

# 高效液相色谱法测定食品中苏丹红 I~IV

汪霄峰\*, 周谷凉

(中国检验认证集团上海有限公司, 上海 201203)

**摘要:** **目的** 建立准确可靠的高效液相色谱法测定食品中苏丹红 I~IV 的方法。**方法** 用乙腈提取样品中的苏丹红, 经漩涡超声离心后, 将乙腈层倾出, 用乙腈重复提取, 通过凝胶色谱的净化, 用液相色谱进行检测。其中凝胶色谱柱为 Bio-Beads<sup>TM</sup> S-X3 Beads, 液相色谱柱为 Waters C<sub>18</sub> (4.6 mm×150 mm, 5 μm), 液相色谱流动相为乙腈-水(V:V, 90:10)。**结果** 4 种苏丹红染料的检出限均能达到 10 μg/kg, 满足国标要求。标准加入量为 0.16 μg/mL 浓度时, 辣椒粉的回收率为 92.5%~97.5%、辣椒酱的回收率为 83.8%~87.5%、香肠的回收率为 82.5%~98.8%, 相关系数 0.9995 以上, 且重复性良好。**结论** 高效液相色谱法可以测定食品中苏丹红 I~IV, 适用于批量样品的检测。

**关键词:** 高效液相色谱法; 苏丹红; 食品

## Determination of Sudan I~IV in food by high performance liquid chromatography

WANG Xiao-Feng\*, ZHOU Gu-Liang

(China Certification & Inspection Shanghai Group Co., Ltd., Shanghai 201203, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish an accurate and reliable determination method of Sudan I, II, III, and IV in food by HPLC. **Methods** The Sudan in samples were extracted with acetonitrile, after through ultrasonic, vortex and centrifugation, and the layer was poured and repeated processing with acetonitrile, and purified by GPC. The Sudan were detected by liquid chromatography. In this study, GPC column was Bio-Beads<sup>TM</sup> S-X3 Beads, and liquid chromatographic column was Waters C<sub>18</sub> (4.6 mm×150 mm, 5 μm), acetonitrile-water as the mobile phase was used in isocratic conditions (V:V, 90:10). **Results** The limit of detection (LOD) of method was 10 μg/kg, which met the requirements of the national standard. Recoveries of Sudan dyes in chilli powder ranged from 92.5% to 97.5%, chili sauce ranged from 83.8% to 87.5% and sausage ranged from 82.5% to 98.8% with a good reproducibility at a spiking level of 0.16 μg/mL. **Conclusion** This method was applicable for batch sample to determine Sudan I~IV.

**KEY WORDS:** high performance liquid chromatography; Sudan dyes; food

## 1 引言

“苏丹红”(Sudan dyes)是一种化学染色剂,并非食品添加剂。它的化学成分中含有一种叫萘的化合物,

该物质具有偶氮结构,由于这种化学结构决定了它具有致癌性,对人体的肝肾器官具有明显的毒性作用。苏丹红属于化工染色剂<sup>[1]</sup>,主要用于石油、机油和其他一些工业溶剂中,目的是使其增色,也用于

\*通讯作者: 汪霄峰, 工程师, 主要研究方向为食品化妆品的检测和工艺。E-mail: wangxiaofeng@ccicshanghai.com

\*Corresponding author: WANG Xiao-Feng, Engineer, China Certification & Inspection Shanghai Group Co., Ltd., No. 256, Chuangyun Road, Pudong New District, Shanghai 201201, China. E-mail: wangxiaofeng@ccicshanghai.com

鞋、地板等的增光<sup>[2-5]</sup>。苏丹红为亲脂性偶氮化合物<sup>[6]</sup>, 主要包括 I、II、III 和 IV 四种类型。苏丹红具有致突变性和致癌性<sup>[7-9]</sup>, 苏丹红 I 在人类肝细胞研究中显现可能致癌的特性<sup>[10-12]</sup>。此类物质在我国禁止使用于食品中。

目前国内检测苏丹红的标准为 GB/T 19681-2005 《食品中苏丹红染料的检测方法高效液相色谱法》<sup>[13]</sup>, 该检测方法前处理步骤主要采用中性氧化铝柱进行净化, 过程繁琐, 回收率不高, 且仪器流动相溶剂构成复杂, 分析时间过长, 达到 40 min<sup>[14]</sup>。基于以上原因, 本文对该方法做出改进, 样品前处理采用凝胶色谱(gel permeation chromatography, GPC)进行净化, 代替中性氧化铝柱。

凝胶色谱<sup>[15]</sup>是一种特殊的液相色谱, 仪器本身的构造与高效液相色谱仪相似, 其原理是利用物质本身的体积大小进行分离。色谱柱装填的是多孔性凝胶或微粒, 孔径大小与待分离的聚合物分子相似。分离时, 体积大的化合物不能进入凝胶孔, 因而最先从凝胶粒间流出。化合物是依据分子量的大小由大到小依次从 GPC 分离出。在对试样进行检测时, 样品提取液中含有苏丹红和其他杂质, 由于标准品和样品中的苏丹红分子大小相同, 因此在使用标准品确定凝胶色谱分离出苏丹红的时间段范围后, 样品中苏丹红从凝胶色谱分离出的时间段和标准品是一致的。收集该时间段的流出液, 废弃其他时间段流出液, 即获得较为干净的、基本不含其他杂质的苏丹红溶液。目前市售的凝胶色谱仪大部分都配有自动进样装置, 适合批量分析。采用 GPC 进行净化前处理方便、样品损失小, 并大大缩短了分析时间。

## 2 材料与方 法

### 2.1 仪器与设备

高效液相色谱配有紫外检测器(Agilent1260, 美国安捷伦科技有限公司); 电子天平(Mettler 104/02, 瑞士梅特勒-托利多国际股份有限公司); 漩涡振荡仪(Ikalab Dancer, 德国 IKA 集团); 离心机(Sigma 3-30K, 德国 Sigma 实验室离心机股份有限公司); 旋转蒸发器(Ikarv10, 德国 IKA 集团); 凝胶色谱(GPC, 德国 LCTECH 公司)。

### 2.2 试剂及材料

乙腈(色谱纯, Merck); 苏丹红 I~IV(Dr.

EhrenstorferGmbH); 水为 GB/T 6682 规定的一级水。

## 2.3 实验方法

### 2.3.1 储备液配制

分别称取苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV 标准物质各约 10 mg 于 250 mL 容量瓶中, 加乙腈定容至刻度, 分别配成 40  $\mu\text{g/mL}$  的苏丹红 I、II、III、IV 标准储备液; 将储备液放置棕色瓶中保存, 临用时用乙腈稀释至所需浓度。

### 2.3.2 样品的处理

称取试样 1 g(精确至 0.0001 g)于 50 mL 离心管中, 加入 25 mL 乙腈, 漩涡振荡, 放置超声波清洗机中超声 5 min, 以 5000 r/min 离心 5 min 后, 将上层清液(乙腈层)倾倒入梨形瓶中; 用 25 mL 乙腈重复提取、漩涡、超声、离心后, 合并乙腈层于同一个梨形瓶中, 旋转蒸发至干, 加入 10 mL 乙腈并转移至凝胶色谱进样小瓶。

凝胶色谱吸取上述溶液 5 mL 进行净化, 净化完毕后, 将净化液旋转蒸发至干, 加入 2.5 mL 乙腈定容, 经 0.45  $\mu\text{m}$  有机滤膜过滤后上机。

### 2.3.3 高效液相色谱条件

色谱柱: Waters C<sub>18</sub>(4.6 mm $\times$ 150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相: 乙腈-水(V:V, 90:10); 流速: 1 mL/min; 进样量: 20  $\mu\text{L}$ 。

## 3 结果与分析

### 3.1 方法的线性范围

取苏丹红 I~IV 标准储备液适量用乙腈稀释至最终浓度为 0.002、0.16、0.32、0.64、1.28  $\mu\text{g/mL}$  的工作溶液, 20  $\mu\text{L}$  进样, 按上述色谱条件测定。结果表明苏丹红 I~IV 在 0.002~1.28  $\mu\text{g/mL}$  浓度范围内各物质的峰面积(Y)与浓度(X)线性相关性良好。回归方程及线性相关系数分别为:

$$\text{苏丹红 I: } Y_1=545.34X_1-3.25\times 10^{-1}, r_1=0.9998;$$

$$\text{苏丹红 II: } Y_2=378.09X_2+2.95\times 10^{-1}, r_2=0.9999;$$

$$\text{苏丹红 III: } Y_3=629.53X_3-4.64, r_3=0.9999;$$

$$\text{苏丹红 IV: } Y_4=575.83X_4-1.21, r_4=0.9999.$$

### 3.2 方法的回收率与精密度试验

分别对不含有苏丹红的辣椒粉、辣椒酱、香肠样品进行加标试验(添加浓度为 0.16  $\mu\text{g/mL}$ ), 按上述方法进行前处理、测定, 重复 6 次, 计算平均加标回收率与精密度, 结果见表 1。

表 1 苏丹红 I、II、III、IV 的回收率与精密度  
Table 1 Recoveries and precision of Sudan I~IV

样品名	测试项目	添加浓度( $\mu\text{g/mL}$ )	添加水平( $\text{mg/kg}$ )	检测结果( $\text{mg/kg}$ )	回收率(%)	精密度(%)
辣椒粉	苏丹红 I	0.16	0.80	0.76	95.0	1.6
	苏丹红 II	0.16	0.80	0.78	97.5	5.5
	苏丹红 III	0.16	0.80	0.78	97.5	8.1
	苏丹红 IV	0.16	0.80	0.74	92.5	8.3
辣椒酱	苏丹红 I	0.16	0.80	0.69	86.2	1.3
	苏丹红 II	0.16	0.80	0.70	87.5	2.0
	苏丹红 III	0.16	0.80	0.69	86.2	1.5
	苏丹红 IV	0.16	0.80	0.67	83.8	1.5
香肠	苏丹红 I	0.16	0.80	0.79	98.8	2.9
	苏丹红 II	0.16	0.80	0.76	95.0	2.7
	苏丹红 III	0.16	0.80	0.73	91.2	2.5
	苏丹红 IV	0.16	0.80	0.66	82.5	3.5

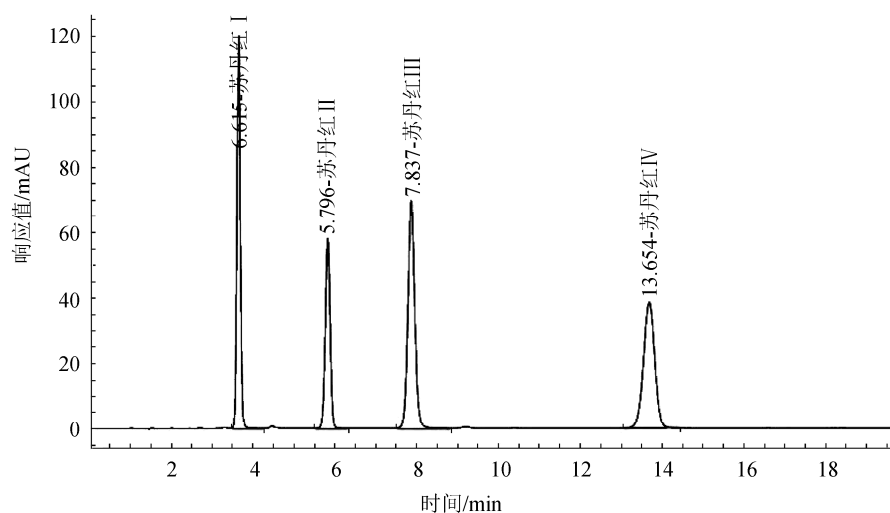


图 1 苏丹红标准品的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of Sudan standard substance

由表 1 的结果可见: 标准加入量为  $0.16 \mu\text{g/mL}$  浓度, 即添加水平为  $0.80 \text{ mg/kg}$  时, 辣椒粉的回收率为  $92.5\% \sim 97.5\%$ , 辣椒酱的回收率为  $83.8\% \sim 87.5\%$ , 香肠的回收率为  $82.5\% \sim 98.8\%$ , 回收率和重复性均良好。

### 3.3 方法的检出限

以苏丹红 I~IV 色谱峰相当于基线噪音的 10 倍 ( $S/N=10$ ) 计算分析物的检出限, 苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV 均为  $10 \mu\text{g/kg}$ , 满足国标 GB/T

19681-2005《食品中苏丹红染料的检测方法高效液相色谱法》的要求。具体见图 1。

由色谱图可知: 按照本文的检测条件, 苏丹红标准物质的峰型良好, 且实验时间较国标大为缩短。

## 4 讨论

结果表明, 与国家标准的苏丹红检测方法 GB/T 19681-2005《食品中苏丹红染料的检测方法高效液相色谱法》相比较: 前处理中, 国标方法采用中性氧化

铝固相萃取柱对样品提取液进行净化,要求对用于填柱的层析用中性氧化铝粉末在 105 ℃ 进行 2 h 干燥,并冷却至室温,准确加入一定量的水去活,之后再填充至注射器管中,整个制作过程繁琐且均一性较难掌握,并且无法较好地控制去活水的量,在每次加完水后,都需要用苏丹红标准品进行净化柱回收率的检验,检验合格方能进行净化使用。而手工填柱势必会使每根净化柱的中性氧化铝的紧实程度存在无法避免的差异,这样导致了实验结果的重复性不佳。目前市面上有专用于分析苏丹红的固相萃取柱,但各品牌之间同样存在性能上的差异,有的品牌的固相萃取柱有其专门的淋洗和洗脱方法,与国标方法不尽相同。

本文中采用凝胶色谱净化方法取代了中性氧化铝净化技术,利用标准品和样品中苏丹红分子大小相同,只需和标准品同样的时间段收集凝胶色谱的分离液,即可获得较为干净的、基本不含样品杂质的苏丹红溶液,实验结果重复性良好,且回收率较高,解决了中性氧化铝柱净化回收率偏低且不够稳定的问题。

在液相色谱分析时,国标方法中采用流动相 A: 乙腈: 水,流动相 B: 乙腈: 丙酮, A 和 B 流动相进行梯度液脱,较为复杂,且分析时间为 40 min。本文采用乙腈和水等度洗脱,实验条件方便,分析时间缩短为 18 min,更为高效。同样适合于只配备单泵液相色谱的实验室检测。能满足日常检测工作的要求。

#### 参考文献

- [1] 杨强,李刚,彭涛,等. 辣椒及其制品中苏丹红 1 号的 HPLC-MS/MS 检测方法[J]. 中国食品卫生杂志, 2005, 17(6): 511-513.  
Yang Q, Li G, Peng T, *et al.* Determination of Sudan I in foods by HPLC-MS/MS [J]. *Chin J Food Hyg*, 2005, 17(6): 511-513.
- [2] 王骏. 液相色谱-质谱联用测定食品中的苏丹红染料[J]. 山东轻工业学院学报, 2005, 19(4): 62-65.  
Wang J. The determination of Sudan dyes in foods by HPLC-MS [J]. *J Shandong Ins Light Ind*, 2005, 19(4): 62-65.
- [3] 王明月,桂卫星,袁宏球. HPLC 法测定成蛋、皮蛋黄中的四种苏丹红染料[J]. 食品科学, 2009, 30(2): 193-195.  
Wang MY, Gui WX, Yuan HQ. High performance liquid chromatography for determination of Sudan dyes in salted and preserved eggs [J]. *Food Sci*, 2009, 30(2): 193-195.
- [4] 梁桂娟,肖洋,王文平,等. 超高效液相色谱-质谱联用法(UPLC-MS/MS)测定辣椒制品中苏丹红 I、II、III、IV 的含量[J]. 食品科技, 2012(8): 301-304.  
Liang GJ, Xiao Y, Wang WP, *et al.* Determination of chilli products of Sudan I, II, III, IV by UPLC-MS/MS [J]. *Food Sci Technol*, 2012(8): 301-304.
- [5] 彭涛,肖良,袁家齐,等. 辣椒油中苏丹红 I 号检测能力验证研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2006, 18(5): 408-412.  
Peng T, Xiao L, Yuan JQ, *et al.* Study on proficiency testing of determination of Sudan I in chili oil [J]. *Chin J Food Hyg*, 2006, 18(5): 408-412.
- [6] 李吉平,高宏伟,刘文森,等. 辣椒制品中苏丹红 I~IV 号检测方法比较研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(2): 109-113.  
Li JP, Gao HW, Liu WS, *et al.* Contrastive analysis of determination method of Sudan I-IV in food of capsicum [J]. *Food Res Devel*, 2008, 29(2): 109-113.
- [7] 宋永青,李莹莹,赵榕. 超高效液相色谱-质谱法测定禽蛋中苏丹红[J]. 粮油食品科技, 2009, 17(6): 40-41.  
Song YQ, Li YY, Zhao R. Determination of Sudan red in eggs by UPLC-MS/MS [J]. *Sci Technol Cereals Oils Food*, 2009, 17(6): 40-41.
- [8] 张裕平,张毅军,袁倬斌,等. 高效液相色谱法测定红辣椒制品中的苏丹红[J]. 生命科学仪器, 2005, 3(3): 25-28.  
Zhang YP, Zhang YJ, Yuan ZB. Determination of Sudan dyes in chilli products by high performance liquid chromatography [J]. *Life Sci Instrum*, 2005, 3(3): 25-28.
- [9] 刘彩云,唐守嵘,邵建宁,等. 液相色谱-质谱法测定辣椒中的苏丹红 I [J]. 中国酿造, 2009, (10): 144-146.  
Liu CY, Tang SR, Shao JN, *et al.* Determination of Sudan I in chili by HPLC-MS [J]. *China Brew*, 2009, (10): 144-146.
- [10] 喻凌寒,杨运云,闫世平,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.  
Yu LH, Yang YY, Yan SP, *et al.* Determination of trace Sudan I-IV in food by HPLC-ESI/MS [J]. *J Instrum Anal*, 2005, 24(4): 28-31.
- [11] 关尔渤,尹燕杰,于国萍. 食品中苏丹红 I 分析方法的改进与探索[J]. 食品安全质量检测学报, 2012, 3(2): 101-105.  
Guan EB, Yin YJ, Yu GP. Explore and improve the analytic method of Sudan red I in food [J]. *J Food Saf Qual*, 2012, 3(2): 101-105.
- [12] 刘洪海,刘向国,田海燕,等. HPLC 法测定辣椒酱中苏丹红 I 的含量[J]. 中国调味品, 2013, 38(4): 96-97.  
Liu HH, Liu XG, Tian HY, *et al.* Determination of Sudan I in chili sauce by HPLC [J]. *China Cond*, 2013, 38(4): 96-97.
- [13] GB/T 19681-2005 食品中苏丹红染料的检测方法高效液相色谱

谱法[S].

GB/T 19681-2005 The method for the determination of Sudan dyes in foods-high performance liquid chromatography [S].

- [14] 王凤池, 孙汉文, 吕红英. 高效液相色谱法同时测定食品中苏丹 1 号、2 号、3 号和 4 号[J]. 食品科技, 2005(7): 72-75.

Wang FC, Sun HW, Lv HY. Simultaneous determination of Sudan I, II, III and IV in food by HPLC [J]. Food Sci Technol, 2005(7): 72-75.

- [15] 于世林. 高效液相色谱方法及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.

Yu SL. Method and application of high performance liquid chromatography [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.

(责任编辑: 杨翠娜)

## 作者简介

汪雪峰, 工程师, 主要研究方向为食品化妆品的检测和工艺。

E-mail: wangxiaofeng@ccicshanghai.com