

学校编码: 10384

分类号 _____ 密级 _____

学 号: 20051301814

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

烘煎食品中丙烯酰胺生成和分布规律
及其速测方法的研究

Investigation of Acrylamide Formation Mechanism, Content
Distribution in Fried Foods and Its Rapid Detection Method

张丽梅

指导教师姓名: 陈曦 教授

专业名称: 分析化学

论文提交日期: 2008 年 06 月

论文答辩时间: 2008 年 06 月

学位授予日期: 2008 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2008 年 06 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

2008 年 月 日

目录

摘要

Abstract

第一章 前言	1
1.1 食品中丙烯酰胺的危险性评估	1
1.1.1 食品中丙烯酰胺的含量和人体的摄入量	1
1.1.2 人体接触丙烯酰胺的途径	3
1.1.3 丙烯酰胺在人体中的吸收、分布及代谢	3
1.1.4 丙烯酰胺的毒性	3
1.1.5 国内外食品中丙烯酰胺的研究进展	4
1.2 食品中丙烯酰胺的生成机理以及影响因素	5
1.2.1 食品中丙烯酰胺的生成机理	5
1.2.2 影响丙烯酰胺生成和消除的因素	10
1.3 食品中丙烯酰胺分析的样品前处理技术	12
1.3.1 样品的提取	12
1.3.1.1 液/液萃取	12
1.3.1.2 加速溶剂提取	12
1.3.1.3 固相微萃取	13
1.3.1.4 索氏提取	14
1.3.2 样品的衍生化	14
1.3.2.1 溴化衍生法	14
1.3.2.2 2-巯基苯甲酸衍生法	15
1.3.2.3 硅烷化衍生法	16
1.3.2.4 PFPTH衍生法	16
1.3.3 样品的净化	17
1.3.3.1 固相萃取(SPE)	17
1.3.3.2 凝胶渗透色谱法(GPC)	17

1.4 食品中丙烯酰胺的分析方法.....	18
1.4.1 GC-MS 分析.....	18
1.4.2 LC-MS、LC-MS/MS 分析.....	18
1.5 工作设想.....	18
参考文献.....	19
第二章 食品中丙烯酰胺的固相微萃取及含量的气相色谱测定.....	23
2.1 引言.....	23
2.2 实验部分.....	23
2.2.1 试剂.....	23
2.2.2 仪器.....	23
2.2.3 样品的前处理.....	24
2.2.4 溴化衍生.....	24
2.2.5 GC-ECD 分离检测.....	24
2.3 结果和讨论.....	24
2.3.1 不同萃取材料对 2-BPA 萃取效率的影响.....	24
2.3.2 搅拌速度对萃取效率的影响.....	25
2.3.3 萃取时间的影响.....	25
2.3.4 萃取温度的影响.....	26
2.3.5 解吸时间和温度的影响.....	27
2.3.6 样品中油脂的影响.....	27
2.3.7 标准曲线及检测限(LOD).....	28
2.3.8 实际样品的回收率及方法的精密度.....	29
2.3.9 实际样品检测.....	30
2.4 结论.....	30
参考文献.....	31
第三章 食品中丙烯酰胺生成分布规律的研究.....	32

3.1 引言	32
3.2 实验部分	33
3.2.1 试剂.....	33
3.2.2 仪器.....	33
3.2.3 实验步骤.....	33
3.3 结果与讨论	33
3.3.1 时间对丙烯酰胺生成的影响.....	33
3.3.2 温度对丙烯酰胺生成的影响.....	35
3.3.3 食品中水含量对丙烯酰胺生成的影响.....	36
3.3.4 放置时间对丙烯酰胺含量的影响.....	38
3.3.5 油炸食品内外丙烯酰胺含量对比.....	39
3.3.6 食用油的影响.....	39
3.3.7 实际样品检测.....	40
3.4 结论	41
参考文献	41
第四章 食品中丙烯酰胺速测方法的研究	43
4.1 引言	43
4.2 实验部分	43
4.2.1 实验原理.....	43
4.2.2 仪器和试剂.....	44
4.2.3 实验步骤.....	44
4.3 结果和讨论	44
4.3.1 丙烯酰胺标准溶液的荧光检测.....	44
4.3.2 反应温度和预冷.....	45
4.3.3 pH 的选择.....	46
4.3.4 ClO ⁻ 浓度的影响.....	47
4.3.5 反应混合稳定时间的影响.....	47
4.3.6 标准曲线以及检测限.....	48

4.3.7 实际样品检测.....	49
4.4 结论.....	49
参考文献.....	49

在学期间发表的论文

致 谢

厦门大学博硕士论文摘要库

CONTENTS**Chinese Abstract****Abstract**

Chapter 1 Introduction	1
1.1 Evaluation of fatallness on AM in foods	1
1.1.1 AM content in foods and absorbtion for human being.....	1
1.1.2 Approaches for human being touch AM.....	3
1.1.3 Absorbtion, distributing and metabolie.....	3
1.1.4 Toxicity of AM.....	3
1.1.5 Home and abroad development of study on AM in foods.....	4
1.2 Effect and formation mechanism of AM in foods	5
1.2.1 Formation mechanism of AM in foods.....	5
1.2.2 Factors influencing the content of AM in foods.....	10
1.3 Sample preparation technique for determination of AM in foods	12
1.3.1 AM extraction in samples.....	12
1.3.1.1 Liquid/liquid extraction.....	12
1.3.1.2 Accelerated solvent extraction.....	12
1.3.1.3 Solid phase microextraction.....	13
1.3.1.4 Soxhlet extraction.....	14
1.3.2 AM derivatization	14
1.3.2.1 Bromination derivatization.....	14
1.3.2.2 N-(2-Carbamoylethyl)valine derivatization.....	15
1.3.2.3 Silylation derivatization.....	16
1.3.2.4 PFPTH derivatization.....	16
1.3.3 Clean-up of sample.....	17
1.3.3.1 Solid phase extraction (SPE).....	17
1.3.3.2 Gel permeation chromatography (GPC).....	17

1.4 Analysis methods of AM in foods	18
1.4.1 Chromatographic analysis of AM in food based on GC-MS.....	18
1.4.2 Chromatographic analysis of AM based on LC-MS/MS.....	18
1.5 Research scheme	18
References	19
Chapter 2 Determination of AM in food with GC-SPME	23
2.1 Introduction	23
2.2 Experiment	23
2.2.1 Reagent.....	23
2.2.2 Instrument.....	23
2.2.3 Sample preparation.....	24
2.2.4 Bromination derivatization.....	24
2.2.5 GC-ECD analysis.....	24
2.3 Results and discussion	24
2.3.1 Comparison of different fibers on extraction efficiency.....	24
2.3.2 Effect of churning-up time on extraction.....	25
2.3.3 Effect of extraction duration.....	25
2.3.4 Effect of extraction temperature.....	26
2.3.5 Effect of desorption duration and temperature.....	27
2.3.6 Effect of kinds of axunges in food.....	27
2.3.7 Calibration curve and limited of determination.....	28
2.3.8 Recovery and precision.....	29
2.3.9 Real sample analysis.....	30
2.4 Conclusions	30
References	31
Chapter 3 Study on the formation mechanism of AM in foods	32

3.1 Introduction	32
3.2 Experiment	33
3.2.1 Reagent.....	33
3.2.2 Instrument.....	33
3.2.3 Process.....	33
3.3 Results and discussion	33
3.3.1 Effect of duration of heating.....	33
3.3.2 Effect of temprature of heating.....	35
3.3.3 Effect of content of water.....	36
3.3.4 Effect of duration of storing.....	38
3.3.5 Content of AM inside and on the surface of food.....	39
3.3.6 Effect of edible oil.....	39
3.3.7 Sample analysis.....	40
3.4 Conclusions	41
References	41
Chapter 4 Study on the rapid determination of AM in food	43
4.1 Introduction	43
4.2 Experiment	43
4.2.1 Principium of the experiment.....	43
4.2.2 Reagent and instrument.....	44
4.3 Results and discussion	44
4.3.1 Fluorescence determination of AM standard solution.....	44
4.3.2 Cooling time and temprature.....	45
4.3.3 Effect of pH.....	46
4.3.4 Effect of concentration of ClO^-	47
4.3.5 Effect of reaction time.....	47
4.3.6 Calibration curve and limited of determination.....	48
4.3.7 Real sample analysis.....	49

4.4 Conclusions	49
References	49

Publications

Acknowledgements

厦门大学博硕士论文摘要库

摘要

丙烯酰胺是具有急性毒性、神经毒性、生殖发育毒性和遗传毒性的潜在致癌物质。近年来，食品中丙烯酰胺危害人类健康的问题已经日益受到人们的关注。煎炸是我国居民主要的烹调方式之一，食品中丙烯酰胺的含量与烹调方式有密切的关系。进行食品中丙烯酰胺的快速检测与控制，研究烘煎食品中丙烯酰胺的生成分布规律对于指导日常饮食，减少丙烯酰胺对健康的危害，具有重大的意义。论文工作通过面包、油条等传统食品以及炸鸡翅、薯片等快餐食品为研究对象，采用固相微萃取（SPME）样品前处理技术，以气相色谱（GC）为检测手段，讨论烘煎食品中丙烯酰胺的生成机理、含量以及分布规律，并提出了利用荧光法进行丙烯酰胺快速检测的方法。

论文共分四章。

第一章，文献综述，主要介绍烘煎食品中丙烯酰胺研究发展的现状，丙烯酰胺对人体健康的影响，以及在食品中的形成机理和现有的检测方法。

第二章，以面包、油条等传统食品和炸鸡翅、薯片、薯条等快餐食品为研究对象，利用 SPME-GC 方法检测这些样品中的丙烯酰胺含量。样品经过脱脂，氯化钠（NaCl）水溶液提取和溴化衍生等步骤，净化后的样品用固相微萃取萃取衍生物，气相色谱进样分析。固相微萃取的实验条件优化如下：用 75 μm 碳分子筛/聚二甲基硅氧烷（CAR-PDMS）萃取材料，室温萃取 30 min，在 225 $^{\circ}\text{C}$ 下解吸 3 min。线性范围 1.0~8000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，检测限可达 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，相对标准偏差为 4.0% ($n=5$)。利用该方法成功地进行了实际样品检测，实验测得本地品牌薯片中丙烯酰胺的含量平均为 1369 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，而面包中丙烯酰胺的含量平均 135 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

第三章，以马铃薯、红薯、面粉为原料，实验室模拟食品烹制过程，探讨了影响食品中丙烯酰胺生成含量的因素：包括水煮、烘、烤、油炸等不同的烹制方法，以及烹调温度、时间、食品中水的含量和食品的储存时间的影响。研究工作还比较了样品内外丙烯酰胺含量的差异。实验发现，同等实验条件下，同一样品以水煮的方法所生成的丙烯酰胺含量最低，以油炸的烹饪方法所生成的丙烯酰胺含量为最高。温度对丙烯酰胺的生成有至关重要的作用，油炸温度在 170~190 $^{\circ}\text{C}$ 之间最适宜丙烯酰胺的生成。温度高于 190 $^{\circ}\text{C}$ 丙烯酰胺的生成量均有不同程度的

减少。而在 200℃ 时达到最低。这是由于丙烯酰胺不稳定，高温下易发生分解。烘煎时间也极大的影响着丙烯酰胺的生成，淀粉类食品像土豆，红薯等烘炸 5 min 后，食品中丙烯酰胺含量达到最高点，随着时间的增加，丙烯酰胺含量反而降低，超过 30 min 后，含量才有显著的增加。而面粉中丙烯酰胺的生成量却随着时间的增加，有显著增加的趋势。15~20 min 生成的丙烯酰胺含量最低。研究表明烘煎食品中丙烯酰胺的含量随着食品失水率的增加而增大，同时研究还发现绝大多数食品的储存时间不会影响丙烯酰胺的生成量。

第四章介绍了荧光法快速检测食品中丙烯酰胺含量的研究。利用丙烯酰胺和次氯酸钠在 pH 8.67 的条件下反应产生带有胺基的化合物，该化合物再与荧光胺反应生成比较稳定的荧光物质，该荧光物质在 385 nm 处激发，最大发射波长为 480 nm，荧光强度和丙烯酰胺浓度之间有良好的线性关系。据此快速定量检测食品中丙烯酰胺的含量。与第二章介绍的方法相比，对一定浓度的丙烯酰胺测定，此法具有操作简单、快捷、耗时短等特点，适用于现场快速检测。

关键词：烘煎食品，丙烯酰胺，SPME-GC，速测方法

Abstract

Acrylamide (AM) in food has become a global problem to disserve food safety recently. Long-term exposure to AM may cause damage to the nervous system both in human being and animals at a certain extent, and AM is also considered as a potential genetic and reproductive toxin with mutagenic and carcinogenic properties in experimental mammals. In order to guide daily cooking and reduce the damage to health, the study of the formation mechanism of AM in foods, especially for those fried foods, are becoming more important to people. In this dissertation, both of native and overseas foods were taken as samples to reveal the formation mechanism and content of AM in foods using gas chromatography-solid phase microextraction (GC-SPME) method. Meanwhile, a rapid dermination method of AM was developed.

This dissertation includes four chapters:

In chapter I, the development, mechanisms, toxicity and the research progress of AM in fried food was introduced. In addition, the determination methods were presented.

In chapter II, a method for quantitative analysis of AM was developed using SPME. In this method, samples were defatted with n-hexane, extracted with aqueous solution of sodium chloride (NaCl), derivated with potassium bromate (KBrO₃) and potassium bromide (KBr), then extracted by SPME prior to a GC equipped with an electron capture detector. The optimized SPME experimental procedures to extract AM derivative in water solutions were found to be: a 75 μm carboxen/polydimethylsiloxane (CAR-PDMS) coated fiber, extraction time of 30 min at room temperature and analyte desorption at 225°C for 3 min. An analytical working curve was constructed and found to be linear over 1.0 to 8000 μg/kg AM with a limit of detection of 0.1 μg/kg. The relative standard deviation was 4.02 % (*n* = 5). The proposed method was successfully used for the analysis of trace AM in foodstuffs.

In chapter III, fried potatoes, pachyrhizus and flour were selected as typical examples for the investigation of the formation and elimination/degradation of AM.

Experimental parameters including the fried temperature, fried time, content of water in the samples and the concentrations of various components were studied. The experimental results indicated that higher temperature (200°C) combining with a longer fried time reduced the generation of AM, due to elimination/degradation processes. The content of water in the sample was an important factor that affects the formation of AM, since water accelerated the formation of AM, but, simultaneously, it took roles as a reactant, solvent and transferring carrier of other reactants in Maillard reaction. The optimum water content was 12 % to 18 % of the mass of primal food. A certain concentration of asparagines or monosaccharides (in particular, fructose and also glucose and glyceraldehyde) was found to increase the net content of AM. Components in a protein-rich food strongly reduced the AM generation, which was probably caused by the competing reactions and/or covalently binding in the AM formation.

In chapter IV, a rapid fluorescence determination method for AM in fried food was introduced. AM reacted with hypochlorite at pH 8.67 to give a complex with amine group. The product was then reacted with fluorescamine to generate a fluorescent compound. The compound excited at 385 nm and the maximum emission wavelength was at 480 nm. It presented a good linear correlation between the concentration and the fluorescence intensity for AM. This method was successfully applied in rapid determination of AM with simple operation and less time-consuming.

Keywords: fried food, acrylamide, GC-SPME, rapid determination

第一章 前言

丙烯酰胺 (Acrylamide, AM) 是一种白色无味的晶状固体, CAS 登记号: 79, 分子量 71.09, 化学分子式: $\text{CH}_2\text{CHCONH}_2$, 沸点 125°C , 熔点 84.8°C , 极易溶于水、乙醇、甲醇、丙酮、二甲醚和三氯甲烷, 在酸中稳定, 而在碱中易分解, 对光线敏感, 暴露于紫外线时较易发生聚合。它是一种用途广泛的重要有机化工原料, 以它为单体合成的产品不下百种, 其中以聚丙烯酰胺用途最为广泛。聚丙烯酰胺可作为絮凝剂加入饮用水中, 以吸附除去水中杂质。用于处理饮用水的聚丙烯酰胺本身无毒, 但其中含有极少量未聚合的丙烯酰胺则影响人类健康。已有资料证明丙烯酰胺会引起神经损伤, 有遗传毒性, 可能对人体产生致癌作用^[1]。

1.1 食品中的丙烯酰胺的危险性评估

2002 年 4 月瑞典国家食品管理局 (NFA) 及瑞典斯德哥尔摩大学的研究人员率先报道, 多种食品尤其是含淀粉较高的食品在高温加工过程中产生大量 AM^[2]。此后引起了国际社会的高度重视, 成为各国科学家研究的热点问题。世界卫生组织/联合国粮食与农业组织 (WHO/FAO) 于 2002 年 6 月在瑞士日内瓦召开了食品中丙烯酰胺的专家会议, 提出对 AM 进行优先评估。2005 年 2 月在罗马召开的食品添加剂联合委员会 (JECFA) 第 64 次会议上, 对食品中的 AM 进行了第一次评估。通过对 24 个国家提供的食品中 AM 污染数据分析, 人的平均每天摄入量为 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg bw}$, 最高摄入量为 $4.0 \mu\text{g}/\text{kg bw}$; 儿童摄入量是成人的 2~3 倍。根据 AM 平均摄入暴露边界 (margin of exposure, MOE) 和高摄入的暴露边界, JECFA 发出其可能造成人类健康损害的警告, 并提出应当尽快采取适当的措施以降低食品中 AM 的含量^[3]。

1.1.1 食品中丙烯酰胺的含量和人体的摄入量

自 2002 年瑞典科学家在膳食中发现丙烯酰胺开始, 美国和欧洲许多国家 (例如挪威、荷兰、德国、英国等) 的研究人员先后对本国可能含有 AM 的相关食品进行了检测。表 1.1 中列举了部分食品的 AM 的含量。目前这方面的数据各国之间存在较大的差异。但是一般来说 AM 含量较高的三类食品是: 高温加工的淀粉类食品, 早餐谷类食品和咖啡及其类似制品。

对 AM 的人均日摄入量, 各国的数据差异较大。世界卫生组织 (WHO) 2000

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库