ICS 67.200.10
X 14

团 体 标 准

P/CIQA 106-2022

红棕榈油中胡萝卜素的测定

Determination of carotene in red palm oil

（征求意见稿）

2024-XX-XX 发布 2024-XX-XX 实施

中国出入境检验检疫协会 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。

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。

本文件由中国出入境检验检疫协会检验鉴定标准化技术委员会（CIQA/TC 12）提出并归口。

本文件起草单位：中检集团中原农食产品检测（河南）有限公司、河南工业大学、大马棕榈油技术研发（上海）有限公司。

本文件主要起草人：张丽、王艳莉、何丽君、苗纪芳、孙武勇、宗珊盈、高莉、牛跃庭、吕海鹏、Yoong Jun Hao、张雪珂、孙亚明、谷克仁。

本文件知识产权归中国出入境检验检疫协会所有。任何单位或个人未经许可，不得以营利为目的，印制、出版、翻译、转发或复制全文或部分文字。

红棕榈油中胡萝卜素的测定

1 范围

本文件规定了红棕榈油中全反式α-胡萝卜素、全反式β-胡萝卜素、13-顺式-β-胡萝卜素、9-顺式-β-胡萝卜素的分离及含量测定的高效液相色谱法。

本标准适用于红棕榈油中胡萝卜素的分离测定，其他食品可参考执行。

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 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中的胡萝卜素经皂化释放为游离态，用石油醚萃取，浓缩后用二氯甲烷定容，采用高疏水性的C30反相色谱柱分离全反式α-胡萝卜素、全反式-β-胡萝卜素、13-顺式-β-胡萝卜素、9-顺式-β-胡萝卜素，外标法定量。

5 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 氢氧化钾（KOH）。

5.1.2 无水硫酸钠(Na_2SO_4)。

5.1.3 抗坏血酸($C_6H_8O_6$)。

5.1.4 石油醚（沸程：30℃-60℃）。

5.1.5 甲醇(CH_4O)：色谱纯。

5.1.6 乙腈(C_2H_3N)：色谱纯。

5.1.7 二氯甲烷：色谱纯。

5.1.8 无水乙醇(C_2H_6O)：优级纯。

5.1.9 2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚($C_{15}H_{24}O$），BHT。

5.2 试剂配制

氢氧化钾溶液：称固体氢氧化钾 500g，加入 500mL 水溶解。临用前配制。

5.3 标准品

5.3.1 全反式*α*-胡萝卜素($C_{40}H_{56}$，CAS 号：7488-99-5)：纯度≥95%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.3.2 全反式*β*-胡萝卜素($C_{40}H_{56}$，CAS 号：7235-40-7)：纯度≥95%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.3.3 13-顺式-*β*-胡萝卜素，($C_{40}H_{56}$，CAS 号：6811-73-0)：纯度≥95%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.3.4 9-顺式-*β*-胡萝卜素，($C_{40}H_{56}$，CAS 号：13312-52-2)：纯度≥95%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.4 标准溶液的配制

5.4.1 全反式*α*-胡萝卜素标准储备液(100μg/mL)：称取 5 mg α-胡萝卜素标准品和 0.025 g BHT 于 50 mL 棕色容量瓶中，用二氯甲烷溶解，定容至刻度。

5.4.2 全反式-*β*-胡萝卜素标准储备液(100μg/mL)：称取 5 mg 全反式-β-胡萝卜素标准品和 0.025 g BHT 于 50 mL 棕色容量瓶中，用二氯甲烷溶解，定容至刻度。

5.4.3 13-顺式-*β*-胡萝卜素标准储备液(100μg/mL)：称取 1 mg 13-顺式-β-胡萝卜素标准品和 5 mg BHT 于 10 mL 容量瓶中，用二氯甲烷溶解，定容至刻度。

5.4.4 9-顺式-*β*-胡萝卜素标准储备液(100μg/mL)：称取 1 mg 9-顺式-β-胡萝卜素标准品和 5 mg BHT 于 10 mL 容量瓶中，用二氯甲烷溶解，定容至刻度。

5.4.5 四种胡萝卜素混合标准溶液配制(10μg/mL)：移取四种标准储备液各 1 mL 于 10mL 容量瓶中，用二氯甲烷溶解定容，作为混合标准溶液。准确移取该混合标准溶液 0.2mL、0.3mL、0.4mL、0.5mL、1.0mL、2.0mL、3.0mL 溶液至 7 个 10mL 棕色容量瓶，配制浓度为 0.2 μg/mL、0.3 μg/mL、0.4 μg/mL、0.5 μg/mL、1.0 μg/mL、2.0 μg/mL、3.0 μg/mL 的系列混合标准工作液。

6 仪器和设备

6.1 电子天平：感量 0.1mg 和 0.001g。

6.2 恒温水浴震荡器：控温精度±1℃。

6.3 旋转蒸发仪。

6.4 氮吹仪。

6.5 涡旋混合器。

6.6 有机微孔滤膜：0.45μm。

6.5 高效液相色谱仪：配紫外检测器或二极管阵列检测器。

7 分析步骤

7.1 试样制备

取 200mL 以上有代表性的试样，混合均匀，装入洁净容器中，密封并标记，于 15-25℃避光保存。

7.2 试样溶液的制备

准确称取试样 2g(精确至 0.001 g)，置于 250 mL 锥形瓶中，加入 1 g 抗坏血酸，加入 50 mL 无水乙醇，摇匀，于 60 ℃±1 ℃水浴振荡 30 min。再加入 20 mL 氢氧化钾溶液，盖上瓶塞。置于已预热至 53 ℃±2 ℃恒温振荡水浴箱中，皂化 30 min。取出，静置，冷却到室温。

将皂化液转入 500 mL 分液漏斗中，加入 60 mL 石油醚，轻轻摇动，排气，盖好瓶塞，室温下振荡 10 min 后静置分层，将水相转入另一分液漏斗中按上述方法进行第二次提取。合并有机相，用水洗至近中性。弃水相，有机相通过无水硫酸钠过滤脱水。滤液收入 500 mL 圆底烧瓶中，于旋转蒸发仪上 40 ℃±2 ℃减压浓缩至近干。用氮气吹干，用移液管准确加入 5.0 mL 二氯甲烷，盖上瓶塞，充分溶解提取物。经 0.45 μm 膜过滤后，弃出初始约 1 mL 滤液后收集至进样瓶中，备用。

7.3 色谱测定

7.3.1 色谱柱：YMC-C_{30} ，250 mm×4.6 mm×0.5 μm

7.3.2 流速：1.2 mL/min

7.3.3 流动相：甲醇：二氯甲烷：乙腈（64.5：20.5：15），等度洗脱

7.3.4 检测波长：450 nm

7.3.5 进样量：20 μL

7.3.6 柱温：25 ℃

7.3 标准曲线的制作

将混合标准工作液注入高效液相色谱仪中，以保留时间定性，测定峰面积。以标准系列工作液浓度为横坐标，峰面积为纵坐标绘制标准曲线，计算回归方程。

7.4 试样测定

将待测液注入高效液相色谱仪中，以保留时间定性，根据峰面积采用外标法定量。

8 结果计算

试样中单个胡萝卜素含量按下式计算或仪器数据处理软件计算获得：

$$X = \frac{\mathrm{c} \times V \times 1000}{\mathrm{m} \times 1000}$$

式中：

X ———试样中待测组分的含量，单位为毫克每千克(mg/kg)；

c———从标准曲线得到的试样溶液中待测物的含量，单位为微克每毫升(μg/mL)；

V ———试样定容体积，单位为毫升(mL)；

m ———试样质量，单位为克(g)。

1000 ———单位转换系数。

测定结果以平行测定的算术平均值表示，结果保留 3 位有效数字。

9 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得超过算术平均值的 10%。

10 定量限

当称样量为 2 g 时，本方法全反式*α*-胡萝卜素、全反式*β*-胡萝卜素、13-顺式-*β*-胡萝卜素、9-顺式-*β*-胡萝卜素的检出限为 0.1 mg/kg，定量限均为 0.5 mg/kg。

附录 A

4 种胡萝卜素标准溶液色谱图

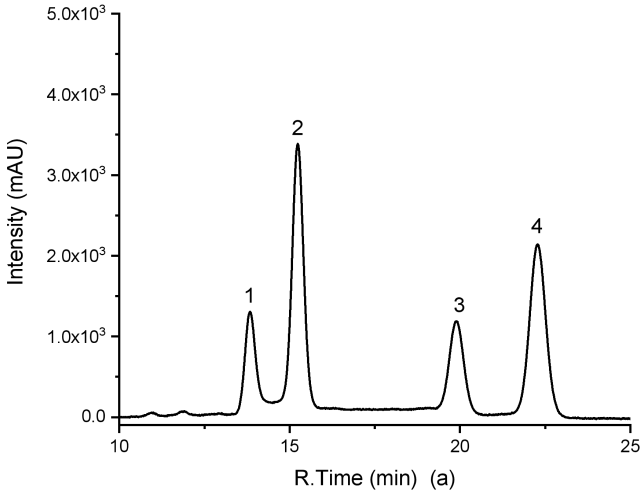

图 1 4 种胡萝卜素标准溶液色谱图

注：

峰 1：13-顺式-*β*-胡萝卜素

峰 2：全反式*α*-胡萝卜素

峰 3：全反式*β*-胡萝卜素

峰 4：9-顺式-*β*-胡萝卜素