

文章编号: 1008-1534(2009)02-0090-05

薄层色谱法检测苏丹红

窦红¹, 张晓鑫², 高春平²

(1. 河北科技大学化学与制药工程学院, 河北石家庄 050018; 2. 石家庄大为生物技术有限公司, 河北石家庄 050091)

摘要: 探讨用薄层色谱法检测食品中苏丹红色素的可行性, 并对高效硅胶 G 板及聚酰胺薄层板分离苏丹红色素的结果进行比较, 发现高效硅胶 G 板较聚酰胺薄层板分离苏丹红色素更具有优势, 其检测灵敏度高: 0.3 mg/kg; 分析速度快: 用聚酰胺薄层板分析一般需要 40 min, 而高效硅胶 G 板只需 5~10 min; 分离清晰: 4 种苏丹红色素与辣椒色素等干扰色素能够完全分离。该方法适用于基层机构在现场快速检测食品中非法添加的苏丹红色素。

关键词: 苏丹红; 薄层色谱法; 食品快速检测方法

中图分类号: R155.5 文献标识码: A

Fast detection of Sudan Red by thin layer chromatography

DOU Hong¹, ZHANG Xiaoxin², GAO Chunping²

(1. College of Chemical and Pharmaceutical Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang Hebei 050018, China; 2. David Biotechnology Company Limited, Shijiazhuang Hebei 050091, China)

Abstract: This paper investigated the feasibility of detecting Sudan Red in foods with thin layer chromatography, and compared the result of Sudan Red separation with high effect silica gel G plates (HPSGG) and the result of it with polyamide plates. It is found that HPSGG has more advantages over polyamide plates in separating Sudan Red. HPSGG gives high detection sensitivity, up to 0.3 mg/kg, fast analysis and clear separation. Polyamide plates needs 40 minutes while high effect silica gel G plates needs only 5~10 minutes. The Sudan pigments and other interference pigments such as pepper pigments, can be completely separated. The method can be applied to rapidly detect Sudan Red illegally added in foods such as chilli products and hamburgers.

Key words: Sudan Red; thin layer chromatography; fast detection technique of food

苏丹红是一类人工合成的油溶性工业染料, 属于偶氮类化工染色剂, 分为 I 号、II 号、III 号和 IV 号, 颜色为橙红色或红棕色, 常用于彩色蜡、油脂、汽油、溶剂和鞋油等的增色添加剂, 还可以用于焰火礼花的着色。食品厂家在食品中添加苏丹红, 其主要目的就是增加食品的红色, 因为苏丹红是合成染料, 对光线的敏感性不强^[1]。长期食用含“苏丹红”食品

消费者, 对其身体造成的最突出危害可能会使肝部 DNA 结构变化, 导致肝部病症, 严重危害人体健康^[2]。世界卫生组织早就明文禁止苏丹红作为食品添加剂, 1996 年中国食品添加剂卫生标准就明令禁止使用苏丹红^[3]。

目前检测苏丹红的国标方法为高效液相色谱法, 其技术要点是采用正己烷作提取剂, 提取后经旋转蒸发器蒸发浓缩, 氧化铝层析柱固相萃取净化后, 采用梯度流动相, 用反相高效液相色谱-紫外可见光检测器进行色谱分析, 外标法定量^[4]。另外高效液相-质谱联用方法用于检测结果的确证, 该方法经过液相色谱分离、光谱定量、质谱定性而最终实现对食品

收稿日期: 2008-09-11; 修回日期: 2008-11-13

责任编辑: 张军

作者简介: 窦红(1982), 女, 河北石家庄人, 硕士研究生, 主要从事食品中有毒、有害物质快速检测技术方面的研究。

中苏丹红的检测。气相-质谱联用仪也能取得较好效果^[3]。但是上述方法仪器昂贵,操作复杂,在基层不易普及。为了找到一种更适用于现场快速测定的方法,笔者对国标方法进行简化,使用薄层色谱法定性检测食品中的苏丹红,并对聚酰胺薄层板^[5]与高效硅胶 G 板^[6]的检测结果进行比较。

1 材料

1.1 主要材料与试剂

- 1) 正己烷: 分析纯;
- 2) 乙醚: 分析纯;
- 3) 丙酮: 分析纯;
- 4) 层析柱管: 1 cm(内径) × 5 cm(高)的注射管;
- 5) 层析用氧化铝: 取 20 g 层析用氧化铝,在 105 °C 条件下干燥 2 h,于干燥器中冷至室温,加 0.4 mL 水(每 100 g 中加入 2 mL 水)降活,混匀后密封,放置 12 h 后使用^[4];

6) 氧化铝层析柱: 在层析柱管底部塞入一薄层脱脂棉,干法装入处理过的氧化铝至 1 cm 高,轻轻敲实后再加一薄层脱脂棉,用 3 mL 正己烷预淋洗,洗净柱中杂质后,备用;

7) 标准溶液: 分别称取苏丹红 I 号、II 号、III 号、IV 号各 5.0 mg,用乙醚溶解后用正己烷定容至 50 mL,相当于 100 μg/mL 的苏丹红。

1.2 主要仪器与设备

- 1) 分析天平;
- 2) 高效硅胶 G 板;
- 3) 聚酰胺薄层板。

2 实验内容

2.1 方法简介

样品经溶剂提取、固相萃取净化后,在高效硅胶 G 板及聚酰胺粉板上点样展开,显色,将样品与苏丹红标准品比较,根据斑点 R_f 值定性,根据斑点大小概括定量。

2.2 样品处理

2.2.1 样品处理的操作方法

提取: 根据样品成分不同,称取适量的样品于试管或比色管中,加入提取剂,振摇 2 min,静置 3 min,提取样品中所含的苏丹红。若样品中所含水分过多,可加入适量的无水硫酸钠干燥,备用。

淋洗: 对氧化铝层析柱进行处理,先用 3 mL 正己烷淋洗,除去柱内杂质,然后继续加入正己烷,保持柱中正己烷液面在 2 mm 左右。

上样: 取 3 mL 样品处理液,缓慢加入氧化铝层

析柱,控制氧化铝表层吸附的色素带宽小于 0.5 cm。

二次淋洗: 待样液完全流出后,用正己烷淋洗层析柱至流出液无色,油性样品可适当增加正己烷的量,弃去全部正己烷淋洗液。

洗脱收集: 用含丙酮的正己烷溶液进行洗脱,待洗脱至色素完全流出即可,收集洗脱液。

2.2.2 样品用量及提取剂的选择

苏丹红为亲脂性的偶氮化合物,不溶于水,溶于丙酮、乙酸乙酯、石油醚及正己烷等有机溶剂。实验中分别取 1, 2, 3 g 辣椒样品,将其粉碎,加入苏丹红标准品各 100 μg,分别用丙酮、乙酸乙酯、石油醚、正己烷等有机溶剂提取,将提取剂过固相萃取柱净化浓缩,点薄层板检测,对以上 3 种提取剂提取的苏丹红色素的斑点深浅进行比较。

2.2.3 洗脱液及其用量的选择

根据正己烷及丙酮的极性分别选择 1%, 3%, 5%, 7% (均为体积分数,下同) 丙酮正己烷溶液对吸附的色素进行洗脱,以固相萃取柱中吸附的色素带完全流出为标准,记录以上洗脱液洗脱能力的强弱及用量,选择一种用量最少而获得洗脱效果最好的洗脱液。

2.3 测定方法的比较

采用薄层色谱法分离样品中的苏丹红色素,主要利用样品溶液中苏丹红 I 号、II 号、III 号、IV 号及其他天然色素的理化性质(吸附力、分子极性、分子亲和力、分配系数等)有差异,它们受固定相的阻力与流动相的推力的影响不同,因而各组分在固定相与流动相之间的分配也不同,从而使各组分以不同的速度移动而达到分离的目的。而考虑到检测环境条件限制和快速检测等目的,以及实验的可操作性,本实验分别采用聚酰胺薄层板、高效硅胶 G 板进行测定。

2.3.1 操作方法

1) 聚酰胺薄层法: 取 5 μL 样品浓缩液点在聚酰胺薄层板上,并同时点苏丹红 I 号、II 号、III 号、IV 号对照品溶液各 5 μL 对照。用展开剂展开至前沿,取出挥干。

2) 高效硅胶 G 板法: 取 20 μL 样品浓缩液点于硅胶 G 板上,同时点苏丹红 I 号、II 号、III 号、IV 号对照品溶液各 20 μL,展开剂展开挥干。

2.3.2 展开剂的选择

展开剂的选择依据物质的相似相溶原理,根据苏丹红色素的极性及其薄层板的种类选择实验室常用的几种有机溶剂作展开体系,并适当调整溶剂的比例,找到能使 4 种苏丹红色素及辣椒色素完全分开的展开剂。

2.3.3 灵敏度确定

配置不同浓度的标准溶液,在聚酰胺薄层板上分别点样 5 μL ,在硅胶 G 板上分别点样 20 μL ,展开后挥干,有明显红色的最小斑点为最低检出量。

2.3.4 回收率测定

分别取 3 g 不含苏丹红色素的辣椒酱,加入不同含量的苏丹红 I 号、II 号、III 号、IV 号标准溶液,用聚酰胺薄层板法及高效硅胶 G 板法分别测定含量,计算回收率。

3 结果与讨论

3.1 苏丹红提取剂的确定

实验中观察到用乙酸乙酯及丙酮溶解样品中的苏丹红时,由于溶剂的极性较强,氧化铝层析柱不能吸附色素,所以笔者选用极性较小的石油醚及正己烷进行实验,实验结果见表 1。

表 1 提取剂的确定

Tab.1 Determination of the extractant

样品量/g	标准品加入量/ μg	提取剂	薄层展开斑点深浅
1	100	石油醚	++
1	100	正己烷	+++

考虑到萃取柱的活化处理需要用正己烷,并且薄层展开后用正己烷作提取剂时斑点颜色较深,提取效果更好,所以选用正己烷为食品中苏丹红的提取剂。

3.2 样品量及提取剂用量的确定

为了适应食品的现场快速检测领域要求检测方法具有快速、简便等特点,要求样品用量少并且保证检测方法的准确性,确定实验方法如下。

1) 对于调料(如辣椒粉、辣椒油、火锅底料等)含苏丹红较多时,取约 1 g 样品于试管或比色管中,加入 3~5 mL 正己烷,振摇提取 2 min,静置 3 min。

2) 食品成分(如汉堡包、香肠等),将样品粉碎,称取 3~5 g 粉碎样品于试管或比色管中,加入 5~10 mL 正己烷,振摇提取 2 min,加 0.5 g 无水硫酸钠干燥,静置 3 min。

3.3 洗脱液及其用量的确定(见表 2)

由表 2 可以看出,当选用 5% 丙酮正己烷溶液时,用 0.5 mL 洗脱液即可获得较好的洗脱能力,因此实验确定洗脱液为 5% 丙酮正己烷溶液,用量为 0.5 mL。

3.4 点样

聚酰胺薄膜很薄,载样量小,因此苏丹红色素在聚酰胺板上点样量不要太多,少量多次点样,及时吹干溶剂,否则会产生斑点拖尾现象。

表 2 洗脱液及其用量的确定

Tab.2 Determination of the eluant and its amount

% (丙酮正己烷) / %	洗脱液用量 / mL	洗脱效果
1	1.5	+
3	1.0	++
5	0.5	+++
7	0.5	+++

3.5 展开剂的确定

1) 聚酰胺薄层法分离苏丹红色素见图 1。

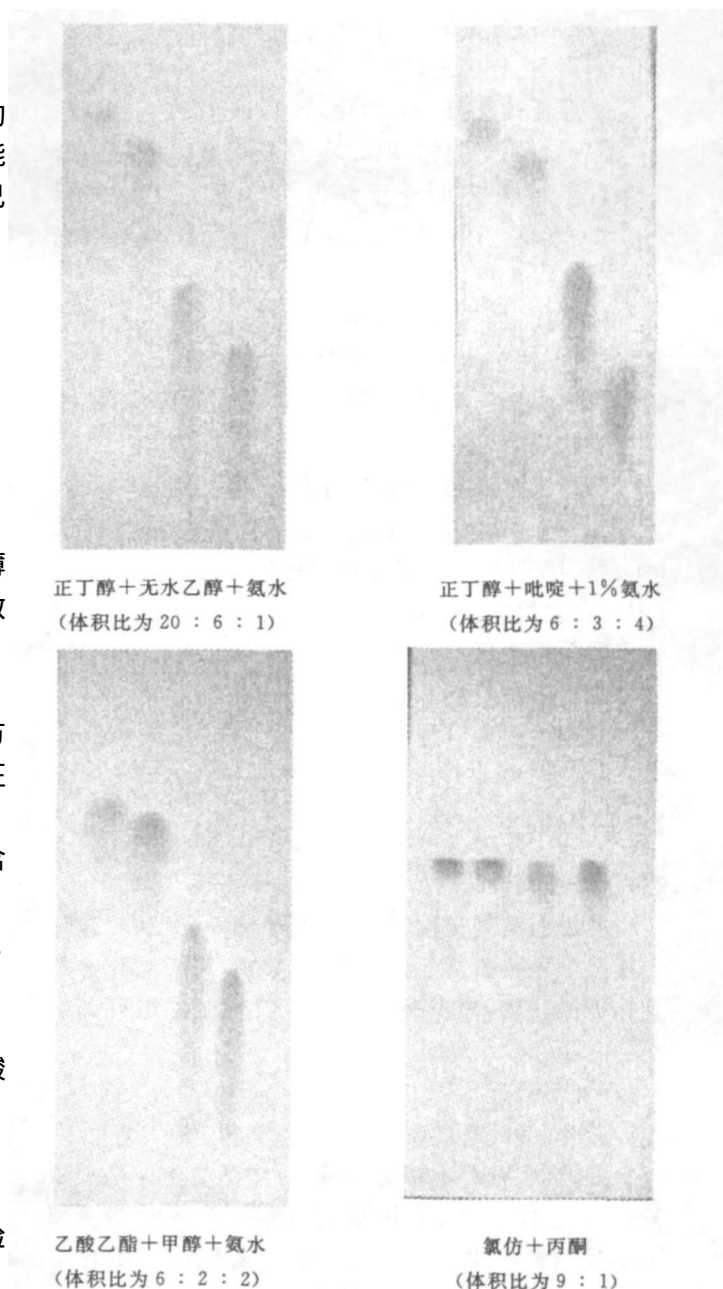


图 1 不同展开剂对聚酰胺板分离苏丹红色素的影响

Fig. 1 Effect of different developer on polyamide plates separating Sudan Red

当展开剂采用正丁醇+ 无水乙醇+ 氨水、正丁醇+ 吡啶+ 1% 氨水或乙酸乙酯+ 甲醇+ 氨水时, 4 种苏丹红色素的斑点在聚酰胺板上 R_f 值相差较大, 可以采用上述体系作为展开剂。但是苏丹红在聚酰胺板上有拖尾现象, 若样品中只含有单种苏丹红色素或只需鉴别样品中是否含有苏丹红色素而不需区分时, 可以选用氯仿+ 丙酮体系展开。不同展开剂对展开结果的影响见表 3。

表 3 不同展开剂对 R_f 的影响Tab.3 Effect of different developer on R_f value of Sudan Red

展开剂(括号中为体积比)	苏丹红			
	I	II	III	IV
正丁醇+ 无水乙醇+ 氨水(20 : 6 : 1)	0.74	0.63	0.39	0.27
正丁醇+ 吡啶+ 1% 氨水(6 : 3 : 4)	0.90	0.79	0.38	0.18
乙酸乙酯+ 甲醇+ 氨水(6 : 2 : 2)	0.87	0.76	0.47	0.35
氯仿+ 丙酮(9 : 1)	0.87	0.87	0.87	0.87

2) 高效硅胶 G 板薄层法分离苏丹红色素时, 采用正己烷+ 乙醚+ 氯仿(体积比为 7 : 1 : 0.5) 体系展开, 斑点的 R_f 值相差较大, 并且苏丹红色素与辣椒制品中的其他色素斑点均能分离(见图 2)。

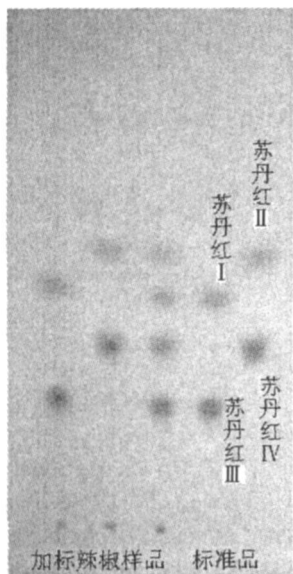


图 2 高效硅胶 G 板分离苏丹红的结果

Fig.2 Separation of Sudan Red on high performance silica gel G plates

3.6 结果判断

用聚酰胺薄层板, 当选用正丁醇+ 无水乙醇+ 氨水体系时, 苏丹红 I 号 R_f 值为 0.74、苏丹红 II 号 R_f 值为 0.63、苏丹红 III 号 R_f 值为 0.39、苏丹红 IV 号 R_f 值为 0.27。

用高效硅胶 G 板, 选用正己烷+ 乙醚+ 氯仿体系展开时苏丹红 I 号 R_f 值为 0.49、苏丹红 II 号 R_f 值为 0.57、苏丹红 III 号 R_f 值为 0.31、苏丹红 IV 号 R_f 值为 0.41。

将样品斑点与标准品斑点的颜色与 R_f 值是否相同定性, 根据斑点的深浅与大小概括定量。

3.7 方法的灵敏度

两种方法检测苏丹红 I 号、II 号、III 号、IV 号的最低检出量: 若取样量为 1 g, 最后浓缩至 0.5 mL, 在聚酰胺板的点样量为 5 μ L 时, 则 kg 克样品中含有 0.5 mg 苏丹红即可检出; 在高效硅胶 G 板上点样量为 20 μ L 时, 则每 kg 样品中含有 0.3 mg 苏丹红即可检出。

3.8 回收率

聚酰胺薄层法与高效硅胶 G 板薄层法回收率实验结果见表 4 和表 5。可知聚酰胺薄层板平均回收率为 89.7%, 高效硅胶 G 板平均回收率为 93.3%。

表 4 聚酰胺薄层回收率实验结果

Tab.4 Recovery rate of the polyamide plates

标准加入量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	苏丹红含量测定/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)				苏丹红回收率/ %			
	I 号	II 号	III 号	IV 号	I 号	II 号	III 号	IV 号
20	18.0	17.5	17.5	18.0	90.0	87.5	87.5	90.0
30	27.0	26.5	27.0	27.5	90.0	88.0	90.0	91.7
40	36.5	35.5	36.5	35.0	91.3	88.8	91.3	87.5
50	45.5	45.0	44.5	45.5	91.0	90.0	89.0	91.0

表 5 高效硅胶 G 板回收率实验结果

Tab.5 Recovery rate of the high performance silica gel G plates

标准加入量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	苏丹红含量测定/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)				苏丹红回收率/ %			
	I 号	II 号	III 号	IV 号	I 号	II 号	III 号	IV 号
20	18.0	19.0	19.0	18.5	90.0	95.0	95.0	92.5
30	27.5	28.5	28.0	28.0	91.7	95.0	93.0	93.0
40	36.5	38.5	37.5	37.0	91.3	96.0	94.0	92.5
50	46.0	47.0	47.5	46.5	92.0	94.0	95.0	93.0

3.9 方法比较

高效硅胶 G 板法与聚酰胺板薄层法分离苏丹红色素相比较具有如下特点:

1) 苏丹红 II 号、IV 号色素在聚酰胺板上有拖尾现象, 而在高效硅胶 G 板上斑点清晰不拖尾, 4 种苏丹红色素与辣椒色素 R_f 值相差较大, 易区分;

2) 高效硅胶 G 板分离速度快, 一般聚酰胺板法展开需要 40 min, 而高效硅胶 G 板只需 5~ 10 min;

3) 采用高效硅胶 G 板比聚酰胺薄层板回收率高, 准确性高;

4) 高效硅胶 G 板载样量高于聚酰胺薄层板, 所以检测灵敏度较高。

4 结 论

实验中采用了简单的正相吸附固相萃取原理, 利用中性氧化铝填料对苏丹红的强吸附作用以及对油脂进行饱和性吸附的作用, 并用正己烷淋洗, 有效脱除样品中的干扰成分以及油性样品中的大量油脂, 从而达到净化样品的目的。用洗脱液可将苏丹红从其他的基质成分中洗脱出来, 使样品的提取剂浓缩, 大大降低了检出限。两种薄层法检测食品中的苏丹红色素均具有快速简便等特点, 但是相比较而言, 高效硅胶 G 板薄层法更具有优势, 可满足基层机构现场快速检测的需要, 也适用于对成批样品

进行初筛。最终确定食品中苏丹红的提取剂为正己烷, 洗脱液用 5% 丙酮正己烷溶液, 用高效硅胶 G 板分离, 点样量为 20 μL , 展开剂为正己烷+ 乙醚+ 氯仿体系。

参考文献:

- [1] 夏 宁. 苏丹红的种类及其对人类的危害[J]. 内江科技, 2005, (4): 64.
- [2] 宋 雁, 李 宁. 食品中苏丹红的危险性评估[J]. 国外医学. 卫生学分册, 2005, 32(3): 129-132.
- [3] 黄曙海, 庞维群. 苏丹红染料毒性研究及食品中苏丹红检测方法简述[J]. 广西预防医学, 2005, 11(6): 380-383.
- [4] GB/T 19681-2005. 食品中苏丹红染料的检测方法高效液相色谱法[S].
- [5] 张 杨. 薄层层析法测定苏丹红色素的方法探讨[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(5): 559.
- [6] 杨林飞, 丁 愈, 张桂华, 等. 薄层色谱法检测食品中的苏丹红[J]. 实用预防医学, 2006, 13(1): 185-186.

(上接第 81 页)

④前述计算中把水作为载体计算泥沙的临界流速。近代浆体管道输送理论表明, 对以水为载体的浆体, 应将固体物颗粒在 100 μm 以下的固体部分作为运载体的一部分(即载体应由液体和粒径在 100 μm 以下的固体物组成)。如按此理论计算, 泥沙浆体的临界流速比前述计算结果更低。

因此, 在实际施工中, 挖泥船挖取的泥沙常常含

有更大颗粒的固体物, 如卵石、砖头等, 而实际挖泥效果(如: 挖深、浓度)比计算结果应该还要好一些。

参考文献:

- [1] 何希杰, 颜春万. 离心式渣浆泵选型手册[M]. 石家庄: 石家庄杂质泵研究所, 1998.
- [2] 周晓四. 重力选矿技术[M]. 北京: 冶金工业出版社, 2006.

(上接第 85 页)

参考文献:

- [1] 王 远. 实用体育统计方法与 STATA[M]. 北京: 新华出版社, 2003.
- [2] 方积乾. 医学统计学与电脑实验[M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2001.

- [3] 张文彤. SPSS11 统计分析教程(高级篇)[M]. 北京: 北京希望电子出版社, 2002.
- [4] 胡良平. 实用统计分析教程[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2001.
- [5] 孙振球. 医学统计学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.

(上接第 89 页)

- [16] 田 华, 杨云峰, 高 林. 双乙酸钠的合成研究[J]. 食品科技, 2004, (5): 39-40.
- [17] 葛政华. 双乙酸钠[J]. 中国食品用化学品, 1997, (4): 35-36.
- [18] 沈勇根, 上官新晨, 蒋 艳, 等. 双乙酸钠在食品防腐保鲜中的应用现状与前景[J]. 江西农业大学学报, 2003, 25(5): 749-751.

- [19] 杨晓丽, 韩克勤. 双乙酸钠对霉菌抑制作用的研究[J]. 天津师范大学学报, 2003, 24(2): 26-28.
- [20] 黄 平. 防霉剂双乙酸钠的性质用途与制备[J]. 广西化工, 2003, 30(3): 39-40.
- [21] 章朝晖. 防霉剂双乙酸钠的特征及其发展建议[J]. 木薯精细化工, 2002, (2): 26-31.