

月旭科技辣椒油、辣椒酱等调料中苏丹红测定解决方案（改进 GB/T19681-2005 方法）

1、适用范围

适用于辣椒油、辣椒酱等调料中苏丹红的检测。

2、苏丹红标准溶液的配制

分别称取苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III 和苏丹红 IV 各 1.0 mg，用 3 mL 乙醚溶解后用丙酮定容至 10 mL，所得苏丹红标准品母液的浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 。然后将母液用丙酮稀释至 10 $\mu\text{g/mL}$ 。（此处如果采用国标方法用正己烷定容，进色谱分析会导致苏丹红色谱峰型不够理想，因为后续的液相方法是反相色谱法，流动相含有水，因而与正己烷不互容造成色谱峰型不理想）。

3、提取步骤

3.1 辣椒酱

将 0.500 g 样品置于 15 mL 离心管，加入 4 mL 正己烷，涡旋混合 1 min，充分混匀，待净化。

3.2 辣椒粉

将 0.500 g 样品置于 50 mL 离心管，加入 5 mL 正己烷，涡旋混合 1 min，超声 5 min，3000 r/min 离心 5 min，取上清液。重复上述提取步骤四次，将得到的上清液氮吹浓缩至约 4 mL，待上样净化。

4、SPE 净化步骤

SPE 柱：月旭 Welchrom[®] SDH 苏丹红专用柱。

- a)活化：加入 5 mL 正己烷活化 Welchrom[®] SDH 苏丹红专用柱，流出液弃去，注意不要让小柱溶剂流干。
- b)上样：将提取液加入 Welchrom[®] SDH 苏丹红专用柱中，并用 1mL 正己烷润洗离心管一并加入小柱，流出液弃去，注意不要让小柱溶剂流干。
- c)淋洗：用 3 mL 正己烷淋洗小柱，弃去淋洗液，并抽干小柱。
- d)洗脱：用 5 mL 乙酸乙酯洗脱小柱，收集洗脱液，并将小柱抽干，合并收集的洗脱液。
- e)浓缩：将收集的洗脱液在 40 度加热条件下氮吹至近干，大概剩下半滴液体左右，然后用乙腈复溶并定容到 1 mL，此时溶液呈均一相，没有油脂出现。并过 0.22 μm PTFE 滤膜，上高效液相色谱仪检测。

5、注意事项

- (1) 如果采用国标方法用正己烷定容，进色谱分析会导致苏丹红色谱峰型不够理想，因为检测四种苏丹红的液相方法是反相色谱法，流动相含有水，因而与正己烷不互容。
- (2) 加标过程：取 5 μL 、10 μL 和 50 μL 的 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标样，25 μL 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标样加入到 0.5 g 样品中，加标浓度即为 0.1 mg/kg 、0.2 mg/kg、1.0 mg/kg 和 5.0 mg/kg。
- (3) 本方法使用串联小柱，目的是为了尽可能多地去掉各种样品里面存在的油脂，保证本方法对大多数样品均有较好的适用性。
- (4) 在过 SPE 小柱的过程中，“活化”和“上样”这两个步骤要注意不要使得小柱干涸，

这样会影响小柱的回收率。而在“淋洗”和“洗脱”这两个步骤要注意抽干小柱，以便尽可能多的去除杂质和得到目标物。

(5) 洗脱液在氮吹浓缩的过程中，注意不要将洗脱液完全吹干。因为这样有可能会影响回收率。

(6) 过柱的流速不要太快，本实验可以采用重力自然过柱的方式。除了在“淋洗”和“洗脱”这两个步骤要需要抽干小柱可以抽负压外，其他步骤均采用重力自然过柱即可。

6、色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate[®] XB-C18 (4.6 x 150 mm, 5 μm)

流动相：乙腈/水 = 95/5 (混成一相)

流速：1.0 mL/min

进样量：20 μL

柱温：30 °C

检测波长：500 nm

7、色谱图或者加标回收率结果

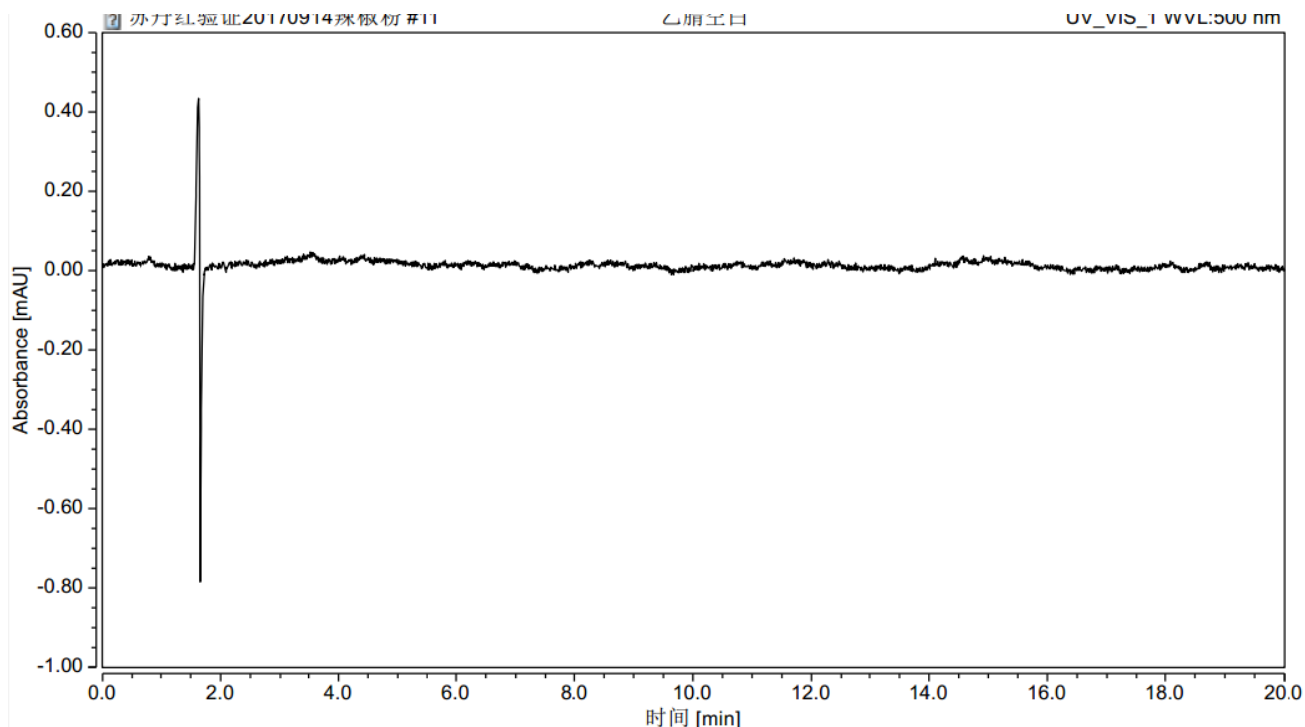


图 1：乙腈溶剂色谱图

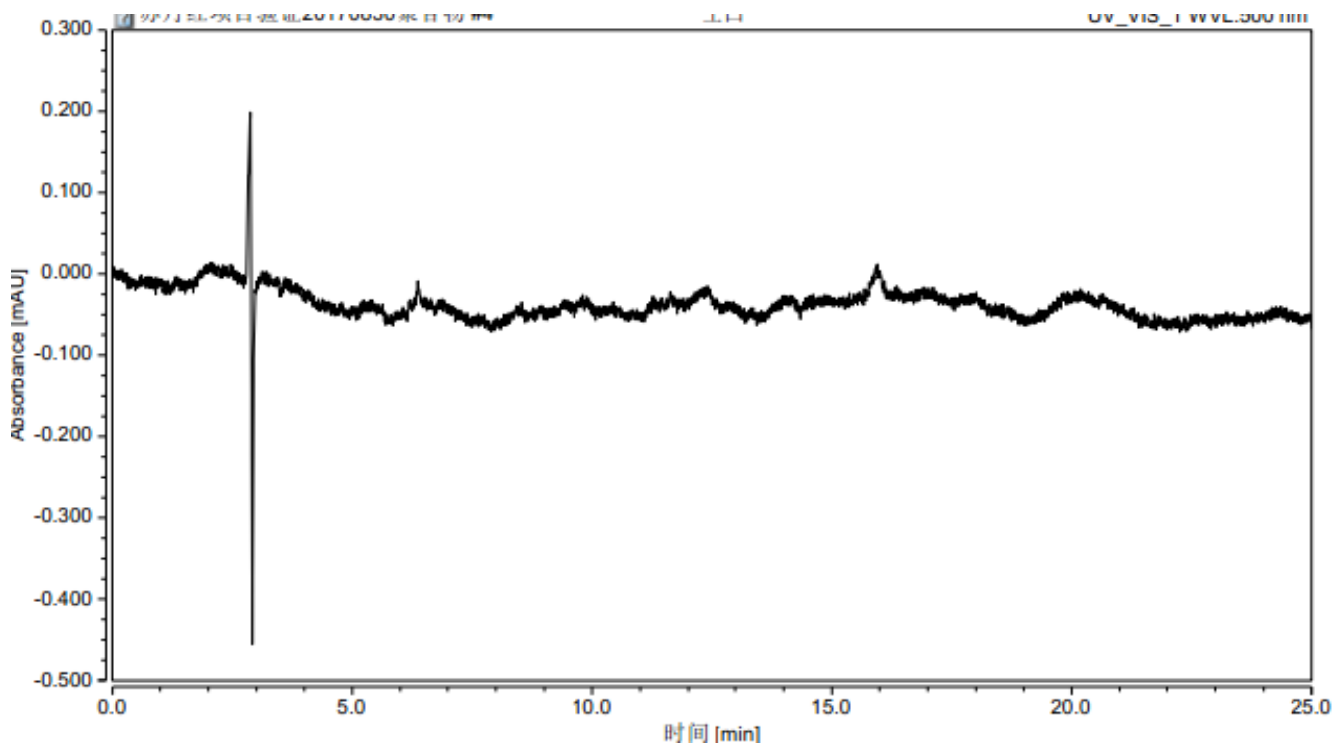


图 2：实际辣椒酱样品色谱图

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:400-808-6760

邮编:321000

E-mail:guodeyong@welchmat.com

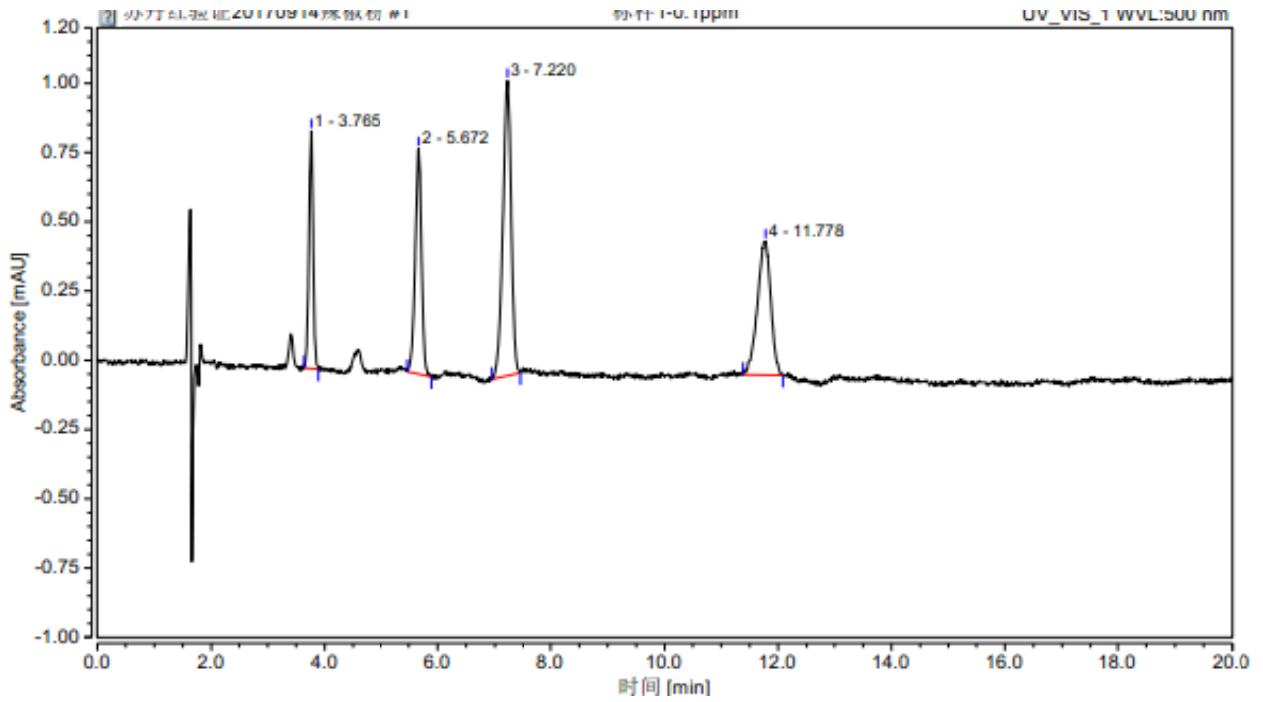


图 3: 苏丹红 I , II , III , IV 标准品色谱图 (苏丹红 I , II , III , IV 标样浓度均为: 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

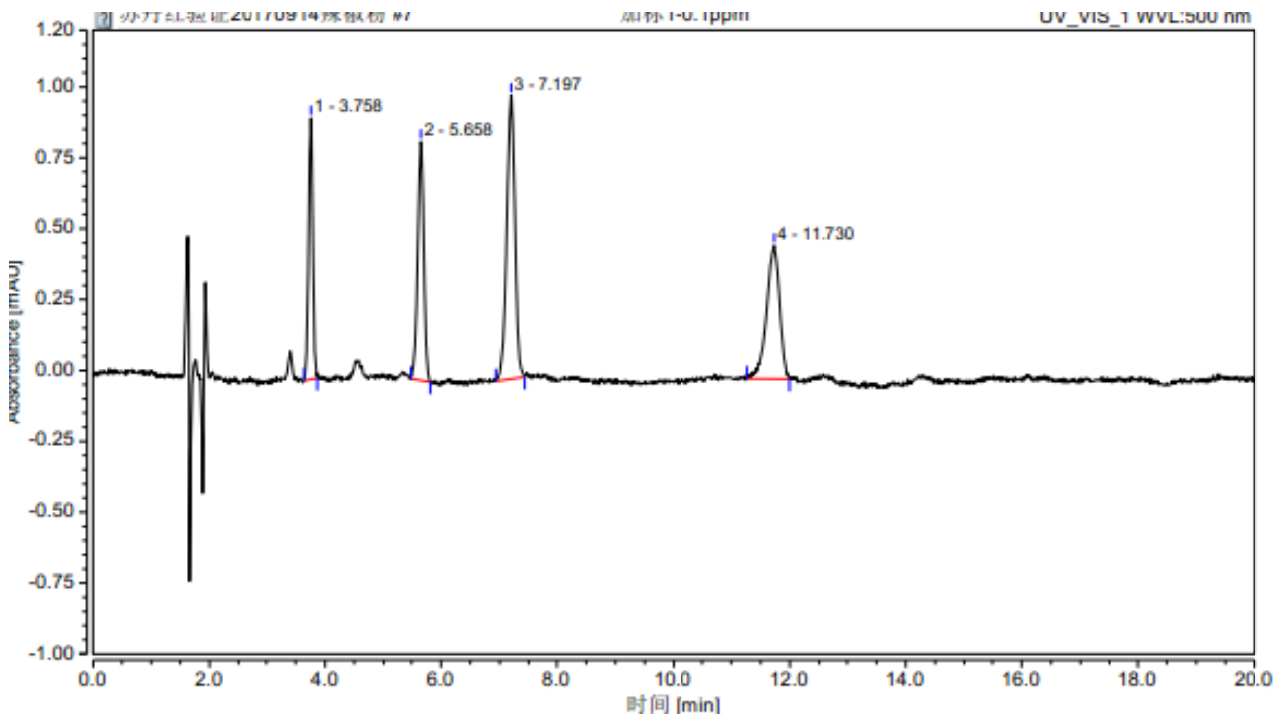


图 4: 实际辣椒酱样品加标色谱图 (苏丹红 I , II , III , IV 加标浓度为: 0.2 mg/kg)

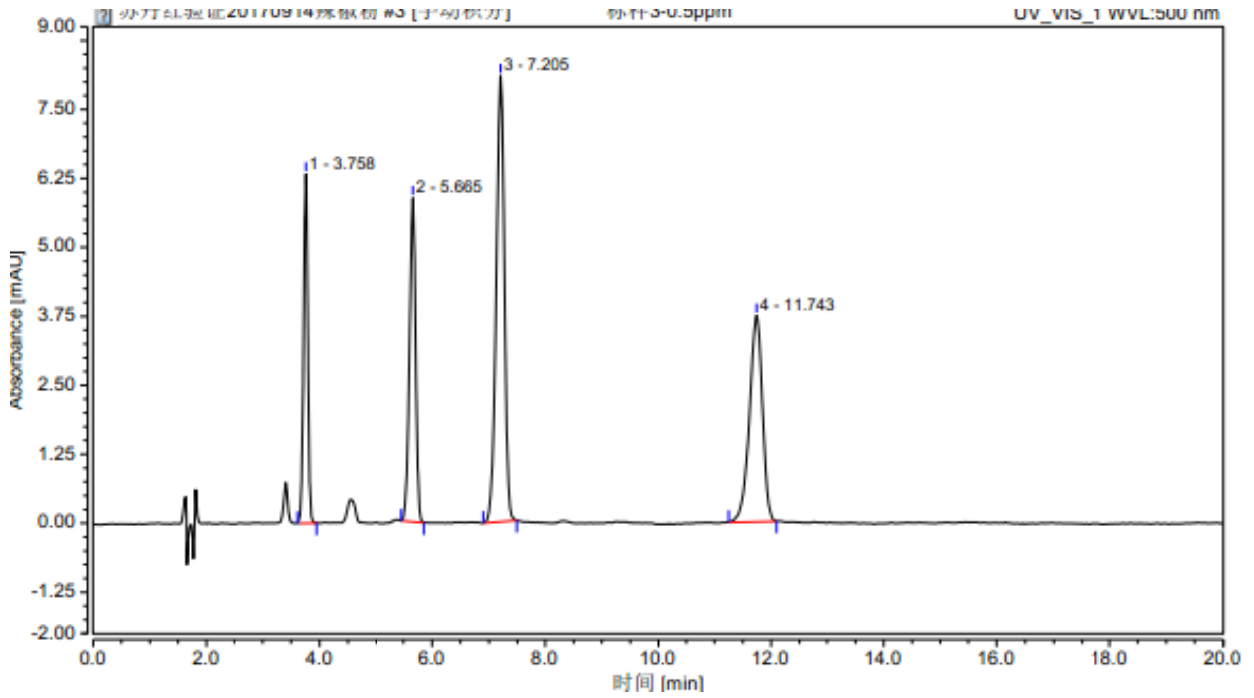


图 5: 苏丹红 I, II, III, IV 标准品色谱图 (苏丹红 I, II, III, IV 标样浓度为: 0.5 µg/mL)

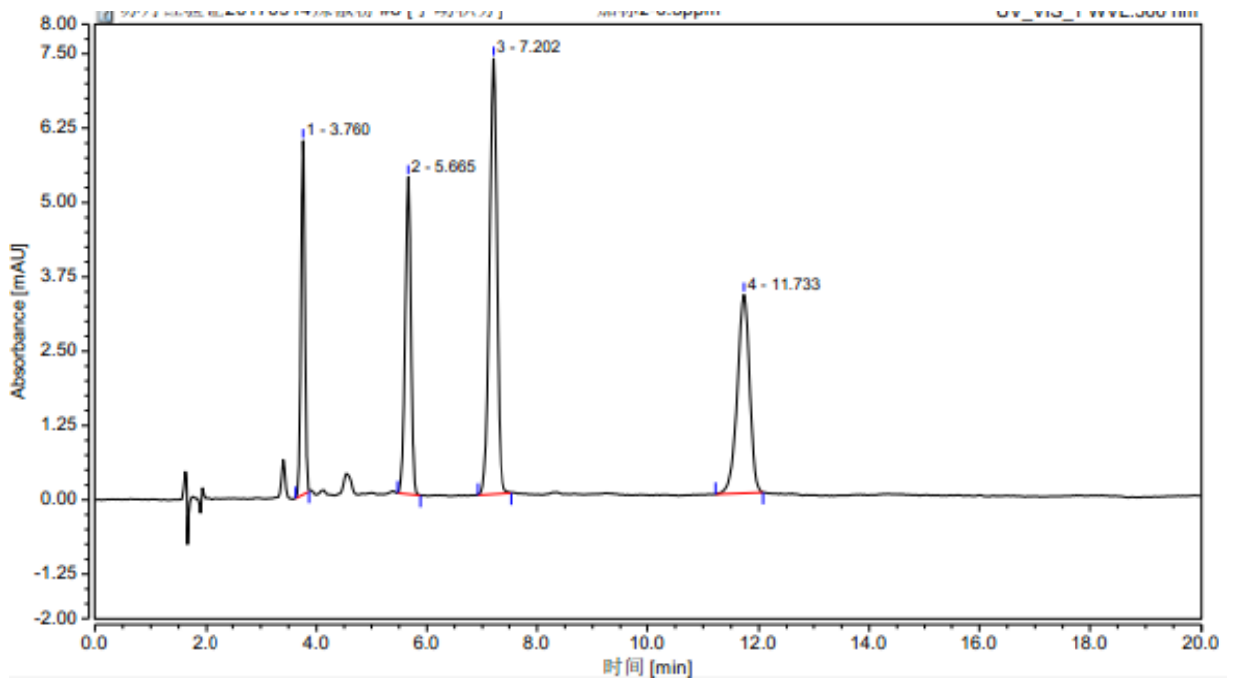


图 6: 实际辣椒酱样品加标色谱图苏丹红 I, II, III, IV 标准品色谱图 (苏丹红 I, II, III, IV 加标浓度为: 1.0 mg/kg)

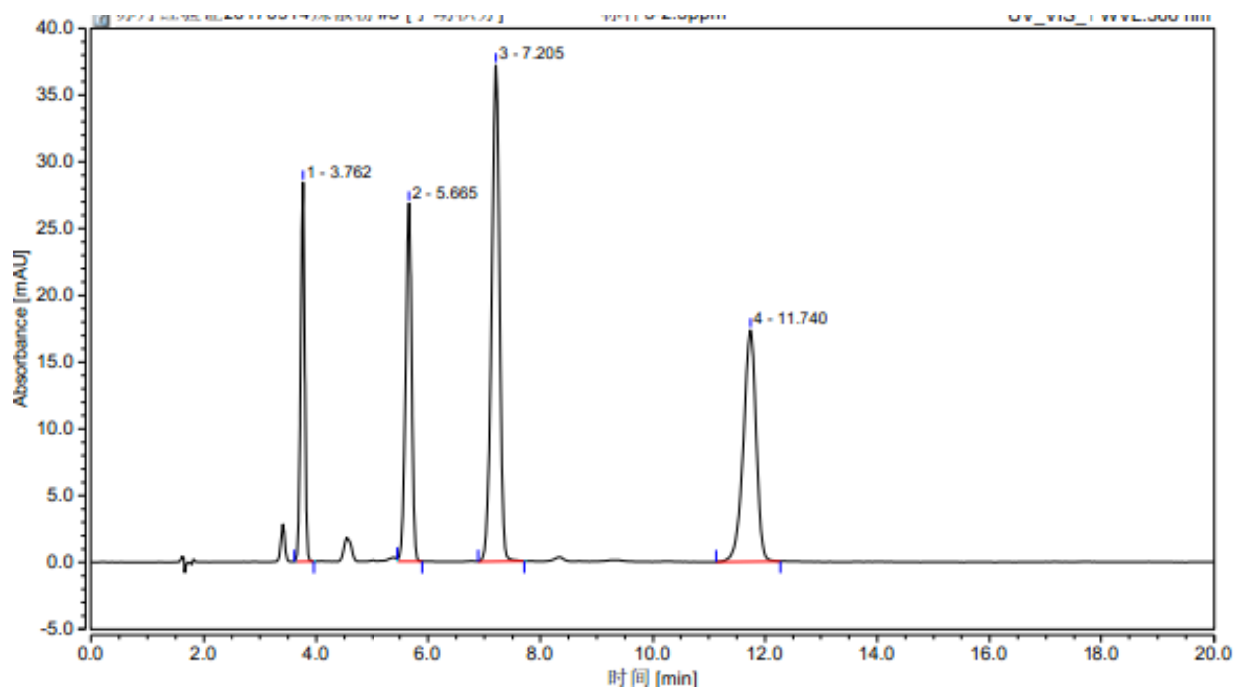


图 7: 苏丹红 I, II, III, IV 标准品色谱图 (苏丹红 I, II, III, IV 标样浓度为: 2.5 µg/mL)

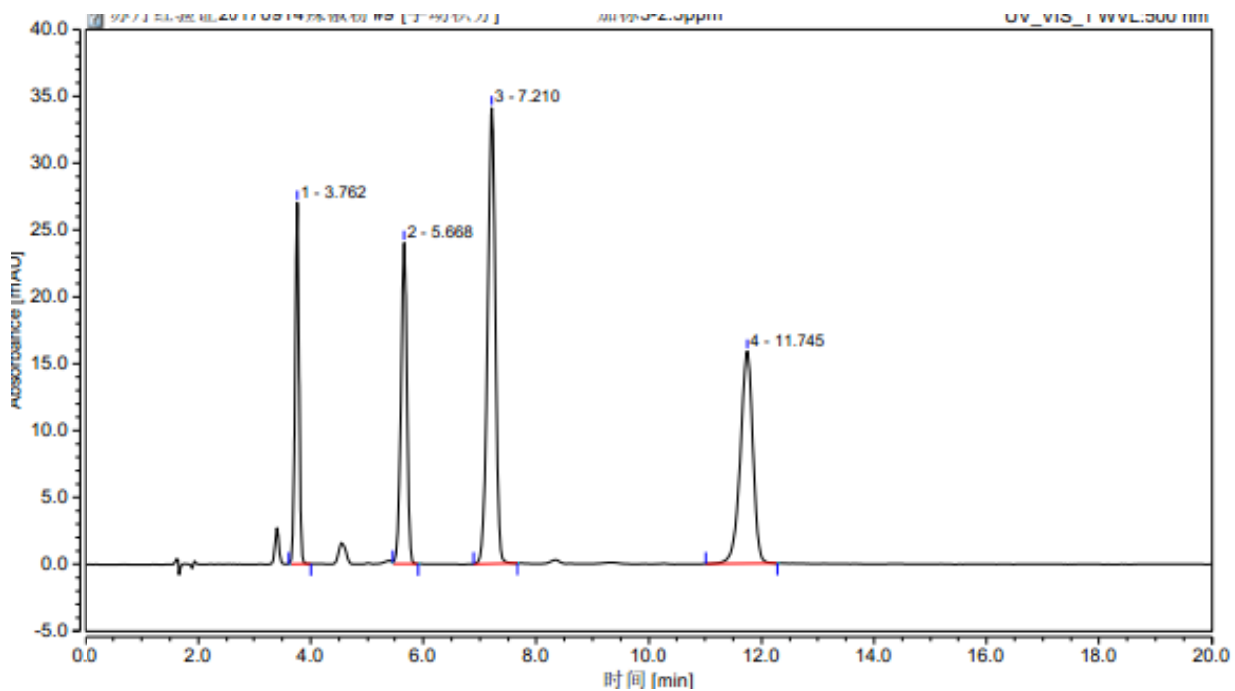


图 8: 实际辣椒酱样品加标色谱图苏丹红 I, II, III, IV 标准品色谱图 (苏丹红 I, II, III, IV 加标浓度为: 5.0 mg/kg)

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:400-808-6760

邮编:321000

E-mail:guodeyong@welchmat.com

表 1: 加标回收率测定结果

样品名称	原始含量 (mg/kg)	加标含量 (mg/kg)	回收率 (%)			
			I	II	III	IV
辣椒酱	-	0.1	90.15	91.79	80.14	90.35
辣椒酱	-	0.2	89.70	86.57	80.50	86.79
辣椒酱	-	0.2	94.06	90.42	83.96	91.50
辣椒酱	-	1.0	95.49	90.83	92.02	93.05
辣椒酱	-	5.0	95.88	92.92	92.58	92.62
辣椒粉	-	0.2	95.36	92.11	85.59	88.76
辣椒粉	-	1.0	90.87	89.80	88.62	86.67
辣椒粉	-	5.0	93.33	87.88	89.62	89.36
辣椒粉	-	0.2	104.52	106.58	93.35	97.22
辣椒粉	-	1.0	89.92	89.06	88.93	87.24
辣椒粉	-	5.0	94.72	90.04	91.42	89.95

8、结论

使用月旭 Welchrom[®] SDH-2 苏丹红专用柱可以快速、高效检测辣椒油、辣椒酱、辣椒粉等调味品中的四种苏丹红，方法的灵敏度高，重现性好，克服了 GB/T19681-2005 方法存在的前处理方法繁琐，不稳定、重现性不理想等众多问题。