

中华人民共和国国家标准

GB 1903.67—2024

食品安全国家标准

食品营养强化剂 植物甲萘醌(维生素 K₁)

2024-02-08 发布

2024-08-08 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 植物甲萘醌(维生素 K₁)

1 范围

本标准适用于以甲萘醌或甲萘氢醌单醋酸酯和植物醇(包括天然植物醇和异植物醇)为主要原料,经化学合成而制得的食品营养强化剂植物甲萘醌(维生素 K₁)。

2 化学名称、分子式、结构式和相对分子质量

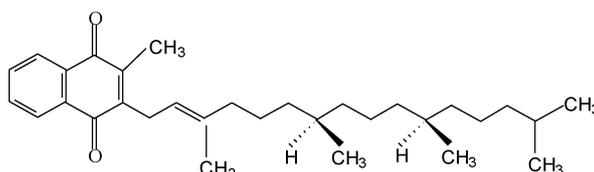
2.1 化学名称

2-甲基-3-(3,7,11,15-四甲基十六-2-烯基)-1,4-萘醌的反式和顺式异构体的混合物

2.2 分子式

C₃₁H₄₆O₂

2.3 结构式



2.4 相对分子质量

450.71(按 2022 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	黄色至橙色	取适量试样,均匀置于清洁、干燥的白瓷盘或透明烧杯中,在自然光下,观察其色泽和状态,嗅其气味
气味	无臭或几乎无臭	
状态	黏稠液体,澄清	

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
含量	总植物甲萘醌, $w/\%$	97.0~103.0	附录 A 中 A.3
	顺式植物甲萘醌, $\%$ \leq	18.0	
紫外吸光度比值(A_{254nm}/A_{249nm})		0.70~0.75	附录 A 中 A.4
折光率, n_D^{20}		1.525~1.528	GB/T 614
甲萘醌, $w/\%$ \leq		0.2	附录 A 中 A.5
铅(Pb)/(mg/kg) \leq		2.0	GB 5009.75 或 GB 5009.12
重金属(以 Pb 计)/(mg/kg) \leq		20	GB 5009.74
砷(以 As 计)/(mg/kg) \leq		2.0	GB 5009.76 或 GB 5009.11
总有机溶剂残留(正己烷、甲苯、甲醇、丙酮和正庚烷之和)/(mg/kg) \leq		250	附录 A 中 A.6
正己烷/(mg/kg) \leq		50	
甲苯/(mg/kg) \leq		50	
甲醇/(mg/kg) \leq		50	
<p>注 1: 商品化的植物甲萘醌产品应以符合本标准的植物甲萘醌为原料, 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。</p> <p>注 2: 生产溶剂为石油醚、正己烷、甲苯、甲醇、丙酮和正庚烷。</p>			

附录 A 检验方法

A.1 一般规定

本标准所用试剂和水,除特别说明,均指分析纯试剂和 GB/T 6682 中规定的三级水及以上试验用水。试验中所用标准溶液、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。除另有规定外,吸收峰波长应在该品种项下规定的波长 ± 2 nm 以内,并以吸光度最大的波长作为测定波长。一般试样溶液的吸光度读数以 0.3~0.7 为宜。

A.2 鉴别试验

A.2.1 显色反应

A.2.1.1 试剂和材料

A.2.1.1.1 甲醇。

A.2.1.1.2 氢氧化钾。

A.2.1.1.3 5%氢氧化钾-甲醇溶液:称取 5.0 g 氢氧化钾,置于烧杯中,加 100 mL 甲醇使其溶解,密闭避光放置过夜,取上部澄清液使用。溶液变黄褐色应重新配制。

A.2.1.2 分析步骤

取试样 1 滴,置于比色管中,先加 10 mL 甲醇,再加 1 mL 5%氢氧化钾-甲醇溶液,振摇,溶液应显绿色。置于沸水浴中应显深紫色,随后变为红棕色。

A.2.2 红外吸收光谱

采用 ATR 法或膜法,按照 GB/T 6040 进行试验,试样的红外光谱应与对照图谱一致,对照图谱见附录 B 中图 B.1。

A.2.3 紫外吸收峰

A.2.3.1 试剂和材料

异辛烷。

A.2.3.2 仪器和设备

A.2.3.2.1 紫外分光光度计。

A.2.3.2.2 电子天平,感量 0.000 1 g。

A.2.3.3 试样溶液的制备

称取 0.025 g(精确至 0.000 1 g)试样,用异辛烷溶解并定容至 50 mL,摇匀。吸取溶液 1 mL,用异辛烷溶解并定容至 50 mL,摇匀,作为试样溶液备用。

A.2.3.4 分析步骤

将试样溶液(A.2.3.3)注入 1 cm 石英比色皿,以异辛烷为参比溶液,测定试样溶液的吸光度,在

243 nm、249 nm、261 nm 和 270 nm 波长处应有最大吸收,在 228 nm、246 nm、254 nm 和 266 nm 波长处应有最小吸收。

A.3 总植物甲萘醌和顺式植物甲萘醌含量的测定

A.3.1 方法提要

试样用流动相溶解,硅胶柱分离,二极管阵列检测器或紫外检测器检测,内标法计算总植物甲萘醌含量,面积百分比法计算顺式植物甲萘醌含量。

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 标准物质:植物甲萘醌(维生素 K₁)(C₃₁H₄₆O₂,CAS 号:81818-54-4)的质量分数≥99%,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

A.3.2.4 苯甲酸胆甾酯(C₃₄H₅₀O₂,CAS 号:604-32-0)。

A.3.3 仪器和设备

A.3.3.1 液相色谱仪:配有二极管阵列检测器或紫外检测器。

A.3.3.2 电子天平:感量 0.000 1 g。

A.3.3.3 参考色谱条件如下。

- a) 色谱柱:多孔二氧化硅(硅胶)微粒填料的色谱柱(250 mm×4.6 mm,粒径 5 μm),或其他等效色谱柱。
- b) 检测器波长:254 nm。
- c) 柱温:30 ℃。
- d) 流动相:正己烷+正戊醇=800+1(V+V)。
- e) 流速:1.0 mL/min。
- f) 进样量:50 μL。

A.3.4 分析步骤

A.3.4.1 标准溶液的制备

内标溶液:称取适量苯甲酸胆甾酯,用流动相溶解,配制成浓度约为 2.5 mg/mL 的溶液,摇匀,备用。

标准溶液:称取约 100 mg 植物甲萘醌标准物质(精确至 0.000 1 g),置于 10 mL 棕色容量瓶中,用流动相溶解并定容,作为标准储备液。临用时用流动相稀释成浓度约为 0.1 mg/mL 的标准溶液,准确吸取 10 mL 标准溶液和 7 mL 内标溶液,移入 25 mL 棕色容量瓶中,用流动相定容至刻度,摇匀,即为标准工作溶液。

A.3.4.2 试样溶液的制备

称取一定量(精确至 0.000 1 g)试样,置于棕色容量瓶中,用流动相定容,摇匀,使植物甲萘醌含量约为 0.1 mg/mL。准确吸取 10 mL 置于 25 mL 棕色容量瓶中,再加入 7 mL 内标溶液,用流动相定容至刻度,摇匀,即为试样溶液。色谱分析前用 0.45 μm 微孔滤膜过滤。

A.3.4.3 测定

在 A.3.3.3 参考色谱条件下,吸取试样溶液和标准工作溶液分别注入液相色谱仪,记录所得的试样

溶液和标准工作溶液中内标物质峰面积和植物甲萘醌的峰面积。顺式植物甲萘醌与反式植物甲萘醌的分离度至少为 1.5。液相色谱图见图 B.2。

A.3.5 结果计算

A.3.5.1 试样中总植物甲萘醌含量计算

试样中总植物甲萘醌的质量分数 C_x ，数值以 % 表示，按式(A.1)计算：

$$C_x = \frac{\frac{A_s}{C_s}}{\frac{A_R}{C_R}} \times \frac{A_x}{A'_s} \times \frac{V}{m} \times \frac{100}{1\ 000} \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

- A_s —— 标准工作溶液中内标物质峰面积；
- C_s —— 标准工作溶液中内标物质含量，单位为毫克每毫升(mg/mL)；
- A_R —— 标准工作溶液中总植物甲萘醌峰面积；
- C_R —— 标准工作溶液中总植物甲萘醌的含量，单位为毫克每毫升(mg/mL)；
- A_x —— 试样溶液中的总植物甲萘醌峰面积；
- A'_s —— 试样溶液中内标物质峰面积；
- C'_s —— 试样溶液中内标物质含量，单位为毫克每毫升(mg/mL)；
- V —— 试样的定容体积，单位为毫升(mL)；
- m —— 试样的质量，单位为克(g)；
- 100 —— 换算系数(将结果转换为%)；
- 1 000 —— 换算系数(将毫克转换为克)。

A.3.5.2 试样中顺式植物甲萘醌含量计算

试样中顺式植物甲萘醌的含量 C_z ，数值以 % 表示，按式(A.2)计算：

$$C_z = \frac{A_z}{A_z + A_E} \times 100 \dots\dots\dots (A.2)$$

式中：

- A_z —— 试样中顺式植物甲萘醌峰面积；
- A_E —— 试样中反式植物甲萘醌峰面积。

试验结果以两次平行测定结果的算术平均值表示。结果保留到小数点后 1 位。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%。

A.4 紫外吸光度比值的测定

A.4.1 方法提要

以异辛烷为参比溶液，测定植物甲萘醌溶液在波长 254 nm、249 nm 处的吸光度，计算其紫外吸光度比值。

A.4.2 分析步骤

将试样溶液(A.2.3.3)注入 1 cm 石英比色皿，以异辛烷为参比溶液，分别测定在波长 254 nm、249 nm 处的吸光度。

A.4.3 结果计算

紫外吸光度比值 X 按式(A.3)计算:

$$X = \frac{A_{254}}{A_{249}} \dots\dots\dots (A.3)$$

式中:

A_{254} ——试样溶液在 254 nm 处测得的吸光度;

A_{249} ——试样溶液在 249 nm 处测得的吸光度。

试验结果以两次平行测定结果的算术平均值表示。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%。

A.5 甲萘醌限量

A.5.1 试剂和材料

A.5.1.1 氰基乙酸乙酯。

A.5.1.2 异辛烷。

A.5.1.3 氨水-乙醇溶液:1+1(体积比)。

A.5.1.4 甲萘醌对照溶液(20 $\mu\text{g}/\text{mL}$):称取 0.20 g(精确至 0.01 g)甲萘醌,用异辛烷定容至 100 mL,吸取 1 mL,用异辛烷定容至 100 mL,即为甲萘醌对照品溶液。

A.5.2 仪器和设备

电子天平,感量 0.000 1 g。

A.5.3 分析步骤

精确称取 0.02 g(精确至 0.000 1 g)试样,置于 10 mL 比色管中,加 2 mL 异辛烷,溶解,作为试样溶液。依次加入 1 mL 氨水-乙醇溶液及 2 滴氰基乙酸乙酯,缓缓振摇,放置备用。

对照品溶液:量取 2 mL 甲萘醌对照品溶液,置于 10 mL 比色管中,与试样溶液同样处理。

A.5.4 结果判定

试样溶液下层蓝紫色应不深于对照品溶液,即甲萘醌含量 $\leq 0.2\%$ 。

A.6 溶剂残留量的测定

A.6.1 方法提要

在一定温度条件下,顶空瓶内试样中挥发性组分向液上空间挥发,在气液两相达到热力学动态平衡后,挥发性组分在气相中的浓度与其在液相中的浓度成正比。吸取上层气体进气相色谱分析,氢火焰离子化检测器检测,外标法定量。

A.6.2 试剂和材料

A.6.2.1 标准物质:甲醇(CAS 号:67-56-1,质量分数 $\geq 99\%$)、丙酮(CAS 号:67-64-1,质量分数 $\geq 99\%$)、正己烷(CAS 号:110-54-3,质量分数 $\geq 98\%$)、正庚烷(CAS 号:142-82-5,质量分数 $\geq 99\%$)、甲苯(CAS 号:108-88-3,质量分数 $\geq 99\%$),也可使用经国家认证并授予标准物质证书的溶剂残留检测用标准物质。

A.6.2.2 *N*-甲基吡咯烷酮(使用前应检查溶剂中不含有待测组分)。

A.6.2.3 标准溶液的配制:准确称取各待测组分标准物质 0.1 g(精确至 0.000 1 g),用 *N*-甲基吡咯烷酮定容至 10.0 mL,配制成浓度为 10.0 mg/mL 标准储备液。用 *N*-甲基吡咯烷酮将标准储备液稀释成浓度为 5.0 μg/mL、10.0 μg/mL、20.0 μg/mL、50.0 μg/mL、100.0 μg/mL 和 200.0 μg/mL 的系列混合标准溶液,摇匀。

A.6.3 仪器和设备

A.6.3.1 气相色谱仪:配备氢火焰离子化检测器(FID)和顶空进样系统。

A.6.3.2 电子天平:感量 0.000 1g。

A.6.4 参考仪器条件

A.6.4.1 色谱柱:含有 6% 氰丙基苯基、94% 聚二甲基硅氧烷固定相的石英毛细管柱(ϕ 0.32 mm × 60 m,膜厚 1.8 μm),或同等性能的色谱柱。

A.6.4.2 载气:氮气。

A.6.4.3 载气流速:2.0 mL/min。

A.6.4.4 升温程序:40 °C 保持 3 min,以 2 °C/min 升温至 70 °C,以 8 °C/min 升温至 170 °C 保持 3 min,以 30 °C/min 升温至 240 °C,保持 3 min。

A.6.4.5 进样口温度:200 °C。

A.6.4.6 检测器温度:300 °C。

A.6.4.7 进样量:1.0 mL。

A.6.4.8 分流比:5 : 1。

A.6.4.9 顶空瓶加热温度:80 °C。

A.6.4.10 顶空瓶加热时间:30 min。

A.6.4.11 定量环温度:100 °C。

A.6.4.12 传输线温度:120 °C。

A.6.5 分析步骤

A.6.5.1 标准工作液的制备

分别量取 5.0 mL *N*-甲基吡咯烷酮和 0.5 mL 系列混合标准溶液,移入顶空瓶中,封盖,混匀。此时顶空瓶内含有各待测组分的量分别为 2.5 μg、5.0 μg、10.0 μg、25.0 μg、50.0 μg 和 100.0 μg。

A.6.5.2 试样溶液的制备

称取 0.5 g(±0.01 g)试样(精确至 0.000 1 g),置于顶空瓶中,加入 5.0 mL *N*-甲基吡咯烷酮,封盖,混匀。

A.6.5.3 测定

在参考顶空进样条件和色谱条件下,分别对标准溶液和试样溶液顶空处理后进行色谱分析。以各待测组分峰面积为纵坐标,以顶空瓶中各待测组分含量为横坐标,绘制标准曲线,计算试样中溶剂残留量。气相色谱图见图 B.3。

A.6.6 结果计算

试样中待测组分的含量 w_i ,单位为毫克每千克(mg/kg),按式(A.4)计算:

$$w_i = \frac{c_i}{m} \times \frac{1\ 000}{1\ 000} \dots\dots\dots(A.4)$$

式中：

c_i ——由标准曲线求得的试样中各待测组分含量，单位为微克(μg)；

m ——试样的质量，单位为克(g)。

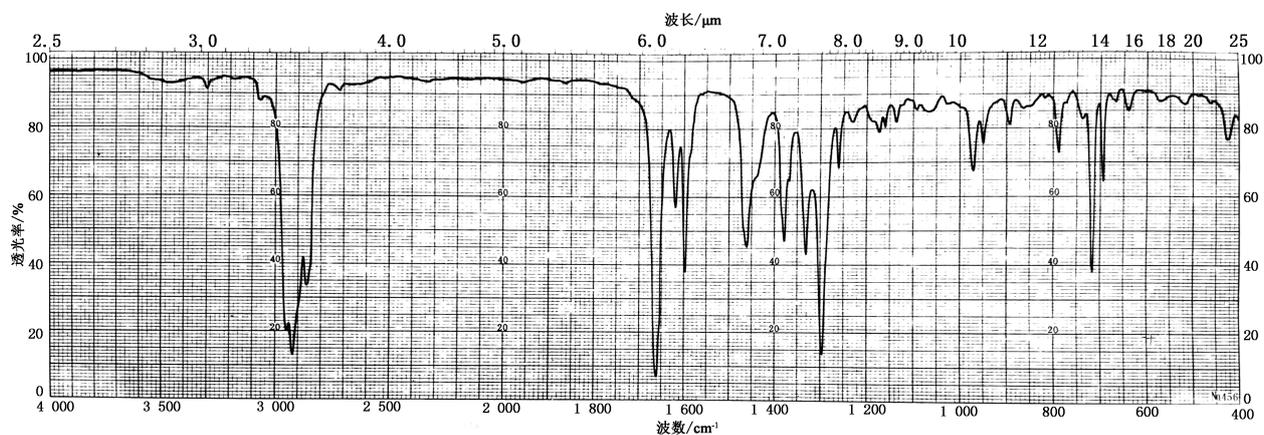
由式(A.4)计算得到甲醇、丙酮、正己烷、正庚烷、甲苯的含量之和即为试样中溶剂残留的含量。

本方法甲醇、丙酮、正己烷、正庚烷、甲苯的检出限为 2.0 mg/kg，定量限为 5.0 mg/kg。

试验结果以两次平行测定结果的平均值计。结果保留 3 位有效数字。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 15%。

附录 B 植物甲萘醌相关图谱

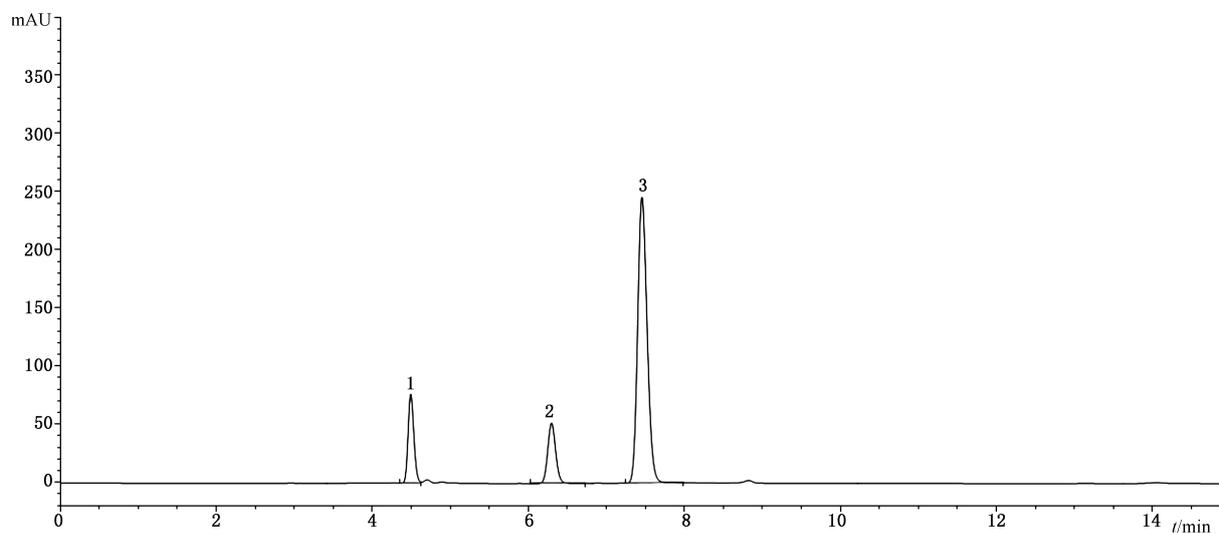
B.1 植物甲萘醌红外吸收图谱见图 B.1。



注：引自《药品红外光谱集》第一卷(一九九五)。

图 B.1 植物甲萘醌红外吸收图谱

B.2 含量测定液相色谱图见图 B.2。

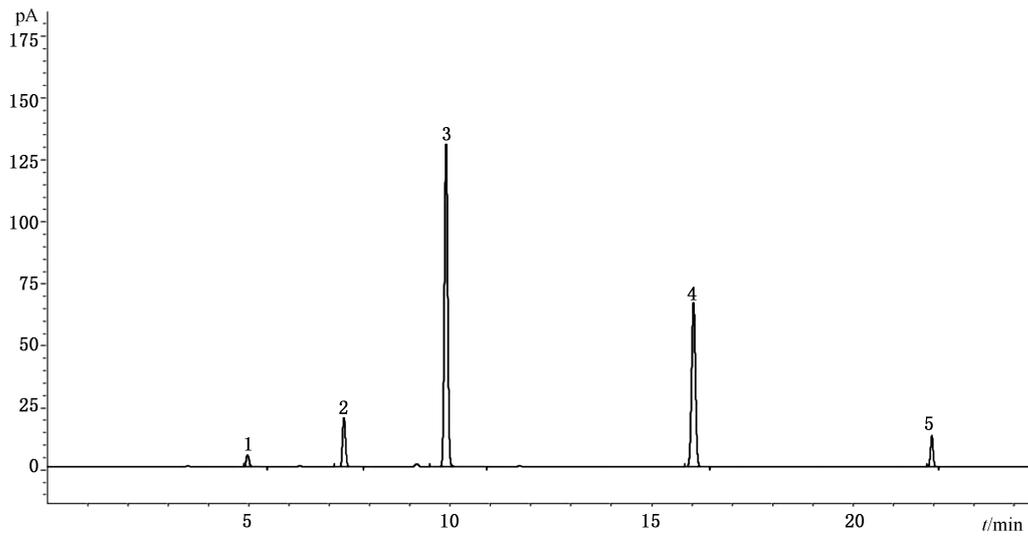


标引序号说明：

- 1——内标物；
- 2——顺式植物甲萘醌；
- 3——反式植物甲萘醌。

图 B.2 含量测定液相色谱图

B.3 溶剂残留量测定气相色谱图见图 B.3。



标引序号说明：

- 1——甲醇；
- 2——丙酮；
- 3——正己烷；
- 4——正庚烷；
- 5——甲苯。

图 B.3 溶剂残留量测定气相色谱图