

传统肉制品中杂环胺的 HPLC 测定

廖国周¹, 张英君¹, 徐幸莲¹, 周光宏^{1*}, 陈明²

- (1. 南京农业大学教育部肉品加工与质量控制重点实验室, 江苏 南京 210095;
2. 江苏省农业科学院食品质量与安全检测研究中心, 江苏 南京 210014)

摘要: 以烤鸭、烤羊肉、烧鸡、卤牛肉和肉松 5 种传统肉制品为对象分析其杂环胺含量。样品净化前处理通过串联 Extrelut-PRS-C₁₈ 柱进行固相萃取, 经 TSK-gel ODS-80T_M 柱分离并以配备二极管阵列和荧光检测器的 HPLC 对杂环胺进行测定。结果表明, 该方法中 15 种杂环胺的线性范围为 0.01 ~ 1.00 ng · μL⁻¹, 检测限为 0.5 pg · g⁻¹ ~ 0.3 ng · g⁻¹, 回收率为 58.60% ~ 98.75%, 相对标准偏差为 1.81% ~ 8.77%。该方法线性范围广, 灵敏度和准确度较高, 净化效果好, 可满足定量分析的要求。在 5 种肉制品中检测出 6 种非极性杂环胺, 且不同的肉制品中杂环胺的种类与含量不同。9H-吡啶并 [4,3-*b*] 吲哚 (Norharman) 与 1-甲基-9H-吡啶并 [4,3-*b*] 吲哚 (Harman) 均存在于 5 种肉制品中, 含量分别为 42.75 ng · g⁻¹ 和 33.9 ng · g⁻¹。3-氨基-1-甲基-5H-吡啶并 [4,3-*b*] 吲哚 (Trp-P-2) 只存在于烤鸭与烤羊肉中, 2-氨基-1-甲基-6-苯基-咪唑并 [4,5-*b*] 吡啶 (PhIP) 在烤鸭、烤羊肉和肉松中检出, 而 2-氨基-9H-吡啶并 [2,3-*b*] 吲哚 (AaC) 和 2-氨基-3-甲基-9H-吡啶并 [2,3-*b*] 吲哚 (MeAaC) 只存在于肉松中, 其含量均小于 2 ng · g⁻¹。

关键词: 杂环胺; 传统肉制品; 固相萃取; 高效液相色谱

中图分类号: TS207.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2030 (2008) 04-0134-06

Detection of heterocyclic aromatic amines in traditional meat products by HPLC

LIAO Guo-zhou¹, ZHANG Ying-jun¹, XU Xing-lian¹, ZHOU Guang-hong^{1*}, CHEN Ming²

- (1. Key Laboratory of Meat Processing and Quality Control, Ministry of Education, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. Food Safety Research and Service Center, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Heterocyclic aromatic amine (HAA) content was investigated in five traditional meat products (including roasted duck, charbroiled mutton, dried pork floss, marinated beef, and roasted chicken). The clean-up procedure included tandem solid-phase extraction (SPE) using Extrelut-type columns filled with diatomaceous earth, propylsulphonic acid and chemically bound phase-C₁₈. Separation was achieved using TSK-gel ODS-80T_M column and identification, and a quantitative analysis of HAA fraction was carried out using a HPLC system with DAD and FLD. Results showed that the linear ranges were 0.01 ~ 1.00 ng · μL⁻¹ and the limit of detection were 0.5 pg · g⁻¹ ~ 0.3 ng · g⁻¹ for 15 HAA. Recoveries were 58.60% ~ 98.75%, and the relative standard deviation, 1.81% ~ 8.77%. Six less-polar HAA were detected in the traditional meat products, and the variety and content of HAA differentiated among the meat products. 9H-pyrido [4,3-*b*] indole (Norharman) and 1-methyl-9H-pyrido [4,3-*b*] indole (Harman) were detected in all of the five meat products, and the content of Norharman and Harman was up to 42.75 ng · g⁻¹, 33.9 ng · g⁻¹ respectively. 3-amino-1-methyl-5H-pyrido [4,3-*b*] indole (Trp-P-2) was only detected in roasted duck and charbroiled mutton. 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-*b*] pyridine (PhIP) was detected in roasted duck, charbroiled mutton and dried pork floss. However, 2-amino-9H-pyrido [2,3-*b*] indole (AaC) and 2-amino-3-methyl-9H-pyrido [2,3-*b*] indole (MeAaC) were only detected in dried pork floss. The content of PhIP, AaC and MeAaC was less than 2 ng · g⁻¹.

Key words: heterocyclic aromatic amine; traditional meat products; solid-phase extraction; HPLC

杂环胺化合物 (heterocyclic aromatic amine, HAA) 是由碳、氢及氮原子组成, 具有多环芳香族结构的化合物。最早被发现于经烧烤或油炸处理过的鱼及肉制品中, 随后 20 多种 HAA 陆续被发现于经热处理过的高蛋白质食品中^[1]。食品中 HAA 的生成量主要取决于食品种类、加工方式、加热温度及时

收稿日期: 2007-12-13

基金项目: 江苏省自然科学基金项目 (BK2005213)

作者简介: 廖国周, 博士研究生。* 通讯作者: 周光宏, 教授, 从事畜产品加工与质量控制研究, E-mail: ghzhou@njau.edu.cn。

间, 其中又以加热温度和时间为最重要的影响因素, 加热温度越高, 时间越长, 生成的 HAA 越多^[2-4]。

HAA 虽然在加工肉制品中含量只有 $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 水平, 但其作为强烈的致突变物对人类癌症的成因有重要影响^[5]。国际癌症研究中心 (IARC) 将 2-氨基-3-甲基咪唑并 [4,5-*f*] 喹啉 (IQ) 归类为可疑致癌物 (2A 级), 而 2-氨基-3,4-二甲基咪唑并 [4,5-*f*] 喹啉 (MeIQ)、2-氨基-3,8-二甲基咪唑并 [4,5-*f*] 喹啉 (MeIQx)、2-氨基-1-甲基-6-苯基-咪唑并 [4,5-*b*] 吡啶 (PhIP)、3-氨基-1,4-二甲基-5*H*-吡啶并 [4,3-*b*] 吡啶 (Trp-P-1)、3-氨基-1-甲基-5*H*-吡啶并 [4,3-*b*] 吡啶 (Trp-P-2) 等为潜在致癌物 (2B 级)^[6]。

国外已从 HAA 在不同食品中的形成、暴露水平、生物利用效率、生物转移和致癌性等方面展开了研究^[7-10]。韩弛等^[11]研究发现, 烧烤类肉制品存在明显致突变性。然而, 国内至今尚未见有关对加工肉制品中杂环胺含量进行测定的研究报道。本研究旨在通过固相萃取-HPLC 方法测定国内传统肉制品中杂环胺的含量, 为进一步评价传统肉制品的安全性提供基本依据。

1 材料与amp;方法

1.1 试验样品

供试传统肉制品烤鸭、烧鸡、烤羊肉、肉松、卤牛肉均购于南京当地市场。样品采集后于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮存待用。

1.2 主要仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪, 配置四元泵、真空在线脱气机、自动进样器、二极管阵列检测器 (DAD) 和荧光检测器 (FLD)、Agilent 化学工作站 (美国 Agilent 公司); 色谱柱: TSK-gel ODS-80T_M (25 mm × 4.6 mm, 5 μm) (日本 TOSOH 公司); 保护柱: Supelguard LC-18-DB (美国 Supelco 公司); Supelco 固相萃取和干燥装置; 高速匀浆机; pH 计。

1.3 试剂和材料

16 种杂环胺标准品 (含 1 种内标物): IQ; MeIQ; 2-氨基-3-甲基咪唑并 [4,5-*f*] 喹啉 (IQx); MeIQx; 2-氨基-3,4,8-三甲基咪唑并 [4,5-*f*] 喹啉 (4,8-DiMeIQx); 2-氨基-3,7,8-三甲基咪唑并 [4,5-*f*] 喹啉 (7,8-DiMeIQx); PhIP; 9*H*-吡啶并 [4,3-*b*] 吡啶 (Norharman); 1-甲基-9*H*-吡啶并 [4,3-*b*] 吡啶 (Harman); Trp-P-1; Trp-P-2; 2-氨基-6-甲基-二吡啶并 [1,2-*a*: 3',2'-*d*] 咪唑 (Glu-P-1); 2-氨基-二吡啶并 [1,2-*a*: 3',2'-*d*] 咪唑 (Glu-P-2); 2-氨基-9*H*-吡啶并 [2,3-*b*] 吡啶 (AaC); 2-氨基-3-甲基-9*H*-吡啶并 [2,3-*b*] 吡啶 (MeAaC); 内标物: 2-氨基-3,4,7,8-四甲基咪唑并 [4,5-*f*] 喹啉 (4,7,8-TriMeIQx), 均购于 Toronto Research Chemicals (Toronto, 加拿大)。甲醇、乙腈、三乙胺为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。Extrelut-20NT 液液萃取柱及其填充硅藻土购于 Merck 公司。Bond Elut 丙基磺酸 (PRS) 小柱 (500 mg/3 mL), Bond Elut C₁₈ 固相萃取小柱 (500 mg/3 mL 及 100 mg/1 mL) 和 COCK 阀购于 Varian 公司。柱转接头购于 Supelco 公司。

1.4 测定方法

1.4.1 样品前处理 杂环胺的提取和纯化根据 Gross 等^[12] 的固相萃取方法并稍作修改。4 g 肉样与 12 mL $1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 混合, 冰浴中均质 3 min, 匀浆物与 Extrelut 硅藻土充分混合并填充入 Extrelut-20NT 空柱中, 柱头接上 COCK 阀。将预先用 4 mL 含 5% (体积分数) 甲苯的二氯甲烷活化的 Bond Elut PRS 柱, 通过柱转接头与 Extrelut-20NT 柱连接。以 60 mL 含 5% (体积分数) 甲苯的二氯甲烷将杂环胺从 Extrelut-20NT 柱中洗脱到 PRS 柱中, 待洗脱液完全通过 PRS 柱后, 将 PRS 柱置于固相萃取装置上以最大负压抽吸至少 4 min, 然后以流速为 $1\sim 2\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的 6 mL $0.1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液进行活化以增加杂环胺的吸附力, 再以 15 mL 甲醇与 $0.1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸混合溶液 (体积比为 6:4) 和 2 mL 水进行洗脱, 这 3 部分冲洗液包含非极性杂环胺 (Glu-P-2, Glu-P-1, Norharman, Harman, Trp-P-1, PhIP, Trp-P-2, AaC, MeAaC), 将其收集于 Extrelut-20NT 空柱中用于进一步萃取。极性杂环胺 (IQ, MeIQ, IQx, MeIQx, 4,8-DiMeIQx, 7,8-DiMeIQx) 仍保留在 PRS 柱中。

由 PRS 柱中溶离出的非极性杂环胺提取液用 0.5 mL 浓氨水中和, 并用 30~40 mL 水稀释至甲醇含量少于 20%。混合液再以 $4\sim 5\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速通过预先用 2 mL 甲醇和 10 mL 水活化的 500 mg C₁₈

柱, 此时非极性杂环胺吸附在 C_{18} 表面, 用 2 mL 水冲洗去除杂质, 并用氮气将柱吹干后, 非极性杂环胺用 1.4 mL 甲醇与氨水混合溶液 (体积比为 9:1) 洗脱至样品瓶中。

PRS 柱溶离出非极性杂环胺后以 20 mL $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵溶液 (pH 8.0) 洗脱极性杂环胺。洗脱液注入预先用 1 mL 甲醇和 10 mL 水活化的 100 mg C_{18} 柱中。此 C_{18} 柱用 2 mL 水冲洗去除杂质, 并用氮气将柱吹干, 极性杂环胺用 0.8 mL 甲醇与氨水混合溶液 (体积比为 9:1) 洗脱至样品瓶中。

最后将极性与非极性杂环胺萃取液在 $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 经氮气吹干, 再溶于 $50 \text{ }\mu\text{L}$ 甲醇溶液中 (包含 $1 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 内标物 4,7,8-TriMeIQx), 待 HPLC 分析。

1.4.2 色谱条件 采用三元流动相体系: A 为乙腈, B 为 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 三乙胺 (磷酸调至 pH 3.6), C 为 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 三乙胺 (pH 3.2), 其梯度洗脱程序见表 1。极性杂环胺通过 DAD 检测器在 258 nm 和 263 nm 处检测, 其他杂环胺可通过对荧光检测器编程来检测, 激发/发射波长 (nm) (时间 (min)) 设定为: Glu-P-2 和 Glu-P-1, 360/450 (0~20); Norharman 和 Harman, 300/440 (20~23); Trp-P-2 和 Trp-P-1, 265/410 (23~24 和 26~28); PhIP, 315/390 (24~25); AaC 和 MeAaC, 335/410 (30~35)。流速为 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量为 $20 \text{ }\mu\text{L}$, 柱温为室温。

1.4.3 标准曲线 5 mg 各种杂环胺标准品分别溶于甲醇中, 并定容至 10 mL , 得 $500 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 各种杂环胺的标准储备液。分别取各种杂环胺的标准储备液 1 mL 用甲醇定容至 50 mL , 得 $10 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合标准工作液, 并稀释至 1.00、0.50、0.10、0.05 和 $0.01 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, 以建立标准曲线。

1.4.4 回收率、精密度和检测限 准确称取相同肉样 4 份, 每份 4 g , 其中 3 份分别加入质量浓度为 $1 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 的 15 种杂环胺混合标准液 40、100 和 $200 \text{ }\mu\text{L}$, 添加水平分别为 10、25 和 $50 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, 另 1 份不加, 然后再进行前处理及高效液相色谱分析 ($n=6$), 计算回收率和精密度。根据国际纯粹与应用化学联合会 (IUPAC) 的定义, 本法的检测限定义为产生相应于 3 倍背景噪音的标准偏差分析信号的浓度值。

2 结果与讨论

2.1 方法的回收率、精密度和检测限

以标准样品浓度为 X , 以 HPLC 测得相应的峰面积为 Y 绘制标准曲线, 各标准曲线的相关系数均大于 0.99。结果表明, 各组分在 $0.01 \sim 1.00 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 范围内线性良好, 可以满足定量分析的需要。根据定义得出 15 种杂环胺的检出限分别为: Glu-P-2, $8 \text{ pg} \cdot \text{g}^{-1}$; IQ, $0.2 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$; IQx, $0.2 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$; MeIQ, $0.2 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$; Glu-P-1, $8 \text{ pg} \cdot \text{g}^{-1}$; MeIQx, $0.2 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$; 7,8-DiMeIQx, $0.3 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$; 4,8-DiMeIQx, $0.3 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$; Norharman, $4 \text{ pg} \cdot \text{g}^{-1}$; Harman, $3 \text{ pg} \cdot \text{g}^{-1}$; Trp-P-2, $0.5 \text{ pg} \cdot \text{g}^{-1}$; PhIP, $8 \text{ pg} \cdot \text{g}^{-1}$; Trp-P-1, $0.5 \text{ pg} \cdot \text{g}^{-1}$; AaC, $4 \text{ pg} \cdot \text{g}^{-1}$; MeAaC, $4 \text{ pg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

按回收率方法项操作, 得到肉样中添加低、中、高 3 个浓度水平杂环胺混合标准液的回收率和精密度 (表 2)。结果表明, 各浓度水平的加标回收率和精密度均能达到检测要求, 说明本方法具有较高的准确性和可靠性。这与其他研究报道相符^[13-14]。Toribio 等^[15]研究表明, 基于复杂的肉品基质和几个分离步骤, 各种杂环胺的回收率在 5%~98%。本研究中, 与其他杂环胺相比, PhIP 的回收率相对较低。PhIP 的保留主要依赖于 PRS 柱平衡时盐酸的浓度, 采用含 5% (体积分数) 甲苯的二氯甲烷进行洗脱, 并以 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸平衡 PRS 柱均有提高 PhIP 回收率的作用。同时 PRS 柱对非极性杂环胺的选择性吸附主要依赖于甲醇与盐酸洗脱液的比例, 试验中甲醇与盐酸的比例 (体积比) 从 Gross 等^[12] 采用的 4:6, 提高到 6:4, 可以将所有产生荧光的杂环胺收集在一起, 便于采用灵敏度高的荧光检测器进行检测。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program

t/min	流动相/% Mobile phases		
	A	B	C
0	5	0	95
10.0	15	0	85
10.1	15	85	0
20.0	25	75	0
30.0	55	45	0
35.0	80	20	0

注: A. 乙腈 Acetonitrile; B. $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 三乙胺 (pH 3.6) $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Triethylamine (pH 3.6); C. $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 三乙胺 (pH 3.2) $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Triethylamine (pH 3.2)

表2 方法的回收率和精密度 ($n=6$)
Table 2 Recoveries and precision of method

化合物 Compounds	添加水平/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ Spiked levels					
	10		25		50	
	回收率/% Recovery	相对标准偏差/% Relative standard deviation	回收率/% Recovery	相对标准偏差/% Relative standard deviation	回收率/% Recovery	相对标准偏差/% Relative standard deviation
Glu-P-2	70.68	1.96	73.82	4.57	75.98	3.66
IQ	93.77	3.41	97.94	2.91	98.75	2.32
IQx	91.49	2.43	94.11	3.25	92.12	2.93
MeIQ	94.46	3.82	95.03	4.34	90.32	3.87
Glu-P-1	85.00	5.02	82.90	6.11	87.17	6.23
MeIQx	84.15	2.92	82.39	3.42	79.79	4.21
7,8-DiMeIQx	83.85	2.17	84.86	3.53	87.31	3.02
4,8-DiMeIQx	84.41	4.78	88.35	5.72	93.18	3.53
Norharman	74.68	4.55	79.68	5.56	76.54	4.38
Harman	79.22	5.25	80.44	4.95	81.91	6.39
Trp-P-2	73.65	2.51	71.24	3.12	75.89	1.81
PhIP	58.60	6.04	61.76	4.49	63.08	6.61
Trp-P-1	70.07	6.18	73.01	7.26	75.14	5.60
AaC	75.99	7.46	74.06	5.93	77.08	5.29
MeAaC	78.75	8.77	75.74	7.36	80.50	7.94

注: Glu-P-2: 2-氨基-2-吡啶并 [1,2-a; 3',2'-d] 咪唑 2-amino-dipyrido [1,2-a;3',2'-d] imidazole; IQ: 2-氨基-3-甲基咪唑并 [4,5-f] 喹啉 2-amino-3-methylimidazo [4,5-f] quinoline; IQx: 2-氨基-3-甲基咪唑并 [4,5-f] 喹啉 2-amino-3-methylimidazo [4,5-f] quinoxaline; MeIQ: 2-氨基-3,4-二甲基咪唑并 [4,5-f] 喹啉 2-amino-3,4-dimethylimidazo [4,5-f] quinoline; Glu-P-1: 2-氨基-6-甲基-2-吡啶并 [1,2-a; 3',2'-d] 咪唑 2-amino-6-methyldipyrido [1,2-a;3',2'-d] imidazole; MeIQx: 2-氨基-3,8-二甲基咪唑并 [4,5-f] 喹啉 2-amino-3,8-dimethylimidazo [4,5-f] quinoxaline; 7,8-DiMeIQx: 2-氨基-3,7,8-三甲咪唑并 [4,5-f] 喹啉 2-amino-3,7,8-trimethylimidazo [4,5-f] quinoxaline; 4,8-DiMeIQx: 2-氨基-3,4,8-三甲咪唑并 [4,5-f] 喹啉 2-amino-3,4,8-trimethylimidazo [4,5-f] quinoxaline; Norharman: 9H-吡啶并 [4,3-b] 吲哚 9H-pyrido [4,3-b] indole; Harman: 1-甲基-9H-吡啶并 [4,3-b] 吲哚 1-methyl-9H-pyrido [4,3-b] indole; Trp-P-2: 3-氨基-1-甲基-5H-吡啶并 [4,3-b] 吲哚 3-amino-1-methyl-5H-pyrido [4,3-b] indole; PhIP: 2-氨基-1-甲基-6-苯基-咪唑并 [4,5-b] 吡啶 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine; Trp-P-1: 3-氨基-1,4-二甲基-5H-吡啶并 [4,3-b] 吲哚 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido [4,3-b] indole; AaC: 2-氨基-9H-吡啶并 [2,3-b] 吲哚 2-amino-9H-pyrido [2,3-b] indole; MeAaC: 2-氨基-3-甲基-9H-吡啶并 [2,3-b] 吲哚 2-amino-3-methyl-9H-pyrido [2,3-b] indole. The same as follows.

2.2 传统肉制品检测

由表3可知,在5种传统肉制品中并未检测出IQ型杂环胺,即极性杂环胺,只发现6种非极性杂环胺(其化学结构如图1)。非极性杂环胺在各种传统肉制品中含量并不一致,Norharman和Harman在5种传统肉制品中被检出,且其含量很高。在烤鸭中,检测出4种杂环胺,含量为 $0.19 \sim 7.24 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$,其中烤鸭肉未检出Trp-P-2与PhIP,且烤鸭皮中杂环胺含量比烤鸭肉中要高。烧鸡皮中杂环胺含量要比烧鸡肉中高,且只检出Norharman与Harman 2种杂环胺。烤羊肉中检出4种杂环胺,含量为 $0.06 \sim 1.21 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 。在肉松中检测到5种杂环胺,分别为Norharman、Harman、PhIP、AaC、MeAaC,其含量为 $0.49 \sim 42.75 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 。卤牛肉只检出Norharman与Harman 2种杂环胺,含量高达 $34 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

表3 传统肉制品中杂环胺含量 ($n=6$)

Table 3 Content of heterocyclic aromatic amine (HAA) in traditional meat products

肉制品 Meat products		杂环胺种类 Type of HAA					
		Norharman	Harman	Trp-P-2	PhIP	AaC	MeAaC
烤鸭 Roasted duck	皮肤 Skin	7.24 ± 1.73	6.12 ± 1.29	0.19 ± 0.07	1.49 ± 1.19	—	—
	肌肉 Meat	1.28 ± 0.59	0.85 ± 0.31	—	—	—	—
烧鸡 Roasted chicken	皮肤 Skin	4.24 ± 1.44	4.45 ± 1.39	—	—	—	—
	肌肉 Meat	2.38 ± 0.28	1.95 ± 0.15	—	—	—	—
烤羊肉 Charbroiled mutton		1.15 ± 0.33	1.21 ± 0.53	0.06 ± 0.05	0.75 ± 0.16	—	—
肉松 Dried pork floss		42.75 ± 5.49	11.70 ± 2.76	—	1.06 ± 0.22	1.97 ± 0.50	0.49 ± 0.15
卤牛肉 Marinated beef		29.16 ± 3.86	33.90 ± 1.37	—	—	—	—

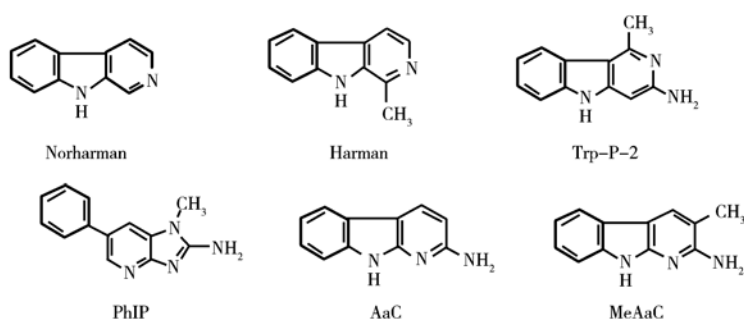


图 1 传统肉制品中检测的杂环胺的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of HAA detected in traditional meat products

图 2 和图 3 为烤羊肉中杂环胺的紫外与荧光检测色谱图。由图 2-A 和图 3-A 可知，本检测方法能有效地分离鉴定 15 种杂环胺，且各组分峰尖锐、峰形对称。图 2-B 显示，除内标峰外烤羊肉样品中并未检出其他极性杂环胺。从图 3-B 可见，在与加标样品相同的保留时间里只出现 4 个峰，分别为 Norharman、Harman、Trp-P-2 和 PhIP。

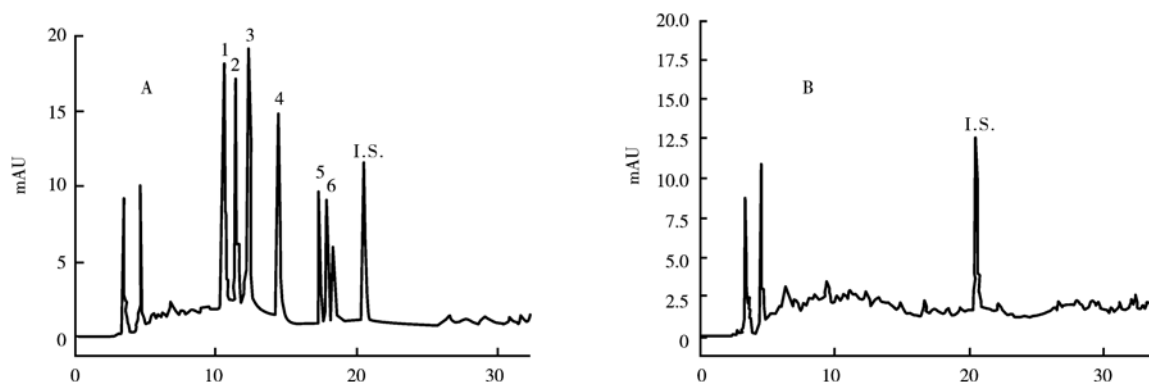


图 2 烤羊肉加标样品 (A) 和样品 (B) 的紫外检测色谱图 (极性部分)

Fig. 2 HPLC chromatogram of UV detection of polar HAA extract from charbroiled mutton spiked with HAA standards (A) and charbroiled mutton only (B) (polar sections)

1. IQ; 2. IQx; 3. MeIQ; 4. MeIQx; 5. 7,8-DiMeIQx; 6. 4,8-DiMeIQx; I.S.: Internal standard (4,7,8-TriMeIQx)

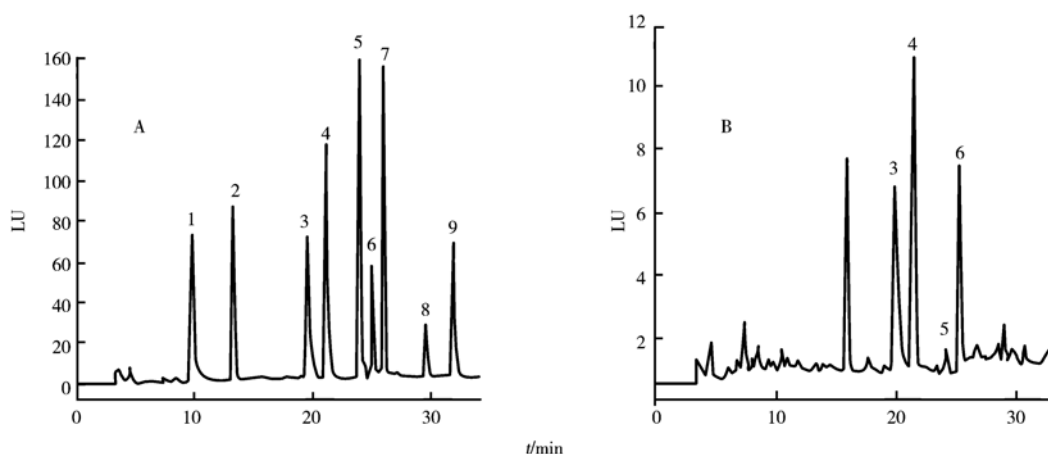


图 3 烤羊肉加标样品 (A) 和样品 (B) 的荧光检测色谱图 (非极性部分)

Fig. 3 HPLC chromatogram of fluorescence detection of less-polar HAA extract from charbroiled mutton spiked with HAA standards (A) and charbroiled mutton only (B) (less-polar sections)

1. Glu-P-2; 2. Glu-P-1; 3. Norharman; 4. Harman; 5. Trp-P-2; 6. PhIP; 7. Trp-P-1; 8. AaC; 9. MeAaC

对不同加工肉制品中这些致突变物的数量进行定量是非常必要的。Wu 等^[16]从烤羊肉中检测出 Trp-P-1、Glu-P-2、PhIP、AaC 和 Harman，其含量为 1.3 ~ 23 ng · g⁻¹，其中 Glu-P-2 为 23 ng · g⁻¹。Solyakov 等^[13]研究表明，烧鸡中存在 Norharman、Harman、PhIP、4,8-DiMeIQx 和 MeIQx，其中杂环胺含量鸡皮比鸡肉中高，含量为 0.2 ~ 12.9 ng · g⁻¹，这与本试验结果一致。因烤鸭与烧鸡在加工

过程中皮肤直接暴露于热源, 而皮肤作为肌肉的隔热层所以其中杂环胺含量较高。Sinha 等^[17]发现煎炸牛肉中存在较多的 MeIQx 和 PhIP, 含量为 $8.2 \sim 30 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

在杂环胺的形成条件中, 加工方式、加工温度和时间是最重要的影响因素。在国外的烹调方式中, 较常用的是煎烤, 在这种加工方式中肉品直接与热源接触, 因此产生较多的 IQ 型杂环胺^[17]。而我国常用卤煮、烘烤等加工方式, 温度较低且不直接接触热源, 因而主要产生非极性杂环胺。韩弛等^[11]对我国传统肉制品进行致突变性研究时就曾提出, 传统肉制品中存在的致突变物可能为氨基酸的热解产物, 但作者并未对其进行分离检测。本研究采用固相萃取-HPLC 方法, 首次对我国 5 种传统肉制品中杂环胺含量进行检测, 结果表明, 在 5 种肉制品中只检出非极性杂环胺, 且 Norharman 和 Harman 广泛存在于 5 种肉制品中, 因此难以完全避免对其的膳食摄入。该结果有助于评价传统肉制品的安全性, 并为进一步研究加工方式与癌症危害关系提供基本依据。

参考文献:

- [1] Skog K I, Johansson M A E, Jägerstad M I. Carcinogenic heterocyclic amines in model systems and cooked foods: a review on formation, occurrence and intake [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1998, 36: 879-896
- [2] Knize M G, Andresen B D, Healy S K, et al. Effects of temperature, patty thickness and fat content on the production of mutagens in fried ground beef [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1985, 23: 1035-1040
- [3] Knize M G, Dolbear F A, Carroll K L, et al. Effect of cooking time and temperature on the heterocyclic amine content of fried beef patties [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1994, 32: 595-603
- [4] Skog K, Augustsson K, Steineck G, et al. Polar and non-polar heterocyclic amines in cooked fish and meat products and their corresponding pan residues [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1997, 35: 555-565
- [5] Knize M G, Felton J S. Formation and human risk of carcinogenic heterocyclic amines from natural precursors in meat [J]. *Nutrition Reviews*, 2005, 63: 158-165
- [6] IARC. Some naturally occurring substances; food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins [R] //IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. No. 56. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1993
- [7] Augustsson K, Skog K, Jägerstad M, et al. Assessment of the human exposure to heterocyclic amines [J]. *Carcinogenesis*, 1997, 18: 1931-1935
- [8] Johansson M A E, Jägerstad M. Occurrence of mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in meat and fish products, including pan residues, prepared under domestic conditions [J]. *Carcinogenesis*, 1994, 15: 1511-1518
- [9] Ushiyama H, Wakabayashi K, Hirose M, et al. Presence of carcinogenic heterocyclic amines in urine of healthy volunteers eating normal diet, but not in patients receiving parenteral alimentation [J]. *Carcinogenesis*, 1991, 12: 1417-1422
- [10] Keating G A, Layton D W, Felton J S. Factors determining dietary intakes of heterocyclic amines in cooked foods [J]. *Mutation Research*, 1999, 443: 149-156
- [11] 韩弛, 徐勇, 施瑞丽, 等. 中国传统加工食品致突变性的研究 [J]. *癌变·畸变·突变*, 1991, 3(1): 8-12
- [12] Gross G A, Grüter A. Quantitation of mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in food products [J]. *Journal of Chromatography*, 1992, 592: 271-278
- [13] Solyakov A, Skog K. Screening for heterocyclic amines in chicken cooked in various ways [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2002, 40: 1205-1211
- [14] Salmon C P, Knize M G, Felton J S. Effect of marinating on heterocyclic amine carcinogen formation in grilled chicken [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1997, 35: 433-441
- [15] Toribio F, Galceran M T, Puignou L. Separation of heteroaromatic amines in food products [J]. *Journal of Chromatography B*, 2000, 747: 171-202
- [16] Wu J, Lee H K, Wong M K, et al. Determination of carcinogenic heterocyclic amines in satay by liquid chromatography [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 1997, 44: 405-412
- [17] Sinha R, Rothman N, Salmon C P, et al. Heterocyclic amine content in beef cooked by different methods to varying degrees of doneness and gravy made from meat drippings [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1998, 36: 279-287

责任编辑: 沈 波