ICS 67.080.01
CCS X 77

QB

中华人民共和国轻工行业标准

QB/T 5759—2022

番茄酱罐头中番茄红素含量测定 高效液相色谱法

Determination of lycopene in canned tomato paste—HPLC method

（报批稿）

工业和信息化部标准报批公示

－ － 发布　　－ － 实施

中华人民共和国工业和信息化部　发布

前　　言

本文件按照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。

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件由全国食品工业标准化技术委员会罐头分技术委员会（SAC/TC64/SC2）归口。

本文件起草单位：上海交通大学、中国食品发酵工业研究院有限公司、厦门市产品质量监督检验院、华测检测认证集团股份有限公司、新疆新康农业发展有限公司 、中粮新疆屯河加工番茄工程技术研究中心（有限公司）、新疆冠农果茸股份有限公司、山西仲测计量研究院有限公司、漳州海关综合技术服务中心、中国罐头工业协会。

本文件主要起草人：王正武、仇凯、方荣谦、张维、东思源、柴平海、高静、何旻霞、谭奇敏、刘中海、吴二豪、王登飞、晁曦、常迪、童跃聪、孙宇、戚晨晨、高红波、崔海滨、肖莉、杨伟敏、陈泳、陈其钢、申玥琦、张国玉、周璇、张宇聪、赵娅鸿。

本文件为首次发布。

工业和信息化部标准报批公示

番茄酱罐头中番茄红素含量测定　高效液相色谱法

1　范围

本文件描述了采用高效液相色谱法测定番茄酱罐头中番茄红素含量的方法。

本文件适用于采用高效液相色谱法进行番茄酱罐头中番茄红素含量的测定。

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。

3　原理

试样在碱性溶液中皂化，经稀盐酸溶液中和至中性，用有机溶剂萃取试样中的番茄红素，合并有机相并进行浓缩，经C_{30}色谱柱分离，高效液相色谱-紫外检测器测定，外标法定量。

4　试剂

除另有说明外，所有试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

4.1　甲醇（CH_3OH）：色谱纯。

4.2　甲基叔丁基醚（$C_5H_{12}O$）：色谱纯。

4.3　二氯甲烷（CH_2Cl_2）。

4.4　浓盐酸（HCl）。

4.5　无水乙醇（C_2H_6O）。

4.6　氯化钠（NaCl）。

4.7　氢氧化钠（NaOH）。

4.8　2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)。

4.9　石油醚：沸程在 60 ℃~90 ℃。

4.10　番茄红素标准品（CAS：502-65-8）：包含 13z-番茄红素、9z-番茄红素、全反式-番茄红素、5z-番茄红素混合物，有证标准物质，纯度大于 95%。

4.11　氢氧化钠溶液（0.5 mol/L）：称取 20 g（精确至 0.01 g）氢氧化钠（4.7）于 500 mL 烧杯中，加适量水溶解，待溶液恢复室温后，转移至 1000 mL 容量瓶中定容至刻度。

4.12　盐酸溶液（0.6 mol/L）：准确量取 25 .0 mL 浓盐酸（4.4）溶液于 500 mL 容量瓶中，用水稀释并定容至刻度。

4.13　2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)-二氯甲烷溶液（5 g/L）：准确称取 0.5 g（精确到 0.01 g） 2,6-二叔丁基对甲酚（4.8）于烧瓶中加适量二氯甲烷溶解，转移至 100 mL 棕色容量瓶中，用二氯甲烷（4.3）定容至刻度。

4.14　二氯甲烷-甲醇混合溶液（1+1，体积比）：量取甲醇（4.1）100 mL 和二氯甲烷（4.3）100 mL，于试剂瓶中混合。

4.15　番茄红素标准储备溶液（100 mg/L）：分别准确称取 5 mg (精确至 0.1 mg）番茄红素标准品(4.10)和 10 mg BHT（4.8）(精确至 0.1 mg）于烧杯中，用少量二氯甲烷溶解，完全转移至 50 mL 棕色容量瓶中并定容刻度，-20℃避光保存，24 h 内可使用。

4.16　番茄红素标准溶液：量取 1.0 mL（V_A）番茄红素标准储备溶液（4.15），置于 50 mL（V_B）棕色容量瓶中，加入 5.0 mL 无水乙醇(4.5)和 5.0 mL BHT(4.13)溶液，用石油醚（4.9）定容，混匀后将溶液置于 1 cm 比色皿中，以石油醚（4.9）作空白对照，用紫外-可见光分光光度计在 472 nm 处测定吸光度。吸光度应控制在 0.3~0.7 之间，否则应调整溶液浓度，再重新测定吸光度。番茄红素标准溶液浓度 C_{st}，按公式（1）计算

$$c_{st} = \frac{A_{max} \times D \times 10000}{3450} \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：

C_{st}——番茄红素标准溶液浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

A_{max}——番茄红素溶液在 472 nm 附近的最大吸收波长处测得的吸光度值；

D ——稀释因子（V_B/V_A）；

10 000——浓度换算因子；

3 450——番茄红素的吸光系数。

4.17　番茄红素系列标准工作液：分别准确量取 0 mL、0.05 mL、0.1 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.8 mL、1.0 mL 番茄红素标准储备溶液（4.15），用二氯甲烷（4.3）定容至 10 mL，得到浓度为 0 μg/mL、0.5 μg/mL、1.0 μg/mL、2.0 μg/mL、4.0 μg/mL、8.0 μg/mL、10.0 μg/mL 的标准工作溶液，现配现用。

标准工作液浓度按照标定的实际浓度计算，标准曲线浓度范围可根据标定浓度适当调整。

5　仪器和材料

5.1　高效液相色谱仪：配备紫外检测器（UV）。

5.2　电子天平：感量 0.1 mg 和 0.01 g。

5.3　磁力搅拌器。

5.4　旋转蒸发仪。

5.5　涡旋混合器。

5.6　振荡器

5.7　pH 计。

5.8　有机微孔滤膜：孔径 0.45 μm。

6　分析步骤

6.1　样品前处理

称取 0.5 g 样品（精确至 0.01 g）于 50 mL 离心管中，加入 5 mL 氢氧化钠溶液（4.11）溶解混匀，25℃室温皂化 30 min，分别加入 15 mL 水和约 2 g 氯化钠（4.6），充分震荡使溶液分散均匀，用盐酸溶液（4.12）中和至 pH=7.0，加入 20 mL BHT-二氯甲烷溶液（4.13），振荡 10 min，4 000 r/min 离心 3 min，用玻璃吸管将下层有机溶液全部转移至 250 mL 圆底烧瓶中，在上层水相和残渣中加入 20 mL BHT-二氯甲烷溶液（4.13），重复以上操作 3 次，直至水相和残渣无色，合并有机相。

将圆底烧瓶中的有机溶液在40℃下浓缩旋蒸至约2 mL左右，将溶液转移至10 mL的棕色容量瓶中，用BHT-二氯甲烷溶液（4.13）润洗圆底烧瓶至少3次，合并润洗液并定容，滤液经0.45 μm有机微孔滤膜过滤，用于液相色谱检测。

6.2 仪器参考条件

6.2.1 色谱柱：C_{30}色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）或性能相当者。
6.2.2 流动相：A为甲醇，B为甲基叔丁基醚：三乙胺=100：0.05（体积比）。
6.2.3 流速： 1.0 mL/min。
6.2.4 检测波长：472 nm。
6.2.5 柱温：30 ℃。
6.2.6 进样量：10 μL。
6.2.7 梯度洗脱条件，见表1。

表1 梯度洗脱程序表

时间/min	A/（%）	B/（%）
0	80	20
15	65	35
20	45	55
24	35	65
30	32	68
37	20	80
39	10	90
42	10	90
43	80	20
48	80	20

6.3 定性分析

分别将番茄红素标准工作液和经6.1制备的试样溶液进样测定，以番茄红素的保留时间定性，定性色谱图见附录A。

6.4 外标法定量

将6.1制备的试样注入高效液相色谱仪，测定试样中各组份谱峰面积，以番茄红素标定后的系列标准工作液浓度为横坐标，以番茄红素各异构体的峰面积和为纵坐标，绘制标准曲线，由标准工作曲线计算试样中的番茄红素和总含量。

6.5 结果计算

样品中番茄红素的含量按式（2）计算：

$$X = \frac{c \times V \times 100}{m \times 1000} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots（2）$$

式中：

X——样品中的对于组分的质量分数，单位为毫克每百克（mg/100g）；

c——待测溶液中番茄红素总浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

V——溶液的定容体积，单位为克（mL）；

100——换算因子；

m——样品质量，单位为克（g）；

1 000——换算因子。

测定结果取两次测定的算术平均值，计算结果保留至小数点后二位。

6.6 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应超过其算术平均值的10%。

6.7 检出限和定量限

本文件中番茄红素的检出限为0.30 mg/100g，定量限为1.00 mg/100g。

工业和信息化部标准报批公示

附 录 A
（资料性）
番茄红素标准品和番茄罐头的色谱图

番茄红素标准品及其异构体液相色谱图和番茄酱罐头中番茄红素及其异构体液相色谱图见图 A.1 和 A.2。

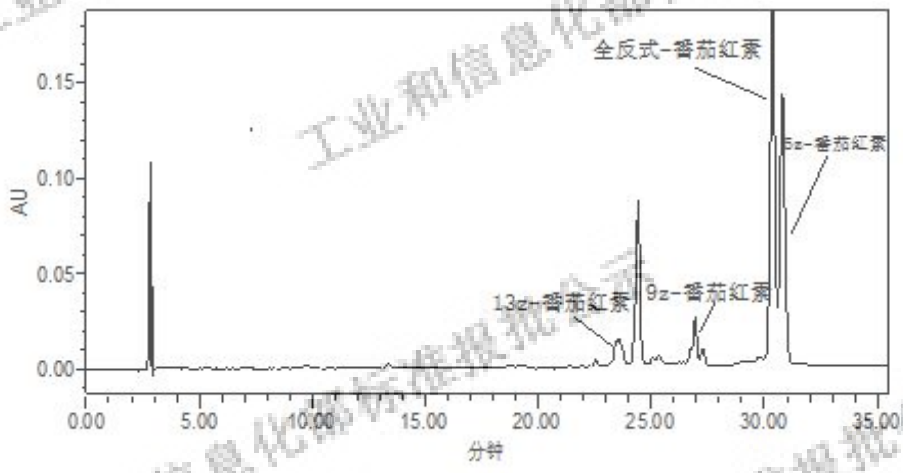

图 A.1 番茄红素标准品及其异构体液相色谱图

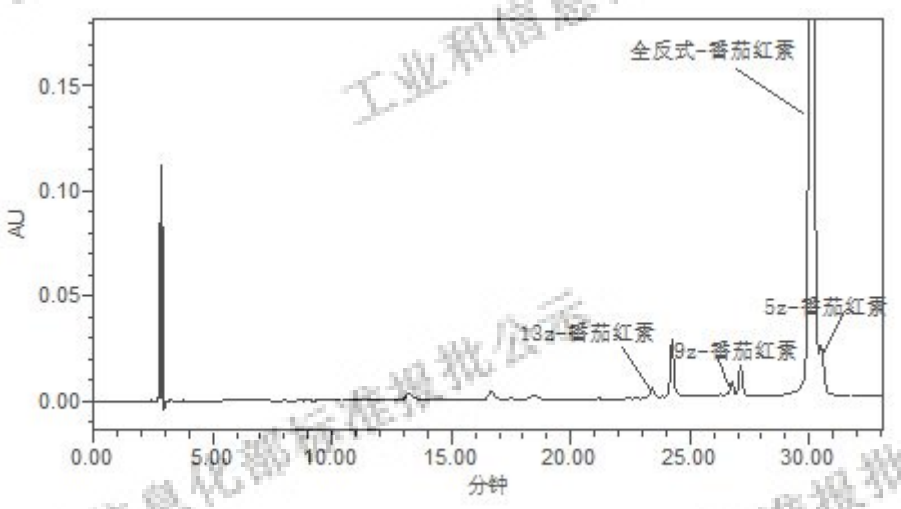

图 A.2 番茄酱罐头中番茄红素及其异构体液相色谱图

工业和信息化部标准报批公示