

咸鸭蛋黄中苏丹红的检测—高效液相色谱法

“红心”鸭蛋因营养价值高受欢迎，一些不法商贩就动了歪脑筋，通过给饲料里添加工业染料苏丹红四号，得到鲜红的“红心”咸鸭蛋，极大地危害了消费者的健康。

苏丹红：人工合成的系列偶氮类工业染料，分为 I、II、III、IV 号。国际癌症研究机构将苏丹红 IV 号列为三类致癌物，其初级代谢产物邻氨基偶氮甲苯和邻甲基苯胺均列为二类致癌物，均有一定的潜在致癌作用。

近年来欧盟和我国都严禁使用苏丹红作为食品添加剂，参考国家标准 GB/T 19681-2005《食品中苏丹红染料的检测方法 高效液相色谱法》，我们采用反相高效液相色谱仪对苏丹红 I 号、II 号和 IV 号进行了测定。

1、方法原理

样品经溶剂提取、固相萃取净化后，用反相高效液相色谱—紫外可见光检测器进行色谱分析，采用外标法定量。

2、主要仪器和试剂

- 1) 【上分】牌高效液相色谱仪，二元高压梯度；
- 2) 电子天平；
- 3) 超声波水浴；
- 4) 旋转蒸发仪，5) 离心机，6) 苏丹红检测专用固相萃取柱；

6) 苏丹红标准储备液：准确称取适量苏丹红标准物质，用乙腈配制成 10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液待用。

3、 实验方法

3.1 样品制备

3.1.1 样品提取准确称取咸鸭蛋黄 1.0g 于三角瓶中，加入 10mL 正己烷，涡旋 1min 后振荡 5min，超声 5min，4000r/min 离心 5min，收集上清液。下层残留物用 10mL 正己烷按上述步骤重复提取一次，合并两次上清液，用旋转蒸发仪浓缩至近干，再加入 5 mL 正己烷混匀，待用。

3.1.2 SPE 柱净化：

- 1) 活化：苏丹红检测柱使用前用 10 mL 正己烷活化；
- 2) 上样和洗脱：苏丹红检测柱上加入待净化液，弃去流出液；依次加入 5 mL 正己烷、5 mL 1%乙酸乙酯正己烷淋洗，弃去淋洗液；再加入 10 mL 30%乙酸乙酯-正己烷溶液，收集洗脱液。（整个上样洗脱过程均保持流速 1 mL/min）
- 3) 洗脱液在 40 °C 下减压蒸馏近干，加 1mL 40%甲基叔丁基醚甲醇溶液定容，过 0.45 μ m 滤膜后供 HPLC 分析。



3.2、高效液相色谱仪参考条件

色谱柱：C18 4.6 mm(i.d)×250mm, 5μm;

梯度程序：流动相 A: 乙腈 流动相 B: 0.2%磷酸水溶液

功能	T(min)	A(%)	B(%)
0	18	88	12
1	2	100	0
0	10	100	0
1	0.1	88	12
0	9.9	88	12

流速：1 mL/min;

柱温：40℃波长：518 nm;

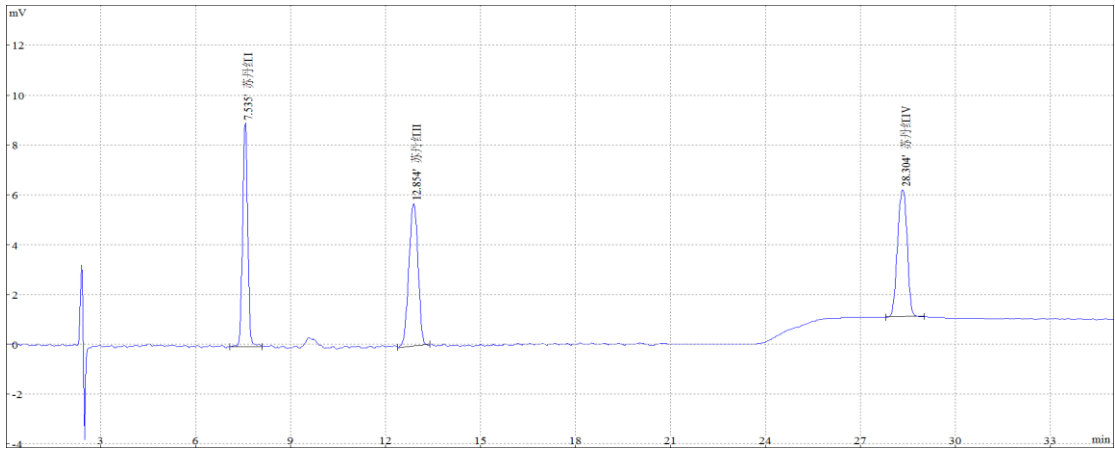
进样体积：20 μL

测定：取相同体积试样制备液和标准使用液分别注入高效液相色谱仪，根据保留时间按定性，外标峰面积法定量。

4、 实验结果

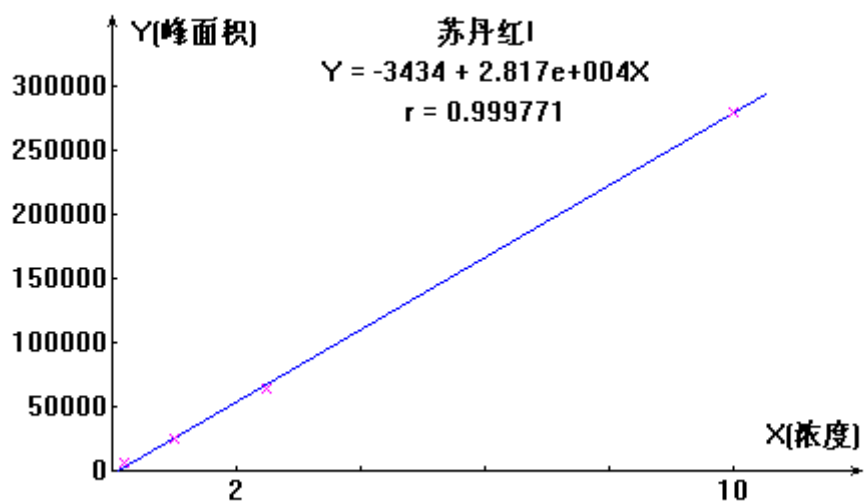
4.1 高效液相色谱图

2.5 μg/mL 苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 IV 混合标准样品

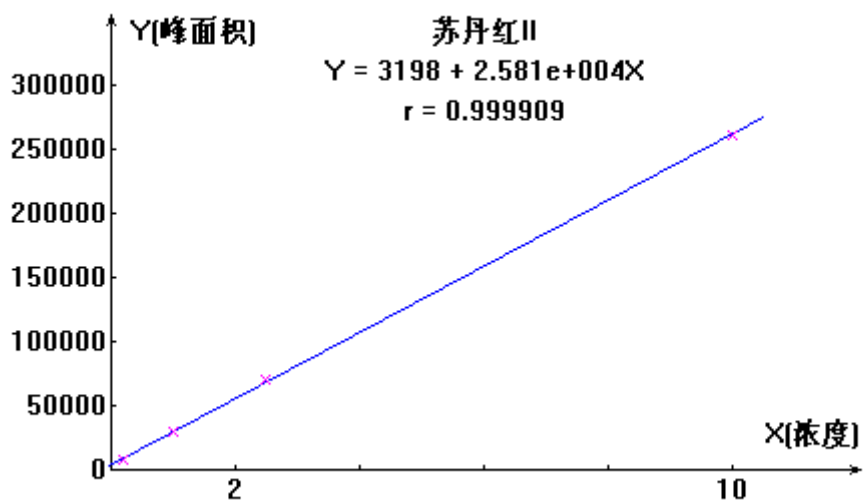


4.2 工作曲线的绘制

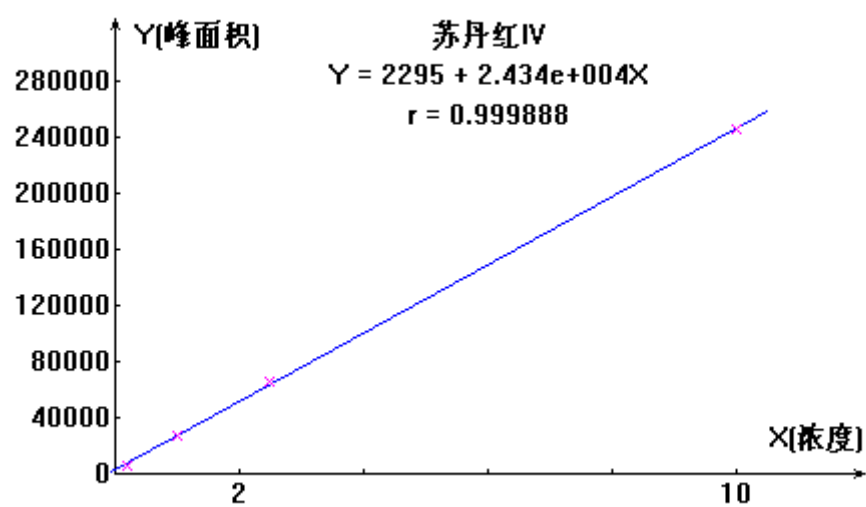
苏丹红 I 号工作曲线见下图，线性相关系数：0.9997



苏丹红 II 号工作曲线见下图，线性相关系数：0.9999



苏丹红 IV 号工作曲线见下图，线性相关系数：0.9998



5、 小结

实验中前处理步骤选用专用的苏丹红萃取小柱，去油效果佳，能有效去除油酯等干扰，有较高的回收率和稳定性；采用二元高压梯度，三种苏丹红组分有很好的分离效果和重复性。此方法也适用于其他食品基质中苏丹红的检测。