

食品中丙烯酰胺的毒理学研究现状

汤菊莉 李 宁 严卫星

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100050)

摘要: 为了解食物中丙烯酰胺对人体健康的影响,综述了食物中丙烯酰胺的来源及影响因素,人群通过食品的丙烯酰胺暴露量评估(吸烟、食品和职业暴露),丙烯酰胺生物转化和排泄以及毒性研究的现状。

关键词: 丙烯酰胺;暴露评估;毒性学

Status Quo of Toxicological Study on Acrylamide in Food

TANG Ju-li, LI Ning, YAN Wei-xing

(National Institution for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100050, China)

Abstract: To clarify the effects of acrylamide on human health, the sources of acrylamide in food and its influential factors, the assessment of human exposure (through smoking, food and occupational exposure), biotransformation, excretion and the toxicity research on acrylamide are reviewed.

Key Word: Acrylamide; Exposure Assessment; Toxicology

丙烯酰胺自上个世纪 60 年代以来,作为聚丙烯酰胺的主要原料被广泛应用于饮用水的净化及其它工业用途,职业暴露和事故暴露的资料显示其有明显的神经毒性。2002 年 4 月 24 日,瑞典国家食品局的一份资料表明,在某些油炸和烘烤食品(如炸薯条、法式油炸土豆片、谷物、面包等),以及咖啡中均发现丙烯酰胺。由于丙烯酰胺被国际癌症研究机构(IARC,1994)划分为 2A 组致癌物,并被欧盟划分为 2 类致癌物和 2 类致突变物,因此食品中的这一发现便引起了国际上的关注。本文主要就丙烯酰胺的毒理学研究进展进行综述。

1 食物中丙烯酰胺的来源及其影响因素

丙烯酰胺主要存在于经高温加热处理的富含糖类的食物中,其含量随着加热时间的延长和温度的升高而增加。但是,其形成机制并不完全清楚,可能是 Maillard 反应的副产物。Mottram 等研究报道,丙烯酰胺通过加工过程中天门冬氨酸和葡萄糖的 Maillard 反应形成,天门冬氨酸(土豆和谷类等淀粉食物中的代表性氨基酸)和还原糖可以产生丙烯酰胺^[1]。

目前关于丙烯酰胺生成途径的资料有限,根据现有的研究资料,影响丙烯酰胺形成的因素可能包括糖类、氨基酸、脂肪、高温、加热时间和食物中的水分等。

[2] U S. Food and drug administration, current good manufacturing practice in manufacturing, packing, or holding human food (Title 21 Code of Federal Regulations Part 110, 1986) [Z].

[3] U S. Food and drug administration, procedures for the safe and sanitary processing and importing of fish and fishery products (Seafood HACCP Regulation) (Title 21 Code of Federal Regulations Part 123, 1995) [Z].

[4] U S. National advisory committee on microbiological criteria for foods (NACMCF), hazard analysis and critical control

point principles and application guidelines, appendix A (Washington, DC: U S. Food and Drug Administration, 14 August 1997) [Z].

[5] U S. Food and drug administration, foods adulteration involving hard or sharp foreign objects, FDA/ORA compliance guide, chapter 5, subchapter 555, section 555. 425 (1999) [Z].

[6] GB 5749 - 1985. 生活饮用水卫生标准[S].

[收稿日期:2006 - 05 - 24]

中图分类号:R15;TS201 文献标识码:E 文章编号:1004 - 8456(2006)04 - 0346 - 05

作者简介:汤菊莉 女 硕士生



2 人群通过食品的丙烯酰胺暴露量评估(吸烟、食品和职业暴露)

食品中发现丙烯酰胺以前,吸烟一直被认为是人群暴露于丙烯酰胺的主要途径。新的研究资料表明,人类的大量食品中都含有丙烯酰胺,以法式油炸土豆片和薯条中含量最高。在某些食物中,丙烯酰胺的含量已经超过了环境污染物(如农药)的含量水平。薯条等油炸食品的丙烯酰胺暴露量占到人群暴露总量的20%。

基于已有的资料,人群平均的丙烯酰胺摄入量范围在 $0.3 \sim 0.8 \mu\text{g}/\text{kg BW d}^{-1}$,若以单位体重计算,儿童的摄入量是成人的2~3倍。JECFA评估报告指出, $1 \mu\text{g}/\text{kg BW d}^{-1}$ 的丙烯酰胺摄入量能代表目前整个人群的平均摄入量,而 $4 \mu\text{g}/\text{kg BW d}^{-1}$ 则代表了高丙烯酰胺摄入者的摄入水平,这些数据没有包括对儿童的评估^[2]。

3 丙烯酰胺的吸收、分布、生物转化和排泄

目前还没有关于丙烯酰胺在人体吸收分布研究的定量资料,但是通过对中毒和职业暴露的症状观察,表明丙烯酰胺可以经口、皮肤和呼吸道吸收,不论通过何种途径被吸收,丙烯酰胺都可迅速分布于全身各个组织。

有研究报道认为丙烯酰胺在人体内的主要代谢途径和实验动物相似。丙烯酰胺在肝脏谷胱甘肽转移酶(GST)的作用下,与谷胱甘肽结合,生成N-醋酸基-S-半胱氨酸,使丙烯酰胺极性增强,利于排泄,起到解毒作用。丙烯酰胺也可以在细胞色素氧化酶P450的催化下生成环氧丙烯酰胺,后者再通过不同途径代谢为2,3-二羟基丙酸盐等产物^[3]。通过该反应,丙烯酰胺被氧化为活性更强的代谢产物环氧丙烯酰胺,其毒性大于丙烯酰胺。在小鼠体内参与这一反应的特异性酶是P4502E1(CYP2E1)。有证据显示丙烯酰胺对细胞色素P450有诱导作用。在动物实验中,丙烯酰胺通过生物转化很快被清除,只有<2%的丙烯酰胺以原型经尿或胆汁排出,约90%以代谢物形式排出。

4 丙烯酰胺的毒性

4.1 急性毒性

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损伤的症状,如头晕、幻觉等^[4,5]。

大鼠的急性经口暴露也引起神经中毒症状^[4]。

通过对实验动物小鼠、兔、大鼠等的急性毒性实验表明,丙烯酰胺的经口半数致死量LD₅₀大约为100~150 mg/kg^[6,7]。

4.2 慢性毒性

动物慢性(长期)经口给予丙烯酰胺,可以观察到腿脚麻木、无力等神经损伤表现^[13]。而经皮肤的长期暴露则可导致人的皮肤产生红疹^[4]。

4.3 神经毒性

神经毒性是丙烯酰胺对人类的非致癌、非遗传的主要毒性。人和动物大剂量暴露于丙烯酰胺后,引起中枢神经系统的改变,而长期低水平暴露,则导致周围神经系统的病变,伴有或没有中枢神经系统的损害。由于缺乏人类神经毒性的剂量-反应资料,因此丙烯酰胺的危险性评估都基于对啮齿类动物的研究。这些研究得出丙烯酰胺神经毒性的未观察到损害作用的剂量(NOEL)为 $0.5 \text{ mg}/\text{kg BW d}^{-1}$,引起没有临床症状的轻微周围神经损害的剂量是 $2 \text{ mg}/\text{kg BW d}^{-1}$,而对生殖系统的NOEL是导致周围神经系统病变剂量的4倍^[8]。

4.4 致突变性

丙烯酰胺在标准细菌试验中是阴性,但却是体外哺乳动物细胞的直接断裂剂,能够引起小鼠骨髓细胞有丝分裂指数降低,并且诱导小鼠和大鼠骨髓细胞微核的生成。丙烯酰胺能够剂量依赖性地诱导小鼠外周血血红蛋白加合物及微核的形成,但没有观察到经丙烯酰胺处理的大鼠骨髓红细胞微核频数的增加。在中期分析、哺乳动物spot试验、小鼠转基因检测、生殖细胞试验、染色体畸变试验、程序外DNA合成试验、显性致死试验、可遗传易位试验等多种致突变试验中,丙烯酰胺均为阳性,表明丙烯酰胺对体细胞和生殖细胞有致突变性,因此,丙烯酰胺在基因和染色体水平均有潜在的引起遗传损伤的危险性^[9]。

在染色体畸变和微核试验中,当丙烯酰胺浓度在5~50 mmol/L时,染色体畸变频率与丙烯酰胺浓度成正比,在高于72.5 mg/kg的剂量下,丙烯酰胺能显著增加小鼠外周血淋巴细胞的微核数(率)。通过饮水给予Big Blue小鼠不同剂量的丙烯酰胺或克分子数相等的环氧丙烯酰胺3~4周后,测定外周血网织红细胞的微核数并进行淋巴细胞Hprt和肝细胞C致突变试验,结果发现雄性小鼠高剂量组的微核发生率比对照组(水处理)高1.7~3.3倍,丙烯酰胺和环氧丙烯酰胺均能增加Hprt的突变频率,高剂量组是对照组的2~2.5倍;突变的分子学分析表明丙烯酰胺和环氧丙烯酰胺产生相似的突变谱,而这些突变与对照有显著不同($P < 0.001$)。在肝细胞C致突变试验中的基因突变主要是G C T A的转换,表明丙烯酰胺和环氧丙烯酰胺对小鼠都有致突变作用^[10]。

在体外试验中,Ahmad Besaratinia和Gerd P. Pfeifer用人支气管上皮细胞及载入了噬菌体C

的转基因 Big Blue 小鼠的胚胎纤维细胞测定编码 P53 (Tp53) 和 C 基因的 DNA 加合物, 结果发现, 丙烯酰胺和环氧丙烯酰胺在 TP53 和 C 的相似位点形成 DNA 加合物; 在试验的所有剂量下, 经环氧丙烯酰胺处理的细胞 DNA 加合物比经丙烯酰胺处理所形成得多; 丙烯酰胺 - DNA 加合物的形成是可饱和的, 而环氧丙烯酰胺 - DNA 的形成是剂量依赖的; 环氧丙烯酰胺剂量依赖性比对照组 (水处理) 增加了 C 的突变频率; 在给予的任何剂量下, 环氧丙烯酰胺的致突变性都比丙烯酰胺强; 丙烯酰胺处理的细胞有 A → G 的转换和 G → C 的颠换, 而经环氧丙烯酰胺处理的细胞则更多地表现出 G → T 的颠换。该研究表明丙烯酰胺对人类和小鼠细胞的致突变性更依赖于其代谢产物环氧丙烯酰胺形成 DNA 加合物的能力^[11]。

此外, 还有研究提示丙烯酰胺通过过氧化氢损伤 DNA 的修复, 增加 caspase-3 的活性, 从而有致凋亡的潜在能力, 自由基可能加强这些效应, 而食物中的某些抗氧化因子能在丙烯酰胺的遗传毒性中起到保护作用, 但是由于该研究用的淋巴细胞含有 CYP2E1 和 P450, 因此不能肯定这些效应是丙烯酰胺还是环氧丙烯酰胺引起的^[12]。

一些研究结果支持丙烯酰胺通过 CYP2E1 介导生成的环氧丙烯酰胺是终致突变物。在 V79 细胞以 N-甲基-N-硝基-N-亚硝基胍 (N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG) 为阳性对照物, 用 hprt 致突变实验比较丙烯酰胺及环氧丙烯酰胺的致突变能力, 结果在 0.5 μmol/L 的水平下, MNNG 就表现出明显的致突变效应, 环氧丙烯酰胺在 800 μmol/L 的浓度下表现出浓度依赖的致突变作用, 而丙烯酰胺在 6 000 μmol/L 浓度下才表现出致突变性^[13]。为了进一步探讨 CYP2E1 在丙烯酰胺致突变性中的作用, 研究者用 CYP2E1 基因剔除的小鼠与野生型小鼠进行比较。在对生殖细胞致突变性的实验中, 研究者观察到与经丙烯酰胺处理的野生型小鼠交配的雌性小鼠, 其胚胎染色体畸变剂量依赖性的增加, 怀孕母鼠与活胎数的比例降低, 而在与 CYP2E1 基因剔除小鼠交配的雌鼠, 没有任何生殖参数的改变; 在接着进行的对体细胞致突变性的研究中, 实验者发现丙烯酰胺剂量依赖性的增加野生型小鼠红细胞微核的形成及 DNA 的损伤, 但是在 CYP2E1 基因剔除小鼠却没有观察到这一现象^[14, 15]。1-氨基苯并三唑是细胞色素 P450 的非特异性抑制剂, 能够抑制 CYP2E1 的活性, 在给予雄性小鼠丙烯酰胺前, 用 1-氨基苯并三唑预处理, 结果显示其能抑制或显著减少丙烯酰胺诱导的显性致死效应。这

些研究结果均表明丙烯酰胺的致突变性是通过其代谢产物环氧丙烯酰胺介导的。人群 CYP2E1 具有多态性, 导致其酶有不同的代谢活性, 因此对丙烯酰胺的毒性可能有不同的易感性。

4.5 致癌性 丙烯酰胺能够引起实验动物的多处肿瘤, 在两年的致癌试验中, 通过饮水给予 F334 雌雄大鼠丙烯酰胺, 结果发现肿瘤发生率在两种性别中均高于对照组。在雄性大鼠肾上腺和睾丸间皮瘤的发生率显著增高, 肾上腺嗜铬细胞瘤在高剂量组明显增高, 并可引起口腔肿瘤和星形细胞瘤。在雌性大鼠甲状腺瘤和乳腺纤维瘤的发生率增高, 并引起了肾上腺癌、口腔乳头状瘤、中枢神经系统的原发性神经胶质细胞瘤、脑和脊髓星形细胞瘤, 但没有明显的剂量-效应关系。同时该试验中的许多肿瘤与激素有密切关系, 提示丙烯酰胺有激素样作用^[16]。

分别灌胃给予 4 组 A/J 小鼠 0、6.25、12.5、25.0 mg/kg BW d⁻¹ 的丙烯酰胺, 每周 3 次, 共 8 周, 至 7 个月时宰杀, 实验者发现小鼠肺腺瘤与丙烯酰胺呈剂量相关性增加。在皮肤促癌实验中, 丙烯酰胺能够促进 TPA 引起的皮肤乳头状瘤和鳞状上皮癌。

为了调查食物中丙烯酰胺与人类肿瘤的关系, 国外流行病学专家进行了一项关于油炸食品与癌症危险性关系的病例对照研究。在该研究中, 选择口腔癌病例 749 人, 对照 1 772 人, 食管癌病例 395 人, 对照 1 066 人, 喉癌病例 527 人, 对照 1 297 人, 大肠癌病例 1 953 人 (结肠癌病例 1 225 人, 直肠癌病例 728 人), 对照 4 157 人, 乳腺癌病例 2 569 人, 对照 2 588 人, 卵巢癌病例 1 031 人, 对照 2 411 人发现油炸食品的最高及最低摄入量与癌症的 OR 值在 0.8 ~ 1.1 之间, 该研究没有表明油炸食品与人类癌症发生的危险性相关^[17]。

4.6 生殖发育毒性 大鼠、小鼠经口给予丙烯酰胺的生殖毒性试验结果表明, 丙烯酰胺对雄性生殖能力有损伤。在显性致死试验中, 发现高剂量的丙烯酰胺对雄性生殖细胞有毒性, 但是在低剂量长期暴露下的人群危险性评估并不确定。在两代繁殖试验中, 每代给予雌雄大鼠 5 mg/kg BW d⁻¹ 的丙烯酰胺 10 ~ 11 周, 结果发现大鼠的生殖能力未受影响; 小鼠喂养试验 (剂量为 9 mg/kg BW d⁻¹, 27 周), 结果发现丙烯酰胺对其生殖能力也无影响^[9]。

在一项丙烯酰胺对雄性大鼠生殖毒性效应的研究中, 分别连续 5 d 给予雄性大鼠 0、5、15、30、45 和 60 mg/kg BW d⁻¹ 的丙烯酰胺, 可以观察到丙烯酰胺的毒性作用。在最高剂量 60 mg/kg BW d⁻¹ 下, 大鼠体重下降, 睾丸和附睾重量显著下降, 附睾尾部的精子数量显著减少并呈剂量依赖关系, 生精小管有组

织病理损伤,表现为小管内皮细胞的增厚和层数的增加,多核大细胞的形成,这些研究表明丙烯酰胺对大鼠有生殖毒性^[18],但是目前尚缺乏人群资料。

5 研究展望

目前动物实验及体外实验的结果均表明丙烯酰胺有明显的神经毒性和生殖毒性,有致癌、致突变的潜在毒性。尽管JECFA根据现有的资料对其危险性进行了评估,但一方面,由于其现有资料不足,因此JECFA建议应根据正在进行的致癌实验和长期神经毒性实验的结果对丙烯酰胺进行重新评估;而且由于JECFA对丙烯酰胺的评估均基于动物试验的研究资料,大大增加了危险性评估的不确定性,而现有的人群流行病学资料又不足以对其进行评价,更没有以生物学标记物为终点的人群暴露对健康影响的研究报道,因此以生物标志物为终点的人群暴露评估及健康效应评价应是今后该领域研究的重点。此外,关于食物中丙烯酰胺的形成机制、丙烯酰胺在体内的代谢、丙烯酰胺及其代谢产物环氧丙烯酰胺的毒理学机制研究等资料亦不完善,均需进一步研究。

参考文献

- [1] Mottram D S, Wedzicha B L, Dodson A T. Food chemistry: acrylamide is formed in the maillard reaction [J]. *Nature*, 2002, 419: 448-449.
- [2] JIFSAN/NCFST. Overview of acrylamide toxicity and metabolism[Z]. 2002.
- [3] Miller M J, Carter D E, Sipes I G. Pharmacokinetics of acrylamide in fisher-334 rats[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1982, 63: 36-44.
- [4] U. S Department of Health and Human Services. Hazardous substances data bank (HSDB, online database). National Toxicology Information Program, National Library of Medicine, Bethesda, MD. 1993[Z].
- [5] M Sittig. Handbook of toxic and hazardous chemicals and carcinogens[M]. 2nd ed. Noyes Publications, Park Ridge, NJ. 1985.
- [6] McCollister D, Oyen F, Rowe V. Toxicology of acrylamide [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1964, 6: 172-181.
- [7] Hashimoto K, Sakamoto J, Tani H. Neurotoxicity of

acrylamide and related compounds and their effects on male gonads in mice[J]. *Arch Toxicol*, 1981, 47: 179-189.

- [8] Sorgel F, Weissenbacher R, Kinzig-Schippers M, et al. Acrylamide: increased concentrations in homemade food and first evidence of its variable absorption from food, variable metabolism and placental and breast milk transfer in humans [J]. *Chemotherapy*, 2002, 48: 267-274.
- [9] SIDS initial assessment profile. SIAM 12 27-29 June 2001 [Z].
- [10] Manjanatha M G, Aidoo A, Shelton S D, et al. Genotoxicity of acrylamide and its metabolite glycidamide administered in drinking water to male and female Big Blue mice[J]. *Environ Mol Mutagen*, 2005.
- [11] Ahmad Besaratinia, Gerd P, Pfeifer. Genotoxicity of acrylamide and glycidamide [J]. *Journal of the National Cancer Institute*, 2004, 96(13).
- [12] Blasiak J, Goc E, Wozniak K, et al. Genotoxicity of acrylamide in human lymphocytes[J]. *Chem Biol Interact*, 2004, 149(2-3): 137-149.
- [13] Matthias Baum, Evelyne Fauth, Silke Fritzen, et al. Acrylamide and glycidamide: genotoxic effects in V79-cells and human blood[J]. *Mutation Res*, 2005, 580: 61-69.
- [14] Ghanayem B I, Witt KL, El-Hadri L, et al. Comparison of germ cell mutagenicity in male CYP2E1-null and wild-type mice treated with acrylamide: Evidence supporting a glycidamide-mediated effect [J]. *Biology of Reproduction*, 2005, 72: 157-163.
- [15] Ghanayem B I, Witt KL, Kissing G E, et al. Absence of acrylamide-induced genotoxicity in CYP2E1-null mice: Evidence consistent with a glycidamide-mediated effect [J]. *Mutation Res*, 2005, 578: 284-297.
- [16] Friedman M A, Dulak L H, Stedham M A. A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide [J]. *Fundam. Appl Toxicol*, 1995, 27: 95-105.
- [17] Carlo la Vecchia. Fried potatoes and human cancer [J]. *Inter J Cancer*, 2003, 105: 558-560.
- [18] Hye-Jin Yang, Sang-Hyun Lee, Yong Jin, et al. Genotoxicity and toxicological effects of acrylamide on reproductive system in male rats [J]. *J Vet Sci*, 2005, 6(2): 103-109.

[收稿日期: 2006-01-16]

中图分类号: R15; TQ326.4 文献标识码: E 文章编号: 1004-8456(2006)04-0350-04