

中华人民共和国国家标准

《饲料中辣椒红的测定 高效液相色谱法》

编制说明

(征求意见稿)

山东省畜产品质量安全中心

2024年1月

目录

一、工作简况	3
1.1 任务来源.....	3
1.2 标准制定背景.....	3
1.3 主要工作过程.....	4
1.3.1 成立标准编制小组.....	4
1.3.2 标准修订技术路线和方案制定.....	5
1.3.3 样品收集、方法学研究和实际样品检测.....	6
1.3.4 编写编制说明和征求意见稿.....	6
二、标准编制原则和主要技术内容确定的依据	6
2.1 标准编制原则.....	6
2.2 主要技术内容及其确定的依据.....	7
2.3 液相色谱条件确定.....	8
2.3.1 检测波长的选择.....	8
2.3.2 流动相的考察.....	9
2.3.3 色谱柱温度的考察.....	10
2.3.4 色谱柱的选择.....	10
2.3.5 色谱条件的选择性、专属性和稳定性考察.....	11
2.4 样品提取和净化方法和条件确定.....	12
2.4.1 提取方法选择.....	12
2.4.2 样品净化条件选择.....	16
2.5 标准储备溶液有效期的确定.....	16
2.6 方法学考察.....	17
2.6.1 线性范围.....	17
2.6.2 定性和定量测定.....	18
2.6.3 方法检出限和灵敏度.....	19
2.6.4 方法准确度和精密度.....	22
2.7 干扰试验.....	30
2.8 方法适用性考察.....	30
2.9 精密度.....	31
三、试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效果	31
四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况	31
五、采标情况，以及是否合规引用或采用国际国外标准	31
六、与有关法律、法规的关系	31
七、重大分歧意见的处理经过和依据	31
八、涉及专利的有关说明	32
九、贯彻标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议	32
十、其他应当说明的事项	32

中华人民共和国国家标准
饲料中辣椒红的测定 高效液相色谱法
编制说明

一、工作简况

1.1 任务来源

根据《国家标准化管理委员会关于下达 2021 年第四批推荐性国家标准计划及相关标准外文版计划的通知》（国标委发 [2021] 41 号），“饲料中辣椒红的测定 高效液相色谱法”标准制定项目计划编号 20214681-T-469，起草单位为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。本标准由全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）提出并归口。

1.2 标准制定背景

辣椒红色素，又名辣椒红，是从辣椒中提取的天然着色剂，主要着色成分为辣椒红素和辣椒玉红素，属类胡萝卜素，占总量的 50%~60%。天然辣椒红色素是一种安全、健康、有益的饲料添加剂，其在饲料中的应用可以促进动物健康、提高免疫力、增加产蛋量和肉蛋品质。添加天然辣椒红色素不仅可以感官上刺激动物的食欲和进食量，同时还可以提高动物的消化酶活性和肠道微生物群落结构，提高饲料的消化利用率。天然辣椒红色素不仅可以促进动物免疫功能提高，增强机体抵抗力，它还具有一定的抗炎作用，缓解动物身体的炎症反应和免疫应激反应。添加天然辣椒红色素不仅可以提

高动物的产蛋量和肉质品质，还可以提高动物肉品的抗氧化能力和保存期限，增加肉制品的货架期和市场销售价值。

按照农业部 2045 号公告《饲料添加剂目录》规定，辣椒红为着色剂类的饲料添加剂，适用范围为家禽。按照农业部 2625 号公告规定，辣椒红在家禽饲料中的最高限量为 80 mg/kg。为指导饲料生产企业和用户规范使用饲料添加剂辣椒红，避免辣椒红在家禽饲料中超量适用，或者在非家禽饲料中超范围使用，有必要制定“饲料中辣椒红的测定”农业行业标准，可有效规范指导饲料生产、保证饲料产品的质量安全、保护人民群众身体健康，同时为饲料管理部门提供有效的技术支撑。

查阅国内外相关资料，目前测定辣椒红的方法主要有薄层色谱法、比色法和液相色谱法。薄层色谱法仅能定性和半定量；比色法可以定量，但由于其它色素如叶黄素等在同一波长处也有吸收，使得测定结果不能准确反映辣椒红的含量；液相色谱法可以使得辣椒红与其它色素完全分离，从而准确定量。

1.3 主要工作过程

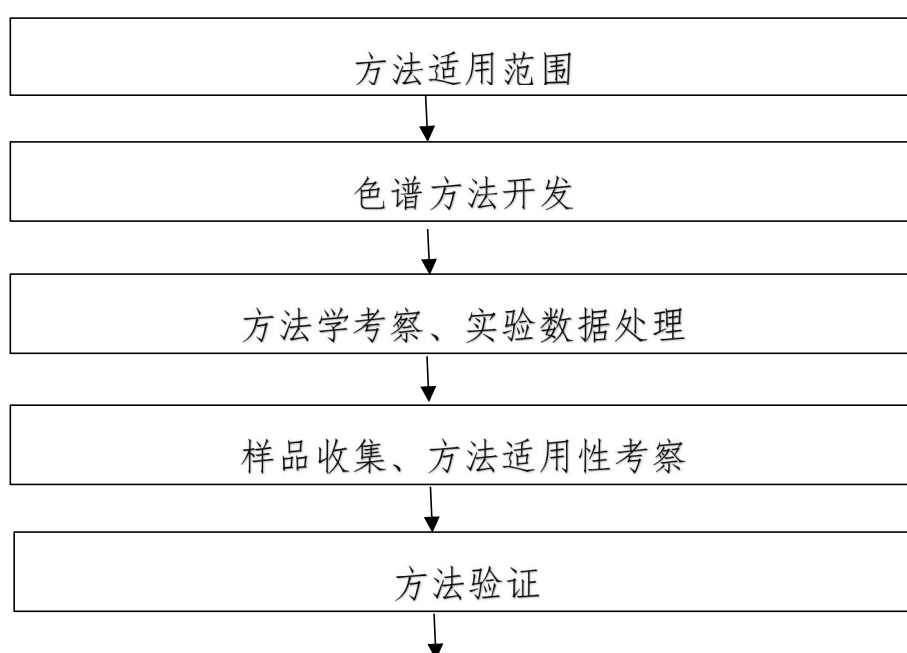
1.3.1 成立标准编制小组

2022 年1 月，山东省畜产品质量安全中心、四川威尔检测技术股份有限公司、山东省饲料兽药质量检验中心、广州智特奇生物科技股份有限公司和晨光生物科技集团股份有限公司接到国家标准制定任务后，成立了张芸、孙延军、宫玲玲、张坤、张凤枰、李俊玲、王英英等的标准起草小组。

2022年3月，山东省畜产品质量安全中心组织各起草单位召开线上标准制定启动会，会上详细研讨了标准制定路线，明确各起草单位工作分工，山东省畜产品质量安全中心负责技术路线的制定和实施，承担辣椒红素和辣椒玉红素检测方法的开发、样品检测和数据分析，以及标准文本和编制说明等材料的编写等工作；四川威尔检测技术股份有限公司负责整个标准的工作调度等；山东省饲料兽药质量检验中心、广州智特奇生物科技股份有限公司、晨光生物科技集团股份有限公司负责样品收集和文献资料的查阅等工作。

1.3.2 标准修订技术路线和方案制定

2022年7月，标准编制小组查阅了国内外有关标准文献资料，同时调研国内主要辣椒红生产企业、使用企业等标准方法采用情况，制定了标准制定内容和技术路线方案，确定了标准制定的主要内容、技术路线（见图1）、分工、完成时限等。



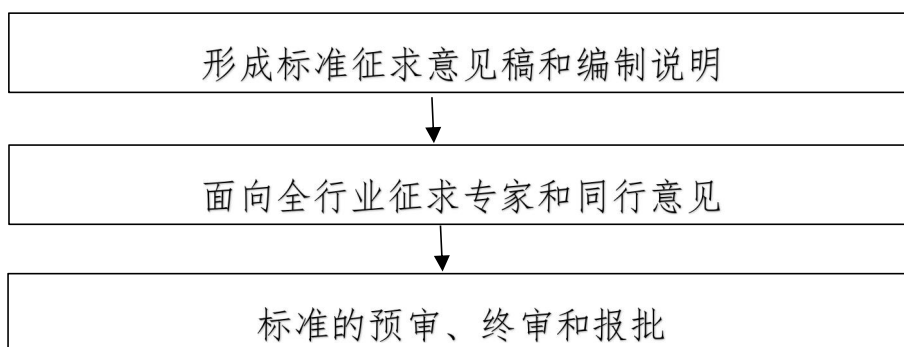


图1 标准制定技术路线图

1.3.3 样品收集、方法学研究 and 实际样品检测

2022年8月~2023年8月，开展样品收集、方法学研究和实际样品检测。

1.3.4 编写编制说明和征求意见稿

2023年9月~11月，标准编制小组完成标准文本、编制说明定向征求意见稿编制工作。

二、标准编制原则和主要技术内容确定的依据

2.1 标准编制原则

本标准的结构、技术要素及表述方法是按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则第1部分：标准的结构和编写》以及GB/T 20001.4-2015《标准编制规则第4部分：试验方法标准》的规定和要求进行编写。编制依据如下：

- (1) 遵循国家颁布的相关法律法规；
- (2) 有关国家或行业标准；
- (3) 国内外有关标准和参考文献；

(4) 标准编制小组调研和实测的样品检测数据。

标准制定结合国内外检测技术发展趋势和我国饲料行业发展现状，力求做到技术上先进、经济上合理，确保标准方法的准确性、可靠性和通用性。

2.2 主要技术内容及其确定的依据

经查阅相关标准和文献，辣椒红中辣椒红素和辣椒玉红素易溶于有机溶剂，在400 nm-600 nm范围内有紫外吸收，检测仪器主要为分光光度仪和高效液相色谱仪等仪器设备。因为分光光度法是基于光吸收信号的检测方法，本身并不具有分离功能，在某一波长下测得的吸光度值是所有物质的吸光度之和，因此，并不能准确定量某一种物质的含量。在农业部2625号公告《饲料添加剂安全使用规范》中规定，辣椒红的有效成分为辣椒红素和辣椒玉红素，在配合饲料中最高限量为80 mg/kg（以辣椒红素计）（见表1）。所以，要定性定量辣椒红的含量，只能选择液相色谱方法。

表1 农业部2625号公告中辣椒红素和辣椒玉红素使用规定

通用名称	英文名称	化学式或描述	来源	含量规格 (%)	适用动物	在配合饲料中的推荐添加量 (以化合物计, mg/kg)	在配合饲料中的最高限量 (以化合物计, mg/kg)	其他要求
辣椒红	Paprika red	有效成分为辣椒红素 (Capsanthin, C ₄₀ H ₅₆ O ₃) 和辣椒玉红素 (Capsorubin, C ₄₀ H ₅₆ O ₄)	提取	类胡萝卜素总量 ≥ 7.0, 其中辣椒红素和辣椒玉红素总量占类胡萝卜素总量 ≥ 30	家禽	按生产需要适量使用	80 (以辣椒红素计)	同时使用时, 在配合饲料中的总量不得超过 80 mg/kg

液相色谱分为正向色谱和反相色谱, 就目前的分析方法而言, 从易于掌握操作、实验成本低以及环境友好等方面考虑, 反相色谱具有更好的普适性, 应用范围较广。所以本标准以辣椒红素和辣椒玉红素标准品为对象, 研究了反相色谱保留的方法学。针对不同类型的样品, 主要从样品提取、样品净化和样品测定三方面开展标准方法研究工作, 对具体试验条件进行优化, 开展方法学考察和适用性考察, 确保修订后的标准方法定性定量分析准确可靠。

2.3 液相色谱条件确定

2.3.1 检测波长的选择

采用二极管阵列检测器在 190 nm ~ 600 nm 波长扫描得到辣椒红素和辣椒玉红素色谱峰的光谱图, 如图 2。结果表明, 辣椒红素和辣椒玉红素均在波长 475 nm 附近有最大吸收峰, 因此, 确定检测波长为 475 nm, 这与文献报道的检测波长相一致。

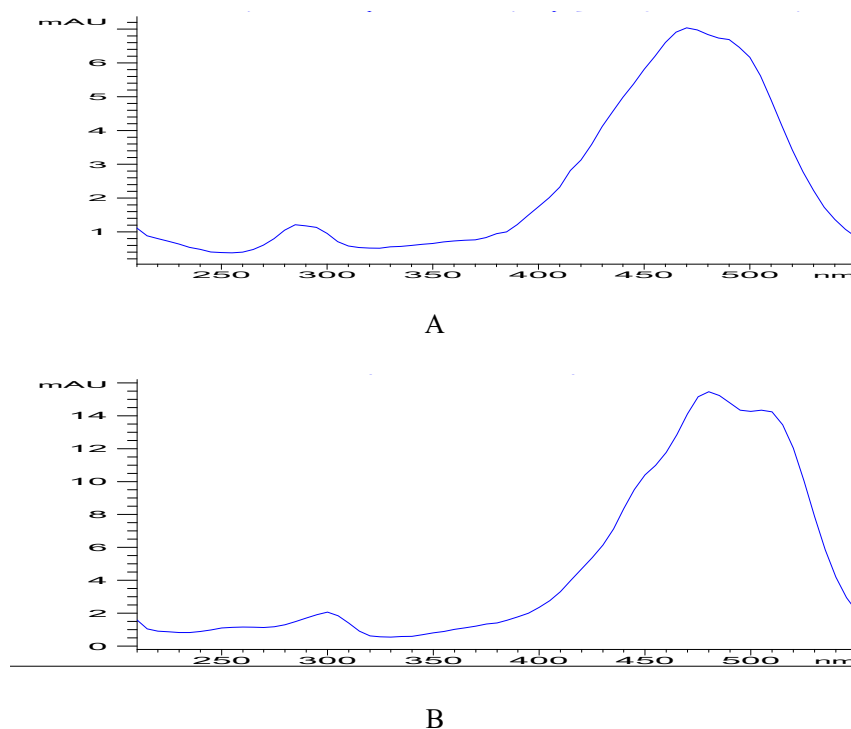


图2 辣椒红素和辣椒玉红素标准溶液光谱图

注：A. 辣椒红素；B. 辣椒玉红素

2.3.2 流动相的考察

分别考察了三种流动相对辣椒红素和辣椒玉红素出峰时间和峰形的影响。当流动相结果见表2。结果表明，乙腈作为流动相使用时，目标峰出峰时间太快，在2 min以内，溶剂峰等杂峰对其影响太大。乙腈+水在体积比75+25时，出峰时间超过20 min，目标物在色谱柱上有较强的保留。乙腈+水梯度洗脱，将出峰时间控制在3 min以后，10 min以内，且分离度良好，梯度洗脱表见表3。

表2 流动相考察条件

色谱条件	流动相组成	流动相比比例 (%)	流速 (mL/min)
流动相 1	乙腈	100	1.0
流动相 2	乙腈+水	75+25	1.0
流动相 3	乙腈+水	梯度洗脱	1.0

表 3 梯度洗脱程序

时间 (min)	乙腈 (%)	水 (%)
0.00	75	25
1.00	100	0
6.00	100	0
6.10	75	25
10.00	75	25

2.3.3 色谱柱温度的考察

色谱柱温度对溶剂的溶解能力、色谱柱的性能、流动相的粘度都有一定的影响。分别考察色谱柱温度为 25 °C、30 °C、35 °C 和 40 °C 时辣椒红素、辣椒玉红素液相色谱峰形和分离情况，结果见图 49。考察结果表明，随着色谱柱温度的升高，辣椒红素、辣椒玉红素的保留时间变化不明显，系统压力降低。在以上条件中，标化合物均峰形对称，满足试验要求，低压力有利于延长色谱柱使用寿命，因此，色谱柱温度确定为 35 °C。

2.3.4 色谱柱的选择

由于辣椒红素和辣椒玉红素的 LogP 分别为 9.90 和 7.97，所以它们在反相色谱柱上能够保留并被洗脱。本方法比较了实验室反相色谱中常用的两根短色谱柱，分别是柱长 100 mm、内径 4.6 mm、

粒径 2.7 μm 的 C18 色谱柱，和柱长 100 mm、内径 3.0 mm、粒径 2.7 μm 的 C8 色谱柱，进行色谱柱考察。在乙腈/水的梯度洗脱程序下，检测波长为 475 nm，柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$ 时，两根色谱柱对辣椒红素和辣椒玉红素的保留情况相当，都能够实现完全分离和良好峰型。因此，方法选择 C18 柱（柱长 100mm，内径 4.6mm，粒径 2.7 μm ）或等效色谱柱。

液相色谱参考条件为：

a) 色谱柱：C18 柱，柱长 100 mm，内径 4.6 mm，粒径 2.7 μm ，或性能相当者；

b) 流动相：乙腈+水，梯度洗脱；

c) 柱温：35 $^{\circ}\text{C}$ ；

d) 流速：1.0 mL/min；

e) 检测波长：475 nm；

f) 进样体积：10 μL 。

2.3.5 色谱条件的选择性、专属性和稳定性考察

在上述色谱条件下，考察不同浓度辣椒红素、辣椒玉红素标准工作溶液的保留时间的精密度和稳定性，结果见表 4。结果表明，不同浓度辣椒红素、辣椒玉红素标准工作溶液保留时间的 RSD 值均小于 0.4%。在所选择的色谱条件下，实际样品中的色谱图，辣椒红素、辣椒玉红素的分离度、稳定性和专属性满足定性和定量测定要求，该方法选择性、专属性和稳定性高。

表 4 辣椒红素和辣椒玉红素标准溶液精密度试验

浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	待测 组分	保留时间 (min)						平均	RSD (%)
		平行1	平行2	平行3	平行4	平行5	平行6		
0.2	辣椒 玉红 素	3.270	3.284	3.284	3.271	3.284	3.277	3.278	0.20
1.0	辣椒 玉红 素	3.385	3.389	3.385	3.389	3.380	3.388	3.386	0.10
浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	待测 组分	保留时间 (min)						平均	RSD (%)
		平行1	平行2	平行3	平行4	平行5	平行6		
0.2	辣椒 玉红 素	3.849	3.852	3.884	3.867	3.875	3.849	3.863	0.39
1.0	辣椒 玉红 素	4.020	4.017	4.022	4.039	4.015	4.016	4.022	0.22

2.4 样品提取和净化方法和条件确定

2.4.1 提取方法选择

辣椒红素，分子式为 $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_3$ ，分子量为 584.85，化学结构式如图 3 所示。辣椒玉红素，分子式为 $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_4$ ，分子量为 600.85，化学结构式如图 4 所示。

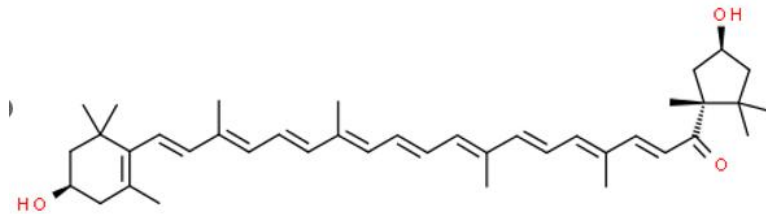


图 3 辣椒红素结构式

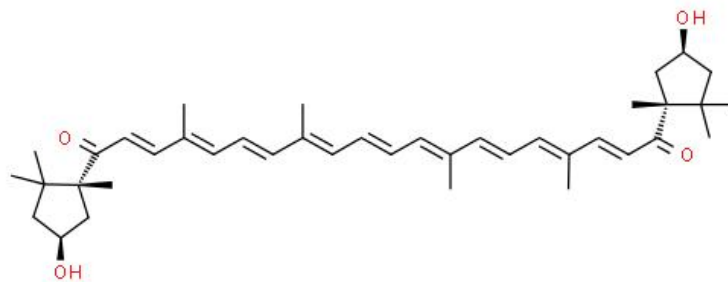


图 4 辣椒玉红素结构式

辣椒红色素是以辣椒为原料，采用科学方法提取、分离、精制而成的天然色素。主要成份为辣椒红素和辣椒玉红素，为深红色油溶性液体，色泽鲜艳，着色力强，耐光、热、酸、碱，且不受金属离子影响；溶于油脂和乙醇，亦可经特殊加工制成水溶性或水分散性色素。

从图 3、图 4 可以看出，辣椒红素和辣椒玉红素均属于弱极性化合物。结合相关文献和标准，我们选取基质较为复杂的蛋鸡配合饲料 2 g，空白基质加标量约为 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，分别使用乙腈、80%乙腈水溶液、5%甲酸乙腈、甲醇、5%甲酸甲醇、80%甲醇水溶液作为溶剂进行提取，上机测定，计算其回收率，结果见下表 5。

表 5 蛋鸡配合饲料不同提取溶剂回收率试验结果 (n=3)

序号	待测组分	平均回收率 (%)					
		乙腈	80%乙腈水	5%甲乙腈	甲醇	5%甲酸甲醇	80%甲醇水
1	辣椒玉红素	85.2	80.2	80.2	70.6	69.5	68.2
2	辣椒红素	81.4	75.3	72.5	69.4	66.3	61.7

由表 4 中回收率结果可知，乙腈和甲醇提取的回收率相当，乙腈水的提取回收率最低，这可能和辣椒红色素在有机溶剂中的溶解

程度有关。考虑到操作简单以及环境影响程度，本实验考虑采用乙腈作为提取液。另外，本实验分别选用蛋鸡配合饲料、蛋鸡预混料、蛋鸭配合饲料、蛋鸭预混料、蛋鸡浓缩料和蛋鸭浓缩料各 2 g，添加成浓度约为 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，考察乙腈对其提取效率，结果见表 6。结果表明，在所选基质中，乙腈均具有良好的提取效率，因此最终选择乙腈作为饲料中辣椒红素和辣椒玉红素的提取溶剂。

表 6 乙腈提取回收率试验结果 (n=3)

序号	待测组分	平均回收率 (%)					
		蛋鸡配合饲料	蛋鸡预混料	蛋鸭配合饲料	蛋鸭预混料	蛋鸡浓缩料	蛋鸭浓缩料
1	辣椒玉红素	84.6	83.4	82.2	86.5	79.8	88.7
2	辣椒红素	80.7	81.6	79.6	81.7	83.6	81.9

为了验证提取体积对测定结果的影响，实验考察了采用 10 mL 乙腈第 1 次提取、10 mL 乙腈第 2 次提取的回收率情况。结果表明，第 2 次乙腈提取到的目标物含量在第一次提取的 5% 以内，本着节约试剂和时间且不影响实验结果的原则，10 mL 乙腈提取 1 次即可满足实验要求，结果见表 7。

表 7 不同提取次数回收率试验结果 (n=3)

序号	待测组分	平均回收率 (%)	
		第1次提取	第2次提取
1	辣椒玉红素	92.4	3.4
2	辣椒红素	91.5	2.7

为了验证不同提取方式对测定结果的影响，实验考察了涡旋 10

min 和先涡旋 1 min 再超声 10 min 提取的回收率情况，结果见表 8。结果表明，涡旋 1 min，超声 10 min 的提取回收率比涡旋 10 min 的结果有较为明显的改善。由于饲料基质的复杂性，提取的难易程度不同，为了实验整体效果，本方法采用先涡旋 1 min 再超声 10 min 的提取方式。

表 8 不同提取方式回收率试验结果 (n=3)

序号	待测组分	平均回收率 (%)	
		涡旋 10 min	涡旋 1 min, 超声 10 min
1	辣椒玉红素	81.4	87.1
2	辣椒红素	79.2	89.8

为了进一步考察提取时间对测定结果的影响，加入 10 mL 乙腈提取液，分别考察了超声提取时间分别为 5 min、10 min、15 min 时样品回收率。结果见表 9。实验结果表明，随着提取时间增加，回收率无明显增加。为保证不同类型样品的提取效率，且综合考虑时间成本，最终将样品提取时间定为 10 min。

表 9 不同提取时间回收率试验结果 (n=3)

序号	待测组分	平均回收率 (%)		
		5 min	10 min	15 min
1	辣椒玉红素	83.4	85.6	84.1
2	辣椒红素	81.2	80.2	81.7

2.4.2 样品净化条件选择

已有的实验结果表明，用乙腈提取后的样品，经高速离心后，溶液澄清，透明度好，经上机检测后，色谱图比较简单，杂质干扰峰较少，且不影响目标物检测。为了进一步考察净化条件的影响，将乙腈提取后的样品溶液用 QuEChERS 方式净化后，离心，取上清液上机，所得结果与乙腈提取后直接离心上机的结果相比，回收率损失约为 15%~20%，说明净化过程会引起目标物的损失。结果见表 10。基于直接提取上机的效果良好，所以本方法采用乙腈提取后直接上机的方式。

表 10 净化实验对回收率的影响 (n=3)

处理方法	平均回收率 (%) (100µg/kg)		平均回收率 (%) (500µg/kg)	
	辣椒玉红素	辣椒红素	辣椒玉红素	辣椒红素
QuEChERS 净化	76.7	64.7	73.8	67.6
只提取	95.0	82.4	90.3	81.3

最终确定的样品提取处理方法如下：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 8000 r/min 离心 5 min。取 0.8 mL 上清液，加入 0.2 mL 水，涡旋混合均匀。用微孔滤膜过滤，滤液待测。

2.5 标准储备溶液有效期的确定

为确保检测方法的准确性，依据目标化合物理化性质，对其标准储备溶液稳定性进行验证。将目标化合物配制成 0.10 mg/mL 标准储备溶液，2°C~8°C 保存。分别在 0 天、14 天、1 个月取出标准储

备溶液稀释上机，同时新配标准储备溶液，配制系列标准溶液，用液相色谱仪测定浓度，考察其稳定性，结果见表 11。结果表明，当测试时间为 1 个月时，待测物峰面积稳定，无明显降解和变化。因此为保证标准溶液稳定性，减少测试误差，并参照 GB/T 27404 - 2008 中的“标准溶液参考有效期”的要求，最终确定：0.10 mg/mL 标准储备溶液 2°C ~ 8°C 保存，有效期 1 个月。

表 11 标准储备溶液稳定性试验结果

测试时间	辣椒红素 (mg/mL)	辣椒玉红素 (mg/mL)
0 天	0.10	0.10
14 天	0.099	0.099
30 天	0.098	0.097

2.6 方法学考察

2.6.1 线性范围

准确移取辣椒红素、辣椒玉红素标准储备溶液适量，用 80% 乙腈水溶液逐级稀释成浓度为 0.02 $\mu\text{g/mL}$ 、0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 和 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准系列溶液，供高效液相色谱仪测定，临用现配。以标准溶液中待测组分的色谱峰面积为纵坐标，以待测组分的浓度为横坐标，绘制标准曲线，辣椒红素、辣椒玉红素线性范围、回归方程及相关系数 (r^2) 结果见表 12。结果表明，待测物在 0.02 $\mu\text{g/mL}$ ~ 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好。

表12 标准工作曲线线性范围、回归方程及相关系数

序号	待测组分	线性范围 (ng/mL)	回归方程	r ²
1	辣椒玉红素	20-5000	$y = 133.27x - 2.3735$	0.9999
2	辣椒红素	20-5000	$y = 133.27x - 2.3735$	0.9989

2.6.2 定性和定量测定

在仪器的最佳条件下，分别取辣椒红素、辣椒玉红素混合标准系列溶液和试样溶液上机测定。

定性测定：以保留时间定性，试样溶液中辣椒红素、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、辣椒玉红素的保留时间一致，其相对偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内。

定量测定：以辣椒红素、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%乙腈溶液稀释后，重新测定。

在上述色谱条件下，辣椒红素、辣椒玉红素的标准溶液液相色谱图见图5。

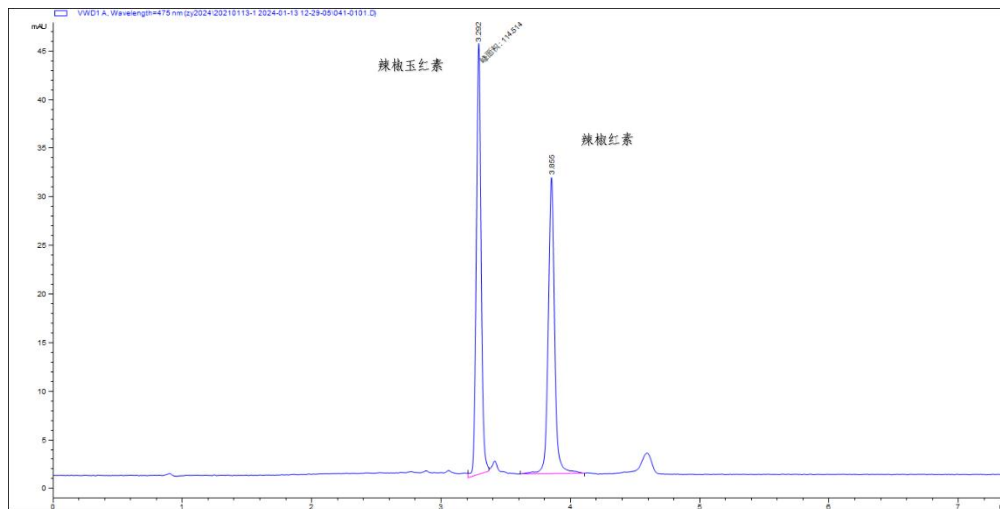


图 5 目标化合物标准溶液色谱图

2.6.3 方法检出限和灵敏度

将仪器条件优化至最佳，确定方法的检出限和定量限，具体操作如下：

添加适量标准溶液于空白样品中，按照上述确定的方法和条件处理后供高效液相色谱仪测定，结合称样质量、提取液体积、净化和上机溶液体积等，依据分析物信噪比 $S/N > 3$ ，确定方法检出限为 0.05 mg/kg，依据分析物信噪比 $S/N > 10$ ，确定方法定量限为 0.1 mg/kg。

根据信噪比计算得到的定量限进行空白基质加标试验，结果见表 13~表 20。

表 13 蛋鸡产蛋期配合饲料定量限加标回收试验结果

添加浓度 (mg/kg)	待测 组分	批 次	回收率 (%)						平均 回收 率 (%)	批内 RSD (%)	批间 RSD (%)
100	辣椒 玉红 素	I	97.3	86.8	98.2	101.9	96.7	98.2	96.5	5.28	5.86
		II	96.3	105.4	99.7	98.2	92.6	102.4	99.1	4.55	
		III	96.1	85.7	97.1	85.7	94.7	90.5	91.6	5.58	
	辣椒 红素	I	96.7	96.6	96.2	98.5	95.9	110.2	99.0	5.61	7.33
		II	98.5	92.9	99.3	102.4	99.7	97.4	98.4	3.21	
		III	80.5	88.7	97.3	89.4	82.3	91.5	88.3	6.97	

表 14 蛋鸡配合饲料定量限加标回收试验结果

添加浓度 (mg/kg)	待测 组分	批 次	回收率 (%)						平均 回收 率 (%)	批内 RSD (%)	批间 RSD (%)
100	辣椒 玉红 素	I	96.8	97.4	104.6	96.4	98.6	97.2	98.5	3.13	4.12
		II	99.5	92.8	97.4	98.5	105.1	98.8	98.7	4.01	
		III	86.2	97.1	98.4	98.0	96.0	99.6	95.9	5.11	
	辣椒 红素	I	98.7	97.3	96.0	108.5	96.8	97.8	99.2	4.69	5.76
		II	99.4	103.7	96.9	98.7	105.5	99.0	100.5	3.30	
		III	85.9	98.3	86.8	93.3	98.4	91.9	92.4	5.84	

表 15 蛋鸭配合饲料定量限加标回收试验结果

添加浓度 (mg/kg)	待测 组分	批 次	回收率 (%)						平均 回收 率 (%)	批内 RSD (%)	批间 RSD (%)
100	辣椒 玉红 素	I	97.4	98.0	99.7	98.6	103.7	98.7	99.4	2.28	4.18
		II	99.8	110.5	96.7	99.6	96.4	96.8	100.0	5.38	
		III	92.4	99.9	96.3	94.5	105.4	97.8	97.7	4.68	
	辣椒 红素	I	98.6	103.7	97.3	98.6	98.9	92.9	98.3	3.52	2.78
		II	99.3	98.3	96.3	104.9	98.1	98.1	99.2	3.00	
		III	98.3	97.2	96.3	102.2	99.7	97.8	98.6	2.13	

表 16 蛋鸭产蛋期配合饲料定量限加标回收试验结果

添加浓度 (mg/kg)	待测 组分	批 次	回收率 (%)						平均 回收 率 (%)	批内 RSD (%)	批间 RSD (%)
100	辣椒 玉红 素	I	99.5	106.8	98.5	97.2	96.4	101.8	100.0	3.81	4.20
		II	97.5	98.7	96.0	98.9	97.3	103.9	98.7	2.78	
		III	89.2	92.0	95.9	94.5	93.5	97.8	93.8	3.21	
	辣椒 红素	I	90.1	96.6	97.2	98.3	96.6	100.7	96.6	3.65	3.06
		II	96.7	97.2	99.3	97.4	102.8	99.9	98.9	2.32	
		III	95.4	92.5	98.8	94.5	100	97.8	96.5	2.95	

表 17 宠物（犬）配合饲料

添加浓度 (mg/kg)	待测组分	批次	回收率 (%)						平均回收率 (%)	批内RSD (%)	批间RSD (%)
100	辣椒玉红素	I	97.5	95.9	107.9	98.1	98.7	96.1	99.0	4.52	4.06
		II	96.9	104.8	99.3	96.1	95.2	97.4	98.3	3.54	
		III	98.5	96.6	88.3	99.7	97.1	98.7	96.5	4.32	
	辣椒红素	I	99.2	101.7	97.0	98.3	107.5	97.4	100.2	3.95	5.01
		II	97.8	98.1	91.7	98.1	97.9	92.0	95.9	3.30	
		III	86.8	98.2	92.8	87.9	96.6	96.9	93.2	5.24	

表 18 宠物（猫）配合饲料定量限加标回收试验结果

添加浓度 (mg/kg)	待测组分	批次	回收率 (%)						平均回收率 (%)	批内RSD (%)	批间RSD (%)
100	辣椒玉红素	I	97.8	96.3	96.7	97.1	95.7	108.7	98.7	5.01	5.69
		II	96.8	90.6	92.4	91.1	94.7	97.3	93.8	3.07	
		III	89.7	81.4	94.3	98.1	99.5	94.3	92.9	7.09	
	辣椒红素	I	96.7	114.1	99.4	100.4	99.6	95.3	100.9	6.68	5.87
		II	97.2	92.5	98.7	90.8	89.7	87.5	92.7	4.72	
		III	92.6	98.3	97.9	97.0	95.9	98.3	96.7	2.27	

表 19 蛋鸡预混合饲料定量限加标回收试验结果

添加浓度 (mg/kg)	待测组分	批次	回收率 (%)						平均回收率 (%)	批内RSD (%)	批间RSD (%)
100	辣椒玉红素	I	97.1	99.8	106.4	97.6	98	96.9	99.3	3.65	5.66
		II	92.6	91.1	98.1	104.8	93.8	102.3	97.1	5.72	
		III	81.6	97.8	96.9	98.0	92.9	95.2	93.7	6.66	
	辣椒红素	I	98.2	102	90.7	98.2	98.0	114.9	100.3	8.00	7.45
		II	96.4	106.6	98.4	93.5	92.6	97.1	97.4	5.13	
		III	85.1	89.9	97.1	93.6	97.4	84.2	91.2	6.33	

表 20 蛋鸭预混合饲料定量限加标回收试验结果

添加浓度 (mg/kg)	待测组分	批次	回收率 (%)						平均回收率 (%)	批内RSD (%)	批间RSD (%)
100	辣椒玉红素	I	96.4	88.2	109.1	97.3	98.1	98.1	97.9	6.81	6.67
		II	96.7	98.9	97.1	107.2	97.3	96.0	98.9	4.24	
		III	85.3	96.5	82.4	96.6	96.6	91.8	91.5	6.88	
	辣椒红素	I	94.9	98.3	106.2	97.7	98.5	97.6	98.9	3.86	5.27
		II	103.4	97.7	88.2	98.7	96.1	87.7	95.3	6.50	
		III	96.4	91.3	87.3	98.9	93.2	98.5	94.3	4.80	

结果表明，辣椒玉红素平均回收率为 91.5 % ~ 100 %，批内变异系数为 2.28 % ~ 7.09 %，批间变异系数为 4.06 % ~ 6.67 %；

辣椒红素平均回收率为 88.3 % ~ 100.9 %，批内变异系数为

2.13 % ~ 8.00 %，批间变异系数为 2.78 % ~ 7.45 %；满足辣椒玉红素、辣椒红素含量的测定。

2.6.4 方法准确度和精密度

为进一步考察方法准确度和精密度，选用蛋鸡产蛋期配合饲料、蛋鸡配合饲料、蛋鸭配合饲料、蛋鸭产蛋期配合饲料、宠物（犬）配合饲料、宠物（猫）配合饲料、蛋鸡预混合饲料、蛋鸭预混合饲料分别进行加标回收试验，每种试样采用不同的添加浓度，每个添加浓度制备 6 个平行样品，重复 3 个批次，结果见表 21~表 28。

表 21 蛋鸡产蛋期配合饲料添加回收

添加浓度 (mg/kg)	待测组分	批次	回收率 (%)						平均回收率 (%)	批内RSD (%)	批间RSD (%)
100	辣椒玉红素	I	97.3	86.8	98.2	101.9	96.7	98.2	96.5	5.28	5.86
		II	96.3	105.4	99.7	98.2	92.6	102.4	99.1	4.55	
		III	96.1	85.7	97.1	85.7	94.7	90.5	91.6	5.58	
	辣椒红素	I	96.7	96.6	96.2	98.5	95.9	110.2	99.0	5.61	7.33
		II	98.5	92.9	99.3	102.4	99.7	97.4	98.4	3.21	
		III	80.5	88.7	97.3	89.4	82.3	91.5	88.3	6.97	
500	辣椒玉红素	I	85.9	89.4	92.7	95.6	88.9	89.7	90.4	3.71	3.58
		II	95.3	87.2	90.3	91.5	89.2	89.6	90.5	3.02	
		III	84.4	87.5	96.3	88.5	89.2	89.7	89.3	4.40	
	辣椒红素	I	94.3	89.8	93.3	94.4	90.1	84.3	91.0	4.25	5.22
		II	82.7	89.2	93.4	81.9	90.9	94.9	88.8	6.12	
		III	83.3	91.7	88.5	82.6	92.4	95.2	89.0	5.75	
1000	辣椒玉红素	I	87.8	93.2	81.6	92.2	89.8	94.1	89.8	5.15	6.28
		II	90.8	89.7	92.0	78.2	80.5	84.6	86.0	6.70	
		III	94.0	89.4	86.1	80.1	86.0	78.1	85.6	6.85	
	辣椒红素	I	85.5	81.5	84.2	83.8	88.9	91.1	85.8	4.13	4.25
		II	85.2	81.3	92.6	87.3	82.7	88.4	86.3	4.76	
		III	84.9	90.8	83.8	89.2	89.4	92.8	88.5	3.92	

表 22 蛋鸡配合饲料添加回收

添加浓度 (mg/kg)	待测组分	批次	回收率 (%)						平均回收率 (%)	批内RSD (%)	批间RSD (%)
100	辣椒玉红素	I	96.8	97.4	104.6	96.4	98.6	97.2	98.5	3.13	4.12
		II	99.5	92.8	97.4	98.5	105.1	98.8	98.7	4.01	
		III	86.2	97.1	98.4	98.0	96.0	99.6	95.9	5.11	
	辣椒红素	I	98.7	97.3	96.0	108.5	96.8	97.8	99.2	4.69	5.76
		II	99.4	103.7	96.9	98.7	105.5	99.0	100.5	3.30	
		III	85.9	98.3	86.8	93.3	98.4	91.9	92.4	5.84	
500	辣椒玉红素	I	90.3	95.0	94.1	91.7	84.3	92.4	91.3	4.18	4.65
		II	87.7	89.5	88.9	93.1	90.9	89.3	89.9	2.09	
		III	93.9	78.3	85.6	91.8	94.1	92.8	89.4	7.03	

	辣椒红素	I	94.4	87.2	95.8	89.1	94.5	90.0	91.8	3.83	3.17
		II	95.5	88.2	95.8	94.9	90.3	93.6	93.1	3.34	
		III	87.5	90.5	91.7	93.3	94.0	92.3	91.6	2.55	
1000	辣椒玉红素	I	80.3	90.0	81.5	92.3	84.4	86.9	85.9	5.50	4.31
		II	89.6	81.4	91.5	83.9	82.4	87.8	86.1	4.79	
		III	86.3	88.8	83.9	87.7	85.8	91.2	87.3	2.92	
	辣椒红素	I	81.4	83.7	89.4	88.8	80.8	81.9	84.3	4.53	3.94
		II	81.8	80.4	87.3	88.1	85.3	87.7	85.1	3.85	
		III	85.2	84.0	81.7	80.0	89.2	87.6	84.6	4.11	

表 23 蛋鸭配合饲料添加回收

添加浓度 (mg/kg)	待测组分	批次	回收率 (%)						平均回收率 (%)	批内RSD (%)	批间RSD (%)
100	辣椒玉红素	I	97.4	98	99.7	98.6	103.7	98.7	99.4	2.28	4.18
		II	99.8	110.5	96.7	99.6	96.4	96.8	100.0	5.38	
		III	92.4	99.9	96.3	94.5	105.4	97.8	97.7	4.68	
	辣椒红素	I	98.6	103.7	97.3	98.6	98.9	92.9	98.3	3.52	2.78
		II	99.3	98.3	96.3	104.9	98.1	98.1	99.2	3.00	
		III	98.3	97.2	96.3	102.2	99.7	97.8	98.6	2.13	
500	辣椒玉红素	I	89.7	89.8	85.1	96.0	91.3	89.2	90.2	3.91	2.99
		II	92.4	95.6	87.9	89.4	92.7	89.4	91.2	3.12	
		III	93.6	92.8	91.7	88.4	89.9	91.8	91.4	2.09	
	辣椒红素	I	93.5	84.4	92.5	72.9	82.6	95.9	87.0	9.98	6.64
		II	89.8	95.8	94.4	87.0	93.9	94.6	92.6	3.69	
		III	91.1	91.4	83.6	89.9	95.0	92.8	90.6	4.26	
1000	辣椒玉红素	I	90.4	82.9	88.1	89.5	90.8	90.2	88.7	3.35	4.77
		II	90.6	84.7	90.9	89.9	81.7	81.0	86.5	5.28	
		III	80.2	89.5	81.7	88.5	82.6	81.8	84.1	4.67	
	辣椒红素	I	89.1	84.8	84.8	89.3	81.8	83.1	85.5	3.62	3.93
		II	80.7	87.0	88.9	81.4	88.9	87.8	85.8	4.36	
		III	80.6	88.1	85.4	88.1	83.0	80.0	84.2	4.25	

表 24 蛋鸭产蛋期配合饲料添加回收

添加浓度 (mg/kg)	待测组分	批次	回收率 (%)						平均回收率 (%)	批内RSD (%)	批间RSD (%)
100	辣椒玉红素	I	99.5	106.8	98.5	97.2	96.4	101.8	100.0	3.81	4.20
		II	97.5	98.7	96.0	98.9	97.3	103.9	98.7	2.78	
		III	89.2	92.0	95.9	94.5	93.5	97.8	93.8	3.21	
	辣椒红素	I	90.1	96.6	97.2	98.3	96.6	100.7	96.6	3.65	3.06
		II	96.7	97.2	99.3	97.4	102.8	99.9	98.9	2.32	
		III	95.4	92.5	98.8	94.5	100	97.8	96.5	2.95	
500	辣椒玉红素	I	88.9	95.7	87.5	90.3	93.3	95.9	91.9	3.87	3.82
		II	91.4	91.4	95.2	90.4	94.7	90.7	92.3	2.27	
		III	88.7	92.0	85.1	83.1	91.4	90.4	88.5	4.08	
	辣椒红素	I	94.1	90.3	93.0	93.5	87.3	94.5	92.1	3.02	3.71
		II	95.3	91.5	88.1	94.0	88.7	89.5	91.2	3.23	
		III	91.9	91.0	83.3	88.7	92.0	84.8	88.6	4.24	
1000	辣椒玉红素	I	88.5	82.0	89.2	88.3	86.0	81.0	85.8	4.12	4.28
		II	89.0	82.4	90.5	86.9	80.7	85.4	85.8	4.40	
		III	86.7	87.7	82.6	82.4	91.3	92.6	87.2	4.88	
	辣椒红素	I	82.6	88.6	81.6	85.7	85.4	86.3	85.0	3.00	4.42
		II	80.4	90.9	80.0	85.7	83.8	84.0	84.1	4.74	

		III	87.0	89.1	84.0	74.9	86.2	84.3	84.3	5.87	
--	--	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	--

表 25 宠物（犬）配合饲料添加回收

添加浓度 (mg/kg)	待测组分	批次	回收率 (%)					平均回收率 (%)	批内RSD (%)	批间RSD (%)	
100	辣椒玉红素	I	97.5	95.9	107.9	98.1	98.7	96.1	99.0	4.52	4.06
		II	96.9	104.8	99.3	96.1	95.2	97.4	98.3	3.54	
		III	98.5	96.6	88.3	99.7	97.1	98.7	96.5	4.32	
	辣椒红素	I	99.2	101.7	97.0	98.3	107.5	97.4	100.2	3.95	5.01
		II	97.8	98.1	91.7	98.1	97.9	92.0	95.9	3.30	
		III	86.8	98.2	92.8	87.9	96.6	96.9	93.2	5.24	
500	辣椒玉红素	I	90.1	92.5	84.4	96.9	88.0	91.2	90.5	4.66	3.94
		II	88.7	93.6	88.1	90.9	88.4	82.8	88.8	4.03	
		III	94.4	88.9	92.5	94.1	90.2	93.6	92.3	2.44	
	辣椒红素	I	94.4	93.5	80.9	95.7	82.5	91.1	89.7	7.12	5.96
		II	90.5	91.7	89.7	94.8	88.3	93.7	91.5	2.69	
		III	82.3	90.3	82.1	85.2	81.8	82.3	84.0	3.96	
1000	辣椒玉红素	I	88.7	86.4	72.9	86.7	87.5	82.3	84.1	7.00	5.04
		II	88.2	81.0	91.0	87.1	80.1	85.6	85.5	4.95	
		III	83.5	80.7	85.5	81.8	88.0	83.2	83.8	3.14	
	辣椒红素	I	81.9	87.1	89.7	87.1	79.9	88.7	85.7	4.58	4.18
		II	89.6	87.6	82.7	80.1	81.5	80.0	83.6	4.86	
		III	87.1	88.7	87.0	81.4	84.9	82.8	85.3	3.29	

表 26 宠物（猫）配合饲料添加回收

添加浓度 (mg/kg)	待测组分	批次	回收率 (%)					平均回收率 (%)	批内RSD (%)	批间RSD (%)	
100	辣椒玉红素	I	97.8	96.3	96.7	97.1	95.7	108.7	98.7	5.01	5.69
		II	96.8	90.6	92.4	91.1	94.7	97.3	93.8	3.07	
		III	89.7	81.4	94.3	98.1	99.5	94.3	92.9	7.09	
	辣椒红素	I	96.7	114.1	99.4	100.4	99.6	95.3	100.9	6.68	5.87
		II	97.2	92.5	98.7	90.8	89.7	87.5	92.7	4.72	
		III	92.6	98.3	97.9	97.0	95.9	98.3	96.7	2.27	
500	辣椒玉红素	I	92.4	95.0	93.4	93.5	88.3	87.9	91.8	3.21	2.93
		II	95.4	92.3	90.0	88.7	93.4	88.0	91.3	3.16	
		III	93.2	89.8	87.2	88.0	92.8	91.1	90.4	2.73	
	辣椒红素	I	87.6	91.3	95.0	92.1	95.9	89.6	91.9	3.43	4.15
		II	98.1	89.5	92.2	95.3	95.3	91.7	93.7	3.32	
		III	96.1	92.8	84.3	92.3	88.4	85.5	89.9	5.11	
1000	辣椒玉红素	I	90.6	85.6	85.0	90.2	83.6	90.5	87.6	3.64	4.20
		II	91.9	84.3	87.2	87.0	82.9	85.2	86.4	3.64	
		III	89.6	92.0	80.6	82.2	91.8	85.1	86.9	5.69	
	辣椒红素	I	86.6	80.1	88.3	86.0	86.2	81.1	84.7	3.90	4.39
		II	80.8	91.1	80.1	89.8	86.3	80.4	84.8	5.88	
		III	83.8	85.5	78.2	85.2	87.7	83.0	83.9	3.84	

表 27 蛋鸡预混合饲料饲料添加回收

添加浓度 (mg/kg)	待测组分	批次	回收率 (%)						平均回收率 (%)	批内RSD (%)	批间RSD (%)
100	辣椒玉红素	I	97.1	99.8	106.4	97.6	98	96.9	99.3	3.65	5.66
		II	92.6	91.1	98.1	104.8	93.8	102.3	97.1	5.72	
		III	81.6	97.8	96.9	98.0	92.9	95.2	93.7	6.66	
	辣椒红素	I	98.2	102	90.7	98.2	98.0	114.9	100.3	8.00	7.45
		II	96.4	106.6	98.4	93.5	92.6	97.1	97.4	5.13	
		III	85.1	89.9	97.1	93.6	97.4	84.2	91.2	6.33	
500	辣椒玉红素	I	92.4	91.8	93.5	90.1	97.8	96.4	93.7	3.11	7.78
		II	88.5	82.3	81.5	90.9	91.6	93.6	88.1	5.74	
		III	81.1	81.9	71.3	83.9	92.4	82.3	82.2	8.20	
	辣椒红素	I	95.9	87.5	92.8	83.2	82.3	83.3	87.5	6.50	4.80
		II	94.6	91.6	87.9	88.2	90.1	92.4	90.8	2.84	
		III	92.2	94.6	85.3	92.4	95.1	89	91.4	4.05	
1000	辣椒玉红素	I	80.2	81.3	91.3	90.3	89.8	92.3	87.5	6.10	4.58
		II	86.3	85.9	81.4	89.9	84.2	83.3	85.2	3.44	
		III	87.5	83.5	82.3	89.9	91.2	88.6	87.2	4.07	
	辣椒红素	I	87.1	80.9	86.0	86.6	85.4	80.9	84.5	3.35	3.15
		II	82.8	83.9	84.2	88.4	82.2	86.6	84.7	2.80	
		III	83.2	85.9	83.5	88.9	89.9	82.6	85.7	3.64	

表 28 蛋鸭预混合饲料添加回收

添加浓度 (mg/kg)	待测组分	批次	回收率 (%)						平均回收率 (%)	批内RSD (%)	批间RSD (%)
100	辣椒玉红素	I	96.4	88.2	109.1	97.3	98.1	98.1	97.9	6.81	6.67
		II	96.7	98.9	97.1	107.2	97.3	96.0	98.9	4.24	
		III	85.3	96.5	82.4	96.6	96.6	91.8	91.5	6.88	
	辣椒红素	I	94.9	98.3	106.2	97.7	98.5	97.6	98.9	3.86	5.27
		II	103.4	97.7	88.2	98.7	96.1	87.7	95.3	6.50	
		III	96.4	91.3	87.3	98.9	93.2	98.5	94.3	4.80	
500	辣椒玉红素	I	89.9	87.4	87.8	93.6	88.8	94.8	90.4	3.43	3.46
		II	94.6	94.1	87.9	88.5	93.1	90.5	91.5	3.16	
		III	95.1	95.5	90.5	87.2	87.7	94.7	91.8	4.15	
	辣椒红素	I	89.1	87.9	87.1	87.2	88.3	94.2	89.0	3.00	4.12
		II	87.6	93.7	95.5	93.1	82.6	91.4	90.7	5.26	
		III	91.7	95.5	90.8	96.0	88.5	94.5	92.8	3.20	
1000	辣椒玉红素	I	84.7	82.1	87.7	92.3	88.4	91.8	87.8	4.52	4.43
		II	91.6	83.4	84.9	87.0	91.5	92.1	88.4	4.31	
		III	84.9	83.4	81.2	88.4	90.5	82.5	85.2	4.23	
	辣椒红素	I	89.7	82.0	80.0	81.3	82.7	83.7	83.2	4.09	4.11
		II	84.1	83.1	89.9	82.5	89.0	81.6	85.0	4.15	
		III	88.9	80.9	87.2	88.7	89.1	84.1	86.5	3.83	

结果表明：辣椒玉红素平均回收率为 82.2 % ~ 100.0 %，批内变异系数为 2.09 % ~ 8.20 %，批间变异系数为 2.93 % ~ 7.78 %；辣椒红素平均回收率为 81.6 % ~ 100.9 %，批内变异系数为 2.13 % ~

9.98%，批间变异系数为 2.78 % ~ 7.45%；本方法准确度和精密度良好。不同空白基质加标试验色谱图详见图 6~图 21。

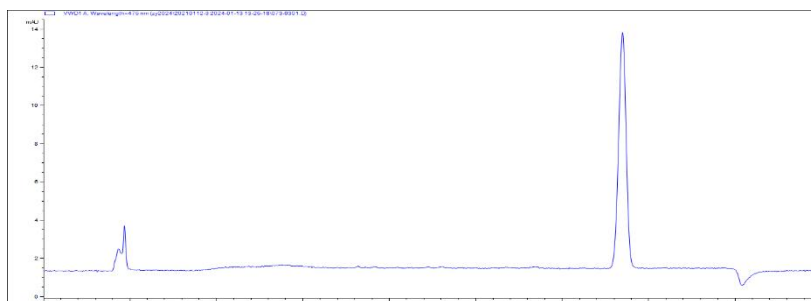


图 6 产蛋鸭预混合饲料空白

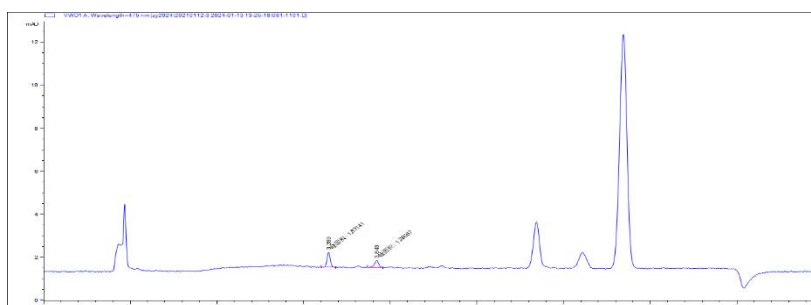


图 7 产蛋鸭预混合饲料加标回收

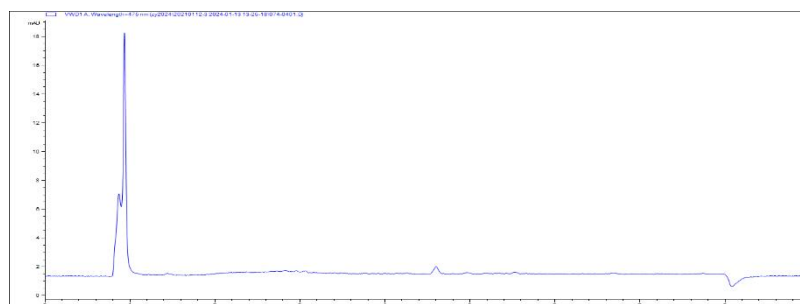


图 8 产蛋鸡预混合饲料空白

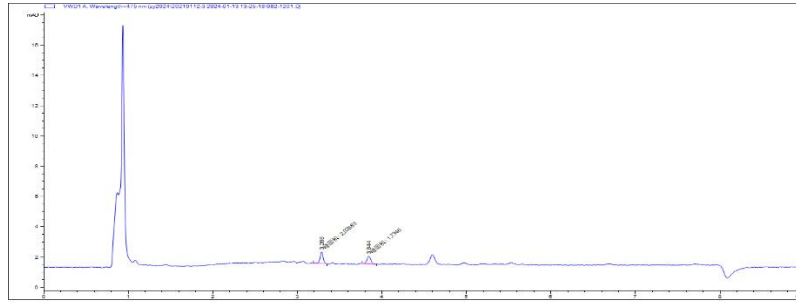


图 9 产蛋鸡预混合饲料加标回收

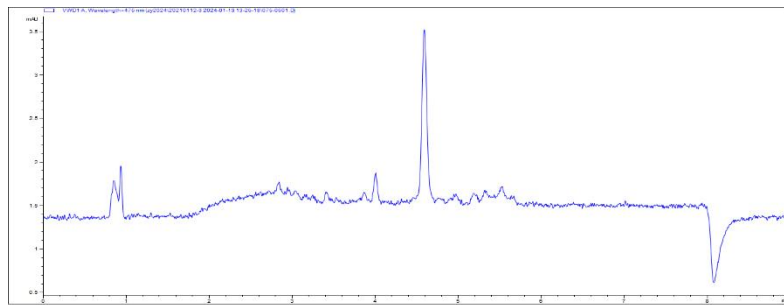


图 10 蛋鸭配合饲料空白

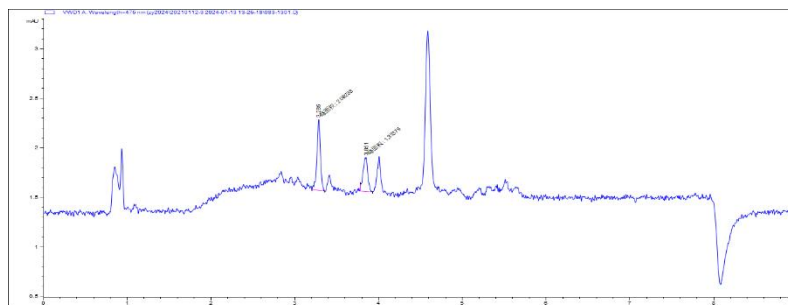


图 11 蛋鸭配合饲料加标回收

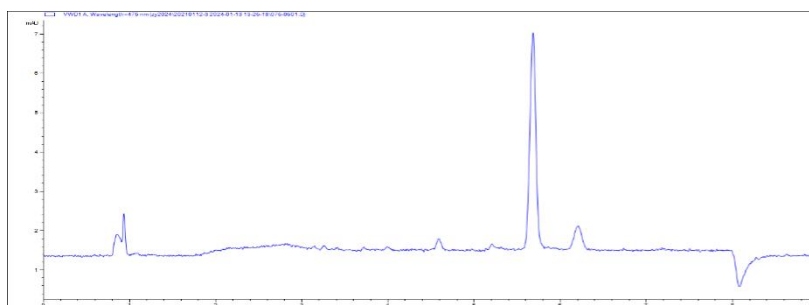


图 12 产蛋鸭配合饲料空白

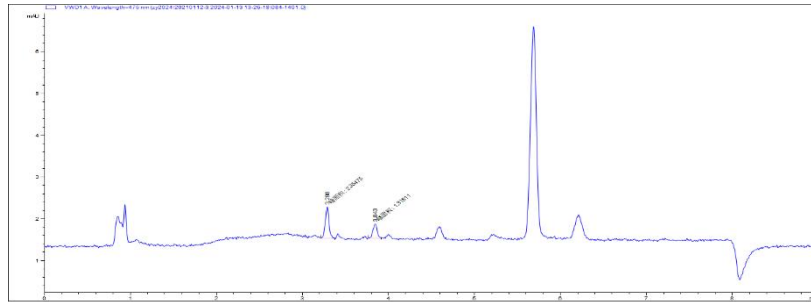


图 13 产蛋鸭配合饲料加标回收

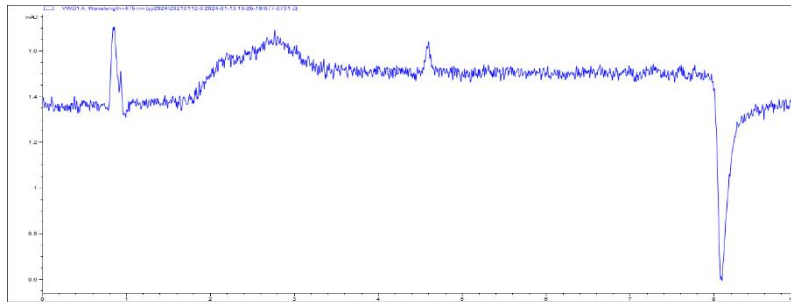


图 14 蛋鸡产蛋期配合饲料空白

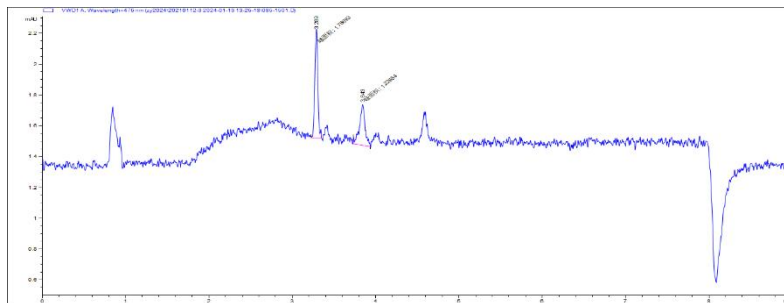


图 15 蛋鸡产蛋期配合饲料加标回收

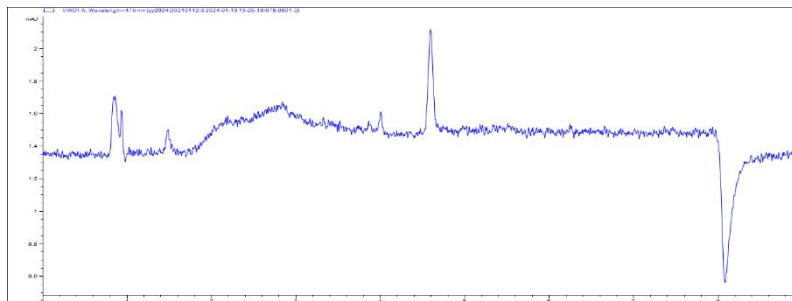


图 16 蛋鸡产蛋期配合饲料 2 号空白

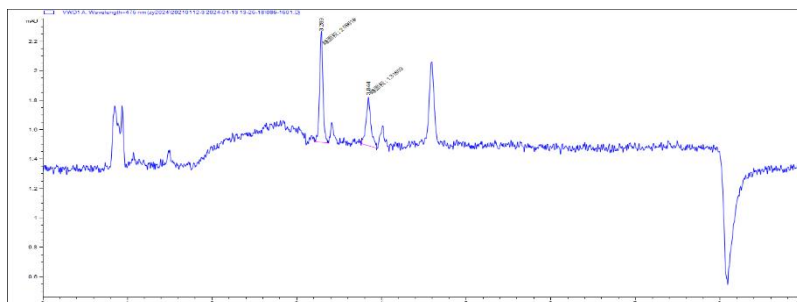


图 17 蛋鸡产蛋期配合饲料 2 号加标回收

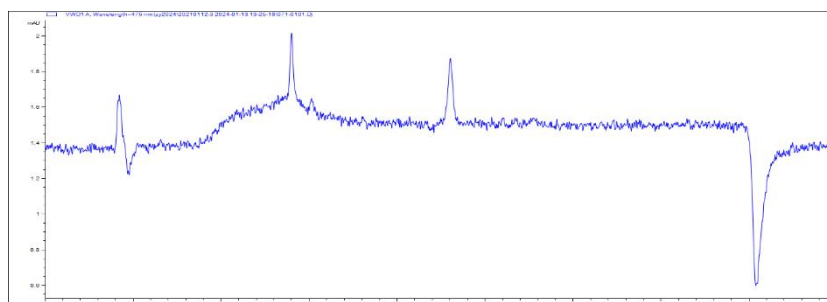


图 18 宠物（犬）配合饲料空白

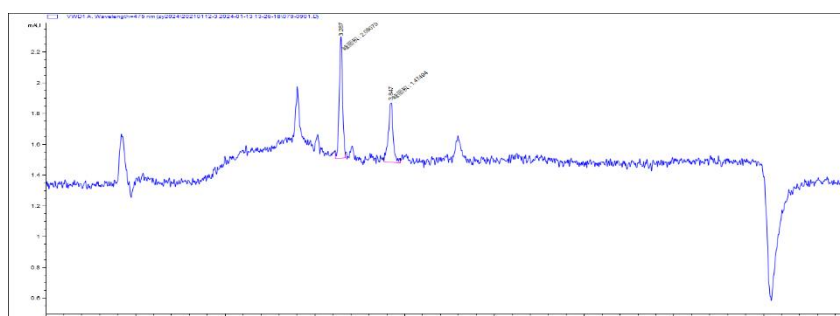


图 19 宠物（犬）配合饲料加标回收

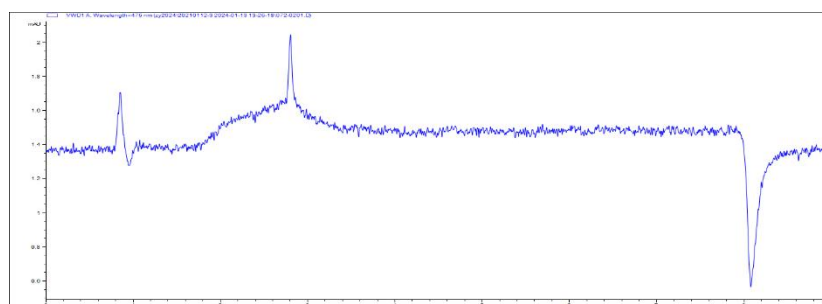


图 20 宠物（猫）配合饲料空白

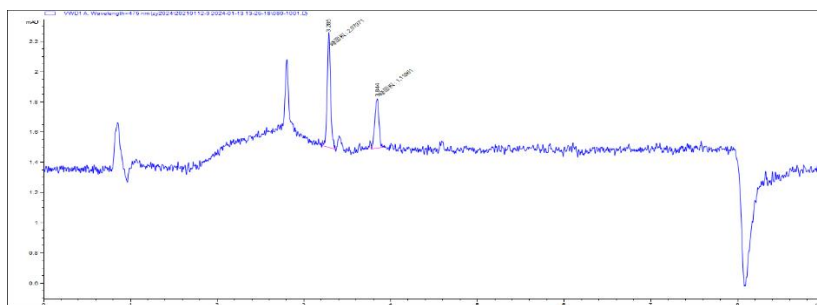


图 21 宠物（猫）配合饲料加标回收

2.7 干扰试验

在上述色谱条件下，考察其他类胡萝卜素对分析辣椒红素和辣椒玉红素的干扰情况。选择一种市售的饲料添加剂类胡萝卜素产品进行干扰试验。其中，辣椒红素的标识含量为 ≥ 5 g/kg。在上述液相色谱条件下，其他类胡萝卜素的出峰时间均对辣椒红素和辣椒玉红素的响应无干扰，见图 22，且测得的辣椒红素的含量为 5.86 g/kg，与产品标识数值一致。

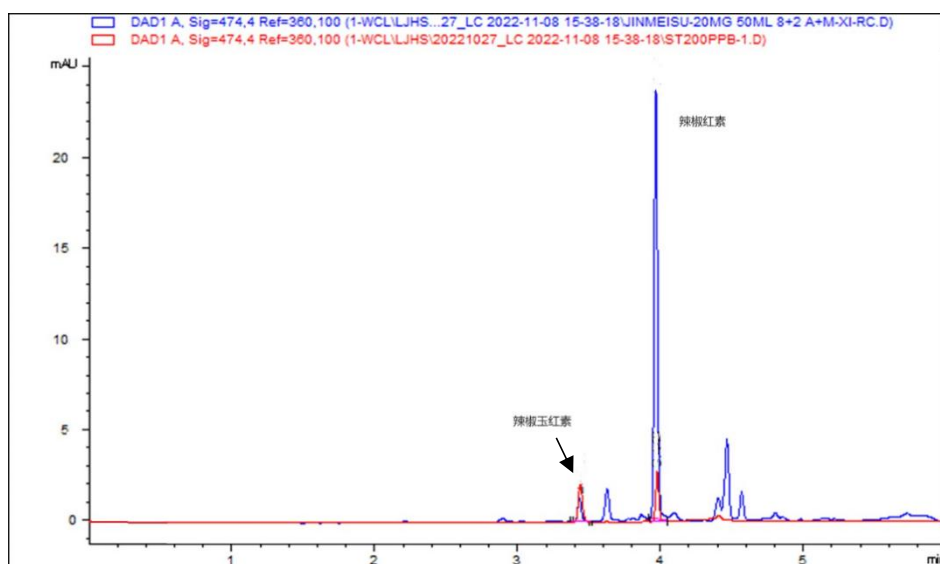


图 22 干扰试验液相色谱图

2.8 方法适用性考察

试验收集蛋鸭配合饲料、蛋鸡配合饲料、肉鸡配合饲料、肉鸭配合饲料、猪配合饲料、鸡浓缩饲料、鸭浓缩饲料、鸡复合预混合

饲料、鸭复合预混合饲料、猫粮、犬粮、鱼配合饲料等 12 种饲料产品，按上述确定的样品提取方法条件和色谱条件测定试样中辣椒红素、辣椒玉红素含量，结果均未检出。

2.9 精密度

饲料样品种类繁多，添加的各种化学物质范围广，本实验部分仅对常见的饲料产品进行了验证，不同基质样品类型的检测可能会出现不同程度的偏差。依据本试验测定的回收率、精密度，并参照国内外相关液相色谱法检测标准，最终将本方法精密度规定如下：

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超过该算术平均值的 10%。

三、试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效果

四、与国内、国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况

国内标准有：GB 1886.105-2016《食品安全国家标准 食品添加剂 辣椒橙》、GB 10783-2008《食品添加剂 辣椒红》。

五、采标情况，以及是否合规引用或采用国际国外标准

本标准未合规引用或采用国际国外标准合规引用。

六、与有关法律、法规的关系

本标准的制定过程中严格贯彻国家有关方针、政策、法律和规

章等、严格执行国家强制性标准和行业标准。与相关的各种基础标准相衔接，遵循了政策性和协调同一性的原则。本标准与现行法律、法规、规章和政策以及有关基础和强制性标准不矛盾。

七、重大分歧意见的处理经过和依据

无重大分歧意见。

八、涉及专利的有关说明

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。

九、贯彻标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和 implementation 日期的建议等措施建议

建议按照推荐性国家标准管理办法设置自发布日期至实施日期的过渡期，并在过渡期间，评估是否需要购进或改进技术装备、检测手段等，以配合产品的相关检测。

十、其他应当说明的事项

无。

参考文献

- [1] 张卫明,赵伯涛,张广伦.辣椒红色素的研究与应用[J].中国野生植物资源,2013,32(06):55-58+65.
- [2] 李晓双.辣椒红色素的改性及在饲料中的应用研究[J].饲料研究,2001,(04):20-22.
- [3] 杨秋霞,陈辉,黄仁录等.辣椒红色素对蛋鸡生产性能及蛋品质的影响[J].畜牧与兽医,2011,43(08):48-51.
- [4] 邢泽农,苏娟,东莎莎等.辣椒红色素的提取与应用[J].中国果菜,2021,41(03):26-29.
- [5] 王硕.辣椒中辣椒红色素提取工艺研究[J].中国调味品,2022,47(04):203-206.
- [6] 田瑞玲,陈素芳,王雪松,等.一种高吸光比辣椒红素和高含量辣椒玉红素的制备方法:202010841357[P].
- [7] 张超,马静静,刘青等.天然食用色素-辣椒红色素的制备及其应用方式[J].中国食品添加剂,2022,33(07):225-231.
- [8] 岳盈肖,齐立军,黄利勇等.辣椒红色素稳定性与应用研究进展[J].中国食品添加剂,2022,33(10):279-283.
- [9] 魏雅雯,靳玲侠.辣椒红色素的提取方法及应用的研究进展[J].中国调味品,2017,42(08):142-147.
- [10] Suzuki K , Mori M .Carotenoid Composition of New Cultivar of Capsicum annuum during Maturation and its High Capsanthin Content[J].Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 2003, 50(7):324-326.
- [11] József Deli,Zoltán Matus,Péter Molnár,et al.Separation and identification of carotenoids from different coloured paprika (Capsicum annuum) by reversed-phase high-performance liquid chromatography[J].European Food Research & Technology, 2001, 213(4-5):301-305.
- [12] 张志强,江英,田丽萍.辣椒红色素的稳定性及在食品中的应用研究[J].中国调味品,2006-04-007.
- [13] 吴燕.辣椒红色素和陈皮粉对产蛋后期粉壳蛋鸡生产性能及鸡蛋品质的影响[D].河北工程大学,2018.
- [14] Duarte C,Moldo-Martins M,Gouveia A F,et al.Supercritical fluid extraction of red pepper (Capsicum frutescens L.)[J].Journal of Supercritical Fluids, 2004, 30(2):155-161.
- [15] 徐坤,谷绒,马嫫.溶剂法提取辣椒红素工艺研究[J].食品研究与开发,2008,29(2):92-94.
- [16] 李甜甜,林意雯,王飞.提取工艺对辣椒红素色价及得率的影响[J].食品研究与开发,2021,42(23):86-93.
- [17] Hayashi T , Hayashi K , Fujita J ,et al.AN HPLC METHOD FOR THE ANALYSIS OF PAPRIKA COLOR IN FOOD USING CAPSANTHIN AS AN INDICATOR[J].Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2001, 24(15):2347-2361.
- [18] Schwack D E B .Determination of free and bound carotenoids in paprika (Capsicum annuum L.) by LC/MS[J].European Food Research&Technology, 2000.
- [19] 杨雁,杨清山,卢颖,et al.近红外光谱法快速检测辣椒红中色素含量的应用研究[J].中国食品添加剂,2023,34(5):310-314.
- [20] Weissenberg M , Schaeffler I , Menagem E ,et al.Isocratic non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of capsanthin and capsorubin in red peppers (Capsicum annuum L.), paprika and oleoresin[J].Journal of Chromatography A, 1997, 757(1-2):89-95.
- [21] 王娇娇.辣椒红色素和辣椒碱的提取,测定及其功能性研究[D].山西大学.
- [22] Tibor Cserháti,Esther Forgács.Liquid chromatographic separation of terpenoid pigments in foods and food products[J].Journal of Chromatography A, 2001, 936(1-2):119-137.
- [23] Tibor Cserháti,Esther Forgács, Darwish Y ,et al.Effect of reduced glutathione on the stability of pigments in paprika powders studied by multiwavelength spectrometry and high-

- performance liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 949(1-2):269-273.
- [24] Jordi, Oliver, Andreu, et al. Semi-quantification of carotenoids by high-performance liquid chromatography: saponification-induced losses in fatty food[J]. Journal of Chromatography A, 1998, 829(1-2):393-399.
- [25] 王丽霞, 庞杰. 辣椒红色素的检测方法[J]. 辣椒杂志, 2003(1X):2.
- [26] 管亮. 辣椒红色素检测方法研究通过鉴定[J]. 农产品加工(上), 2009.
- [27] 江英, 武占省, 田丽萍. 辣椒红色素提取与检测方法的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2005(3):27-29.
- [28] 张利, 徐东华, 卜丽涛. 辣椒红色素的检测方法[J]. 品牌与标准化, 2010, (04):58.
- [29] 张嘉园, 辛鑫, 邢泽农等. 辣椒红素相关研究进展[J]. 现代农业科技, 2019, (12):209-210.
- [30] 韩晓岚, 胡云峰, 赵学志等. 辣椒中辣椒红素稳定性的研究[J]. 中国食物与营养, 2010, (09):27-29.
- [31] 孙福璋, 纪建国, 于涌泉等. 从辣椒红素的混合物中分离出 β -胡萝卜素、辣椒玉红素、辣椒红素的研究[J]. 中国生化药物杂志, 1993, (03):53-57.
- [32] 黄延春, 李云霞. 红辣椒中类胡萝卜素的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(04):562-565+571.
- [33] 雷建军, 朱张生, 陈长明等. 辣椒红色素及其生物合成的分子机理研究进展[J]. 园艺学报, 2023, 50(03):669-684.
- [34] 张志强, 江英, 武占省, 等. 高效液相色谱法(HPLC)快速检测辣椒中的辣椒红素[J]. 食品科技, 2006, 31(1):4.
- [35] 张志强, 江英, 田丽萍. 高效液相色谱-二极管阵列检测法测定食品中的辣椒红色素[C]//中国化学会第二十五届学术年会. 0[2024-01-14].
- [36] 贾洪锋, 彭德川, 梁爱华, 等. 高效液相色谱法测定豆瓣中辣椒素类物质含量[J]. 中国调味品, 2012, 37(2):104-108.
- [37] 王燕, 夏延斌, 熊科等. 高效液相色谱法-紫外检测器测定辣椒制品中辣椒素的含量[J]. 食品科学, 2006, (09):193-196.
- [38] 韩玉珠, 石磊岭, 金莎等. 反相高效液相色谱法测定辣椒中4种辣椒碱类成分的含量[J]. 食品科学, 2012, 33(16):257-260.
- [39] 孙胜枚. 高效液相色谱法测定辣椒制品中的辣椒素类物质[J]. 中国酿造, 2016, 35(3):4.
- [40] 罗金凤, 章道明, 任美燕, 等. 对国标中高效液相色谱法检测辣椒素类物质含量的改进[C]//2011年中国农业工程学会农产品加工及贮藏工程分会学术年会暨全国食品科学与工程博士生学术论坛、管产学研助推食品安全重庆高峰论坛. 2011.
- [41] 任召言, 张慧, 刘玉申. 辣椒精的精制及辣椒素的HPLC测定[J]. 中国食品添加剂, 2002, (01):75-76+86.
- [42] 张志强. 辣椒红色素的HPLC检测方法及其稳定性的研究[D]. 石河子大学, 2007.
- [43] 廖妍俨, 龙四红, 寻思颖, 等. 液相色谱-荧光检测法测定辣椒制品中的辣椒素和二氢辣椒素[J]. 中国调味品, 2016, 41(9):3.