



中华人民共和国国家标准

GB 1903.71—2024

食品安全国家标准

食品营养强化剂 全反式视黄醇

2024-02-08 发布

2024-08-08 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局 发布

食品安全国家标准

食品营养强化剂 全反式视黄醇

1 范围

本标准适用于以 β -紫罗兰酮为主要原料,经化学合成制得的食品营养强化剂全反式视黄醇。

2 化学名称、分子式、结构式和相对分子质量

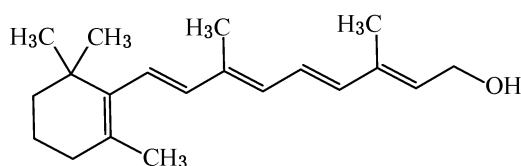
2.1 化学名称

全反式 3,7-二甲基-9-(2,6,6-三甲基-1-环己烯基-1)-2,4,6,8-壬四烯-1-醇

2.2 分子式

$C_{20}H_{30}O$

2.3 结构式



2.4 相对分子质量

286.46(按 2018 年国际相对原子质量)

3 技术要求

3.1 感官要求

感官要求应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项 目	要 求	检验方法
色泽	淡黄色	将适量试样置于清洁、干燥的白瓷盘中,在自然光线下,观察其色泽、状态,嗅其气味
气味	无酸败味	
状态	油状液体,冷冻可呈固态	

3.2 理化指标

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	
全反式视黄醇含量 ^a /(IU/g)	≥	2.5×10^6	附录中 A.4
酸价(以 KOH 计)/(mg/g)	≤	2.0	附录中 A.5
过氧化值/(mmol/kg)	≤	10.0	附录中 A.6
铅(Pb)/(mg/kg)	≤	2.0	GB 5009.75 或 GB 5009.12
总砷(以 As 计)/(mg/kg)	≤	2.0	GB 5009.76 或 GB 5009.11
<p>注：商品化的全反式视黄醇产品以符合本标准的全反式视黄醇为原料，添加工艺所必需的食品原料和/或食品添加剂作为辅料，其质量、范围和使用量符合相应的食品安全国家标准。</p>			
<p>^a 全反式视黄醇含量以国际单位(IU)表示，1 IU 维生素 A=0.300 μg 全反式视黄醇；全反式视黄醇实际含量为标签标示值的 95.0%~110.0%。</p>			

附录 A 检验方法

A.1 安全提示

试样应在密闭、避光和冷冻条件下贮存。配制的试样溶液应尽快使用。测定过程中,应最小程度地接触光、空气及其他氧化剂,建议使用棕色玻璃器皿。

A.2 一般规定

除另有说明外,本标准所用试剂均为分析纯,试验用水为 GB/T 6682 规定的三级水。试验方法中所用的标准滴定溶液、杂质测定用标准溶液、制剂及制品在没有注明其他要求时,应按 GB/T 601、GB/T 602、GB/T 603 的规定制备。

A.3 鉴别试验

A.3.1 试剂和材料

A.3.1.1 三氯甲烷。

A.3.1.2 三氯化铈溶液:称取三氯化铈适量,加三氯甲烷溶解并定容,制成 250 g/L 的三氯化铈溶液。

A.3.1.3 展开剂:环己烷+乙醚=4+1。

A.3.1.4 全反式视黄醇标准品($C_{20}H_{30}O$, CAS 号:68-26-8):纯度 $\geq 95\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

A.3.2 仪器和设备

A.3.2.1 电子天平:感量为 0.000 1 g。

A.3.2.2 色谱用硅胶板。

A.3.2.3 展开缸:200 mm×200 mm。

A.3.3 鉴别方法

A.3.3.1 呈色试验

A.3.3.1.1 方法原理

全反式视黄醇和亲电试剂三氯化铈作用形成不稳定的蓝色碳鎓离子。

A.3.3.1.2 分析步骤

称取适量全反式视黄醇试样,加入三氯甲烷制成质量浓度为 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的样品溶液。取出 1 mL 样品溶液,加入 10 mL 的三氯化铈溶液(A.3.1.2),摇匀后静置,观察其颜色变化。

呈色要求:试样溶液立即显蓝色,并慢慢变成红色。符合呈色要求的试样再按照 A.3.3.2 的步骤进行薄层色谱分析。

A.3.3.2 薄层色谱分析

分别称取约 0.005 g 的全反式视黄醇标准品和试样,加三氯甲烷溶解并定容至 10 mL,然后各取 0.01 mL 进行薄层色谱分析,在展开剂(A.3.1.3)中展开。当展开剂(A.3.1.3)的最前端上升至距离点样

点原线约 10 cm 时,停止展开,风干色谱用硅胶板。均匀喷洒三氯化锑溶液,观察试样溶液斑点和标准品溶液斑点的颜色,并按式(A.1)计算比移值 R_f 。

$$R_f = \frac{l}{l_0} \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

l ——原点至斑点中心的距离;

l_0 ——原点至溶剂前沿的距离。

结果判断:试样溶液斑点和标准品溶液斑点均显蓝色且 R_f 值相同,即可判断试样可能为全反式视黄醇。

A.4 全反式视黄醇含量的测定

A.4.1 方法原理

试样中的全反式视黄醇加正己烷溶解后,正相液相色谱柱分离,紫外检测器检测,外标法计算试样中全反式视黄醇的含量。

A.4.2 试剂和材料

A.4.2.1 正己烷:色谱纯。

A.4.2.2 异丙醇:色谱纯。

A.4.2.3 二丁基羟基甲苯(BHT)。

A.4.2.4 全反式视黄醇标准品($C_{20}H_{30}O$,CAS 号:68-26-8)纯度 $\geq 95\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

A.4.2.5 9-顺式视黄醇($C_{20}H_{30}O$,CAS 号:22737-97-9)纯度 $\geq 95\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

A.4.2.6 水:GB/T 6682 规定的一级水。

A.4.3 仪器和设备

A.4.3.1 电子天平:感量为 0.000 1 g。

A.4.3.2 高效液相色谱仪,配紫外检测器。

A.4.4 参考色谱条件

A.4.4.1 色谱柱:多孔球形硅胶色谱柱(250 mm \times 4.6 mm,粒径 5 μ m,或同等性能色谱柱)。

A.4.4.2 柱温:25 $^{\circ}$ C。

A.4.4.3 流动相:正己烷+异丙醇=99+1。

A.4.4.4 流速:1.0 mL/min。

A.4.4.5 检测波长:325 nm。

A.4.4.6 进样量:20 μ L。

A.4.5 分析步骤

A.4.5.1 标准溶液的制备

标准储备溶液:称取 0.025 g 的全反式视黄醇标准品(A.4.2.4),精确至 0.000 1 g,置于小烧杯中,加入 0.05 g 二丁基羟基甲苯(BHT),加入适量正己烷,振摇使之完全溶解,转移至 50.0 mL 棕色容量瓶中,用正己烷定容至刻度,摇匀,得到标准储备液。将此溶液转移至棕色试剂瓶中,密封后在 -20 $^{\circ}$ C 下

避光保存,有效期 1 个月。临用前将溶液回温至 20 °C,并进行浓度校正(校正方法见附录 B)。

标准工作溶液:准确吸取 10.00 mL 全反式视黄醇标准储备溶液于 25.0 mL 棕色容量瓶中,用正己烷稀释并定容至刻度,此溶液中全反式视黄醇的质量浓度为 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。分别准确吸取该溶液 0.050 0 mL、0.250 mL、0.500 mL、1.00 mL、2.50 mL、5.00 mL 于 10.0 mL 棕色容量瓶中,用正己烷稀释并定容至刻度,该标准工作溶液质量浓度为 1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、20.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$,现配现用。

A.4.5.2 系统适用性溶液的制备

称取 9-顺式视黄醇标准品 0.010 g,精确至 0.000 1 g,置于小烧杯中,加入 0.1 g 二丁基羟基甲苯(BHT),加入适量正己烷,振摇使之完全溶解,转移至 100 mL 的棕色容量瓶中,用正己烷定容至刻度,摇匀,得到 9-顺式视黄醇的标准储备液。将此溶液转移至棕色试剂瓶中,密封后在 -20 °C 下避光保存,有效期 1 年。根据上机浓度,移取一定量的全反式视黄醇和 9-顺式视黄醇标准储备液,用正己烷稀释,配制成浓度比为全反式视黄醇:9-顺式视黄醇=10:1 的混合标准溶液,经 0.22 μm 有机相滤膜过滤后供高效液相色谱测定。

A.4.5.3 试样溶液的制备

称取适量的试样(约相当于全反式视黄醇 0.015 g),精确至 0.000 1 g,置于小烧杯中,加入 0.1 g 二丁基羟基甲苯(BHT),加入适量正己烷,振摇使之完全溶解,转移至 100.0 mL 棕色容量瓶中,用正己烷定容至刻度,摇匀,得到试样储备液。根据试样浓度,用正己烷稀释,经 0.22 μm 有机相滤膜过滤后供高效液相色谱测定。

A.4.6 测定

A.4.6.1 系统适用性试验

在 A.4.4 参考色谱条件下,系统适用性试验溶液经高效液相色谱仪分析,全反式视黄醇色谱峰与 9-顺式视黄醇色谱峰之间的分离度 R 应不小于 1.5。

A.4.6.2 试样测定

在 A.4.4 参考色谱条件下,试样溶液和标准溶液经高效液相色谱仪分析,记录相应的峰面积(参考色谱图见附录 C)。以峰面积为纵坐标,以标准工作液的浓度为横坐标绘制标准曲线,计算直线回归方程。采用外标法通过标准曲线计算试样中全反式视黄醇的浓度,再按式(A.2)计算试样中全反式视黄醇的含量。

A.4.7 空白试验

除不加试样外,按相同的测定步骤平行操作。

A.4.8 结果计算

全反式视黄醇的含量 ω_1 以国际单位每克(IU/g)计,按式(A.2)计算:

$$\omega_1 = \frac{(\rho_1 - \rho_0) \times V_1 \times f}{m_1 \times 0.300} \dots\dots\dots (A.2)$$

式中:

ρ_1 ——试样中全反式视黄醇的质量浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

ρ_0 ——空白试样中全反式视黄醇的质量浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

V_1 ——试样定容体积,单位为毫升(mL);

f ——稀释倍数;

m_1 ——试样的质量,单位为克(g);

0.300——换算系数(1 IU 维生素 A=0.300 μ g 全反式视黄醇)。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留三位有效数字。在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于算术平均值的 5%。

A.5 酸价的测定

A.5.1 试剂和材料

A.5.1.1 异丙醇。

A.5.1.2 乙醚。

A.5.1.3 氢氧化钾标准滴定水溶液: $c(\text{KOH})=0.1 \text{ mol/L}$ 。

A.5.1.4 酚酞指示液:10 g/L 乙醇溶液。

A.5.1.5 乙醚与异丙醇混合液(1+1):将乙醚与异丙醇等体积互溶混合,现配现用。

A.5.2 仪器和设备

A.5.2.1 碘量瓶:250 mL。

A.5.2.2 滴定管:10 mL,最小刻度为 0.05 mL。

A.5.2.3 电子天平:感量为 0.001 g。

A.5.3 分析步骤

A.5.3.1 试样测定

称取 5.0 g 试样,精确至 0.001 g,置于碘量瓶中,加入 50 mL 乙醚与异丙醇混合液,盖上盖子振摇溶解并混匀。加入 3 滴~5 滴酚酞指示液,用 0.1 mol/L 氢氧化钾标准滴定溶液滴定至微显粉红色,且 15 s 无明显褪色即为终点。立刻停止滴定,记录此滴定所消耗的氢氧化钾标准滴定溶液的毫升数。

A.5.3.2 空白试验

除不加试样外,均按 A.5.3.1 进行。

A.5.4 结果计算

酸价(以 KOH 计) ω_2 以毫克每克(mg/g)计,按式(A.3)计算:

$$\omega_2 = \frac{(V_2 - V_0) \times c_2 \times 56.1}{m_2} \dots\dots\dots (A.3)$$

式中:

V_2 ——试样所消耗氢氧化钾标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_0 ——空白试验所消耗氢氧化钾标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

c_2 ——氢氧化钾标准滴定溶液的摩尔浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

56.1——氢氧化钾的摩尔质量,单位为克每摩尔(g/mol);

m_2 ——试样的质量,单位为克(g)。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留两位有效数字。在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于算术平均值的 10%。

A.6 过氧化值的测定

A.6.1 试剂和材料

A.6.1.1 冰乙酸。

A.6.1.2 三氯甲烷。

A.6.1.3 三氯甲烷-冰乙酸混合液(40+60):量取 40 mL 三氯甲烷,加 60 mL 冰乙酸,混匀。

A.6.1.4 碘化钾饱和溶液:现配现用,确保溶液中有结晶存在,存放于避光处。

A.6.1.5 硫代硫酸钠标准滴定溶液(0.1 mol/L):称取 26 g 硫代硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$),加入 0.2 g 无水碳酸钠,溶于 1 L 水中,缓缓煮沸 10 min,冷却。放置两周后过滤、标定。

A.6.1.6 硫代硫酸钠标准滴定溶液(0.002 mol/L):用新煮沸冷却的水稀释 0.1 mol/L 的硫代硫酸钠标准滴定溶液至 0.002 mol/L。现配现用。

A.6.1.7 淀粉指示剂(1%):称取 0.5 g 可溶性淀粉,加少量水调成糊状,边搅拌边倒入 50 mL 沸水,煮沸搅匀后,放冷备用。现配现用。

A.6.2 仪器和设备

A.6.2.1 碘量瓶:250 mL。

A.6.2.2 滴定管:10 mL,最小刻度为 0.05 mL。

A.6.2.3 电子天平:感量为 0.001 g。

A.6.3 分析步骤

A.6.3.1 试样测定

准确称取 5.0 g 试样,精确至 0.001 g,置于碘量瓶中,加入 30 mL 三氯甲烷-冰乙酸混合液(A.6.1.3),盖上盖子振荡溶解并混匀。迅速准确加入 1.00 mL 饱和碘化钾溶液,塞紧瓶盖,轻轻振荡混匀,置于暗处反应 1 min,然后加入 100 mL 水和 1 mL 淀粉指示剂,用 0.002 mol/L 硫代硫酸钠标准滴定溶液进行滴定,边滴定边摇动碘量瓶,连续滴定至蓝色消失即为终点。立刻停止滴定,记录此滴定所消耗的硫代硫酸钠标准滴定溶液的毫升数。

A.6.3.2 空白试验

除不加试样外,均按 A.6.3.1 进行。

A.6.4 结果计算

过氧化值 ω_3 以毫摩尔每千克(mmol/kg)计,按式(A.4)计算:

$$\omega_3 = \frac{(V_3 - V_0) \times c_3 \times 1\,000}{2 \times m_3} \dots\dots\dots (A.4)$$

式中:

V_3 —— 试样所消耗硫代硫酸钠标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_0 —— 空白试验所消耗硫代硫酸钠标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

c_3 —— 硫代硫酸钠标准滴定溶液的摩尔浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

1 000 —— 换算系数;

m_3 —— 试样的质量,单位为克(g)。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留两位有效数字。在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于算术平均值的 10%。

附 录 B
全反式视黄醇标准溶液浓度校正方法

B.1 试剂和材料

B.1.1 无水乙醇。

B.2 仪器和设备

B.2.1 紫外分光光度计。

B.2.2 1 cm 石英比色杯。

B.3 分析步骤

取全反式视黄醇标准储备溶液 50 μL,置于 10 mL 的棕色容量瓶中,用无水乙醇定容至刻度,混匀。用 1 cm 石英比色杯,以无水乙醇为空白参比,在 325 nm 处测定其吸光度。

B.4 结果计算

全反式视黄醇的质量浓度按式(B.1)计算:

$$X = \frac{A \times 10^4}{E} \dots\dots\dots (B.1)$$

式中:

X ——全反式视黄醇标准稀释液的质量浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

A ——全反式视黄醇稀释液的紫外吸光度;

E ——1 835,全反式视黄醇 1%比色吸光系数;

10⁴ ——换算系数。

附录 C
全反式视黄醇标准品色谱图

全反式视黄醇标准品色谱图(50.0 mg/L)见图 C.1。

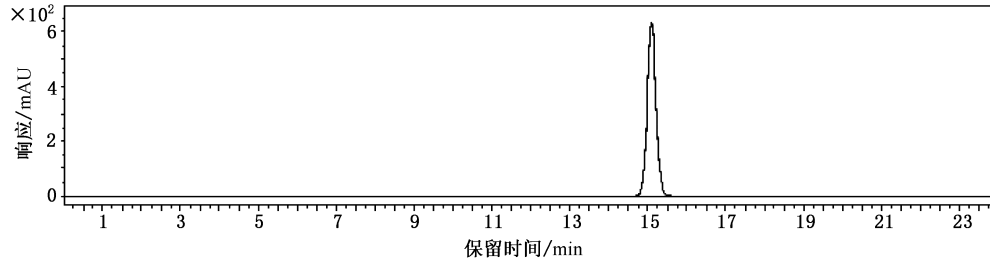


图 C.1 全反式视黄醇标准品(50.0 mg/L)色谱图