

# 驴排、牛排和猪排中杂环胺的差异性分析

李兰杰<sup>1</sup>, 魏子翔<sup>2</sup>, 张静静<sup>2</sup>, 王庆鹏<sup>2</sup>, 孙佳鹏<sup>1</sup>, 李元鑫<sup>1</sup>, 邢静亚<sup>1</sup>, 刘桂芹<sup>1</sup>

(1. 聊城大学农学院, 山东聊城 252000) (2. 聊城大学生物制药研究院, 山东聊城 252000)

**摘要:** 为探求相同煎炸方式下驴排、牛排和猪排在杂环胺(HAs)生成方面的差异性, 通过基质固相分散-固相萃取技术对样本中HAs进行了分离、富集, 利用高效液相色谱-质谱法(HPLC-MS/MS)对样本中HAs进行了定性分析, 并通过高效液相色谱法对样本中IQ、Norharman、Harman、AaC、MeIQx、DMIP和PhIP等7种HAs进行了含量测定。结果表明, 在相同煎炸方式(200℃, 15 min)下, 驴排、牛排和猪排中HAs具有明显差异性。其中, 驴排、牛排主要是以热反应型HAs(IQ、MeIQx、DMIP、PhIP)为主, 猪排主要是以热解型HAs(Norharman、Harman、AaC)为主。猪排和牛排中热反应型HAs含量(1.74 mg/g, 1.73 mg/g)高于驴排(1.02 mg/g), 差异性显著( $p < 0.05$ ), 而热解型HAs, 猪排中最高(2.14 mg/g), 牛排次之(1.07 mg/g), 驴排最低(0.58 mg/g)。综上所述, 通过揭示相同煎炸条件下驴排、牛排、猪排中HAs生成方面的差异性, 可以为驴排加工过程中的食品安全研究提供参考。

**关键词:** 驴排; 煎炸; 杂环胺; 高效液相色谱

文章编号: 1673-9078(2020)10-300-307

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.10.0376

## Differential Analysis of Heterocyclic Amines in Donkey Steak, Beef Steak and Pork Steak

LI Lan-jie<sup>1</sup>, WEI Zi-xiang<sup>2</sup>, ZHANG Jing-jing<sup>2</sup>, WANG Qing-peng<sup>2</sup>, SUN Jia-peng<sup>1</sup>, LI Yuan-xin<sup>1</sup>, XING Jing-ya<sup>1</sup>, LIU Gui-qin<sup>1</sup>

(1. College of Agronomy, Liaocheng University, Liaocheng 252000, China)

(2. Institute of BioPharmaceutical Research, Liaocheng University, Liaocheng 252000, China)

**Abstract:** The matrix solid phase dispersion (MSPD)-solid phase microextraction (SPE) techniques were used to separate and enrich the HAs from the samples, in order to explore the differences in formation of heterocyclic amines (HAs) among donkey steak, beef steak and pork steak under the same pan-frying conditions. High performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS/MS) was used to analyze qualitatively the HAs in the samples, and quantify the contents of seven HAs (IQ, Norharman, Harman, AaC, MeIQx, DMIP and PhIP). The results showed that the HAs in donkey steak, beef steak and pork steak were significantly different under the same pan-frying method (200℃, 15 min). Donkey steak and beef steak contained mainly thermal reactive HAs (IQ, MeIQx, DMIP and PhIP), while pork steak had mainly pyrolytic HAs (Norharman, Harman and AaC). The contents of thermal reactive HAs in pork steak and beef steak (1.74 mg/g and 1.73 mg/g, respectively) were significantly ( $p < 0.05$ ) higher than that in donkey steaks (1.02 mg/g), whereas, the pyrolytic HAs decreased in the order of pork steak (2.14 mg/g), beef steak (1.07 mg/g), and donkey steak (0.58 mg/g). In summary, this study provides a reference for food safety research in the processing of donkey steak, through disclosing the differences in the formation of HAs in donkey steak, beef steak and pork steak under the same pan-frying conditions.

**Key words:** donkey steak; pan-frying; heterocyclic amines; high performance liquid chromatography

引文格式:

李兰杰, 魏子翔, 张静静, 等. 驴排、牛排和猪排中杂环胺的差异性分析[J]. 现代食品科技, 2020, 36(10): 300-307

LI Lan-jie, WEI Zi-xiang, ZHANG Jing-jing, et al. Differential analysis of heterocyclic amines in donkey steak, beef steak and pork steak [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(10): 300-307

收稿日期: 2020-04-24

基金项目: 山东省现代农业产业技术体系驴产业创新团队项目(SDAIT-27); 山东省抗体制药协同创新中心开放课题(CIC-AD1843); 聊城大学博士基金(318051636)

作者简介: 李兰杰(1988-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品加工及贮藏工程

通讯作者: 刘桂芹(1975-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品加工及贮藏

杂环胺 (Heterocyclic Amines, HAs) 是由蛋白质、氨基酸热解反应或氨基酸、糖和肌酸之间美拉德反应产生的一类具有致突变性、致癌性的化合物, 对人体健康有严重的危害<sup>[1-3]</sup>。2007 年, 世界癌症研究基金会和美国癌症研究所 (WCRF/AICR) 第二份专家报告得出结论, 认为有足够的证据表明红肉及其加工肉类是结直肠癌的元凶, 其中 HAs、亚硝酸盐为其主要诱导因子<sup>[4]</sup>。

HAs 在蛋白质含量丰富的畜、禽肉类食品的高温烹调尤其是煎炸过程中极易产生。为此, 国内外研究学者对牛、羊、猪、鸡、鱼等畜禽水产肉产品在煎炸加工过程中 HAs 生成规律、影响因素、抑制方式和以及检测方法等方面进行了深入研究。Monika G 等<sup>[5]</sup>以培根肉为研究对象, 考察了不同煎炸条件 (温度、时间) 对培根中 HAs 的形成规律及感官品质的影响; 研究表明, 2-氨基-3,8-二甲基咪唑并[4,5-f]喹喔啉 (1.50~5.60 ng/g, MeIQx) 和 2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑[4,5-b]吡啶 (0.10~2.60 ng/g, PhIP) 在培根肉中被检出, 随着温度及煎炸时间的增加, 培根中 MeIQx 和 PhIP 浓度相应增加。Wang Y 等<sup>[6]</sup>以草鱼为研究对象, 考察了不同煎炸条件 (温度、时间、次数) 对草鱼中 HAs 和反式脂肪酸 (TFAs) 形成的影响; 研究表明, 9H-吡啶并[3,4-b]吡啶 (Norharman)、1-甲基-9H-吡啶并[3,4-b]吡啶 (Harman)、2-氨基-3,7,8-三甲基咪唑并[4,5-f]喹喔啉 (7,8-DiMeIQx) 等在鱼肉煎炸过程中均被检出, 在 150~210 °C 时, 草鱼肉中产生的 HAs 的种类和含量无明显差异, 但随着煎炸次数的增加, HAs 的种类和含量相应的增加, 当煎炸次数到达 25 次时, 7 种 HAs 被检出。Yao Y 等<sup>[7]</sup>以烧鸡为研究对象, 考察了烧鸡制备过程中煎炸次数、蜂蜜浓度、蒸煮时间和蒸煮次数等加工因素对烧鸡中 HAs 生成的影响; 研究表明, Norharman 和 2-氨基-5-苯基吡啶 (Phe-P-1) 在多数烧鸡样本中被检出, 其浓度随着煎炸、蒸煮时间的增加而增加; 其中鸡皮样本中的 HAs 种类和浓度明显高于鸡肉样本, 煮汤中的 HAs 种类和浓度明显高于烧鸡样本, 而且蒸煮次数超过 20 次后, 烧鸡和煮汤中的 HAs 总含量分别达到 68.80 ng/g、96.98 ng/g。Yan Z 等<sup>[8]</sup>以猪肉为研究对象, 考察了不同煎炸条件 (温度、时间)、猪肉的加工状态 (馅饼、丸子、肉条) 等因素对猪肉中 HAs 生成的影响, 同时考察了竹叶提取物、甘草提取物、茶多酚、植酸和异抗坏血酸钠对煎炸猪肉中 HAs 的抑制作用; 研究表明, MeIQx、2-氨基-3,4,8-三甲基咪唑并[4,5-f]喹喔啉 (4,8-DiMeIQx)、PhIP 等 3 种 HAs 的含量随着煎炸次数、煎炸温度的增加而增加, 且与猪肉丸子和猪肉

条相比, 猪肉馅饼中 HAs 的浓度最高; 同时, 竹叶提取物为最有效的 HAs 抑制剂, 抑制率分别为 69.73%

(MeIQx, 0.02 g/Kg)、53.59% (4,8-DiMeIQx, 0.01 g/Kg)、77.07% (PhIP, 0.10 g/Kg)。Kebba S 等<sup>[9]</sup>以牛肉饼煎炸过程中产生的 MeIQx、PhIP、4,8-DiMeIQx 为研究对象, 考察了不同浓度的苹果皮多酚提取物对煎炸牛肉饼中 HAs 的抑制作用; 研究表明, 在牛肉饼表面涂渍 0.3% 的苹果皮多酚提取物可有效抑制 HAs 的生成, 抑制率分别为 68% (MeIQx)、56% (4,8-DiMeIQx)、83% (PhIP)。Jinap S 等<sup>[10]</sup>以羊肉煎炸过程中产生的 9 种 HAs 为研究对象, 考察了不同浓度的香辛料姜黄 (5%)、火炬姜 (10%)、柠檬草 (10%)、咖喱叶 (10%) 对煎炸羊肉中 HAs 的抑制作用; 研究表明, 10% 的火炬姜可有效降低煎炸羊肉中 MeIQx、2-氨基-9H-吡啶并[2,3-b]吡啶 (AαC) 的含量, 抑制率分别为 74.8% (MeIQx)、86.6% (AαC)。Haskaraca G 等<sup>[11]</sup>以鸡腿、鸡翅煎炸过程中产生的 9 种 HAs 为研究对象, 考察了绿茶提取物和微波预处理等因素对煎炸鸡腿、鸡翅中 HAs 的抑制作用; 研究表明, MeIQx 是主要的 HAs 成分, 其含量分别为 0.22~33.73 ng/g (鸡腿)、11.22~62.83 ng/g (鸡翅), 同时, 绿茶提取物和微波预处理等因素在减少 HAs 的形成上没有任何明显的抑制效果。

对于牛、羊、猪、鸡、鱼等畜禽水产肉产品在煎炸加工过程中 HAs 生成规律、影响因素、抑制方式的研究日渐成熟, 但是关于驴肉中 HAs 的研究未见报道。虽然驴肉与牛、羊、猪等同属畜产品肉类, 但是其在蛋白质、脂肪、氨基酸、肌酸等方面存在较大差异。驴肉中蛋白质含量 (21.5%) 高, 明显高于牛 (19.9%)、羊 (19.0%)、猪 (13.2%) 等, 脂肪含量 (3.2%) 低, 明显低于牛 (4.2%)、羊 (14.1%)、猪 (37.0%) 等; 同时, 驴肉中组氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸、色氨酸和半胱氨酸含量和占比均高于牛、羊、猪肉和鸡肉<sup>[12,13]</sup>。驴肉高蛋白、低脂肪、高必需氨基酸的特点致使其在 HAs 生成方面具有敏感性。

为探求相同煎炸方式下驴排、牛排和猪排在 HAs 生成方面的差异性, 本实验通过基质固相分散-固相萃取技术对样本中的 HAs 进行分离、富集, 利用高效液相色谱-质谱法分析驴排、牛排和猪排在煎炸过程中生成 HAs 种类及含量的差异, 并通过高效液相色谱法对其中的 IQ、Norharman、Harman、AαC、MeIQx、DMIP 和 PhIP 等 7 种 HAs 进行含量测定。揭示在相同煎炸条件下驴排、牛排、猪排在 HAs 生成方面的差异性, 以期对驴排加工过程中的食品安全研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

驴里脊肉, 购自东阿县新城曲山驴肉直营店; 牛里脊肉、猪里脊肉、花生油, 购自聊城市亿洋超市; Oasis MCX 固相萃取柱 (60 mg, 3 mL), 购自 Waters 公司。

二氯甲烷、甲醇、氨水等, 分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司; 硅藻土, 分析纯, 购自天津市大茂化学试剂厂; 三乙胺, 色谱纯, 购自上海麦克林试剂公司; 甲醇、乙腈、甲酸, 色谱纯, 购自 sigma 公司; IQ、Norharman、Harman、AaC、MeIQx、DMIP 和 PhIP 等 7 种 HAs 标准品, 购自上海源叶公司。

### 1.2 仪器

液质联用仪 (LCMS-8040), 日本岛津; 高效液相色谱仪 (LC-2030), 日本岛津; 氮吹仪 (MD200), 杭州奥盛; 高速分散器 (T18), 德国 IKA; 超声波清洗机 (SB-120DT), 宁波新芝; 高速离心机 (TDZ5-WS), 湖南湘仪; 石墨消解仪 (SH220F), 山东海能; 涡旋振荡器 (Vortex-Genie 2), 美国 SL; 红外线测温仪 (ST490B), 广东希玛。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 样品制备

参考中式牛排制作方式<sup>[4]</sup>, 将驴里脊肉、牛里脊肉、猪里脊肉切割成厚度 1 cm、直径 10 cm 的圆饼, 用肉锤将肉锤松, 按照肉: 料比为 10:1 抹上盐、花生油腌制。

参考牛排加热方式<sup>[4]</sup>, 用平底锅分别在 150、175、200、225、250 °C, 加热 15 min, 7.5 min/面, 双面煎炸, 红外线测温仪实时控制温度, 样品特点外表已有明显烤焦痕迹, 内部呈现深褐色, 切开时无汁液流出。

煎炸的驴排、牛排、猪排冷却至室温后粉碎机粉碎, -18 °C 冰箱贮存备用。

#### 1.3.2 标准溶液的配制

##### 1.3.2.1 标准储备液配制

分别称取对照品约 1.50 mg (精确至 0.01 mg), 用 1.0 mL 色谱甲醇溶解, 得标准储备液, 各目标物浓度分别为 1.29 mg/mL (IQ)、1.17 mg/mL (Norharman)、1.52 mg/mL (Harman)、1.02 mg/mL (AaC)、0.93 mg/mL (MeIQx)、1.11 mg/mL (DMIP)、1.22 mg/mL (PhIP), -18 °C 冰箱贮存备用。

##### 1.3.2.2 混标储备液配制

分别取标准储备液 0.10 mL, 用色谱甲醇溶解, 定容至 5.00 mL 棕色容量瓶中, 得混标储备液, 各目标物浓度为 25.87 μg/mL (IQ)、23.32 μg/mL (Norharman)、30.40 μg/mL (Harman)、20.34 μg/mL (AaC)、18.62 μg/mL (MeIQx)、22.12 μg/mL (DMIP)、24.30 μg/mL (PhIP), -18 °C 冰箱贮存备用。

##### 1.3.2.3 标准工作溶液配制

取混标储备液, 用乙腈稀释至浓度为 25.00、10.00、5.00、1.00、0.50、0.20、0.10、0.05 μg/mL 标准工作溶液, 4 °C 冰箱贮存备用。

#### 1.3.3 样品前处理

##### 1.3.3.1 游离 HAs 提取

参考 Gross 等<sup>[15]</sup>前处理方法, 并稍作改动。准确称取试样 3.00 g 置于 50 mL 离心管中, 加入 1.00 mol/L 氢氧化钠溶液 16.0 mL, 在涡旋振荡器上充分混合 1 min, 超声提取 30 min; 然后加入硅藻土 15.0 g, 研磨均匀后转移至 250 mL 锥形瓶中, 80 °C 烘干 1 h; 最后加入 80.0 mL 二氯甲烷超声 10 min, 过滤, 滤液收集待用。

##### 1.3.3.2 总 HAs 提取

参考 Sun 等<sup>[16]</sup>前处理方法, 并稍作改动。准确称取试样 3.0 g 置于石墨炉消化管中, 加入 6.0 mol/L 盐酸溶液 40.0 mL, 在石墨消解仪上 110 °C 水解 24 h, 冷却至室温; 加入 1.00 mol/L 氢氧化钠溶液调节至弱酸性, 过滤, 滤液收集待用。

##### 1.3.3.3 固相萃取

参考 Messner 等<sup>[17]</sup>固相萃取方法, 并稍作改动。将提取液上样到经 0.1 mol/L 稀盐酸 (6.0 mL)、甲醇 (6.0 mL) 活化的 Oasis MCX 固相萃取柱中, 待提取液全部通过固相萃取柱后, 以 0.1 mol/L 稀盐酸 (6.0 mL)、甲醇 (6.0 mL) 淋洗固相萃取柱, 最后用 95% 的氯化甲醇 (6.0 mL) 洗脱。洗脱液氮吹仪吹干, 500 μL 甲醇复溶检测。

#### 1.3.4 HPLC-MS/MS 分析

色谱条件: Agilent ZORBAX Eclipse XDB 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)。乙腈 (A) 和 20 mmol/L 甲酸溶液 (pH 2.8) 为流动相进行梯度洗脱, 梯度洗脱程序: 0~20 min, 5% A~25% A; 20~40 min, 25% A~45% A; 40~50 min, 45% A~25% A; 50~52 min, 25% A~5% A; 52~62 min, 5% A。流速: 0.40 mL/min, 柱温: 30 °C。

质谱条件: 电喷雾离子源 (ESI), 正离子扫描模式; 接口电压: 4.5 kV; 检测器电压: 1.7 kV; 离子源温度 90 °C; 脱溶剂温度 400 °C; 雾化气为氮气; 载气流速: 3.0 L/min, 温度 250 °C; 干燥气流速 15.0

L/min, 温度 400 °C; 质量扫描范围  $m/z$  80~1000; 扫描时间 0.05 ms。

### 1.3.5 HPLC-DAD 分析

岛津 LC-2030 型液相色谱仪, Agilent ZORBAX Eclipse XDB 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)。乙腈 (A) 和 10.00 mmol/L 磷酸-三乙胺溶液 (pH 3.27) 为流动相进行梯度洗脱, 梯度洗脱程序: 0~13 min, 5% A~25% A; 13~24 min, 25% A~45% A; 24~34 min, 45% A~30% A; 34.1 min, 5% A, 保持 5 min。流速: 1.00 mL/min, 柱温: 25 °C。检测波长: 228 nm (AaC)、253 nm (IQ、Harman、Norharman、MeIQx)、321 nm (DMIP、PhIP)。

### 1.4 统计分析

利用 EXCEL 2003、Origin 7.5 和 SPSS 20.0 进行数据处理和统计分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 相同煎炸方式下驴排、牛排、猪排中 HAs

#### 的定性分析

#### 2.1.1 液相指纹图谱分析

胺类物质是肉制品热加工过程中产生的重要物质, 其中 HAs 物质具有致突变性、致癌性。本实验以驴排、牛排、猪排为研究对象, 研究了在相同煎炸方式 (200 °C, 加热 15 min, 7.5 min/面) 下, 三者中游离胺类物质 (fAs)、总胺类物质 (tAs) 变化规律, 选取 253 nm 处的指纹图谱进行分析, 结果如图 1、图 2 所示。

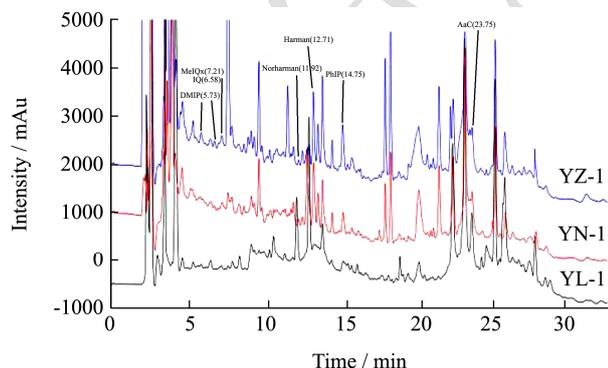


图 1 驴排、牛排与猪排中游离胺类物质液相指纹图谱  
Fig.1 The LC fingerprint analysis of fAs in donkey steak (YL-1), beef steak (YN-1) and pork chop (YZ-1)

由图 1 可知, 在游离胺类物质液相指纹图谱方面, 经相同热加工处理的驴排、牛排、猪排表现出一定的差异性。其中, 猪排中的胺类物质种类和含量最高,

牛排次之, 驴排最低。与驴排相比, 猪排在 7.440、9.399、11.228、17.421、17.792、21.196 等处出现多种特异峰, 且含量较高, 具体结构需进一步研究确定。三者中游离胺类物质方面产生明显差异性的原因, 可能与肉中脂肪、水分含量有关。据《中国食物成分表 2018》<sup>[18]</sup>介绍, 驴肉 (瘦) 中脂肪含量为 3.20%、牛肉脂肪含量为 2.30%, 低于猪肉 (里脊) 的 7.90% (表 1)。驴肉的低脂特性使得其持水能力增强, 一方面, 水分在肉排热加工过程中可以避免蛋白质直接与高温接触, 降低游离胺类物质产生; 另一方面水分可以与吡嗪和吡啶自由基中间体反应形成其他褐变产物, 抑制了 HAs 形成途径中的吡嗪基<sup>[19]</sup>, 造成了三者之间的差异。

表 1 驴肉、牛肉与猪肉中的化学成分

Table 1 The chemical composition in Donkey, Beef and Pork

Meat	Content/%			
	Moisture	Fat	Protein	Carbohydrate
Donkey	73.8	3.2	21.5	0.4
Beef	75.2	2.3	20.2	1.2
Pork	70.3	7.9	20.2	0.7

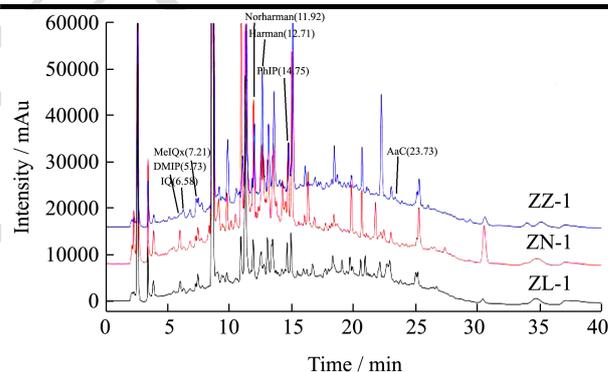


图 2 驴排、牛排与猪排中总胺类物质液相指纹图谱

Fig.2 The LC fingerprint analysis of tAs in donkey steak (ZL-1), beef steak (ZN-1) and pork chop (ZZ-1)

由图 2 可知, 与游离胺类物质液相指纹图谱类似, 总胺类物质液相指纹图谱差异性同样较大。其中在胺类物质种类和含量方面, 牛排、猪排较高, 二者差异不大, 驴排最低。在相同的煎炸条件下, 胺类物质种类差异可能与肉排中胺类前体物质含量 (肌酸、游离氨基酸、糖蛋白) 有关。在煎炸前期, 肉排表面水分迅速蒸发, 胺类前体物质富集于肉的表面, 在高温作用下产生诸多复杂的胺类物质。Lan 等<sup>[20]</sup>研究发现, 肌酸含量高的熟猪肉中比同等条件下加工的鸡蛋和豆饼含有更多的 HAs。同样, Jinap 等<sup>[21]</sup>也曾报道由于牛肉的肌酸含量较高、游离氨基酸含量低, 烤牛肉比烤鸡含有更多的 HAs。

### 2.1.2 HPLC-MS/MS 分析

由液相指纹图谱分析可知, 驴排、牛排、猪排中碱性胺类物质种类繁多, 采用常规的高效液相色谱法定性困难。本实验采用 HPLC-MS/MS 法, 对驴排、牛排、猪排中 HAs 类物质进行鉴定, 对其中的 fHAs 定性分析, 结果如图 3、图 4、表 2 所示。

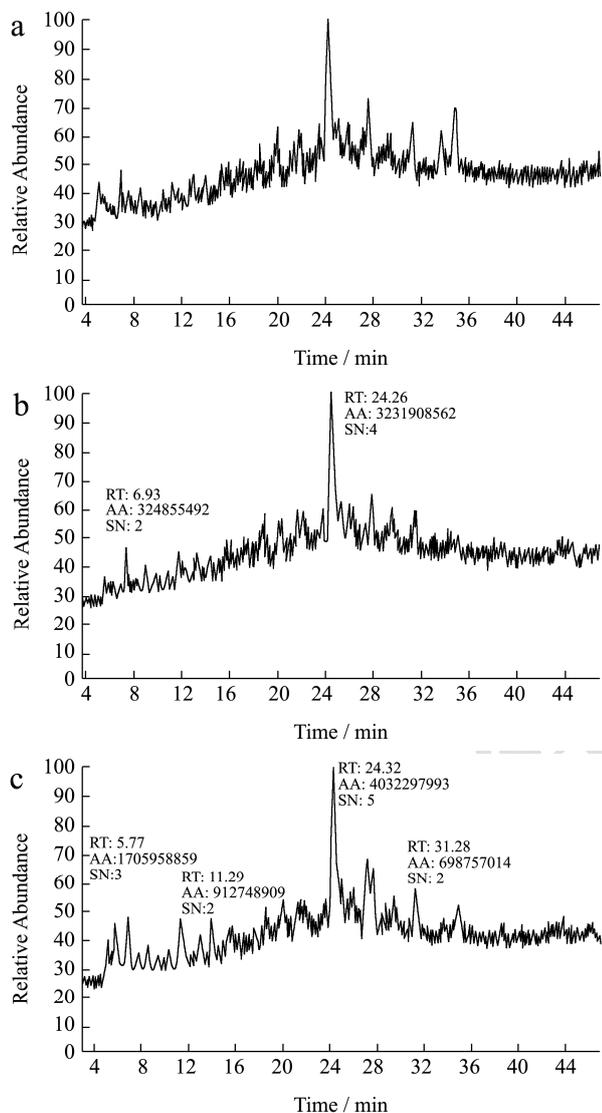
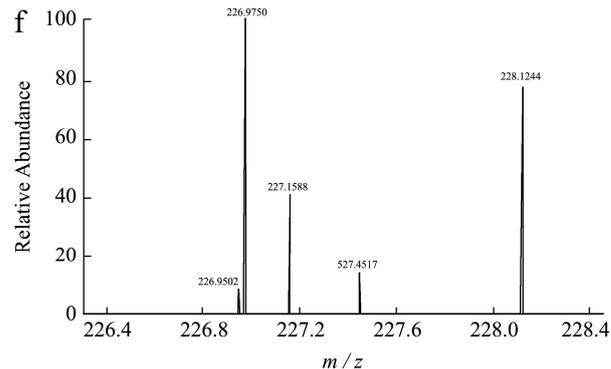
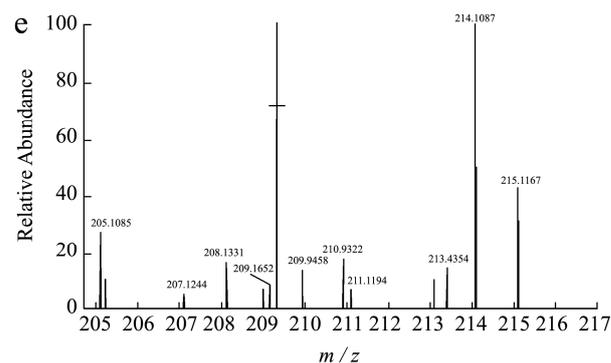
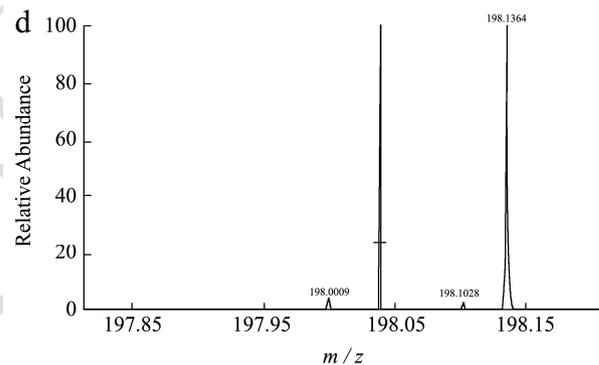
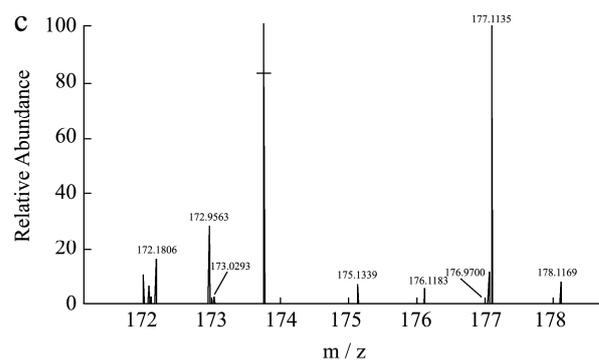
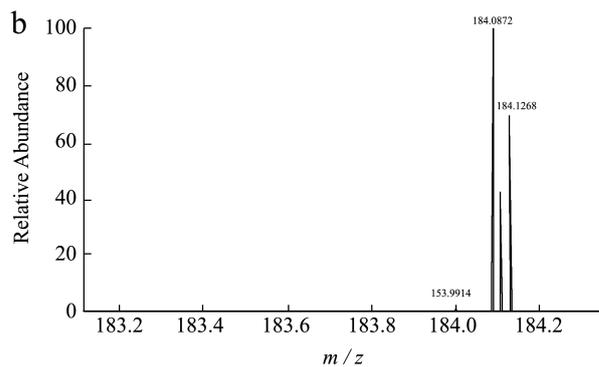
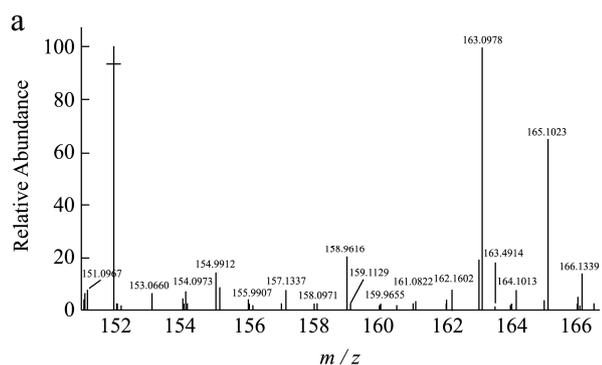


图 3 驴排、牛排与猪排中碱性胺类物质总离子流 (TIC) 图

Fig.3 The total ion chromatograms of amines in donkey steak, beefsteak and pork chop



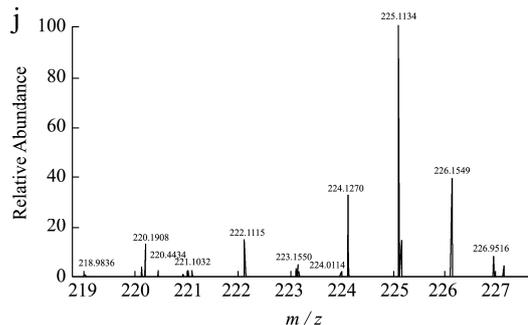
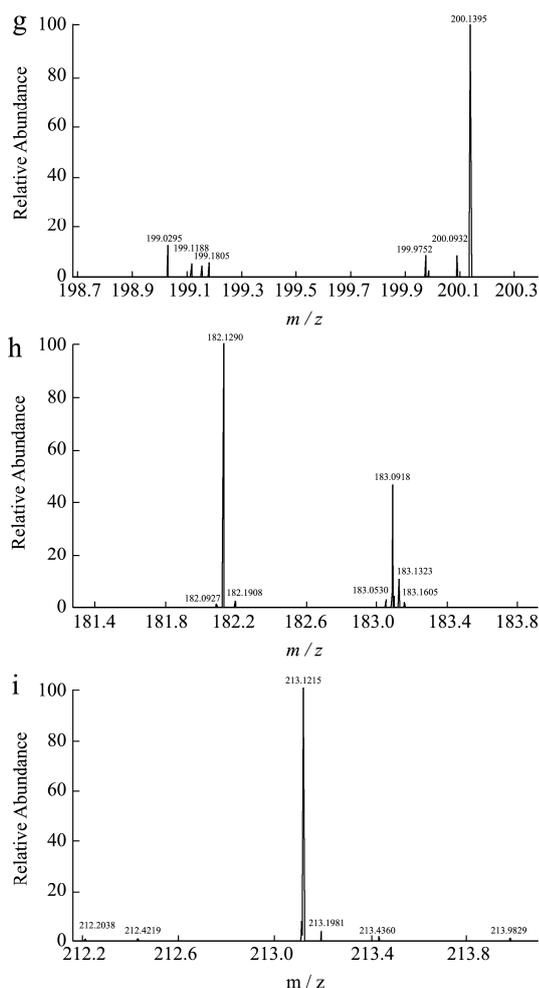


图4 目标物 (HAs) 离子色谱图

Fig.4 The ion chromatogram of the compounds

注: a: DMIP; b: AaC; c: 1,5,6-DMIP; d: Trp-p-2; e: 8-MeIQx; f: 4,8-DiMeIQx; g: IQ; h: Harman; i: MeIQx; j: PhIP.

由表 2 可知, 经 HPLC-MS/MS 法鉴定, 在三种样品中, 共鉴定出 12 种 HAs 类物质, 驴排中 7 种, 牛排中 8 种, 猪排中 12 种。其中驴排、牛排中 HAs 主要是热反应 HAs (如 IQ、MeIQx、PhIP 等), 猪排中 HAs 则包含了热反应 HAs (IQ、MeIQx、PhIP 等) 和热解 HAs (Norharman、Harman、AaC 等)。

在本实验煎炸条件 (200 °C) 下, HAs 应该以热反应 HAs 为主, 猪排在普通烹调温度下生成热解 HAs (250 °C 以上) 的原因应结合具体的定量检测进行分析。

表 2 驴排、牛排与猪排中 fHAs 质谱定性分析及峰归属

Table 2 The qualitative analysis and peak attribution by HPLC-MS/MS in donkey steak, beef steak and pork chop

HAs	CAS	m/z (M+H <sup>+</sup> )	Retention time/min		
			Donkey steak (YL-2)	Beefsteak (YN-2)	Pork chop (YZ-2)
DMIP	132898-04-5	163.0978	13.09	13.10	13.10
IQ	76180-96-6	280.1360	14.15	14.15	14.16
AaC	26148-68-5	184.0869	-	-	14.72
1,5,6-DMIP	161091-55-0	177.1135	-	16.88	16.91
Trp-p-2	72254-58-1	198.1026	-	-	18.28
8-MeIQx	77500-04-0	214.1087	19.75	19.81	19.82
4,8-DiMeIQx	95896-78-9	228.1244	22.98	22.98	23.01
IQx	108354-47-8	200.0930	-	-	23.27
Norharman	244-63-3	169.1620	25.41	25.39	25.41
Harman	486-84-0	183.0917	26.40	26.50	26.51
MeIQx	77094-11-2	213.1135	-	-	15.42
PhIP	105650-23-5	225.1135	29.44	29.39	29.38

## 2.2 相同煎炸方式下驴排、牛排、猪排中 7 种

### HAs 含量测定

#### 2.2.1 标准曲线的回归方程和精密度实验

配制不同浓度的 HAs 混合标准品进行线性实验, 在 0.05~30 μg/mL 范围内得到 7 种 HAs 的线性回归方程及其线性相关系数, 结果如表 3 所示。

由表 3 可知, 7 种 HAs 的回归方程线性相关系数 R<sup>2</sup> 均>0.9990, 说明标准曲线线性关系良好, 符合检测

要求。连续对质量浓度为 5.00  $\mu\text{g/mL}$  的 HAs 混合标准溶液进样 6 次, 得到 5 种 HAs 的标准偏差均 $<2\%$ , 说明仪器精密度良好, 满足检测要求。

表 3 7 种 HAs 的标准曲线回归方程和精密度

Table 3 Regression equations of standard curves and precision experiments results

HAs	Linear range/ $(\mu\text{g/mL})$	Regression equation	$R^2$	RSD/%
IQ	0.05-30	$Y = 248.93X - 18179$	0.9999	0.10
Norharman	0.05-30	$Y = 210.60X - 4812.4$	1.0000	0.05
Harman	0.05-30	$Y = 219.96X + 3107.4$	0.9998	0.22
AaC	0.05-30	$Y = 305.43X + 32889$	0.9997	0.52
MeIQx	0.05-30	$Y = 112.13X + 11882$	0.9996	0.63
DMIP	0.05-30	$Y = 70.63X - 6798.7$	0.9993	0.84
PhIP	0.05-30	$Y = 67.06X - 1175.1$	1.0000	0.05

表 4 驴排、牛排、猪排中 7 种 HAs 含量

Table 4 Contents of HAs in Donkey steak, Beefsteak and Pork chop

HAs	Content (mean $\pm$ SD)(ng/g)					
	Donkey steak		Beef steak		Pork chop	
	Free	Total	Free	Total	Free	Total
IQ	20.82	94.59	31.06	122.60	21.24	127.52
Norharman	10.97	294.00	10.41	381.24	20.59	1167.39
Harman	10.73	281.99	16.39	685.50	30.96	928.15
AaC	ND	ND	ND	ND	ND	47.49
MeIQx	ND	161.97	ND	180.60	167.75	461.84
DMIP	179.16	180.19	123.80	169.28	115.91	217.23
PhIP	35.68	582.89	42.10	1259.43	83.63	930.83

注: ND 表示未检出。

### 2.2.2 驴排、牛排、猪排中 7 种 HAs 含量测定

根据 1.3.3 样品前处理方式, 在相同煎炸方式 (200  $^{\circ}\text{C}$ , 加热 15 min, 7.5 min/面) 下, 对驴排、牛排、猪排中 IQ、Norharman、Harman、AaC、MeIQx、DMIP 和 PhIP 等 7 种 HAs 进行了含量测定, 结果如表 4 所示。

由表 4 可知, 驴排、牛排、猪排中游离态 HAs 以热反应型 (DMIP、PhIP) 为主, 为吡啶类, 结合态 HAs 以热解型 (Norharman、Harman) 为主, 为  $\beta$ -吡啶类, 结果与 Sun 等<sup>[6]</sup>以牛肉、猪肉、鸡肉为研究目标的研究结果一致。猪排和牛排中热反应型 HAs 含量 (1.74 mg/g, 1.73 mg/g) 高于驴排 (1.02 mg/g), 差异性显著 ( $p<0.05$ ), 而热解型 HAs, 猪排中最高 (2.14 mg/g), 牛排次之 (1.07 mg/g), 驴排最低 (0.58 mg/g)。分析原因可能与肉制品的持水能力有关, 加热过程中, HAs 水溶性前体物质通过水分蒸发运输到肉排的表面, 起到转移的作用, 研究结果进一步印证了 Kikugawa K 的水分抑制理论<sup>[19]</sup>。

郑多多等<sup>[22]</sup>曾报道以排骨串 (猪肉) 为研究对象, 通过建立高效液相色谱法检测市售烧烤制品中 5 种杂

环胺 (IQ、Norharman、Harman、AaC、PhIP) 含量, 结果发现烧烤制排骨串中 HAs 含量: IQ>Harman>Norharman>AaC>PhIP。与本研究结果不一致, 分析原因可能与以下几个因素有关: 一、烹调方式, 郑多多等选择研究对象为市售成品排骨串, 加工方式相对不可控; 二、提取 (前处理) 方式, 郑多多等采用的是碱液提取法, 与本研究石墨消解法不同, 检测到的是游离杂环胺含量, 结果偏低。

### 3 结论

本实验通过基质固相分散-固相萃取技术对驴排、牛排和猪排中的 HAs 进行分离、富集, 利用高效液相色谱-质谱法分析了驴排、牛排和猪排在煎炸过程中生成 HAs 种类及含量的差异, 并通过高效液相色谱法对其中的 IQ、Norharman、Harman、AaC、MeIQx、DMIP 和 PhIP 等 7 种 HAs 进行了含量测定。揭示了在相同煎炸条件 (200  $^{\circ}\text{C}$ , 加热 15 min, 7.5 min/面) 下, 驴排、牛排、猪排在 HAs 生成方面的差异性, 以期对驴排加工过程中的食品安全研究提供参考。结果如下:

(1) 驴排、牛排主要是以热反应型 HAs (IQ、

MeIQx、DMIP、PhIP) 为主, 猪排主要是以热解型 HAs (Norharman、Harman、AaC) 为主。

(2) 猪排和牛排中热反应型 HAs 含量 (1.74 mg/g, 1.73 mg/g) 明显高于驴排 (1.02 mg/g), 而热解型 HAs, 猪排中最高 (2.14 mg/g), 牛排次之 (1.07 mg/g), 驴排最低 (0.58 mg/g)。

### 参考文献

- [1] 洪燕婷,王盼,朱雨辰,等.肉制品中杂环胺形成与控制的研究进展[J].中国食品学报,2014,14(11):149-156  
HONG Yan-ting, WANG Pan, ZHU Yu-chen, et al. Development in controlling and formation of heterocyclic amines in meat [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 14(11): 149-156
- [2] Jinap S, Iqbal S Z, Selvam R, et al. Effect of selected localspices marinades on the reduction of heterocyclic amines ingrilled beef (satay) [J]. LWT - Food Science and Technology, 2015, 63(2): 919-926
- [3] 李进,李凯凯,高悦,等.固相萃取-高效液相色谱法分析香辛料对酱卤肉中  $\beta$ -吡啶类杂环胺形成的影响[J].现代食品科技,2019,35(2):234-240  
LI Jin, LI Kai-kai, GAO Yue, et al. Effect of Spices on the Formation of  $\beta$ -Carboline heterocyclic aromatic amines in sauce braised meat by solid phase extraction-high performance liquid chromatography [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(2): 234-240
- [4] World cancer research fund/American institute for cancer research. food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective [R]. AICR: Washington, DC. World Health Organization, 2008
- [5] Monika G, Miriam K, Jochen W. Impact of different pan-frying conditions on the formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality in fried bacon [J]. Food Chemistry, 2015, 168: 383-389
- [6] Wang Y, Hui T, Zhang Y, et al. Effects of frying conditions on the formation of heterocyclic amines and trans fatty acids in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. Food Chemistry, 2015, 167: 251-257
- [7] YAO Yao, PENG Zeng-qi, SHAO B, et al. Effects of frying and boiling on the formation of heterocyclic amines in braised chicken [J]. Poultry Science, 2013, 92(11): 3017-3025
- [8] Zhang Y, Yu C, Mei J, et al. Formation and mitigation of heterocyclic aromatic amines in fried pork [J]. Food Additives and Contaminants: Part A, 2013, 30(9): 893-900
- [9] Sabally K, Sleno L, Jauffrit J, et al. Inhibitory effects of apple peel polyphenol extract on the formation of heterocyclic amines in pan fried beef patties [J]. Meat Science, 2016, 117: 57-62
- [10] Jinap S, Iqbal S, Talib N, et al. Heterocyclic aromatic amines in deep fried lamb meat: The influence of spices marination and sensory quality [J]. Journal of Food Science and Technology, 2016, 53(3): 1411-1417
- [11] Haskaraca G, Demirok E, Kolsar C, et al. Effect of green tea extract and microwave pre-cooking on the formation of heterocyclic aromatic amines in fried chicken meat products [J]. Food Research International, 2014, 63: 373-381
- [12] 李景芳,王燕,陆东林.驴的肉用性能和驴肉的营养价值[J].新疆畜牧业,2018,33(12):13-18,21  
LI Jing-fang, WANG Yan, LU Dong-lin. Performance of donkey meat and nutritional value of donkey meat [J]. Xin Jiang Xu Mu Ye, 2018, 33(12): 13-18, 21
- [13] 林靖凯,刘桂芹,格日乐其木格,等.驴肉品质及其影响因素的研究进展[J].中国畜牧兽医,2019,46(6):1873-1880  
LIN Jing-kai, LIU Gui-qin, GERELCHIMEG, et al. Research progress on quality of donkey meat and its influencing factors [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2019, 46(6): 1873-1880
- [14] 张秀凤,付丽,郝修振,等.影响牛排中杂环胺形成的主要因素及预防措施[J].黑龙江畜牧兽医,2015, 24:84-86  
ZHANG Xiu-feng, FU Li, HAO Xiu-zhen, et al. Main factors affecting the formation of hcas in steak and preventive measures [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2015, 24: 84-86
- [15] Gross G, Grüter A. Quantitation of mutagenic/carcinogenic heterocyclic aromatic amines in food products [J]. Journal of Chromatography A, 1992, 592(1-2): 271-278
- [16] SUN X, TANG Ju-mign, WANG Jing, et al. Formation of free and protein-bound carboxymethyllysine and carboxyethyllysine in meats during commercial sterilization [J]. Meat Science, 2016, 116: 1-7
- [17] Messner C, Murkovic M. Evaluation of a new model system for studying the formation of heterocyclic amines [J]. Journal of Chromatography B, 2004, 802(1): 19-26

(下转第 49 页)