

月旭科技食品中酸性橙 II 号的测定

1. 适用范围

食品中饮料，红酒，辣椒酱，黄鱼和卤肉食品中酸性橙 II 号的检测。

（本实验采用卤牛肉为样品）

参考标准：《SN/T 3536-2013：出口食品中酸性橙 II 号的检测方法》

2. 溶液的配制

酸性橙 II 号标准贮备液：称取 10.0mg，用水溶解定容至 100mL，配置成浓度为 100 μ g/mL 的标准储备液。

酸性橙 II 号工作储备液：取 0.5mL 标准贮备液，用水定容至 50mL，配成浓度为 10 μ g/mL 的工作储备液。

2% 甲酸水溶液：2mL 甲酸，用水定容至 100mL。

10% 氨水甲醇溶液：10mL 氨水，用甲醇定容至 100mL。

乙醇-氨溶液：20mL 氨水，加入 70mL 乙醇，用水定容至 100mL。

0.02mol/L 乙酸铵溶液：精称 1.54g 乙酸铵，加水溶解并定容至 1000mL，过 0.45 μ m 滤膜

3. 提取步骤

样品经组织捣碎机捣碎，称取样品 2g (± 0.05 g) 于 50mL 离心管中，加入 20mL 乙醇-氨溶液，超声提取 30min，离心 10min (4000r/min)，吸取上清液于另一 50mL 离心管中；残渣中加入 20mL 乙醇-氨溶液，

声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add: 浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel: 400-810-6969

邮编: 321000

E-mail: lingyuyu@welchmat.com

重复提取一次，合并两次上清液，混匀，离心 15min，取上清液，再次离心 15min 后准确移取 20mL 上清液，40℃ 旋转蒸发至剩余 5mL，转移至 15mL 离心管中，用水定容至 10mL，待净化。

4.SPE 净化步骤

SPE 柱：月旭 Welchrom[®] NH₂ 规格：500 mg/6mL

月旭 Welchrom[®] PSA 规格：500 mg/6mL（采用 2 种柱子，过柱过程一致）

活化：5mL 甲醇，5mL 2% 甲酸水溶液，弃去

上样：待净化液全部上样，自然流干，弃去

淋洗：先 5mL 2% 甲酸水溶液淋洗，弃去；再用 5mL 甲醇淋洗，弃去

洗脱：5mL 10% 氨水甲醇溶液，收集于 15mL 试管中，抽干

氮吹至近干，用水定容至 1mL，上 HPLC 检测。

5.注意事项

- 1) 旋转蒸发时注意温度不得超过 40℃，剩余液体必需小于 5mL；尽可能去除乙醇，否则会影响过柱时填料对目标物的吸附
- 2) 提取部分未按照标准所有提取液旋蒸后上样（近 40mL 样液，内含水，旋蒸至小于 10mL，耗时且上样后回收不理想），本实验是移取了其中 20mL 经旋蒸后上样；
- 3) 氮吹时注意不能过快，近干即可；

声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

邮编：321000

Tel:400-810-6969

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

- 4) 请勿过膜；（水膜或有机膜都对目标物有吸附）
- 5) 牛肉样过柱较慢，可适当抽负压
- 6) 加标过程：分别添加 0.1mL、0.2mL 10mg/L 酸性橙对照品，得到添加水平为 0.5mg/kg、1mg/kg；最终上机浓度为 0.5mg/L、1mg/L

6. 色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate[®]XB-C18,4.6*250mm,5 μ m

流动相：乙酸铵:甲醇=35:65

柱温：35 $^{\circ}$ C

进样量：20 μ L

检测波长：484nm

流速：1.0mL/min

7. 色谱图或者加标回收率结果

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

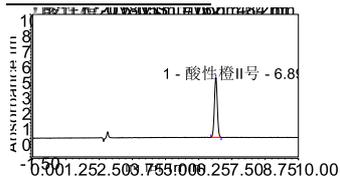


图 1.酸性橙 II 号对照 0.5mg/L

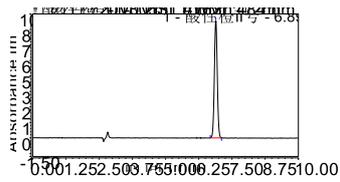


图 2.酸性橙 II 号对照 1mg/L

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

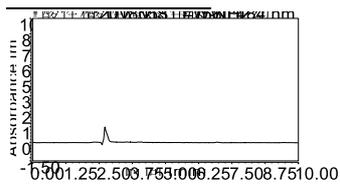


图 3. 卤牛肉样品过 NH₂ 小柱色谱图

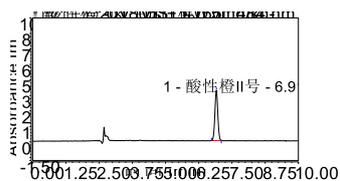


图 4. 卤牛肉样品加标 0.5mg/kg 过 NH₂ 小柱色谱图

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

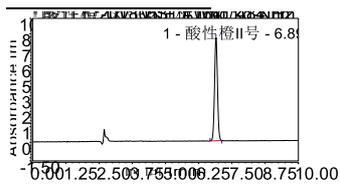


图 5. 卤牛肉样品加标 1mg/kg 过 NH₂ 小柱色谱图

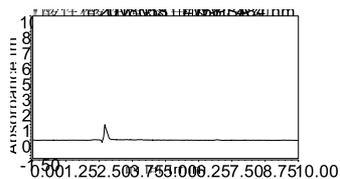


图 6. 卤牛肉样品过 PSA 小柱色谱图

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

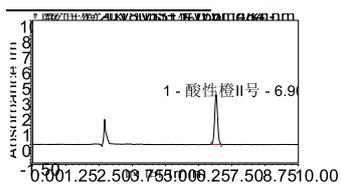


图 7.卤牛肉样品加标 0.5mg/kg 过 PSA 小柱色谱图

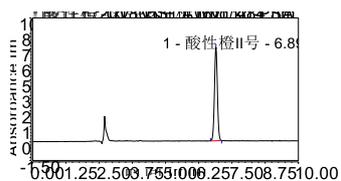


图 8.卤牛肉样品加标 1mg/kg 过 PSA 小柱色谱图

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

表 1：加标回收率测定结果

样品	加标水平	回收率%	RSD % (n=3)	RT min
卤牛肉 NH2	0.5	85	3.53	6.9
	1	90	1.18	
卤牛肉 PSA	0.5	85	1.18	
	1	83	3.67	

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Address: 浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel: 400-810-6969

邮编: 321000

E-mail: lingyuyu@welchmat.com

8. 相关产品信息

货号	名称	规格
00559-11006	Welchrom® PSA	500mg/6ml,30pk
00509-11006	Welchrom® NH ₂	500mg/6ml,30pk
	50mL 螺口尖底离心管	50 支/包
	15mL 螺口尖底离心管	
	Welch 固相萃取装置	12 位方缸
	样品瓶套装	2ml 透明短螺纹广口样品瓶（带手写处）， 预切口白色特氟龙/红色硅胶隔垫，9mm 蓝色短螺纹开口盖中心孔 6mm 100pk
00201-31043	Ultimate® XB-C18	4.6×150mm,5μm
	酸性橙 II 号标准品	
	组织捣碎机	

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com