



中华人民共和国国家标准

GB 28310—2012

食品安全国家标准

食品添加剂 β -胡萝卜素（发酵法）

2012-04-25 发布

2012-06-25 实施

中华人民共和国卫生部 发布

食品安全国家标准

食品添加剂 β -胡萝卜素 (发酵法)

1 范围

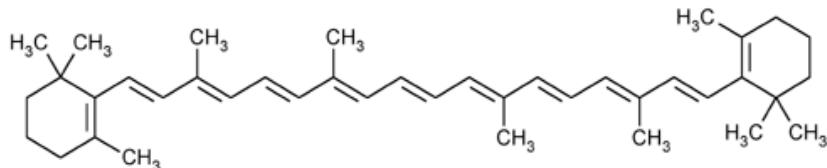
本标准适用于经丝状真菌三孢布拉霉 (*Blakeslea trispora*) 发酵而得的食品添加剂 β -胡萝卜素。

2 分子式、结构式、相对分子质量

2.1 分子式



2.2 结构式



2.3 相对分子质量

536.88 (按 2007 年国际相对原子质量)

3 技术要求

3.1 感官要求：应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

表 1 检查要求		
项 目	要 求	检 验 方 法
色 泽	暗红色至棕红色	取适量样品置于清洁、干燥的白瓷盘中，在自然光线下，观察其色泽和状态
状 态	结晶或结晶性粉末	

3.2 理化指标：应符合表 2 的规定。

表2 理化指标

项 目		指 标	检验方法
总 β -胡萝卜素含量 (以 C ₄₀ H ₅₆ 计), w/%	≥	96.0	附录 A 中 A.3
吸光度比值 A_{455}/A_{483}		1.14~1.19	附录 A 中 A.4
比值 A_{455}/A_{340}	≥	0.75	
灼烧残渣, w/%	≤	0.2	附录 A 中 A.5
乙醇, w/%	≤	0.8 (单独或两者之和)	附录 A 中 A.6
乙酸乙酯, w/%	≤		
异丙醇, w/%	≤	0.1	
乙酸异丁酯, w/%	≤	1.0	
铅 (Pb) / (mg/kg)	≤	2	GB 5009.12
总砷 (以 As 计) / (mg/kg)	≤	3	GB/T 5009.11

注: 商品化的 β -胡萝卜素产品应以符合本标准的 β -胡萝卜素为原料, 可添加符合食品添加剂质量规格要求的明胶、抗氧化剂和(或)食用的植物油、糊精、淀粉制成的产品, 其总 β -胡萝卜素含量和吸光度比值符合标识值。

附录 A

检验方法

A. 1 一般规定

标准所用试剂和水，在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和GB/T6682—2008中规定的三级水。试验中所用标准滴定溶液、杂质测定用标准溶液、制剂及制品，在没有注明其他要求时，均按GB/T601、GB/T602、GB/T603的规定制备。试验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时，均指水溶液。

A. 2 鉴别试验

A. 2. 1 溶解性试验

A. 2. 1. 1 试剂和材料

A. 2. 1. 1. 1 乙醇。

A. 2. 1. 1. 2 植物油。

A. 2. 1. 2 分析步骤

室温下称取一定量的样品分别加入到一定量水、乙醇和植物油中，摇动0.5 min~5 min，观察样品的溶解情况。 β -胡萝卜素几乎不溶于水和乙醇[(溶质/溶剂) < (1/10000)]，微溶于植物油[(1/100) < (溶质/溶剂) < (1/1000)]。

A. 2. 2 类胡萝卜素试验

A. 2. 2. 1 试剂和材料

A. 2. 2. 1. 1 丙酮。

A. 2. 2. 1. 2 5%亚硝酸钠溶液：称取50 g亚硝酸钠，加水溶解，稀释并定容至1000 mL。

A. 2. 2. 1. 3 0.5 mol/L硫酸溶液。

A. 2. 2. 2 分析步骤

称取一定量的样品加丙酮溶解，样品的丙酮溶液的颜色在连续滴加5%亚硝酸钠溶液和0.5 mol/L硫酸溶液后逐渐消失。

A. 3 总 β -胡萝卜素含量的测定

A. 3. 1 试剂和材料

A. 3. 1. 1 三氯甲烷。

A. 3. 1. 2 环己烷。

A. 3. 2 仪器和设备

紫外-可见分光光度计。

A. 3. 3 分析步骤

A. 3. 3. 1 溶液A制备

准确称取0.05 g试样，精确至0.000 1 g，置于100 mL容量瓶中，加三氯甲烷10 mL溶解试样，用环己烷定容至刻度。取此试样液5.0 mL于100 mL棕色容量瓶中，用环己烷定容至刻度，摇匀，即得。

A. 3. 3. 2 溶液B制备

取溶液A5.0mL于50mL棕色容量瓶中，用环己烷定容至刻度，摇匀，即得。

A. 3. 3. 3 测定

将溶液B置于1 cm比色皿中，以环己烷做空白对照，用紫外-可见分光光度计在455 nm±2 nm范围内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。

A. 3. 4 结果计算

总β-胡萝卜素含量以β-胡萝卜素($C_{40}H_{56}$)的质量分数 w_1 计, 数值以%表示, 按公式(A.1)计算:

式中：

A ——实际测定试样液吸光度的数值；

c—被测试样液浓度的数值, 单位为克每毫升 (g/mL);

2500—— β -胡萝卜素在环己烷中的百分吸光系数($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)。

实验结果以平行测定结果的算术平均值为准。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 1.5 %。

A. 4 吸光度比值的测定

A. 4. 1 试剂和材料

A. 4. 1. 1 三氯甲烷。

A. 4. 1. 2 环己烷。

A. 4. 2 仪器和设备

紫外-可见分光光度计。

A. 4. 3 分析步骤

A. 4. 3. 1 样品溶液的制备

溶液A制备同A.3.3.1，溶液B制备同A.3.3.2。

A. 4. 3. 2 A_{455}/A_{483} 的测定

将溶液B置于1 cm比色皿中,以环己烷做空白对照,在波长455 nm和波长483 nm处分别测定吸光度(A), A_{455}/A_{483} 的比值应在1.14~1.19之间。

A. 4. 3. 3 A_{455}/A_{340} 的测定

将溶液B和溶液A分别置于1 cm比色皿中，以环己烷做空白对照，在波长455 nm处测定溶液B的吸光度(A_{455})，在波长340 nm处测定溶液A的吸光度(A_{340})， A_{455}/A_{340} 的比值应不小于0.75。

A.5 灼烧残渣的测定

A. 5. 1 试剂和材料

硫酸。

A. 5. 2 分析步骤

称取约2 g试样，精确至0.0001 g，置于已在800 °C±25 °C灼烧至恒重的坩埚中，用小火缓缓加热至试样完全炭化，放冷后，加约1.0 mL硫酸使其湿润，低温加热至硫酸蒸汽除尽后，移入高温炉中，在800 °C±25 °C灼烧至恒重。

A. 5. 3 结果计算

灼烧残渣以质量分数 w_2 计, 数值以%表示, 按公式(A.2)计算:

式中：

m_1 ——残渣和空坩埚质量的数值，单位为克(g)；

m_2 ——空坩埚质量的数值，单位为克(g)；
 m ——称取的试样质量的数值，单位为克(g)。

实验结果以平行测定结果的算术平均值为准，二次平行测定结果的绝对差值不大于0.05%。

A.6 乙醇、乙酸乙酯、异丙醇、乙酸异丁酯的测定

A.6.1 试剂和材料

- A.6.1.1 乙醇。
- A.6.1.2 异丙醇。
- A.6.1.3 乙酸乙酯。
- A.6.1.4 乙酸异丁酯。
- A.6.1.5 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)：色谱纯。

A.6.2 仪器和设备

气相色谱仪，带氢火焰离子检测器(FID) 和顶空进样器。

A.6.3 参考色谱条件

- A.6.3.1 色谱柱：DB-624毛细管柱，30 m×0.53mm，膜厚3.0 μm；或其他等效的色谱柱。
- A.6.3.2 载气：氦气或氮气。
- A.6.3.3 载气流量：4.8 mL/min。
- A.6.3.4 进样口温度：250 °C。
- A.6.3.5 柱温：50 °C，以1 °C/min升至60 °C，再以9.2 °C / min升至115 °C，再以35 °C / min升至220 °C 保持6 min。
- A.6.3.6 检测器温度：270 °C。
- A.6.3.7 分流比：5：1。
- A.6.3.8 进样体积：1 mL定量环。

A.6.4 顶空条件

- A.6.4.1 顶空瓶温度：100 °C。
- A.6.4.2 定量环温度：110 °C。
- A.6.4.3 传输线温度：120 °C。
- A.6.4.4 顶空瓶平衡时间：50 min。
- A.6.4.5 气相循环时间：30.0 min。
- A.6.4.6 加压时间：0.2 min。
- A.6.4.7 定量环填充时间：0.2 min。
- A.6.4.8 定量环平衡时间：0.05 min。
- A.6.4.9 进样时间：1.0 min。
- A.6.4.10 顶空瓶压力：95.15kPa (13.8 psi)。

A.6.5 分析步骤

A.6.5.1 对照液制备

A.6.5.1.1 对照液制备：精密吸取乙醇34 μL、异丙醇4.5 μL、乙酸乙酯30 μL、乙酸异丁酯38 μL，置于100 mL容量瓶中，用DMF稀释至刻度，摇匀，移取3.0 mL到10 mL顶空瓶中，封盖。该对照溶液中含有乙醇0.2686 mg/mL，异丙醇0.035325 mg/mL，乙酸乙酯0.2703 mg/mL，乙酸异丁酯0.3325 mg/mL。

注：乙醇密度0.790 g/mL，异丙醇密度0.785 g/mL，乙酸乙酯密度0.901 g/mL，乙酸异丁酯密度0.875 g/mL。

A.6.5.1.2 灵敏度溶液制备：精密吸取5.0 mL对照液于50 mL容量瓶中，用DMF稀释至刻度，摇匀，移取3.0 mL到10 mL顶空瓶中，封盖。该溶液中含有乙醇0.02686 mg/mL（相对应于试样中浓度约0.08%），异

丙醇0.0035325 mg/mL（相对应于试样中浓度约0.01%），乙酸乙酯0.02703 mg/mL（相对应于试样中浓度约0.08%），乙酸异丁酯0.03325 mg/mL（相对应于试样中浓度约0.1%）。

A. 6.5.2 试样液制备

精确称取试样约0.1 g到10 mL顶空瓶中，加3.0 mL DMF稀释，封盖，摇匀，此为试样液。

A. 6.5.3 系统适应性要求

分别移取上述A.6.5.1对照液3.0 mL于6个10 mL顶空瓶中，分别进样，各个峰理论板数应不小于5000，峰面积的相对标准偏差不得大于10.0%，灵敏度溶液中主峰信噪比应不小于10。

A. 6.5.4 测定

分别取对照液和试样液顶空进样，用外标法计算样品中的乙醇、异丙醇、乙酸乙酯和乙酸异丁酯含量。

A. 6.6 结果计算

乙醇、异丙醇、乙酸乙酯和乙酸异丁酯的含量分别以质量分数 w_i 计，数值均以%表示，分别按公式(A.3)计算：

$$w_i = \frac{A_x \times c_R}{A_R \times c_X} \times 100\% \quad (\text{A.3})$$

式中：

A_x ——试样液色谱图中所测溶剂峰面积值的数值；

c_R ——对照液中对应溶剂浓度的数值，单位为毫克每毫升(mg/mL)；

A_R ——对照液色谱图中所测溶剂峰面积值的数值；

c_X ——试样液浓度的数值，单位为毫克每毫升(mg/mL)。

实验结果以平行测定结果的算术平均值为准。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20%。