

中华人民共和国国家标准

GB 19370—201×
代替 GB/T 19370—2003

饲料添加剂 β -胡萝卜素粉

Feed additive— β -Carotene powder

××××-××-××发布

××××-××-××实施

国家市场监督管理总局
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、第6章和第7章为强制性的,其余为推荐性的。

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 GB/T 19370—2003《饲料添加剂 1%β-胡萝卜素》,与 GB/T 19370—2003 相比,除编辑性修改外主要技术变化如下:

- 修改了标准的适用范围(见第1章,2003年版的第1章);
- 修改了β-胡萝卜素含量要求(见4.4,2003年版的3.2);
- 删除了灼烧残渣指标(见4.4,2003年版的3.2);
- 删除了铅指标,增加了“重金属”指标(见4.4,2003年版的3.2);
- 增加了粒度的规定(见4.4,2003年版的3.2);
- 修改了鉴别方法(见6.2,2003年版的4.3);
- 修改了紫外-可见分光光度法(见6.3.1;2003年版的4.4);
- 增加了高效液相色谱法(见6.3.2);
- 修改了总砷的测定方法(见6.6,2003年版的4.6)。

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这些专利的责任。

本标准由中华人民共和国农业农村部提出并归口。

本标准起草单位:中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所[国家饲料质量监督检验中心(北京)]、浙江省兽药饲料监察所、广州立达尔生物科技股份有限公司。

本标准主要起草人:赵小阳、虞哲高、陶正国、杨金枢、吴秀丽、陈小兵、梅娜、盛翠凤、施东明、陈冰、李丽蓓、黄娟。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

- GB/T 19370—2003。

饲料添加剂 β -胡萝卜素粉

1 范围

本标准规定了饲料添加剂 β -胡萝卜素粉的技术要求、取样、试验方法、检验规则、标签、包装、运输、贮存和保质期。

本标准适用于以化学合成的 β -胡萝卜素晶体为原料,添加淀粉、明胶等辅料经喷雾、包被、干燥制成的饲料添加剂 β -胡萝卜素粉。

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 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 5917.1 饲料粉碎粒度测定 两层筛筛分法

GB/T 6435—2014 饲料中水分的测定

GB/T 6438 饲料中粗灰分的测定

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定

GB 8821—2011 食品安全国家标准 食品添加剂 β -胡萝卜素

GB 10648 饲料标签

GB/T 13079—2006 饲料中总砷的测定

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

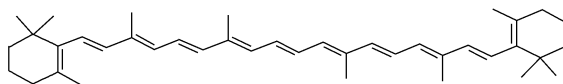
3 化学名称、分子式、相对分子质量和结构式

化学名称:1,1'-(3,7,12,16-四甲基)-(1,3,5,7,9,11,13,15,17-十八碳壬烯-1,18-二基)双(2,6,6-三甲基环己烯)

分子式: $C_{40}H_{56}$

相对分子质量:536.88(按 2016 年国际相对原子质量)

结构式:



4 技术要求

4.1 原料要求

以化学合成 β -胡萝卜素为原料,含量规格为 96.0%~101.0%。

4.2 外观与性状

本品为色泽均匀一致的微粒,易吸潮,遇热、酸、光或吸潮后易分解。

4.3 鉴别

应符合 β -胡萝卜素的紫外-可见光吸光度要求,或液相色谱图的特征。

4.4 理化指标

理化指标应符合表 1 的规定。

表 1 理化指标

项目		指标
β-胡萝卜素含量(以 C ₄₀ H ₅₆ 计,占标示量的百分比)/%		≥ 96
干燥失重/%		≤ 10.0
粒度/%	通过孔径为 0.84 mm(20 目)筛网	≥ 95
	通过孔径为 0.15 mm(100 目)筛网,筛下物	< 15
总砷/(mg/kg)		≤ 2.0
重金属(以 Pb 计)/(mg/kg)		≤ 10

5 取样

按照 GB/T 14699.1 的规定执行。

6 试验方法

6.1 感官检验

取适量样品置于清洁干燥的白瓷盘中,在自然光线下观察其色泽。

6.2 鉴别试验

鉴别 1:将 6.3.1.5 得到的 5 mL 待测溶液,加入 5 mL 环己烷混匀,置于 1 cm 比色皿中,以环己烷为空白,在波长 455 nm 和 483 nm 处测定吸光度 A_{455} 和 A_{483} 。 A_{455}/A_{483} 的比值应在 1.10~1.30。

鉴别 2:按照色谱条件向色谱柱中注入全反式 β -胡萝卜素标准工作溶液(6.3.2.2.12)和 6.3.2.4 得到的待测溶液 B,试样溶液中主峰的保留时间与标准溶液中全反式 β -胡萝卜素色谱峰的保留时间一致。标准工作溶液的色谱图参见附录 A 中图 A.1。

6.3 β -胡萝卜素含量的测定

6.3.1 紫外-可见分光光度法

6.3.1.1 原理

酶解破膜后,用无水乙醇和二氯甲烷提取 β -胡萝卜素,用环己烷稀释至适当浓度后,用紫外-可见分光光度仪在波长 421.0 nm 处测定试样溶液的吸光度。因试样中 β -胡萝卜素的顺、反异构体在该波长处

有相同的百分吸光系数,根据该百分吸光系数计算试样中 β -胡萝卜素的总量。

6.3.1.2 试剂或材料

本标准所用的试剂,除特殊说明外,均指分析纯试剂。

6.3.1.2.1 水:符合 GB/T 6682 中规定的二级水。

6.3.1.2.2 无水乙醇。

6.3.1.2.3 二氯甲烷。

6.3.1.2.4 环己烷。

6.3.1.2.5 2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)。

6.3.1.2.6 碱性蛋白酶:酶活力 $>40\ 000$ 单位/g。

6.3.1.3 仪器设备

6.3.1.3.1 分析天平:感量为 0.000 1 g、0.000 01 g。

6.3.1.3.2 超声波振荡提取器。

6.3.1.3.3 离心机。

6.3.1.3.4 紫外-可见分光光度计:波长在 421 nm 处精度为 ± 0.3 nm(或临用前校准)。

6.3.1.4 样品

按照 GB/T 20195 规定执行。

6.3.1.5 试验步骤

平行做两份试验,称取样品适量(相当于 10 mg β -胡萝卜素),置于 250 mL 棕色容量瓶中。在容量瓶中加入 100 mg BHT,200 mg 碱性蛋白酶,10 mL 水,于 50 °C 水浴中超声提取 30 min。加入 100 mL 无水乙醇,135 mL 二氯甲烷,摇匀后继续超声处理 5 min。待提取液冷却后,用二氯甲烷稀释至刻度,摇匀,取适量于 4 000 r/min 离心 5 min。准确吸取上清液 10 mL,置于 100 mL 棕色容量瓶中,加入 10 mL 无水乙醇,用环己烷溶解并稀释至刻度,摇匀后即待测溶液。

6.3.1.6 定量测定

用紫外-可见分光光度仪以环己烷为空白,1 cm 比色皿测定试样溶液(6.3.1.5)在工作波长 421 nm 处的吸光值。

6.3.1.7 试验数据处理

β -胡萝卜素($C_{40}H_{56}$)含量 ω_1 以质量分数(%)表示,按式(1)计算:

$$\omega_1 = \frac{A \times 2\ 500}{1\ 480m} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

A ——试样溶液吸光值;

2 500 ——稀释体积,单位为毫升(mL);

1 480 —— β -胡萝卜素在波长 421 nm 处的百分吸光系数($E_{1\text{ cm}}^{1\%}$);

m ——试样质量,单位为克(g)。

试样中 β -胡萝卜素含量占标示量的百分比 ω_2 ,按式(2)计算:

$$\omega_2 = \frac{\omega_1}{K} \times 100 \dots\dots\dots(2)$$

式中：

w_1 —— β -胡萝卜素含量；

K ——产品中 β -胡萝卜素标示量。

结果用算术平均值表示，保留三位有效数字。

6.3.1.8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值，不大于这两个测定值算术平均值的3%。

6.3.2 高效液相色谱法(仲裁法)

6.3.2.1 原理

酶解法破膜后，用无水乙醇和二氯甲烷提取 β -胡萝卜素，经稀释至适当浓度后注入液相色谱柱，顺、反异构体经色谱柱分离，于波长445 nm处检测，以外标法计算定量，并计算试样中 β -胡萝卜素的总量。

6.3.2.2 试剂或材料

本标准所用的试剂，除特殊说明外，均指分析纯试剂，试剂和溶液的制备应符合GB/T 602和GB/T 603的规定。

6.3.2.2.1 水：符合GB/T 6682中一级用水规定。

6.3.2.2.2 甲醇：色谱纯。

6.3.2.2.3 乙腈：色谱纯。

6.3.2.2.4 异丙醇：色谱纯。

6.3.2.2.5 *N*-乙基二异丙胺。

6.3.2.2.6 四氢呋喃：色谱纯。

6.3.2.2.7 乙酸铵：优级纯。

6.3.2.2.8 2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)。

6.3.2.2.9 0.2%乙酸铵溶液：称取0.2 g乙酸铵，溶于100 mL的水中。

6.3.2.2.10 稀释液：甲醇和乙腈按体积比为1:1的比例混合。

6.3.2.2.11 全反式 β -胡萝卜素标准贮备溶液：取6 mg的全反式 β -胡萝卜素对照品(含量 $\geq 96.0\%$)于100 mL的棕色容量瓶中，加入0.5 g BHT，用四氢呋喃溶解并稀释至刻度，摇匀。冰箱中密闭冷冻保存。

6.3.2.2.12 标准工作溶液的制备及浓度的标定：

制备：准确吸取全反式 β -胡萝卜素标准贮备溶液(6.3.2.2.11)5 mL，置于100 mL棕色容量瓶中，用稀释液(6.3.2.2.10)定容，摇匀后作为HPLC测定的标准工作溶液。

标定：准确吸取全反式 β -胡萝卜素标准贮备溶液(6.3.2.2.11)5 mL，置于100 mL棕色容量瓶中，加入5 mL无水乙醇，用环己烷溶解并稀释至刻度，摇匀。以环己烷为空白，用1 cm的比色皿测定溶液在455 nm处的最大吸收度。

标准溶液的浓度按式(3)计算：

$$C_{\text{std}} = \frac{A_{\text{max}} \times 10\ 000}{2\ 500} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

C_{std} ——全反式 β -胡萝卜素标准工作溶液浓度，单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$)；

A_{max} ——全反式 β -胡萝卜素在455 nm波长处的最大吸收度；

10 000 ——单位转换系数；

2 500 ——全反式 β -胡萝卜素在 455 nm 波长处的百分吸光系数。

6.3.2.2.13 0.45 μm 微孔滤膜。

6.3.2.3 仪器设备

6.3.2.3.1 分析天平:感量为 0.000 1 g、0.000 01 g。

6.3.2.3.2 超声波振荡提取器。

6.3.2.3.3 离心机。

6.3.2.3.4 高效液相色谱仪,配有紫外吸收检测器(或二极管矩阵检测器)。

6.3.2.4 试验步骤

从“平行做两份试验,称取样品适量(相当于 10 mg β -胡萝卜素),……于 4 000 r/min 离心 5 min。”同 6.3.1.5。准确吸取上清液 5 mL,置于 50 mL 棕色容量瓶中,用稀释液(6.3.2.2.10)定容,摇匀后即为待测溶液。

6.3.2.5 推荐色谱条件

色谱柱:Vydac 218TP54¹⁾ C18 柱,柱长 250 mm、内径 4.6 mm、粒径 5 μm ,或性能相当者。

流动相:在 1 L 的容量瓶中加入 50 mg 的 BHT,用 20 mL 的异丙醇溶解,加入 0.2 mL 的 *N*-乙基二异丙胺,25 mL 0.2% 乙酸铵溶液,455 mL 的乙腈和 450 mL 的甲醇,摇匀,溶液至室温后用甲醇定容,经 0.45 μm 滤膜过滤后使用。

流速:1 mL/min。

检测波长:445 nm。

进样量:20 μL 。

6.3.2.6 定量测定

按照色谱条件,向色谱柱中注入全反式 β -胡萝卜素标准工作溶液及试样待测溶液 B,得到色谱峰面积响应值,用外标法定量。

注:全反式 β -胡萝卜素的保留时间约为 17 min。色谱图 A.1 中顺式 β -胡萝卜素的定位通过其与全反式 β -胡萝卜素的相对保留时间来确认。在推荐的色谱条件下,9-顺式 β -胡萝卜素的相对保留时间约为 1.13,13-顺式 β -胡萝卜素与全反式 β -胡萝卜素的相对保留时间约为 1.19,15-顺式 β -胡萝卜素的相对保留时间约为 1.25。

6.3.2.7 试验数据处理

试样中 β -胡萝卜素($\text{C}_{40}\text{H}_{56}$)含量 w_3 以质量分数(%)表示,按式(4)计算:

$$w_3 = \frac{(A_{\text{trans}} + A_{9\text{cis}} + 1.2A_{13\text{cis}} + 1.4A_{15\text{cis}})C_{\text{std}} \times 2\,500}{A_{\text{std}}m \times 10\,000} \dots\dots\dots(4)$$

式中:

A_{trans} ——试液中反式 β -胡萝卜素的峰面积;

$A_{9\text{cis}}$ ——试液中 9-顺式 β -胡萝卜素的峰面积;

1.2 ——13-顺式 β -胡萝卜素的相对校正系数;

$A_{13\text{cis}}$ ——试液中 13-顺式 β -胡萝卜素的峰面积;

1) Vydac 218TP54 是由美国格雷斯(GRACE)公司提供的色谱柱商品。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效产品。

- 1.4 ——15-顺式 β-胡萝卜素的相对校正系数；
- $A_{15\text{ cis}}$ ——试液中 15-顺式 β-胡萝卜素的峰面积；
- C_{std} ——全反式 β-胡萝卜素标准工作溶液的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$)；
- 2 500 ——稀释体积,单位为毫升(mL)；
- A_{std} ——全反式 β-胡萝卜素标准工作溶液的的峰面积；
- m ——试样的质量,单位为克(g)；
- 10 000 ——单位转换系数。

试样中 β-胡萝卜素含量占标示量的百分比 w_4 ,按式(5)计算:

$$w_4 = \frac{w_3}{K} \times 100 \dots\dots\dots(5)$$

式中:

- w_3 ——β-胡萝卜素含量；
- K ——β-胡萝卜素标示量。

结果用算术平均值表示,保留三位有效数字。

6.3.2.8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于这两个测定值算术平均值的 3%。

6.4 干燥失重

按照 GB/T 6435—2014 中 8.1 直接干燥法测定。

6.5 粒度

按照 GB/T 5917.1 测定,结果称取筛下物,以通过率表示。

6.6 总砷

称取试样 2.50 g(精确到 0.001 g),按照 GB/T 13079—2006 中第 5 章银盐法(仲裁法)测定。

6.7 重金属

称取 1 g(精确到 0.000 1 g)试样,按 GB/T 6438 对其进行灰化,然后按照 GB 8821—2011 中 A.6 测定。

7 检验规则

7.1 组批

以相同材料、相同生产工艺、连续生产或同一班次生产的同一规格的产品为一批,但每批产品不得超过 30 t。

7.2 出厂检验

出厂检验项目为外观与性状、β-胡萝卜素含量、干燥失重、粒度。

7.3 型式检验

型式检验项目为第 4 章规定的所有项目。在正常生产情况下,每半年至少进行 1 次型式检验。有

下列情况之一时,亦应进行型式检验:

- a) 产品定型投产时;
- b) 生产工艺、配方或主要原料来源有较大改变,可能影响产品质量时;
- c) 停产 3 个月以上,重新恢复生产时;
- d) 出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差异时;
- e) 饲料行政管理部门提出检验要求时。

7.4 判定规则

7.4.1 所验项目全部合格,判定为该批次产品合格。

7.4.2 检验结果中有任何指标不符合本标准规定时,可自同批产品中重新加倍取样进行复检。复检结果有一项指标不符合本标准规定,即判定该批产品不合格。

7.4.3 各项目指标的极限数值判定按 GB/T 8170 中全数值比较法执行。

8 标签、包装、运输、贮存和保质期

8.1 标签

按 GB 10648 规定执行。

8.2 包装

包装材料应无毒、无害、防潮。

8.3 运输

运输中防止包装破损、日晒、雨淋,不得与有毒有害物质混运。

8.4 贮存

贮存时防止日晒、雨淋,不得与有毒有害物质混储。

8.5 保质期

未开启包装的产品,在规定的运输、贮存条件下,原包装自生产之日起的保质期为不少于 12 个月。

附录 A
(资料性附录)
全反式 β -胡萝卜素色谱图

全反式 β -胡萝卜素色谱图见图 A.1。

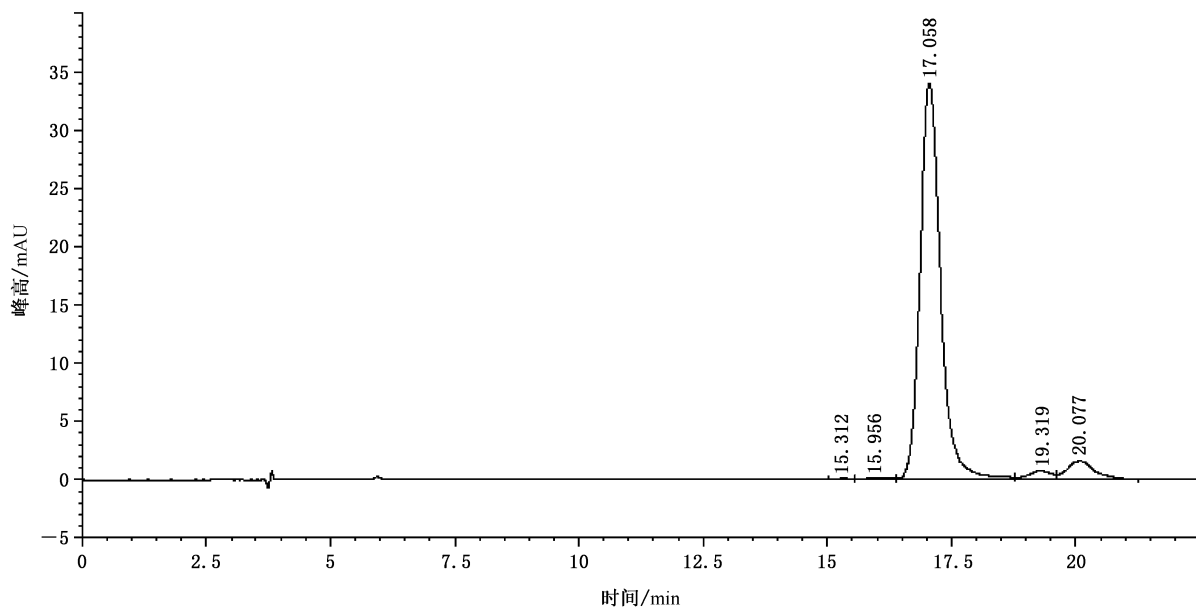


图 A.1 全反式 β -胡萝卜素标准溶液(浓度为 $3 \mu\text{g/mL}$)色谱图

注：全反式 β -胡萝卜素色谱峰保留时间为 17.058 min, 9-顺式 β -胡萝卜素色谱峰保留时间为 19.319 min, 13-顺式 β -胡萝卜素色谱峰保留时间为 20.007 min。