



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 45208—2025

## 饲料中辣椒红的测定 高效液相色谱法

Determination of paprika red in feeds—  
High performance liquid chromatography

2025-01-24 发布

2025-08-01 实施

国家市场监督管理总局  
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、广州智特奇生物科技股份有限公司、山东省饲料兽药质量检验中心、晨光生物科技集团股份有限公司。

本文件主要起草人：张芸、张凤枰、孙延军、宫玲玲、唐华英、张玮、王英英、李俊玲、陈冰、唐姣、张坤、李会荣、宋伟光、吴金玉。



## 饲料中辣椒红的测定 高效液相色谱法

警示——使用本文件的人员应有正规实验室工作的实践经验。本文件并未指出所有可能的安全问题,使用者有责任采取适当的安全和健康措施,并保证符合国家有关规定的条件。

### 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、浓缩饲料和维生素预混合饲料中辣椒红(以辣椒红素和辣椒玉红素之和计)的测定。

本文件中辣椒红素和辣椒玉红素的检出限均为 0.05 mg/kg,定量限均为 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

试样中辣椒红素和辣椒玉红素经乙腈提取,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 磷酸溶液(0.3%,体积分数):移取 1.5 mL 磷酸,用水稀释至 500 mL,混匀。

5.4 辣椒红素和辣椒玉红素标准储备溶液(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ):称取辣椒红素(CAS号:465-42-9,纯度 $\geq 95\%$ )和辣椒玉红素(CAS号:470-38-2,纯度 $\geq 95\%$ )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(5.2)溶解、定容,混匀。2  $^{\circ}\text{C}$ ~8  $^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期 1 个月。

5.5 混合标准中间溶液(10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ):分别准确移取 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(5.2)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,用乙腈(5.2)稀释、定容,混匀,配制成质量浓度分别为 0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和

5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混合标准系列溶液。临用现配。

5.7 微孔滤膜:0.45  $\mu\text{m}$ ,有机系。

## 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 1 mg 和 0.01 mg。

6.3 涡旋混合器。

6.4 离心机:转速不低于 5 000 r/min。

## 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 试验筛,混合均匀,装入密闭容器中,避光保存,备用。

## 8 试验步骤

### 8.1 提取

平行做两份试验。称取 5 g(精确至 1 mg)试样于 50 mL 离心管中,准确加入 25 mL 乙腈(5.2),涡旋振荡 10 min(如黏稠,可加搅拌子进行均质),于 5 000 r/min 离心 5 min。取适量上清液,过微孔滤膜(5.7),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: $\text{C}_8$ 柱,柱长 100 mm,内径 3.0 mm,粒径 2.7  $\mu\text{m}$ ,或性能相当者。
- b) 柱温:35  $^{\circ}\text{C}$ 。
- c) 流速:0.5 mL/min。
- d) 检测波长:475 nm。
- e) 进样体积:5  $\mu\text{L}$ 。
- f) 流动相:A 相为乙腈(5.2),B 相为 0.3%磷酸溶液(5.3),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
12.00	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,分别取混合标准系列溶液(5.6)和试样提取溶液(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(质量浓度相当)中辣椒红素和辣椒玉红素的保留时间一致,其相对偏差在±2.5%之内。

#### 8.3.3 定量

以辣椒红素和辣椒玉红素的质量浓度为横坐标、色谱峰面积为纵坐标,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质量浓度应在标准曲线的线性范围内。如超出范围,应将试样溶液用乙腈(5.2)稀释后重新测定。单点校准定量时,试样溶液中待测物的质量浓度与标准溶液质量浓度相差不超过 30%。

## 9 试验数据处理

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

$$w_i = \frac{\rho_i \times V \times f \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$\rho_i$  ——从标准曲线查得的试样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( $\mu\text{g/mL}$ );

$V$  ——试样提取溶液体积,单位为毫升(mL);

$f$  ——试样溶液稀释倍数;

1 000 ——换算系数;

$m$  ——试样质量,单位为克(g)。

$$w_i = \frac{A_i \times \rho_{si} \times V \times f \times 1\,000}{A_{si} \times m \times 1\,000} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

$A_i$  ——试样溶液中辣椒红素或辣椒玉红素色谱峰面积;

$\rho_{si}$  ——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);

$f$  ——试样溶液稀释倍数;

1 000 ——换算系数;

$A_{si}$  ——标准溶液中辣椒红素或辣椒玉红素色谱峰面积;

$m$  ——试样质量,单位为克(g)。

试样中辣椒红的含量 $w$ 以质量分数计,数值以毫克每千克(mg/kg)表示,按式(3)计算。

$$w = w_1 + w_2 \dots\dots\dots (3)$$

式中:

$w_1$  ——辣椒红素含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

$w_2$ ——辣椒玉红素含量,单位为毫克每千克(mg/kg)。

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%。

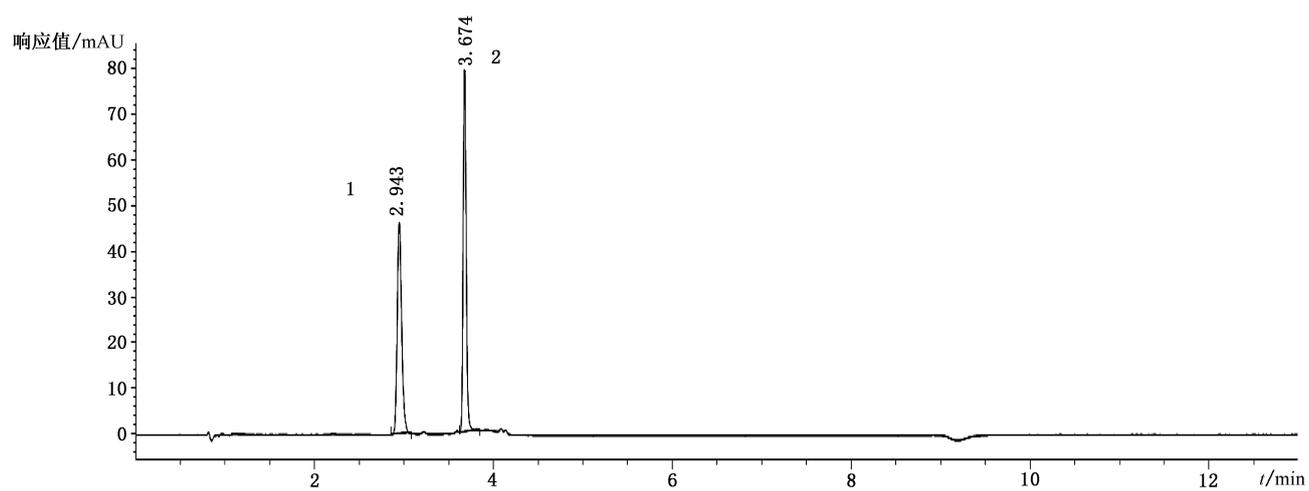


## 附录 A

(资料性)

## 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。



标准序号说明：

1——辣椒玉红素；

2——辣椒红素。

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