

## 中华人民共和国供销合作行业标准

GH/T 1293—2020

---

### 玫瑰茄红色素含量的测定 高效液相色谱法

Determination of Roselle red pigment content—High-performance liquid chromatography

行业标准信息服务平台

2020-06-04 发布

2020-09-01 实施

---

中华全国供销合作总社 发布

## 前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准由中华全国供销合作总社提出。

本标准由全国辛香料标准化技术委员会（SAC/TC 408）归口。

本标准起草单位：中华全国供销合作总社南京野生植物综合利用研究院、江苏省理化测试中心、江苏佳信检测技术有限公司、南京市高淳区综合检验检测中心、安徽华测检测技术有限公司、谱尼测试集团江苏有限公司。

本标准主要起草人：高宏、黄晓德、赵伯涛、付琳、罗亮、单春生、钱骅、金枝、陈仕荣、张卫明、张锋伦、陈斌、施祖灏、殷辉莉、金泽、郭芳芳。

行业标准信息服务平台

# 玫瑰茄红色素含量的测定 高效液相色谱法

## 1 范围

本标准规定了玫瑰茄红色素中主要着色物质总含量的高效液相色谱测定方法。  
本标准适用于玫瑰茄花萼及玫瑰茄红产品的分析与检验。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 12729.2 香辛料和调味品 取样方法

## 3 术语与定义

### 3.1

**玫瑰茄红色素** *roselle red pigment*

玫瑰茄花萼中所含的飞燕草素葡萄糖苷、矢车菊素葡萄糖苷等主要着色物质。

### 3.2

**玫瑰茄红** *roselle red*

由玫瑰茄花萼中提取制备的红色素产品。

## 4 原理

试样中的主要着色物质经水、甲醇或乙醇的强酸性溶液提取后，置于沸水浴中进行水解为苷元，如矢车菊素、飞燕草素等着色物质，经过高效液相色谱柱进行分离后用可见光检测器于530 nm下进行检测，以标准品保留时间进行定性，外标法进行定量。

## 5 试剂与仪器设备

### 5.1 试剂

5.1.1 水：GB/T6682 规定的一级水。

5.1.2 甲醇：色谱纯。

5.1.3 无水乙醇：色谱纯。

5.1.4 甲酸：色谱纯。

5.1.5 盐酸：分析纯。

- 5.1.6 10%盐酸甲醇溶液 (V/V)：取 10 mL 浓盐酸、90 mL 甲醇混匀。
- 5.1.7 提取溶剂：无水乙醇、水、浓盐酸按照体积比 2：1：1 的比例混合。
- 5.1.8 飞燕草色素：CAS 号 528-53-0，纯度  $\geq 96\%$ 。
- 5.1.9 矢车菊素：CAS 号 528-58-5，纯度  $\geq 98\%$ 。

## 5.2 仪器与材料

- 5.2.1 高效液相色谱仪，配有可见光检测器。
- 5.2.2 分析天平，感量 0.001 g 和 0.000 1 g。
- 5.2.3 离心机，转速 $\geq 4000$  r/min。
- 5.2.4 高速粉碎机。
- 5.2.5 微孔滤膜，孔径 0.22  $\mu\text{m}$ 。
- 5.2.6 容量瓶。
- 5.2.7 微量进样器。

## 6 试样处理

### 6.1 玫瑰茄红

50 °C 真空干燥后，于室温下避光密闭保存。

### 6.2 玫瑰茄花萼

50 °C 真空干燥后，经高速粉碎机粉碎过 20 目筛。

## 7 试液的制备

### 7.1 样品溶液

按玫瑰茄红 0.2 g (精确至 0.000 1 g)、玫瑰茄花萼 5 g (精确至 0.001 g) 称样量称取样品，于具塞三角瓶中，加入 50 mL 提取溶剂，摇匀后，超声提取 30 min，提取温度 40 °C，冷却至室温，用提取溶剂定容至 500 mL，取 10 mL 于沸水浴中水解 1 h，取出冷却，定容至 100 mL，用 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤，备测。

### 7.2 混合标准工作溶液

准确称取飞燕草色素、矢车菊素的标准品 5 mg (精确至 0.000 1 g)，分别用 10 mL 的 10 % 盐酸甲醇溶液溶解后，混匀并定容至 100 mL，即为 50  $\mu\text{g/mL}$  的混合标准液母液。准确移取玫瑰茄红色素混合标准溶液母液，用 10 % 盐酸甲醇溶液稀释成质量浓度分别为 1.25  $\mu\text{g/mL}$ 、2.5  $\mu\text{g/mL}$ 、5.0  $\mu\text{g/mL}$ 、10.0  $\mu\text{g/mL}$ 、20.0  $\mu\text{g/mL}$  的系列标准工作溶液，

## 8 测定

### 8.1 高效液相色谱条件

- 色谱柱：C<sub>18</sub> 柱，250 mm×4.6 mm×5  $\mu\text{m}$  或性能相当者；
- 流动相：0.5 % 甲酸水溶液，0.5 % 甲酸乙腈溶液；
- 检测波长：530 nm；

- 柱温：30 ℃；
- 流速：0.6 mL/min；
- 进样量：20 μL；
- 梯度洗脱条件见表 1。

表 1 梯度洗脱表

时间/min	0.5 %甲酸水溶液/%	0.5 %甲酸乙腈溶液/%
0	95	5
15	55	45
20	95	5
30	95	5

## 8.2 标准曲线绘制

按8.1色谱条件，分别将系列标准工作溶液注入液相色谱仪进行测定。以测得的峰面积为纵坐标，对应的标准溶液质量浓度为横坐标，绘制标准曲线。

## 8.3 色谱分析

按8.1色谱条件，将样品溶液（7.1）注入液相色谱仪进行测定，以保留时间定性，以样品溶液峰面积带入标准曲线中定量，样品中玫瑰茄红色素质量浓度应在标准工作曲线质量浓度范围内，超出线性范围的试液应经稀释后测定。

## 9 结果计算

样品中玫瑰茄红色素总含量为飞燕草素和矢车菊素含量之和。含量以质量分数 $X$ 计，单位为微克每克（μg/g），按式（1）计算。

$$X = \frac{\sum C_i V K}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$X$ ——样品中飞燕草素与矢车菊素的含量之和，单位为微克每克（μg/g）；

$V$ ——定容体积，单位为（mL）；

$m$ ——试样质量，单位为克（g）；

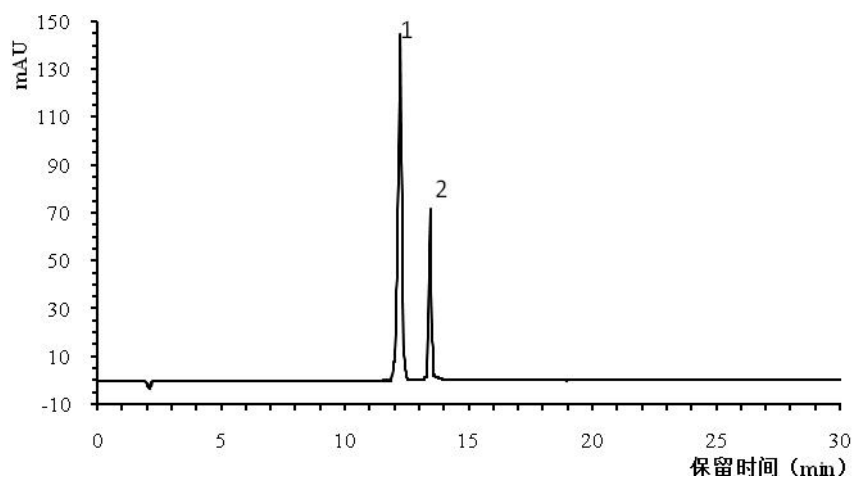
$C_i$ ——样品待测液中组分 $i$ 的峰面积对应的质量浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）。

$K$ ——样品待测液稀释倍数。

取绝对差值不超过算数平均值10%的两次测定值的算术平均值作为测定结果，计算结果保留小数点的后2位数字。

附录 A  
(资料性附录)  
典型液相色谱图

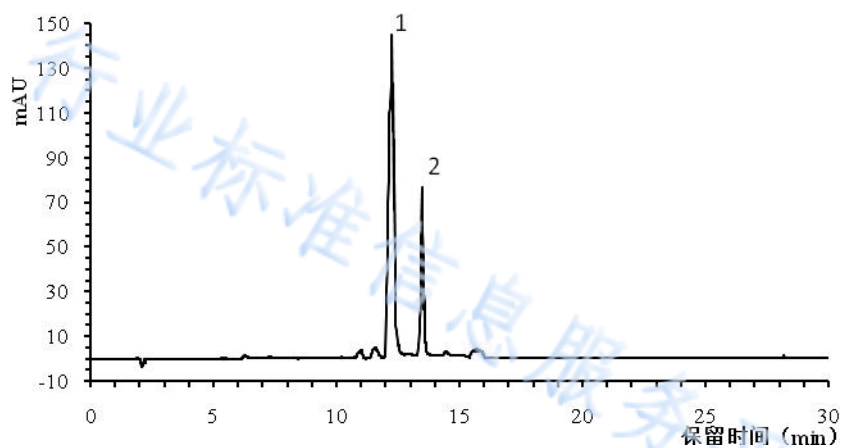
A.1 对照品典型色谱图见图A.1。



注：1 飞燕草色素 2 矢车菊素

图 A.1 标准品液相色谱图

A.2 玫瑰茄红典型液相色谱图见图A.2。



注：1 飞燕草色素 2 矢车菊素

图 A.2 玫瑰茄红液相色谱图