

ICS 67.040
CCS X 80

QB

中华人民共和国轻工行业标准

QB/T XXXXX—XXXX

叶黄素酯及其制品

Lutein Ester and its products

征求意见稿

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 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。

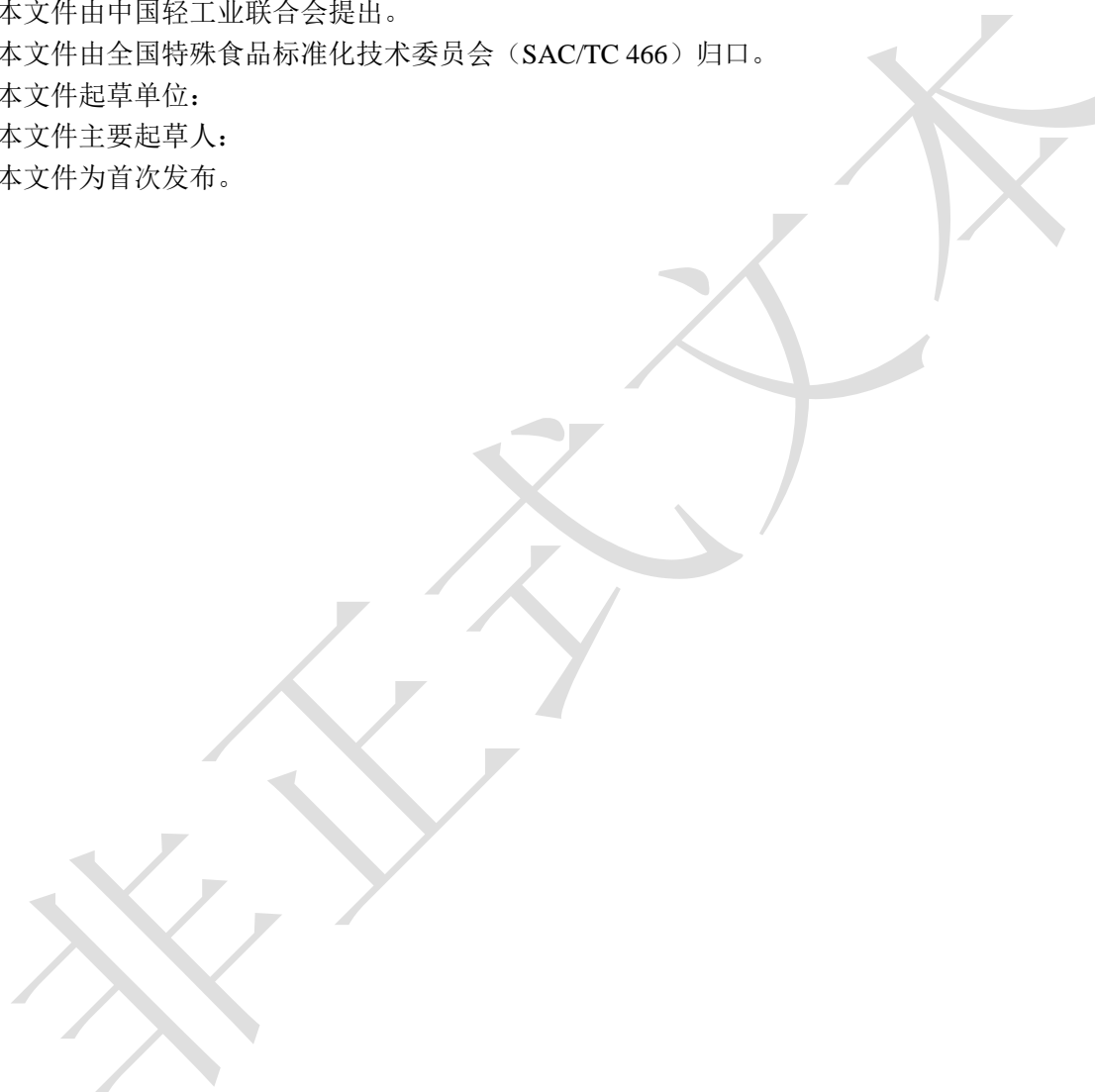
本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件由全国特殊食品标准化技术委员会（SAC/TC 466）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

本文件为首次发布。



叶黄素酯及其制品

1 范围

本文件规定了叶黄素酯及其制品的术语和定义、产品分类、要求、试验方法、检验规则和标志、包装、运输、贮存。

本文件适用于叶黄素酯及其制品的生产、检验和销售。

2 规范性引用文件

下列文件的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期的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 191 包装储运图示标志

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 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定

GB/T 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法

GB 7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则

GB 26405-2011 食品安全国家标准 食品添加剂 叶黄素

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

叶黄素酯 lutein ester

以万寿菊花为原料，经脱水粉碎、溶剂提取、低分子量醇纯化和真空浓缩等步骤生产而成的产品。

3.2

叶黄素酯制品 lutein ester products

以叶黄素酯为原料，经添加或不添加辅料、食品添加剂制得的低浓度叶黄素酯产品。

注：可以作为食品原料使用。

4 产品分类

4.1 按产品性质分为叶黄素酯和叶黄素酯制品。

4.2 叶黄素酯制品按产品形态不同分为叶黄素酯油悬液、叶黄素酯粉。

5 要求

5.1 感官要求

应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	要 求		
	叶黄素酯	叶黄素酯制品	
		叶黄素酯油悬液	叶黄素酯粉
状 态	细小颗粒或粉末	黏性油状液体	细小颗粒或粉末
色 泽	深红棕色	本品固有色泽	
气 味	本品特有的气味，无异味		
杂 质	无正常视力可见异物		

5.2 理化要求

应符合表2的规定。

表2 理化要求

项 目	要 求		
	叶黄素酯	叶黄素酯制品	
		叶黄素酯油悬液	叶黄素酯粉
总类胡萝卜素酯, g/100 g \geq	60.0	6.0	2.0
叶黄素酯（以叶黄素二棕榈酸酯计）, g/100 g	> 55.8	≥ 5.0	≥ 1.0
玉米黄质酯, g/100 g	< 4.2	—	
水分, g/100 g \leq	5.0	1.0	5.0

5.3 食品安全要求

5.3.1 溶剂残留

应符合表3的规定。

表3 溶剂残留要求

项 目	要 求	
	叶黄素酯	叶黄素酯制品
正己烷, mg/kg <	10	—

5.3.2 污染物限量

铅（Pb）、总砷（以As计）应符合GB 26405的规定。

5.3.3 微生物限量

应符合表4的规定。

表4 微生物限量

项 目	要 求	检验方法
菌落总数/（CFU/g或CFU/mL）	≤ 1000	GB 4789.2
大肠菌群/（CFU/g或CFU/mL）	≤ 10	GB 4789.3 平板计数法
霉菌和酵母/（CFU/g或CFU/mL）	≤ 100	GB 4789.15
沙门氏菌/25 g或 mL	不得检出	GB 4789.4
金黄色葡萄球菌/25 g或 mL	不得检出	GB 4789.10

6 试验方法

6.1 一般要求

本方法中所用的水，在未注明其他要求时，应符合GB/T 6682-2008中二级水的规格，所用试剂，在未注明其他规格时，均指分析纯。分析中所用标准滴定溶液、杂质测定用标准溶液、制剂及制品，在没有注明其它要求时，均按GB/T 601、GB/T 602、GB/T 603的规定制备。

本方法中非水溶性产品指不能溶于水的产品，如叶黄素酯、叶黄素酯油悬液、未经包埋的叶黄素酯粉；水溶性产品指能够溶于水的产品，如经包埋的叶黄素酯粉。

6.2 感官检验

取适量样品，置于清洁、干燥的白瓷盘中，在自然光的光线下，用正常视力观察样品的状态和色泽，检查其有无明显可见异物。取适量样品嗅其味，做好感官记录。

6.3 总类胡萝卜素酯

6.3.1 试剂

6.3.1.1 正己烷。

6.3.1.2 四氢呋喃。

6.3.1.3 无水乙醇。

6.3.2 仪器设备

6.3.2.1 可见分光光度计。

6.3.2.2 分析天平，精确至 0.1 mg。

6.3.2.3 超声清洗器。

6.3.2.4 离心机，转速 ≥ 3000 r/min。

6.3.2.5 0.45 μm 滤膜，PTFE 材质。

6.3.3 分析步骤

非水溶性产品：称取适量试样（0.02 g~0.10 g），精确至0.1 mg，置于100 mL棕色容量瓶中，加入适量正己烷，超声溶解后恢复至室温，用正己烷定容，摇匀。准确移取1 mL于100 mL棕色容量瓶中（或根据样品含量适当稀释，记录稀释倍数），用正己烷定容，摇匀。置于1 cm比色皿中，以正己烷做空白对照，用可见分光光度计在445 nm处的最大吸收波长处测定吸光度。（吸光度应控制在0.3~0.7之间，否则应调整试样液浓度，再重新测定吸光度。）

水溶性产品：称取适量试样（0.02 g~0.20 g），精确至0.1 mg，置于100 mL棕色容量瓶中，加入10 mL水超声溶解2 min，加入40 mL四氢呋喃，混匀后超声萃取2 min，恢复至室温后用无水乙醇定容，摇匀。通过离心或过滤膜方式得到上层溶液1 mL置于25 mL容量瓶中，用乙醇定容，摇匀，待测。置于1 cm比色皿中，以无水乙醇做空白对照，用可见分光光度计445 nm处的最大吸收波长处测定吸光度。（吸光度应控制在0.3~0.7之间，否则应调整试样液浓度，再重新测定吸光度。）

注：上述操作过程应尽快完成，尽可能地避免暴露在空气中，应保证所有操作均避免阳光直射。

6.3.4 结果计算

总类胡萝卜素酯含量以总类胡萝卜素酯的质量分数计，数值以克每100克（g/100 g）表示，按公式（1）计算：

$$W_0 = \frac{(A - A_0) \times d}{m \times 1394} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

W_0 ——总类胡萝卜素酯的含量，单位为克每100克（g/100 g）；

A ——实际测定试样液的吸光度；

A_0 ——空白试样的吸光度；

d ——被测试样样品稀释倍数；

m ——试样的称样质量，单位为克（g）；

1394——试样液在波长445 nm处的吸收系数。

实验结果以平行测定结果的算术平均值为准，计算结果保留小数点后一位有效数字。

6.3.5 精密度

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的3.0%。

6.4 叶黄素酯（以叶黄素二棕榈酸酯计）、玉米黄质酯

6.4.1 方法一

6.4.1.1 试剂

6.4.1.1.1 正己烷，色谱纯。

6.4.1.1.2 氯化钠。

6.4.1.1.3 无水乙醇。

6.4.1.1.4 异丙醇。

6.4.1.1.5 乙酸乙酯，色谱纯

6.4.1.1.6 氢氧化钾。

6.4.1.1.7 甲醇。

6.4.1.1.8 无水硫酸钠。

6.4.1.1.9 四氢呋喃，色谱纯。

6.4.1.1.10 石油醚（30-60）。

6.4.1.1.11 胰酶：BR，胰蛋白酶活力 $\geq 3500\text{U/g}$ 。

6.4.1.1.12 氢氧化钾-甲醇溶液：称取 40 g 氢氧化钾置于 250 mL 烧杯中，加入 10 mL 水，搅拌初步溶解后，再加入少量甲醇，继续搅拌溶解，转移上清液至 100 mL 容量中，反复加入甲醇溶解残渣操作数次，直至转移完全，混匀后放至室温，用甲醇定容，混匀备用。

6.4.1.1.13 叶黄素对照品：CAS 号 127-40-2，纯度 $\geq 70.0\%$ 。

6.4.1.1.14 玉米黄质对照品：CAS 号 144-68-3，纯度 $\geq 70.0\%$ 。

6.4.1.2 仪器设备

6.4.1.2.1 高效液相色谱仪，配有紫外检测器或相当性能的检测器。

6.4.1.2.2 超声清洗机。

6.4.1.2.3 恒温水浴锅。

6.4.1.2.4 0.45 μm 滤膜，PTFE 材质。

6.4.1.2.5 分析天平，精确到 0.01 mg。

6.4.1.2.6 离心机，转速 $\geq 3000\text{ r/min}$ 。

6.4.1.3 参考色谱条件

参考色谱条件如下：

a) 色谱柱：硅胶柱， $\phi 4.6\text{ mm} \times 250\text{ mm}$ ，粒度 5 μm ；或其他等效的色谱柱。

b) 流动相：正己烷：乙酸乙酯=70：30（V/V）。

- c) 柱温：40 °C。
- d) 流速：1.5 mL/min。
- e) 紫外检测波长：445 nm。
- f) 进样量：20 μL。

6.4.1.4 分析步骤

6.4.1.4.1 标准溶液制备

分别称取1 mg叶黄素标准品和玉米黄质标准品，精确至0.01 mg，移入25 mL棕色容量瓶，加入约5 mL四氢呋喃溶解后，用流动相定容，摇匀备用。

6.4.1.4.2 试样液的制备

非水溶性产品：称取适量样品（含叶黄素酯含量约为15 mg-20 mg）于100 mL圆底烧瓶中，加入30 mL异丙醇溶解，再加入2 mL氢氧化钾-甲醇溶液，在55 °C水浴中暗处反应30 min后，迅速冷却至室温，取1 mL反应液加0.5 mL四氢呋喃和1.5 mL正己烷涡旋1 min提取，加入10 mL去离子水轻轻振摇10 s，3000 转/min离心5 min（注：水层应无色素析出，否者应重新提取处理），立即取上层并加0.5 g无水硫酸钠除水后备用。

水溶性产品：称取适量试样（含叶黄素酯含量约为15 mg-20 mg）至50 mL离心管中，加入10 mL水，使样品形成乳液（如形成乳液困难，可加入0.1 g胰酶40 °C保温约10 min），再加入3 g氯化钠，涡旋2 min，再加入10 mL乙醇混匀，再加入20 mL石油醚，密封，剧烈振摇1 min，3000 转/min离心5 min，取石油醚层至旋转蒸发瓶中，60 °C减压蒸干。取上述蒸干样品，加入30 mL异丙醇、2 mL 0.4 g/mL 氢氧化钾-甲醇溶液，于55 °C水浴锅中暗处进行皂化反应，反应30 min后取出立即冷却至室温。取皂化反应液1 mL至25 mL离心管中，加入0.5 mL四氢呋喃和1.5 mL正己烷，涡旋提取1 min，加入10 mL水溶液轻轻振摇10 s，3000 转/min离心5 min，注意此时水层应无色素析出，否者需重新提取处理。立即取上层液体加入0.5 g无水硫酸钠除水后备用。

注1：加胰酶破壁操作，定容后，不要剧烈振摇；

注2：上述操作过程应尽快完成，尽可能地避免暴露在空气中，应保证所有操作均避免阳光直射。

6.4.1.4.3 试样测定

在6.4.1.3参考色谱条件下，对叶黄素和玉米黄质的标准溶液进行测定，记录色谱图。

在6.4.1.3参考色谱条件下，对试样液进行测定，根据标准品的保留时间定性，记录色谱图。重复实验两次，分别得到叶黄素或玉米黄质峰面积占色谱图上所有可见峰面积之和的比例，取其平均值。

6.4.1.5 结果计算

叶黄素酯（以叶黄素二棕榈酸酯计）含量以质量分数计，数值以克每100克（g/100 g）表示，按公式（2）计算：

$$w_1 = w_0 \times A_1 \dots\dots\dots (2)$$

玉米黄质酯含量以质量分数计，数值以克每100克（g/100 g）表示，按公式（3）计算：

$$w_2 = w_0 \times A_2 \dots\dots\dots (3)$$

式中：

w_0 ——总类胡萝卜素酯的含量，单位为克每100克（g/100 g）；

w_1 ——叶黄素酯（以叶黄素二棕榈酸酯计）的含量，单位为克每100克（g/100 g）；

w_2 ——玉米黄质酯的含量，单位为克每100克（g/100 g）；

A_1 ——色谱图中叶黄素的峰面积百分比；

A_2 ——色谱图中玉米黄质的峰面积百分比。

实验室结果以平行测定结果的算术平均值为准，计算结果保留小数点后两位数字。

6.4.1.6 精密度

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

6.4.2 方法二（仲裁法）

6.4.2.1 试剂

6.4.2.1.1 甲醇，色谱纯。

6.4.2.1.2 甲基叔丁基醚：色谱纯。

6.4.2.1.3 二丁基羟基甲苯（BHT）。

6.4.2.1.4 石油醚（30-60）。

6.4.2.1.5 氯化钠。

6.4.2.1.6 无水乙醇：色谱纯。

6.4.2.1.7 正己烷：色谱纯。

6.4.2.1.8 氢氧化钾。

6.4.2.1.9 去离子水。

6.4.2.1.10 异丙醇。

6.4.2.1.11 环己烷。

6.4.2.1.12 叶黄素标准品（C₄₀H₅₆O₂，CAS号：127-40-2）：纯度≥90%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

6.4.2.1.13 玉米黄质标准品（C₄₀H₅₆O₂，CAS号：144-68-3）：纯度≥90%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

6.4.2.1.14 氢氧化钾-甲醇溶液：称取40g氢氧化钾置于250mL烧杯中，加入10mL水，搅拌初步溶解后，再加入少量甲醇，继续搅拌溶解，转移上清液至100mL容量中，反复加入甲醇溶解残渣操作数次，直至转移完全，混匀后放至室温，用甲醇定容，混匀备用。

6.4.2.1.15 BHT-乙醇溶液（0.1g/100mL）：称取0.1gBHT，以100mL乙醇溶解，混匀。

6.4.2.2 仪器设备

- 6.4.2.2.1 高效液相色谱：UV 检测器。
- 6.4.2.2.2 液相色谱处理机：化学工作站。
- 6.4.2.2.3 色谱柱：C30 色谱柱,5 μ m,250mm \times 4.6mm（内径）或相当者。
- 6.4.2.2.4 紫外分光光度计。
- 6.4.2.2.5 旋转蒸发仪。
- 6.4.2.2.6 超声波。
- 6.4.2.2.7 离心机。
- 6.4.2.2.8 分析天平。

6.4.2.3 分析步骤

6.4.2.3.1 参考色谱条件

- a) 检测器：UV 检测器，445 nm
- b) 柱温：30 $^{\circ}$ C
- c) 流速：1.0 mL/min
- d) 进样量：50 μ L
- e) 流动相：甲醇/水（88+12，体积比，含 0.1%BHT）-甲基叔丁基醚（含 0.1%BHT），梯度洗脱，0min~18min，甲醇/水由 100%变换至 10%；18.1min，甲醇/水由 10%变换至 100%，保留 10min。

6.4.2.3.2 标准溶液配制

a) 叶黄素标准溶液配制

叶黄素标准储备液（50 μ g/mL）：准确称取5mg叶黄素标准品，用0.1%BHT乙醇溶液溶解并定容至100mL。该标准储备液充氮避光置于-20 $^{\circ}$ C或以下的冰箱中可保存六个月。（注：叶黄素标准储备液使用前需校正，具体操作见附录A）。

叶黄素标准工作液从标准储备液中准确移取0.010 mL、0.050mL、0.250mL、0.500mL、1.00 mL溶液分别移入25mL棕色容量瓶中，用0.1%BHT乙醇溶液定容至刻度，得到浓度为0.020 μ g/mL、0.100 μ g/mL、0.500 μ g/mL、1.00 μ g/mL、2.00 μ g/mL系列标准工作液。标准工作液充氮避光置于-20 $^{\circ}$ C或以下的冰箱中可保存一个月。

b) 玉米黄质标准溶液配制

玉米黄质标准储备液（50 μ g/mL）：准确称取5mg玉米黄质标准品，用0.1% BHT乙醇溶液溶解并定容至100mL。该标准储备液充氮避光置于-20 $^{\circ}$ C或以下的冰箱中可保存六个月。（注：玉米黄质标准储备液使用前需校正，具体操作见附录A）

玉米黄质标准工作液从标准储备液中准确移取0.010 mL、0.050mL、0.250mL、0.500mL、1.00 mL

溶液分别移入25mL棕色容量瓶中，用0.1%BHT乙醇溶液定容至刻度，得到浓度为0.020 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 系列标准工作液。标准工作液充氮避光置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 或以下的冰箱中可保存一个月。

6.4.2.3.3 试样液制备

a) 非水溶性产品

准确称取0.0250-0.1000g样品（精确至0.0001g，含叶黄素酯或玉米黄质酯含量约为2.5mg-10mg）至平底烧瓶中，加入25mL异丙醇，超声溶解，加入2mL 0.4g/mL KOH-甲醇溶液，55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴暗处反应30min，立即冷却至室温，将皂化液完全转移至50mL容量瓶中，用无水乙醇定容，取皂化反应液1mL至50mL容量瓶中，无水乙醇稀释定容，过0.45 μm 滤膜，供液相色谱测定。

b) 水溶性产品

准确称取0.0250-0.1000g样品（精确至0.0001g，含叶黄素酯或玉米黄质酯含量约为2.5mg-10mg），置于50mL离心管中，加入10mL水，使样品完全溶解，加入3g氯化钠，涡旋2min，再加入15mL乙醇，剧烈振摇5min，加入20mL石油醚，密封，剧烈振摇10min，3000rpm/min离心3min，取石油醚层至旋转蒸发瓶中，重复上述石油醚提取步骤，提取完全至水层没有颜色，合并提取液至旋转蒸发瓶中，减压蒸干。旋转蒸发瓶中加入25mL异丙醇，超声溶解，加入2mL 0.4g/mL KOH-甲醇溶液，55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴暗处反应30min，立即冷却至室温，将皂化液完全转移至50mL容量瓶中，用无水乙醇定容，取皂化反应液1mL至50mL容量瓶中，无水乙醇稀释定容，过0.45 μm 滤膜，供液相色谱测定。

6.4.2.3.4 标准曲线绘制

将叶黄素的标准系列工作液分别注入液相色谱中，测定相应的峰面积，以标准工作液的浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

将玉米黄质的标准系列工作液分别注入液相色谱中，测定相应的峰面积，以标准工作液的浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

6.4.2.3.5 测定

待测样液中叶黄素或玉米黄质的响应值应在仪器线性响应范围内，否则应适当稀释或浓缩。标准工作液与待测样液等体积进样。根据标准溶液色谱峰的保留时间和峰面积，对试样溶液的色谱峰根据保留时间进行定性（待测样品中化合物色谱峰的保留时间与标准溶液相比变化范围应在 $\pm 2.5\%$ 之内），外标法定量。

6.4.2.4 结果计算

叶黄素酯（以叶黄素二棕榈酸酯计）含量以质量分数计，数值以克每100克（g/100g）表示，按公式

(4) 计算：

$$X_1 = \frac{C \times V \times 1.84}{m \times F \times 10000} \dots\dots\dots (4)$$

式中:

X_1 ——试样中叶黄素酯(以叶黄素二棕榈酸酯计)含量(g/100 g);

C ——由标准曲线而得的样液中叶黄素含量(ug/mL);

m ——称取样品的质量 (g);

V ——样品稀释体积 (mL);

F ——校正系数, 用液相色谱分析试样溶液, 将顺式与反式叶黄素色谱峰面积加合作为总峰面积, 其中反式叶黄素峰面积除以总峰面积所得值为校正系数;

1.84: 叶黄素转化为叶黄素二棕榈酸酯的转换系数;

10000: 单位换算系数。

玉米黄质酯含量以质量分数计, 数值以克每 100 克 (g/100 g) 表示, 按公式 (5) 计算:

$$X_2 = \frac{C \times V \times 1.84}{m \times 10000} \dots\dots\dots (5)$$

式中:

X_2 ——试样中玉米黄质酯含量(g/100 g);

C ——由标准曲线而得的样液中玉米黄质浓度(ug/mL);

m ——称取样品的质量 (g);

V ——样品稀释体积 (mL);

1.84——玉米黄质转化为玉米黄质酯的转换系数;

10000——单位换算系数。

实验室结果以平行测定结果的算术平均值为准, 计算结果保留小数点后两位数字。

6.4.2.5 精密度

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算数平均值的 10%。

6.5 水分

按 GB 5009.3 测定。

6.6 正己烷

按GB 26405-2011中的附录A.5测定。

7 检验规则

7.1 组批

同种原料，采用相同工艺生产的，同一包装线同一生产日期包装出厂（或入库的），质量均一的产品为一批。

7.2 抽样

从整批产品中抽取样品时，应先从整批中抽取若干包装单位，然后再从抽出的包装单位中抽取均匀试样。

7.2.1 整批产品中包装单位的抽取

抽取包装单位的数量，根据式（8）计算：

$$A = \sqrt{\frac{N}{2}} \dots\dots\dots (8)$$

式中：

A——应抽取的包装单位数，单位为袋；

N——批量的总包装单位数，单位为袋。

7.2.2 均匀试样的抽取

取样时，用清洁、干燥的取样工具插入包装袋的三分之二。每袋取样100 g，将抽取的样品迅速混匀，用四分法缩分，然后分装于两个1000 mL清洁干燥的棕色磨口瓶中，密封。贴上标签，一瓶检测，一瓶封存备查。

7.3 出厂检验

7.3.1 成品出厂前应经检验部门逐批检验，签发合格证后方可出厂。

7.3.2 出厂检验项目包括：

感官、叶黄素酯（以叶黄素二棕榈酸酯计）、玉米黄质酯、水分。

7.4 型式检验

型式检验项目为本标准要求中规定的全部项目。一般情况下，型式检验每半年至少进行一次。有下列情况之一时，亦应进行型式检验。

- a) 原辅材料有较大变化时；
- b) 更改关键工艺或设备；
- c) 新试制的产品或正常生产的产品停产3个月以后，重新恢复生产时；
- d) 出厂检验与上次型式检验结果有较大差异时；
- e) 国家质量监督检验机构按有关规定需要抽检时。

7.5 判定规则

7.5.1 抽取样品经检验，所检项目全部合格，判该批产品为合格。

7.5.2 检验结果如有两项及以下指标不合格，应重新自同批产品中抽取两倍量样品进行复检，以复检结果为准，若仍有不合格项，判该批产品为不合格。

7.5.3 检验结果如有三项及以上指标不合格，判该批产品为不合格。

8 标志、包装、运输、贮存

8.1 预包装产品标签应符合 GB 7718。

8.2 预包装储运图示标志应符合 GB/T 191 的规定。

8.3 包装物和容器应整洁、卫生、无破损，并符合相关规定。

8.4 贮运过程中，应防尘、防虫、防晒、防雨，不应与有毒、有害、有腐蚀性和含有异味物质混装、混运、混贮。

8.5 本品应储存在通风、干燥、清洁的仓库内，不应与有毒、有害、有腐蚀性和含有异味的物品放在一起。

附录A

标准溶液浓度校正方法

叶黄素和玉米黄质标准储备液配制后，在使用前需要对其浓度进行校正，具体操作如下：

1.叶黄素标准储备液浓度校正：取1 mL叶黄素标准贮备液，以乙醇定容至25mL，移取该溶液至1cm的石英比色皿中，以乙醇为空白，以分光光度计在445nm波长下测定吸光值A。按下式A.1计算标准溶液浓度：

$$C_1 = \frac{A \times 25 \times 10000 \times F_1}{E_{1\text{cm}}^{1\%}} \quad \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

C_1 -----叶黄素标准储备液浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；

A -----标准溶液的吸光值；

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ -----乙醇中叶黄素的吸光系数，为2550dL/g；

25 -----稀释倍数；

10000-----转换系数(g/dL转化为 $\mu\text{g/mL}$)；

F_1 -----校正系数，可按下述方式获得：用液相色谱分析校准后的标准溶液，将将所有可见峰减去空白峰后的色谱峰面积加和作为总峰面积，其中反式叶黄素峰面积除以总峰面积所得值为校正系数。

2.玉米黄质标准储备液浓度校正：取1 mL玉米黄质标准贮备液，以环己烷定容至25mL，移取该溶液至1cm的石英比色皿中，以环己烷为空白，以分光光度计在453nm波长下测定吸光值A。按下式A.2计算标准溶液浓度：

$$C_2 = \frac{A \times 25 \times 10000 \times F_2}{E_{1\text{cm}}^{1\%}} \quad \dots\dots\dots (A.2)$$

式中：

C_2 -----玉米黄质标准储备液浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；

A -----标准溶液的吸光值；

$E_{1cm}^{1\%}$ -----环己烷中玉米黄质的吸光系数，为2540dL/g；

25 -----稀释倍数；

10000-----转换系数(g/dL转化为 $\mu\text{g/mL}$)；

F_2 -----校正系数，可按下述方式获得：用液相色谱分析校准后的标准溶液，将叶黄素、玉米黄质色谱峰面积加合作为总峰面积，其中玉米黄质峰面积除以总峰面积所得值为校正系数。

附录 B

液相色谱图

B.1 叶黄素标准溶液的液相色谱图如图 B.1:

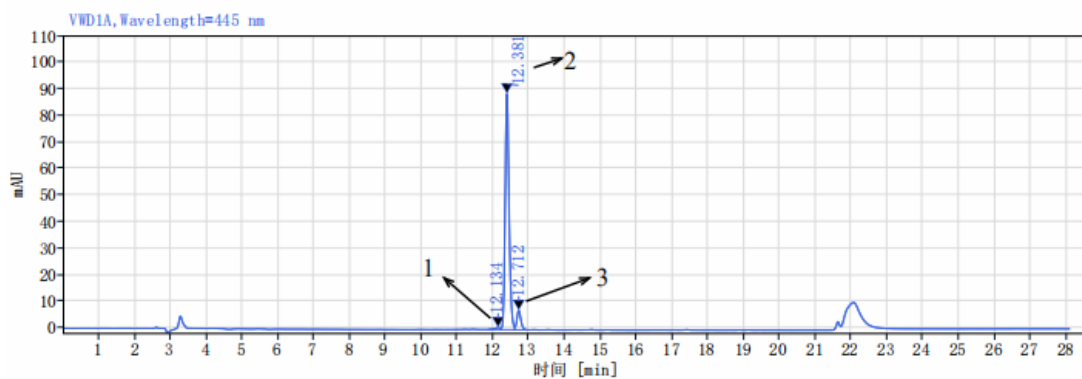


图 B.1 叶黄素标准溶液的液相色谱图

说明:

- 1— 顺式结构的叶黄素;
- 2— 反式结构的叶黄素;
- 3— 玉米黄质;

B.2 玉米黄质标准溶液的液相色谱图如图 B.2:

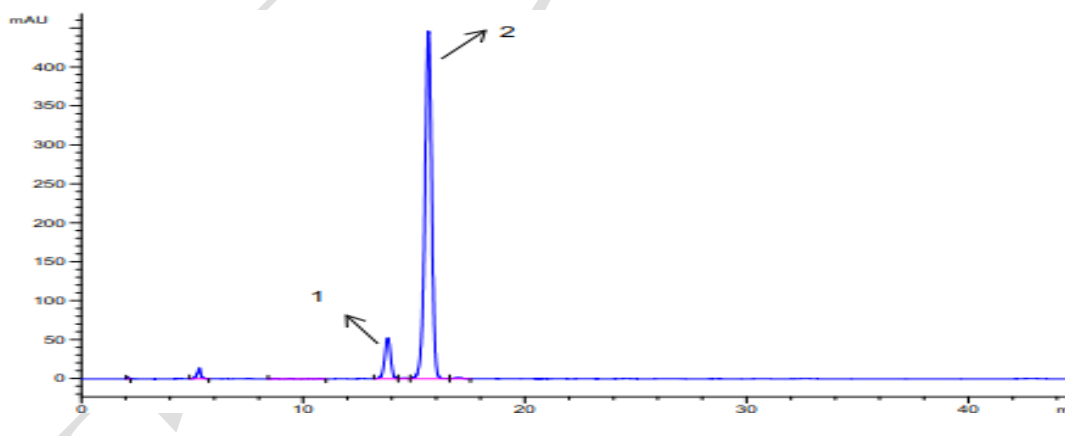


图 B.2 玉米黄质标准溶液的液相色谱图

说明:

- 1— 叶黄素;
- 2— 玉米黄质;