

# 面粉中偶氮甲酰胺含量的高效液相色谱法测定

陈 波, 靳保辉, 林燕奎, 谢丽琪

(深圳出入境检验检疫局, 广东 深圳 518067)

**摘 要:** 面粉中偶氮甲酰胺 (azodicarbonamide, ADA) 用丙酮提取, 提取液氮吹浓缩后用 20 mmol/L 乙酸铵的水溶液定容, 并用正己烷脱脂。样液供高效液相色谱仪测定, 外标法定量。方法的线性范围为 0 ~ 50 mg/L ( $r=1.000$ ), 定量下限为 1.0 mg/kg。在面粉基质中分别添加 1.0、2.0、50.0 mg/kg 3 个水平的偶氮甲酰胺标准品, 方法的回收率为 80%~92%, 相对标准偏差小于 7%。

**关键词:** 面粉; 偶氮甲酰胺; 高效液相色谱

**中图分类号:** O657.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 - 4957 (2008) 09 - 1002 - 03

## Determination of Azodicarbonamide in Flour by High-performance Liquid Chromatography

CHEN Bo, JIN Bao-hui, LIN Yan-kui, XIE Li-qi

(Shenzhen Entry - Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenzhen 518067, China)

**Abstract:** The azodicarbonamide (ADA) in flour was extracted with acetone. The extract was then concentrated under nitrogen and diluted to 1 mL with 20 mmol/L ammonium acetate aqueous solution. After removed the lipid by hexane, the extract was analyzed by HPLC with external standard method. The method has a good linearity in the range of 0 - 50 mg/L ( $r=1.000$ ) with the quantification limit of 1.0 mg/kg. The recoveries of ADA from flour spiked at three levels of 1.0, 2.0 and 50.0 mg/kg were in the range of 80% - 92% with the relative standard deviations less than 7%.

**Key words:** flour; azodicarbonamide (ADA); high-performance liquid chromatography (HPLC)

偶氮甲酰胺 (azodicarbonamide, ADA) 是一种黄至橘红色结晶性粉末, 无臭, 常用于小麦粉处理剂及焙烤食品快速发酵剂。ADA 为 0 ~ 0.045 g/kg 时被认为无毒<sup>[1]</sup>。目前, 我国 GB 2760《食品添加剂使用卫生标准》(含 1997~2006 年增补品种) 规定小麦粉中 ADA 最大使用量为 0.045 g/kg。

偶氮甲酰胺作为一种新型面团改良剂, 可改善面团的物理操作性质及面制品组织结构<sup>[2]</sup>, 在国外已广泛应用。近年来, 有研究表明偶氮甲酰胺在面粉中可能代谢产生氨基脒 (semicarbazide, SEM)<sup>[3]</sup>。SEM 通常作为呋喃西林 (nitrofurazone) 的代谢物在兽药残留中检出。硝基呋喃类药物具有致突变和致癌作用, 因此, 面粉中偶氮甲酰胺的快速检测方法的开发显得尤为重要。虽然我国已规定偶氮甲酰胺在面粉中的最大使用量, 但目前还未见有关于面粉中 ADA 快速检测方法的报道, 也无相关的检测标准。本文建立了面粉中 ADA 的高效液相色谱分析方法, 该方法前处理简单, 灵敏度高, 能够广泛应用于面粉中 ADA 的检测。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪, 配自动进样器和二极管阵列检测器 (DAD); 振荡器 (SA400 型, 日本 Yamato 公司); 离心机 (Universal 32 型, 德国 Hettich 公司); 旋涡混合器 (M37610-33 型, 美国 Bamstead 公司); 吹氮浓缩仪 (Turbo Vap LV 型, 美国 Zymark 公司)。

水为去离子水; 乙腈、二甲基甲酰胺为色谱纯; 丙酮、正己烷为分析纯; 滤膜 (0.20  $\mu\text{m}$ , 水相); 偶氮甲酰胺标准品 (纯度大于 99.0%) 购自美国 Chem service 公司。

收稿日期: 2007 - 12 - 11; 修回日期: 2008 - 03 - 10

基金项目: 深圳市资助项目 (SY200609110046A)

第一作者: 陈 波 (1981 - ), 男, 福建霞浦人, 助理工程师, 硕士, Tel: 0755 - 26680670, E - mail: jakeebo2001@sohu.com

## 1.2 标准溶液配制

准确称量适量标准物质，用二甲基甲酰胺溶解并定容，配制成 1 000 mg/L 标准储备液，分装于液相小瓶中，在 - 80 °C 冰箱中保存，2周内使用。根据需要用 20 mmol/L 乙酸铵的水溶液配制标准工作溶液。

## 1.3 样品处理方法

称取面粉 1 g (精确到 0.001 g) 于 50 mL 塑料离心管中，加入 10 mL 丙酮，室温下振荡提取 15 min，5 000 r/min 离心 5 min。取上层 5 mL 丙酮于 40 °C 氮吹至近干，用 20 mmol/L 乙酸铵的水溶液定容至 1 mL，再加入 1 mL 正己烷，旋涡振荡。静置分层，取下层水溶液过滤膜，立即进行液相分析。

## 1.4 液相色谱条件

色谱柱：Nucleosil 100-5 CN，250 mm × 4.6 mm (i.d.)，5 μm；柱温：25 °C；流速：0.8 mL/min；等度洗脱：20 mmol/L 乙酸铵的水溶液 - 乙腈 (体积比 80 : 20)；检测波长：245 nm；进样量：10 μL。

## 2 结果与讨论

### 2.1 萃取溶剂的选择

偶氮甲酰胺极性较强，易溶于二甲亚砜和 N,N-二甲基甲酰胺，微溶于水、醇和丙酮等有机试剂。二甲亚砜和 N,N-二甲基甲酰胺虽然对偶氮甲酰胺溶解度高，但其保留时间与偶氮甲酰胺相似，会产生干扰。同时二者不易挥发，不易通过挥发除去干扰，故不适合作为提取溶剂。若用水提取，面粉中的水溶性成分也会对偶氮甲酰胺的分析造成干扰。甲醇、乙腈等作为提取溶剂所得的水溶性杂质较多，也不适合作为提取溶剂。经过比较，以丙酮作为提取溶剂，可满足微量偶氮甲酰胺的提取要求，且所提取干扰杂质较少。因此本实验选用丙酮作为萃取溶剂。

### 2.2 净化方法的选择及优化

面粉的丙酮提取液在浓缩后，分别用 2 种提取液定容以萃取偶氮甲酰胺，同时加入正己烷脱脂。实验比较了水 - 乙腈 (体积比 2 : 8，下同) 和水 2 种提取液，结果发现用水 - 乙腈 (2 : 8) 所得谱图在偶氮甲酰胺出峰处有明显干扰，而用水提取所得 HPLC 谱图无干扰。因此本方法使用纯水作为萃取溶剂，同时使用正己烷除去脂质的干扰。

### 2.3 提取液稳定性研究

提取液中偶氮甲酰胺的稳定性对实验结果有很大影响。以加标 50 mg/kg 面粉为研究对象，丙酮为溶剂提取偶氮甲酰胺，在室温 (约 20 °C) 条件下，于 24 h 内测定提取液峰面积，考察其稳定性曲线。结果表明，所得提取物在 20 °C 条件下，偶氮甲酰胺提取液于 24 h 内稳定。

### 2.4 液相色谱条件的优化

2.4.1 液相色谱柱的选择 偶氮甲酰胺在 C<sub>18</sub> 色谱柱上几乎没有保留，曾尝试庚烷磺酸钠、十二烷基磺酸钠等离子对试剂，都无法推迟其出峰时间。因此本实验采用对极性物质有一定保留的氰基柱作为分析柱，其保留时间约 5.0 ~ 6.0 min，满足分析需要。

2.4.2 流动相的选择 本实验以不同比例的乙腈与 20 mmol/L 乙酸铵作流动相等度洗脱，结果发现，乙腈与 20 mmol/L 乙酸铵体积比为 2 : 8 时，既能与面粉中干扰杂质分离，同时不会受二甲基甲酰胺及丙酮色谱峰的干扰，分离效果较为满意 (出峰时间 5.5 min)，如图 1。

### 2.5 方法的线性范围、检出限与定量下限

逐级稀释偶氮甲酰胺标准工作液进行 HPLC 分析，回归方程为  $y = 19.774 2 x - 1.006 9$  (y 为峰面积，x 为偶氮甲酰胺的质量浓度，mg/L)，线性范围为 0 ~ 50 mg/L， $r = 1.000$ ，定量下限为 1.0 mg/kg ( $S/N > 10$ )。

### 2.6 检测方法精密度与回收率

选择面粉为基质，分别添加 1.0、2.0、50.0 mg/kg 3 个水平的偶氮甲酰胺标准品，每个加标水平平行测定 10 次。实验结果表明，方法的平均回收率在 80% ~ 92% 之间，方法的相对标准偏差小于 7%，满足日常检测需要。空白及加标液相色谱图见图 1。

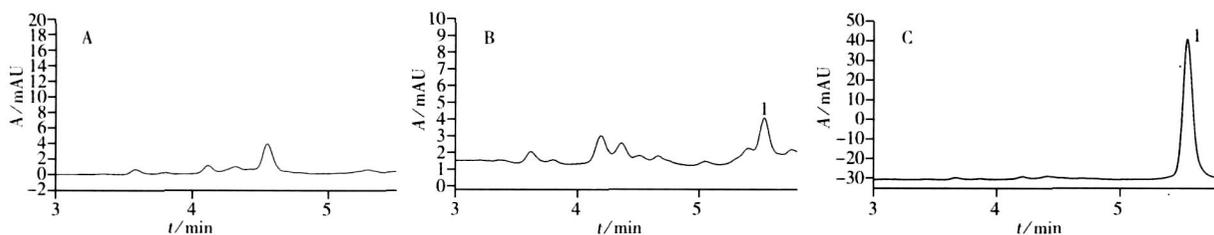


图 1 面粉空白及加标 2.0 和 50.0 mg/kg 的 HPLC 谱图 (ADA: 5.5 min)

Fig. 1 HPLC chromatograms of blank flour and flour samples spiked at levels of 2.0 and 50.0 mg/kg (ADA: 5.5 min)

A. blank; B. spiked 2.0 mg/kg; C. spiked 50.0 mg/kg; 1. azodicarbonamide (偶氮甲酰胺)

## 2.7 深圳市售面粉中偶氮甲酰胺的普查

从深圳各大型购物商场购买 39 份不同产地面粉进行分析, 均未发现含有偶氮甲酰胺。

### 参考文献:

- [1] 凌关庭, 唐述潮, 陶民强. 食品添加剂手册 [M]. 3 版. 北京: 化学工业出版社, 2004: 917.
- [2] 王远成, 任凌云, 周晓邑, 等. 偶氮甲酰胺对面粉质及面包质量的影响 [J]. 粮食与饲料工业, 2000, 4: 7 - 9.
- [3] ADAM B, BENJAMIN P Y L, DAVIDL, et al. Semicarbazide formation in azodicarbonamide - treated flour: A model study [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52: 5730 - 5734.

(上接第 1001 页)

### 参考文献:

- [1] 王玉彬, 朱佳明, 关淮, 等. 铝用阳极中杂质的分析与相应对策 [C]. 第二届国际铝用炭素技术会议论文集, 2006, 9: 182 - 186.
- [2] 蒋成达. SH/T 0058 - 1991. 石油焦中硅、矾和铁含量测定法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1991.
- [3] 李跃平, 吴豫强, 张树朝. YS/T 587.5 - 2006. 炭阳极用煅后石油焦检测方法 第 5 部分: 微量元素的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [4] ISO 12980. Carbonaceous materials in the production of aluminium<sup>3</sup>/Green coke and calcined code for electrodes - Analysis using an X-ray fluorescence method [S].
- [5] 吉昂, 陶光仪, 卓尚军, 等. X 射线荧光光谱分析 [M]. 北京: 北京科学出版社, 2003: 164 - 165.

## 《分析化学》(2009 年)

邮发代号 12 - 6 本刊承办广告业务

《分析化学》(ISSN 0253-3820, CODEN FHHHDT, CN 22-1125/O6) 是中国科学院和中国化学会共同主办的专业性学术期刊, 主要报道我国分析化学创新性研究成果, 反映国内外分析化学学科前沿和进展。刊物设有研究报告、研究简报、评述与进展、仪器装置与实验技术、来稿摘登等栏目。读者对象为从事分析化学研究和测试的科技人员及大专院校师生。本刊也是有关图书、情报等部门必不可少的信息来源。

《分析化学》目前是我国自然科学核心期刊及全国优秀科技期刊, 1999 年荣获首届国家期刊奖, 2000 年获中国科学院优秀期刊特别奖, 2001 年入选“中国期刊方阵”高知名度、高学术水平的“双高”期刊, 2002 年又荣获第二届国家期刊奖和第三届中国科协优秀科技期刊奖。论文已被包括美、英、日、俄的国内外 30 余种刊物和检索系统收录。根据中国科技信息研究所近年来发布的“中国科技期刊引证报告”获悉, 本刊总被引频次和影响因子均居中国科技期刊排序前列, 本刊逐年被选入美国权威文摘《化学文摘》(CA) 摘引量最大的 1000 种期刊 (简称“CA 千种表”) 中, 并居我国入选“CA 千种表”期刊的前列。从 1999 年第 27 卷第 1 期开始被美国科学信息研究所 (Institute for Scientific Information) 正式收入《科学引文索引扩大版》(Science Citation Index-Expanded, SCIE, also known as SciSearch), 同时还被收入《Research Alert》和《Chemistry Citation Index》等 ISI 系列。本刊是我国发行量、报道容量和国内外影响较大的科技学术期刊之一。

本刊为月刊, 160 页 (16 开), 由科学出版社出版。国内单价 15.00 元, 全年 180.00 元。邮发代号 12 - 6, 全国各地邮局订阅, 国外代号 M336, 中国国际书店订购, 漏订读者, 可与编辑部联系。

编辑部地址: 长春市人民大街 5625 号 邮政编码: 130022 电话: (0431) 85262017/85262018 传真: (0431) 85262018

E-mail: fhx@ciac.jl.cn 网址: http://www.analchem.cn