

# 方便面中丙烯酰胺含量的检测

张玉萍<sup>1</sup>, 欧仕益<sup>2</sup>, 郭新东<sup>1</sup>, 杜志峰<sup>1</sup>, 吴玉銮<sup>1</sup>

(1. 广州市产品质量监督检验所, 国家加工食品质量监督检验中心(广州), 广东 广州 510110)

(2. 暨南大学食品科学与工程系, 广东 广州 510632)

**摘要:** 建立了方便面中丙烯酰胺的液相色谱-串联质谱分析方法。样品用水提取, 酶解, 净化。以水(0.1%甲酸):乙腈=90:10(V/V)为流动相经反相色谱柱分离后, 采用液相色谱串联质谱多反应监测正离子模式检测, 丙烯酰胺定性定量离子对为  $m/z$  72.10/55.00, 同位素内标物定性定量离子对为 75.00/58.00。空白样品及其添加实验结果表明, 特征离子相对强度比值稳定, 无基质干扰, 结合保留时间可实现准确的定性定量, 方法检出限为 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ( $S/N=3$ ), 样本添加水平在 5~200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  时, 平均回收率为 68.1%~90.1%, 相对偏差 ( $n=6$ ) 为 4.3%~6.1%。该方法前处理简单、回收率高、精密度好, 可满足方便面中丙烯酰胺的确证分析要求。

**关键词:** 高效液相色谱-串联质谱, 方便面, 丙烯酰胺

中图分类号: TS207.5; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)06-0593-03

## Determination of Acrylamide in Fried Instant Noodles

ZHANG Yu-ping<sup>1</sup>, OU Shi-yi<sup>2</sup>, GUO Xin-dong<sup>1</sup>, DU Zhi-feng<sup>1</sup>, WU Yu-luan<sup>1</sup>

(1. Guangzhou Product Quality Supervision and Testing Institute, National Centre for Quality Supervision and Testing of Processed Food (Guangzhou), Guangzhou 510110, China)(2. Food Science and Engineering Department, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:** A novel method for the determination of acrylamide in fried instant noodles with HPLC/MS/MS was established. Acrylamide was extracted by water from the hydrolyzed fried instant noodle by amylase, separated by RP-HPLC using the mixture of 0.1% HCOOH solution and  $\text{CH}_3\text{CN}$  (90:10, v/v) as mobile phase and then detected by the positive electrospray ionization utilizing multiple reaction monitoring of one parent-daughter ion pair ( $m/z$  72.10/55.00) and the isotope internal standard for qualitative and quantitative ion pair ( $m/z$  75.00/58.00). Results showed that the relative intensity of the acrylamide identification ion pairs in instant noodles was stable and no matrix interference with these diagnostic ion pairs was found. The method could be used for accurate qualitative and quantitative analysis of acrylamide with the LOD ( $S/N=3$ ) of 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Within the range of 5~200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , the average recoveries were 68.1%~90.1% with RSD ( $n=6$ ) values between 4.3% and 6.1%. This method was simple, precise and had high recoveries, which could be used for the determination of acrylamide in fried instant noodle samples.

**Key words:** HPLC/MS/MS; Fried instant noodles; Acrylamide

丙烯酰胺是一种水溶性的神经毒性物质, 它可引起动物致畸、致癌, 是人类的潜在致癌物质<sup>[1]</sup>。国际肿瘤机构 (IARC) 把它认定为 2A 类致癌物<sup>[2]</sup>。2005 年卫生部发布的公告列出了丙烯酰胺含量高的食物名单, 第一位是薯类油炸食品, 第二位就是谷物油炸食品。油炸薯片并不是我国摄入量最多的油炸食品, 跟中国人饮食结构最密切相关的是油条和油炸方便面。因此建立一种有效、定性准确、灵敏度高的油炸方便面中丙烯酰胺的检测方法, 具有积极的意义。

目前, 丙烯酰胺的检测方法绝大部分都是以油炸

薯片、薯条为基质研究的, 主要有液相色谱法、气相色谱法、液相色谱-串联质谱法、气相色谱-串联质谱法<sup>[3-6]</sup>。高效液相色谱法具有设备价廉的优点, 但灵敏度及确证定性并不理想。气相色谱和气质法前处理复杂, 且需要衍生化<sup>[7-8]</sup>。本文采用电喷雾电离 (ESI) 方式和碰撞诱导多级反应离子扫描监测串联质谱, 建立了快速、灵敏、准确的油炸方便面中丙烯酰胺的确证方法。本方法前处理简单, 采用标准物质保留时间及加内标验证完全可以对丙烯酰胺定性。检测限与精密度都满足痕量分析要求, 该方法快速、简便, 适合于实际样品的分析。

## 1 实验部分

收稿日期: 2008-02-20

基金项目: 粤港关键领域重点突破招标项目 2005A20501003

作者简介: 张玉萍 (1979), 女, 硕士研究生, 工程师

## 1.1 主要试剂

丙烯酰胺标准品(纯度>99.0%, Sigma), 丙烯酰胺同位素内标(纯度>99.0%, Sigma), 乙腈(色谱纯), 甲酸(分析纯), 超纯水(18.0 M $\Omega$ ), 高峰氏淀粉酶。

丙烯酰胺标准储备液(1.00 mg/mL): 准确称取丙烯酰胺标准品 0.1000 g, 置于 100 mL 容量瓶中, 用水溶解, 并稀释至刻度, 冰箱中冷藏保存。

丙烯酰胺同位素内标储备液(250  $\mu$ g/mL): 准确称取丙烯酰胺同位素内标 0.0250 g, 置于 100 mL 容量瓶中, 用水溶解并稀释至刻度, 冰箱中冷藏保存。

丙烯酰胺标准使用液: 临用时将丙烯酰胺标准储备液用水稀释至所需浓度, 经 0.45  $\mu$ m 滤膜过滤。

丙烯酰胺同位素内标使用液: 临用时将丙烯酰胺同位素内标储备液用水稀释至所需浓度, 经 0.45  $\mu$ m 滤膜过滤。

## 1.2 主要仪器

液质联用仪: 岛津公司液相色谱系统由 SIL-HTa 自动进样器、LC-10ATvp 泵、CTO-10ASvp 柱温箱构成; API3000 三重四极杆质谱(采用 Turbospray ESI 电离源); LD5-2A 离心机(北京京立离心机有限公司); MS2 Minshaker 漩涡振荡器(广州仪科实验室技术有限公司); Milli-Q 去离子水发生器(Millipore 公司, 美国); Hermle Z233MK-2 低温高速离心机(Hermle Labor Technik, 德国)。

## 1.3 样品处理

称取已粉碎的方便面样品 5 g(精确至 0.01 g) 至 50 mL 离心管中, 加入 2% 高峰氏淀粉酶水溶液 25 mL, 加入 0.5 mL 1 mg/L 丙烯酰胺同位素溶液, 置于漩涡振荡器上振荡 5 min, 置 45  $^{\circ}$ C 烘箱内酶解 30 min, 于 3500 r/min 转速下离心 5 min 后, 取 5 mL 中间液于离心管中, 加 2 mL 正己烷, 置于漩涡振荡器上振荡 5 min, 于 3500 r/min 转速下离心 5 min, 取 2 mL 下层液于高速离心机中 15000 r/min 转速下离心 5 min。上清液经 0.25  $\mu$ m 水膜过滤后供液质联用分析。

样品添加实验: 称取方便面阴性样品后添加适量的丙烯酰胺标准溶液和内标溶液, 样品处理同上。

## 1.4 液质联用仪分析条件

### 1.4.1 色谱条件

色谱柱: YMC-Pack ODS-AQ C<sub>18</sub> (50 mm $\times$ 4.6 mm (i.d.), 5  $\mu$ m); 流动相: 水(0.1%甲酸): 乙腈=90:10 (V/V); 流速 0.5 mL/min; 柱温: 40  $^{\circ}$ C; 进样量: 20  $\mu$ L。

### 1.4.2 质谱条件

离子源: Turbo Ionspray ESI; 电离电压(IS): 5500 V; 辅助气: 氮气; 辅助气温度: 400  $^{\circ}$ C; 流量: 6 L/min。

检测模式: 采用多反应监测模式, 选择母离子(Q<sub>1</sub>)/子离子(Q<sub>3</sub>)离子对。丙烯酰胺定性定量离子对为  $m/z$ =72.10/55.00, 同位素内标物定性定量离子对为  $m/z$ =75.00/58.00。Q<sub>1</sub> 和 Q<sub>3</sub> 均为单位分辨率。

## 2 结果与讨论

### 2.1 样品的净化

丙烯酰胺为极性化合物, 以正己烷脱脂处理, 能除去方便面中大部分油脂, 采用高峰氏淀粉酶水解淀粉类物质, 再以高速离心除去方便面中淀粉和蛋白质。实验证明该处理方法简便易行, 且能除去方便面中大量的杂质干扰。

### 2.2 不同液相条件的比较

以 50.0  $\mu$ g/L 的丙烯酰胺标准溶液对 YMC-Pack ODS-AQ C<sub>18</sub> (50 mm $\times$ 4.6 mm (i.d.), 5  $\mu$ m) 柱比较了几种流动相: 蒸馏水、甲醇、乙腈、甲酸, 发现在水(0.1%甲酸): 乙腈=90:10 (V/V) 时, 丙烯酰胺和干扰物能达到较好的基线分离, 流速在 0.5 mL/min 时丙烯酰胺的出峰时间合适, 峰形较好。

### 2.3 仪器的检出限和方法的最小检出量

以 1.00 mg/L 丙烯酰胺标准溶液为母液配制系列低浓度标准溶液, 经液相色谱串联质谱测定。在丙烯酰胺质量浓度为 5~500  $\mu$ g/kg 时, 峰面积和浓度呈良好的线性关系, 线性方程式为:  $y=1.74\times 10^3 x+4.45\times 10^3$ , 相关系数  $r$  为 0.9997。以仪器 S/N=3 计算, 丙烯酰胺仪器的检出限为 5  $\mu$ g/kg。由样品前处理最低的回收率和浓缩倍数关系确定该方法检出限为 25  $\mu$ g/kg (S/N=3)。

### 2.4 精密度与回收率

以方便面(阴性样)进行 3 个水平的加标回收实验。样品的加标量分别为 5  $\mu$ g/kg、20  $\mu$ g/kg、200  $\mu$ g/kg。每个加标水平取 6 个平行样, 其回收率与精密度数据见表 1。从表 1 中看出, 三个添加水平平均回收率在 68.1%~90.1% 之间, 变异系数在 4.3%~6.1% 之间, 说明方法的准确度和精密度均较高, 该方法具有较好的可靠性和重现性。

由该方法得到的丙烯酰胺的液相色谱-串联质谱色谱图如图 1、2 所示。从图 1、2 可以看出, 丙烯酰胺色谱峰与油炸方便面中的杂质完全分离, 不干扰样品测定。

表 1 三种添加浓度丙烯酰胺在方便面中的回收率与相对标准偏差 (n=6)

**Table 1 Recoveries and relative standard deviations of acrylamide with different concentration in the fried instant noodle samples (n=6)**

Adding amount of Standards/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Recovery(%)						Average recovery(%)	RSD (%)
5	66.2	69.1	72.9	60.8	70.3	69.1	68.1	6.1
20	74.7	73.6	78.8	86.0	80.2	77.7	78.5	5.6
200	84.9	85.6	92.8	90.8	93.4	93.1	90.1	4.3

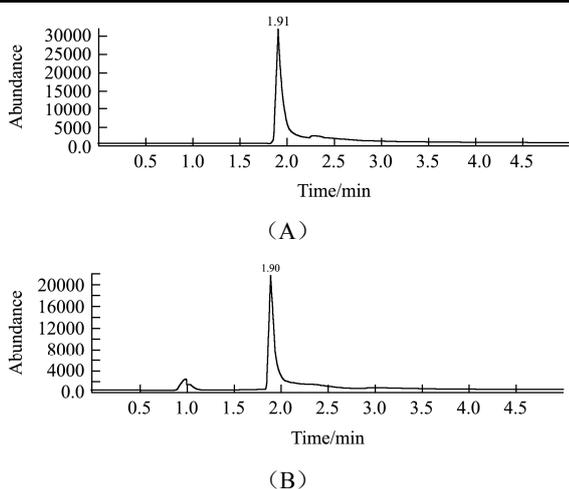


图 1 丙烯酰胺标准色谱图 (A) 和内标色谱图 (B)

**Fig.1 Chromatogram of acrylamide standards (A) and the internal standard (B)**

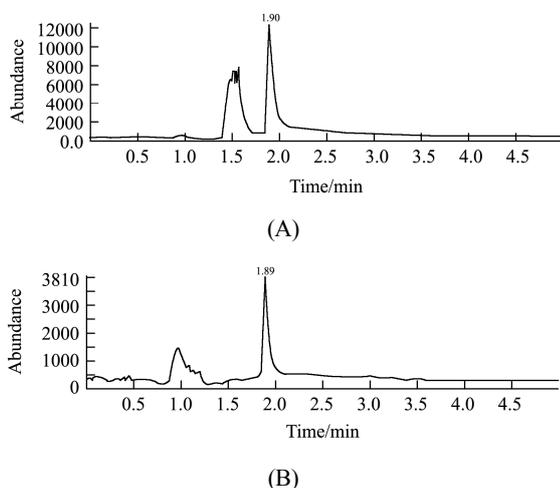


图 2 油炸方便面中丙烯酰胺色谱图 (A) 和内标色谱图 (B)

**Fig.2 Chromatogram of positive fried instant noodle samples (A) and internal standard solution(B)**

2.5 实际样品测定结果

用该方法测定 30 份油炸方便面 (市场购买), 发现其中丙烯酰胺的含量在 83.7~1027.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间, 与文献报导结果一致<sup>[9-10]</sup>。

3 结论

本文建立了方便面中丙烯酰胺的高效液相色谱—串联质谱 (HPLC/MS/MS) 分析方法, 该方法前处理简单、回收率高、精密度好, 方法检出限为 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 可满足方便面中丙烯酰胺的确证分析的要求。

参考文献

- [1] 林流丹,黄才欢,欧仕益.食品中丙烯酰胺形成机理的研究进展[J].现代食品科技,2006, 22(1):168-170
- [2] Wenzel T, Beatriz de la Calle M, Anklam E. Analytical methods for the determination of acrylamide in the food products: a review [J]. Food Additives and Contaminants, 2003, 20 (10): 885-902
- [3] 刘红河,陈春晓,柳其芳,等.食品中致癌物丙烯酰胺的固相萃取-高效液相色谱联用测定方法[J].职业与健康,2004, 10:5-7
- [4] Perkin E. Acrylamide Analysis by Gas Chromatography [J]. USA: PerkinElmer Life and Analytical Sciences, 2004, 20(10):5-7
- [5] Rosen. J, Hellenas. K. E. Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J].The Analyst, 2002(127): 880-882
- [6] 仲维科,陈冬东,雍炜,等.气相色谱-质谱法测定油炸淀粉类食品中的丙烯酰胺[J].色谱, 2005, 23(3): 312-314
- [7] Ono H, Chuda Y, Ohnishi-Kameyama M, et al. Analysis of acrylamide by LC-MS/MS and GC-MS in processed Japanese foods[J].Food Additives and Contaminants, 2003, 20(3): 215-220
- [8] Trisa R, Eric P, Meredith C. Analysis of acrylamide in food by GC/MS [J]. The Application Note book,2003, 9: 45
- [9] 吴克刚,许淑娥,刘泽奇,等.丙烯酰胺的形成机理、危害及预防措施[J].现代食品科技, 2007, 23(3):57-59
- [10] 程静.油炸食品中丙烯酰胺的安全性分析[J].食品与发酵工业,2006, 32(7):71-74