

辣椒酱中酸性橙 II 号的测定 (Copure® 酸性橙 II 专用柱)

《SN/T 3536-2013 出口食品中酸性橙 II 号的检测方法》

辣椒酱作为食品或者调味剂在人们的日常生活中是很常见的，作为可食用原料，其食用安全性是十分重要的。色素添加剂是影响辣椒酱质量安全的关键风险因素之一，酸性橙 II 作为非食用型色素在食品中是禁止加入的，但因其色泽鲜艳价格低廉，一些不法商贩会将其作为色素掺杂在辣椒中牟利，长期摄入会对健康造成危害。

逗点生物结合自身产品优势，建立了固相萃取 - 高效液相色谱法测定辣椒酱中的酸性橙 II 含量的方法，样品在提取后，经离子交换固相萃取柱净化后，采用高效液相色谱谱仪结合紫外检测器测定。经验证，加标回收率范围 94-100%，RSD 值小于 5%，满足测试要求。

一、样本前处理

1.1 提取

准确称取辣椒酱 2.0 g (精确至 0.01 g) 于 50 mL 离心管 (带盖) 中，加入 20 mL 甲醇 - 氨水溶 (甲醇: 氨水: 水 = 7:2:1) 于涡旋振荡器振荡提取 10 min 后超声 30 min，然后 8000 r/min 离心 10 min，重复提取一次，合并上清液，至恒温数显水浴氮吹仪中 60°C 氮吹浓缩至 10 mL，混匀后待净化。

1.2 净化 (Copure® 酸性橙 II 专用柱, 500 mg/6 mL)

分别用 3.0 mL 甲醇、3.0 mL 2% 甲酸水溶液活化 Copure® 酸性橙 II 专用柱 (货号: COSX6500)，然后将上述待净化提取液加入固相萃取柱。然后分别依次用 3.0 mL 2% 甲酸水溶液、3.0 mL 甲醇淋洗小柱，抽干。加入 10% 氨水甲醇 6 mL，抽干。(整个固相萃取过程流速控制在 1~2 滴/秒) 收集洗脱液于玻璃氮吹管中，于 60°C 下氮气吹至近干。加入 1.0 mL 一级水涡旋复溶，过滤 (0.45μm PES 膜) 至进样小瓶中，待测。

1.3 过程空白实验

不称取试样，按上述步骤进行实验。

1.4 标准曲线制备

准确吸取适量酸性橙 II 标准工作液，用水配制成 0.1、0.2、0.5、1.0、10.0 μg/mL 的标准工作溶液，以酸性橙 II 含量 (X, μg/mL) 为横坐标，不同浓度标准物质在 484 nm 处的色谱图面积 Y 为纵坐标，制作校准曲线，利用校准曲线对样品进行定量计算。

订购信息

货号	描述	包装
COSX6500	Copure® 酸性橙 II 专用柱, 500 mg/6 mL	30 支 / 盒
SDC-3000-D	biocomma® 多管涡旋混匀仪	1 台 / 箱
BN24	24 孔智能氮吹仪, 含可视化界面	1 台 / 箱
SSF130-45-PES	PES, 孔径 0.45 μm, 水系	100 个 / 盒
SC2-1	2 mL 蓝色聚丙烯盖, 白色 PTFE/ 红色硅胶垫, 9-425	100 个 / 盒
V2-AL	2 mL 螺纹棕色样品瓶, 带书写处 11.6*32 mm, 9-425	100 个 / 盒

二、仪器条件

设备: Thermo Scientific UltiMate 3000

色谱柱: CommaSil®AQ-C18 (4.6 mm*250 mm, 5 μm)

检测器: 紫外检测器

检测波长: 484 nm

流动相: A: 甲醇 B: 20 mmol/L 乙酸铵

洗脱方式: 等度洗脱 (A: B=8:2)

流速: 1 mL/min

进样体积: 10 μL

三、实验测试结果

表 2 辣椒酱中酸性橙 II 加标回收实验结果

检测项目	加标浓度 (μg/kg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
酸性橙 II	100	99.8	96.3	3.14
		95.0		
		94.2		

实验室按照上述实验制作标准曲线，相关系数为 0.9992，斜率为 0.8434，截距为 0.0054，线性关系良好。

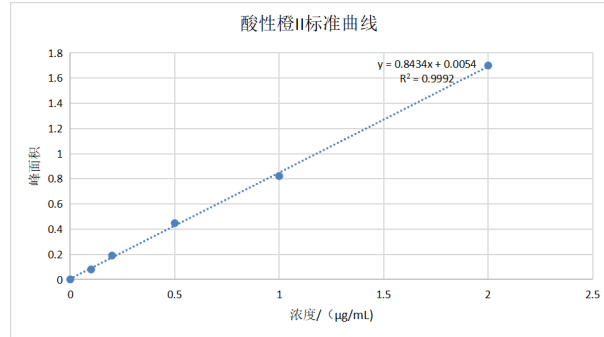


图 1 酸性橙 II 标准曲线

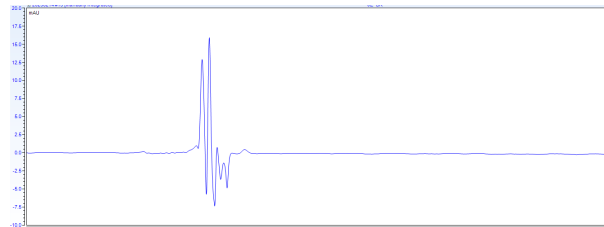


图 2 辣椒酱本底液相色谱图

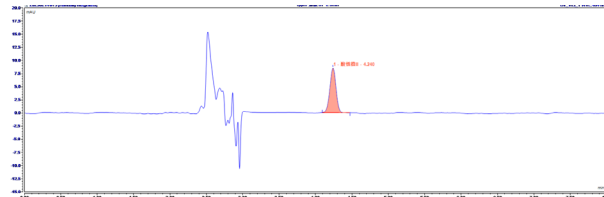


图 3 辣椒酱中酸性橙 II 的液相色谱图 (加标浓度 100 μg/kg)