

小米中姜黄染色的快速检测

郭建博, 朱小红*, 王松, 宋莉, 牟霄, 吕卓, 陈蓓, 刘海静

(陕西省食品药品检验所, 西安 710065)

摘要: **目的** 建立一种快速检查小米中姜黄染色的检测方法。**方法** 样品经乙酸-甲醇溶液超声提取后过滤, 滤液蒸干, 经硼酸-草酸溶液显色后检查姜黄染色的存在, 通过超高效液相色谱法-二极管阵列检测器(ultra performance liquid chromatography-diode array detector, UPLC-DAD)对样品的姜黄染色进行定性、定量分析。**结果** 显色反应具有较高的灵敏性。姜黄素在 1.0~20 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围(样品含量 4~80 mg/kg)时线性关系良好, 方法精密度 RSD 值小于 2%, 方法平均回收率为 99.8%。**结论** 该方法快速、准确、灵敏, 能够适用于小米中姜黄染色的定性、定量检查。

关键词: 小米; 姜黄染色; 超高效液相色谱法-二极管阵列检测器

Rapid detection of turmeric coloration in millet

GUO Jian-Bo, ZHU Xiao-Hong*, WANG Song, SONG Li, MOU Xiao, LV Zhuo, CHEN Bei, LIU Hai-Jing

(Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710065, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for detection of turmeric coloration in millet. **Method** Samples were extracted with acetic acid-methanol solution, then filtered, and then the obtained solution was evaporated and colored with boric acid-oxalic acid solution to prove the existence of turmeric. The filtered solution was detected by ultra performance liquid chromatography coupled with diode array detector (UPLC-DAD) for qualitative and quantitative analysis. **Results** The methodology experiments revealed that the coloration displayed sensitively. Turmeric had a good linear relationship in the concentration range of 1.0~20 $\mu\text{g/mL}$ (equivalent to amount of 4~80 mg/kg), the value of precision (RSD) was less than 2%, and the average recovery was 99.8%. **Conclusion** The established method is rapid, accurate and sensitive, which is suitable for qualitative and quantitative detection of turmeric coloration in millet.

KEY WORDS: millet; turmeric coloration; ultra performance liquid chromatography-diode array detector

1 引言

人类利用色素改善食品感官品质, 鲜艳的色泽赋予人视觉的愉悦感, 但不法商家为了谋取暴利, 使用色素掩盖不良产品外观, 使得色素滥用问题频发^[1]。2003年的“苏丹红”事件引起了全世界对色素安全的关注^[2,3]。2005年质

检总局又查出不法分子用工业颜料炒出“铅铬绿茶”^[4]。媒体不断曝光的豆腐中掺杂致癌性成分“王金黄”^[5]、黑墨汁染出毒木耳以及2011年发生的上海染色馒头^[6,7]等。形形色色的食品非法染色事件已经触动了消费者的敏感神经^[8]。不良生产者违规滥用色素, 严重危害消费者的身体健康和权益^[9,10]。

基金项目: 陕西省社会发展科技攻关项目(2015SF273)

Fund: Supported by Shaanxi Society Development Sci-Tech Research Project (2015SF273)

*通讯作者: 朱小红, 主任药师, 研究方向为食品质量安全和风险分析评估。E-mail: 742653574@qq.com

*Corresponding author: ZHU Xiao-Hong, Professor of Pharmacy, Branch for Food Inspection, Shaanxi Institute for Food and Drug Control, No. 21, 5th Keji Road, Gaoxin District, Xi'an 710065, China. E-mail: 742653574@qq.com

姜黄是一种具有常见的中药材,姜黄粉作为天然黄色色素的来源已使用多年^[11],其主要化学成分为姜黄素类化合物,如姜黄素、双去甲氧基姜黄素。不法商家可能以姜黄提取液对陈粮染色谋取利益。根据 GB 2760 中规定^[12,13],原粮不得使用食品添加剂。现行标准中没有对原粮中姜黄染色的检测方法,为维护人民群众合法权益,本研究以小米为例,探索开发一种简便、快速、准确的原粮姜黄染色的快速定性、定量的方法以应对食品安全突发事件。

本研究将样品经超声提取后过滤,滤液蒸干,经硼酸-草酸溶液显色后检查姜黄染色的存在,通过超高效液相色谱法-二极管阵列检测器(ultra performance liquid chromatography-diode array detector, UPLC-DAD)对样品的姜黄染色进行定性、定量。

2 材料及方法

2.1 试剂与仪器

Agilent 1290 Infinity 超高效液相色谱仪(配有二极管阵列检测器,美国 Agilent 公司); BT 25S 电子分析天平(德国 Sartorius 公司); Ultrasonic Generator 超声波发生器(韩国 SK 公司); Millipore®超纯水机(英国 Synergy 公司)。

姜黄素(纯度 100%,中国药品生物制品检定所)。乙酸(色谱纯,美国 Tedia 公司);硼酸、草酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

硼酸-草酸溶液(称取硼酸 0.5716 g 溶于 100 mL 去离子水中,移取 1 mL 置于 100 mL 量瓶中,加入 5 g 草酸,纯水溶解并稀释至刻度)。

阴性小米样本:市场上购买已知阴性小米。

阳性小米样本:取姜黄粉末置于烧瓶中,加入 5 倍量 50%乙醇溶液,加热提取 1 h,过滤浓缩,得到姜黄提取液。将姜黄提取液喷洒至阴性小米上,手动混匀,减压干燥后制成阳性小米样本。阴性和阳性样本小米见图 1。



图 1 阴性和阳性(中间)小米

Fig. 1 Negative and positive (middle) millet samples

2.2 实验方法

2.2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈(2.1

mm×100 mm, 1.8 μm), 流动相: 乙腈:4%乙酸水溶液(32:68, V:V); 进样量: 2.0 μL; 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 35 °C, 检测器: DAD 检测器; 检测波长: 430 nm, 同时全波长扫描。

2.2.2 对照品溶液的配制

取姜黄素对照品适量,置于量瓶中,加入 2 mL 丙酮,用乙醇稀释并定容,制成姜黄素浓度为 1 mg/mL 的对照品储备液,该溶液现用现配,有效期 1 d。

分别精密移取对照品储备液置于量瓶中,甲醇稀释并定容,制成浓度分别为 1.0、2.0、5.0、10、20 μg/mL 的对照品标准工作曲线,该溶液现用现配。

2.2.3 样品测试溶液的制备

将混匀的样品(不需碾碎)置于离心管中,加入 20 mL 乙酸-甲醇溶液(1%),超声提取 30 min,取出,放置室温,过滤,滤液备用。

姜黄染色的快速检查(快检):取滤液 3 mL 和硼酸-草酸溶液 2 mL 置于蒸发皿中,混匀。将蒸发皿置沸水浴上蒸干,若残渣呈红色或棕红色,并且加入 3 mL 95%乙醇后残渣能够溶解,溶液呈红色,则怀疑该样品被姜黄染色,若残渣不呈红色,则该样品为阴性样品。

姜黄染色的确证:将快检阳性样品的滤液过 0.22 μm 微孔滤膜, UPLC-DAD 检测,以保留时间和扫描光谱定性,外标法定量。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件的优化

3.1.1 检测波长的选择

姜黄中的姜黄素类成分是其黄色的主要成分,其中以姜黄素(curcumin)含量最高,在本实验中,样品检出姜黄素则判定被姜黄染色。采集姜黄素对照品色谱图和阳性样品色谱图中姜黄素峰的光谱图(见图 2),确定姜黄素的检测波长为 430 nm。

3.1.2 流动相的选择

姜黄素类成分为多酚羟基类化合物^[11],其 pKa 呈酸性,在流动相中添加有机酸能够调整峰形和保留时间,结合《中国药典》(一部 2015 年版)“姜黄”项下^[14]姜黄素含量测定的条件,适当调整流动相比例,确定本实验流动相为乙腈:4%乙酸水溶液(32:68, V:V)。分别采集姜黄素对照溶液、阴性小米提取液和阳性小米提取液的色谱图(见图 3),在该条件下,姜黄素与杂质可以完全分离,阴性无干扰。

3.2 姜黄染色的快速检查方法

GB 5009.275-2016 《食品中硼酸的测定》^[15]和 SL 90-1994 《硼的测定》^[16]均是利用酸性情况下质子化的姜黄素能够与硼酸反应生成红色的硼酸-姜黄素络合物,且溶液颜色的深浅与样品中的硼含量成正比。利用该原理,在本实验中,提取样品中的姜黄素,用硼酸对其显色快速检

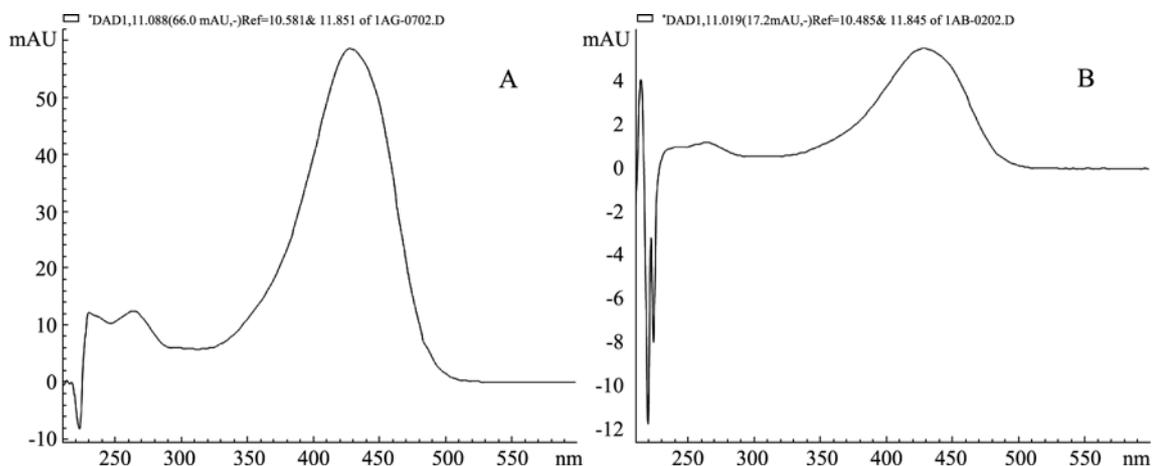


图 2 扫描光谱图
 Fig. 2 The scanning spectrograms
 (A.对照品溶液; B.阳性样品)

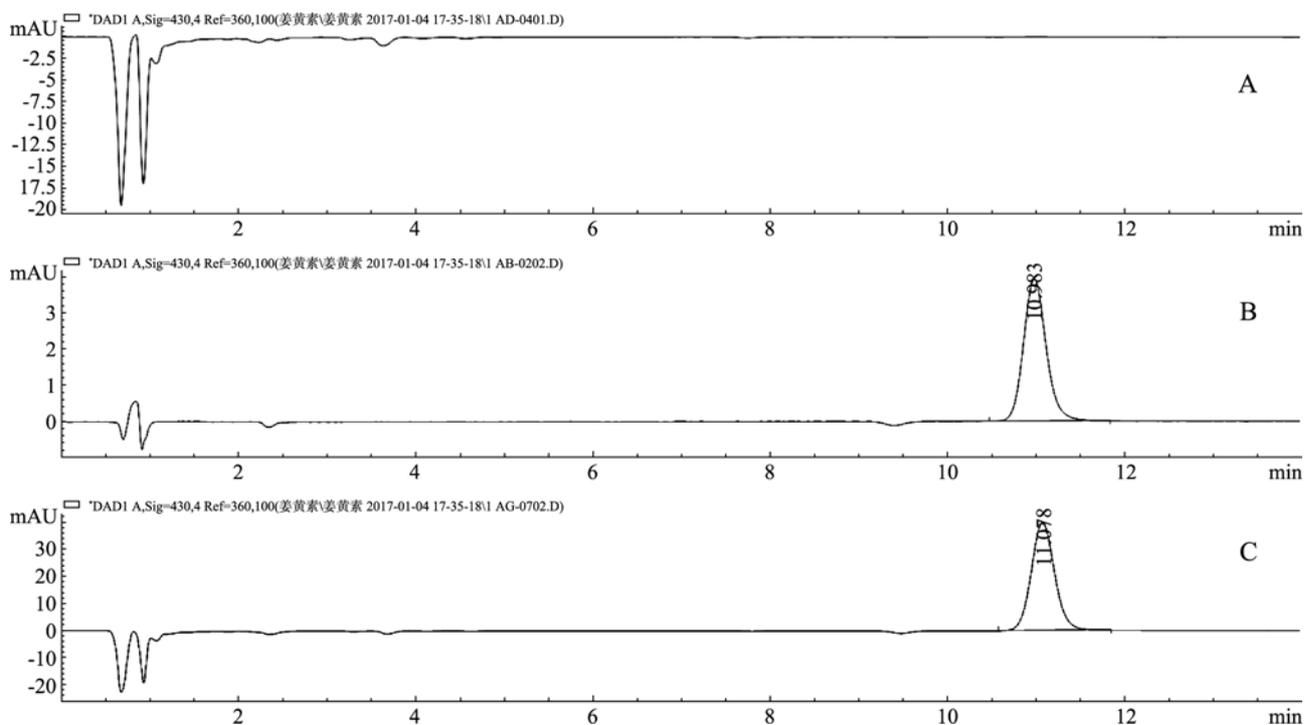


图 3 各样品的色谱图
 Fig. 3 Chromatograms of different samples
 (A.阴性样品; B.阳性样品; C.对照品溶液)

测样品是否被姜黄染色。由于只有将姜黄素质子化, 硼酸才能与其发生络合反应, GB 5009.275-2016 中采用硫酸对姜黄素质子化。在实验中发现, 由于提取液中存在一定量的淀粉, 在加入硫酸后会发生碳化反应影响观察。SL 90-1994 采用草酸为姜黄素提供质子, 在加热的情况下加

速红色络合产物的生成。由于硼酸-姜黄素形成的红色络合物可溶于 95%的乙醇中, 因此还可以通过残渣的溶解性提高实验结果的阳性率。快检试验结果见图 4, 阴性样品溶液呈现淡黄色, 而姜黄染色的样品溶液呈现紫红色, 且颜色深浅与样品姜黄染色程度相关。

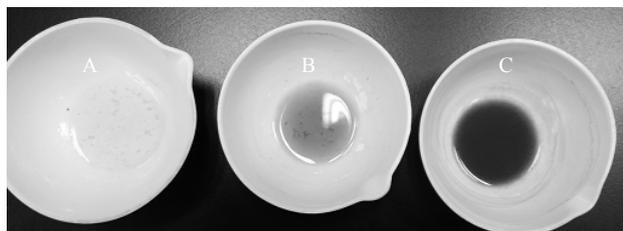


图4 快检样品显色图

Fig. 4 Color charts of samples by rapid detection
A. 阴性样品; B. 阳性样品(20 mg/kg*); C. 阳性样品(60 mg/kg*), 其中*数值为采用建立的方法所得测定值, 以姜黄素计

3.3 方法学验证

3.3.1 线性关系和标准曲线

考察 UPLC-DAD 法测定姜黄素的线性行为, 结果表明, 在姜黄素浓度范围为 1.0、2.0、5.0、10、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (样品含量 4~80 mg/kg) 时, 线性关系良好, 线性方程为 $A=104.6 C-61.2$, 相关系数 r 为 0.9999。

3.3.2 回收率

在阴性小米中加入系列浓度的姜黄素对照品溶液(相当于样品含量为 5.0、20、60 mg/kg), 减压挥干溶剂后, 测定回收率。回收率结果如下表 1。

表 1 回收率结果($n=5$)
Table 1 Results of recovery ($n=5$)

待测物	加入量 (mg/kg)	测得量 (mg/kg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
姜黄素	5.0	4.98±0.15	99.6±1.43	99.8	0.21
	20	20.01±0.23	100.0±1.11		
	60	59.82±0.64	99.7±0.84		

3.3.3 精密度

取阳性小米样品 6 份, 按实验方法测定, 计算精密度 RSD 为 0.7%, 说明方法精密度良好。

3.3.4 检测限和定量限

取定量的阳性小米样品混合系列质量阴性小米, 按照实验方法制备待测溶液, 考察方法的检测限($S/N=3$)和定量限($S/N=10$), 结果表明快检方法的检出限以姜黄素计为 20 mg/kg, UPLC 检出限为 0.5 mg/kg, 定量限为 1.5 mg/kg。

4 结论

本研究结合化学显色和色谱测定, 将样品经试液提取后, 以硼酸-草酸溶液显色检查姜黄染色的存在, 通过 UPLC-DAD 对样品的姜黄染色进行定性、定量分析, 实现了小米中姜黄染色的快速检查和测定。

参考文献

- [1] 谭正林, 金国梁, 吴梦婷, 等. 奶油中人工色素检测方法概述[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(2): 468-474.
Tan ZL, Jin GL, Wu MT, et al. Overview on detection methods of artificial pigments in cream [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(2): 468-474.
- [2] Meenakshi Tripathi, Subhash K, Khanna, et al. Surveillance on use of synthetic colors in eatables vis a vis prevention of food adulteration act of India [J]. Food Control, 2007, 18(3): 211-219.
- [3] Mustafa S, Yunus EU, Erkan Y, et al. Determination of rhodamine B in soft drink, waste water and lipstick samples after solid phase extraction [J]. Food Chem Toxicol, 2011, 49: 1796-1799.
- [4] 赵馨, 马兰, 王金贤, 等. 绿茶中违法添加铅铬绿染色的判定依据研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, (22): 3850-3851.
Zhao X, Ma L, Wang JX, et al. Study on the determination basis of illegal addition of lead chrome green in green tea [J]. Chin L Health Lab Tech, 2015, 22: 3850-3851.
- [5] 温泉, 吴议, 顾蓓丽. 高效液相色谱法测定食品中王金黄和金黄粉[J]. 现代食品科技, 2008, 24(12): 1308-1310.
Wen Q, Wu Y, Gu BL. Determination of basic orange and acid orange II in food by HPLC [J]. Mod Food Sci Technol, 2008, 24(12): 1308-1310.
- [6] 范志红. 再审查染色馒头案: 食品安全里被遗忘的常识与疑问[N]. 中国经济周刊, 2012-1-31.
Fan ZH. Review of the pigment Mantou: the considerations on the food safety [N]. China Financial Weekly, 2012-1-31.
- [7] 黄官国. 上海“染色馒头”事件续: 盛禄食品公司三高管被公诉[N]. 中国食品安全报, 2011-8-27.
Huang GG. The event continuum of Shanghai pigment mantou [N]. China Food Safety News, 2011-08-27.
- [8] 钟凯. “橙橙染色”对食品安全影响几何? [N]. 中国食品安全报, 2013-11-9.
Zhong K. The influence of the pigment oranges on food safety in China [N]. China Food Safety News, 2013-11-9.
- [9] 染色瓜子与食品安全[J]. 食品研究与开发, 2013, 4(3): 221.
The pigment guazi and the food safety [J]. Food Res Dev, 2013, 4(3): 221.
- [10] 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(09): 222-228.
Zheng YM, Guo W, Nie XM, et al. Research on detection methods of inedible pigment illegally added to food [J]. Chin Agric Sci Bull, 2012, 28(09): 222-228.
- [11] 徐春明, 刘亚, 陈莹莹, 等. 姜黄素生理活性、代谢以及生物利用度的研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2016, (9): 203-210.
Xu CM, Liu Y, Chen YY, et al. Research progress on physiological activity, metabolism and bioavailability of curcumin [J]. China Food Addit, 2016, (9): 203-210.
- [12] GB 2760-2014 食品安全国家标准 食品添加剂使用限量[S].
GB 2760-2014 National standard for food safety The usage limitation of food additives [S].
- [13] 宋丹萍, 张宏, 李琪. 国内外食用色素标准研究的比较及检测方法的研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(3): 295-300.
Song DP, Zhang H, Li Q. Comparison of national standards for edible pigments between China and foreign countries and progress on analytical

techniques [J]. Food Sci, 2014, 35(3): 295-300.

[14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典二部(2015年版)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.

Chinese Pharmacopoeia Commission. The pharmacopoeias of China Part IV (2015) [M]. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press, 2010.

[15] GB 5009.275-2016 食品中硼酸的测定[S].

GB 5009.275-2016 Determination of boric acid in food [S].

[16] SL 90-1994 硼的测定[S].

SL 90-1994 Determination of boron [S].

(责任编辑: 姚 菲)

作者简介



郭建博, 主管药师, 主要研究方向为食品质量安全检测。

E-mail: guojianbo2004@sina.com



朱小红, 主任药师, 主要研究方向为食品质量安全和风险分析评估。

E-mail: 742653574@qq.com



《果蔬加工和质量安全控制专题》征稿函

我国是果蔬生产大国,水果蔬菜的总产量在世界名列前茅,果蔬产品也成为我国较好的经济来源之一。蔬菜、水果等农产品的质量越来越受到全社会关注,在生产阶段和加工、包装、储运等采后阶段进行质量安全风险控制显得越来越必要和紧迫。

鉴于此,本刊特别策划了“果蔬加工和质量安全控制”专题,由甘肃农业大学副校长毕阳教授担任专题主编。专题将围绕(1)果蔬加工(加工新方法、新工艺、新技术等);(2)果蔬生产控制(农药残留、重金属超标、真菌毒素等有害物在线监测与控制);(3)采后控制(包装和储运等过程中的产品质量控制和果蔬腐烂的安全控制);(4)果蔬的营养与品质、功能成分的提取;(5)功能型果蔬制品、鲜切果蔬等产品开发及果蔬的综合利用或您认为本领域有意义的问题展开讨论,计划在2017年10月出版。

鉴于您在该领域丰富的研究经历和突出的学术造诣,本刊特邀请您为本专题撰写稿件,综述、研究论文、研究简报均可,以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。请在2017年9月30日前通过网站或Email投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

Email: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部