

高效液相色谱荧光检测法测定辣椒油、辣椒粉、火锅底料中的罗丹明 B 染料

汤建春¹, 龙朝阳², 许秀敏², 吴瑞英¹, 孟宇航¹

(1. 广东省江门市疾病预防控制中心, 广东江门 529030; 2. 广东省疾病预防控制中心, 广州 510300)

摘要 目的: 建立高效液相色谱荧光检测法测定辣椒油、辣椒粉、火锅底料中的罗丹明 B 染料的分析方法。方法: 样品经 30% 甲醇水溶液提取后, 采用 C₁₈ 反相色谱柱分离, 以甲醇和水为流动相进行梯度洗脱, 荧光检测器测定, Ex: 550 nm, Em: 580 nm。结果: 罗丹明 B 染料在 2.0 ng/ml ~ 200 ng/ml 质量浓度范围内线性关系良好, 相关系数 r^2 为 0.9998, 方法检出限为 0.02 mg/kg, 方法回收率为 83% ~ 102%, 精密度 (RSD) 1.3% ~ 3.2%。结论: 该方法简便、快速、灵敏度高、回收率高, 适用于辣椒粉和辣椒油和火锅底料中罗丹明 B 染料的测定。

关键词 高效液相色谱; 荧光检测器; 罗丹明 B

中图分类号 O657.7+2

文献标识码 A

文章编号 1004-8685(2011)12-2843-02

Determination of rhodamine B in chili powder, chili oil and hotpot additive by high performance liquid chromatography with fluorescence detector

TANG Jian-chun¹, LONG Chao-yang², XU Xiu-min², WU Rui-ying¹, MENG Yu-hang¹

(1. Jiangmen Center for Disease Control and Prevention, Jiangmen 529030, China; 2. Center for Disease Control and Prevention of Guangdong Province, Guangzhou 510300, China)

[Abstract] **Objective:** A method was developed for determination of rhodamine B in chili powder, chili oil and hotpot additive by high performance liquid chromatography with fluorescence detector. **Methods:** The samples were extracted with 30% methanol-water, the target analytes were separated on C₁₈ reversed-phase column, detected by fluorescence detector with gradient elution using methanol-water as mobile phases, Ex: 550 nm, Em: 580 nm. **Results:** The linear range was 2.0 ng/ml ~ 200 ng/ml, $r^2 = 0.9998$, the detection limit was 0.02 mg/kg, recovery rate was 83% ~ 102%, RSD was 1.3% ~ 3.2%. **Conclusion:** The method is simple, rapid, highly sensitive with high recovery rate. It is suitable for the determination of rhodamine B in chili powder, chili oil and hotpot additive.

[Key words] High performance liquid chromatography; Fluorescence detector; Rhodamine B

食品是人类赖以生存和发展的基础, 食品安全问题一直是人们关注的热点。这两年常有在某些食品中添加非食用染料罗丹明 B 的报道, 罗丹明 B 不能作为食品添加剂, 原因是它有强烈的致癌作用, 罗丹明 B 又称玫瑰红 B、蕊香红 B、玫瑰精 B 和若丹明 B, 是一种人工合成碱性荧光染料, 常温条件下为绿色结晶或红紫色粉末, 几乎无异味, 易溶于水、甲醇、乙醇, 微溶于丙酮、氯仿、盐酸和氢氧化钠溶液, 甲醇溶液为玫瑰红色, 且有强烈的荧光。

根据国际癌症研究署 (IARC) 化学品致癌风险评价表明: 摄取、吸入以及皮肤接触该物质均会造成急性和慢性的中毒伤害。有动物实验表明, 该物质吸入时有致癌作用, 可能引起诱变或致畸。我国国家标准 GB2760-2011 中, 未将罗丹明 B 纳入食品添加剂范围。但是, 由于罗丹明 B 比其它食用水溶性染料如诱惑红、赤鲜红、柠檬黄、日落黄等更易溶于果脯、烤虾、蜜饯、辣椒制品上染色且不易褪色, 而且成本低, 因此一些不法商贩用罗丹明染料对这些食品进行染色, 以次充好, 以假

冒真, 欺骗损害消费者, 危害消费者的身体健康。由于禁止在食品加工中使用, 所以没有制定安全摄入量, 国家检测机构在检验食品时不可能对法定范围以外的成百上千种工业染料进行常规抽查, 因此形成检测上的漏洞。本文建立了用高效液相色谱荧光检测法测定食品中罗丹明 B 的方法研究, 本方法检测灵敏度高、检出限低、回收率好, 干扰少, 通过对实际样品的检测分析, 结果令人满意。

1 材料与方法

1.1 仪器与器材

瓦里安 Prostar-240 高效液相色谱仪配 363 荧光检测器, 电子天平: 感量为 0.01 g 和 0.1 mg, 超声波清洗器, 漩涡混匀器, 离心机: 转速大于 5000 r/min, 2 ml 具塞 PVC 离心管, 0.22 μ m 混合系微孔滤膜。

1.2 试剂

除特殊注明外, 所有试剂均为分析纯, 水为二级蒸馏水。

甲醇: 色谱纯。30% 甲醇水。

罗丹明 B 标准溶液: 称取罗丹明 B (分析纯试剂 沈阳试剂三厂) 10.0 mg, 用甲醇溶解并定容至 100 ml, 配成含量为

作者简介 汤建春 (1965-), 女, 本科, 副主任技师, 主要从事食品安全和饮用水理化检验工作。

100 $\mu\text{g/ml}$ 的标准储备液。将标准储备液稀释成浓度为 0.0 $\mu\text{g/ml}$ 、0.002 $\mu\text{g/ml}$ 、0.005 $\mu\text{g/ml}$ 、0.010 $\mu\text{g/ml}$ 、0.020 $\mu\text{g/ml}$ 、0.050 $\mu\text{g/ml}$ 、0.10 $\mu\text{g/ml}$ 、0.20 $\mu\text{g/ml}$ 标准系列溶液。置于 0℃ ~ 4℃ 避光保存。

1.3 色谱条件

色谱柱: C18 4.6 mm $\times$ 250 mm (5 μm); 流动相: 甲醇和水, 梯度洗脱, 梯度洗脱程序见表 1, 流速 0.8 ml/min, 柱温: 30℃, 进样量: 10 μl , 检测器: 荧光检测器, 激发波长 (Ex): 550 nm, 发射波长 (Em) 580 nm。

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间 (min)	甲醇 (%)	水 (%)
0	40	60
4	80	20
10	80	20
10.1	40	60

1.4 样品的制备

称取 2.5 g 样品 (精确至 0.01 g) 于 25 ml 比色管中, 用 30% 甲醇水定容至刻度, 与漩涡混匀器上混匀提取 2 min, 再超声提取 15 min 后, 放置冰箱 0℃ ~ 4℃ 过夜, 第二天取出比色管后用一次性吸管将上层的油脂层去掉, 再用一次性 5 ml 注射器 (去掉针头) 吸取 2 ml 清液于 2 ml 具塞 PVC 离心管, 于离心机 4000 r/min 离心 5 min, 下清液过 0.22 μm 微孔滤膜于液相用测量瓶中, 供高效液相色谱仪分析。

2 结果与讨论

2.1 流动相的选择

根据文献报道, 分别试用了甲醇和水以及甲醇和溴代十六烷基三甲胺水溶液 (0.4 g/L) 作为流动相, 且以不同体积比分别作了测试, 实验表明, 用甲醇和水作为流动相, 且用梯度洗脱的方式测试标准和样品, 能达到满意的结果, 灵敏度高, 检出限低, 既可将目标峰与前面的杂质峰较好的分离, 又能得到合适的目标峰保留时间。

2.2 检测器及检测波长的选择

根据文献报道, 高效液相色谱法测定食品中的罗丹明 B, 既可用紫外检测器检测, 又可用荧光检测器检测, 但紫外检测器的灵敏度低, 荧光检测器灵敏度高, 考虑到能让加入低含量罗丹明 B 的样品也能检测出, 因此选用荧光检测器测定。

2.3 标准曲线和线性范围及检出限

将罗丹明 B 标准系列浓度 0.0 $\mu\text{g/ml}$ 、0.002 $\mu\text{g/ml}$ 、0.005 $\mu\text{g/ml}$ 、0.010 $\mu\text{g/ml}$ 、0.020 $\mu\text{g/ml}$ 、0.050 $\mu\text{g/ml}$ 、0.10 $\mu\text{g/ml}$ 、0.20 $\mu\text{g/ml}$ 标准系列溶液分别进样 2 次, 进样量 10 μl , 记录色谱图, 以罗丹明 B 浓度为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 由仪器软件自动画出工作曲线图, 见图 1, 得线性方程 $Y = 2.4152 \times 10^7 X - 8.2446 \times 10^4$, $r^2 = 0.9998$ 。标准和样品图谱见图 2、图 3。样品检出限为 0.02 mg/kg。

2.4 回收率及精密度

在最佳工作条件下, 分别测定了 0.1 mg/kg、1 mg/kg、2 mg/kg 加标水平时罗丹明 B 的回收率, 结果见表 2, 结果表明, 本方法有较好的回收率。

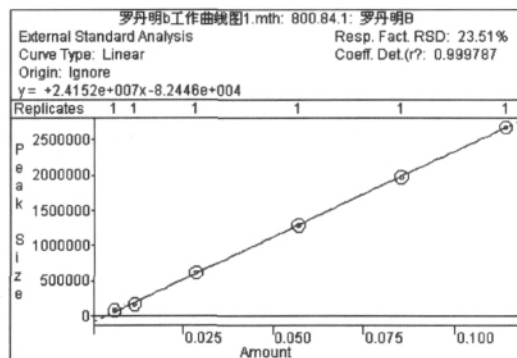


图 1 罗丹明 B 工作曲线

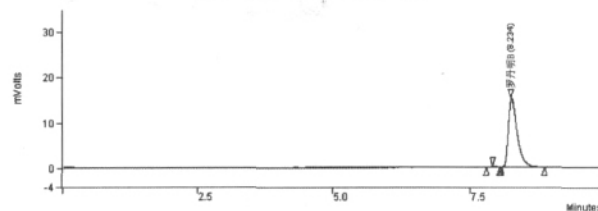


图 2 罗丹明 B 标准溶液色谱图

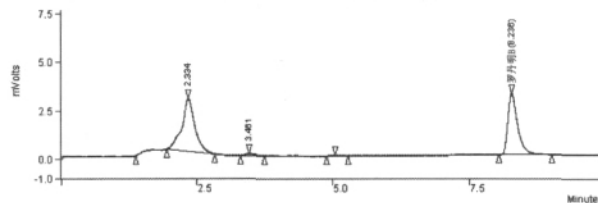


图 3 火锅底料样品色谱图

表 2 罗丹明 B 的加标回收率 (n=6)

样品	本底值 (mg/kg)	加标量 (mg/kg)	平均值 (mg/kg)	回收率 (%)	RSD (%)
辣椒酱	0.010	0.1	0.0956	85.6	2.9
	0.010	1.0	1.034	102	1.3
	0.010	2.0	2.051	102	1.5
辣椒油	0.043	0.1	0.135	92.0	2.7
	0.043	1.0	1.041	99.8	2.3
	0.043	2.0	2.036	99.6	2.1
火锅底料	0.011	0.1	0.0947	83.7	3.2
	0.090	1.0	0.985	89.5	2.6
	2.13	2.0	4.11	99.0	2.1

3 结论

本文采用高效液相色谱荧光检测法测定辣椒油和辣椒粉及火锅底料中的罗丹明 B 染料, 方法前处理简便, 快速, 灵敏度和回收率高, 重现性好, 且方法无太多的基质干扰, 方便基层单位由于试剂难买和前处理器材不全时用此方法测定。

参考文献

- 王伟, 韩丽. 食品中罗丹明 B 的高效液相色谱荧光检测. 分析仪器, 2008, 1: 28-30.
- 胡侠, 肖光. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定辣椒粉及辣椒油中的 7 种罗丹明染料. 色谱, 2010, 28(6): 590-595.
- 黄百芬, 铁晓威. 固相萃取-高效液相色谱荧光检测法测定染色虾米中的碱性玫瑰精含量. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(1): 17-19.
- 颜范勇, 陈立功, 闫喜龙, 等. 罗丹明类荧光染料的合成及应用. 化学进展, 2006, 18(2/3): 252-261.

(收稿日期: 2011-08-09)