

# 天冬酰胺酶降低膨化食品丙烯酰胺含量的初步研究

王文艳, 刘凌, 周明

(中国食品发酵工业研究院, 北京 100027)

**摘要:** 丙烯酰胺是一种具有神经毒性、遗传毒性和潜在致癌性的物质, 食物中丙烯酰胺的存在具有一定的安全隐患, 监测食品中的丙烯酰胺含量并探索控制其含量的方法十分重要。采用高效液相色谱法对随机购买的 14 种市售休闲膨化食品的丙烯酰胺含量进行了检测, 结果显示, 检测样品中的丙烯酰胺含量范围为 0 ~ 8.21 mg/kg, 不同样品间存在较大差异。天冬酰胺酶可以将形成丙烯酰胺的主要前体物天冬酰胺转化成不易生成丙烯酰胺的天冬氨酸, 进而来控制食品中丙烯酰胺的生成量。以 2 种自制板栗膨化样品为研究对象, 在制备过程中采用添加天冬酰胺酶处理法来降低样品中的丙烯酰胺含量, 结果表明, 添加天冬酰胺酶可以一定程度的降低样品中的丙烯酰胺含量, 此方法对微波膨化和油炸膨化均适用, 相比之下, 在油炸膨化中效果更显著, 当添加量为 500ppm 时可以降低油炸样品中 44.49% 的丙烯酰胺, 当添加量为 2000ppm 时最高可以降低油炸样品中 65.2% 的丙烯酰胺。

**关键词:** 天冬酰胺酶; 膨化食品; 丙烯酰胺; 高效液相色谱

中图分类号: TS201.2 + 5 文献标识码: A 文章编号: 1006 - 2513(2011)05 - 0059 - 05

## Preliminary study on reducing acrylamide content in puffed foods by adding asparaginase

WANG Wen-yan, LIU Ling, ZHOU Ming

(China National Research Institute of Food and Fermentation Industries, Beijing 100027)

**Abstract:** Acrylamide is a neurotoxic, genotoxic and potentially carcinogenic chemical. Food contain acrylamid has some risks on people's health. Therefore, monitoring the acrylamide content in food and seeking the method to reduce its level are very important. The acrylamide content of 14 kinds of puffed snacks randomly bought in the market was determined with HPLC. The result showed acrylamide content of the samples ranged from 0 mg/kg to 8.21 mg/kg, a great difference among different products. Aasparaginase can convert asparagines which is the main precursors in the formation of acrylamide into aspartic acid, and thus reduced the amount of acrylamide in food. The asparaginase was tested in two kinds of homemade puffed chestnut samples. The result indicated that the method was effective in both microwave puffed food and deep oil fried puffed food, especially in deep oil fried processing. The acrylamide content can be reduced by 44.49% by adding 500ppm asparaginase and 65.2% reduced at the dosage of 2000ppm.

**Key words:** asparaginase; puffed foods; acrylamide, HPLC High performance liquid chromatography

2002 年 4 月, 瑞典国家食品管理局 (NFA) 和斯德哥尔摩大学的学者们公布某些高温油炸食

品中含有较高的丙烯酰胺<sup>[1]</sup>, 其含量比世界卫生组织 (WHO) 规定的人类饮用水中丙烯酰胺含量

收稿日期: 2011 - 08 - 22

作者简介: 王文艳 (1986 -), 在读硕士生, 研究方向为食品生物技术。

限定值 (0.5 μg/L) 要高出几十倍甚至更高<sup>[2]</sup>, 至此食品加工中形成的丙烯酰胺引起了人们的广泛关注。

2005年4月13日中华人民共和国卫生部发布2005年第4号公告, 公告称: 2005年3月2日, 世界卫生组织及联合国粮农组织食品添加剂联合专家委员会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<sup>[3]</sup>。

目前通常采用选择合适的原料、控制加工过程和添加合适的食品添加剂这3个方面来控制食品中的丙烯酰胺含量。丙烯酰胺主要是由食品原料中的天冬酰胺和还原糖在高温加热过程中通过美拉德反应形成的, 通过生物酶法减少原料中天冬酰胺的含量可以从源头上控制丙烯酰胺的生成。H. V. HENDRIKSEN等<sup>[4]</sup>在切片型马铃薯片制作工艺中采用热烫处理和天冬酰胺酶溶液浸泡冷却处理相结合的方法可以降低产品中48%~61%的丙烯酰胺含量。Amrein等<sup>[5]</sup>在面团中添加天冬酰胺酶可使丙烯酰胺的含量减少55%。Vass<sup>[6]</sup>等人研究也表明, 天冬酰胺酶可以降低马铃薯薄脆饼干50%~80%的丙烯酰胺含量。Ciesarova等<sup>[7]</sup>研究发现在马铃薯干粉中加入天冬酰胺酶, 可使产品中丙烯酰胺的含量减少约90%~97%。

本实验通过对部分市售休闲膨化食品中的丙烯酰胺含量进行测定来了解市面上膨化食品中丙烯酰胺的含量水平, 并以自制微波膨化和油炸膨化板栗片样品为研究对象, 采用添加天冬酰胺酶的方法进行处理, 旨在探索生物酶法降低休闲膨化食品中丙烯酰胺含量的可行性。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验原料、试剂和仪器

#### 1.1.1 原料

板栗生粉, 木薯淀粉, 食用调和油, 14种市场购买的休闲膨化产品

#### 1.1.2 试剂

天冬酰胺酶(3500 ASNU/g, 诺维信公司); 丙烯酰胺标准品(德国DR公司, 纯度为99.0%); 甲醇(色谱纯); 碳酸氢钠(分析纯)、正己烷(分析

纯)。Carrez 试剂 I: 0.355 mol/L 的  $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ ; Carrez 试剂 II: 1.04 mol/L  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 。

#### 1.1.3 仪器

LC-20AB 高效液相色谱仪(日本岛津公司), 备有 SPD-20A 型紫外-可见检测器和 CTO-10ASVP 型柱温箱; 上海安亭 GL-20G-H 型高速冷冻离心机; 0.45 μm 水系针筒式微孔滤膜过滤器; C18 固相萃取小柱(安捷伦公司); 上海一恒科技 QZF-6050 型真空干燥箱; 格兰仕 G80F23N1P-M8 型微波炉

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 休闲膨化板栗产品的制备

以板栗粉和木薯淀粉为主要原料, 添加碳酸氢钠作为膨松剂, 添加一定量的天冬酰胺酶, 混匀后加水揉搓成圆柱状, 静置 1h 使天冬酰胺酶充分作用于底物, 然后进行蒸煮, 并在 4℃ 进行老化, 之后取出坯料切成薄片, 预干燥后均湿 20h, 最后采用微波膨化或油炸至板栗片膨松颜色金黄。

#### 1.2.2 样品中丙烯酰胺的提取和净化<sup>[8]</sup>

称取 1.000g 研磨均匀的样品于 50mL 离心管中, 加入 10mL 正己烷, 振荡 10min, 弃去正己烷层后在通风橱中挥干。加入 16mL 水及 Carrez I、Carrez II 试剂各 2mL, 振荡提取 20min 后在 10000r/min 速率下离心 15min, 取上清液中段过 2 遍 0.45 μm 水系微孔滤膜, 取 2mL 滤液预先经 5mL 甲醇和 5mL 双蒸水活化的过固相萃取柱, 收集流出液, 再用 2mL 水洗脱, 收集洗脱液, 将洗脱液与流出液合并备用。

#### 1.2.3 系列标准溶液的配制

将 10 μg/mL 的丙烯酰胺标准应用液稀释至 1 μg/mL, 再准确吸取 0.5mL、1.0mL、2.0mL、3.0mL、4.0mL 于 10mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 摇匀, 得浓度为 0.05~0.4 μg/mL 的系列标准溶液。

#### 1.2.4 丙烯酰胺的 HPLC 检测<sup>[9]</sup>

色谱柱: C18 (250 × 4.6mm, 5 μm); 流动相: 甲醇: 水 (5: 95, V: V); UV 检测波长: 210nm; 进样量: 20 μL; 流速 0.5mL/min, 柱温: 25℃。

## 2 结果与分析

### 2.1 丙烯酰胺标准工作曲线

经 HPLC 检测后,以丙烯酰胺标准品浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制丙烯酰胺标准曲线图,曲线回归方程为  $y = 266046x - 998.71$ , 相关系数  $r = 0.9993$ 。

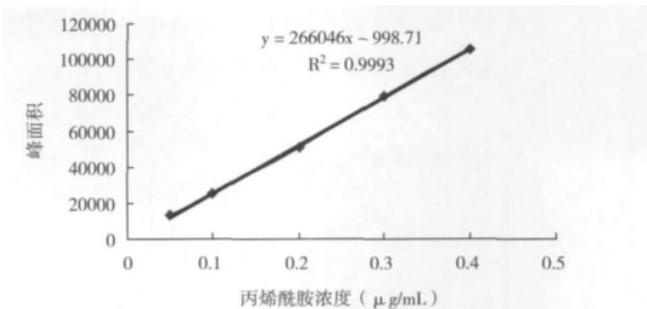


图1 丙烯酰胺标准曲线图

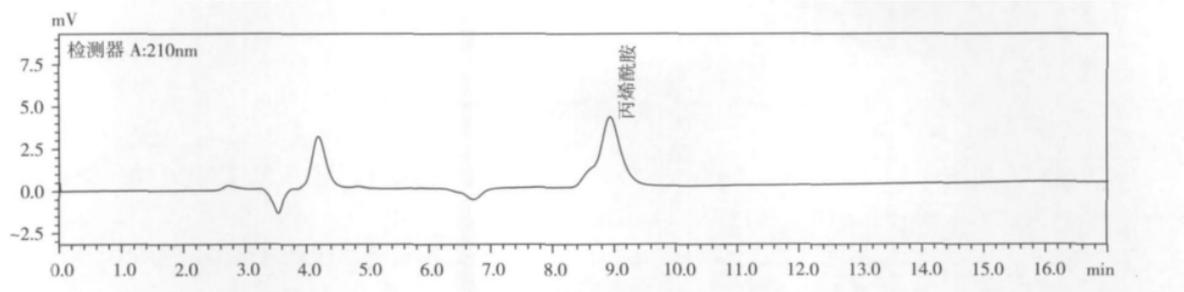


图2 0.4 μg/mL 丙烯酰胺标准品的色谱图

### 2.2 14 种市售休闲膨化产品中的丙烯酰胺含量

本实验随机抽取了 14 种市售休闲膨化产品采用高效液相色谱法测得其中的丙烯酰胺含量,产品的加工方式有油炸型、焙烤型和挤出膨化型,主要原料有小麦淀粉、马铃薯淀粉等,产品形式有片状、粒状,产品的主要特征和对丙烯酰胺的检测结果见表 1。

表 1 自制板栗片产品和 14 种市售产品中的丙烯酰胺含量

产品编号	丙烯酰胺含量 mg/kg	产品加工类型	主要原料	产品形式
1	8.21	非油炸型	小麦(淀)粉	方片状、略厚
2	5.55	非油炸、焙烤型	马铃薯淀粉、变性淀粉	方片状、略厚
3	5.52	油炸型膨化型	小麦粉、马铃薯淀粉	圆片状、薄
4	4	非油炸型	小麦	麦粒状
5	3.6	非油炸、焙烤型	马铃薯粉	圆形薄片
6	2.88	油炸型	小麦粉、马铃薯淀粉	圆片状、薄
7	2.48	油炸型	面粉、淀粉	膨化条状
8	1.16	油炸型	小麦粉	圆片状、薄
9	1.38	非油炸、焙烤型	马铃薯粉	方片状、略厚
10	1.07	油炸型	面粉、淀粉	片状、略厚
11	1.03	非油炸、焙烤型	马铃薯粉、小麦粉	方片状、略厚
12	0.63	非油炸、直接挤压型	玉米粉、全小麦粉	椭圆形片状
13	0.39	油炸型	马铃薯雪花全粉、淀粉	圆片状、薄
14	0	切片油炸型	马铃薯	圆片状、极薄

由上表中检测结果可以看出 14 种市售休闲膨化产品中的丙烯酰胺含量相差较大, 含量最高的

是某大型知名企业的产品, 丙烯酰胺含量甚至达到了 8.21mg/kg, 其液相色谱图见图 3。

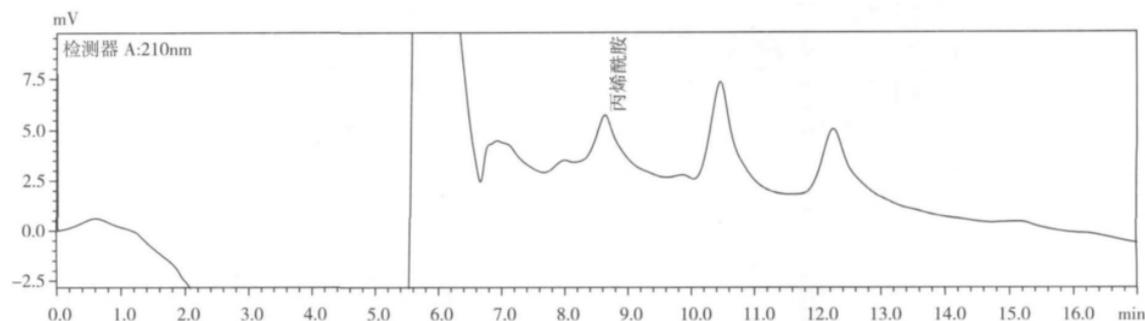


图 3 某知名品牌产品的丙烯酰胺色谱图

欧洲联合研究中心 (EU Joint Research Center) 也做过同样的检测, 该中心检测从 24 个国家获得的 2002 ~ 2004 年间的 6752 个样品中的丙烯酰胺含量, 测定的范围为 0 ~ 7.83mg/kg<sup>[10]</sup>。Tardiff 等人利用基于生理学的毒素代谢动力学模型和非线性剂量反应法确定丙烯酰胺的神经毒性日摄入边际剂量为 40 $\mu$ g/kg 体重, 丙烯酰胺日致癌边际剂量为 2.6 $\mu$ g/kg 体重<sup>[11]</sup>。如果以产品中丙烯酰胺的最大含量 8.2mg/kg 来计算, 对一个体重约 70kg 的人来说, 每天食用量超过 22g 就超出了丙烯酰胺的日致癌边际剂量。

结果还显示同一种类型的产品因厂家不同其中的丙烯酰胺含量也有较大差距, 如产品 2、产品 9 和产品 11, 同一品牌的不同种类产品中的丙烯酰胺也有较大差异, 如产品 7 和产品 10。

目前 WHO 规定饮用水中丙烯酰胺的限量为 0.5 $\mu$ g/L, 但是学者一致认为人的主要接触来源不是饮水而是食物, 世界粮农组织/世界卫生组织 (FAO/WHO) 估算发达国家人群的接触水平介于 0.3 ~ 0.8 $\mu$ g/kg · d 间<sup>[12]</sup>, 因此非常有必要监测现有和新开发产品中的丙烯酰胺含量, 并探索合适的措施来降低其含量, 减少其带来的潜在的风险。

### 2.3 自制膨化板栗样品中的丙烯酰胺含量

本实验检测了自制微波膨化板栗样品和油炸膨化板栗样品中的丙烯酰胺含量, 测定得两种样品的丙烯酰胺含量分别为 2.03mg/kg 和 2.63mg/kg, 采用微波方式膨化的比采用油炸方式膨化的要低 22.81%。本文欲以这两种膨化板栗样品为

研究对象探讨降低膨化食品中丙烯酰胺含量的方法, 提高膨化食品的安全性。

### 2.4 采用天冬酰胺酶降低微波膨化板栗产品中的丙烯酰胺含量

食品原料中的天冬酰胺和还原性糖在高温加热过程中通过美拉德反应 (Maillard reaction) 而生成丙烯酰胺的机制得到了普遍认可<sup>[13, 14]</sup>。

天冬酰胺在天冬酰胺酶的作用下可生成天冬氨酸和氨气, 而天冬氨酸在美拉德反应中仅生成极微量的丙烯酰胺, 因此采用天冬酰胺酶来降低或去除原料中的天冬酰胺可有效抑制丙烯酰胺的生成、控制和降低高热加工食品中丙烯酰胺的含量<sup>[15]</sup>。同时天冬酰胺酶的加入并不影响其它的氨基酸和还原糖参与美拉德反应, 不会影响产品的色泽和风味。

在等重量原料的情况下, 梯度添加天冬酰胺酶进行处理, 检测终产品中的丙烯酰胺含量, 检测结果见下图 4:

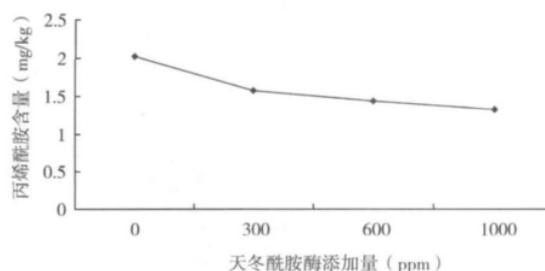


图 4 天冬酰胺酶添加量对微波膨化板栗产品中丙烯酰胺含量的影响

由图4可以看出,随着天冬酰胺酶添加量的增高,板栗片中的丙烯酰胺含量逐渐降低,降低速度逐渐平缓,和对照相比,天冬酰胺酶的添加量为300ppm、600ppm、1000ppm时终端产品中丙烯酰胺含量分别降低了17.65%、24.62%、30.75%。这表明天冬酰胺酶可以降低产品中丙烯酰胺的含量。

## 2.2 采用天冬酰胺酶降低油炸板栗产品中丙烯酰胺含量

将同样的方法应用在油炸膨化方式制备板栗片样品中,终端产品中丙烯酰胺含量的检测结果见图5:

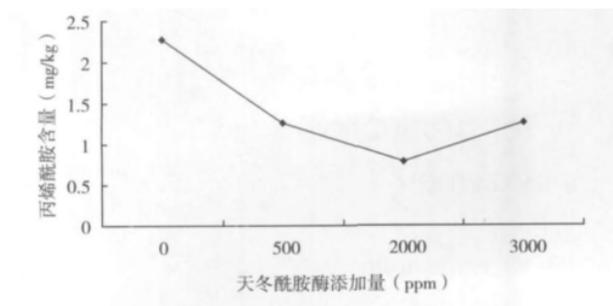


图5 天冬酰胺酶添加量对油炸膨化板栗片中丙烯酰胺含量的影响

由图5可以看出添加天冬酰胺酶可以有效降低油炸方式制备膨化板栗产品中的丙烯酰胺含量,当添加量大于500ppm后丙烯酰胺降低的幅度呈现波动状态,添加量为2000ppm时可以降低产品中65.2%的丙烯酰胺,添加量为500ppm和3000ppm均降低了产品中44.49%的丙烯酰胺,综合考虑成本因素可以将其添加量选择为500ppm。

## 3 结论

市售休闲膨化食品中的丙烯酰胺含量因厂家、加工方式和原料不同表现出较大的差异,微波膨化板栗样品中的丙烯酰胺含量比油炸膨化的低,采用添加天冬酰胺酶的方法可以有效降低膨化板栗片样品中的丙烯酰胺含量,且此方法应用在油炸膨化过程中效果更显著。

## 参考文献:

- [1] Tareke E, Rydberg P, Karlsson S, et al. Acrylamide: cooking carcinogen [J]. *Chem. Res. Toxicol*, 2002, (13): 517-522.
- [2] WHO Guidelines for drinking water quality. Second. Geneva, 1993.
- [3] 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(1):83-85.
- [4] H V HENDRIKSEN, B KORNBURST and M STRINGER, Acrylamide mitigation using asparaginase, *Aspects of Applied Biology* 97, 2010, 77-86.
- [5] Amrein T, Schobachler B, Escher F, et al. R. Acrylamide in gingerbread: critical factors for formation and possible ways for reduction [J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2004, 52: 4282-4288.
- [6] Vass M, Amerin T M, Schonbachler B. Ways to reduce the acrylamide formation in cracker products [J]. *Czech Journal of Food Sciences*, 2004, 22: 19-21.
- [7] Ciesarova Z, Kiss E, Boegl P. Impact of L-asparaginase on acrylamide content in potato products [J]. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2006, 45: 141-146.
- [8] 茅力,陆晓梅,杨叶,等.高效液相色谱法检测淀粉类食品中丙烯酰胺的方法研究[J],*中国卫生检验杂志*,2009,19(4):724-725.
- [9] 陆敏,张文娜,冯俊霞,郭瑞霞.固相萃取-HPLC法测定6种油炸食品中的丙烯酰胺[J].*安徽农业科技*,2011,39(6):3562-3566.
- [10] Dybing E, Farmer P B, Andersen M. Human exposure and internal dose assessments of acrylamide in food [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2005, 43: 365-410.
- [11] Tardiff RG, Gargas ML, Kirman CR, et al. Estimation of safe dietary intake levels of acrylamide for humans [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48 (2): 658-667.
- [12] KONGGS E J, BAARS A J, VAN KLAVEREN JD, et al. Acrylamide exposure from foods of the Dutch population and an assessment of the consequent risks [J]. *Food Chem Toxicol*, 2003, 41 (11): 1567-1579.
- [13] Mottram D S, Wedzicha B L, Dodson A T. Acrylamide is formed in the maillard reaction [J]. *Nature*, 2002, 419: 448-449.
- [14] Stadler R H, Blank I, Varga N, et al. Acrylamide from maillard reaction products [J]. *Nature*, 2002, 419: 449.
- [15] 徐东路,朱贤良.食品中的丙烯酰胺及生物解决方案[J].*食品与发酵工业*,2010,(12):152-155.