

食品中丙烯酰胺检测新技术研究进展

New determination methods of acrylamide in food products

王紫梦¹ 鲁 迨¹ 石星波^{1,2,3} 邓洁红¹

WANG Zi-meng¹ LU Dai¹ SHI Xing-bo^{1,2,3} DENG Jie-hong¹

(1. 湖南农业大学食品科学与技术学院, 湖南 长沙 410128; 2. 湖南农业大学东方科技学院, 湖南 长沙 410128;

3. 湖南大学化学生物传感与计量学国家重点实验室, 湖南 长沙 410082)

(1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China;

2. Orient Science & Technology College, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China;

3. State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, Hunan University, Changsha, Hunan 410082, China)

摘要: 丙烯酰胺(AA)是一种食品热处理加工过程中产生的具有神经毒性与潜在致癌性的物质,已引起全世界范围的广泛关注。准确测定复杂食品体系中 AA 的含量,是评估其对人体危害的前提。文章评述了 AA 传统检测方法(液相色谱,气相色谱,液质联用和气质联用)的不足,主要体现在样品前处理过程复杂、需要必要的衍生化、分析仪器昂贵及需要专业技术人员操作等方面;并重点介绍了毛细管电泳法、酶联免疫吸附试验法、超分子识别法、纳米生物传感法等新型的检测方法的优缺点,及在实际应用中遇到的具体问题;同时,对未来检测方法的发展方向进行展望,旨在为更高效、实用检测方法的开发提供思路。

关键词: 丙烯酰胺;检测;毛细管电泳法;酶联免疫吸附试验法;超分子识别法;纳米生物传感器

Abstract: Acrylamide (AA) is a kind of neurotoxin and potential carcinogen, formed in heating food treatment, has been aroused extensive attention in all over the world. Accurate determination of AA in complex food system is the first importance to evaluate its harmful effects on human health. In this paper, the disadvantages of traditional determination methods of AA, including liquid chromatography, gas chromatography and their coupling technique, were reviewed. Moreover, the complex of sample pretreatment process, requirement of necessary sample derivatives and professional analyzer,

and expensive analytical instruments etc. were focused on. Furthermore, several new determination methods, such as capillary electrophoresis, enzyme-linked immunosorbent assay method, super-molecular recognition method, and nano-biosensor, etc. were introduced in detail. The advantages, disadvantages and the existing problems of the current determination methods in practical application were also indicated. Summarizing these methods were helpful to provide thoughts to develop more practical methods. In the future, the promising determination methods should satisfy many merits, including simple sample preparation, rapid and time-saving, low-costing, point-of-care testing and so on.

Keywords: acrylamide; determination; capillary electrophoresis; enzyme-linked immunosorbent assay; super-molecular recognition method; nano-biosensor

丙烯酰胺(acrylamide, AA)于1994年被国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)划分为“可能致癌物”[1]。2002年4月,瑞典国家食品机构和斯德哥尔摩大学的研究人员发现在油炸及焙烤的淀粉类热加工食品中存在大量的AA^[2-3],这一发现引起了全世界的关注。食品的热处理是现代食品加工过程中不可或缺的工序,富含碳水化合物的食物在热处理下发生美拉德反应,从而使其拥有特定的色、香、味。因此,加强食品中AA的浓度监测就显得尤为重要^[4-6]。

准确定量分析食品中的AA,是准确评估这种化合物危害的前提。近年来,由于增加了AA对人类生物体诱变、致癌的影响以及其机制的了解^[7-8],开发新AA检测方法的目的在于不仅在于对痕量AA生物标志物的监测,还在于对其相关风险水平的判断^[9]。目前,更多的研究^[10-11]主要集中在改进现有的技术方法。而AA因其低分子量(71.08)、高极性、较好的水溶性(215.5 g/100 mL)、高反应活性以及复杂的食

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(编号:31301484);湖南省自然科学基金青年基金(编号:2015JJ3082);湖南农业大学青年项目(编号:14QN11,14QNZ14);化学生物传感与计量学国家重点实验室(湖南大学)开放项目(编号:Z2015025)

作者简介: 王紫梦,女,湖南农业大学在读硕士研究生。

通讯作者: 石星波(1984—),男,湖南农业大学副教授,博士。

E-mail: shixingbo123@aliyun.com

邓洁红(1967—),女,湖南农业大学教授,博士。

E-mail: hongjiedeng@163.com

收稿日期: 2016—07—02

品基质,增加了定量食品中 AA 的难度^[12]。因此,开发高灵敏、高选择性、能对抗富含干扰化合物和复杂基质样品的新型检测方法,具有一定的紧迫性与挑战性。

目前,AA 的常用检测方法有气相色谱法(gas chromatography,GC)或气相—质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC—MS),液相色谱法(liquid chromatography,LC)或液相—质谱联用(liquid chromatography-mass spectrometry, LC—MS)等传统方法^[13]。近年来,还发展了一些新型的检测方法,如毛细管电泳(capillary electrophoresis,CE)法、酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)法、纳米生物传感法等^[14]。为进一步提高检测的灵敏度、减少样品的前处理过程、使分析的数据更为可靠,更有效评估 AA 对人体的危害,文章综述比较 AA 检测方法的优缺点及在实际生产中的应用,旨在为开发优良检测策略提供新思路。

1 传统检测方法存在的不足

1.1 液相色谱及液质联用

使用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography,HPLC)定量分析食品中的 AA,需进行纯化处理以去除食品中的蛋白质及脂肪,防止干扰测定结果。紫外(ultraviolet,UV)与质谱(mass spectrometry,MS)是液相色谱中常见的两种检测器。因为 AA 缺乏足够强的生色基团(芳香环,共轭双键或三键)和自然荧光,必须使用短波长(195~205 nm)紫外线来测定,导致了 LC—UV 对 AA 的检测响应并不灵敏,且选择性欠佳。通常 LC—UV 仅被用来确定食品中是否含有高含量的 AA,而对于低含量 AA 的测定灵敏度不高。因此,监测低含量的 AA 往往需要使用 LC—MS/MS 技术,质谱检测器具有高灵敏度和高选择性,避免了衍生化的步骤^[14-16],但分析成本较高。

1.2 气相色谱及气质联用

因 AA 并不具有低挥发性,利用气相色谱检测时,首先需要对 AA 进行必要的衍生化,以提高其检测灵敏度^[17]。经典的方法是利用溴水衍生 AA,让其转变成 2,3-二溴丙烯酰胺,然后分析衍生物的谱图性质,可以得到较好的灵敏度^[18]。廖燕芝等^[19]对采用外标法、标准加入法、同系物甲基丙烯酰胺作内标的标准曲线法这 3 种定量方法测定食品中 AA 进行比较,发现以同系物甲基丙烯酰胺为内标,采用标准曲线法测定,定量的结果较准确。GC—MS 分析中主要特征性的离子碎片(m/z)有:152,150,108,106,并且具有一定的相对丰度比。除此之外,根据需要还可选择电子捕获检测器、高分辨率时间飞行质谱、串联质谱、氮磷检测器及火焰离子化检测器等^[20-23]。

2 新型检测方法

2.1 毛细管电泳法(CE)

CE 是检测食品中 AA 的一种相对较新且发展迅速的分析方法,能实现混合物的快速分离,且能同时分离极性和非极性化合物。其原理是在一根石英毛细管(长约 50~100 cm,内径约 50 μm)中充满缓冲溶液,当在毛细管两端施

加高电压时,溶解在电解质中的带电化合物会以不同的速率迁移,从而实现混合物的分离。由此可见,被分离物带电是电泳分离的前提。然而,AA 是一种不带电荷的化合物,要实现在电场条件下的高效分离,必须使其带上电荷。不少的课题组为此展开了研究,具有代表性的有 3 种改进型的电泳方法。

(1) 毛细管胶束电动色谱法(micellar electrokinetic chromatography,MEKC):该法主要是在缓冲液中加入离子型的表面活性剂,AA 被表面活性剂包裹,形成带电的胶束,通过检测 AA 胶束实现 AA 的定量检测。Zhou 等^[24]据此思路实现了食品中 AA 的检测。

(2) 毛细管区带电泳法(capillary zone electrophoresis,CZE):该法通过柱前衍生使 AA 带电,以弹性石英毛细管为分离通道,以高压直流电场为驱动力,依据样品中各组分之间淌度和分配行为上的差异而实现分离。为了提高检测的灵敏度,Bermudo 等^[25]利用场放大进样系统,以 CZE 配备紫外检测器实现了饼干、面包、麦片、薯片和咖啡中 AA 的高灵敏检测,其检测下限达到了 3 ng/g。为进一步提高检测的选择性与灵敏度,可配备 MS 检测器^[26],或使用离子阱分析器、飞行时间分析器、三重四极杆分析器^[27]等先进的检测器,但会大大增加分析成本。

(3) 非水毛细管电泳(non-aqueous capillary electrophoresis,NACE):该法是一种能实现 AA 检测的 CE 方法^[28]。AA 在水相中是极性且不带电荷的化合物,不能在电场移动,而在低 pH 值的非水有机相中能质子化,比如乙腈,可使其带电,进而能在电场的作用下移动。这种 NACE 已实现了油炸土豆片中 AA 的高灵敏检测,其检测下限达到了 4.4 ng/mL^[29],要比 CZE 的检测灵敏度更高^[30]。

电泳技术作为一种检测食品中 AA 的有效分析方法,主要是其具有进样量小,分析快速,设备相对简单,同时能实现高灵敏检测等优点。与高效液相色谱技术比较,电泳技术的优势在于不需要复杂的样品前处理过程。

2.2 酶联免疫吸附试验法(ELISA)

ELISA 是一种基于抗原与抗体的高特异反应连接酶,通过检测酶催化底物产生颜色反应,从而实现快速定量的方法。AA 属小分子半抗原,缺乏强的表位组,无免疫原性^[31]。因此,完全抗原的获得必须首先与大分子的免疫载体蛋白连接,然后,通过刺激复杂的完全抗原发生免疫反应生成抗体。到目前为止,有 3 种较为普遍的方法。

(1) 最常见的方法是使用活性酯结合 AA 和蛋白质,如 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)-碳二亚胺和 *N*-羟基琥珀酰亚胺(*N*-hydroxy succinimide,NHS)。研究^[32-33]表明,“AA-亲和基团”和载体蛋白之间的交联长度是获得高效价抗体的关键。王宵雪等^[33]利用 AA 与两种 AA 的模拟分子(丙烯酰胺基丁酸与丙烯酰胺基苯甲酸)制备了 3 种 AA 人工抗原,并进行了动物的免疫试验,进而得到了高效价的抗体;其中,由丙烯酰胺基苯甲酸人工抗原获得的抗体表现出最高效价。与此同时,该抗体也表现出很高的特异性,经测定针对 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 衍生生产物的抑制率达到了 80.7%,而针对 AA 及对巯基苯甲酸

均无交叉反应。该研究为建立快速检测食品中 AA 的 ELISA 方法奠定了较好的基础。Wu 等^[34]也进一步验证了上述观点。原因可能是当偶联点远离待测物的特征结构部分和官能团时,载体蛋白对小分子结构的屏蔽作用最小^[35]。但是这种方法需要衍生化 AA,增加了分析的时间。

(2) 直接利用戊二醛进行共轭。以两个醛基为活性基团,通过形成席夫碱来连接蛋白氨基和 AA^[36]。付云洁等^[37]利用这种方法结合 AA 和牛血清白蛋白来合成人工抗原。该法简单方便,但可能会导致低效,甚至造成抗原表位的进一步损耗。

(3) 用 *N*-丙烯酸琥珀酰亚胺酯(*N*-acrylic succinimide ester, NAS)作为半抗原^[38-39]。NAS 包含 AA 和 NHS 的结构,这有利于 NAS 与氨基反应且直接与 AA 在载体蛋白上进行共轭。Zhou 等^[38]用这种方法来合成具有高抗体-抗原结合常数($K_{\text{aff}} = 6.7 \times 10^7 \text{ L/mol}$)的完全抗原。此方法对试剂或活化没有要求,能显示出高耦合效率,且能保持共轭中 AA 的完整结构。

总体来讲,相比传统的检测方法,ELISA 法尽管在检测的灵敏度上没有优势,但是,该法分析速度快,花费少,且不需要昂贵的仪器与复杂的样品前处理过程。开发 ELISA 试剂盒有不错的市场前景。Frank 等^[40]开发的 ELISA 试剂盒的检测下限为 5 g/kg,线性范围为 10~10 000 g/kg,具有较高的回收率,完全能满足市场需求。然而,如何获得高特异性与亲合力的抗体依然是未来需要努力的方向。

2.3 超分子识别法

Kleefisch 等^[41]研究了使用超分子作为识别元件检测 AA 的方法。两个或多个分子组成的超分子具有良好的完整性和精细的微观结构,使其能够提供检测 AA 的特异性位点。其设计了一种与 AA 具有高亲合力的四内酰胺大环化合物组成的超分子,通过空腔结合位点组合,待测物(客体)与识别部分(主体)通过特异性相互作用可以形成主客体复合物,改变了主体分子所连接的待测物的共振频率,接着测定修饰了超分子的振荡石英芯片共振频率的变化,从而实现了 AA 的检测。该法的检测限为 10 $\mu\text{g/kg}$,同时具有较好的选择性。但是,针对样品成分复杂、大规模检测的情况,因需要对样品进行复杂的预处理,以去除干扰杂质,富集痕量待测目的组分,使得该法不能更好地应用于实际样品的检测。

“主”超分子和“客”分子之间的高度选择性和稳定性是由于分子间的相互作用和大环效果。基于超分子化学性的分子印迹技术(molecular imprinting technique, MIT)已在液相色谱、固相萃取和传感食品分析领域中得到应用^[42],并被认为是“化学抗体”。如权英等^[43]以 AA 的结构类似物丙烯酰胺为模板分子,甲基丙烯酸为功能单体,乙二醇二甲基丙烯酸酯为交联剂,采用本体聚合法制备出了对 AA 具有较好选择性的分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymer, MIP)。MIT 是制备对特定目标分子具有特异性识别能力的高分子材料的技术,所制备的 MIP 具有构效预定性、特异识别性和广泛实用性三大特点。因此,在食品样品的前处理和

识别应用方面,MIT 将有望解决许多棘手的样品前处理问题。

2.4 纳米生物传感法

纳米生物传感法是一种较有前景的食品中 AA 的定量检测方法。与其他方法相比,具有价格较低、抗复杂基质的干扰能力强、选择性强、灵敏度高^[44]诸多优点。基于此,生物传感器已被广泛用于病原微生物及其毒素的检测,以及监测农药、过敏原和抗生素的水平^[44]。生物传感器是一组可以将具有解析活性的生物部分(生化受体)连接到各种处理器的传感器^[45]。按照响应原理的不同,可以把生物传感器分为多种类型。在众多种类的生物传感器中,电化学生物传感方法与荧光传感方法是检测 AA 最常见的方法。

2.4.1 电化学生物传感方法 电化学生物传感方法是一种常见的用来定量分析食品中 AA 的新型生物分析技术。该方法主要是通过使用高选择性的生物受体来实现被分析物的定量检测。这种传感器的生物组分可以是酶、酶蛋白、抗体、天然受体、整个微生物、组织片段、单细胞、DNA 和 RNA。处理器将生物反应转换成生物性的或生化信号,或可以被进一步放大并变为可测量的分析电信号。监测电流与电压的变化是最常见的两种类型,比较有代表性的有循环伏安分析法(cyclic voltammetry, CV)和方波伏安分析法(square wave voltammetry according to Osteryoung, OSWV)。

血红蛋白(hemoglobin, Hb)可以作为 AA 的受体,这是因为 AA 可以与位于 Hb 多肽链 *N*-末端的缬氨酸 $\alpha\text{-NH}_2$ 基团之间发生迈克尔加成反应,形成 Hb-AA 复合物,具有较高的亲合力。在醋酸盐缓冲液中表面活性剂二甲基双二十八烷基溴化铵(dimethyldioctadecylammonium bromide, DDAB)与 Hb 形成脂质体 DDAB-Hb,将 Hb 固定于涂层了 DDAB-Hb 的碳糊电极上,AA 的加入诱导 Hb 的结构发生了变化,从而改变电极的活性,进而产生响应信号,实现 AA 的高灵敏检测($1.2 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$)^[46]。血红素作为 Hb 的辅基,电极表面上的 Hb-AA 复合物浓度增加时,使得血红素中发生 Fe(III)离子还原成 Fe(II)离子的不可逆反应。伏安分析法测定结果提供了有关电化学反应定量和定性的信息,及关于测试样品中的 AA 含量的准确信息^[47]。

在信号处理器表面上固定生物成分需要确保该生物材料的稳定性,这是构建生物传感器的关键问题。生物分子如 Hb 吸附在电极的表面上经常会导致其变性和失活。许多研究人员^[47-49]进行了优化固定化的方法,旨在提高检测的稳定性。能维持电化学反应电子转移的碳纳米管与胶体金是充当生物元件的稳定剂的较好选择^[48]。Krajewska 等^[47]使用的伏安电化学生物传感器含有固定化的 Hb 和修饰了单壁碳纳米管的玻碳电极(glassy carbon electrodes, GCE),用于食品提取液中 AA 的检测,结果表明,电极的敏感性不受从薯片中提取的基质组分的影响;在该条件下,OSWV 要比 CV 的灵敏度更高,其检测限低至 $1.0 \times 10^{-9} \text{ mol/L}$ 。Garabagiu 等^[49]先在玻璃电极表面上沉积金纳米颗粒和锡锡氧化物,然后修饰 Hb,利用 AA 和 Hb 之间的相互作用,也实

现 AA 的高灵敏检测(检测限低至 10^{-8} mol/L)。

紫外可见光谱已证实了 AA 与 DNA 能相互作用。根据这种相互作用, Li 等^[50] 提出一种用于电化学测定 AA 的无标记 DNA 传感器。先用氧化石墨烯(graphene oxide, GO) 涂覆在 GCE 表面上, 然后将 DNA 吸附固定在 GO/GCE 上, 形成 DNA/GO/GCE 传感器。由于 GO 的表面积较大, DNA 能有效地固定在电极表面上。此外, GO 独特的纳米结构和优异的电子传递能力显著促进了 DNA 电子的直接转移。在 GO/GCE 上 DNA 显示了两个可用作响应 AA 电化学信号的强氧化峰。结果表明, 该传感器有良好的再现性和高稳定性。

Wang 等^[51] 在 MIP 膜的基础上构建了新型检测 AA 的电化学传感器。金纳米颗粒通过 Au-S 键和氢键的相互作用对 GCE 进行修饰, 然后对氨基苯硫酚和 AA 在金纳米颗粒的表面上进行修饰, 聚合物膜由含有对氨基苯硫酚、氯金酸、四丁基高氯酸铵和一个虚拟模板分子丙酰胺的聚合物溶液电聚合而成。在移除 AA 后获得了一种新型的分子印迹传感器, 其检测限为 0.5×10^{-12} mol/L, 线性响应范围为 $1 \times 10^{-12} \sim 1 \times 10^{-7}$ mol/L。该研究提供了一种快速、灵敏和实时地检测样品中 AA 的方法, 且无需复杂的预处理。

电化学生物传感检测 AA 不需要复杂的样品前处理, 主要得益于电化学信号能抵抗基质成分引起的干扰, 使得该法的操作十分简便, 有望替代传统的液相色谱、气相色谱法。

2.4.2 荧光传感方法 荧光传感方法用于检测生物分子、离子等得到了广泛应用。但是用于检测 AA 的报道并不多见。最近, Hu 等^[52] 提出了一种基于 AA 聚合量子点(quantum dots, QDs)独特光物理性质的新型荧光传感检测 AA 方法。该研究中, 在 QDs 表面修饰 NAS 后, 经紫外线的诱导, NAS 上的碳-碳双键发生聚合, 导致 QDs 之间的距离减小, 进而导致 QDs 的荧光强度发生变化。在 AA 的存在下, 由于 AA 会参与聚合反应, 使 QDs 之间的距离增大, 从而增加了荧光强度。因此, 根据 AA 的浓度与荧光强度变化的相关性可建立用于检测 AA 的方法。其线性范围和检测限分别为 $35 \sim 350\ 000$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。与传统方法和电化学生物传感方法相比, 因其灵敏度并不高, 应用将受到限制。

Liu 等^[53] 研究了另一种检测食品中 AA 的荧光方法。AA 通过霍夫曼反应降解生成乙烯胺, 该物质能与荧光胺反应生成吡咯烷酮, 从而致使其在 480 nm 下有强荧光发射。荧光强度随着 AA 的增加而增加, 且具有良好的相关性系数 ($r^2 = 0.99$)。这种方法表现出与传统方法相类似的灵敏度与重现性。然而高温反应条件限制了本方法用于在线检测食品中的 AA。

荧光传感方法具有操作方便以及不需要大型仪器等优点。然而, 与传统方法和电化学生物传感方法相比, 基于化学反应的荧光传感方法有灵敏度低和选择性欠佳的缺点, 还需要进一步研究。未来开发荧光传感检测 AA 的方法, 需要考虑以下两个问题: ① 如何有效利用 AA 分子中的官能团(比如, 碳碳双键), 结合纳米荧光颗粒的光学性质, 设计出高灵敏的检测策略, 以提高其检测的灵敏度; ② 如何克服食品

中共存物质对选择性的影响。

3 结论

综上所述, 已有的食品 AA 检测方法均各具优缺点。不同的食品基质需要不同的样品前处理方法, 也就说明没有一个固定可行的方法能适应所有类型的产品。通过不同酶联免疫吸附试验法获得具有高亲和力、高特异性的 AA 相关抗体, 可以为开发高选择性的, 且省略复杂样品前处理的生物传感方法奠定良好的基础。纳米材料在电学和光学方面的优良特性为开发高灵敏度、高通量、重现性良好的纳米传感方法提供了思路。未来检测 AA 的方法将朝着简化样品前处理, 快速、低价、现场即时检测等方向发展。

参考文献

- [1] IARC. IARC monographs on the evaluation of careinogen risk to humans; some industrial chemicals[M]. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1994; 389-433.
- [2] MOTTRAM D S, WEDZICHA B L, DODSON A T. Acrylamide is formed in the Maillard reaction[J]. Nature, 2002, 419(6 906): 448-449.
- [3] STADLER R H, IMRE B, NATALIA V, et al. Acrylamide from Maillard reaction products[J]. Nature, 2002, 419(6 906): 449-450.
- [4] FENG Chia-hsien, LU Chi-yu. Modification of major plasma proteins by acrylamide and glycidamide: Preliminary screening by nano liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. Analytica Chimica Acta, 2011, 684(1/2): 89-95.
- [5] HU Qin-qin, XU Xia-hong, FU Ying-chun, et al. Rapid methods for detecting acrylamide in thermally processed foods: A review[J]. Food Control, 2015, 56: 135-146.
- [6] ORACZ J, NEBESNY E, ŻYŻELEWICZ D. New trends in quantification of acrylamide in food products[J]. Talanta, 2011, 86: 23-34.
- [7] 温超, 王紫梦, 石星波, 等. 食品中丙烯酰胺与 5-羟甲基糠醛的研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(13): 257-264.
- [8] 隋大鹏. 烹饪过程中丙烯酰胺产生的机理及控制方法研究进展 [J]. 食品与机械, 2013, 29(1): 247-249.
- [9] SUN Jin-chun, SCHNACKENBERG L K, PENCE L, et al. Metabolomic analysis of urine from rats chronically dosed with acrylamide using NMR and LC/MS[J]. Metabolomics, 2010, 6 (4): 550-563.
- [10] ZHANG Yu, REN Yi-ping, JIAO Jing-jing, et al. Ultra high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the simultaneous analysis of asparagine, sugars, and acrylamide in maillard reactions[J]. Analytical Chemistry, 2011, 83 (9): 3 297-3 304.
- [11] LIU Jie, MAN Yong, ZHU Yu-chen, et al. Simultaneous analysis of acrylamide and its key precursors, intermediates, and products in model systems by liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry[J]. Analytical Chemistry, 2013, 85 (9): 9 252-9 271.
- [12] SHANKAR S S, SWAMY B E K, PANDURANGACHAR M, et

- al. Electrocatalytic oxidation of dopamine on acrylamide modified carbon paste electrode: a voltammetric study[J]. *International Journal of Electrochemical Science*, 2010, 5(7): 944-954.
- [13] ELBASHIR A A, OMAR M M A, IBRAHIM W A W, et al. Acrylamide analysis in food by liquid chromatographic and gas chromatographic methods[J]. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 2014, 44(2): 107-141.
- [14] ORACZ J, NEBESNY E, ZYZELEWICZ D. New trends in quantification of acrylamide in food products [J]. *Talanta*, 2011, 86: 23-34.
- [15] CHENG Wei-chih, KAO Ya-min, SHIH Daniel Yang-chih, et al. Validation of an Improved LC/MS/MS Method for Acrylamide Analysis in Foods [J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2009, 17(3): 190-197.
- [16] TEKKELI S E K, ÖNAL C, ÖNAL A. A review of current methods for the determination of acrylamide in food products [J]. *Food Analytical Methods*, 2012, 5(1): 29-39.
- [17] LINEBACK D R, COUGHLIN J R, STADLER R H. Acrylamide in foods: a review of the science and future considerations[J]. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2012, 3: 15-35.
- [18] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.204—2014 食品安全国家标准 食品中丙烯酰胺的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [19] 廖燕芝, 黄辉, 杨代明, 等. GC—MS 测定食品中丙烯酰胺含量的定量方法比较[J]. *食品与机械*, 2013, 29(5): 91-94.
- [20] KIM S H, HWANG J-H, LEE K-G. Analysis of acrylamide using gas chromatography-nitrogen phosphorus detector (GC-NPD) [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2011, 20(3): 835-839.
- [21] DUNOVSKÁ L, CAJKA T, HAJŠLOVÁ J, et al. Direct determination of acrylamide in food by gas chromatography-high-resolution time-of-flight mass spectrometry [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 578(2): 234-240.
- [22] LEE Maw-rong, CHANG Li-yo, DOU Jian-peng. Determination of acrylamide in food by solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-positive chemical ionization tandem mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 582(1): 19-23.
- [23] SUN Shi-yu, FANG Yun, XIA Yong-mei. A facile detection of acrylamide in starchy food by using a solid extraction-GC strategy[J]. *Food Control*, 2012, 26(2): 220-222.
- [24] ZHOU Xun, FAN Liu-yin, ZHANG Wei, et al. Separation and determination of acrylamide in potato chips by micellar electrokinetic capillary chromatography[J]. *Talanta*, 2007, 71(4): 1 541-1 545.
- [25] BERMUDO E, NUÑEZ O, PUIGNOU L, et al. Analysis of acrylamide in food samples by capillary zone electrophoresis[J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1 120(1/2): 199-204.
- [26] RAVELO-PEREZ L M, MARIA A R, JAVIER H B, et al. Recent food safety and food quality applications of CE-MS[J]. *Electrophoresis*, 2009, 30(10): 1 624-1 646.
- [27] HUH C, RAMAUTAR R, WUHRER M, et al. Relevance and use of capillary coatings in capillary electrophoresis-mass spectrometry [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2010, 396(1): 297-314.
- [28] MONTON M R N, SOGA T. Metabolome analysis by capillary electrophoresis-mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1 168(1/2): 237-246.
- [29] TEZCAN F, ERIM F B. On-line stacking techniques for the nonaqueous capillary electrophoretic determination of acrylamide in processed food [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 617(1/2): 196-199.
- [30] BASKAN S, ERIM F B. NACE for the analysis of acrylamide in food[J]. *Electrophoresis*, 2007, 28(22): 4 108-4 113.
- [31] THOMAS N R. Hapten design for the generation of catalytic antibodies[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1994, 47(2/3): 345-372.
- [32] PRESTON A, FODEY T, ELLIOTT C. Development of a high-throughput enzyme-linked immunosorbent assay for the routine detection of the carcinogen acrylamide in food, via rapid derivatisation pre-analysis[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 608(2): 178-185.
- [33] 王霄雪, 刘冰, 吕燕彦, 等. 丙烯酰胺多克隆抗体的制备[J]. *现代食品科技*, 2012, 28(4): 405-408.
- [34] WU Jing, SHEN Yu-dong, LEI Hong-tao, et al. Hapten synthesis and development of a competitive indirect enzyme-linked immunosorbent assay for acrylamide in Food samples [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(29): 7 078-7 084.
- [35] 陈林, 吴青, 潘科, 等. 农药分子半抗原合成的研究进展[J]. *现代农药*, 2005, 4(3): 10-14.
- [36] CHAN M Y, HUSSEIN SYAH S, SAM S T. Chitosan/corn cob biocomposite films by crosslinking with glutaraldehyde[J]. *Bioresources*, 2013, 8(2): 2 910-2 923.
- [37] 付云洁, 李琦, 陈江源, 等. ELISA 法测定热加工食品中的丙烯酰胺[J]. *中国酿造*, 2011, 30(5): 77-79.
- [38] ZHOU Shuang, ZHANG Chen, WANG Dan, et al. Antigen synthetic strategy and immunoassay development for detection of acrylamide in foods[J]. *Analyst*, 2008, 133(7): 903-909.
- [39] QUAN Ying, CHEN Men-ling, ZHAN Yue-hua, et al. Development of an enhanced chemiluminescence ELISA for the rapid detection of acrylamide in food products[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(13): 6 895-6 899.
- [40] FRANEK M, RUBIO D, DIBLIKOVA I, et al. Analytical evaluation of a high-throughput enzyme-linked immunosorbent assay for acrylamide determination in fried foods[J]. *Talanta*, 2014, 123: 146-150.
- [41] KLEEFISCH G, KREUTZ C, BARGON J, et al. Quartz microbalance sensor for the detection of acrylamide[J]. *Sensors*, 2004, 4(9): 136-146.
- [42] CHEN Ling-xin, XU Shuo-fang, LI Jin-hua. Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications [J]. *Chemical Society Reviews*, 2011, 40(5): 2 922-2 942.

2008, 28(2): 557-571.

- [34] RIGAUX C, DENIS J B, ALBERT I, et al. A meta-analysis accounting for sources of variability to estimate heat resistance reference parameters of bacteria using hierarchical Bayesian modeling: estimation of D at 121.1 °C and pH 7, z T and z pH of *Geobacillus stearothermophilus* [J]. *Food Microbiol*, 2013, 161(2): 112-120.
- [35] 刘丽梅, 高永超, 王珂. 食品中微生物危害的风险评估建模方法改进与应用[J]. *农业工程学报*, 2014(6): 279-286.
- [36] SMID J H, HERES L, HAVELAAR A H, et al. A biotracing model of *Salmonella* in the pork production chain [J]. *Food Protection*, 2012, 75(2): 270-280.
- [37] POUILLOT R, ALBERT I, CORNU M, et al. Estimation of uncertainty and variability in bacterial growth using Bayesian inference. Application to *Listeria monocytogenes* [J]. *Food Microbiol*, 2003, 81(2): 87-104.
- [38] DELIGENTTE-MULLER M L, CORNU M, POUILLOT R, et al. Use of Bayesian modeling in risk assessment: application to growth of *Listeria monocytogenes* and food flora in cold-smoked salmon [J]. *Food Microbiol*, 2006, 106(2): 195-208.
- [39] SMID J, JONGE R D, HAVELAAR A H, et al. Variability and uncertainty analysis of the cross-contamination ratios of *Salmonella* during pork cutting [J]. *Risk Analysis*, 2013, 33(6): 1100-1115.
- [40] KUIKKA S, HILDEN M, GISLASON, H, et al. Modeling environmentally driven uncertainties in Baltic cod (*Gadus morhua*) management by Bayesian influence diagrams [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1999, 56(4): 629-641.
- [41] FENTON N, NEIL M. Risk Assessment and Decision Analysis with Bayesian Networks [J]. *Journal of Applied Statistics*, 2014, 41(4): 910-910.
- [42] KONTKANEN P, MYLLYMAKI P, SILANDER T, et al. Comparing predictive inference methods for discrete domains. Sixth International Workshop on Artificial Intelligence and Statistics [M]. USA: Fort Lauderdale, 1997: 311-318.
- [43] LIU Li-mei, GAO Yong-chao, WANG Yong-chun. Improvement and application of modular process risk modeling method for microbial risk assessment [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2013, 5(9): 434-438.
- [44] SMID J H, SWART AN, HAVELAAR AH. A practical framework for the construction of a biotracing model; application to *Salmonella* in the pork slaughter chain [J]. *Risk Analysis*, 2012, 31(9): 1434-1450.
- [45] DUSPOHL M, FRANK S, DOLL P. A review of Bayesian networks as a participatory modeling approach in support of sustainable environmental management [J]. *Sustainable Development*, 2012, 5(12): 1-18.
- [46] NEWTON A C. Bayesian belief networks in environmental modelling: a review of recent progress. *Environmental Modeling: New Research* [M]. New York: Nova Science Publishers, 2009: 13-50.
- [47] SOLLER J. An introduction to quantitative microbial risk assessment [EB/OL]. [2014-05-05] http://water.epa.gov/scitech/swguidance/standards/criteria/health/recreation/upload/2008_04_09_criteria_recreation_feb2008_risk-assessment.pdf.
- [48] MITCHELL-BLACKWOOD J, GURIAN P L, LEE R, et al. Variance in *Bacillus anthracis* virulence assessed through Bayesian hierarchical dose-response modeling [J]. *Applied Microbiol*, 2012, 113(2): 265-275.

(上接第214页)

- [43] 权英, 孙静, 沈阳, 等. 丙烯酰胺分子印迹聚合物的制备及其性能研究 [J]. *食品与发酵工业*, 2010, 36(12): 177-180.
- [44] TUDORACHE M, BALA C. Biosensors based on screen-printing technology, and their applications in environmental and food analysis [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 388(3): 565-578.
- [45] FARRE M, PEREZ S, GONÇALVES C, et al. Green analytical chemistry in the determination of organic pollutants in the aquatic environment [J]. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 2010, 29(11): 1347-1362.
- [46] STOBIECKA A, RADECKA H, RADECKI J. Novel voltammetric biosensor for determining acrylamide in food samples [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2007, 22(9/10): 2165-2170.
- [47] NOH D H, CHUNG S H, CHOI S J, et al. A preliminary study on the development of an easy method for beef freshness using a cyclic voltammetric system [J]. *Food Control*, 2011, 22(1): 133-136.
- [48] VISWANATHAN S, RADECKA H, RADECKI J. Electrochemical biosensors for food analysis [J]. *Monatshefte Fur Chemie*, 2009, 140(8): 891-899.
- [49] GARABAGIU S, MIHAILESCU G. Simple hemoglobin-gold nanoparticles modified electrode for the amperometric detection of acrylamide [J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2011, 659(2): 196-200.
- [50] LI Dan, XU Yu-mei, ZHANG Ling, et al. A Label-free Electrochemical biosensor for acrylamide based on DNA immobilized on graphene oxide-modified glassy carbon electrode [J]. *International Journal of Electrochemical Science*, 2014, 9(12): 7217-7227.
- [51] WANG Qiu-yun, JI Jian, JIANG Dong-lei, et al. An electrochemical sensor based on molecularly imprinted membranes on a P-ATP-AuNP modified electrode for the determination of acrylamide [J]. *Analytical Methods*, 2014, 6(16): 452-458.
- [52] HU Qin-qin, XU Xia-hong, LI Zhan-ming, et al. Detection of acrylamide in potato chips using a fluorescent sensing method based on acrylamide polymerization-induced distance increase between quantum dots [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2014, 54(12): 64-71.
- [53] LIU Cong-cong, LUO Feng, CHEN Dong-mei, et al. Fluorescence determination of acrylamide in heat-processed foods [J]. *Talanta*, 2014, 123: 95-100.