



中华人民共和国国家标准

GB/T 19681—2005

食品中苏丹红染料的检测方法 高效液相色谱法

The method for the determination of Sudan dyes in foods –

High performance liquid chromatography

2005-03-29 发布

2005-03-29 实施

国家质量监督检验检疫总局
国家标准化管理委员会

发布

前 言

本标准遵循GB/T 1.1-2000《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写规则》和GB/T 20001.4-2001《标准编写规则 第4部分：化学分析方法》的编写规则。

本标准的附录A为资料性附录。

本标准由国家质量监督检验检疫总局提出。

本标准由国家粮食质量监督检验中心归口。

本标准起草单位：国家粮食质量监督检验中心，大连市产品质量监督检验所。

本标准主要起草人：潘炜、王春燕、李鹏、董广彬、于利军。

食品中苏丹红染料的检测方法 高效液相色谱法

1 范围

本标准适用于食品中苏丹红染料的检测。

本标准规定了食品中苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV 的高效液相色谱测定方法。

方法最低检测限：苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV 均为 10 ug/kg。

2 术语和定义

2.1 苏丹红

属偶氮系列化工合成染料。

3 方法要点

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。

4 试剂与标准品

4.1 乙腈 色谱纯

4.2 丙酮 色谱纯、分析纯

4.3 甲酸 分析纯

4.4 乙醚 分析纯

4.5 正己烷 分析纯

4.6 无水硫酸钠 分析纯

4.7 层析柱管：1cm（内径）× 5cm（高）的注射器管。

4.8 层析用氧化铝（中性 100 目~200 目）：105℃ 干燥 2h，于干燥器中冷至室温，每 100g 中加入 2mL 水降活，混匀后密封，放置 12h 后使用。

注：不同厂家和不同批号氧化铝的活度有差异，须根据具体购置的氧化铝产品略作调整，活度的调整采用标准溶液过柱，将 1ug/mL 的苏丹红的混合标准溶液 1mL 加到柱中，用 5%丙酮正己烷溶液 60mL 完全洗脱为准，4 种苏丹红在层析柱上的流出顺序为苏丹红 II、苏丹红 IV、苏丹红 I、苏丹红 III，可根据每种苏丹红的回收率作出判断。苏丹红 II、苏丹红 IV 的回收率较低表明氧化铝活性偏低，苏丹红 III 的回收率偏低时表明活性偏高。

4.9 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 3 cm 高，轻敲实后加一薄层脱脂棉，用 10mL 正己烷预淋洗，洗净柱中杂质后，备用。

4.10 5%丙酮的正己烷液：吸取 50mL 丙酮用正己烷定容至 1L。

4.11 标准物质：苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV；纯度≥95%

4.12 标准贮备液：分别称取苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III 及苏丹红 IV 各 10.0mg（按实际含量折算），用乙醚溶解后用正己烷定容至 250mL。

5 仪器与设备

5.1 高效液相色谱仪（配有紫外可见光检测器）

- 5.2 分析天平：感量 0.1mg
- 5.3 旋转蒸发器
- 5.4 均质机
- 5.5 离心机
- 5.6 0.45 μm 有机滤膜

6 样品制备

将液体、浆状样品混合均匀，固体样品需磨细。

7 操作方法

7.1 样品处理

7.1.1 红辣椒粉等粉状样品

称取1 g~5g（准确至0.001g）样品于三角瓶中，加入10mL~30mL正己烷，超声5min，过滤，用10mL正己烷洗涤残渣数次，至洗出液无色，合并正己烷液，用旋转蒸发器浓缩至5mL以下，慢慢加入氧化铝层析柱中（4.9），为保证层析效果，在柱中保持正己烷液面为2mm左右时上样，在全程的层析过程中不应使柱干涸，用正己烷少量多次淋洗浓缩瓶，一并注入层析柱。控制氧化铝表层吸附的色素带宽宜小于0.5cm，待样液完全流出后，视样品中含油类杂质的多少用10mL~30mL正己烷洗柱，直至流出液无色，弃去全部正己烷淋洗液，用含5%丙酮的正己烷液60mL（4.10）洗脱，收集、浓缩后，用丙酮转移并定容至5mL，经0.45 μm有机滤膜过滤后待测。

7.1.2 红辣椒油、火锅料、奶油等油状样品

称取0.5 g~2g（准确至0.001g）样品于小烧杯中，加入适量正己烷溶解（约1 mL~10mL），难溶解的样品可于正己烷中加温溶解。按7.1.1中“慢慢加入到氧化铝层析柱……过滤后待测”操作。

7.1.3 辣椒酱、番茄沙司等含水量较大的样品

称取10 g~20g（准确至0.01g）样品于离心管中，加10mL~20mL水将其分散成糊状，含增稠剂的样品多加水，加入30mL正己烷：丙酮 = 3：1，匀浆5min，3000rpm离心10min，吸出正己烷层，于下层再加入20mL×2次正己烷匀浆，离心，合并3次正己烷，加入无水硫酸钠5g脱水，过滤后于旋转蒸发器上蒸干并保持5分钟，用5mL正己烷溶解残渣后，按7.1.1中“慢慢加入到氧化铝层析柱……过滤后待测”操作。

7.1.4 香肠等肉制品

称取粉碎样品10g~20g（准确至0.01g）于三角瓶中，加入60mL正己烷充分匀浆5min，滤出清液，再以20mL×2次正己烷匀浆，过滤。合并3次滤液，加入5g无水硫酸钠脱水，过滤后于旋转蒸发器上蒸至5mL以下，按7.1.1中“慢慢加入到氧化铝层析柱中……过滤后待测”操作。

7.2 推荐色谱条件

7.2.1 仪器条件

- 色谱柱： Zorbax SB-C18 3.5 μm 4.6mm×150mm（或相当型号色谱柱）
- 流动相：
 - 溶剂 A 0.1%甲酸的水溶液：乙腈 = 85：15
 - 溶剂 B 0.1%甲酸的乙腈溶液：丙酮=80：20
- 梯度洗脱：流速：1mL/min 柱温：30℃ 检测波长：苏丹红 I 478nm；苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV 520nm；于苏丹红 I 出峰后切换。进样量 10 μl。梯度条件见表 1。

7.2.2 标准曲线

吸取标准储备液0、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6mL，用正己烷定容至25mL，此标准系列浓度为0、0.16、0.32、0.64、1.28、2.56 μg/mL，绘制标准曲线。

7.3 计算

按公式(1)计算苏丹红含量

$$R=C \times V / M \quad (1)$$

R —样品中苏丹红含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

C —由标准曲线得出的样液中苏丹红的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V —样液定容体积,单位为毫升(mL);

M —样品质量,单位为克(g)。

表1 梯度条件

时间(mi n)	流动相		曲线
	A%	B%	
0	25	75	线性
10.0	25	75	线性
25.0	0	100	线性
32.0	0	100	线性
35.0	25	75	线性
40.0	25	75	线性

附录 A
(资料性附录)
苏丹红标准色谱图

