

文章编号 1004-924X(2017)增-0026-06

## 花椒中罗丹明 B 的激光拉曼现场检测

张亮亮<sup>1\*</sup>, 杨练根<sup>1</sup>, 何 涛<sup>1</sup>, 范志勇<sup>2</sup>

(1. 湖北工业大学 机械工程学院, 湖北 武汉 430068;

2. 湖北省食品安全质量监督检验研究院, 湖北 武汉 430075)

**摘要:** 鉴于实验室检测非法食品添加剂存在设备昂贵、检测效率低及样品制备复杂等问题, 本文设计了一种基于激光拉曼原理、用于测定花椒中罗丹明 B 的现场检测方法。它主要由激光器、光谱仪、激光探头、真空泵、分析软件以及便携式 PC 组成。利用拉曼原理设计了便携式光谱仪, 并设计了分段线性拟合法和缺点多项式拟合法两种去基线算法以及结果匹配算法。对其进行对样品进行预处理, 配合银离子拉曼增强剂, 获取相应的拉曼光谱信号并进行结果匹配。实验结果表明, 这种方法可以准确检测含有  $1 \times 10^{-6}$  罗丹明 B 的花椒样品, 整个检测时间小于 10 min, 基本满足对调味品中非法添加剂的现场快速检测要求。

**关键词:** 激光拉曼; 拉罗丹明 B; 现场检测; 去基线算法; 样品预处理

**中图分类号:** TH742 **文献标识码:** A **doi:** 10.3788/OPE.20172513.0026

## Field inspection of rhodamine B in prickly ash by laser Raman

ZHANG Liang-liang<sup>1\*</sup>, YANG Lian-gen<sup>1</sup>, HE Tao<sup>1</sup>, FAN Zhi-yong<sup>2</sup>

(1. School of Mechanical Engineering, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China;

2. Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Wuhan 430075, China)

\* Corresponding author, E-mail: 278629541@qq.com

**Abstract:** Prickly ash, dry pepper, chili sauce and other condiment are widely used in food industry and daily life. However these condiments are illegally added with rhodamine B, alkaline orange II and other hazardous additives, which seriously affect human health. In order to inspect these illegal additives with low-cost and high-efficiency, a field detection system for rhodamine B in prickly ash was designed based on the principle of laser Raman. It mainly consisted of laser, spectrometer, laser probe, vacuum pump, analysis software and portable PC. A portable spectrometer based on Raman principle was achieved. Moreover, two baseline removal algorithms including piecewise linear fitting method as well as fault polynomial fitting method and a result matching algorithm were proposed. The samples were pretreated with silver ion Raman enhancer to obtain the corresponding Raman signals, which were used to match the results. The experiments prove that this method can accurately detect  $1 \times 10^{-6}$  rhodamine B in prickly ash sample with whole inspection time less than 10 min, which can basically meet the requirements of field rapid inspection of illegal additives in condiments.

收稿日期: 2017-05-27; 修订日期: 2017-06-18.

基金项目: 湖北省科技支撑计划资助项目 (No. 2015BCE047)

**Key words:** laser Raman; Rhodamine B; field inspection; baseline removal algorithm; sample pre-treatment

## 1 引言

食品安全关系人民的身体健康,而食品行业的非法添加物在我国由来已久,臭名昭著的三聚氰胺、苏丹红、塑化剂在我国人人皆知。除此之外,罗丹明 B、孔雀石绿、硝基呋喃、氯霉素、瘦肉精、吊白块、甲醛、工业硫磺、亚硝酸盐、抗生素等各种非法添加案件被不断曝光。截至 2011 年,我国发布了五批《食品中可能违法添加的非食用物质名单》,列出了共计 47 种可能在食品中添加的违法添加物。但当前化学品种类繁多,预计每日会有 20 余种新的化学品进入我们的生活空间。因此,对非法添加物的有效、快速检测有助于科学有效地防控食品安全风险,对严厉打击食品非法添加和滥用食品添加剂行为,规范食品生产经营秩序,保证人民健康有重大意义。

调味品也是遭受非法添加严重侵害的一种商品。GB/20903-2007《调味品分类》中按照调味品终端产品,将调味品分为食用盐、食糖、酱油、食醋、香辛料和香辛料调味品等 17 大类。日常生活中依调味品的商品性质和经营习惯,调味品分为酿造类、腌菜类、鲜菜类、干货类、水产类以及其它类。本文以干货类调味品作为主要研究对象,主要包括胡椒、花椒、干辣椒、小茴香、胡椒、芥末、桂皮、姜片、草果等,大都是根、茎、果干制而成,含有特殊的新香或辛辣等味道,属于 GB/20903-2007 的香辛料,广泛应用于日常饮食、餐饮行业和食品生产中。由于干货类调味品在进一步加工后,可能添加到酿造类、腌菜类等调味品或其他食品、日常家庭饮食、餐饮行业和食品行业中,因此控制干货类调味品的质量不仅能控制相关的食品加工质量,还能间接地控制饮食行业的食品质量<sup>[1-2]</sup>。

尽管我国目前对大多数非法添加物已经有相应的检测手段,但大多要在实验室进行,需要对样品进行复杂的制备,还要经过萃取、净化等复杂的程序<sup>[3-6]</sup>。这些方法往往不能在现场进行检验,难以应用于执法现场,从而影响执法的公正性和效率,因此本文研制了一种能在现场进行检验、价格便宜、检测速度快的激光拉曼检测仪。

## 2 现场检测基本构架

### 2.1 拉曼光谱仪原理

拉曼光谱是一种散射光谱。拉曼光谱分析法是基于印度科学家 C. V. 拉曼所发现的拉曼散射效应,对与入射光频率不同的散射光谱进行分析,以得到分子振动、转动方面的信息,并应用于分子结构研究的一种分析方法。当光打到样品上时,样品分子会使入射光发生散射。大部分散射光的频率没变,这种散射称为瑞利散射;部分散射光的频率变了,这种散射称为拉曼散射。散射光与入射光之间的频率差称为拉曼位移。拉曼光谱仪主要通过拉曼位移来确定物质的分子结构,可对固体、液体、气体、有机物、高分子等样品进行定量及定性分析。

### 2.2 便携式拉曼光谱仪设计

不同的拉曼光谱仪组成及结构会有些细微的不同,但大体结构相似,基本都是由激光光源、样品装置、滤光器、单色器(或干涉仪)和检测器等组

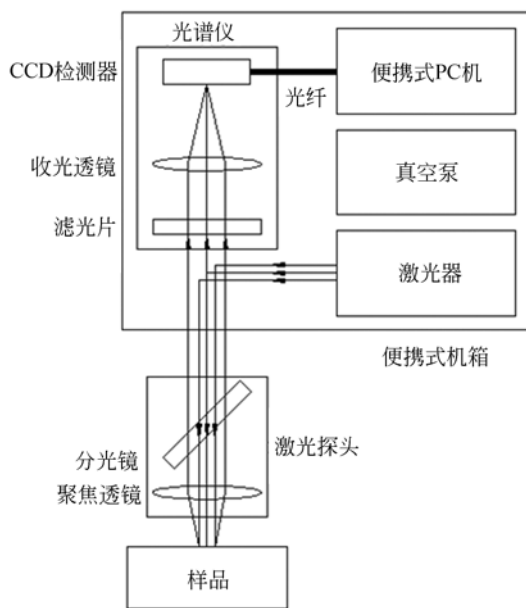


图 1 激光拉曼光谱仪原理示意图

Fig. 1 Schematic diagram of laser Raman spectrometer

成。如图 1 所示,本文设计的激光拉曼检测仪主要由 785 nm 波长的激光器(输出的激光已由准直镜准直)、分光镜、聚焦透镜、滤光镜、光纤、光谱仪、拉曼光谱数据分析软件以及便携式计算机等组成<sup>[7-8]</sup>。

### 2.3 样品预处理方法

由于调味品中的非法添加物都是微量的,得到的拉曼信号非常弱,且杂波较多,所以必须进行预处理。目前,实验室主要采用萃取-离心-取上清液-超声波再提取-净化-洗脱再溶解测量称取的处理方法<sup>[9-11]</sup>。这种方法确实可以达到很好的效果,但是十分繁琐,不能适应现场检测的要求。本文采用有机溶剂萃取,低压蒸发浓缩的方式进行检测。具体操作如下:取 3 g 样品,用 1 : 9 的水和甲醇的混合溶剂进行萃取,在 43.5 °C 水浴加热下低压进行快速浓缩,由于甲醇比水更容易挥发,这样待检溶液不含或仅含有微量甲醇,可以省去再溶解步骤。

## 3 现场检测系统的软件设计

### 3.1 总体设计方案

现场检测的软件要实现光谱显示、光谱处理及结果显示,整体设计方案如图 2 所示。本软件的主要功能有:

- (1)实时显示在检物的拉曼光谱图;
- (2)对拉曼光谱进行基线处理;
- (3)拉曼光谱分析。

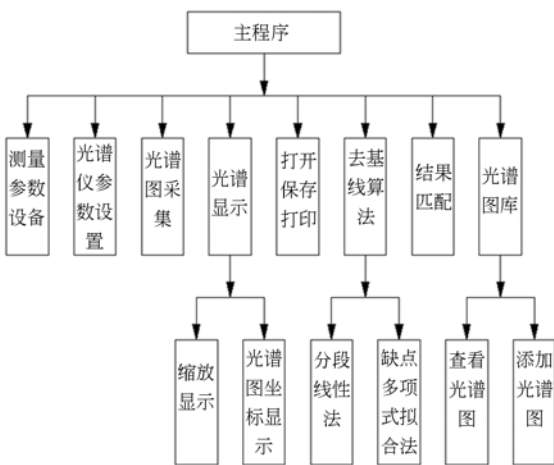


图 2 软件设计框架图

Fig. 2 Framework of software design

### 3.2 去基线算法设计

调味品中的非法添加物有很多种类,主要作用是改变调味品的色泽。非法添加剂以染剂为主,具有很强的荧光效应,因此当积分时间较强时会使光谱仪饱和。荧光效应还会使拉曼光谱前段凸起,所以需要滤除拉曼光谱的基底<sup>[12]</sup>。

#### 3.2.1 分段线性法

分段线性法拉基线主要是寻找峰谷的位置,然后拉一条基于峰谷的折线,并保证折线与原曲线没有交点,这样处理后的曲线没有负值。具体实现步骤为:(1)寻找峰谷;(2)确保所得折线与原曲线无交点;(3)用原曲线减去得到的折线。其流程如图 3 所示。

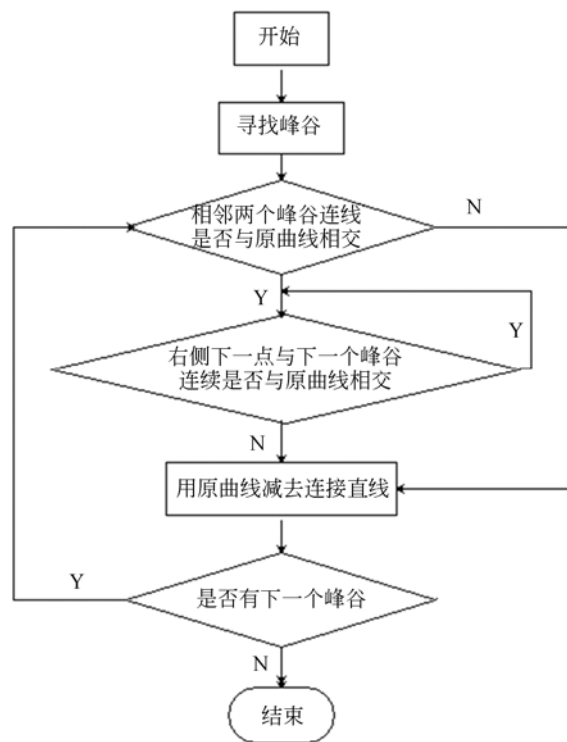


图 3 分段线性法程序流程图

Fig. 3 Flow chart of piecewise linear method

#### 3.2.2 缺点多项式拟合法

缺点多项式拉基线主要是去掉疑似拉曼峰值,再对剩下的曲线进行多项式拟合。具体步骤为:(1)阈值滤波;(2)对峰谷进行多项式拟合;(3)用原曲线减去多项式拟合。其流程如图 4 所示。

### 3.3 匹配算法设计

根据拉曼光谱的特性,每一种物质的拉曼峰位置是固定的。由于采用了去基线算法处理光

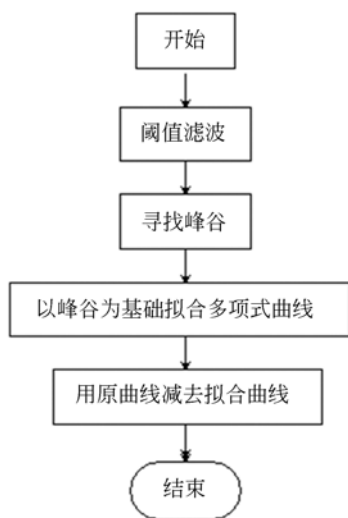


图 4 缺点多项式拟合法程序流程图  
Fig. 4 Flow chart of fault polynomial fitting method

谱, 故其峰值会产生变化, 从而带来一定的误差, 而且使用水溶液, 部分拉曼峰会被掩盖, 这就造成不是所有被测成分都能用其拉曼主峰进行量化。一般当一种目标待检物质有一半以上的峰值被匹配识别时, 则认作物质被识别。具体算法流程如图 5 所示。

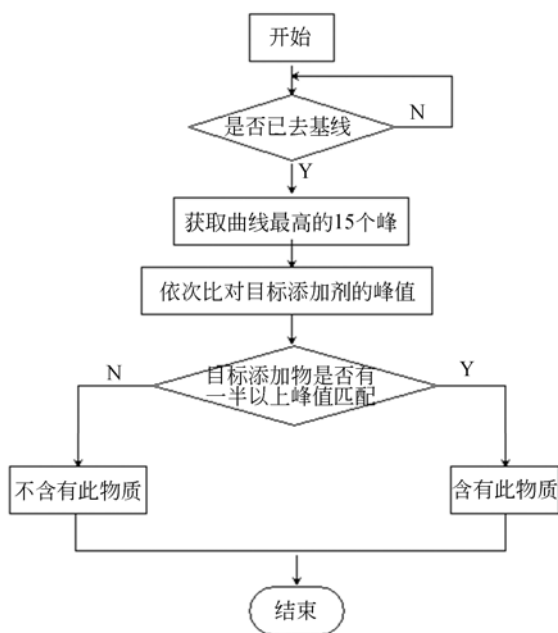


图 5 缺点多项式拟合法程序流程图  
Fig. 5 Flow chart of fault polynomial fitting

#### 4 实验验证与调试

调味品中的非法添加物有很多种类, 例如, 罗丹明 B 是花椒和辣椒中常见的非法添加物。本文设计的实验是对含有罗丹明 B 的花椒样品(见图 6)进行验证和调试。由于被检目标物的拉曼峰位移在  $600 \sim 1\,700\text{ cm}^{-1}$ , 故重点分析  $500 \sim 2\,000\text{ cm}^{-1}$  区域的拉曼光谱。

花椒表面粗糙呈多孔结构, 吸附性很强, 因此花椒中非法添加物主要以喷雾或短时间浸泡方式添加。实验先用分析天平精确称量罗丹明 B  $10\text{ mg}$  配制成  $10\text{ ml}$  的  $1\,000 \times 10^{-6}$  的水溶液, 再进一步稀释成  $10 \times 10^{-6}$  和  $1 \times 10^{-6}$  的罗丹明 B 水溶液。对花椒进行喷雾或短时间浸泡处理, 制备含有罗丹明 B 的花椒调味品。把制成的样品和未添加罗丹明 B 的花椒各取  $3\text{ g}$ , 用  $1:9$  的水和甲醇的混合溶剂进行萃取, 在  $43.5\text{ }^\circ\text{C}$  水浴加热下低压进行快速浓缩。然后, 将被测溶液和银离子拉曼增强剂按  $4:1$  的比例混合后进行对比检测。甲醇、未添加和添加罗丹明 B 的花椒样品的拉曼光谱分别如图 7~图 9 所示。



图 6 含有罗丹明 B 的样品  
Fig. 6 Sample containing rhodamine B

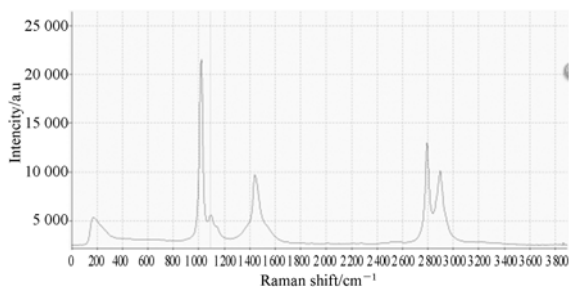


图 7 甲醇的拉曼光谱图(30 s)  
Fig. 7 Raman spectrum of methanol (30 s)

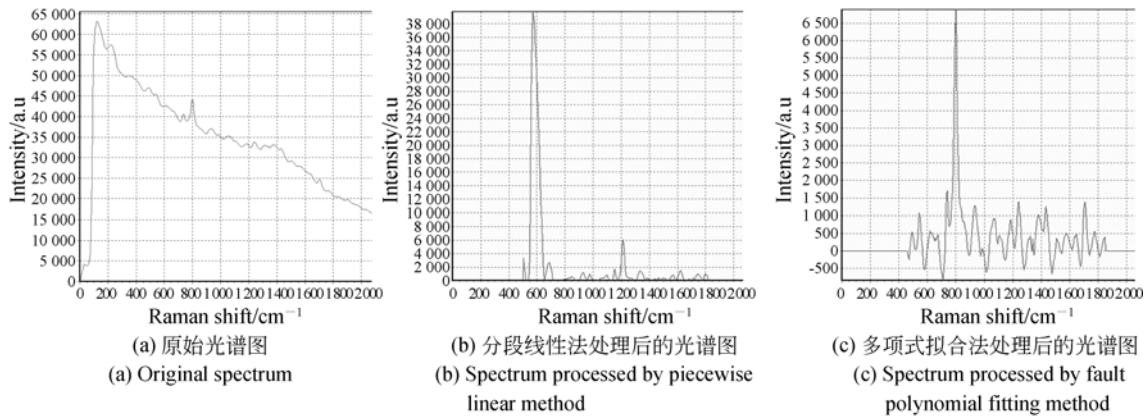
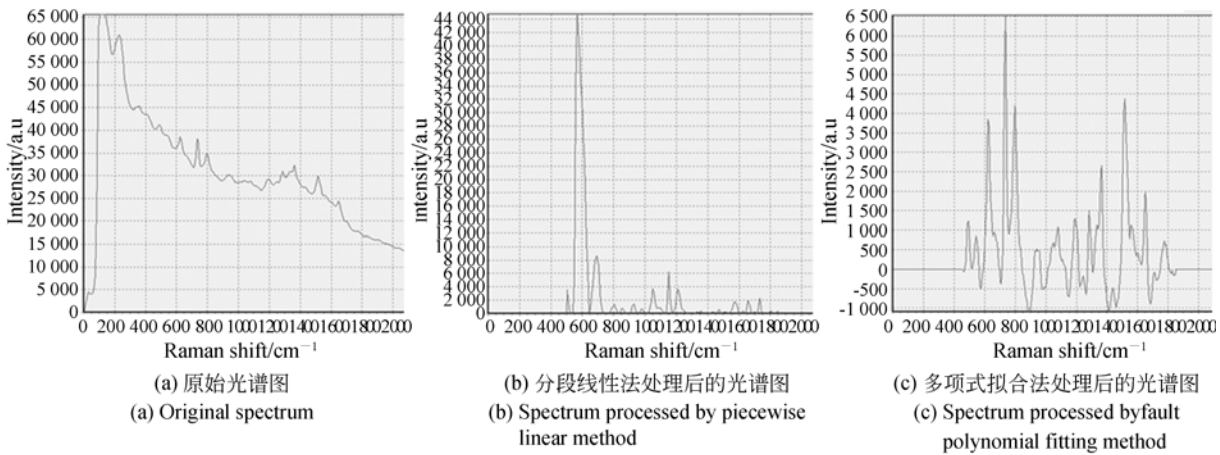


图 8 未添加罗丹明 B 花椒颗粒样品的光谱图(9 s)

Fig. 8 Spectra of prickly ash particles with no rhodamine B (9 s)

图 9  $1 \times 10^{-6}$  罗丹明 B 浸泡的花椒颗粒样品光谱图(9 s)Fig. 9 Spectra of prickly ash particles with  $1 \times 10^{-6}$  rhodamine B (9 s)

## 5 结 论

本文提出了一种基于激光拉曼原理、用于测定花椒中罗丹明 B 的现场检测方法。取 3 g 样品,用水和甲醇的混合溶剂进行萃取,在 43.5 °C 的水浴加热下低压进行快速浓缩。再将被测溶液和银离子拉曼增强剂按 4 : 1 的比例混合后进行检测,经调试后其可以检测出花椒颗粒浸泡  $1 \times 10^{-6}$  罗丹明 B 水溶液样品中所添加的非法添加物。由于调味品中的非法添加物主要用于染色,

### 参考文献:

[1] 黄亚伟,张令,王若兰,等.表面增强拉曼光谱在食品非法添加物检测中的应用进展[J].粮食与饲料工

业,2014,9(7):24-27.

当用低于  $1 \times 10^{-6}$  水溶液染色后花椒色泽几乎不发生改变,因此本方法可以满足现场检测要求。虽然用两种拉基线算法均可以得到所检测物的匹配结果,经比较后分段线性拉基线法效果更好,匹配结果准确性更高。本方法的检测时间小于 10 min,精度可以达到  $1 \times 10^{-6}$ ,完全可以满足对花椒中罗丹明 B 现场快速检测要求。

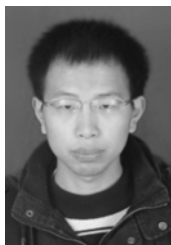
检测花椒中的罗丹明 B 建议采用分段线性法。通过逐步建立各种非法添加物的拉曼光谱图库,进一步确定其拉曼特征,该方法也可以应用于其他非法添加物的现场快速检测。

业,2014,9(7):24-27.

HUANG Y W, ZHANG L, WANG R L. Progress in application of surface enhanced Raman spectroscopy to the detection of illicit food additives [J]. *Food and Feed*

- Industry*, 2014, 9 (7): 24-27. (in Chinese)
- [2] LAI K Q, ZHANG Y Y, LI CH Y. Analyses of illegal food additives with surface enhanced raman spectroscopy[J]. *Optics Letters*, 2013, 34(8): 161-163.
- [3] 刘敏. 高效液相色谱法测定食品中的添加剂和非法添加物[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.  
LIU M. *Determination of Food Addictives and Hlegal Addictives by HPLC in Food*[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2012. (in Chinese)
- [4] 胡侠. 食品中罗丹明类染料的高效液相的色谱及高效液相色谱串联质谱分析方法的研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2010  
HU X. *Study on the Analytical Methods of Rhodamine Dyes by HPLC and HPLC-MS/MS* [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2010. (in Chinese)
- [5] 林清荷, 陈鑫, 吴忠兴. 辣椒粉中罗丹明 B 液相色谱检测方法的研究[J]. *农产品加工学刊*, 2012, 11(2): 157-164.  
LIN Q H, CHEN X, WU ZH X. HPLC determination of Rhodamine B in chilli powder[J]. *Journal of Agricultural Products Processing*, 2012, 11 (2): 157-164. (in Chinese)
- [6] 王传现, 韩丽, 方晓明, 等. 食品中罗丹明 B 的高效液相色谱荧光检测[J]. *分析仪器*, 2008, 1(2): 27-30.  
WANG CH X, HAN L, FANG X M. Determination of Rhodamine B in food by high performance liquid chromatography-fluorescence detection[J]. *Analytical Instruments*, 2008, 1(2): 27-30. (in Chinese)
- [7] 程梁. 微型光谱仪系统的研究及其应用[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.  
CHENG L. *Research and Application of Micro Spectrometer System*[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008. (in Chinese)
- [8] 张漆, 杨练根, 张娜, 等. 用于调味品中非法添加物测定的便携式激光拉曼检测仪[J]. *光学精密工程*, 2016, 24(10s): 203-211.  
ZHANG ZH, YANG L G, ZHANG N, et al.. Portable laser Raman detector for determination of illegal additives in condiments [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2016, 24 (10s): 203-211. (in Chinese)
- [9] SOYLAK M, UNSAL Y E, YILMAZ E, et al.. Determination of rhodamine B in soft drink, waste water and lipstick samples after solid phase extraction[J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2011, 49 (8): 1796-1799.
- [10] JAHN M, PATZE S, BOCKLITZ T. Towards SERS based applications in food analytics: Lipophilic sensor layers for the detection of Sudan III in food matrices[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2015, 860(20): 43-50.
- [11] GAO J Z, ZENG L J, REN J. Determination of rhodamine B in capsicum powder by using a modified belousov-zhabotinskii oscillating chemical reaction[J]. *Journal of Hunan Agricultural University*, 2013, 39(3): 327-330.
- [12] 郭忠. 微型拉曼光谱仪的结构设计与数据处理的方法研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2010.  
GUO ZH. *Design the Micro-Raman Spectroscopy and Study on Data Processing of Raman Spectrum*[D]. Chongqing: Chongqing University, 2010. (in Chinese)

#### 作者简介:



张亮亮(1989—),男,山西晋城人,硕士研究生,主要从事精密测量仪器的研究。E-mail: 278629541@qq.com



杨练根(1965—),男,湖南平江人,博士,教授,1986年、1991年于华中理工大学分别获得学士、硕士学位,2004年于华中科技大学获得博士学位,主要从事精密测量与仪器、传感器技术等方面的研究。E-mail: Yanglg@mail.hbut.edu.cn