



# 中华人民共和国食品安全国家标准

GB ××××—××××

---

## 婴幼儿食品和乳品中 $\beta$ -胡萝卜素的测定

Determination of  $\beta$ -carotene in foods for infants and young children,

raw milk and dairy products

(征求意见稿)

××××-××-××发布

××××-××-××实施

---

中华人民共和国卫生部 发布

## 前 言

本标准部分参考了国际分析家学会AOAC 2005.7  $\beta$ -Carotene in Supplement and Raw Material。  
本标准附录A为规范性附录，附录B为资料性附录。  
本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

# 婴幼儿食品和乳品中 $\beta$ -胡萝卜素的测定

## 1 范围

本标准规定了婴幼儿食品和乳品中 $\beta$ -胡萝卜素的测定方法。

本标准适用于婴幼儿食品和乳品 $\beta$ -胡萝卜素的测定。

本标准检出限为 20.0  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

## 3 原理

试样经皂化后，使 $\beta$ -胡萝卜素完全变为游离态。用石油醚萃取后，反相色谱法分离，外标法定量。

## 4 试剂和材料

除非另有规定，本方法所用试剂均为分析纯或以上规格，水为 GB/T 6682 规定的三级水。

- 4.1  $\alpha$ -淀粉酶：酶活力 $\geq 1.5\text{U}/\text{mg}$ 。
- 4.2 无水硫酸钠。
- 4.3 抗坏血酸。
- 4.4 石油醚：沸程 30~60 $^{\circ}\text{C}$ 。
- 4.5 甲醇：色谱纯。
- 4.6 乙腈：色谱纯。
- 4.7 三氯甲烷：色谱纯。
- 4.8 正己烷：色谱纯。
- 4.9 抗坏血酸的乙醇溶液：10g/L。
- 4.10 氢氧化钾水溶液（现用现配）：质量比为 100:70。
- 4.11 溶液 A：三氯甲烷:乙腈:甲醇 =3 : 12 : 85（体积比）。
- 4.12  $\beta$ -胡萝卜素标准溶液
- 4.12.1  $\beta$ -胡萝卜素标准储备液：

准确称取 $\beta$ -胡萝卜素标准品50mg，用三氯甲烷（4.7）溶解并定溶至100 mL 棕色容量瓶中，此溶液浓度为500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ （于冰箱中冷冻存放，使用期限不超过3个月）。标准储备溶液用前需校正，具体操作见附录A。

### 4.12.2 $\beta$ -胡萝卜素标准中间液：

从 $\beta$ -胡萝卜素标准储备液（4.12.1）中吸取10mL用正己烷（4.8）定溶于50 mL 棕色容量瓶中，此溶液浓度为100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

### 4.12.3 $\beta$ -胡萝卜素标准工作液：

从 $\beta$ -胡萝卜素标准中间液（4.12.2）中分别吸取0.5、1.0、2.0、3.0、4.0（mL）溶液分别转入5个100 mL棕色容量瓶中，用正己烷（4.8）定容至刻度，得到浓度为0.5、1.0、2.0、3.0、4.0（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）的系列标准工作液。

## 5 仪器和设备

- 5.1 高效液相色谱仪。
- 5.2 旋转蒸发器。
- 5.3 氮吹仪。
- 5.4 离心机：6000r/min。
- 5.5 分析天平：感量0.1mg。

## 6 分析步骤

### 6.1 试样处理

#### 6.1.1 淀粉类试样

称取混合均匀的固体试样约5g或液体试样约50g（均精确到0.1mg），置于250mL三角瓶中，加入1g  $\alpha$ -淀粉酶（4.1），固体试样需用50mL 45~50℃的水溶解并混合均匀，向三角瓶中充氮后盖上瓶塞，置50~60℃培养箱内酶解30min。

#### 6.1.2 非淀粉类试样

称取混合均匀的固体试样约10g或液体试样约50g（均精确到0.1mg），置于250mL三角瓶中，固体试样需用50mL 45~50℃的水溶解并混合均匀。

### 6.2 待测液的制备

**6.2.1 皂化：**将100mL 抗坏血酸的乙醇溶液（4.9）加入到上述试样溶液中，混匀并加入25mL 氢氧化钾溶液（4.10）混匀，放入磁力棒，充入氮气排出空气，盖上胶塞，在50~60℃水浴的恒温磁力搅拌器（5.3）上搅拌皂化45 min后，取出冷却至室温。

**6.2.2 提取：**将皂化液全部转入500mL分液漏斗中，加入100mL石油醚（4.4），轻轻摇动，排气减压，盖好瓶塞，室温下震荡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，提取后将有机相合并（如果分层困难，可滴入少许乙醇促进分层）。用蒸馏水洗该醚液至中性，通过无水硫酸钠（4.2）过滤脱水。滤液收入500 mL平底烧瓶中，于旋转蒸发器上在40℃的充氮条件下蒸至近干，用石油醚（4.4）溶解残渣并转移至10mL容量瓶中定容。

从上述容量瓶中取2mL石油醚溶液于10mL螺盖试管中，在40℃氮吹仪上吹干，取出冷却至室温后加入1mL正己烷（4.8）使之溶解，紧好管盖，以5000r/min离心10min，上清液即为待测液。

注：实验操作过程中应注意避光。

### 6.3 色谱测定

#### 6.3.1 参考色谱条件

色谱柱：C18柱，250mm×4.6mm，5 $\mu$ ，或具相近性能的色谱柱。

流动相：1L的溶液A（4.11）中加入0.4g的抗坏血酸（必要时可超声），经0.45 $\mu$ m膜过滤后备用。

流速：2.0mL/min。

波长：450nm。

柱温：35℃。

进样体积：20 $\mu$ L。

#### 6.3.2 标准曲线的绘制

分别吸取 $\beta$ -胡萝卜素标准中间液（4.12.2）0.5、1.0、2.0、3.0、4.0（mL）于100 mL棕色容量瓶中，用正己烷（4.8）定容至刻度。此标准系列工作液浓度分别为0.5、1.0、2.0、3.0、4.0（ $\mu$ g/mL）。

分别将 $\beta$ -胡萝卜素标准工作液注入液相色谱仪中，得到峰面积。以峰面积为纵坐标，以 $\beta$ -胡萝卜素标准工作液浓度为横坐标绘制标准曲线。

#### 6.3.3 试样测定

将待测液（6.2.2）注入液相色谱仪中，得到峰面积，查标准曲线得到待测液中 $\beta$ -胡萝卜素的浓度。

## 7 结果计算和表示

试样中β-胡萝卜素的含量  $X$ ，单位为国际单位每百克（ $\mu\text{g}/100\text{g}$ ），按（1）计算

$$X = \frac{c \times 10 \times 100}{m \times 2} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$c$ ——从标准曲线得到待测液中β-胡萝卜素的浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）；

$m$ ——试样的质量，单位为克（ $\text{g}$ ）；

注：此计算结果为顺、反式β-胡萝卜素的总量。

计算结果以两次独立测定结果的算术平均值表示，保留到小数点后一位。

## 8 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%。

附录 A  
(规范性附录)  
标准溶液浓度校正方法

β-胡萝卜素标准储备液配制后需要校正，具体操作如下：

取β-胡萝卜素标准储备液（浓度为500 μg/mL）10 μL，注入含3.0ml正己烷的比色皿中，混匀。测定其吸光值，比色杯厚度为1cm，以正己烷为空白，入射光波长为450nm，平行测定3次，取均值。按下式计算溶液浓度：

$$X = \frac{A}{E} \times \frac{3.01}{0.01}$$

式中：

$X$ ——β-胡萝卜素溶液浓度，单位为微克每毫升（μg/ml）；

$A$ ——β-胡萝卜素的紫外吸光值；

$E$ ——β-胡萝卜素在正己烷溶液中，入射光波长为450nm，比色杯厚度为1cm，溶液浓度为1 mg/L的吸光系数为0.2638；

$\frac{3.01}{0.01}$ ——测定过程中稀释倍数的换算系数。

附录 B  
(资料性附录)  
标准品及试样色谱图

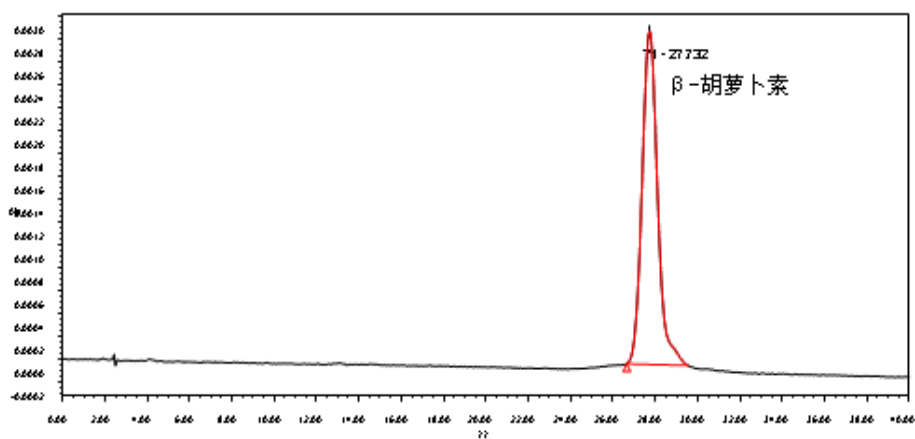


图 B.1 β-胡萝卜素标准品色谱图

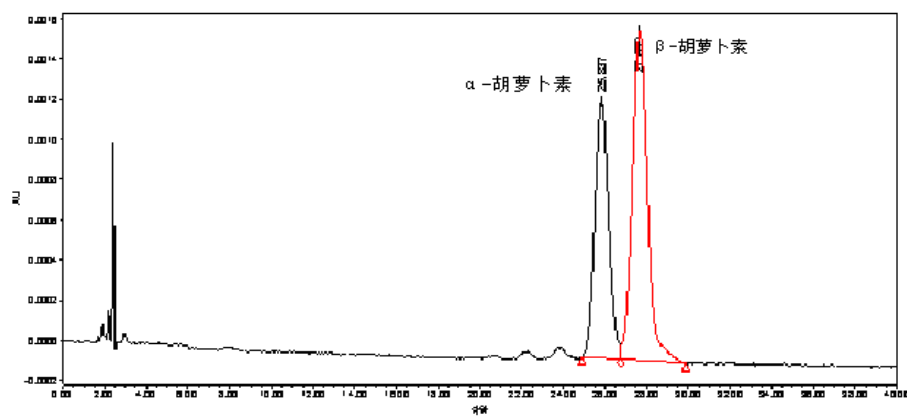


图 B.2 β-胡萝卜素试样色谱图