

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）

1、适用范围

适用于辣椒酱中罗丹明 B 的检测。

2、检测原理

采用非极性有机溶剂（正己烷+丙酮）将罗丹明 B 从辣椒酱中溶解并提取，提取液过中性氧化铝 SPE 小柱吸附罗丹明 B，然后用非极性有机溶剂（正己烷+丙酮）洗脱样品油脂和内源性干扰物，再用极性有机溶剂（甲醇-水）将罗丹明 B 从小柱上洗脱，供仪器分析

3、提取步骤

取辣椒酱 1 g，置入 15 ml 离心管中，加入 10 ml 20% 丙酮-正己烷溶液，超声提取 10 min，离心后取上清液。重复提取两次，合并三次提取的上清液，待 SPE 净化。

4、SPE 柱净化过程

SPE 柱：月旭 Welchrom[®]罗丹明 B 专用固相萃取柱，3 g/6 mL

- 1) 活化：10 ml 20% 丙酮-正己烷溶液；
- 2) 上样：将提取好的样品溶液加入小柱中，流速不宜过快；
- 3) 淋洗：30 ml 20% 丙酮-正己烷淋洗至过柱流出液体为无色，弃去流出液，

抽干小柱，

4) 洗脱：10 ml 80% 甲醇-水溶液，收集洗脱液，用 80% 甲醇-水溶液定容至 10 mL，上机测定。

注意：1) 进行加标回收率实验时，往 1 g 辣椒酱中加入 40 mg/mL 的标液 0.125mL；

2) 配置 25 ml 40mg/ml 罗丹明 B 标准溶液，用 20% 丙酮正己烷无法溶解，需加入 2ml 甲醇助溶解。

3) 将上清液加入月旭 Welchrom[®]罗丹明 B 专用固相萃取柱中，含罗丹明 B 的样品提取液在柱上部会出现鲜亮的粉红色的荧光条带，且粉红条带随含量的增加而加深和加宽，不含罗丹明 B 的样品提取液不会出现粉红色条带，只会呈现黄红色的不清晰的宽带；

4) 用含 20% 丙酮-正己烷淋洗小柱，粉红色的条带不下移，但更清晰，其余的黄红色带下移可大部分被洗脱出，可判断为含罗丹明 B 的可疑样品；

5) 待洗柱的流出液无色时，使用 10 ml 80% 甲醇-水溶液洗脱，将罗丹明 B 色带洗下并收集。

6) 罗丹明 B 标准溶液进液相时用 80% 甲醇-水溶液稀释上机；

7) 过柱速率不能太快，否则回收率不理想；

5、色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate[®]XB-C18, 4.6×150 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：550 nm

进样量：20 μ L

6、色谱图或者加标回收率结果

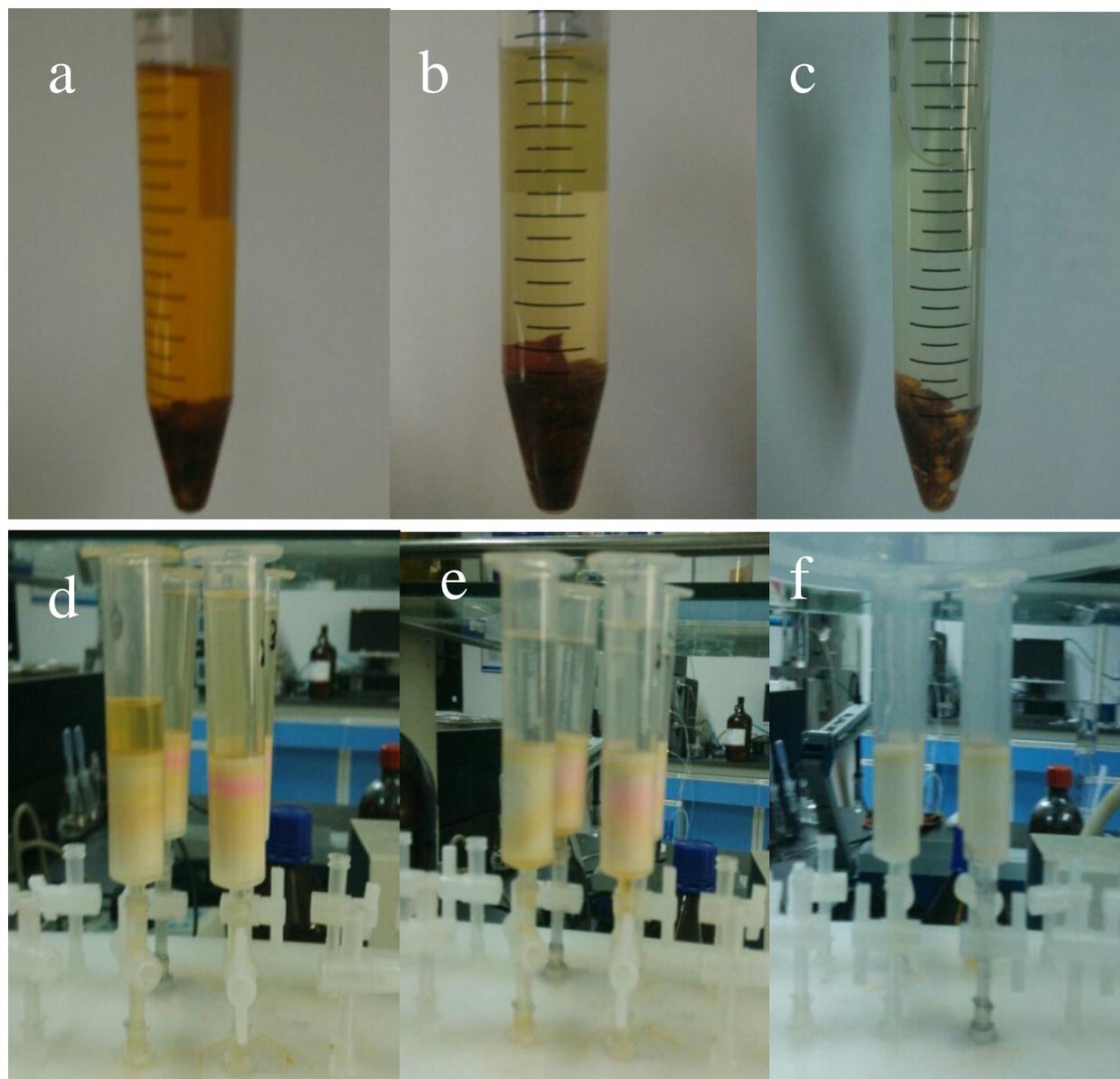


图 1: 辣椒酱中罗丹明 B 固相萃取净化过程图 (图 a-c: 干辣椒样品提取三次效果图; 图 d: 辣椒酱样品溶液上样效果图; 图 ce: 辣椒酱样品淋洗去除杂质效果图, 图 d: 辣椒酱样品洗脱效果图)

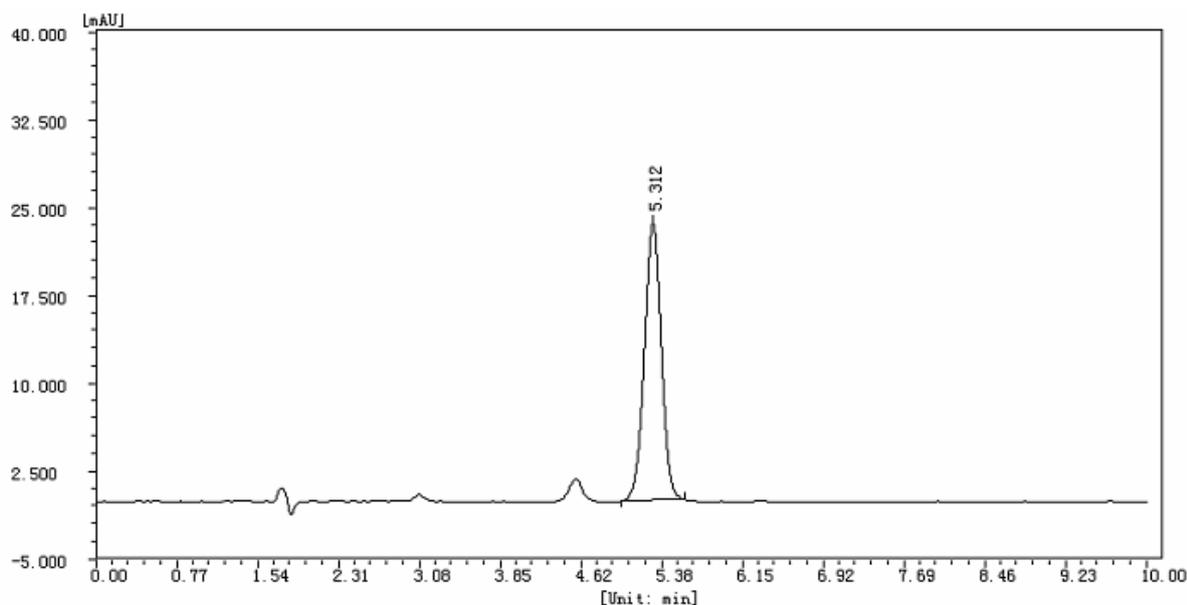


图 2: 罗丹明 B 标准溶液色谱图 (进样浓度: 1.0 $\mu\text{g/ml}$)

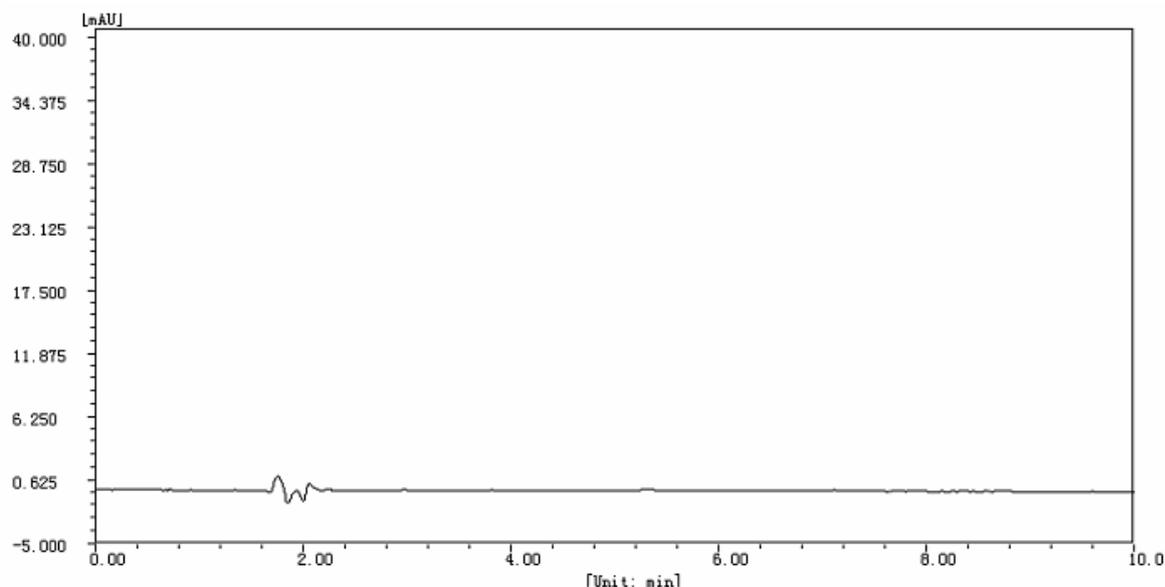


图 3: 实际辣椒酱样品色谱图

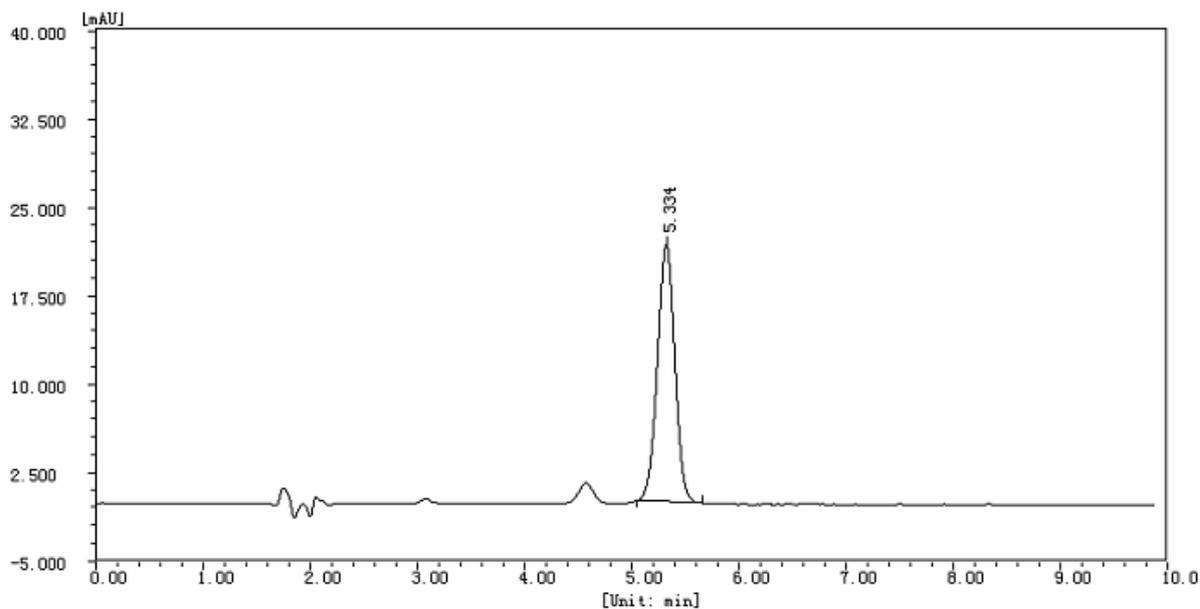


图 4：实际辣椒酱样品加标色谱图（加标浓度：1.0 mg/kg）

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(mg/kg)	回收率(%)
1	-	1.0	93.6
2	-	1.0	96.7
3	-	1.0	93.8