



# 中华人民共和国国家标准

GB/T XXXX-XXXX

## 饲料中辣椒红的测定 高效液相色谱法

Determination of capsanthin in feeds —  
High performance liquid chromatography (HPLC)

(征求意见稿)

20××-××-××发布

20××-××-××实施

国家市场监督管理总局  
中国国家标准化管理委员会

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。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）提出并归口。

本文件起草单位：四川威尔检测技术股份有限公司、山东省畜产品质量安全中心、山东省饲料兽药质量检验中心。

本文件主要起草人：

# 饲料中辣椒红的测定 高效液相色谱法

## 1 范围

本文件描述了饲料中辣椒红的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于配合饲料、浓缩饲料、添加剂预混合饲料中辣椒红的测定。

本文件的检出限为0.05 mg/kg，定量限为0.1 mg/kg。

## 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

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

## 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 原理

试样中的辣椒红（以辣椒红素和辣椒玉红素表示）用乙腈提取，高效液相色谱仪测定，外标法定量。

## 5 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

5.1 水：GB/T 6682，一级。

5.2 乙腈：色谱纯。

5.3 80%乙腈溶液：取 80 mL 乙腈，加水稀释至 100 mL，混匀。

5.4 辣椒红素和辣椒玉红素标准储备溶液（100  $\mu\text{g/mL}$ ）：准确称取辣椒红素（CAS 号：465-42-9，纯度不低于 95%）和辣椒玉红素（CAS 号：470-38-2，纯度不低于 95%）标准品各 10 mg（精确至 0.01 mg），分别置于 100 mL 棕色容量瓶中，用乙腈溶解、定容，混匀。2 $^{\circ}\text{C}$ ~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存，有效期为 1 个月。

5.5 混合标准中间溶液（10  $\mu\text{g/mL}$ ）：准确移取 1 mL 辣椒红素和辣椒玉红素标准储备溶液（5.4）于 10 mL 棕色容量瓶中，用乙腈稀释、定容，混匀。临用现配。

5.6 混合标准系列溶液：准确移取适量混合标准中间溶液（5.5）于 10 mL 棕色容量瓶中，用 80%乙腈溶液（5.3）稀释、定容，混匀。配制系列标准溶液，浓度分别为 0.020  $\mu\text{g/mL}$ 、0.10  $\mu\text{g/mL}$ 、0.20  $\mu\text{g/mL}$ 、1.0  $\mu\text{g/mL}$ 、2.0  $\mu\text{g/mL}$  和 5.0  $\mu\text{g/mL}$ 。临用现配。

5.7 微孔滤膜：0.2  $\mu\text{m}$ ，有机相。

## 6 仪器设备

6.1 高效液相色谱仪：配紫外检测器或二极管阵列检测器。

6.2 分析天平：精度为 0.1 mg 和 0.01 mg。

6.3 涡旋混合器。

6.4 离心机：转速不低于 10 000 r/min。

6.5 超声波清洗器。

## 7 样品

按照GB/T 20195规定制备试样，至少200 g，粉碎使其全部过0.425 mm分析筛，混合均匀，装入密闭容器中，避光保存，备用。

## 8 试验步骤

警示—以下操作避光进行。

### 8.1 提取

平行做两份试验。称取试样 2 g（精确至 0.1 mg），置于 50 mL 离心管中，准确加入 10 mL 乙腈，涡旋振荡 1 min（如果粘稠加一颗陶瓷均质子），超声 10 min，于 10000 r/min 离心 5 min。准确移取 0.8 mL 上清液，加入 0.2 mL 水，涡旋混合均匀。用微孔滤膜（5.7）过滤，滤液待测。

### 8.2 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

- a) 色谱柱：C18 柱，长 100 mm，内径 4.6 mm，粒径 2.7  $\mu\text{m}$ ，或性能相当者；
- b) 柱温：35°C；
- c) 检测波长：475 nm；
- d) 流速：1.0 mL/min；
- e) 进样量：10  $\mu\text{L}$ ；
- f) 流动相：A 相为乙腈（5.2），B 相为水（5.1），梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

| 时间 (min) | A相 (%) | B相 (%) |
|----------|--------|--------|
| 0.00     | 75     | 25     |
| 1.00     | 100    | 0      |
| 6.00     | 100    | 0      |
| 6.10     | 75     | 25     |
| 10.00    | 75     | 25     |

### 8.3 测定

#### 8.3.1 标准系列溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下，分别取标准系列溶液（5.6）和试样溶液（8.1）上机测定。辣椒红素和辣椒玉红素标准溶液的液相色谱图参见附录A。

#### 8.3.2 定性

以保留时间定性，试样溶液中辣椒红素和辣椒玉红素保留时间应与标准系列溶液（浓度相当）中辣椒红素和辣椒玉红素的保留时间一致，其相对偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内。

#### 8.3.3 定量

以辣椒红素和辣椒玉红素的浓度为横坐标，色谱峰面积（响应值）为纵坐标，绘制标准曲线，其相关系数应不低于0.99。试样溶液中待测物的浓度应在标准曲线的线性范围内。如超出范围，应将试样溶液用80%乙腈溶液（5.3）稀释后，重新测定（或重新试验）。单点校准定量时，试样溶液中待测物的浓度与标准溶液浓度相差不超过30%。

## 9 试验数据处理

试样中辣椒红素和辣椒玉红素的含量以质量分数  $w_i$  计，数值以毫克每千克（mg/kg）表示。多点校准按公式（1）计算；单点校准按公式（2）计算：

$$w_i = \frac{\rho_i \times V \times V_2 \times 1000}{V_l \times m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$\rho_i$ ——从标准曲线查得的试样溶液辣椒红素或辣椒玉红素的质量浓度, 单位为微克每毫升( $\mu\text{g/mL}$ );

$V$ ——提取溶液的体积, 单位为毫升(mL);

$V_l$ ——移取试样提取溶液的体积, 单位为毫升(mL);

$V_2$ ——上机溶液的体积, 单位为毫升(mL);

$m$ ——试样质量, 单位为克(g)。

$$w = \frac{A \times \rho_s \times V \times V_2 \times 1000}{A_s \times V_l \times m \times 1000} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

$A$ ——试样溶液中辣椒红素或辣椒玉红素色谱峰面积;

$A_s$ ——标准溶液中辣椒红素或辣椒玉红素的峰面积;

$\rho_s$ ——标准溶液中辣椒红素或辣椒玉红素的质量浓度, 单位为微克每毫升( $\mu\text{g/mL}$ );

$V$ ——试样提取溶液的体积, 单位为毫升(mL);

$V_l$ ——移取试样提取溶液的体积, 单位为毫升(mL);

$V_2$ ——上机溶液的体积, 单位为毫升(mL);

$m$ ——试样质量, 单位为克(g)。

测定结果以平行测定的算术平均值表示, 保留3位有效数字。

## 10 精密度

在重复性条件下, 两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的10%。

附录 A  
(资料性附录)

辣椒红素和辣椒玉红素标准溶液液相色谱图

辣椒红素和辣椒玉红素标准溶液的液相色谱图见图 A.1。

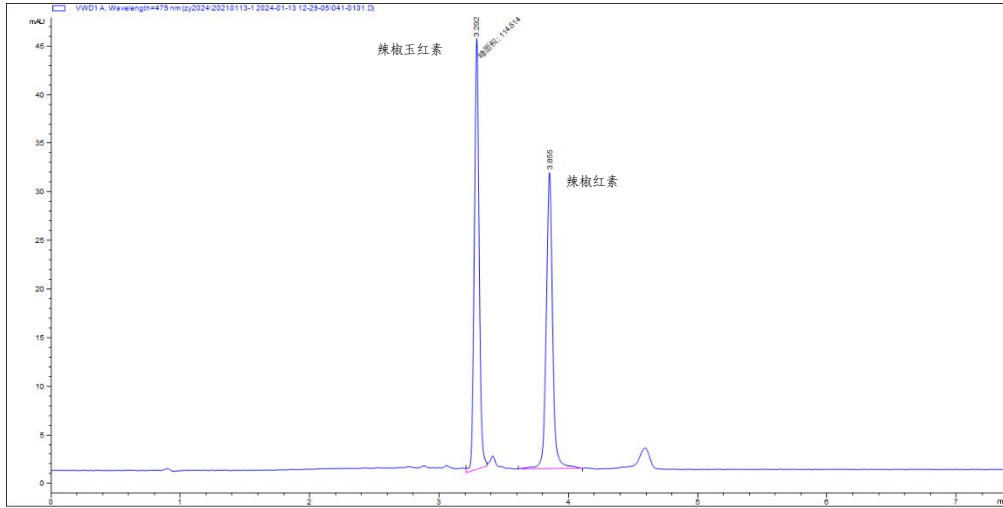


图 A.1 辣椒红素和辣椒玉红素标准溶液 (1.0  $\mu\text{g/mL}$ ) 的液相色谱图