

食品中偶氮类色素检测方法的研究进展

孙文通¹, 康 勇¹, 王仕兴^{2*}

(1. 云南省食品药品检验所, 昆明 650034; 2. 昆明理工大学冶金与能源工程学院, 昆明 650093)

摘 要: 食品在加工的过程中容易丢失原本的颜色, 食品加工者为了使食物看起来更美味, 向其中添加廉价的合成色素。但偶氮类合成色素对人体存在致癌风险, 许多国家已禁止在食品中添加偶氮类合成色素, 并严格监管该类食品在国内的流通及进出口。本文综述了食品行业中针对偶氮类合成色素的各种检验方法, 以期为食品安全监督检查相关机构提供参考。当前国内外食品中禁用偶氮色素检验方法主要包括光谱法、色谱法、电化学、酶联免疫法、化学发光及其他检测方法等, 这些方法在方便、快捷、准确等方面取得了较大的进步, 但是仍然面临一些问题, 如灵敏度低、定性能力差、假阳性率高, 成本高和前处理复杂等。因此开发操作简便、高通量的检测技术和仪器将是未来的发展方向。

关键词: 偶氮类色素; 光谱法; 色谱法; 电化学方法; 食品添加剂

Research progress on the analysis method of azo dyes in food

SUN Weng-Tong¹, KANG Yong¹, WANG Shi-Xing^{2*}

(1. Yunnan Inspection Institute of food and drug, Kunming, 650034, China; 2. Faculty of Metallurgical and Energy Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, China)

ABSTRACT: Food is easy to lose its original color in processing, food producer add cheap synthetic pigment into food in order to make food look more delicate. But azo pigment can increase the cancer risk to human, so many countries have prohibited the addition of azo dyes in food and strictly supervise the circulation, import and export of the food containing pigment. This paper summarized a variety of analysis methods for the determination of azo dyes in the food industry so as to provide reference for food safety supervision and inspection and other related organizations. The analysis methods of azo dyes include spectroscopic method, chromatography, electrochemistry, enzyme immunoassay, chemiluminescence and other detection methods. These methods have made a great progress in the convenience, quickness and accuracy, but there still are some problems such as low sensitivity, weak qualitative ability, high false positive rate, high cost, complex pre-processing and so on. Therefore, it will be a trend to develop a new detection technology and equipment with the followed advantages such as easy to operate, and high throughput in the future.

KEY WORDS: azo dyes; spectroscopy analysis; chromatography; electrochemical method; food additives

基金项目: 云南省自然科学基金(2013FB096)

Fund: Natural Science Foundation of Yunnan Province (2013FB096)

*通讯作者: 王仕兴, 博士, 高级工程师, 研究方向为食品检测。E-mail: wsxkm@sina.com

*Corresponding author: Shixing Wang, PhD, senior engineer, Faculty of Metallurgical and Energy Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, China. E-mail: wsxkm@sina.com

1 引言

偶氮色素是指色素分子结构中至少含有一个偶氮基(-N=N-)结构的色素。偶氮色素的发色体是由偶氮基与芳香环系统相连构成的一个共轭体系^[1,2]。偶氮色素约占合成染料品种的60%以上,广泛应用在纺织品、皮革、纸张和食品等领域。偶氮色素在一定条件下可分解产生20多种具有致癌性的芳香胺类物质,从而导致人体的DNA变异、结构与功能受损,进而导致病变和诱发恶性肿瘤等各类恶性疾病^[3,4]。

近几年来,我国食品中违规添加偶氮色素的现象十分严重,相关食品安全事件屡屡曝光。2005年,北京亨氏的一批辣椒酱中检出偶氮色素苏丹红I号^[5]。同年,百盛餐饮发现旗下肯德基品牌产品的调味料中检出苏丹红I号。2006年,经检测在北京市场上一些打着白洋淀“红心”旗号的鸭蛋含有偶氮色素苏丹红IV号,含量高达0.137 mg/kg^[6]。2012年,食品监管部门发现红牛饮料配料中含有国家不允许在饮料中使用的偶氮色素胭脂红^[7]。2015年,山西糕点及熟肉制品等产品中检出日落黄、柠檬黄和胭脂红等偶氮色素^[8]。有效控制偶氮色素在食品中滥用的关键环节就是提高食品中禁用偶氮色素的检测标准、检测技术和检测水平。我国已经在广东、北京、上海等地建立了专门的偶氮色素检测中心。本文综述了当前国内外食品中禁用偶氮色素检验方法的研究进展,包括光谱法、色谱法、色谱质谱联用技术、酶联免疫法、电化学法及化学发光法等,以期对相关食品安全监督检测提供参考。

2 光谱法

用于食品着色的偶氮色素在可见光区域具有较强的吸光特性,因此光谱法被广泛用于食品中偶氮色素的检测分析。光谱法对样品不会构成损伤,且成本低廉、测量快速。光谱法包括紫外-可见分光光度法、拉曼光谱法、荧光光谱法等多种检测方法。

2.1 紫外-可见分光光度法

紫外-可见分光光度法是基于胭脂红、苋菜红、柠檬黄、日落黄和亮蓝等不同的偶氮色素具有不同的吸收谱图,通过与标准谱图对照即可直观、快速地定性,且在一定浓度范围内含量与峰高成正比,故可用于定量测定。紫外-可见分光光度计法具有设备简单、操作方便、快速等特点,在食品偶氮色素检测中应用广泛。

Liomas等^[9]结合最小二乘法与分光光度法直接测定了样品中胭脂红、日落黄和柠檬黄的含量。王丽平等^[10]结合校正变换矩阵法与分光光度法,使用交叉验证法选择主因子数建立了校正模型,开发了不进行分离便可同时测定胭脂红、苋菜红和日落黄3种偶氮色素的方法。该方法对

胭脂红、苋菜红、日落黄的回收率分别为94.98%~113.69%、79.25%~104.96%和93.22%~109.27%。El-Sheikh等^[11]开发了最小二乘法同时测定柠檬黄、诱惑红和日落黄的方法,回收率在104%~105%之间。杨梅枝等^[12]结合光度法和人工神经网络,利用偏最小二乘法的主成分分解优化了网络输入变量,同时测定了日落黄、胭脂红和苋菜红3种色素。研究表明,该方法回收率高,结果可靠、准确,是一种简捷、高效的分析方法,有效解决了光谱重叠组分的成分分析问题。

2.2 拉曼光谱法

拉曼光谱是一种散射光谱,可获得样品的物理化学及深层结构信息,其独特的指纹振动可反映分子结构,为物质鉴别、定性和定量分析提供了有力工具。拉曼光谱技术具有样品无需前处理、快速简单、灵敏度高等优点。

陈晨等^[13]利用拉曼光谱法对偶氮类色素苏丹红I、II、III进行了检测。该方法无需对样品进行特别制备,液体可隔瓶测量,固体粉末可直接测量,检测时间不超过15 s,克服了高效液相色谱法、气相色谱质谱联用法、反相高效液相色谱法等对苏丹红进行检测时均需对检测物进行预处理且需时较长(最短需24 min)的缺点,还能对苏丹红具有致癌性的N=N官能团给出强拉曼信号。Haughey等^[14]运用拉曼光谱,结合主成分分析和偏最小二乘法,成功鉴别了掺有苏丹红I的辣椒粉,该方法可直接测定样品,无需进行样品前处理,检出限达到0.88%。普通拉曼光谱法灵敏度较低,但采用表面增强拉曼光谱技术可大幅增加方法灵敏度和适用范围。Cheung等^[15]利用表面增强拉曼散射检测了食品中的苏丹红I。结果表明,该方法能较可靠地检测复杂食品基质中的苏丹红I,线性范围为 10^{-3} ~ 10^{-4} mol/L,同时也表明结合主成分分析法、偏最小二乘法法和人工神经网络等多变量处理方法可以用于定量分析苏丹红I。

2.3 荧光光谱法

荧光光谱检测技术是一种非常有效的光谱分析手段,其最大的特点就是灵敏度高,一般荧光光谱检测法的检出限比分光光度法低2~3个数量级。由于不同的物质具有不同的结构,它们在激发波长、发射波长及荧光寿命等方面存在差异,因此荧光光谱检测法的选择性较强。另外荧光光谱检测法具有简便、快速且环保的特点。

周尚等^[16]基于苏丹红与硫酸高铈反应导致其荧光增强,采用荧光光谱法测定了番茄酱和辣椒酱等食品中苏丹红I~IV的含量,方法检出限分别为4.0、3.6、4.2和4.2 mg/L,实际样品添加回收率在98.1%~104%之间,测定值的相对标准偏差在3.0%~6.5%之间。杨利等^[17]建立了恒波长同步荧光淬灭测定苏丹红II的方法,研究表明苏丹红II对硫酸奎宁的荧光淬灭程度与苏丹红II的含量呈线性关系,线性范围为 1.0×10^{-6} ~ 5.0×10^{-4} mol/L,检出限为 2.393×10^{-11}

mol/L, 回收率在 93.7%~97.1%之间。与常规荧光分析法相比, 恒波长同步荧光分析法具有简化光谱、窄化谱带以及减少各类干扰信号等优点。

有些偶氮色素无可见吸收特性、以及在混合体系特征吸收峰的重叠等都阻碍了光谱法在检测食品中偶氮色素中的应用。但是光度法与化学计量法的有机结合消除了单波长光度法多组分干扰问题, 并且光度法分析所用仪器设备普及面广, 对操作人员的技术水平要求不高, 测定混合偶氮色素方便快捷。

3 色谱法

3.1 高效液相色谱法

偶氮色素的色谱分析法主要有高效液相色谱法、薄层色谱法和毛细管电泳法等方法^[18,19]。高效液相色谱法是检测食品中偶氮色素使用最多的一种检测分析技术。该技术采用高压输液系统将溶剂或缓冲溶液泵入色谱柱中分离样品, 具有简便快速、灵敏度高、准确度高、分离效能好和应用范围广等特点。

赵宏等^[20]采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定辣椒粉中的碱性橙。该方法采用了 XDB-C₁₈ 色谱柱, 乙腈+乙酸铵(V:V,75:25)流动相和二极阵列检测器进行检测。结果表明该方法定性准确、灵敏度高、回收率和重现性好且测定结果准确。Cornet 等^[21]利用液相色谱-二极阵列检测器建立了检测辣椒、咖喱类制品中苏丹红 I~IV 的分析方法。通过基质匹配标准、光谱匹配的方法排除干扰, 固体样品回收率范围为 89%~100%, 酱料类半固体样品回收率范围为 51%~86%。邱万山^[22]建立了以橘红 2 号为内标物, 采用高效液相色谱法测定辣椒制品中苏丹红的方法。该方法操作简单、准确性好, 具有良好的稳定性和重现性, 可用于辣椒制品中苏丹红含量分析。

高效液相法为食品中偶氮色素检测的国家标准方法第一法, 也是目前用于食品中偶氮色素检测的常用方法之一^[23,24]。该法灵敏度高、样品用量少、分离效率高, 是精密准确测定食品中有害残留浓度的理想方法。但该方法前处理过程复杂、操作繁琐, 会产生较严重的基线漂移, 灵敏度较差, 仪器昂贵, 操作人员需经过专业培训方可独立完成检测, 难以用于快速检测和现场监测。

3.2 薄层色谱法

液相色谱法的样品前处理比较繁琐, 仪器昂贵、操作复杂、且检测所需时间长, 不便于现场快速检测, 应用受到一定限制。薄层色谱具有预处理简单、对样品限制少、对杂质抗受力强、设备简单、分析速度快和结果直观等优点。因此被广泛应用于检测样品的分离与分析^[25]。

夏立娅^[26]利用薄层色谱技术同时检测了豆制品中碱

性橙、皂黄、柠檬黄和日落黄 4 种色素。结果表明, 碱性橙、皂黄、柠檬黄、日落黄、丽春红 2R 的最低检出量均为 0.04 μg 。他们利用该方法对市售的 7 种散装豆皮和豆腐干进行了检测, 检测结果与高效液相色谱法的检测结果一致。该方法样品前处理简单方便、测定迅速、结果稳定可靠、并且无需贵重仪器设备, 因此可用于豆制品中的碱性橙等色素定性分析。同时, 薄层色谱法还可以与液相色谱、气相色谱、原子吸收光谱、荧光光谱和光声光谱等其他检测仪器联合使用。庞艳玲^[27]利用薄层色谱-紫外可见分光光度法测定了食品中苏丹红 III、IV 的含量。同国标高效液相色谱法相比, 二者的回收率基本吻合, 有效避免了食品基质中天然色素的干扰, 避免了实验结果的假阳性情况, 提高了检测的准确度。

3.3 毛细管电泳法

毛细管电泳法是经典的电泳技术与现代微柱分离技术相结合的一种方法, 所用试剂少, 样品用量少, 污染小, 兼具电泳和色谱的双重优点, 可满足复杂基质样品的分离与测定^[28]。Mejia 等^[29]基于胶束电动毛细管色谱开发了一种简单快速检测食品中苏丹红(I、II、III、IV)的方法。在优化实验条件下, 20 min 就有效的分离了 4 种偶氮色素, 且检测限为 96~610 $\mu\text{g/L}$ 。该方法被成功地用于迅速筛选和检测来自印度、墨西哥、美国、加拿大和中国的辣椒粉中的中苏丹红(I、II、III、IV)。邓光辉^[30]等采用高效毛细管电泳法(high performance capillary electrophoresis, HPCE)实现了苏丹红 I 和苏丹红 II 的基线分离及检测, 该法简便快速、灵敏度高。闫正等^[31]以日落黄为内标物建立了碳酸饮料中亮蓝和苋菜红的高效毛细管电泳内标测定方法。亮蓝与苋菜红的回收率分别为 97.87%~102.1% 和 94.07%~103.8%。该方法以样品空白为基液进行内标法定量测定, 基本上消除了背景带来的系统误差。

3.4 色谱-质谱联用技术

色谱串联质谱分析器能够实现微量、准确、灵敏的定性定量检测。目前用于偶氮色素染料测定的色-质联用方法主要有: 液相色谱-电喷雾-质谱(liquid chromatography-electrospray ionisation-mass spectrometry, LC-ESI-MS), 液相色谱-常压化学电离-质谱(Liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry, LC-APCIMS)等。离子阱、三重四极杆以及飞行时间质量分析器等是色-质联用技术中所用到的主要质量分析器, 具有很高的质量精度(0.1×10^6), 在具有高灵敏度的同时还能够通过次级质谱的特征来排除假阳性结果。

Tsai 等^[32]采用液相色谱串联质谱法(high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)同时检测了食品中的 20 种合成染料(包括苏丹红、酒石黄等偶氮染料)。通过选择多反应监测模式下双片段离子跃迁, 该方法实现了定性和定量

检测,具有较高的选择性和灵敏度。方法的线性范围为 0.10~200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 20 种染料的回收率均超过 90%。本方法成功地应用于筛选 18 种辣椒粉和 6 种果脯中的合成色素。刘环宇等^[33]建立了 HPLC-MS/MS 同时检测食品中所含碱性嫩黄 O、酸性橙 II 和酸性金黄的检测方法, 3 种组分在 0.10~2.00 mg/L 范围内呈良好的线性关系, 样品回收率超过 81.3%, 定量限在 1.0 mg/kg 以下, 方法操作简单灵敏、准确可靠。

张胜帮等^[34]采用气相色谱-质谱选择离子检测法同时测定了食品中苏丹红 I~IV 及对位红。结果表明: 苏丹红 I~IV 及对位红的线性范围为 0.1~4.0 mg/L , 方法检出限为 0.002~0.01 $\mu\text{g}/\text{g}$, 回收率为 82.2%~89.3%。研究结果表明方法准确可靠、选择性和重复性好。Reyns 等^[35]建立了利用超高压液相色谱串联质谱仪 (ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 检测海鲜鱼类中碱性橙 2 的方法, 该方法的定量限为 0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 比气相检测的定量限低至少 30 倍, 通过对 50 多种未知样进行验证表明其满足欧盟检测标准。

色谱-质谱联用技术灵敏度高、定量准确, 但仪器价格昂贵、运行成本高, 且对操作者的专业知识和技能有较高要求。在实际检测工作中, 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 酶联免疫法

酶联免疫法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 是目前食品安全检测中广泛应用的主要方法之一, 具有高度的特异性、灵敏、简便、易于现场快速检测等优点, 已成为全世界最广泛的偶氮色素检测方法^[36,37]。该方法对样品含量及纯度要求低, 能同时对多个样品进行定量或定性检测, 分析成本低。

常向彩^[38]分别采用活性酯法和 N, N-羰基二咪唑 (CDI) 法合成了偶氮色素酸性红 73 (AR73) 的免疫原和包被原, 从而建立了一种检测虾仁中 AR73 的 ELISA 方法。交叉反应试验结果表明, 除苏丹红 III 号 (0.15%) 外与其他竞争物均无交叉反应, 其在虾仁中的回收率范围为 71.3%~84.4%, 变异系数小于 9.55%。顾虹洁^[39]基于完全抗原制备方法、动物免疫血清制备方法、单克隆抗体制备方法以及抗体大量分泌的体内腹水制备方法建立了一种能够同时检测水溶性食品中苏丹红 I 号和对位红的竞争 ELISA 检测方法。对位红和苏丹红 I 号的 IC₅₀ 值分别为 4 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和 0.8 $\mu\text{g}/\text{L}$, 与苏丹红 II、III、IV 号的交叉反应率为 1.24%~2.12%, 运用所建方法检测番茄酱中的苏丹红 I 号或对位红, 回收率为 69.8%~118%。因此该方法灵敏度高、特异性强, 可作为快速初筛检测方法使用。

ELISA 存在酶稳定性差、试剂寿命较短、检测结果重复性差以及复杂样品存在交叉反应易造成假阳性等不足, 因此需其他检测手段进行验证。随着科技的进步和研究的深入, 不断开发重复性好的单克隆抗体和高免疫原性的重组抗原, 增加 ELISA 检测的特异性、扩大检测的范围、提高检测的稳定性, 加快 ELISA 的商业化进程。此外, 将 ELISA 检测同 HPLC 等其他检测技术相结合, 实现强强联合, 增加检测的灵敏度、降低交叉反应, 使 ELISA 检测能更加准确地定量。

5 电化学法

电化学法具有灵敏度高、选择性好、响应时间短和方法简便等优点。与其他手段相比, 电化学手段具有无可比拟的高灵敏度和选择性。偶氮色素分子含有的电活性基团 (N=N 双键或 C=C 双键) 可在滴汞电极上产生还原波。依据各种偶氮色素的还原电位在不同底液中的差异可以进行定性分析, 根据还原电位峰高与其浓度成线性关系进行定量分析。电化学分析法的发展方向是电化学传感器在偶氮色素检测领域的应用。

张文德^[40]利用单扫示波极谱法测定了食品中苏丹红 I。介质为 10% 丙酮时苏丹 I 在电位 $E_p = -0.860 \text{ V (vs SCE)}$ 产生灵敏的二阶导数极谱催化波, 在 0.2~5.0 $\mu\text{g}/10\text{ml}$ 范围内线性相关系数为 0.9992, 最低检出限为 0.05 $\mu\text{g}/10\text{ml}$, 试样加标回收率为 84.0%~98.5%。本方法操作简单、快速、灵敏, 适用于辣椒制品、火锅汤料及番茄酱等食品中苏丹红 I 的测定。宋新等^[41]采用示波极谱法测定了常见的苋菜红、胭脂红、日落黄、柠檬黄和亮蓝 5 种偶氮色素, 结果表明 5 种偶氮色素的回收率在 88.6%~101.3% 之间, 与高效液相色谱法测定结果无统计学差异, 因此该法在测定食品中偶氮色素时具有灵敏度高、精密度好、操作简便快速等特点且仪器低廉、操作简便, 但该法仅仅适合用于测定成分较为简单的样品, 一旦分析样品成分复杂, 偶氮色素在滴汞电极上产生的还原波受到影响无法进行准确定性定量。

Claux 等^[42]利用 Bi 膜修饰的玻碳电极检测了食品中的苋菜红、胭脂红、偶氮玉红、诱惑红等偶氮色素。本方法的检测范围从几个 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 到 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 标准偏差小于 5%。Bi 电极的电化学性能与汞电极相似, 应用于饮料样品时取得了较好的效果。Yu 等^[43]基于 Pt 纳米粒子修饰的玻碳电极建立了一种用于检测苏丹红 I 的伏安检测法。在优化条件下, 当苏丹红 I 的浓度在 0.002~0.3 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 和 0.3~7.0 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 时, 苏丹红 I 的阳极峰电流与浓度成正比, 检测限为 0.7 nmol/L 。该方法被成功的用于检测番茄酱、辣椒粉、鸭蛋黄等食品品种的苏丹红 I, 结果表明该方法可靠性高, 适用范围广。

Dossi 等^[44]结合芯片电泳和电化学检测技术开发了同

时检测食品中日落黄、胭脂红、苋菜紫、酸性黄等偶氮色素的方法。在最佳条件下,目标分析物可在300 s实现分离和检测。该方法重现性好、灵敏度高、线性范围宽。酸性黄、日落黄、胭脂红和苋菜紫的检测限分别为3.8、3.6、9.1和15.1 $\mu\text{mol/L}$ 。Ming等^[45]用碳纳米管修饰电极为工作电极,采用伏安法测定了辣椒粉中微量苏丹红I,方法检出限为 2.0×10^{-7} mol/L。碳纳米管由于具有高比表面积和良好的导电性特点,对苏丹红有较好的催化性能,从而提高了测定灵敏度。Zhang等^[46]也利用多壁碳纳米管膜修饰的玻碳电极,采用脉冲伏安法同时测定了柠檬黄和日落黄,并成功用于商品软饮料中日柠檬黄和日落黄的测定。

6 化学发光法

化学发光分析法是基于体系中待测物质浓度与体系的化学发光强度在一定条件下呈线性定量关系的原理而确定待测物含量的一种痕量分析方法。化学发光分析法具有速度快、灵敏度和准确度高、选择性好,仪器设备简单及易操作等特点。牛丽川等^[47]基于苏丹红I对鲁米诺-溶菌酶化学发光强度的增敏作用,建立了流动注射化学发光法测定被污染的辣椒酱中苏丹红I含量的方法。但检测结果稳定性和重现性较差,且检测速度慢。目前可以利用的发光试剂有限也使得该法的推广应用受到了一定的限制。

高小飞^[48]基于苏丹红I对鲁米诺- H_2O_2 化学发光体系的增强作用,采用流动注射化学发光方法对食品中苏丹红I的含量进行了测定。测定结果表明,化学发光强度的增加值与苏丹红I在10 $\mu\text{g/mL}$ ~7 ng/mL 的范围内呈良好的线性关系,该方法在郫县豆瓣、辣椒酱、沙爹酱等实际样品测定时回收率为90.6%~110.0%。田欣欣等^[49]发现苏丹红I~IV可以增强鲁米诺- KIO_4 体系的化学发光,建立了同时测定苏丹红色素的新方法。该方法在0.001~0.50 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,苏丹红I~IV的浓度与发光强度呈良好的线性关系,样品加标回收率在90.0%~96.7%之间。该方法有效地去除了基质干扰,具有简单、快速、灵敏的特点。时作龙等^[50]以苏丹红I作模板分子制备了微米级苏丹红I分子印迹聚合物微固相萃取柱,并基于高锰酸钾氧化苏丹红产生化学发光建立了在线分子印迹-化学发光法测定食品中苏丹红I的方法。该方法的线性范围为 1.0×10^{-6} ~ 7.0×10^{-4} g/L,检出限为 3×10^{-7} g/L。

7 其他方法

周敏^[51]基于苏丹类物质可以淬灭Mn-ZnS量子点的荧光的原理建立了用Mn-ZnS量子点检测苏丹红I~IV的方法。该方法可用于辣椒酱、鸡蛋、火腿肠和番茄酱中苏丹红I的检测,加标回收率为93.0~107.0%。该方法具有操作简单、选择性和灵敏度高、无需复杂的样品前处理、选择性好以及干扰物质比较少等优点。Dossi等^[52]结合芯片电泳

与电化学方法检测了软饮料和糖果中的黄AB、新红、日落黄、新胭脂红和苋菜红5种偶氮色素,检测时间均小于300 s。Liu等^[53]基于两层芯片间夹滤膜的手段建立了一种用于检测食品中非法添加物质苏丹红的真空加速微流体免疫方法,苏丹红的检出限为1 ng/mL ,总检测时间为15 min。与传统的微流体免疫方法相比,该方法具有灵敏度高、快速的特点。

相对于传统的光谱、色谱、质谱和电化学等分析方法,微纳米技术的优势是检测周期短、通量高、操作简单,对大型设备依赖低,适合于企业的常规批量化检测、筛查,是今后重点发展的方向。

8 讨论

目前,检测食品中偶氮色素的方法种类较多,但目前食品中偶氮色素的检测仍然面临一些问题,如高效液相色谱法具有灵敏度低、定性能力差、假阳性率高等缺点,高效液相色谱串联质谱法由于检测成本高以及对前处理的要求较高而阻碍了其推广。因此将来偶氮色素的检测仍将朝着高通量、快速、简便、准确、低成本和环保的方向发展,如尽量采用常见的易操作的仪器设备,扩大可检测的偶氮色素种类,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,若能研制出准确、可靠、快速的可用于现场检验的方法,将会有重要的现实意义。

参考文献

- [1] 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.
Xue HY, Yin YM, Zhang TC, et al. Research on analysis of azo dyes in food products [J]. Current Biotechnol, 2012, 2(3): 171-176.
- [2] Rafii F, Hall JD, Cerniglia CE. Mutagenicity of azo dyes used in foods, drugs and cosmetics before and after reduction by Clostridium species from the human intestinal tract [J]. Food Chem Toxicol, 1997, 35(9): 897-901.
- [3] Yamjala K, Nainar MS, Ramisetty NR. Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry-a review [J]. Food Chem, 2016, 192: 813-824.
- [4] Amin KA, Hameid HA, Elsttar AHA. Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats [J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48(10): 2994-2999.
- [5] 李建华,田赞,田晖.在华跨国公司的不道德行为及其监管[J].中南大学学报(社会科学版),2014,2:35-38.
Li JH, Tian Z, Tian H. Immoral behaviors of multinational companies in China and their supervision [J]. J Central South Univ (Social Sci), 2014, 2: 35-38.
- [6] 张金荣,刘岩,张文霞.公众对食品安全风险的感知与建构[J].吉林大学社会科学学报,2013,53(2):40-49.
Zhang JR, Liu Y, Zhang WX. Public perception and construction on food

- safety risk [J]. Jilin Univ J Social Sci Ed, 2013, 53(2): 40–49.
- [7] 吴桂贞, 叶映朵. 从“添加门”看功能性饮料行业发展中遇到的问题[J]. 饮料工业, 2012, 15(4): 31–33.
- Wu GZ, Ye YD. Looking at problems in functional drink industry development from Red Bull's debatable additives [J]. Beverage Ind, 2012, 15(4): 31–33.
- [8] 王兴, 刘金萍, 张伟, 等. 食品中偶氮类合成色素的检测方法研究进展[J]. 食品安全导刊, 2015, (28): 72–74.
- Wang X, Liu JP, Zhang W, *et al.* Research progress on detection methods of azo dyes in food [J]. China Food Saf Mag, 2015, (28): 72–74.
- [9] Lamas NE, Garrido M, Di Nezio MS, *et al.* Second order advantage in the determination of amaranth, sunset yellow FCF and tartrazine by UV–vis and multivariate curve resolution-alternating least squares [J]. Anal Chimica Acta, 2009, 655(1): 38–42.
- [10] 王丽平, 田燕, 皇甫立霞, 等. 校正变换矩阵法用于多组分食用合成色素的同时测定研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(33): 20555–20555
- Wang LP, Tian Y, Huangpu LX. Study on application of calibration transform matrix method with spectrophotometry for simultaneous determination of food coloring in artificial mixtures [J]. J Anhui Agric Sci, 2011, 39(33): 20555–20555.
- [11] El-Sheikh AH, Al-Degs YS. Spectrophotometric determination of food dyes in soft drinks by second order multivariate calibration of the absorbance spectra-pH data matrices [J]. Dyes Pigm, 2013, 97(2): 330–339.
- [12] 杨梅枝, 彭丹. 主成分-人工神经网络光度法在混合食用合成色素定量分析中的应用[J]. 河南化工, 2009, (8): 55–56.
- Yang MZ, Peng D. Application of main composition-artificial neural network spectrophotometry in the quantitative analysis of mixed synthetic pigment for food [J]. Henan Chem Ind, 2009, (8): 55–56.
- [13] 陈晨, 张国平. 苏丹红 I, II 和 III 的拉曼光谱研究[J]. 光学与光电技术, 2007, 5(1): 61–63.
- Cheng C, Zhang GP. Raman spectroscopy technology for sudan I, II and III [J]. Optics Optoelectr Technol, 2007, 5(1): 61–63.
- [14] Haughey SA, Galvin-King P, Ho YC, *et al.* The feasibility of using near infrared and Raman spectroscopic techniques to detect fraudulent adulteration of chili powders with sudan dye [J]. Food Control, 2015, 48: 75–83.
- [15] Cheung W, Shadi IT, Xu Y, *et al.* Quantitative analysis of the banned food dye sudan-I using surface enhanced raman scattering with multivariate chemometrics [J]. J Physic Chem C, 2010, 114(16): 7285–7290.
- [16] 周尚, 杨季冬, 贺奎娟, 等. 荧光光谱法测定食品中苏丹红含量[J]. 理化检验: 化学分册, 2013, 49(2): 179–182.
- Zhou S, Yang JD, He KJ, *et al.* Fluorospectro photometric determination of sudan red in food [J]. Physical Test Chem Anal Part B: Chem Anal, 2013, 49(2): 179–182.
- [17] 杨利, 李树伟, 潘可亮, 等. 恒波长同步荧光淬灭法测定食品中苏丹红 II 的研究[J]. 化学研究与应用, 2012, 24(4): 552–554.
- Yang L, Li SW, Pan KL, *et al.* A quick determination the concentration of Sundan II in food by the constant-wavelength synchronous fluorescent quenching [J]. Chem Res Appl, 2012, 24(4): 552–554.
- [18] Pérez-Urquiza M, Beltrán JL. Determination of the dissociation constants of sulfonated azo dyes by capillary zone electrophoresis and spectrophotometry methods [J]. J Chromatogr A, 2001, 917(1): 331–336.
- [19] 金钊, 崔进, 梅连瑞, 等. HPLC 同时测定豆制品中 3 种碱性橙染料[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(3): 139–142.
- Jin Y, Cui J, Mei LR, *et al.* HPLC determination of 3 basic orange dyes in bean products [J]. Food Res Dev, 2016, 37(3): 139–142.
- [20] 赵宏, 图雅, 胡芬. 高效液相色谱法测定辣椒粉中的碱性橙[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(1): 19–20.
- Zhao H, Tu Y, Hu F. HPLC method for the determination of basic orange in paprika [J]. Chin J Health Lab Technol, 2012, 22(1): 19–20.
- [21] 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]. J Agric Food Chem, 2006, 54(3): 639–644.
- [22] 邱万山. 高效液相色谱内标法测定辣椒制品中苏丹红[J]. 中国食品添加剂, 2016, (3): 171–174.
- Di WS. High performance liquid chromatographic internal standard method in determination of Sudan red in chilli products [J]. China Food Addit, 2016, (3): 171–174.
- [23] GB/T 19681-2005 食品中苏丹红染料的检测方法 高效液相色谱法[S]. GB/T 19681-2005 The method for the determination of Sudan dyes in foods-High performance liquid chromatography [S].
- [24] GB/T 9695.6-2008 肉制品 胭脂红着色剂测定[S]. GB/T 9695.6-2008 Meat products-Determination of artificial colour ponceau 4R [S].
- [25] Soponar F, Moț AC, Sârbu C. Quantitative determination of some food dyes using digital processing of images obtained by thin-layer chromatography [J]. J Chromatogr A, 2008, 1188(2): 295–300.
- [26] 夏立娅, 吴广臣, 韩媛媛, 等. 食品中碱性橙、皂黄、丽春红 2R 等色素的同时薄层色谱定性分析[J]. 食品工业科技, 2009 (9): 296–297.
- Xia LY, Wu GC, Han YY, *et al.* Simultaneous qualitative analysis of basic orange, metanil yellow, ponceau 2R and other mixed pigments in food by TLC [J]. Sci Technol Food Ind, 2009, (9): 296–297.
- [27] 庞艳玲. 薄层色谱-紫外可见分光光度法测定食品中的苏丹红 III, IV [J]. 菏泽学院学报, 2008, 3(2): 68–72.
- Pang YL. Simultaneous determination of sudan red III and sudan red IV in foods by TLC-UV-Vis spectrophotometer [J]. J Heze Univ, 2008, 3(2): 68–72.
- [28] Huang HY, Shih YC, Chen YC. Determining eight colorants in milk beverages by capillary electrophoresis [J]. J Chromatogr A, 2002, 959(1): 317–325.
- [29] Mejia E, Ding Y, Mora MF, *et al.* Determination of banned sudan dyes in chili powder by capillary electrophoresis [J]. Food Chem, 2007, 102(4): 1027–1033.
- [30] 邓光辉, 张桂华, 陈盛余. 高效毛细管电泳法同时分离测定苏丹红 I, II 号[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(9): 2363–2364.
- Deng GH, Zhang GH, Chen SY. Simultaneous determination of sudan I and II by high performance capillary electrophoresis [J]. Lishizhen Med Materia Medica Res, 2010, 21(9): 2363–2364.
- [31] 闫正, 李盈辰, 张玉. 改良聚酰胺吸附-高效毛细管电泳内标法测定饮料中的亮蓝和苋菜红[J]. 色谱, 2010, 28(12): 1185–1188.
- Yan Z, Li YC, Zhang Y. Determination of brilliant blue and amaranth in drinks by modification of polyamide adsorption-high performance capillary electrophoresis with internal standard method [J]. Chin J Chromatogr, 2010, 28(12): 1185–1188.
- [32] Tsai CF, Kuo CH, Shih DYC. Determination of 20 synthetic dyes in chili

- powders and syrup-preserved fruits by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *J Food Drug Anal*, 2015, 23(3): 453–462.
- [33] 刘环宇, 杨剑锋, 吕君亮, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定食品非法添加的三种偶氮类工业染料[J]. *化工时刊*, 2014, 28(12): 15–17.
- Liu HY, Yang JF, Lv JL, *et al*. Rapid determination of three azo dyes in food by HPLC-MS/MS [J]. *Chem Ind Times*, 2014, 28(12): 15–17.
- [34] 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.
- Zhang SB, Han C, Liu JD, *et al*. Study on simultaneous determination of sudan I ~sudan IV and para red in food by GC-MS/SIM [J]. *J Chin Food*, 2009, 9(2): 187–193.
- [35] Reyns T, Fraselle S, Laza D, *et al*. Rapid method for the confirmatory analysis of chrysoidine in aquaculture products by ultra - performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2010, 24(9): 982–989.
- [36] Han D, Yu M, Knopp D, *et al*. Development of a highly sensitive and specific enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Sudan I in food samples [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(16): 6424–6430.
- [37] He J, Wang Y, Zhang X. Preparation of artificial antigen and development of indirect competitive elisa based on chicken igy for the detection of acid orange li in food samples [J]. *Food Anal Methods*, 2016, 9(2): 378–384.
- [38] 常向彩. 酸性红 73 间接 ELISA 检测方法的建立及初步应用[D]. 成都: 西南民族大学, 2013.
- Chang XC. Development and application of an indirect ELISA for acid red 73 [D]. Chengdu: Southwest university for nationalities, 2013.
- [39] 顾虹洁. 苏丹红酶联免疫吸附检测法的建立和初步应用[D]. 上海: 华东师范大学, 2010.
- Gu HJ. Establishment and preliminary application of a detective method of ELISA for sudan red [D]. Shanghai: East china normal university, 2010.
- [40] 张文德. 食品中苏丹红 I 号的单扫示波极谱测定法[J]. *中国食品卫生杂志*, 2006, 18(4): 317–319.
- Zhang ED. Determination of Sudan I in Foods by Oscilloscopic Polarography [J]. *Chin J Food Hyg*, 2006, 18(4): 317–319.
- [41] 宋新, 纪双利, 杨丽, 等. 示波极谱法在食品合成食用色素测定中的应用[J]. *中国食品卫生杂志*, 2009, 21(5): 422–423.
- Song X, Ji SL, Yang L. Application of oscillopolarography in synthetic food colorants determination [J]. *Chin J Food Hyg*, 2009, 21(5): 422–423.
- [42] Claux B, Vittori O. Bismuth film electrode as an alternative for mercury electrodes: determination of azo dyes and application for detection in food stuffs [J]. *Electroanal*, 2007, 19(21): 2243–2246.
- [43] Yu L, Mao Y, Gao Y, *et al*. Sensitive and simple voltammetric detection of Sudan I by using platinum nanoparticle-modified glassy carbon electrode in food samples [J]. *Food Anal Methods*, 2014, 7(6): 1179–1185.
- [44] Dossi N, Piccin E, Bontempelli G, *et al*. Rapid analysis of azo-dyes in food by microchip electrophoresis with electrochemical detection [J]. *Electrophoresis*, 2007, 28(22): 4240–4246.
- [45] Ming L, Xi X, Chen T, *et al*. Electrochemical determination of trace Sudan I contamination in chili powder at carbon nanotube modified electrodes [J]. *Sensors*, 2008, 8(3): 1890–1900.
- [46] Zhang W, Liu T, Zheng X, *et al*. Surface-enhanced oxidation and detection of Sunset Yellow and Tartrazine using multi-walled carbon nanotubes film-modified electrode [J]. *Colloids Surfaces B: Biointerfaces*, 2009, 74(1): 28–31.
- [47] 牛丽川, 宋正华. 流动注射化学发光法测定苏丹红 I [J]. *分析化学*, 2009, 37(A01): 209–209.
- Niu LC, Song ZH. Determination of sudan I by flow injection chemiluminescence method [J]. *Chin J Anal Chem*, 2009, 37(A01): 209–209.
- [48] 高小飞. 鲁米诺化学发光体系在食品分析中的应用-快速灵敏测定苏丹红 I、过氧化苯甲酰、维生素 C、山奈酚[D]. 西安: 西北大学, 2009.
- Gao XF. Applications of luminol Chemiluminescence System in Food Analysis -Rapid and sensitive determination of Sudan I, Benzoyl peroxide, Vitamin C, Kaempferol [D]. Xian: Xibei university, 2009.
- [49] 田欣欣, 朱智甲, 卢赛赛, 等. 固相萃取-高效液相色谱化学发光法测定食品中微量苏丹红染料[J]. *分析科学学报*, 2014, 30(003): 401–404.
- Tian XX, Zhu ZJ, Lu SS, *et al*. Determination of sudan dyes in food by solid-phase extraction and high performance liquid chromatography-chemiluminescence method [J]. *J Anal Sci*, 2014, 30(003): 401–404.
- [50] 时作龙, 章竹君, 孙永华. 在线分子印迹-化学发光法对食品中苏丹红 I 的测定[J]. *分析测试学报*, 2008, 27(10): 1071–1074.
- Shi ZL, Zhang ZJ, Sun YH. Molecularly imprinted polymer-based chemiluminescence for the determination of sudan I [J]. *J Instrum Anal*, 2008, 27(10): 1071–1074.
- [51] 周敏. 中空结构与掺杂型量子点纳米材料的合成及在食品检测中的应用[D]. 兰州: 兰州大学, 2013.
- Zhou M. Synthesis of hollow and doped quantum dots nanomaterials and its application in food detection [D]. Lanzhou: Lanzhou university, 2013.
- [52] Dossi N, Piccin E, Bontempelli G, *et al*. Rapid analysis of azo-dyes in food by microchip electrophoresis with electrochemical detection [J]. *Electrophoresis*, 2007, 28(22): 4240–4246.
- [53] Liu Y, Yu J, Du M, *et al*. Accelerating microfluidic immunoassays on filter membranes by applying vacuum [J]. *Biomed Microdevices*, 2012, 14(1): 17–23.

(责任编辑: 姚菲)

作者简介



孙文通, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: 394424188@qq.com