

薄层色谱分离分光光度法测定辣椒酱中苏丹红 I

张玉采, 钟燕, 王文亭, 任乃林

(韩山师范学院化学系, 广东 潮州 521041)

摘要: 通过自制硅胶 G 板, 利用薄层色谱法对辣椒酱中的苏丹 I 进行分离, 刮下斑点, 溶解后用分光光度法测定, 所得的波长和吸光度的谱图与标准溶液的谱图进行对照, 从而确定辣椒样品中存在苏丹红 I。该方法简便快捷, 现象明显, 经济实用, 结果可靠, 尤其适合于基层检测机构及小工厂的有关食品检验。

关键词: 薄层色谱法; 辣椒酱; 苏丹红 I

中图分类号: TS264. 2⁹; 文献标识码: A; 文章篇号: 1673-9078(2007)02-0084-03

Separation and Determination of Sudan I in Hot Pepper Sauce by Thin Layer Chromatography and Spectrophotometry

ZHANG Yu-cai, ZHANG Yan, WANG Wen-ting, REN Nai-lin

(Department of Chemistry, Hanshan Normal University, Chaozhou 521041, China)

Abstract: Separation of Sudan I in Hot Pepper Sauce by Thin Layer Chromatography as well as its determination by spectrophotometry were studied. Using the self-made silica gel G board, Sudan I was isolated by thin layer chromatography and the spot shaved from the silica gel G was dissolved and then determined by spectrophotometer. Results showed that this method can quickly determine the content of Sudan I in hot pepper sauc. It especially suited small the food inspection and testing for company and primary examination units.

Key words: thin layer chromatography; hot pepper sauce; Sudan I

苏丹红是一种非生物合成着色剂, 一般不溶于水, 易溶于有机溶剂。它大量用于生物、化学毒理化研究中的着色, 机油、溶解剂、润滑剂、汽车蜡和鞋油等工业产品的染色, 地板的增色, 及焰火礼花的着色^[1]。苏丹红不属食品添加剂, 但因性质稳定, 常被不些不法商家用作食用色素, 如用于碳酸饮料和糖果等增色的“胭脂红”, 肉肠、火腿和果冻等的“诱惑红”。

苏丹红可分成苏丹 I、苏丹 II、苏丹 III、苏丹 IV。苏丹红具有致突变性和致癌性, 国际癌症研究机构把苏丹红归为第 3 类可致癌物质。“苏丹 I”在人类肝细胞的研究中表现出致癌特性, 其致癌机理是苏丹 I 含偶氮苯, 当偶氮苯在人体被降解后会产生苯胺, 它是一种中等毒性的致癌物, 可直接作用于肝细胞, 诱发肝脏细胞的基因发生变异, 引起中毒性肝病^[2]。若同时大量接触苯胺, 有可能因苯胺将血红蛋白结合的 Fe(II)氧化为 Fe(III), 导致血红蛋白无法结合氧, 使人罹患高铁血红蛋白症。

苏丹红的检测方法有凝胶柱净化-高效液相色谱法^[3]、二极管阵列检测器——高效液相色谱法^[4]、气相色谱-质谱 (GC/MS) 选择离子检测法 (SIM)^[5]、分

光光度法^[6]等。2005 年 3 月 29 日国家质量监督检验检疫总局和国家标准委联合发布《食品中苏丹红染料的检测方法—高效液相色谱法》(GB/T 19681-2005)。我国国标与欧盟标准相接近, 主要不同之处在于增加了氧化铝柱层析法净化, 同时配置了较为简单的仪器, 但国标法操作步骤复杂, 流程长, 仅仪器分析就达到 40 min。另外, 因色谱中存在干扰峰, 食品种类繁多, 基体复杂, 国标法不可避免地出现假阳性结果^[4]。上述的检测方法虽进样量很少, 准确可靠, 但耗资大, 给一些基层检测机构及小工厂的食品检测带来很大的困难, 不能得到广泛的推广。本文建立的薄层色谱法测定辣椒酱中的苏丹红是应用较为广泛的简便分析方法, 它耗资小, 经济实用, 结果令人较为满意。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

KQ-300DE 型医用数控超声波清洗器、氮吹仪、722S 分光光度计、匀浆机、涂铺器 (上海科哲生化科技有限公司)、微量进样器 (5 μL) (上海高欣玻璃仪器厂)、玻璃板 (50 mm×100 mm)。苏丹 I、硅胶 G (青岛海洋化工厂)、羧甲基纤维钠水溶液 (5 g/L)、

收稿日期: 2006-10-16

无水硫酸钠。乙腈、氯仿、环己烷、乙酸乙酯均为分析纯，实验所用水均为二次水。

1.2 标准溶液的配制

准确称取 25.0 mg 的苏丹 I 标准样品，以乙腈溶解并转入 50 mL 的容量瓶定容，取上述标准储备液分别配制浓度为 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列标准溶液。

1.3 样品处理

所用样品为市售辣椒酱，采用乙腈及石油醚提取方法。点样展开后，经石油醚提取的样品干扰较为严重，不便于观察，故用于薄层展开的样品均为乙腈提取。称取 5.0000 g 辣椒酱加入乙腈 10 ml，经震荡仪振荡 3 min，超声波震荡 10 min，重复提取 3 次，合并提取液，加入无水硫酸钠干燥，再用氮吹仪浓缩至干，用氯仿溶解定容 1.0 ml，待分析。

1.4 薄层板的制备

称取 4 g 硅胶 G 于 100 ml 烧杯中，加入 11 ml 羧甲基纤维钠水溶液，用匀浆机仔细搅拌 15 min。然后倒入铺有洗净晾干的层析玻璃板的涂铺器上，在玻板上平稳地移动涂布器进行涂布（厚度为 0.3~0.5 mm），取下涂好薄层的玻板，置水平台上于室温下晾干，后在 105~110 $^{\circ}\text{C}$ 烘 30 min，即置有干燥剂的干燥箱中备用。

1.5 定性测定

定量吸取标准品溶液、样品提取液和样品加标溶液，点样 2 μL 于同一块硅胶 G 薄层板上，以环己烷-乙酸乙酯（体积比为 9:1）为展开剂，饱和 30 min，直立上行展开 8~10 cm，挥干溶剂，室温下晾干。

1.6 分光光度法确认

将展开后样品加标的斑点刮除下来，用乙腈溶解后进行分光光度检测，所得曲线图与标准溶液的曲线图比较。

2 结果与讨论

2.1 薄层板的选择

分别采用了荧光玻璃板、铝箔板和普通玻璃板进行实验，各种板展开后的情况如表 1 所示。

表 1 三种板的展开情况（展开至 8 cm）

类型	展开时间/min	R_f	RSD/%	保留时间
荧光玻璃板	28	0.63	1.59	1week
铝箔板	30	0.66	0.00	2months
普通玻璃板	26	0.64	1.56	1week

表 1 可见所选用的三种板的性能较为接近，展开后斑点较为清晰，都适用于苏丹 I 的展开，因为普通

玻璃板比荧光玻璃板和铝箔板便宜、容易获得，并且可以重复循环使用，故本实验均选用普通玻璃板为展开板。

2.2 展开剂的选择

如表 2，用正己烷-乙醚作展开剂的 R_f 较小，但斑点较模糊，颜色较浅，RSD 值较大；用苯-乙酸乙酯作展开剂的 R_f 值偏大，且峰拖尾；用环己烷-乙酸乙酯作展开剂的 R_f 值虽比正己烷-乙醚大，但 RSD 值较小，斑点清晰，便于观察。故选用环己烷-乙酸乙酯作为展开剂。

表 2 不同展开剂对苏丹红 I 的影响

展开剂(20 ml)	比例	R_f	RSD/%
正己烷-乙醚	6:1	0.79	27.6
苯-乙酸乙酯	8:1	1.00	0.0
环己烷-乙酸乙酯	9:1	0.91	2.5

2.3 薄层分离的鉴别及检出限

将 0.5 g/L 的苏丹 I 标准溶液、样品及样品加标溶液点样，以环己烷-乙酸乙酯（9:1）为展开剂，展开，晾干，如图 1。由图 1 可见，苏丹 I 标准溶液及样品加标液展开后的斑点在同一直线上，样品中不含有苏丹 I。斑点清晰明了，通过观察斑点就可以初步判定样品溶液中是否含有苏丹 I，方便快捷。最低检出限为 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

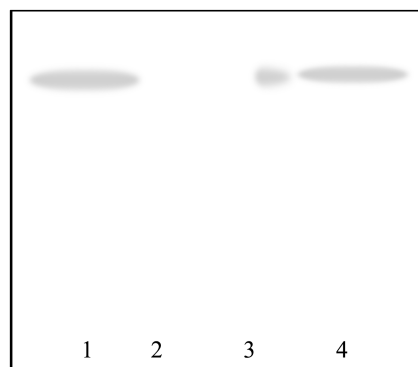


图 1 苏丹、样品薄层展开板

1. 苏丹 I 标准溶液，2、3. 样品溶液，4 样品加标溶液

2.4 测定方法及波长的确定

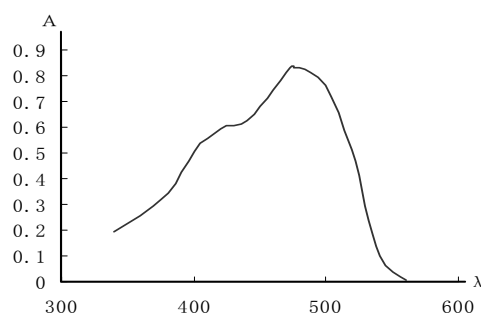


图 2 苏丹 I 标准曲线图

经荧光光度法、紫外分光光度法、可见分光光度法测定,发觉苏丹 I 溶液在前两种的波长范围内没有吸收,而在可见分光光度法的波长范围内有吸收(见图 2),经多次反复测定得其最大吸收波长为 475 nm。故实验选择 475 nm 作为测定波长。

2.5 苏丹红浓度与吸光度的关系

表 3 是 475 nm 处苏丹 I 标准溶液(10.0~50 μg/ml)的吸光度,从表 3 可得线性回归方程为 $A=0.02866C+0.4397$, 相关系数 $r=0.9755$ 。

表 3 苏丹 I 标准溶液与吸光度的关系

浓度μg/ml	10.0	15.0	20.0	25.0	30.0	35.0	50.0
吸光度 A	0.631	0.811	1.042	1.242	1.396	1.505	1.754

2.6 验证实验

2.6.1 色谱图的比较

将 16 μg/ml 的样品加标溶液点样,展开后晾干,然后将斑点刮下来,用 3 ml 己腈溶解后进行分光光度检测,曲线如图 3。与图 2 比较可知分离效果良好。

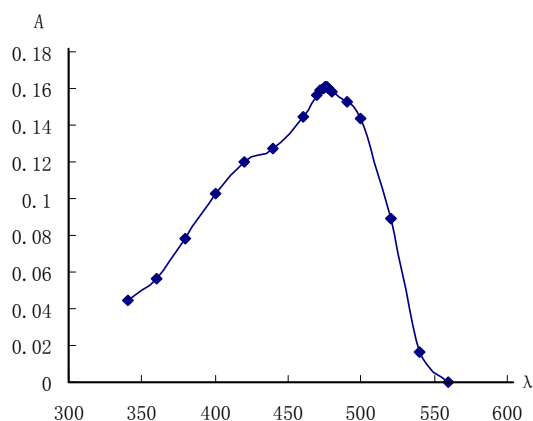


图 3 样品加标溶液曲线图

2.6.2 吸光度的比较

表 4 是 475 nm 处样品加标溶液(10.0~50 μg/ml)的吸光度,表 4 可得线性回归方程为 $A=0.028C+0.4325$, 相关系数 $r=0.9540$, 这同标准溶液非常相似。

表 4 样品加标溶液与吸光度的关系

浓度μg/ml	10	15	20	25	30	35	50
吸光度 A	0.601	0.78	0.999	1.23	1.41	1.516	1.668

3 结论

用薄层色谱法检测辣椒酱中苏丹红 I 的定性测定,简便易行,准确可靠,样品用量少,前处理简单,器材要求低易得,分析时间短,且无需特殊高价仪器的辅助,药品花费低,玻璃板可循环使用。

用可见分光光度法检测辣椒酱中苏丹红 I 的定量测定是可行的。

参考文献

- [1] 王炫,沈骏.偶氮染料——苏丹红[J].化学教育,2005,(5):1-3.
- [2] 刘丽娜,林天乐,曹永.偶氮染料——苏丹红[J].精细与专用化学品,2005,13,(8):16-17.
- [3] 谢维平,黄盈煜,傅晖蓉,胡桂莲.凝胶柱净化-高效液相色谱检测食品中的苏丹红[J].色谱,2005,23,(5):542-544.
- [4] 喻凌寒,杨运云,等.LC-ESI/MS 分析食品中微量苏丹红 I~IV[J].分析测试学报,2005,24,(4):28-31.
- [5] 黄晓兰,吴惠勤,等.GC-MS/SIM 法同时测定食品中的苏丹红 I~IV[J].分析测试学报,2005,24,(4):1-5.
- [6] 余孔捷,杨方,卢声宇.分光光度法测定红辣椒及其产品中苏丹红 I [J].中国卫生检测杂志,2004,14,(5):596.

我国食品添加剂将实现市场准入制

从国家质检总局获悉,我国食品添加剂市场将实现市场准入制。

国家质检总局要求:今年,要严格实施食品添加剂市场准入制度,努力在年底实现所有国标、行标的食品添加剂全部纳入市场准入制度管理;建立食品添加剂使用备案管理制度,掌握企业使用食品添加剂的基本情况和添加剂来源。凡是存在故意使用非食品用原料生产加工食品行为的,一律移送公安机关处理,对于有使用非食品用原料生产加工食品违法行为的,3年内不得申请食品及食品相关产品生产许可证;已经取得食品生产许可证的,立即吊销执照。(摘自食品质量报)