

中华人民共和国国家标准

GB 12389—90

食物中胡萝卜素的测定方法

Method for determination of carotene in foods

1 主题内容与适用范围

本标准规定了食物中胡萝卜素的测定方法——纸层析法。

本标准适用于植物性食物和含有植物性食物的混合食物中胡萝卜素的测定，其最小检出限为 $0.11\mu\text{g}$ 。

2 原理

以丙酮和石油醚提取食物中的胡萝卜素及其他植物色素：以石油醚为展开剂进行纸层析，胡萝卜素极性最小，移动速度最快，从而与其他色素分离：剪下含胡萝卜素的区带，洗脱后于 450nm 波长下定量测定。

3 试剂

3.1 石油醚（沸程 $30\sim 60^{\circ}\text{C}$ ），同时是展开剂。

3.2 丙酮，分析纯。

3.3 丙酮—石油醚混合液：3:7（V/V）。

3.4 无水硫酸钠：分析纯。

3.5 5% 硫酸钠溶液。

3.6 1:1 氢氧化钾溶液：取 50g 氢氧化钾溶于 50mL 水。

3.7 无水乙醇：需经脱醛处理。

3.8 β -胡萝卜素标准溶液：取 $5\text{mg}\beta$ -胡萝卜素标准品，溶于 10mL 三氯甲烷中，浓度约为 $500\mu\text{g}/\text{mL}$ ，准确测其浓度。

取标准溶液 $10.0\mu\text{l}$ ，加正己烷 3.00mL ，混匀，测吸光值，比色杯厚度 1cm ，以正己烷为空白，入射光波长 450nm ，平行测定三份，取均值。

计算公式：

$$X_1 = \frac{A}{E} \times \frac{1}{1\ 000} \times \frac{3.01}{0.01} \dots\dots\dots (1)$$

式中： X_1 ——胡萝卜素标准溶液浓度，mg/mL

A ——吸光值：

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

$\frac{1}{1\ 000}$ ——将 ppm 换算成 mg/mL：

$\frac{3.01}{0.01}$ ——测定过程中稀释倍数的换算。

3.9 β -胡萝卜素标准使用液：将已标定的标准液用石油醚准确稀释后，每毫升溶液相当 50 μ g，避光保存于冰箱中。

4 仪器和设备

4.1 实验室常用设备。

4.2 玻璃层析缸。

4.3 分光光度计。

4.4 旋转蒸发器：具 150mL 球形瓶。

4.5 恒温水浴锅。

4.6 皂化回馏装置。

4.7 点样器或微量注射器。

4.8 新华滤纸：定性，快速或中速，101 号。

5 样品的采集和处理

5.1 粮食：样品用水洗三次，置 60℃烤箱中烤干，磨粉，储于塑料瓶内，放一小包樟脑精，盖紧瓶塞保存，备用。

5.2 蔬菜与其他植物性食物：取可食部用水冲洗二次后，用纱布吸去水滴，切碎，用匀浆器制成匀浆，贮于塑料瓶内，冰箱内保存备用。

6 测定步骤（以下步骤需在避光条件下进行）

6.1 样品提取

6.1.1 取适量样品，相当于原样 1~5g（含胡萝卜素约 20~80 μ g）的匀浆，粮食样品视其胡萝卜素含量而定，置 100mL 带塞锥形瓶中，加入丙酮 20mL，石油醚 5mL，振摇 1min，静置 5min，将提取液转入盛有 100mL 5% 硫酸钠溶液的分液漏斗中，再于锥形瓶内，加入 10mL 丙酮-石油醚混合液，振摇 1min，静置 5min，将提取液并入分液漏斗中。

如此提取 2~3 次，直至提取液无色为止。

6.1.2 植物油和高脂肪样品：需先皂化，取适量样品（< 10g），加脱醛乙醇 30mL，再加 10mL 1:1 氢氧化钾溶液，回流加热 30min，然后用冰水使之迅速冷却，皂化后样品用石油醚提取，直至提取液无色为止。

6.2 洗涤

6.2.1 将提取液（6.1.1）静置分层，弃去下层水溶液，反复用 5% 硫酸钠溶液振摇洗涤，每次约 15mL，直至下层水溶液清亮为止。

6.2.2 将皂化后样品提取液（6.1.2）用水洗涤至中性。

6.2.3 将 6.2.1 或 6.2.2 的石油醚提取液通过盛有 10g 无水硫酸钠的小漏斗，漏入球形瓶，用少量石油醚分数次洗净分液漏斗和无水硫酸钠层内的色素，洗涤液并入球形瓶内。

6.3 浓缩与定容

将上述球形瓶内的提取液于旋转蒸发器上减压蒸发，水浴温度为 60℃，蒸发至约 1mL 时，取下球形瓶，用氮气吹干，立即加入 2.00mL 石油醚定容，备层析用。

6.4 纸层析

6.4.1 点样：在 18cm × 30cm 滤纸下端距底边 4cm 处作一基线，在基线上取 A、B、C、D 四点（如图 1 所示），吸取 0.100 ~ 0.400mL 浓缩液（6.3）在 AB 和 CD 间迅速点样。

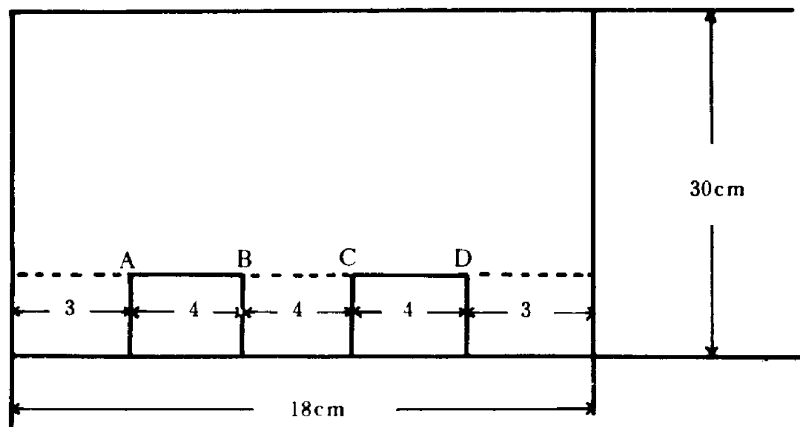


图 1

6.4.2 展开：待纸上所点样液自然挥发十：后，将滤纸卷成圆筒状，置于预先用石油醚饱和的层析缸中，进行上行展开。

6.4.3 洗脱：待胡萝卜素与其他色素完全分开后，取出滤纸，自然挥发厂石油醚，将位于展开剂前沿的胡萝卜素层析带剪下，立即放入盛有 5mL 石油醚的具塞试管中，用力振摇，使胡萝卜素完全溶入溶剂中。

6.5 比色测定

用 1cm 比色杯, 以石油醚调节零点, 于 450nm 波长下, 测吸光度, 以其值从标准曲线上查出 β -胡萝卜素的含量, 供计算时使用。

6.6 标准曲线绘制

取 β -胡萝卜素标准使用液 (浓度为 $50\mu\text{g}/\text{mL}$) 1.00, 2.00、3.00、4.00、6.00、8.00mL, 分别置于 100mL 具塞锥形瓶中, 按样品测定步骤进行操作, 点样体积为 0.100mL, 标准曲线各点胡萝卜素含量依次为 2.50、5.00、7.50、10.00、15.00, 20.00 μg 。为测定低含量样品, 可在 0 至 2.50 μg 间加做几点, 以胡萝卜素含量为横坐标, 以吸光度为纵坐标绘制标准曲线 (见图 2)。

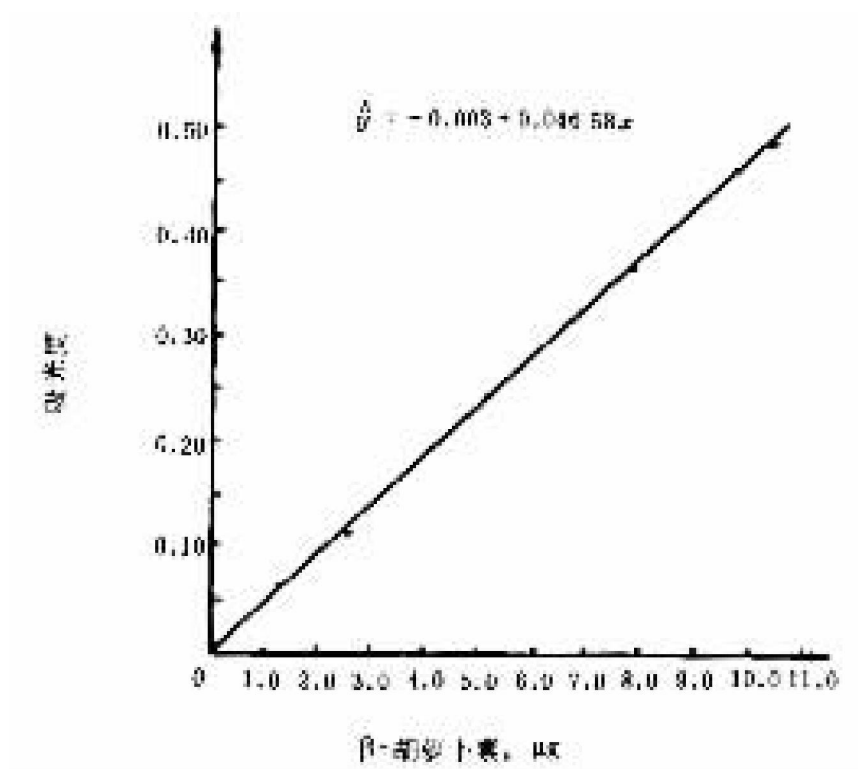


图 2 实测图例胡萝卜素标准曲线图

7 计算

$$X_2 = c \times \frac{V_2}{V_1} \times \frac{100}{m} \times \frac{1}{1\,000} \dots\dots\dots (2)$$

式中: X_2 ——样品中胡萝卜素的含量, 以 β -胡萝卜素计, $\text{mg}/100\text{g}$;

c ——在标准曲线上所查得的胡萝卜素的含量, μg ;

V_1 ——点样体积, mL;

V_2 ——样品石油醚提取液浓缩后的定容体积, mL;

m ——样品质量, g。

8 结果的允许差

同一实验室平行测定或重复测定结果的相对偏差绝对值 $\leq 10\%$ 。

附加说明：

本标准由中华人民共和国卫生部卫生监督司提出，食品卫生标准分委员会审查通过
本标准由中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所起草。

本标准主要起草人赵忠林、王光亚。

本标准由卫生部委托技术归口单位卫生部食品卫生监督检验所负责解释。