

【检验方法研究】

反相高效液相色谱法测定食品中的苏丹红 1 号

甘源, 赵舰, 肖义夫, 王正虹, 顾万江

[摘要] 目的: 建立反相高效液相色谱法测定食品中的苏丹红 1 号的方法。方法: 食品中的苏丹红 1 号经乙醇提取后用反相高效液相色谱二极管阵列检测器 (DAD) 测定。结果: 该方法线性范围从 0.5~1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 标准差为 0.18, 相对标准偏差为 0.73%, 平均回收率为 95.43%, 最低检出限为 0.2 ng, 最低检出浓度为 0.02 mg/kg。人工合成色素 (柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红、亮蓝、靛蓝、靛蓝) 不干扰其测定。结论: 该方法线性范围广、精密度高、准确度好、选择性强, 完全能满足食品中苏丹红 1 号的定性定量分析。

[关键词] 反相高效液相色谱; 食品; 苏丹红 1 号

[中图分类号] R122.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1003-8507 (2005) 12-1760-02

TO DETECT THE SUDAN I IN FOOD USING METHOD OF RE-HPLC. GAN Yuan, ZHAO Jian, XIAO Yi-fu, et al. *Centro for Disease Control and Prevention of Chongqing City, Chongqing, 400042.*

Abstract: Objective: To evaluate the method of detection of Sudan I in foods based on the use of RE-HPLC. **Methods:** Sudan 1 in foods were detected by re-HPLC-DAD after extracted by alcohol. **Results:** This method could detect Sudan I in samples effectively while its concentration varied from 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ to 1 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$. The standard deviation was 0.18, relative standard deviation was 0.73%, and average recovery was 94.43%. 0.2 ng was observed as its detection limit, while the concentration limit was 0.2 mg/Kg. Artificial synthesized pigments had no disturbance in the process. **Conclusion:** This method is validated in terms of detection limits, linearity, sensitivity, accuracy and selectivity in detection of Sudan I in foods.

Key words: Re-HPLC; Foods; Sudan 1

苏丹红 1 号化学名称为 1-偶氮苯基- β -萘酚, 是用于溶解剂、油彩、蜡、地板蜡、机油、鞋油、香皂等化工产品中的一种非生物合成着色剂, 不溶于水易溶于有机溶剂乙醇、乙腈、氯仿等, 分子式: $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$, 分子量: 248。本品具有致癌性, 国内外有关规定均严禁在食品中使用苏丹红 1 号。

1 材料与方法

1.1 原理 苏丹红 1 号染料经乙醇提取后, 超滤, 滤液经高效液相色谱 C_{18} 柱分离, 用二极管阵列 (DAD) 检测器在 478 cm^{-1} 处进行检测, 以保留时间定性, 以峰高或峰面积定量。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 乙腈 (色谱纯)、水 (超纯水, 其电阻率 $> 18.2 \text{ M}\Omega$)、冰醋酸 (分析纯)、无水乙醇 (分析纯)

1.2.2 标准贮备溶液 精密称取 0.1000 g 苏丹红 1 号标准品 (分析纯), 以乙醇溶解并转入 100 ml 容量瓶中, 并以乙醇稀释定容至刻度, 即为 1 g/L 的标准贮备液。

标准系列的配制: 用逐步稀释法将乙醇稀释为 0、0.5、

[作者单位] 重庆市疾病预防控制中心, 重庆, 400042

[作者简介] 甘源 (1972~), 女, 本科, 主管技师, 主要从事食品卫生检验工作。

1.0、2.0、4.0、10.0 及 20.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准系列。

1.2.3 仪器 高效液相色谱仪: Agilent1000 型, 具 DAD 检测器, Agilent ZORBAX C_{18} 柱 (150 $\text{cm} \times 4.6 \text{ mm}$, 3 μm)、万分之一天平、超声波萃取仪

1.3 样品前处理 样品制备: 将采集样品放入一个容量较大的密闭容器中混合均匀。对于固体样品要用打浆机或粉碎机磨细。

1.3.1 甜椒或红辣椒粉 称取 10 g (准确至 0.01 g) 样品于三角瓶中, 用量筒加入 100 ml 乙醇。

1.3.2 粉状调味品 称取 5 g (准确至 0.01 g) 样品于三角瓶中, 用量筒加入 100 ml 乙醇。

1.3.3 调味辣椒酱、原味辣椒酱、辣椒油等, 称取 20 g (准确至 0.01 g) 样品于三角瓶中, 用量筒加入 100 ml 乙醇。

1.3.4 肉及肉制品 称取 20 g (准确至 0.01 g) 样品于三角瓶中, 用量筒加入 100 ml 乙醇。

以上样品经超声提取 1 h 后过滤于三角瓶中, 如果滤液浑浊, 则取滤液于 12000 r/min 离心 10 min, 滤液根据待测物含量的高低进行浓缩或稀释, 测定前取一部分过 0.45 μm 膜, 滤液待测。

1.4 色谱条件 流动相: 0.1% (体积分数) 乙酸 + 乙腈 = 20 + 80;

色谱柱: Agilent ZORBAX C₁₈ 柱 (150 cm×4.6 mm, 3 μm), 柱温: 常温;

流速: 1.0 ml/min, 恒流;

二极管阵列检测器, 检测波长: 478 nm, 峰宽 40 nm, 参考波长 360 nm, 峰宽 100 nm;

进样量: 10 μl 。

1.5 方法 将配制好的标准系列及处理好后的样品于上述色谱条件下测定, 标准色谱图见图 1, 样品色谱图见图 2。

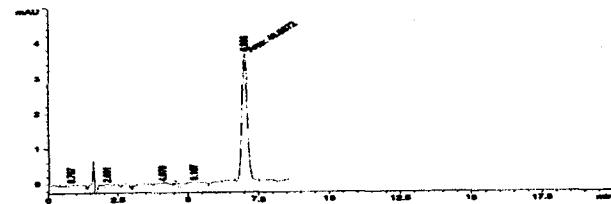


图 1 标准色谱图

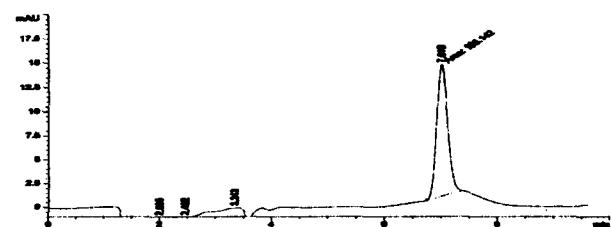


图 2 样品色谱图

2 结果与讨论

2.1 线性范围的测定

2.1.1 标准系列 1 的测定 将 0、0.50、1.0、2.0、4.0、10.0、20.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的标准系列, 每个标准进 10 μl 分析, 测定结果见表 1。

表 1 标准系列 1 的测定结果

标准浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0	0.50	1.0	2.0	4.0	10.0	20.0
峰面积 (mAU * S)	0	1.12	2.85	4.85	9.72	24.57	48.69

以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标绘制标准曲线。

回归方程: $y = 2.43x + 0.076$;

$a = 0.076$, $b = 2.43$; $\gamma = 0.9999$

2.1.2 标准系列 2 的测定 将 0.20.0、50.0、100.0、200.0、500.0 及 1000.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的标准应用液, 每个进 10 μl 分析, 测定结果见表 2。

表 2 标准系列 2 的测定结果

标准浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0	20.0	50.0	100.0	200.0	500.0	1000.0
峰面积 (mAU * S)	0	48.29	118.92	238.12	477.10	1256.2825	2727.25

以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标绘制标准曲线。

回归方程: $y = 2.53x - 10.17$;

$a = 10.17$, $b = 2.53$; $\gamma = 0.9999$

由上述结果可知, 在 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ~1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内线性良好。

2.2 精密度试验 分别取 1、10 和 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准应用液,

每个浓度重复测定 9 次, 其标准差分别为: 0.040、0.18 和 0.30; 相对标准偏差 (变异系数) 为: 1.41%、0.73% 和 0.31%; 测定结果见表 3。

表 3 3 个浓度精密度试验结果 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

测定次数	标准对应峰面积		
	1	10	40
1	2.90	24.62	96.49
2	2.86	24.57	96.85
3	2.85	24.60	97.00
4	2.85	24.89	96.52
5	2.80	25.01	97.10
6	2.91	24.88	96.99
7	2.78	24.59	96.38
8	2.88	24.92	96.29
9	2.84	24.57	96.72

2.3 准确度试验 于样品中分别加入 2.0、10 及 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 苏丹红 1 号标准, 作加标回收试验, 测定结果见表 4。

表 4 准确度试验结果 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

加标浓度	测定结果	样品中本底浓度	回收率	平均回收率
2.0	1.76	0	88.0	95.43
10.0	9.98	0	99.8	95.43
40.0	39.40	0	98.5	95.43

2.4 最低检出限的测定 实验测得其最低检出限 0.2 ng, 如果样品取 10 g, 提取后最后定容至 10 ml, 进 10 μl 分析, 则最低检出浓度为 0.02 mg/kg。

2.5 提取溶剂的选择 本方法选择了无水乙醇、乙腈作为萃取剂, 经检测无水乙醇与乙腈的提取效果相同, 本着经济、安全的原则, 最终确定选无水乙醇作的样品的提取溶剂。

两种溶剂的提取效果试验: 分别选取 3 种不同性状的样品, 均加入 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的苏丹红 1 号标准溶液, 分别用无水乙醇和乙腈提取, 两种溶剂提取效果无差异, 见表 5。

表 5 两种提取溶剂各样品的峰面积 (mAU * S)

提取方法	辣椒粉 (固体) 调料包 (半固体)	辣椒精油 (液体)
无水乙醇	25.02	24.85
乙腈	24.65	25.00

2.6 干扰试验 将样品中分别加入人工合成色素柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红、亮蓝、靛蓝等, 均不干扰苏丹红 1 号测定, 见图 3。

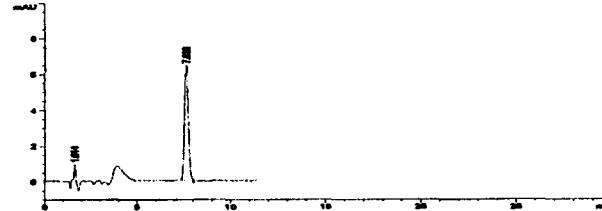


图 3 混合色素色谱图

[收稿日期] 2005-06-23