

《食品安全国家标准 食品中叶酸的测定》（征求意见稿）编制说明

一、标准起草基本情况

本标准制定任务来源于国家卫生健康委员会（原国家卫生和计划生育委员会）委托制定的食品安全国家标准项目，由山东省食品药品检验研究院和中国疾病预防控制中心营养所负责修订 SPAQ-2017-065《食品安全国家标准 食品中叶酸的测定》。2017年11月8日收到正式通知，2017年11月16日在北京召开2017年食品安全国家标准项目启动会，启动会后项目组正式协调成立，在广泛调查研究和讨论的基础上，起草了本标准，并邀请三家以上专业技术机构进行方法标准实验室间验证工作。2018年12月在方法验证的基础上，形成讨论稿，并通过信函的方式向有关机构和专家广泛征求意见，期间未收到重大分歧意见，经整理归纳后，形成送审稿。2019年9月3日-9月5日，第二届食品安全国家标准审评委员会理化检验方法与规程专业委员会、微生物检验方法与规程专业委员会第一次会议审查通过。

二、标准的主要技术内容

本标准中试管法适用于食品中叶酸的测定，微孔板法适用于添加了叶酸的食品中叶酸的测定。相较于GB 5009.211-2014，进行样品前处理后，在保留原试管法的基础上，缩小反应体系，增加微孔板法，使用酶标仪进行反应液浊度的测定。

天然叶酸在自然界中有几种存在形式，其母体化合物是由喋啶、对氨基苯甲酸结合成蝶酸，再与一个或多个谷氨酸结合成蝶酰谷氨酸盐。蝶酰单谷氨酸（PteGlu），是可被吸收利用的最简单叶酸形式，也是营养添加剂的主要形式，有多种衍生形式；蝶酰多谷氨酸盐（PteGlu_n）是天然食物中存在的主要形式，英文 folate, folacin 常用于描述蝶酰谷氨酸盐或酯。从营养学概念上，folic acid, folate, folacin 多可通用，中文统称为叶酸。由于液相色谱-质谱等化学分析方法仅可对单一组分进行测定，当前尚没有建立好有效的样品前处理方法，故不适用于混合形式叶酸的测定。

本标准对接种液的制备、培养基的选择、微孔板法的反应时间、标准曲线范围等方面内容进行了叶酸测定的相关实验，确定了市售测定培养基和微孔板法的适用性。最终确定每10 mL 叶酸测定培养基中加入菌种接种液40 μL，在叶酸浓度为0.005~0.1 ng/mL 范围内，培养时间32~40h，使用微孔板法测定添加了叶酸的食品中叶酸含量时，对应关系良好。以无外源叶酸添加的乳粉为基质，进行加标回收率测定，实验平均加标回收率为97.3~118.5%，相对标准偏差为3.45%~5.85%。

在一定生长条件下，*Lactobacillus rhamnosus* 的生长速度与溶液中叶酸的含量存在正相关。通过对不同浓度叶酸标准溶液的测定，推测微生物法的检出限。标准曲线中叶酸可被确认检出的最低浓度为0.005 ng/mL。据此推算，称样量为1g，计算最低稀释度为1倍，方法的检出限为0.5 μg/100g，定量限为1.0 μg/100g，与试管法测定检出限相同。

三家实验室间的方法验证结果指标也均符合 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》中附录 F 规定的检测方法确认的技术要求。因此，本方法灵敏度、准确性、精密度，可满足大批量、且含量水平相对稳定的婴幼儿配方乳粉的高效检测工作需求。

三、国内外相关法规标准情况

我国标准中对叶酸含量进行了规定，主要有 GB 10765-2010《食品安全国家标准 婴儿配方食品》、GB 10767-2010《食品安全国家标准 较大婴儿和幼儿配方食品》、GB 10769-2010《食品安全国家标准 婴幼儿谷类辅助食品》、GB 22570-2014《食品安全国家标准 辅食营养补充品》、GB 31601-2015《食品安全国家标准 孕妇及乳母营养补充食品》、GB 25596-2010《食品安全国家标准 特殊医学用途婴儿配方食品通则》、GB 29922-2013《食品安全国家标准 特殊医学用途配方食品通则》，其中叶酸的最低限量为 1.0 μg/100KJ，能量按 2000 KJ/100g 计算，叶酸含量为 20 μg/100g。

我国食品中叶酸的测定标准为 GB 5009.211-2014《食品安全国家标准 食品中叶酸的测定》， 欧盟及 AOAC 食品中叶酸测定标准有 BS EN14131-2003、AOAC 2004.05、AOAC992.05-1995、AOAC944.12-1997、AOAC 960.46、AOAC 2011.05、AOAC 2011.06，其中 5 个采用微生物方法进行叶酸的测定，检测原理与 GB 5009.211-2014 相同。其中 BS EN 14131-2003 和 AOAC 2004.05 标准中规定，可选择使用分光光度计或酶标仪对菌液浓度进行测定。涉及到的国内国际相关标准情况如表 1 所示。

表 1、国内国际相关检测标准

序号	来源国家或组织	标准号	标准名称	方法名称	检测范围/适用基质	与制修订标准的关系
1	EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION	BS EN 14131-2003	Foodstuffs - Determination of folate by microbiological assay	微生物法	叶酸/食品	非等效
2	AOAC	AOAC 2004.05	Total Folates in Cereals and Cereal Foods Microbiological Assay-Trienzyme Procedure First Action 2004	微生物法	叶酸/谷物和谷物食品	非等效
3	AOAC	AOAC 992.05-1995	Total Folate (Pteroylglutamic Acid) in Infant Formula Microbiological Methods First Action 1992 Final Action 1995	微生物法	叶酸/婴幼儿配方乳粉	非等效

4	AOAC	AOAC 944.12-1997	folate in Vitamin Preparations microbiological methods	微生物法	叶酸/维生素补充剂	非等效
5	AOAC	AOAC 960.46	Vitamin Assays Microbiological Methods First Action 1960 Final Action	微生物法	维生素测定方法通则	非等效
6	AOAC	AOAC 2011.05	Folate in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formula Optical Biosensor Assay First Action 2011	光学生物传感器法	叶酸/婴儿配方奶粉与成人、儿童营养配方奶粉	非等效
7	AOAC	AOAC 2011.06	Total Folates in Infant Formula and Adult Nutritionals Trienzyme Extraction and UPLC-MS/MS Quantitation First Action 2011	UPLC-MS/MS 法	叶酸/婴儿配方奶粉与成人、儿童营养配方奶粉	非等效

四、其他需要说明的事项

无。

食品安全国家标准公开征求意见