

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101303304 B

(45) 授权公告日 2011.09.14

(21) 申请号 200810071366.2 (期), 49-51.

(22) 申请日 2008.07.09 审查员 付婧

(73) 专利权人 厦门大学
地址 361005 福建省厦门市思明南路 422 号

(72) 发明人 陈曦 张丽梅 王旭东 曾景斌

(74) 专利代理机构 厦门南强之路专利事务所
35200

代理人 马应森

(51) Int. Cl.

G01N 21/64 (2006.01)

G01N 1/34 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 1193808 C, 2004.02.25, 全文.

JP 昭 61-75239 A, 1986.04.17, 全文.

罗赟等. 食品中丙烯酰胺检测方法研究进展. 《预防医学情报杂志》. 2006, 第 22 卷 (第 1

权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 2 页

(54) 发明名称

一种食品中丙烯酰胺的检测方法

(57) 摘要

一种食品中丙烯酰胺的检测方法, 涉及一种丙烯酰胺, 尤其是涉及一种烤、烘、炸、煎类等食品中的 AM 含量的荧光快速检测方法。提供一种操作简单、灵敏度高、重现性好、检测快速准确、实用价值高、经济性与可靠性好、易于推广使用的一种食品中丙烯酰胺的检测方法。将研磨成粉的样品放入容器中, 加入正己烷, 超声脱脂后, 吹干残留的正己烷, 得产物 A; 在产物 A 中加入 NaCl 溶液, 超声萃取, 离心后的残渣用 NaCl 溶液重复萃取一次, 合并萃取液; 在萃取液中加入氢氧化钠溶液, 再加入次氯酸钠溶液, 反应后的混合溶液用磷酸盐缓冲溶液调节混合溶液为碱性, 最后加入荧光胺溶液, 混匀反应, 放入荧光仪中检测。

1. 一种食品中丙烯酰胺的检测方法,其特征在于包括以下步骤:

1) 样品前处理:将研磨成粉的样品放入容器中,加入正己烷,超声脱脂后,吹干残留的正己烷,得产物 A;

2) 丙烯酰胺的提取:在产物 A 中加入 NaCl 溶液,超声萃取,离心后的残渣用 NaCl 溶液重复萃取一次,合并萃取液;

3) 在萃取液中加入氢氧化钠溶液,再加入次氯酸钠溶液,在 $0 \sim 4^{\circ}\text{C}$ 下反应 $30 \sim 60\text{min}$,反应后的混合溶液用磷酸盐缓冲溶液调节混合溶液的 pH 为 $8.0 \sim 9.2$,最后加入荧光胺溶液,混匀反应 $5 \sim 10\text{min}$;按摩尔比,氢氧化钠溶液:次氯酸钠溶液:荧光胺溶液为 $47 : 0.8 \sim 2.0 : 3.0 \sim 4.2$;

4) 将步骤 3) 所得混合液放入荧光仪中检测其荧光强度,荧光强度和丙烯酰胺浓度之间具有良好的线性关系,据此来快速定量检测烘煎食品中丙烯酰胺的含量。

2. 如权利要求 1 所述的一种食品中丙烯酰胺的检测方法,其特征在于按质量比,样品:正己烷为 $1 : 5 \sim 10$ 。

3. 如权利要求 1 所述的一种食品中丙烯酰胺的检测方法,其特征在于在产物 A 中加入 NaCl 溶液的量是,按质量比,样品:NaCl 溶液为 $1 : 5 \sim 10$;NaCl 溶液的浓度为 $1 \sim 3\text{mol/L}$ 。

4. 如权利要求 1 所述的一种食品中丙烯酰胺的检测方法,其特征在于超声萃取的时间为 $10 \sim 15\text{min}$,所述离心在 $3000 \sim 4000\text{r/min}$ 下离心 $5 \sim 10\text{min}$ 。

5. 如权利要求 1 所述的一种食品中丙烯酰胺的检测方法,其特征在于超声萃取,离心后的残渣用 NaCl 溶液重复萃取一次的 NaCl 溶液的量是,按质量比,样品:NaCl 溶液为 $1 : 5 \sim 10$ 。

6. 如权利要求 1 所述的一种食品中丙烯酰胺的检测方法,其特征在于荧光仪的激发波长为 $385 \pm 5.0\text{nm}$;丙烯酰胺荧光物质的最大发射波长为 $480 \pm 2.0\text{nm}$ 。

一种食品中丙烯酰胺的检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种丙烯酰胺 (AM), 尤其是涉及一种烤、烘、炸、煎类等食品中的 AM 含量的荧光快速检测方法。

背景技术

[0002] 2002 年 4 月 24 日, 瑞典国家食品管理局 (NFA) 声明, 许多含淀粉的食品在高温烹调过程中会产生 AM, 如薯片、烤菜、饼干、面包等多种食品中均发现了较高含量的 AM。AM 是一种有毒化合物, 可导致细胞遗传物质 DNA 损伤, 高剂量的暴露会影响人和动物的神经系统和生殖系统, 并对啮齿动物具有一定的致癌性。虽然还没有流行病学的数据表明 AM 对人类也具有致癌性, 但是并不能排除这种可能性, 因此国际癌症机构 (IARC) 将 AM 列为“人类可能的致癌物”。这一发现使更多的国际同行和食品工业注意到问题的严重性, 从而致力于食品中 AM 含量检测方法的研究。

[0003] 食品中 AM 的检测, 国际上使用最多的方法主要有 GC-MS 法、LC-MS 法、LC-MS-MS 法等。2002 年斯德哥尔摩大学公布的食品中 AM 的测定数据, 使用的是溴化 GC-MS 法, 检出限为 0.030mg/kg。瑞典 NFA 采用的是 LC-MS-MS 法。这两种方法均可进行定性和定量检测, 且灵敏度较高。而 LC-MS-MS 法无需溴化, 使操作更简便。2002 年 6 月 WHO/FAO 认同 GC-MS 和 LC-MS-MS 两种方法, 认为这两种方法的结果有良好的相似性。2002 年 7 月美国 FDA 在网上公布建立的 LC-MS-MS 法。所有分析方法基本包括 3 个步骤: 提取、净化和色谱分离。样品在衍生以前, 先用正己烷脱脂, 加入同位素标记的 AM(¹³C) 作内标。提取时先是用水、水 + 甲醇或其它有机溶剂, 后是用有机系溶剂。2002 年国际 46 个实验室参加的实验室间 AM 熟练水平测试协同研究中, 56% 采用水提取; 68% 净化时脱脂是首选; 53% 使用 GC 法, 其中有 84% 采用了 GC-MS 法, 有 50% 经溴化衍生; 47% 使用 LC, 其中 87% 采用了 LC-MS-MS 法。Nemoto 报道了用同位素标记的 AM(¹³C) 作内标。先用水提取, 再于酸性条件下, 用溴化钾 - 溴酸钾衍生, 生成 2,3-DBPA(2,3-dibromopropionamide), 脱溴、净化后用三乙胺将其转变为 2-BPA(2-bromopropenamide), GC-MS(SIM) 测定。检出限为 9 μg/kg, 样品添加 100 ~ 1000 μg/kg AM 的回收率为 97% ~ 105%, RSD 为 0.8% ~ 3.9%。Riediker 提出用 LC-ESI-MS-MS 法, 对早餐饼和薄脆饼干的检出限分别为 20、15 μg/kg, RSD < 10%, 强化样品回收率为 58% ~ 76%。最近, Tsutsumiuchi 还报道了用氘标记的 AM(AM-d3) 为内标, 离子阱 LC-MS-MS 法测定了市售 37 种食品, 结果, 23 种经过高温加热制作的食品都检出了 AM, 其中炸土豆片检出高达 3,570 μg/kg, 但对于快餐面、鸡蛋面条、蛋卷、绿茶、可可粉的测定误差有所偏大, RSD > 15%。定量限为 2 μg/L, 线性为 2 ~ 20,000 μg/L。

[0004] 这些检测方法主要存在以下缺陷: (1) 检测设备比较昂贵, 分析成本以及对分析者的要求较高, 限制了这些方法在实际应用方面的普及性; (2) 样品的前处理复杂, 操作繁琐, 检测时间长, 不能满足现代社会对丙烯酰胺快速发现、快速检测的要求。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于针对现有的丙烯酰胺分析方法操作繁琐、耗时、成本高等不足,提供一种操作简单、灵敏度高、重现性好 ($RSD < 7.0\%$)、检测快速准确、实用价值高、经济性与可靠性好、易于推广使用的一种食品中丙烯酰胺的检测方法。

[0006] 本发明的技术方案是将从食品中提取的丙烯酰胺经过衍生化处理产生强荧光性的丙烯酰胺荧光物质,利用荧光分光光度仪检测其荧光强度,以此来确定食品中丙烯酰胺的含量。

[0007] 本发明包括以下步骤:

[0008] 1) 样品前处理:将研磨成粉的样品放入容器中,加入正己烷,超声脱脂后,吹干残留的正己烷,得产物 A;

[0009] 2) 丙烯酰胺的提取:在产物 A 中加入 NaCl 溶液,超声萃取,离心后的残渣用 NaCl 溶液重复萃取一次,合并萃取液;

[0010] 3) 在萃取液中加入氢氧化钠 (NaOH) 溶液,再加入次氯酸钠 (NaClO) 溶液,反应后的混合溶液用磷酸盐缓冲溶液调节混合溶液为碱性,最后加入荧光胺溶液,混匀反应;

[0011] 4) 将步骤 3) 所得混合液放入荧光仪中检测。

[0012] 按质量比,样品:正己烷为 1:(5~10),超声脱脂的时间可为 10~20min。

[0013] 在产物 A 中加入 NaCl 溶液的量是,按质量比,样品:NaCl 溶液为 1:(5~10),按摩尔比,NaCl 溶液的浓度为 1~3mol/L,超声萃取的时间可为 10~15min,离心可在 3000~4000r/min 下离心 5~10min;超声萃取,离心后的残渣用 NaCl 溶液重复萃取一次的 NaCl 溶液的量是,按质量比,样品:NaCl 溶液为 1:(5~10)。

[0014] 所述反应可在 0~4℃ 下进行,反应的时间可为 30~60min;反应后的混合溶液用磷酸盐缓冲溶液调节混合溶液的 pH 可为 8.0~9.2;最后加入荧光胺溶液,混匀反应的时间可为 5~10min;按摩尔比,氢氧化钠溶液:次氯酸钠溶液:荧光胺溶液为 47:(0.8~2.0):(3.0~4.2)。

[0015] 荧光仪的激发波长最好为 $385 \pm 5.0\text{nm}$,丙烯酰胺荧光物质的最大发射波长为 $480 \pm 2.0\text{nm}$ 。

[0016] 与现有的分析方法相比,本发明所提出的丙烯酰胺荧光速测方法主要有以下特点:

[0017] 1) 丙烯酰胺荧光产物稳定性好、定量准确、检测精密度高(同一样品的检测相对标准偏差小于 7.0%)、检测限 ($20 \mu\text{g}/\text{kg}$) 低,完全满足丙烯酰胺含量分析技术的要求。

[0018] 2) 操作简单方便,检测时间短,符合烘煎食品中丙烯酰胺的快速检测要求。

[0019] 3) 使用极少量的有机溶剂和试剂,分析成本低,安全环保。

[0020] 4) 对检测人员要求低,易于小型化,将有利于丙烯酰胺荧光速测方法的推广应用。

附图说明

[0021] 图 1 为本发明实施例的烘煎食品中丙烯酰胺荧光速测方法的反应原理示意图。

[0022] 图 2 为本发明实施例的烘煎食品中丙烯酰胺荧光速测方法的实施例的荧光激发(EX)谱图。在图 2 中,横坐标为波长(纳米),纵坐标为相对荧光强度。

[0023] 图 3 为本发明实施例的烘煎食品中丙烯酰胺荧光速测方法的实施例的荧光发射(EM)谱图。在图 3 中,横坐标为波长(纳米),纵坐标为相对荧光强度。

具体实施方式

[0024] 以下通过实施例结合附图对本发明作进一步的说明。

[0025] 图 1 给出本发明实施例的烘煎食品中丙烯酰胺荧光速测方法的反应原理示意图, 丙烯酰胺和 NaClO 在碱性条件下反应可以产生胺基, 与荧光胺反应可以生成比较稳定的荧光物质, 该荧光物质最大激发波长为 $385 \pm 5.0 \text{nm}$, 最大发射波长为 $480 \pm 2.0 \text{nm}$, 荧光强度和丙烯酰胺浓度之间具有良好的线性关系。据此来快速定量检测烘煎食品中丙烯酰胺的含量。

[0026] 以下结合具体实施例对本发明速测方法进行详细的考察, 选用了购于本地超市的薯片、面包、油条、饼干等作为分析物。

[0027] 实施例 1: 称取研磨成粉的薯片 1 ~ 5g 于容器中, 加入 5 ~ 10mL 重蒸馏的正己烷, 超声 10 ~ 20min 脱脂, 加入 1 ~ 3mol/L 的 NaCl 溶液 7mL, 超声萃取 10 ~ 15min, 离心 5 ~ 10min 后残渣用 5 ~ 10ml 上述溶液重复萃取一次。合并萃取液。

[0028] 取 5 ~ 10 倍于样品取样量的上述萃取液, 加入按摩尔比为 (40 ~ 50) : (0.8 ~ 2.0) 的 NaOH 溶液和 NaClO 溶液, 0 ~ 4℃ 下反应 30 ~ 60min, 然后用磷酸盐缓冲溶液调节溶液 pH 为 8.0 ~ 9.2, 最后加入与 NaClO 按摩尔比为 (0.8 ~ 2.0) : (3.0 ~ 4.2) 的荧光胺溶液, 充分混合反 5 ~ 10min。调节激发波长为 $385 \pm 5.0 \text{nm}$, 放入荧光仪中检测荧光强度, 计算丙烯酰胺的含量。由图 2 和图 3 可表明, 该速测方法干扰较少、灵敏度高、选择性好, 完全可以很好的应用于实际样品检测。

[0029] 实施例 2: 称取研磨成粉的面包 1 ~ 5g 于容器中, 按照上述实验步骤进行操作。测定产物的荧光强度, 并计算丙烯酰胺的含量。

[0030] 实施例 3: 称取研磨成粉的油条 1 ~ 5g 于容器中, 按照上述实验步骤进行操作。测定产物的荧光强度, 并计算丙烯酰胺的含量。

[0031] 实施例 4: 称取研磨成粉的饼干 1 ~ 5g 于容器中, 按照上述实验步骤进行操作。测定产物的荧光强度, 并计算丙烯酰胺的含量。所得结果与联合国食品添加剂专家委员会第 64 次会议上从 24 个国家获得的 2002 ~ 2004 年间食品中丙烯酰胺含量的检测数据进行比较。表 1 表明该荧光速测方法具有良好的精密度、重现性和准确度, 本发明所得数值均在 24 个国家公布的范围之内, 具有较高的可靠性。

[0032] 表 1

[0033]

| 样品 | 本发明测定结果 ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) | RSD (%) | 24 国家公布结果 ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) |
|----|--|--------------|--|
| 薯片 | 1155.0 ± 35.0 | $\leq 6.7\%$ | 330.0-2300.0 |
| 面包 | 205.0 ± 10.0 | $\leq 3.0\%$ | 50.0-700.0 |
| 油条 | 1075.0 ± 37.0 | $\leq 6.9\%$ | 20.0-2762.0 |
| 饼干 | 263.0 ± 12.0 | $\leq 4.6\%$ | 12.0-1243.0 |

[0034] 由此可见, 本发明提供了一种快速检测烘煎食品中丙烯酰胺含量的方法, 该方法具有: 测定的准确度、精密度高、操作简单方便、总过程耗时短、分析成本低以及安全环保完

全符合食品中丙烯酰胺的快速检测的特点。克服了传统分析方法成本昂贵,操作繁琐耗时等不足。本发明对于实际样品中丙烯酰胺含量的现场快速检测具有重要的意义。

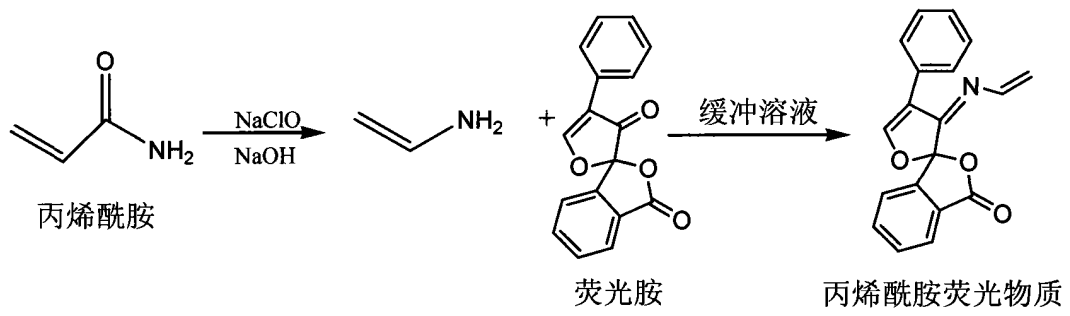


图 1

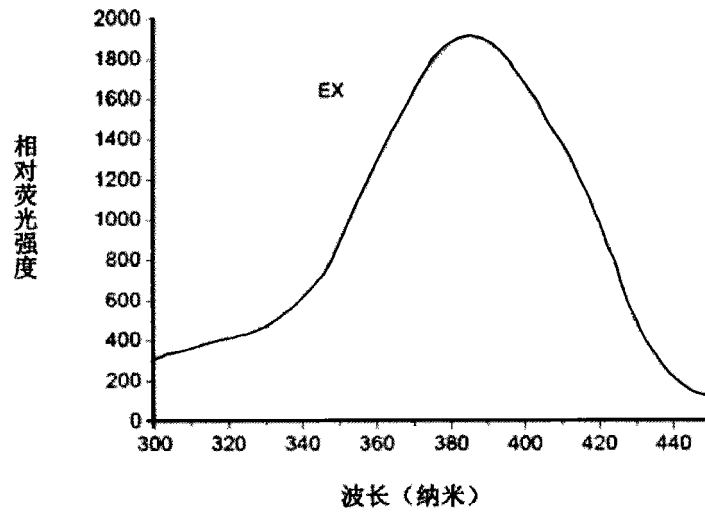


图 2

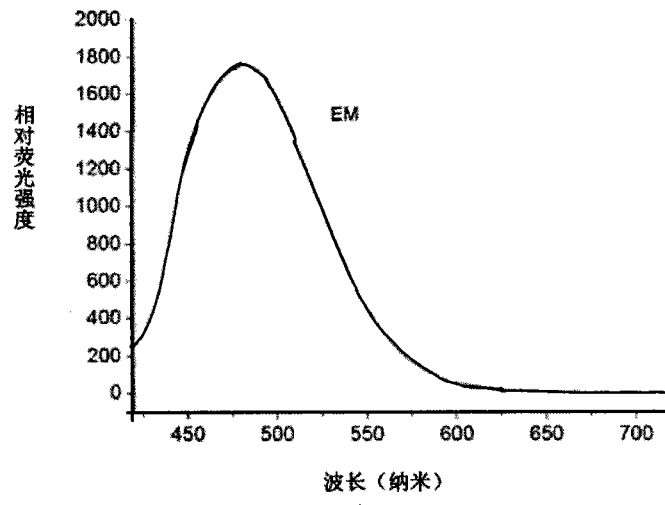


图 3