂空白) ≥ 0.05 mg/mL。

七、 α -环状糊精

英文名称： α -Cyclodextrin (Alpha-Cyclodextrin)

功能分类：稳定剂、增稠剂

(一) 使用范围和使用量

在各类食品（除外 GB 2760-2011 中表 A.3 所列的食品类别）中按生产需要适量使用。

(二) 质量规格要求

1 生产工艺

淀粉经酶处理制得 α -环状糊精。

2 技术要求

2.1 感官要求：应符合表 1 的规定。

2.表 1 感官要求

项 目	指 标	检验方法
滋味、气 味	微甜、无异味	将 10 g 试样置于白糖瓷盘内，于光线充足、无异味的环境中
色 泽	白色	
性 状	结晶或结晶性粉末	
杂 质	无肉眼可见的外来杂质	

2.2 理化指标：应符合表 2 的规定。

3.表 2 理化指标

项 目	指 标	检验方法
α -环状糊精 ($C_{36}H_{60}O_{30}$ ，以干基计)， w/%	\geq 98.0	附录 A 中 A.1
水分，w/%	\leq 11.0	GB 5009.3
炽灼残渣，w/%	\leq 0.1	《中华人民共和国药典》(2010 版)附录 IX J “炽灼残渣检查法”，炽灼温度 500 °C~600 °C
比旋度 $[\alpha]^{20}_D$	$+148^{\circ}\pm 3$	按《中华人民共和国药典》(2010 版)附录 VII E “旋光度测定法”
还原糖，w/%	\leq 0.2	附录 A 中 A.2
重金属/(mg/kg)	\leq 5.0	《中华人民共和国药典》(2010 版)“重金属检查法”方法中第一法
铅 (Pb) /(mg/kg)	\leq 0.5	GB 5009.12

2.3 微生物指标：应符合表 3 的规定。

4.表 3 微生物指标

菌落总数，(CFU/g)	\leq	1000	GB 4789.2
大肠菌群，(MPN/100g)	\leq	40	GB 4789.3
霉菌，(CFU/g)	\leq	25	GB 4789.15
酵母，(CFU/g)	\leq	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)		0/25 g	GB 4789.4、GB/T 4789.5、GB 4789.10、GB/T 4789.11

附录 A

检验方法

A.1 α -环状糊精

A.1.1 仪器和设备

高效液相色谱仪：附示差折光率检测器。

A.1.2 试剂和材料

A.1.2.1 α -环状糊精标准品。

A.1.2.2 γ -环状糊精标准品。

A.1.2.3 甲醇（色谱纯）。

A.1.2.4 水为重蒸水。

A.1.3 色谱条件

A.1.3.1 色谱柱：C18、C8、苯基柱等反相色谱柱（5 μm ，150 mm \times 4.6 mm）。

A.1.3.2 检测器温度：40 $^{\circ}\text{C}$ 。

A.1.3.3 分析柱温度：30 $^{\circ}\text{C}$ 。

A.1.3.4 流动相：水-甲醇（93：7），如需，可作调整。

A.1.3.5 流速：1.0 mL/min。

A.1.3.6 进样量：20 μL 。

A.1.4 分析步骤

A.1.4.1 溶液的配制

A.1.4.1.1 标准溶液：准确称取适量的 α -环状糊精，加水溶解，并稀释至浓度约1.0 mg/mL的标准溶液（以干基计）。

A.1.4.1.2 分析储备溶液：准确称取250 mg样品（以干基计），置25 mL量瓶中，加水适量，加热溶解，取出，冷却，用水稀释至刻度。

A.1.4.1.3 分析溶液：精密移取5.0 mL分析储备液，置50 mL量瓶中，用水稀释至刻度。

A.1.4.1.4 系统适用性溶液：准确称取适量的 α -环状糊精、 γ -环状糊精，加水溶解，得到浓度约0.5 mg/mL的 α -环状糊精和0.5 mg/mL的 γ -环状糊精溶液（均以干基计）。

A.1.4.2 系统适用性试验

按上述色谱条件，分别注入上述系统适用性溶液，记录3.5倍 α -环状糊精出峰时间的色谱图， α -环状糊精色谱峰和 γ -环状糊精色谱峰之间的分辨率R不得少于1.5。两者色谱峰的拖尾因子在0.8~2.0间。重复进样，色谱峰峰面积的相对标准偏差不得大于2.0%。

A.1.4.3 测定

分别吸取20 μL α -环状糊精的标准溶液和分析溶液注入色谱仪分析测定，记录峰面积。

A.1.4.4 计算

$$X = \frac{A_1 \times C \times V \times n}{A_2 \times W \times (1-a)} \times 100\%$$

式中：

X——试样中 α -环状糊精的含量，%；

A_1 ——分析溶液中 α -环状糊精的峰面积；

A_2 ——标准溶液中 α -环状糊精的峰面积；

C——标准溶液中 α -环状糊精的浓度；mg/mL；

V ——分析储备液的体积, mL;

N ——稀释倍数;

a ——试样的含水量, %;

W ——试样的称样重, mg;

计算结果保留三位有效数字。

A. 2 还原糖的测定

A. 2. 1 仪器和设备

分光光度计。

A. 2. 2 试剂和材料

A. 2. 2. 1 铜溶液: 称取 15 g 硫酸铜, 置 100 mL 量瓶中, 加水溶解, 并稀释至刻度。

A. 2. 2. 2 酒石酸溶液: 称取 2.5 g 无水碳酸钙, 2.5 g 酒石酸钠钾, 2.0 g 碳酸氢钠、20 g 无水硫酸钠, 置 100 mL 量瓶中, 加水溶解, 并稀释至刻度。

A. 2. 2. 3 酒石酸铜溶液: 使用前, 取铜溶液-酒石酸溶液按 1: 25 混合均匀。

A. 2. 2. 4 钼酸铵试剂: 移取 6% 磷酸氢二钠溶液 10 mL, 10% 钼酸铵溶液 50 mL, 稀硫酸 90 mL, 加水稀释至 200 mL。

A. 2. 3 试验步骤

A. 2. 3. 1 分析溶液: 准确称量 1.0 g α -环状糊精 (以干基计), 置 100 mL 量瓶中, 加入前期加热冷却至室温的水, 溶解, 并稀释至刻度。精密移取 1 mL 该溶液, 加入 1 mL 酒石酸铜溶液, 水浴加热 10 min, 冷却至室温, 再加入 10 mL 钼酸铵试剂, 静置 15 min。

A. 2. 3. 2 标准储备溶液: 准确称取葡萄糖 (以干基计) 20 mg, 加水溶解, 配制成浓度为 20 mg/L 的标准储备溶液。

A. 2. 3. 3 标准溶液: 取标准储备液 1 mL, 加入 1 mL 酒石酸铜溶液, 按分析溶液方法制备。
(1 mL 标准储备液相当于 1.0 g α -环状糊精试样)

A. 2. 3. 4 测定: 取分析溶液和标准溶液, 用分光光度计在最大吸收波长 740 nm 处, 测定两者的吸光度, 分析溶液的吸光度不得大于标准溶液 (0.2%)。

八、 γ -环状糊精

英文名称： γ -Cyclodextrin (Gamma-Cyclodextrin)

功能分类：稳定剂、增稠剂

(一) 使用范围和使用量

在各类食品（除外 GB 2760-2011 中表 A.3 所列的食品类别）中按生产需要适量使用。

(二) 质量规格要求

1 生产工艺

淀粉经酶处理而制得的 γ -环状糊精。

2 性状

白色结晶或结晶性粉末，微甜、无异味，无肉眼可见的外来杂质。

3 技术要求

3.1 理化指标：应符合表 1 的规定。

5.表 1 理化指标

项 目	指 标	检验方法
γ -环状糊精含量 ($C_{48}H_{80}O_{40}$, 以干基计), w/%	\geq 98.0	附录 A 中 A.1
水分, w/%	\leq 11.0	GB 5009.3
炽灼残渣, w/%	\leq 0.1	《中华人民共和国药典》(2010 版)附录 IX J“炽灼残渣检查法”, 炽灼温度 500℃~600℃
比旋度 $[\alpha]^{20}_D$	+173°~+180°	《中华人民共和国药典》(2010 版)附录 VII E“旋光度测定法”
还原糖, w/%	\leq 0.5	附录 A 中 A.2
重金属/(mg/kg)	\leq 5	《中华人民共和国药典》(2010 版)规定的“重金属检查法”方法中第一法
铅 (Pb) /(mg/kg)	\leq 0.5	GB 5009.12

3.2 微生物指标：应符合表 2 的规定。

6.表 2 微生物指标

项 目	指 标	检验方法
菌落总数, CFU/g	\leq 1000	GB 4789.2
大肠菌群, MPN/100g	\leq 40	GB 4789.3
霉菌, CFU/g	\leq 25	GB 4789.15
酵母, CFU/g	\leq 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)	0/25g	GB 4789.4、GB/T 4789.5、GB 4789.10、GB/T 4789.11

附录 A

检验方法

A.1 γ -环状糊精含量的测定

A.1.1 仪器和设备

高效液相色谱仪：附示差折光率检测器。

A.1.2 试剂和材料

α -环状糊精标准品、 γ -环状糊精标准品；甲醇（色谱纯）；水为重蒸水。

A.1.3 色谱条件

A.1.3.1 色谱柱：C18、C8、苯基柱等反相色谱柱（5 μ m, 150 mm \times 4.6 mm）。

A.1.3.2 检测器温度：40 $^{\circ}$ C。

A.1.3.3 分析柱温度：30 $^{\circ}$ C。

A.1.3.4 流动相：水-甲醇（93:7），如需，可作调整。

A.1.3.5 流速：1.0 mL/min。

A.1.3.6 进样量：20 μ L。

A.1.4 分析步骤

A.1.4.1 溶液的配制

A.1.4.1.1 标准溶液：准确称取适量的 γ -环状糊精，加水溶解，并稀释至浓度约 1.0 mg/mL 的标准溶液（以干基计）。

A.1.4.1.2 分析储备溶液：准确称取 250 mg 样品（以干基计），置 25 mL 量瓶中，加水适量，加热溶解，取出，冷却，用水稀释至刻度。

A.1.4.1.3 分析溶液：精密移取 5.0 mL 分析储备液，置 50 mL 量瓶中，用水稀释至刻度。

A.1.4.1.4 系统适用性溶液：准确称取适量的 α -环状糊精、 γ -环状糊精，加水溶解，得到浓度约 0.5 mg/mL 的 α -环状糊精和 0.5 mg/mL 的 γ -环状糊精溶液（均以干基计）。

A.1.4.2 系统适用性试验

按上述色谱条件，分别注入上述系统适用性溶液， α -环状糊精色谱峰和 γ -环状糊精色谱峰之间的分辨率 R 不得少于 1.5。两者色谱峰的拖尾因子在 0.8-2.0 间。重复进样，色谱峰峰面积的相对标准偏差不得大于 2.0%。

A.1.4.3 样品测定

分别吸取 20 μ L γ -环状糊精的标准溶液和分析溶液注入色谱仪分析测定，记录峰面积。

A.1.4.4 计算公式

$$X = \frac{A_1 \times C \times V \times n}{A_2 \times W \times (1-a)} \times 100\%$$

式中：

X ——试样中 γ -环糊精的含量，%；

A_1 ——分析溶液中 γ -环状糊精的峰面积；

A_2 ——标准溶液中 γ -环状糊精的峰面积；

C ——标准溶液中 γ -环状糊精的浓度，mg/mL；

V ——分析储备液的体积，mL；

n ——稀释倍数；

a ——试样的含水量，%；

m ——试样的称样重，mg。

计算结果保留三位有效数字。

A. 2 还原糖的测定

A. 2. 1 仪器和设备

分光光度计。

A. 2. 2 试剂与材料

A. 2. 2. 1 铜溶液：称取 15 g 硫酸铜，置 100 mL 量瓶中，加水溶解，并稀释至刻度。

A. 2. 2. 2 酒石酸溶液：称取 2.5 g 无水碳酸钙，2.5 g 酒石酸钠钾，2.0 g 碳酸氢钠、20 g 无水硫酸钠，置 100 mL 量瓶中，加水溶解，并稀释至刻度。

A. 2. 2. 3 酒石酸铜溶液：使用前，取铜溶液-酒石酸溶液按 1: 25 混合均匀。

A. 2. 2. 4 钼酸铵试剂：移取 6% 磷酸氢二钠溶液 10 mL，10% 钼酸铵溶液 50 mL，稀硫酸 90 mL，加水稀释至 200 mL。

A. 2. 3 试验步骤

A. 2. 3. 1 分析溶液：准确称量 1.0 g γ -环状糊精（以干基计），置 100 mL 量瓶中，加入前期加热冷却至室温的水，溶解，并稀释至刻度。精密移取 1 mL 该溶液，加入 1 mL 酒石酸铜溶液，水浴加热 10 min，冷却至室温，再加入 10 mL 钼酸铵试剂，静置 15 min。

A. 2. 3. 2 标准储备溶液：准确称取葡萄糖（以干基计）25 mg，加水溶解，配制成浓度为 50 mg/L 的标准储备溶液。

A. 2. 3. 3 标准溶液：取标准储备液 1 mL，加入 1 mL 酒石酸铜溶液，按分析溶液方法制备。
（1 mL 标准储备液相当于 1.0 g γ -环状糊精试样）

A. 2. 3. 4 测定：取分析溶液和标准溶液，用分光光度计在最大吸收波长 740 nm 处，测定两者的吸光度，分析溶液的吸光度不得大于标准溶液（0.5%）。

九、 五碳双缩醛（又名戊二醛）

英文名称：Glutaraldehyde

功能分类：食品工业用加工助剂

（一）使用范围和使用量

食品分类号	食品名称/分类	最大使用量（g/kg）	备注
16.03	胶原蛋白肠衣的加工工艺	按生产需要适量使用	

（二） 质量规格要求

1 生产工艺

五碳双缩醛由乙烯基乙醚和丙烯醛合成。

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	无色至淡黄色	取适量试样置于50 mL烧杯中，在自然光线下，观察其色泽和状态
状态	澄清液体	

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
五碳双缩醛（C ₅ H ₈ O ₂ ）含量，w/%	15.0~50.0	附录 A 中 A.3
pH	3.1~4.5	附录 A 中 A.4
铅（Pb）/（mg/kg）	≤ 2.0	GB 5009.12

附录 A

检验方法

A.1 一般规定

本标准所用试剂和水，在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和GB/T 6682—2008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 鉴别试验

A.2.1 试剂和材料

2,4-二硝基苯肼试剂：取2,4-二硝基苯肼0.8 g，加4 mL硫酸，一边搅拌，逐滴加入6 mL水，待溶解完全后，加入20 mL乙醇，混合摇匀，过滤，取滤液即得。

A.2.2 鉴别方法

取20 mL 2,4-二硝基苯肼试剂，加入0.4 mL样品，摇匀，静置5 min。过滤，收集沉淀，用乙醇彻底洗涤，用20 mL热二氯乙烯溶解沉淀，过滤。滤液经冰浴冷却至产生结晶，过滤后收集沉淀，用30 mL丙酮回流再溶解，过滤，滤液经冰浴冷却重结晶，过滤，收集沉淀，所得的2,4-二硝基苯肼测定其熔点为185 °C~195 °C。

A.3 五碳双缩醛（C₅H₈O₂）含量的测定

A.3.1 试剂和材料

A.3.1.1 盐酸羟胺溶液：35 g/L。

A.3.1.2 三乙醇胺溶液：74 g/L。

A.3.1.3 盐酸标准滴定溶液：0.5 mol/L。

A.3.2 仪器和设备

天平、酸度计。

A.3.3 分析步骤

将足够供分析空白和试样的量的盐酸羟胺溶液，调节pH至3.60。

于二只滴定杯中各加已调节pH至3.60的盐酸羟胺溶液65.0 mL，在每只杯上装一涂有聚四氟乙烯（或相当材质）的搅拌器，经自动滴定器在每一只滴定杯中加入三乙醇胺液30.8 mL，加盖，搅拌。用一已称重的吸量管，吸取一定量约相当于五碳双缩醛300 mg的试样，加于其中一个滴定杯中，经充分混合后，将试样液和空白样液在室温下至少维持60 min，但不超过90 min。

用0.5 mol/L盐酸将试样和空白样滴定至pH为3.60为终点。

注意：在中和和分析过程中，搅拌速度是一个关键因素。当需要搅拌时，应确保溶液内不要因此混入气泡，且测试样品和空白时均始终保持同样的搅拌速度。

A. 3. 4 结果计算

五碳双缩醛含量以 $C_5H_8O_2$ 的质量分数 W 计，数值以%表示，按公式 (A.1) 计算：

$$w = \frac{0.05006 \times c \times (V_1 - V_2)}{m} \times 100\% \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

W ——五碳双缩醛的含量，单位为%；

V_1 ——空白样液所耗盐酸标准滴定溶液的体积，单位为毫升 (mL)；

V_2 ——试样液所耗盐酸标准滴定溶液的体积，单位为毫升 (mL)

C ——盐酸标准滴定溶液的浓度，单位为摩尔每升 (mol/L)；

0.05006——1.0 mL 盐酸 [$c(HCl)=0.5000 \text{ mol/L}$] 标准滴定溶液相当的 $C_5H_8O_2$ 的质量，单位为克 (g)；

m ——样品质量的数值，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与算术平均值的比值不大于 10 %。

A. 4 pH的测定

A. 4. 1 仪器和设备

酸度计，精度 ± 0.01 。

A. 4. 2 分析步骤

移取适量样品，置于清洁干燥的烧杯中，在 20 °C 下用酸度计测定其 pH。

附件 2

异戊酸异丙酯等 15 种食品用香料新品种

序号	编码	香料中文名称	香料英文名称	FEMA 编号
1	S1454	异戊酸异丙酯	isopropyl isovalerate	2961
2	S1455	顺式-4-癸烯醇乙酸酯	<i>cis</i> -4-decenyl acetate	3967
3	S1456	惕各酸香叶酯	geranyl tiglate	4044
4	S1457	<i>N</i> -苯甲酰邻氨基苯甲酸	<i>N</i> -benzoylanthranilic acid	4078
5	S1458	2,6,10-三甲基-2,6,10-十五碳三烯-14-酮	2,6,10-trimethyl-2,6,10-pentadecatrien-14-one	3442
6	S1459	2,5-二甲基噻唑	2,5-dimethylthiazole	4035
7	S1460	甲硫基甲醇丁酸酯	methylthiomethyl butyrate	3879
8	S1461	2-甲硫基乙醇	2-(methylthio) ethanol	4004
9	S1462	二乙基三硫醚	diethyl trisulfide	4029
10	S1463	顺式和反式-1-巯基-对-薄荷-3-酮	<i>cis</i> - and <i>trans</i> -1-mercapto- <i>p</i> - menthan-3-one	4300
11	S1464	4-羟基-4-甲基-7-顺式-癸烯酸 γ -内酯	4-hydroxy-4-methyl-7- <i>cis</i> -decenoic acid gamma lactone	3937
12	S1465	2-甲基辛醛	2-methyloctanal	2727
13	S1466	3-甲基-5-丙基-2-环己烯-1-酮	3-methyl-5-propyl-2-cyclohexen-1-one	3577
14	S1467	2,4-壬二烯-1-醇	2,4-nonadien-1-ol	3951
15	S1468	环戊硫醇	cyclopentanethiol	3262

附件 3

增补低聚果糖等 3 种食品添加剂 的质量规格要求

一、低聚果糖质量规格要求

1. 生产工艺

以蔗糖为原料，用来源于米曲霉的 β -果糖基转移酶水解后，经色谱分离提纯、干燥制得。

2. 性状

白色或微黄色粉状。

3. 技术要求

3.1 理化指标：应符合表 1 的规定。

表 1 理化指标

项 目	指 标	检 验 方 法
低聚果糖含量(以干基计)，w/%	\geq 95.0	GB/T 23528
水分，w/%	\leq 5.0	GB 5009.3
pH	4.5~7.0	GB/T 20885
电导灰分(占干物质)，w/%	\leq 0.2	GB 317
砷(以 As 计) / (mg/kg)	\leq 0.5	GB/T 5009.11
铅(Pb) / (mg/kg)	\leq 1.0	GB 5009.12

3.2 微生物指标：应符合表 2 的规定。

表 2 微生物指标

项 目	指 标	检 验 方 法
菌落总数/ (CFU/g)	\leq 1000	GB 4789.2
霉菌/ (CFU/g)	\leq 25	GB 4789.15
酵母/ (CFU/g)	\leq 25	GB 4789.15
大肠菌群/ (MPN/100g)	\leq 30	GB 4789.3
致病菌(沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌)	0/25g	GB4789.4、GB/T 4789.5、 GB4789.10

二、 β -胡萝卜素质量规格要求

1. 生产工艺

以物理方法从杜氏盐藻 (*Dunaliella Salina*) 养殖湖中得到杜氏盐藻的浓缩悬浮水溶液。用物理方法进一步浓缩, 除去低分子量成分和非类胡萝卜素残渣后, 得到天然类胡萝卜素的浓缩物, 其中含有 90% 以上的 β 胡萝卜素, 10% 以下的 α 胡萝卜素及 2% 以下的其他胡萝卜素异构体, 然后用食品级的植物油稀释成需要的浓度的油悬浮液。

2. 性状

深红色油悬浮液。

3. 技术要求

3.1 理化指标: 应符合表 1 的规定。

表 1 理化指标

项 目	指 标	检验方法
总天然类胡萝卜素 (环己烷溶液在 455nm 下, 使用吸光系数), w/%	\geq 30.0	附录 A 中 A.2
铅 (Pb) / (mg/kg)	\leq 10	GB 5009.12
砷 (以 As 计) / (mg/kg)	\leq 5	GB/T 5009.11
汞 (Hg) / (mg/kg)	\leq 1	GB/T5009.17

3.2 微生物指标: 应符合表 2 的规定。

表 2 微生物指标

项 目	指 标	检验方法
菌落总数/(CFU/g)	\leq 1000	GB 4789.2
大肠菌群/(MPN/g)	\leq 30	GB 4789.3
霉菌和酵母/(CFU/g)	\leq 100	GB 4789.15
沙门氏菌	0/25g	GB 4789.4

附录 A

检验方法

A.1 鉴别试验

使用紫外/可见分光光度计在波长400nm~550nm间扫描溶液C。如果样品的环己烷溶液的最大吸光度在448nm~ 457nm 和474nm ~486nm 之间样品便会通过FAO-JECFA(联合国粮农组织 FAO/WHO食品添加剂与污染物联合专家委员会)(胡萝卜素, 藻类) 标准和欧共体指令 (2001/50/EC – 海藻胡萝卜素)标准的鉴别试验。

A.2 总天然类胡萝卜素的测定

A.2.1 方法概要

此程序可用于测定总类胡萝卜素含量。样品溶于氯仿中并用己烷稀释到合适的浓度。最终的稀释在环己烷中进行。全反式 β 胡萝卜素的吸光度在特定的波长下测定, 并使用吸收度系数计算浓度。

A.2.2 试剂和材料

A.2.2.1 氯仿。

A.2.2.2 环己烷。

A.2.2.3 己烷。

A.2.3 仪器和设备

A.2.3.1 10mm 玻璃比色槽分光光度计。

A.2.3.2 涡流搅拌器。

A.2.4 分析步骤

称取约0.53 g \pm 0.26g的三份样品(精确到0.001g)到100 mL 容量瓶(使用具有低光化性质的玻璃器皿)。添加大约10 mL 氯仿溶解样品, 混合均匀(涡旋30s)。透光观察, 确定样品完全溶解; 以己烷稀释至刻度, 混合均匀。此即溶液A。吸取2.0 mL 溶液A到50 mL容量瓶。以己烷稀释至刻度, 混合均匀。此即溶液B; 吸取2.0 mL 溶液B到50 mL容量瓶, 以环己烷稀释至刻度, 混合均匀, 此即溶液C; 在最大吸收度波长测定溶液C的吸收度, 在波长455nm的环己烷作为空白对照。

分光光度计的两槽应经环己烷调零。使用吸光系数, 不再需要标准样品。

A.2.5 结果计算

$$c = \frac{A \times 62500}{2500 \times m} \% \text{ (w/w)}$$

其中

C —— β -胡萝卜素(%)的浓度;

A —— 溶液C在455nm附近的最大吸光度;

m——样品质量(g);

2500——全反式 β -胡萝卜素的吸光系数;

62500——以mL为单位的稀释因子。

三、番茄红素质量规格要求

1. 生产工艺

以玉米浆、豆饼粉、淀粉等发酵基础物作为培养基，以三孢布拉氏霉菌 *Blakeslea trispora* 进行发酵得到，再经由过滤、萃取、结晶、精制、成品加工等工序制得的产品。

2. 技术要求

2.1 感官要求：应符合表 1 的要求。

表 1 感官要求

项 目	指 标	检 验 方 法
色泽	红色	将 10g 试样置于白搪瓷盘内，于光线充足的环境中观察。 溶解性检验方法：附录 A 中 A.2。
性状	结晶粉末，不溶于水、易溶于氯仿	

2.2 理化指标：应符合表 2 的要求。

表 2 理化指标

项 目	指 标	检 验 方 法
番茄红素, w/%	≥ 95	附录 A 中 A.1
全反式番茄红素, w/%	≥ 90	附录 A 中 A.1
其他类胡萝卜素, w/%	≤ 5.0	附录 A 中 A.1
干燥失重, w/%	≤ 0.5	GB 5009.3 食品中水分测定（第二法）
铅 (Pb) / (mg/kg)	≤ 1.0	GB 5009.12
异丙醇, w/%	≤ 0.1	《中华人民共和国药典》二部附录 VIII P 残留溶剂测定法
乙酸异丁酯, w/%	≤ 1.0	《中华人民共和国药典》二部附录 VIII P 残留溶剂测定法
溶解度	通过试验	附录 A 中 A.2
类胡萝卜素	通过试验	附录 A 中 A.3
最大吸收峰测定	通过试验	附录 A 中 A.4

附录 B

检验方法

A. 10 番茄红素总含量测定、全反式番茄红素测定及其他类胡萝卜素含量的测定

A. 10.1 试验方法

高效液相色谱（HPLC）方法适合于测定全部的番茄红素（全反式番茄红素与顺式番茄红素异构体）、全反式番茄红素，以及其他类胡萝卜素。

A. 10.2 试剂和材料

A. 10.2.1 乙腈。

A. 10.2.2 甲醇。

A. 10.2.3 丙酮。

A. 10.2.4 正己烷。

A. 10.2.5 二氯甲烷。

A. 10.2.6 番茄红素标准品（纯度≥95%。

注：所有溶剂都应该是 HPLC 级别。

A. 10.3 仪器和设备

高效液相色谱仪：附紫外检测器（UV）。

A. 10.4 试验步骤

A. 10.4.1 HPLC 条件

A. 10.4.1.1 流动相：乙腈/甲醇（40：60）。

A. 10.4.1.2 流动速度：1 mL/min。

A. 10.4.1.3 检测波长：470 nm。

A. 10.4.1.4 注射量：10 μL。

A. 10.4.1.5 柱温：30 °C。

A. 10.4.2 标准溶液

精密称取 25 mg 番茄红素标准品置于 100 mL 棕色容量瓶中，溶解于 10 mL 二氯甲烷，用正己烷定容至刻度。精密移取 1 mL 上述溶液至 50 mL 棕色容量瓶，用丙酮定容至刻度。

A. 10.4.3 样品溶液

制备方法同标准溶液。

A. 10.4.4 HPLC 分析

谱图记录标准溶液。全反式番茄红素的保留时间大约是 11.5 min~12.5 min。13-顺式番茄红素相对于全反式番茄红素的保留时间是 1.25 min。其它类胡萝卜素相对于全反式番茄红素的保留时间为：β 胡萝卜素为 1.2 min，γ 胡萝卜素为 1.1 min。记录全反式番茄红素和顺式番茄红素异构体的总峰面积并计算番茄红素响应因子（RF）：

$$RF = \frac{A_{st} \times 5000}{W_{st} \times P_{st}}$$

式中：

RF——番茄红素的响应因子(AU mL/mg)；

A_{st} ——总的番茄红素（全反式番茄红素+顺式番茄红素异构体）峰面积；

5000——标准品稀释倍数；

W_{st} ——标准品的质量 (mg);

P_{st} ——标准品的纯度, 它被表达为番茄红素在番茄红素标准品中所占的比例。

色谱图记录样品溶液并记录以下峰面积:

A_1 ——全反式番茄红素;

A_2 ——总番茄红素 (全反式番茄红素+顺式番茄红素异构体);

A_3 ——其它类胡萝卜素;

A_4 ——总类胡萝卜素 (全反式番茄红素+顺式番茄红素异构体+其它类胡萝卜素)。

A. 10. 4. 5 结果计算:

按以下方式计算总番茄红素, 全反式番茄红素, 以及其它类胡萝卜素的百分比:

$$\text{总番茄红素 (\%)} = \frac{A_2 \times 5000 \times 100}{W \times RF}$$

$$\text{全反式番茄红素 (\%)} = \frac{A_1 \times 100}{A_2}$$

$$\text{其它类胡萝卜素 (\%)} = \frac{A_3 \times 100}{A_4}$$

式中:

W ——样品质量 (mg);

RF ——响应因子(AU mL/mg);

5000——标准品稀释倍数。

A. 11 溶解度测定

A. 11. 1 取 1 g 被测样品, 置于 100 mL 水中, 搅拌 5 min, 不溶解。

A. 11. 2 取 1 g 被测样品, 置于 100 mL 氯仿中, 搅拌 5 min, 完全溶解, 溶液外观澄清, 为橙红色。

A. 12 类胡萝卜素检测

取本品 1 g, 加入 10 mL 丙酮溶液, 搅拌溶解后, 加入 5% 的硝酸钠溶液及 1N 硫酸后, 颜色消失。

A. 13 最大吸收峰测定

精密称取 25 mg 番茄红素标准品置于 100 mL 棕色容量瓶中, 溶解于 10 mL 二氯甲烷, 用正己烷定容至刻度。精密移取 1 mL 上述溶液至 50 mL 棕色容量瓶, 用丙酮定容至刻度。使用紫外分光光度计进行扫描, 在波长约 470 nm 时有最大吸收。

附件 4

增补脂肪酶等 2 种食品用酶制剂的原料来源

序号	酶	来源
1.	脂肪酶 Lipase	柱晶假丝酵母 <i>Candida cylindracea</i>
2.	普鲁兰酶 Pullulanase	长野解普鲁兰杆菌 <i>Pullulanibacillus naganoensis</i>