

丙烯酰胺体内暴露生物标志物解析和风险评估 研究进展

汪安利^{1,2}, 诸力^{1,2}, 章宇^{1,2*}

(1. 浙江大学智能食品加工技术与装备国家地方联合工程实验室, 浙江省农产品加工技术研究省级重点实验室, 馥莉食品研究院, 杭州 310058; 2. 浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 杭州 310058)

摘要: 丙烯酰胺是一种重要的化工原料, 也是美拉德反应的副产物之一, 广泛存在于烟草烟雾和经高温加工且富含碳水化合物的食品中。丙烯酰胺可经过消化道、呼吸道、皮肤等多种途径被机体吸收, 具有神经毒性、生殖发育毒性、基因毒性及致癌性。丙烯酰胺在体内经细胞色素 P450 作用转化为环氧丙酰胺, 进一步形成主要的 4 种巯基尿酸加合物、2 种血红蛋白加合物和 4 种 DNA 加合物, 这 3 类加合物均可作为评价丙烯酰胺体内暴露水平的生物标志物, 并可通过进一步测定其含量以评估和关联生物体(人体)在环境或膳食中丙烯酰胺的暴露水平。本研究对丙烯酰胺的危害作用、体内代谢途径、体内暴露生物标志物、生物标志物的检测方法、体内暴露风险评估和体内暴露控制与预防措施进行了概述, 以期对丙烯酰胺的风险评估与监控提供参考。

关键词: 丙烯酰胺; 体内暴露; 生物标志物; 风险评估

Research progress in biomarker analysis and risk assessment of acrylamide exposure *in vivo*

WANG An-Li^{1,2}, ZHU Li^{1,2}, ZHANG Yu^{1,2*}

(1. National Engineering Laboratory of Intelligent Food Technology and Equipment, Zhejiang Key Laboratory for Agro-Food Processing, Fuli Institute of Food Science, Hangzhou 310058, China; 2. College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

ABSTRACT: Acrylamide is an important chemical raw material and one of the by-products of Maillard reaction, which widely exists in tobacco smoke and high temperature processed carbohydrate-rich foods. Acrylamide can be absorbed by the body through digestive tract, respiratory tract, skin and other ways, which has neurotoxicity, reproductive and developmental toxicity, genotoxicity and carcinogenicity. Acrylamide can convert into glycidamide by cytochrome P450 *in vivo*, which will further form 4 main mercaptouric acid adducts, 2 hemoglobin adducts and 4 DNA adducts. These 3 kinds of adducts can be used as biomarkers to evaluate the exposure level of acrylamide *in vivo*, and their content determination can be used to further evaluate and correlate the exposure level of acrylamide in the environment or diet of organisms (human body). This paper summarized the harmful effects of acrylamide, metabolic pathway, exposure biomarkers, detection methods of biomarkers, exposure risk assessment, control and

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFC1600500)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2017YFC1600500)

*通讯作者: 章宇, 教授, 主要研究方向为食品化学安全。E-mail: y_zhang@zju.edu.cn

*Corresponding author: ZHANG Yu, Professor, Zhejiang University, No. 866, Yuhangtang Road, Hangzhou 310058, China. E-mail: y_zhang@zju.edu.cn

preventive measures of acrylamide, in order to provide reference for risk assessment and monitoring of acrylamide.

KEY WORDS: acrylamide; exposure *in vivo*; biomarker; risk assessment

1 引言

丙烯酰胺(acrylamide, AA)常温下为无色透明片状晶体,是一种重要的化工原料,也是美拉德反应的副产物之一,具有一定的毒性。2002年瑞典国家食品管理局与斯德哥尔摩大学研究人员首先报道^[1],在一些油炸和烧烤的淀粉类食品中检测到丙烯酰胺,之后英国、挪威、美国、澳大利亚、新西兰、加拿大等国家也报道了类似检测结果^[2,3]。此后,国际社会和各国政府高度关注食品中丙烯酰胺的污染问题,2002年6月世界卫生组织和联合国粮农组织联合召开了食品中丙烯酰胺污染专家咨询会议,探讨食品中丙烯酰胺的安全性^[4];2005^[5]和2011年^[6],食品添加剂专家联合委员会分别对丙烯酰胺进行了暴露评估,得出虽然全球人群膳食摄入丙烯酰胺的暴露限值(margin of exposure, MOE)较低,但应关注丙烯酰胺对人类健康的风险的结论;欧洲食品安全局在2007~2009年间对不同类食物中丙烯酰胺污染水平进行监测^[7],并在2015年^[8]开展了丙烯酰胺的风险评估工作。此次风险评估结论认为,相比较丙烯酰胺的神经毒性(等),其致癌性更应予以关注;2019年5月,中国国家食品安全风险评估中心重新启动丙烯酰胺评估项目^[9]。本研究对丙烯酰胺的危害作用、体内代谢途径、体内暴露生物标志物、生物标志物的检测方法、体内暴露风险评估和体内暴露控制与预防措施进行了概述,以期对丙烯酰胺的风险评估与监控提供参考。

2 丙烯酰胺体内代谢途径

丙烯酰胺进入人体后在谷胱甘肽 S-转移酶的作用下,与谷胱甘肽(glutathione, GSH)结合生成丙烯酰胺-GSH 结合物,再降解为 N-乙酰-S-(2-氨基甲酰乙基)-L-半胱氨酸(AAMA),并且只有在人体中 AAMA 才可转化为亚磺酰化 AAMA(AAMA-sul)。丙烯酰胺还可在细胞色素 P450 的作用下,生成具有强致癌活性的环氧丙酰胺(glycidamide, GA),环氧丙酰胺与谷胱甘肽结合后降解为 N-乙酰-S-(2-氨基甲酰-2-羟乙基)-L-半胱氨酸(GAMA)和同分异构体的 N-乙酰-S-(1-甲酰-2-羟乙基)-L-半胱氨酸(iso-GAMA)。以上 4 种化合物主要通过尿液排出体外^[10]。在血液中,丙烯酰胺和环氧丙酰胺作为蛋白质的烷化剂与血红蛋白(Hb)的氨基末端缬氨酸结合,分别生成 Hb 加合物 N-(2-氨基甲酰乙基)缬氨酸(AAVal)和 N-(2-氨基甲酰-2-羟乙基)缬氨酸(GAVal)^[11]。

3 丙烯酰胺体内暴露生物标志物检测

生物标志物是指可供客观测定和评价生理、病理或治

疗干预过程中的某种特征性生化指标^[12]。生物标志物能够反映并量化机体与环境因子相互作用引起的诸如生理、生化、行为、免疫、细胞、遗传等多方面的变化,一般可分为接触标志物、效应标志物和易感标志物^[13]。生物标志物对丙烯酰胺的毒性评价有着重要的作用。国内外对丙烯酰胺生物标志物的研究多集中于接触生物标志物和效应生物标志物,如巯基尿酸、血红蛋白、DNA 加合物以及钙离子和能量代谢相关“酶类”。

3.1 接触(暴露)生物标志物

接触生物标志物指反映机体生物材料中外源性物质、其代谢物、外源性物质与靶细胞或靶分子相互作用产物含量的指标物质^[11]。接触生物标志物与丙烯酰胺在体内的吸收、分布及代谢密切相关。在啮齿类动物和人体研究中,丙烯酰胺和环氧丙酰胺的巯基尿酸加合物、血红蛋白加合物和 DNA 加合物均可作为评估丙烯酰胺暴露量的生物标志物。

3.1.1 巯基尿酸加合物

巯基尿酸是丙烯酰胺、苯、苯乙烯等亲电子化合物与谷胱甘肽结合后的代谢终产物,它能够反映这些化合物原型以及中间产物(等)在生物体内的代谢情况^[14]。由于巯基尿酸的生物半衰期短(一般为数小时),故只能反映短期内(数小时至数天)丙烯酰胺的暴露水平。选取丙烯酰胺巯基尿酸加合物作为生物标志物,可以评估生物体在环境或膳食中丙烯酰胺的暴露水平^[15]。

Wang 等^[15]综合分析了 4 种巯基尿酸加合物在大鼠和人体内的代谢动力学特征,并以此作为生物标志物评估了大鼠及中国青少年丙烯酰胺的短期(体)内暴露水平,该研究同时指出丙烯酰胺以巯基尿酸代谢产物形式进行排泄时呈现出剂量和性别依赖关系。Chen 等^[16]从吸烟者和不吸烟者尿液中提取丙烯醛、甲基丙烯醛和甲基乙烯酮的巯基尿酸进行解析和定量,为评估其危害性提供依据。

3.1.2 血红蛋白加合物

由于丙烯酰胺和环氧丙酰胺的血红蛋白(Hb)加合物的生物半衰期相对于其巯基尿酸加合物较长,因此如果以血红蛋白加合物作为评估丙烯酰胺中期内暴露水平的重要生物标志物,评估期限最长可达 4 个月之久^[17]。但由于所测血红蛋白加合物只能根据加权平均值方式来反应丙烯酰胺的暴露时间,且个体差异性较大,因此以血红蛋白加合物作为生物标志物不适用于构建剂量-反应关系模型^[18]。

血红蛋白加合物作为生物标志物已成功应用于丙烯酰胺的风险评估^[19]。Chevolleau 等^[20]报道了用 AA 和 GA 的血红蛋白加合物作为生物标志物监测法国普通人群丙烯

酰胺暴露量水平; Huang 等^[21]通过对 2003~2006 年全美健康和营养调查进行研究, 发现了美国成年人丙烯酰胺血红蛋白加合物水平与心血管疾病死亡率的关系; Aasa 等^[22]通过测定体内血红蛋白加合物含量来评估在不同剂量污染物暴露下可能产生基因毒性的风险。

3.1.3 DNA 加合物

丙烯酰胺形成的 DNA 加合物主要有 N1-(2-羧基-2-羟乙基)-2'-脱氧腺苷(N1-GA-dA)、N3-(2-氨基甲酰-2-羟乙基)腺嘌呤(N3-GA-AdE)、N7-(2-氨基甲酰-2-羟乙基)鸟嘌呤(N7-GA-Gua)以及 N6-(2-羧基-2-羟乙基)-2'-脱氧腺苷(N6-GA-dA)^[23]。环氧丙酰胺具有致突变性, 且比丙烯酰胺更易与 DNA 上的鸟嘌呤结合形成加合物, 进而损伤遗传物质和导致基因突变^[24]。由于环氧丙酰胺 DNA 加合物被认为是丙烯酰胺的主要致癌活性代谢物, 因此可通过测定其体内含量来评估丙烯酰胺的暴露水平及致突变能力。

DNA 加合物可以作为效应剂量生物标志物针对丙烯酰胺慢性接触暴露水平进行评估^[25]。DNA 加合物由于其稳定性以及在多种生物基质中表现出的独特性, 被认为是最有前途的生物标志物之一^[23]。Hernandez-Castillo 等^[26]研究了 DNA 加合物作为预测、预防和诊断疾病的生物标志物在临床研究中的应用, 发现其能够对疾病的发展方向 and 轻重程度进行检测。

3.2 接触(暴露)生物标志物检测方法

目前对于接触(暴露)生物标志物检测方法主要有气相色谱质谱联用法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[27]、高效液相色谱紫外检测法^[28]、高效液相色谱荧光检测法^[29]、液相色谱质谱联用法^[30]以及液相色谱串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)^[14]。目前, LC-MS/MS 法因其高灵敏度和特异性已被广泛应用于丙烯酰胺内暴露生物标志物的定量分析。

尿液作为生物标志物基质, 因其可以通过非侵入性技术定期体外收集且样本量较大, 而具有独特的优势。该特性可实现个体样本的自我收集, 并对人体内生物标志物的变化情况进行实时跟踪监测。另一方面尿液可以在 -20 °C 储存数年, 而不会对脱氧核糖核酸或蛋白质水平产生明显的影响^[14]。近年来, 采用 LC-MS、LC-MS/MS 方法分析测定尿液中巯基尿酸加合物含量已形成一套相对完整的评价体系。

金新文^[31]采用超高效液相色谱-四级杆-时间飞行串联质谱仪对丙烯酰胺染毒大鼠尿液进行检测, 发现并初步解析得到 11 种生物标志物, 可应用于丙烯酰胺暴露监测及毒性评价。Bloch 等^[32]采用 LC-MS/MS 对尿液进行非靶向巯基尿酸筛选, 发现尿液中存在大量迄今为止尚未鉴定的巯基尿酸类代谢物, 为之后生物标志物的开发及其表征模式提供了借鉴。Chen 等^[16]以相应稳定的同位素标记巯基尿酸作为

内标物, 采用液相色谱-电喷雾电离-串联质谱对尿液中的代谢物进行定量分析, 发现吸烟者的 3 种巯基尿酸含量明显高于不吸烟者。

在血液中, 由于丙烯酰胺和环氧丙酰胺都是蛋白质的烷化剂, 它们能和血红蛋白的氨基末端缬氨酸结合, 分别生成血红蛋白加合物 N-(2-氨基甲酰乙基)缬氨酸(AAVal)和 N-(2-氨基甲酰-2-羟乙基)缬氨酸(GAVal)^[10]。AAVal 和 GAVal 水平能很好地反映丙烯酰胺近几个月的接触情况, 可作为中期接触的检测指标。国外早期评价丙烯酰胺接触水平的指标主要是 AAVal 和 GAVal 水平, 检测方法以 GC、GC-MS 和 LC-MS/MS 等居多^[33]。

Chevolleau 等^[20]使用液相色谱电喷雾串联质谱联用法测量了丙烯酰胺和环氧丙酰胺的血红蛋白加合物水平, 以确定法国普通人群中丙烯酰胺暴露量, 方法前处理简单, 重现性好; Zhang 等^[34]以 AAVal-PFPTH 和 GAVal-PFPTH 作为目标分析物, 开发了同位素稀释超高效液相色谱串联质谱(ultra performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)方法, 已成功应用于大鼠和人体血液实际样本中血红蛋白加合物的测定分析。

LC-MS 已经成为分析 DNA 加合物最重要的技术之一。新的色谱分离技术, 与高特异性和灵敏度的新质谱系统联用, 提高了对 DNA 加合物的定性和定量分析的能力。如超高效液相色谱/超高效液相色谱(UHPLC/UPLC)与三重四级杆串联质谱(MS/MS)系统结合, 被应用于 DNA 加合物的定性和定量分析^[35]。

Tang 等^[36]采用核酸酶 P1 和碱性磷酸酶, 可在 4 h 内快速酶解经污染物暴露的人体肝、肾细胞中的基因, 并建立 UPLC-MS/MS 方法对分离得到的 14 种烷基化 DNA 加合物进行定量分析, 方法具有高灵敏度、高特异性和高通量的特点; Ma 等^[37]建立了一种检测磷酸甲基 DNA 加合物的超灵敏液相色谱-纳米电喷雾电离-高分辨串联质谱法, 方法灵敏度和精确度都较好。这些仪器和检测方法为使用 DNA 加合物作为潜在的生物标志物来研究人体环境致致癌物暴露水平提供了便利。

色谱、质谱仪器和方法学的快速发展有助于提高利用巯基尿酸、血红蛋白和 DNA 加合物作为生物标志物来确定外源污染物体内暴露的可行性和有效性。因此, 目前的研究仍致力于发展高灵敏度、高选择性、快速的生物标志物分析方法。对于丙烯酰胺代谢产物的检测尚未有标准方法, 无法为丙烯酰胺危害的统一监测提供技术保障。

4 丙烯酰胺体内暴露风险评估

4.1 食品中丙烯酰胺含量

在食品添加剂专家联合委员会(Joint Expert Committee on Food Additives, JECFA)第 72 次会议上, 从 31

个国家获得的食品中丙烯酰胺检测数据共 12582 个, 数据来源包含早餐谷物、土豆制品、咖啡及其类似制品、奶类和蜂蜜制品、婴儿食品等主要消费食品^[6]。其中含量较高的几类食品是: 高温加工的土豆制品, 平均含量为 0.532 mg/kg, 最高含量为 5.5 mg/kg; 咖啡及其类似制品, 平均含量为 0.427 mg/kg, 最高含量为 4.700 mg/kg; 早餐谷物类食品, 平均含量为 0.273 mg/kg, 最高含量为 8.066 mg/kg; 婴儿食品(奶粉), 平均含量为 0.237 mg/kg, 最高含量为 0.470 mg/kg。其他种类食品中丙烯酰胺平均含量基本在 0.12 mg/kg 以下, 值得注意的是婴儿食品中丙烯酰胺含量较高。欧洲食品安全局 CONTAM 小组评估了自 2010 年以来收集的总共 43419 批次食品的分析结果, 报告指出: 丙烯酰胺在固体咖啡替代品、咖啡和土豆油炸产品中含量最高^[38]。其中“咖啡替代品(干)”和“咖啡(干品)”丙烯酰胺平均含量分别为 1.499 和 0.522 mg/kg, “薯片及零食”平均含量为 0.389 mg/kg, “土豆油炸产品”(薯片及零食除外)平均含量为 0.308 mg/kg。

4.2 人群丙烯酰胺的可能摄入量

根据各类食品中丙烯酰胺含量的监测结果可以评估丙烯酰胺的体外暴露水平。2011 年 JECFA 对除非洲以外世界范围内 8 个代表国家人群(包括儿童)中丙烯酰胺膳食摄入量进行评估, 结果表明普通人群的日摄入量平均约为 1 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{BW})$ (视为一般人群), 最高日摄入量约为 4 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{BW})$ (视为高暴露消费者)^[6]。值得关注的是, 按体重折算, 儿童丙烯酰胺的摄入量是成年人的 2~3 倍。由于不同国家和地区的烹饪习惯、饮食结构各异, 人群丙烯酰胺日摄入量会有所差异。英国^[39]公布的日摄入量为 0.61 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{BW})$, 法国^[40]为 0.43 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{BW})$, 而中国在 2016 年膳食研究中得出的日摄入量为 0.319 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{BW})$ ^[41]。

4.3 基于生物标志物评估丙烯酰胺体内暴露水平

与丙烯酰胺体外暴露评估和膳食摄入相比, 基于生物标志物的内暴露水平研究可以更客观准确地评估被人体吸收的丙烯酰胺含量, 并为流行病学和毒理研究提供可靠依据。

丙烯酰胺和环氧丙酰胺的巯基尿酸加合物反映短期内(数小时至数天)丙烯酰胺的暴露水平^[42], 尿液中 AAMA 和 GAMA 的比率可以间接反映丙烯酰胺向环氧丙酰胺的转换程度, 进而评估环氧丙酰胺的体内暴露水平^[43]。Wang 等^[15]选取了 101 名中国青少年作为研究对象, 分别单次给予丙烯酰胺剂量相当于 12.6 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{BW})$ 的薯片, 收集并综合分析尿液中 4 种巯基尿酸加合物。毒物动力学研究表明, AAMA 是一种最主要的早期代谢产物, AAMA-sul 是 AAMA 的氧化产物, 在整个 48 h 代谢过程中, AAMA 和 AAMA-sul 每个时间点的含量水平平均高于 GAMA 和 iso-GAMA, 研究同时也发现了通过 4 种巯基尿酸代谢物

进行的体内暴露评估与性别和体重指数等特征相关。

对于通过测定丙烯酰胺和环氧丙酰胺血红蛋白加合物含量来评估内暴露水平的研究, Zhang 等^[34]从当地社区招募 51 名(女性 13 名, 男性 38 名)非职业性接触志愿者, 其中所有女性参与者都无吸烟史, 而男性参与者中有 21 人吸烟, 将采集血液样本置于抗凝管中便于后期分离提取。结果表明吸烟男性的 AAVal 和 GAVal 加合物水平平均显著高于不吸烟男性。根据所建立的中期内暴露模型进一步关联丙烯酰胺的人群日摄入量, 非吸烟者慢性膳食丙烯酰胺日暴露量约为 $(1.08\pm 0.51) \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{BW})$, 这与 JECFA 评估的普通人群日平均膳食摄入量 $[1\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{BW})]$ 相当, 明显低于吸烟者的暴露水平 $[(4.18\pm 1.13) \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{BW})]$ 。

环氧丙酰胺与 DNA 结合所形成的 DNA 加合物, 同样被视作评估丙烯酰胺体内暴露水平的生物标志物。巯基尿酸加合物和血红蛋白加合物作为生物标志物只能评估丙烯酰胺的暴露水平, 但无法衡量其在体内产生的毒性作用, 尤其是致癌性^[44]。而环氧丙酰胺 DNA 加合物可实现丙烯酰胺对动物体内各组织器官损伤程度的评估。Ishii 等^[45]研究了丙烯酰胺诱导的 DNA 加合物与致癌靶部位基因突变之间的关系, 根据饮用水中丙烯酰胺剂量(400、200、100 mg/L)不同, 分别对成年小鼠持续 4 周的干预处理, 之后对小鼠肺器官进行报告基因突变检测和特定 DNA 加合物定量分析。结果发现高剂量组的 GC-TA 突变和单碱基缺失突变显著增加, 加合物 N7-GA-Gua 含量与丙烯酰胺呈剂量依赖关系。

通过对小鼠、大鼠和人体的丙烯酰胺体内巯基尿酸、血红蛋白和 DNA 加合物的研究, 可以更全面地揭示丙烯酰胺在体内的代谢与排泄途径。利用物种外推法对体内丙烯酰胺暴露水平进行评估, 即将动物模型外推至人体模型, 是今后污染物暴露水平研究新途径。但由于不同的生物体内丙烯酰胺向环氧丙酰胺的转换率不同等原因, 该物种外推法还需更多的实验数据支持和进一步研究。

4.4 丙烯酰胺毒理学研究

对于丙烯酰胺的毒理学研究, 主要是通过经由丙烯酰胺引发的神经毒性、生殖毒性、基因毒性和致癌性进行评价^[45]。2015 年 6 月欧洲食品安全局发布了有关丙烯酰胺风险评估的最新文件, 指出大量的动物实验已明确证实了丙烯酰胺的神经毒性、生殖毒性、发育毒性和致癌性^[38]。急性毒性实验结果表明, 大鼠、小鼠、豚鼠和兔的丙烯酰胺经口半数致死剂量(median lethal dose, LD_{50})为 150~180 mg/kg, 属中等毒性物质^[47]。

丙烯酰胺具有公认神经毒性, 一些职业性接触丙烯酰胺的暴露人群是易感人群, 如建筑行业工人、絮凝剂制造工人、煤矿工人等^[48]。在人类经呼吸道的丙烯酰胺急性暴露中, 观察到中枢和周围神经系统有损伤症状, 如产生头晕、幻觉等症状^[49]。丙烯酰胺的神经毒性在体内有累

积效应, 因此经膳食摄入的丙烯酰胺的对神经的影响不可忽视^[50]。近年来, 学者也集中于丙烯酰胺对于胚胎发育、神经发育、心脏发育和生殖器官发育的毒性研究^[51]。丙烯酰胺的生殖与发育毒性在实验大鼠和小鼠中得到了验证, 具体表现为繁殖率下降、胎儿的再吸收增加、雄性鼠体内的精子致畸率上升和数量减少^[52,53]。然而, 迄今为止没有研究或信息直接证实丙烯酰胺在人体内的生殖与发育毒性^[54,55]。已有文献报道了丙烯酰胺对人体存在基因毒性, 主要是通过其初级代谢产物环氧丙酰胺来体现。当丙烯酰胺进入体内后就会转换为环氧丙酰胺, 形成具有基因毒性的环氧丙酰胺 DNA 加合物^[56,57]。丙烯酰胺的致癌性早已经被国际癌症研究机构所评估^[58], 其主要依据同样是丙烯酰胺在动物和人体均可转化为具有致癌活性的环氧丙酰胺^[59,60]。然而, 目前关于职业和饮食接触丙烯酰胺的流行病学研究尚未发现丙烯酰胺的日常暴露与肿瘤形成有着直接的相关性。

5 丙烯酰胺体内暴露控制与预防措施及建议

大量研究证明丙烯酰胺体内暴露会对人体产生神经毒性、生殖与发育毒性、基因毒性等危害作用, 因此对丙烯酰胺体内暴露毒性防护成为近年来食品安全的研究热点, 特别是利用外源植物化学物进行干预可降低或去除丙烯酰胺对人体的危害^[61]。

抑制丙烯酰胺体内毒性主要有 3 个途径。途径一, 减少 AA 向 GA 的转化。Zhao 等^[62]利用蓝莓花青素提取物有效地抑制了细胞色素 P4502(CYP2E1)蛋白的表达。途径二, 降低生物体的氧化压力。茶多酚和大蒜素等活性成分可以提高 GST 的活性, 促进 AA 和 GSH 结合代谢^[63]。途径三, 抑制环氧丙酰胺对生物体内 DNA 和蛋白质分子的破坏。茶多酚、蓝莓花青素、白藜芦醇、大蒜素等植物化学物对 CYP2E1 活性也有不同程度的抑制作用, 能有效减少 GA-DNA 加合物的形成^[64,65]。

丙烯酰胺广泛存于在食品中且危害性大, 美国 FDA 于 2016 年发布的减少食品中丙烯酰胺的行业指南中, 建议食品企业采取合理措施降低食品中丙烯酰胺含量进而有效降低人群膳食摄入量^[66]; 2017 年欧盟成员国表决通过欧盟委员会的一项提案, 即运用法律手段强制生产者降低其产品丙烯酰胺的生成^[67]; 2019 年, 中国国家食品安全标准评审委员会已经对丙烯酰胺的操作规范进行立项。我国对食品中丙烯酰胺的预防和控制建议有以下几点: ①尽量避免过度烹饪食品(如温度过高或加热时间太长), 但应保证做熟, 以确保杀灭食品中的致病微生物, 避免导致食源性疾病的产生; ②提倡平衡膳食, 减少油炸和高脂肪食品的摄入, 多吃水果和蔬菜; ③食品生产加工企业应改进食品加工工艺和条件, 以减少食品中丙烯酰胺的产生。

6 结论与讨论

本研究对丙烯酰胺体内暴露生物标志物解析和风险评估的相关研究进行了综述。目前, 对丙烯酰胺体内暴露生物标志物的研究多集中于巯基尿酸、血红蛋白和 DNA 加合物。进行生物标志物研究既能为相关致病机制提供依据又能通过其实现生物监测。但丙烯酰胺代谢产物的检测尚未有标准方法, 加之缺乏更高灵敏度和选择性的分析方法, 难以制定丙烯酰胺暴露生物限值的相关标准。因此, 为了提高丙烯酰胺体内暴露风险评估的可靠性和有效性, 包括准确关联人群日常摄入量, 有效预防膳食丙烯酰胺导致的急慢性中毒等, 新型设备的研发和方法学的创新显得尤为重要。由于上述生物标志物都有一定的适用范围和局限性, 在实际研究和应用过程中, 可通过选用多种指标来去除代谢个体差异等其他干扰因素。此外, 例如丙烯酰胺的实验室研究与人群流行病学调查相结合等多学科交叉将会成为今后食品安全风险评估的一种趋势。最后, 对丙烯酰胺体内暴露毒性防护已成为近年来食品安全领域的研究热点, 利用外源植物化学物进行干预降低或去除丙烯酰胺的产生以及对人体的危害具有重要的现实意义。

参考文献

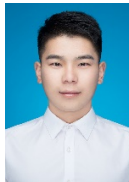
- [1] Stadler RH, Blank I, Varga N, *et al.* Acrylamide from Maillard reaction products [J]. *Nature*, 2002, (419): 449-450.
- [2] 周宇, 朱圣陶. 食品中丙烯酰胺污染的研究进展[J]. *中华预防医学杂志*, 2004, 38(5): 348-350.
Zhou Y, Zhu ST. Research progress of acrylamide contamination in food [J]. *Chin J Prev Med*, 2004, 38(5): 348-350.
- [3] Ahn JS, Castle L, Clarke DB, *et al.* Verification of the findings of acrylamide in heated foods [J]. *Food Addit Contam*, 2002, 19(12): 1116-1124.
- [4] WHO. FAO/WHO consultation on the health implications of acrylamide in food [Z]. 2002.
- [5] FAO/WHO. 64th Joint FAO/WHO expert committee on food additives[Z]. 2005.
- [6] WHO. Safety evaluation of certain contaminants in food: Seventy-second meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) [M]. World Health Organization, 2011.
- [7] Anonymous. Results on acrylamide levels in food from monitoring years 2007-2009 and exposure assessment [J]. *EFSA J*, 2011, 9(4): 2903.
- [8] Anonymous. Scientific opinion on acrylamide in food [J]. *EFSA J*, 2015, 13(6): 4104.
- [9] 周萍萍. 丙烯酰胺的膳食风险评估研究进展[J]. *食品安全导刊*, 2019, (31): 54-57.
Zhou PP. Research progress of dietary risk assessment of acrylamide [J]. *China Food Saf Magaz*, 2019, (31): 54-57.
- [10] Fennell TR, Sumner S, Snyder RW, *et al.* Metabolism and hemoglobin adduct formation of acrylamide in humans [J]. *Toxicol Sci*, 2005, 85(1): 447-459.
- [11] 杨绪廷, 李红军, 于素芳. 丙烯酰胺生物标志物的研究进展[J]. *环境*

- 与健康杂志, 2011, 28(10): 927-929.
- Yang XT, Li HJ, Yu SF. Advances in biomarkers of acrylamide [J]. *J Environ Health*, 2011, 28(10): 927-929.
- [12] 鲁静, 周催, 孙娜, 等. 丙烯酰胺生殖毒性和发育毒性效应性生物标志物研究[J]. *中国食物与营养*, 2014, 20(11): 9-13.
- Lu J, Zhou C, Sun N, *et al.* Study on biomarkers of reproductive and developmental toxicity effects of acrylamide [J]. *Chin J Food Nutr*, 2014, 20(11): 9-13.
- [13] Qu Q, Melikian AA, Li G, *et al.* Validation of biomarkers in humans exposed to benzene: Urine metabolites [J]. *Am J Ind Med*, 2000, 37(5): 522-531.
- [14] 程军. 膳食丙烯酰胺巯基尿酸加合物的同步检测及体内化学防护研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- Cheng J. Simultaneous detection of dietary acrylamide sulfhydryl uric acid admixture and study of chemical protection *in vivo* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015.
- [15] Wang Q, Chen XY, Ren YP, *et al.* Toxicokinetics and internal exposure of acrylamide: New insight into comprehensively profiling mercapturic acid metabolites as short-term biomarkers in rats and Chinese adolescents [J]. *Arch Toxicol*, 2017, 91(5): 2107-2118.
- [16] Chen M, Carmella SG, Li Y, *et al.* Resolution and quantitation of mercapturic acids derived from crotonaldehyde, methacrolein, and methyl vinyl ketone in the urine of smokers and nonsmokers [J]. *Chem Res Toxicol*, 2020, 33(2): 669-677.
- [17] Hagmar L, Tornqvist M, Nordander C, *et al.* Health effects of occupational exposure to acrylamide using hemoglobin adducts as biomarkers of internal dose [J]. *Scand J Work Environ Health*, 2001, 27(4): 219-226.
- [18] Ferrari P, Freisling H, Duell EJ, *et al.* Challenges in estimating the validity of dietary acrylamide measurements [J]. *Eur J Nutr*, 2013, 52(5): 1503-1512.
- [19] Li D, Wang P, Liu Y, *et al.* Metabolism of acrylamide: Interindividual and interspecies differences as well as the application as biomarkers [J]. *Curr Drug Metab*, 2016, 17(4): 317-326.
- [20] Chevolleau S, Jacques C, Canlet C, *et al.* Analysis of hemoglobin adducts of acrylamide and glycidamide by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry, as exposure biomarkers in French population [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1167(2): 125-134.
- [21] Huang MM, Jiao JJ, Wang J, *et al.* Associations of hemoglobin biomarker levels of acrylamide and all-cause and cardiovascular disease mortality among US adults: National health and nutrition examination Survey 2003-2006 [J]. *Environ Pollut*, 2018, (238): 852-858.
- [22] Aasa J, Abramsson-Zetterberg L, Tornqvist M. Quantification of hemoglobin adducts as a measure of exposure dose in an *in vivo* genotoxicity study implies reliability in risk assessment [J]. *Toxicol Lett*, 2016, (259): 180-181.
- [23] Costa GG, Churchwell MI, Hamilton LP, *et al.* DNA adduct formation from acrylamide via conversion to glycidamide in adult and neonatal mice [J]. *Chem Res Toxicol*, 2003, 16(10): 1328-1337.
- [24] Martins C, Oliveira NG, Pingarilho M, *et al.* Cytogenetic damage induced by acrylamide and glycidamide in mammalian cells: Correlation with specific glycidamide-DNA adducts [J]. *Toxicol Sci*, 2007, 95(2): 383-390.
- [25] Van WRT, Van DRG, Vermeulen NP, *et al.* Mercapturic acids, protein adducts, and DNA adducts as biomarkers of electrophilic chemicals [J]. *Crit Rev Toxicol*, 1992, 22(5-6): 271-306.
- [26] Hernandez-Castillo C, Termini J, Shuck S. DNA adducts as biomarkers to predict, prevent, and diagnose disease-application of analytical chemistry to clinical investigations [J]. *Chem Res Toxicol*, 2020, 33(2): 286-307.
- [27] Alekseenko AN, Zhurba OM, Merinov AV, *et al.* Determination of 1-hydroxypyrene as a biomarker for the effects of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine by chromatography-mass spectrometry [J]. *J Anal Chem*, 2020, 75(1): 84-89.
- [28] Rismanchian M, Ebrahim K, Ordudari Z. Development of a simple and rapid method for determination of trans, trans-muconic acid in human urine using PDLLME preconcentration and HPLC-UV detection [J]. *Chem Pap*, 2019, 73(10): 2485-2492.
- [29] Diaz DLML, Diaz-Barriga F, Barbier O, *et al.* Evaluation of emerging biomarkers of renal damage and exposure to aflatoxin B₁ in mexican indigenous women: A pilot study [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2019, 26(12): 12205-12216.
- [30] Yun BH, Guo J, Bellamri M, *et al.* DNA adducts: Formation, biological effects, and new biospecimens for mass spectrometric measurements in humans [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2020, 39(1-2): 55-82.
- [31] 金新文. 丙烯酰胺染毒大鼠尿液生物标志物研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨医科大学, 2011.
- Jin XW. Study on urine biomarkers in rats infected with acrylamide [D]. Harbin: Harbin Medical University, 2011.
- [32] Bloch R, Schuetze S, Mueller E, *et al.* Non-targeted mercapturic acid screening in urine using LC-MS/MS with matrix effect compensation by postcolumn infusion of internal standard (PCI-IS) [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411(29): 7771-7781.
- [33] Brisson B, Ayotte P, Normandin L, *et al.* Relation between dietary acrylamide exposure and biomarkers of internal dose in Canadian teenagers [J]. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 2014, 24(2): 215-221.
- [34] Zhang Y, Wang Q, Zhang G, *et al.* Biomarker analysis of hemoglobin adducts of acrylamide and glycidamide enantiomers for mid-term internal exposure assessment by isotope dilution ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2018, (178): 825-833.
- [35] Tang Y, Zhang J. Recent developments in DNA adduct analysis using liquid chromatography coupled with mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(1): 31-55.
- [36] Tang Y, Wang Z, Li M, *et al.* Simultaneous quantitation of 14 DNA alkylation adducts in human liver and kidney cells by UHPLC-MS/MS: Application to profiling DNA adducts of genotoxic reagents [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, (166): 387-397.
- [37] Ma B, Villalta PW, Hochalter JB, *et al.* Methyl DNA phosphate adduct formation in lung tumor tissue and adjacent normal tissue of lung cancer patients [J]. *Carcinogenesis*, 2019, 40(11): 1387-1394.
- [38] Anonymous. Outcome of the public consultation on the draft scientific opinion of the EFSA panel on contaminants in the food chain (CONTAM) on acrylamide in food [J]. *EFSA Support Publ*, 2015, 12(6): EN-817.
- [39] Mills C, Tlustos C, Evans R, *et al.* Dietary acrylamide exposure estimates for the United Kingdom and Ireland: Comparison between semi probabilistic and probabilistic exposure models [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(15): 6039-6045.
- [40] Sirot V, Hommet F, Tard A, *et al.* Dietary acrylamide exposure of the

- French population: Results of the second French total diet study [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(3-4): 889-894.
- [41] Gao J, Zhao Y, Zhu F, *et al.* Dietary exposure of acrylamide from the fifth Chinese total diet study [J]. *Food Chem Toxicol*, 2016, (87): 97-102.
- [42] Bjellaas T, Olesen PT, Frandsen H, *et al.* Comparison of estimated dietary intake of acrylamide with hemoglobin adducts of acrylamide and glycidamide [J]. *Toxicol Sci*, 2007, 98(1): 110-117.
- [43] Fuhr U, Boettcher MI, Kinzig-Schippers M, *et al.* Toxicokinetics of acrylamide in humans after ingestion of a defined dose in a test meal to improve risk assessment for acrylamide carcinogenicity [J]. *Cancer Epidemiol Biomark Prev*, 2006, 15(2): 266-271.
- [44] Swenberg JA, Fryar-Tita E, Jeong Y, *et al.* Biomarkers in toxicology and risk assessment: Informing critical dose-response relationships [J]. *Chem Res Toxicol*, 2008, 21(1): 253-265.
- [45] Ishii Y, Matsushita K, Kuroda K, *et al.* Acrylamide induces specific DNA adduct formation and gene mutations in a carcinogenic target site, the mouse lung [J]. *Metagenesis*, 2015, 30(2): 227-235.
- [46] Koszucka A, Nowak A, Nowak I, *et al.* Acrylamide in human diet, its metabolism, toxicity, inactivation and the associated European Union legal regulations in food industry [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2020, 60(10): 1677-1692.
- [47] Baum M, Fauth E, Fritzen S, *et al.* Acrylamide and glycidamide: genotoxic effects in V79-cells and human blood [J]. *Mutat Res Gen Toxicol Environ Mutagen*, 2005, 580(1-2): 61-69.
- [48] Prasad SN, Muralidhara. Evidence of acrylamide induced oxidative stress and neurotoxicity in *Drosophila melanogaster*-Its amelioration with spice active enrichment: Relevance to neuropathy [J]. *Neurotoxicology*, 2012, 33(5): 1254-1264.
- [49] Kopanska M, Muchacka R, Czech J, *et al.* Acrylamide poisoning and cholinergic nervous system [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2018, 69(6): 847-858.
- [50] Lopachin RM. The changing view of acrylamide neurotoxicity [J]. *Neurotoxicology*, 2004, 25(4): 617-630.
- [51] 王俊, 章宇. 丙烯酰胺发育毒性的研究进展[J]. *食品与营养科学*, 2019, 8(2): 128-133.
Wang J, Zhang Y. Developmental toxicity of acrylamide [J]. *Food Nutr Sci*, 2019, 8(2): 128-133.
- [52] Yu D, Xie X, Qiao B, *et al.* Gestational exposure to acrylamide inhibits mouse placental development *in vivo* [J]. *J Hazard Mater*, 2019, (367): 160-170.
- [53] Kacar S, Sahinturk V, Can B, *et al.* L-cysteine partially protects against acrylamide-induced testicular toxicity [J]. *Balkan Med J*, 2018, 35(4): 311-319.
- [54] Zamani E. A review of acrylamide toxicity and its mechanism [J]. *Pharm Biomed Res*, 2017, (3): 1.
- [55] Kumar J, Das S, Teoh SL. Dietary acrylamide and the risks of developing cancer: facts to ponder [J]. *Front Nutr*, 2018, (5): 14.
- [56] 李栋, 金成, 汤谷平, 等. 丙烯酰胺代谢机理及其体内毒性防护的研究进展[J]. *中国食品学报*, 2011, 11(4): 139-146.
- Li D, Jin C, Tang GP, *et al.* Metabolic mechanism of acrylamide and its protection against toxicity *in vivo* [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2011, 11(4): 139-146.
- [57] Dasari S, Ganjari MS, Meriga B. Glutathione s-transferase is a good biomarker in acrylamide induced neurotoxicity and genotoxicity [J]. *Interdiscipl Toxicol*, 2018, 11(2): 115-121.
- [58] IARC. Summary of data reported and evaluation: Acrylamide [Z]. 1994.
- [59] Kotemori A, Ishihara J, Zha L, *et al.* Dietary acrylamide intake and the risk of endometrial or ovarian cancers in Japanese women [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(10): 3316-3325.
- [60] Monneret C. Acrylamide alimentaire et cancer [J]. *Actual Chim*, 2016, (411): 10-12.
- [61] Sadd PA, Hamlet CG, Liang L. Effectiveness of methods for reducing acrylamide in bakery products [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(15): 6154-6161.
- [62] Zhao M, Wang P, Zhu Y, *et al.* Blueberry anthocyanins extract inhibits acrylamide-induced diverse toxicity in mice by preventing oxidative stress and cytochrome P450 2E1 activation [J]. *J Funct Food*, 2015, (14): 95-101.
- [63] Xie Q, Liu Y, Sun H, *et al.* Inhibition of acrylamide toxicity in mice by three dietary constituents [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(15): 6054-6060.
- [64] Markovic J, Stosic M, Kojic D, *et al.* Effects of acrylamide on oxidant/antioxidant parameters and CYP2E1 expression in rat pancreatic endocrine cells [J]. *Acta Histochem*, 2018, 120(2): 73-83.
- [65] Zhang Y, Ren YP, Zhang Y. New research developments on acrylamide: analytical chemistry, formation mechanism, and mitigation recipes [J]. *Chem Rev*, 2009, 109(9): 4375-4397.
- [66] FDA. FDA issues final guidance for industry on how to reduce acrylamide in certain foods [Z]. 2016.
- [67] Regulation (EU) 2017/2158 Reduction of the presence of acrylamide in food [S].

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介



汪安利, 硕士研究生, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 1833840089@qq.com



章宇, 教授, 主要研究方向为食品化学安全。

E-mail: y_zhang@zju.edu.cn