

一种利用高效液相色谱测定油炸薯条中丙烯酰胺方法的研究

常立伟^{1,2}, 康 优², 宋志峰², 曾宪鹏², 孟繁磊², 南喜平^{2*}

(1. 吉林农业大学, 长春 130118; 2. 吉林省农业科学院, 长春 130033)

摘要:通过对几种利用高效液相色谱分析测定油炸薯条中丙烯酰胺含量方法的筛选, 确定了一种用超纯水提取, 正己烷为萃取溶剂, 经高速离心、固相萃取柱纯化, 旋转蒸发、超纯水定容后采用 Agilent 1 260series 高效液相色谱仪进行测定的方法。该方法流动相: 水-甲醇(99.5:0.5, V/V); 流速为 0.5 mL/min; 进样量为 10 μ L; 检测波长为 196 nm; 柱温为 26 $^{\circ}$ C; 保留时间为 12.752 min。该方法的检出限低于 0.9 ng/g, 加标回收率大于 85%, 相对标准偏差小于 0.9%, 本方法操作简单, 准确率高, 适用于食品中丙烯酰胺的检测。

关键词:食品; 丙烯酰胺; 检测; 高效液相; 安全

中图分类号: TS2017.3; O657.72 **文献标识码:** A

文章编号: 2096-5877(2019)05-0123-06

A Method for the Determination of Acrylamide in Fries by Using High Performance Liquid Chromatography

CHANG Liwei^{1,2}, KANG You², SONG Zhifeng², ZENG Xianpeng², MENG Fanlei², NAN Xiping^{2*}

(1. Jilin Agricultural University, Changchun 130118; 2. Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: Through the screening of several methods for determination of acrylamide content in fried French fries by high performance liquid chromatography, an ultrapure water extraction method was determined. N-hexane was used as extraction solvent. After high speed centrifugation and solid phase extraction column purification, rotation for evaporation, using ultrapure water to reach the constant volume, and measured using an Agilent 1 260 series high performance liquid chromatography. The mobile phase of the method: water-methanol (99.5:0.5, V/V), flow rate of 0.5 mL/min, injection volume of 10 μ L, detection wavelength of 196 nm, column temperature of 26 $^{\circ}$ C, retention time of 12.752 min. The detection limit of the method is less than 0.9 ng/g, the recovery of standard addition is more than 85%, and the relative standard deviation is less than 0.9%. The method is simple in operation and high in accuracy, and is suitable for detection of acrylamide in food.

Key words: Food; Acrylamide; Detection; High performance liquid chromatography; Safety

随着社会经济的发展, 人们生活水平日益提高, 在达到小康社会之后食品安全问题已成为人们关注的焦点。2002年4月, 瑞典斯德哥尔摩大学教授首次在120 $^{\circ}$ C以上的油炸或焙烤的土豆、地瓜、油条、麻花、月饼、饼干、面包和馒头片等高淀粉、高碳水化合物、低蛋白质类食品中发现了具有神经毒性的潜在致癌物—丙烯酰胺, 引起了世

界各国政府和相关国际组织的广泛关注^[1-5]。

丙烯酰胺也称“丙毒”, 结构为 $\text{CH}_2=\text{CHCONH}_2$, 分子量 71.08, 是一种白色结晶性固体或无色透明片状晶体, 无臭, 熔点 84~85 $^{\circ}$ C, 沸点 125 $^{\circ}$ C, 水中溶解度 20.5 g/L, 能溶于水、乙醇、二甲醚和丙酮, 微溶于苯、甲苯等烃类溶剂, 不溶于庚烷。日常食物在加热(120 $^{\circ}$ C以上)烹调过程中会形成丙烯酰胺, 但在 100 $^{\circ}$ C或低于 100 $^{\circ}$ C的水煮食物中很少产生或不产生丙烯酰胺。丙烯酰胺对酸稳定, 在碱性中易分解, 对光不稳定, 接近熔点时经紫外线照射很容易聚合^[6], 在氧化剂作用下发生剧烈的聚合反应形成聚丙烯酰胺。丙烯酰胺本身是低毒的, 当它进入机体后经细胞色素 P450-2E1 催化氧化为环氧丙烯酰胺, 环氧丙烯酰胺是主要的致

收稿日期: 2019-05-18

基金项目: 吉林省农业科技创新工程项目(CXGC2017ZY019); 吉林省农业科技创新工程项目-人才基金(C82230311)

作者简介: 常立伟(1995-), 男, 在读硕士, 研究方向为食品安全与控制。

通讯作者: 南喜平, 男, 研究员, E-mail: xpnas001@163.com

突变活性物质,它的产生是造成人体中毒的主要原因,它比丙烯酰胺更容易与DNA结合从而形成加合物^[7-8],导致细胞内遗传物质损伤和基因突变,从而产生致癌作用,还会引起人体细胞中氧化压力急剧上升,增加其他疾病发病的危险。经研究,世界卫生组织(World Health Organization, WHO)和欧盟^[9]规定饮用水的限量标准为 $1\mu\text{g/L}$,美国环境保护局规定饮用水限量标准为 $0.5\mu\text{g/L}$ ^[10-11],而我国《生活饮用水卫生标准》(GB 5749-2006)^[12]中规定丙烯酰胺的限值为 0.0005 mg/L 。但目前丙烯酰胺的限量标准主要针对饮用水而制定。

动物实验和体外细胞实验都证明丙烯酰胺可导致神经性病变、生殖性损害、遗传物质改变和癌症的发生,人体可通过消化道、呼吸道、皮肤黏膜等多种途径接触丙烯酰胺,其中最为常见的是通过皮肤接触而中毒吸收最快的是通过人体消化道进入^[13]。丙烯酰胺现已被国际癌症研究中心(International Cancer Research Center, IRAC)列为可能致癌物质(II A类)^[14]。目前,食品中丙烯酰胺的检测方法主要有气相色谱法(Gas chromatography, GC-MS)、液相色谱法(Liquid chromatography, LC-MS)、液相色谱-串联质谱法(Liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS-MS)、高效液相色谱法(High performance liquid chromatography, HPLC)、高效液相色谱-串联质谱法(High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS-MS)^[15-19]、酶联免疫分析法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)^[20]、生物传感器法^[21]、差示脉冲极谱法^[22]、毛细管电泳法^[23]。本文采用了适用范围广、分离性能好、灵敏度高的高效液相色谱法进行检测,通过多种方法的重复实验确定了最适前处理及检测条件。

1 材料与方法

1.1 仪器及试剂

丙烯酰胺(纯度99%, HPLC)、丙烯酰胺标准储备液(1 mg/mL , 超纯水配制)、丙烯酰胺标准使用液(超纯水配制, 临用现配)、正己烷(AR)、甲醇(AR)、Carrez I试剂(称取 $15\text{ g K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 溶于 100 mL 超纯水中)、Carrez II试剂(称取 30 g ZnSO_4 溶于 100 mL 超纯水中)、乙酸乙酯(AR)、聚乙二醇、甲酸(色谱纯)、氯化钠、乙腈(色谱纯)、蒲公英提取物、茶多酚提取物、小茴香提取物、甘草提取物。

高效液相色谱仪(Agilent 1260, 配紫外检测器)、ZORBAX SB-C18柱($4.6\text{ mm} \times 150\text{ mm}$, $5\mu\text{m}$)、Inertsil ODS-SP($4.6\text{ mm} \times 250\text{ mm}$, $5\mu\text{m}$)(GL Sciences Inc)、旋转蒸发器(RE-52)、循环水式多用真空泵、超纯水机(LAB-DI-20)(长春莱博帕特科技发展有限公司)、高速万能粉碎机(FW100)(天津泰斯特仪器有限公司)、电热鼓风干燥箱(DHG-9240A)(上海一恒科学仪器有限公司)、亮彩不锈钢全能汤锅(ST20A3)(苏泊尔)、电磁炉(2200WIC22-IH02K)(苏泊尔)、高速冷冻离心机(3K15)、旋涡混合器(XW-80A)(上海驰唐电子有限公司)、电子天平(FA2204B)(上海精密科学仪器有限公司)、磁力搅拌器(85-2)(江苏城西晓阳电子仪器厂)、数控超声波清洗器(KQ5200DV型)(昆山市超声仪器有限公司)、HLB固相萃取小柱、针头过滤器($0.22\mu\text{m}$ 、 $0.45\mu\text{m}$ 水相滤膜)、玻璃棒、氮吹仪、 25 mL 分液漏斗。

1.2 配制标准溶液

准确称量 10 mg 丙烯酰胺标准品到 10 mL 棕色容量瓶中用超纯水定容,配制成浓度为 1 mg/mL 的丙烯酰胺标准储备液(避光, 4°C 储存备用)。

准确量取 0.1 mL 的丙烯酰胺标准溶液(1 mg/mL)于 10 mL 容量瓶中定容,配制成 $10\mu\text{g/mL}$ 的丙烯酰胺标准溶液(临用现配)(见图1)。按此配制成 $8\mu\text{g/mL}$ 、 $6\mu\text{g/mL}$ 、 $4\mu\text{g/mL}$ 、 $2\mu\text{g/mL}$ 的溶液来得到标准曲线^[24](见图2)。

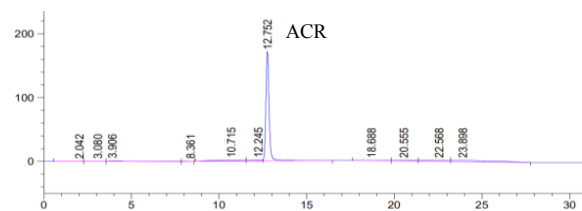


图1 丙烯酰胺标准溶液图

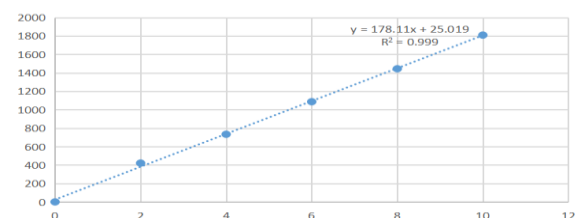
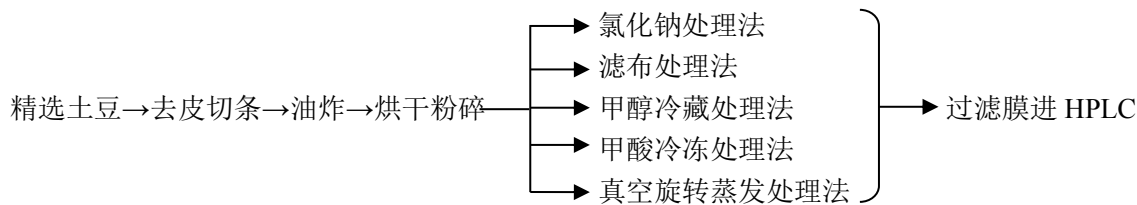


图2 丙烯酰胺标准曲线

1.3 实验方法

1.3.1 油炸薯条的制作工艺及丙烯酰胺检测的实验流程

1.3.1.1 实验流程



1.3.1.2 油炸薯条的制作

将土豆去皮切条,放入120~130℃的油锅中初炸2 min,立即取出晾90 s,将其置于170~180℃的高温油中复炸3 min,取出用厨房用纸吸干表面油分置于60℃烘箱中8 h,粉碎机粉碎后待用。

1.3.2 实验方法的筛选

1.3.2.1 氯化钠处理法

样品前处理:2 g样品用超纯水溶解离心→2次正己烷超声震荡15 min脱脂→60 mL氯化钠溶液(2 mol/L)重复2次在8 000 r/min下脱蛋白→乙酸乙酯重复3次于分液漏斗中进行萃取→氮气吹干乙酸乙酯后超纯水复溶→HLB固相萃取柱经活化、上样、淋洗→洗脱液经氮吹、超纯水复溶、过0.45 μm水相滤膜后进HPLC。

色谱检测条件:Agilent 1260 高效液相色谱仪(配紫外检测器),C18柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相甲醇:水(5:95, v/v),流速0.8 mL/min,柱温32℃,进样量10 μL,检测波长195 nm。

1.3.2.2 滤布处理法

样品前处理:2 g样品用超纯水定容→磁力搅拌器匀浆→过500目滤布3遍→正己烷振荡后于分液漏斗分液→重复加正己烷分液3次→合并下层液体→10 000 r/min高速冷冻离心机离心→得到的液体过固相萃取柱→氮吹至干、超纯水复溶过0.45 μm水相滤膜后进HPLC。

色谱检测条件:Agilent公司反相色谱柱(ODS Hypersil100x2.1 mm),二极管阵列检测器(DAD),流动相甲醇:水(5:95, v/v),流速0.5 mL/min,柱温30℃,进样量10 μL,检测波长195 nm。

1.3.2.3 甲醇冷藏处理法

样品前处理:2 g样品用4 mL甲醇溶解、振荡20 min后4 000 r/min离心10 min→重复加3次甲醇萃取后合并上清液→40℃氮吹至3 mL→置于4℃冰箱3 h→4 000 r/min高速冷冻离心机离心10 min→上清液中加入正己烷重复萃取3次→下层液体于40℃氮吹至0.8 mL→过固相萃取柱后氮吹至干→甲醇复溶过0.45 μm水相滤膜后进HPLC。

色谱检测条件:Agilent公司反相色谱柱(ODS

Hypersil100x2.1 mm),全波长光谱扫描,流动相甲醇:水(5:95, v/v),流速0.8 mL/min,柱温40℃,进样量10 μL,检测波长210 nm。

1.3.2.4 甲酸冷冻处理法

样品前处理:2 g样品用0.1%甲酸定容→涡旋30 min后5 000 r/min离心→上清液于-24℃冷冻10~12 h→解冻后15 000 r/min高速离心机离心20 min→上清液过0.45 μm水相滤膜→过固相萃取柱后再过一次0.45 μm滤膜→进HPLC。

色谱检测条件:Agilent公司反相色谱柱(ODS Hypersil100x2.1 mm),全波长光谱扫描,流动相水-乙腈-0.1%乙酸水溶液(98.9:1:0.1, V/V/V),流速0.2 mL/min;进样量:20 μL,检测波长202 nm,柱温:26℃。

1.3.2.5 真空旋转蒸发处理法

样品前处理:称取2 g样品加入15 mL超纯水,再分别加入2.5 mL Carrez I试剂与2.5 mL Carrez II试剂,涡旋振荡30 min,离心机8 000 r/min高速离心10 min,抽取上层溶液加入5 mL正己烷涡旋振荡10 min于10 000 r/min离心萃取,重复上述萃取一次后过0.45 μm水相滤膜,再经过3 mL甲醇、3 mL超纯水活化过的固相萃取柱,称取流出液7 mL加入3 mL甲醇充分涡旋混匀于10 000 r/min离心15 min,上清液真空旋转蒸发处理至干,1 mL超纯水定容后过0.22 μm水相滤膜,进HPLC检测。

色谱检测条件:

Agilent 1260 高效液相色谱仪(配紫外检测器),Inertsil ODS-SP(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相甲醇:水(0.5:99.5, v/v),流速0.5 mL/min,柱温26℃,进样量10 μL,检测波长196 nm。

2 结果与分析

2.1 氯化钠处理法

利用氯化钠溶液去除溶液中的蛋白质,使溶液更加纯净,有利于后续的检测。但是用乙酸乙酯提取的丙烯酰胺并不完全,会有损失使检测结果有偏差(见图3)。

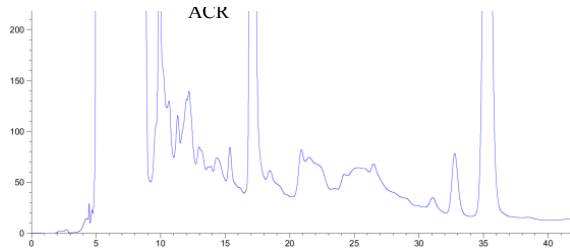


图3 丙烯酰胺样品色谱图

2.2 滤布处理法

因氮气很难与其他物质发生反应,所以得到的样品能更加纯净。但是样品处理量少,还存在样品中物质吹到空气中的风险,必须在通风橱中操作,另外,整个操作过程需要监控消耗人力,不适合大规模的处理(见图4)。

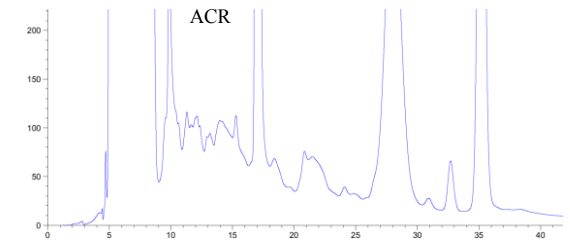


图4 丙烯酰胺样品色谱图

2.3 甲醇冷藏处理法

将薯条溶解于甲醇中,能尽可能少地提取多糖甚至是淀粉从而得到更加纯净的含有丙烯酰胺的溶液。另外,甲醇更易挥发可以缩短氮吹的时间,提高效率。但是丙烯酰胺在水中的溶解度要高于甲醇,所以用水提取更充分,更能真实地反映食品中丙烯酰胺的真实数据(见图5)。

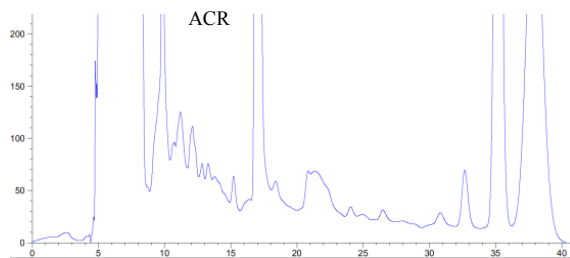


图5 丙烯酰胺样品色谱图

2.4 甲酸冷冻处理法

通过在水中加酸降低提取液的pH值进而提高稳定性。虽然长时间冷冻可使一些小分子物质粘连在一起,再经高速离心后沉淀下来,进而得到更清澈的溶液。但是在沉淀物中也会含有少量的丙烯酰胺,再去除沉淀物的同时也会损失丙烯酰胺,使最后结果并不是食品中丙烯酰胺的最真实数据(见图6)。

2.5 真空旋转蒸发处理法

用超纯水做提取溶剂既能解决提取不完全的缺点,又能做到保护环境、节省资金、对人体无伤害;其次用抽真空旋转蒸发代替氮吹法,浓缩速度快、不会污染空气、安全可调控,还可批量处理样品。所以,该方法既弥补了上述几种方法的不足,又具有独到的操作手法,最适于作为检测油炸食品中丙烯酰胺的前处理方法(见图7)。

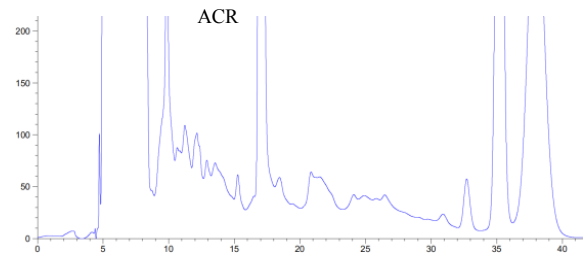


图6 丙烯酰胺样品色谱图

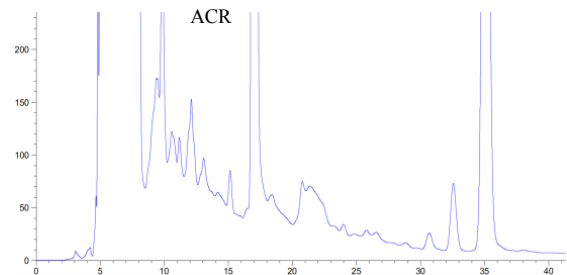


图7 丙烯酰胺样品色谱图

通过对以上5种检测方法优缺点及色谱图的对比,发现真空旋转蒸发处理法能弥补上述几种方法的不足,还能做到对人安全、对环境无污染、节约能源。并且所得到的色谱峰峰形较好,没有明显的前伸峰或拖尾峰,分离度较好,最适合食品中丙烯酰胺的检测。所以下面对真空旋转蒸发法检测的色谱条件进行筛选。

2.6 色谱条件的优化

2.6.1 HPLC 色谱波长的确定

用分光光度计对丙烯酰胺标准溶液进行全波长扫描,发现丙烯酰胺标品在196 nm处有最大吸收峰(见图8),因此选择196 nm的波长进行测定。

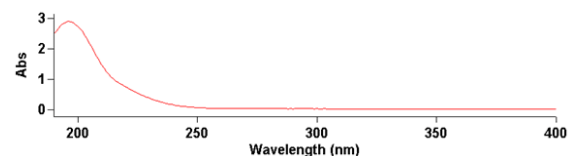


图8 HPLC 色谱波长

2.6.2 其它色谱条件的确定

根据所选用Inertsil ODS-SP柱可用纯水做流动相的性质,我们对流动相为甲醇:水(10:90, 5:95, 1:99, 0.5:99.5, v/v)的检测进行对比;流速在0.2 mL/min、0.4 mL/min、0.6 mL/min、0.8 mL/min、1

mL/min 内进行筛选;进样量在 5 ~ 15 μ L 之间;柱温控制在 22 ~ 32 $^{\circ}$ C 之间进行实验。最终确定了最佳的色谱条件为:流动相为甲醇:水(0.5:99.5, v/v);流速 0.8 mL/min;柱温 26 $^{\circ}$ C;进样量 10 μ L;检测波长 196 nm。

2.6.3 标准曲线的线性范围

用超纯水将 1 mg/mL 的丙烯酰胺标准储备液(避光,4 $^{\circ}$ C 储存备用)稀释成 0.002 ~ 10.00 μ g/mL 的标准工作液,在最佳条件下进行进样分析,以液相色谱峰峰面积为纵坐标,以丙烯酰胺标准浓度为横坐标绘制标准曲线,得到标准溶液线性回归方程: $y=178.11x+25.019$, $R^2=0.999$ 。线性系数 R^2 极接近 1 说明标准溶液在 0.002 ~ 10 μ g/mL 范围内线性关系良好。

2.6.4 最低检测限

选取 1 μ g/mL 丙烯酰胺标准溶液进行稀释,稀释成 0.01 μ g/mL、0.008 μ g/mL、0.006 μ g/mL、0.004 μ g/mL、0.002 μ g/mL、0.001 μ g/mL、0.0005 μ g/mL 的浓度进行检测,结果表明 0.0008 ~ 0.01 μ g/mL

的溶液均能检测出丙烯酰胺,在 0.001 μ g/mL (图 9、图 10)浓度时信噪比为 5,也就是峰高约是基线噪音高的 5 倍,经换算得最低检测限低于 0.9 ng/g。所以本实验的检出限低于 0.9 ng/g。

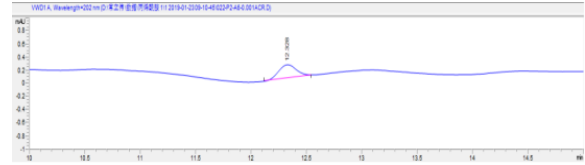


图 9 丙烯酰胺样品色谱图

数据文件: D:\常立伟\数据\丙烯酰胺1\1 2019-01-23 09-10-45\022-P2-A6-0.001ACR.1
样品名称: 0.001ACR

保留时间 [min]	k'	峰面积 [mAU*s]	峰高 [mAU]	对称 因子	峰宽 [min]	塔板数	分离度	信号 噪声
12.328	-	2.26399	2.01248e-1	1.03	0.1850	24606	-	5.0

*** 报告结束 ***

图 10 丙烯酰胺数据分析图

2.6.5 实验的精密度及准确度

为了确定实验结果的准确性^[25],不仅进行了对同一样品的多次进样检测(表 1),还进行了加标回收率实验(表 2)。

表 1 方法精密度结果

标液浓度(μ g/mL)	检测次数	峰面积平均值	含量平均(μ g/mL)	RSD(%)
10	6	2176.38	12.079	0.2816
8	6	1776.10	9.831	0.5685
6	6	1312.26	7.227	0.8162
4	6	852.4	4.645	0.7019
2	6	419.36	2.214	0.2065

表 2 加标回收率结果

加标前含量(μ g/mL)	加标量(μ g/mL)	加标后含量(μ g/mL)	回收率(%)
12.033	20.01	29.37 \pm 0.98	91.66 \pm 3.06
4.818	20.01	22.361 \pm 1.15	90.06 \pm 4.63
2.279	20.01	19.893 \pm 0.888	89.25 \pm 3.98

结果表明:该方法的相对标准偏差(RSD)在 0.2% ~ 0.85% 之间,回收率在 85% 以上。即该实验前处理方法比较完美,高效液相色谱精密度高、较准确。

3 前景展望

丙烯酰胺不仅具有神经性毒性^[26]、遗传性毒性和生殖性毒性^[27],甚至能够导致癌症^[28]的发生,它广泛且大量存在于人们所食用的食物中。虽然自 2002 年至今检测食品中丙烯酰胺的方法层出不穷,检测的仪器更是不断地更新换代,但是前

处理的步骤还是过于繁琐且耗时较长,仪器要求特别高。所以,未来的发展趋势则是类似于曹成喜教授所提出的:既快速又安全的测定牛奶中蛋白质含量的双内标准图(DISP)电泳滴定模型(ET)方法,他打开了便携式可视化定量方法的窗口。我们未来也应该朝这方面探索,研究取少量产品溶于水,放在仪器上就能够得到产品内丙烯酰胺含量的方法,这样既能节省时间,提高效率,又能保护我们的健康。

参考文献:

- [1] 江城梅,赵文红,赵 红.食品中丙烯酰胺产生机制和危害的研究进展[J].蚌埠医学院学报,2008,33(3):375-377.
- [2] Swedish N F A. Information About Acrylamide in Food[J]. Swedish National Food Administration, 2002, 4: 24.
- [3] Ahn J S, Castle L, Clarke D B, et al. Verification of the findings of acrylamide in heated foods[J]. Food Additives and Contaminants, 2002, 19(12): 1116-1124.
- [4] Curtis T Y, Postles J, Halford N G. Reducing the potential for processing contaminant formation in cereal products[J]. Journal of Cereal Science, 2014, 59(3): 382-392.
- [5] Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, et al. Analysis of Acrylamide, a Carcinogen Formed in Heated Food stuffs[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(17):4998-5006.
- [6] 周 宇,朱圣陶.食品中丙烯酰胺污染的研究进展[J].中华预防医学杂志,2004,38(5):73-75.
- [7] Paulsson B, Grawé J, Törnqvist M. Hemoglobin adducts and micronucleus frequencies in mouse and rat after acrylamide or N-methylacrylamide treatment[J]. Mutation Research, 2002, 516(1): 101-111.
- [8] Van D P M L, Van D H D A, Tates A D, et al. Formation of N-7-(2-carbamoyl-2-hydroxyethyl) guanine in DNA of the mouse and the rat following intraperitoneal administration of [¹⁴C]acrylamide[J]. Carcinogenesis, 1995, 16(5): 1161-1163.
- [9] European council Drinking water directive EU 98/93/EC[S]. Bussels, 1998.
- [10] 张辉珍.食品中丙烯酰胺等有毒有害物质检测方法建立及其应用研究[D].青岛:青岛大学,2010.
- [11] Risica S, Grande S. Council Directive 98/83/EC on the quality of water intended for human consumption[M]. Italy: Istituto Superiore di Sanita', Rome (Italy), 2000: 52-53.
- [12] GB5749-2006,生活饮用水卫生标准[S].2006.
- [13] 朱雨辰,王 菲,宋 柬,等.食品中丙烯酰胺的研究进展[J].食品安全质量检测学报,2013,4(2):313-320.
- [14] 章 宇.生物黄酮抑制食品中丙烯酰胺形成的机理及其构效关系研究[D].杭州:浙江大学,2008.
- [15] 项雷文,邹文桐,陈文韬.高效液相色谱法测定福清光饼中丙烯酰胺含量[J].福建轻纺,2012,7(7):28-31.
- [16] 樊 祥,方晓明,陈家华,等.液相色谱-串联四极质谱对食品中丙烯酰胺的测定研究[J].分析测试学报,2005,24(3):82-85.
- [17] Roach J A G, Andrzejewski D, Gay M L, et al. Rugged LC-MS/MS Survey Analysis for Acrylamide in Foods[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(26):7547-7554.
- [18] 杨斯超,张 慧,汪俊涵,等.柱前衍生化-气相色谱-质谱法定量测定食品中丙烯酰胺的含量[J].色谱,2011,29(5):404-408.
- [19] 周 宇,朱圣陶.气相色谱法测定油炸、烘烤食品中丙烯酰胺-丙烯酰胺污染水平调查[J].理化检验:化学分册,2007,43(11):928-930.
- [20] 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.
- [21] 蒋雪松,王剑平,应义斌,等.用于食品安全检测的生物传感器的研究进展[J].农业工程学报,2007,23(5):272-277.
- [22] Niaz A, Sirajuddin, Shah A, et al. A new simple sensitive differential pulse polarographic method for the determination of acrylamide in aqueous solution[J]. Talanta, 2008, 74(5):1608-1614.
- [23] Tezcan F, Erim F B. On-line stacking techniques for the non-aqueous capillary electrophoretic determination of acrylamide in processed food[J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 617(1):196-199.
- [24] 郭梅燕,李广领,谷珊山,等.土壤中氟磺草醚残留的高效液相色谱分析方法建立与优化[J].吉林农业科学,2014,39(1):68-70.
- [25] 董姊怡,王安冀,李卫东.高效液相色谱法测定欧李不同部位γ-氨基丁酸的含量[J].东北农业科学,2017,42(2):60-64.
- [26] 孙凤祥,赵浮梅,杨晓云.丙烯酰胺对小鼠的毒性作用[J].中国公共卫生,2004,20(5):569-570.
- [27] 罗 荣,赵 维.食物中丙烯酰胺对人体毒性研究[J].中国预防医学杂志,2004,5(5):416-418.
- [28] Bull R J, Robinson M, Laurie R D, et al. Carcinogenic effects of acrylamide in Sencar and A/J mice[J]. Cancer Research, 1984, 44(1): 107-111.

(上接第68页)

- [11] 曹云娥,高艳明.结球甘蓝氮素营养快速诊断及最佳用量研究[J].北方园艺,2007(7):7-10.
- [12] 程 艳,吴春燕,张晓旭,等.菠菜叶片SPAD值与叶绿素含量的相关性分析[J].东北农业科学,2018,43(4):44-47.
- [13] 张富林,杨 利,熊桂云,等.大白菜硝酸盐含量和叶片SPAD值与氮肥用量关系研究[J].湖北农业科学,2011(23):4839-4843.
- [14] 高艳明,曹云娥,李建设,等.春大白菜田间氮素营养快速诊断及最佳用量研究[J].中国土壤与肥料,2007(6):61-63.
- [15] 李俊良,张晓晟,孟祥霞,等.大白菜氮肥推荐施用技术的研究[J].莱阳农学院学报,2002,19(2):83-85.