

基于近红外光谱的海藻糖浆组分快速定量检测

Rapid quantitative detection of trehalose syrup component based on near infrared spectroscopy

郑瑞娜 谢定 杨倩圆

ZHENG Rui-na XIE Ding YANG Qian-yuan

(长沙理工大学化学与生物工程学院, 湖南 长沙 410114)

(College of Chemistry and Biology, Changsha University of Science and Technology, Changsha, Hunan 410114, China)

摘要: 研究采用近红外光谱 (near infrared spectroscopy, NIRS) 快速检测单酶法生产海藻糖浆 (海藻糖、麦芽糖及葡萄糖) 组成的方法。取 65 个海藻糖浆作为样本, 扫描得到近红外光谱图, 分为 48 个样本校正集, 17 个样本预测集, 计算分析结果表明: 一阶微分 (first derivative, 1D) 与 S-G 平滑 (savitzky-golay filter) 组合处理为最优预处理方法; 运用 TQ analyst 建模软件中主成分回归 (principal component regression, PCR) 算法和偏最小二乘法 (partial least squares, PLS) 算法分别对海藻糖浆建模, 发现采用偏最小二乘法 (partial least squares, PLS) 的海藻糖浆组分模型稳定性和预测能力更好; 运用 PLS、1D、S-G 平滑组合预处理海藻糖浆组分模型, 不仅降低光谱的背景噪声, 同时还提高模型的稳定性。海藻糖浆各组分模型的交叉验证均方差 (RMSEC)、交叉验证决定系数 (R_c)、预测均方差 (RMSEP)、预测决定系数 (R_p) 依次为: 海藻糖模型分别为 0.188, 0.995, 0.089, 0.989; 麦芽糖模型分别为 0.143, 0.997, 0.131, 0.969; 葡萄糖模型分别为 0.147, 0.997, 0.094, 0.999。NIRS 检测快速、无损便捷, 可用于检测单酶法生产海藻糖浆的组分。

关键词: 海藻糖浆; 定量; 近红外光谱; 偏最小二乘法

Abstract: A rapid detection method of using the near-infrared spectra (NIRS) to determine the concentration of syrup (trehalose, maltose and glucose) in producing trehalose by synthase was established. The 65 NIRS samples of trehalose syrup were divided into a calibration set of 48 samples and a prediction set of 17 samples. Calculation results showed that the first derivative and savitzky-golay filter pretreatment is optimal, and the partial least squares (PLS) was more robust and predictive than the principal component regression (PCR)

in building model by TQ analyst. Using PLS, 1D and savitzky-golay filter combination pretreatment model could not only reduce the background noise of the spectrum, but also improve the robustness of the model. The RMSEC, R_c and RMSEP, R_p of trehalose syrup showed in order that the trehalose model was 0.188, 0.995, 0.089, 0.989; the maltose model was 0.143, 0.997, 0.131, 0.969; the glucose model was 0.147, 0.997, 0.094, 0.999. The NIRS detection was fast and non-destructive, could be used to detect the composition of the trehalose syrup in producing it by synthase.

Keywords: trehalose syrup; quantification; near infrared spectrum; partial least squares

近红外光谱 (near-infrared spectroscopy, NIRS) 分析技术是 20 世纪 90 年代发展起来的一项现代分析技术, 它综合运用了计算机技术、光谱技术和化学计量等多个学科的最新研究成果, 以其独特的高效、快速、低成本、环保等突出优点, 在农业、食品、石油化工和制药工程等学科中得到了广泛应用^[1,2], 在食品生物领域, NIRS 已被运用于原料、成品质量检测^[2], 但在在线生产监控方面还应用较少, 尚有巨大的开发潜力^[1,3]。

海藻糖 (trehalose) 是由两分子葡萄糖以 α, α -1, 1-糖苷键相连而成的非还原性二糖, 由于具有对生物体优良的抗逆保护作用等优良性能而被誉称为“生命之糖”和“21 世纪的新型糖类”, 其大规模制造方法受到广泛关注^[3-4]。海藻糖的生产方法有天然生物提取法、微生物发酵法、化学合成法、基因工程法和酶转化法^[5,31-35]。目前工业化生产的方法主要有单酶法和双酶法, 在单酶法生产海藻糖生产过程中, 海藻糖合成酶将麦芽糖转化成海藻糖, 同时产生出部分副产物葡萄糖^[6]。海藻糖生产企业一般用高效液相色谱 (HPLC) 来监测海藻糖的组分, 以控制反应时间和产物质量, 但用 HPLC 监测比较费时费事, 其中常用乙腈等试剂做流动相, 不够绿色环保^[7], 而且难以实时测出工艺过程中的成分变化, 生产工艺很难得到精确控制。因此, 本研究在利用传统 HPLC 检测海藻糖浆组分的基础上, 同时采集各对应样品的近红外图

基金项目: 农业部财政部项目 (编号: 农办财函[2016]6 号); 湖南省自然科学基金 (编号: 2015JJ2010)

作者简介: 郑瑞娜, 女, 长沙理工大学在读硕士研究生。

通信作者: 谢定 (1962—), 男, 长沙理工大学教授, 博士。

E-mail: cslg5148495@126.com

收稿日期: 2017-08-10

谱,利用现代化学计量学及配套的计算机软件对关联数据和图谱进行计算分析、建模和校正,然后将其用于近红外快速检测海藻糖组分,以期为发展形成单酶法海藻糖生产的在线快速检测技术提供依据。

1 材料与方方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 材料与试剂

海藻糖、麦芽糖、葡萄糖标品:99%以上,分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

海藻糖合成酶:本实验室自制。

1.1.2 主要仪器设备

傅里叶变换近红外光谱仪:Antaris II型,美国 Thermo Nicolet 公司;

高效液相色谱仪:LC-20AD型,日本岛津公司。

1.2 试验方法

1.2.1 单酶法生产海藻糖及样本收集 参考黄日波^{[5]50-54}的海藻糖制备工艺,修改如下:海藻糖合成酶粗酶液按体积比1:20,加入到140 g/L的麦芽糖水溶液中,pH 7.0~7.2,催化温度26℃,催化时间12 h,催化期间每隔2 h取样分别用HPLC法及NIRS法测定混合糖浆中葡萄糖、麦芽糖、海藻糖的浓度。共收集65个海藻糖浆样本。

1.2.2 高效液相色谱法测海藻糖组分 按GB/T 23529—2009《海藻糖》测定海藻糖浆中海藻糖、麦芽糖及葡萄糖含量,色谱条件:LC-20AD输送泵;Refractive Index Detector;LC solution工作站;Agela Innoval NH₂,4.6 mm×250 mm;流动相为乙腈/水=80/20(体积比);流速为1 mL/min;温度为35℃。

1.2.3 近红外光谱采集 利用流体透射检测系统采集光谱,扫描波数为4 000~10 000 cm⁻¹,经液体透射与平均谱工作流优化:分辨率8 cm⁻¹,扫描次数32次,增益为2,扫描3次,环境温度25℃,内置背景为参考。

1.2.4 光谱数据处理 运用平滑、中心化、自归一化、一阶微分等预处理方法处理样品的光谱数据,以消除光谱测量中引入的噪声影响^[8]。经主成分分析(principal component regression,PCR)及偏最小二乘法(partial square least,PLS)算法分析,剔除异常或极为相近的样品,从而提高校正模型的预测能力和稳定性。

1.2.5 模型预测能力的评估 TQ analyst 9软件对建立模型的预测性能采用相关性(R)、交叉验证均方根误差(RMSECV)和预测均方根误差(RMSEP)的评价方式,计算方法按式(1)~(3)。

$$R = \sqrt{1 - \frac{\sum_{i=0}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{\sum_{i=0}^n (y_i - \bar{y}_i)^2}}, \quad (1)$$

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{n}}, \quad (2)$$

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^m (\hat{y}_i - y_i)^2}{m}}, \quad (3)$$

式中:

\hat{y}_i ——校正样品的预测值,g/100 mL;

y_i ——对应的参考值,g/100 mL;

\bar{y}_i ——所有校正样品的均值,g/100 mL;

m ——预测样品总数;

n ——校正样品的总数。

1.2.6 数据统计与算法分析 选取TQ analyst 9软件中不同算法对原始海藻糖浆NIRS图谱校正与建模。

2 结果与讨论

2.1 海藻糖浆的组分

表1列出了HPLC测定的海藻糖浆中海藻糖、麦芽糖及葡萄糖的浓度变化。由表1可知,随催化时间延长,麦芽糖浓度逐渐降低,海藻糖和葡萄糖浓度逐渐增长,由海藻糖合成酶催化麦芽糖转化为海藻糖的转化率高达64.33%。

表1 单酶法生产过程中海藻糖浆各组分浓度的变化

Table 1 The concentration change of the various products in syrup produced by trehalose synthase g/50 mL

组分	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h
海藻糖	0.00	2.52	4.03	5.52	5.78	5.79	5.80
麦芽糖	9.01	6.27	4.60	2.75	2.41	2.38	2.37
葡萄糖	0.61	0.76	0.98	1.23	1.41	1.42	1.42

2.2 光谱特征波峰的分析

图1为波数在4 000~10 000 cm⁻¹的样本NIRS谱图。图中波峰和波谷各5个,波峰位于8 640,7 152~7 118,6 590,5 592,5 347 cm⁻¹处,波谷位于7 883,7 000,5 964,5 474,5 195 cm⁻¹处。其中8 640 cm⁻¹附近的吸收峰为C—H键伸缩振动的二级倍频,7 152~7 118 cm⁻¹附近的吸收峰为C—H键伸缩振动和变形振动的一级倍频,6 590 cm⁻¹附近的吸收峰为O—H键伸缩振动的一级倍频,5 592 cm⁻¹附近的吸收峰为C—H键伸缩振动的一级倍频,5 347 cm⁻¹附近的吸收峰为C=O键伸缩振动的一级倍频^{[1]32-39}。单酶法发酵过程中会产生多种糖,收集的样本经HPLC检测发现其中以海藻糖、麦芽糖及少量葡萄糖为主^[9]。海藻糖浆样本中各糖类的分子结构由C—H键、O—H键、C=O键组成,样本NIRS谱图的吸收峰位置符合样本中各物质的分子结构。

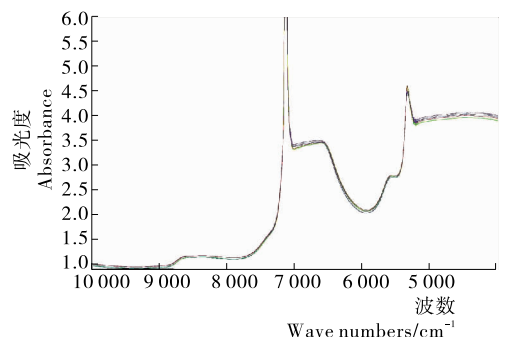


图1 单酶法生产海藻糖产物的近红外透射原始光谱
Figure 1 The NIR spectrum of products in syrup produced by trehalose synthase

2.3 光谱预处理比较

表 2 中比较了无预处理、一阶微分处理、二阶微分处理、S-G 平滑互相组合后的建模效果,发现经一阶微分(First derivative)、S-G 平滑(Savitzky-Golay filter)组合光谱预处理后的 RSMEC、RMSEP 值最接近于 0, R_c 、 R_p 之最接近于 1, 效果最优。葡萄糖模型 R_c 为 0.998, RSMEC 为 0.125, R_p 为 0.991, RMSEP 为 0.226; 麦芽糖模型 R_c 为 0.989, RSMEC 为 0.226, R_p 为 0.989, RMSEP 为 0.161; 海藻糖模型 R_c 为 0.986, RSMEC 为 0.186, R_p 为 0.996, RMSEP 为 0.158。图 2 为原光谱经一阶微分和 S-G 平滑预处理后的海藻糖浆 NIRS 谱图,光谱基线在 5 100~5 400 cm^{-1} 和 7 000~7 200 cm^{-1} 时波动明显,可作为特征波段。由于全光谱信息冗杂,固采用全光谱建立的校正模型易出现过拟合风险^[3]。在建模时

表 2 不同预处理方法下单酶法生产海藻糖浆产物的 PLS 建模

Table 2 The PLS model of various products in syrup produced by trehalose synthase under different pretreatment

预处理方法	海藻糖					麦芽糖					葡萄糖				
	主成分因子数	RSMEC	R_c	RMSEP	R_p	主成分因子数	RSMEC	R_c	RMSEP	R_p	主成分因子数	RSMEC	R_c	RMSEP	R_p
无处理	6	0.214	0.995	0.193	0.992	7	0.218	0.995	0.190	0.992	6	0.166	0.997	0.168	0.995
1D	5	0.194	0.996	0.277	0.989	3	0.310	0.989	0.293	0.981	3	0.188	0.996	0.212	0.994
2D	4	0.255	0.992	0.342	0.975	2	0.377	0.984	0.325	0.979	3	0.235	0.994	0.261	0.988
1D+SG	5	0.188	0.995	0.089	0.989	6	0.143	0.997	0.131	0.969	4	0.147	0.997	0.094	0.999
2D+SG	4	0.417	0.979	0.757	0.928	4	0.428	0.979	0.809	0.921	4	0.363	0.983	0.633	0.946

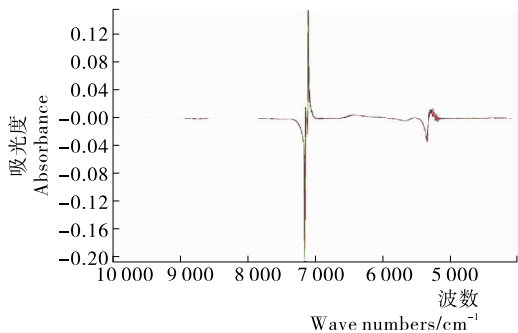


图 2 单酶法生产海藻糖产物经一阶微分和平滑预处理后的近红外光谱透射曲线

Figure 2 The NIR transmission curve of syrup produced by synthase after the first derivative and smoothing

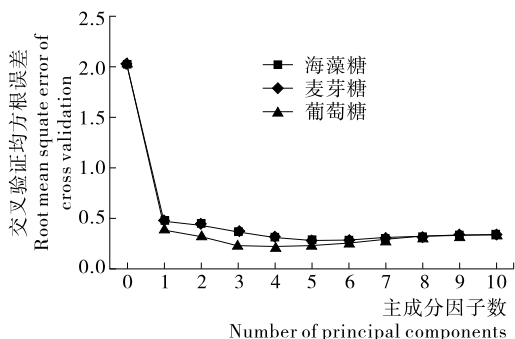


图 3 单酶法生产海藻糖浆中各组分的主成分因子决定图

Figure 3 The number of principal components of in trehalose syrup produced by trehalose synthase

选取此两处特征波段,可提高模型预测能力,降低光谱采集过程中背景噪声的影响^[10]。数据显示 3 个模型的 RSMEC、RMSEP 平均降低了 3.62 倍, R_c 、 R_p 平均提高了 1.04 倍,模型的稳定性显著提高。

影响模型预测能力的另一个主要因素是主成分因子数。交叉验证均方根误差(RMSECV)随主成分因子数变化而变化, RMSECV 最小值所对应的主成分因子数一般为模型的最佳主成分因子数^[11]。图 3 为原始光谱经一阶微分、平滑组合预处理方法建模后的主成分因子数与 RMSECV 值的相关关系图,葡萄糖模型的 RMSECV 最小为 0.219 3,最佳主成分因子数为 4;麦芽糖模型的 RMSECV 最小为 0.284 4,最佳主成分因子数为 6;麦芽糖模型的 RMSECV 最小为 0.286 5,最佳主成分因子数为 5。

2.4 海藻糖产物的算法模型选择

为了降低模型的复杂程度,提高模型预测能力,本研究对比了不同数学建模方法,以 RMSEP 为主要模型评价指标,判定 RMSEP 最接近 0 的模型为最佳数学模型。

2.3.1 PCR 模型 PCR 模型以主成分分析(principal component analysis, PCA)为算法原理,先利用降维思路,将多变量简化为少数主要变量,使得变量不丢失确定主成分且数量尽可能少,并在建立多元线性回归方程中降低自变量间多重共线性的影响^[12-13]。经 PCR、1D、S-G 平滑预处理后,海藻糖、麦芽糖、葡萄糖模型 RMSEP 分别为 0.148, 0.134, 0.149。但 3 个模型的主因子数均为 10,所选主因子数过高,易导致模型发生“过拟合”现象,可能在与其它算法集成计算时不利于有效模型的建立^[14]。因此考虑修改模型的样本数量,剔除实际值与预测值差异较大的样本,降低主因子数的个数。

图 4 为海藻糖、麦芽糖、葡萄糖 PCR 模型的预测值与真实值分布图。3 个模型的 R_c 依次为 0.996 6, 0.991 8, 0.990 8, R_p 依次为 0.998 1, 0.944 0, 0.976 7。

2.3.2 PLS 模型 以 PLS、1D、S-G 平滑进行预处理,得到校正模型。图 5 给出了海藻糖、麦芽糖、葡萄糖 PLS 模型的预测值与真实值散点图, 3 个模型的 R_c 依次为 0.995 2, 0.997 3, 0.997 2, R_p 依次为 0.988 5, 0.968 5, 0.998 6。对比 PCR 模型发现,PLS 模型的 RMSEP 更小,更接近 0,预测能力更优。可能是样本中海藻糖、麦芽糖、葡萄糖的分子都含有多羟基结构,部分波数范围内(如 6 590 cm^{-1} 附近)的吸收峰较为集中,海藻糖、麦芽糖、葡萄糖的吸收峰不易区分开,

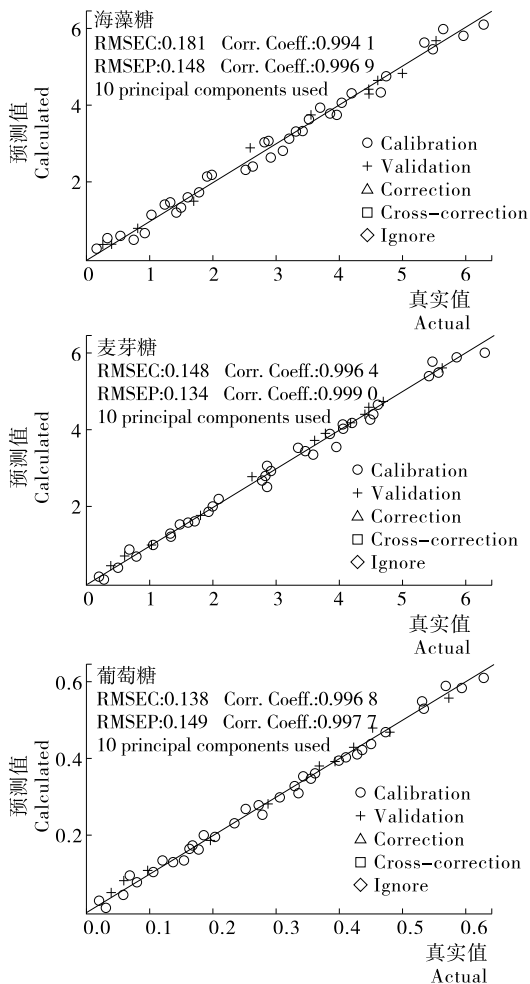


图4 PCR模型的校正集和预测集海藻糖、麦芽糖、葡萄糖的预测值与真值的关系

Figure 4 The relationship between predicted value and actual value of trehalose, maltose and glucose in PCR model

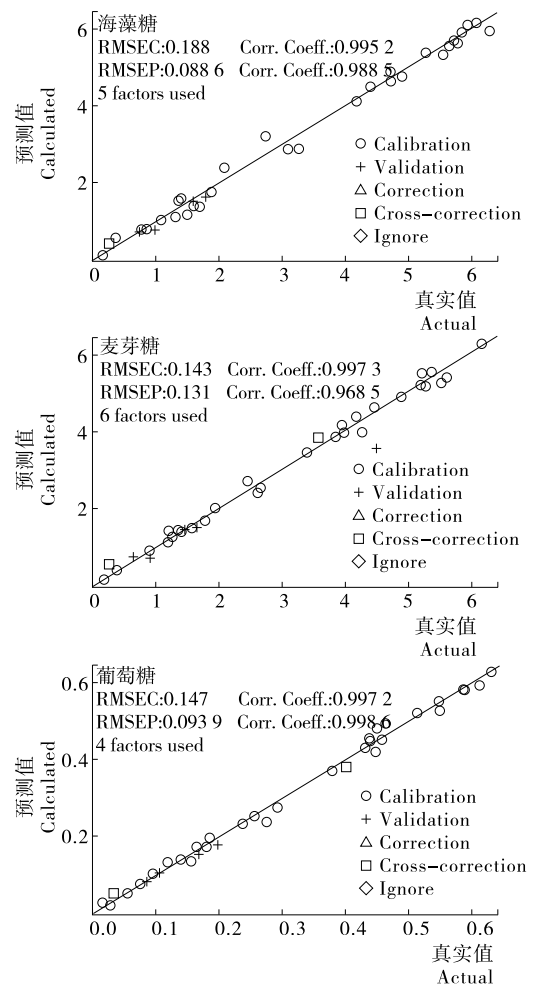


图5 PLS模型的校正集和预测集海藻糖、麦芽糖、葡萄糖的预测值与实际值的关系

Figure 5 The relationship between predicted value and actual value of trehalose, maltose and glucose in PLS model

采用多个自变量组合求出最小误差值的PLS模型可能较PCR模型中逐个变量进行多元线性回归的分析方法更有效,预测结果精确度更高。

3 结论

将高效液相色谱实测的海藻糖浆中的海藻糖、麦芽糖及葡萄糖含量与实时对应采集的近红外透射光谱相关联,并结合一阶微分、二阶微分、平滑等组合预处理与主成分分析、偏最小二乘法相结合,研究了单酶法生产海藻糖浆组分的快速定量测定方法。结果表明,经一阶微分、S-G平滑和偏最小二乘法组合,海藻糖浆各组分模型的交叉验证均方差(RMSEC)、交叉验证决定系数(R_C)、预测均方差(RMSEP)、预测决定系数(R_P)依次为:海藻糖模型分别为0.188, 0.995, 0.089, 0.989;麦芽糖模型分别为0.143, 0.997, 0.131, 0.969;葡萄糖模型分别为0.147, 0.997, 0.094, 0.999。说明这些模型能够准确预测单酶法生产海藻糖浆中各组分的含量,为建立单酶法生产海藻糖浆组分在线快速无损检测方法提供了理论依据。

参考文献

- [1] 严衍录. 近红外光谱分析基础与应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005.
- [2] TORIT Baran Bagchi, SRIGOPAL Sharma, KRISHNENDU Chattopadhyay. Development of NIRS models to predict protein and amylose content of brown rice and proximate compositions of rice bran[J]. Food Chemistry, 2016, 191: 21-27.
- [3] 朱向荣, 李高阳. 基于近红外光谱与组合间隔偏最小二乘法的稻米镉含量快速检测[J]. 食品与机械, 2015, 3(4): 43-50.
- [4] 骆莹. 酿酒酵母胞内海藻糖的提取纯化及近红外检测[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2011: 4-8.
- [5] 黄日波. 海藻糖——21世纪的新型糖类[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010.
- [6] 谢定, 张琼, 朱婧, 等. 海藻糖生产方法及其合成酶研究进展[J]. 食品与机械, 2013, 29(2): 223-226.
- [7] CASCANT M M, BREIL C, FABIANO-TIXIER A S, et al. Determination of fatty acids and lipid classes in salmon oil by near infrared spectroscopy[J]. Food Chemistry, 2018, 239: 865-871.

(下转第134页)

- 2015, 63(1): 519-526.
- [12] COMA V. Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products[J]. *Meat Science*, 2008, 78(1/2): 90-103.
- [13] OTONI C G, ESPITIA P J P, AVENA-BUSTILLOS R J, et al. Trends in antimicrobial food packaging systems: Emitting sachets and absorbent pads[J]. *Food Research International*, 2016, 83: 60-73.
- [14] DEHNAD D, MIRZAEI H, EMAM-DJOMEH Z, et al. Thermal and antimicrobial properties of chitosan-nanocellulose films for extending shelf life of ground meat[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 109: 148-154.
- [15] 谭英. 钛表面聚多巴胺-纳米银复合膜层的构建及抗菌性能研究[D]. 广州: 广东工业大学, 2014: 3-4.
- [16] MARAMBIO J C, HOEK E M V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment[J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2010, 12(5): 1 531-1 551.
- [17] 莫名月, 李国明. 壳聚糖及壳聚糖-羧甲基纤维素钠复合囊材的体外降解性能研究[J]. *广东化工*, 2009, 36(6): 50-51, 254.
- [18] 卢唱唱, 许琦场, 徐丹. 蒙脱土对纤维素基吸湿衬垫结构与性能的影响[J]. *包装工程*, 2016, 37(11): 6-10.
- [19] 许琦场, 秦海容, 郭凡, 等. 茶多酚复合衬垫的性能及其对鲜肉的保鲜效果[J]. *食品与发酵工业*, 2017, 43(1): 246-251.
- [20] KIM G D, JUNG E Y, LIM H J, et al. Influence of meat exudates on the quality characteristics of fresh and freeze-thawed pork[J]. *Meat Science*, 2013, 95(2): 323-329.
- [21] JIANG Yi, LU Yong-lai, ZHANG Li-qun, et al. Preparation and characterization of silver nanoparticles immobilized on multi-walled carbon nanotubes by poly(dopamine) functionalization[J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2012, 14(6): 1-10.
- [22] WANG Dan-feng, WANG Xi-chang, LIU Tai-ang, et al. Prediction of total viable counts on chilled pork using an electronic nose combined with support vector machine[J]. *Meat Science*, 2012, 90(2): 373-377.
- [23] NYCHAS G J E, SKANDAMIS P N, TASSOU C C, et al. Meat spoilage during distribution[J]. *Meat Science*, 2008, 78(1/2): 77-89.
- [24] ZHU Si-chao, LUO Yong-kang, HONG Hui, et al. Correlation between electrical conductivity of the gutted fish body and the quality of bighead carp (*aristichthys nobilis*) heads stored at 0 and 3 °C[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2013, 6(11): 3 068-3 075.
- [25] 马丽珍, 南庆贤, 戴瑞彤. 不同气调包装方式对冷却猪肉在冷藏过程中的理化及感官特性的影响[J]. *农业工程学报*, 2003, 19(3): 156-160.
- [26] 孔宝华, 韩建春. 肉品科学与技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2011: 122-123.
- [27] MUELA E, SANUDO C, CAMPO M M, et al. Effect of freezing method and frozen storage duration on instrumental quality of lamb throughout display[J]. *Meat Science*, 2010, 84(4): 662-669.
- [28] 魏心如, 赵颖, 韩敏义, 等. 冷却鸡肉保水性评定指标标准化及其与肉色、嫩度和 pH_{24h}相关性研究[J]. *食品科学*, 2014, 35(21): 50-56.

(上接第 63 页)

- [8] 李水芳, 单杨. 近红外透反射光谱用于检测蜂蜜加入麦芽糖浆掺假[J]. *食品科技*, 2010, 32(12): 299-303.
- [9] 王青云, 王越. 酶解法测定多种糖混合体系中海藻糖的含量[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(6): 329-333.
- [10] CHEN Jia, ZHU Shi-pin. Rapid determination of total protein and wet gluten in commercial wheat flour using siSVR-NIR[J]. *Food Chemistry*, 2017, 221: 1 939-1 946.
- [11] 公丽艳, 孟宪军. 基于主成分与聚类分析的苹果加工品质评价[J]. *农业工程学报*, 2014, 30(13): 276-283.
- [12] 林海明, 张文霖. 主成分分析与因子分析的异同和 SPSS 软件: 兼与刘玉玫、卢纹岱等同志商榷[J]. *统计研究*, 2005(3): 65-68.
- [13] 李硕, 汪善勤. 基于可见-近红外光谱比较主成分回归、偏最小二乘回归和反向传播神经网络对土壤氮的预测研究[J]. *光学学报*, 2012, 32(8): 1-5.
- [14] 陈大伟, 闫绍, 刘昊岩. SVD 系列算法在评分预测中的过拟合现象[J]. *山东大学学报: 工学版*, 2014, 44(3): 15-21.

(上接第 67 页)

- [8] 姚敬, 黄伟雄, 李少霞, 等. 小麦粉制品中氨基脲的检测及与偶氮甲酰胺的转化规律研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2016(18): 2 600-2 602.
- [9] 向露. 面粉及其制品中偶氮甲酰胺、氨基脲检测方法及偶氮甲酰胺降解规律研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2014: 2-30.
- [10] 刘莎, 郭晓娜, 刘刚, 等. 基于蛋白交联探究偶氮甲酰胺对馒头品质影响的机理[J]. *食品与机械*, 2016, 32(4): 9-13.
- [11] 周启明, 向露, 王俊苏, 等. 液相色谱-串联质谱研究面粉及其制品中偶氮甲酰胺降解规律及氨基脲污染水平[J]. *分析试验室*, 2014(7): 782-786.
- [12] 王雅. 面粉及制品中偶氮甲酰胺、联二脲的液相色谱串联质谱检测技术及应用研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2014: 2-20.
- [13] 阮莎莎, 刘桂华, 刘素纯, 等. 同位素稀释高效液相色谱-串联质谱法测定面粉及面制品中的联二脲[J]. *分析测试学报*, 2016, 35(4): 420-425.
- [14] YUAN Li-hong, DING Hong-liu, CHEN Ying, et al. HPLC-MS/MS analysis of biurea metabolized by flour additive azodicarbonamide [J]. *Science & Technology of Food Industry*, 2013, 34(10): 73-76.
- [15] MULDER P P J, BEUMER B, RHIJN J A V. The determination of biurea: A novel method to discriminate between nitrofurazone and azodicarbonamide use in food products [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 586(1/2): 366-373.
- [16] 王雅, 王俊苏, 向露, 等. 液相色谱-串联质谱法测定面粉及其制品中的联二脲[J]. *色谱*, 2014(5): 513-518.
- [17] NOONAN G O, BEGLEY T H, DIACHENKO G W, et al. Semicarbazide formation in flour and bread[J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2008, 56(6): 2 064-2 067.
- [18] GAN Heng-hui, YAN Bing-nan, LINFORTH Robert S T, et al. Development and validation of an APCI-MS/GC-MS approach for the classification and prediction of Cheddar cheese maturity. [J]. *Food Chemistry*, 2016, 190(7): 442-447.
- [19] 宣宇. LC/APCI/MS 对粉尘和水样中单质炸药的分析及应用研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2012: 1-15.