



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 血红素铁

(征求意见稿)

××××-××-××发布

××××-××-××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 血红素铁

1 范围

本标准适用于以检验检疫合格的动物血液或经离心分离得到的血球液为原料，经酶解、分离、干燥制得的食品营养强化剂血红素铁。

2 化学名称、分子式、结构式和相对分子质量

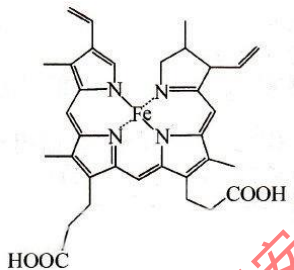
2.1 化学名称

血红素铁

2.2 分子式

$C_{34}H_{32}FeN_4O_4$

2.3 结构式



2.4 相对分子质量

616.48（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	红褐色至黑褐色	取适量试样置于洁净、干燥的透明玻璃器皿中，在自然光下观察色泽、状态，嗅其气味，观察其杂质
状态	粉末或颗粒	

气味	无味或轻微的血红素铁特征性气味	
杂质	无肉眼可见杂质	

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
铁（以 Fe 计），w/%	1.0~2.6	GB 5009.90
血红素铁（以 $C_{34}H_{32}FeN_4O_4$ 计），w/%	9.0~27.0	附录 A 中 A.3
干燥减量，w/%	≤ 6.0	GB 5009.3（直接干燥法）
灼烧残渣，w/%	≤ 12.0	GB 5009.4
铅（Pb）/（mg/kg）	≤ 2.0	GB 5009.75 或 GB 5009.12
总砷（以 As 计）/（mg/kg）	≤ 2.0	GB 5009.76 或 GB 5009.11

3.3 微生物限量

微生物限量应符合表 3 的规定。

表 3 微生物限量

项 目	限 量 ^a				检验方法
	n	c	m	M	
沙门氏菌/25g	5	0	0	-	GB 4789.4
金黄色葡萄球菌/（CFU/g）	5	1	100	1000	GB 4789.10 第二法
^a 样品的采样和处理按 GB 4789.1 执行。					

附录 A

检验方法

A.1 一般规定

本标准的检验方法中所用试剂和水,在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和 GB/T 6682 规定的三级水。试验中所用溶液在未标明用何种溶剂配制时,均指水溶液,所用溶液以“%”表示的均为质量分数。

A.2 鉴别试验

A.2.1 试剂和材料

A.2.1.1 氢氧化钠。

A.2.1.2 吡啶。

A.2.1.3 次亚硫酸钠。

A.2.1.4 硝酸:色谱纯。

A.2.1.5 氨水。

A.2.1.6 1 mol/L 氢氧化钠溶液:称取 40.0 g 氢氧化钠,用无二氧化碳的水溶解并定容至 1 L。

A.2.1.7 吡啶氢氧化钠溶液:100 mL 吡啶,加入 30 mL 1 mol/L 氢氧化钠溶液,用水稀释至 300 mL。

A.2.2 仪器和设备

A.2.2.1 分析天平:感量 0.0001 g。

A.2.2.2 水浴箱。

A.2.3 鉴别方法

A.2.3.1 呈色试验

将 10 mg 血红素铁溶解在 50 mL 的吡啶氢氧化钠溶液中,取 5 mL 该溶液,加入 15 mg 的次亚硫酸钠,溶液变成红色。

A.2.3.2 呈色试验

将 10 mg 血红素铁放在 100 mL 烧杯中,加入 5 mL 硝酸,加热,变成黄色,冷却后用氨水碱化,颜色变成橙黄色。

A.2.3.3 紫外光谱法

将 10 mg 血红素铁溶解在 50 mL 的吡啶氢氧化钠溶液中,在紫外光扫描谱图中,在 399 nm 波长处具有最大吸收。

A.3 血红素铁($C_{34}H_{32}FeN_4O_4$)含量的测定

A.3.1 方法提要

样品中的血红素铁用吡啶氢氧化钠溶解,用 C_{18} 色谱柱分离,液相色谱仪测定,外标法定量。

A.3.2 试剂和材料

除另有说明,所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

A.3.2.1 甲醇:色谱纯。

A.3.2.2 甲酸:色谱纯。

A.3.2.3 氢氧化钠。

A.3.2.4 吡啶。

A.3.2.5 羟高铁血红蛋白 ($C_{34}H_{33}FeN_4O_5$, CAS 号: 15489-90-4) 标准品: 含量 $\geq 98.0\%$ 。

A.3.2.6 1 mol/L 氢氧化钠溶液: 称取 40.0 g 氢氧化钠, 用无二氧化碳的水溶解并定容至 1 L。

A.3.2.7 吡啶氢氧化钠溶液: 100 mL 吡啶, 加入 30 mL 1 mol/L 氢氧化钠溶液, 用水稀释至 300 mL。

A.3.2.8 羟高铁血红蛋白标准储备液: 准确称取 100℃干燥 3 小时的羟高铁血红蛋白 0.1028 g, 用吡啶氢氧化钠溶液 (A.3.2.7) 溶解并定容至 100 mL, 此溶液相当于血红蛋白铁 1 mg/mL。0~4℃避光保存, 使用期不超过 1 周。

A.3.3 仪器和设备

A.3.3.1 高效液相色谱仪: 配紫外检测器或二极管阵列检测器。

A.3.3.2 分析天平: 感量 0.0001 g。

A.3.3.3 超声波发生器: 功率大于 180 W。

A.3.3.4 离心机: 大于 4000 r/min。

A.3.3.5 液相色谱参考条件

A.3.3.5.1 色谱柱: C_{18} 柱, 柱长 250 mm, 内径 4.6 mm, 粒径 5 μm 或等效色谱柱。

A.3.3.5.2 流动相: 甲醇+0.1%甲酸水溶液 (70+30, V+V)。

A.3.3.5.3 流速: 1.0 mL/min。

A.3.3.5.4 柱温: 30℃。

A.3.3.5.5 进样量: 5.0 μL 。

A.3.3.5.6 检测波长: 399 nm。

A.3.3.6 分析步骤

准确称取试样 0.1 g, 精确至 0.001 g, 用吡啶氢氧化钠溶液 (A.3.2.7) 溶解, 避光条件下超声波助溶 10 min, 转移至 50 mL 容量瓶中, 用吡啶氢氧化钠溶液定容至刻度, 混匀, 取该溶液 1 mL, 用吡啶氢氧化钠溶液稀释至 10 mL, 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 过 0.45 μm 滤膜, 液相色谱测定。并做空白试验, 除不加试样外, 其他操作与测定试样相同。

A.3.4 定性分析

依据保留时间一致性进行定性识别的方法, 根据血红蛋白标准品的保留时间, 确定样品中血红蛋白铁的色谱峰 (见附录 B)。

A.3.5 定量分析

分别取羟高铁血红蛋白标准储备液 (A.3.2.8) 0.25 mL、0.50 mL、1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、5.00 mL 于 50 mL 容量瓶中, 用吡啶氢氧化钠溶液 (A.3.2.7) 定容, 配制成相当于血红蛋白铁溶液浓度分别为 5 $\mu g/mL$ 、10 $\mu g/mL$ 、20 $\mu g/mL$ 、40 $\mu g/mL$ 、60 $\mu g/mL$ 、100 $\mu g/mL$ 的标准溶液, 液相色谱测定, 以血红蛋白铁浓度为横坐标, 以色谱峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。

用标准工作曲线对试样进行定量, 标准工作溶液和试样中血红蛋白铁的响应值均应在仪器的检测线性范围内。

在 A.3.3.5 的色谱条件下, 羟高铁血红蛋白标准品和血红蛋白样品的色谱图参见附录 B。

A.3.6 结果计算

血红蛋白铁 ($C_{34}H_{32}FeN_4O_4$) 含量的质量分数 w_1 (%) 计, 按公式 (A.1) 计算:

$$w_1(\%) = \frac{(c-c_0) \times V \times f}{m \times 10^6} \times 100\% \quad \text{..... (A.1)}$$

式中:

c ——试样溶液中血红蛋白铁的质量浓度, 单位为微克每毫升 ($\mu g/mL$);

c_0 ——空白试验中血红素铁的质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V ——试样定容总体积，单位为毫升（ mL ）；

f ——试样稀释倍数；

m ——试样称取质量，单位为克（ g ）；

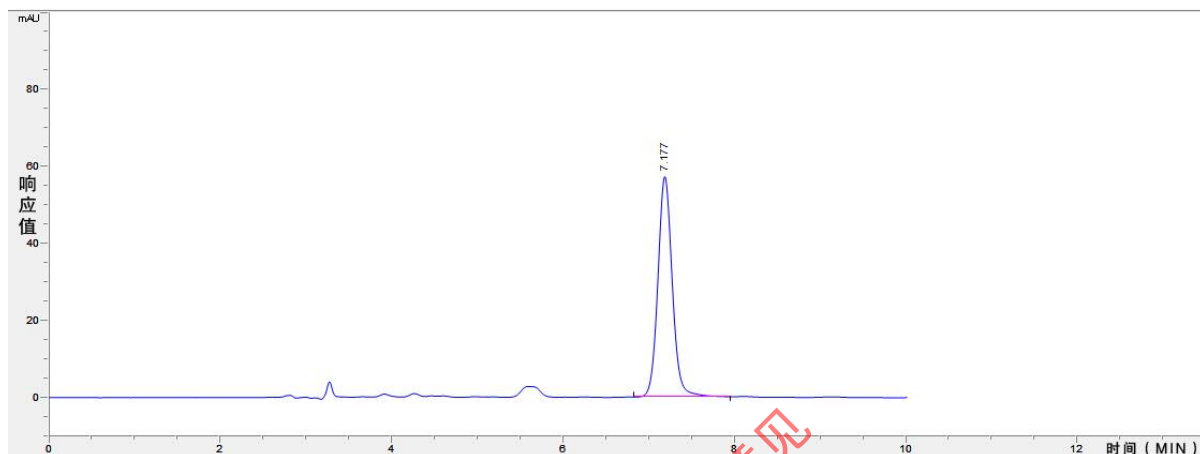
取平行测定结果的算术平均值为测定结果，两次平行测定结果的绝对差值不大于2.0%。

食品安全国家标准公开征求意见

附录 B

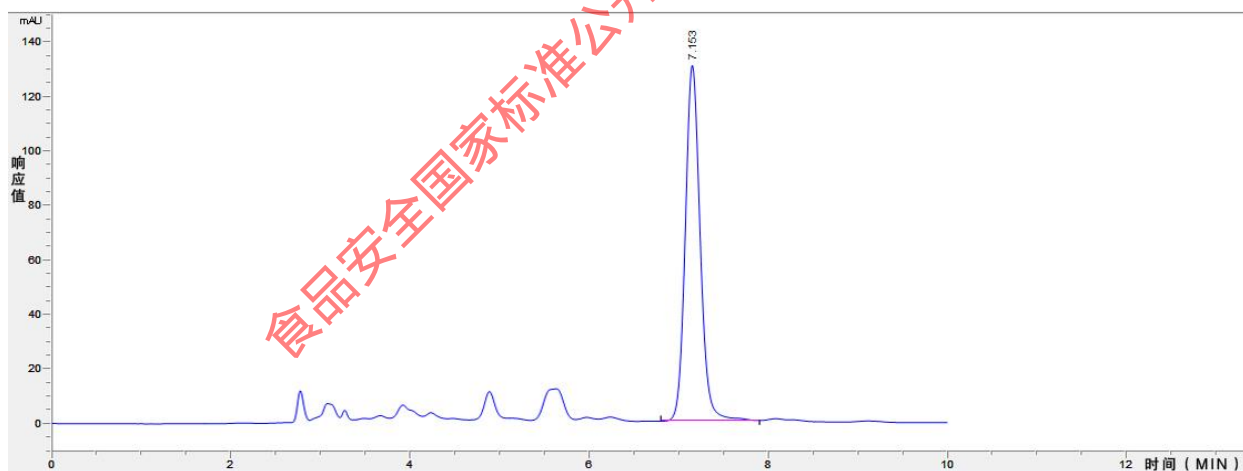
液相色谱图

羟高铁血红素标准品液相色谱图如图 B.1 所示。



B.1 羟高铁血红素标准品（浓度以血红素铁计）液相色谱图

血红素铁样品液相色谱图如图B.2所示。



B.2 血红素铁样品液相色谱图