



# 中华人民共和国国家标准

GB 7302—201×  
代替 GB/T 7302—2008

## 饲料添加剂 叶酸

Feed additive—Folic acid

20××-××-××发布

20××-××-××实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会 发布

## 前 言

本标准的第1章、第4章和第6章为强制性的,其余为推荐性的。

本标准按 GB/T 1.1—2009 给出的规则编写。

本标准代替 GB/T 7302—2008《饲料添加剂 叶酸》。

本标准与 GB/T 7302—2008 相比主要技术差异是:

- 外观和性状增加了微小颗粒(见 4.1);
- 将干燥失重改为水分,测定方法采用卡尔费休测定法(见 4.2);
- 增加了重金属(以 Pb 计)不大于 10.0 mg/kg 的要求(见 4.2);
- 增加了总砷不大于 2.0 mg/kg 的要求(见 4.2)。

本标准由中华人民共和国农业部提出并归口。

本标准起草单位:国家饲料质量监督检验中心(武汉)、帝斯曼维生素(上海)有限公司。

本标准主要起草人:刘小敏、张进、高利红、肖平、王峻、王思思、高俊峰、黄婷。

GB/T 7302—2008 的历次版本发布情况为:

- GB 7302—1987。

# 饲料添加剂 叶酸

## 1 范围

本标准规定了饲料添加剂叶酸的要求、试验方法、检验规则及标签、包装、运输、贮存等。  
本标准适用于化学合成法制得的饲料添加剂叶酸。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

- GB/T 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备
- GB/T 602 化学试剂 杂质测定用标准溶液的制备
- GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备
- GB/T 606 化学试剂 水分测定通用方法 卡尔·费休法
- GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
- GB 10648 饲料标签
- GB/T 13079 饲料中总砷的测定
- GB/T 14699.1 饲料 采样

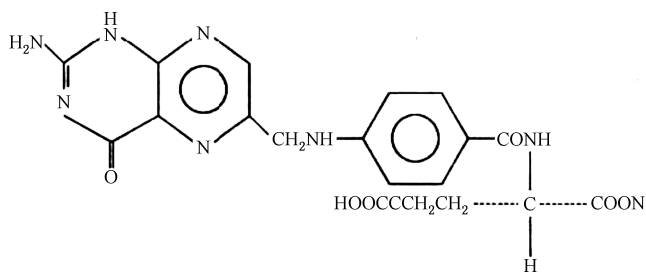
## 3 化学名称、分子式、相对分子质量和结构式

化学名称:*N*-{4-[(2-氨基-4-氧代-1,4-二氢-6-蝶啶)甲氨基]苯甲酰基}-*L*-谷氨酸

分子式: $C_{19}H_{19}N_7O_6$

相对分子质量:441.40(以  $C_{19}H_{19}N_7O_6$  计,按 2016 年国际相对原子质量表计算)

结构式:



## 4 要求

### 4.1 外观和性状

本品为黄色或橙黄色结晶性粉末或微小颗粒,无臭、无味。在水、乙醇、丙酮、三氯甲烷或乙醚中不溶,在氢氧化碱或碳酸钠的稀溶液中溶解。

## 4.2 技术指标

饲料添加剂叶酸的技术指标应符合表 1 要求。

表 1 技术指标

项 目	指 标
叶酸(以 $C_{19}H_{19}N_7O_6$ 干基计)/%	95.0~102.0
水分/%	≤ 8.5
炽灼残渣/%	≤ 0.5
重金属(以 Pb 计)/(mg/kg)	≤ 10.0
总砷/(mg/kg)	≤ 2.0

## 5 试验方法

除特殊说明外,所有使用的试剂均为分析纯,色谱和光谱所用水应符合 GB/T 6682 中一级水规定,其他实验用水应符合 GB/T 6682 中二级水规定,试剂和溶液的制备应符合 GB/T 601、GB/T 602 和 GB/T 603 的规定。

### 5.1 外观和性状检查

取适量的样品置于清洁、干燥的白瓷盘中,在自然光线下观察其色泽和形态,并嗅其气味。

### 5.2 鉴别试验

#### 5.2.1 试剂和材料

5.2.1.1 氢氧化钠溶液: $c(\text{NaOH})=0.1 \text{ mol/L}$ 。

5.2.1.2 高锰酸钾溶液: $c(\text{KMnO}_4)=0.1 \text{ mol/L}$ 。

#### 5.2.2 仪器设备

5.2.2.1 分光光度计。

5.2.2.2 分析天平:感量为 0.000 1 g。

#### 5.2.3 鉴别方法

5.2.3.1 称取适量试样(约 2 mg),加氢氧化钠溶液 10 mL,振摇使溶解,加高锰酸钾溶液 1 滴,振摇混匀后,溶液显蓝绿色,在紫外光灯下,显蓝绿色荧光。

5.2.3.2 取样后,加氢氧化钠溶液制成每 1 mL 中含 10  $\mu\text{g}$  样品的溶液,用分光光度计测定,在 256 nm  $\pm$  1 nm、283 nm  $\pm$  2 nm 及 365 nm  $\pm$  4 nm 的波长处有最大吸收。吸收度 256 nm 与吸收度 365 nm 的比值应为 2.8~3.0。

## 5.3 叶酸含量测定

### 5.3.1 内标法(仲裁法)

#### 5.3.1.1 试剂和材料

5.3.1.1.1 磷酸二氢钾:优级纯。

5.3.1.1.2 氢氧化钾溶液： $c(\text{KOH})=0.1 \text{ mol/L}$ 。

5.3.1.1.3 甲醇：色谱纯。

5.3.1.1.4 氨水溶液：(5+95)。

5.3.1.1.5 烟酰胺内标液：取烟酰胺适量，加水溶解并稀释制成  $1.0 \text{ mg/mL}$  的溶液。

5.3.1.1.6 流动相：称取  $6.8 \text{ g}$  磷酸二氢钾，加入  $70 \text{ mL}$  氢氧化钾溶液(5.3.1.1.2)，用水稀释成约  $850 \text{ mL}$  并调节  $\text{pH}$  至  $6.3 \pm 0.1$ ，加入甲醇  $80 \text{ mL}$ ，用水稀释至  $1\ 000 \text{ mL}$ 。

5.3.1.1.7 标准溶液：准确称取叶酸对照品(叶酸纯度  $\geq 91.4\%$ ，以  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_7\text{O}_6$  计)  $21.9 \text{ mg}$ ，精确到  $0.000\ 1 \text{ g}$ 。置于  $100 \text{ mL}$  容量瓶中，加入  $0.5\%$  氨溶液约  $60 \text{ mL}$  溶解，准确加入烟酰胺内标液(5.3.1.1.5)  $20 \text{ mL}$ ，用  $0.5\%$  氨溶液稀释至刻度，摇匀。此标准溶液每  $1 \text{ mL}$  含叶酸  $200 \mu\text{g}$ ，现配现用。

### 5.3.1.2 仪器设备

5.3.1.2.1 分析天平：感量为  $0.000\ 1 \text{ g}$  和  $0.000\ 01 \text{ g}$ 。

5.3.1.2.2 超声波清洗器。

5.3.1.2.3 酸度计。

5.3.1.2.4 液相色谱仪，配紫外检测器或二极管阵列检测器。

### 5.3.1.3 试验步骤

#### 5.3.1.3.1 试样溶液制备

称取试样适量(约相当于叶酸  $0.2 \text{ g}$ ，精确到  $0.000\ 2 \text{ g}$ )，置于  $100 \text{ mL}$  容量瓶中，加入氨水溶液(5.3.1.1.4)置于超声波清洗器超声，溶解，定容；精确移取  $10.0 \text{ mL}$  溶液，加入烟酰胺内标液(5.3.1.1.5)  $20.0 \text{ mL}$ ，用氨水溶液(5.3.1.1.4)稀释至刻度，摇匀。

#### 5.3.1.3.2 试验

##### 5.3.1.3.2.1 参考色谱条件

参考色谱条件如下：

——色谱柱： $\text{C}_{18}$  色谱柱，粒度  $5 \mu\text{m}$ ，柱长  $250 \text{ mm}$ ，内径  $4 \text{ mm}$  不锈钢柱或性能相当者；

——流动相：4.3.1.1.6；

——流速： $1.0 \text{ mL/min}$ ；

——柱温：室温；

——进样量： $10 \mu\text{L} \sim 20 \mu\text{L}$ ；

——检测波长： $254 \text{ nm}$ 。

##### 5.3.1.3.2.2 预试验

5.3.1.3.2.2.1 叶酸与内标物质峰的分离度应大于 1.5。

5.3.1.3.2.2.2 取叶酸标准溶液，连续进样 5 次，其峰面积测量值的相对偏差应不大于  $2.0\%$ 。

##### 5.3.1.3.2.3 定量试验

取标准溶液(5.3.1.1.7)及试样溶液(5.3.1.3.1)，分别连续进样 3 次～5 次按峰面积计算校正因子，并用其平均值计算试样中叶酸含量。

### 5.3.1.4 试验数据处理

叶酸含量(以  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_7\text{O}_6$  干基计)  $w_1$  以质量分数表示，数值以百分数( $\%$ )计，按式(1)、式(2)计算：

$$\omega_1 = f \times \frac{A_3 \times m_4}{A_4 \times m_3(1 - \omega_3)} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

$$f = \frac{A_1 \times m_2}{A_2 \times m_1} \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中：

$f$  ——叶酸质量校正因子；

$A_1$  ——标准溶液中内标物质峰面积；

$A_2$  ——标准物质中叶酸对照品峰面积；

$A_3$  ——试样溶液中叶酸的峰面积；

$A_4$  ——试样溶液中内标物的峰面积；

$m_1$  ——标准溶液中内标物的质量，单位为克(g)；

$m_2$  ——标准溶液中叶酸的质量，单位为克(g)；

$m_3$  ——试样溶液中叶酸的质量，单位为克(g)；

$m_4$  ——试样溶液中内标物的质量，单位为克(g)；

$\omega_3$  ——按 5.4 测定试验样品的水分质量分数的数值，数值以百分数(%)表示。

试验结果以两次平行测定结果的算术平均值表示，结果保留至小数点后一位。

### 5.3.1.5 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大于 2.0%。

## 5.3.2 外标法

### 5.3.2.1 试剂或材料

5.3.2.1.1 磷酸二氢钾：优级纯。

5.3.2.1.2 磷酸氢二钾：优级纯。

5.3.2.1.3 氢氧化钾溶液： $c(\text{KOH})=0.1 \text{ mol/L}$ 。

5.3.2.1.4 甲醇：色谱纯。

5.3.2.1.5 流动相：称取 19.64 g 磷酸二氢钾和 9.68 g 磷酸氢二钾溶于水中，倒入 2 L 容量瓶中，加入 240 mL 甲醇，用水定容至刻度，用氢氧化钾溶液(5.3.2.1.3)调节 pH 至 6.5。

5.3.2.1.6 标准溶液：准确称取叶酸对照品(叶酸纯度 $\geq 91.4\%$ ，以  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_7\text{O}_6$  计)21.9 mg，置于 100 mL 容量瓶中，加入 1.8 mL 氢氧化钾溶液(5.3.2.1.3)和 10.0 mL 流动相(5.3.2.1.5)溶解，然后用流动相(5.3.2.1.5)定容至刻度。此标准溶液每 1 mL 含叶酸 200  $\mu\text{g}$ ，现配现用。

### 5.3.2.2 仪器设备

同 5.3.1.2。

### 5.3.2.3 试验步骤

#### 5.3.2.3.1 试样溶液的制备

称取试样适量(约相当于叶酸 0.2 g，精确到 0.000 2 g)，精确到 0.000 1 g。置于 100 mL 容量瓶中，加入 1.8 mL 氢氧化钾溶液(5.3.2.1.3)和 10.0 mL 流动相(5.3.2.1.5)溶解，然后用流动相(5.3.2.1.5)定容至刻度。

准确移取 10.0 mL 溶液，用流动相(5.3.2.1.5)稀释至 100 mL，摇匀。

#### 5.3.2.3.2 试验

##### 5.3.2.3.2.1 参考色谱条件

参考色谱条件如下：

- 色谱柱: ODS C<sub>18</sub>柱, 粒度 4 μm, 150 mm×3.9 mm 或性能相当者;
- 流动相: 5.3.2.1.5;
- 流速: 0.6 mL/min;
- 柱温: 30 °C;
- 进样量: 10 μL;
- 检测波长: 280 nm。

### 5.3.2.3.2.2 预试验

取叶酸标准溶液, 连续进样 5 次, 其峰面积测量值的相对偏差应不大于 2.0%。

### 5.3.2.3.2.3 定量试验

取标准溶液(5.3.2.1.6)及试样溶液(5.3.2.3.1), 分别连续进样, 按外标法以峰面积计算。

### 5.3.2.4 试验数据处理

叶酸含量(以 C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub> 干基计)  $w_2$  以质量分数表示, 数值以百分数(%)计。按式(3)计算:

$$w_2 = \frac{A_5 \times c \times V}{A_6 \times m_5 (1 - w_3)} \times 100 \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

- $A_5$ ——试样溶液中叶酸的峰面积;
  - $A_6$ ——标准物质中叶酸对照品峰面积;
  - $V$ ——稀释体积, 单位为毫升(mL);
  - $m_5$ ——试样溶液中叶酸的质量, 单位为克(g);
  - $c$ ——标准溶液中叶酸的浓度, 单位为微克每毫升(μg/mL);
  - $w_3$ ——按 5.4 测定试验样品的水分质量分数的数值, 数值以百分数(%)表示。
- 试验结果以两次平行测定结果的算术平均值表示, 结果保留至小数点后一位。

### 5.3.2.5 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定的绝对差值不大于 2.0%。

## 5.4 水分的测定

按 GB/T 606 的规定执行。

## 5.5 炽灼残渣的测定

### 5.5.1 试剂或材料

#### 5.5.1.1 硫酸。

### 5.5.2 仪器设备

#### 5.5.2.1 分析天平: 感量为 0.000 1 g。

#### 5.5.2.2 马福炉。

### 5.5.3 试验步骤

准确称取样品 2.0 g, 精确到 0.000 2 g。置于已在 700 °C ± 50 °C 灼烧至恒重的瓷坩埚中, 用小火缓缓加热至完全炭化, 放冷后, 加硫酸 0.5 mL ~ 1 mL 使湿润, 低温加热至硫酸蒸气除尽后, 移入马福炉中, 在 700 °C ± 50 °C 灼烧至恒重。

## 5.5.4 试验数据处理

炽灼残渣  $w_4$  以质量分数表示,数值以百分数(%)表示,按式(4)计算:

$$w_4 = \frac{m_6 - m_7}{m_8} \times 100 \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中:

$m_6$ ——坩埚和残渣质量,单位为克(g);

$m_7$ ——坩埚质量,单位为克(g);

$m_8$ ——样品质量,单位为克(g)。

## 5.6 重金属的测定

### 5.6.1 试剂或材料

5.6.1.1 硝酸:优级纯。

5.6.1.2 硫酸:优级纯。

5.6.1.3 盐酸:优级纯。

5.6.1.4 甘油。

5.6.1.5 乙酸铵。

5.6.1.6 硝酸铅:优级纯。

5.6.1.7 硫代乙酰胺。

5.6.1.8 氨水溶液(4+6)。

5.6.1.9 氢氧化钠溶液: $c(\text{NaOH})=1 \text{ mol/L}$ 。

5.6.1.10 盐酸溶液: $c(\text{HCl})=2 \text{ mol/L}$ 。

5.6.1.11 盐酸溶液: $c(\text{HCl})=7 \text{ mol/L}$ 。

5.6.1.12 氨水溶液: $c(\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O})=5 \text{ mol/L}$ 。

5.6.1.13 酚酞指示剂:10 g/L 乙醇溶液。

5.6.1.14 乙酸盐缓冲液(pH3.5):称取约 25 g 乙酸铵,加 25 mL 水溶解后,加 7 mol/L 盐酸溶液(5.6.1.11)38 mL,用 2 mol/L 盐酸溶液(5.6.1.10)或氨水溶液(5.6.1.12)准确调节 pH 至 3.5(pH 计),用水稀释至 100 mL。

5.6.1.15 硫代乙酰胺试液:称取约 4 g 硫代乙酰胺(精确至 0.01 g),加水溶解定容至 100 mL,置冰箱中保存。临用前取 5.0 mL 混合液(由 1 mol/L 15 mL 氢氧化钠溶液(5.6.1.9)、5.0 mL 水及 20 mL 甘油配制而成),加上述 1.0 mL 硫代乙酰胺溶液,置于水浴上加热 20 s,冷却,立即使用。

5.6.1.16 铅标准溶液:准确称取 0.160 0 g(准确至 0.000 2 g)硝酸铅,置于 1 000 mL 容量瓶中,加 5 mL 硝酸和 50 mL 水溶解后,用水稀释至刻度,摇匀为贮备液。临用前,精确移取 10 mL 贮备液,置于 100 mL 容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得(每 1 mL 相当于 10  $\mu\text{g}$  的 Pb)。

### 5.6.2 仪器设备

分析天平:感量为 0.1 mg 和 0.01 mg。

### 5.6.3 试验步骤

#### 5.6.3.1 试液的制备

取实验室试样 1 g,缓缓灼烧至完全炭化,冷却至室温,加 0.5 mL~1.0 mL 硫酸,使试样恰好湿润,用低温加热至硫酸除尽后,加 0.5 mL 硝酸,蒸干,至氧化氮蒸气除尽后,冷却至室温,在 550  $^{\circ}\text{C} \pm 50 ^{\circ}\text{C}$  灼烧至完全灰化,冷却至室温,加 2 mL 盐酸,置水浴上蒸干后加 15 mL 水,滴加 2 滴酚酞指示剂,用氨水溶液(5.6.1.12)调节溶液至中性,再加 2 mL 乙酸盐缓冲液(pH3.5),微热溶解后,移置纳氏比色管中,加水稀释成 25 mL,作为测试甲管。



### 5.6.3.2 试验

另取制备试验试液同样的试剂,置瓷皿中蒸干后,加 2 mL 乙酸盐缓冲液(pH3.5)与 15 mL 水,微热溶解后,移置纳氏比色管中,加 1.0 mL 标准铅溶液,再用水稀释成 25 mL,作为标准乙管。

### 5.6.3.3 试验数据处理

再在甲乙两管中分别加各 2 mL 硫代乙酰胺试液,摇匀,放置 2 min,同置白纸上,自上向下透视,甲管中显示的颜色与乙管比较,不得更深。

## 5.7 总砷的测定

按 GB/T 13079 的规定执行。

## 6 检验规则

### 6.1 组批

以相同材料、相同的生产工艺、连续生产或同一班次生产的产品为一批。

### 6.2 采样

按 GB/T 14699.1 的规定进行采样。

### 6.3 出厂检验

出厂检验项目为第 4 章规定的全部技术指标。

### 6.4 判定规则

6.4.1 所检项目检测结果均与本标准规定指标要求一致判定为合格产品。

6.4.2 检验结果中,如有一项指标不符合本标准要求时,可在原批中重新加倍抽样对不合格项进行复检,若复检结果仍不符合标准要求,则判定该批产品不合格。

## 7 标签、包装、运输、贮存、保质期

### 7.1 标签

标签按 GB 10648 执行。

### 7.2 包装

包装材料应无毒、无害、防潮。

### 7.3 运输

运输中防止包装破损、日晒、雨淋,禁止与有毒有害物质共运。

### 7.4 贮存

贮存时防止日晒、雨淋,禁止与有毒有害物质混贮。

### 7.5 保质期

未开启原包装产品在规定的运输和贮存条件下,保质期为 24 个月。