

《保健食品中番茄红素的测定》国家标准

（征求意见稿）编制说明

一、工作简况

（一）任务来源

根据《国家标准化管理委员会关于下达 2023 年第二批推荐性国家标准计划及相关标准外文版计划的通知》（国标委发〔2023〕37 号），《保健食品中番茄红素的测定》（计划号 20230862-T-424）列入修订计划，由全国特殊食品标准化技术委员会归口，由中国食品发酵工业研究院有限公司等单位共同组织完成起草修订工作。

（二）修订背景

1、研究背景与意义

番茄红素（Lycopene, LYC）是一种类胡萝卜素，主要存在于成熟番茄等果实及其制品中。番茄红素具有长链多不饱和烯烃分子结构，使其不仅具有很强的抗氧化和消除自由基能力，还具有降低心血管疾病风险、增强免疫力、抑制肿瘤增殖等作用。随着“大健康”理念的不断深入，番茄红素等具有合理营养和保健功能的食品成了新的消费潮流。联合国粮农组织（FAO）、食品添加剂委员会（JECFA）和世界卫生组织（WHO）也已批准番茄红素为 A 类营养素，而且市场上也出现了“植物提取”、“发酵生产”和“化学合成”等不同类型的产品，价格差异较大。

番茄红素独特的分子结构造成其对光照反应十分敏感，容易发生

顺反异构反应和氧化降解，故其稳定性很差。随着技术的进步与发展，为了减少食品中番茄红素成分的损失，多种形式的微胶囊化技术已成功应用于保健食品原料番茄红素中，而现有的标准检测方法已经不能够满足于部分样品的检测，主要表现在：（1）前处理方法不适用导致检测含量较理论值偏低。核心技术原因是直接使用溶剂萃取微胶囊化的产品时，无法实现产品破壁，造成番茄红素成分无法释放出来。（2）番茄红素标准品不稳定。番茄红素标准品易氧化降解，从生产、储存、运输到用户使用过程，极难保证其含量不损失，标准品损失的不确定性造成检测误差不可控。（3）色谱条件适用性差。流动相条件仅在某类品牌色谱柱上能进行方法重现，普适性较差。（4）缺乏真实性鉴别方法，无法实现“植物提取”、“发酵生产”和“化学合成”等不同类型的产品的鉴别。

由于现行标准存在的以上问题，导致了企业使用无技术依据，政府监管缺乏技术手段。因此，亟需对 GB/T 22249-2008《保健食品中番茄红素的检测》标准进行修订，建立切实可行的技术操作方法，满足各类样品的检测需求，保障行业的健康发展。并通过对产品中番茄红素的精准测量来确认产品货架期，并且检测产品保质期内番茄红素含量对产品质量的控制和消费者权益保护具有重要意义，还能够为保健食品科学监管提供技术支撑。

（2）国内外相关标准法规

目前，关于番茄红素含量检测的标准主要有 GB 28316-2012《食品安全国家标准 食品添加剂番茄红》（与 JECFA 标准：Lycopene

Extract From Tomato (Lycopene (Tomato); INS 160d(ii)) 标准相似)、GB/T 22249-2008《保健食品中番茄红素的测定》、GB/T 41133-2022《番茄制品中番茄红素、叶黄素、胡萝卜素含量的测定 超高效液相色谱法》，以及 SN/T 3865-2014《出口保健食品中番茄红素的测定 液相色谱-质谱/质谱法》、T/CCCMHPIE 1.28-2018《植物提取物 番茄红素》，其中保健食品中番茄红素的检测主要采用 GB/T 22249-2008 标准。不同标准之间的前处理方法和色谱条件差异较大。前处理方面 GB 28316-2012、GB/T 22249-2008、T/CCCMHPIE 1.28-2018 中均采用含有抗氧化剂的二氯甲烷溶液提取后直接进行仪器测定；GB/T 41133-2022、SN/T 3865-2014 则是完成提取后，采用中性氧化铝进行净化，而在 SN/T 3865-2014 标准的提取过程样品需进行皂化。不同标准中提供的可用于分离的色谱柱包括 C₁₈ 和 C₃₀，其中 C₁₈ 柱在 6 个标准中均有提及。6 个标准方法中除 SN/T 3865-2014 标准采用液相色谱质谱法外，其余方法均采用高效液相色谱法进行含量测定。以上标准具体差异见表 1。

表 1 现行番茄红素检测标准比较

标准号	GB 28316-2012	GB/T 22249-2008	GB/T 41133-2022	SN/T 3865-2014	Lycopene Extract From Tomato((Lycopene (Tomato); INS 160d(ii))	T/CCCMHPIE 1.28-2018
检测方法	液相色谱 (472nm)	液相色谱 (472nm)	液相色谱 (450nm)	液相色谱-质 谱/质谱法 (APCI 源)	HPLC (472nm)	液相色谱 (472nm)
检测使用范围	食品添加剂 番茄红素	保健品	番茄制品	保健品	Additive (添加剂)	植物提取物-- 番茄红素
色谱柱	C ₁₈	ODS C ₁₈ 或者 ODS C ₃₀	多环芳烃分析 用 C ₁₈	C ₁₈	(RP-C8) (250 x 4.6 mm, 5 μm)	十八烷基键合 硅胶柱

流动相	乙腈-水-乙酸 乙酯	甲醇-乙腈	甲醇-二氯甲烷- 水	乙腈-叔丁基 甲醚	acetonitrile:methanol:dichloromethane:nhexane: N-ethyl-diisopropylamine 850:100:25:25:0.5 (v/v/v/v/v).	甲醇-二氯甲烷
检出限	/	检出限: 3*10 ⁻⁴ g/kg; 定量 限: 1*10 ⁻³ g/kg	检出限: 0.6 ug/100g; 定量 限: 2.0 ug/100g	测定低限: 0.1mg/kg	/	/
标样校准方式	紫外分光光度 法校准	液相色谱面积 归一化校准	紫外分光光度 法校准	无校准方法	紫外分光光度法校准	紫外分光光度 法和液相色谱 面积归一化法 结合校准
是否有微囊化番茄红素检测方法	无	有, 但存在部分 样品不适用	无	无	无	无

针对食品真实性鉴别，国内外均制定/采纳了一些稳定同位素方法标准，如 AOAC 的蜂蜜、枫糖、浓缩橙汁标准，AIJN 的橙汁、苹果汁指南，CEN 的果汁标准，OIV 的葡萄酒、烈性酒、果醋标准，我国工信部和海关等有关部门也采纳稳定同位素技术制定相关行业标准，食品补充检验方法 BJS 202302 和国家推荐性标准 GB/T 18932.1 分别针对食醋和蜂蜜领域制定了基于稳定同位素技术的判定依据。

(三) 主要工作过程

2023 年 8 月~2023 年 10 月，成立标准修订组，确定标准制修订方案和工作计划，并开展了方法学验证。

2023 年 11 月，全国特殊食品标准化技术委员会在北京召开《14 项保健食品分析方法标准启动会》修订工作启动会，会上讨论了《保健食品中番茄红素的测定》的修订方案。

2023 年 11 月~2024 年 1 月，开展实验室内方法验证的工作。

2024 年 1 月，开展新修订保健食品中番茄红素测定方法的实验室间方法验证工作。

2024 年 1 月，起草工作组在前期工作基础上形成标准征求意见稿。

二、国家标准编制原则、主要内容及其确定依据

（一）标准编制原则

本标准按照 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》的规定起草和 GB/T 20001.4-2015《标准编写规则 第 4 部分：试验方法标准的原则》进行起草编写。

以科学技术和实验数据为依据，经过科学研究而制定。本标准的制定充分考虑行业发展需求，促进保健食品行业番茄红素产品的质量提升，保护消费者权益，确保标准的科学性、先进性、可操作性。

（二）标准主要内容及其确定依据（包括修订前后技术内容的对比）

1、增加对照品标定

与 GB/T 22249-2008 相比，新标准增加了对照品标定步骤（见标准稿附录 A）。针对番茄红素标准品不稳定和使用过程不易控制的难题，借鉴 JECFA 番茄红素（天然）标准、国标 GB 28316-2012 和 GB/T 22249-2008 的技术原理，参照 T/CCCMHPIE 1.28-2018 中的解决办法，在朗博比尔定律和质量吸收系数等基础化学理论的支撑下，采用了分光光度法结合液相色谱面积归一化法的操作方式，解决了标准品的准确性不可控难题，使得方法简单易行。关于本标准中标定方法的说明：

1) 关于 P 值的说明

标样定量检测使用的是番茄红素的峰，因此需要校准出这个峰对应的成分浓度。针对校准公式中的 P 值，其目的是为了修正校准的准确性，考察市场上的番茄红素标准品，其色谱峰前段会有其他非番茄红素成分干扰，按照校准方法的原理需要消除掉这些非番茄红素峰才能保证结果准确性，只有引进 P 值消除杂峰才能确保校准的结果是番茄红素成分，否则校准出来的结果是所有可见峰对应的浓度，校准结果就会偏高。因此，引进 P 值的修正，针对标样校准是非常有必要的，能够消除由于标准品不确定性引进的误差，也能得到真正的校准值。

2) 关于质量吸收系数 345 的说明

质量吸收系数的定义是指特定物质在一定波长下，特定溶液浓度为 1 g/L、厚度为 1 cm 所产生的吸光度，其单位为 $L/(g \cdot cm)$ 。本标准编制时，充分考虑到数据单位的可推导性，将质量吸收系数的单位和比色皿的宽度等进行了说明，能够有利于使用者理解公式，相比现有参照标准均具有明显严谨性。

此外，原标准配制和使用为临用现配，相当于标准品为一次性使用。本方法增加了标定步骤，且通过稳定性试验验证对照品溶液可以储存更长的周期，依据 JECFA 标准：Lycopene Extract From Tomato (Lycopene (Tomato); INS 160d(ii))，增加标定步骤后，标准溶液至少可稳定保存三周。

2、前处理方法的选择

(1) 取样量的修改

与 GB/T 22249-2008 相比，原标准中线性的最高检测含量为 20mg/100g，而市场上的产品含量通常为 500mg/100g~5000mg/100g 水平，因此使用原标准的线性范围需要多次进行稀释操作，步骤繁琐且容易造成结果误差。现方法考虑目前市售产品的类别以及含量标识，修改了不同剂型样品的称样量及定容体积：油溶性液体和一般性固体样品的取样量为 0.1 g~0.5 g，微囊化固体样品的取样量为约 0.1 g，定容体积均为 100 mL，修改后的方法更便于实际样品的操作使用，在无需稀释操作的情况下就能够直接检测市场上常规规格的产品。

(2) 提取方法的选择

与 GB/T 22249-2008 相比，原标准中微囊化固体的前处理方法对于搜集到的很多样品不适用，但能够基本满足非微囊化的固体样品检测，因此本标准修改并完善了油溶性样品和一般固体样品的提取方法，增加了微囊化固体样品的处理方法。新标准油溶性试样采用 BHT-二氯甲烷溶液直接提取，一般性固体试样经 N，N-二甲基甲酰胺提取后采用 BHT-二氯甲烷溶液稀释，微囊化固体试样经氨缓冲溶液破壁分散后采用 BHT 四氢呋喃溶液稀释，能够有效提取相应剂型样品中的番茄红素。

由于市场上番茄红素保健食品在标签上有的不会体现所使用的

番茄红素是否微囊化产品的信息，考虑到一般性固体样品的前处理更加便捷，针对非微囊化的一般性固体样品也使用微囊化样品的前处理方法进行了对比验证，确认微囊化的前处理方法可以同时满足一般性固体样品的前处理。因此，当无法确定产品是否微囊化的情况下，应采取微囊化的前处理方法。

3、仪器分析条件的选择

原标准中流动相使用甲醇和乙腈混合体系检测的方式，要重现标准中的方法需要反复筛选较多款色谱柱才能实现分离，不利于实际操作使用。根据番茄红素的溶解性，借鉴了相关标准和文献方法，经试验选定甲醇：二氯甲烷（95:5，v/v）流动相体系，可以较快的实现番茄红素成分的分离，且该流动相条件不再需要筛选色谱柱，任何常规C₁₈色谱柱均能实现分离应用，较大地提高了方法的适用性。

4、检出限和定量限的修订

按照新修订检测标准验证确定不同剂型的检出限和定量限，适用性更强，相比原标准可以在不稀释的情况下满足市场上大部分样品的定量，操作更简便。

5、异构体检测的说明

原标准仅在色谱条件处提到了使用C₃₀色谱柱分离异构体的方式，但在标准文本中的其他位置未在做出说明，包括：色谱条件、色谱图、定量方式等。考虑到市场和行业的实际需求情况，以及标准使用的便

利性，因此修订后标准直接删除该部分内容，仅保留 C₁₈ 色谱柱检测番茄红素总量的方法，且使用 C₁₈ 色谱柱检测在相关标准和文献中也均是用于检测番茄红素总量，因此不再考虑顺反异构体的分离和检测。

6、增加资料性附录：番茄红素氢稳定同位素测定

原标准中未涉及到稳定同位素分析方法，然而由于稳定同位素技术在化合物来源追溯、食品掺假检测等领域的应用价值，考虑到未来不同工艺番茄红素的鉴别需求，因此在标准中增加了测定番茄红素氢稳定同位素比值的资料性附录。

三、试验验证的分析、综述报告

方法线性关系：以番茄红素为定量外标，在 0.25~50 µg/mL 浓度范围内，相关系数 R² 大于 0.999，线性关系良好。

方法稳定性：该方法含量测定精密度、中间精密度高，稳定性符合要求。

方法加标回收率：该方法的回收率在 91%~103% 范围区间，回收率的 RSD 在 0.5%~3.0% 范围区间，说明该方法精确度较好，能够满足保健食品中番茄红素的准确测定。

方法准确性：方法验证基础上，起草工作组组织 9 家实验室进行验证，结果符合验证比对要求。

氢稳定同位素测定方法：方法的稳定性优于 3%，起草单位组织 6 家实验室进行验证，结果符合验证比对要求。

四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况

(一)JECFA 标准: Lycopene Extract From Tomato(Lycopene (Tomato); INS 160d(ii)) 采用乙腈-水-乙酸乙酯溶剂体系提取, 紫外分光光度法校准, 液相色谱测定。

(二) USP 美国药典 Lycopene (official, 2020-05-01): 番茄红素含量测定采用 BHT 和二氯甲烷溶解, 液相色谱测定。

五、以国际标准为基础的起草情况

无。

六、与有关法律、行政法规及相关标准的关系

本标准属于 GB/T 22249-2008 的修订。本标准与现行法律、法规和强制性国家标准协调一致。

七、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准制定过程中无重大分歧意见。

八、涉及专利的有关说明

本标准不涉及专利。

九、实施国家标准的要求, 以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议

建议本标准发布 6 个月后实施, 由归口单位组织行业相关单位积极开展宣贯工作。

十、其他应当说明的事项

无。

附件：1.保健食品中番茄红素的测定方法学验证报告

2.番茄红素氢稳定同位素比值（D/H）测定方法学验证报告

附件 1

保健食品中番茄红素的测定方法学验证

(一) 方法验证

起草工作组按照《GB 5009.295-2023 食品安全国家标准 化学分析方法验证通则》的程序和要求，开展了方法验证工作。针对常用的三种不同基质，准备了三组含番茄红素的油溶性液体样品、一般性固体样品、微囊化固体样品和对应的空白辅料。

1、特异性

按本含量测定方法配制对照品溶液、空白辅料溶液、样品溶液，在含量测定色谱条件下，注入液相色谱仪进行测定。实验数据和结果见表 2。

表 2 不同基质中番茄红素的测定特异性验证结果

样品类别	番茄红素保留时间 (min)	产品空白辅料色谱峰保留时间 (min)	样品溶液番茄红素峰与相邻峰的分度
油溶性液体样品	15.373	无	14.443
一般性固体样品	15.373	无	18.277
微囊化固体样品	15.373	无	33.664
接受标准	1、产品空白辅料图谱中无番茄红素色谱峰或附近无显著干扰峰 2、产品空白辅料与番茄红素色谱峰分度 > 1.5 或无色谱峰		
结论	空白辅料不干扰主成分测定		

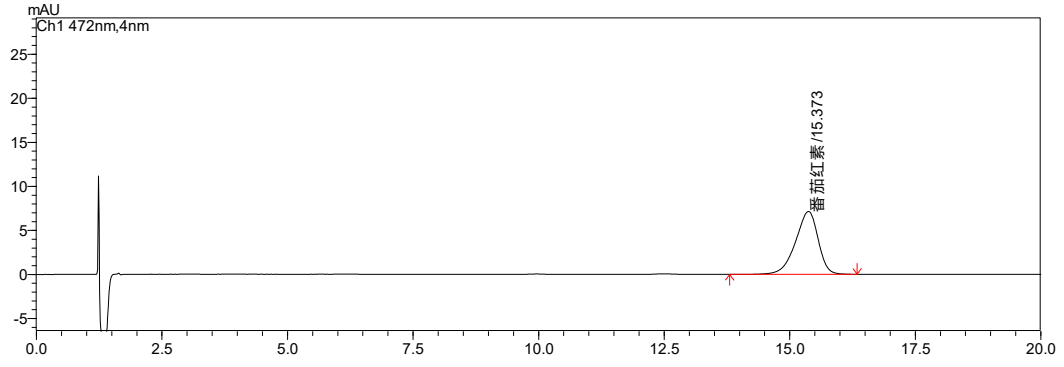


图 1 番茄红素典型色谱图

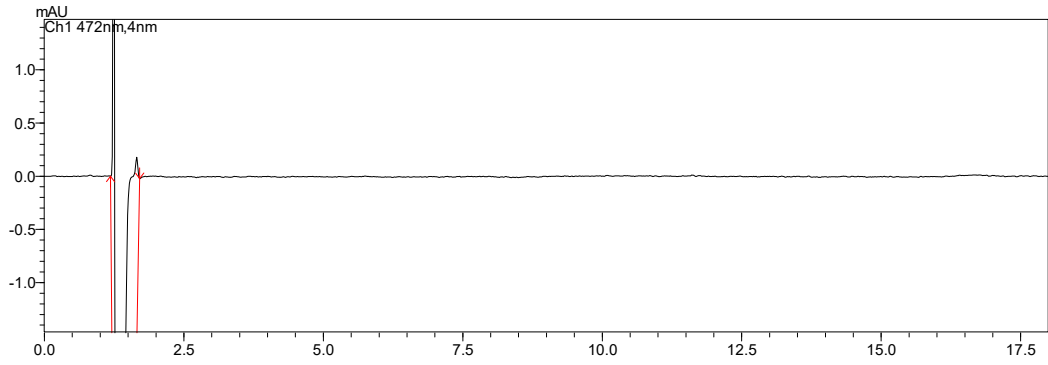


图 2 油溶性液体样品空白基质典型色谱图

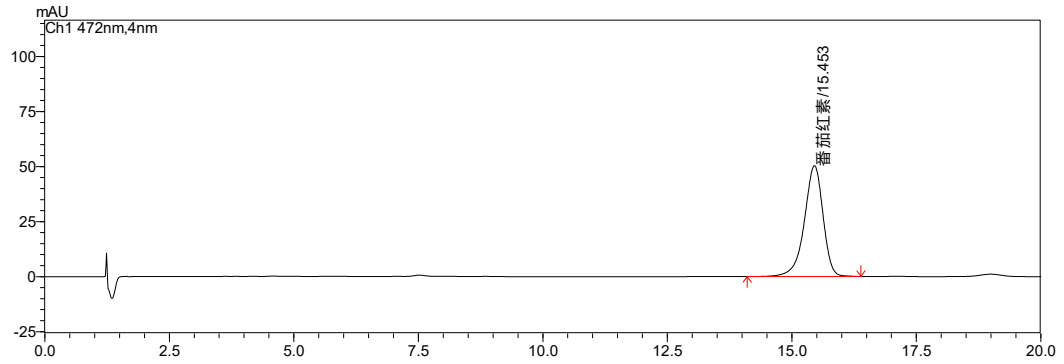


图 3 油溶性液体样品样品典型色谱图

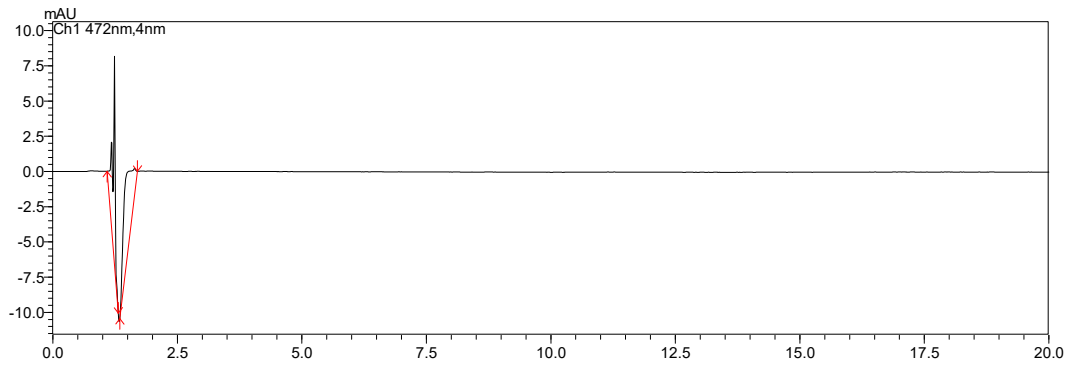


图 4 一般性固体样品空白基质典型色谱图

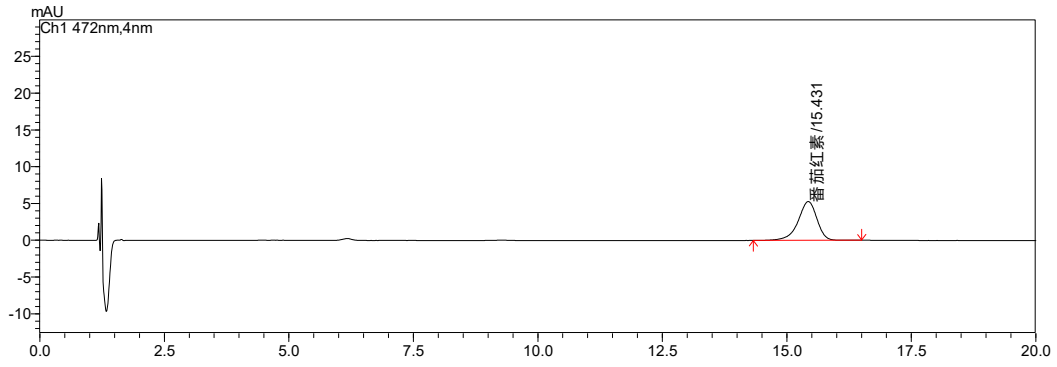


图 5 一般性固体样品样品典型色谱图

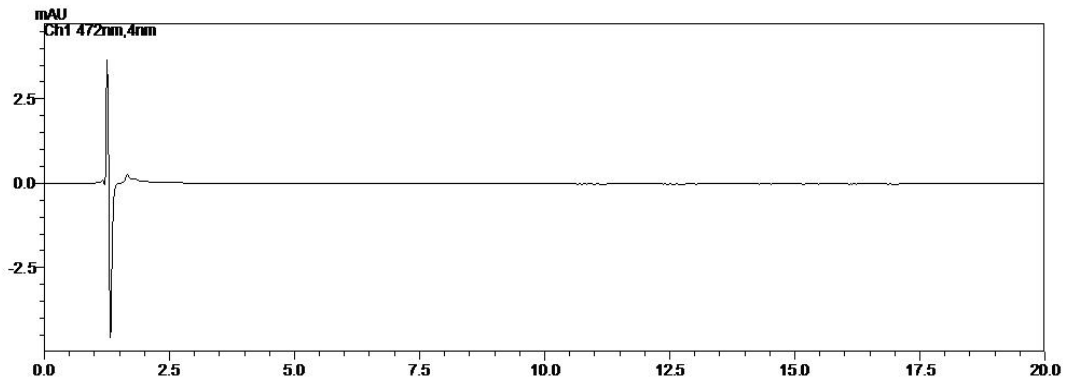


图 6 微囊化固体样品空白基质典型色谱图

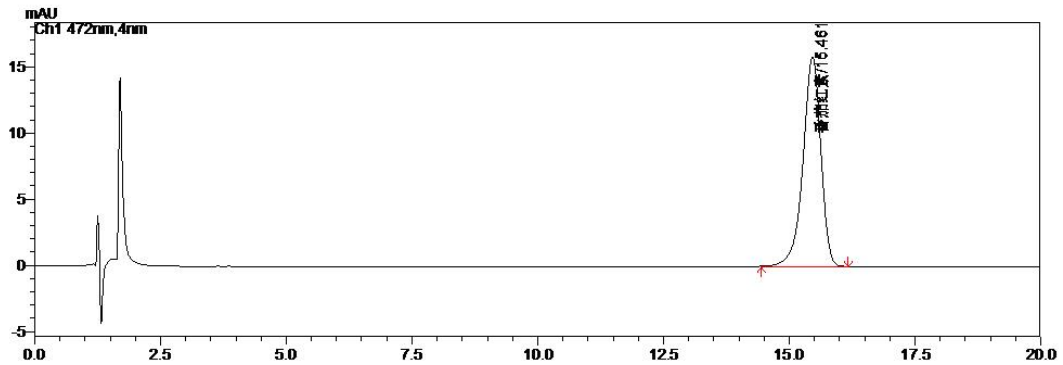


图 7 微囊化固体样品空白基质典型色谱图

2、检出限

选取空白样品基质 20 个平行样，分别添加估算检出限浓度的目标分析物，当目标分析物的检出概率不低于 95%时，定为检出限。

分别称取 0.25g 油溶性液体和一般性固体样品空白样品基质，各 20 份，添加 10 mg/100g 浓度水平的番茄红素，按标准规定进行处理

后，测定番茄红素的检出率为 100%，因此本方法的检出限定为：当取样量为 0.25 g，定容体积为 100 mL，进样量为 5 μ L 时，方法检出限为 10 mg/100 g。

称取 0.1 g 微囊化固体样品空白样品基质，各 20 份，添加 10 mg/100 g 浓度水平的番茄红素，按标准规定进行处理后，测定番茄红素的检出率为 100%，因此本方法的检测限定为：当取样量为 0.1 g，定容体积为 100 mL，进样量为 5 μ L 时，方法检出限为 25 mg/100 g。

表 3 检出限验证结果

基质	目标分析物检出数量	目标分析物检出率
油溶性液体样品	20	100%
一般性固体样品	20	100%
微囊化固体样品	20	100%
接受标准	目标分析物检出率 \geq 95%	
结论	本方法能够满足规定的检出限要求。	

3、定量限

分别称取 6 份 0.25 g 油溶性液体样品和一般性固体样品的空白样品基质，按照 30 mg/100 g 的浓度水平添加番茄红素标准物并进行独立检测。

称取 6 份 0.1 g 微囊化固体样品的空白样品基质，按照 75 mg/100 g 的浓度水平添加番茄红素标准物并进行独立检测；

该添加浓度水平测定结果的正确度和精密度见表 4。

表 4 定量限验证结果

测定次数	油溶性液体样品	一般性固体样品	微囊化固体样品

	测定结果 (mg/100g)	信噪比	测定结果 (mg/100g)	信噪比	测定结果 (mg/100g)	信噪比
1	24.63	107.81	31.12	93.39	74.6	25
2	24.33	85.67	32.22	98.78	73.1	25
3	22.52	100.89	31.45	79.71	73.7	25
4	24.36	110.19	32.69	135.24	74.9	27
5	23.83	118.88	31.07	109.72	76.4	26
6	24.31	112.63	31.19	137.45	76.6	27
平均值	24.00	/	31.62	/	74.9	/
RSD(%)	3.2	/	2.1	/	1.72%	/
接受标准	目标分析物					
结论	本方法能够满足规定的定量限要求。					

4、测定范围

采用标准曲线法定量，分别吸取适量经标定合格后的番茄红素对照品溶液，用 BHT 二氯甲烷溶液稀释，并用棕色容量瓶定容，配制成浓度范围为 0.25-50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的番茄红素标准工作溶液。试验数据和结果见表 5。

表 5 标准曲线测定结果

物质名称	浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	峰面积	线性方程	相关系数 R^2
番茄红素	0.25	18896	$y = 69017x + 3870.8$	0.9997
	1	77950		
	5	358099		
	10	708918		
	25	1683541		
	50	3473609		

5、正确度

通过测定标准添加样品中已知量目标分析物的回收率获得方法的正确度。

称取 0.25g 油溶性液体基质样品和 0.25g 一般性固体基质样品各 6 份，添加 30 mg/100 g、500 mg/100 g 和 1000 mg/100 g 3 个浓度水平。

称取 0.1 g 微囊化固体基质样品各 6 份，添加 75 mg/100g、1000 mg/100g 和 3000 mg/100g 3 个浓度水平。

测定并计算回收率和精密度，验证结果如下：

表 6 正确度测定结果

基质	浓度水平 (mg/100g)	测定次数						平均回收率 (%)	RSD (%)
		1	2	3	4	5	6		
油溶性液体样品	30	92	94	87	91	89	94	91	3.0
	500	94	94	93	94	95	96	94	0.9
	1000	96	95	94	96	95	95	95	0.7
一般性固体样品	30	90	94	92	96	90	91	92	2.6
	500	95	96	97	97	95	96	96	1.0
	1000	98	97	97	97	98	99	98	0.8
微囊化固体样品	75	100	98	98	100	102	102	100	1.8
	1000	98	99	99	97	98	98	98	0.8
	3000	102	102	103	103	103	103	103	0.5
接受标准	1、 $100 \mu\text{g/kg} < \text{浓度水平} \leq 1000 \text{ mg/kg}$ 时，回收率应在 80%~110%之间，重复性相对标准偏差应 $\leq 5.0\%$ 。 2、浓度水平 $> 1 \text{ g/kg}$ 时，回收率应在 90%~105%之间，重复性相对标准偏差应 $\leq 2.0\%$ 。								
结论	回收率和重复性标准偏差均符合要求，方法准确度和重复性良好。								

6、标样放置稳定性

(1) 验证要求

标准溶液在-18 ℃不同时间储存条件下，其经放置后标定的番茄红素含量应与新配制标准溶液经标定的番茄红素含量无显著差异。

(2) 验证方法

根据标准溶液的性质，选择-20 °C 储存条件和时间间隔，采用同样的分析方法和分析条件对经放置后的和新配制的标准溶液进行含量标定，并以新配制的标准溶液定量经放置后的标准溶液浓度。

(3) 结果评价

对比经放置后的标准溶液采用标定方法标定的浓度与新配制的标液定量出的浓度无差异，说明标样放置 8 天的稳定性能够满足要求。

表 7 稳定性验证结果

名称	时间(天)	0	2	4	6	8	25	35
番茄红素	标定含量(mg/mL)	0.06751	0.06786	0.06734	0.06531	0.06565	0.06480	0.06334
	定量含量(mg/mL)	0.06751	0.06785	0.06732	0.06518	0.06564	0.06468	0.06348
	定量含量/标定含量	1.000	1.000	1.000	1.002	1.000	1.002	0.998
	平均比值	1.000			RSD	0.14%		

7、稳健性

(1) 验证要求

选取 3 种不同品牌的番茄红素对照品，配制后进行浓度标定，不同品牌的对照品标定结果应无明显差异。

(2) 验证方法

将标定后的对照品溶液进行液相上机检测，使用其中 1 种品牌的番茄红素对照品制成的溶液作为标准溶液定量其他 2 种品牌的标准溶液。

(3) 结果评价

以 1 种品牌的标准溶液定量其他两种品牌标准溶液的浓度与其标定浓度结果基本一致,说明该种标样的标定方式稳健性能够满足要求。

表 8 稳健性验证结果

品牌	配制浓度 mg/mL	标定浓度 mg/mL	标定/配 制	以品牌 1 定量浓度 mg/mL	相对偏 差%
品牌 1	0.09913	0.06526	65.83%	——	——
品牌 2	0.09933	0.09738	98.04%	0.09634	1.08%
品牌 3	0.10694	0.10387	97.13%	0.10192	1.92%

8、溶液稳定性

(1) 验证要求

三种不同基质试样溶液保存在不同时间条件下,其目标分析物含量应无显著差异。

(2) 验证方法

根据试样溶液的性质,选择不同的储存时间间隔,采用同样的分析方法和分析条件对标准溶液或样品溶液中的目标分析物进行测定。

(3) 结果评价

取样品溶液进行稳定性试验,分别测定放置 0、2、4、6、8 小时后的含量,样品含量无变化,说明样品溶液稳定性满足要求。

表 9 稳定性验证结果记录表格样例

基质	时间 (h)	0	2	4	6	8
油溶性 液体样 品	峰面积	1890505	1730013	1699880	1694882	1694758
	含量(g/100g)	1.10	1.00	0.983	0.980	0.980
	平均值(g/100g)	1.01		RSD	5.15%	
一般性 固体样 品	峰面积	1890505	1789568	1761585	1772777	1776638
	含量(g/100g)	1.10	1.04	1.02	1.03	1.03
	平均值(g/100g)	1.04		RSD	2.92%	

微囊化 固体样 品	峰面积	743490	749702	745880	751398	752140
	含量(g/100g)	1.103	1.112	1.106	1.114	1.116
	平均值(g/100g)	1.11		RSD	0.50%	

9、再现性（实验室间方法验证）

本方法经过河北晨光检测技术服务有限公司、浙江省食品药品检验研究院、广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）、华测检测认证集团股份有限公司、仙乐健康科技股份有限公司、南京中科药业有限公司、汤臣倍健股份有限公司、无限极(中国)有限公司、广东长兴生物科技股份有限公司等，根据标准草案进行实验室间验证（包括检出限、定量限、测定范围、正确度和再现性），测定结果符合要求，实际样品再现性比对结果见下表。

表 10 番茄红素含量实验室间验证结果

编号	番茄红素含量 (g/100g)									RSD%
	Lab1	Lab2	Lab3	Lab4	Lab5	Lab6	Lab7	Lab8	Lab9	
样品 1 FQ-01S 软胶囊	2.35	2.33	2.53	2.68	2.59	2.61	2.38	2.52	2.24	6.05
样品 2 FQ-01S-2 软胶囊	3.70	3.79	3.80	3.95	4.04	3.97	3.68	4.03	3.70	3.82
样品 3 FQ-02S 硬胶囊（一般固 体内容物）	0.0970	0.110	0.0929	0.125（格 拉布斯检 验法排 除）	0.0960	0.110	0.0931	0.0900	0.0898	5.96
样品 4 FQ-02S-2 硬胶囊（微囊化 固体内容物）	0.830	0.702	1.18（格 拉布斯检 验法排 除）	0.916	0.816	0.961	0.777	0.866	/	8.38

附件 2

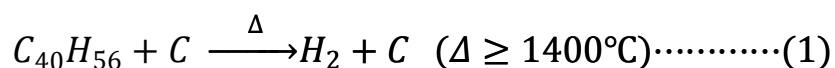
番茄红素氢稳定同位素比值 (D/H) 测定方法学验证报告

稳定同位素技术是已被证实的可用于食品掺假检测和真实性鉴别的有效技术手段,其应用基础是由于不同质量数的原子存在同位素分馏作用,导致自然丰度出现特异性变化,因而具有常规理化方法不可比拟的优越性,逐渐成为鉴别食品成分掺假、产地溯源的一种有效而又环保的手段,已经通过该技术实现对葡萄酒、调味品、油脂、蜂蜜等食品的掺假鉴别、质量评价及产地溯源。“植物提取”、“发酵生产”和“化学合成”的番茄红素在氢稳定同位素特征上存在差异。

基于此,验证了番茄红素的氢稳定同位素比值测定方法。

(一) 方法原理

高温条件下番茄红素 ($C_{40}H_{56}$) 定量生成 H_2 , 反应式见式(1)。 H_2 在 He 载气携带下经恒温色谱柱分离纯化, 导入同位素比值质谱仪的离子源内, 在质谱仪上测定 H_2 中 D/H 比值, 通过标准物质校正得到番茄红素样品中 δD_{VSMOW} 值。



(二) 方法研究

1、 IRMS 系统的测定稳定性

IRMS 系统的性能优劣是准确番茄红素转化的 H_2 中氢稳定同位素测定的首要指标。验证 IRMS 系统的测定稳定性, 连续 10 次通入固定量的高纯 H_2 气体, 测定 H_2 中 δD , 结果见表 11。其标准偏差为 0.1%, 稳定性较好。

表 11 IRMS 系统的测定稳定性

No.	1	2	3	4	5	SD
δD (‰)	-0.1	0	0.1	-0.1	0	
No.	6	7	8	9	10	
δD (‰)	-0.1	-0.3	-0.3	-0.2	0	-0.1

2、IRMS 系统的测定线性

由于 IRMS 测定样品气的 δD 时需要以高纯 H_2 气体（参考气）为基准，因此确保样品气与高纯 H_2 气体的进样体积一致是准确测定的关键，然而 CF-IRMS 体系下很难保证完全一致，而仅能确保样品气在特定范围内时能够测定准确。为验证该 IRMS 系统的线性范围，在连续 7 次进样过程中不断增加高纯 H_2 气体的进样量，并测定，结果见表 12，线性离子强度为 702-6393mV，测量值的线性标准偏差为 0.1%，因此该线性范围内，IRMS 针对 δD 的测定值较稳定。

表 12 IRMS 系统的线性测定结果

No.	1	2	3	4	5	6	7
离子强度 (mv)	720	1208	2976	3613	4013	5358	6393
δD (‰)	0.2	0	-0.2	-0.1	0.1	0.1	0.1

3、番茄红素 δD 测定方法

设定工作程序，裂解反应炉温度 1400 °C，柱温箱 85 °C，载气 He 流速 15 mL/min，从高温裂解/元素分析仪 (TC/EA) 进样口处进样盘放入裂解炉，高温条件下番茄红素样品与反应管中的玻璃化碳反应物发生还原反应生成 H_2 ，色谱柱分离纯化 H_2 后，氦气将 H_2 导入 IRMS 系统中测定 δD ， H_2 的离子流图见图 1。由图 1 可知，依照上述分析程序， H_2 的保留时间为 234.29 s，峰形尖锐，对称性好，因此，可采用 TC/EA-IRMS 法对番茄红素中 δD 值进行分析测定。

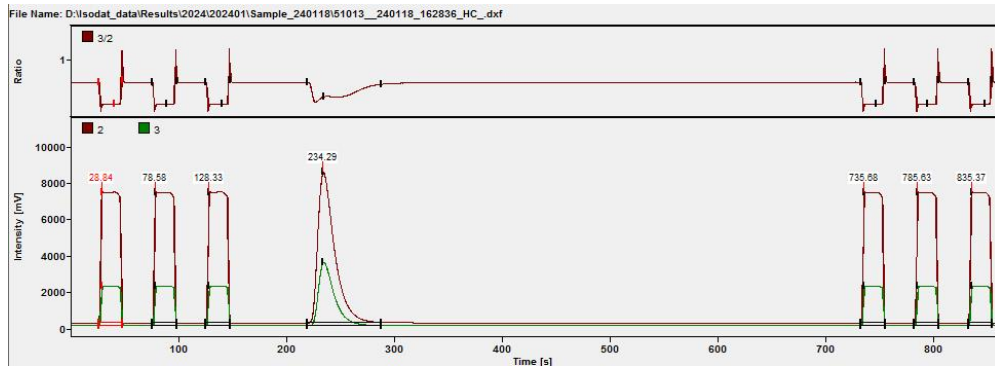


图 8 H₂ 的 TC/EA-IRMS 分析图谱

4、称样量选择

任选一个番茄红素样品为研究对象，称样量分别为 0.05 mg、0.1 mg、0.15 mg、0.2 mg、0.25 mg、0.35 mg、0.45 mg。结果表明，番茄红素进样量在 0.25~0.45 mg 间番茄红素 δD_{VSMOW} 值稳定，见表 13。因此，考虑天平的感量精度，称样量选择 0.3~0.4 mg。

表 13 番茄红素不同称样量时 δD_{VSMOW} 值

称样量/mg	δD	SD
0.05	-197.3	15.9
0.05	-219.8	
0.1	-229.7	8.2
0.1	-241.3	
0.15	-253.3	10.5
0.15	-238.5	
0.2	-224.4	14.2
0.2	-244.5	
0.25	-249.7	1.2
0.25	-248.0	
0.35	-248.58	1.2
0.35	-250.3	

0.45	-247.0	1.9
0.45	-249.6	

5、重复性验证

用 TC/EA-IRMS 连续 10 次同一个番茄红素样 δD ，表 14 数据显示测定结果的标准偏差优于 4‰。

表 14 番茄红素 δD_{VSMOW} 值重复性

No.	1	2	3	4	5	SD
δD (‰)	-252.3	-255.8	-254.9	-250.3	-254.8	
No.	6	7	8	9	10	
δD (‰)	-255.4	-254.7	-243.6	-248.2	-253.2	3.9

6、再现性验证

在 30 天内分三次，每隔 15 天测定质控番茄红素样中 δD ，每次测定 5 遍取平均值，测定结果的标准偏差为 1.6‰，这表明 δD 测定结果在 30 天内较稳定，方法再现性良好。

表 15 番茄红素 δD_{VSMOW} 值再现性

编号	第一次	第二次	第三次
1	-249.7	-247.8	-253.3
2	-247.5	-252.9	-253.1
3	-255.9	-244.9	-249.8
4	-254.0	-252.8	-253.6
5	-248.9	-248.8	-253.2
平均值	-251.2	-249.4	-252.6
SD	3.6	3.4	1.6

7、再现性（实验室间方法验证）

本方法选择 3 个不同工艺来源、纯度高于 93%的番茄红素样品为研究对象，经过中轻技术创新中心有限公司、中国科学院地理科学与

资源研究所、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、北京市疾病预防控制中心、中轻检验认证（太原）有限公司等 6 家单位，根据标准草案进行实验室间验证（包括重复性和再现性），测定结果符合要求，实际样品再现性比对结果见下表。

表 16 番茄红素 δD_{VSMOW} 值实验室间验证结果

编号	Lab1	Lab2	Lab3	Lab4	Lab5	Lab6	SD%
1#* (植物提取)	-264.1	-245.6	-268.3	-246.8	-250.7	-261.5	9.7
2# (发酵生产)	-120.3	-110.6	-124.0	-117.8	-120.2	-124.0	5.0
3# (化学合成)	/	-32.6	-35.4	-35.9	-33.5	-28.4	3.0