

# 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。

（本实验采用味精和橙汁为样品）

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 $\mu$ 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，配成溶度为 10 $\mu$ 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。

## 3. 提取步骤

### 一、橙汁

准确称取 10g ( $\pm 0.01$ g) 样品于 15mL 容量瓶中，用水定容到刻度，混匀后，HPLC 测试

### 二、味精

称取样品 2g ( $\pm 0.01$ 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，重复提取一次，合并两

次上清液，混匀，准确移取 20mL 上清液，40℃旋转蒸发至少于 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<sup>®</sup> NH<sub>2</sub> 规格：500 mg/6mL 或

月旭 Welchrom<sup>®</sup> PSA 规格：500 mg/6mL

（采用 2 种柱子，过柱过程一致）

活化：5mL 甲醇，5mL2%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 5mL2%甲酸水溶液淋洗，弃去；再用 5mL 甲醇淋洗，弃去

洗脱：5mL10%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；
- 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；
- 4) 请勿过膜。（水膜或有机膜都对目标物有吸附）

#### 6. 色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate®XB-C18,4.6\*250mm,5μm

流动相：乙酸铵（0.02mol/L 乙酸铵溶液：精称 1.54g 乙酸铵，加水溶解并定容至 1000mL）：甲醇=35:65

柱温：35℃

进样量：20 μL

检测波长：484nm

流速：1.0mL/min

## 7. 色谱图或者加标回收率结果

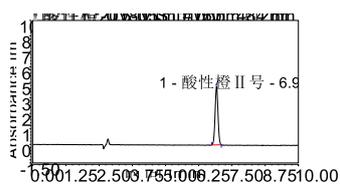


图 1.酸性橙 II 号对照 0.5mg/L

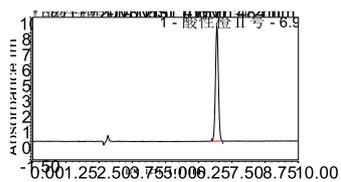


图 2.酸性橙 II 号对照 1mg/L

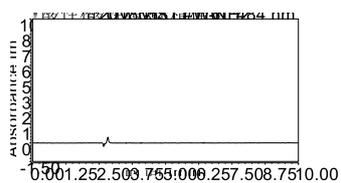


图 3.味精样品过 NH<sub>2</sub> 小柱色谱图

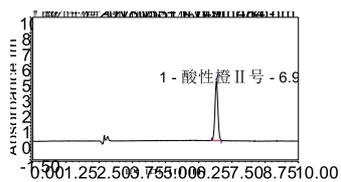


图 4.味精样品加标 0.5mg/kg 过 NH<sub>2</sub> 小柱色谱图

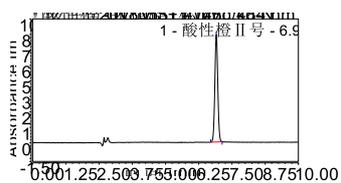


图 5.味精样品加标 1mg/kg 过 NH<sub>2</sub> 小柱色谱图

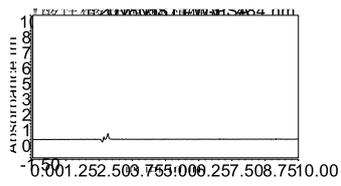


图 6.味精样品过 PSA 小柱色谱图

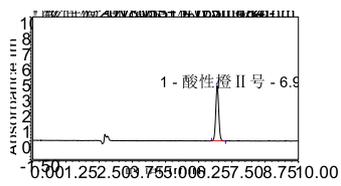


图 7.味精样品加标 0.5mg/kg 过 PSA 小柱色谱图

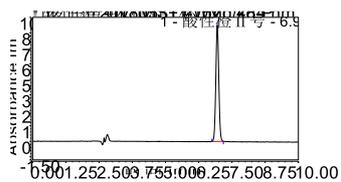


图 8.味精样品加标 1mg/kg 过 PSA 小柱色谱图

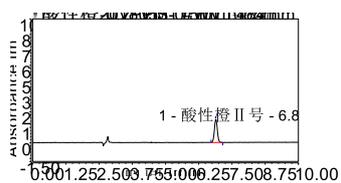


图 9.酸性橙 II 号对照 0.2mg/L

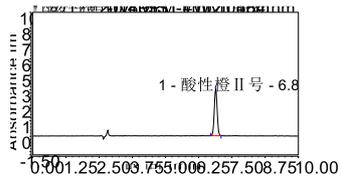


图 10.酸性橙 II 号对照 0.4mg/L

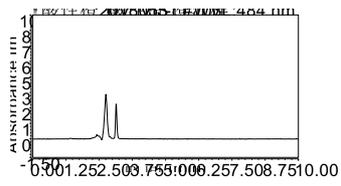


图 11.橙汁样

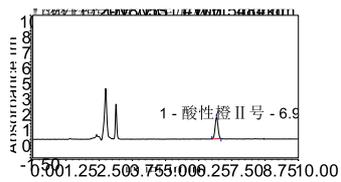


图 12.橙汁样加标 0.5mg/kg

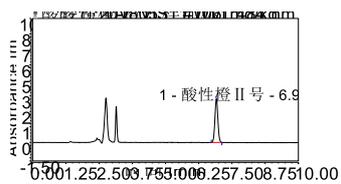


图 13.橙汁样加标 1mg/kg

表 1：加标回收率测定结果

样品	加标水平 mg/kg	回收率%	RSD % (n=3)	RT min
味精 NH <sub>2</sub>	0.5	101	4.01	6.9
	1	95.3	2.64	
味精 PSA	0.5	95	2.79	
	1	100	2.07	
橙汁	0.5	97	1.93	
	1	94	1.37	

## 8. 相关产品信息

货号	名称	规格
00559-11006	Welchrom® PSA	500mg/6ml,30pk
00509-11006	Welchrom® NH <sub>2</sub>	500mg/6ml,30pk
00000-30013	15mL 尖底离心管	15ml 螺口尖底离心管, 100 支/包
00000-30016	50mL 尖底离心管	50ml 螺口尖底离心管, 50 支/包
00824-31001	Welch 固相萃取装置	12 位方缸
00821-32291	盖子+垫片	预切口红色特氟龙/白色硅胶隔垫, 9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm 100pk
00821-40927	样品瓶	2ml 透明短螺纹广口样品瓶 带书写处 11.6*32mm 一级水解玻璃 100pk
00201-31043	Ultimate® XB-C18	4.6×150mm,5μm
00826-A403P025	酸性橙 II 标准品	CAS No.:633-96-5, 25mg