

- [ 6 ] 丁岚,谢孟峡,刘媛,等. 高效液相色谱法测定鸡蛋中呋喃唑酮的残留量[J]. 分析化学,2004,32(2):139-142.
- [ 7 ] 彭涛,储晓刚,杨强,等. 高效液相色谱/串联质谱法测定奶粉中的硝基呋喃代谢物[J]. 分析化学,2005,33(8):1073-1076.
- [ 8 ] CHU P S, Lopez M I. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of protein-bound residues in shrimp dosed with nitrofurans[J]. J Agric Food Chem,2005,53(23):8934-8939.
- [ 9 ] Barbosa J, Freitas A, Mourao J L, et al. Determination of furaltadone and nifursol residues in poultry eggs by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem,2012,60:4227-4234.
- [ 10 ] CHU P S, Lopez M I. Determination of nitrofurans residues in milk of dairy cows using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. J Agric Food Chem,2007,55(6):2129-2135.
- [ 11 ] 耿士伟,朱永林,邵德佳. 高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中呋喃唑酮代谢物的残留[J]. 兽药与饲料添加剂,2005,10(5):30-31.
- [ 12 ] FANG Z Y, JIANG B S, WU W, et al. ELISA detection of semicarbazide based on a fast sample pretreatment method [J]. Chem Commun,2013,49:6164-6166.
- [ 13 ] Vass M, Diblikova I, Cernoch I, et al. ELISA for semicarbazide and its application for screening in food contamination [J]. Anal Chim Acta,2008,608(1):86-94.
- [ 14 ] 刘辉,梁德沛,花铁果,等. 食品中硝基呋喃类药物及其代谢物残留检测技术的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报,2013,4(2):383-388.
- [ 15 ] 国家标准化管理委员会. GB/T 21311—2007 动物源性食品中硝基呋喃类药物代谢物残留量检测方法高效液相色谱-串联质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2007.

## 实验技术与方法

# 高效液相色谱-紫外检测法快速测定小麦面粉中偶氮甲酰胺

张桂芳,张晓瑜,宫月华,孙兆鹏,刘泽静,韩文清  
(烟台市疾病预防控制中心,山东烟台 264003)

**摘要:**目的 建立小麦粉中偶氮甲酰胺的高效液相色谱快速检测法。方法 样品经二甲基亚砜-丙酮混合溶剂超声振荡提取,采用 Hypersil-C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为 10 mmol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 水溶液,流速为 1 ml/min,检测波长为 275 nm,进样量 20 μl,二极管阵列检测器定量。结果 偶氮甲酰胺在 0.01 ~ 1.00 mg/ml 范围内呈良好线性关系,相关系数  $r = 0.999 2$ ,  $RSD < 4.3\%$ , 平均回收率为 95.9%; 山东地区 85 份样品偶氮甲酰胺含量检测结果均小于检出限,符合现行限量标准。结论 本方法准确可靠,方便快捷,灵敏度高,适合于大批量小麦粉中偶氮甲酰胺的检测。

**关键词:**面粉; 偶氮甲酰胺; 高效液相色谱; 快速测定; 面粉处理剂; 食品添加剂; 食品安全

中图分类号:R155;O657.7;TS202.3 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2014)05-0473-03

DOI:10.13590/j.cjfh.2014.05.016

## Rapid determination of azodicarbonamide in wheat flour by HPLC-UV

ZHANG Gui-fang, ZHANG Xiao-yu, GONG Yue-hua, SUN Zhao-peng, LIU Ze-jing, HAN Wen-qing.  
(Yantai Center for Disease Control and Prevention, Shandong Yantai 264003, China)

**Abstract: Objective** To establish a method for the determination of azodicarbonamide (ADA) in wheat flour by HPLC. **Methods** The samples were extracted by acetone-dimethyl sulfoxide mixture with ultrasonic oscillations. The ADA separation was carried out on a Hypersil-C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with 10 mmol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution as mobile phase at a flow rate of 1 ml/min, and detected at 275 nm with a 20 μl injection volume. **Results** The linear range for ADA was 0.01-1.00 mg/ml, and the correlation coefficient was 0.999 2. The average recovery was 95.9% ( $RSD < 4.3\%$ ). The ADA content of 45 samples from Shandong province were lower than the detection limit, which were in line with the current standards. **Conclusion** The method was proved to be simple and accurate with good repeatability and high sensitivity, which could apply to the determination of ADA in bulk wheat flour.

**Key words:** Flour; azodicarbonamide; high performance liquid chromatography; rapid determination; flour treatment agents; food additives; food safety

收稿日期:2014-07-11

作者简介:张桂芳 女 副主任技师 研究方向为食品卫生检验研究 E-mail:yantaizgf@126.com

通讯作者:韩文清 女 主任技师 研究方向为食品卫生检验研究 E-mail:mi8550@126.com

偶氮甲酰胺 (azodicarbonamide, ADA) 是一种速效面粉增筋剂,其在干燥情况下不与面粉反应,但加水搅拌成面团时能将小麦蛋白质内氨基酸的巯基根(-SH)氧化成为二硫键(-S-S-),形成相互联结蛋白质链,改善面团的韧性、弹性<sup>[1-2]</sup>。由于新麦制成的小麦粉口感差,一些企业为了节约成本,在面粉制作中使用含 ADA 的熟粉剂以减少后熟小麦的使用量。但 ADA 在烘焙高温条件下可降解产生 0.1% 的氨基脲 (semicarbazide, SEM),具有致癌性和诱变性<sup>[3-5]</sup>。欧盟、澳大利亚、新加坡等国家已经禁止使用 ADA<sup>[6]</sup>。

我国现行 GB 2760—2011《食品添加剂使用卫生标准》<sup>[7]</sup>中规定小麦粉中 ADA 最大使用量为 45 mg/kg,推荐使用量为 10~20 mg/kg。虽然我国已规定偶氮甲酰胺在小麦粉中的使用限量,但小麦粉中偶氮甲酰胺的检测方法仍处于研究阶段,尚无相应的国家标准。卫生部 2011 年第 8 号公告<sup>[8]</sup>文件附件 2 中,对作为食品添加剂的偶氮甲酰胺 (含量 >98.6%) 推荐的检测方法为硫代硫酸钠滴定法,此法不适用于对小麦粉中微量偶氮甲酰胺的检测。本文建立一种应用高效液相色谱法 (HPLC) 快速检测面粉中微量偶氮甲酰胺的方法,较相关研究<sup>[2,9]</sup>方法仪器条件要求低,操作简单,高效灵敏,应用于对山东地区 85 份面粉样品中偶氮甲酰胺的检测,结果理想。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器与试剂

Waters 2695 型高效液相色谱仪 (配自动进样器和 waters 2998 二极管阵列检测器,美国 Waters)、OA-sys 氮吹仪 (美国 Organomation)、振荡器、离心机、旋涡混合器。

二甲亚砜、丙酮均为分析纯,配制二甲亚砜-丙酮 (1:8, V/V) 提取液;硫酸为 MOS 级;有机相滤膜 (45 μm);偶氮甲酰胺标准物质 (溶剂为二甲亚砜,1 000 mg/L,编号:213061006,美国 Accustandard);试验用水均为一级。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标准溶液配制

分别吸取偶氮甲酰胺标准溶液 0.10、0.50、1.00、5.00 ml 于 10 ml 容量瓶中,依次用二甲亚砜溶液稀释并定容至刻度,摇匀。同时采用标准原液为最高浓度点,得到浓度分别为 0.01、0.05、0.10、0.50、1.00 mg/ml 的标准系列使用液。

#### 1.2.2 样品处理方法

称取面粉样品约 5 g (精确到 0.01 g) 于 50 ml 塑料离心管中,加入 20 ml 二甲亚砜-丙酮溶液,室温下涡旋 2 min,超声提取 30 min,8 000 r/min 离心

5 min。取 10 ml 上层清液放置于刻度离心管中 30 °C 水浴中氮吹浓缩至 5 ml,过 45 μm 有机滤膜,滤液 24 h 内进行液相分析。

#### 1.2.3 色谱条件

色谱柱为 Hypersil gold C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm),柱温 35 °C,流速 1 ml/min,等度洗脱:10 mmol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 水溶液,检测波长 275 nm,进样量 20 μl。

## 2 结果与分析

### 2.1 提取液的选择

偶氮甲酰胺极性较强,微溶于水,易溶于二甲亚砜,微溶于丙酮等溶剂。二甲亚砜粘度较大,提取样品时易造成固-液两相不易分离,同时考虑到提取时所需溶剂的体积,故选择二甲亚砜-丙酮混合溶液 (1:8, V/V) 为提取液。

### 2.2 提取液稳定性试验

取浓度为 1 mg/ml 的偶氮甲酰胺标准溶液 1 ml 于试管中,用氮气吹至近干,加入二甲亚砜-丙酮提取液 10 ml 溶解,室温 25 °C 放置。于 24 和 48 h 分别进样测定标准品提取液峰面积,观察其室温条件下的稳定性。结果表明在 25 °C 条件下,偶氮甲酰胺提取液 48 h 内稳定性良好。

### 2.3 精密度与回收率试验

选择不含偶氮甲酰胺的面粉为空白样品,分别添加三种不同浓度的偶氮甲酰胺标准溶液,每份加标样品平行测定 6 次。方法平均回收率为 95.9%,RSD 为 4.3%。精密度及回收率测定结果见表 1,空白及 0.05 mg/ml 标准溶液的色谱图分别见图 1 和 2。

表 1 精密度及回收率测定结果 (n=6)

加标浓度/(mg/kg)	实测值/(mg/kg)	RSD/%	回收率/%
20.0	19.2	4.47	95.8
50.0	47.6	3.23	95.2
100.0	96.6	5.08	96.6

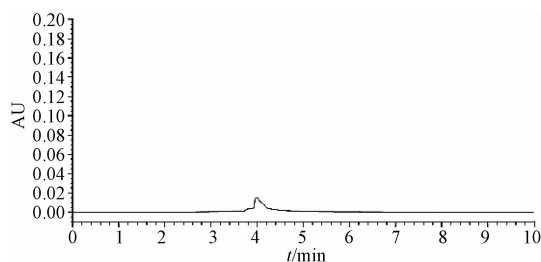


图 1 样品空白的色谱图

Figure 1 Chromatogram of blank solution

### 2.4 方法的线性范围、检出限与定量限

按 1.2.2 处理方法,在 1.2.3 色谱条件下,将浓度为 0.01、0.05、0.10、0.50、1.00 mg/ml 的偶氮甲酰胺标准溶液依次进样,得到回归方程为  $y = 9.6 \times$

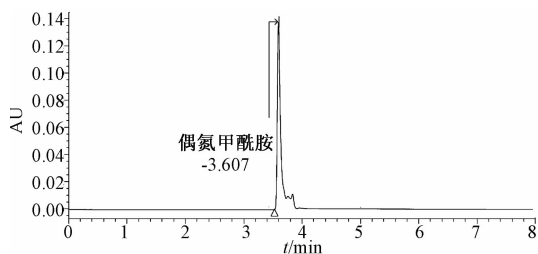


图2 0.50 mg/ml 偶氮甲酰胺标准溶液色谱图

Figure 2 Chromatogram of standard solution

$10^6 x + 2.0$  ( $y$  为峰面积,  $x$  为偶氮甲酰胺的质量浓度, mg/ml),  $r = 0.999 2$ , 偶氮甲酰胺在 0.01 ~ 1.00 mg/ml 范围内线性关系良好。定量限为 1.0 mg/kg ( $S/N > 10$ ), 可满足我国限量标准要求 45 mg/kg 的检测范围。

### 2.5 面粉样品的检测

本次检测 85 份样品来自山东省 6 个地市农贸市场及超市。试验结果显示, 本次检测的市售小麦粉中偶氮甲酰胺含量均小于检出限 ( $< 1.0$  mg/kg), 均合格。

### 3 小结

试验结果表明, 本文建立的 HPLC 测定小麦粉中的偶氮甲酰胺含量, 前处理方法简单, 缩短了分

析时间, 操作方便快捷, 线性范围广, 灵敏度及准确度均达到检测要求。应用本方法对山东地区面粉样品进行检测, 取得理想结果。

### 参考文献

- [1] 陈胜城, 黄韡, 马芬丽, 等. 一种低密度偶氮甲酰胺的检测方法研究[J]. 广东微量元素科学, 2013, 20(4): 27-30.
- [2] 吴正双, 梁焯琼, 钟海娟, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定面粉中的偶氮甲酰胺[J]. 现代食品科技, 2012, 28(9): 1239-1242.
- [3] Becalski A, Lau B P, Lewis D, et al. Semicarbazide formation in azodicarbonamide-treated flour: a model study [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(18): 5730-5734.
- [4] Stadler R H, Mottier P, Guy P, et al. Semicarbazide is a minor thermal decomposition product of azodicarbonamide used in the gaskets of certain food jars [J]. Analyst, 2004, 129(3): 276-281.
- [5] 陈志峰, 李成, 孙利, 等. 食品接触材料中的氨基脲问题[J]. 食品与科技, 2009, 25(2): 5-7.
- [6] 袁丽红, 丁洪流, 陈英, 等. 面粉添加剂偶氮甲酰胺代谢物联二脲的 HPLC-MS/MS 检测[J]. 食品工业科技, 2013, 34(10): 73-76.
- [7] 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标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
- [8] 中华人民共和国卫生部, 第 8 号公告. D-甘露糖醇等 58 个食品添加剂产品核准[S]. 2011.
- [9] 陈颖, 祁广建, 王熠, 等. HPLC 法测定面粉及其制品中偶氮甲酰胺的含量[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(2): 274-275.

## 实验技术与方法

# 金黄色葡萄球菌分型方法的建立及应用

冯震, 杨燕, 范一灵, 鲍英, 杨美成

(上海市食品药品检验所, 上海 201203)

**摘要:**目的 建立食源性金黄色葡萄球菌的分型与溯源方法。方法 以血浆凝固酶为目标基因, 通过 PCR 方法对食源性金黄色葡萄球菌进行鉴定, 同时借助全自动微生物基因指纹鉴定系统 (RiboPrinter) 对其进行分型和类聚状况分析。结果 PCR 方法可特异性鉴定金黄色葡萄球菌, RiboPrinter 方法可将金黄色葡萄球菌分为 6 个亚型, 各亚型类聚状况平均分布。结论 上述方法的建立可准确地将金黄色葡萄球菌进行鉴定和分型, 分析类聚分布与同源性关系, 为食源性致病菌的快速鉴定与分型溯源提供技术手段。

**关键词:**金黄色葡萄球菌; 血浆凝固酶; 全自动微生物基因指纹鉴定系统; 基因分型; 食源性致病菌

中图分类号: R155.5; R378.1<sup>+</sup>1 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2014)05-0475-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2014.05.017

## Development and application of molecular typing method for *Staphylococcus aureus*

FENG Zhen, YANG Yan, FAN Yi-ling, BAO Ying, YANG Mei-cheng

(Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

收稿日期: 2014-04-19

作者简介: 冯震 男 主管药师 研究方向为食源性致病菌的鉴定与分型 E-mail: zfeng929@sina.cn

通讯作者: 杨美成 女 主任药师 研究方向为药理学 E-mail: yangmeicheng@vip.sina.com