

GC/MS 测定锅巴中丙烯酰胺含量

郭志峰^{*}, 张丽霞, 王家强, 宋彩瑜, 王 磊

(河北省分析科学技术重点试验室, 河北大学理化分析研究中心, 保定 071002)

摘 要: 建立了一种测定市售锅巴中的丙烯酰胺含量的方法。该法样品前处理不必经过溴化衍生, 样品脱脂后用水提取丙烯酰胺, 提取液过活性炭柱, 再用乙酸乙酯将活性炭柱中吸附的丙烯酰胺洗脱。洗脱液浓缩后经气相色谱-质谱 (GC-MS) 定量分析, 检测限为 0.06 mg/kg, 适合测定市售锅巴中的丙烯酰胺的含量。还考察了丙烯酰胺在水的固液两相中的分配比。

关键词: 丙烯酰胺; 锅巴; GC/MS

中图分类号: O657.63

文献标识码: A

文章编号: 1000-0720(2009)12-091-03

丙烯酰胺 (acrylamide, $\text{CH}_2 = \text{CHCONH}_2$) 系结构简单的小分子化合物, 易溶于水、甲醇和乙酸乙酯等极性溶剂, 不溶于正己烷和苯, 且在水中的溶解度最大。大量实验研究证明丙烯酰胺为潜在的致癌物质^[1~6]。2002 年 4 月瑞典国家食品管理局 (NFA) 及瑞典斯德哥尔摩大学研究人员首先发现多种食品中均含有丙烯酰胺, 特别是淀粉类食品在高温油炸加工过程中会产生大量的该物质^[7,8]。研究还表明加工过程中的温度和持续的时间是丙烯酰胺产生的重要因素, 当淀粉类食品加工温度高于 120 °C 时丙烯酰胺开始大量形成, 175 °C 时达最高水平^[9,10]。丙烯酰胺的形成有多种可能的途径, 包括碳水化合物、蛋白质、氨基酸、脂类物质以及食品中其他小分子物质参与。食品中丙烯酰胺形成机制现已成为世界研究的热点。

目前, 食品中痕量丙烯酰胺测定的方法主要有 GC-MS 法^[11]、GC-ECD 法^[12] 和 LC-MS/MS 法^[13]。其中 Castle 报道的 GC-MS 法和美国 EPA 颁布的 GC-ECD 法都需将丙烯酰胺溴化加成得到 α, β -二溴丙烯酰胺进行测定, 但溴化衍生化操作繁琐, 对技术要求高。而且, 溴的高挥发性对人体和环境均有毒害。本文建立了活性炭固相吸附, 经气相色谱-质谱直接测定锅巴中丙烯酰胺的方法, 该方法无需衍生化, 检测限为 0.06 mg/kg, 适合丙烯

酰胺的痕量测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

HP-6890N 气相色谱 (Agilent 公司); VG70E 质谱仪 (Micromass 公司); 活性炭柱 (自制, 13.1 × 2.5 cm); AD-4 型自动天平; 日本岛津 LC-10Avp 高效液相色谱仪 (配有 SIL-HTA 自动进样器, SPD-M10Avp 检测器, LcSolution 工作站)。

锅巴 (购自超市); 乙酸乙酯; 甲醇; 正己烷; 干燥的无水硫酸钠 (以上试剂均为分析纯); 二次蒸馏水。

1.2 实验方法

称取 20 g 锅巴碾碎放入 500 mL 的烧杯中, 用正己烷脱脂, 每次加入 50 mL 正己烷, 脱脂 3 次。过滤去除正己烷, 然后用氮气吹去残渣中剩余正己烷。待正己烷挥发完全后, 加入二次蒸馏水 100 mL, 提取丙烯酰胺两次; 过滤提取液, 弃去滤渣, 合并两次滤液, 过活性炭柱 (预先用 5 mL 甲醇和 5 mL 二次蒸馏水充分活化过); 再用 5 mL 乙酸乙酯冲洗活性炭柱, 弃去最初的 0.5 mL 的流出液, 冲洗两次。将收集到的乙酸乙酯洗脱溶液在 40 °C 水浴中用氮气浓缩到 0.1 mL。

1.3 GC/MS 分析条件

色谱条件: 色谱柱 FFAP (16 m × 0.32 mm,

* 收稿日期: 2008-10-16; 修订日期: 2009-01-10

作者简介: 郭志峰 (1955 -), 男, 研究员; E-mail: gzfv@hbu.edu.cn

0.25 μm , 兰州化物所), 进样口温度 200 , 接口管道温度 200 , 恒流方式, 柱流量 1.9 mL/min, 不分流进样, 载气为氦; 柱程序升温: 初温 50 , 停留 1 min 以 44 /min 的速度升至 80 , 不停留, 再以 6 /min 的速度升至 150 , 停留 10 min, 进样量 2 μL 。

质谱条件: 电离方式 EI, 电子能量 70 eV, 源温 200 , 收集电流 200 μA , 源真空 1.0×10^{-4} Pa, 分析器真空 1.0×10^{-6} Pa, 全程扫描范围 m/z 为 33~600, 分辨率 1000。

1.4 标准曲线的绘制

精确称取 20 mg 丙烯酰胺, 置于 200 mL 棕色容量瓶中, 加入乙酸乙酯标定至刻度, 配制成浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的丙烯酰胺储备液 200 mL。取储备液用乙酸乙酯, 依次稀释到 30, 40, 50, 60, 70 $\mu\text{g/mL}$ 。GC/MS 测定, 以色谱峰面积对标准样浓度作图。得线性方程:

$$Y = 3023.94X - 55067.56, R = 0.99648 \quad ()$$

1.5 丙烯酰胺在固相水与液相乙酸乙酯中分配比

称取 2 mg 丙烯酰胺, 置于 200 mL 棕色容量瓶中, 加入水标定至刻度, 配制成浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的丙烯酰胺储备液 200 mL。取储备液依次稀释到 0.1, 0.5, 1, 2, 5 $\mu\text{g/mL}$, 用液相色谱测定, 得到标准曲线的方程为:

$$Y = 55287.3429p - 714.42979, R = 0.99999 \quad ()$$

取 50 mL 丙烯酰胺的水溶液置于 500 mL 磨口锥形瓶中, 向其中加入 50 mL 乙酸乙酯, 振荡 1 min, 放入冰箱冷冻, 待水相变为冰, 取出锥形瓶, 弃去乙酸乙酯, 保留固相, 放置于室温融化后进入液相色谱测定。

2 结果与讨论

2.1 样品预处理方法的选择

食品中的丙烯酰胺, 一般是在高温油炸加工过程中产生^[2,3]。丙烯酰胺的性质不稳定, 在加热至它的熔点或紫外光照射下, 易发生聚合反应, 氧化剂存在时更促进聚合反应; 同时在碱性溶液中丙烯酰胺易分解。因此样品前处理后, 应低温, 避光储存。对油脂含量较高的样品采用正己烷预先除去大部分油脂, 这样可以有效防止油脂干扰后续处理过程。

食品在高温加工过程中生成的丙烯酰胺属微

量级, 样品前处理采用先去脂后水浸泡再用有机溶剂萃取的方法, 丙烯酰胺不易被萃取, 为了提高萃取率, 考察了丙烯酰胺在水的固液两相中的分配比。方法是先用水提取去脂的锅巴, 再用乙酸乙酯和提取液等体积混合, 冷冻(-20)使水变为固相, 乙酸乙酯的在 -20 下仍为液相。利用丙烯酰胺在固液两相水中的再分配, 把水中溶解的丙烯酰胺萃取到乙酸乙酯中。丙烯酰胺在冰冻水和乙酸乙酯中的分配比, 按 1.5 描述的实验方法, 用液相色谱测出的丙烯酰胺在固相水中的峰面积是 44939, 经方程 计算得到含量, 得到丙烯酰胺在乙酸乙酯和固相水中的分配比为 1 4.74, 由此看出即使是冰丙烯酰胺在其中的溶解度依然比乙酸乙酯高。因此用乙酸乙酯从水中经冷冻萃取丙烯酰胺的方法, 处理样品不合适。对此我们采取了两种方法进行改进。

1. 乙酸乙酯直接提取法, 样品先用正己烷脱脂, 再加入无水硫酸钠脱水, 然后加乙酸乙酯浸泡提取锅巴中的丙烯酰胺。

2. 活性炭固相吸附法, 样品先用正己烷脱脂, 再用二次蒸馏水提取锅巴中的丙烯酰胺, 过滤后提取液过自制活性炭吸附柱, 吸附后的活性炭柱用乙酸乙酯冲洗得到丙烯酰胺的乙酸乙酯溶液。

第 1 种方法由于在脱脂过程中脂类物质不能够被尽除, 仍有脂类物质溶于乙酸乙酯中, 当氮气浓缩到一定体积时, 丙烯酰胺的乙酸乙酯溶液中脂类物质的相对含量增大, 影响测定分析。

第 2 种方法用二次蒸馏水提取丙烯酰胺, 有效避免了脱脂后锅巴中残余的少量脂类物质的影响; 乙酸乙酯能洗脱出被活性炭柱吸附丙烯酰胺, 达到富集的效果。此外过滤二次蒸馏水样品提取液时, 即使用抽滤的方法也很困难, 因此用 25 μm 筛网过滤除去大粒径物质, 加快了过滤速度。

2.2 GC/MS 分析锅巴中丙烯酰胺的结果

图 1 是采用第 2 种方法处理样品, GC/MS 分析色谱图。a 全质量扫描方式色谱图, b 丙烯酰胺质量色谱图。从图看色谱全质量扫描方式的色谱图中, 丙烯酰胺峰不明显, 用质量色谱处理后, 色谱峰分离效果大大改善。图 2 是色谱峰对应的质谱。由样品中丙烯酰胺色谱峰面积, 测定样品中丙烯酰胺含量为 0.1448 mg/kg (± 0.0068 mg/kg)。

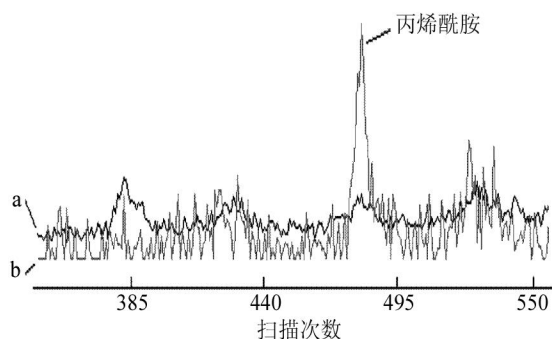


图 1 样品测定的色谱图

Fig. 1 Total ion current chromatograms of acrylamide
a - 总离子流图; b - 丙烯酰胺的质量色谱图

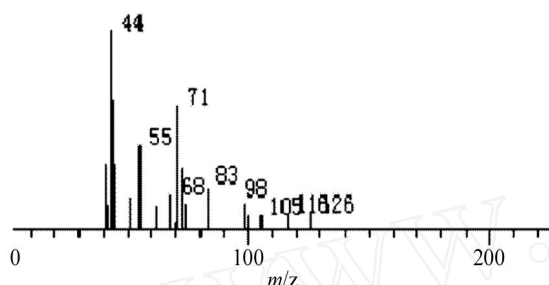


图 2 丙烯酰胺质谱图

Fig. 2 Mass spectrum of acrylamide

参考文献

- [1] J S Ahn, L Castle, D B Clarke *et al.* Food Addit Contam, 2002, 19: 1116
- [2] E Tareke, P Rydberg, P Karlsson *et al.* Food Chem, 2002, 50: 4998
- [3] H Ono, Y Chuda, M Ohnishi-Kameyama *et al.* Food Addit. Contam, 2003, 20: 215
- [4] A Pittet, A P érisset, J M Oberson. Chromatogr A, 2004, 1035: 123
- [5] S Nemoto, S Takatsuki, K Sasaki *et al.* Food Hygienic Soc Japorn, 2002, 43(12): 371
- [6] International Agency for Research on Cancer (IARC [R]. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans Some Industrial Chemicals, 1994. 389
- [7] Tareke E, Rydberg P, Karlsson P *et al.* Agric Food Chem, 2002, 50, 17: 4998
- [8] World Health Organization Food Safety Consultations. Health implications of scrylamide in food. Report of a Joint FAO/WHO Consultation Geneva (Switzerland): WHO Headquarters, 2002, 7: 25
- [9] Stadler R H, Biarl I, Verga N *et al.* Nature, 2002, 419: 449
- [10] Mottram D S, Wedzicha B L, Dodson A T. Nature, 2002, 419: 448
- [11] Castle L. Agric Food Chem, 1993, 41: 1261
- [12] EPA Method 8032 A: Acrylamide by Gas Chromatography [S]. 1996. 12
- [13] Detection and Quantitation of Acrylamide in Food. [http:// www. cfsan. fda. gov/~ dms/acrylami. html](http://www.cfsan.fda.gov/~dms/acrylami.html)

2.3 检测限与精密度

由 3 倍信噪比估算此方法的检测限是 0.06 mg/kg; 加标回收率在 86 % ~ 90 % 间; 以丙烯酰胺 60 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液做精密度估算, 平行进样 5 次, 计算得出此方法精密度为 4.7 %。

Determination of acrylamide in crispy rice by GC/MS

GUO Zhi-feng^{*}, ZHANG Li-xia, WANG Jia-qiang, SONG Cai-yu and WANG Lei (Research Center of Physics and Chemistry Analysis, Hebei University, Analytical Science and Technology Key Lab of Hebei Province, Baoding 071002), Fenxi Shiyanshi, 2009, 28(12): 91 ~ 93

Abstract: A quantitative analytical method for the determination of acrylamide which is a carcinogen in crispy rice was established. Bromination was not employed in sample pretreating procedure. The samples were defatted with hexane and extracted with distilled water at room temperature. The extract liquid was adsorbed by an active carbon column, and then was eluted by ethyl acetate and the elute was analyzed by GC/MS. The samples was defatted with hexane and extracted with and then the liquid of acrylamide extracted was adsorbed by the active carbon column. The result shows the detection limit is 0.06 mg/kg, and the method is suitable for the analysis of trace acrylamide in crispy rice. Meanwhile, acrylamide contribution of dissolution in both liquid water and state water have been studied.

Keywords: Acrylamide; Crispy rice; GC/MS