

# DBS13

河北省地方标准

DBS13/009—2017

食品安全地方标准

小麦粉中偶氮甲酰胺的测定  
——高效液相色谱法

2017-11-08 发布

2018-02-01 实施

河北省卫生和计划生育委员会 发布

## 前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009规定的格式编写。  
本标准由河北省卫生和计划生育委员会归口。  
本标准于2017年11月8日首次发布。

# 食品安全地方标准

## 小麦粉中偶氮甲酰胺的测定—高效液相色谱法

### 1 范围

本标准规定了小麦粉中偶氮甲酰胺的高效液相色谱测定方法。  
本标准适用于小麦粉中偶氮甲酰胺含量的检测。

### 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 5009.1 食品卫生检验方法 理化部分 总则

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法。

### 3 原理

样品中的偶氮甲酰胺用丙酮进行提取，经浓缩、脱脂、过滤后，高效液相色谱法测定，外标法定量。

### 4 试剂和材料

除另有规定外，试剂均为分析纯，实验用水符合GB/T 6682一级水要求。

4.1 乙腈：色谱纯。

4.2 丙酮：色谱纯。

4.3 正己烷：色谱纯。

4.4 磷酸。

4.5 磷酸氢二钾 ( $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ )。

4.6 辛烷磺酸钠。

4.7 标准品：偶氮甲酰胺 ( $C_2H_6N_2O_2$ ，CAS 号：123-77-3) 纯度大于或等于 99%。

4.8 色谱柱 1： $C_{18}$  柱，柱长 250 mm，内径 4.6 mm，粒径 5  $\mu m$ ，或相当者。

4.9 色谱柱 2：氰基 (CN) 柱，柱长 250 mm，内径 4.6 mm，粒径 5  $\mu m$ ，或相当者。

4.10 10 mmol/L 辛烷磺酸钠-5 mmol/L 磷酸氢二钾溶液：称取 1.08 g 辛烷磺酸钠 (4.6)，0.57 g 磷酸氢二钾 (4.5) 加水溶解并定容至 500 mL，用磷酸 (4.4) 溶液调节 pH 至 3.5。

4.11 5 mmol/L 磷酸氢二钾溶液：称取 0.57 g 磷酸氢二钾 (4.5) 加水溶解并定容至 500 mL。

4.12 标准储备液：准确称取适量偶氮甲酰胺标准品（4.7），用 5 mmol/L 磷酸氢二钾溶液（4.11）或水溶解并配制成含偶氮甲酰胺 100 mg/L 的标准储备液，现用现配。

注：使用色谱柱1用5 mmol/L磷酸氢二钾溶液（4.11）溶解，使用色谱柱2用水溶解。以下标准工作液和样品液的定容溶剂与本条相同。

4.13 基质标准工作液：准确移取一定体积的标准储备溶液（4.12），用空白样品处理液稀释成浓度适当的标准工作液，现用现配。

4.14 微孔滤膜：0.45 μm，水系。

## 5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器或二极管阵列检测器。

5.2 高速离心机。

5.3 超声波振荡器。

5.4 旋转蒸发器。

5.5 涡旋混合器。

5.6 离心管。

5.7 分析天平：感量分别为 0.01 g 和 0.1 mg。

## 6 分析步骤

### 6.1 样品制备

试验前应将获取的样品充分混匀，样品制备方法按 GB/T 5009.1 执行。

### 6.2 样品处理

称取小麦粉样品 2 g（精确至 0.01 g）于 50 mL 具塞离心管中，加入 15 mL 丙酮（4.2）超声振荡提取 15 min，在 7000 r/min 下离心 5 min，将上清液转移至 50 mL 浓缩瓶中，再用 10 mL 丙酮重复提取一次，合并提取液于浓缩瓶中，于常温下减压浓缩至干。残渣用 2 mL 5 mmol/L 磷酸氢二钾溶液（4.11）或水超声涡旋 5 min 复溶。再加入 3 mL 正己烷（4.3）脱脂，静置分层后，取下层溶液过 0.45 μm 水系微孔滤膜（4.14），滤液供高效液相色谱仪分析。

### 6.3 高效液相色谱参考条件

色谱条件可以参照以下用于任何一种色谱柱的测定。

#### 6.2.1 用于色谱柱 1 测定的条件

a) 色谱柱：C<sub>18</sub> 柱，柱长 250 mm，内径 4.6 mm，粒径 5 μm，或相当者；

b) 流动相：10 mmol/L 辛酸磺酸钠-5 mmol/L 磷酸氢二钾溶液（A）（4.10）-乙腈（B）：80+20，v+v；

c) 流速：0.5 mL/min；

- d) 检测波长：245 nm；
- e) 进样量：20 μL；
- f) 柱温：30 ℃。

#### 6.2.2 用于色谱柱 2 测定的条件

- a) 色谱柱：CN 柱，柱长 250 mm，内径 4.6 mm，粒径 5 μm，或相当者；
- b) 流动相：水 (A) - 乙腈 (B)：80+20，v+v；
- c) 流速：0.8 mL/min；
- d) 检测波长：245 nm；
- e) 进样量：20 μL；
- f) 柱温：30 ℃。

#### 6.4 空白试验

除不加样品外，均按上述测定步骤进行。

#### 6.5 测定

在仪器最佳状态下测定基质标准工作液和样品溶液，保证所测样品中待测物的响应值均在线性范围内，如果超出标准曲线范围，应用 5 mmol/L 磷酸氢二钾溶液 (4.11) 或水对样品溶液进行适当稀释。以待测物的峰面积为纵坐标，浓度为横坐标绘制标准曲线。以保留时间定性，外标法定量。基质标准工作液和样品溶液的测定应在 4 h 内完成。

### 7 结果计算

样品中偶氮甲酰胺的含量按式 (1) 计算，计算结果需扣除空白值：

$$X = \frac{C \times V \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots(1)$$

式中：X - 样品中被测物含量，单位为毫克每千克 (mg/kg)；

C - 由标准曲线得出的样品溶液中被测物的浓度，单位为毫克每升 (mg/L)；

V - 样品溶液定容体积，单位为毫升 (mL)；

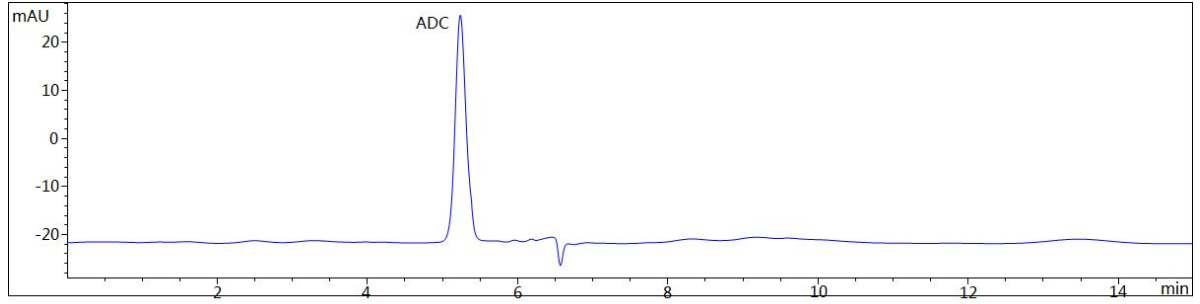
m - 样品质量，单位为克 (g)。

计算结果保留三位有效数字。

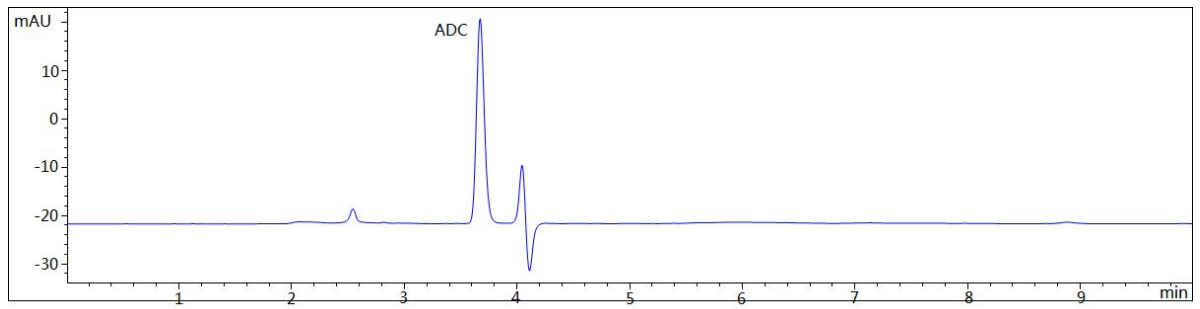
### 8 检出限和定量限

小麦粉中偶氮甲酰胺的检出限为 1.5 mg/kg，定量限为 5 mg/kg。

附录 A  
(资料性附录)  
标准色谱图



图A.1 30 mg/L偶氮甲酰胺标准溶液色谱图（用于色谱柱1测定）



图A.2 30 mg/L偶氮甲酰胺标准溶液色谱图（用于色谱柱2测定）