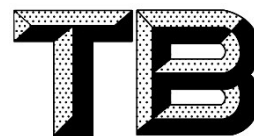


ICS

C



中国营养保健食品协会团体标准

T/CNHFA 003-2020

保健食品原料 番茄红素（化学合成）

Health food raw material lycopene (Chemical synthesis)

2021-11-23 发布

2021-12-23 实施

中国营养保健食品协会发布

前言

本标准由中国营养保健食品协会提出，根据《中国营养保健食品协会团体标准管理办法》制定。
起草单位：北京联合大学、晨光生物科技集团股份有限公司、中粮屯河番茄有限公司、新疆红帆生物科技有限公司、无限极（中国）有限公司。
主要起草人：惠伯棣、闫文杰、焦丽卫、李瑶、赵淑娜、刘睦邻、刘蕊、卢庆国、程远欣、焦丽洁。

1 范围

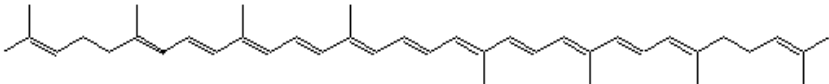
1.1 本标准适用于以类胡萝卜素合成中常用的中间体为原料经维蒂(Wittig)烯化反应合成的番茄红素制备物。
1.2 本标准适用于以 1.1 节描述的产品为主要原料，根据保健食品产品剂型的需要，添加或不添加保健食品辅料，以不同比例稀释和分布的油悬物（亦称番茄红素油）。

2 分子式、结构式和相对分子质量

2.1 分子式

C₄₀H₅₆

2.2 结构式



全反式番茄红素分子的结构式

2.3 相对分子质量

536.85

3 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内容。注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本标准。不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

GB 5009.12-2017 食品中铅的测定

GB1886.78-2016 食品安全国家标准 食品添加剂 番茄红素（合成）

4 技术要求

4.1 感官要求

（一）制备物

制备物的感官要求应符合附表 1 的规定。

表 1 制备物的感官要求

项目		要求	检测方法
感官要求	色泽	紫红至紫黑色	取适量样品置于清洁、干燥的白瓷盘中，在自然光下，观察其色泽、外观，嗅其气味，检查有无异物。
	气味	具有制备物特有的滋味和气味，无异味。	
	状态	晶体，无肉眼可见外来异物	

（二）悬浮物

油悬物（亦称番茄红素油）的感官要求应符合附表 2 的规定。

表 2 油悬浮物的感官要求

项目		要求	检测方法
感官要求	色泽	深红至紫黑色	取适量样品置于清洁、干燥的白瓷盘中，在自然光下，观察其色泽、外观，嗅其气味，检查有无异物。
	气味	具有制备物特有的滋味和气味。	
	状态	膏状或油状悬浮液，无肉眼可见外来异物。	

4.2 理化指标

制备物和油悬物的理化指标应符合附表 3 的规定。

表 3 制备物和油悬物的理化指标

项目		指标	检验方法
番茄红素含量	制备物，%（W/W）≥	96.0	见附件 A
	油悬物	符合声称	
阿朴-12'-番茄红素醛，%（W/W）≤		0.15	GB1886.78-2016 A.4
三苯基氧磷（TPPO），%（W/W）≤		0.01	GB 1886.78-2016 A.5
铅（Pb），mg/Kg ≤		0.5	GB 5009.12-2017

附件 A

番茄红素含量及其几何异构体组成的测定

A.1 试剂

- (1) 二氯甲烷（推荐含 0.05% (W/V) BHT）、石油醚（BP: 60-90°C）为分析纯试剂。
- (2) 乙腈、甲醇和甲基叔丁基醚（MTBE）为色谱纯试剂，使用前用 0.45 μ m 的微孔滤膜过滤。
- (3) 纯化水（经逆流渗透纯化）。
- (4) 番茄红素全反式异构体标准样品纯度为 $\geq 90\%$ (W/W, UV-VIS)，其中全反式异构体的含量 $\geq 96\%$ (W/W, C30-HPLC)。

A.2 仪器

- (1) 天平（0.0001g）
- (2) 超声波水槽（90W）
- (3) 冰箱（-20°C）
- (4) 高效液相色谱仪：二元梯度洗脱系统配备二极管阵列检测器。
- (5) 紫外-可见分光光度计（扫描范围：190-700nm）

A.3 番茄红素参比样品的纯度校准

A.3.1 取样

准确称取标准样品约 0.0050g，置于 50mL 棕色容量瓶中。

A.3.2 比色液的制备

在 50mL 棕色容量瓶中用少量（通常 1-5mL）的二氯甲烷将称取的参比样品完全溶解（推荐超声 15-30 秒），用石油醚定容制成储备液。储备液可在 -20°C 下避光保存 24 小时。准确量取 0.5mL 储存液于 25mL 棕色容量瓶中，用石油醚定容制成比色液。比色液的吸光值应控制在 0.3-0.7 之间，否则应调整比色液的浓度，重新测定其吸光值。根据调整过的稀释倍数，按式（1）重新计算参比样品中番茄红素全反式异构体的含量。

A.3.3 比色

使用光程为 1cm 的比色杯，以石油醚为对照，在最大吸收波长（ $\lambda_{\max}=472\text{nm}$ ）下测定比色液的吸光值。

A.3.4 计算

根据下式计算参比样品中番茄红素全反式异构体的含量：

$$C_{RS-AIE} = \frac{A \times V \times \text{稀释倍数}}{A_{1cm}^{1\%} \times M_{RS}} \quad (1)$$

式中：

C_{RS-AIE} —参比样品中番茄红素全反式异构体的含量（%，W/W）

A—在溶液最大吸收波长（ $\lambda_{\max}$ ）下的吸光值

V—比色液的初始定容体积（mL），在此为 50mL。

$A_{1cm}^{1\%}$ —吸光系数。定义为：在 1 厘米光程的比色杯中 1% (W/V) 浓度溶质的理论吸收值。在石油醚中，番茄红素在 $\lambda_{\max}$ 处的 $A_{1cm}^{1\%}=3450$ 。

M_{RS} —参比样品质量（g）

A.4 番茄红素几何异构体的 C30-HPLC 分离、鉴定与含量测定

A.4.1 参考色谱条件

色谱柱：YMC Carotenoid S-5 柱（4.6 $\times$ 250mm, 5 μ ）或其它等效色谱柱。流动相 A：乙腈-甲醇（3:1, V/V）。流动相 B：MTBE。线性梯度洗脱：B 在 18min 内由 0 增加至 80% (V/V)。在 18-30min 内，B 维持 80%。流速：1.0ml/min。检测波长：471nm。PDA 光谱收集范围 260-600nm；进样量：10 μ L；柱温：25°C。

A.4.2 全反式异构体标准曲线的制备及其线性范围、重复性和加样回收率的测定

根据参比样品中番茄红素全反式异构体的含量（ C_{RS-AIE} ，见 A 3.4 节），从 A.3.2 节所述的储备液中取一定量（通常为 2-3mL）的储备液于 10mL 棕色容量瓶中，用二氯甲烷定容，使其中的番茄红素全反式异构体浓度（ C_{RS-AIE} ）为 20.000 μ g/mL。然后逐级对半稀释，制作 8 个浓度的工作液。在 A.4.1 所述参考色谱条件下，对不同工作液进行色谱分析，得到番茄红素浓度-峰面积值标准曲线。在 0.156-10.000 μ g/mL 范围内，线性回归方程的 $R^2>0.999$ ，RSD $\leq 3.00\%$ （ $n\geq 6$ ），加样回收率 $\geq 97.00\%$ 。图 1 为番茄红素全反式异构体参比样品的 C30-HPLC 色谱图。

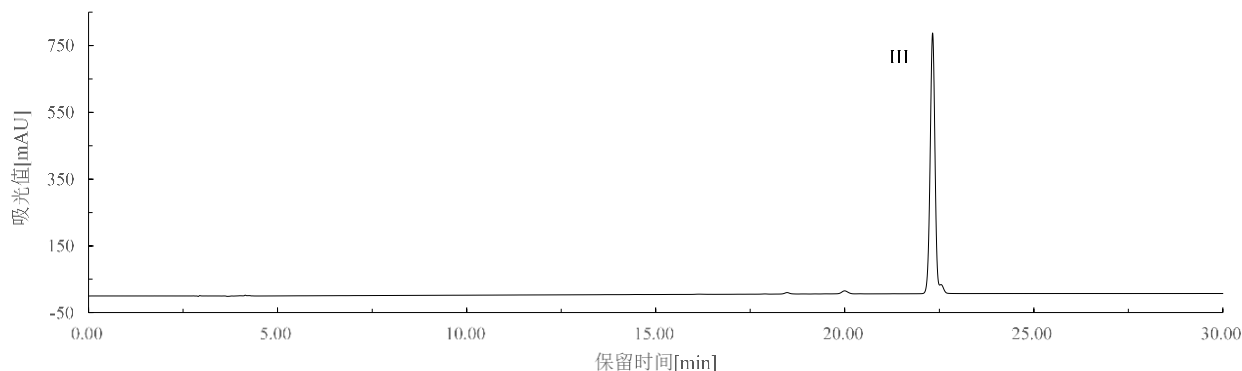


图1 番茄红素全反式异构体参比样品的C30-HPLC色谱图。色谱条件：见4.1节。组分鉴定：组分III=番茄红素。

A.4.3 样品制备

制备物样品直接称量。油悬物样品在取样前需在水浴中加热至 50°C，经过充分搅动，使其融化并均匀。在 25mL 棕色容量瓶中准确称取样品 0.2000-0.5000g。在容量瓶中加入少量（通常 1-5mL）二氯甲烷，超声 3 次，每次 15 秒，使之完全溶解后用二氯甲烷定容。准确量取 0.20mL 定容液于 25mL 棕色容量瓶中，用二氯甲烷定容，用于 HPLC 分析。

A.4.4 样品中番茄红素几何异构体的 C30-HPLC 分离

在 A.4.1 节所述色谱条件下，对样品进行 HPLC 分离。图 2 为样品的 C30-HPLC 色谱图。

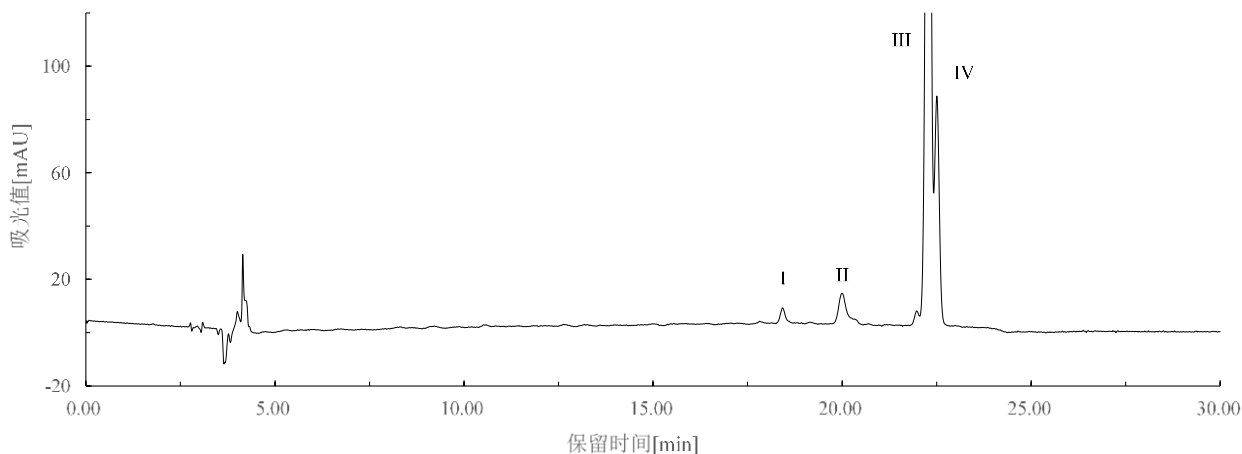


图2 样品的C30-HPLC色谱图。色谱条件：见A.4.1节。

A.4.5 样品中番茄红素几何异构体的鉴定

根据其保留时间和光谱特征（例如： $\lambda_{\max}$ ）与参比样品的数据比较，鉴定色谱图上番茄红素全反式异构体组分（组分 III）。样品中番茄红素顺式（Z）异构体的色谱行为（如选择性）和光谱特征（如 $\lambda_{\max}$ 、顺式吸收峰波长和顺式吸收峰相对强度）比较见图 3 和表 4。根据其色谱行为和光谱特征鉴定各异构体组分。

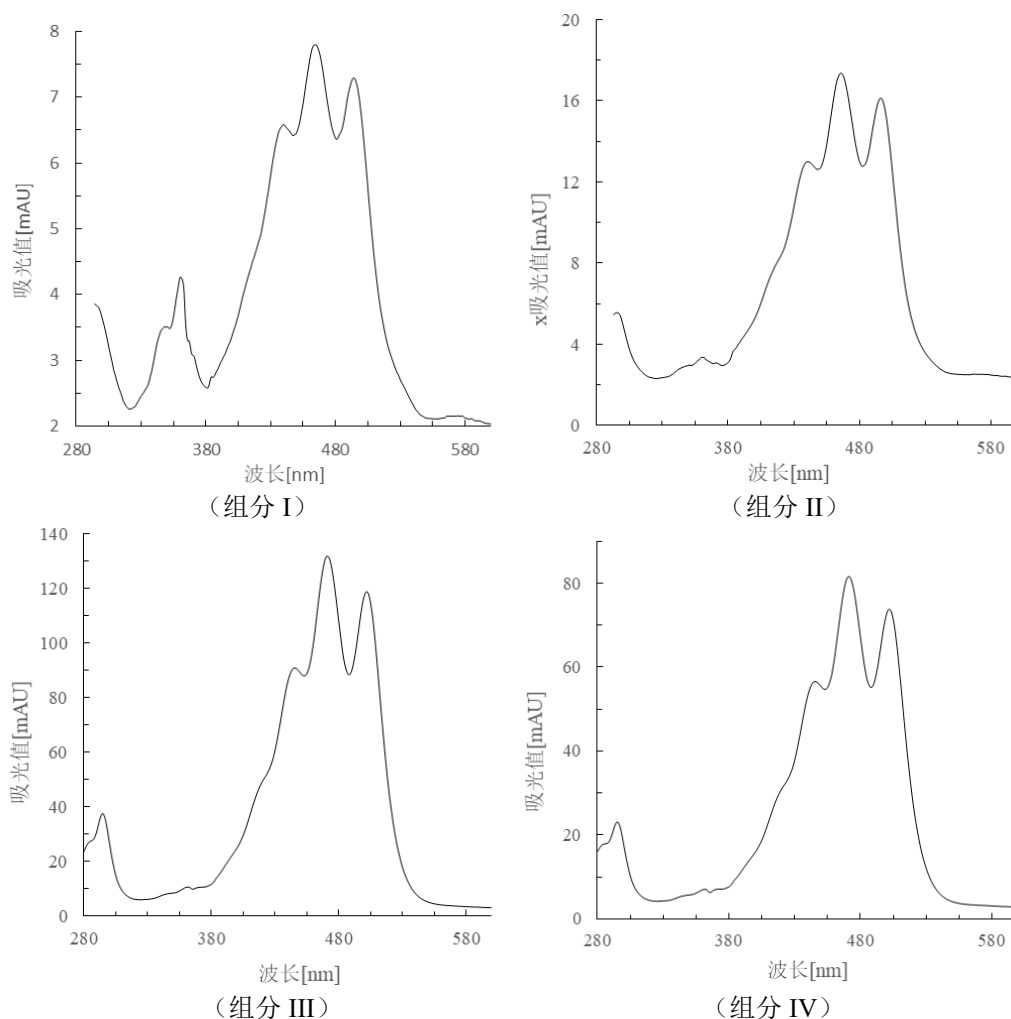


图3 组分 I、II、III 和 IV 的 UV-VIS 光谱图。溶剂：HPLC 流动相。

表 4 各组分的 光谱特征、色谱行为和鉴定

组分	保留时间 [min]	选择性 ($\alpha_{Z-All E}$) ^[1]	λ_{max} [nm]	顺式吸收峰波长 [nm]	顺式吸收峰相 对强度 ^[2]	化合物名称 ^[3]
I	18.43	0.7932	465	360	0.3871	13 顺式-番茄红素
II	19.99	0.8967	466	360	0.0677	9 顺式-番茄红素
III	22.28	1.0000	471	—	—	全反式番茄红素
IV	22.51	1.0122	471	362	0.0541	5 顺式-番茄红素

注：

[1] 选择性 ($\alpha_{Z-All E}$):

$$\alpha_{Z-All E} = \frac{t_Z - t_0}{t_{All E} - t_0} \quad (2)$$

式中：

$\alpha_{Z-All E}$ ：一顺式异构体组分相对于全反式异构体组分在柱色谱过程中的选择性。

t_0 —在柱色谱过程中，样品溶剂峰的绝对保留时间[min]。

t_Z —顺式异构体组分在色谱过程中的绝对保留时间[min]。

$t_{All E}$ —全反式异构体组分在色谱过程中的绝对保留时间[min]。

[2] 顺式吸收峰相对强度： $RI = \frac{I'}{I}$

式中：

RI —顺式吸收峰相对强度。

I —主吸收带 λ_{max} 处的吸光值（峰高），以 600nm 处的吸光值为 0 点。

I' —顺式吸收带 λ_{max} 处的吸光值（峰高），以 600nm 处的吸光值为 0 点。

A.4.6 样品中番茄红素全反式异构体的定量

在色谱图（图 2）上积分计算番茄红素全反式异构体组分的峰面积。以试样中番茄红素全反式异构体组分峰面积与标准曲线比较定量。按式（3）计算样品中番茄红素全反式异构体组分的浓度。

$$C_{III} = \frac{C_{III'} \times V \times \text{稀释倍数}}{M_S \times 10^4} \quad (3)$$

式中：

C_{III} = 样品中番茄红素全反式异构体的含量（%，W/W）

$C_{III'}$ = 从标准曲线查得的试样中番茄红素全反式异构体浓度的数值（ $\mu\text{g/mL}$ ）

V = 样品液的初始定容体积（mL）

M_S = 样品质量（g）

样品中番茄红素全反式异构体组分的峰面积应在标准曲线的线性范围内。否则应调整样品的稀释倍数，按式（3）重新计算样品中番茄红素全反式异构体的含量。

A.4.7 样品中番茄红素顺式异构体的定量

在色谱图（图 2）上积分计算番茄红素顺式异构体组分 I、II 和 IV 的峰面积。根据番茄红素全反式异构体标准曲线，以全反式番茄红素含量计，定量 3 个顺式异构体组分。计算结果分别乘以不同的系数，换算成各顺式异构体的含量。各异构体的吸光系数（ $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ ）和换算系数见表 5。

表 5 各番茄红素几何异构体的

组分	化合物名称	$A_{1\text{cm}}^{1\%}$ [1]	换算系数[2]
I	13 顺式-番茄红素	1116	0.3246
II	9 顺式-番茄红素	2181	0.6344
III	全反式番茄红素	3438	1.0000
IV	5 顺式-番茄红素	3421	0.9951

注：

[1] Huang J, Hui B. The determination of lycopene Z-isomer absorption coefficient on C30-HPLC. Food Sci Nutr. 2020 Oct 13;8(11):5943-5952. doi: 10.1002/fsn3.1879. PMID: 33282246; PMCID: PMC7684632.

[2] 按式（4）计算各换算系数：

$$CC_{All\ E-nZ} = \frac{A_{1\text{cm}\ nZ}^{1\%}}{A_{1\text{cm}\ All\ E}^{1\%}} \quad (4)$$

式中：

$CC_{All\ E-nZ}$ = 各顺式异构体含量的换算系数

$A_{1\text{cm}\ nZ}^{1\%}$ = 在 1cm 光程长的比色杯中 1%（W/V）浓度番茄红素顺式异构体的理论吸收值。 $n=13$ 、9 或 5。

$A_{1\text{cm}\ All\ E}^{1\%}$ = 在 1cm 光程长的比色杯中 1%（W/V）浓度番茄红素全反式异构体的理论吸收值。

按式（5）计算各顺式番茄红素异构体的含量：

$$C_{nZ} = \frac{C_{nZ-All\ E}}{CC_{All\ E-nZ}} \quad (5)$$

式中：

C_{nZ} = 各顺式异构体含量（%，W/W）

$C_{nZ-All\ E}$ = 各顺式异构体含量（%，W/W），以全反式异构体含量计。

$CC_{All\ E-nZ}$ = 各顺式异构体含量的换算系数

$n=5$ 、9 或 13。

A.5 样品中番茄红素含量的计算

按式（6）或（7）计算样品中番茄红素的含量：

$$C_{Total} = \frac{C_{13Z-All\ E}}{CC_{All\ E-13Z}} + \frac{C_{9Z-All\ E}}{CC_{All\ E-9Z}} + \frac{C_{All\ E-All\ E}}{CC_{All\ E-All\ E}} + \frac{C_{5Z-All\ E}}{CC_{All\ E-5Z}} \quad (6)$$

$$C_{Total} = C_{13Z} + C_{9Z} + C_{All\ E} + C_{5Z} \quad (7)$$

式中：

C_{Total} = 番茄红素含量（%。W/W）

每个样品重复进样 6 次以上（ $n > 6$ ），取平均值为测定结果， $RSD \leq 3.00\%$ 。