

斑蝥黄含量的测定 解决方案

目录

前言 I

第 1 章 饲料中斑蝥黄含量的测定 1

1.1 仪器设备与试剂 1

1.2 实验方法 2

1.2.1 标准混合工作液配制 2

1.2.2 色谱条件 2

1.3 实验结果 3

1.3.1 典型分离色谱图 3

1.3.2 线性与检出限 3

第 2 章 动物源性食品中斑蝥黄的测定 4

2.1 仪器设备与试剂 4

2.2 实验方法 6

2.2.1 标准混合工作液配制 6

2.2.2 试剂配制 6

2.2.3 样品前处理 6

2.2.4 色谱条件 6

2.3 实验结果 7

2.3.1 典型分离色谱图 7

2.3.2 线性与检出限 8

2.3.3 实际样品分离色谱图 8

前言

2019 年 3•15 晚会曝光了多个鸡蛋品牌使用斑蝥黄饲养出的笼养鸡蛋冒充“土鸡蛋”高价销售，欺骗消费者，着实又引起一大片偏爱土鸡蛋消费者的惊恐之声。那么，这鸡蛋的化妆品——斑蝥黄，到底是什么呢？

斑蝥黄是一种维生素 A 源类胡萝卜素，亦称角黄素。它天然存在于许多食物中，如蘑菇、鱼类和蛋类等。作为色素，可以从天然产品中提取，也可以通过人工进行合成。其作为饲料添加剂混合在动物饲料中使用，可以使食用的禽类、三文鱼等肉质颜色更加红润，蛋黄的颜色更加鲜明诱人。

从目前的研究来看，该色素安全性佳，合理使用，不会对人体健康产生不利影响。我国原农业部发布的《饲料添加剂品种目录(2013)》中规定，斑蝥黄是可以作为着色剂在家禽饲料中添加使用的。在欧盟国家，斑蝥黄也是允许被作为着色剂，添加到鳟鱼饲料、鲑鱼饲料和家禽饲料中，且有明确的限量标准：蛋鸡饲料中 8 毫克/千克，其他家禽和鲑科动物饲料中 25 毫克/千克。

目前我国对斑蝥黄的使用、“土鸡蛋”的规范等还未有明确标准，虽然“化妆鸡蛋”不会对百姓身体健康造成影响，但利用“化妆鸡蛋”欺骗消费者，却是违法行为。

依利特公司依据《NYT2896-2016 饲料中斑蝥黄的测定 高效液相色谱法》和《SN/T 2327-2009 进出口动物源性食品中角黄素、虾青素的检测方法》分别对饲料中和鸡蛋中的斑蝥黄进行了检测，推出了斑蝥黄检测解决方案，与 3•15 一起，守护大家食品安全，保障消费者权益。

第1章 饲料中斑蝥黄含量的测定

此方法参考《NY/T 2896-2016 饲料中斑蝥黄的测定 高效液相色谱法》，本标准适用于预混合饲料添加剂、浓缩饲料及配合饲料中斑蝥黄的测定。

1.1 仪器设备与试剂

表1-1(a) EClassical 3100型高效液相色谱系统设备标准配置清单

序号	名称	数量	订货号
1	UV3100紫外-可见检测器	1台	31020023
2	P3100高压恒流泵	1台	31010047
3	O3100色谱柱恒温箱	1台	31040010
4	Rheodyne 7725i高压六通进样阀	1个	32027725i
5	ZJ-1阀支架	1个	18050004
6	色谱数据工作站	1套	
7	TD-1-15梯度混合器(选配)	1个	31060001
8	TP3100溶剂托盘	1台	
9	Supersil SiO ₂ 5 μm 4.6×250mm色谱柱	1支	
10	S3100自动进样器(选配)	1台	31090005
11	DG3100在线脱气机(选配)	1台	31050006

表1-1(b) iChrom 5100型高效液相色谱系统设备标准配置清单

序号	名称	数量	订货号
1	D5101紫外-可见检测器	1台	31020022
2	P5101高压恒流泵	1台	31010041
3	O5100色谱柱恒温箱	1台	31040009
4	Rheodyne 7725i高压六通进样阀	1个	32027725i
5	VB5101阀支架	1个	18050012
6	色谱数据工作站	1套	
7	M5101系统组织器	1台	31080009
8	Supersil ODS2 5 μm 4.6×250mm色谱柱	1支	
9	5100系统工具包	1套	
10	S5101自动进样器(选配)	1台	31090004
11	P5102高压恒流泵(选配)		
12	M5102系统组织器(选配)	1台	31080010

表1-2 主要化学试剂、标准品清单

序号	试剂	纯度
1	正己烷	分析纯
2	丙酮	分析纯
3	斑蝥黄	100 $\mu\text{g/mL}$ (阿拉丁)

表1-3 主要样品前处理设备

序号	名称	规格型号	备注
1	溶剂过滤器	1000mL	流动相过滤
2	隔膜真空泵	0.08MPa, 160W	流动相过滤, GM-0.33A
3	超声清洗器	3L/6L, 40/60KHz, 120W	流动相脱气, AS3120
4	精密电子天平	感量为万分之一	称量

实验过程中其它玻璃器皿还包括容量瓶(100mL、50mL、25mL、10mL)、移液枪(0~1000 μL , 0~5000 μL)、移液枪枪头(1mL, 5mL)、一次性PVC手套、一次性口罩、进样针、滤膜等若干。

1.2 实验方法

1.2.1 标准混合工作液配制

标准品的工作液：取一定体积标准储备液，用流动相稀释并定容至所需浓度。

1.2.2 色谱条件

流动相：正己烷/丙酮=93/7(V/V)

色谱柱：Supersil SiO₂ 4.6×250mm

流速：1.5mL/min

波长：466nm

进样量：20 μL

温度：30℃

1.3 实验结果

1.3.1 典型分离色谱图

进样分析浓度为5.0 μ g/mL标准品工作液，使用上述色谱条件，结果如下图所示。

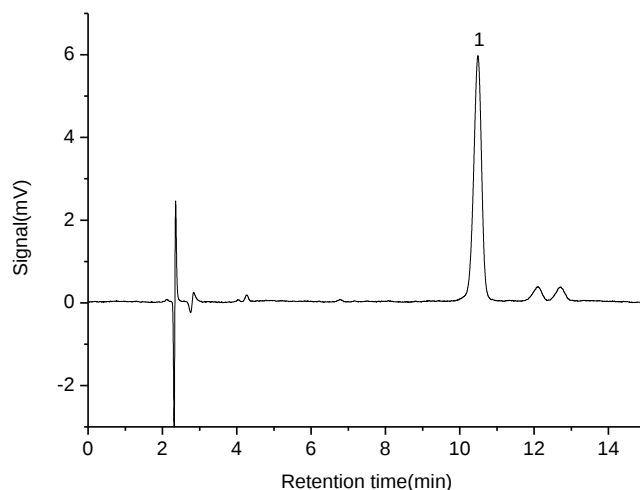


图1-1 标准品工作液谱图

表 1-4 色谱参数

物质	峰号	保留时间(min)	峰面积(mV.sec)	不对称度	塔板数(N)
斑蝥黄	1	10.48	87.45	0.88	115500

1.3.2 线性与检出限

配制浓度分别为 1 μ g/mL、2 μ g/mL、5 μ g/mL、25 μ g/mL、100 μ g/mL 的标准工作液，按浓度由低至高进样，以标准品浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，斑蝥黄线性相关性结果如下。

表 1-5 线性方程

物质	线性方程	线性相关系数 R
斑蝥黄	$y = 16.265x + 2.9107$	0.9999

噪声按 0.04mV 计算，峰高为 3 倍信噪比对应的浓度为方法检出限，结果如下表所示。

表1-6 检出限对比

	方法检出限(mg/kg)	NY/T 2896-2016 检出限(mg/kg)
斑蝥黄	0.05	0.16

第2章 动物源性食品中斑蝥黄的测定

此方法参考《SN/T 2327-2009 进出口动物源性食品中角黄素、虾青素的检测方法》，本标准适用于黄鱼、鳗鱼、鸡肉、鸡蛋、鸭肝、猪肾和牛奶中角黄素、虾青素的测定。

2.1 仪器设备与试剂

表2-1(a) EClassical 3100型高效液相色谱系统设备标准配置清单

序号	名称	数量	订货号
1	UV3100紫外-可见检测器	1台	31020023
2	P3100高压恒流泵	1台	31010047
3	O3100色谱柱恒温箱	1台	31040010
4	Rheodyne 7725i高压六通进样阀	1个	32027725i
5	ZJ-1阀支架	1个	18050004
6	色谱数据工作站	1套	
7	TD-1-15梯度混合器(选配)	1个	31060001
8	TP3100溶剂托盘	1台	
9	Supersil ODS2 5 μ m 4.6 $\times$ 150mm色谱柱	1支	
10	S3100自动进样器(选配)	1台	31090005
11	DG3100在线脱气机(选配)	1台	31050006

表2-1(b) iChrom 5100型高效液相色谱系统设备标准配置清单

序号	名称	数量	订货号
1	D5101紫外-可见检测器	1台	31020022
2	P5101高压恒流泵	1台	31010041
3	O5100色谱柱恒温箱	1台	31040009
4	Rheodyne 7725i高压六通进样阀	1个	32027725i
5	VB5101阀支架	1个	18050012
6	色谱数据工作站	1套	
7	M5101系统组织器	1台	31080009
8	Supersil ODS2 5 μ m 4.6 $\times$ 150mm色谱柱	1支	
9	Supersil SiO2 5 μ m 4.6 $\times$ 250mm色谱柱	1支	
10	5100系统工具包	1套	
11	S5101自动进样器(选配)	1台	31090004
12	P5102高压恒流泵(选配)		
13	M5102系统组织器(选配)	1台	31080010

表2-2 主要化学试剂、标准品清单

序号	试剂	纯度
1	乙腈	色谱纯
2	水	18.2MΩ
3	硫酸钠	分析纯
4	BHT	化学纯
8	斑蝥黄	—

表2-3 主要样品前处理设备

序号	名称	规格型号	备注
1	溶剂过滤器	1000mL	流动相过滤
2	隔膜真空泵	0.08MPa,160W	流动相过滤, GM-0.33A
3	超声清洗器	3L/6L, 40/60KHz, 120W	流动相脱气, AS3120
4	离心机	11000r/min	离心
5	旋转蒸发器	250 mL, 50Hz, 220V	除溶剂
6	分液漏斗	250 mL	萃取
7	精密电子天平	感量为万分之一	称量

实验过程中其它玻璃器皿还包括容量瓶(100mL、50mL、25mL、10mL)、移液枪(0~1000μL, 0~5000μL)、移液枪枪头(1mL, 5mL)、一次性PVC手套、一次性口罩、进样针、滤膜等若干。

2.2 实验方法

2.2.1 标准混合工作液配制

标准品的工作液：取一定体积标准储备液，用流动相稀释并定容至所需浓度。

2.2.2 试剂配制

乙腈提取液：0.25g BHT 溶解于 500mL 乙腈。

2.2.3 样品前处理

将生鸡蛋煮熟，用高速组织捣碎机充分捣碎、混匀。称取试样约 10g（精确至 0.01g）于 50mL 离心管中，加入 30mL 乙腈提取剂及 10g 无水硫酸钠，涡旋混合 1min，在 35℃ 以下水浴超声提取 10min，再以 3000r/min 离心 5min。将上清液移入预置有 20mL 正己烷的 125mL 分液漏斗中，震荡 0.5min 后，静置分层；收集下层乙腈相，正己烷相留在分液漏斗，待本试样后续脱脂重复使用。

按上述步骤对离心管中的残留物每次用 20mL 乙腈提取剂再重复提取两次，所得提取液用上述正己烷相依次脱脂。合并三次脱脂后所收集的乙腈相，加入 5mL 正丙醇，于 40℃ 以下旋转蒸发浓缩近干，用乙腈溶解并定容至 2.5mL，过滤后滤液待用。

2.2.4 色谱条件

流动相：乙腈/水=95/5(V/V)

色谱柱：Supersil ODS2 4.6×150mm

流速：1.0mL/min

波长：471nm

进样量：30μL

温度：35℃

2.3 实验结果

2.3.1 典型分离色谱图

进样分析浓度为40 μ g/mL准品工作液，使用上述色谱条件，结果如下图所示。

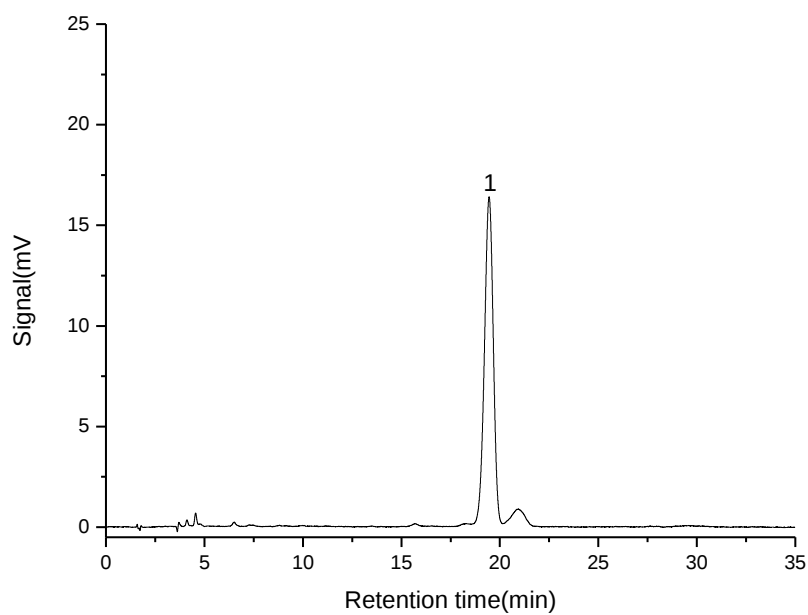


图2-1 标准品工作液谱图

表 2-4 色谱参数

物质	峰号	保留时间(min)	峰面积(mV.sec)	不对称度	塔板数(N)
斑蝥黄	1	19.45	501.962	0.89	8900

2.3.2 线性与检出限

配制浓度分别为 4g/mL、8g/mL、40 μ g/mL、80 μ g/mL 的标准工作液，按浓度由低至高进样，以标准品浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线，线性相关性结果如下。

表 2-5 线性方程

物质	线性方程	线性相关系数 R
斑蝥黄	$y = 16.6194x + 12.8406$	0.9995

噪声按 0.03V 计算，峰高为 3 倍信噪比对应的浓度为方法检出限，结果如下表所示。

表2-6 检出限对比

	方法检出限(mg/kg)	SN/T 2327-2009 检出限(mg/kg)
斑蝥黄	0.07	0.1

2.3.3 实际样品分离色谱图

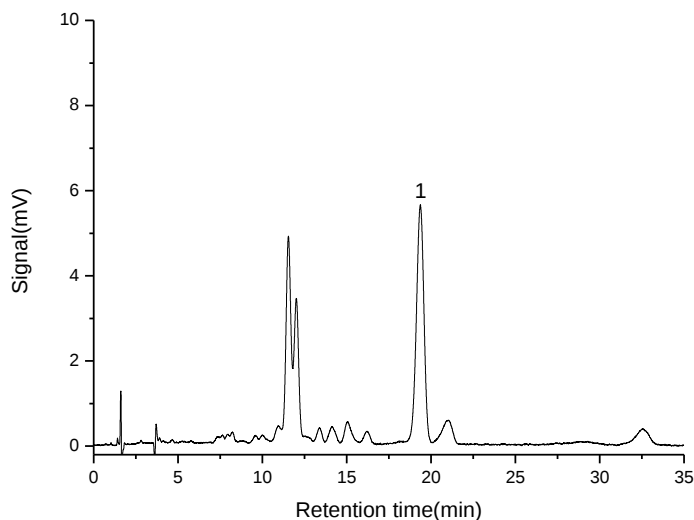


图2-2 某品牌鸡蛋谱图

表 2-7 实际样品色谱参数

物质	峰号	保留时间(min)	峰面积(mV.sec)	不对称度	塔板数(N)
斑蝥黄	1	19.36	169.92	0.92	8900

通过上述色谱数据及线性方程计算，某品牌鸡蛋中斑蝥黄含量为 2.4 mg/kg。

大连公司

公司地址：高新园区七贤岭学子街 2-2 号
公司电话：0411-84753333(总机)-转销售部
公司传真：0411-84732323
客服电话：400-66-35483
公司网址：<http://www.eliteHPLC.com>



苏州公司

苏州工业园区金鸡湖大道 99 号苏州纳米城西北区 14 栋 501
电话：0512-67997572

北京办事处

地址：北京市朝阳区汤立路 201 号东亚奥北中心南区 4 号楼 2 单元 2307 室
电话：13624984285

济南办事处

地址：山东省济南市历下区奥体西路 1222 号力高国际 10 楼 1-1816 室
电话：18842689516

上海办事处

地址：徐汇区梅陇路 130 号华东理工大学实验四楼 204 室
电话：15140566435

武汉办事处

地址：武汉市洪山区鸿桂苑东区 1 栋 1 单元 2501
电话：18842683216

南京办事处

地址：江苏省南京市建邺区云锦路 45 号万达东坊 14 幢 608 室
电话：13951643881

厦门办事处

地址：厦门市集美区鱼福三里 383 号 127 单元
电话：18842685196

西安办事处

地址：陕西省西安市西稍门十字西南角柠檬宫舍 11505 室
电话：18842681836

广州办事处

地址：广州市白云区东兴二街 3 号擎山苑 C2 栋 1404 房
电话：18842683616

成都办事处

地址：成都武侯区九兴大道 6 号高发大厦 A 座 610
电话：18842681865