

中华人民共和国国家标准

GB 1903.50—2020

食品安全国家标准

食品营养强化剂 胆钙化醇(维生素 D₃)

2020-09-11 发布

2021-03-11 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 胆钙化醇(维生素 D₃)

1 范围

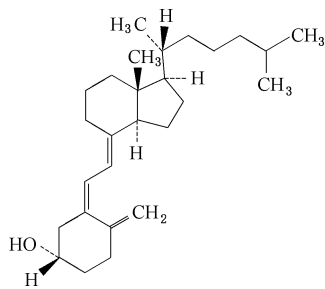
本标准适用于以羊毛脂胆固醇为原料,经化学合成得到 7-脱氢胆固醇,再经紫外线照射、精制等工艺制成的食品营养强化剂胆钙化醇(维生素 D₃)。

2 化学名称、结构式、分子式、相对分子质量

2.1 化学名称

(5Z,7E)-9,10-开环胆甾-5,7,10(19)-三烯-3β-醇

2.2 结构式



2.3 分子式

C₂₇H₄₄O

2.4 相对分子质量

384.64(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	无色或白色	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	无臭，无异味	
状态	针状晶体或结晶性粉末	

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
维生素 D ₃ 含量, $w / \%$	97.0~103.0	附录 A 中 A.3
比旋光度 $\alpha_m (20\text{ }^{\circ}\text{C}, D) / (^{\circ}) \cdot \text{dm}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$	+105.0~+112.0	附录 A 中 A.4
吸收系数 $E_{1\text{ cm}}^{1\%} (265\text{ nm})$	465~495	附录 A 中 A.5
有关物质: 前维生素 D ₃ , 反式维生素 D ₃ , 速甾醇 D ₃ , 7-脱氢胆固醇	除前维生素 D ₃ 峰外, 单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的 0.5 倍; 各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积	附录 A 中 A.6
铅(Pb)/(mg/kg) $\leq$	2.0	GB 5009.75 或 GB 5009.12
总砷(以 As 计)/(mg/kg) $\leq$	2.0	GB 5009.76 或 GB 5009.11
注: 商品化的胆钙化醇(维生素 D ₃)产品应以符合本标准的胆钙化醇(维生素 D ₃)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的规定。		

附 录 A
检 验 方 法

A.1 一般规定

本标准中所用试剂和水在未注明其他要求时,均指分析纯试剂或以上规格和 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 乙酸酐浓硫酸呈色反应

A.2.1.1 试剂和材料

A.2.1.1.1 三氯甲烷。

A.2.1.1.2 乙酸酐。

A.2.1.1.3 硫酸。

A.2.1.2 鉴别方法

称取试样 0.5 mg,加 5 mL 三氯甲烷溶解后,加 0.3 mL 乙酸酐与 0.1 mL 硫酸,振摇,初显黄色,渐变红色,迅即变为紫色、蓝绿色,最后变为绿色。

A.2.2 红外光谱试验

A.2.2.1 试剂和材料

溴化钾。

A.2.2.2 仪器和设备

红外光谱仪。

A.2.2.3 分析步骤

采用溴化钾压片法,按照 GB/T 6040 进行试验,试样的红外光谱应与标准红外光谱图一致。维生素 D₃标准红外光谱图参考附录 B 中图 B.1。

A.3 维生素 D₃含量测定

A.3.1 方法提要

维生素 D₃经溶解、稀释,通过高效液相色谱法测定,外标法计算维生素 D₃含量。

A.3.2 试剂和材料

A.3.2.1 正己烷:色谱纯。

A.3.2.2 正戊醇:色谱纯。

- A.3.2.3 异辛烷:色谱纯。
- A.3.2.4 维生素 D₃标准品:质量分数不小于 98%。
- A.3.2.5 7-脱氢胆固醇标准品:质量分数不小于 98%。
- A.3.2.6 水:符合 GB/T 6682 规定的一级水。

A.3.3 仪器和设备

高效液相色谱仪:配紫外检测器,或其他等效的检测器。

A.3.4 色谱参考条件

推荐的色谱柱及典型色谱操作条件列出如下,其他能达到同等分离程度的色谱柱和色谱条件均可使用。

- A.3.4.1 色谱柱:硅胶色谱柱(柱长 250 mm,柱内径 4.6 mm),或相当者。
- A.3.4.2 流动相:正己烷:正戊醇=997:3。
- A.3.4.3 柱温:35 ℃。
- A.3.4.4 流速:2 mL/min。
- A.3.4.5 进样量:100 μL。
- A.3.4.6 检测波长:254 nm。

A.3.5 分析步骤

A.3.5.1 标准溶液的制备

称取维生素 D₃标准品 25 mg(精确至 0.000 1 g),置 100 mL 棕色容量瓶中,加异辛烷 80 mL,避免加热,超声处理 1 min 使完全溶解,用异辛烷稀释至 100 mL,摇匀,作为储备溶液。量取上述溶液 5.0 mL,置 50 mL 棕色容量瓶中,用异辛烷稀释至刻度,摇匀,作为标准溶液。

A.3.5.2 系统适用性试验

量取维生素 D₃储备溶液(A.3.5.1)5.0 mL,置具塞玻璃瓶中,通氮后密塞,置 90 ℃水浴加热 1 h,取出迅速冷却,加正己烷 5.0 mL,摇匀,置 1 cm 具塞石英吸收池中,在 2 支 8 W 主波长分别为 254 nm 和 365 nm 的紫外光灯下,将石英吸收池斜放成 45°,并距灯管 5 cm~6 cm,照射 5 min,使溶液中含有维生素 D₃、前维生素 D₃、反式维生素 D₃和速甾醇 D₃。量取该溶液注入液相色谱仪,色谱条件参考 A.3.4。进样 5 次,记录峰面积。计算维生素 D₃峰面积相对标准偏差不大于 2.0%;前维生素 D₃峰与反式维生素 D₃峰以及维生素 D₃峰与速甾醇 D₃峰的分度均应大于 1.0。前维生素 D₃、反式维生素 D₃、速甾醇 D₃与维生素 D₃相对保留时间分别约为 0.5、0.6、1.1。在 A.3.4 色谱条件下分析,参考色谱图见图 C.1。

称取 7-脱氢胆固醇标准品 25 mg,按照标准溶液(A.3.5.1)配制方法配制 7-脱氢胆固醇标准溶液,量取维生素 D₃标准溶液(A.3.5.1)和 7-脱氢胆固醇标准溶液各 2 mL,制备混合标准溶液。量取该溶液注入液相色谱仪,色谱条件参考 A.3.4。进样 5 次,记录峰面积。计算维生素 D₃峰面积相对标准偏差不大于 2.0%;维生素 D₃峰与 7-脱氢胆固醇峰的分度均应大于 1.0,7-脱氢胆固醇与维生素 D₃的相对保留时间约为 1.5。在 A.3.4 色谱条件下分析,参考色谱图见图 C.2。

A.3.5.3 试样溶液的制备

称取维生素 D₃试样 25 mg(精确至 0.000 1 g),置 100 mL 棕色容量瓶,加异辛烷 80 mL,避免加热,超声处理 1 min 使完全溶解,用异辛烷稀释至刻度,摇匀。精密量取上述溶液 5.0 mL,置 50 mL 棕色容量瓶中,用异辛烷稀释至刻度,摇匀,此溶液作为试样溶液。

A.3.5.4 测定

在 A.3.4 色谱条件下,分别对维生素 D₃标准溶液(A.3.5.1)和试样溶液(A.3.5.3)进行色谱分析。记录标准溶液和试样溶液色谱图中维生素 D₃峰面积,将相应的值分别记作 A₁和 A₂。按式(A.1)计算出试样中维生素 D₃的含量。

A.3.6 结果计算

试样中维生素 D₃含量的质量分数 w ,数值以 %表示,按式(A.1)计算:

$$w = \frac{A_2}{A_1} \times 100\% \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

A₁——标准溶液色谱图中维生素 D₃的峰面积值;

A₂——试样溶液色谱图中维生素 D₃的峰面积值。

结果计算以两次平行测定结果的算术平均值为准。在重复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 比旋光度的测定

A.4.1 试剂和材料

无水乙醇。

A.4.2 仪器和设备

旋光仪。

A.4.3 测定

称取试样 0.5 g(精确至 0.000 1 g)。加入无水乙醇充分溶解并定容至 100 mL,制成每 1.0 mL 中约含 5.0 mg 试样的溶液。其他按 GB/T 613 规定的方法进行。

注:在溶液配制后 30 min 内测定完毕。

A.4.4 结果计算

比旋光度 $\alpha_m(20\text{ }^{\circ}\text{C},D)$,数值以(°)·dm²·kg⁻¹表示,按式(A.2)计算:

$$\alpha_m(20\text{ }^{\circ}\text{C},D) = \frac{\alpha}{l \times \rho_a} \dots\dots\dots (A.2)$$

式中:

α ——测得的旋光度,单位为度(°);

l ——测定管的长度,单位为分米(dm);

ρ_a ——溶液中维生素 D₃的质量浓度,单位为克每毫升(g/mL)。

试样的比旋光值以两次平行测定结果的算术平均值为准。在重复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.5 吸收系数的测定

A.5.1 试剂和材料

无水乙醇。

A.5.2 仪器和设备

紫外-可见分光光度计。

A.5.3 分析步骤

称取试样 0.01 g(精确至 0.000 1 g),加入无水乙醇溶解并稀释定容至 100 mL,摇匀作为储备液。再取 10 mL 储备液稀释定容至 100 mL,制成每 1.0 mL 中约含 10 μg 样品的溶液。取此试样溶液于 1 cm 比色皿,以无水乙醇做空白对照,用分光光度计在 265 nm 波长处测定其吸光度。

A.5.4 结果计算

吸收系数 $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ (265 nm),按式(A.3)计算:

$$E_{1\text{ cm}}^{1\%} (265\text{ nm}) = \frac{A}{c} \dots\dots\dots (A.3)$$

式中:

- A ——试样溶液的吸光度的数值;
- c ——试样溶液的质量分数,%。

试样溶液的吸光度值以两次平行测定结果的算术平均值为准。在重复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.6 有关物质

A.6.1 试剂和材料

同 A.3.2。

A.6.2 仪器和设备

同 A.3.3。

A.6.3 色谱参考条件

同 A.3.4。

A.6.4 分析步骤

A.6.4.1 试样溶液的制备

称取维生素 D₃ 试样 25 mg(精确至 0.000 1 g),置 100 mL 棕色容量瓶中,加异辛烷 80 mL,避免加热,超声处理 1 min 使完全溶解,用异辛烷稀释至 100 mL,摇匀,作为试样溶液。精密量取 1 mL 上述溶液,置 100 mL 棕色容量瓶中,用异辛烷稀释至刻度,摇匀,作为对照溶液。

A.6.4.2 系统适用性试验

同 A.3.5.1、A.3.5.2。

A.6.4.3 测定

在 A.3.4 色谱条件下,分别对试样溶液(A.6.4.1)和对照溶液(A.6.4.1)进行色谱分析。记录试样溶液和对照溶液色谱图峰面积,高效液相参考色谱图见图 C.3。

A.6.4.4 结果计算

试样溶液中除前维生素 D₃峰外,单个杂质峰面积与对照溶液主峰面积比值为 X_i ,按式(A.4)计算。
各杂质峰面积的和与对照溶液主峰面积比值为 X ,按式(A.5)计算:

$$X_i = \frac{A_i}{A_3} \dots\dots\dots (A.4)$$

$$X = \frac{A_a + A_b + A_c + A_d}{A_3} \dots\dots\dots (A.5)$$

式中:

$i=b、c、d$ (分别代表试样溶液中反式维生素 D₃、速甾醇 D₃、7-脱氢胆固醇);

A_a ——试样溶液中前维生素 D₃峰面积值;

A_b ——试样溶液中反式维生素 D₃峰面积值;

A_c ——试样溶液中速甾醇 D₃峰面积值;

A_d ——试样溶液中 7-脱氢胆固醇峰面积值;

A_3 ——对照溶液主峰峰面积值。

附 录 B
维生素 D₃ 标准红外光谱图

维生素 D₃ 标准红外光谱图见图 B.1。

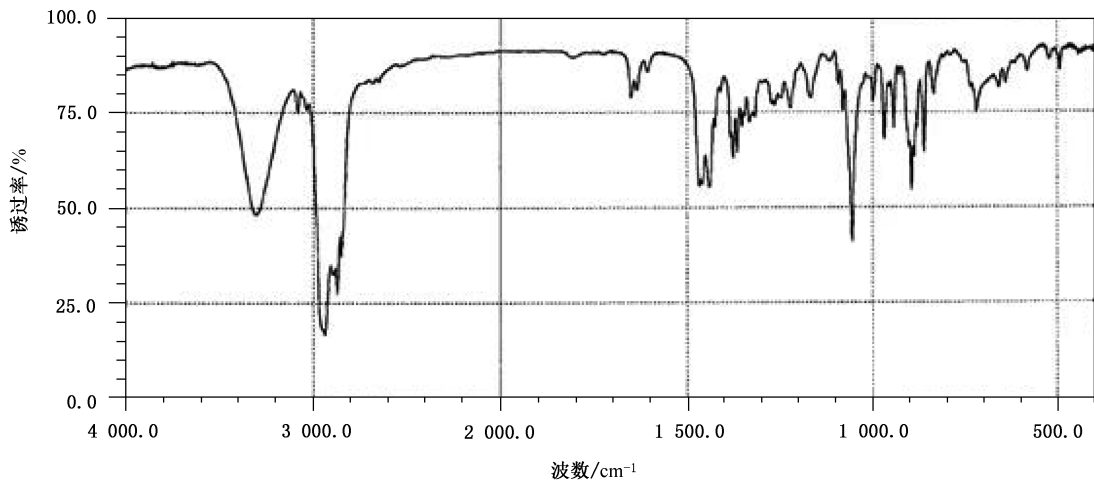
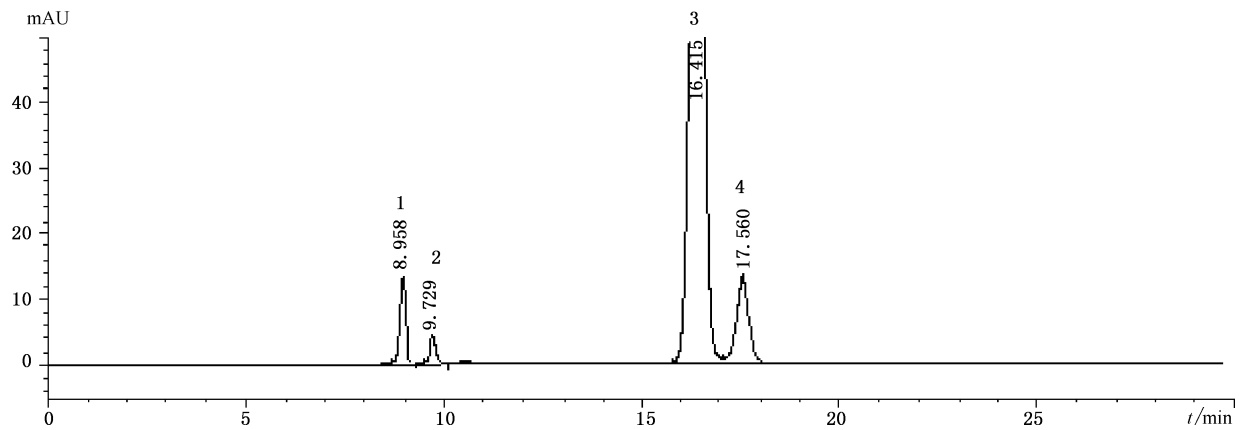


图 B.1 维生素 D₃ 标准红外光谱图

附 录 C

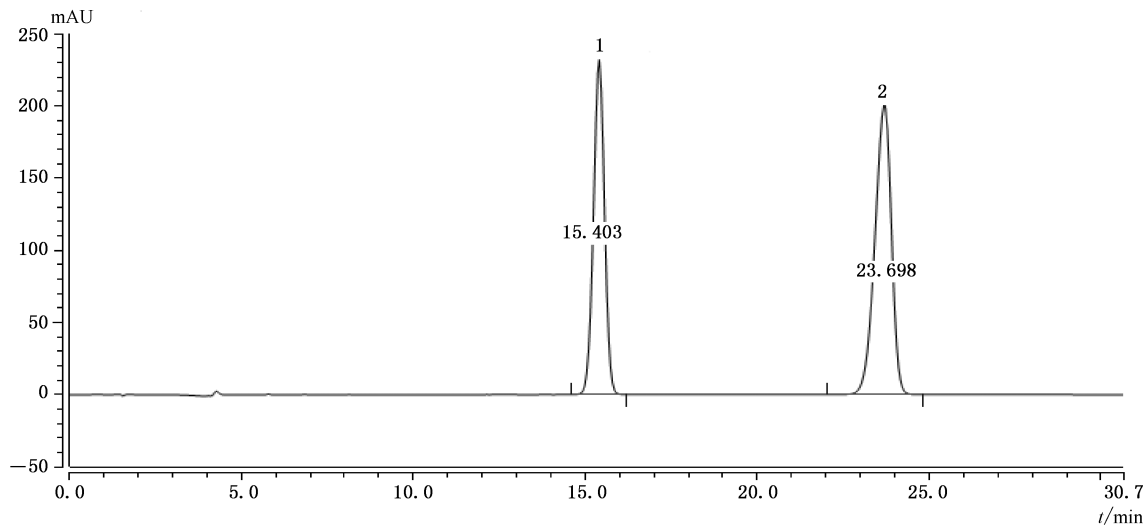
维生素 D₃及相关物质高效液相参考色谱图

维生素 D₃及相关物质高效液相参考色谱图见图 C.1、图 C.2、图 C.3。



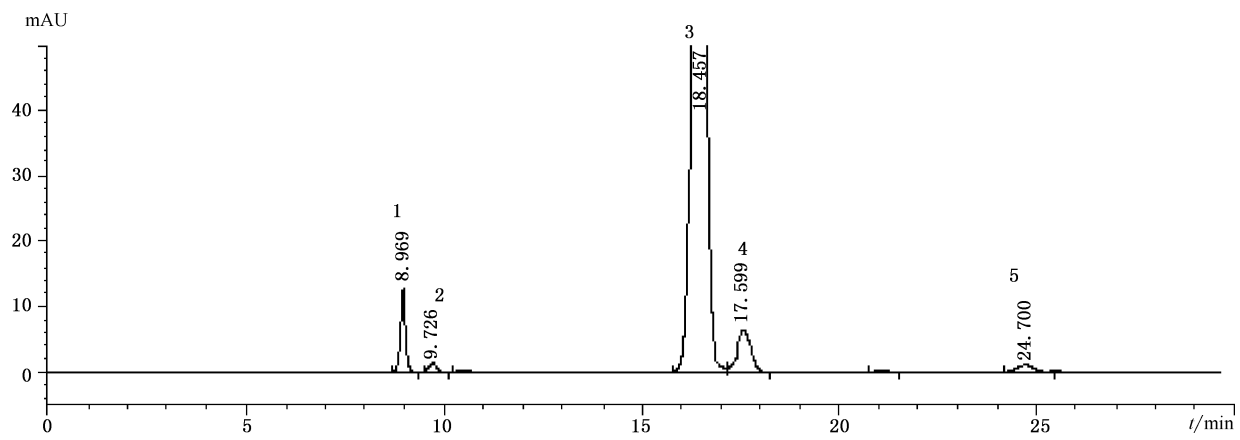
说明:1——前维生素 D₃;2——反式维生素 D₃;3——维生素 D₃;4——速甾醇 D₃。

图 C.1 维生素 D₃、前维生素 D₃、反式维生素 D₃和速甾醇 D₃高效液相参考色谱图



说明:1——维生素 D₃;2——7-脱氢胆固醇。

图 C.2 维生素 D₃和 7-脱氢胆固醇高效液相参考色谱图



说明:1——前维生素 D₃;2——反式维生素 D₃;3——维生素 D₃;4——速留醇 D₃;5——7-脱氢胆固醇。

图 C.3 维生素 D₃及相关物质高效液相参考色谱图
