

月旭科技香兰素、甲基香兰素和乙基香兰素的测定

1、适用范围

适用于奶粉、蛋白粉中香兰素、甲基香兰素和乙基香兰素的检测。

2、溶液的配制

- 1) 标准储备液：分别精确称取香兰素、甲基香兰素和乙基香兰素 10mg，分别用乙腈溶解并定容到 10mL，浓度为 1000mg/L。
- 2) 20%甲醇：移取 20mL 的甲醇，用水定容至 100mL。
- 3) 5%乙酸甲醇：移取 5mL 乙酸，用甲醇定容至 100mL。
- 4) 50%乙腈：移取 50mL 的乙腈，用水定容至 100mL。

3、提取步骤

奶粉

- 1) 移取 1g 样品，加入 10mL 的水，振荡，超声 10min，离心 10min (8000r/min)，吸取上清液；
- 2) 再加入 10mL 水，振荡，超声 10min，离心 10min (8000r/min)，吸取上清液；
- 3) 重复 2) 的过程，合并所有上清液，混匀，再次离心 2min，待净化。

蛋白粉

移取 0.5g 样品，加入 10mL 的水振荡，8000rpm 下离心，取澄清液，再重复 2 次，总计 30mL 水提取，待净化。

4、SPE 净化步骤

SPE 柱：月旭 Welchrom®P-SAX 规格：150 mg/6mL。

活化：5 mL 甲醇、5 mL 水，弃去；

上样：待净化液 15mL 上样，控制流速，不宜过快，弃去；

淋洗：6mL20%甲醇水淋洗，弃去。

洗脱：15mL5%乙酸甲醇洗脱，收集于旋转蒸发瓶，并抽干小柱。

复溶：洗脱液在 45℃下减压蒸干，用 50%乙腈定容至 1mL。过 0.22μm 滤膜，上 HPLC 检测。

5、注意事项

1) 加标水平：1g 奶粉样品中，分别添加 40μL 1000mg/L 的香兰素、10μL 1000mg/L 的甲基香兰素、20μL 1000mg/L 的乙基香兰素，得到的加标水平为 40mg/kg，10mg/kg，20 mg/kg。机读数分别为 20mg/L，5mg/L，10 mg/L；

0.5g 蛋白粉样品中，分别移取 0.2mL1000mg/L 香兰素，0.01mL1000mg/L 甲基香兰素，

0.03mL1000mg/L 乙基香兰素，得到加标水平香兰素 400mg/kg、甲基香兰素 20mg/kg、乙基香兰素 60mg/kg。最终上机浓度为香兰素 100mg/L、甲基香兰素 5mg/L、乙基香兰素 15mg/L

2) 经试验，超声后提取会更完全；

6、色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate®XB-C18 4.6×250mm, 5μm

流动相：A-0.1%磷酸溶液，B-甲醇（A/B=70/30 等度洗脱）

流速：1.0mL/min

柱温：30℃

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：321000E-mail:lingyuyu@welchmat.com

进样量: 20 μ L

检测波长: 280nm

7、色谱图或者加标回收率结果

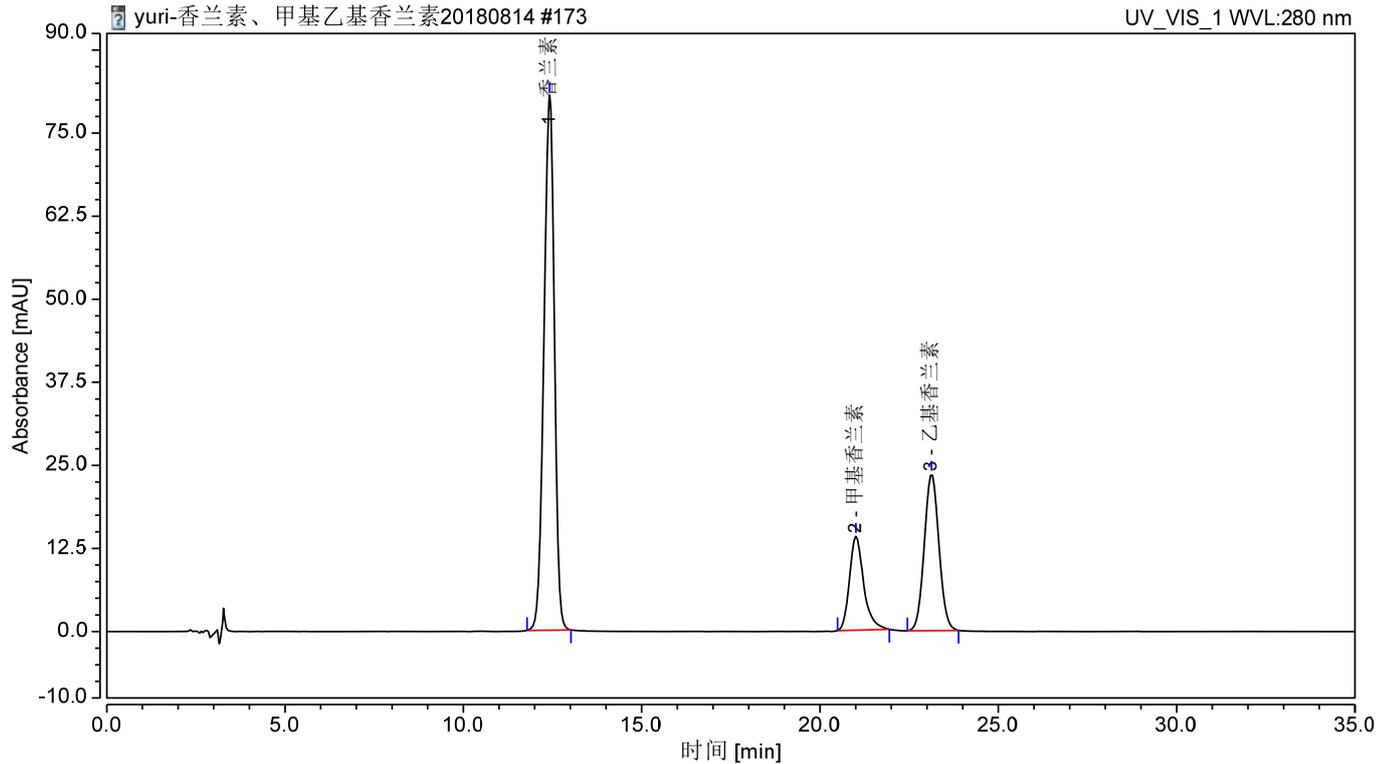


图 1.奶粉对照香兰素 20mg/L、甲基香兰素 5mg/L、乙基香兰素 10mg/L 图谱

序号	峰名称	保留时间	峰面积	峰高	相对峰面积	拖尾因子	不对称度	分离度	塔板数
		min	mAU*min	mAU	%		(EP)	(EP)	(EP)
1	香兰素	12.422	27.1544	80.53	60.49	0.84	0.93	13.96	8596
2	甲基香兰素	21.007	6.5341	14.13	14.56	1.44	1.31	2.94	14506
3	乙基香兰素	23.127	11.2006	23.58	24.95	1.09	1.06	n.a.	15213

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: 321000E-mail:lingyuyu@welchmat.com

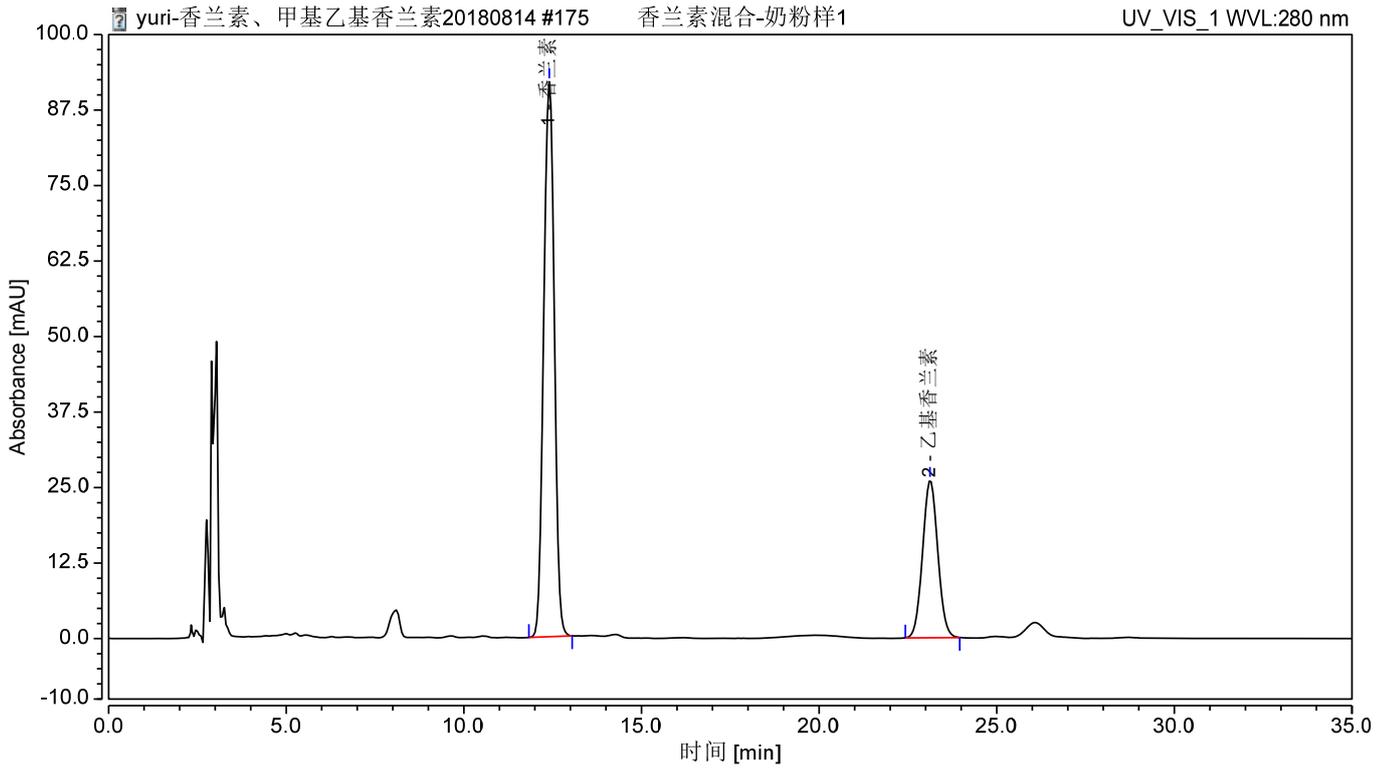


图 2 奶粉粉样过柱图谱

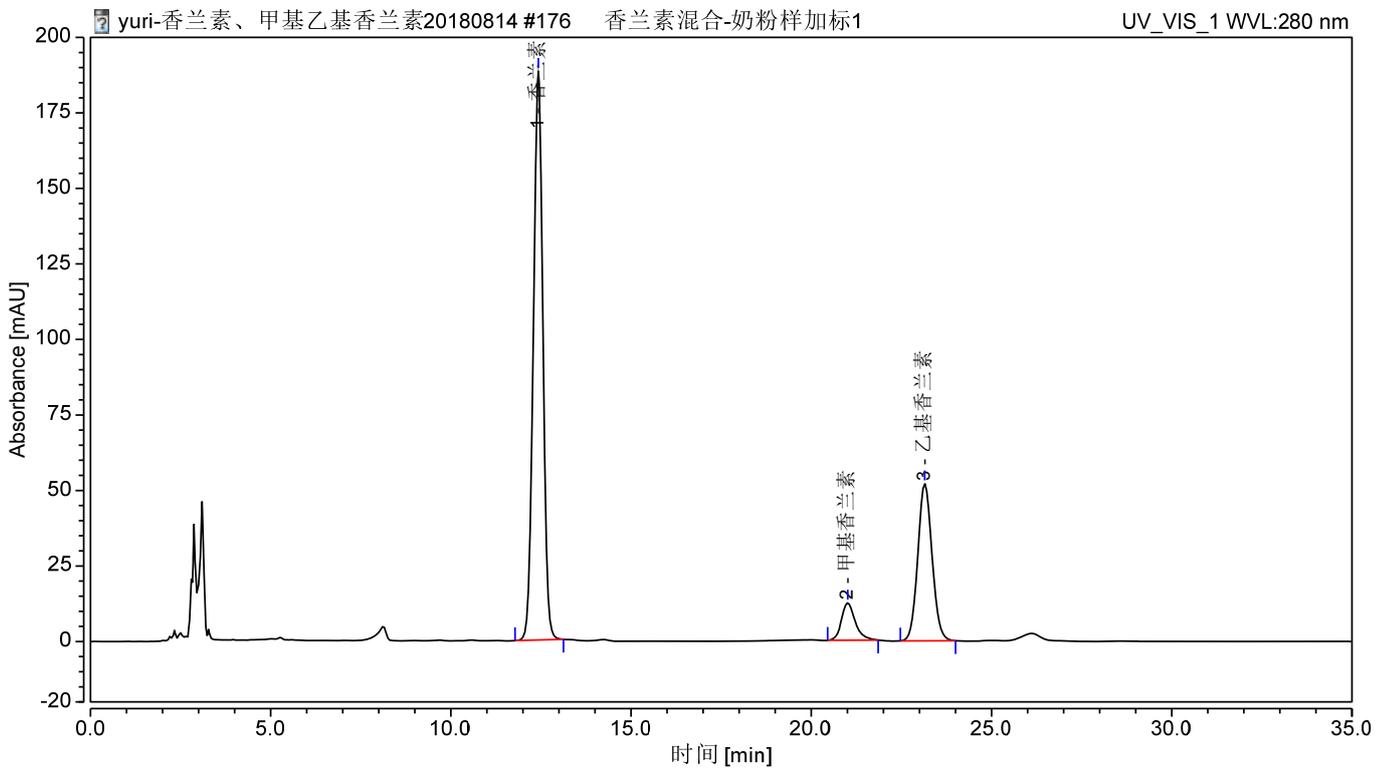


图 3 奶粉样加标香兰素 20mg/L、甲基香兰素 5mg/L、乙基香兰素 10mg/L 图谱

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: 321000E-mail:lingyuyu@welchmat.com

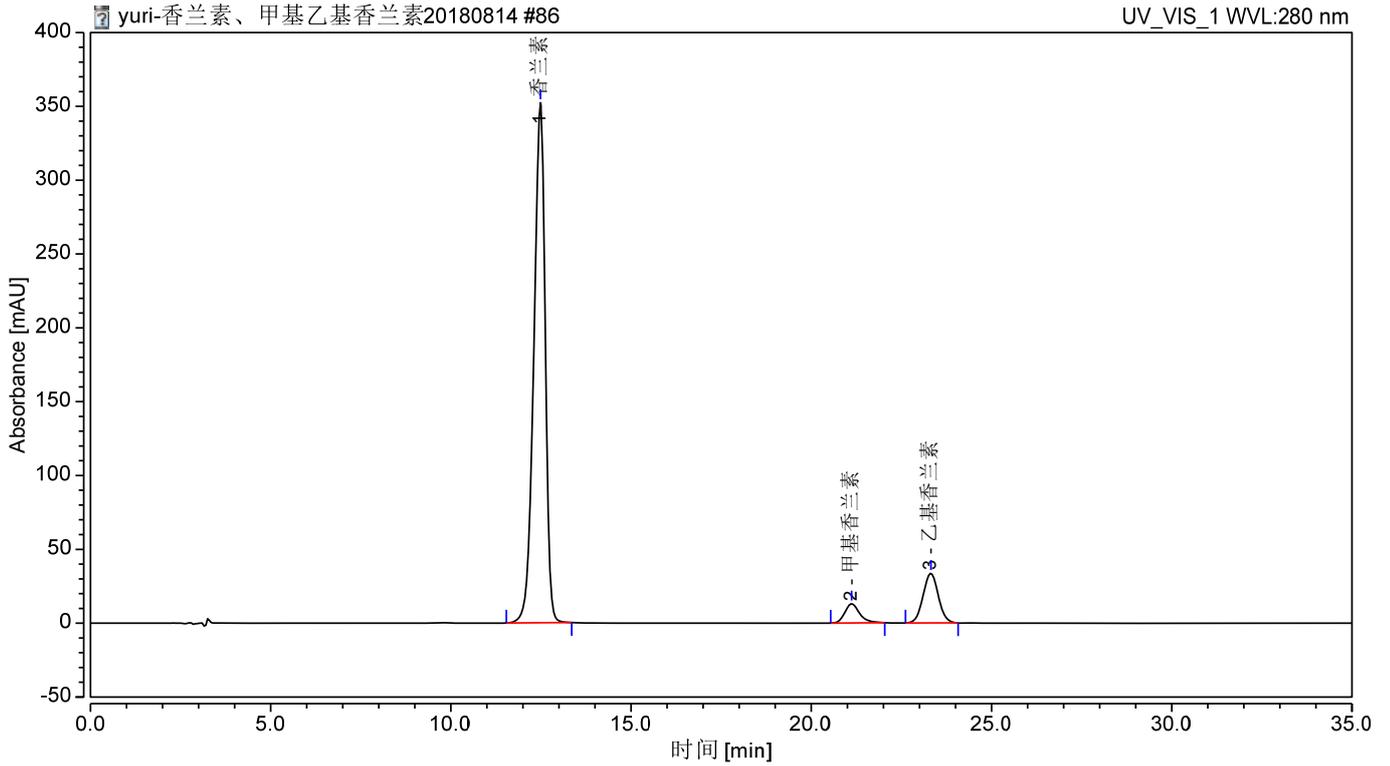


图 4.蛋白粉对照香兰素 100mg/L、甲基香兰素 5mg/L、乙基香兰素 15mg/L 图谱

序号	峰名称	保留时 间	峰面积	峰高	相对峰面积	拖尾因子	不对称度	分离度	塔板数
		min	mAU*min	mAU	%		(EP)	(EP)	(EP)
1	香兰素	12.487	128.892	352.273	85.06	0.72	1.04	13.62	8554
2	甲基香兰素	21.117	6.173	12.976	4.07	1.40	1.41	2.93	13232
3	乙基香兰素	23.317	16.466	33.594	10.87	1.03	1.05	n.a.	14673

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: 321000E-mail:lingyuyu@welchmat.com

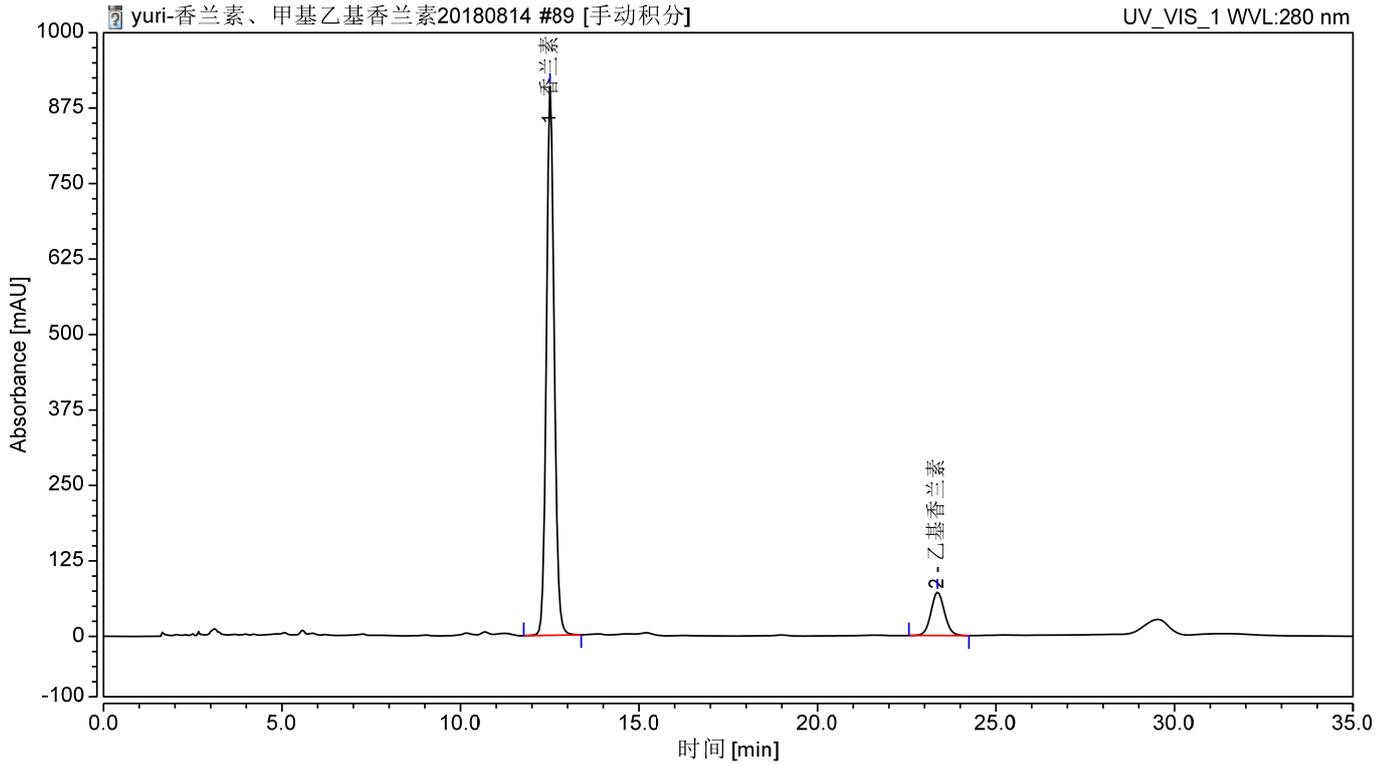


图 5 蛋白粉样过柱图谱

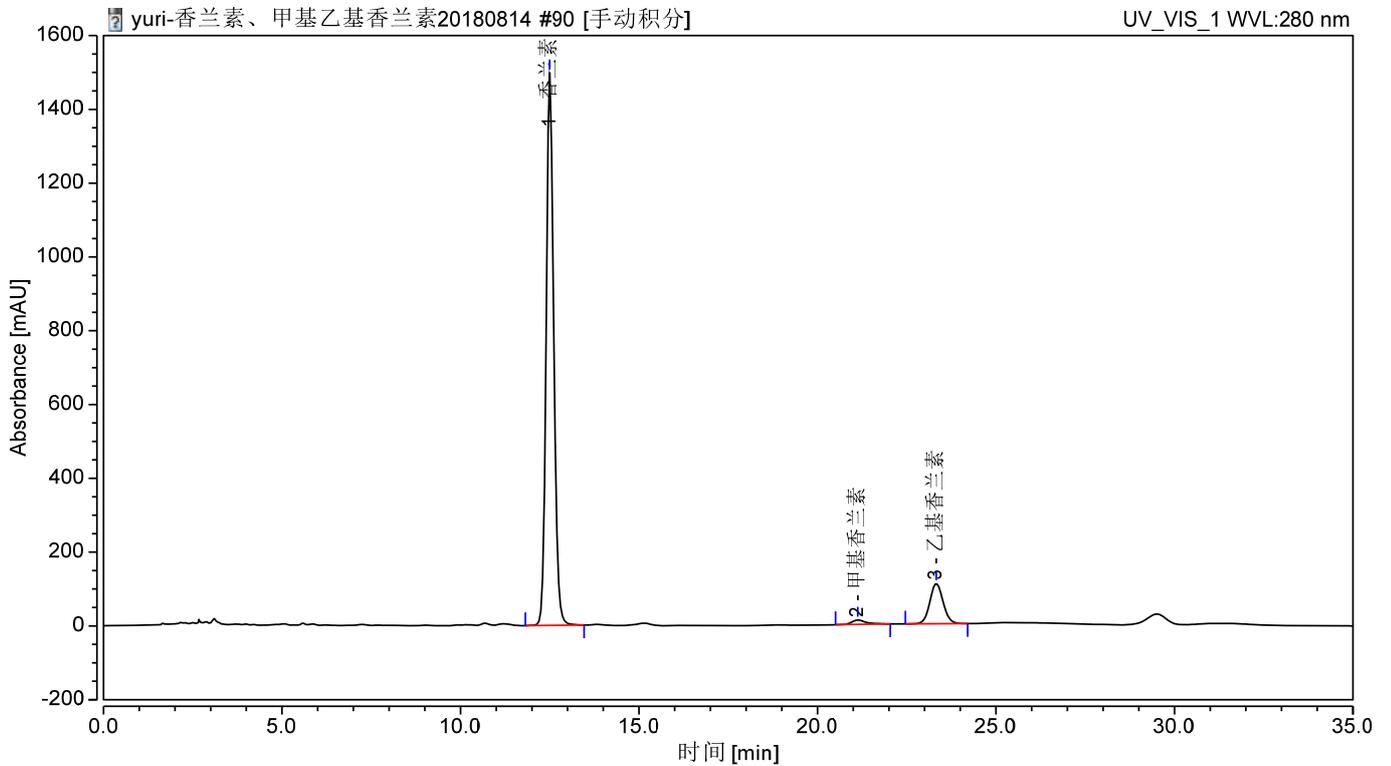


图 6 蛋白粉样加标香兰素 400mg/kg、甲基香兰素 20mg/kg、乙基香兰素 60mg/kg 图谱

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: 321000E-mail:lingyuyu@welchmat.com

表 1.奶粉香兰素、甲基香兰素和乙基香兰素过 P-SAX 小柱加标回收表

	名称	加标水平 mg/kg	平均回收率%	RSD% (n=3)
1	香兰素	40	91	5.36
2	甲基香兰素	10	83	3.59
3	乙基香兰素	20	96	2.88

表 2.蛋白粉香兰素、甲基香兰素和乙基香兰素过 P-SAX 小柱加标回收表

	名称	加标水平 mg/kg	平均回收率%	RSD% (n=2)
1	香兰素	400	100	3.63
2	甲基香兰素	20	93	3.04
3	乙基香兰素	60	96	0.74

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:321000E-mail:lingyuyu@welchmat.com

8、相关产品信息

货号	名称	规格
00524-20043	Welchrom®P-SAX	150mg/6ml, 30pk
00000-30016	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
00101-21043	Ultimate® XB-C18	4.6×250mm, 5μm
00826-V026P10 0	香兰素标准品	CAS No. :121-33-5, 100mg
00827-20718-2 0	甲基香兰素 (藜芦醛) 标准品	CAS: 120-14-9, HPLC≥98%, 20mg
012877-01	乙基香兰素标准品	CAS No. :121-32-4, 1000mg/L 于甲醇, 1 ml
00802-02201	针头式过滤器	NY 13mm*0.22μm 100pk

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: 321000E-mail:lingyuyu@welchmat.com