

# T/GXAS

团 体 标 准

T/GXAS 1231—2026

---

## 小米中叶酸的测定 高效液相色谱法

Determination of folic acid in millet—High performance liquid  
chromatography

2026-01-23 发布

2026-01-29 实施

---

广西标准化协会 发 布



## 前 言

本文件参照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广西粮食行业协会提出、归口并宣贯。

本文件起草单位：广西壮族自治区农业科学院、广西标准化协会、广西壮族自治区产品质量检验研究院、南宁海关技术中心、广西农业职业技术大学。

本文件主要起草人：覃国新、李慧玲、韦宇宁、王海军、何洁、吉日文、周其峰、闫飞燕、陈泳敏、劳水兵、陆玮璠、罗丽红、梁志俭、石敏、梁雪莲、王天顺、黄林华、何善廉、司露露、黄强、陈伟、蒋文艳、唐莉、王彦力、梁静、肖艳妮、黄芳、黎丽菊、蒋才斌、刘祁云、陆妃妃、陈建华。



# 小米中叶酸的测定 高效液相色谱法

## 1 范围

本文件描述了小米中叶酸含量的高效液相色谱测定方法。  
本文件适用于小米中叶酸含量的测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

NY/T 3304 农产品检测样品管理技术规范

## 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 原理

试样中的叶酸经碳酸钠溶液提取，高效液相色谱-紫外检测器（或二极管矩阵检测器）测定，外标法定量。

## 5 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，实验用水应符合 GB/T 6682 中一级水的要求。

### 5.1 试剂

5.1.1 碳酸钠 ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )。

5.1.2 氢氧化钾 ( $\text{KOH}$ )。

5.1.3 磷酸二氢钾 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )：优级纯。

5.1.4 甲醇 ( $\text{CH}_3\text{OH}$ )：色谱纯。

### 5.2 溶液配制

5.2.1 碳酸钠溶液 (0.1 mol/L)：称取碳酸钠 (5.1.1) 5.3 g，用水溶解并稀释至 500 mL，混匀。

5.2.2 氢氧化钾溶液 (0.1 mol/L)：称取氢氧化钾 (5.1.2) 2.81 g，用水溶解并稀释至 500 mL，混匀。

5.2.3 磷酸二氢钾 (0.05 mol/L) - 氢氧化钾混合溶液：称取磷酸二氢钾 (5.1.3) 6.8 g，用 850 mL 水溶解，加入氢氧化钾溶液 (5.2.2) (约 70 mL) 调 pH 至 6.1~6.5，用水溶解并稀释至 1 000 mL，混匀。

### 5.3 标准品

叶酸标准品 ( $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_7\text{O}_6$ ，CAS号：59-30-3)：纯度 $\geq 98.0\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

### 5.4 标准溶液配制

5.4.1 叶酸标准储备溶液 (1 000 mg/L)：准确称取 0.01 g 叶酸标准品 (精确至 0.1 mg)，置于 10 mL 容量瓶中，用碳酸钠溶液 (5.2.1) 溶解并定容至刻度，摇匀，于 2℃~8℃ 避光保存，有效期为 6 个

月。

5.4.2 叶酸标准中间液（100 mg/L）：吸取 1.0 mL 标准储备液（5.4.1）于 10 mL 容量瓶中，用碳酸钠溶液（5.2.1）定容至刻度，混匀。临用现配。

5.4.3 叶酸标准系列工作液：分别吸取 0.02 mL、0.05 mL、0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL 和 5.0 mL 标准中间液（5.4.2）于 10 mL 容量瓶中，用碳酸钠溶液（5.2.1）定容至刻度，混匀，配制成质量浓度分别为 0.2 mg/L、0.5 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L、5.0 mg/L、10.0 mg/L、20.0 mg/L 和 50.0 mg/L 的标准系列工作溶液，可根据实际样品溶液的浓度适当调整标准系列工作溶液浓度。临用现配。

## 5.5 材料

5.5.1 水相微孔滤膜：孔径 0.22 μm。

5.5.2 棕色塑料离心管：50 mL。

## 6 仪器设备

6.1 高效液相色谱仪：配紫外可调波长检测器（或二极管矩阵检测器）。

6.2 天平：感量分别为 0.1 mg 和 1 mg。

6.3 试验筛：孔径为 0.425 mm。

6.4 涡旋振荡器。

6.5 恒温水浴锅：控温精度 ±2℃。

6.6 离心机：转速不低于 5 000 r/min。

6.7 粉碎机。

6.8 pH 计：精度为 ±0.1。

6.9 移液器：20 μL、200 μL、500 μL、1 000 μL。

## 7 试验步骤

### 7.1 试样制备

按 NY/T 3304 的要求制备试样。取少量预处理和缩分后的样品放入洁净的粉碎机中粉碎，将其弃去，再用粉碎机粉碎剩余的样品，并全部通过 0.425 mm 试验筛，按每份不少于 100 g 装入洁净的聚乙烯瓶或自封袋中，密封并标识。于 2℃~8℃ 避光条件下保存，备用。

### 7.2 试样提取

称取试样 1.0 g（精确至 1 mg），置于 50 mL 棕色离心管中，加入 15 mL 碳酸钠溶液（5.2.1），涡旋振荡器混匀，于恒温水浴锅（30±2）℃ 浸提 2 h（期间摇动 2~3 次），于离心机 5 000 r/min 离心 5 min，将上清液转移至 20 mL 棕色容量瓶中，于残渣中加入碳酸钠溶液（5.2.1）5 mL，涡旋振荡器混匀后，于 5 000 r/min 离心 5 min，将上清液转移至同一 20 mL 棕色容量瓶中，并用碳酸钠溶液（5.2.1）定容至刻度，混匀。取适量上清液过 0.22 μm 水相微孔滤膜至棕色进样瓶中，供高效液相色谱测定。

### 7.3 测定

#### 7.3.1 色谱参考条件

色谱参考条件如下：

——色谱柱：C<sub>18</sub> 柱（柱长 250 mm，内径 4.6 mm，填料粒径 5 μm）或性能相当的色谱柱；

——柱温：35℃；

——流动相：V[磷酸二氢钾-氢氧化钾混合溶液（5.2.3）]: V[甲醇（5.1.4）]=90: 10（体积比）；

——流速：1.0 mL/min；

——检测波长：285 nm；

——进样量：10 μL。

7.3.2 标准曲线制作

将标准系列工作液（5.4.3）分别注入高效液相色谱仪中，得到相应的色谱峰面积，以标准系列工作液中叶酸的浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，其相关系数应不低于0.99。叶酸标准溶液的液相色谱图参见附录A。

7.3.3 定性

以保留时间定性，试样溶液中叶酸保留时间应与标准系列溶液（质量浓度相当）中叶酸的保留时间一致，其相对偏差在±2.5%之内。

7.3.4 定量

将试样溶液注入高效液相色谱仪中，得到叶酸的峰面积，根据标准曲线得到待测液中叶酸的质量浓度。待测液中叶酸的质量浓度应在标准曲线的线性范围内。如超出范围，应将待测液用碳酸钠溶液（5.2.1）稀释后重新测定。

7.3.5 空白试验

除不加试样外，按7.2~7.3步骤操作。

8 结果计算

试样中叶酸的含量按公式（1）计算：

$$X = \frac{\rho \times V}{m} \times \frac{1}{10} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X —— 试样中叶酸的含量，单位为毫克每百克（mg/100 g）；
- ρ —— 由标准曲线得到的试样溶液中叶酸的质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；
- V —— 试样溶液的最终定容体积，单位为毫升（mL）；
- m —— 试样质量，单位为克（g）；
- 10 —— 换算系数。

注：计算结果保留 3 位有效数字。

9 精密度

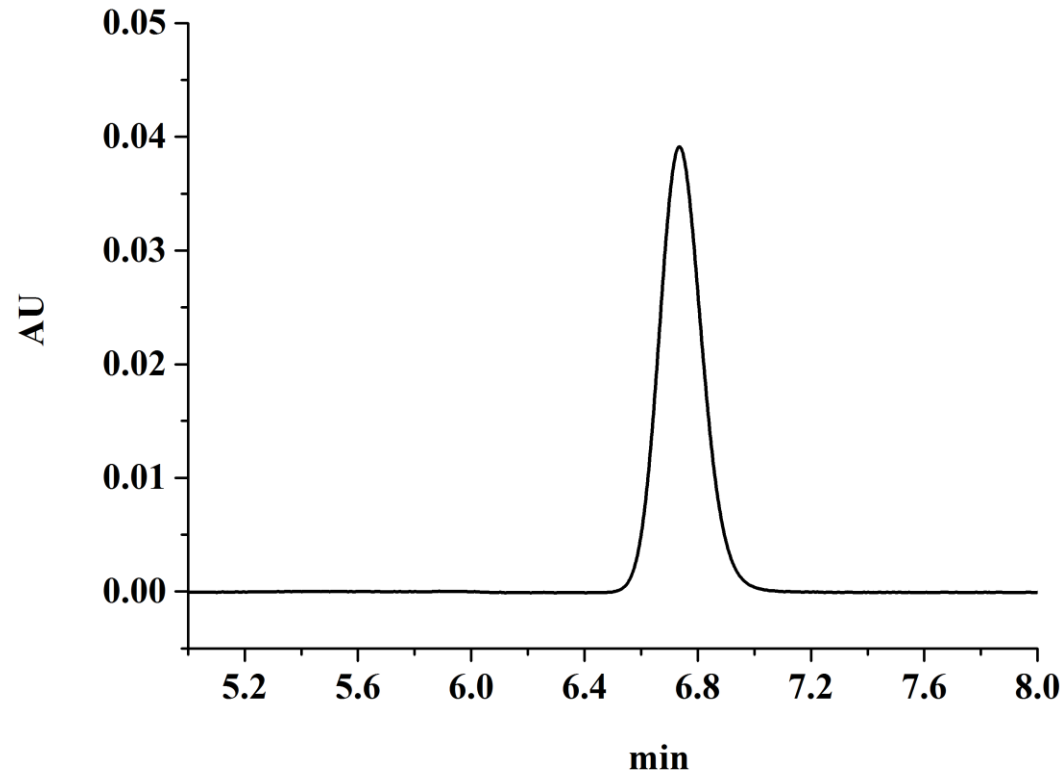
在重复性条件下获得两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

10 检出限与定量限

称样量为1.0 g时，检出限为0.07 mg/100 g，定量限为0.2 mg/100 g。

附 录 A  
(资料性)  
叶酸标准溶液液相色谱图

叶酸标准溶液液相色谱图见图A. 1。



图A. 1 叶酸标准溶液（10 mg/L）的液相色谱图



### 参 考 文 献

- [1] GB 5009.211-2022 食品安全国家标准 食品中叶酸的测定
- 



中华人民共和国团体标准  
小米中叶酸的测定 高效液相色谱法  
T/GXAS 1231—2026  
广西标准化协会统一印制  
版权专有 侵权必究