

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1381—2007

辣椒素的测定 高效液相色谱法

Determination of Capsaicin by High Performance Liquid Chromatography

2007-06-14 发布

2007-09-01 实施



中华人民共和国农业部 发布

辣椒素的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了辣椒素的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于辣椒及其为原料生产食品中的辣椒素、二氢辣椒素含量的测定。

本方法的检出限辣椒素为 0.13 mg/kg, 二氢辣椒素为 0.04 mg/kg。

本方法的线性范围辣椒素为 0.10 mg/L~160 mg/L, 二氢辣椒素为 0.04 mg/L~160 mg/L。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试样经甲醇-四氢呋喃溶液提取,过微孔滤膜,进样,用反相色谱分离,荧光检测器检测,外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有规定,仅使用色谱纯试剂,实验用水应符合 GB/T 6682 一级水的要求。

4.1 甲醇(CH₃OH)。

4.2 四氢呋喃(C₄H₈O)。

4.3 甲醇-四氢呋喃溶液(1+1):取 200 mL 甲醇和 200 mL 四氢呋喃混合均匀备用。

4.4 无水硫酸钠(Na₂SO₄),分析纯,用前 400℃ 烘干 30 min,磨碎。

4.5 辣椒素标准品,纯度大于 95%。

4.6 二氢辣椒素标准品,纯度大于 90%。

4.7 辣椒素标准储备液:称取 0.010 0 g 辣椒素标准品,用甲醇溶解,定容至 50 mL,辣椒素质量浓度为 200 mg/L。

4.8 二氢辣椒素标准储备液:称取 0.010 0 g 二氢辣椒素标准品,用甲醇溶解,定容至 50 mL,二氢辣椒素质量浓度为 200 mg/L。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪:带荧光检测器。

5.2 天平:感量 ±0.000 1 g、±0.01 g。

5.3 超声波提取器。

5.4 组织捣碎机。

5.5 电动磨碎机。

5.6 恒温水浴锅。

5.7 滤膜:0.45 μm,有机相。

6 分析步骤

6.1 提取

6.1.1 辣椒粉、干辣椒及固态辣椒制品

将样品用电动磨碎机磨碎,称取 0.2 g 精确到 0.000 1 g,于 100 mL 具塞锥形瓶中,加入 25 mL 甲醇-四氢呋喃溶液,在 60℃ 水浴条件下,用超声波提取器提取 30 min,过滤,收集滤液。将滤渣连同滤纸重新用 25 mL 甲醇-四氢呋喃溶液经超声波提取器提取 10 min 后,再重复一次。将三次过滤收集的滤液合并,在 70℃~75℃ 恒温水浴下浓缩至 30 mL 左右,转移至 50 mL 容量瓶,用甲醇-四氢呋喃溶液定容。经 0.45 μm 有机相滤膜过滤后进行色谱分析。根据试样中的辣椒素含量,必要时进行稀释,使试样中辣椒素含量在 0.13 mg/L~160 mg/L 之间,二氢辣椒素含量在 0.04 mg/L~160 mg/L 范围内。

6.1.2 鲜辣椒、辣椒酱及含水量较高的辣椒制品

将样品用组织捣碎机捣碎,称取 10.00 g 样品于 100 mL 具塞锥形瓶中,加入 3.0 g 无水硫酸钠,25 mL 甲醇-四氢呋喃溶液,震摇,用超声波提取器提取 30 min,过滤,收集滤液。以后同 6.1.1“将滤渣连同滤纸重新…”操作。

6.1.3 辣椒油等油状制品

将样品用组织捣碎机均质,称取 2.00 g 样品于 100 mL 具塞锥形瓶中,加入 25 mL 甲醇-四氢呋喃溶液,用超声波提取器提取 30 min,过滤,收集滤液。以后同 6.1.1“将滤渣连同滤纸重新…”操作。

6.2 色谱参考条件

色谱柱:C₁₈150 mm×4.6 mm,粒径 5 μm。

流动相:甲醇+水=80+20,用前过 0.45 μm 滤膜,脱气。

流速:0.6 mL/min。

荧光检测器:激发波长 229 nm,发射波长 320 nm。

进样量:10 μL。

6.3 标准曲线的绘制

将辣椒素、二氢辣椒素标准储备液分别用甲醇稀释成质量浓度为 0.2 mg/L、1 mg/L、10 mg/L、20 mg/L、40 mg/L、80 mg/L 和 160 mg/L 系列标准工作溶液,按 6.2 色谱条件测定。以辣椒素、二氢辣椒素质量浓度为纵坐标,相应的峰面积积分为横坐标,计算标准曲线或求线性回归方程。

6.4 试液的测定

将制备好的试液在 6.2 色谱条件下测定,做单点或多点校准,以峰面积积分值定量。

7 结果计算与表述

试样中辣椒素、二氢辣椒素含量以质量分数 w 计,单位以毫克每千克(mg/kg)表示,按公式(1)计算:

$$w = \frac{A \times \rho_s \times V}{A_s \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

A ——试样中辣椒素、二氢辣椒素的峰面积积分值;

A_S ——标准工作溶液中辣椒素、二氢辣椒素的峰面积积分值;

ρ_S ——标准工作溶液中辣椒素、二氢辣椒素的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——试样最终定容体积,单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g);

计算结果保留三位有效数字。

8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于这两个测定值的算术平均值的 10%，以大于这两个测定值的算术平均值的 10% 情况不超过 5% 为前提。

9 图谱

辣椒素、二氢辣椒素标准溶液色谱图见图 1。

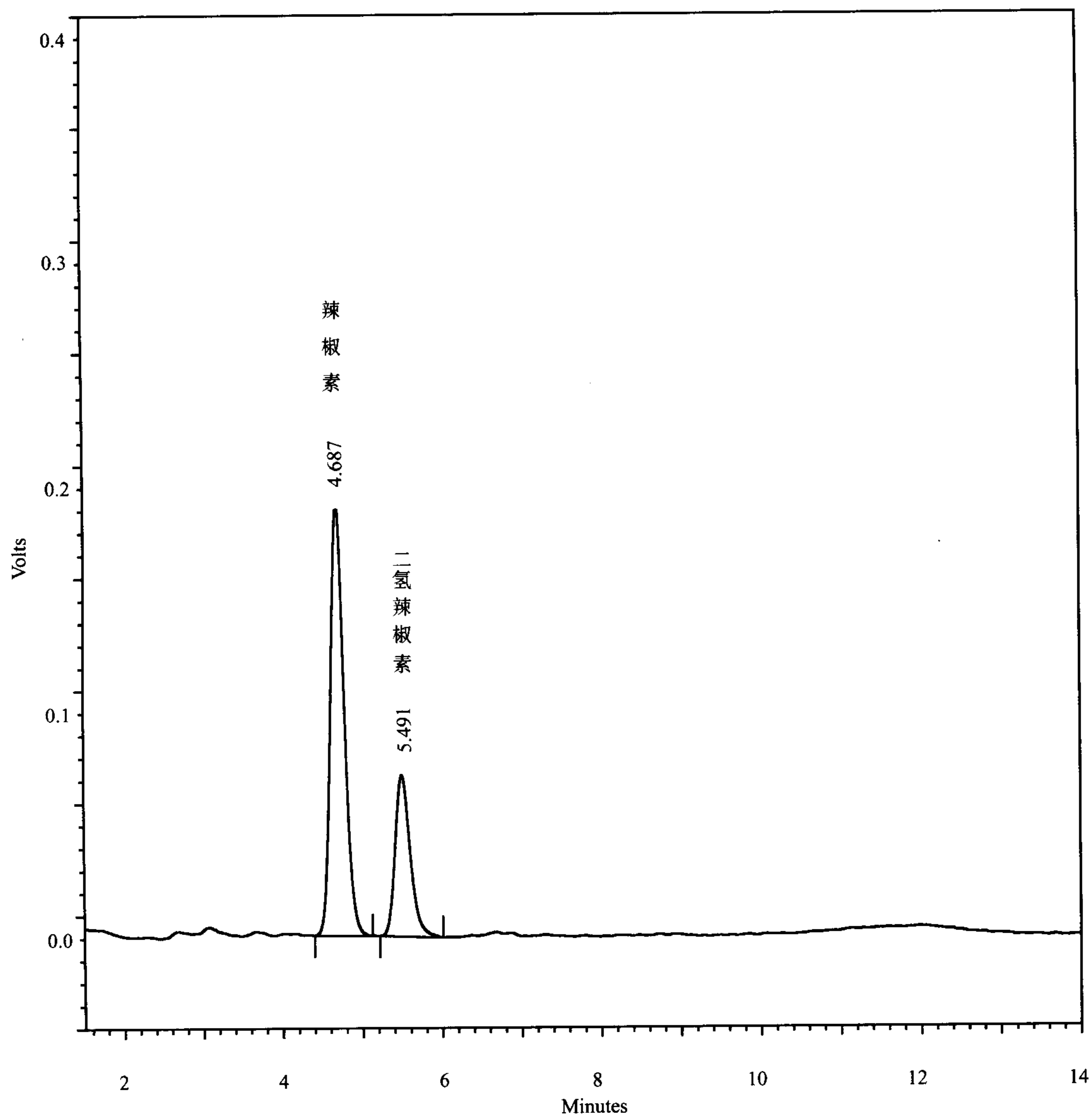


图 1 辣椒素(1.6 mg/L)、二氢辣椒素(0.8 mg/L)标准溶液色谱图