中 华 人 民 共 和 国 国 家 标 准

GB ××××—××××

食品安全国家标准
食品添加剂　叶绿素铜钾盐

（征求意见稿）

201×-××-××发布　　201×-××-××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
食品添加剂　叶绿素铜钾盐

1　范围

本标准适用于蚕沙或草类、紫花苜蓿、荨麻、菠菜等植物为原料提取叶绿素，或者直接以叶绿素为原料，经皂化、铜代等步骤加工制得的食品添加剂叶绿素铜钾盐。使用溶剂为丙酮、二氯甲烷、甲醇、乙醇、异丙醇和（或）正己烷。

2　分子式和相对分子质量

2.1　分子式

叶绿酸铜二钾（$C_{34}H_{30}O_5N_4CuK_2$）

叶绿酸铜三钾（$C_{34}H_{31}O_6N_4CuK_3$）

2.2　相对分子质量

叶绿酸铜二钾：716.38（按2016年国际相对原子质量）

叶绿酸铜三钾：772.48（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	深绿色至深黑色	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	

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
叶绿素铜钾盐含量（以干基计），*w*/%　≥	95.0	附录 A 中 A.3
总铜（Cu），*w*/%　≤	8.0	附录 A 中 A.4
游离铜（Cu），*w*/%　≤	0.020	附录 A 中 A.5

碱性染料	通过试验	附录 A 中 A.6
溶剂残留 [a] 二氯甲烷/（mg/kg） ≤ 甲醇、异丙醇、正己烷总和/（mg/kg） ≤	 10 100	附录 A 中 A.7
铅（Pb）/（mg/kg） ≤	5.0	GB 5009.75 或 GB 5009.12
砷（As）/（mg/kg） ≤	3.0	GB 5009.76 或 GB 5009.11
[a] 根据产品实际使用的溶剂，测定相应溶剂残留。 注：商品化的叶绿素铜钾盐应以符合本标准的叶绿素铜钾盐为原料，可添加植物油、麦芽糊精、水等食品辅料和/或符合食品添加剂质量规格要求的乳化剂，抗氧化剂，酸度调节剂等，其含量符合声称值，形态可以是粉末或液体。		

附　录　A

检验方法

A.1　一般规定

本标准所用试剂和水在未注明其他要求时，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、制剂和制品在未注明其他要求时，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　溶解性

溶于水，几乎不溶于低分子醇、酮类和乙醚，不溶于氯代烷烃、烃类和固定油类。

A.2.2　最大吸收波长

取A.3.3.1叶绿素铜钾盐含量测定中的试样溶液，在405 nm±3 nm和630 nm±3 nm的两个波长范围内均有最大吸收峰。

A.2.3　铜钾离子试验

取1 g试样，置于已在800 ℃±25 ℃下灼烧至恒重的坩埚中，缓缓加热直至试样完全碳化。将碳化的试样冷却，用 0.5 mL～1 mL硫酸润湿残渣，继续加热至硫酸蒸汽逸尽，并在800 ℃±25 ℃的高温炉中灼烧残渣至恒重。在残渣中加入10 mL盐酸溶液（1+3），在水浴上加热溶解，过滤后补充水至10 mL，作为试样溶液，进行如下试验：

a）取5 mL试样溶液，加入10%氨水溶液，呈蓝色。

b）取5 mL试样溶液，加入0.5 mL的0.1%二乙基二硫代氨基甲酸钠溶液，产生红褐色沉淀。

c）取试样溶液做焰色试验，呈紫色。

A.3　叶绿素铜钾盐含量（以干基计）的测定

A.3.1　试剂和材料

A.3.1.1　0.15 mol/L磷酸氢二钠溶液：称取53.7 g磷酸氢二钠（$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$），加水溶解，稀释并定容至1000 mL

A.3.1.2　0.15 mol/L磷酸二氢钾溶液：称取20.4 g磷酸二氢钾（KH_2PO_4），加水溶解，稀释并定容至1000 mL。

A.3.1.3　磷酸盐缓冲液（pH 7.5）：0.15 mol/L磷酸氢二钠溶液与0.15 mol/L磷酸二氢钾溶液21:4混合。

A.3.2　仪器和设备

分光光度计。

A.3.3　分析步骤

A.3.3.1　试样溶液的制备

称取0.1 g试样（精确至0.0002 g），加20 mL水溶解，用磷酸盐缓冲液（pH 7.5）稀释并定容至100 mL。取1 mL上述溶液，用磷酸盐缓冲液（pH 7.5）稀释并定容至100 mL。

A.3.3.2　测定

取试样溶液置于1 cm比色皿中，以磷酸盐缓冲液（pH 7.5）做空白对照，用分光光度计在405 nm±3 nm波长范围内的最大吸收波长处测定吸光度。吸光度应控制在0.3～0.7之间，否则应调整试样溶液浓度，再重新测定吸光度。

A.3.4　结果计算

叶绿素铜钾盐含量（以干基计）的质量分数w_1，按式（A.1）计算：

$$w_1 = \frac{A \times 10^4}{565 \times m \times (1 - w_0)} \times 100\ \% \qquad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots（A.1）$$

式中：

A——试样溶液的吸光度值；

m——试样的质量，单位为克（g）；

w_0——试样的干燥减量，%；

10^4——体积换算系数；

565——1 cm比色皿中浓度为1%（100 mL溶剂含1 g叶绿素铜钾盐）的溶液消光值。

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算术平均值的1.0 %。

注：按照GB 5009.3直接干燥法测定干燥减量，干燥温度和时间分别为105 ℃和2 h。

A.4　总铜（Cu）的测定

A.4.1　试样处理

称取0.1 g试样（精确至0.0002 g），置于硅皿中，在不超过500 ℃下灼烧至无碳，用1滴~2滴硫酸湿润，再次灰化。用质量分数为10%的盐酸溶液分三次（每次5 mL）煮沸溶解灰分，过滤。冷却后用水定容至100 mL。

A.4.2　分析步骤

除试样处理外，其余步骤按GB 5009.13规定的方法测定。

A.5　游离铜（Cu）的测定

A.5.1　试样处理

称取0.1 g试样（精确至0.0002 g），加约50 mL水溶解，用1 mol/L盐酸溶液调节pH至3.0，用水定容至100 mL，过滤。

A.5.2　分析步骤

除试样处理外，其余步骤按GB 5009.13规定的方法测定。

A.6　碱性染料的测定

配制5 mL的0.5%试样溶液，加1 mL的1 mol/L盐酸溶液，再加5 mL乙醚，完全混合后分离。乙醚层不深于淡绿色，即为通过试验。

A.7　溶剂残留（二氯甲烷、甲醇、异丙醇、正己烷）的测定

A.7.1　试剂和材料

A.7.1.1　GB/T 6682规定的一级水。

A.7.1.2　待测组分标准品：二氯甲烷、甲醇、异丙醇、正己烷，色谱纯。

A.7.1.3　空白试样：含极少溶剂的试样。

A.7.1.4　内标物：3-甲基-2-戊酮，色谱纯。

A.7.1.5　N-甲基吡咯烷酮。

A.7.2　仪器和设备

气相色谱仪：配备氢火焰离子化检测器（FID）和顶空进样器。

A.7.3　参考色谱条件

A.7.3.1　色谱柱：石英毛细管柱（Φ 0.53 mm×30 m），涂层为二甲基聚硅氧烷，厚度为5 μm，或同等性能的色谱柱。

A.7.3.2　载气：氦气。

A.7.3.3　载气流速：5 mL/min。

A.7.3.4　柱温：35 ℃保持5 min，以5 ℃/min升温至90 ℃，保持6 min。

A.7.3.5　进样口温度：140 ℃。

A.7.3.6　检测器温度：300 ℃。

A.7.3.7　进样量：1.0 mL。

A.7.4　参考顶空进样条件

A.7.4.1　试样加热温度：60 ℃。

A.7.4.2　试样加热时间：10 min。

A.7.4.3　注射器温度：70 ℃。

A.7.4.4　传质温度：80 ℃。

A.7.5　分析步骤

A.7.5.1　内标溶液的制备

移取50.0 mL水到一个50 mL进样瓶中，封盖，称重进样瓶，精确至0.0001 g。移取15 μL 3-甲基-2-戊酮，通过隔片将其注入进样瓶中，混匀，再称重进样瓶，精确至0.01 g。

A.7.5.2　空白溶液的制备

称取0.2 g空白试样（精确至0.0001 g），置于顶空瓶中，再加入5.0 mL水和1.0 mL内标溶液，移取20 μL N-甲基吡咯烷酮，通过隔片将其注入顶空瓶中，60 ℃加热10 min并剧烈振摇，混匀。

A.7.5.3　标准溶液的制备

称取0.2 g空白试样（精确至0.0001 g），置于顶空瓶中，加入5.0 mL水和1.0 mL内标溶液，称取10 mg待测组分标准品（对每个溶剂分别分析），用N-甲基吡咯烷酮溶解稀释定容至100 mL，移取20 μL通过隔片注入顶空瓶中，60 ℃加热10 min并剧烈振摇，混匀。

A.7.5.4　试样溶液的制备

称取0.2 g试样（精确至0.0001 g），置于顶空瓶中，加入5.0 mL水和1.0 mL内标溶液，移取20 μL N-甲基吡咯烷酮，通过隔片将其注入顶空瓶中，60 ℃加热10 min并剧烈振摇，混匀。

A.7.5.5　测定

在A.7.3和A.7.4参考操作条件下，分别对空白溶液、标准溶液和试样溶液顶空处理后进行色谱分析。

A.7.6　结果计算

A.7.6.1　校准因子f_i

校准因子f_i，按式（A.2）计算：

$$f_i = \frac{m_i \times 50}{m_s \times \left(A_f - A_g\right)} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots \text{（A.2）}$$

式中：

m_i——标准溶液中待测组分（注入顶空瓶中）的质量，单位为毫克（mg）；

m_s——标准溶液中内标物的质量，单位为毫克（mg）；

A_f——标准溶液色谱图中待测组分峰面积与内标物峰面积的比值；

A_g——空白溶液色谱图中待测组分峰面积与内标物峰面积的比值；

50——质量换算系数。

A.7.6.2　待测组分含量

待测组分（二氯甲烷、甲醇、异丙醇、正己烷）的含量w_i，单位为毫克每千克（mg/kg），按式（A.3）计算：

$$w_i = \frac{A_i \times m_0 \times f_i \times 1000}{m \times 50} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots \text{（A.3）}$$

式中：

A_i——试样溶液色谱图中待测组分峰面积与内标物峰面积的比值；

m_0——内标溶液中内标物的质量，单位为毫克（mg）；

f_i——校准因子；

m——试样的质量，单位为克（g）；

1000——质量换算系数；

50——体积换算系数。

由式（A.3）计算得到二氯甲烷的含量为w_2，甲醇、异丙醇、正己烷的含量分别为w_3、w_4、w_5，三者之和即为试样中残留溶剂（甲醇、异丙醇、正己烷总和）的含量。

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算术平均值的2.0 %。