

Для цитирования: Аналитика и контроль. 2019. Т. 23, № 3. С. 393-400

УДК 543.544.3

DOI: 10.15826/analitika.2019.23.3.002

## Аналитический контроль пищевых систем на содержание акриламида методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

А.В. Куликовский<sup>1</sup>, Н. Л. Вострикова<sup>1</sup>, О.А. Кузнецова<sup>1</sup>, А.А. Семенова<sup>1</sup>,  
\*А.Н. Иванкин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова

Российской академии наук, Российская Федерация, 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26

<sup>2</sup>Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана, Российская Федерация,  
10500, г. Москва, ул. 2-я Бауманская, 5

\*Адрес для переписки: Иванкин Андрей Николаевич. E-mail: [aivankin@inbox.ru](mailto:aivankin@inbox.ru)

Поступила в редакцию 23 марта 2019 г., после исправления – 6 июня 2019 г.

Токсичное вещество – акриламид представляет собой серьезную проблему для человека. Из-за естественного наличия практически во всех пищевых продуктах белков и свободных аминокислот, в ходе технологической обработки пищевого сырья при повышенных температурах происходит образование токсичного акриламида. Содержание акриламида в Российской Федерации в нормативных документах не нормируется, однако в настоящее время в ряде регламентных документов Таможенного союза вводится показатель – предельно допустимое содержание акриламида в различных видах пищевых продуктов. У аналитических лабораторий существует потребность в разработке и внедрении методологии достоверного количественного определения содержания акриламида в сложных по компонентному составу объектах пищевого назначения, которая может быть использована в практической сертификации испытательных лабораторий. Авторами разработана методика определения акриламида в пищевых продуктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием в режиме мониторинга заданных реакций. Описана методика подготовки проб к анализу методом ГХ с электронозахватным детектором и методом ВЭЖХ-МС/МС. Представлены оптимальные условия определения акриламида данными методами. Обсуждены недостатки методики определения акриламида с использованием классической газовой хроматографии, а именно низкая степень извлечения и необходимость дериватизации акриламида – лабильного вещества с неопределяемой химической связью, наличие которой в большинстве случаев существенно осложняет анализ традиционными методами. Подобраны условия экстракции и очистки экстракта для снижения матричных эффектов. Исследовано влияние реакции меланоидинообразования на концентрацию акриламида при разных режимах теплового воздействия и установлены оптимальные условия достоверного определения содержания акриламида в зависимости от тепловой обработки сырья и продуктов. Проведена оценка специфичности, правильности и точности методики. Показано, что в соответствии с разработанным методом, акриламид может определяться с точностью 97.3–98.2 % при его содержании на уровне 5–20 нг/мл. Степень извлечения акриламида составляла 82–91 %. Предел количественного обнаружения акриламида был равен 2 мкг/кг.

**Ключевые слова:** акриламид, безопасность, канцероген, газовая хроматография, ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2019, vol. 23, no. 3, pp. 393-400

DOI: 10.15826/analitika.2019.23.3.002

## Analytical control of food systems on the acrylamide content using the method of highly efficient liquid chromatography with mass-spectrometric detection

**A.V. Kulikovskii<sup>1</sup>, N.L. Vostrikova<sup>1</sup>, O.A. Kuznetsova<sup>1</sup>,  
A.A. Semenova<sup>1</sup>, \*A.N. Ivankin<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Russian Federation, 109316, Moscow, Talalikhina st., 26*

<sup>2</sup>*Bauman Moscow State Technical University, Russian Federation, 105005, Moscow, 5, 2nd Baumanskaya st.*

\*Corresponding author: Andrey N. Ivankin, E-mail: aivankin@inbox.ru

Submitted 23 March 2019, received in revised form 06 June 2019

Currently, toxic substance – acrylamide is a serious problem for humans. Due to the natural presence of proteins and free amino acids in almost all food products, and during the processing of raw food materials, toxic acrylamide is formed at the elevated temperatures. The content of acrylamide in the Russian Federation is not standardized by the regulatory documents. However, at present, the following indicator is introduced into several regulatory documents of the Customs Union – the maximum permissible content of acrylamide in various types of food products. The analytical laboratories have a need to develop and implement a methodology for the reliable quantitative determination of acrylamide in complex food components with multipart composition, which can be used in the practical certification of testing laboratories. The authors have developed a method for the acrylamide determination in food products using the high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection in the monitoring mode of specified reactions. A procedure for preparing the samples for the analysis using GC with an electron capture detector and HPLC-MS/MS method is described. The optimal conditions for the determination of acrylamide by these methods are presented. The disadvantages of the method for the determination of acrylamide using the gas chromatography are discussed, namely, the low degree of extraction and the need for derivatization of acrylamide – a labile substance with an unsaturated chemical bond, which in most cases significantly complicates the analysis by traditional methods. The conditions of extraction and purification of the extract are selected to reduce the matrix effects. The effect of the reaction of melanoid formation on the acrylamide concentration is studied under the different heat exposure conditions and the optimal conditions for the reliable determination of the acrylamide content depending on the heat treatment of the raw materials and products were established. An assessment of the specificity, accuracy and correctness of the method has been carried out. It was shown that, in accordance with the developed method, acrylamide can be determined with an accuracy of 97.3–98.2% with its content at the level of 5–20 ng / ml. The degree of extraction of acrylamide was 82–91%. The limit of quantitative detection of acrylamide was 2 µg / kg.

**Keywords:** acrylamide, safety, carcinogen, gas chromatography, HPLC with mass spectrometric detection.

## ВВЕДЕНИЕ

Приготовление пищи предусматривает тепловую обработку, в ходе которой компоненты пищевой системы претерпевают ряд преобразований. В результате появляются химические соединения, которые могут представлять опасность для человека. Нейротоксичный и потенциально канцерогенный акриламид образуется при термообработке в пищевых продуктах, богатых углеводами, таких как картофель фри, картофельные чипсы, чипсы из злаков, сухарики, завтрак из хлопьев и печенье, в концентрациях до 2000 мкг/кг [1-3]. Максимальные количества акриламида фиксируются в пищевой продукции, полученной с нарушением температурных и временных режимов обработки [4]. Считается, что акриламид появляется в результате протекания реакции Майяра между свободными аминокислотами, в особенности аспарагином, и редуцирующими сахарами, такими как глюкоза и фруктоза, при температурах выше 120 °C [5]. Имеются данные, что развитие этой реакции происходит также при более низких температурах 65–75 °C, т.е. в реально применяемом интервале тепловой обработки пищевого сырья [3, 5]. В 1994 году Международное агентство по исследованию

рака классифицировало промышленный химический акриламид как возможный канцероген для человека на основе его канцерогенного действия на грызунов. Акриламид также является нейротоксином [6]. Максимальные пределы содержания акриламида в пищевых продуктах не установлены, хотя предел содержания акриламида в питьевой воде регламентирован Всемирной организацией здравоохранения на уровне 0.5 мкг/кг [7]. Акриламид является веществом 2-го класса опасности и характеризуется летальной дозой для лабораторных животных 150–180 мг/кг [8]. Объединенный комитет экспертов ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам заключил, что среднее потребление акриламида с пищей составляет 1 мкг на 1 кг массы тела в сутки или 4 мкг/сутки. Доза более 300 мкг/кг в сутки вызывает у лабораторных животных онкообразования [9].

Проблема акриламида является особенно значимой для продуктов детского питания. Продукты питания для детей в процессе производства подвергаются температурной пастеризации, стерилизации, поджариванию, гидролизу и распылительной сушке [10]. Хотя эти процессы улучшают сенсорные качества продукта и его усвояемость, усиливают

микробиологическую безопасность и увеличивают сроки годности, они также способствуют развитию модификаций реакции Майяра, которая может приводить к образованию вредного акриламида в высоких концентрациях [11].

Для определения акриламида, в частности в воде, применяют в основном адсорбционно-фотометрический метод с диапазоном измерения массовой концентрации 0.2–3.0 мг/л [12]. Метод не является селективным и он не позволяет достоверно устанавливать наличие акриламида в широком спектре пищевой продукции [13].

В последнее время применяются различные методы анализа акриламида, основанные на электрофоретической или хроматографической подвижности в конденсированных средах [14]. Методики определения с использованием ВЭЖХ не позволяют обнаруживать акриламид в следовых количествах вследствие низкой чувствительности УФ детектора и перекрестной интерференции родственных соединений [15].

Наиболее широкое распространение при определении акриламида получила газовая хроматография и масс-спектрометрия. Однако при использовании данных методик требуется дериватизация акриламида [16, 17, 18].

Цель настоящей работы заключалась в разработке методики определения акриламида, не требующей сложной дериватизации, и проведении сравнительной оценки возможностей газовой хроматографии с электронно-захватным детектированием (ГХ-ЭЗД) и высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) для определения концентрации акриламида в пищевых продуктах.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Сущность методики определения акриламида при использовании ГХ-ЭЗД заключалась в предварительной экстракции, удалении белков и жиров с последующим бромированием экстракта. При использовании ВЭЖХ-МС/МС проводили экстракцию акриламида ацетонитрилом, а очистку экстракта осуществляли с использованием полярного сорбента с привитыми этилендиамин-N-пропильными группами марки ISOLUTE PSA (Agilent, США) и сорбента для твердофазной экстракции C18(ЕС) производства IST Isolute (США).

**Реагенты.** Использовали следующие реактивы: ацетонитрил для ВЭЖХ, (Panreac, Франция), гексан (Panreac, Франция), этилацетат (Sigma Aldrich, США), муравьиную кислоту (Merck, США), калия бромид (Sigma Aldrich, США), калия бромат (Sigma Aldrich, США), кислоту серную «х.ч.», триэтиламин (Sigma Aldrich, США). Деионизованную воду получали на системе Milli Q Direct 8 (Merck Millipore, Франция). В качестве стандартного образца использовали акриламид с содержанием основного вещества

не менее 99.0 % производства компании Sigma-Aldrich (США).

### Подготовка проб к анализу методом ГХ-ЭЗД.

В качестве объектов исследования использовали мясорастительные консервы для детского питания, в состав которых входило, % мас.: мясо цыплят 30; мясо говядины 10; мясо свинины нежирное 5; масло подсолнечное 1; молоко сухое обезжиренное 1; овсяные хлопья 3,5; картофель 5; хлорид натрия 0,3; экстракт петрушки, укропа 0,0011; вода – остальное.

Образцы мясной продукции измельчали с использованием гомогенизатора ВУСНІ В-400 (Buchі, Швейцария). Гомогенизованную пробу массой 3 г помещали в центрифужную пробирку, добавляли 20 мл деионизованной воды, перемешивали и центрифугировали при 4000 g 5 минут. Полученный таким образом экстракт содержал значительное количество белка и жира. Для удаления жиров 15 мл водного экстракта дважды обезжиривали добавлением по 15 мл гексана. Акриламид нерастворим в гексане и не может переходить в гексан в указанных условиях. Для осаждения белков к очищенному от жиров водному экстракту добавляли 50 % серную кислоту до рН 1.0. Выбор серной кислоты был обусловлен так же необходимостью ее присутствия в образце для последующего бромирования. Денатурированные белки удаляли центрифугированием. Для бромирования к 10 мл очищенного водного экстракта добавляли 5 г бромида калия и перемешивали до полного растворения. После этого добавляли 0.2 М раствор бромата калия, перемешивали и помещали в холодильник на 1 час при температуре  $6 \pm 2$  °С. К полученному раствору добавляли 10 мл этилацетата, перемешивали и центрифугировали 5 мин при 4000 g. Этилацетатный слой отбирали. В полученный экстракт вносили триэтиламин в количестве 0.2 мл на каждые 10 мл этилацетатного экстракта. Раствор пропускали через мембранный фильтр с диаметром пор 0.45 мкм и анализировали методом ГХ-ЭЗД.

### Подготовка проб к анализу методом ВЭЖХ-МС/МС.

Экстракцию акриламида проводили ацетонитрилом из предварительно гомогенизованного образца. Навеску гомогенизованного образца 3 г помещали в центрифужную пробирку вместимостью 50 см<sup>3</sup> и добавляли 5 мл воды и 5 мл ацетонитрила. В центрифужную пробирку вносили 6 г сульфата магния, 1.5 г ацетата натрия и перемешивали. Центрифугировали в течение 5 мин при 4000 g. Внесение таких солей, как сульфат магния и ацетат натрия, приводит к увеличению извлечения полярных соединений, а также используется для контроля процента содержания воды в органическом слое, предоставляя, таким образом, возможность регулирования степени полярности обеих фаз. Для очистки от органических примесей использовали анионообменный сорбент PSA с размером частиц 50 мкм и диаметром пор 60 Å, который экстрагирует сильнокислотные и поликислотные соединения, а

также ионы металлов из водных растворов. Отбирали аликвоту из верхней части экстракта и перенесли в центрифужную пробирку вместимостью 15 см<sup>3</sup>, в которой содержалось 1.2 г сульфата магния и 0.4 г этилендиамин-N-пропила. Использование этилендиамин-N-пропила и октадецила на данном этапе позволяет отказаться от обезжиривания пробы гексаном. Для доочистки аликвоты применяли сорбент С18(ЕС) – это кремнеземный неполярный сорбент с пришитой октадецилсилильной группой (октадецилсиллил). За счет гидрофобных взаимодействий С18(ЕС) с размером частиц 50 мкм и диаметром пор 60 Å, способен экстрагировать нейтральные, основные и кислотные соединения. Очищенный экстракт центрифугировали в течение 5 минут при 4000 g и пропускали через мембранный фильтр 0.45 мкм в вials. Измерение проводили с использованием ВЭЖХ-МС/МС. Метод требует точной последовательности внесения реактивов, так как, необходимо вносить соли после добавления органического растворителя. Добавление солей непосредственно в образец может вызвать экзотермическую реакцию, способную отрицательно повлиять на извлечение акриламида.

**Условия определения акриламида методом ГХ-ЭЗД.** Газохроматографическое определение проводили с использованием системы ГХ Agilent 7890 (Agilent Technologies, США) оснащенной электрозахватным детектором с хроматографической колонкой HP-INNOWax 60 м, 0.25 мм, 0.25 мкм (Agilent Technologies, США). Были подобраны следующие условия газохроматографического разделения: 60 °С – 1 мин, далее 12 °С/мин – до 230 °С, изотерма 10 минут, газ-носитель азот – 2 мл/мин. В хроматограф в автоматическом режиме вводили 1 мм<sup>3</sup> стандартного раствора акриламида после бромирования, температура инжектора – 260 °С, детектора – 300 °С; скорость потока азота – 20 см<sup>3</sup>/мин; скорость потока газа-носителя через колонку – 1,0 см<sup>3</sup>/мин; деление потока 1:10; ввод пробы – 1 мм<sup>3</sup>.

**Условия определения акриламида методом ВЭЖХ-МС/МС.** Определение выполняли на системе для ВЭЖХ Agilent1200 (Agilent Technologies, США) с трехквadrupольным масс-спектрометром Agilent 6410В (Agilent Technologies, США). Для определения акриламида использовали хроматографическую

Таблица 1

Условия градиентного элюирования

Table 1

Gradient elution conditions

Время, мин	А, % об.	В, % об.
0	5	95
1.0	20	80
3.0	80	20
5.0	95	5

Примечание: А – 1 %-й раствор муравьиной кислоты в воде; В – ацетонитрил.

Таблица 2

Условия детектирования в режиме мониторинга заданных реакций (ионизация электрораспылением с регистрацией положительных ионов)

Table 2

Detection conditions in the monitoring mode of specified reactions (electrospray ionization with registration of positive ions)

Аналит	Ион-предшественник, <i>m/z</i>	Ион-продукт, <i>m/z</i>	Потенциал фрагментации, В	Энергия диссоциации, В
Акриламид	72.2	27.1 55.1	50	5 15

колонку Zorbax HILIC Plus 4.6 мм × 50 мм, 3.5 мкм (Agilent Technologies, США). Данная колонка предназначена для разделения низкомолекулярных полярных веществ методом хроматографии гидрофильных взаимодействий. Разделение проводили в режиме градиентного элюирования (двухкомпонентная подвижная фаза). Условия хроматографического определения представлены в табл. 1.

Использовали ионизацию электрораспылением и следующие оптимизированные параметры масс-спектрометрического детектирования: температура источника 100 °С; температура газа для десольватации 320 °С; расход газа для десольватации 8 л/мин; давление иглы распылителя 30 psi (206 кПа). Условия детектирования оптимизировали в ручном режиме. Напряжение на фрагменторе определяли, варьируя с шагом 10 В по максимальному отклику протонированного молекулярного иона, энергию диссоциации оптимизировали с шагом 2 В по максимальному отклику характерного иона-продукта, при этом, соотношение сигнал / шум иона-продукта должно быть не менее 1 : 10. Условия регистрации аналитических сигналов в режиме мониторинга заданных реакций представлены в табл. 2.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Большинство известных методик для дериватизации акриламида предполагают использование брома. Вследствие высокой токсичности реагента Br<sub>2</sub> и длительности процесса бромирования для дериватизации была использована смесь КВг и КВгО<sub>3</sub>, чтобы избежать использования жидкого брома. В процессе бромирования смесью бромида и бромата калия, образуется неустойчивое дибромпроизводное, которое постепенно переходит в более устойчивое монобромпроизводное. Для ускорения этого процесса в полученный экстракт добавляли 1–2 % триэтиламина. Выход продукта реакции 2-бромпропенамида составлял более 95 %. Метод требует точного соблюдения концентрации и соотношений дериватирующих реагентов. Так же экстракт должен быть очищен от белка и жира. В ходе проведенных исследований были установлены

Таблица 3

Аналитические характеристики методик, используемых для определения содержания акриламида в пищевых продуктах ( $n = 3, P = 0.95$ )

Table 3

Analytical characteristics of the methods used to determine the content of acrylamide in food ( $n = 3, P = 0.95$ )

Метод	Дериватирующий реагент	Экстрагирующие растворители, мл	Предел количественного определения, мкг/кг
ВЭЖХ-УФ	2-меркаптобензойная кислота (0.5 г)	Этилацетат, 8 мл	15.0
ГХ-ЭЗД	1.5 г KBr и 0.2 мл KBrO <sub>3</sub> (0.2 M)	Этилацетат, 10 мл	1.0
ГХ-МС	1.5 г KBr и 0.2 мл KBrO <sub>3</sub> (0.2 M)	Этилацетат, 10 мл	5.0
ВЭЖХ-МС/МС	–	Ацетонитрил, 8 мл	2.0

степень экстракции и дериватизации по методике. Аналитические характеристики различных методов, используемых для определения содержания акриламида приведены в табл. 3.

Метод ГХ-ЭЗД позволяет определить акриламид в концентрации более 1 мкг/кг. Однако необходима предварительная очистка пробы и дериватизация для повышения чувствительности детектирования. Чтобы оценить степень дериватизации, использовали 3 мл водного раствора акриламида в концентрации 100 мкг/л. Количество дериватизированного аналита было определено с использованием ГХ-ЭЗД. Уменьшение количества вносимого дериватирующего агента приводило к снижению степени дериватизации акриламида. Степень дериватизации сильно зависела от времени проведения реакции. Зависимость степени дериватизации от времени представлена на рис. 1.

Потери аналита в процессе пробоподготовки составляли от 20 до 40 %. В связи с высокими потерями акриламида и сложной процедурой дериватизации, в ходе которой образуется 2-бромпропенамид, был выбран метод ВЭЖХ-МС/МС.

Акриламид методом ВЭЖХ-МС/МС идентифицировали по абсолютному времени удерживания хроматографических пиков целевых веществ, регистрируемых в режиме мониторинга заданных

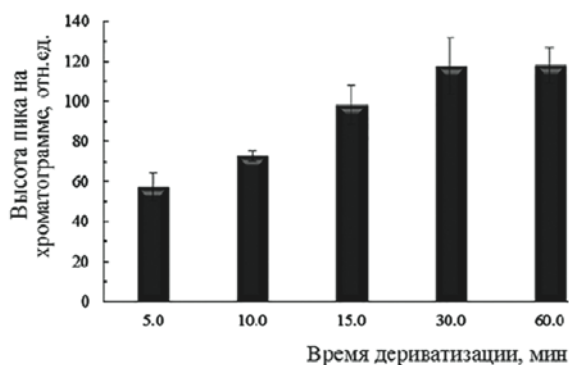


Рис. 1. Влияние времени реакции на степень дериватизации (концентрация акриламида – 100 мкг/л, объем образца – 3 мл).

Fig. 1. Effect of the reaction time on the degree of derivatization (acrylamide concentration – 100 µg / l, sample volume – 3 ml).

реакций. С использованием средств программного обеспечения Mass Hunter Workstation (Agilent, США) строили градуировочные зависимости площади пика от концентрации вещества в пробе. Хроматограммы стандартного образца акриламида и пробы, содержащей акриламид, представлены на рис. 2 и 3.

Возможность разделения и однозначность идентификации делают ВЭЖХ-МС/МС оптимальной техникой для определения акриламида. Несомненным преимуществом метода является высокая чувствительность по отношению к исследуемым компонентам. Режим мониторинга заданных реакций исключает возможность ложноположительных результатов в случае присутствия в пробах веществ, дающих перекрестные сигналы при использовании неселективных детекторов.

Достоверность методики проверяли в соответствии с Регламентом Комиссии ЕС 2002/657. Для этого оценивали специфичность, линейность, правильность

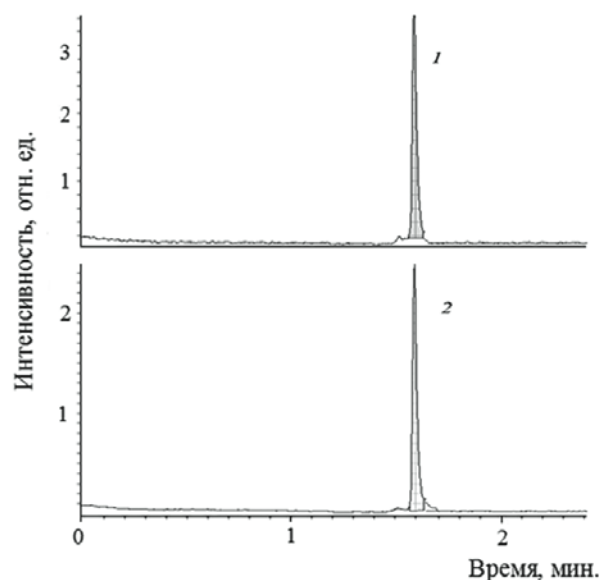


Рис. 2. Хроматограммы градуировочного раствора акриламида (MRM переходы: 1 – 72.2– 27.1; 2 – 72.2– 55.1) и пробы с содержанием акриламида 10.0 мкг/кг.

Fig. 2. Chromatogram of acrylamide calibration solution (MRM transitions: 1 - 72.2–27.1; 2 - 72.2–55.1) and sample containing 10.0 mg/kg of acrylamide.

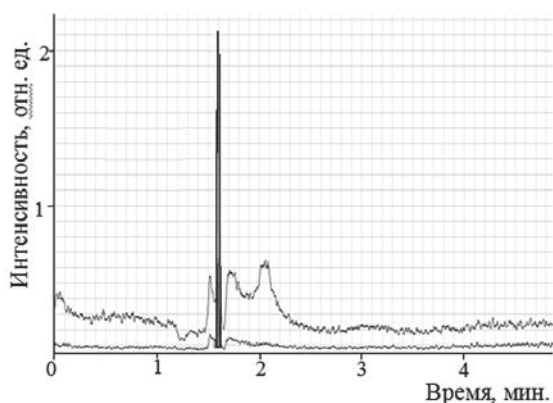


Рис. 3. Хроматограммы пробы с содержанием акриламида 10.0 мкг/кг.

Fig. 3. Chromatogram of the sample with the acrylamide content of 10.0 µg / kg.

(степень извлечения), точность (внутрилабораторная воспроизводимость), предел обнаружения, предел количественного обнаружения. Мышечную ткань сельскохозяйственных животных использовали в качестве холостых проб, заранее не содержащих искомых аналитов.

Матричные эффекты для аналитов были проверены путем анализа концентраций акриламида в холостых пробах и деионизованной воде, и вычислены отношения площади пика холостой пробы к воде. Исследования матричных эффектов в количественном биоанализе показывают, что подавление или усиление ионов часто сопровождается значительным ухудшением точности и достоверности методики. Степень подавления ионизации матрицей для акриламида составила в среднем 18 %. Для учета матричного эффекта строили градуировочную характеристику при помощи матричной градуировки. Линейность оценивали с помощью модели линейной регрессии с калибровкой концентрации как независимой переменной и соответствующих отношений площадей в качестве зависимой переменной. Коэффициент корреляции линейной регрессии *R* составил 0.98 в диапазоне



Рис. 4. Масс-спектр акриламида в условиях электроспрей ионизации положительных ионов.

Fig. 4. Acrylamide mass spectrum electrospray ionization conditions for the positive ions.

**Таблица 4**

Показатели точности и достоверности разработанного метода определения акриламида (*n* = 6, *P* = 0.95)

**Table 4**

Indicators of accuracy and reliability of the developed method for the determination of acrylamide (*n* = 3, *P* = 0.95)

Аналит	Концентрация, нг/мл	Относительное стандартное отклонение, %	Точность, %
Акриламид	5	4.46	97.3
	10	3.21	99.1
	20	1.55	98.2

концентраций 2.0 – 500.0 нг/мл. Масс-спектр акриламида представлен на рис. 4.

Предел количественного определения вычисляли как соотношение сигнал/шум для иона-продукта не менее 1 : 10. Предел обнаружения определяли как соотношение сигнал/шум для иона-продукта не менее 1 : 3. Предел количественного определения акриламида составил 2.0 нг/мл; предел обнаружения составил 0.5 нг/мл. Специфичность методики была подтверждена отсутствием пика акриламида при анализе 10 чистых образцов. После введения стандарта с самой высокой концентрацией в диапазоне калибровки 500 нг/мл и последующем анализе холостых проб, пиков акриламида не наблюдалось.

Показатели точности были оценены шестью повторными измерениями стандартов в концентрации 5, 10 и 20 нг/мл. Внутрилабораторную воспроизводимость рассчитывали по результатам анализа испытуемых растворов субстанции, полученным другим химиком в лаборатории на том же оборудовании. Относительное стандартное отклонение площади пика акриламида не превышало 4.5 %. Точность определения акриламида варьировалась в диапазоне 97-99 %. Показатели точности представлены в табл. 4.

Процент извлечения акриламида анализировали в трех повторностях при концентрациях 50, 100 и 500 нг/мл. Степень извлечения оценивали путем добавления акриламида в трех концентрациях (50, 100 и 500 нг/мл, *n* = 3) в чистую матрицу, не содержащую определяемый аналит. Степень извлечения акриламида составила от 82.4 % до 91.5 %, результаты измерений представлены в табл. 5.

**Таблица 5**

Степень извлечения акриламида из холостой пробы (*n* = 3, *P* = 0.95)

**Table 5**

Degree of extraction of acrylamide from the blank sample (*n* = 3, *P* = 0.95)

Аналит	Концентрация, нг/мл	Степень извлечения, %
Акриламид	50	82 ± 3
	100	91 ± 3
	500	87 ± 2



Рис. 5. Влияние продолжительности и температуры протекания реакции меланоидинообразования на уровень образования акриламида.

Fig. 5. Effect of the duration and temperature of the reaction of melanoid formation on the level of acrylamide formation.

В работе было изучено влияние продолжительности и температуры протекания реакции меланоидинообразования на уровень образования акриламида. Модельные рецептурные композиции из говядины (41 %), соевого изолированного белка (4 %), муки пшеничной (5 %), воды (50 %) гомогенизировали, фасовали в жестяные банки и стерилизовали в следующих режимах: 120 °С в течение 30 минут (контроль); 120 °С в течение 50 минут (образец 1); 130 °С в течение 30 минут (образец 3). Полученные данные представлены на рис. 5.

В образце, изготовленном с использованием традиционного режима стерилизации (контроль), содержание акриламида составило 27.6 мкг/кг. Установлено, что при одинаковой температуре с увеличением времени теплового воздействия до 50 минут уровень акриламида возрастал в 1.6 раза. При увеличении температуры воздействия до 130 °С с одинаковым временем количество акриламида в исследованной смеси возрастало в 1.55 раз.

## ВЫВОДЫ

Разработанная методика с использованием ВЭЖХ-МС/МС позволяет обнаружить акриламид в мясной продукции для детского питания на уровне концентрации 2 мкг/кг. Исключение процесса сложной дериватизации, необходимой при использовании ГХ-ЭЗД, позволило отказаться от токсичных бромных реагентов и снизить потери аналита при пробоподготовке. Экстракция акриламида и очистка с использованием анионообменного сорбента на основе этилендиамин-N-пропила и октадецила позволяет очистить пробу от мешающих компонентов и минимизировать матричные эффекты. Определены предел обнаружения, предел количественного обнаружения, степень извлечения, показатели точности и специфичности методики. Проведенные исследования позволяют использовать разработанную методику для контроля накопления акриламида в пищевых продуктах.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Багрянцева О.В., Шатров Г.Н., Хотимченко С.А. Акриламид: образование в пищевых продуктах, пути решения проблемы // Вопросы питания. 2010. Т. 79, № 1. С. 4–12.
2. Mesias M., Delgado-Andrade C., Holgado F., Morales F.J. Acrylamide content in French fries prepared in households: A pilot study in Spanish homes // Food Chemistry. 2018. V. 260. P. 44–52.
3. Vinci R.M., Mestdagh F., De Meulenaer B. Acrylamide formation in fried potato products – Present and future, a critical review on mitigation strategies // Food Chemistry. 2012. V. 133, № 4. P. 1138–1154.
4. Tareke E., Rydberg P., Karlsson P., Eriksson S., Tornqvist M. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002. V. 50, № 17. P. 4998–5006.
5. Ölmez H., Tuncay F., Özcan N., Demirel S. A survey of acrylamide levels in foods from the Turkish market // Journal of Food Composition and Analysis. 2008. V. 21, № 7. P. 564 – 568.
6. Health implications of acrylamide in food. Report of Joint FAO WHO. Geneva: Consultation WHO Headquarters, 2002. 35 p.
7. Acrylamide. The toxicological evaluation of compounds on the agenda. Evaluation of certain food contaminants: sixty-fourth report of the Joint FAO WHO. Geneva: Expert Committee on Food Additives. 2005. 8 p.
8. Тарских М.М. Промышленный мономер акриламид: сравнительное исследование прооксидантного действия в опытах *in vitro* и на модели острой интоксикации // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2009. № 2. С. 49–51.
9. Siaw M.O., Ofosu I.W., Lutterodt H.E., Ankar-Brewoo G.M. Acrylamide exposure and risks in most frequently consumed foods in a total diet study // Journal of Food Science and Technology. 2018. V. 6, № 4. P. 123–137.
10. Нилова Л.П., Малютенкова С.М., Вытовтов А.А. Проблема безопасности хлебобулочных изделий: акриламид // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. 2017. Т. 5, № 1. С. 74–81.
11. Дыдыкин А.С., Деревицкая О.К. Безопасность продуктов детского питания, подвергаемых высокотемпературной обработке // Пищевая промышленность. 2018. № 3. С. 58–59.
12. Григорян М.В., Григорян Д.Д., Чшмаритян Д.Г., Симонян Г.С., Арутшян Р.С., Бейлерян Н.М. Межмолекулярные взаимодействия в системе вода-акриламид-поверхностно-активное вещество // Журнал физической химии. 2004. Т. 78, № 4. С. 651–655.
13. Lim H.H., Shin H.S. A new derivatization approach with d-cysteine for the sensitive and simple analysis of acrylamide in foods by liquid chromatography–tandem mass spectrometry // Journal of Chromatography A. 2014. V. 1361, № 9. P. 117–124.
14. Wu M., Chen W., Wang G., He P., Wang Q. Analysis of acrylamide in food products by microchip electrophoresis with on-line multiple-preconcentration techniques // Food Chemistry. 2016. V. 209, № 10. P. 154–161.
15. Разработка методики определения акриламида в пищевых продуктах методом газожидкостной хроматографии / В.В. Бессонов [и др.] // Вопросы питания. 2011. Т. 80, № 4. С. 79 – 83.
16. DeArmond P.D., DiGoregorio A.L. Characterization of liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the determination of acrylamide in complex environmental

samples // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2013. V. 405, № 12. P. 4159–4166.

17. Eriksson S., Karlsson P. Alternative extraction techniques for analysis of acrylamide in food: Influence of pH and digestive enzymes // *LWT - Food Science and Technology*. 2006. V. 39, № 4. P. 393–399.

18. Paleologos E. K., Kontominas M. G. Determination of acrylamide and methacrylamide by normal phase high performance liquid chromatography and UV detection // *Journal of Chromatography A*. 2005. V. 1077, № 2. P. 128–135.

19. Gökmen V. Analysis of acrylamide in foods with special emphasis on sample preparation and gas chromatography–mass spectrometry detection. In: *Acrylamide in food. Analysis, content and potential health effects*. Amsterdam: Elsevier, 2016. 445 p.

## REFERENCES

1. Bagryantseva O.V., Sharov G.N., Khotimchenko S.A. Akrylamid: obrazovanie v pishchevykh produktakh, puti reshenia problemy [Acrylamide: education in food, solutions]. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2010, vol. 79, no. 1, pp. 4–12 (in Russian).

2. Mesias M., Delgado-Andrade C., Holgado F., Morales F.J. Acrylamide content in French fries prepared in households: A pilot study in Spanish homes. *Food Chemistry*. 2018, vol. 260, pp. 44–52. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.03.140.

3. Vinci R.M., Mestdagh F., De Meulenaer B. Acrylamide formation in fried potato products – Present and future, a critical review on mitigation strategies. *Food Chemistry*. 2012, vol. 133, no. 4, pp. 1138–1154. doi:10.4172/2157-7110.1000344

4. Tareke E., Rydberg P., Karlsson P., Eriksson S., Tornqvist M. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, vol. 50, no. 17, pp. 4998–5006. doi: 10.1021/jf020302f

5. Ölmez, H., Tuncay, F., Özcan, N., Demirel, S. A survey of acrylamide levels in foods from the Turkish market. *Journal of the Food Composition and Analysis*. 2008, vol. 21, no. 7, pp. 564–568. doi:10.1016/j.jfca.2008.04.011

6. Health Implications of acrylamide in food. Report of Joint FAO WHO. Geneva: Consultation WHO Headquarters, 2002. 35 p.

7. Acrylamide. The toxicological evaluation of the compounds on the agenda. Evaluation of certain food contaminants: the sixty-fourth report of the Joint WHO FAO. Geneva: Expert Committee on Food Additives, 2005, pp. 8.

8. Tarskikh M.M. Promyshlenny monomer akrilamid: sravnitel'noe issledovanie prooksidantnogo deistviia v opytakh *in vitro* i na modeli ostroi intoksikatsii [Industrial monomer acrylamide: a comparative study of prooxidant action in *in vitro* experiments and on the model of acute intoxication]. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii [Questions of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry]*. 2009, no. 2, pp. 49–51 (in Russian).

9. Siaw M.O., Oforu I.W., Lutterodt H.E., Ankar-Brewoo G.M. Acrylamide exposure and total dietary studies. *Journal of Food Science and Technology*. 2018, vol. 6, no. 4, pp. 123–137. doi: 10.12691/ajfst-6-4-1

10. Nilova L.P., Malyutenkova S.M., Vytovtov A.A. Problemy bezopasnosti khlebobulochnykh izdelii: akrilamid [Security problems of bakery products: acrylamide]. *Vestnik Yuzhno-Ural'skogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Pishchevye i biotekhnologii [Bulletin of the South Ural State University. Series: Food and Biotechnology]*. 2017, vol. 5, no. 1, pp. 74 – 81 (in Russian).

11. Dydykin A.S., Derevitskaya O.K. Safety of baby foods subjected to high temperature treatment]. *Pishchevaia promyshlennost' [Food industry]*. 2018, no. 3, pp. 58–59 (in Russian).

12. Grigoryan M.V., Grigoryan D.D., Chshmarityan D.G., Simonyan G.S., Arutshnyan R.S., Belelyan N.M. Mezhmolekuliarnye vzaimodeistviia v sisteme voda-akrilamid-poverkhnostno-aktivnoe veshchestvo [Intermolecular interactions in the water-acrylamide-surfactant system]. *Zhurnal fizicheskoi khimii [Journal of Physical Chemistry]*. 2004, vol. 78, no. 4, pp. 651–655 (in Russian).

13. Lim H.H., Shin H.S. A new derivatization approach for the sensitive and simple analysis of acrylamide and liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2014, vol. 1361, no. 9, pp. 117–124. doi: 10.1016/j.chroma.2014.07.094

14. Wu, M., Chen, W., Wang, G., He, P., Wang, Q. Microchip electrophoresis with on-line multiple-preconcentration techniques. *Food Chemistry*. 2016, vol. 209, no. 10, pp. 154–161. doi:10.1016/j.foodchem.2016.04.065

15. Bessonov V.V., Malinkin A.D., Perer'yaev O.I., Bogachuk M.N., Volkovich S.V., Medvedev Yu.V. Razrabotka metodiki opredeleniia akrilamida v pishchevykh produktakh metodom gazozhidkostnoi khromatografii [Development of methods for the determination of acrylamide in food products by gas-liquid chromatography]. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*, 2011, vol. 80, no. 4, pp. 79–83.

16. DeArmond P.D., DiGoregorio A.L. Characterization of liquid chromatography and environmental analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2013, vol. 40, no. 12, pp. 4159–4166. doi: 10.1007/s00216-013-6822-4

17. Eriksson S., Karlsson P. Alternative extraction of pH and digestive enzymes. *LWT – Food Science and Technology*, 2006, vol. 39, no. 4, pp. 393–399. doi: 10.1016/j.lwt.2005.03.002

18. Paleologos, E. K., Kontominas, M.G. Determination of acrylamide and methacrylamide. *Journal of Chromatography A*, 2005. vol. 1077, no. 2, pp. 128–135. doi:10.1016/j.chroma.2005.04.037

19. Gökmen V. Analysis of acrylamide and acrylamide detection. In: *Acrylamide in food. Analysis, content and potential health effects*. Amsterdam: Elsevier, 2016, pp. 445. doi:10.1016/B978-0-12-802832-2.00023-1