

饲料添加剂
 β ， β -胡萝卜素-4,4-二酮
(斑蝥黄) 修订编制说明

(征求意见稿)

农业部饲料质量监督检验测试中心
(济南)

一、标准制定背景及任务来源

1、制定背景

GB/T 18970-2003 饲料添加剂 10% β ， β -胡萝卜-4,4-二酮(10%斑螫黄)标准已发布 10 多年，随着饲料工业化水平的提高，饲料添加剂的生产工艺和要求日趋完善，饲料生产企业对饲料添加剂的要求也日益增高。因此，2003 版的标准在技术指标中重金属的种类、含量和检测方法等需要进一步的改进。该标准修订稿的建立，增加了 96%产品的技术要求，完善了 10%产品的卫生指标，简化了 10%产品含量的检测方法，完善了有关保质期等要求，为开展产品质量监督监测和解决质量争议，提供法律意义上的技术支撑。

2、任务来源

国家标准《饲料添加剂 10% β ， β -胡萝卜-4,4-二酮(10%斑螫黄)》(GB/T 18970-2003) 修订项目，是全国饲料工业标准化技术委员会 2014 年下达修订任务，序号 20141769-Q-469。

3、主要起草单位

主要起草单位为农业部饲料质量监督检验测试中心(济南)，协作单位有帝斯曼维生素(上海)有限公司、浙江新和成股份有限公司、浙江医药股份有限公司和浙江新维普添加剂有限公司。

二、主要工作过程

2015.1-2015.3 文献查询，收集相关生产企业的 10%产品的标准和样品。

2015.4-2015.11 召集生产企业讨论 10%产品标准的技术指标及检测方法，通过不同实验室的检测结果比对，确定 10%产品产品的技术指标和检测方法及其重复性等。

2015.11 -2016.5 编写 10%产品的标准草案和编制说明，形成 10%

产品标准的征求意见稿和预审稿。

2016.7-2016.9 根据预审要求,开始调研 96%产品生产情况及收集企业产品标准和样品。

2016.10-2017.6, 查阅国外 96%产品的相关标准和检测方法, 和国内生产企业沟通, 确定产品的相关指标和检测方法。

2017.7-2017.10 对样品进行检测。

2017.11-2017.12 起草标准草案和编制说明,形成 96%产品和 10%产品的征求意见稿。

三、标准编制原则和主要技术内容确定的依据

(一) 标准编制原则

1、技术指标尽可能与国际先进标准一致。2、技术指标尽可能符合国内生产实际。3、检验方法尽可能简便实用。4、检验试剂尽可能环保安全。

(二) 主要技术内容确定的依据

1、96%斑蝥黄

(1) 96%产品国际标准情况

96%产品在美国、欧盟均有相应的规定, 见表 1。

表 1 96%产品美国、欧盟标准

项目	FDA (2015.4)	JECFA (1998) (食品添加剂专家委员会)	EU Feed Register (2015)	FCC (2016)	本标准
溶解度及溶液	1%的氯仿溶液, 澄清透明	不溶于水, 乙醇, 不溶于一般植物油。微溶于丙酮		溶液氯仿, 易溶于丙酮, 不溶于水	易溶于丙酮, 不溶于水
外观与性状		深紫色晶体或晶体性粉末, 对氧和光敏感		深色结晶性粉末	深紫红色结晶性粉末, 对氧、热及光敏感。
斑蝥黄含量 %	96-101	≥96	≥96	96-101	≥96
紫外分光光度	—	环己烷溶液在 468nm-472nm 处有最大吸收	—	—	468nm~472nm 处有最大吸收

类胡萝卜素阳性实验	—	持续加入 5%硝酸钠和 1N 的硫酸，斑蝥黄丙酮溶液会褪色	—	—	—
熔点	207℃ -212℃	—	—	207℃-212℃	—
干燥失重%	≤0.2	—	—	—	≤0.2
烧灼残渣%	≤0.2	≤0.1	—	≤0.2	≤0.2
其他类胡萝卜素%	≤5	≤5	≤5	—	≤5
铅 mg/kg	≤10	≤2	—	≤10	≤10
砷 mg/kg	≤3	—	—	≤3	≤3
汞 mg/kg	≤1	—	—	≤1	≤1
TPPO（三苯基氧磷），mg/kg	—	—	≤1000	—	≤1000
二氯甲烷，mg/kg	—	—	≤600	—	—
保存条件	—	存于避光的充惰性气体的容器中	—	存于避光的充惰性气体的容器中	存于避光的抽真空或充惰性气体的容器中

(2) 国内企业及其产品标准状况及工艺调研

目前国内生产 96%产品的企业 5 家，通过召开会议、电话和邮件等方式，均与所有生产企业取得了联系，收集不同公司的 12 批次 96%样品及相关标准。

斑蝥黄的生产工艺每个生产企业各有差异，有的以维生素 A 乙酸酯为原料，有的以 β 胡萝卜素为主要原料，但主要生产流程基本如图 1 所示。现有生产工艺已经不用二氯甲烷。

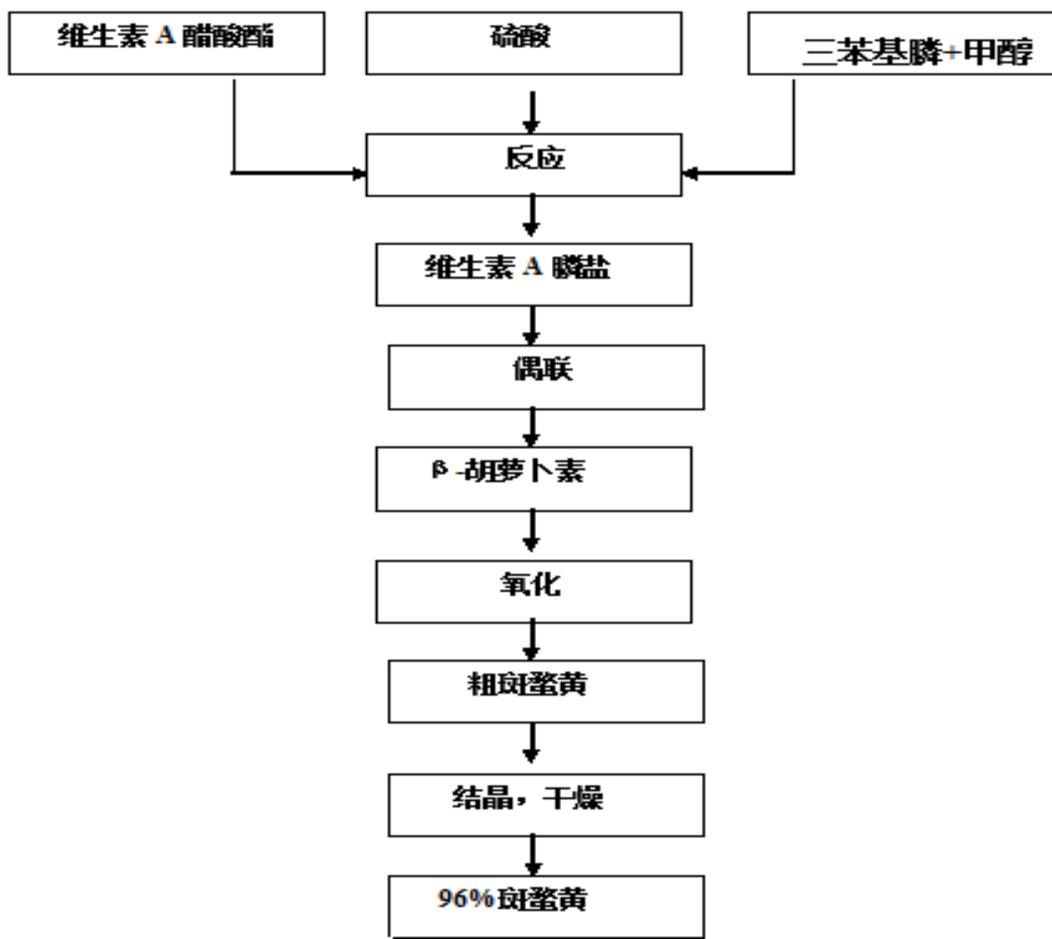


图 1 斑螋黄合成工艺流程图

企业标准情况汇总见表 2。

表 2 生产企业标准情况汇总

检测项目	公司 1	公司 2	公司 3	公司 4	公司 5	本标准
外观与性状	深紫色结晶或结晶性粉末，无臭、无味，对光、热、空气敏感。不溶于水，乙醇，在植物油中几乎不溶，微溶于丙酮。	褐红色粉末或块状固体	深紫色粉末	深紫色结晶性粉末或颗粒	紫红色到深紫色结晶性粉末	深紫红色结晶性粉末，不溶于水，微溶于丙酮，对氧、热及光敏感。

斑蝥黄（以 C ₄₀ H ₅₂ O ₂ 计），%	≥96.0% UV	一级品≥ 96.0% 二级品≥ 90.0% UV	≥96% UV	≥ 96.0%(HPLC) ≥90.0%(UV)	≥94.0% UV	≥96%
最大吸收波长	---	468nm~ 472nm	---	---		468nm~ 472nm
干燥失重	≤0.2%	≤0.2%	挥发性 ≤1%	挥发性（含 水）≤5%	--	≤0.2
灼烧残渣	---	---	≤0.5%	--	≤0.5%	≤0.2
其他类胡萝卜 素，%	--	--	--	--	--	≤5
三苯基氧磷 （TPPO）， mg/kg	--	--	--	--	--	≤1000
铅，mg/kg	≤10	≤ 10	≤10	≤ 10	≤10	≤10
砷，mg/kg	≤3	≤2	≤2	≤2	≤2	≤3
汞，mg/kg	---	----	---	---	-----	≤1
储存条件及保 质期	铝箔袋真 空包装， 阴凉密闭 保存24个 月	密闭、避光包 材，充氮或抽 真空，存于干 燥处，12个 月	避光、密 封，抽真 空包装 12个月	铝箔袋包装， 密封，20℃下 保存，12个 月	铝箔袋密 封，10℃以 下，干燥保 存12个月	存于避光 的抽真空 或充惰性 气体的容 器中，保 存12个月

由表 2 可见，目前国内 96%产品标准不尽统一，尤其是在技术指标的量值上。

（3）96%产品技术指标确定

根据调研的生产企业实际情况，结合查阅的国际标准情况，在查阅到的国际标准中，FDA 的标准指标项目最全，目前国内的企业标准技术指标规定项目和 FDA 更接近，因此，在该标准中主要技术指标参照 FDA 的规定，并在此基础上参照欧盟的要求，增加了生产过程中有可能带入的中间物质三苯基氧磷（TPPO）的指标，作为产品的控制指标之一。熔点作为纯度控制的指标之一，但在国内的企业标准中均未列入，考虑到该标准中已加入其他类胡萝卜素等指标，已完全可以反映 96%产品的质量，故熔点指标不列入。该标准中 96%产品的技术指标见表 3。

表 3 96%斑螫黄技术指标

项目	指标
斑螫黄含量 (以 $C_{40}H_{52}O_2$ 计), %	≥ 96
干燥失重, %	≤ 0.2
灼烧残渣, %	≤ 0.2
其他类胡萝卜素, %	≤ 5
三苯基氧磷 (TPPO), mg/kg	≤ 1000
铅, mg/kg	≤ 10
总砷, mg/kg	≤ 3
汞, mg/kg	≤ 1

(4) 各种指标的检测与验证

1) 斑螫黄

国内大部分的企业标准主含量检测方法和 FCC 的检测方法相同, 因此, 该标准中采用 FCC 和 JECFA 的主含量检测方法, 将方法统一为: 称取 50mg (精确至 0.1mg) 试料于 100 mL 棕色容量瓶中, 加入 10mL 三氯甲烷溶解样品, 用环己烷定容至刻度, 混匀, 作为储备溶液。准确移取储备溶液 5mL 于 100mL 棕色容量瓶中, 用环己烷定容至刻度, 混匀, 作为待稀释溶液。准确移取待稀释溶液 5mL 于 50mL 棕色容量瓶中, 用环己烷定容至刻度, 混匀。用 1cm 的比色皿, 以环己烷为空白参照, 在 470nm 波长处测定吸光度。以环己烷做参比, 在波长 470 nm 处测定试液的吸收极大值 A_{max} 。其中统一规定 β , β -胡萝卜素-4, 4-二酮的标准百分消光值($E_{1\%}^{1cm}$)为 2200。

收集的 12 批样品主含量检测见表 4。

表 4 收集样品主含量检测结果

样品编号	斑螫黄含量 (以 $C_{40}H_{52}O_2$ 计), %
01	96.1
02	96.3
03	96.5
04	96.9
05	96.9
06	96.2
07	98.1
08	96.9

09	96.3
10	94.1
11	93.4
12	95.6

这些样品中,其中 3 个样品的含量低于 96%,其他均在 96%以上。
75%的产品是满足该标准要求的。

2) 干燥失重和灼烧残渣

根据 96%斑蝥黄的性质,干燥失重采用减压干燥的方法进行测定。
灼烧残渣和干燥减重 12 份样品检测结果见表 5。

表 5 干燥失重、灼烧残渣检测结果

样品编号	干燥减重, %	灼烧残渣, %
01	0.18	0.20
02	0.15	0.18
03	0.18	0.18
04	0.15	0.07
05	0.18	0.09
06	0.18	0.09
07	2.3	0.35
08	2.2	0.39
09	2.2	0.39
10	0.21	0.07
11	0.20	0.07
12	0.20	0.06

由于目前企业标准中规定干燥失重的检测方法和指标不同,检测结果在 0.15%-2.3%之间,灼烧残渣在 0.06%-0.39%之间,有 75%的样品符合 ≤ 0.2 的规定。

3) 其他类胡萝卜素

类胡萝卜素作为生产原料之一,需作为控制指标,以反映产品的品质。在 JECFA 的检测方法中,其他类胡萝卜素含量的检测方法为薄层色谱方法,其中用到三氯甲烷、甲苯等试剂,因其毒性和试验方法重复性差等原因,该标准中将其测定方法确定为液相色谱法。样品的

检测情况见表 6。从检测结果可见，所有样品均满足 $\leq 5\%$ 的要求。

表 6 样品中其他类胡萝卜素含量检测结果

样品编号	其他类胡萝卜素含量%
1	1.55
2	1.62
3	1.60
4	4.01
5	3.82
6	3.67
7	3.25
8	2.99
9	3.43
10	1.23
11	1.63
12	2.39

4) 三苯基氧磷 (TPPO)

TPPO 作为合成过程中必须控制的指标，在欧盟的斑蝥黄标准要求中规定为 $\leq 1000\text{mg/kg}$ 。参照 GB1886.78-2016 食品安全国家标准食品添加剂番茄红素(合成)中 TPPO 的检测方法，进行样品中 TPPO 的测定，检测结果见表 7。从检测结果可见，所有样品均满足 $\leq 1000\text{ mg/kg}$ 的要求。

表 7 样品中 TPPO 检测结果

样品编号	TPPO, mg/kg
1	未检出
2	未检出
3	未检出
4	未检出
5	未检出
6	未检出
7	未检出
8	未检出
9	未检出

10	未检出
11	未检出
12	未检出

5) 铅、砷、汞

对收集的样品进行铅、砷和汞的测定，结果见表 8。从检测结果可见，所有样品均满足 ≤ 10 mg/kg、 ≤ 3 mg/kg 和 ≤ 1 mg/kg 的要求。

表 8 铅、砷和汞的测定结果

样品编号	铅, mg/kg	砷, mg/kg	汞, mg/kg
1	0.98	0.98	未检出
2	0.79	1.02	未检出
3	1.06	0.89	未检出
4	1.21	0.96	未检出
5	1.39	0.85	未检出
6	1.81	1.02	未检出
7	0.43	0.59	未检出
8	0.49	0.62	未检出
9	0.32	0.73	未检出
10	1.02	0.05	<0.01
11	0.98	0.06	<0.01
12	1.11	0.07	<0.01

2、10%斑蝥黄

(1) 国内生产企业及其产品状况调研

10%斑蝥黄的生产企业 10 家（集团公司按 1 家统计）左右，加上进口登记的产品也不多。标准起草小组 2015 年 3 月底开始，通过召开会议、电话和邮件等方式，均与所有生产企业取得了联系，收集 18 批次 10%的样品并查阅了相关企业标准，同时征求生产企业对 2003 版标准修改的意见和建议。生产企业有的执行 2003 版的国标方法，有的执行企业标准，生产企业标准情况见表 9。

表 9 10%斑蝥黄生产企业标准情况汇总

检测项目	公司 1	公司 2	公司 3	公司 4	2003 版国标
性状	紫红色到红紫色的流动性粉体	紫红色到红紫色的流动性粉末	红色或紫红色颗粒	紫褐色到紫红色的流动性颗粒粉末	紫红色到红紫色的流动性粉末
粒度	100%通过 0.84mm 孔径的筛网	100%通过 0.84mm 孔径的筛网	100%通过 0.84mm 孔径的筛网, 80%通过 0.42mm 的分析筛	100%通过 0.84mm 孔径的筛网, 85%通过 0.42mm 的分析筛	100%通过 0.84mm 孔径的筛网
干燥失重	6.0~7.8%	≤8%	≤8%	≤8.0%	≤8%
斑蝥黄	≥10%	≥10%	≥10%	≥10.2%	≥10%
铅	≤5mg/kg	≤10mg/kg	≤10mg/kg	≤2mg/kg	≤10mg/kg
砷	≤1mg/kg	≤4mg/kg	≤3mg/kg	≤1mg/kg	-----
铬	≤2mg/kg	≤10mg/kg	-----	≤2mg/kg	-----
镉	≤2mg/kg	≤1mg/kg	-----	-----	-----
汞	≤0.1mg/kg	-----	-----	-----	-----

整理和比较不同生产企业的标准及提出的意见和建议,主要的不同集中于其中的重金属指标和有关主含量的检测方法上,均认为 2003 版的方法处理过程复杂等。基于这些调研情况,在 2003 版标准方法的基础上,标准起草小组同时收集到 18 批次样品。

(2) 性状

在 2003 版中,10%斑蝥黄的性状为:紫红色到红紫色的流动性粉末。根据市场上收集的样品外观和斑蝥黄的理化性质,本次性状描述为:红色至紫红色的流动性粉末状颗粒,对氧、热及光不稳定。这样既全面涵盖了目前样品的色泽和状态,又明确了斑蝥黄易氧化且见光发生变化的性质。

(3) 粒度

随机抽取收集的 6 批次样品进行粒度的测定,检测结果见表 10。

表 10 粒度检测结果

样品编号	0.42mm 分析筛通过率 (%)	平均	0.84mm 分析筛通过率 (%)
1	83	83.5	100
	84		100
2	97	97.5	100
	98		100
3	97	97	100
	97		100
4	97	97	100
	97		100
5	98	98.5	100
	99		100
6	92	92.5	100
	93		100

粒度检测结果表明，该标准规定的 100%通过孔径为 0.84mm 的分析筛和 80%通过孔径为 0.42mm 的分析筛的指标是可行的。

(4) 干燥失重

2003 版干燥失重的指标为 $\leq 8\%$ 。对于收集到的其中 10 批次样品，按干燥失重的方法做了测试，干燥失重的结果在 4.89%至 7.36%之间，见表 11。表明 2003 版标准将产品的干燥失重定在不高于 8%，具有合理性，本标准干燥失重指标与 2003 版一致。

表 11 干燥失重检测结果

序号	干燥失重%
1	7.36
5	6.16
9	6.21
13	6.69
2	5.46
6	6.26
10	6.71
14	4.89
17	6.21
18	6.34

(5) 重金属

2003 版中的卫生指标仅有一项，铅含量控制在 10mg/kg 以内，测定的方法为 GB/T 13080，即用原子吸收光谱法测定检品中的铅。通过

对生产厂商配方及工艺的调研，发现生产过程中引入铅的可能性不大。2003 版对铅指标显然定得过宽，而对其他重金属元素缺乏控制。标准起草小组除对收集的 18 个样品除按 GB/T 13080 测定铅外，还按 GB/T 13079、GB/T 13081、GB/T 13082 和 GB/T 13088，分别测定其他可能引入的重金属元素砷、汞、镉和铬，测定结果见表 12。

表 12 常见重金属检测结果

检测参数 样品序号	铅 mg/kg	总砷 mg/kg	汞 mg/kg	镉 mg/kg	铬 mg/kg
1	0.12	0.01	未检出	未检出	0.460
2	0.14	0.01	未检出	未检出	0.461
3	0.14	0.01	未检出	未检出	0.460
4	未检出	0.02	未检出	未检出	0.553
5	未检出	0.02	未检出	未检出	0.555
6	未检出	0.03	未检出	未检出	0.559
7	未检出	0.03	未检出	未检出	0.575
8	未检出	0.03	未检出	未检出	0.579
9	未检出	0.02	未检出	未检出	0.581
10	未检出	0.06	未检出	未检出	0.840
11	未检出	0.06	未检出	未检出	0.842
12	未检出	0.08	未检出	未检出	0.841
13	未检出	0.02	未检出	未检出	0.968
14	未检出	0.03	未检出	未检出	0.981
15	未检出	0.02	未检出	未检出	0.962
16	未检出	0.07	未检出	未检出	2.832
17	未检出	0.08	未检出	未检出	2.864
18	未检出	0.08	未检出	未检出	2.691

通过对收集到的所有样品中主要重金属元素检测情况的分析，铅 $\leq 10\text{mg/kg}$ ，另外增加总砷的检测项，指标定为 $\leq 3\text{mg/kg}$ 。汞、镉在

所有样品中均未检出，说明在生产过程中不会带入这二种重金属，在本标准中不予列入。由表 12 可见，在所有产品中均检出铬，调研时发现企业在生产时加入明胶等为辅料，产品中铬可能是由辅料引入的。在所有 18 个样品中，15 批次样品中的铬小于 1mg/kg，有三批次样品中的铬在 3mg/kg 左右。根据食品添加剂明胶（GB 6783-2013）的要求，铬的指标为 ≤ 2.0 mg/kg，因此在本标准中铬的指标定为 ≤ 2 mg/kg。

（6）斑蝥黄

1）斑蝥黄检测方法的建立和与 2003 版方法的比对

2003 版中含量的检测方法存在不足之处，其一是要用到大量的有机溶剂，其中一半有机溶剂是毒性大的三氯甲烷，对操作检验人员的健康造成威胁。其二是要对有机溶剂作旋转蒸发，分析过程繁琐，样品易氧化降解，导致含量偏低。修订分析方法的呼声很高。

针对修订检测方法的意见，标准起草小组在各个生产企业广泛征求企业的检测方法，筛选出了一种简便的方法（方法过程如下：精确称取 70mg 样品至 100mL 棕色容量瓶中，加入 5mL 水，在 60℃条件下超声溶解 5min，冷却上述溶液（用冷却水冷却），加 50mL 无水乙醇，然后用二氯甲烷稀释至刻度。混合均匀后移取适量溶液 4000 r/min 离心 5 min。精确移取 1 mL 上清液于 50 mL 棕色容量瓶中，用无水乙醇环己烷溶液（1+9）稀释至刻度。以环己烷做参比，在波长 470 nm 下测定试液的吸收极大值 A_{max} 。计算公式和 2003 版相同）。为了验证该简便方法是否对其他公司的产品适用，组织 2 名检测人员用该方法和 2003 版国标方法，检测了相同的 6 个产品，进行不同人员和不同方法的比较，结果见表 13。同时也将该简便方法提供给所有生产企业，让企业用自己的产品应用 2003 版国标方法和简便方法进行比对，几乎每个生产企业反馈的意见是和 2002 版方法结果相同，可以

使用。

表 13 二种检测方法的比对

检测方法 样品编号	简便方法检测结果 (%)				2003 版国标检测结果 (%)			
	检验员 1		检验员 2		检验员 1		检验员 2	
1	10.59	10.7	10.74	10.8	10.64	10.8	10.94	10.8
	10.75		10.82		10.94		10.64	
2	10.37	10.4	10.73	10.8	10.43	10.4	\	\
	10.46		10.95		10.44		\	
3	10.42	10.5	10.49	10.4	10.30	10.4	10.59	10.5
	10.51		10.28		10.57		10.36	
4	10.28	10.3	10.50	10.4	10.47	10.5	\	\
	10.28		10.41		10.49		\	
	10.62		10.56		10.88		10.43	
5	9.19	9.2	9.45	9.4	9.38	9.4	9.58	9.6
	9.30		9.39		9.34		9.62	
6	11.40	11.3	11.01	11.0	10.97	10.9	11.61	11.6
	11.27		10.89		10.86		11.51	

从表 13 的比对结果可见，对于不同公司的同一产品，用两种方法检出结果基本相同，说明两种方法均适用于 10%斑螫黄产品的检验，也说明该简便方法可行，可用于不同公司的产品的检测。并且该方法用二氯甲烷取代了毒性大的三氯甲烷，对操作过程作了改进，省去了旋转蒸发这一步，这样既提高了分析速度，又避免了旋转蒸发过程中由于操作不当而使样品氧化的可能。

2) 新建检测方法的优化

为了考察建立新方法的可行性和重复性，对方法进行完善和优化：

a) 检测波长的选择

因 2003 版国标中样品溶解于 99%环己烷，0.5%乙醇和 0.5%三氯甲烷中，其选用的波长为 468nm~472nm；而该次试验方法的溶剂为

88%环己烷，11%乙醇，0.9%二氯甲烷和0.1%的水，因此对不同6家公司的产品进行了最大吸收波长的研究，试验结果表明不同公司的最大吸收波长不尽相同，最大吸收波长在470nm~475.3nm之间，故方法定为在波长470nm~476nm之间测定其吸收极大值。其中2个样品的最大吸收波长图谱见图2和图3。

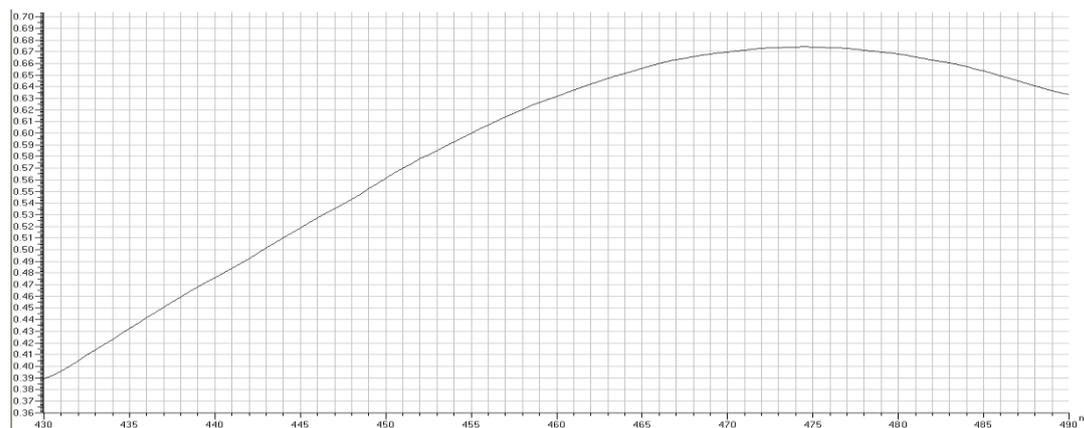


图2 样品1最大吸收波长

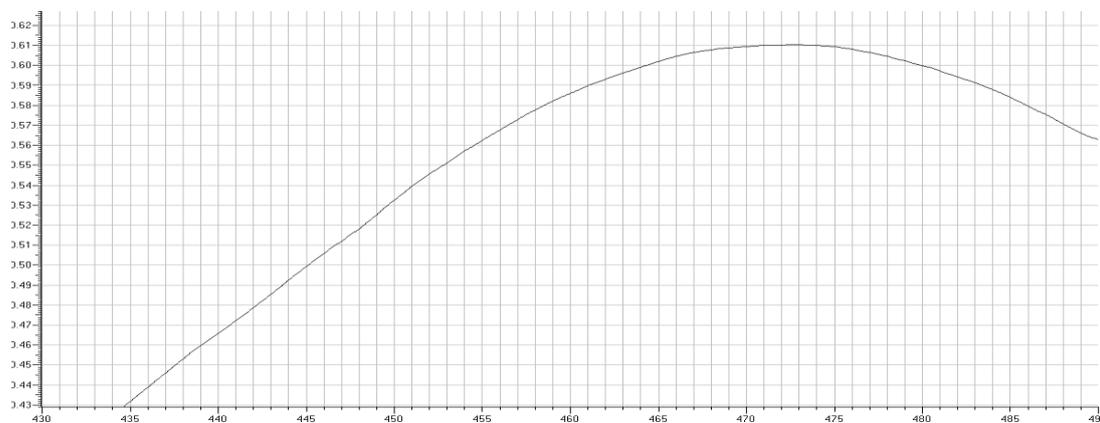


图3 样品2最大吸收波长

b) 称样量的优化

最开始的称样量定为精确称取70mg样品，按照前处理步骤提取和稀释后，测定的吸光度在0.3左右，相比分光光度法通常吸光度在0.2~0.8的要求，吸光度偏小。选择不同的4个样品，以70mg和100mg分别称取，在其它步骤不变的情况下，对应吸光度约为0.4~0.5。因此，最终确定为精确称取100mg样品。

c) 标准百分消光值($E_{1\%}^{1\text{cm}}$)的确定

由于斑蝥黄含量的测定是用紫外分光光度法,计算含量时用到斑蝥黄的百分消光值。百分消光值的大小与溶剂种类有关。在 2003 版含量检测的方法中,所用的溶剂系统是含有 99%环己烷,0.5%乙醇和 0.5%三氯甲烷溶剂体系,在这溶剂系统中,斑蝥黄的百分消光值是 2100。而通过改进方法后,溶剂系统发生了变化,所用的溶剂系统是含有 88%环己烷,11%乙醇和 0.9%二氯甲烷和 0.1%水溶剂体系,与 2003 版中含量的检测方法的溶剂系统发生了改变,斑蝥黄的百分消光值不能直接采用 2100 这一数值了,而文献上又查不到在 88%环己烷,11%乙醇和 0.9%二氯甲烷和 0.1%水溶剂体系下斑蝥黄的百分消光值,必须通过实验进行准确地测定。

用分光光度法测定斑蝥黄含量的原理是比耳定律 $A=E\% \times C \times L$ 。式中 A 为用分光光度仪测得试样的吸光度, C 为试样斑蝥黄的浓度(单位 $\text{g}/100\text{mL}$), L 为比色皿透光的宽度。如采用 1cm 宽的比色皿,则 $A=E\%/1\text{cm} \times C$ 。通过实验确定该标准溶剂体系中斑蝥黄的百分消光系数 $E\%/1\text{cm}$ 的原理也正是基于这一公式。用斑蝥黄标准物质,在 2003 版和该标准的二种溶剂体系中分别配成相同浓度的溶液。在 2003 版溶剂体系(含有 99%环己烷,0.5%乙醇和 0.5%三氯甲烷溶剂体系)中,百分消光系数 $E\%/1\text{cm}$ 为 2100 已知,假设同一浓度的斑蝥黄溶液测定的吸光度为 A_1 ,则 $A_1=2100 \times C$ 。在该标准溶剂体系(含有 88%环己烷,11%乙醇,0.9%二氯甲烷和 0.1%水)中,假设百分消光系数 $E\%/1\text{cm}$ 为 E_1 ,同一浓度的斑蝥黄溶液测定的吸光度为 A_2 ,则 $A_2=E_1 \times C$ 。二个公式中斑蝥黄浓度 C 相同,即可得到 $E_1 = \frac{A_2}{A_1} \times 2100$ 。基于这一个公式,设计不同溶剂体系但相同浓度的试验,分别测定 A_2 和 A_1 的吸光度,便可计算出该标准溶剂体系中的百分消光系数 E_1 。

为了得到新溶剂体系中的斑蝥黄的百分消光值，并进一步验证所得到的百分消光值是否准确，我们的试验按下述二点步骤操作：**a**、用斑蝥黄对照品配制成浓度一样的二份样品，一份用 2003 版方法的溶剂体系配制，另一份用本标准新的溶剂体系配制，比较在二种溶液体系中斑蝥黄吸光度比例发生的变化，根据比耳定义，推算出新溶剂体系中的斑蝥黄的百分消光值。**b**、由检验人员按 2003 版的检验方法和本标准的分析方法准确地测定样品，通过二种方法的对比，确定通过实验算出的百分消光值是否可靠。

为了准确测定斑蝥黄的百分消光值，需做多组实验，在测试之前需对紫外分光光度计的精度作校正。考虑到产品中斑蝥黄的结构中有顺反式结构，在实验设计中用了六组数据，前三组为用斑蝥黄对照品配制的全反式对照品溶液，后三组是将全反式对照品溶液在 80℃ 条件下加热 3 小时，制成顺反式对照品溶液。实验结果见表 14。

表 14 消光系数试验结果

试验组	标准物质溶液	溶剂体系	吸光度	误差	平均值
第一组	全反式对照品溶液	2003 版溶剂体系	0.975	RSD%: 0.21%	A1=0.975
			0.977		
			0.973		
	全反式对照品溶液	本标准溶剂体系	0.954	RSD%: 0.16%	A2=0.955
			0.955		
			0.957		
A2/A1=0.9795					
第二组	全反式对照品溶液	2003 版溶剂体系	0.861	RSD%: 0.37%	A1=0.865
			0.866		
			0.867		
	全反式对照品溶液	本标准溶剂体系	0.843	RSD%: 0.12%	A2=0.844
			0.845		
			0.844		
A2/A1=0.9757					
第三组	全反式对照品溶液	2003 版溶剂体系	0.829	RSD%: 0.32%	A1=0.828
			0.825		
			0.830		
	全反式对照品溶液	本标准溶剂体系	0.809	RSD%: 0.07%	A2=0.809
			0.810		
			0.809		
A2/A1=0.9772					
第四组	顺反式对照品溶液	2003 版溶剂体系	0.790	RSD%:	A1=0.791

			0.791	0.13%	
			0.792		
	顺反式对照品溶液	本标准溶剂体系	0.770	RSD%: 0.56%	A2=0.773
			0.771		
			0.778		
A2/A1=0.9772					
第五组	顺反式对照品溶液	2003 版溶剂体系	0.823	RSD%: 0.39%	A1=0.824
			0.828		
			0.822		
	顺反式对照品溶液	本标准溶剂体系	0.808	RSD%: 0.44%	A2=0.808
			0.811		
			0.804		
A2/A1=0.9806					
第六组	顺反式对照品溶液	2003 版溶剂体系	0.848	RSD%: 0.34%	A1=0.847
			0.844		
			0.849		
	顺反式对照品溶液	本标准溶剂体系	0.826	RSD%: 0.35%	A2=0.829
			0.831		
			0.831		
A2/A1=0.9787					

由表 14 可见，六组实验数据中 A2/A1 的平均值为 0.9782，根据推导出的公式计算： $E1 = \frac{A2}{A1} \times 2100 = 0.9782 \times 2100 = 2054$ 。考虑到不同实验室的结果略有不同，根据比耳定律，我们将斑蝥黄的百分消光值由 2003 版溶剂体系中的 2100 调整到本标准溶剂体系中的 2050。

为进一步验证斑蝥黄的百分消光值 2050 是否可靠，用本标准分析方法和 2003 版的分析方法作比对，因此我们邀请了某一生产企业的资深检验人员用二种方法对产品作了检验，见表 15。

表 15 二种分析方法的对比试验

样品编号	2003 版方法含量%	本标准方法含量%	二种方法偏差%
s-1	9.7	9.9	2
s-2	10.0	10.2	2
s-3	10.5	10.8	3
s-4	10.3	10.5	2
s-5	10.4	10.6	2
s-6	10.1	10.3	2
s-7	10.6	10.9	3

s-8	10.5	10.8	3
s-9	10.7	11.0	3
s-10	10.4	10.6	2
平均值	10.32	10.57	2

从表中可看出，二种方法的结果基本是吻合的，从而证明了斑蝥黄的百分消光值 2050 是可靠的。

根据以上检测方法的优化，最终确定斑蝥黄含量的检测方法为：称取 0.1 g（精确至 0.0001 g）试料于 100 mL 棕色容量瓶中，加入 5 mL 水，在 60 °C 条件下超声溶解 5 min，迅速用冷却水冷却，加 50 mL 无水乙醇，然后用二氯甲烷稀释至刻度。混合均匀后移取适量溶液 4000 r/min 离心 5 min。

精确移取 1 mL 上清液于 50 mL 棕色容量瓶中，用无水乙醇环己烷溶液稀释至刻度。以环己烷做参比，在波长 470 nm~476 nm 之间测定试液的吸收极大值 A_{max} 。其中 β ， β 胡萝卜-4,4-二酮(10%斑蝥黄)的标准百分消光值($E^{1\%}_{1cm}$)为 2050。

3) 斑蝥黄含量检测方法和液相色谱检测方法的比较

根据 2016 年 7 月份预审会专家组的意见，对 10%的斑蝥黄产品进行了紫外检测方法和液相色谱检测方法的比对，分析辅料对检测结果的影响。结果见表 16。

表 16 紫外方法和液相方法检测结果比较

样品编号	分光光度法结果%	HPLC 方法结果%	二种方法相对偏差%
1	11.41	10.79	2.8
2	10.73	10.26	2.3
3	10.71	10.20	2.4
4	10.57	10.63	0.3
5	10.44	10.87	2.0
6	9.61	10.21	3.0

7	10.60	11.09	2.3
8	11.10	10.97	0.6
9	10.36	10.28	0.4
10	10.51	10.68	0.8
11	10.36	10.62	0.1
12	10.69	11.09	1.8

根据 2 种方法检测相对偏差在 0.1%~3.0%之间的比对结果，满足方法比对的要求。表明该标准方法的准确性，并说明辅料对分光光度法检测基本无影响。

(7) 2003 版和本标准技术指标的对照

2003 版和本标准技术指标的对照见表 17。

表 17 2003 版和本标准技术指标对照

项目		2003 版	本标准
		指标	指标
粒度	通过孔径为 0.84mm 的分析筛， %	100	100
	通过孔径为 0.42mm 的分析筛， %	---	≥80
斑螫黄（以 C ₄₀ H ₆₂ O ₂ 计）， %		≥10	≥10
干燥失重， %		≤8	≤8
铅， mg/kg		≤10	≤10
总砷， mg/kg		---	≤3
铬， mg/kg		----	≤2

3、产品包装材料和保质期的确定

在前期的调研中，生产企业定的 96%产品的保质期为 12 个月至 24 个月，其中均作了具体的温度和密封等要求；10%斑螫黄产品的保质期生产企业定为 18 个月、24 个月等不尽相同。结合斑螫黄产品理化性质中对氧、热和光不稳定的性质，提出包装材料应采用避光的充惰性气体的容器，密封，以防污染、防潮湿、防泄漏； 96%产品贮存

于阴凉、干燥处，不得与有毒有害物质混贮。10%产品贮存于通风、干燥、防高温处，不得与有毒有害物质混贮。在符合规定的运输和贮存条件下，原包装中 96%产品的保质期为 12 个月，原包装中 10%产品的保质期为 18 个月。

四、采用国际标准

96%产品在美国、欧盟均有相应的标准规定。在查阅到的国际标准中，FDA 的标准指标项目最全，目前国内的企业标准技术指标规定项目和 FDA 更接近。因此，在该标准中主要技术指标参照 FDA 的规定，并在此基础上参照欧盟的要求增加了生产过程中有可能带入的中间物质三苯基氧磷（TPPO）的指标，作为产品的控制指标之一。

五、与现行法律法规和强制性标准的关系

即将于 2018 年 7 月 1 日起施行的《饲料添加剂安全使用规范》（农业部第 2625 号公告），规定斑螫黄为化学制备，含量为 $\geq 96\%$ 。本标准与其保持一致。

六、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准在编制过程中没有重大分歧意见。

七、标准作为强制性或推荐性标准的意见

本标准作为饲料添加剂标准，涉及有关国家安全、保护人体健康和人身财产安全、环境质量要求等，建议将本标准作为强制性标准颁布实施。

本标准的第一章、第三章和第六章分别为范围、技术要求和检验规则，规定了生产工艺、分子量、分子式和结构式，技术指标及相应的检验方法，出厂检验项目以及判定产品是否合格的规则，所以应为强制性的。其余则为推荐性的。

八、贯彻标准的要求和措施建议

1. 在目前各级政府非常重视饲料安全的前提下，在各级政府部门的安全抽查、检查中应积极利用和创造各种渠道宣贯本标准。

2. 举办质量监督、检验、科研、生产等相关人员参加的标准宣贯培训班。

九、废止现行有关标准的建议

本标准发布实施后，代替 GB/T 18970-2003《饲料添加剂 10% β ， β -胡萝卜素-4，4-二酮(10%斑螋黄)》。

十、其他应予说明的事项

即将于 2018 年 7 月 1 日起施行的《饲料添加剂安全使用规范》（农业部第 2625 号公告），规定斑螋黄使用动物为家禽，在配合饲料中的最高限量：肉禽 25mg/kg，蛋禽为 8mg/kg。NY/T 2896-2016《饲料中斑螋黄的测定 高效液相色谱法》已颁布实施，但实际在饲料中加入添加剂斑螋黄后，由于加工过程中有加热等工艺，根据斑螋黄对光、热、氧等敏感的性质，其中有部分反式结构转化为顺式结构，但在该检测方法中只计算了反式斑螋黄的含量，未计算顺式斑螋黄的含量，这样的检测结果比实际含量偏低，不能真实的反映饲料中斑螋黄的含量，因此，建议对该方法进行修订。

十一、参考文献

1、中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局，饲料添加剂 10% β ， β -胡萝卜素-4，4-二酮(10%斑螋黄)，GB/T 18970-2003.

2、中华人民共和国、国家卫生和计划生育委员会，食品安全国家标准食品添加剂明胶，GB 6783-2013.

3、中华人民共和国、国家卫生和计划生育委员会，食品安全国家标准食品添加剂番茄红素(合成)，GB1886.78-2016.