DOI: 10.3724/SP.J.1096.2011.00283

仪器装置与实验技术

食品中合成色素快速检测仪器的研制

卓 婧[1] 王 静[2] 陈小霞[1] 汤新华[2] 邱 彬*[1] 朱尔一[3] 陈 曦*[3]

[1](食品安全分析与检测教育部重点实验室,福建省食品安全分析与检测技术重点实验室,福州大学, 福州 350108)

[2](厦门斯坦道生物科技有限公司, 厦门 361005) [3](厦门大学化学化工学院化学系, 厦门 361005)

摘 要 基于人工合成色素在可见光区的光吸收及偏最小二乘变量筛选法,研制出合成色素速测仪器,并应用于饮料、糖果、果冻、调色酒等食品中合成色素的快速检测。速测仪具有便携、功耗低、操作简便、检测时间短并可同时对多种人工合成色素进行实时现场快速检测、检测结果准确等优点。对样品中 5 种食用合成色素柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红和亮蓝的检测结果显示,样品测定结果的相对标准偏差均小于 ±5%; 回收率为 75% ~129%。检测结果与国家标准方法检测的结果相吻合,表明此仪器具有良好的精确度和准确性,可用于部分食品中人工合成色素的现场检测。

关键词 合成色素; 快速检测; 偏最小二乘变量筛选法; 可见光吸收

1 引 言

随着人民生活水平的提高和食品工业的蓬勃发展,食品中色素的使用量也急剧增加, 同时食品中过量色素的危害性也日益引起人们的关注。食品色素可分为天然色素和人工合成色素两大类。天然色素来源于动物和植物,对人体危害较小, 但天然色素价格高,在食品加工、贮存过程中容易褪色和变色。合成色素成本低廉,色泽鲜艳,性质稳定,易于调色,着色力强,使用方便,已在食品工业中得到广泛使用。合成色素多是以煤焦油中的苯胺为原料而合成的,所以又称为“煤焦油色素”或“苯胺色素”,属于偶氮类化合物,可导致慢性中毒并有致癌作用,许多国家加强了对食用合成色素的使用管理[1]。传统的检测色素的方法有国家标准规定的高效液相色谱法(HPLC) [2~5]、超高效液相色谱法(UPLC) [6]、高效液相色谱-质谱联用法(HPLC-MS) [7]、毛细管电泳法[8]、胶束毛细管色谱法[9]、二阶导数光谱法[10]和紫外分光光度法[11]等,这些方法均需专业人员在专业实验室里完成,检测时间长,费用较高,不能满足日常食品现场快速检测的需求。食用合成色素快速检测方法主要有试剂盒法[12], 利用合成色素在试剂盒上吸附色素的原理,对色素食品中常添加的 4 种合成色素进行初步判断,再用高效液相色谱进行测定,但无法同时对合成色素进行现场定性及定量检测。因此,研发一种快速并适用于人工添加色素现场检测的仪器和分析方法,为控制合成色素滥用的食品流入市场提供有效的检测手段,是当今日常卫生监督执法工作中需要解决的重要问题。

本研究利用可见波段全光谱扫描及偏最小二乘变量筛选法,研制出合成色素快速检测仪。利用此仪器实现对 5 种食用合成色素混合体系进行定性和定量分析,并对市售的饮料、糖果、果冻、调色酒等样品进行合成色素快速检测。样品经处理后,检测时间小于 1 min,与国家标准方法比较,检测时间明显缩短,检测结果具有良好的精确度和准确性。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

飞利浦搅拌机(飞利浦家庭电器有限公司) ; 电子天平(北京塞多利斯天平有限公司) ; UV2300 紫外

2010-06-22 收稿; 2010-08-28 接受
本文系福建省科技重点项目(No. 2010Y0050) 资助

* E-mail: xichen@xmu.edu.cn

分光光度仪; 自制色素速测仪; HPLC-2010 高效液相色谱仪(日本岛津公司)。

色素标准溶液(中国计量科学研究院 GBW(E)100001a~5a): 柠檬黄、日落黄、苋菜红、胭脂红、亮蓝标准溶液,临用时用去离子水逐级稀释; 聚酰胺(0.154~0.180 mm, 80~100 目); 甲醇: 经 45 μm 滤膜过滤; 0.02 mol/L 乙酸铵溶液; 2% 氨水; 20 g/L 柠檬酸溶液; 甲醇-甲酸(6∶4, *V*/*V*)溶液; 无水乙醇-氨水-水(7∶2∶1, *V*/*V*)溶液; pH 6.0 缓冲溶液: 去离子水加 20% 柠檬酸调制。

2.2 样品前处理及色素的提取和检测

2.2.1 样品前处理和色素的提取[13] 果汁类等含天然色素的饮料采用聚酰胺吸附法。移取 5 mL 果汁类饮料,用柠檬酸溶液或稀氨水调至 pH 6.0,加热至 60 ℃,将适量聚酰胺粉倒入样品溶液中,搅拌片刻至色素全部被吸附,溶液层呈澄清时,以 G3 垂融漏斗抽滤,用 60 ℃ pH 6 的蒸馏水洗涤 3~5 次,然后用甲醇-甲酸混合溶液洗涤 3~5 次,再用蒸馏水洗至中性,去除洗涤液,再用乙醇-氨水-水混合溶液洗聚酰胺粉 3~5 次,每次 5 mL,收集解吸液,加乙酸中和,浓缩定容至 25 mL,经 45 μm 滤膜过滤,滤液待测。

对不含天然色素的饮料样品,如果味汽水和葡萄糖水等饮料可直接除气过滤,稀释后待测; 对果冻类样品,称取 5 g 果冻,先搅碎,在 70 ℃恒温下加水充分搅拌,待色素全部溶解于水中后,按聚酰胺吸附法处理; 对硬糖样品,称取 5 g 样品,经过粉碎后,温热溶解,按聚酰胺吸附法处理。调色酒样品色素检测中,称取适量样品,加入碎瓷片数块,经加热除乙醇,按聚酰胺吸附法处理。

2.2.2 色素提取液的检测 取待测液 6 mL,转移至 2 cm 比色皿中,置于合成色素速测仪中,静置几秒待仪器稳定后,启动检测按钮,计算机自动处理谱图数据,显示各合成食用色素的含量。

图1 合成色素快速检测仪外观

Fig. 1 Appearance of rapid synthetic pigment determination apparatus

3 结果与讨论

3.1 合成色素速测仪的结构和仪器的测定原理

合成色素速测仪的外观如图 1 所示。仪器由光学光路系统、单片机及辅助电路部分和数据输出部分组成(图 2)。检测系统包括稳压电源模块供电的钨灯、比色槽、光电池和数据采集卡等部件,软件系统主要包括数据处理和保存等部分。在色素快速检测中,由钨灯发射出的可见光透过比色槽,光经过溶液吸收后的对应的光信号强度变化由 CCD 采集模块进行采集,通过 A/D 数模转化将光信号转换为电信号,由单片机控制,最后通过 USB 接口将数据传送到计算机。

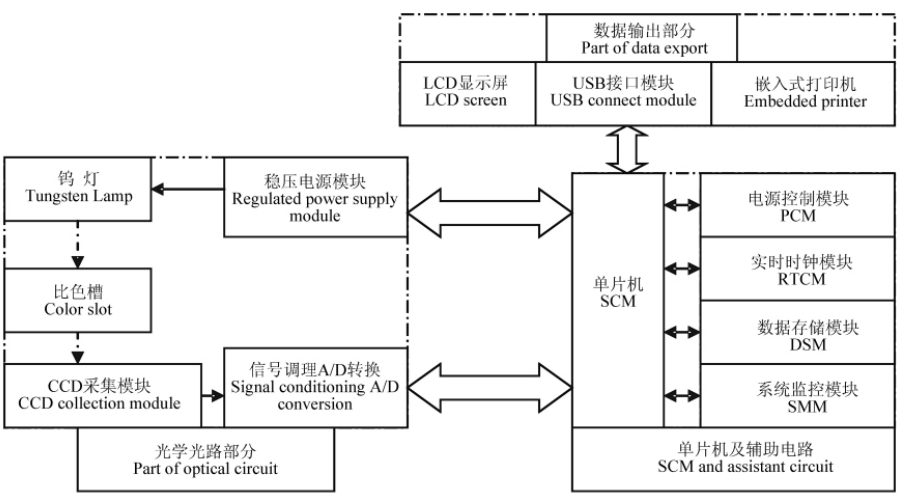

图2 合成色素快速检测仪系统结构图

Fig. 2 Sketch of rapid synthetic pigment determination apparatus

将仪器通过 USB 接入计算机,初始化 POWER 灯亮后,进入光度分析系统,联机后开始进入数据采集准备状态。检测前使用空白溶液进行调零。检测时,先在比色槽中放入待测溶液,样品如有稀释,可先输入稀释倍数,待读数稳定后,按检测键即可对原样品的食用合成色素进行定性和定量分析。检测数据输出后,按保存按钮可以将样品光谱图保存到数据库。

对 5 种人工合成色素的紫外可见吸收光谱的测量发现,这些合成色素在可见光区有明显的吸收峰。柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红和亮蓝在可见光区的最大吸收波长分别为 426, 482, 510, 521 和 629 nm(图 3) 。因此,选用 400 ~ 700 nm 为测定波长,利用合成色素速测仪结合偏最小二乘变量筛选法建立合成色素预报模型。偏最小二乘变量筛选法适合于处理海量变量数的建模问题,它主要是根据偏最小二乘法建模中的回归系数等一些信息,筛选原始自变量,在不损失模型预报能力的前提下,除去冗余的或影响不大的一些原始自变量,使最终所得的模型大大简化,是一种非常有效实用的变量筛选法[14,15] 。利用合成色素速测仪扫描合成色素混合体系的光谱数据,数据包含 16 个多组分色素混合体系数据样本,每一个色素混合体系样本数据中 5 种色素各有 300 个波长变量数,用偏最小二乘变量筛选法对所得的数据矩阵进行变量压缩,大大缩减各色素波长变量数目,同时不影响测定结果。

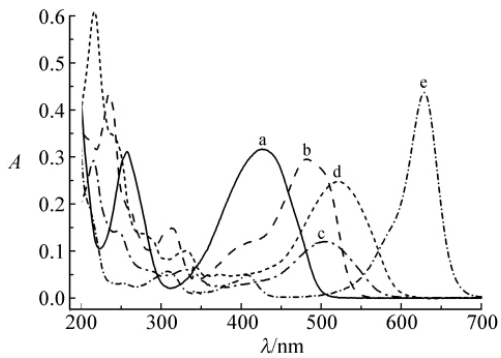

图 3　合成色素紫外可见吸收光谱

Fig. 3　UV-Vis absorption spectra of synthetic pigments

a. 柠檬黄(Lemon yellos) ; b. 日落黄(Sunset yellow) ; c. 胭脂红(Carmine) ; d. 苋菜红(Amaranth) ; e. 亮蓝(Brilliant blue) 。

3.2　测定条件的优化

3.2.1　溶液 pH 值对检测的影响　5 种食用合成色素均为酸性染料,为使得测定结果保持稳定,考察了 pH 值对检测结果的影响。结果表明,在 pH 1 ~ 11 之间,待测液的 pH 值对检测结果无显著影响。但在 pH > 11 时,待测液的 pH 值对检测结果的影响明显。多次测定了不同批次的饮料、果冻、糖果、调色酒的 pH 值发现,多数样品液均在 pH 4 ~ 6 之间。因此,在实际人工合成色素的检测中,无需调控待测液的 pH 值。

3.2.2　仪器及方法的检测浓度范围　实验中利用合成色素速测仪考察了 5 种食用合成色素的检测范围为: 柠檬黄 0. 04 ~ 10 mg/kg、日落黄 0. 03 ~ 10 mg/kg、苋菜红 0. 09 ~ 20 mg/kg、胭脂红 0. 03 ~ 10 mg/kg、亮蓝 0. 01 ~ 2 mg/kg。

3.3　建模结果

由于各合成色素的吸收光谱在 400 ~ 700 nm 可见光波段存在较明显的差异,利用混合组分中各色素组分在各个波长对总吸光度贡献的不同,设计 16 个多组分混合正交试验,每多组分混合样本由不同浓度水平的单色素混合而成,再通过偏最小二乘变量筛选法,获得预报值较准确且自变量数量相对较少的预报模型,预报模型中各色素的波长变量数及线性相关系数如表 1 所示。

表 1　预报模型的波长变量数及线性相关系数

Table 1　Wavelength variables number and linear correlation coefficient (R) of prediction model

食用合成色素 Synthetic edible pigment	柠檬黄 Lemon yellow	日落黄 Sunset yellow	胭脂红 Carmine	苋菜红 Amaranth	亮蓝 Brilliant blue
变量数 Variables number	47	59	55	71	56
相关系数 R	0.9991	0.9952	0.9925	0.9954	0.9993

3.4　样品分析及结果

利用本食用合成色素速测仪对若干常见添加食用合成色素的饮料、果冻、糖果、调色酒样品进行分析,平行测定 3 次,若干样品检测结果见表 2。

表 2 样品的检测结果和精密度($n=3$)
Table 2 Detection results and precisions($n=3$)

样品 Samples		柠檬黄 Lemon yellow	日落黄 Sunset yellow	胭脂红 Carmine	苋菜红 Amaranth	亮蓝 Brilliant blue
汽水 Beverage	浓度 Concentration (mg/kg)	10.67 ± 0.37	12.78 ±0.50	6.28 ±0.03	ND	ND
	RSD (%)	3.56	3.91	0.50		
糖果 Candy	浓度 Concentration (mg/kg)	3.23 ±0.08	ND	ND	ND	ND
	RSD (%)	2.4				
果冻 Jelly	浓度 Concentration (mg/kg)	1.61 ±0.02	1.04 ±0.05	ND	ND	ND
	RSD (%)	1.4	4.8			
调酒 Wine	浓度 Concentration (mg/kg)	ND	ND	ND	ND	1.39 ±0.02
	RSD (%)					1.11

ND: 未检出(Not detected) 。

采用国家标准方法(GB/T 5009.35-2003) HPLC 法和合成色素速测仪对若干样品中的人工合成色素进行检测,结果见表 3。对比结果可见,合成色素速测仪检测结果与国家标准方法的结果相吻合,表明此检测仪测量结果较为准确可靠。实验中还在实际样品中加入一定浓度的 5 种合成色素标准液,按实验方法测定,计算回收率,测得加标回收率(%) 分别为柠檬黄 85% ~118%,日落黄 81% ~110%,胭脂红 75% ~102%,苋菜红 78% ~124%,亮蓝 86% ~129%。

表 3 国家标准 HPLC 法和自制合成色素速测仪样品检测对照结果
Table3 Comparison of the national standard method and rapid synthetic pigment determination apparatus

样品 Samples	方法 Method	柠檬黄 Lemon yellow	日落黄 Sunset yellow	胭脂红 Carmine	苋菜红 Amaranth	亮蓝 Brilliant blue
饮料 1 Beverage 1	HPLC (mg/kg)	ND	27.52 ±0.08	ND	ND	ND
	This method (mg/kg)	ND	27.71 ±1.15	ND	ND	ND
饮料 2 Beverage 2	HPLC (mg/kg)	8.75 ±0.43	12.19 ±0.23	7.44 ±0.33	ND	ND
	This method (mg/kg)	10.56 ±0.38	12.78 ±0.50	6.38 ±0.03	ND	ND
糖果 1 Candy 1	HPLC (mg/kg)	3.03 ±0.10	ND	ND	ND	ND
	This method (mg/kg)	3.23 ±0.09	ND	ND	ND	ND
糖果 2 Candy 2	HPLC (mg/kg)	3.40 ±0.24	ND	ND	ND	0.81 ±0.07
	This method (mg/kg)	3.21 ±0.10	ND	ND	ND	0.64 ±0.07

ND: 未检出(Not detected) 。

综上所述,所研制的合成色素速测仪具有性能稳定,测定简便快速、可靠。实际样品检测 RSD 均小于 5%,能够满足合成色素快速现场检测要求。

References

1 NIE Jing, QI Xing-Juan(聂 晶, 齐兴娟) . *Chinese Journal of Food Hygiene* (中国食品卫生杂志) , 2002, 14(1): 59 ~60

2 TANG Yan, ZHANG Wei-Ping, ZHANG Ting-Yu(唐 岩, 张卫平, 张廷雨) . *Journal of Hygiene Research*(卫生研究) , 2001, (1): 69 ~70

3 CHEN Yan, LIU Si-Jie, LI Hao(陈 艳, 刘思洁, 李 皓) . *Food Science*(食品科学) , 2007, 28(9): 487 ~490

4 QIAO Ling(乔 玲) . *Food Research and Development*(食品研究与开发) , 2007, 29(9): 125 ~127

5 GU Hui-Ying, CHENG Pei, LIU Wen-Xi(顾慧莹, 成 霈, 刘温喜) . *Science and Technology Innovation Herald* (科技创新导报) , 2010, (1): 12 ~13

6 Yoshioka N, Ichihashi K. *Talanta*, **2008**, 74: 1408 ~ 1413
7 LI Bang-Rui, FENG Jia-Li, PAN Zhen-Qiu(李帮锐, 冯家力, 潘振球). *Chinese Journal of Health Laboratory Technology* (中国卫生检验杂志), **2007**, 17(4): 578 ~ 585
8 ZHAO Xin-Ying, JIA Li, ZHOU Xiao-Jing(赵新颖, 贾 丽, 周晓晶). *Modern Instrument* (现代仪器), **2008**, (4): 58 ~ 60
9 Catherin O, Thompson V, Trenerry C. *J. Chromatogr. A*, **1995**, 704: 195 ~ 201
10 CHEN Qing-Sheng, ZHENG Chuang-Liang(陈庆胜, 郑创亮). *Guang Dong Journal of Sanitation and Antiepidemic* (广东卫生防疫), **1999**, 25(2): 15 ~ 17
11 GAO Qian(高 倩). *Food Science*(食品科学), **1999**: 56 ~ 58
12 CAI Xue-Yi, LONG Chao-Yang, FAN Shan-Hu(蔡雪毅, 龙朝阳, 范山湖). *Chinese Journal of Health Inspection* (中国卫生监督杂志), **2009**, 16(1): 43 ~ 45
13 *Determination of synthetic colour in foods*(食品中合成着色剂的测定). National Standards of the People's Republic of China(中华人民共和国国家标准) GB/T 5009.35-**2003**: 277 ~ 279
14 ZHU Er-Yi, LIN Yan(朱尔一, 林 燕). *Computers and Applied Chemistry*(计算机与应用化学), **2007**, 24(6): 741 ~ 745
15 ZHU Er-Yi, LIN Yan, ZHUANG Zan-Yong(朱尔一, 林 燕, 庄赞勇). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2007**, 35(7): 973 ~ 977

Apparatus and Approach for Rapid Determination of Synthetic Edible Pigment in Food

ZHUO Jing[1], WANG Jing[2], CHEN Xiao-Xia[1], TANG Xin-Hua[2], QIU Bin*[1] ZHU Er-Yi[3], CHEN Xi*[3]
[1](*Key Laboratory of Analysis and Detection for Food Safety, Ministry of Education and Fujian Provincial Key Laboratory of Analysis & Detection Technology for Food Safety, Fuzhou University, Fuzhou* 350108)
[2](*Xiamen Standards Bio-technology Co, Ltd , Xiamen* 361005)
[3](*College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen* 361005)

Abstract An apparatus for the rapid determination of synthetic edible pigment in food, such as beverage, candy, jelly and wine, has been constructed based on their UV-Vis absorption characteristics and partial least squares variable selection method. This apparatus presented advantages, such as portable, low power consumption, simple operation, short response time and excellent precision. Experimental results showed that, in the determination of 5 kinds of edible pigment, lemon yellow, sunset yellow, carmine, amaranth, brilliant blue in food, the relative standard deviations were in the range of ±5%, the recovery was 75% -129%, which corresponded well with the national standard method. The results indicate the apparatus is applicable for the rapid analysis of edible pigment in food.

Keywords Synthetic pigments; Rapid determination; Partial least squares variable selection method; Ultraviolet-visible absorption

(Received 22 June 2010; accepted 28 August 2010)