

Recent Advances in Detection Technologies of Synthetic Colorants in Foods*

Yonghong Zhu

Center for Quality Supervision & Inspection of food, Chongqing Academy of Metrology and Quality Inspection, National Quality Supervision & Inspection Center for Processed Agricultural Products and Condiments, Chongqing Engineering Research Center for Food Safety, Chongqing
Email: zyhcq@163.com

Received: April 29th, 2013; revised: May 10th, 2013; accepted: May 20th, 2013

Copyright © 2013 Yonghong Zhu. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract: The use of synthetic colorants in foods was common. The misuse of synthetic colorants in foods was also common. Detection of synthetic colorants in foods was necessary for regulating the use of synthetic colorants in foods. A lot of progresses have been achieved about the detection technologies of synthetic colorants in foods now. This paper reviewed the variety, detection method standard, high throughput detection method, sample pretreatment technologies, and chromatographic separation conditions etc. of edible and non-edible synthetic colorants in foods.

Keywords: Synthetic Colorants; Edible Colorants; Non-Edible Colorants; Detection; Foods

食品中合成色素检测技术研究进展*

朱永红

重庆市计量质量检测研究院食品质量监督检验研究中心, 国家农副加工产品及调味品质量监督检验中心, 重庆市食品安全工程技术研究中心, 重庆
Email: zyhcq@163.com

收稿日期: 2013年4月29日; 修回日期: 2013年5月10日; 录用日期: 2013年5月20日

摘要: 食品中合成色素的使用十分常见, 当前食品中滥用合成色素的现象较为普遍。开展食品中合成色素的检测对规范合成色素在食品中的使用具有重要意义。目前针对食品中合成色素的检测技术取得了许多进展, 本文就食品中食用和非食用合成色素的种类、检测方法标准现状、高通量检测技术、样品前处理技术及色谱分离条件等进行了综述。

关键词: 合成色素; 食用色素; 非食用色素; 检测; 食品

1. 引言

食品的颜色是食品感官质量的重要指标之一, 好的食品色泽更受消费者欢迎, 且具有更大的商业价值。在现代食品加工中, 合成色素的使用十分普遍。

*基金项目: 国家质检总局科技计划项目(批准号: 2012QK374)和重庆市科技攻关(应用技术研发类)计划项目(批准号: cstc2012gg-yyjs80028)。

我国《食品添加剂使用标准》^[1]中对允许使用的合成色素种类、使用范围和限量进行了详细的规定。但作为一类使用广泛的食品添加剂, 目前食品中滥用合成色素的情况也较为普遍, 在我国卫生部发布的《食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂名单》^[2,3]中, 就包括了多种可能违法添加的非食用色素及易滥用的食用色素。对食品中使用合成色素的

监管,在很大程度上依赖于检测工作的开展。本文综述了当前食品中食用和非食用合成色素检测技术现状及进展。

2. 食品中的合成色素种类

2.1. 食用合成色素

目前食用合成色素基本上都是焦油色素,焦油色素系以苯、甲苯、萘等煤焦油成分为原料,经过磺化、硝化、卤化、偶氮化等有机反应合成,与天然色素相比,焦油色素性质稳定、色彩鲜艳、牢固度大、易于着色,并可任意调色,成本低廉、使用方便,因而被广泛应用^[4]。我国《食品添加剂使用标准》中允许使用的合成色素包括柠檬酸、日落黄、喹啉黄、胭脂红、苋菜红、诱惑红、赤藓红、新红、亮蓝、靛蓝和酸性红等 11 种焦油色素,均为水溶性色素。世界各国允许在食品中使用的合成色素在使用品种和范围上有较大差异。随着经济的发展和人们健康意识的提高,以天然色素取代焦油色素已成为一种发展趋势,一些曾经被作为食用色素使用的合成色素被禁止作为食用色素使用,如日本已禁止使用曾经允许使用的 16 种色素,美国 1960 年允许使用的食用合成色素有 35 种,现在允许使用的食用合成色素为 9 种(包括 2 种仅用于橙子和香肠表面着色的色素)^[4,5]。

2.2. 非食用合成色素

非食用合成色素是指不能作为食品添加剂在食品中使用的色素,主要是一些用于工业用途的化学合成色素或染料。食品中非法添加的非食用色素绝大多数为合成色素。食品中添加非食用色素的现象由来已久,在众多食品中违法添加非食用色素的事件中,具有代表性的是 2005 年爆发的全球性苏丹红及相关色素污染食品事件。2008 年 12 月和 2010 年 3 月,卫生部发布的 2 批食品中可能违法添加的非食用物质名单^[2,3]中,即包括了多种非食用合成色素,如可能在辣椒制品中使用的苏丹红,可能在腐皮中使用的碱性橙 II,可能在调味品中使用的罗丹明 B、碱性橙,可能在豆制品中使用的酸性橙 II 和碱性嫩黄,可能在卤制熟食中使用的酸性橙,可能在小米、玉米粉、熟肉制品等中使用的工业染料,可能在黄鱼中使用的酸性橙 II、碱性黄,可能在茶叶中使用的铅铬绿等。有关食品中

的非食用色素,国内多位学者作了综述^[6-9]介绍。

由于世界上不同国家对食用合成色素在使用品种和范围上的差异,在一些国家可使用的合成色素,在另一些因被禁止使用而被视为非食用色素。邹志飞等^[4]通过对不同国家色素使用状况进行对比分析,提出根据食品进口来源重点关注的色素品种,如对从美国进口的产品关注橘红 2 号、坚牢绿和橙色 B,对从欧盟进口的产品关注专利蓝、绿色 S、亮黑 PN、棕色 FK、棕色 HT 和立索玉红,对从日本进口的产品关注坚牢绿、酸性红(也叫酸性红 3B)、荧光桃红和孟加拉玫瑰红,对从俄罗斯进口的食品关注专利蓝、黄色 2G、绿色 S、坚牢绿、亮黑和棕色 HT,对从加拿大进口的产品关注丽春红 SX、橘红 2 号和坚牢绿等。上述色素在我国均为被禁止使用的合成色素,即非食用合成色素。

国内外有许多学者在开展食品中合成色素的检测时,常常将非食用色素作为检测工作重点。如日本学者 Yoshioka 等^[10]曾报道了食品中 40 种合成色素的检测方法,其中大部分为非食用色素;国内学者赵延胜等^[11]报道了食品中 46 种禁限用合成色素的分级提取净化体系,文中涉及的色素绝大多数为非食用色素,其中既包括油溶性色素,也包括水溶性色素;姜觅等^[12]介绍了液体饮品中 20 种分散性染料的检测,这些染料均为极性很小疏水性极强的偶氮型或蒽醌型结构为主的非食用色素;陈驰等^[13]采用液相色谱-飞行时间质谱技术,建立了食品中 36 种水溶性色素及 19 种脂溶性染料的筛查方法,这些色素绝大部分为非食用色素。路勇等^[14]报道了食品中的 45 种工业染料的快速筛查方法,45 种工业染料均为非食用色素。笔者所在实验室曾在辣椒制品中发现一种工业染料大红粉(Pigment Scarlet Powder),该染料为一种与苏丹染料类似的油溶性偶氮染料^[15]。

3. 我国食品中合成色素检测方法标准现状

各类食品检验机构是目前开展食品中合成色素检测的主力军,检测工作主要基于现有的标准方法,包括国家标准^[16-18]、行业标准^[19,20]及地方标准^[21-24]等,涉及的色素种类包括常见的食用色素和非食用色素。其中食用色素包括新红、柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄、赤藓红、亮蓝、靛蓝、诱惑红、偶氮玉红等 10 种,非食用色素包括苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红

III、苏丹红 IV、酸性橙 II、碱性橙 II、碱性橙 21、碱性橙 22、碱性嫩黄 O、碱性紫 5BN、罗丹明 B、碱性桃红 T 等 12 种。很显然，现有的标准涉及的色素种类少，而且要完成上述色素的检测，需分别采用多个不同的方法标准，如要完成上述 12 种非食用色素的检测，需要分别采用 4 个标准。

为了满足食品安全检测工作的需要，食品安全监管部门还会临时推荐一些非标准检测方法供检测机构使用。如在 2009 年 3 月，卫生部就专门印发了《全国打击违法添加非食用物质和滥用食品添加剂专项整治抽检工作指导原则和方案》，并明确了相关检测方法，其中包括测定辣椒粉中碱性橙、碱性玫瑰精、酸性橙 II 及酸性黄的液相色谱法和液相色谱 - 串联质谱法^[25]。这些指定检验方法对适时开展相关色素的抽检工作提供很好的技术支持。但由于色素种类众多，依靠指定方法或标准方法开展检验工作仍不能满足实际工作的需要。许多色素由于目前尚无检测方法标准，日常检测工作开展很少。

4. 食品中合成色素检测技术进展

4.1. 食品中合成色素检测所采用的技术

食品中合成色素的检测技术多种多样，包括分光光度法、免疫学方法、薄层色谱法、示波极谱法、拉曼光谱法、毛细管电泳法、高效液相色谱(HPLC)法、液相色谱 - 质谱(LC-MS)联用法、液相色谱 - 高分辨质谱联用法等^[5-9,26-29]，还有采用气相色谱 - 质谱(GC-MS)联用法^[30]、红外光谱法^[31,32]及高分辨核磁共振光谱技术^[33]进行分析的。上述检测技术各有优缺点，有些技术适合于快速筛查，如分光光度法、酶联免疫吸附法、薄层色谱法、极谱法、拉曼光谱法和红外光谱法等，有的适合于定量分析，如液相色谱法，有的适合于高通量及更准确的定性分析，如色谱 - 质谱联用法。在实际检测工作中，可根据实际工作的需要，分别选用不同的分析技术。如需要对大批量样品进行快速筛查分析时，可选用简便、快速的筛查分析技术，如需要对色素化合物进行准确的定性及定量分析，可采用色谱或色谱 - 质谱联用技术。在实际的检测工作中，各类食品检验机构一般采用液相色谱或 LC-MS 联用技术进行分析，主要原因是绝大多数合成色素为高沸点或极性较强的化合物，而色谱和色谱 -

质谱联用技术具有更好的定性和定量能力。

4.2. 一些重要进展

当前有关食品中合成色素检测方法的研究较为活跃，取得了较大进展，涉及高通量检测技术、样品前处理技术、色谱分离条件等方面。

4.2.1. 高通量分析技术

由于食品中可能添加的合成色素的种类多，若要对众多的合成色素进行高效分析，需要开发一批高通量色素分析技术。目前有关食品中合成色素的高通量分析技术报道较多。赵珊等^[34]建立了超高效液相色谱 - 电喷雾串联四极杆质谱(UPLC-ESI-MS/MS)检测果汁和葡萄酒中 27 种工业染料的方法，赵延胜等^[35]建立了奶酪样品中 29 种禁用和限用合成色素的液相色谱/四极杆 - 飞行时间质谱(LC/Q-TOF-MS)筛查方法；日本学者 Yoshioka 等^[10]采用 HPLC-二极管阵列(DAD)检测器建立了饮料和糖果中 40 种合成色素的检测方法；赵海燕等^[36]建立了同时测定调味料中 15 种工业染料含量的 HPLC 方法；郭新东等^[37]建立了凝胶净化/UPLC-串联质谱法测定调味酱中 32 种工业染料的方法；李鹏等^[38]建立了 HPLC-线性离子阱质谱法测定辣椒制品中 23 种工业染料的方法；Feng 等^[39]报道了采用 LC-ESI-MS/MS 技术分析软饮料中 40 种染料的方法；路勇等^[14]报道了 UPLC-串联四极杆质谱法快速筛查食品中的 45 种工业染料的方法；陈驰等^[13]采用 LC-TOF-MS 技术，建立了食品中 36 种水溶性色素及 19 种脂溶性染料的筛查方法。上述高通量分析方法更多地采用了灵敏度更高、抗干扰能力更强的色谱 - 质谱联用技术^[34,35,37-39]，少数采用了高分辨质谱技术^[13]，其中 UPLC 的应用也越来越常见。还有学者将质谱技术用于合成色素质谱数据库的构建，通过构建目标化合物的多级谱库，实现合成色素的筛选和确证，但尚未见这方面的公开报道。考虑到色谱 - 质谱联用仪在基层检测机构尚不普及，而且采用质谱仪进行检测成本较高，开发基于 HPLC 的高通量分析可能具有更好的推广应用价值。通过优化样品前处理条件，结合 DAD 检测器进行光谱图识别，可能不失为一种理想的高通量合成色素筛查方法。上海市质量监督检验技术研究院开发了同时检测 32 种水溶性色素的液相色谱筛选型检测技术^[5]，值得期待。

此外,国内有学者报道了将食用合成色素和其它常用食品添加剂如防腐剂和甜味剂同时进行检测的方法^[40,41],这种能同时检验不同种类食品添加剂的方法具有较大的实用价值。

4.2.2. 样品前处理技术

与其它检测技术一样,食品中合成色素的检测也离不开对样品的前处理。食品中合成色素因种类多、性质各异,其前处理方法也各不相同。

1) 常用的样品前处理技术

食品中的合成色素按大类主要分为水溶性和脂溶性两大类。我国允许使用的 11 种食用合成色素即是水溶性色素的代表,脂溶性合成色素的代表为苏丹红类等非食用色素。相应的检测方法有的主要检测水溶性色素,有的检测脂溶性色素,有的可同时对水溶性和脂溶性色素进行检测。水溶性合成色素的前处理方法以国家标准方法《食品中合成着色剂的测定》^[16]为代表,该方法涉及到 8 种食用合成色素的检测,其样品前处理采用了聚酰胺吸附法,但对含赤藓红的试样,采用液-液分配法提取;日本学者 Yoshioka 等^[10]对 40 种水溶性合成色素的提取也采用了聚酰胺吸附净化方法,提示聚酰胺吸附净化适合于多种水溶性色素。脂溶性色素的前处理方法以国家标准方法《食品中苏丹红染料的测定 高效液相色谱法》^[17]为代表,该方法涉及苏丹红 I-IV 的检测,样品前处理采用氧化铝柱净化法,可适合于不同的食品样品;而对于水溶性和脂溶性色素的同时测定,其样品前处理常采用直接溶剂提取不经净化的方式^[14,34,36,38,42-44]。

2) 凝胶渗透色谱(GPC)净化技术

GPC 目前已成为许多分析实验室常规使用的一种样品前处理技术,其在去除样品中大分子干扰物如色素和油脂等方面具有独特的优势,并已成为一种标准化的净化手段^[45],由于 GPC 净化采用流动相为有机溶剂,只适合于对脂溶性化合物的净化。就食品中合成色素而言,GPC 主要适合于苏丹红染料等脂溶性色素的净化,特别适合于富含油脂样品的处理。我国现有的苏丹红检测方法国家标准中,尚未采用这一净化方法。在实际检测工作中,对于一些采用其它手段难处理样品,可考虑采用 GPC 方法进行净化。目前,许多实验室配备了全自动的 GPC 净化仪,若实验室未配备 GPC 净化仪,也可通过手工装填 GPC 柱进行

净化操作, GPC 柱的手工装填十分简便,使用也非常方便。目前基于 GPC 柱净化进行食品中合成色素检测的研究报道较多,如 Sun 等^[46]采用 GPC 净化对辣椒制品中 10 种禁用偶氮染料进行了分析, Pardo 等^[47]采用 GPC 净化手段建立辣椒及辣椒制品中 7 种禁用偶氮染料的分析方法,郭新东等^[37]建立了 GPC 净化法测定调味酱中 32 种工业染料的方法。本实验室曾采用手工装填 GPC 柱净化法检测调味品中 8 种非食用色素^[48]。

3) 一些改进的液-液提取(LLE)技术

液-液提取(LLE)是一种简单的样品前处理技术,若能选择适当的提取溶剂,可在有效提取目标物的同时,达到去除杂质的目的。

Long 等^[49]介绍了采用一种新的 LLE 技术分析辣椒制品中 6 种偶氮染料(对位红、苏丹红 G、苏丹红 I-IV)的方法:取 5.0 克样品先用 50 mL 甲醇-甲酸(30:70, v/v)溶液超声提取,离心,将 25 mL 上清转移到 125 mL 分液漏斗中,加入 25 mL 氯仿和 25 mL 饱和氯化钠溶液,轻轻混匀,待分层后,分出氯仿层,再加入 20 mL 氯仿提取,将 2 次氯仿层合并,在 60 °C 下氮气吹干定容后分析。作者将该方法用于辣椒粉和辣椒调味料的检测,取得了较好的效果。

Fan 等^[50]建立了采用环境友好型试剂离子液体(ionic liquids, ILs)提取辣椒制品(辣椒粉、辣椒油和食品添加剂)中对位红和苏丹染料的方法。使用的离子液体为 1-辛基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐 $[[C_8\text{min}][PF_6]]$,样品处理方法简单,只需在样品加入离子液体,经超声或搅拌后离心,取 IL 相过滤进样。

López-Jiménez 等^[51]将超分子溶剂(supramolecular solvent)用于提取含辣椒制品中的苏丹染料,所采用的超分子溶剂由癸酸(Decanoic acid)、四氢呋喃(THF)和水组成,癸酸和 THF 混合形成反胶束(reverse micelle),再加入水出现液-液相分离,又称为凝聚(coacervation)。其提取步骤为:取约 1 克样品于特殊设计的离心管(平底带细颈)中,加入 4 mL 正癸酸溶液(50 g/L THF),以 1200 rpm 磁力搅拌 1 min,加入 pH 约为 3 的蒸馏水(用盐酸调节 pH)36 mL,继续以 1200 rpm 磁力搅拌 10 min,然后以 2500 rpm (1050 g)离心 15 min,分离出位于离心管细颈部的超分子溶剂层(约 330 μL)供进样分析。

霍艳敏等^[52]介绍了一种采用直接溶剂提取法测定冰淇淋中的 10 种水溶性合成色素的方法:待测样品经甲醇-水提取,离心取上清,加水稀释后再次离心直接取上清上机分析。该方法避免了采用滤膜过滤时赤鲜红的损失,实验发现混合纤维素滤膜对赤鲜红有较强的吸附。路勇等^[14]在对食品中 45 种工业染料进行分析时,考察了不同材质过滤器对色素的吸附作用,发现尼龙过滤器对酸性染料、分散染料具有较大的吸附作用,主要是因为其分子结构会与酸性染料、分散染料发生反应;聚四氟乙烯(PTFE)过滤器对染料的吸附作用不大,因此采用 PTFE 过滤器对样品进行净化。

此外,姜觅等^[12]介绍了采用二氯甲烷和乙醚混合溶液提取液体饮品中 20 种分散性染料的方法, Ma 等^[42]介绍了采用二甲基亚砷(DMSO)同时提取辣椒制品中 5 种水溶性色素和 4 种油溶性色素的方法,都非常简便。

4) 基质固相分散萃取

基质固相分散萃取(matrix solid phase dispersion, MSPD)技术是一种将样品基质分散在一种固相支持材料上,随后采用简单的溶剂洗脱提取目标化合物的一种净化方式。Enriquez-Gabeiras 等^[53]报道了采用 MSPD 技术分析调味酱中苏丹红 I~IV 的方法,所采用的固相基质材料为弗罗里硅土(Florisil)和海沙(sea sand)。此前,侯晓林等^[54]报道了 MSPD-UPLC 法检测禽蛋中对位红和苏丹红的方法,采用的固相分散基质为氧化铝, Kesiuaita 等^[55]也报道了采用 MSPD 净化辣椒粉中苏丹染料的方法,采用的固相分散基质为硅胶。上述方法虽然具有一定的净化效果,但净化操作步骤比较繁琐,涉及样品与固相分散材料的混合、装柱、淋洗、洗脱、收集、挥干、定容等操作。

近年来,一种简便的样品前处理方法——QuE-ChERS (Quick, Easy, Cheap, Rugged, Safe)受到特别关注,该方法的原理与 MSPD 技术相似,都是利用吸附剂填料与基质中的杂质相互作用,吸附杂质从而达到除杂净化的目的,但 QuEChERS 法操作更为简便,只需通过简单的混合、离心操作即可达到提取净化的目的。目前该净化技术已广泛应用于食品中农兽药残留、有机污染物、真菌毒素的净化,并已成为 AOAC 和 EU 检测农药残留的标准净化方法^[56,57]。最近有学

者将 QuEChERS 净化技术用于豆制品和肉制品中七种食用合成色素(柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红、亮蓝、偶氮玉红、诱惑红)的测定,采用的吸附剂为伯仲胺(PSA)和 C_{18} ^[58]。但 QuEChERS 净化方法是否适合于更多的食品基质及合成色素,需进一步的实验验证。

5) 分子印迹固相萃取

国内学者 Yan 等^[59]介绍了一种分子印迹固相萃取(molecularly imprinted solid-phase extraction, MISPE)净化豆腐中苏丹染料的方法,取得了理想的效果。该方法使用了一种选择性固相萃取吸附剂,该吸附剂为一种新的分子印迹聚合物微球,系以苯胺和萘酚为模板,通过悬浮聚合法合成。不过该研究仅涉及对单一样品的分析,是否适合于其它基质样品有待观察。

国内学者 Long 等^[60]也报道了采用 MISPE 净化技术同时分析辣椒制品中水溶性和脂溶性合成色素的方法,所检测的水溶性色素包括苋菜红、胭脂红和诱惑红,脂溶性色素包括对位红、苏丹红 G 和苏丹红 I~IV。该方法使用的固相吸附材料系以诱惑红作为模板,采用 4-乙烯基吡啶(4-VP)为功能单体,以乙二醇二甲基丙烯酸酯(EDMA)为交联剂,通过沉淀聚合法合成。但目前尚未见这些吸附剂的商品化报道。

6) 超临界流体萃取

超临界流体萃取(supercritical fluid extraction, SFE)也可用于食品中合成色素的提取净化。Ávila 等^[61]采用二氧化碳超临界流体提取调味酱中的苏丹红 I~IV,以毛细管液相色谱(capillary liquid chromatography, CLC)-DAD 检测,取得了较好的效果。该方法具有操作简便、快速、消耗溶剂少的优点,不过由于 SFE 设备在一般实验室并不常见,该方法的推广应用受到较大限制。

7) 快速溶剂萃取

快速溶剂萃取(accelerated solvent extraction, ASE)目前已成为一种常见的样品前处理技术。Liao 等^[62]采用 ASE 技术,以乙醇-水-氨水(75:24:1)(v/v/v)溶液,在 85℃ 下提取肉制品中的 7 种合成色素(柠檬黄、日落黄、苋菜红、胭脂红、亮蓝、赤鲜红、诱惑红),取得较好的效果。

8) 分级净化技术

赵延胜等^[11]建立了针对食品中 46 种禁限用合成

色素的分级提取净化体系,提取净化体系的第一级采用正己烷振荡提取, GPC 净化, 可实现对苏丹类染料的提取分离, 回收率均大于 80%; 第二级采用水振荡提取, 乙腈辅助提取的手段, 实现了对大多数水溶性合成色素及工业染料的提取分离, 回收率均大于 60%; 第三级采用甲醇-氨水振荡提取, 可实现对少数极性较强染料的提取分离, 回收率均大于 55%。经过第二、三级提取后的样品, 无需再净化, 即可直接进行 HPLC 分析, 该方法对含蛋白质、脂肪类食品基质具有较强的适用性。在对奶酪中 29 种禁用和限用合成色素的分析中, 赵延胜等^[35]即采用了分级提取的方法, 通过在样品中加入水、正己烷提取, 得到正己烷层、水层和残渣层, 然后对正己烷层进行 GPC 净化, 水层和残渣层经直接提取合并后分析。这种提取方式不失为一种理想的净化方法。

4.2.3. 合成色素的色谱分离技术

目前, HPLC 和 LC-MS 已成为食品中合成色素的主流分析技术, 采用基于色谱的分析技术, 除了选择合适的样品前处理技术外, 色谱分离条件的好坏也是影响分析结果的关键, 特别是针对多种合成色素的高通量分析技术, 对色谱分离条件有更高的要求。针对合成色素的色谱分离条件主要包括两大类, 一类是针对脂溶性合成色素, 以非食用苏丹红类色素为代表; 一类是针对水溶性合成色素, 以常见的食用合成色素为代表。也有一些分离条件可实现对水溶性和脂溶性色素的同时分离。

1) 水溶性合成色素的分离条件

对合成色素色谱分离条件的优化, 较为重要的是色谱柱、流动相和洗脱梯度的选择。水溶性合成色素分离条件较有代表性的是我国国家标准^[16]中推荐的色谱分离条件, 推荐的流动相为 20 mmol/L 乙酸铵溶液(pH 4.0)和甲醇, 采用多步梯度洗脱, 色谱柱为 YWG-C₁₈ 柱。在该色谱条件下, 可实现对 8 种食用合成色素的分离。赵延胜等^[11]在对多组水溶性色素进行 HPLC 分析时, 所选用的流动相也为乙酸铵溶液与甲醇, 但未调节乙酸铵溶液的 pH 值, 采用的色谱柱为 Kinetex C₁₈ 柱, 洗脱梯度做了适当优化。Yoshioka 等^[10]对饮料和糖果中 40 种合成色素进行分析时, 以 0.1 mol/L 的乙酸铵水溶液(pH6.7)为流动相 A, 以甲醇-乙腈(50:50, v/v)为流动相 B, 采用粒径 1.8 μm 的

ZORBAX Eclipse XDB-C18 分析柱, 在 19 min 内实现了对 40 种色素的分离, 若采用普通粒径分析柱, 分析时间约 40 min, 该研究发现, 采用甲醇-乙腈为流动相 B, 比单纯采用甲醇或乙腈为流动相分离效果更好, 根据不同色素最大吸收波长的不同, 分别选择 450、490、520 和 620 nm 波长进行检测。Miniotti 等^[63]在对食品中 13 种水溶性色素进行 HPLC 分析时, 以 0.13 mol/L 的乙酸铵水溶液(用 10%氢氧化钠溶液调 pH7.5)为流动相 A, 以甲醇-乙腈(80:20, v/v)为流动相 B, 采用粒径 5 μm 的 Discovery C₁₈ 分析柱, 采用多步梯度洗脱, 在 30 min 内实现了对 13 种合成色素的良好分离。

上述色谱分离条件, 流动相 A 均采用了乙酸铵水溶液, 有的对乙酸铵溶液的酸碱度进行了调节, 有的未作调节。不同 pH 值条件下, 部分合成色素的出峰顺序会有不同, 但通过选择不同型号的色谱柱、优化洗脱梯度, 都达到了预期的分离效果。

2) 脂溶性合成色素的分离条件

食品中脂溶性合成色素以苏丹红类色素为代表, 具有代表性的色谱分离条件为我国国家标准^[17]中推荐的色谱分离条件, 其流动相 A 为含 0.1%的甲酸和 15%乙腈的水溶液, 流动相 B 为含 0.1%甲酸的乙腈-丙酮(80:20, v/v)溶液, 色谱柱为 C₁₈ 柱, 洗脱条件为多步梯度洗脱。含 0.1%甲酸的流动相已成为目前分析苏丹红类色素时最为常用的流动相, 不同的是流动相中有机相的选择, 常用的有甲醇、乙腈或丙酮, 其中甲醇和乙腈可单独使用, 而丙酮一般与甲醇或乙腈混合使用。我们采用甲醇-丙酮(9:1, v/v)作为有机流动相, 实现了对 8 种苏丹红类色素的分离, 特别是对较难分离的苏丹红 7B、苏丹红 B 和苏丹红 IV 实现了较好的分离^[48]。最近我们采用甲醇-乙腈(1:1, v/v)为有机流动相, 实现了 16 种脂溶性合成色素的分离。也有采用乙酸调节流动相 pH 值的, 如欧盟推荐的苏丹红检测方法^[64]。虽然大多数分析中都对流动相进行酸化处理, 但酸化流动相并非分离苏丹红类色素所必需。赵延胜等^[11]采用水和乙腈为流动相, 对 8 种苏丹红类色素实现了理想的分离。笔者在实验中发现, 调节 pH 值会对少数色素的出峰顺序产生影响, 但对绝大多数化合物的保留时间和峰对称性无明显影响。

3) 水溶性和脂溶性合成色素同时分离条件

目前有关食品中水溶性和脂溶性合成色素同时检测已有较多报道^[14,34,36,42,43]。赵珊等^[34]建立了采用UPLC-MS/MS分析27种工业染料的方法,27种工业染料既包括脂溶性染料,也包括水溶性染料,其中24种染料采用正离子模式检测,流动相为乙腈和0.1%的甲酸水溶液,另3种工业染料采用负离子模式,流动相为乙腈和水,采用的色谱柱为ACQUITY UPLC® BEH C₁₈柱(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm)。

赵海燕等^[36]报道了同时测定调味料中15种工业染料含量的HPLC方法,这15种染料包括苏丹红等11种脂溶性染料及酸性橙、碱性橙、酸性金黄、碱性玫瑰精等4种水溶性染料,采用的色谱柱为CAPCELL PAK C₁₈ MG (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)色谱柱,以THF-乙腈-20 mmol/L 乙酸铵为流动相体系进行梯度洗脱。

Ma等^[42]报道的5种水溶性色素和4种苏丹红色素的HPLC分离条件中,选用的色谱柱为spherigel C₁₈柱,流动相A为20 mmol/L 乙酸铵 + 1%乙酸,流动相B为甲醇,采用了多步梯度洗脱。

雷雅娟等^[43]建立的HPLC法同时测定食品中苏丹红、苋菜红和胭脂红的方法中,选用的色谱柱为Diamonsil(钻石)C₁₈柱,流动相A为甲醇,流动相B为0.05 mol/L 三乙胺(用乙酸调pH至5~7),采用多步梯度洗脱。

路勇等^[14]建立的UPLC-MS/MS法快速筛查食品中45种工业染料的方法中,既包括脂溶性染料,也包括水溶性染料,采用了正、负离子同时进行采集的模式,流动相为乙腈和水。

4.2.4. 基于荧光检测器的分析技术

部分色素(如罗丹明B、碱性桃红T)具有荧光特性,可采用荧光检测器进行检测^[20-22]。与紫外可见光检测器相比,荧光检测器具有更高的灵敏度,并可排除采用其它检测器时可能存在的干扰。

5. 展望

目前食品中合成色素的检测技术在实现高通量、快速、简便、准确、低成本、环保的目标上取得了较多进展,可分析的色素种类越来越多,开发了一批简便快速的分析方法,分析结果更加准确。但目前食品中合成色素的检测仍然面临一些问题:1) 一些高通量

检测技术过多依赖色谱-质谱技术,而色谱-质谱仪在基层实验室尚不普及,对操作者的技术要求高,运行成本也高,限制了其应用;2) 目前已建立了许多非食用合成色素的检测方法,但绝大多数合成色素未曾在食品中检出过,是否有必要对食品中未曾出现过的色素进行检测值得商榷;3) 目前虽然建立了许多合成色素的检测方法,但面对食品中可能出现的新的合成色素,现有的基于已知色素对照品或标准品的检测手段无能为力。

当前食品中合成色素检测中存在的问题,也是食品检验工作存在的带有普遍性的问题。可以预见,将来合成色素的检测仍将朝着高通量、快速、简便、准确、低成本、环保的方向发展,如尽量采用常见的易操作的仪器设备,扩大可检测的合成色素种类,增强检测的针对性,简化样品前处理流程或实现样品处理分析的自动化,提高检测效率,降低检测成本,采用环保的分析试剂等^[6,9]。对于食品中可能出现的新的非食用色素掺加隐患,除了采用针对已知合成色素的高通量的快速筛查方法外,还可建立基于有色食品固有属性的筛查方法,如通过建立有色食品中天然色素指纹图谱,将待检样品色素指纹图谱与其固有色素指纹图比较,识别待检样品中可能存在的合成色素。对于当前合成色素检测方法标准涉及的色素种类少的问题,应加大高通量合成色素检测方法标准制修订步伐,同时鼓励食品检验机构根据食品中色素使用的实际情况,灵活采用文献方法或自建方法,开展有针对性的色素检测及筛查工作,而不是仅仅基于标准方法按照统一的方案开展检测工作。此外,食品中合成色素的使用监管,除了依靠对最终产品的检测外,还应推行食品企业良好生产规范、危害分析与关键控制点(HACCP)等全过程的食品安全控制体系,建立健全食品生产全过程的安全监管制度,将过程监管与检测监管结合^[8]。

参考文献 (References)

- [1] GB 2760-2011. 食品添加剂使用标准[S]. 2011.
- [2] 全国打击违法添加非食用物质和滥用食品添加剂专项整治领导小组. 食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂品种名单(第四批)[Z]. 2010年.
- [3] 全国打击违法添加非食用物质和滥用食品添加剂专项整治领导小组. 食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂品种名单(第一批)[Z]. 2008年.

- [4] 邹志飞, 蒲民, 李建军等. 各国(地区)食用色素的使用现状与比对分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2010, 22(2): 112-121.
- [5] 葛宇. 食品中人工合成色素使用法规及检测标准进展[J]. 质量及标准化, 2011, (9): 31-35.
- [6] 郑月明, 国伟, 聂雪梅等. 食品中违禁添加的非食用色素检测技术综述[J]. 中国农学通报, 2012, 28(9): 222-228.
- [7] 王建伟, 梁焱琼. 食品中对位红等禁用染料检测方法的研究及最新进展[J]. 食品安全导刊, 2009, (7): 40-41.
- [8] 卢士英, 邹明强. 食品中常见的非食用色素的危害与检测[J]. 中国仪器仪表, 2009, (8): 45-50.
- [9] 肖义夫. 食品中非食用色素及其检测方法研究进展[J]. 现代预防医学, 2008, 35(16): 3159-3160, 3164.
- [10] N. Yoshioka, K. Ichihashi. Determination of 40 synthetic food colors in drinks and candies by high-performance liquid chromatography using a short column with photodiode array detection. *Talanta*, 2008, 74(5): 1408-1413.
- [11] 赵延胜, 董英, 张峰等. 食品中 46 种禁限用合成色素的分级提取净化体系研究[J]. 分析化学, 2012, 40(2): 249-256.
- [12] 姜觅, 王恒彦, 汪国权. 液体饮品中 20 种分散性染料的液相色谱测定研究[J]. 分析测试学报, 2012, 31(9): 1137-1141.
- [13] 陈驰. 基于液相色谱—飞行时间质谱建立食品中着色剂筛查方法的研究[D]. 福建农林大学, 2012.
- [14] 路勇, 渠岩, 冯楠等. 超高效液相色谱—串联四极杆质谱法快速筛查食品中的 45 种工业染料[J]. 食品科学, 2012, 33(6): 176-180.
- [15] 朱永红, 张庆合, 李根容等. 辣椒制品中大红粉的筛查及检测[J]. 中国调味品, 2011, 36(6): 100-104.
- [16] GB/T 5009.36-2003. 食品中合成着色剂的测定[S]. 2003.
- [17] GB/T 19681-2005. 食品中苏丹红染料的测定 高效液相色谱法[S]. 2005.
- [18] GB/T 23496-2009. 食品中禁用物质的检测 碱性橙染料 高效液相色谱法[S]. 2009.
- [19] SN/T 1743-2006. 食品中诱惑红、酸性红、亮蓝、日落黄的含量检测——高效液相色谱法[S]. 2006.
- [20] SN/T 2430-2010. 进出口食品中罗丹明 B 的检测方法[S]. 2010.
- [21] DB35/T 897-2009. 食品中碱性橙、碱性嫩黄 O 和碱性桃红 T 含量的测定——液相色谱法和液相色谱-串联质谱法[S]. 2009.
- [22] DB35/T 896-2009. 食品中碱性桃红 T 含量的测定 液相色谱-荧光检测法[S].
- [23] DBS22/008-2012. 食品中酸性橙、碱性橙 2 和碱性嫩黄的测定——液相色谱-串联质谱法[S]. 2012.
- [24] DB33/T 703-2008. 食品和农产品中多种碱性工业染料的测定 液相色谱-串联质谱法[S]. 2008.
- [25] 全国打击违法添加非食用物质和滥用食品添加剂专项整治领导小组. 关于印发全国打击违法添加非食用物质和滥用食品添加剂专项整治抽检工作指导原则和方案的通知(食品整治办[2009]29号)[Z], 2009年3月23日.
- [26] 赵飞. 食用合成色素及其检测技术的研究进展[J]. 食品安全导刊, 2012, 1-2: 32-33.
- [27] 薛虎寅, 尹永梅, 张太昌等. 偶氮类合成色素检测技术的研究进展[J]. 生物技术进展, 2012, 2(3): 171-176.
- [28] M. Kucharska, J. Grabka. A review of chromatographic methods for determination of synthetic food dyes. *Talanta*, 2010, 80(3): 1045-1051.
- [29] R. Rebane, I. Leito, S. Yurchenko, et al. A review of analytical techniques for determination of Sudan I-IV dyes in food matrices. *Journal of Chromatography A*, 2010, 1217(17): 2747-2757.
- [30] 张胜帮, 韩超, 刘继东等. 食品中苏丹红 I~IV 及对位红的 GC-MS/SIM 法研究[J]. 中国食品学报, 2009, 9(2): 187-193.
- [31] 张玮玮, 刘玲玲, 武彦文等. 食用天然辣椒红色素中掺杂苏丹红的红外光谱快速识别[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(4): 958-961.
- [32] 杜一平, 向春兰, 黄子夏等. 辣椒粉掺杂苏丹红的近红外光谱鉴别及其含量测定方法研究[J]. 计算机与应用化学, 2013, 30(1): 36-38.
- [33] C. V. Di Anibal, I. Ruisánchez and M. P. Callao. High-resolution ¹H Nuclear magnetic resonance spectrometry combined with chemometric treatment to identify adulteration of culinary spices with Sudan dyes. *Food Chemistry*, 2011, 124(3): 1139-1145.
- [34] 赵珊, 张晶, 杨奕等. 超高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法检测果汁和葡萄酒中的 27 种工业染料[J]. 色谱, 2010, 28(4): 356-362.
- [35] 赵延胜, 杨敏莉, 张峰等. 液相色谱/四极杆-飞行时间质谱法筛查奶酪中 29 种禁用和限用合成色素[J]. 色谱, 2011, 29(7): 631-636.
- [36] 赵海燕, 赵榕, 李兵等. HPLC 同时测定调味料中非法添加多组分工业染料的方法研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2011, 23(6): 527-531.
- [37] 郭新东, 洗燕萍, 罗海英等. 凝胶净化/超高效液相色谱串联质谱法测定调味酱中 32 种工业染料[J]. 分析测试学报, 2012, 31(6): 658-663.
- [38] 李鹏, 李晓丽, 苗虹等. 高效液相色谱-线性离子阱质谱法测定辣椒制品中 23 种工业染料[J]. 中国食品卫生杂志, 2012, 24(5): 430-435.
- [39] F. Feng, Y. S. Zhao, W. Yong, et al. Highly sensitive and accurate screening of 40 dyes in soft drinks by liquid chromatography—electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 2011, 879(20): 1813-1818.
- [40] K. Ma, Y. N. Yang, X. X. Jiang, et al. Simultaneous determination of 20 food additives by high performance liquid chromatography with photo-diode array detector. *Chinese Chemical Letters*, 2012, 23: 492-495.
- [41] 汪辉, 曹小彦, 李林等. 反相高效液相色谱法对果蔬汁饮料中 14 种常见食品添加剂的快速测定[J]. 分析测试学报, 2009, 28(10): 1194-1197.
- [42] M. Ma, X. B. Luo, B. Chen, et al. Simultaneous determination of water-soluble and fat-soluble synthetic colorants in foodstuff by high-performance liquid chromatography—Diode array detection—Electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1103(1): 170-176.
- [43] 雷雅娟, 徐焯, 刘渭萍等. 高效液相色谱法同时测定食品中的苏丹红、苋菜红和胭脂红[J]. 分析试验室, 2007, 26(4): 85-88.
- [44] 钟少枢. HPLC 法同时测定红油豆瓣酱中的 7 种非食用色素[J]. 现代食品科技, 2011, 27(8): 1047-1048.
- [45] USEPA SW-846 method 3640A, Gel-permeation clean-up [S]. revision 1, September 1994.
- [46] H.-W. Sun, F.-C. Wang, L.-F. Ai. Determination of banned 10 azo-dyes in hot chilli products by gel permeation chromatography—Liquid chromatography—Electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1164(1-2): 120-128.
- [47] O. Pardo, V. Yusà, N. León, et al. Development of a method for the analysis of seven banned azo-dyes in chilli and hot chilli food samples by pressurised liquid extraction and liquid chromatography with electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Talanta*, 2009, 78(1), 178-186.
- [48] 朱永红, 李根容, 龚迎昆等. HPLC 法同时检测辣椒制品中 8 种非食用红色色素[J]. 中国调味品, 2007, (11): 58-61, 65.
- [49] C. Y. Long, Z. B. Mai, X. F. Yang, et al. A new liquid—liquid extraction method for determination of 6 azo-dyes in chilli products by high-performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, 2011, 126(3): 1324-1329.
- [50] Y. C. Fan, M. L. Chen, S. T. Chao, et al. Ionic liquids extraction of Para Red and Sudan dyes from chilli powder, chilli oil and food additive combined with high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 650(1): 65-69.
- [51] F. J. López-Jiménez, S. Rubio, D. Pérez-Bendito. Supramolecular solvent-based microextraction of Sudan dyes in chilli-con-

- taining foodstuffs prior to their liquid chromatography-photodiode array determination. *Food Chemistry*, 2010, 121(3): 763-769.
- [52] 霍艳敏, 王骏, 张卉等. 高效液相色谱法同时测定冰淇淋中的 10 种合成色素[J]. *分析测试学报*, 2011, 30(6): 670-673.
- [53] L. Enríquez-Gabeiras, A. Gallego, R. M. Garcinuño, et al. Interference-free determination of illegal dyes in sauces and condiments by matrix solid phase dispersion (MSPD) and liquid chromatography (HPLC-DAD). *Food Chemistry*, 2012, 135(1): 193-198.
- [54] 侯晓林, 孙英健, 吴国娟等. 基质固相分散术-UPLC 法检测禽蛋中对位红和苏丹红[J]. *食品科学*, 2010, 31(24): 285-288.
- [55] G. Kesiūnaitė, A. Linkevičiūtė, E. Naujalis, et al. Matrix solid-phase dispersion extraction and UPLC determination of sudan dyes in chili powder. *Chromatographia*, 2009, 70(11-12): 1691-1695.
- [56] AOAC Official Method 2007.01. Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: Gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry [S]. 2007.
- [57] BS EN 15662:2008. Foods of plant origin—Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE—QuEChERS-method [S]. 2008
- [58] 刘丽, 吴青, 林凤英等. QuEChERS-HPLC 快速测定食品中七种食用合成色素[URL]. *食品工业科技*. 2013. <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20130329.1642.002.html>
- [59] H. Y. Yan, J. D. Qiao, Y. N. Pei, et al. Molecularly imprinted solid-phase extraction coupled to liquid chromatography for determination of Sudan dyes in preserved beancurds. *Food Chemistry*, 2012, 132(1): 649-654.
- [60] C. Y. Long, Z. B. Mai, Y. F. Yang, et al. Synthesis and characterization of a novel molecularly imprinted polymer for simultaneous extraction and determination of water-soluble and fat-soluble synthetic colorants in chilli products by solid phase extraction and high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216(47): 8379-8385.
- [61] M. Ávila, M. Zougagh, A. Escarpa, et al. Determination of sudan dyes in food samples using supercritical fluid extraction—Capillary liquid chromatography. *The Journal of Supercritical Fluids*, 2011, 55(3): 977-982.
- [62] Q. G. Liao, W. H. Li, L. G. Luo. Applicability of accelerated solvent extraction for synthetic colorants analysis in meat products with ultrahigh performance liquid chromatography—Photodiode array detection. *Analytica Chimica Acta*, 2012, 716: 128-132.
- [63] K. S. Minioti, C. F. Sakellariou, N. S. Thomaidis. Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 583(1): 103-110.
- [64] European Commission. NEWS notification: 03/99. Corrected method for the detection of Sudan.