

高效液相色谱法同时测定食品中对位红和苏丹色素等 8 种脂溶性染料

吴 敏, 林建忠, 邹 伟, 吴抒怀, 周 昱

(厦门出入境检验检疫局, 福建 厦门 361012)

摘 要: 研究并建立了同时测定食品中 8 种脂溶性染料的高效液相色谱法, 8 种染料包括: 对位红、苏丹 、苏丹 、苏丹 、苏丹 、苏丹橙 G、苏丹红 7B、苏丹红 G。优化了色谱条件。8 种脂溶性染料标准在 0.1 ~ 5 mg/L 范围内与峰面积具有良好的线性。辣椒酱及酱油样品中 8 种染料的平均回收率为 87% ~ 103%, 检出限达 0.05 mg/kg。

关键词: 脂溶性染料; 高效液相色谱; 食品; 苏丹色素; 对位红

中图分类号: O657.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 - 4957(2006)03 - 0074 - 03

Simultaneous Determination of Eight Fat-soluble Dyes in Food by Reversed-phase High Performance Liquid Chromatography

WU Min, LIN Jian-zhong, ZOU Wei, WU Shu-huai, ZHOU Yu

(Xiamen Entry - exit Inspection and Quarantine Bureau, Xiamen 361012, China)

Abstract: A reversed-phase high performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of 8 fat-soluble dyes, namely Para red, Sudan orange G, Sudan red 7B, Sudan red G, Sudan , , and N , in food was developed. The calibration curves for the eight fat-soluble dyes were linear over the concentration ranges of 0.1 - 5 μ g/mL and their correlation coefficient ranges were of 0.999 7 - 1.000 0. The average recoveries of the eight fat - soluble dyes ranged from 87% to 103% ($n = 6$) at the spiking levels of 0.5 ~ 5 mg/kg.

Key words: Fat-soluble dyes; HPLC; Foods; Sudan dyes; Para red dye

对位红和苏丹色素都属于偶氮类化工染色剂, 主要用于润滑油以及生化毒理学研究中的着色, 苏丹系列有苏丹 、 、 、苏丹橙 G、苏丹红 7B、苏丹红 G 等。对位红和苏丹色素中的“偶氮苯”被降解后, 就会产生“苯胺”, 过量的“苯胺”被吸入人体, 可能会造成组织缺氧, 呼吸不畅, 引起中枢神经系统、心血管系统和其他脏器受损, 甚至导致不孕症。我国和欧盟都禁止其用于食品生产。目前关于食品中对位红和苏丹污染物的检测控制研究已引起了各国专家的广泛重视^[1-6]。

2005 年 3 月 29 日制订的国家标准 GB/T19681 - 2005^[7]只能同时检测苏丹 ~ , 本方法研究并建立了辣椒、辣椒制品及调味品等食品中对位红和苏丹 ~ 、苏丹橙 G、苏丹红 7B、苏丹红 G 的高效液相色谱 / 二极管阵列紫外检测器 (HPLC - DAD/UV) 同时测定方法。方法具有快速、准确、灵敏、抗干扰能力强的特点, 对食品中多种脂溶性染料的快速同时测定有较好的参考价值。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

1.1.1 **仪 器** Agilent 1100 高效液相色谱仪, 带二极管阵列检测器; IKA T18 分散机; LDZ 5-2 离心机。

1.1.2 **试 剂** 乙腈 (MERCK, HPLC); 甲酸 (TED - LA, HPLC); 超纯水。对位红标准品 (95.5%, Dr. Ehrenstorfer)。苏丹系列色素标准品: 苏丹 (97%)、苏丹 (90%)、苏丹 (96%)、苏丹 (97%)、苏丹橙 G (85%), 均为 Sigma - Aldrich, 苏丹红 G、苏丹红 7B, 均为 Fluka chemie GmbH。

标准储备液: 准确称取对位红 20.0 mg, 苏丹系列色素各 50.0 mg (按产品标明的纯度折算),

收稿日期: 2005 - 06 - 20; 修回日期: 2005 - 08 - 06

作者简介: 吴 敏 (1974 -), 女, 福建闽侯人, 工程师, Tel: 0592 - 5675981, E - mail: xmw@smc.net.cn

苏丹 和苏丹 先用少量氯仿溶解，其余均用乙腈溶解，并分别移入 100 mL 容量瓶，乙腈定容，配制标准储备液。

标准工作液：取上述标准储备液以乙腈稀释至所需的浓度。

1.2 色谱条件

色谱柱：Zorbax 80A Extend-C18 柱 (4.6 mm ×250 mm, 5 μm)；流速：0.8 mL/min；进样量：10 μL；流动相：0.1%甲酸水溶液 (A)和 0.1%甲酸乙腈溶液 (B)；梯度洗脱程序：0~20 min B 由 70%~95%，20~30 min B 由 95%~100%，保持 5 min，35.1 min 变为 30% A 和 70% B，保持 5 min。

1.3 分析步骤

粉状样品称取 10.00 g，固体样品和液体样品称取 20.00 g，加入 100 mL 乙腈，在高速分散器 18 000~22 000 r/min 匀浆 2 min，3 000 r/min 离心 5 min，取上清液，过 0.45 μm 滤膜，供 HPLC 分析，外标法定量。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件优化

2.1.1 流动相的优化 实验选择 0.1%甲酸水溶液 (A)和 0.1%甲酸乙腈溶液 (B)做为流动相，进行梯度洗脱，有效地避开了天然辣椒色素的干扰，梯度洗脱程序见实验部分。欧盟方法流动相为 16.5% 乙酸水溶液和乙腈，酸度较高，对柱子要求也比较高；而国标方法的流动相由 4 种溶剂组成，体系比较复杂。

2.1.2 检测波长的选择 在实验条件下，对位红和苏丹 、 在 485 nm 附近有一特征吸收峰；苏丹红 G、苏丹 在 500 nm 附近有一特征吸收峰；苏丹 在 515 nm 处有一特征吸收峰；苏丹红 7B 在 538 nm 处有一特征吸收峰；苏丹橙 G 在 432 nm 处有一特征吸收峰。由于这 5 个波长位于可见光区，很多物质在此区域几乎没有吸收，背景干扰小，基线稳定，因此分别选择这 5 个波长做为测定波长。而这 8 种着色剂在 700 nm 处均吸收很小，故选择 700 ±30 nm 做为参比波长。其中苏丹橙 G 由于标准品纯度不高在实验条件下有两个峰。

2.2 色谱分离与测定

图 1 为混合标准品 (5 mg/L) 色谱图，8 种脂溶性染料的保留时间依次为苏丹橙 G 5.4 min、对位红 10.6 min、苏丹红 G 12.7 min、苏丹 14.0 min、苏丹 20.7 min、苏丹 24.7 min、苏丹红 7B 29.1 min、苏丹 31.0 min。图 2 为原料辣椒油空白样品色谱图。

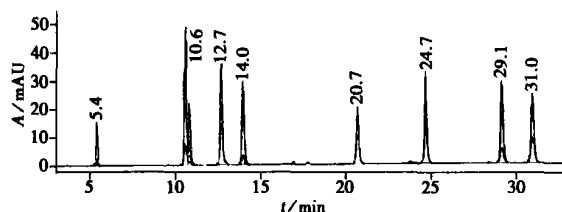


图 1 混合标准品色谱图

Fig. 1 Chromatograms of mixed standards of 8 fat-soluble dyes of Sudan

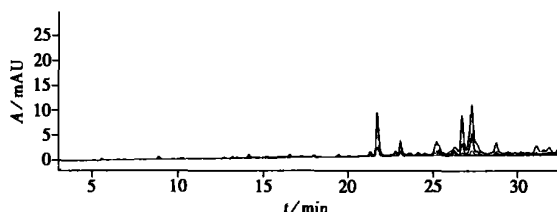


图 2 原料辣椒油空白样品色谱图

Fig. 2 Chromatograms of blank sample of raw hot chili oil

2.3 工作曲线

在选定的色谱条件下，配制标准工作液系列 0.10、0.20、0.50、1.0、5.0 mg/L 进行色谱分析，绘制工作曲线，结果见表 1。由表 1 可见，本系统测定 8 种脂溶性染料的线性范围宽，灵敏度高。

2.4 样品的回收率

按照本文确定的实验方法测定样品，效果良好。此外采用辣椒酱和酱油两种样品进行方法的回收率试验，结果列于表 2。从表 2 可见在选定实验条件下，8 种脂溶性染料均具有良好的回收率。

表 1 8种苏丹系列着色剂测定的工作曲线、相关系数和相对标准偏差 (n = 6)

Table 1 Regression equations, correlation coefficients and relative standard deviations for 8 fat-soluble dyes of Sudan (n = 6)

Compound	Regression equation *	r	RSD <i>s_r</i> /%	Detection limit ρ/(mg · L ⁻¹)
Para red	Y = 63. 136 X - 1. 079 1	0. 999 9	2. 7	0. 01
Sudan orange G	Y = 31. 624 X - 0. 787 4	0. 999 8	2. 8	0. 04
Sudan red G	Y = 49. 722 X - 0. 833 5	0. 999 9	3. 1	0. 01
Sudan	Y = 43. 168 X - 0. 930 8	1. 000 0	3. 3	0. 01
Sudan	Y = 32. 622 X - 0. 463 9	1. 000 0	2. 9	0. 02
Sudan	Y = 54. 581 X - 2. 835 4	0. 999 7	3. 6	0. 01
Sudan red 7B	Y = 54. 611 X - 2. 327 5	0. 999 7	3. 5	0. 01
Sudan	Y = 52. 285 X - 4. 303 5	0. 999 8	3. 2	0. 02

* Y: peak area; X: content(mg/L)

表 2 样品回收率 (n = 6)

Table 2 Recovery results for samples (n = 6)

Compound	Sample	Added 0. 5 mg/kg		Added 2. 5 mg/kg		Added 5 mg/kg	
		Found	Recovery	Found	Recovery	Found	Recovery
		w / (mg · kg ⁻¹)	R /%	w / (mg · kg ⁻¹)	R /%	w / (mg · kg ⁻¹)	R /%
Para red	Hot chili sauce	0. 484	97	2. 548	102	4. 508	90
	Sauce	0. 492	98	2. 436	97	4. 895	98
Sudan orange G	Hot chili sauce	0. 489	98	2. 415	97	5. 005	100
	Sauce	0. 488	98	2. 372	95	4. 789	96
Sudan red G	Hot chili sauce	0. 485	97	2. 449	98	4. 665	93
	Sauce	0. 453	91	2. 566	103	4. 489	90
Sudan	Hot chili sauce	0. 508	102	2. 483	99	4. 880	98
	Sauce	0. 468	94	2. 326	93	4. 566	91
Sudan	Hot chili sauce	0. 484	97	2. 290	92	4. 521	90
	Sauce	0. 437	87	2. 187	88	4. 737	95
Sudan	Hot chili sauce	0. 465	93	2. 501	100	4. 661	93
	Sauce	0. 499	100	2. 411	96	4. 553	91
Sudan red 7B	Hot chili sauce	0. 473	95	2. 333	93	4. 821	96
	Sauce	0. 456	91	2. 269	91	4. 456	89
Sudan	Hot chili sauce	0. 472	94	2. 462	98	4. 374	88
	Sauce	0. 511	102	2. 197	88	4. 505	90

参考文献:

[1] CALB AN I F, CARER IM, MANG I A, et al Development and in-house validation of a liquid chromatography - electrospray tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of Sudan , Sudan , Sudan and Sudan in hot chilli products[J]. J Chromatogr, A, 2004, 1042: 123 - 130.

[2] European Commission Health and Consumer Protection Directorate - General, Directorate D-food Safety: Production and Distribution chain, Analysis and Dosage of the Colorants Sudan Bixin in Chilli Powder and Pepper-base Products[S]. 03 199.

[3] STBOROVA M, MARTNEK V, RYDLOVA H, et al Sudan is a potential carcinogen for humans: Evidence for its metabolic activation and detoxication by human recombinant cytochrome P450 and liver microsomes[J]. Cancer Res, 2002, 62: 5678 - 5684.

[4] 吴惠勤, 黄晓兰, 黄 芳, 等. 食品中苏丹红 1 号的 GC - MS/SM 快速分析方法研究 [J]. 分析测试学报, 2005, 24(3): 1 - 5.

[5] 黄晓兰, 吴惠勤, 黄 芳, 等. GC - MS/SM 法同时测定食品中的苏丹红 ~ [J]. 分析测试学报, 2005, 24(4): 1 - 5.

[6] 喻凌寒, 杨运云, 闫世平, 等. LC - ESI/MS 分析食品中微量苏丹红 ~ [J]. 分析测试学报, 2005, 24(4): 31.

[7] 国标 GB/T19681 - 2005 食品中苏丹红染料的检测方法高效液相色谱法 [S].