

食品中罗丹明 B 的检测方法（执行出入境标准 SN/T2430-2010 有改动）

目前，食品中罗丹明 B 的检测常用中性氧化铝固相萃取柱进行净化，该方法存在氧化铝活性需要精准控制，且操作步骤繁琐，重现性不理想等问题；出入境标准《SN/T 2430-2010 进出口食品中罗丹明 B 的检测方法》采用凝胶渗透色谱（GPC）净化的方式对食品中罗丹明 B 进行前处理净化，该方法需存在操作繁琐，消耗有机溶剂体积大，耗费时间长等缺点，不适合检测机构广泛使用。

月旭科技开发出 Welchrom[®] P-SCX 固相萃取柱净化食品中罗丹明 B、液相色谱荧光检测器检测方法。该方法具有简便，快速，溶剂消耗少，回收率结果稳定，重现性好等特点，能够有效克服上述两种方法的缺陷，极为适合食品中罗丹明 B 的检测。

1、适用范围

适用于辣椒酱和干辣椒中罗丹明 B 的检测。

2、溶液配置

- 1) 用甲醇溶解罗丹明标准品配置成 1.0 µg/ml 标液，取 100 µl 1.0 µg/ml 用 50% 甲醇-水定容至 10 ml，为 10 ng/ml 标液。加标时取 1ml 10 ng/ml 标液加入到 1 g 实际辣椒样品中；
- 2) 2%氨水甲醇：取 2 ml 氨水，用甲醇定容至 100 ml；

- 3) 1%磷酸水：取 1ml 磷酸，用水定容至 100 ml；
- 4) 50%甲醇-水溶液：甲醇和水按照体积比 1:1 混合，即得。

3、提取步骤

- 1) 取 1 g 干辣椒，加入 10 ml 乙腈，超声提取 10 min，取上清液；
- 2) 残渣用 10 ml 乙腈重复提取两次，合并三次提取的上清液；
- 3) 上清液在 50 度水浴旋蒸至尽干，注意不能完全蒸干，再用 6 ml 1%磷酸水溶液超声溶解，待 SPE 净化净化。

4、SPE 柱净化过程

SPE 柱：月旭 Welchrom[®] P-SCX 固相萃取柱，200 mg/6 ml

活化：5 ml 甲醇，5 ml 水；

上样：加入待净化液，弃去流出液；

淋洗：依次加入 5 ml 水，10 ml 甲醇，弃去流出液并抽干小柱；

洗脱：10 ml 2%氨水甲醇溶液，收集流出液；

复溶：洗脱液 50 °C 旋蒸至尽干，用 50%甲醇-水定容至 1 ml，过膜后上机测定。

- 注意：**
- 1) 进行加标回收率实验时，往 1 g 干辣椒中加入 1 mL 10 ng/mL 的标液；
 - 2) 罗丹明 B 标准溶液进样用 50%甲醇-水溶液稀释上机，能够获得理想的色谱峰型；
 - 3) 过柱速率不能太快，否则回收率不理想；

- 4) 所用实验器材尽量清洗干净，特别是旋转蒸发用的茄形瓶，一定要清洗干净，否者会造成交叉污染，影响实验测定结果，原因是荧光检测器的灵敏度太高（这个步骤非常重要）；
- 5) 旋蒸不要太干，旋蒸至近干即可，否者回收率不够理想，超声溶解保证复溶完全；
- 6) 淋洗时使用 10 ml 甲醇不能淋洗完全，可适当加大甲醇的体积进行淋洗去除杂质。

5、色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate[®]XB-C18, 4.6×250 mm, 5 μm；

流动相：75%甲醇-水溶液；

流速：1.0 mL/min

柱温：30 °C

检测波长：激发波长 550 nm，发射波长 580 nm

进样量：20 μL

6、色谱图或者加标回收率结果

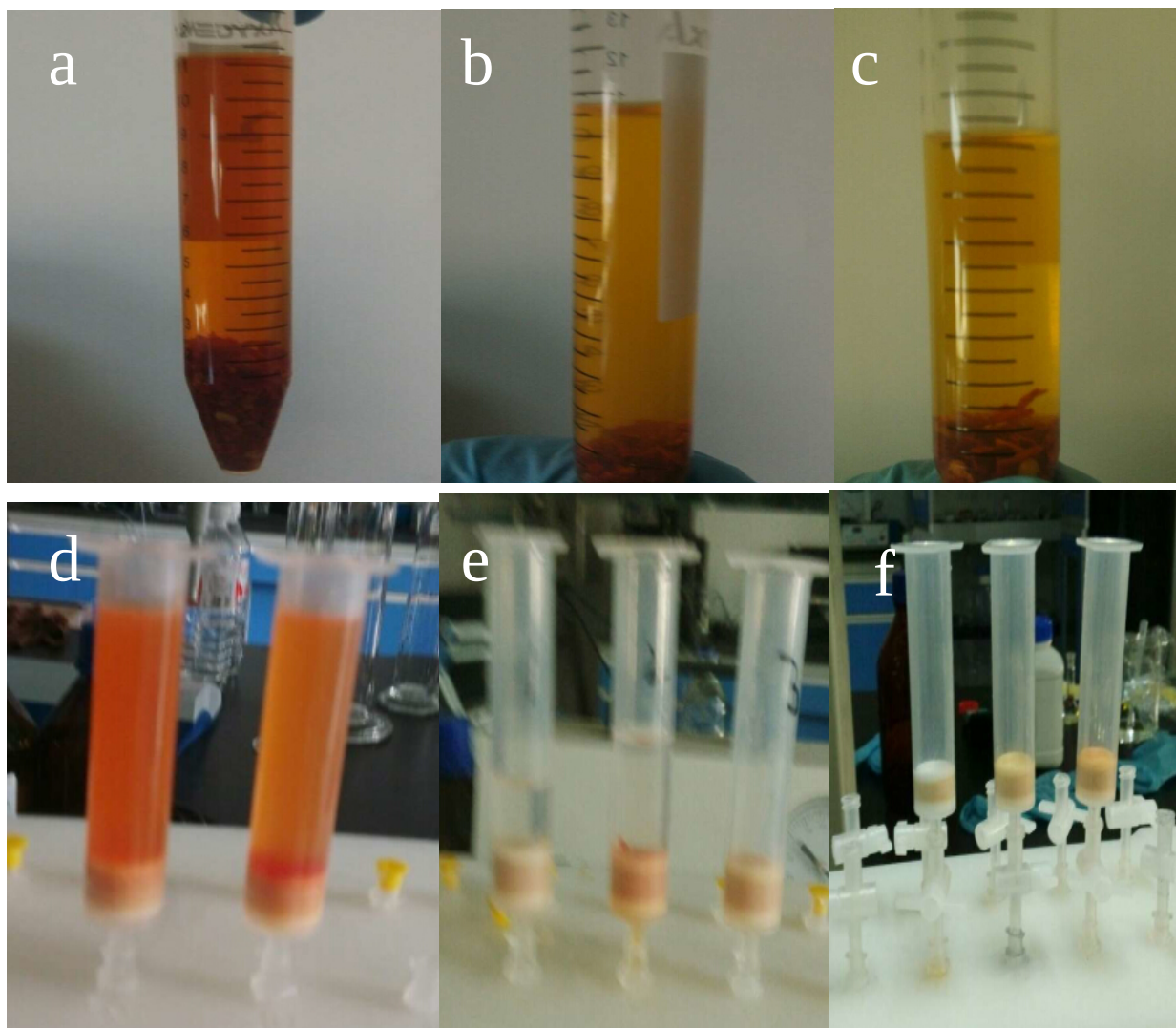


图 1：干辣椒中罗丹明 B 固相萃取净化过程图（图 a-c：干辣椒样品提取三次效果图；图 d：干辣椒样品溶液上样效果图；图 e：干辣椒样品淋洗去除杂质效果图，图 f：干辣椒样品溶液洗脱效果图）

mV

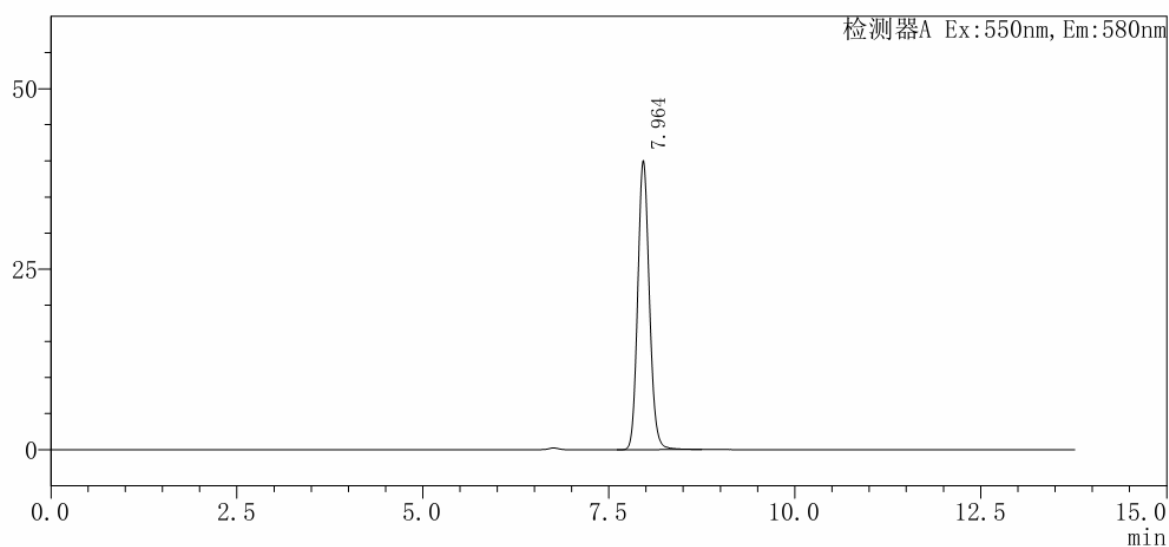


图 2: 罗丹明 B 标准溶液色谱图 (进样浓度: 10.0 ng/ml)

mV

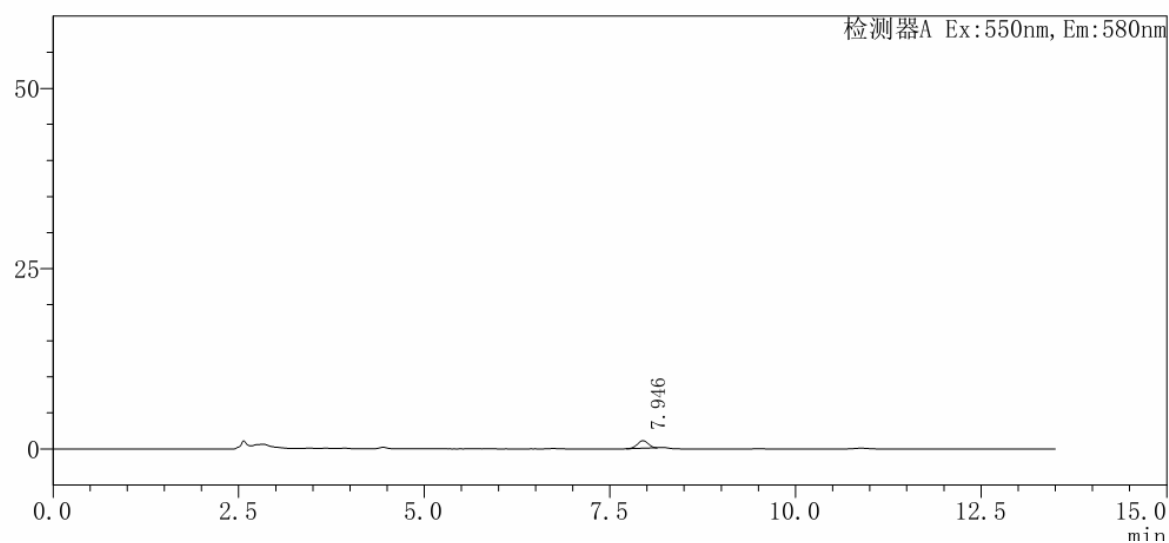


图 3: 实际干辣椒样品色谱图

mV

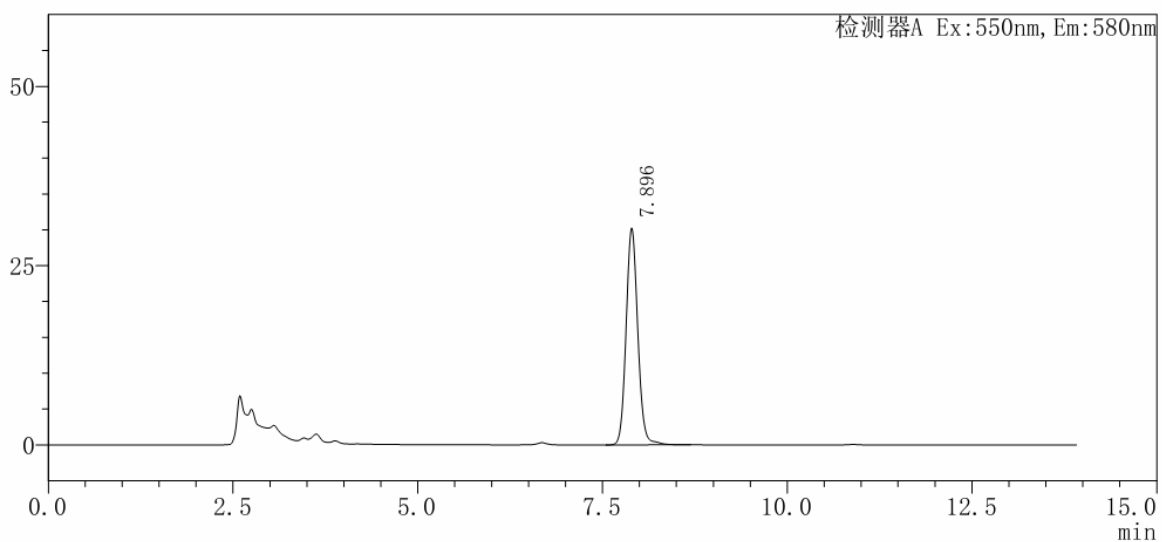


图 4: 实际干辣椒样品加标色谱图 (加标浓度: 10.0 $\mu\text{g/kg}$)

表 1, 罗丹明 B 加标回收率结果

样品名称	原始含量(mg/kg)	加标含量($\mu\text{g/kg}$)	回收率(%)
1	-	10.0	111.0
2	-	10.0	93.9
3	-	10.0	104.0
4	-	10.0	89.2
5	-	10.0	80.1