

辣椒粉中鹼性橙及羅丹明 B 檢驗方法

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於辣椒粉中鹼性橙(chrysoidine G)及羅丹明 B (rhodamine B)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC/MS/MS)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 液相層析串聯質譜儀：
 - 2.1.1.1. 離子源：電灑離子化正離子(positive electrospray ionization, ESI⁺)。
 - 2.1.1.2. 層析管：Agilent poroshell 120 EC-C18，2.7 μm ，內徑 4.6 mm $\times$ 10 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
 - 2.1.3. 離心機(Centrifuge)：可控制溫度達 4°C 以下，轉速可達 10000 $\times$ g 以上者。
 - 2.1.4. 漩渦混合器(Vortex mixer)
 - 2.2. 試藥：乙腈採用液相層析級；甲酸及氯化鈉採用試藥特級；去離子水(比電阻於 25°C 可達 18 M Ω ·cm 以上)；鹼性橙鹽酸鹽及羅丹明 B 對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 容量瓶：50 mL 及 1000 mL。
 - 2.3.2. 離心管：50 mL，PP 材質。
 - 2.3.3. 濾膜：孔徑 0.45 μm ，Nylon 材質。
 - 2.4. 移動相溶液之調製：
 - 2.4.1. 移動相溶液 A：

取甲酸 1 mL，加去離子水 1000 mL，混合均勻，以濾膜過濾後，供作移動相溶液 A。
 - 2.4.2. 移動相溶液 B：

取乙腈供作移動相溶液 B。
 - 2.5. 標準溶液之配製：

取相當於鹼性橙對照用標準品及羅丹明 B 對照用標準品各約 50 mg，精確稱定，分別以乙腈溶解並定容至 50 mL，作為標準原液(1000 $\mu\text{g/mL}$)。使用時精確量取鹼性橙與羅丹明 B 標

準原液各 0.5 mL 混合後，以乙腈定容至 50 mL，供作標準溶液(各 10 µg/mL)。

2.6. 檢液之調製：

精確秤取檢體 1 g，加入乙腈 10 mL，漩渦混合 30 秒，以超音波振盪 20 分鐘，於 4°C 以 10000×g 離心 10 分鐘，取上清液。沉澱物再加乙腈 10 mL，漩渦混合 30 秒，以超音波振盪 20 分鐘，於 4°C 以 10000 × g 離心 10 分鐘。合併上清液，加入水 2.5 mL 及氯化鈉 1 g 搖勻，於 -20°C 下冷凍 2 小時，於 4°C 以 10000 × g 離心 5 分鐘，取上清液 900 µL 加入乙腈 100 µL 作為檢液。

2.7. 基質匹配檢量線製作：

取空白檢體，依 2.6 節調製空白檢液，分別量取空白檢液 900 µL (a)，分別加入 10 µg/mL 標準溶液 2~50 µL，再加入乙腈至 1000 µL (b) 混合均勻，依下列條件進行分析。就定量離子波峰面積與對應之濃度，製作成 0.02~0.5 µg/mL 之基質匹配檢量線。

液相層析串聯質譜測定條件^(註 1)：

移動相溶液：A 液與 B 液以下列條件進行梯度分析。

時間(min)	A (%)	B (%)
0.0 → 10.0	95 → 0	5 → 100
10.0 → 13.0	0 → 0	100 → 100
13.0 → 13.1	0 → 95	100 → 5
13.1 → 15.0	95 → 95	5 → 5

移動相流速：1 mL/min。

注入量：20 µL。

離子噴灑電壓(Ion spray voltage)：4.5 kV。

氣簾氣體(Curtain gas)：10 psi。

碰撞氣體(Collision gas)：5 psi。

霧化氣體(Gas 1)：50 psi。

加熱氣體(Gas 2)：50 psi。

加熱溫度(Temperature)：500°C。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。偵測離子、去集簇電壓(declustering potential)及碰撞能量(collision energy)如附表。

註 1：上述測定條件分析不適時，依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

2.8. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各 20 μ L，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依 2.7.節條件進行分析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及多重反應偵測相對離子強度^(註 2)鑑別之，並依下列計算式求得檢體中鹼性橙或羅丹明 B 之含量(μ g/g)：

$$\text{檢體中鹼性橙或羅丹明 B 之含量}(\mu\text{g/g}) = \frac{C \times V \times F}{M}$$

C：由基質匹配檢量線求得鹼性橙或羅丹明 B 之濃度(μ g/mL)

V：乙腈萃取液體積(20 mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

F：稀釋倍數，由 b/a 求得

註 2：相對離子強度由定性離子與定量離子之波峰面積相除而得($\leq 100\%$)。容許範圍如下：

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	± 20
> 20~50	± 25
> 10~20	± 30
≤ 10	± 50

附註：1. 本檢驗方法之定量極限均為 0.5 μ g/g。

2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

附表、鹼性橙及羅丹明B之液相層析串聯質譜儀多重反應偵測模式參數

分析物		定量離子對			定性離子對		
英文名	中文名	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)	去集簇電壓 (V)	碰撞能量 (V)	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)	去集簇電壓 (V)	碰撞能量 (V)
Chrysoidine G	鹼性橙	213 > 121	55	32	213 > 77	55	34
Rhodamine B	羅丹明 B	443 > 399	86	49	443 > 355	86	69