

- [15] 周兴,林党柒,杨汝松,等.一起小学生龙葵素中毒流行病学调查[J].中国学校卫生,2007,28(9):849-850.
- [16] 万泉,邓崇明,郭文琼.一起食用马铃薯引起的食物中毒调查[J].现代预防医学,2007,34(21):4105-4109.
- [17] 浙江省医学科学院安全性评价研究中心.龙葵素的生殖毒性研究进展[J].中国临床药理学与治疗学,2013,18(11):1291-1296.
- [18] 董晓茹,沈敏,刘伟.龙葵素中毒及检测的研究进展[J].中国司法鉴定,2013(2):35-41.
- [19] 王丹,丁颖,程莉,等.超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱法测定土豆中 α -茄碱与 α -卡茄碱含量[J].中国食品卫生杂志,2014,26(3):233-237.
- [20] 钟源,肖文军,马蕊,等.正交试验优化马铃薯龙葵素提取技术[J].食品科学,2013,34(10):6-10.
- [21] 张薇,文雄,潘双银,等.微波辅助提取马铃薯龙葵素[J].园艺学报,2008,35(9):1393-1396.
- [22] 张薇,熊兴耀,李霞.马铃薯中龙葵素的提取方法[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2006,32(6):665-667.
- [23] 张薇,邱成,高荣,等.不同贮藏条件下马铃薯块茎皮中龙葵素含量的变化[J].中国马铃薯,2013,27(3):144-147.
- [24] 吴耘红,江成英,王拓一,等.储藏条件对马铃薯渣中龙葵素含量影响的研究[J].农产品加工,2008(7):144-146.
- [25] 张舵.反相高效液相色谱法检测马铃薯中龙葵素含量[J].齐齐哈尔大学学报,2013,29(5):24-25.

实验技术与方法

原子荧光法测定食品中总砷的3种前处理法比较

安建博¹,沈讷敏¹,张祎玮¹,赵桂鹏¹,刘锐晓¹,韩蓓²,

(1. 西安市疾病预防控制中心,陕西 西安 710054; 2. 西安交通大学医学部,陕西 西安 710061)

摘要:目的 建立准确、可靠、稳定的测定食品中总砷的分析方法。方法 利用湿消解法、微波消解法、干灰化法分别处理食品样品,用氢化物发生原子荧光光谱法测定食品中总砷的含量。结果 鱼粉、紫菜(GBW 10023-GSB-14)、大米(GBW 10010)、鸡肉(GBW 10018)干灰化法测定总砷的结果为 3.18 ± 0.052 、 27.01 ± 0.063 、 0.104 ± 0.002 、 0.115 ± 0.004 mg/kg 均在参考值范围,加标回收率为93.7%~98.5%, $RSD \leq 2.31\%$;湿消解法测定结果为 3.12 ± 0.041 、 26.93 ± 0.072 、 0.103 ± 0.003 、 0.112 ± 0.003 mg/kg 均在参考值范围,加标回收率为89.2%~97.5%, $RSD \leq 1.92\%$;微波消解法处理鱼粉和紫菜的测定结果为 1.74 ± 0.032 、 15.40 ± 0.096 mg/kg 不足参考值的60%,但大米、鸡肉的测定值为 0.102 ± 0.001 、 0.114 ± 0.005 mg/kg 在参考值范围,加标回收率为96.3%~97.5%, $RSD \leq 2.51\%$ 。湿消解法具有灵活调节消解温度,消解酸种类、用量和消解时间等优点,可适用于大部分食品样品的前处理;微波消解法耗时间短,但用酸量大,适用于砷存在形态相对简单的样品;干灰化法耗时间较长,适用于挥发温度高、油脂含量高、砷存在形态比较复杂的样品。结论 湿消解法、干灰化法适用于大部分食品样品的前处理,微波消解法使用有局限性,仅适用于砷存在形态相对简单的样品。

关键词:原子荧光法;湿消解;微波消解;干灰化;食品;总砷;食品污染物

中图分类号:R155.5;O657.3 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2015)05-0520-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2015.05.008

The comparison of 3 pretreatment methods for total arsenic determination by with atomic fluorescence spectrometry in food

AN Jian-bo, SHEN Ne-min, ZHANG Yi-wei, ZHAO Gui-peng, LIU Rui-xiao, HAN Bei
(Xi'an Center for Disease Control and Prevention, Shaanxi Xi'an 710054, China)

Abstract: Objective To establish an accurate, reliable and stable method for determination of total arsenic in food. **Methods** Fish, seaweed (GBW 10023-GSB-14), rice (GBW 10010) and chicken (GBW 10018) were selected as food samples, which were pretreated by wet digestion, microwave digestion and dry ashing respectively, and determined by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Results** The total arsenic results of dry ashing were 3.18 ± 0.052 , 27.01 ± 0.063 , 0.104 ± 0.002 and 0.115 ± 0.004 mg/kg which were in the range of reference values. The recovery rates were 93.7%~98.5%, and the RSD was below 2.31%. The results of wet digestion were 3.12 ± 0.041 , 26.93 ± 0.072 ,

收稿日期:2015-08-03

基金项目:西安市卫生局科研项目(J2014043);西安地区农村饮水工程水质重金属监测及安全性评价

作者简介:安建博 男 副主任技师 研究方向为食品理化检验 E-mail:anjianbo2005@163.com

0.103 ± 0.003 and 0.112 ± 0.003 mg/kg which were in the reference range. The recovery rates were 89.2% - 97.5%, and the RSD was below 1.92%. The results of fish and seaweed with microwave digestion were 1.74 ± 0.032 and 15.40 ± 0.096 mg/kg, which were less than 60% of the reference value, but the results of rice and chicken were 0.102 ± 0.001, 0.114 ± 0.005 mg/kg, both in the reference range. The recovery rates were 96.3% - 97.5%, and the RSD was below 2.51%. Wet digestion could be applied to most of the food samples for its flexibility in digestion temperature, time, type and dosage of acid. Microwave digestion consumed less time but large amount of acid, which could be applied to the relatively simple samples. Dry ashing method was suitable for samples of high volatile temperature, high oil content and complex arsenic structure because of its time-consuming. **Conclusion** Wet digestion and dry ashing could be applied as the pre-treatment of most food samples. Microwave digestion method has its limitations, only suitable for samples of arsenic with relatively simple morphology.

Key words: Atomic fluorescence spectrometry; wet digestion; microwave digestion; dry ashing; food; total arsenic; food contaminant

砷是具有蓄积作用的有害元素,普遍存在于自然环境,食品监测中常被列为重点检测项目,国标中主要测定总砷的分析方法有氢化物原子荧光光谱法、银盐法、砷斑法,另外还有一些其他测定方法,如氢化物原子吸收光谱法、电感耦合等离子体发射光谱-质谱法(ICP-MS)等^[1-2]。样品的前处理方法有干灰化法、微波消解法、湿消解法等^[3-4]。砷及其化合物已被国际癌症机构确认为致癌物,砷以不同的化学形态存在,其中包括无机砷(三价砷和五价砷)以及有机砷,毒性顺序为 $AsH_3 > As^{3+} > As^{5+} > R-As-X$ ^[5]。

氢化物发生-原子荧光光谱法是具有中国特色的分析技术,用该法测定砷具有谱线简单、灵敏度高、精确度高、检出限低、干扰少、操作简单等特点^[6],因此备受关注。对于食品检测,能否得到准确结果,选择合适的前处理方法,尤其重要。砷在自然界中以亚砷酸盐、砷酸盐、单甲基胂酸、二甲基胂酸、砷甜菜碱、砷胆碱等多种化合物形式存在^[7]。样品消解前处理是否彻底,即有机砷是否彻底转化为无机砷是影响检测结果的关键因素^[8]。本文所选的4种样品,其中鱼粉、紫菜粉中砷的存在形态最复杂,据文献报道^[9],动物性海产品主要存在砷甜菜碱(AsB)和砷胆碱(AsC),植物性海藻的砷糖(AsS)很丰富,但不存在砷甜菜碱。本文对食品样品采用3种不同的消解方法,用氢化物发生原子荧光光谱法测定总砷,在优化仪器检测条件的同时,探讨3种前处理方法的优缺点。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 样品来源

鱼粉为山东出入境检验检疫局检验检疫技术中心提供,国家标准物质鸡肉(GBW 10018)、紫菜(GBW 10023-GSB-14)和大米(GBW 10010)购于国

家标准物质中心。

1.1.2 主要仪器与试剂

AFS-9130 原子荧光光度计(北京吉天仪器有限公司)、砷编码空心阴极灯(北京有色金属研究院)、MARS5 微波消解仪(美国 CEM)、恒温干燥箱、电热板、电子天平、恒温电加热器、水浴锅、可调式电炉、马弗炉。所用玻璃器皿及微波消解罐均用 1.6 mol/L 的硝酸浸泡 24 h 以上,用水反复冲洗,最后用纯水冲洗干净,晾干。

砷单元素标准溶液(国家环境保护部标准样品研究所,100 mg/L,批号 103009),砷标准应用液(100 μg/L):按照逐级稀释的原则配制成 100 μg/L 砷标准应用液。硝酸、硫酸、高氯酸、硼氢化钾、硫脲、氧化镁均为优级纯,硝酸镁、抗坏血酸、氢氧化钠均为分析纯,盐酸,高纯氩气。100 g/L 硫脲-抗坏血酸溶液:称取 10.0 g 硫脲及 10.0 g 抗坏血酸溶于水后,定容至 100 ml;150 g/L 硝酸镁溶液:称取硝酸镁 15 g,加水溶解后稀释至 100 ml;载流:0.6 mol/L 盐酸;还原剂 20 g/L 硼氢化钾溶液:取 10.0 g 硼氢化钾,用 2 g/L 的氢氧化钠溶液溶解并稀释至 500 ml(临用时现配);试验用水为超纯水。

1.2 方 法

1.2.1 前处理方法

湿消解法:准确称取样品、标准物质 0.5 g 左右于 100 ml 锥形瓶中,同时做 2 份试剂空白,6 份加标平行样品。加硝酸 30 ml,硫酸 1.5 ml,摇匀后放置过夜,置于电热板上加热消解。处理消解液至 10 ml 左右,取下放冷,补加硝酸 10 ml 再消解至 10 ml 左右,注意避免炭化。取下放冷加入高氯酸 2.0 ml,继续加热至消解完全后,再持续蒸发至高氯酸的白烟散尽,硫酸的白烟开始冒出。冷却,加水 25 ml,再蒸发至冒硫酸白烟。冷却,用水将内容物转入 25 ml 的比色管中,加入 100 g/L 的硫脲-抗坏血酸溶液

2.5 ml,加水至刻度并混匀,待测。

微波消解法:准确称取样品、标准物质 0.3 g 左右于消解罐中,同时做 2 份试剂空白,6 份加标平行样品。加入硝酸 5.0 ml 放置过夜冷消,补加硝酸 4.0 ml,严格按照微波消解仪的操作步骤,消解溶液至无色透明,加热赶酸至样品液剩 1~2 ml,冷却至室温。将样品液转入 25 ml 比色管中,用纯水少量多次洗涤消解罐,加入盐酸 1.5 ml、100 g/L 的硫脲-抗坏血酸溶液 2.0 ml,用纯水定容至刻度,混匀,待测。

干灰化法:准确称取样品、标准物质 1 g 左右于 100 ml 坩埚中,同时做 2 份试剂空白,6 份加标平行样品。加 150 g/L 硝酸镁 10.0 ml 和样品充分混匀,90 °C 水浴蒸干,将研磨细的氧化镁粉末 1.00 g 均匀覆盖在干渣上,先在 260 °C 的电热板上干燥水分 20 min,然后置于电炉上炭化至无黑烟冒出,移入 550 °C 马弗炉中灰化 4 h,取出放凉。小心加入 6 mol/L 盐酸 10.0 ml 以中和氧化镁并溶解灰分,转入 25 ml 比色管中,用 1.8 mol/L 硫酸少量多次冲洗坩埚。加入 100 g/L 的硫脲-抗坏血酸溶液 2.5 ml,用纯水定容至刻度,混匀,待测。

1.2.2 仪器条件(见表 1)

2 结果

2.1 方法检出限、线性范围和稳定性

检出限的测定按仪器操作软件给出的方法,进行连续测定空白 11 次,以 3 倍空白标准差除以标准曲线斜率得到方法检出限为 0.048 $\mu\text{g/L}$ 。用 0.6 mol/L 盐酸溶液稀释砷标准应用液,0.00、5.00、10.00、20.00、30.00、40.00、50.00 $\mu\text{g/L}$ 的标准系列,线性范围 0~50.00 $\mu\text{g/L}$,相关系数 $r=0.9997$,回归方程 $y=144.8641x+16.4988$ 。对 10.00 $\mu\text{g/L}$

表 1 原子荧光仪主要参数

Table 1 Main parameters of atomic fluorescence spectrometer

仪器参数	参数值
光电倍增管负高压/V	280
砷空心阴极灯电流/mA	60
辅阴极电流/mA	30
原子化器温度/°C	200
原子化器高度/mm	8
载气流量/(ml/min)	400
屏蔽气流量/(ml/min)	800
进样体积/ml	1.0
测量方法	标准曲线法
读数方式	峰面积
读数时间/s	7
延迟时间/s	0.5

砷标准溶液进行连续 11 次测定,得到仪器的精密密度为 1.29%。

2.2 校正曲线和不同前处理方法总砷的检出限

砷标准应用液 100 $\mu\text{g/L}$,用 0.6 mol/L 盐酸溶液稀释成 0.00、2.00、4.00、8.00、12.00、16.00、20.00 $\mu\text{g/L}$ 的标准系列。测得砷的标准曲线回归方程及相关系数分别为 $y=131.3332x-13.0523$, $r=0.9999$ 。在相同条件下测定样品,从校正曲线上求得样品砷的含量。湿消解、微波消解、干灰化法进行样品前处理,用氢化物发生原子荧光光谱法测定总砷的检出限分别为 0.01、0.01、0.02 mg/kg。

2.3 3 种前处理方法测定总砷的结果对比

对鱼粉、鸡肉粉、大米粉、紫菜粉分别用湿消解、微波消解、干灰化法进行样品前处理,用氢化物发生原子荧光光谱法检测总砷含量,以鸡肉粉、紫菜粉和米粉为质控样品,结果见表 2。

2.4 3 种前处理法测定总砷的加标回收率和精密密度

对鱼粉、鸡肉粉、大米粉分别进行加标试验,测定结果、加标回收率、相对标准偏差见表 3。

表 2 食品中总砷用 3 种前处理法测定的结果比较($\bar{x} \pm s, \text{mg/kg}$)

Table 2 Comparison of 3 pretreatment methods for determining total arsenic in food

样品种类	总砷测定值			标准认定值	F 值	P 值
	湿消解法	微波消解法	干灰化法			
鱼粉	3.120 \pm 0.041	1.740 \pm 0.032	3.180 \pm 0.052	3.030 \pm 0.282	2 187.66	<0.01
大米粉	0.103 \pm 0.003	0.102 \pm 0.001	0.104 \pm 0.002	0.102 \pm 0.008	1.44	0.267
鸡肉粉	0.112 \pm 0.003	0.114 \pm 0.005	0.115 \pm 0.004	0.109 \pm 0.013	0.737	0.495
紫菜粉	26.93 \pm 0.072	15.40 \pm 0.096	27.01 \pm 0.063	27 \pm 6	43 536	<0.01

表 3 食品中总砷用 3 种前处理法测定的加标回收率和精密密度($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Recovery and precision of determining total arsenic by 3 pretreatment methods in food

样品种类	加标水平	本底值/(mg/kg)			测定值/(mg/kg)			回收率/%			RSD/%		
		湿法	微波法	干灰化法	湿法	微波法	干灰化法	湿法	微波法	干灰化法	湿法	微波法	干灰化法
鱼粉	1.0	3.12	1.74	3.18	4.01 \pm 0.060	2.580 \pm 0.070	4.120 \pm 0.043	89.2	84.3	93.7	1.49	2.71	1.02
大米粉	0.1	0.103	0.102	0.104	0.199 \pm 0.004	0.200 \pm 0.004	0.202 \pm 0.005	96.2	97.5	98.5	1.92	1.87	2.31
鸡肉粉	0.1	0.112	0.114	0.115	0.210 \pm 0.004	0.210 \pm 0.005	0.213 \pm 0.004	97.5	96.3	97.8	1.88	2.51	1.89

3 讨论

3.1 仪器参数选择

光电倍增管负高压和灯电流的增大,均能增大荧光强度,但仪器信噪比增大会缩短灯的使用寿命,在灵敏度满足检测要求时,选择负高压280 V和灯电流60 mA。原子化器炉高过低时,激发光源射到炉口所引起的反射光过强,使空白荧光强度较高,会导致检出限变高;炉高过高时光束照在尾焰上,尾焰体积小且易晃动,测定的灵敏度和精度均会下降^[10],经试验选择炉高为8 mm。载气流速过低不能将氢化物迅速带入原子化器,且使氢氩焰不稳定,增加背景噪声,载气流速过大会稀释气态原子的浓度,本试验选用载气流速400 ml/min,屏蔽气流速800 ml/min。

3.2 硼氢化钾浓度和反应介质及酸度的选择

硼氢化钾浓度对荧光强度影响较大。分别选取了浓度为5、10、15、20、30、40、50 g/L的硼氢化钾进行试验,考察其对荧光强度的影响。结果表明:当硼氢化钾浓度 ≥ 20 g/L时,信号趋于稳定,故本试验选择硼氢化钾的浓度为20 g/L。配制硼氢化钾-氢氧化钠还原剂时要将硼氢化钾溶入氢氧化钠溶液中,因为硼氢化钾水溶液不稳定必须加入氢氧化钠以提高其稳定性。氢氧化钠浓度过低,无法起到稳定作用,过高会降低反应时的酸度,从而降低稳定性^[11]。本法选用氢氧化钠浓度为2 g/L,硼氢化钾浓度为20 g/L。

试验发现,硫酸的空白值很高,硝酸有氧化性,和还原剂硫脲-抗坏血酸以及硼氢化钾有剧烈的反应,均不适合做载流,和文献上基本一致^[12]。本方法在0.1~1.0 mol/L的盐酸酸度范围内进行了试验,发现0.6 mol/L的盐酸给出的荧光强度最大且空白值较低,故选0.6 mol/L的盐酸作为载流。

3.3 前处理方法的选择

食品样品的前处理可采用湿消解法、微波消解法和干灰化法。在采用微波消解法处理鱼粉和紫菜粉时,通过原子荧光法测定,所测结果为 1.74 ± 0.032 、 15.40 ± 0.096 mg/kg与标准参考值 3.03 ± 0.282 、 27 ± 6 mg/kg比较,发现测定结果不足参考值的60%。造成测定结果偏低的原因有以下几个方面因素:①微波消解温度不够。微波消解仪是以高温高压来提高消解速度的,所设定微波消解的最高温度为200℃^[13],此温度下的砷甜菜碱、砷胆碱、砷糖类物质很稳定,即使有强酸存在,也不能引起它们的分解。样品消解不完全,原子态的氢也不能将有机砷还原成砷原子,进而导致结果偏低。②消

解液用量不足。因微波消解仪的操作规范限定,消解罐中溶液不得超过总容积的2/3,限定了酸的用量。③消解时间不足也是一个因素。微波消解一般1h之内即完成,而鱼粉、紫菜粉中砷的存在形态复杂,且大部分是难分解的稳定砷化合物,较短时间内不足以使之完全分解。此三者最关键的因素还是消解温度的影响,达不到鱼粉、紫菜粉中砷化合物的分解温度,很难使所有形态的砷转化成离子态。但米粉、鸡肉粉的测定值为 0.102 ± 0.001 、 0.114 ± 0.005 mg/kg均符合标准参考值 0.102 ± 0.008 、 0.109 ± 0.013 mg/kg,可知微波消解对砷存在形态相对简单的样品有较好的消解效果。有文献报道^[9]砷甜菜碱和砷胆碱在硝酸中加热会转化为三甲基胂氧,接着转化为二甲基胂酸(DMA);砷糖在酸碱条件下会发生糖水解形成基础糖元。在硝酸氧化体系中,单甲基胂酸(MMA)在小于140℃条件下和DMA在小于200℃条件下稳定,DMA在300℃硝酸中消解1.5h才能完全转变为五价砷离子,所以样品中存在复杂形态砷化物时,微波消解不能使样品彻底无机化。

采用湿消解法处理鱼粉、紫菜粉、大米粉和鸡肉粉时,所测结果为 3.12 ± 0.041 、 26.93 ± 0.072 、 0.103 ± 0.003 、 0.112 ± 0.003 mg/kg均符合参考值范围,加标回收率为89.2%~97.5%, $RSD \leq 1.92\%$ 。湿法消解法采用硝酸-硫酸-高氯酸消解体系,因为有了硫酸和高氯酸的存在,破坏性比较强,硫酸又能提高消解液的温度,硫酸恒沸溶液温度可达338℃。由以上测定数据可见,湿法消解的温度可以达到破坏鱼粉、紫菜粉中有机砷的稳定结构,克服了微波消解法所不能解决的问题,从而得到准确的测定结果。选择湿法消解,加入硫酸、高氯酸这两种高沸点、强氧化性酸可以提高消解温度和消解效率,但是消解过程中要反复加酸、加热,一方面酸的使用量增加,另一方面操作过程中要反复加热,增加了试验操作难度,消解时间也较长,在试验过程中要注意操作的安全性。湿法消解相对微波消解的优点在于,可凭经验控制温度和反应速度,可以对不同基体样品同时消解,样品处理速度快,方法设备易普及,试剂消耗少,实际工作中可以和其他方法互补使用^[14]。

采用干法灰化法处理鱼粉、紫菜粉、大米粉和鸡肉粉时,所测结果为 3.18 ± 0.052 、 27.01 ± 0.063 、 0.104 ± 0.002 、 0.115 ± 0.004 mg/kg均符合参考值范围,加标回收率为93.7%~98.5%, $RSD \leq 2.31\%$ 。干灰化法处理样品时应注意的事项:①加入硝酸镁、氧化镁作为灰化助剂,试剂最好用优级

纯,加入硝酸镁溶液的量要准,和样品充分混匀,水浴 90 ℃ 蒸干。氧化镁粉末要细,称量要准,误差控制在 0.01 g 以内,覆盖要均匀,这些可以降低试剂空白值,保证较好的平行试验效果。②炭化前最好在 260 ℃ 电热板上先烤干水分再炭化,可防止炭化时样品起泡、飞溅,减少样品损失。

综上所述,湿消解法具有灵活调节消解温度,消解酸种类、用量和消解时间等优点,可适用于大部分食品样品的前处理;微波消解法处理食品样品时耗费时间短,但最高消解温度有限,酸用量大,适合砷存在形态相对简单的样品;干灰化法处理食品样品时耗费时间较长,适用于挥发温度高、油脂含量高、砷存在形态比较复杂的样品。对于前处理比较理想的样品,氢化物发生原子荧光光谱法具有准确灵敏、简便高效的特点,适用于食品中总砷的测定。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.11—2003 食品中总砷和无机砷的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2004.

[2] 伍雨江,聂婵,万兴兰,等. 原子荧光法测定酱油中总砷的含量[J]. 农产品加工:学刊,2014(10):49-51.

[3] 郭莹莹,翟毓秀,林洪,等. 海产品中砷化合物检测方法的研

究进展[J]. 水产科学,2008,27(12):674-679.

[4] 徐虹,张春玲,宋寅生,等. 原子荧光法测定海产品中总砷前处理方法的研究[J]. 江苏预防医学,2010,21(6):51-52.

[5] 宋洪强,郝云彬,吴益春,等. 原子荧光光度法中湿法消解、微波消解、干灰化前处理法测定水产品中总砷含量的比较[J]. 浙江海洋学院学报:自然科学版,2010,29(4):367-372.

[6] 刘明钟,汤志勇,刘雯欣. 原子荧光光谱分析[M]. 北京:化学工业出版社,2008.

[7] 屈明华,汤富彬,倪张林. 原子荧光法测定食品总砷的前处理方法探讨[J]. 食品科学,2013,34(10):177-179.

[8] 吴艳,帅文林,陈大志. 不同前处理条件对水产品中总砷含量的影响[J]. 广州化工,2010,38(8):206-207.

[9] 马国军. 不同前处理对原子荧光法测定海产品总砷的影响[J]. 中国食品添加剂,2013(3):238-241.

[10] 王正,张妮娜,李敏,等. 氢化物发生-原子荧光光度法测定保健食品袋泡茶中的总砷[J]. 中国卫生检验杂志,2011,21(11):2650-2653.

[11] 刘敏敏,陈俏. 不同消化方法对氢化物发生-原子荧光法测定鱼粉中总砷的影响[J]. 中国卫生检验杂志,2013,23(4):1041-1042.

[12] 陈宇鸿,沈仁富. 微波消解-原子荧光光谱法测定发中砷[J]. 中国卫生检验杂志,2013,23(12):2586-2588.

[13] 林磊. 虾粉中总砷测定方法的研究[J]. 江西食品工业,2011(2):30-32.

[14] 卢俊荣. 原子荧光法测农产品中总砷的前处理方法探讨[J]. 商品与质量,2012(7):120-121.

实验技术与方法

实时荧光单引物等温扩增检测阪崎克罗诺杆菌方法的建立

李静,段永生,王建昌,孙晓霞,胡连霞

(河北出入境检验检疫局检验检疫技术中心,河北 石家庄 050051)

摘要:目的 建立实时荧光单引物等温扩增(SPIA)检测阪崎克罗诺杆菌的方法。方法 本文以阪崎克罗诺杆菌 *OmpA* 基因特异序列为靶序列,设计 RNA-DNA 组合引物和链终止序列,优化反应体系,对 4 株不同来源阪崎克罗诺杆菌和 21 株其他食源性致病菌进行实时荧光 SPIA 特异性分析,通过不同浓度梯度阪崎克罗诺杆菌菌悬液灵敏度的检测和添加有阪崎克罗诺杆菌的婴儿配方奶粉样品检出限的确定,评价方法的准确度。结果 除 4 株阪崎克罗诺杆菌外,其他细菌均未出现特异性荧光扩增曲线,具有良好的特异性。在 40 min 内,实时荧光 SPIA 检测阪崎克罗诺杆菌纯培养基基因拷贝灵敏度为每反应 1 copies,相应活菌数为 1.6×10^{-1} cfu/ml;对婴儿配方奶粉模拟样品中阪崎克罗诺杆菌的检出限是 1.5×10^0 cfu/100 g。结论 本研究建立的方法具有灵敏度高、特异性强、耗时短、操作简单等优点,适用于实验室快速检测阪崎克罗诺杆菌 *OmpA* 基因。

关键词:实时荧光;单引物;等温扩增;阪崎克罗诺杆菌;*OmpA* 基因;婴儿配方奶粉;食源性致病菌

中图分类号:R155;Q93-3 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-8456(2015)05-0524-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2015.05.009