

# 食品中违禁色素种类及高通量检测技术进展

洪红<sup>1\*</sup>, 戚平<sup>1</sup>, 刘冬豪<sup>1</sup>, 肖剑<sup>1</sup>, 刘笑笑<sup>2</sup>

(1. 广州市食品检验所, 广州 510080; 2. 中山大学公共卫生学院, 广州 510080)

**摘要:** 工业染料是食品中常见的违法添加色素, 是食品中常见的非法添加物。本文根据工业染料的化学性质, 将食品中易违法添加的近 40 种违禁色素分为酸性、中性和碱性, 对它们的理化性质、易非法添加的食品种类、毒性危害与法规限制, 以及多种禁用色素多重高通量分析测试方法的前处理、线性范围、检出限和回收率等方面做出综述, 并分析了各种检测技术的优缺点和适用性。作者认为非食用色素检测技术将趋于利用液相色谱串联质谱的高通量筛选和利用免疫学或电化学的快速检测方向发展, 检测方法将更快速、环保、低成本、高自动化程度, 并会针对不同的检测需求制定相应的检测方法, 分别满足实验室确认分析和现场快速筛查的需求。

**关键词:** 食品; 违禁色素; 高通量

## Progress on high throughput detection technology for banned dyes in food

HONG Hong<sup>1\*</sup>, QI Ping<sup>1</sup>, LIU Dong-Hao<sup>1</sup>, XIAO Jian<sup>1</sup>, LIU Xiao-Xiao<sup>2</sup>

(1. Guangzhou Institute for Food Control, Guangzhou 510080, China; 2. School of Public Health Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China)

**ABSTRACT:** It is common for the use of illegal dyes in food. According to the chemical characteristics of common 40 banned dyes, they were classified as acid, neutral and basic dyes. This paper summarized the physicochemical property, toxicity of these dyes, the type of food easily illegally added and the restriction of law. The high throughput methods for the determination of dyes were listed. The advantage and disadvantage of these methods were reviewed and the pretreatment method of high throughput detection technology, as well as the linear range, the detection limit and recovery rate were compared. As far as our knowledge, the trend of high throughput analytical method of illegal dyes in food was lead by the electrochemical and enzyme linked immunosorbent assay, which were provide with the more economic, eco-friendly, fast and high automated virtue. The new method must meet the requirement of identification and screening analysis.

**KEY WORDS:** food; illegal pigment; high throughput

工业色素非生物合成着色剂, 属于工业染料, 主要用于溶剂、油、蜡、汽油增色以及鞋、地板等的增光。工业色素共有的特点是颜色鲜亮, 不易褪色, 其光泽具有持久性与稳定性。不法分子违法添加工业色素替代食用色素, 目的是减少生产成本、保持食品感官色泽持久光鲜的特点。

我国食品安全法规定, 在食品中添加工业色素是一种违法行为, 其违法性质和量刑巨大。近年来, 为防止不法商人采用复合、微量的方法在食品中添加工业色素, 食品检验界研究并报道了较多的单重或部分重量的化学和精密仪器分析方法, 综合叙述如下。

\*通讯作者: 洪红, 高级工程师, 主要研究方向为食品营养与食品安全的与检测。E-mail: hhong28@126.com

\*Corresponding author: HONG Hong, Senior Engineer, Guangzhou Institute for Food Control, Guangzhou, China. Floor 5, NO.58, Tangxinxi Street, Sanyuanli Road, Guangzhou 510080, China. E-mail: hhong28@126.com

## 1 易非法添加工业色素的食品

据报道<sup>[1-8]</sup>, 工业色素一般在下列食品中被发现:

(1) 辣椒制成的调味品, 如: 辣椒酱、辣椒粉和辣椒油, 辣椒干或干辣椒, 等;

(2) 有色彩的水果酱类, 如: 番茄酱、果酱、豆瓣酱、番茄沙司, 色拉酱、菠萝或香蕉罐头, 等;

(3) 熟食及腌卤肉制品, 如: 腌料、腊肠、火腿肠、烧腊制品、大黄色、豆腐干、虾干、虾色拉、松花蛋, 等;

(4) 饮料及果酒类, 如: 葡萄酒、配制酒、果汁或果味饮料, 等;

(5) 谷类食品, 如: 馒头、煎饼、泡面、馅饼, 等;

(6) 一些坚果类零食, 如: 红壳瓜子、绿茶瓜子、栗子、开心果, 等;

(7) 家禽饲料含工业色素的饲料, 其中部分色素随家禽的代谢而排泄, 部分色素可以通过家禽的消化道吸收, 循环分布沉积在生殖系统的卵泡中, 发育为蛋黄感官色泽深红的“红心蛋”。据报道, 多次从禽蛋(鸡蛋、皮蛋、鸭蛋、鹅蛋、鹌鹑蛋)中发现苏丹红。

## 2 易非法添加工业色素的种类

工业色素是能使其他物质获得鲜明而坚实颜色的有机物, 迄今, 食品中易非法添加的工业色素有三十几种。

(1) 按照官能团可以分为:

偶氮类中性染料: 苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV、苏丹红 7B、苏丹红 G、分散黄 3、分散橙 3, 等;

偶氮类酸性染料: 酸性橙 II、酸性红一号、酸性红 26、酸性大红 GR、橙黄 G、间胺黄、酸性间胺黄、金黄粉、橙黄 II、对位红、罗丹明 110, 等;

偶氮类碱性染料的: 碱性橙 II、碱性橙 2、碱性橙 21, 等;

苯甲烷类碱性染料: 碱性嫩黄 O、孔雀石绿、结晶紫, 等;

氧杂蒽类碱性染料: 罗丹明 B、罗丹明 6G、乙基罗丹明 B、丁基罗丹明 B, 等;

蒽醌类中性染料: 苏丹黄、苏丹橙 G、苏丹蓝 II、甲苯胺红, 等;

蒽醌类中性染料: 分散蓝 1、分散蓝 106、散蓝 124、分散橙 37、分散橙 11, 等;

(2) 按照检验性质分类, 通常可以分为三大类:

阴离子染料(anionic)包括直接染料、酸性染料等: 酸性橙 II、酸性红一号、酸性红 26、酸性大红 GR、橙黄 G、间胺黄、酸性间胺黄、金黄粉、橙黄 II、对位红、罗丹明 110, 等

阳离子染料(cationic)即碱性染料: 碱性橙 II、碱性橙 2、碱性橙 21、碱性嫩黄 O、孔雀石绿、结晶紫、罗丹明 B、罗丹明 6G、乙基罗丹明 B、丁基罗丹明 B, 等

非离子染料(non-ionic)即中性染料: 苏丹黄、苏丹橙 G、苏丹蓝 II、甲苯胺红、分散蓝 1、分散蓝 106、散蓝 124、分散橙 37、分散橙 11, 等。

## 3 非法添加工业色素的毒性及法规限制

苏丹红是一类化工染料, 属于偶氮染料, 因其结构式不同, 分为 I-IV 号, 分子式分别为(C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O, C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O, C<sub>22</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O, C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O), 其中苏丹红 I 和苏丹红 II 属于单偶氮化合物, 苏丹红 III 和苏丹红 IV 属于重偶氮化合物。主要是用于石油、机油和其他的一些工业溶剂中, 目的是使其增色, 也用于鞋、地板等的增光。张斌<sup>[9]</sup>(2009 年)报道, 小鼠急性经口毒性实验苏丹红 I 对小鼠经口的 LD<sub>50</sub> 为 2800.8233 mg/kg 体重, 95%可信限为 2200.887~3400.7596 mg/kg 体重, 属于低毒物质。尽管如此, 该类化合物在人体降解过程中产生苯胺和萘酚, 诱发肝脏细胞基因变异, 增加了人类患癌症的危险性。早在 1975 年, 国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)将其归入第三类致癌物。据此, 欧盟自 1995 年禁用苏丹红 I 号作为食品添加剂。苏丹红 I 号在 1918 年以前曾经被美国批准用作食品添加剂, 但是随后美国取消了这个许可, 目前各国都禁止将其作为食品添加剂使用。我国卫生部<sup>[10]</sup>报道: 苏丹红及其代谢产物都具有致癌性, 苏丹红系列禁止在食品中使用, 并将此制定在食品添加剂使用卫生标准 GB2760 中。

研究表明<sup>[11]</sup>, 罗丹明 B 是一种偶氮类染料, 分子式 C<sub>28</sub>H<sub>31</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 可引致老鼠皮下组织肉瘤, 具有潜在的致癌和致突变性。其大鼠经口半数致死量为 500 mg/kg。1993 年起欧美国家和地区明令禁止罗丹明 B 用于食品加工, 日本也禁止使用该物质。我国卫生部于 2011 年将苏丹红和罗丹明 B 列在《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)》中。

对位红(para red)亦称对硝基苯胺红, 分子式 C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>。据报道<sup>[12]</sup>其对眼睛、皮肤和呼吸系统都有刺激性。同苏丹红类似, 对位红降解后产生“苯胺”, 过量的“苯胺”被吸入人体, 可能会造成组织缺氧, 呼吸不畅, 引起中枢神经系统、心血管系统和其他脏器受损, 甚至导致不孕症。

橙黄 II(orange II, acid orange 7), 分子式 C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>4</sub>S, 外观为金黄色粉末, 又名金黄粉和 2 号红。化学名称为磺酸苯基-7 偶氮萘酚, 是一种离子型水溶性偶氮类化学合成染料, 属于一类致癌物<sup>[5]</sup>。酸性间胺黄(metanil yellow)又名皂黄, 具有中等毒性, 成人误服约 0.25 g 就可中毒。其临床表现为全身不适、头昏、恶心、呕吐、食欲不振、腹泻、腹痛, 严重者有畏寒发热、体温升高、呼吸急促等症状, 对皮肤黏膜有刺激。据报道, 该色素毒性研究表明可引起肝脏细胞损伤, 导致肝癌的

发生<sup>[13]</sup>。

孔雀石绿(分子式,  $C_{52}H_{54}N_4O_{12}$ )和结晶紫(分子式,  $C_{52}H_{54}N_4O_{12}$ )是三苯甲烷型染料, 带有金属光泽绿色结晶体的工业色素, 又名碱性绿、严基块绿、孔雀绿, 其既是杀真菌剂, 又是染料, 易溶于水和醇类。当孔雀石绿进入人类机体在还原酶的催化下降解成脂溶性的无色孔雀石绿而长期滞留在组织中。在甲状腺过氧化物酶(TPO)催化下, 无色孔雀石绿脱甲基生成初级和次级代谢产物芳香胺, 具有致癌作用的芳香胺类可直接或酯化后与 DNA 反应, 导致基因突变。孔雀石绿盐酸盐对小鼠经口急性毒性 LD 为 80 mg/g, 孔雀石绿草酸盐对大鼠经口急性毒性 LD 为 275 mg/g, 属中等毒物质<sup>[14]</sup>。动物实验引起动物食物摄入量、生长速度和生殖能力的降低, 导致肝、肾、心脏、脾、肺、皮肤、眼睛等多器官中毒<sup>[15]</sup>。美国国家毒理学研究中心报道<sup>[16]</sup>, 孔雀石绿类物质可诱发大鼠甲状腺肿瘤、肝肿瘤和乳腺肿瘤的发生; 诱发仓鼠卵巢细胞染色体损伤引起基因突变。在浓度低于 0.1 mg/L 时使兔、大鼠和小鼠产生致畸和死胎<sup>[17]</sup>。1978 年美国限制使用孔雀石绿于濒危鱼类种群恢复生产中; 1992 年加拿大禁止其作为渔场杀菌剂; 2002 年 6 月欧盟禁止渔场使用孔雀石绿; 2002 年我国将孔雀石绿列入《食品动物禁用的渔药及其化合物清单》中。国家标准 GB/T19857-2005《水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定》中规定用液相色谱-串联质谱方法检出限是 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 用高效液相方法的检出限是 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

#### 4 食品中非法添加工业色素高通量分析方法

食品中非法添加的工业色素因为其分子结构复杂, 化学性质多样, 在食品中要求痕量残留, 分析精密度要求严格。实际检验中, 很难知道添加了哪种色素。随着高精度分析仪器的快速发展, 食品检验界将化学结构同型、溶解度类别相近的工业色素一并测试分析, 建立并报道了多篇分类别多重或多类别多重的高通量检验方法。黄晓兰<sup>[18]</sup>等用 GC-MS/SIM 法同时测定食品中的苏丹红 I-IV; 周法东<sup>[1]</sup>等用超声波辅助萃取-液相色谱串联质谱法检测肉灌肠中的罗丹明 B、诱惑红、苏丹红 I-IV、胭脂红、苋菜红; 李占彬<sup>[19]</sup>等用超声提取-液相色谱质谱法同时测定辣椒制品中苏丹红 I-IV 以及罗丹明 B; 胡侠<sup>[20]</sup>等用高效液相色谱-串联质谱法同时测定辣椒粉及辣椒油中的罗丹明 110(Rh 110)、123(Rh 123)、B(Rh B)、6G(Rh6G)、101(Rh 101) 和乙基及丁基罗丹明 B(e-Rh B 及 n-Rh B); 赵珊<sup>[21]</sup>等用凝胶净化/超高效液相色谱电喷雾质谱法检测调味油中 11 种禁用偶氮染料; 赵珊<sup>[22]</sup>等用超高效液相色谱-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; 高洁<sup>[23]</sup>等用固相萃取-高效液相色谱法检测食品中的酸性红一号、橙黄 G、酸性红 26、酸性大红 GR 和金黄粉; 金玉娥<sup>[13]</sup>等用 HPLC 法检测食品中橙黄 II 和酸性间胺黄;

吴敏<sup>[22]</sup>等用高效液相色谱法同时测定食品中对位红和苏丹色素类; 冯伟科<sup>[24]</sup>等用 HPLC 法同时测定番茄沙司中罗丹明 B、碱性橙 II 等 7 种违禁色素。多重色素的检验对仪器精度的要求很高, 前处理方法也不尽一致, 色素提取和分离的水平直接影响结果的准确度。根据待检色素的化学特性, 在前处理过程中采取提取、净化的方法去除干扰物, 浓缩待测物, 减少对仪器的干扰和污染, 以达到检验精密度的要求, 获得较好的回收率。

#### 4.1 色素的提取和杂质去除

脂溶性色素提取过程一般采用有机溶剂, 常用有机溶剂有乙腈、氯仿、正己烷、丙酮、石油醚等, 其中, 乙腈因为其对于极性差别很大的待测物和多种待测物的同时检测具有较大优势, 得到了很广泛的应用。喻凌寒<sup>[25]</sup>等用 LC-ESI/MS 多重检测法测定苏丹红 I-IV, 用乙腈萃取法, 4 种苏丹红色素的平均回收率介于 86%~98%。吴敏<sup>[12]</sup>等用高效液相色谱法同时测定食品中对位红和苏丹色素等 8 种脂溶性染料, 用乙腈提取法, 几种色素的平均回收率在 87%~103%。赵珊<sup>[22]</sup>等用乙腈提取果汁和葡萄酒中的 27 种工业染料, 在果汁中的回收率为 57.9%~117.7%, 在葡萄酒中的回收率为 40.8%~109.4%。

#### 4.2 水溶性色素的提取和杂质去除

对于罗丹明 B、碱性嫩黄 O、酸性金黄等水溶性色素一般用无机酸或复合溶剂提取。韩劲松<sup>[26]</sup>等用高效液相色谱法测定苏丹红 I、苏丹 II、苏丹红 III、苏丹红 IV、苏丹橙 G、苏丹红 7B, 用有机酸溶液提取 2~3 次待测物, 平均回收率在 81.6%~97.9%。胡侠<sup>[20]</sup>等用高效液相色谱-串联质谱法同时测定辣椒粉及辣椒油中罗丹明 110(Rh 110)、123(Rh 123)、B(Rh B)、6G(Rh6G)、101(Rh 101) 和乙基及丁基罗丹明 B(e-Rh B 及 n-Rh B), 用甲醇-水(体积比为 1:1), 超声提取, 收集到的上清液过预处理过的 Strata-X-CW SPE 柱净化的方法, 几种色素的平均回收率: 85.0%~106.0%。张玉<sup>[27]</sup>等人用高效液相色谱法同步测定食品中碱性嫩黄 O、酸性橙 II、碱性橙 II、罗丹明 B、对位红, 加入乙醇和乙腈混合液( $v:v$  为 80:20), 超声萃取离心, 固相萃取柱净化, 平均回收率在 82.5%~96.9%。

#### 4.3 样品净化

样品中违禁色素的净化方法主要有液液分配、固相萃取、基质固相分散、凝胶渗透色谱、薄层色谱、分子印迹技术等, 较常用的是固相萃取。固相萃取技术基于液-固相色谱理论, 采用选择性吸附、选择性洗脱的方式对样品进行富集、分离、净化, 是一种包括液相和固相的物理萃取过程; 陈美娟<sup>[28]</sup>等用高效液相色谱法测定苏丹红 I-IV, 用正己烷超声提取, 固相萃取富集样品, 得到加标回收率为 90.2%~96.5%。也可以将样品净化看作简单色谱过程,

利用选择性吸附与洗脱的液相色谱法分离原理, 使液体样品溶液通过吸附剂, 保留其中被测物质, 再选用适当强度溶剂冲去杂质, 然后用少量溶剂迅速洗脱被测物质, 达到快速分离净化与浓缩的目的。程慧<sup>[29]</sup>等用高效液相色谱串联质谱法检测腊肠中罗丹明 B, 用乙酸乙酯-环己烷(1:1, v: v)提取, 用 GPC 进行净化, 平均回收率为 91.4%~96.5%。也可用选择性小柱吸附干扰杂质, 让被测物质流出; 或同时吸附杂质和被测物质, 再用合适的溶剂选择性洗脱。邓穗兴<sup>[30-31]</sup>等用正己烷提取, 过 Strata-X 小柱分别测定食品中对位红和苏丹红 I - II, 得到对位红的回收率为 92.5%~95.0%, 苏丹红 I 为 90.0%~95.9%; 苏丹红 II 为

95.0%~97.1%。芦智远<sup>[32]</sup>等用高效液相色谱-串联质谱法测定辣椒粉中罗丹明 B 含量, 采用乙醇-氨水-水=7:2:1 提取, 用 HLB 固相萃取柱进行净化, 平均回收率为 98.5%~100.2%。

#### 4.4 检测限与回收率

采用不同的前处理方法得出的线性范围、检出限和回收率有所不同, 即使采用相同方法, 由于仪器设备及所用的试剂不同, 其结果也有不同, 根据文献报道<sup>[2,3,5,25,26,27,28,34-42]</sup>, 按照非法添加色素的分类性质用不同方法得出的线性范围, 检出限以及回收率进行了归纳和总结, 见表 1。

表 1 常见工业染料分析方法及技术指标汇总表  
Table 1 Validation data and analytic methods reported of common illegal dyes

工业色素分类	待测物名称	方法	线性范围	检出限	回收率
中性染料	苏丹红 I~IV	GC-MS/SIM 法	苏丹红 I、II 的线性范围为 0.01~10.0 mg/L, 苏丹红 III、IV 的线性范围为 0.1~10.0 mg/L	苏丹红 I、II 为 1 μg/kg; 苏丹红 III 为 5 μg/kg; 苏丹红 IV 为 10 μg/kg	86%~95%
		UPLC-MS/MS	1~50 μg/L	10 μg/kg	苏丹红 I: 72.0%~86.7% 苏丹红 II: 75.5%~101.3% 苏丹红 III: 50.2%~69.0% 苏丹红 IV: 61.3%~63.6%
			4~200 μg/kg	5 μg/kg	苏丹红 IV: 71.1%~84.6% 苏丹红 III: 78.9%~89.7% 苏丹红 II: 70.1%~107.0% 苏丹红 I: 70.4%~94.7%
		LC-ESI/MS 多重检测法	0.05~1.00 μg/mL	苏丹红 I 的检出限为 1.1 ng/g、苏丹红 II 为 0.6 ng/g、苏丹红 III 为 1.4 ng/g、苏丹红 IV 为 3.6 ng/g	86%~98%
		LC-MS/MS 多重检测法	苏丹红 I 在 1.1616~290.4 ng/mL、苏丹红 II 在 1.2608~315.2 ng/mL、苏丹红 III 在 1.184~296.0 ng/mL、苏丹红 IV 在 1.1664~291.6 ng/mL 浓度范围内线性关系良好。	苏丹红 I、II、III、IV 的检出限分别为 1.0、0.5、0.2、2.5 μg/kg	85.11%~104.70%
		高效液相色谱法	0~40 μg/mL	苏丹红 I 的检出限为 0.01 μg/mL、苏丹红 II 的检出限为 0.01 μg/mL、苏丹红 III 的检出限为 0.02 μg/mL、苏丹红 IV 的检出限为 0.02 μg/mL	90.2%~96.5%
			0.05 μg/mL~2.5 μg/mL	0.01 μg/mL~0.02 μg/mL	90.1%~105.6%
		反相高效液相色谱法	0~256 μg/mL	10 μg/kg	苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV 回收率分别为 93.0%、95.0%、91.0%、91.0%
		基质固相分散-HPLC	0.1~5.0 mg/L	0.1 μg/mL	85.5%~97.5%
			苏丹红 I、II、III、IV 线性范围分别为: 0.5~100 ng/g, 5.0~100 ng/g, 1.0~100 ng/g 和 2.0~100 ng/g	苏丹红 I、II、III、IV 检出限分别为 0.1、2.0、0.2、0.4 μg/kg	苏丹红 I、II、III、IV 回收率分别为: 89.2~106.8%、88.7~108.2%、87.3~113.3%、89.2~105.6%

续表 1

工业色素分类	待测物名称	方法	线性范围	检出限	回收率
中性染料	苏丹红 I~IV	液相色谱-质谱法	/	0.1 µg/mL	苏丹红 I: 92.3%~106.1%; 苏丹红 II: 91.2%~111.6%; 苏丹红 III: 96.1%~107.5%; 苏丹红 IV: 91.7%~108.1%。
			苏丹红 I 和苏丹红 II 的线性范围是 0.1~500 µg/L; 苏丹红 III 和苏丹红 IV 的线性范围是 0.5~500 µg/L 5~200 ng/mL	苏丹红 I 和苏丹红 II 的检测限 0.1 Lg/kg; 苏丹红 III 和苏丹红 IV 检测限 0.5 Lg/kg 苏丹红 I、II 为 0.5 µg/kg, 苏丹红 III、IV 为 1 µg/kg	60%~80% 84.5%~89.2%
		薄层色谱法	0.19~0.58 µg	/	81.9%~95.5%
	苏丹红 7B	凝胶净化/超高效液相色谱电喷雾质谱法	1~50 µg/L	0.5 µg/kg	97%~125%
		高效液相色谱法	0.5~5.0 µg/mL	20 µg/kg	81.6%~97.9%
			0.1~5 mg/L	0.05 mg/kg	87%~103%
			0.10~5.0 mg/kg	0.01 mg/kg	56.0%~88.3%
		超高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法	10~400 µg/kg	10 µg/kg	91.1%~104.8%
	苏丹红 G	凝胶净化/超高效液相色谱电喷雾质谱法	1~50 µg/L	2.0 µg/kg	95%~107%
		高效液相色谱法	0.1~5 mg/L	0.05 mg/kg	87%~103%
		超高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法	10~400 µg/kg	1.0 µg/kg	93.6%~96.1%
	分散黄 3	超高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法	10~400 µg/kg	1.0 µg/kg	90.6%~96.8%
	分散橙 3		10~400 µg/kg	3.0 µg/kg	82.6%~92%
	分散蓝 1	超高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法	50~2000 µg/kg	50 µg/kg	40.8%~55.5%
	分散蓝 106		500~2500 µg/kg	25 µg/kg	72.2%~86.9%
	分散蓝 124		50~2000 µg/kg	50 µg/kg	88.8%~92.1%
	分散橙 37		25~1000 µg/kg	15 µg/kg	99.1%~109.4%
	分散橙 11		25~1000 µg/kg	8 µg/kg	87.4%~97.4%
	苏丹黄	凝胶净化/超高效液相色谱电喷雾质谱法	1~50 µg/L	0.2 µg/kg	92%~123%
		超高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法	2.5~100 µg/kg	0.2 µg/kg	85.6%~97.6%
	苏丹橙 G	凝胶净化/超高效液相色谱电喷雾质谱法	1~50 µg/L	1.0 µg/kg	92%~124%
		高效液相色谱法	0.5~5.0 µg/mL	20 µg/kg	81.6%~97.9%
			0.1~5 mg/L	0.05 mg/kg	87%~103%
		超高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法	10~400 µg/kg	4.0 µg/kg	95.8%~106.4%

续表 2

工业色素分类	待测物名称	方法	线性范围	检出限	回收率	
中性染料	苏丹蓝 II	凝胶净化/超高效液相色谱电喷雾质谱法	1~50 µg/L	0.5 µg/kg	108%~124%	
		超高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法	2.5~125 µg/kg	0.2 µg/kg	89.6%~102.8%	
	甲苯胺红	凝胶净化/超高效液相色谱电喷雾质谱法	1~50 µg/L	1.0 µg/kg	94%~121%	
		超高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法	10~400 µg/kg	1.0 µg/kg	85.7%~92.8%	
	对位红	UPLC-MS/MS 同位素内标法	0~100 µg/L	0.40 µg/kg	92.1%~112.4%	
		凝胶净化/超高效液相色谱电喷雾质谱法	1~50 µg/L	2.5 µg/kg	106%~124%	
		液相色谱法	0.10~ 5.0 mg /kg	0.01 mg/kg	67.5%~84.8%	
		超高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法	20~400 µg/kg	1.0 µg/kg	84.8%~105.4%	
	酸性染料	酸性橙 II	超高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法	10~400 µg/kg	5 µg/kg	89.6%~107.4%
			间胺黄	10~400 µg/kg	3 µg/kg	91.2%~108.1%
酸性红一号		固相萃取-高效液相色谱法	0.1~100 µg/mL	0.044 µg/mL	89.6%	
橙黄 G				0.081 µg/mL	87.2%	
酸性红 26				0.079 µg/mL	91.4%	
酸性大红 GR				0.063 µg/mL	87.3%	
金黄粉				0.065 µg/mL	89.6%	
橙黄 II		液相色谱法	0.5~50 mg/kg	0.2 mg/kg	84%~90%	
酸性间胺黄					78%~82%	
碱性染料		罗丹明 110	高效液相色谱-串联质谱法	0.000 5~1.0 mg/ L	0.19~51 µg/kg	85.0%~110.1%
	碱性橙 2	HPLC 法	0.5~50 mg /L	3 µg/kg	92.4%~102.5%	
	碱性嫩黄 O		0.5~50 mg /L	10 µg/kg	92.4%~102.5%	
	孔雀石绿	超高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法	10~500 µg/kg	2.0 µg /kg	93.4%~95.2%	
	结晶紫		10~500 µg/kg	0.5 µg /kg	82.8%~89.3%	
	罗丹明 B	液相色谱串联质谱法	/	/	81.2%~108.9%	
		凝胶净化/超高效液相色谱电喷雾质谱法	1~50 µg/L	1.0 µg/kg	54%~94%	
		LC-MS/MS 多重检测法	1~100 ng /mL	0.3 µg/kg	89.9%~94.3%	
		HPLC 法	0.5~50 mg/L	10 µg/kg	92.4%~102.5%	
		高效液相色谱-串联质谱法	0.0005~1.0 mg/L	0.19~51 µg/ kg	85.0%~110.1%	
	罗丹明 6G	超高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法	10~500 µg/kg	1 µg /kg	85.4%~92.1%	
		乙基罗丹明 B	高效液相色谱-串联质谱法	0.0005~1.0 mg/L	0.19~51 µg/ kg	85.0%~110.1%
		丁基罗丹明 B				

对于苏丹类中性染料,主要采用液相色谱光谱法和液相色谱串联质谱法进行检测,极性大的染料(苏丹红 I)检出限要优于极性小的染料(苏丹红 IV),且由于串联质谱的灵敏度和选择性远高于光谱,因此液相色谱串联质谱的检出限优于液相色谱光谱法,检出限可达到 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,当采用凝胶净化或固相萃取时,检出限甚至达到 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。高效液相色谱法检出限一般在 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,当与基质固相萃取技术结合时,检出限也可以得到较大改善,能达 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  以下。但由于基质效应,液相色谱串联质谱法的回收率不如液相色谱法稳定,回收率低的有 50%~70%,高的可达 90%~105%;而液相色谱一般稳定在 90%~105%。其他中性染料,如分散染料,由于化学性质的差异,造成质谱响应不同,检出限在 1~50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  范围内波动,回收率在 40%~109%间,对于该类工业染料,检测方法还不太成熟。

对于酸性染料和碱性染料,目前的检测种类和检测方法研究都比较少。酸性染料的检测还是以液相色谱法为主,回收率在 78%~91%之间,检出限可达 0.2  $\text{mg}/\text{kg}$ ,这主要是因为液相色谱串联质谱法检测酸性染料需要在负离子模式下进行,而负离子模式在常规液相色谱的条件下灵敏度不高,不能充分发挥串联质谱的优势。碱性染料的研究主要集中在罗丹明类,检测方法以液相色谱串联质谱法为主,检出限普遍优于 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,回收率一般在 85%~95%之间。值得注意的是,因为罗丹明 B 易溶解在甲醇等亲水性溶剂,不易溶解在正己烷等油性溶剂,导致采用凝胶净化时,回收率偏低(54%)。因此,开发检测方法时,应根据不同工业染料的化学性质,采取相适应的样品处理方式。

## 5 展 望

食品中含有非法工业染料会极大损害消费者健康,因此开发灵敏度高,适用性广的高通量工业染料检测技术一直是食品安全的重点和难点。尽管已有很多检验方法发表,但仍然存在以下不足之处: 研究偏重红色和黄色工业染料,没有涉及黑色、紫色、绿色等工业染料; 研究多集中在苏丹类中性染料,其他酸性和碱性染料研究较少;

同时测定的工业染料组分较少,且多是分组提取、分组检测,不能达到高通量检测的要求; 样品前处理过程大部分文献较简单,有的只是简单提取,缺少样品前处理过程,给后续的确证检测带来较大的基质干扰,影响准确度。

结合检测技术发展趋势和实际需求,工业染料的检测方法大体有 4 个发展趋势: 结合基质分散萃取、固相/液液微萃取、纳米材料、分子印迹等前处理方法,缩短检测周期,降低基质效应,使整个过程更简单更准确; 根据实际情况,利用液相色谱串联质谱技术或多维色谱技术开发,同时测定酸性、中性和碱性等多种不同性质工业染料的高通量检测方法,但如何在质谱上实现正负离子的交

替检测,或在色谱上实现不同性质工业染料的有效分离是该高通量检测的开发难点; 利用 Q-TOF 和 Q-Trap 质谱,结合数据库检索技术,建立多种工业染料的筛查检测方法,满足市场筛查则需快速、准确,但检出限不要求很低的需求; 开发基于免疫学技术或电化学技术的工业染料快速检测方法,具备快速准确、成本低廉等特点,满足现场初筛、快速判定的要求。总体来说,对工业染料的检测应向前处理速度快、自动化程度高、试剂消耗少、环境污染小、方法准确、精密度高的方向发展。

## 参考文献

- [1] 周法东,刘宪军,来创业,等. 超声波辅助萃取-液相色谱串联质谱法检测肉灌肠中的 8 种红色色素[J]. 分析检测, 2013, 27(06): 19-21.  
Zhou FD, Liu XJ, Lai CY, *et al.* Determination of 8 red pigments in sausage by ultrasonic extraction-liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Meat Res, 2013, 27(06): 19-21.
- [2] 杜振霞,孙姝琦. 超高效液相色谱-串联四极杆质谱联用分析鸭蛋黄中的苏丹红 I-IV[J]. 色谱, 2007, 25(5): 705-710.  
Du ZX, Sun SQ. Determination of sudan red I-IV in duck egg yolk using ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2007, 25(5): 705-710.
- [3] 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 Cereal Oil Food, 2009, 17(6): 40-41.
- [4] 陈焕文,张莹,罗明标. 电喷雾解析电离质谱法对食品中苏丹红染料的快速检测[J]. 化学分析, 2006, 34(4): 464-468.  
Chen HW, Zhang X, Luo MB. Desorption electrospray ionization mass spectrometry for fast detection of sudan dyes in foods without sample pretreatment [J]. Chin J Anal Chem, 2006, 34(4): 464-468.
- [5] 喻凌寒,宋之光,牟德海,等. 液相色谱-离子阱质谱联用分析食品中的对位红[J]. 分析测试学报, 2006, 25(5): 86-88.  
Yu LH, Song ZG, Mu DH, *et al.* Determination of illegal para red dye in food by HPLC-ESI MS/MS [J]. J Instrum Anal, 2006, 25(5): 86-88.
- [6] 庞艳玲,王怀友. 薄层色谱-紫外可见分光光度法测定食品中的苏丹红 III[J]. 化学分析计量, 2006, 15 (6): 69-70.  
Pang YL, Wang HY. Determination of sudan III in foods by thin layer chromatography-UV-VIS-spectrophotometry [J]. Chem Anal Meter, 2006, 25(5): 86-88.
- [7] 刘永波,赵海峰,张明霞. 超声波提取-气相色谱-质谱联用法测定苏丹红 I 残留量[J]. 分析实验室, 2006, 25 (4): 86-88.  
Liu B, Zhao HF, Zhang MX. Determination of sudan residue by ultrasonic extraction and GC-MS method [J]. Chin J Anal Labor, 2006, 25(4): 86-88.
- [8] 刘华良,荣维广,王联红,等. 液相色谱串联质谱法检测鲍鱼汁中的酸性橙 II[J]. 中国食品卫生杂志, 2010, 22(1): 16-18.  
Liu HL, Rong WG, Wang LH, *et al.* Determination of acid orange ii in abalone soup with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Food Hyg, 2010, 11(1): 16-1.
- [9] 张斌. 苏丹红 I 对昆明小鼠的亚急性毒性的病理学研究[D]. 保定: 河

- 北农业大学, 2009.
- Zhang B. The pathological studies on subacute toxicology of sudan in mice [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2009.
- [10] 卫生部. 苏丹红危险性评估报告, 2005.  
Ministry of Health of the People's Republic of China. Evaluation report on risk of sudan red [R], 2005.
- [11] 程慧, 李兵, 占春瑞. 腊肠中罗丹明 B 的高效液相色谱串联质谱检测方法[J]. 食品科学, 2010, 31(04): 223-225.  
Cheng H, Li B, Zhan CR. HPLC-MS/MS determination of rhodamine b residue in chinese preserved sausages [J]. Food Sci, 2010, 31(04): 223-225.
- [12] 吴敏, 林建忠, 邹伟, 等. 高效液相色谱法同时测定食品中对位红和苏丹色素等 8 种脂溶性染料[J]. 分析测试学报, 2006, 25(3): 74-76.  
Wu M, Lin JZ, Zou W, *et al.* Simultaneous determination of eight fat-soluble dyes in food by reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. J Instrum Anal, 2011, 36(3): 43-47.
- [13] 金玉娥, 孙丕, 沈红, 等. 食品中违禁色素橙黄 II 和酸性间胺黄的 HPLC 测定研究[J]. 上海计量测试, 2006, (4): 19-21.  
Jin YE, Sun P, Shen H, *et al.* Study on the determination of banned pigment orange II and metanil yellow in food by HPLC [J]. Shanghai Meas Test, 2006, (4): 19-21
- [14] 张佳艳, 伍金娥, 常超. 孔雀石绿的毒理学研究进展[J]. 粮食科技与经济, 2011, 36(3): 43-47.  
Zhang JY, Wu JE, Chang C. Research progress of toxicology of malachite green [J]. Grain Sci Technol Econ, 2006, (4): 19-21.
- [15] Fessard V, Godard T, Huet S, *et al.* Mutagenicity of malachite green and leucomalachite green in vitrotests [J]. J Appl Toxicol, 1999, 19 (6): 421-430.
- [16] Rao KV. Toxicity and metabolism of malachite green and leucomalachite green during short term feeding to fischer 344 rats and B6C3F1 mice [J]. Chemo-Bio Int, 2007(122): 153-170.
- [17] 翟毓秀, 张翠, 宁劲松, 等. 水产品中的孔雀石绿残留及其研究概况[J]. 海洋水产研究, 2007, 28 (1) : 101-108.  
Zhai YX, Zhang C, Ning JS, *et al.* Survey of malachite green residue in aquatic product [J]. Mar Fish Res, 2007, 28(1): 101-108.
- [18] 黄晓兰, 吴惠勤, 黄芳, 等. GC-MS/SIM 法同时测定食品中的苏丹红 I~IV[J]. 分析测试学报, 2005, 24(4): 1-5.  
Huang XL, Wu HQ, Huang F, *et al.* Rapid determination of sudan red I~IV in food by GC-MS/SIM [J]. J Instrum Anal, 2005, 24(4): 1-5.
- [19] 李占彬, 杨鸿波, 谭红, 等. 超声提取-液相色谱质谱法同时测定辣椒制品 5 种非法添加染料[J]. 贵州科学, 2012, 30(6): 30-34.  
Li ZB, Yang HB, Tan H, *et al.* Determination of five illegally used in chili products by liquid chromatography mass spectrometry with ultrasonic extraction [J]. Guizhou Sci, 2012, 30(6): 30-34.
- [20] 胡侠, 肖光, 潘炜, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定辣椒粉及辣椒中的 7 种罗丹明染料[J]. 色谱, 2010, 28(6): 590-595.  
Hu X, Xiao G, Pan W, *et al.* Simultaneous determination of 7 rhodamine dyes in hot chili products by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2010, 28(6): 590-595.
- [21] 赵珊, 张晶, 丁晓静, 等. 凝胶净化/超高效液相色谱电喷雾质谱法检测调味油中 11 种禁用偶氮染料及罗丹明 B [J]. 分析测试学报, 2012, 31(4): 448-452.  
Zhao S, Zhang J, Ding XJ, *et al.* Determination of 11 azo-dyes and rhodamine b in seasoning oil by gel permeation chromatography/ultra performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2012, 31(4): 448-452.
- [22] 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中的 27 种工业染料[J]. 色谱, 2010, 28(4): 356-362.  
Zhao S, Zhang J, Yang Y, *et al.* Determination of 27 industrial dyes in juice and wine using ultra performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem quadrupole mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2010, 28(4): 356-362.
- [23] 高洁, 宁尚勇, 许志强. 固相萃取-高效液相色谱法检测食品中的非食用色素[J]. 分析实验室, 2008, 27(8): 33-35.  
Gao J, Ning SY, Xu ZQ. Solid phase extraction-liquid chromatography for simultaneous determination of inedible pigments in food [J]. Chin J Anal Lab, 2008, 27(8): 33-35.
- [24] 冯伟科, 罗佳玲. HPLC 法同时测定番茄沙司中 7 种违禁色素[J]. 科技风, 2011, (15): 18-19.  
Feng WK, Luo JL. Simultaneous determination of 7 non-food coloring in tomatosauce by HPLC [J]. Technol Trend, 2011, (15): 18-19.
- [25] 喻凌寒, 杨运云, 闫世平, 等. LC-ESI/MS 分析食中微量苏丹红 I-IV[J]. 分析测试学报, 2005, 24(4): 28-31.  
Yu LK, 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.
- [26] 韩劲松, 徐明霞, 陈湛. 高效液相色谱法测定食品中苏丹红的研究[J]. 中国热带医学, 2006, 6(7): 1245-1246.  
Han JS, Xu MX, Chen Z. Study on the detection of sudanred from foods by using high performance liquid phase chromatography [J]. China Trop Med, 2006, 6(7): 1245-1246
- [27] 张玉, 王伟, 徐丽红, 等. 高效液相色谱法同步测定食品中 5 种色素含量[J]. 浙江农业科学, 2012, (3): 377-379.  
Zhang Y, Wang W, Xu LH, *et al.* Simultaneous determination of 5 pigments in food by high performance liquid phase chromatography [J]. J Zhejiang Agric Sci, 2012, (3): 377-379.
- [28] 陈美娟, 李亚明, 郝歆愚, 等. SPE-HPLC 和 HPLC-ESIPMS 法测定食品中微量苏丹红[J]. 分析实验室, 2007, 26(4): 77-80.  
Chen MJ, Li YJ, Hao XY, *et al.* Simultaneous determination of sudan dyes in food by SPE-HPLC and HPLC-ESI/MS [J]. Chin J Anal Lab, 2007, 26(4): 77-80.
- [29] 邓穗兴, 郭新东, 郭茂章, 等. 固相萃取-气质联用测定辣椒油中对位红[J]. 广州化工, 2006, 34(1): 59.  
Deng SX, Guo XD, Guo MZ, *et al.* Determination of para red in hot chilli oil by GC/MS using solid phase extraction sample pretreatment [J]. Guangzhou Chem Ind, 2006, 34(1): 59.
- [30] 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 I 和苏丹红 II [J]. 广州化工, 2005, 33(3): 60-61.  
Guo XD, He Q, Guo MZ, *et al.* Determination of sudan I and sudan II in hotchilli oil by GC/MS using solid phase extraction sample pretreatment [J]. Guangzhou Chem Ind, 2005, 33(3): 60-61.
- [31] 芦智远, 冯歆轶, 王峰, 等. 固相萃取结合超高效液相色谱-串联质谱法测定辣椒粉中罗丹明 B 含量[J]. 农业机械, 2012, 30: 109-110.  
Lu ZY, Feng XY, Wang F, *et al.* Detection of rhodamine B in cayenne



- pepper by solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Farm Mach*, 2012, 30: 109-110.
- [32] 张翠英, 蔡少青, 王雪芹. LC/MS/MS法分析食品中微量苏丹红 I、II、III、IV[J]. *中国卫生检验杂志*, 2007, 17(9): 1547-1548.
- Zhang CY, Cai SQ, Wang XQ, *et al.* Detection of sudan I, sudan II, sudan III and sudan IV in foodstuffs by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2007, 17(9): 1547-1548.
- [33] 于红卫, 曲青. 液相色谱-质谱法测定辣椒制品中苏丹红(I、II、III、IV)染料[J]. *中国卫生检验杂志*, 2007, 17(2): 274-275.
- Yu HW, Qu Q. Determination of Sudan red (I, II, III, IV) in chili products by HPLC-MS [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2007, 17(2): 274-275.
- [34] 宁啸骏, 王丁林, 虞成华, 等. UPLC-MS/MS 同位素内标法测定食品中对位红、苏丹红 I-IV 的研究[J]. *质谱学报*, 2009, 30(1): 41-46.
- Ning XJ, Wang DL, Yu CH, *et al.* UPLC-MS/MS isotopic internal standard determination of parared and sudan I-IV in food [J]. *J Chin Mass Spectrom Soc*, 2009, 30(1): 41-46.
- [35] 王鹏, 郭少飞, 荆涛, 等. 基质固相分散液相色谱-串联质谱法检测禽蛋中的苏丹红[J]. *色谱*, 2008, 26(3): 353-357.
- Wang P, Guo SF, Jing T, *et al.* Determination of sudan red dyes in eggs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and matrix solid-phase dispersion technique [J]. *Chin J Chromatogr*, 2008, 26(3): 353-357.
- [36] 梁景波, 黄锦燕. 反相高效液相色谱法检测辣椒酱中的苏丹红染料[J]. *化学分析计量*, 2005, 14(5): 27-19.
- Liang JB, Huang JY. Determination of red dye stuffs of sudan in the chilli sauce by inversed phase high performance liquid chromatography [J]. *Chem Anal Meter*, 2005, 14(5): 27-19.
- [37] 曹莹, 黄土新, 张文刚. 液相色谱-质谱法分析禽蛋中的苏丹红[J]. *中国兽药杂志*, 2007, 41(6): 1-3.
- Cao Y, Huang SX, Zhang WG. Determination of sudan red in eggs by LC-MS [J]. *Chin J Veter Drug*, 2007, 41(6): 1-3.
- [38] 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-Mass [J]. *J Shandong Inst Light Ind (Natu Sci Ed)*, 2005, 19(4): 62-65.
- [39] 王鲜俊, 缪红, 文君. 薄层色谱法测定海椒面中苏丹红[J]. *中国卫生检验杂志*, 2005, 15(12): 1475-1476.
- Wang XJ, Miu H, Wen J. Determination of sudan dyes in thin-layer chromatography [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2005, 15(12): 1475-1476.
- [40] 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, *et al.* Determination of sudan dyes in chilli products by high performance liquid chromatography [J]. *Life Sci Instrum*, 2005, 3(3): 25-28.
- [41] 刘宏程, 王至飞, 黎其万, 等. 基质固相分散-HPLC 测定松花蛋中苏丹红[J]. *食品科学*, 2008, 29(03): 400-402.
- Liu HC, Wang ZF, Li QW, *et al.* Determination of sudan pigment in preserved egg by combination of matrix solid phase dispersion and high performance liquid chromatography [J]. *Food Sci*, 2008, 29(03): 400-402.
- [42] 温忆敏, 汪国权, 张慧敏, 等. 食品中苏丹红系列和对位红的测定方法研究[J]. *环境与职业医学*, 2006, 23(1): 27-30.
- Wen YM, Wang GQ, Zhang HM, *et al.* Research on method for determination of sudan red, its analogues and para red in food [J]. *J Environ Occup Med*, 2006, 23(1): 27-30.

(责任编辑: 杨翠娜)

## 作者简介



洪红, 高级工程师, 主要研究方向为食品营养与食品安全检测。  
E-mail: hhong28@126.com