

辣椒制品中苏丹红色素的快速检测方法

吴超 陈敏

(中国农业大学 食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要 提出快速定性、定量测定辣椒制品中苏丹红色素的薄层色谱-扫描法。试验确定展开剂成分比例,在 $V(\text{石油醚}) : V(\text{丙酮}) : V(\text{乙酸乙酯}) = 100 : 3 : 4$ 的条件下,利用薄层色谱法可使辣椒制品中的天然色素与苏丹红色素在高效硅胶板上完全分离,比较检测样品与苏丹红色素标准品的 R_f 值和斑点颜色即可定性判断食品中是否含有苏丹红色素。用扫描仪扫描展开后的样品获得色素斑点图像,应用 BandScan 软件测定苏丹红、 、 、 标准样品的总灰度,以苏丹红点样量(μg)为横坐标 x ,总灰度值为纵坐标 y ,进行线性回归,定量测定辣椒制品中的苏丹红含量。试验结果表明,苏丹红、 、 、 扫描值的相对标准差分别为 1.01%、1.91%、0.68%和 2.59%,说明本方法精密度很好。本方法分离效果好、灵敏度高,且经济、操作简便,适用于辣椒及其制品中苏丹红色素的定性定量测定。

关键词 薄层色谱; 苏丹红; 辣椒色素; 扫描

中图分类号 R 155.5

文章编号 1007-4333(2007)05-0048-04

文献标识码 A

Rapid detection method of sudan pigments in chili products

Wu Chao, Chen Min

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract TLC was used for rapid detection of sudan pigments. The sudan pigments and chili pigments were separated by TLC on HP TLC. This detection method can measure that the sudan pigments were added in chili products or not. With an eluant of petroleum ether : acetone : acetic acid = 100 : 3 : 4, the pigments were deployed. Qualitative judgement was measured by the contraction of the different R_f values in the chili & sudan pigments, and the different colors. The total grays were obtained by the BandScan software. The content of sudan (μg) in chili products as x -axis and the total gray as y -axis were used in the analysis method of linearity regression. It can be confirmed for compendia quantity. This method proves to be rapid, sensitive, simple and accurate. It was used for the detecting of qualitative & quantitative analysis of sudan pigments in chili products.

Key words TLC; sudan; chili pigments; scan

苏丹红为亲脂性偶氮色素,主要包括苏丹红、 、 、 4 种化合物。近年来,国内外多次报道从红辣椒粉和其他辣椒制品中检出苏丹红。英国食品标准局(The Food Standard Agency, FSA)在其网站上公布了可能含有苏丹红的产品清单,包括香肠、泡面、熟肉、馅饼、辣椒粉、调味酱等 474 种产品^[1]。我国《食品添加剂使用卫生标准》^[2]中规定禁止使用苏丹红作为食品添加剂,但食品质量检测中屡有苏丹红检出,导致食品安全问题。

目前国内外有关苏丹红的检验检测技术主要有:HPLC 法^[3-4]、极谱法^[5]、固相萃取-气质联用法^[6]、GC-MS/ SIM 分析方法^[7]、薄层色谱法^[8]和分子印记固相萃取技术^[9]等。其中,HPLC 法检出限为 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$;固相萃取-气质联用法检测限分别为 0.5 和 $0.7 \mu\text{g}/\text{L}$;气相色谱-质谱-选择离子法的检测限为 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。这些检测方法需专业仪器且检测费用较高。现有的薄层分析方法较为简单,但一般仅用于苏丹红色素的定性测定,且不同类型苏丹红色

收稿日期: 2007-08-03

基金项目: 中国农业大学 URP(undergraduate research program)计划资助项目

作者简介: 吴超,本科生;陈敏,教授,通讯作者,主要从事食品分析研究, E-mail: minchen19@163.com

素的分离度较低,定量测定则需要专业薄层扫描仪完成。因此上述方法均不适宜广泛用于日常食品安全监管检测。

本研究拟结合薄层色谱分析法和扫描法,通过改进展开剂条件提高薄层色谱法辣椒色素与苏丹红色素的分离度,以及苏丹红、各色素斑点的分离度,使用普通扫描仪实现薄层扫描定量测定,为食品安全监管检测提供一种快速、便捷、经济,且灵敏度较好的苏丹红色素定量检测方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料、仪器和试剂

1) 材料。辣椒酱、辣椒粉、辣制泡菜为市售,辣椒油为自制。

2) 仪器。主要仪器包括:高效硅胶板(青岛海洋化工厂)、微量进样器(平头 5 μL ,上海高鸽工贸有限公司)、CanoScan 3000 扫描仪(佳能公司)和旋转蒸发仪(上海亚荣)。

3) 试剂。苏丹红标准样品包括:苏丹红(北京化工厂,AR)、苏丹红(北京通县育才精细化工厂,AR)、苏丹红(温州东升化工试剂厂,AR)、苏丹红(北京化学试剂公司,AR)。石油醚、丙酮、乙酸乙酯、乙醇等均为国产分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 辣椒制品中苏丹红色素的提取方法

1) 干粉状制品。称取 1 g 辣椒粉样品置于研钵,用 30 mL 石油醚与丙酮混合提取液(1:2(石油醚与丙酮体积比,下同))研磨提取 2~3 次至无色(10 min)。离心,将上清液移入旋转蒸发仪 40 $^{\circ}\text{C}$ 蒸干,用少量石油醚与丙酮混合溶剂(3:1)溶解,定容至 10 mL 备用。

2) 高油制品。用微量进样器或内径 0.5 mm 的定量毛细管吸取辣椒油样品,直接点样。

3) 高含水制品。a. 辣制泡菜。将泡菜剪切成碎块,用石油醚与丙酮混合提取液(1:2)研磨提取至无色。用无水硫酸钠脱水,过滤,将滤液移入旋转蒸发仪 40 $^{\circ}\text{C}$ 蒸干,用少量石油醚与丙酮混合溶剂(3:1)溶解,定容至 10 mL 备用。b. 辣椒酱。称取 5 g 样品置于研钵,用石油醚与丙酮混合提取液(1:2)50 mL 研磨提取 2~3 次至无色(10 min)。离心,将上清液移入旋转蒸发仪 40 $^{\circ}\text{C}$ 蒸干,用少量石油醚与丙酮混合溶剂(3:1)溶解,定容至 10 mL 备用。

1.2.2 苏丹红色素的定性、定量检测方法

1) 定性检测方法。待测样品和随行的苏丹红色素标样在同一高效薄层板上分别点样,展开后,对比二者的比移值 R_f 和色素斑点颜色。

2) 定量检测方法。准确称取苏丹红标样、各 2 mg,分别用丙酮定容至 10 mL,得到质量浓度为 0.2 mg/mL 的 4 种标准样品溶液。4 个组分系列浓度的样品经薄层展开,扫描仪扫描获取色素斑点图像,应用 BandScan 软件测定图像的总灰度(total gray),以点样量和灰度值的关系制作标准曲线,并用外标法对样品进行定量测定。

2 结果与讨论

2.1 苏丹红色素、各色素斑点的分离与定性

2.1.1 点样量对分离效果的影响 为满足扫描定量分析的要求,选用系列不同量程进样器进行点样量试验。试验中发现,在本试验样品浓度范围内,标准样品点样量大于 5.0 μL 时易在硅胶板上拖尾和扩散,而小于 0.1 μL 时展开后色素点不明显,且扫描值偏离线性范围;因此确定采用 5 μL 微量进样器。用 5 μL 微量进样器分别将提取样品溶液和苏丹红标准样品溶液在硅胶板上点成直径 2~3 mm 的圆点,点样量约 0.5~2.0 μL 。

2.1.2 展开剂的选择 定性分析时,比较待测样品与苏丹红标准样品的 R_f 值和色素斑点颜色即可确定待测样品是否含苏丹红色素。一般定性分析只要有微小差别即可确定,但通过扫描进行定量分析要求各种色素展开后的斑点完全分离。为获得辣椒色素与苏丹红色素斑点的良好分离效果,试验尝试使用不同展开剂。展开剂成分体积比 $V(\text{石油醚}) : V(\text{丙酮}) = 9 : 1$ 时,辣椒中各色素斑点分离较好,但苏丹红色素斑点重叠; $V(\text{石油醚}) : V(\text{丙酮}) : V(\text{乙酸乙酯}) = 100 : x_1 : x_2$ ($x_1 : x_2$ 分别为 5:6、5:7、5:8、6:5、7:4、7:5、7:6、8:4 等)时苏丹红色素各点、辣椒中色素各点均分离较好,但苏丹红与辣椒色素斑点重叠;只有 $V(\text{石油醚}) : V(\text{丙酮}) : V(\text{乙酸乙酯}) = 100 : 3 : 4$ 时,辣椒色素与苏丹红色素斑点完全分离(图 1)。虽然辣椒中的色素种类较多,但在这一展开剂条件下没有与苏丹红(各)标准样品色素斑点重叠,不会对下一步扫描苏丹红色素斑点造成干扰,满足扫描后定量分析的要求。另外,此分离条件下苏丹红、斑点重叠,主要是因为它们的分子

质量较大,而结构上差别较小,在此展开剂条件下难以分开,但二者斑点集中,有利于扫描与定量分析。

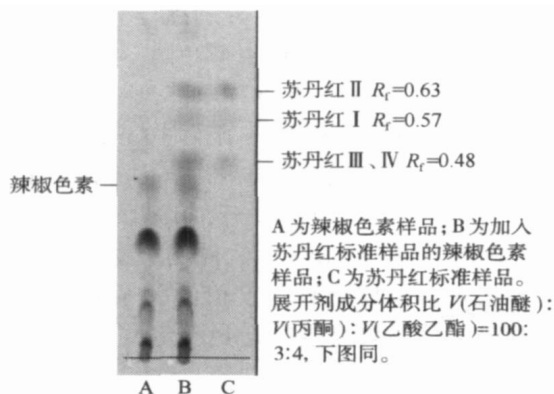


图1 薄层色谱法辣椒红与苏丹红色素分离结果

Fig. 1 TLC of pigments from chili and sudan

以辣制泡菜为例,依据本文 1.2.1 方法提取泡菜色素样品,与随行的苏丹红混合标准样品同时展开,结果见图 2。可以明显看出,辣制泡菜中的色素

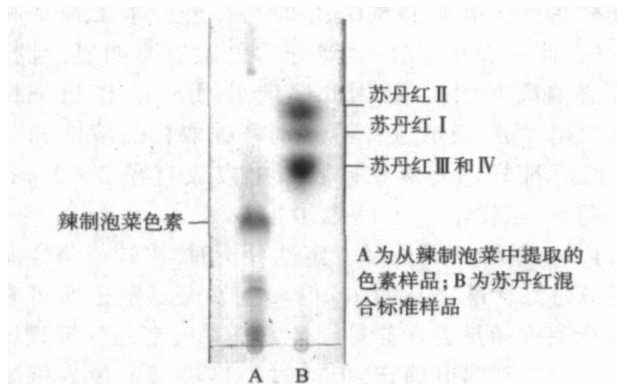


图2 薄层色谱法辣制泡菜中色素与苏丹红色素分离结果

Fig. 2 TLC of pigments from pickle and sudan

与苏丹红色素的 R_f 值不同,因此可用肉眼直接定性判断辣制泡菜中是否含有苏丹红色素。

2.2 苏丹红色素的定量分析

2.2.1 线性关系及检出限 取苏丹红、、、、标准样品,在高效硅胶板上以不同点样量点样:苏丹红 分别为 0.2、0.4、1.0、2.0、2.5 μL ;苏丹红 分别为 0.2、0.3、0.4、0.5、0.7、0.8、1.0、1.2 μL ;苏丹红 分别为 0.2、0.3、0.4、0.5、0.8、1.0、1.2 μL ;苏丹红 分别为 0.2、0.4、1.0、1.5、2.0 μL 。由于苏丹红 和 采用本文 1.2.2 方法得到的 R_f 相同,所以,如果检测出辣椒样品中含有苏丹红 或 ,可采用 $V(\text{正己烷}) : V(\text{乙醚}) = 6 : 1$ 展开剂^[8]展开,根据苏丹红 或 R_f 的微小差别判定苏丹红类型。展开后将薄板在扫描仪上扫描,应用 BandScan 软件测定苏丹红、、、、标准样品色素斑点图像的总灰度。制作标准曲线,以点样量为横坐标,总灰度值为纵坐标。根据线性方程和系列标准样品点样量,得到薄层色谱测定苏丹红的线性范围。每个苏丹红标准样品的点样量从 0 开始逐渐增加,在同一薄层板上点样,依本文方法展开,以能够确切判断色素斑点为标准,确定方法的检出限。试验结果见表 1。

2.2.2 回收率及样品含量测定 取 4 份辣椒粉制品,分别加入不同质量苏丹红、、、、标准样品,得到其质量浓度梯度,用本文方法提取并检测其中苏丹红含量。依法提取待测样品并展开,扫描获得苏丹红色素斑点图像,用 BandScan 软件得到其灰度值,计算苏丹红色素回收率和相对标准偏差 RSD,结果见表 2。

表 1 苏丹红色素的线性关系及检出限

Table 1 Standard curve of sudan

苏丹红色素	回归方程	线性范围/ μg	相关系数 R^2	检出限/ μg
	$y = 2.8880x + 0.8535$	0.04 ~ 0.50	0.9941	0.01
	$y = 0.0168x + 0.1147$	0.04 ~ 0.24	0.9949	0.02
	$y = 0.0079x + 0.0648$	0.04 ~ 0.30	0.9957	0.02
	$y = 43.6450x + 3.3574$	0.04 ~ 0.40	0.9907	0.02

注: x 为苏丹红色素标准样品点样量; y 为苏丹红色素斑点扫描图像总灰度值 ($\times 10^{-5}$)。

2.2.3 稳定性和精密度试验 将展开剂在层析缸中静置 5 min 以上,待充分饱和后放入点好样的硅胶板。展开后的苏丹红斑点常温见光放置较长时间后其扫描灰度值基本不变,稳定性良好;而辣椒色素斑点极易分解(天然色素特点),几乎完全褪色,故应

及时进行扫描。

分别在同一高效硅胶板上点苏丹红、、、、标准样品各 6 点,依法展开。扫描测定得到苏丹红、、、、扫描值的 RSD,分别为 1.01%、1.91%、0.68%和 2.59%,说明本方法精密度很好。

表 2 苏丹红色素回收率试验结果

Table 2 Test results of recovery experiment

苏丹红色素	样品苏丹红色素质量 浓度/($\mu\text{g}/\text{mL}$)	加入量/ μg	检测量/ μg	回收率/ %	平均回收率/ %	相对标准偏差/ %
	0.05	0.05	0.09	91.59		
	0.05	0.05	0.09	94.06	93.25	1.542
	0.05	0.05	0.09	94.10		
	0.10	0.35	0.41	90.38		
	0.10	0.35	0.41	90.84	90.58	0.919
	0.10	0.35	0.41	90.52		
	0.10	0.15	0.24	96.22		
	0.10	0.15	0.24	95.78	95.51	0.846
	0.10	0.15	0.24	94.53		
	0.10	0.05	0.14	96.40		
	0.10	0.05	0.15	100	96.99	3.927
	0.10	0.05	0.14	94.57		

3 结 论

本文中提出的薄层色谱 - 扫描法可用于定性、定量测定辣椒制品中是否含有违禁的苏丹红色素:

1) 采用薄层色谱法,以 $V(\text{石油醚}) : V(\text{丙酮}) : V(\text{乙酸乙酯}) = 100 : 3 : 4$ 为展开剂,可使辣椒中的色素与苏丹红色素斑点完全分离。通过 R_f 值、随行标样及色素斑点颜色比较,可以准确定性区分辣椒色素与苏丹红色素,以及苏丹红色素类型。

2) 利用扫描仪扫描获取展开后的苏丹红标准样品()及待测样品色素斑点图像,用 BandScan 软件对图像进行处理,可定量测定辣椒制品中的苏丹红含量。

3) 薄层色谱-扫描法检测方法简单,费用低,可广泛应用于食品安全监管执行中苏丹红的检测。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 苏丹红危险性评估报告[EB/OL]. [2006-03-01]. http://www.moh.gov.cn/public/open.aspx?n_id=9598
- [2] 孙平. 食品添加剂使用手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 82-141, 657-729
- [3] GB/T19681—2005 苏丹红染料的检测方法高效液相色谱法[S]
- [4] Cornet V, Govaert Y, Moens G, et al. Development of a fast analytical method for the determination of sudan dyes in chili and curry-containing foodstuffs by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(3): 639-644
- [5] 彭科怀, 向仕学, 汤晓勤, 等. 辣椒制品中苏丹红 I 的极谱法快速测定[J]. 预防医学情报杂志, 2005, 21(3): 286-288
- [6] 郭新东, 何强, 郭茂章, 等. 固相萃取-气质联用测定辣椒油中苏丹红和 [J]. 广州化工, 2005, 33(3): 60-61
- [7] 吴慧勤, 黄晓兰, 黄芳, 等. 食品中苏丹红一号的 GC-MS/SIM 快速分析方法的研究[J]. 分析测试学报, 2005, 24(3): 1-5
- [8] 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
- [9] Francesco P, Carmelo G, Francesca I, et al. Molecularly imprinted solid phase extraction for detection of sudan in food matrices[J]. Food Chemistry, 2005, 93: 349-353
- [10] Tateo F, Bononi M. Fast determination of sudan by HPLC/APC-MS in hot chilli, spices, and oven-baked foods[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(4): 655-658
- [11] Hee-Yun Kim, Hae-Jung Yoon, Jang-Duk Choi, et al. A study for analytical method of sudan colorants in foods[J]. Journal of the Korean Society of Food Science & Nutrition, 2004, 33(3): 549-552