

食品中丙烯酰胺的含量调查研究

李向丽^{1,2,3}, 李蓉⁴, 杨公明¹, 张延杰⁵, 李双宜⁴, 陈丽斯⁴, 黄伟蓉⁴ (1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642; 2. 中炬高新技术实业(集团)股份有限公司, 广东中山 528437; 3. 中山火炬职业技术学院, 广东中山 528436; 4. 中山出入境检验检疫局, 广东中山 528403; 5. 咀香园健康食品(中山)有限公司, 广东中山 528437)

摘要 对市售的焙烤、油炸、膨化类食品中丙烯酰胺的含量进行了调查, 并对结果进行统计分析, 提出潜在的影响因素。调查的食品包括广式月饼、杏仁饼、面包、蛋糕、薯条、薯片等一系列, 共计 3 类 97 份样品, 采用¹³C 标记丙烯酰胺内标物的高效液相色谱-质谱/质谱串联方法分析丙烯酰胺的含量。结果表明: 所调查的 97 份样品中, 有 87 份检出不同含量的丙烯酰胺, 其范围为 5.43 ~ 2 939.53 μg/kg。调查的食品中, 薯片中丙烯酰胺含量最高, 平均含量为 1 289.46 μg/kg, 其次是各类饼干, 平均含量是 274.96 μg/kg, 甚至同一品牌不同类型的产品, 丙烯酰胺的含量差异较大, 有的甚至高达 20 倍, 这可能与产品的原材料和生产工艺不同有一定的关系。随着国民饮食习惯的改变, 油炸、焙烤、膨化类食品在膳食结构中的比例越来越大, 为了国民的身体健康, 有必要对食品中丙烯酰胺的含量出台限量标准, 督促食品生产企业改良生产工艺, 降低丙烯酰胺含量。

关键词 丙烯酰胺; 食品; 含量调查

中图分类号 S41-33 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)14-236-03

Investigation on the Contents of Acrylamide in Food

LI Xiang-li^{1,2,3}, LI Rong⁴, YANG Gong-ming¹ et al (1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642; 2. Jonjee Hi-tech Industrial & Commercial Holding Co. Ltd., Zhongshan, Guangdong 528437; 3. Zhongshan Torch Polytechnic, Zhongshan, Guangdong 528436; 4. Zhongshan Inspection and Quarantine, Zhongshan, Guangdong 528403)

Abstract The contents of acrylamide in baked, fried and puffing foods from markets were investigated. The results were analyzed, the potential influencing factors were put forward. The investigated foods included bread, cake, biscuit, French fry, chip, Cantonese mooncake and almond cake. Quantitation of acrylamide in 97 food samples was tested by ¹³C-acrylamide internal standard substance of liquid chromatography/mass spectrometry. The results indicated that different contents of acrylamide were found in 87 samples which were ranged from 5.43 – 2 939.53 μg/kg. The highest content of acrylamide was detected in chips, which averaged was 1 289.46 μg/kg. The biscuits were the second higher, which averaged was 274.96 μg/kg. The contents of acrylamide were obvious differences of the same brand but different batch in biscuits, even different 20 times, whatever they were product in domestic or abroad. The different contents were depended on the raw materials and product processes. With the change of the people's eating habits, baked, fried and snack foods were more and more proportion of dietary structure, it was necessary for the contents of acrylamide in foods evaluation standard, supervise the food production enterprise to improve production technology, to reduce acrylamide content.

Key words Acrylamide; Food; Content investigation

丙烯酰胺(Acrylamide)自 2002 年被人们发现在多种食品尤其是淀粉类食品的高温加工过程中产生, 食品中丙烯酰胺问题立刻引起全球普遍关注^[1-2]。大量试验表明: 丙烯酰胺对试验动物具有神经、生殖、遗传毒性和致癌性^[3-4]; 对人体具有神经毒性, 虽然没有研究表明丙烯酰胺暴露水平和人类癌症之间的必然联系, 但不排除丙烯酰胺是一种潜在致癌物^[5]。

从 2002 年至今, 全世界各国大量研究主要针对丙烯酰胺在食品中的检测方法、丙烯酰胺的抑制技术和生成机理等领域^[6]。而对食品中丙烯酰胺的含量调查多集中在油炸类、烘烤谷物类、速溶咖啡及各类茶叶^[7-8], 而对具有中国特色的月饼和以蛋白质含量丰富的豆类为原料生产的特色食品未有较多报道^[9]。

研究各种食品中丙烯酰胺的含量, 利于探讨食品中丙烯酰胺的形成机理, 进而抑制、降低丙烯酰胺的含量, 同时为人群丙烯酰胺的食源性风险评估提供参考数据。因此, 该研究除了对中山市商超中销售的常见油炸、焙烤和膨化类食品进

行调查外, 特别对具地方特色的食品广式月饼和杏仁饼进行丙烯酰胺的含量调查。

由于食品的组成不同, 生产工艺差异较大, 丙烯酰胺的分析方法对样品中含量的准确性起到至关重要的作用。因此, 笔者在总结已有先进方法的基础上^[10-11], 建立一种简便快捷的液相色谱-串联质谱法检测食品中丙烯酰胺的含量^[12]。对市面销售的面包、蛋糕、饼干、薯片、薯条、麻花、广式月饼、杏仁饼等三大类 97 份食品进行丙烯酰胺含量调查, 为进一步了解食品中丙烯酰胺的形成机理, 抑制食品中丙烯酰胺的含量, 也为人群丙烯酰胺的食源性暴露评估提供可靠数据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂 TSQ Quantum Access 高效液相色谱-串联质谱联用仪(ESI 源), 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; GM200 刀式捣磨仪, 德国 Retsch 公司; Laborota 4003 旋转蒸发仪, 美国 Heidolph 公司; Trubo VapII 全自动浓缩仪, 美国 Caliper 公司; Milli-Q 超纯水系统, 美国 Millipore 公司; Sorvall ST40 台式离心机, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 575DAE 超声波清洗仪, 美国 Crest 公司; MMV-1000W 分液漏斗振荡器, 日本 Eyela 公司。

丙烯酰胺(纯度 > 99%)、¹³C₃-丙烯酰胺(纯度 > 98%), 德国 Dr. Ehrenstorfer 公司; Cleanert SLE 固相萃取柱(14.5

基金项目 博士后项目(118082); 广东省高等学校优秀青年教师培养计划项目(Yq2013196); 中山市科技计划项目(2013A3FC0322)。

作者简介 李向丽(1979-), 女, 河南平顶山人, 副教授, 博士, 从事食品安全与质量监测研究。

收稿日期 2015-04-02

g/60 ml),博纳艾洁尔公司;0.45 μm 水系针筒式微孔滤膜过滤器,上海安谱公司;试剂除注明外均为分析纯;试验用水为 GB/T6682 规定的一级水,甲醇(色谱纯)、正己烷(色谱纯)、乙酸乙酯(色谱纯)、正己烷和乙酸乙酯均重蒸后使用,硫酸铵、无水硫酸钠(400 ℃,烘烤 4 h)。

1.2 标准配制 丙烯酰胺标准储备液(1 000 mg/L),¹³C₃-丙烯酰胺标准储备液(1 000 mg/L):准确称取丙烯酰胺标准品和内标物¹³C₃-丙烯酰胺,用甲醇溶解并定容,使丙烯酰胺浓度为 1 000 mg/L,置 -20 ℃ 冰箱中保存。

分别称取适量的丙烯酰胺和¹³C₃-丙烯酰胺标准品,用甲醇溶解定容于 100 ml 容量瓶,使丙烯酰胺标准储备液浓度为 100 μg/ml,¹³C₃-丙烯酰胺标准储备液浓度为 10 μg/ml。

丙烯酰胺标准工作液:准确移取适量 100 μg/ml 的丙烯酰胺标准溶液,用 0.1% 甲酸溶液梯度稀释,配制为适当质量浓度 10、50、100、500、1 000、3 000 ng/ml 的标准工作液,标准工作液含内标质量浓度为 100 ng/ml。现用现配。

1.3 样品的采集与制备

1.3.1 样品采集。广式月饼、杏仁饼、饼干、面包、蛋糕、薯条、薯片等焙烤、油炸、膨化类食品均购自当地商超。

1.3.2 样品的提取。样品经刀式捣磨仪研磨粉碎,准确称取试样 1.000 g,加入 10 μg/ml 内标工作溶液¹³C₃-丙烯酰胺 10 μl,再加入超纯水 10 ml,振摇 30 min 后,于 4 500 r/min 离心 10 min,取上清液待净化。

1.3.3 样品的净化。上清液中加入硫酸铵 15 g,振荡 10 min,使其充分溶解,于 4 500 r/min 离心 10 min,取出全部上清液上 Cleanert SLE-SPE (14.5 g/60 ml) 硅藻土柱,用 70 ml 正己烷淋洗,控制流速为 2 ml/min,弃去正己烷淋洗液。用 70 ml 乙酸乙酯洗脱丙烯酰胺,控制流速为 2 ml/min,收集乙酸乙酯洗脱溶液,并在 45 ℃ 水浴中减压旋转蒸发至近干,用乙酸乙酯洗涤蒸发瓶残渣 3 次(2.1、1 ml),并将其转移至已加入 1.0 ml 0.1% 甲酸溶液的试管中,涡旋振荡。在 45 ℃ 氮吹浓缩至 1.0 ml 以下,用 0.1% 甲酸溶液定容 1.0 ml,涡旋振荡,

过 0.45 μm 水相滤膜过滤,待 LC-MS/MS 测定。

1.4 HPLC-MS/MS 色谱柱为 AtlantisTM dC₁₈ 柱(5 μm、2.1 mm I. D. × 150 mm),预柱:C₁₈ 保护柱(5 μm、2.1 mm I. D. × 30 mm);流动相:甲醇-水(含 0.1% 的甲酸)(10:90, V/V),流速:0.2 ml/min,进样体积:10 μl,柱温:30 ℃。采用三重四级/离子阱串联质谱仪。

电离方式:ESI(+);喷雾电压:4 000 V;鞘气压力:275.79 kPa;辅助气压力:34.47 kPa;金属毛细管温度:350 ℃;扫描方式:选择反应监控 MRM 模式。

分别选取离子对质荷比(*m/z*)为 72.20 > 55.40 和 75.20 > 58.40 做为丙烯酰胺及其内标的定量离子,质荷比(*m/z*)72.20 > 44.50 做定性离子,以保留时间和各对离子的响应强度比例作为定性标准,内标法定量,计算样品中丙烯酰胺的含量。

1.5 统计分析 采用 Excel 2003 for Windows 及 SPSS 10.0 统计软件进行统计分析,均数之间比较采用 *t* 检验或方差分析。

2 结果与分析

由于丙烯酰胺具有极强的水溶性,国内外普遍认为液相色谱与质谱串联分析法是食品中微量组分丙烯酰胺检测的理想方法。该研究结合美国食品及药物管理局(FDA)发布的食品中丙烯酰胺定量检测方法和我国食品安全国家标准 GB 5009.204-2014^[13] 进行适当修改,建立了焙烤、油炸、膨化类食品中丙烯酰胺 HPLC/MS/MS 测定方法^[12]。

2.1 方法的可靠性 该研究采用国际上公认的以¹³C 为内标的 HPLC/MS/MS 检测方法,该方法检测灵敏度高,丙烯酰胺标准溶液色谱图及出峰时间见图 1,质谱图见图 2。标准曲线范围为 10~3 000 ng/ml,检出限(LOD, S/N=3)为 1.0 μg/kg,定量限(LQD, S/N>10)为 10.0 μg/kg。添加水平是 10~1 000 μg/kg,回收率为 93.78%~99.15%,相对标准偏差为 1.5%~1.8%。

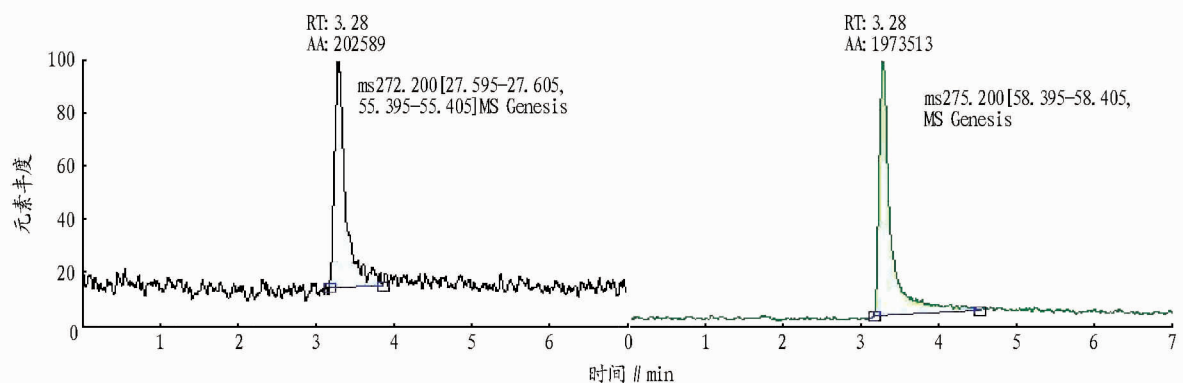


图1 丙烯酰胺标准品及内标色谱

2.2 样品测定

2.2.1 不同食品丙烯酰胺含量。该研究以南方特色焙烤食品广式月饼和中山地方特产杏仁饼为主要调查对象,并对各大超市中销售的常见饼干、蛋糕、薯条、薯片等居民消费普遍的 3 类焙烤、膨化、油炸食品共 97 份样品进行调查。测定结

果显示(表 1),不同类食品及同一类食品不同加工方法结果差异有统计学意义($P<0.05$),含量最高的是薯片和饼干,最高可达 2 939.53 μg/kg,中山特色食品杏仁饼系列食品中丙烯酰胺含量普遍最低,最高含量 46.68 μg/kg,相比其他焙烤类食品低,这与它的焙烤温度相对较低、焙烤时间较短等生

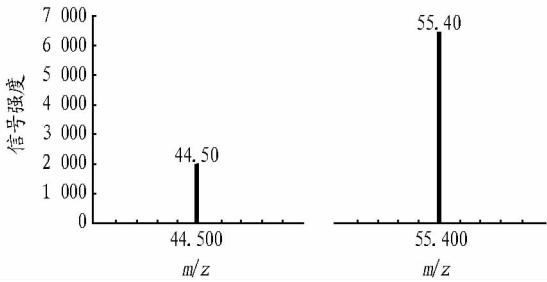


图2 丙烯酰胺质谱

产工艺有一定的关系。

表1 市售焙烤、膨化和油炸类食品中丙烯酰胺的含量

食品种类	样品数	检出数	检出率 %	丙烯酰胺含量//μg/kg		
				平均值	最小值	最大值
广式月饼	30	26	86.7	56.73	ND	193.80
杏仁饼	15	15	100.0	22.99	5.43	46.68
饼干	17	14	82.4	274.96	ND	609.24
薯片类	12	12	100.0	1 289.46	485.21	2 939.53
面包蛋糕类	14	14	100.0	131.66	27.82	275.48
其他食品	9	6	66.7	135.75	ND	590.37

注:ND 表示未检出。

3 结论

该研究采用国际上公认的以¹³C 为内标的 HPLC/MS/MS 检测方法,具有准确、可靠的特点,适于食品中丙烯酰胺的实际检测。

国内外大量研究普遍认为,天门冬酰胺和还原糖在高温加热过程中发生美拉德反应是生成丙烯酰胺的主要途径。食品加热到 120 ℃ 以上即可发现丙烯酰胺的生成,加工方式对丙烯酰胺的产生影响很大^[14]。我国对食品中丙烯酰胺的监测主要集中在炸薯条等高温加工的马铃薯类产品,对焙烤食品的关注和研究不多^[15],尤其是广东地区对广式焙烤食品的监测研究更是少有报道。该研究选用中山市商超销售和进出口中的三大类 97 份食品尤其是广东地区居民喜爱的传统食品广式月饼和中山特色食品杏仁饼进行重点监测,调查的食品普遍含有丙烯酰胺,部分食品因其加工方式不同,丙烯酰胺的含量较高,如薯片,12 种样品,平均含量达 1 289 μg/kg。中山杏仁饼是由刚萌芽(富含多种维生素)的绿豆为原料加工而成外形似杏仁的地方特色食品,加工过程中焙烤温度较低、时间相对较短,生成丙烯酰胺的含量明显低于其他焙烤、油炸和膨化食品,是一种十分安全、营养的特色食品。所调查的进口食品中,选取在中山销量良好的 11 种焙烤和膨化类食品为代表,其中不同批次的同一种食品含有的丙烯酰胺存在一定的差异,某蓝罐燕麦蓝莓曲奇饼干的丙烯酰胺含量最高,为 609.24 μg/kg,比另一批次的某蓝罐曲奇(31.18 μg/kg)高近 20 倍,丙烯酰胺的含量存在这么大的差

异,可能是燕麦蓝莓曲奇和小麦曲奇因原材料不同,制作工艺的不同引起的,也可能是不同批次生产工艺有差异引起的。

2005 年,我国卫生部发布公告,警告公众关注食品中的丙烯酰胺,呼吁采取措施减少食品中的丙烯酰胺含量,确保食品的安全性。建议食品生产加工企业,改进食品加工工艺和条件,研究减少食品中丙烯酰胺的可能途径,探讨优化我国食品工业生产、家庭食品制作中食品配料、加工烹饪条件,探索降低乃至可能消除食品中丙烯酰胺的方法,以尽可能地减少丙烯酰胺可能导致的健康风险。2006 年,卫生部发布《食品中丙烯酰胺的危险性评估》的报告,再次强调居民改变吃含丙烯酰胺高的食品,以减少丙烯酰胺对居民的健康危害。因此,为了减少丙烯酰胺对国民健康的危害,应加强膳食中丙烯酰胺的监测与控制,改进食品加工工艺和条件,研究食品加工过程中丙烯酰胺抑制和消除的技术。不仅我国国内有必要制定丙烯酰胺限量标准,同时也要严把国门,建立一套丙烯酰胺的检测和限量标准,限制国内外同类食品中丙烯酰胺的含量,为居民的健康饮食保驾护航。

参考文献

[1] WTO. Guidelines for drinking water quality [M]. Second edition. Geneva: World Health Organization,1993.

[2] WHO. FAO/WHO consultation on the health implications of acrylamide in food [C]. Geneva;Summary report of a meeting held,2002;25-27.

[3] YANG H,LEE S,JIN Y,et al. Toxicological effects of acrylamide on rat testicular gene expression profile [J]. Reproductive Toxicology,2005,19(4):527-534.

[4] MOSER V C,BARONE S J,PHILLIPS P M,et al. Evaluation of developmental neuron toxicity of organotins via drinking water in rats monomethyltin [J]. Neurotoxicology,2006,27(3):409-420.

[5] BESARATINIA A,PFEIFER G P. A review of mechanisms of acrylamide carcinogenicity [J]. Carcinogenesis,2007,28(3):519-528.

[6] 余以刚,李理,梅艳群,等. 减少高温加工食品中丙烯酰胺含量的几种方法[J]. 现代食品科技,2007,23(1):83-86.

[7] European Food Safety Authority (EFSA). Scientific report of EFSA; Update on acrylamide levels in food from monitoring years 2007 to 2010 [R]. Italy:EFSA Journal,2012;2938.

[8] 周宇,朱圣陶. 11 种油炸及烘烤食品中丙烯酰胺含量检测[J]. 中国食品卫生杂志,2008,20(1):41-43.

[9] 陆文蔚,黄玥,艾清,等. 高效液相色谱法检测月饼中丙烯酰胺的含量[J]. 食品研究与开发,2013,34(13):92-95.

[10] 刘红河,陈春晓,柳其芳,等. 高效液相色谱-串联质谱联用测定富含淀粉食品中丙烯酰胺[J]. 分析化学研究简报,2006,34(S1):235-238.

[11] 赵榕,邵兵,赵婕,等. 液相色谱-电喷雾质谱/质谱法测定高温烹制的淀粉类食品中的丙烯酰胺[J]. 色谱,2005,23(3):289-291.

[12] 李双宜,李蓉,张朋杰,等. SPE-HPLC-ESI-MS/MS 测定常见焙烤及油炸食品中丙烯酰胺的含量[J]. 食品科学,(已录用).

[13] 国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.204-2014 食品安全国家标准食品中丙烯酰胺含量的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2015.

[14] MOTTERAM D S,WEDZICHA B L,DODSON A T. Acrylamide is formed in the Maillard reaction[J]. Nature,2002,419(6906):448-449.

[15] 陈慧芬,邵昭明,江国光,等. 佛山市禅城区煎炸烘烤食品中丙烯酰胺含量的调查[J]. 中国热带医学,2009,9(2):387-388.