

ICS 67.050
CCS X 20

SC

中华人民共和国水产行业标准

SC/T 3066—2025

海藻及其制品中岩藻黄素含量的测定 高效液相色谱法

Determination of fucoxanthin in seaweed and its products—
High performance liquid chromatography

2025-12-09 发布

中华人民共和国农业农村部 发布



前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由农业农村部渔业渔政管理局提出。

本文件由全国水产标准化技术委员会水产品加工分技术委员会(SAC/TC 156/SC 3)归口。

本文件起草单位：中国水产科学研究院黄海水产研究所、山东省海洋资源与环境研究院、山东洁晶集团股份有限公司、山东海之宝海洋科技有限公司、青岛聚大洋藻业集团有限公司、中国海洋大学、中国水产科学研究院南海水产研究所。

本文件主要起草人：徐英江、朱文嘉、韩典峰、孙伟红、孙琰晴、赵丽、刘小静、曹体宏、丁玉竹、李振兴、刘晓勇、吴仕鹏、秦绪娟、张波、程跃漠、崔庆奎、赵永强、周全利、龙晓珊、姜芳、李佳蔚。



海藻及其制品中岩藻黄素含量的测定

高效液相色谱法

1 范围

本文件描述了用高效液相色谱法测定海藻及其制品中岩藻黄素含量的原理,试剂和材料,仪器设备,样品的制备与保存,测定步骤,数据处理,方法灵敏度、准确度和精密度。

本文件适用于鲜海藻、盐渍海藻、即食海藻、干海藻及岩藻黄素粉中岩藻黄素含量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中岩藻黄素经乙醇溶液提取,采用高效液相色谱-紫外检测器测定,外标法定量。

5 试剂和材料

除另有说明,所有试剂均为分析纯,试验用水应符合 GB/T 6682 一级水的规定。

5.1 试剂

5.1.1 乙醇($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$)。

5.1.2 乙腈(CH_3CN):色谱纯。

5.1.3 丙酮(CH_3COCH_3):色谱纯。

5.2 标准品

岩藻黄素标准品($\text{C}_{42}\text{H}_{58}\text{O}_6$,CAS号:3351-86-8):纯度 $\geq 98\%$ 。

5.3 溶液配制

5.3.1 70%乙醇溶液:乙醇(5.1.1):水=7:3(体积比),混匀。

5.3.2 78%乙腈溶液:乙腈(5.1.2):水=78:22(体积比),混匀。

5.4 标准溶液配制

5.4.1 岩藻黄素标准储备溶液($1\ 000\ \mu\text{g}/\text{mL}$):称取 10 mg(精确至 0.01 mg)岩藻黄素标准品(5.2),用丙酮(5.1.3)溶解并用棕色容量瓶定容至 10 mL,避强光操作。 $-18\ ^\circ\text{C}$ 以下密封避光保存,有效期 2 个月。

5.4.2 岩藻黄素标准中间溶液($100\ \mu\text{g}/\text{mL}$):准确移取岩藻黄素标准储备溶液(5.4.1)1.00 mL,于 10 mL 棕色容量瓶中,用 78%乙腈溶液(5.3.2)稀释并定容, $4\ ^\circ\text{C}$ 保存,有效期 5 d。

5.4.3 岩藻黄素标准工作液:准确移取适量标准中间溶液(5.4.2),用 78%乙腈溶液(5.3.2)配制成浓度依次为 $0.05\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $0.10\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $0.50\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $1.00\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $5.00\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 和 $10.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列标准溶液,现用现配。

5.5 材料

聚偏二氟乙烯微孔滤膜:0.45 μm 。

6 仪器设备

- 6.1 高效液相色谱仪:配紫外检测器。
- 6.2 分析天平:感量 0.000 01 g。
- 6.3 电子天平:感量 0.001 g。
- 6.4 匀浆机。
- 6.5 高速组织粉碎机:转速不低于 25 000 r/min。
- 6.6 超声波发生器:60 kHz。
- 6.7 旋涡混合器。
- 6.8 离心机:转速不低于 4 000 r/min。

7 样品的制备与保存

7.1 湿基试样

取适量湿基试样(鲜海藻、盐渍海藻、即食鲜海藻),去除沙石、盐粒等杂质,剪或切成小块,用匀浆机均质。制样过程中避强光。

7.2 干基试样

取适量干基试样(干海藻、即食干海藻),剪或切成小块,放入高速组织粉碎机,应多次粉碎,至试样全部通过 830 μm (20 目)筛;取适量岩藻黄素粉,过 830 μm (20 目)筛。制样过程中避强光。

7.3 试样的保存

试样置于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下密封避光保存,保存期不超过 2 个月。

8 测定步骤

8.1 提取

8.1.1 湿基试样

8.1.1.1 称取湿基试样 2.0 g(精确至 0.001 g)于 50 mL 离心试管中,加入 20 mL 70%乙醇溶液(5.3.1),涡旋振荡混匀。

8.1.1.2 取上述涡旋混匀后溶液,超声提取 30 min,4 000 r/min 离心 10 min,将上层清液转移至 50 mL 容量瓶中,残渣中加入 20 mL 70%乙醇溶液(5.3.1),超声 30 min,4 000 r/min 离心 10 min,合并 2 次离心的上清液,用 70%乙醇溶液(5.3.1)定容至 50 mL。取 1 mL 定容液过 0.45 μm 微孔滤膜(5.5),待测。分析过程避强光。

8.1.2 干基试样

称取干基试样 0.5 g(精确至 0.001 g)于 50 mL 离心试管中,加入 20 mL 70%乙醇溶液(5.3.1),涡旋振荡混匀,于避光处静置 16 h,按 8.1.1.2 中的操作进行。

8.2 测定

8.2.1 高效液相色谱参考条件

高效液相色谱仪的色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱: C_{18} 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm,5 μm)或性能相当者;
- b) 流速:1.0 mL/min;
- c) 进样量:20 μL ;
- d) 柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;
- e) 检测波长:450 nm;
- f) 流动相:A 为乙腈,B 为水,A : B=78 : 22(体积比),等度洗脱。

8.2.2 色谱分析

8.2.2.1 标准曲线绘制

将标准工作液(5.4.3),按照 8.2.1 的色谱条件进行分析和测定。以岩藻黄素标准溶液浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。岩藻黄素标准溶液的液相色谱图见附录 A 中的图 A.1。

8.2.2.2 试样测定

按照 8.2.1 的色谱条件,对 8.1 提取试样进行分析和测定,以保留时间定性(试样中岩藻黄素的保留时间与标准品的保留时间偏差在±2.5%以内),单点或标准曲线定量。加标试样的液相色谱图见图 A.2,藻类样品液相色谱图见图 A.3~A.5。

9 数据处理

试样中岩藻黄素的含量按公式(1)计算。

$$X = \frac{c \times V \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X —— 试样中岩藻黄素含量的数值,单位为毫克每千克(mg/kg);

c —— 待测液中岩藻黄素浓度的数值,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

V —— 待测液定容体积的数值,单位为毫升(mL);

m —— 称取试样质量的数值,单位为克(g)。

计算结果以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留 3 位有效数字。

10 方法灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法的湿基试样中岩藻黄素含量的检出限为 0.750 mg/kg,定量限为 3.00 mg/kg;干基试样中岩藻黄素含量的检出限为 3.00 mg/kg,定量限为 12.0 mg/kg。

10.2 准确度

本方法的湿基试样中添加浓度为 3 mg/kg~215 mg/kg 时,回收率为 90%~110%;干基试样添加浓度为 12 mg/kg~850 mg/kg 时,回收率为 90%~110%。

10.3 精密度

在重复性条件下,获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的 10%。

附录 A
(资料性)
液相色谱图

A.1 岩藻黄素标准溶液

岩藻黄素标准溶液的液相色谱图(1.00 μg/mL)见图 A.1。

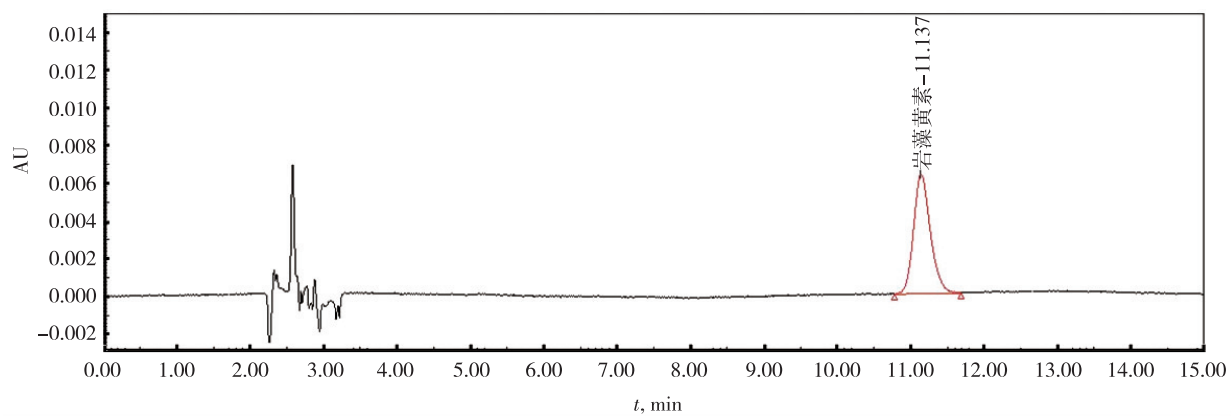


图 A.1 岩藻黄素标准溶液的液相色谱图(1.00 μg/mL)

A.2 龙须菜加标试样

龙须菜加标试样的液相色谱图(添加浓度 25 mg/kg)见图 A.2。

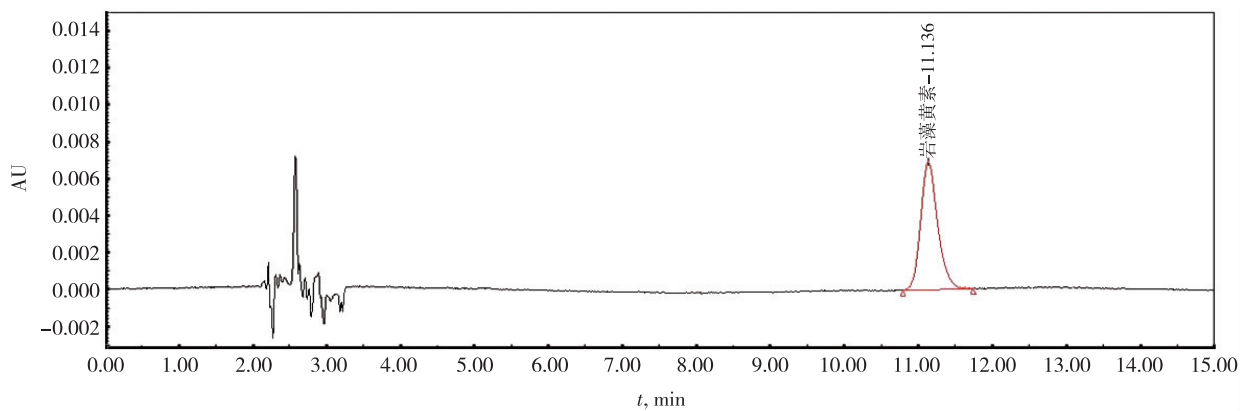


图 A.2 龙须菜加标试样的液相色谱图(添加浓度 25 mg/kg)

A.3 干海带试样

干海带试样的液相色谱图见图 A.3。

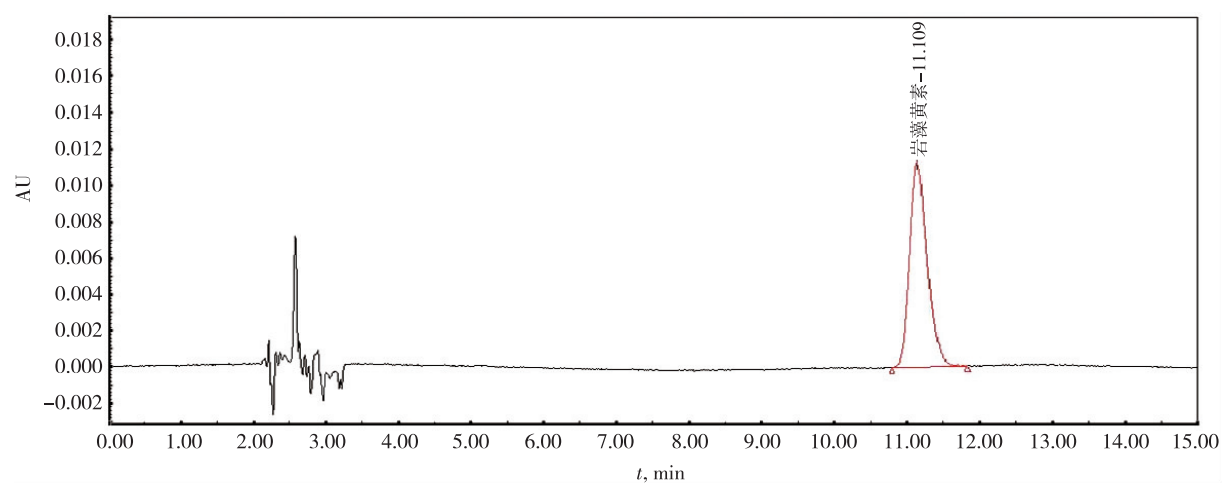


图 A.3 干海带试样的液相色谱图

A.4 鲜海带试样

鲜海带试样的液相色谱图见图 A.4

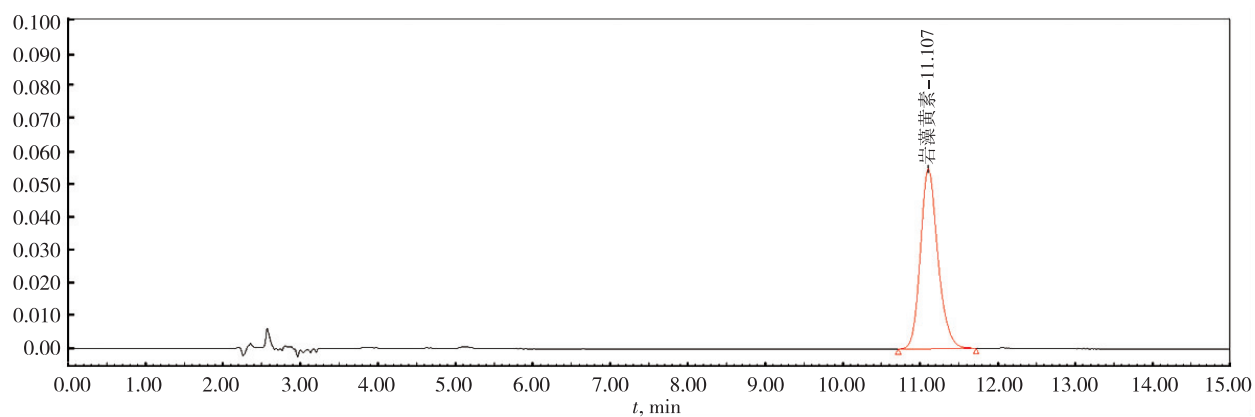


图 A.4 鲜海带试样的液相色谱图

A.5 盐渍海带试样

盐渍海带试样的液相色谱图见图 A.5。

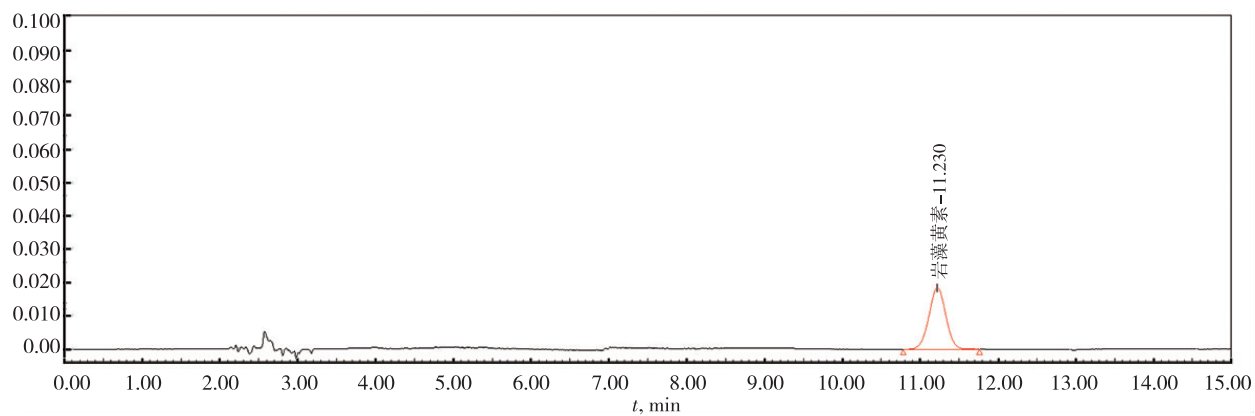


图 A.5 盐渍海带试样的液相色谱图