

为此,本实验将浓度为 $10^6 \sim 10^1$ 拷贝的 G II 型 SLVs 阳性质粒污染到牡蛎中,分别进行荧光定量 PCR 和常规 RT-PCR 扩增。结果发现,常规 RT-PCR 最低检测限为 10^3 拷贝数;荧光定量 PCR 法最低检测限则为 10^2 拷贝数,灵敏度比常规 RT-PCR 高 10 倍,而检测方法敏感程度对于浓度较低的札幌样病毒监测是很重要的。

本实验分别用荧光定量 PCR 和常规 RT-PCR 对 127 份牡蛎标本进行 G II 型札幌样病毒检测,结果显示,荧光定量 PCR 检测为阳性的有 6 例,常规 RT-PCR 检测为阳性的有 1 例,前者检出率显著高于后者。因此荧光定量 PCR 法是更适合牡蛎中 G II 型札幌样病毒快速检测的方法。

参考文献

- [1] VINJÉ J, DEIJL H, van der HEIDE R, et al. Molecular detection and epidemiology of Sapporo-like viruses [J]. *J Clin Microbiol*, 2000, 38(2): 530-536.
- [2] NAKAGAWA-OKAMOTO R, ARITA-NISHIDA T, TODA S, et al. Detection of multiple sapovirus genotypes and genogroups in oyster-associated outbreaks [J]. *Jpn J Infect Dis*, 2009, 62(1): 63-66.
- [3] 方肇寅, 谢华萍, 吕红霞, 等. 1999~2005 年我国婴幼儿人杯状病毒腹泻研究 [J]. *病毒学报*, 2007, 23(1): 9-15.
- [4] ATMAR R L, NEILL F H, LE GUYADER F S. Detection of human caliciviruses in fecal samples by RT-PCR [J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 665: 39-50.
- [5] 唐振柱, 孙贵娟, 黄彦, 等. 实时荧光 PCR 在食源性致病菌监测中的应用研究 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2011, 22(4): 332-335.
- [6] PÉREZ-SAUTU U, GUIX S, PINTÓ R M, et al. Quantification and genotyping of human sapoviruses in the Llobregat river catchment, Spain [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77(3): 1111-1114.
- [7] UEKI Y, SHOJI M, OKIMURA Y, et al. Detection of Sapovirus in oysters [J]. *Microbiol Immunol*, 2010, 54(8): 483-486.
- [8] KINGSLEY D H. An RNA extraction protocol for shellfish-borne viruses [J]. *J Virol Methods*, 2007, 141(1): 58-62.
- [9] JIANG X, HUANG P W, ZHONG W M, et al. Design and evaluation of a primer pair that detects both Norwalk- and Sapporo-like caliciviruses by RT-PCR [J]. *J Virol Methods*, 1999, 83(1-2): 145-154.
- [10] KITAJIMA M, HARAMOTO E, PHANUWAN C, et al. Genotype distribution of human sapoviruses in waste water in Japan [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77(12): 4226-4229.
- [11] SUFFREDINI E, PEPE T, VENTRONE I, et al. Norovirus detection in shellfish using two Real-Time RT-PCR methods [J]. *New Microbiol*, 2011, 34(1): 9-16.
- [12] SHIGEMOTO N, FUKUDA S, TANIZAWA Y, et al. Detection of norovirus, sapovirus, and human astrovirus in fecal specimens using a multiplex reverse transcription-PCR with fluorescent dye-labeled primers [J]. *Microbiol Immunol*, 2011, 55(5): 369-372.

实验技术与方法

固相萃取-高效液相色谱法同时测定食品中 12 种合成色素

奚星林, 邵仕萍, 徐娟, 邹志飞, 吴宏中

(广东检验检疫技术中心, 广东 广州 510623)

摘要:目的 建立一种固相萃取-高效液相色谱法同时测定食品中 12 种合成色素(柠檬黄、亮黑、日落黄、诱惑红、坚牢绿、丽春红 2R、荧光素钠、丽春红 3R、专利蓝、金黄粉、荧光桃红、孟加拉玫瑰红)。方法 改进 GB/T 5009.35—2003《食品中人工合成着色剂的测定方法》试样处理方法,使用 100~200 目聚酰胺固相萃取柱对样品进行净化、浓缩,以甲醇-0.02 mol/L 乙酸铵溶液为流动相,梯度洗脱,多波长检测定量。结果 线性范围分别为:柠檬黄、亮黑、日落黄、诱惑红、坚牢绿、丽春红 3R、专利蓝、金黄粉、荧光桃红 0.1~30.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$,丽春红 2R 1.0~30.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$,荧光素钠 0.5~30.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$,孟加拉玫瑰红 2.0~30.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。12 种合成色素的线性关系良好,相关系数 0.9993~0.9999,回收率 89.1%~100.4%,RSD 1.6%~8.2%,检出限为 0.58~3.0 mg/kg。结论 该方法简便、快捷、灵敏度高、准确性强、重现性好,适用于食品中 12 种合成色素的定量分析。

关键词:合成色素; 高效液相色谱法; 固相萃取; 食品

中图分类号: TS202; O657.72 文献标识码: B 文章编号: 1004-8456(2012)03-0217-06

收稿日期: 2012-01-18

基金项目: 中国检验检疫科学院基本科研业务费专项基金资助项目(2009JK011); 广东省科技基础条件建设项目(粤科财字[2008]658, [2010]185)

作者简介: 奚星林 男 高级工程师 研究方向为食品添加剂检测和放射性检测 E-mail: cixxl@163.com

Simultaneous determination of 12 synthetic colorants in foods with solid-phase extracted high performance liquid chromatography

Xi Xinglin, Shao Shiping, Xu Juan, Zou Zhifei, Wu Hongzhong

(Guangdong Inspection and Quarantine Technology Center, Guangdong Guangzhou 510623, China)

Abstract: Objective An accurate method was developed for the simultaneous determination of twelve kinds of synthetic colorants in food. **Methods** Synthetic colorants, including lemon, brilliant black, sunset, allura, fast green, pocean 2R, uranin, Ponceau 3R, patent blue, orange yellow, phloxine B, rose Bengal in food samples were prepared with the improved procedures described in GB/T 5009.35—2003 and were solid-phase extracted by 100 - 200 mesh polyamide adsorption. Sample solutions were separated by reverse phase liquid chromatography with methanol-0.02 mol/L ammonium acetate solution as mobile phase under gradient elution, and quantified by photodiode array detector. **Results** The calibration curves showed a good linearity with correlation from 0.9993 - 0.9999. The linear range for the quantification of lemon, brilliant black, sunset, allura, fast green, Ponceau 3R, patent blue, orange yellow, phloxine B was 0.1 - 30.0 μg/ml, pocean 2R was 1.0 - 30.0 μg/ml, uranin was 0.5 - 30.0 μg/ml and rose Bengal was 2.0 - 30.0 μg/ml. The recovery of the method was from 89.1% to 100.4%. The relative standard deviation (RSD) was from 1.6% - 8.2% and the detection limit was from 0.58 ~ 3.0 mg/kg. **Conclusion** The method is simple, sensitive and accurate and can be used to quantify the twelve synthetic colorants in foods at the same time.

Key words: Synthetic colorants; HPLC; solid-phase extracted; food

目前,食品中加入合成色素已成为普遍现象,因为与天然色素相比,合成色素具有价格便宜、色泽鲜艳、着色力强、性质稳定等特点,受到广大食品加工企业的青睐。但是,鉴于人工合成色素在加工过程中带入的有害物质及其本身对人体可能造成的不良甚至有害影响,有关部门需严格控制合成色素的种类及使用量。

GB 2760—2011《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》^[1]中允许使用的色素有 11 种,GB/T 5009.35—2003^[2]《食品中合成着色剂的测定》包括柠檬黄、日落黄、苋菜红、胭脂红、新红、赤藓红、亮蓝等合成着色剂,行业标准 SN/T 1743—2006《食品中的诱惑红、酸性红、亮蓝、日落黄的含量检测 高效液相色谱法》可检测 4 种色素。除此之外,在中国大陆禁止使用的色素,如亮黑、专利蓝、荧光桃红、丽春红 2R^[13]、荧光素钠、丽春红 3R、金黄粉、孟加拉玫瑰红、坚牢绿等尚未建立检测方法,其中亮黑在中国香港和欧盟允许使用,荧光桃红、孟加拉玫瑰红在日本可用,专利蓝在中国香港、欧盟、俄罗斯可用,坚牢绿在中国澳门、美国、日本、国际食品添加剂法典委员会、加拿大允许使用等等。目前,用于食品中色素的检测,涉及到的方法主要有高效液相色谱法^[3-6]、离子色谱法^[7]、薄层色谱法^[8]、毛细管电泳^[9-10]、微分脉冲极谱法^[11]、伏安法^[12]。但是很多前处理很浪费时间,或不能用于复杂的基质,灵敏度不高,而反相高效液相色谱有很好的灵敏度和选择性,而且梯度洗脱可以用于复杂食品。本研究可以将 12 种色素在 28 min 内彻底分离,用于固

体和液体食品都有很好的效果。

1 实验部分

1.1 实验材料

1.1.1 仪器与试剂

Waters e2695 液相色谱仪,配 Waters 2998 二极管阵列检测器,固相萃取装置(美国 SupelocTM 公司);LV 型 Caliper 吹氮浓缩仪(美国 Turbo Vap 公司);GM-33H 型隔膜真空泵(天津市津腾实验设备有限公司);甲醇为色谱纯;乙醇、氨水、乙酸铵均为分析纯;实验用水为二次蒸馏水;聚酰胺小柱(100~200 目,60cc);氮气;标准品:柠檬黄、日落黄国家标准品研究中心;亮黑(60%)、诱惑红(80%)、坚牢绿(95%)、丽春红 2R(96%)、荧光素钠(99%)、丽春红 3R(98%)、专利蓝(86%)、金黄粉(94%)、荧光桃红(99%)、孟加拉玫瑰红(99%),sigma 公司。柠檬酸溶液(20 g 柠檬酸加水至 100 ml)。

1.1.2 标准品

标准储备溶液的配制:精密称取各标准品,用少量蒸馏水溶解,用水定容至刻度,混匀,得相应标准储备液。4℃ 冰箱保存。

标准工作溶液的配制:根据需要准确移取相应标准储备液,用蒸馏水稀释配制 0.5、1.0、3.0、5.0、10.0、20.0、30.0 mg/L 系列工作溶液。4℃ 冰箱保存。

1.2 样品处理

提取:液体样品称取 1.0~10.0 g,用柠檬酸溶

液调节 pH 至 6, 加热至 60 °C 后直接上净化柱或用适量水稀释, 调节 pH 至 6 后待净化。固体样品粉碎后称取 2.0 ~ 10.0 g, 加适量水, 搅拌均匀, 以 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 重复几次, 直至提取液无色为止, 合并上清液, 用柠檬酸溶液调节 pH 至 6, 加热至 60 °C。

净化: 分别用 3 ml 甲醇、两次 3 ml 蒸馏水活化小柱, 控制流速每秒 2 ~ 3 滴。将上述提取液注入净化柱, 待吸附完全后, 用 pH4 的 60 °C 蒸馏水冲洗小柱, 至滤液无色, 继续抽真空 3 min, 然后用乙醇-氨水-水 (7 + 2 + 1) 解析液解吸附, 控制流速每秒 2 ~ 3 滴, 收集解吸液, 水浴上挥去近干, 用少许蒸馏水溶解, 并定容 (体积视颜色而定), 经 0.45 μm 水系滤膜过滤, 上机。

1.3 色谱条件

色谱柱: Ultimate HPLC C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm 5 μm); 柱温 30 °C; 进样量 10 μl; 流速 1.0 ml/min; 检测波长 400、500、630 nm; 流动相: 甲醇-0.02 mol/L 乙酸铵溶液, 梯度见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序

Table 1 Program of mobile phase gradient elution

时间 (min)	甲醇 (%)	乙酸铵溶液 (%)
0	35	65
10	70	30
15	78	22
20	90	10
23	99	1
28	35	65

2 结果与讨论

2.1 液相色谱条件的选择

2.1.1 色谱柱的选择

本方法比较了 Luna 5 u C₁₈ 柱 (250 mm ×

4.6 mm 5 μm), xBridge C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 和 Ultimate HPLC C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 三种色谱柱, 结果表明, 相同条件下 Luna 5 u C₁₈ 柱和 xBridge C₁₈ 柱的分离度和稳定性没有 Ultimate HPLC C₁₈ 柱好, 所以选择 Ultimate HPLC C₁₈ 柱作为本方法的色谱柱。

2.1.2 流动相的选择

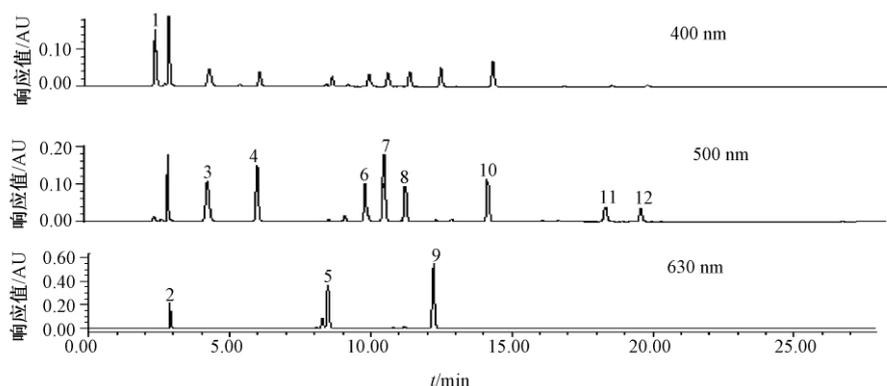
流动相的选择与分离度直接相关, 原则上应确保每两种物质的分离度能达到 1.5, 即完全分离, 这样对于不常见而且扫描光谱特征性不强的色素, 就排除了重叠的干扰, 减小了定性的难度。对于水溶性色素, 使用甲醇和乙酸铵溶液作为流动相, 经过十余次调整, 甲醇比例从 26% 升至 40%。结果显示, 26% ~ 34% 之间, 柠檬黄和固黄很难分离; 36% ~ 40% 之间, 荧光素钠和胭脂红 2R 分离度很小, 最终选择甲醇初始比例 35%, 依次根据需要调整梯度。得到“1.3”的流动相梯度比例。

2.1.3 波长的选择

本方法综合考虑各化合物的最大吸收波长, 柠檬黄 427 nm、亮黑 570 nm、日落黄 483 nm、诱惑红 508 nm、坚牢绿 623 nm、丽春红 2R 507 nm、荧光素钠 491 nm、丽春红 3R 510 nm、专利蓝 635 nm、金黄粉 485 nm、荧光桃红 547 nm、孟加拉玫瑰红 557 nm, 分别选择 400、500、630 nm 作为定量检测波长。其中 400 nm 用于定量柠檬黄, 500 nm 用于定量日落黄、诱惑红、丽春红 2R、荧光素钠、丽春红 3R、金黄粉、荧光桃红、孟加拉玫瑰红, 630 nm 用于定量亮黑、坚牢绿、专利蓝。色谱图见图 1。

2.2 样品前处理的选择

使用自制聚酰胺小柱, 选择 14 ~ 30 目聚酰胺粉 1.0、1.5、2.0 g 作为填充内容物进行实验。结果表明, 固定填充内容物为 2.0 g 时, 分别用 5、10、20、



1. 柠檬黄 2. 亮黑 3. 日落黄 4. 诱惑红 5. 坚牢绿 6. 丽春红 2R 7. 荧光素钠
8. 丽春红 3R 9. 专利蓝 10. 金黄粉 11. 荧光桃红 12. 孟加拉玫瑰红

图 1 12 种合成食品色素标准品的色谱图

Figure 1 Chromatograms of 12 synthetic food colorant standards

30、40、50 μg 标准混标上样。实验证明 40 μg 回收率达到 99% 以上 50 μg 时明显偏低,10 μg 以内结果也偏低。该数据表明,此填充柱可用的浓度范围比较窄。

鉴于以上自制填充柱的容量比较小,后来购置颗粒 100 ~ 200 目 60 cc 的聚酰胺成品柱,发现标准品 100 μg 添加量时的回收率都能达到 98%,而且在绿茶和糖果中的回收率依然很好,结果见表 3。故选择 60 cc 的聚酰胺成品柱进行样品前处理,以达到提取、净化、浓缩的目的。

2.3 方法的灵敏度、检出限、定量限和线性范围与回收率

在“1.3”优化条件下,对 12 种色素标样进行测定,标样色谱图见图 1。采用峰面积定量,以峰面积(积分值)对色素质量浓度(mg/L)求得线性回归方程,结果见表 2。以 3 倍的信噪比考察了各种色素的最低检出限:柠檬黄、日落黄、诱惑红色素的最低检出限为 0.50 mg/kg;亮黑、坚牢绿、丽春红 2R、荧光素钠、丽春红 3R、专利蓝、金黄粉、荧光桃红和孟加拉玫瑰红的最低检出限为 1.0 mg/kg。

表 2 12 种色素的线性方程和相关系数

Table 2 Regression equation and correlation coefficient of 12 synthetic food colorants

色素名称	线性范围(μg/ml)	线性方程	相关系数(r)
柠檬黄	0.1 ~ 30.0	$y = 4141x + 28360$	0.9999
亮黑	0.1 ~ 30.0	$y = 13429x + 17858$	0.9998
日落黄	0.1 ~ 30.0	$y = 2938x + 30607$	0.9999
诱惑红	0.1 ~ 30.0	$y = 1727x + 30745$	0.9999
坚牢绿	0.1 ~ 30.0	$y = -11749x + 28360$	0.9993
丽春红 2R	1.0 ~ 30.0	$y = 1713x + 18017$	0.9998
荧光素钠	0.5 ~ 30.0	$y = 4008x + 59719$	0.9996
丽春红 3R	0.1 ~ 30.0	$y = 1996x + 21927$	0.9999
专利蓝	0.1 ~ 30.0	$y = 9095x + 104211$	0.9998
金黄粉	0.1 ~ 30.0	$y = 3667x + 27976$	0.9999
荧光桃红	0.1 ~ 30.0	$y = 1514x + 10456$	0.9999
孟加拉玫瑰红	2.0 ~ 30.0	$y = 759x + 7734$	0.9998

在绿茶和棒棒糖样品中加入 3 种不同浓度的各种色素,经提取后检测,计算回收率和精密度(表 3)。试验表明,3 种浓度下绿茶样品的提取回收率在 90.5% ~ 97.2% 之间,平均回收率 93.86%,RSD

在 1.9% ~ 7.2% 之间。3 种浓度下棒棒糖样品的提取回收率在 89.1% ~ 100.4% 之间,平均回收率 95.83%,RSD 在 1.8% ~ 8.2% 之间。

表 3 绿茶和棒棒糖中 12 种色素的加标回收率结果

Table 3 Recovery and RSD of 12 synthetic food colorants in green tea and candies (n = 6)

色素名称	绿茶			棒棒糖			色素名称	绿茶			棒棒糖			
	加标量 (mg/kg)	回收率/ (%)	RSD/ (%)	加标量 (mg/kg)	回收率/ (%)	RSD/ (%)		加标量 (mg/kg)	回收率/ (%)	RSD/ (%)	加标量 (mg/kg)	回收率/ (%)	RSD/ (%)	
柠檬黄	1	95.3	5.0	1	92.8	6.4	荧光素钠	1	95.4	6.1	1	93.7	4.9	
	2	92.9	4.3	2	95.4	4.6		2	90.1	4.4	2	98.7	3.2	
	4	96.7	3.2	4	98.2	2.7		4	95.1	1.9	4	99.1	1.8	
亮黑	1	93.6	6.7	1	89.1	8.0		丽春红 3R	1	91.1	4.6	1	94.9	5.9
	2	94.9	3.4	2	97.2	5.5			2	92.1	4.4	2	96.5	3.9
	4	95.0	2.0	4	95.7	3.4			4	96.4	1.7	4	100.4	2.6
日落黄	1	92.6	7.2	1	91.2	5.9		专利蓝	1	88.2	5.2	1	98.4	6.3
	2	94.8	3.6	2	93.1	5.2			2	91.0	3.1	2	97.4	2.2
	4	96.4	3.4	4	95.6	2.2			4	92.5	3.4	4	99.7	2.0
诱惑红	1	95.3	7.2	1	93.1	4.7		金黄粉	1	89.5	7.1	1	93.9	6.1
	2	98.6	6.8	2	93.3	4.6			2	91.2	2.1	2	98.6	3.5
	4	99.2	3.7	4	94.4	7.7			4	93.6	3.1	4	96.1	1.6
坚牢绿	1	93.9	6.5	1	95.8	5.2	荧光桃红	10	92.3	5.7	10	95.3	7.8	
	2	93.1	4.2	2	97.0	3.5		20	95.3	3.0	20	97.6	3.9	
	4	97.1	2.7	4	98.3	3.0		40	96.3	2.2	40	97.3	3.8	
丽春红 2R	1	91.4	5.6	1	92.3	5.6	孟加拉玫瑰红	10	92.2	6.6	10	93.8	8.2	
	2	90.5	5.1	2	94.4	3.8		20	95.3	3.5	20	96.5	3.4	
	4	92.8	4.8	4	96.5	2.7		40	97.2	4.0	40	98.5	2.3	

2.4 质谱确认

质谱测定条件:电喷雾离子源(ESI);扫描方式:正离子扫描/负离子扫描;检测方式:多反应监测模式(MRM);气帘气:15 L/min;GS1 雾化气:60 L/min;GS2 辅助加热气:70 L/min;CAD 碰撞气:Medium;辅助加热气温度:500 °C;喷雾电压:5 000 V。

参照 12 种色素的电离性质,通过流动注射泵连续进样,对每种染料的标准溶液进行全扫描,确定每种染料的电离方式和分子离子峰。其中柠檬黄、亮黑、日落黄、诱惑红、坚牢绿、丽春红 2R、金黄粉、荧光桃红、孟加拉玫瑰红化合物采用负离子模式,荧光素钠、丽春红 3R、专利蓝化合物采用正离子模式。在分别获得每个化合物的分子离子峰(母离子)后,进行二级质谱(子离子)扫描,优化碰撞能量,从中选出两个丰度比较高的子离子分别作为定性和定量离子,从而建立多反应监测(MRM)模式的质谱方法。各种染料的质谱分析参数见表 4。

表 4 12 种色素标准物质的主要特征离子

Table 4 Main characteristic mass ions of 12 synthetic food colorants

色素	母离子 m/z	子离子 m/z	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)
柠檬黄	467.0	198.0	-50	-25
		423.1		-16
亮黑	778.0	290.9	-120	-60
		184.9		-110
日落黄	407.0	206.9	-82	-45
		181.0		-18
诱惑红	451.1	207.0	-90	-46
		181.2		-65
坚牢绿	763.2	170.0	-110	-92
		497.3		-70
丽春红 2R	434.9	193.8	-65	-60
		301.9		-43
荧光素钠	333.4	202.2	95	80
		287.3		50
丽春红 3R	442.9	129.1	35	50
		275.0		25
专利蓝	583.1	501.3	140	50
		164.5		55
金黄粉	326.9	170.9	-70	-34
		155.8		-43
荧光桃红	782.7	658.7	-80	-40
		702.6		-35
孟加拉玫瑰红	972.5	126.8	-80	-90
		674.7		-10

2.5 样品分析

从市场上购得糖果、果汁、果冻、利口酒、配制酒、芝士味圈、青豆酥和裹粉样品 8 种,按照上述试验方法进行测定,检测结果如表 5,按照 GB 2760—2011《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》规定,这些产品均符合我国卫生质量要求。

表 5 食品样品中合成着色剂的含量

Table 5 The content of synthetic colorants in different food samples

食品种类	色素	检出值(mg/kg)	限量值(mg/kg) ^a
糖果	日落黄	190.0	200
	诱惑红	53.0	300
	柠檬黄	9.40	100
果汁	日落黄	2.62	100
	柠檬黄	3.50	100
果冻	柠檬黄	0.53	50
	诱惑红	13.1	25
利口酒	柠檬黄	12.1	100
配制酒	柠檬黄	4.50	100
青豆酥	柠檬黄	8.80	100
芝士味圈	柠檬黄	51.7	100
裹粉	日落黄	17.0	300

注: a 为 GB 2760—2011 中规定的值。

3 结论

本方法建立了 12 种水溶性色素的高效液相色谱检测方法,并确定了质谱法鉴定的条件。实验表明,该方法具有简单、准确、灵敏、重现性好等特点,可用于食品,特别是进口食品中色素的定性、定量。在一定程度上,实现了食品中多种色素的高通量检测目的。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. GB 2760—2011 食品安全国家标准 食品添加剂使用卫生标准[S]. 北京:中国标准出版社, 2011.
- [2] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009.35—2003 食品中人工合成着色剂的测定方法[S]. 北京:中国标准出版社, 2004.
- [3] FUH M R, CHIA K J. Determination of sulphonated azo dyes in food by ion-pair liquid chromatography with photodiode array and electrospray mass spectrometry detection[J]. *Talanta*, 2002, 56: 663-671.
- [4] MINIOTI K S, SAKELLARIOU C F, THOMAIDIS N S. Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector [J]. *Anal Chimica Acta*, 2007, 583: 103-110.
- [5] YOSHIOKA N, ICHIHASHI K. Determination of 40 synthetic food colors in drinks and candies by high-performance liquid chromatography using a short column with photodiode array detection[J]. *Talanta*, 2008, 74: 1408-1413.
- [6] MA M, LUO X B, CHEN B, 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 [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1103: 170-176.
- [7] CHEN Q C, MOU S F, HOU X P, et al. Determination of eight synthetic food colorants in drinks by high-performance ion chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 1998, 827: 73-81.
- [8] OKA H, IKAI Y, KAWAMURA N, et al. Simple method for the

analysis of food dyes on reversed-phase thin-layer plates [J]. Chromatogr, 1987, 411: 437.

[9] HUANG H Y, SHIH Y C, CHEN Y C. Determining eight colorants in milk beverages by capillary electrophoresis [J]. J Chromatogr A, 2002, 959: 317-325.

[10] PRADO M A, VILAS BOAS L F, BRONZE M R, et al. Validation of methodology for simultaneous determination of synthetic dyes in alcoholic beverages by capillary electrophoresis [J]. J Chromatogr A, 2006, 1136: 231-236.

[11] COMBEAU S, CHATELUT M, VITTORI O. Identification and simultaneous determination of Azorubin, Allura red and Ponceau 4R by differential pulse polarography: application to soft drinks [J]. Talanta, 2002, 56: 115-122.

[12] MERCADO M A, MORALES-LINARES J C, GRANADOS-GARCIA J, et al. Simultaneous adsorptive voltammetric analysis of mixed colorants by multivariate calibration approach [J]. Anal Chimica Acta, 1996, 329: 65-72.

[13] 徐业平, 郑屏, 汤峻松. 食品中偶氮染料丽春红 2R 的鉴定 [J]. 理化检验-化学分册, 2002, 38(9): 457-461.

实验技术与方法

基于噬菌体特异性的新型荧光酶联方法检测 食品中大肠埃希菌 O157: H7

吕敬章, 刘慧玲, 黄李华, 赵芳, 马淑棉, 洪小柳
(深圳出入境检验检疫局, 广东 深圳 518045)

摘要:目的 对一种基于噬菌体特异性的检测食品中大肠埃希菌 O157: H7 的新型荧光酶联方法 (VIDAS® ECPT) 进行了评价。方法 利用 VIDAS® ECPT、VIDAS® ECO、BAX® O157 三种快速方法检测不同浓度大肠埃希菌 O157: H7 标准菌株的生理盐水悬浮液, 并对 VIDAS® ECPT 和常规培养法检测食品中大肠埃希菌 O157: H7 进行了比对。结果 VIDAS® ECPT 检测大肠埃希菌 O157: H7 的检出限为 10⁴ CFU/ml, 并且不受大肠埃希菌背景菌的干扰, 其他两种快速方法的检出限均为 10⁵ CFU/ml, 其中 VIDAS® ECO 易受到背景菌的干扰; 检测不同食品基质中大肠埃希菌 O157: H7, 当大肠埃希菌 O157: H7 的浓度为 10⁴ CFU/ml 时, VIDAS® ECPT 与常规培养法无统计学差异。结论 VIDAS® ECPT 方法检测大肠埃希菌 O157: H7 具有快速、灵敏、抗干扰性强的特点。

关键词: 大肠埃希菌 O157: H7; VIDAS® ECPT; VIDAS® ECO; BAX® O157

中图分类号: S852. 61; Q503 文献标识码: B 文章编号: 1004-8456(2012)03-0222-04

A novel phage-derived ligand in enzyme-linked fluorescent assay for the detection of *Escherichia coli* O157: H7 in food

Lü Jingzhang, Liu Huiling, Huang Lihua, Zhao Fang, Ma Shumian, Hong Xiaoli
(Shenzhen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau of People's Republic of China,
Guangdong Shenzhen 518045, China)

Abstract: Objective Examining and analyzing the sensitivity of phage protein ligand assay to find out a more effective alternative method for detecting *E. coli* O157: H7 (VIDAS® ECPT). **Methods** Detection Limits of VIDAS® ECPT, VIDAS® ECO and BAX® O157 for *E. coli* O157: H7 were determined by changing the concentration of *E. coli* O157: H7 suspension; and comparative evaluation of VIDAS® ECPT with conventional culture-based method for the detection of *E. coli* O157: H7 in foods was conducted. **Results** *E. coli* O157: H7 suspension at the level of 10⁴ CFU/ml could be detected by VIDAS® ECPT, however, the minimum concentration of *E. coli* O157: H7 suspension that could be detected by the other two methods (VIDAS® ECO and BAX® O157) was 10⁵ CFU/ml. There was no significant difference between VIDAS® ECPT and conventional culture-based method for the detection of *E. coli* O157: H7 in foods. **Conclusion** VIDAS® ECPT is superior to the other two alternative methods for the detection of *E. coli* O157: H7.

Key words: *Escherichia coli* O157: H7; VIDAS® ECPT; VIDAS® ECO; BAX® O157

收稿日期: 2012-02-10

基金项目: 深圳出入境检验检疫局科技计划项目 (SZ2009013)

作者简介: 吕敬章 男 副主任医师 硕士生 研究方向为食品安全与检验 E-mail: jz_lu@yahoo.com.cn