



中华人民共和国国家标准

GB 5009.308—2025

食品安全国家标准

食品中抗坏血酸棕榈酸酯的测定

2025-09-02 发布

2026-03-02 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

食品中抗坏血酸棕榈酸酯的测定

1 范围

本标准规定了食品中抗坏血酸棕榈酸酯的液相色谱测定方法。

本标准适用于食品中抗坏血酸棕榈酸酯的测定。

2 原理

试样中的抗坏血酸棕榈酸酯用柠檬酸-异抗坏血酸甲醇溶液提取后,经反相液相色谱分离,二极管阵列检测器或紫外检测器检测,外标法定量。

3 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

3.1.1 甲醇(CH_3OH):色谱纯。

3.1.2 乙腈($\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$):色谱纯。

3.1.3 磷酸(H_3PO_4)。

3.1.4 柠檬酸($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$)。

3.1.5 异抗坏血酸($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$)。

3.2 试剂配制

3.2.1 柠檬酸-异抗坏血酸甲醇溶液:称取 1.0 g 柠檬酸和 1.0 g 异抗坏血酸,用甲醇溶解并稀释至 1 000 mL。

3.2.2 磷酸溶液(0.1%):量取 1.0 mL 磷酸,用水稀释至 1 000 mL,混匀备用。

3.2.3 甲醇-乙腈溶液(50+50):将甲醇和乙腈按 50:50 的体积比,混匀备用。

3.3 标准品

3.3.1 抗坏血酸棕榈酸酯标准品($\text{C}_{22}\text{H}_{38}\text{O}_7$,CAS 号:137-66-6):纯度 $\geq 98\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 抗坏血酸棕榈酸酯标准溶液(1.00 mg/mL):准确称取 25 mg(精确至 0.1 mg)标准品,用柠檬酸-异抗坏血酸甲醇溶液溶解并定容至 25 mL,混匀。临用现配。

3.4.2 抗坏血酸棕榈酸酯标准中间溶液(0.100 mg/mL):准确吸取 1.00 mg/mL 标准溶液 1.00 mL,用柠檬酸-异抗坏血酸甲醇溶液稀释并定容至 10 mL,混匀。临用现配。

3.4.3 抗坏血酸棕榈酸酯标准工作溶液:准确吸取标准中间溶液 0.10 mL、0.20 mL、0.50 mL、1.0 mL、5.0 mL 用柠檬酸-异抗坏血酸甲醇溶液稀释并定容至 10 mL,混匀,得到质量浓度分别为 1.00 $\mu\text{g/mL}$ 、2.00 $\mu\text{g/mL}$ 、5.00 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作溶液。临用现配。

注:可在线性范围内适当调整标准工作溶液浓度点。

3.5 材料

有机微孔滤膜:0.22 μm 。

4 仪器和设备

4.1 液相色谱仪:配有二极管阵列检测器或紫外检测器。

4.2 电子天平:感量分别为 0.01 mg 和 0.1 mg。

4.3 组织粉碎机。

4.4 水平振荡器。

4.5 离心机:转速不低于 8 000 r/min。

5 分析步骤

5.1 试样制备

液体样品如花生油、果蔬汁饮料等测定前摇匀;质地均匀的粉状、糊状样品如乳粉、果泥等测定前充分混匀;其他固体、半固体样品如罐头、面包、燕麦片、糖果等粉碎(胶基糖果必要时可以采用剪碎或冷冻粉碎),过筛,使其粒径小于 2 mm,混合均匀。样品置于避光密闭的容器内冷藏保存。

5.2 试样处理

5.2.1 试样提取

称取试样 5 g(精确至 0.001 g),置于 50 mL 离心管中,加入 30 mL 柠檬酸-异抗坏血酸甲醇溶液,盖紧管盖,置于水平振荡器上,以不低于 250 次/min 振荡提取 10 min,将其全部转移至 50 mL 容量瓶中,用柠檬酸-异抗坏血酸甲醇溶液定容至刻度,混合均匀。

5.2.2 净化

上述试样提取液用滤纸过滤(弃去初滤液)或 8 000 r/min 离心 1 min 获取上清液后,经 0.22 μm 有机微孔滤膜过滤至棕色样品瓶,供高效液相色谱仪分析。

注:必要时试样溶液可用柠檬酸-异抗坏血酸甲醇溶液稀释,使试样溶液中抗坏血酸棕榈酸酯的浓度在标准工作溶液浓度范围内;试样溶液应于 12 h 内上机测定。

5.3 空白试验

除不加试样外,其他步骤均按 5.2 与试样同时处理。

5.4 仪器参考条件

5.4.1 色谱柱: C_{18} 柱(4.6 mm $\times$ 150 mm,5 μm)或具有同等性能的色谱柱。

5.4.2 检测波长:245 nm。

5.4.3 流动相:A 为甲醇-乙腈溶液(50+50),B 为磷酸溶液(0.1%)。

5.4.4 流速:1.0 mL/min。

5.4.5 进样量:10 μ L。

5.4.6 柱温:30 $^{\circ}$ C。

5.4.7 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	40	60
1.0	40	60
5.0	60	40
12.0	95	5
19.0	95	5
20.0	40	60
25.0	40	60

5.5 标准曲线的制作

将标准系列工作溶液按照浓度由低到高的顺序注入高效液相色谱仪中,以抗坏血酸棕榈酸酯质量浓度为横坐标,以测得的峰面积为纵坐标,制作标准曲线。标准溶液的色谱图见附录 A 中图 A.1。

5.6 试样溶液的测定

将试样溶液注入高效液相色谱仪中,得到相应的峰面积,根据标准曲线得到试样溶液中抗坏血酸棕榈酸酯的质量浓度。

6 分析结果的表述

试样中抗坏血酸棕榈酸酯的含量按式(1)计算:

$$X = \frac{(\rho - \rho_0) \times V \times f \times 1\,000}{m \times 1\,000} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X —— 试样中抗坏血酸棕榈酸酯的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

ρ —— 由标准曲线得到的试样溶液中抗坏血酸棕榈酸酯的浓度,单位为微克每毫升(μ g/mL);

ρ_0 —— 由标准曲线得到的空白试验溶液中抗坏血酸棕榈酸酯的浓度,单位为微克每毫升(μ g/mL);

V —— 试样溶液定容的体积,单位为毫升(mL);

f —— 试样溶液的稀释因子;

m —— 试样的质量,单位为克(g);

1 000—— 换算系数。

计算结果保留 3 位有效数字。

注:当结果以抗坏血酸计时,试样中抗坏血酸棕榈酸酯含量乘以换算系数 0.425,即得抗坏血酸的含量;若结果需以油脂中抗坏血酸计,油脂含量依据 GB 5009.6 测定。

7 精密度

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 10%。

8 其他

当称样量为 5 g、定容体积为 50 mL 时,本方法的检出限为 5 mg/kg,定量限为 10 mg/kg。

附 录 A
抗坏血酸棕榈酸酯标准溶液色谱图

抗坏血酸棕榈酸酯标准溶液色谱图见图 A.1。

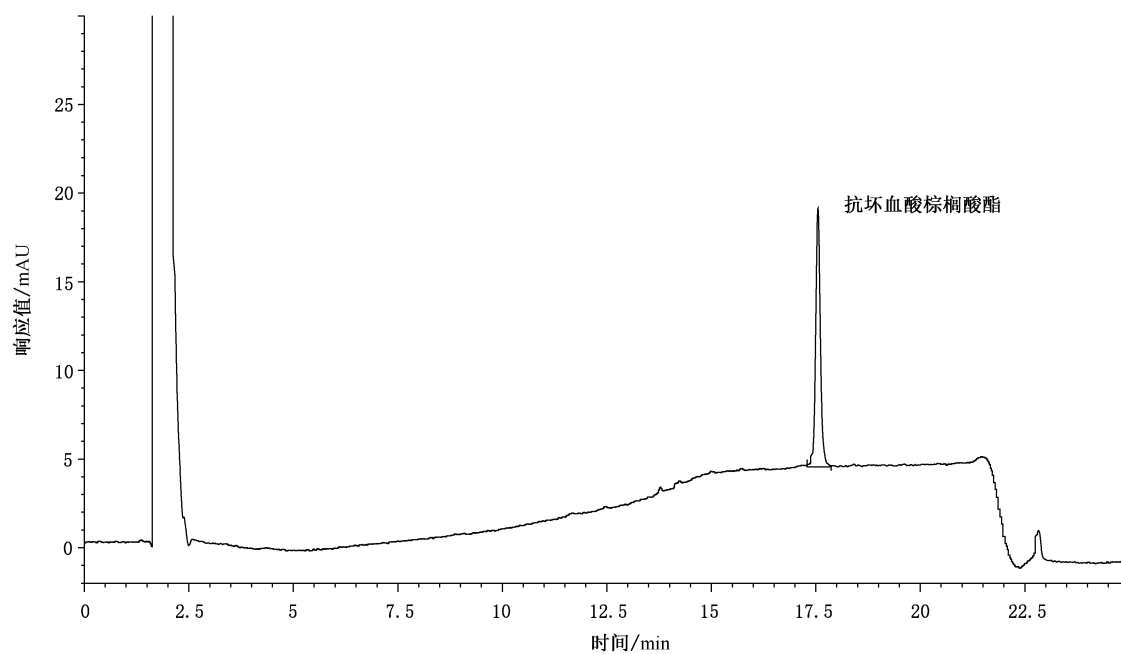


图 A.1 抗坏血酸棕榈酸酯标准溶液(10.0 µg/mL)色谱图