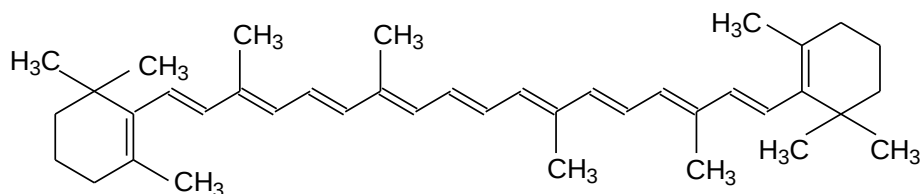


§09014

β-胡蘿蔔素
β-Carotene



All-trans-β-carotene (主要化合物)

分子式： $C_{40}H_{56}$

分子量：536.88

1. 定義：本品主要由all-*trans*-β-carotene組成，並可能含有少量順式異構物及其他類胡蘿蔔素。本品於商業製備可能與食用油製成懸浮液或水分散性粉末。其順/反式異構物之比例可能略有差異。亦可由真菌*Blakeslea trispora*發酵產生。
2. 含量：本品所含總著色物應在96.0%以上(以β-胡蘿蔔素計)。
3. 外觀：本品為紅～棕紅色結晶或結晶狀粉末，對氧氣和光敏感，故應保存於惰性氣體下之避光容器中。
4. 鑑別：
 - (1)溶解度：本品不溶於水；幾乎不溶於乙醇；微溶於植物油。
 - (2)類胡蘿蔔素：本品之丙酮/環己烷(1:1, v/v)混合溶液(1→1000)應呈橙色。取此溶液1 mL，以丙酮稀釋至25 mL，作為檢品溶液。取檢品溶液5 mL，加入亞硝酸鈉溶液(1→20) 1 mL及0.5 M硫酸溶液1 mL，其顏色應立即消失。
 - (3)吸光度：取9.含量測定之檢品溶液(V_3)，按照吸光度測定法(附錄A-13)測定其波長340 nm、455 nm及483 nm之吸光度 A_{340} 、 A_{455} 及 A_{483} 。
*Blakeslea trispora*來源：所得之吸光度比 A_{455}/A_{483} 應為1.14～1.19； A_{455}/A_{340} 應在0.75以上。
其他來源：所得之吸光度比 A_{455}/A_{483} 應為1.14～1.19； A_{455}/A_{340} 應在15以上。
5. 硫酸化灰分：取本品2 g，精確稱定，按照熾灼殘渣檢查法(附錄A-4)檢查之，於 $800 \pm 25^\circ\text{C}$ 熾灼15分鐘，必要時延長熾灼時間，使完全灰化，*Blakeslea trispora*來源其遺留殘渣應在0.2%以下；若為其他來源則應在0.1%以下。
6. 輔助著色物：利用高效液相層析法測定檢品中除β-胡蘿蔔素以外之類胡蘿蔔素，其含量應佔總著色物之3.0%以下。

(1)檢液之配製：

取本品約0.010 g，精確稱定，以含0.025% BHT之四氫呋喃(tetrahydrofuran)溶解並定容至100 mL。取此液與乙醇以1：10 (v/v)比例混勻，供作檢品溶液，依下列條件進行液相層析。

(2)測定：

全反式β-胡蘿蔔素及其順式異構物之滯留時間介於20-25分鐘，最大波峰為全反式β-胡蘿蔔素(all-trans-β-carotene)，其餘類胡蘿蔔素及β-胡蘿蔔素之順式異構物與全反式β-胡蘿蔔素之相對滯留時間(relative retention time)分別為全反式-視網醛(all-trans-retinal) 0.26、全反式β-衍-12'-胡蘿蔔醛(all-trans-β-apo-12'-carotenal) 0.33、全反式β-衍-10'-胡蘿蔔醛(all-trans-β-apo-10'-carotenal) 0.34、全反式γ-胡蘿蔔素(all-trans-γ-carotene) 0.85、全反式α-胡蘿蔔素(all-trans-α-carotene) 0.95、9-順式-β-胡蘿蔔素(9-cis-β-carotene) 1.05、13-順式-β-胡蘿蔔素(13-cis-β-carotene) 1.15及15-順式-β-胡蘿蔔素(15-cis-β-carotene) 1.18。就檢品溶液所得波峰之滯留時間與上述各成分之相對滯留時間鑑別之，並依下列計算式求得檢品中除β-胡蘿蔔素以外之類胡蘿蔔素佔總著色物之含量。

檢品中除β-胡蘿蔔素以外之類胡蘿蔔素佔總著色物之含量

$$(\%) = \left[\frac{A_{\text{total}} - A_{\beta\text{-carotenes}}}{A_{\text{total}}} \right] \times 100$$

A_{total} ：扣除溶劑之各波峰面積總和

$A_{\beta\text{-carotenes}}$ ：β-胡蘿蔔素(包括全反式β-胡蘿蔔素、9-順式-β-胡蘿蔔素、13-順式-β-胡蘿蔔素及15-順式-β-胡蘿蔔素)波峰面積總和

高效液相層析測定條件^(註)：

紫外光或光二極體陣列檢出器：波長453 nm。

層析管：Reverse phase C18，Suplex pkb-100，5 μm，內徑4.6 mm × 250 mm，或同級品。

層析管溫度：30°C。

移動相溶液：取BHT 50 mg，置於1000 mL容量瓶中，以異丙醇20 mL溶解，加入N-乙基二異丙基胺(N-ethyl-diisopropylamine) 0.2 mL、0.2%醋

酸銨溶液25 mL、乙腈455 mL及甲醇約450 mL，充分混合，冷卻至室溫，以甲醇定容至1000 mL，經濾膜過濾，供作移動相溶液，配製2天後應丟棄。

移動相流速：0.6 mL/min。

自動進樣器溫度：15°C。

注入量：10 µL。

層析時間：35 min。

註：上述條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

7. 溶劑殘留：利用頂空氣相層析法測定檢品中乙醇(ethanol)、乙酸乙酯(ethyl acetate)、異丙醇(isopropanol)及乙酸異丁酯(isobutyl acetate)之含量，*Blakeslea trispora*來源之檢品所含乙醇及乙酸乙酯應在0.8%以下(總計或單一計)，異丙醇應在0.1%以下，乙酸異丁酯應在1.0%以下。

(1)內部標準溶液之配製：

取甲醇50 mL，置於50 mL頂空分析瓶中密封，精確量取3-甲基-2-戊酮(3-methyl-2-pentanone) 15 µL，通過隔墊注入，混合均勻，供作內部標準溶液。

(2)空白檢液之調製：

取空白檢品約0.2 g，精確稱定，置於頂空分析瓶中，加入甲醇5 mL及內部標準溶液1 mL，於60°C加熱10分鐘，並劇烈振盪10秒，供作空白檢液。

(3)檢品溶液之調製：

取檢品約0.2 g，精確稱定，置於頂空分析瓶中，加入甲醇5 mL及內部標準溶液1 mL，於60°C加熱10分鐘，並劇烈振盪10秒，供作檢品溶液。

(4)校準溶液之調製：

取甲醇50 mL，置於50 mL頂空分析瓶中密封並稱重。精確量取標準品50 µL，通過隔墊注入，並精確稱定至0.01 mg以內(前後重量相減求得標準品之稱重量)，混合均勻，供作校準原液。

取空白檢品約0.2 g，置於頂空分析瓶中，加入甲醇4.9 mL、內部標準溶液1 mL及校準原液0.1 mL，混合均勻，於60°C加

熱10分鐘，並劇烈振盪10秒，供作校準溶液。

(5)測定法：

將檢品溶液、空白檢液及校準溶液之頂空分析瓶置於頂空進樣器上，依下列條件進行分析，就檢品溶液與校準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，並依下列計算式分別求得檢品中乙醇、乙酸乙酯、異丙醇或乙酸異丁酯之含量。

檢品中乙醇、乙酸乙酯、異丙醇或乙酸異丁酯之含量(%)

$$= \frac{R_s \times W_{st} \times 0.1}{(R_{st} - R_b) \times W_s \times 50} \times 0.1$$

R_s ：檢品溶液中乙醇、乙酸乙酯、異丙醇或乙酸異丁酯與內部標準品之相對波峰面積

R_{st} ：校準溶液中乙醇、乙酸乙酯、異丙醇或乙酸異丁酯與內部標準品之相對波峰面積

R_b ：空白檢液中乙醇、乙酸乙酯、異丙醇或乙酸異丁酯與內部標準品之相對波峰面積

W_{st} ：乙醇、乙酸乙酯、異丙醇或乙酸異丁酯標準品之稱重量(mg)

W_s ：檢品之採取量(g)

頂空進樣條件^(註)：

樣品加熱溫度：60°C。

樣品加熱時間：10 min。

頂空進樣針溫度：70°C。

轉移溫度：80°C。

注入量：1.0 mL。

注入模式：分流。

氣相層析條件^(註)：

檢出器：火焰離子檢出器。

層析管：DB-wax毛細管(膜厚1 μm，內徑0.53 mm × 0.8 m)
串聯DB-1毛細管(膜厚5 μm，內徑0.53 mm × 30 m)，或同級品。

層析管溫度：初溫：35°C，5 min；

升溫速率：5°C/min；

終溫：90°C，6 min。

注入器溫度：140°C。

檢出器溫度：300°C。

移動相氣體流速：氮氣，5 mL/min。

註：上述條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之

測定條件。

8. 鉛：取本品0.5 g，按照衛生福利部公告「重金屬檢驗方法總則」進行分析，其所含鉛(Pb)應在2 mg/kg以下。
9. 含量測定：取本品約0.08 g，精確稱定，加氯仿20 mL使之完全溶解，以環己烷(cyclohexane)定容至100 mL (V_1)，精確量取5 mL (v_1)，以環己烷定容至100 mL (V_2)，再精確量取5 mL (v_2)，以環己烷定容至100 mL (V_3)，供作檢品溶液。另取環己烷作空白試液，按照吸光度測定法(附錄A-13)於最大吸收峰之波長455 nm，光徑長度1 cm，測定其吸光度，並依下式計算求得檢品中總著色物之含量(以 β -胡蘿蔔素計)。

$$\text{檢品中總著色物之含量(\%)} = \frac{A \times V_1 \times D}{W \times A_{1\text{cm}}^{1\%}}$$

A：檢品溶液之吸光度

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$ ：標準品之比吸光度(2500)

W：檢品之採取量(g)

D：稀釋倍數($\frac{V_2 \times V_3}{v_1 \times v_2}$)

參考文獻：

1. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 2019. Monograph 23. β -Carotenes, synthetic. Compendium of Food Additive Specifications. [https://www.fao.org/3/cb0743en/cb0743en.pdf]
2. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 2019. Monograph 23. β -Carotenes from *BLAKESLEA TRISPORA*. Compendium of Food Additive Specifications. [https://www.fao.org/3/cb0742en/cb0742en.pdf]
3. 厚生労働省。2024。β-カロテン。第10版食品添加物公定書。東京，日本。