



# 中华人民共和国国家标准

GB ××××—××××

## 食品安全国家标准

### 食品营养强化剂 盐酸氰钴胺

(征求意见稿)

202×-××-×× 发布

202×-××-×× 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 盐酸氰钴胺

### 1 范围

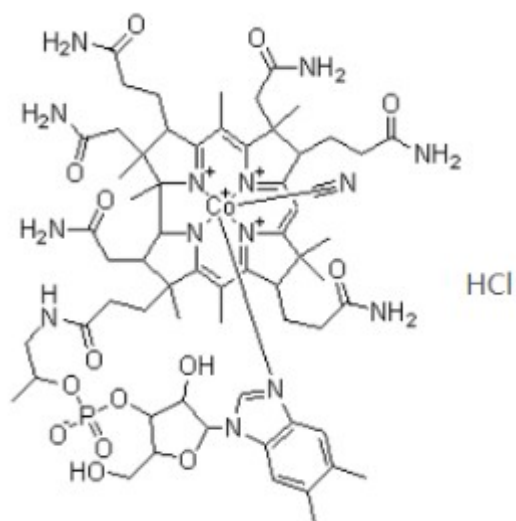
本标准适用于以微生物发酵生成的含钴胺素的发酵液经转化和结晶后得到的氰钴胺为原料或以氰钴胺为原料，经化学合成制得的食品营养强化剂盐酸氰钴胺产品。

### 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

1391.82（按 2018 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	红色	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	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
盐酸氰钴胺含量（以干基计）， w/%	96.0~102.0	附录 A 中 A.4
干燥减量， w/% ≤	12	附录 A 中 A.5
有关物质， w/% ≤	2.0	附录 A 中 A.6
丙酮， w/% ≤	0.5	附录 A 中 A.7
铅(Pb) /mg/kg ≤	1.0	GB 5009.12 或 GB 5009.75
总砷(以 As 计) /mg/kg ≤	1.0	GB 5009.11 或 GB 5009.76

## 附录 A

## 检验方法

## A.1 安全提示（或警示）

本标准的检验方法中使用的部分试剂具有毒性或者腐蚀性，操作时应采取适当的安全和防护措施。

## A.2 一般规定

本标准除另有规定外，所用试剂的纯度应为分析纯，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，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 硫酸氢钾。

A.3.1.2 乙酸钠。

A.3.1.3 盐酸。

A.3.1.4 次磷酸。

A.3.1.5 氟化钠。

A.3.1.6 溴化钾。

A.3.1.7 乙酸。

A.3.1.8 氢氧化钠。

A.3.1.9 1-亚硝基-2-萘酚-3,6-二磺酸钠。

A.3.1.10 硫酸亚铁铵。

A.3.1.11 硫酸。

A.3.1.12 硝酸。

A.3.1.13 硝酸银。

A.3.1.14 氨水。

A.3.1.15 酚酞指示剂：称取0.1g酚酞，用95%的乙醇溶解并定容到100mL。

A.3.1.16 乙酸溶液(1 mol/L)：移取56.6mL乙酸于1L的容量瓶中并用水定容。

A.3.1.17 氢氧化钠溶液(100 g/L)：称取10 g氢氧化钠，加水溶解并定容至100 mL。

A.3.1.18 氢氧化钠溶液(20 g/L)：称取1 g氢氧化钠，加水溶解并定容至50 mL。

A.3.1.19 1-亚硝基-2-萘酚-3,6-二磺酸钠溶液（2 g/L）：称取0.1 g 1-亚硝基-2-萘酚-3,6-二磺酸钠，缓缓加水溶解并定容至50 mL。

A.3.1.20 硫酸亚铁铵饱和溶液：称取42 g六水合硫酸亚铁铵，加水溶解并定容至100 mL。

A.3.1.21 硫酸溶液(1+7)：量取70 mL水，缓缓注入10 mL硫酸，混匀。

A.3.1.22 稀硝酸溶液：量取3.2 mL硝酸，用水稀释至100 mL。

A.3.1.23 硝酸银溶液（0.1mol/L）：称取1.70g硝酸银，加入适量水使之溶解，并稀释至100 mL，混匀，避光保存。

A.3.1.24 稀氨水溶液：量取41mL浓氨水（25%-28%）至100 mL容量瓶，用水稀释定容至刻度。

## A.3.2 仪器和设备

A. 3. 2. 1 电子天平，感量0.0001 g。

A. 3. 2. 2 坩埚。

A. 3. 2. 3 蒸馏装置。

A. 3. 2. 4 紫外-可见分光光度计。

A. 3. 2. 5 红外光谱分析仪。

A. 3. 2. 6 电炉。

### A. 3. 3 鉴别方法

#### A. 3. 3. 1 钴原子鉴别

称取约0.001 g试样，加硫酸氢钾约0.05 g，置坩埚中，灼烧至熔融，放冷，用玻璃棒捣碎，加3 mL水，煮沸使溶解，加酚酞指示剂(A.3.1.15)1滴，混匀，滴加氢氧化钠溶液(A.3.1.17)至显淡红色后，加0.5 g乙酸钠、0.5 mL乙酸溶液(A.3.1.16)和0.5 mL 1-亚硝基-2-萘酚-3,6-二磺酸钠溶液(A.3.1.19)，立即显现红色或橙红色，加盐酸0.5mL，煮沸1分钟，颜色应不消失。

#### A. 3. 3. 2 氰离子鉴别

称取约0.005 g试样于盛有5 mL水的50 mL蒸馏烧瓶中，蒸馏烧瓶连接一个短的、水冷却的垂直冷凝装置，冷凝装置出口端浸入到盛有1 mL氢氧化钠溶液(A.3.1.18)的测试管中。样品溶解于蒸馏烧瓶中后，加入2.5 mL次磷酸，连接好冷凝装置，缓慢加热煮沸10min，收集1 mL蒸馏液于测试管中。测试管中加入4滴硫酸亚铁铵饱和溶液(A.3.1.20)，轻摇，加入0.03 g氟化钠，加热至沸腾，立即加入几滴硫酸溶液(A.3.1.21)至溶液变澄清，再加入3~5滴硫酸溶液，数分钟内溶液变成蓝色至蓝绿色。

#### A. 3. 3. 3 氯离子鉴别

称取约0.04 g试样(约含氯离子1 mg)于离心试管中，加4 mL水使溶解。加0.5 mL稀硝酸溶液(A.3.1.22)使酸化，加入0.4 mL硝酸银溶液(A.3.1.23)，摇匀、静置，应形成白色沉淀。4000 rpm离心5 min，弃去上清液，沉淀用水洗涤三次，每次1 mL，弃去洗涤液，于沉淀中加2 mL水、1.5 mL稀氨水溶液(A.3.1.24)，振摇，沉淀应全部溶解。

#### A. 3. 3. 4 紫外-可见光谱鉴别

准确称取0.025 g试样于1000 mL容量瓶中，用水定容至刻度，采用紫外-可见分光光度计测定，在吸收谱上应出现最大峰278 nm±1 nm、361 nm±1 nm和550 nm±2 nm。361 nm波长处的吸光度与278 nm波长处的吸光度的比值应为1.70~1.90。361 nm波长处的吸光度与550 nm波长处的吸光度的比值应为3.15~3.40。

#### A. 3. 3. 5 红外鉴别

红外光谱分析的测定按GB/T 6040中5.2.2执行，试样的谱图与氰钴胺标准品谱图(见附录B中B.1)比较，两者应基本一致。

### A. 4 盐酸氰钴胺含量

#### A. 4. 1 方法提要

用紫外-可见分光光度计，分别测定361 nm处标准品溶液和试样溶液吸光度值。试样与标准品比较计算试样中氰钴胺的含量，再换算成盐酸氰钴胺含量。

#### A. 4. 2 试剂和材料

A. 4. 2. 1 氰钴胺标准品，纯度98%以上。

A. 4. 2. 2 氰钴胺标准溶液：按纯度折算称取真空干燥后(按干燥减量方法)的氰钴胺标准品0.025 g(精确至0.0001 g)于1000 mL容量瓶中，用水溶解并定容至刻度，混匀得到标准溶液。

### A. 4.3 仪器和设备

A. 4.3.1 电子天平，感量 0.0001 g。

A. 4.3.2 紫外-可见分光光度计。

A. 4.3.3 真空干燥箱。

### A. 4.4 分析步骤

称取 0.025 g (精确至 0.0001 g) 真空干燥后 (按干燥减量方法) 试样于 1000 mL 容量瓶中，用水溶解并定容至刻度，混匀得到试样溶液。将标准溶液和试样溶液分别注入 1 cm 比色皿，以水作参比溶液，用紫外-可见分光光度计在 361 nm 处分别测定标准溶液和试样溶液吸光度值。

### A. 4.5 结果计算

盐酸氰钴胺含量 (以干基计) 的质量分数  $w_1$ ，按式 (A.1) 计算。

$$w_1 = \frac{A_T \times m_S}{A_S \times m_T} \times \frac{1391.82}{1355.38} \times 100\% \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

$A_T$ —盐酸氰钴胺试样溶液吸光度值；

$A_S$ —氰钴胺标准溶液吸光度值；

$m_T$ —盐酸氰钴胺称样量，单位为克(g)；

$m_S$ —氰钴胺标准品称样量，单位为克(g)；

1355.38—氰钴胺分子量；

1391.82—盐酸氰钴胺分子量。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留一位小数。

### A. 4.6 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过算术平均值的 5.0%。

## A. 5 干燥减量

### A. 5.1 方法原理

利用试样中水分及其他挥发性物质的物理性质，在 105℃ 下采用挥发方法测定样品中干燥丧失的水分及其他挥发性物质的重量，通过干燥前后的称量数值计算出干燥减量。

### A. 5.2 仪器和设备

A. 5.2.1 电子天平：感量 0.0001 g。

A. 5.2.2 称量瓶。

A. 5.2.3 真空干燥箱。

### A. 5.3 分析步骤

称取 0.05 g (精确至 0.0001 g) 试样，置于已干燥恒重 (105℃ ± 2℃, 30 min) 的称量瓶中。将试样在称量瓶中均匀铺开。在 105℃ ± 2℃、真空压力低于 2.67 kPa 条件下干燥至恒重。将称量瓶置于干燥器中冷却至室温，称量。

### A. 5.4 结果计算

试样干燥减量的质量分数  $w_2$  按式 (A.2) 计算：

$$w_2 = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100\% \dots\dots\dots (A.2)$$

式中：

$m_1$ —称量瓶和试样的质量，单位为克(g)；

$m_2$ —称量瓶和试样干燥后的质量，单位为克(g)；

$m_0$ —称量瓶的质量，单位为克(g)。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，水分含量 $\geq 1$  g/100 g 时，计算结果保留三位有效数字；水分含量 $< 1$  g/100 g 时，计算结果保留两位有效数字。

### A. 5.5 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过算术平均值的 10%。

## A. 6 有关物质

### A. 6.1 方法原理

试样用流动相溶解后，采用液相色谱仪检测，峰面积比较法定量。

### A. 6.2 试剂和材料

A. 6.2.1 氯胺T。

A. 6.2.2 甲醇：色谱纯。

A. 6.2.3 磷酸氢二钠 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )。

A. 6.2.4 磷酸。

A. 6.2.5 盐酸。

A. 6.2.6 磷酸氢二钠溶液：0.028 mol/L。称取10.03 g磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )，加水溶解并定容至1000 mL。

A. 6.2.7 盐酸溶液：0.05 mol/L。量取4.5 mL盐酸，加水至1000 mL，混匀。

A. 6.2.8 氯胺T溶液：0.1 %。称取0.1 g氯胺T，加水溶解并定容至100 mL。

### A. 6.3 仪器和设备

A. 6.3.1 电子天平：感量0.0001 g。

A. 6.3.2 高效液相色谱仪：配紫外检测器。

### A. 6.4 分析步骤

A. 6.4.1 试样溶液：称取试样0.01 g (精确至0.0001 g)于10 mL容量瓶中，用流动相溶解并定容至刻度，混匀。

A. 6.4.2 对照溶液：准确量取1.0 mL试样溶液于100 mL容量瓶中，用流动相稀释至刻度，混匀。

A. 6.4.3 系统适用性溶液：称取试样0.025 g (精确至0.0001 g)于25 mL容量瓶中，加10 mL水溶解样品，加入5 mL 0.1%氯胺T溶液、0.5 mL 0.05mol/L盐酸溶液，用水稀释至刻度，混匀，静置5分钟。准确量取1mL上述溶液于10 mL容量瓶中，用流动相稀释至刻度，混匀。

A. 6.4.4 灵敏度溶液：准确量取1 mL对照溶液于10 mL容量瓶中，用流动相稀释至刻度，混匀。

### A. 6.5 参考色谱条件

色谱柱： $\text{C}_{18}$ 色谱柱（柱长250mm，内径4.6mm，粒径 $5\mu\text{m}$ ），或其它等效色谱柱。

流动相：取260 mL甲醇和740 mL磷酸氢二钠溶液（A.6.2.6）混匀，用磷酸调节pH值至3.5。

柱温：25℃。

检测器波长：361 nm。

进样量：10 μL。

运行时间：盐酸氰钴胺主峰保留时间的3倍。

#### A. 6. 6 系统适用性试验

采用新制备的溶液，且避免强光照射。按照液相色谱仪操作规程操作，取系统适用性溶液(A.6.4.3)和灵敏度溶液(A.6.4.4)分别注入液相色谱仪中，观察色谱图。

系统适用性溶液中应出现盐酸氰钴胺峰与一个降解产物峰（相对保留时间约为1.4），二者的分离度应大于2.5，灵敏度溶液中主峰的信噪比应大于3。有关物质系统适用性参考色谱图见附录B中图B.2。

#### A. 6. 7 测定

系统适用性合格后再进行试样检测。依次注入试样溶液(A.6.4.1)、对照溶液(A.6.4.2)进行测定。

#### A. 6. 8 结果计算

试样中有关物质的含量  $w_3$ ，按式（A.3）计算：

$$w_3 = \frac{A_1}{A_2 \times 100} \times 100\% \dots\dots\dots (A.3)$$

式中：

$A_1$ —试样溶液除主峰以外的所有杂质峰面积之和。

$A_2$ —对照溶液主峰面积。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留两位小数。

#### A. 6. 9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过其算术平均值的 10%。

### A. 7 丙酮

#### A. 7. 1 方法提要

试样中存在的丙酮在密闭容器中会扩散到气相中,经过一定的时间后可达到气相/液相间浓度的动态平衡,用顶空气相色谱法检测上层气相中丙酮的含量,即可计算出待测试样中丙酮的实际含量。

#### A. 7. 2 试剂和材料

##### A. 7. 2. 1 仪器和设备

A. 7. 2. 1 气相色谱仪：配有氢火焰离子化检测器（FID）和顶空进样器。

A. 7. 2. 2 电子天平：感量0.0001 g。

##### A. 7. 3 参考色谱条件

色谱柱：毛细管柱（柱长60 m，内径0.32 mm，膜厚1.6 μm，固定液为6%氰丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷），或其它等效色谱柱。

载气：氮气（纯度大于99.99%）。

载气流量：1.5 mL/min。

柱温：40℃保持10min后，以20℃/min的速率升温至240℃，保持2min。

进样口温度：140℃。

检测器温度：250℃。

检测器气体流量：空气：400 mL/min；氢气：60 mL/min；尾吹气：25 mL/min。

进样量：1.0 mL。



分流比：1:50。

#### A.7.4 参考顶空条件

顶空瓶平衡温度：80℃。

平衡时间：45 min。

定量环温度：90℃。

传输线温度：100℃。

#### A.7.5 分析步骤

##### A.7.6.1 空白溶液制备

量取5.0 mL水，置于顶空瓶中，迅速压紧瓶盖。

##### A.7.6.2 标准溶液制备

称取0.1 g 丙酮(精确至0.0001g)于已预加80 mL水的100 mL容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀，得到1000 mg/L的丙酮标准储备液。吸取适量的丙酮标准储备液于10 mL容量瓶中，用水配制成10 mg/L、20 mg/L、50 mg/L、100 mg/L、200 mg/L的丙酮标准使用溶液。取上述系列溶液各5.0 mL，分别置于顶空瓶中，迅速压紧瓶盖。

##### A.7.6.3 试样溶液制备

称取0.1 g (精确至0.0001 g)试样于10 mL容量瓶中，用水溶解后定容至刻度，摇匀。移取该溶液5.0 mL置于顶空瓶中，迅速压紧瓶盖，备用。

##### A.7.6.4 测定

在参考条件下 (A.7.3 和 A.7.4)，分别对空白溶液、标准系列溶液和试样溶液进行测定，记录丙酮的峰面积值。标准谱图参见附录 B 中图 B.3。以标准系列溶液色谱图中丙酮的峰面积值为 Y 轴，以对应溶剂浓度(mg/L)为 X 轴，绘制标准曲线，得到丙酮标准曲线。根据试样溶液色谱图中丙酮的峰面积值，从标准曲线求得试样溶液中丙酮的浓度(mg/L)。

#### A.7.6 结果计算

试样中丙酮的含量  $w_4$ ，按式 (A.4) 计算：

$$w_4 = \frac{C \times V}{m \times 10^6} \times 100\% \dots\dots\dots (A.4)$$

式中：

$c$ ——从标准曲线求得的试样溶液中丙酮的浓度，单位为毫克每升(mg/L)。

$V$ ——试样定容体积，单位为毫升(mL)。

$m$ ——试样的质量，单位为克(g)。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值为表示，结果保留三位有效数字。

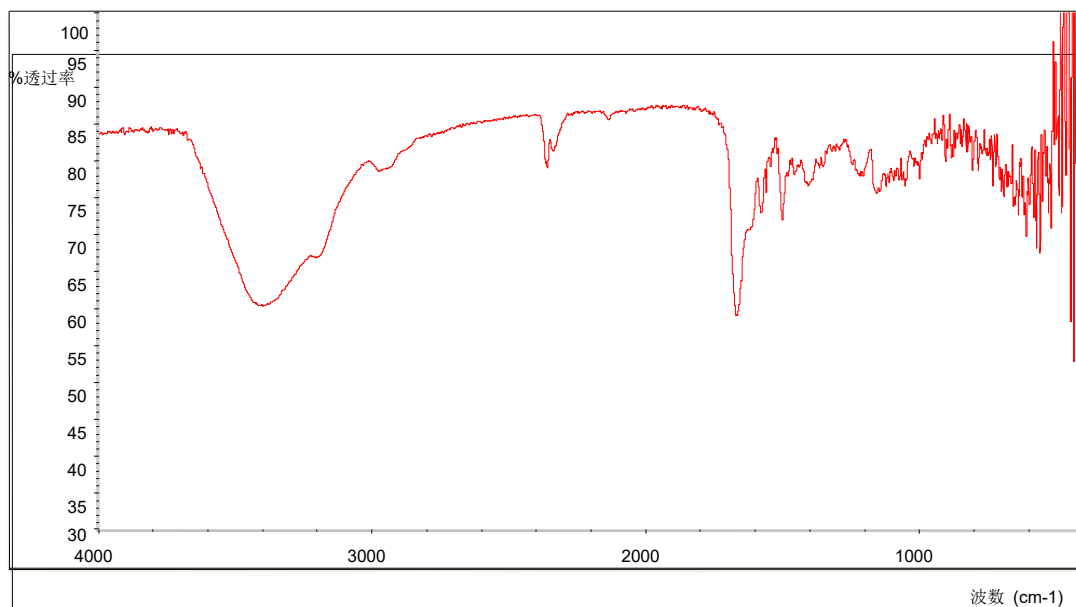
#### A.7.7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过其算术平均值的 10%。

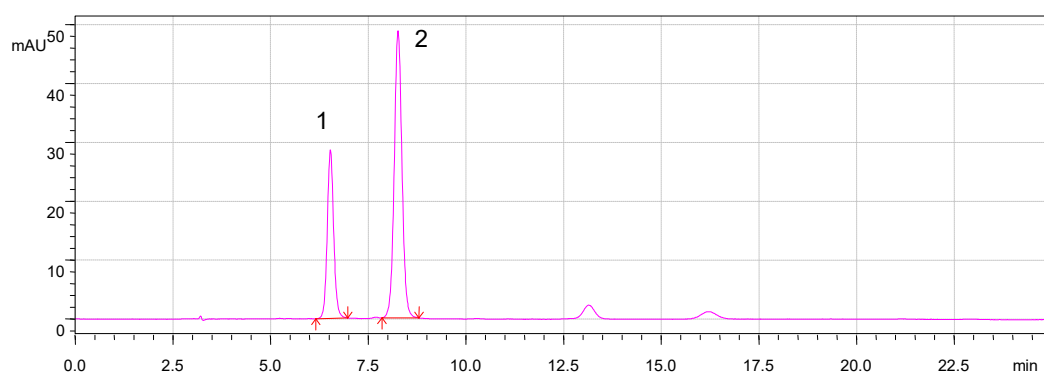
## 附录 B

## 盐酸氰钴胺红外光谱图和色谱图

盐酸氰钴胺红外光谱图见图 B.1，有关物质液相色谱图见图 B.2，丙酮气相色谱图见图 B.3。

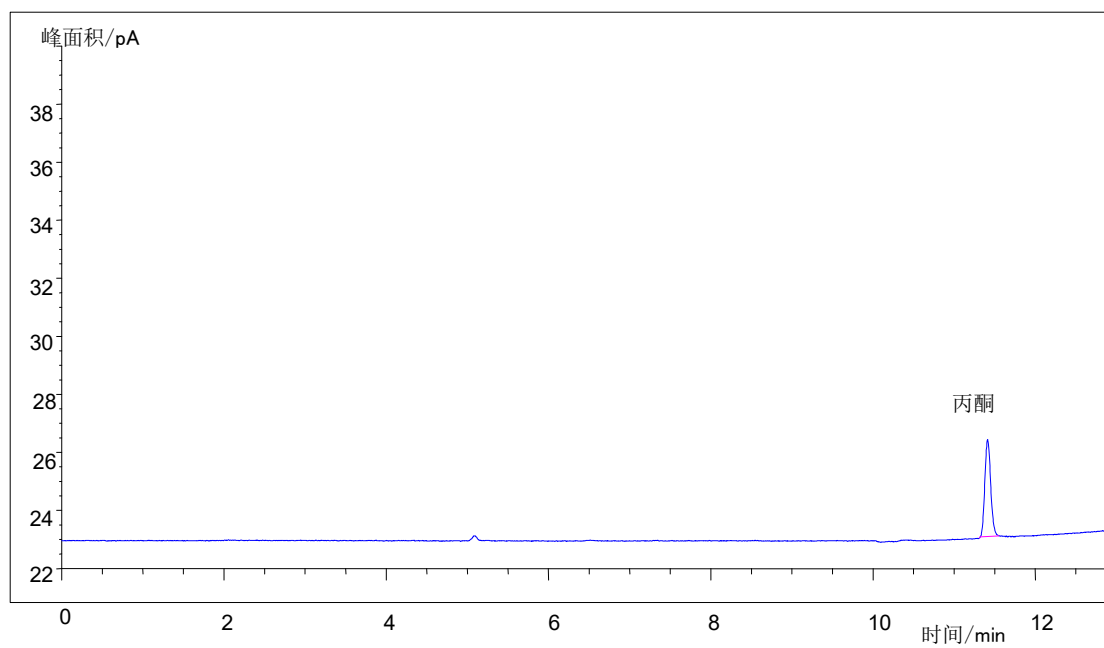


图B.1 盐酸氰钴胺红外光谱图



图B.2 有关物质系统适用性参考色谱图

(1.盐酸氰钴胺; 2.降解产物峰)



图B.3 丙酮参考色谱图（试样加标）