

PhIP 化学模型体系中前处理 及 UPLC-MS 检测方法的研究

陈妍方^{1,2,3}, 赵月亮^{4,5}, 张娜娜^{1,3,4}, 范大明^{1,2,3,4,5,*}, 李利洁^{1,3}, 赵建新^{1,2,3,5}, 张灏^{1,2,3,5}

(1. 江南大学, 食品科学与技术国家重点实验室, 江苏无锡 214122;

2. 江南大学, 国家功能食品工程技术研究中心, 江苏无锡 214122;

3. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214122;

4. 香港大学生命科学学院, 香港薄扶林 SAR;

5. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘要: 本文以 PhIP 化学模型体系为对象, 建立了利用冻干浓缩萃取进行样品前处理, 用 UPLC-MS 进行 PhIP 含量检测的分析方法。本研究简化了样品前处理步骤, 将反应体系冻干浓缩后采用碱性乙酸乙酯体系提取, 用超高效液相色谱-三重四级杆串联方式(UPLC-MS)进行 PhIP 检测, 采用 Waters BEH phenyl 色谱柱, 以乙腈和 0.1% 甲酸溶液为流动相进行梯度洗脱。结果表明, 本方法检测 PhIP 的线性范围为 0.5~15 ng/mL, 决定性系数为 0.999, 检出限为 0.110 ng/mL, 定量限为 0.332 ng/mL, 在加标水平为 10、15、30 ng/mL 时的平均收率分别为 78.16%、81.22%、82.03%, 相对标准偏差(RSD)分别为 6.32%、5.40%、4.28%。本方法操作简便、可重复性高, 可作为测定化学模型中 PhIP 的有效方法。

关键词: 杂环胺, PhIP, 化学模型, 前处理, 超高效液相色谱串联四级杆质谱法

Study on the Sample Pretreatment Procedure and Determination by UPLC-MS in PhIP Chemical System

CHEN Yan-fang^{1,2,3}, ZHAO Yue-liang^{4,5}, ZHANG Na-na^{1,3,4}, FAN Da-ming^{1,2,3,4,5,*},
LI Li-jie^{1,3}, ZHAO Jian-xin^{1,2,3,5}, ZHANG Hao^{1,2,3,5}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

2. National Engineering Research Center for Functional Food, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

3. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

4. School of Biological Sciences, The University of Hong Kong, Pokfulam SAR, China;

5. School of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The sample preparation procedure and analytical method were developed for the determination of PhIP in chemical model system. The reaction system was freeze-dried by a lyophilizer, then extracted with alkaline ethyl acetate. Finally, the solvent was removed by nitrogen blower. The extract was separated on a BEH phenyl column, with 0.1% formic acid in acetonitrile-water as mobile phases in gradient elution. The qualitative and quantitative operation of PhIP is based on ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS). The results showed that linear range of PhIP was 0.5~15 ng/mL, the coefficient of determination was 0.999. The limits of detection and limits of quantitation for the PhIP was 0.110 and 0.332 ng/mL respectively. The average recoveries of all the compounds spiked in wine samples at three levels of 10, 15, 30 ng/mL were in the ranges of 78.16%, 81.22%, 82.03%, with the corresponding relative standard deviations (RSD) of 6.32%, 5.40%, 4.28%, respectively. The experimental results indicated that the method is simple, sensitive, accurate and can meet the requirement for the determination of PhIP in chemical model system.

Key words: heterocyclic aromatic amines; PhIP; chemical model system; pretreatment; UPLC-MS

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)15-0254-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.15.042

引文格式: 陈妍方, 赵月亮, 张娜娜, 等. PhIP 化学模型体系中前处理及 UPLC-MS 检测方法的研究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(15): 254-258, 291.

收稿日期: 2019-01-03

作者简介: 陈妍方(1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 微波食品加工及生物技术, E-mail: 1135693218@qq.com。

* 通讯作者: 范大明(1983-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品加工及生物技术, E-mail: fandm@jiangnan.edu.cn。

基金项目: 江苏省自然科学基金(BK20170052); 国家自然科学基金(31671821)。

在高温烹调过程中,肉制品中的氨基酸、肌酐和葡萄糖三种成分会产生杂环胺,是一类具有致癌、致突变性的多环芳香族化合物^[1]。其中,2-氨基-1-甲基-6-苯基-咪唑[4,5-b]吡啶(PhIP)是高温处理肉类产品时生成的含量最丰富的杂环胺。1999年,国际癌症研究机构将PhIP划为2B类潜在致癌物^[2],Sinha等人的研究表明,摄入PhIP增加了消费者的患癌风险,其摄入量与患病率存在正相关关系^[3-4]。随后,美国健康和人道服务部将PhIP列为合理预期的人类致癌物质,并将其列入国家毒理学计划^[5]。因此,需要对烹调肉制品中产生的PhIP进行定量分析,为相应抑制手段的探究提供依据。

由于肉类制品中含有大量的油脂、蛋白质等物质,体系本身十分复杂,且其中的PhIP含量属于ng/g水平,故需要对其进行复杂前的处理,才能进行后续的检测和分析^[6]。食品体系的复杂性给PhIP的相关的反应机理探究增加了困难,为了减少干扰,Shioya等人^[7-8]首次简化了实验对象,采用氨基酸、肌酐和葡萄糖三种PhIP的前体物质组成了化学模型,研究其形成机制。化学模型体系为反应机理层面的研究排除了很多干扰,被广泛采用^[9-10]。

目前,化学模型体系的前处理多采用液液萃取结合SPE固相萃取的方法,萃取后收集反应液,过固相萃取小柱后氮吹。但此方法的操作精度要求较高,也会有洗脱不净的情况出现,均会直接导致测得的PhIP含量偏低。复杂的处理步骤会增大体系中PhIP损失的概率,也会降低实验的可重复性和回收率^[11-12]。本文在传统PhIP检测方法的基础上,建立了一种不需要固相萃取小柱的样品处理方法。此方法将会简化操作过程,提高可重复性,可作为一种特定的检测化学体系中PhIP的新型方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

苯丙氨酸、葡萄糖、肌酐、乙酸乙酯、NaOH 国药集团化学试剂有限公司;甲醇、乙酸铵 江苏博美达生命科学有限公司;2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑并[4,5-b]吡啶(PhIP) Toronto Research Chemicals (Toronto,加拿大)。

Thermo HAAKE AC200-S13 油浴锅 美国 Thermo 公司;79480-3 冷冻干燥系统 CONCO 公司;Waters 超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱仪(UPLC-TQD) 美国 Waters 公司;ACQUITY BEH C18(1.70 μm,50 mm×2.10 mm)、ACQUITY BEH T3(1.70 μm,50 mm×2.10 mm)、ACQUITY BEH phenyl(1.70 μm,50 mm×2.10 mm)色谱柱 美国 Waters 公司;QSC-12T 氮吹仪 泉岛公司。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液的配制 参考蒋智等^[6]的方法,精确称取10.0 mg的PhIP标准品,用甲醇进行溶解,配成浓度为100 μg/mL溶液。将标准液用甲醇进行梯度稀释,配制成2.5、5、10、20、50、75 mg/mL的标准溶液。

1.2.2 PhIP化学模拟体系的建立 本研究中的化学

模型以李利洁等^[13]的方法为参考并进行调整。将20 mmol/L肌酐、10 mmol/L葡萄糖、20 mmol/L苯丙氨酸溶于蒸馏水中,配成100 mL的反应体系。在有配垫片的螺口玻璃瓶中加入10 mL反应液,拧紧瓶盖,设定油浴锅加热条件为128℃、油浴2 h,冷却至室温。

1.2.3 样品前处理 取1.2.2中油浴加热后的反应溶液于冷冻干燥机中冻干,冻干程序为:0~4 h,-40℃;4~19 h,-30℃;19~34 h,-10℃;34~38 h,10℃;38~42 h,20℃。以冻干前反应液的体积为依据,每10 mL反应液得到的冻干样品中加入2 mL的2 mol/L NaOH和2~8 mL乙酸乙酯,形成碱性萃取环境。将萃取体系震荡3 min,超声处理4~12 min,6000 r/min离心5 min,取上清液氮吹,去除溶剂,加入0.20 mL甲醇震荡溶解,用0.22 μm有机滤膜进行过滤,用超高效液相色谱串联四级杆质谱法(UPLC-MS)进行PhIP含量测定。

1.2.4 化学模型体系中PhIP的UPLC-MS检测条件

1.2.4.1 液相色谱条件 参照李利洁等^[13]的方法对液相条件进行调整,色谱柱为Waters BEH phenyl柱(50 mm×2.10 mm,1.70 μm),流速为0.30 mL/min,设定柱温为35℃,进样量为10 μL。流动相为:乙腈(A),0.1%甲酸水溶液(B),梯度洗脱程序为:0~8 min,10% A;8~9 min,70% A;9~9.5 min,10% A。在下次进样前,用10% A液保持5 min,用于平衡柱子。

1.2.4.2 质谱条件 参照蒋智等^[6]的方法对质谱检测条件进行优化。离子源为ESI+,采用多反应监测模式进行检测;设定离子源温度为120℃;喷雾电压2.8 V;毛细管电压为2.50 kV;脱溶剂温度400℃;脱溶剂气体流速700 L/h;锥孔气体流速50 L/h;碰撞气体流速0.30 mL/min。

1.3 数据处理

所有实验均重复三次,结果数据用平均值±标准偏差的形式表示,数据处理采用Microsoft Excel 2010;图表绘制采用软件GraphPad Prism;显著性分析采用软件SPSS Statistics;LC-MS图谱分析采用软件Masslynx V4.1。

2 结果与讨论

2.1 前处理条件的选择

已有较多研究对不同样品体系中的PhIP前处理方法进行了优化。Calbiani等^[16-18]不断地改进固相萃取方法的萃取剂种类、流动相以及柱条件等,提高了分析的可重复性和稳定性。但Khan等^[19]认为固相萃取法溶剂量很大且净化步骤复杂,故采用加压流体进行提取,使杂环胺的回收率高达62%。本研究提出了一种无需使用固相萃取柱的前处理方法,由于PhIP可溶于蒸馏水和有机溶剂,故先采用冻干法对将大体积的反应体系浓缩,又可同时去除体系中的水分,使得PhIP更容易被萃取进入乙酸乙酯层。随后,直接收集乙酸乙酯层溶液,进一步氮吹浓缩,使用甲醇复溶,过膜后待测。

2.1.1 提取溶剂及用量的选择 提取杂环胺常用的

溶剂主要有:乙酸乙酯^[20-21]、二氯甲烷^[22]、二氯甲烷(含5%甲苯)^[23]等。本方法中浓缩萃取后的反应液需要取上层液体氮吹,但二氯甲烷密度大,涡旋混合离心后萃取效率差,而采用乙腈回收率较低,且不易用氮气吹干,故选择密度小且易于氮吹的乙酸乙酯作为萃取溶剂。由于 PhIP 的疏水性和亲水性取决于所处介质的 pH,随着 pH 升高,疏水性增强,PhIP 更易溶解于有机提取溶剂中^[24]。为了提高萃取率,本方法向乙酸乙酯中加入 2 mol/L NaOH 构成碱性环境,以促进萃取。在 10 mL 的化学模型反应体系中,固定 NaOH 用量,考察乙酸乙酯用量(2、3、4、5、6、7、8 mL)对 PhIP 提取效果的影响。图 1 为乙酸乙酯用量对 PhIP 提取量的影响。如图 1 可知,提取到的 PhIP 浓度随乙酸乙酯使用量的加大,呈现上升的趋势,但当提取剂用量大于 5 mL 时,PhIP 浓度随萃取剂用量缓慢上升。此结论与肖正华等^[25]结果一致,结合后续浓缩步骤与成本综合考虑,选取每 10 mL 的反应溶液进行前处理,以加入 5 mL 乙酸乙酯为宜。

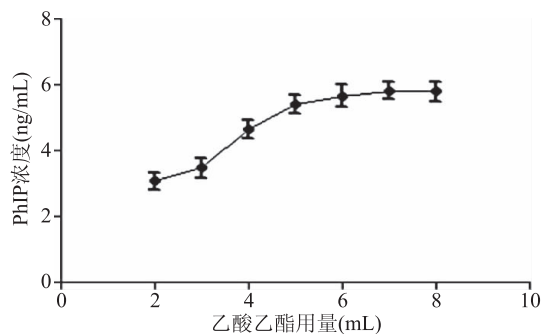


图 1 乙酸乙酯用量对 PhIP 浓度的影响

Fig.1 Effect of solvent dosage on PhIP concentration

2.1.2 萃取时间的选择 取 10 mL 反应液,加入 5 mL 乙酸乙酯和 2 mL NaOH,振荡萃取 4、6、8、10、12 min 后,测定 PhIP 的萃取效果,结果见图 2。发现随萃取时间的延长,PhIP 浓度先增加后减少,在 10 min 时提取量达到峰值。此结果与邓燕莉等^[26]的结论一致,体系中非 PhIP 的杂质被萃取的量随着萃取时间的延长而增加了,导致了 PhIP 的纯度下降。所以萃取时间选择为 10 min。通常,采用固相萃取法进行样品前处理时,萃取时间长达 2~3 h^[6]。与固相萃取法相比,本法将萃取时间缩短为 10 min,对溶液进行简单快捷又有效地萃取,简化了实验。

2.2 质谱条件的确定

由于化学模型体系中的 PhIP 属于痕量物质,对 PhIP 的检测采用串联三重四级杆质谱仪进行。通过针泵注射 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准液进样,由于被测物质 PhIP 结构中含有氨基和亚氨基的电离特性,检测采用 ESI+ 模式。蒋智等^[6]的实验表明,离子强度随毛细管电压的升高而逐渐增强,在电压达到 2.5 kV 时,离子强度趋于稳定;在较低的碰撞能量下,能量不足,导致得不到 PhIP 的碎片离子,当锥孔电压调节到 35 V 时,可以获得稳定的分子离子 m/z 225。对 PhIP 的母离子进行全扫描可得到子离子,进入二级质谱后

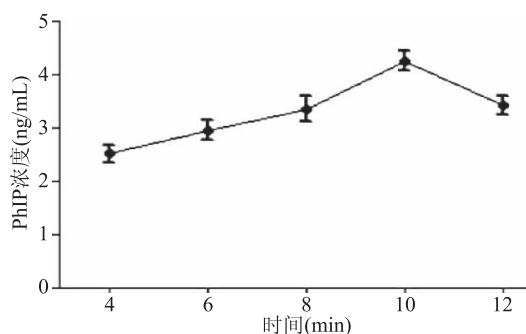


图 2 萃取时间与 PhIP 提取量的关系

Fig.2 Effect of extraction time on PhIP concentration

受到碰撞能量的作用,失去 $-\text{CH}_3$ 会形成质荷比为 210.1 的离子,失去 $-\text{HCN}$ 基团形成质荷比为 183.1 的离子,这两个离子是 PhIP 的特征离子,选择信号最强的 225.1 > 210.1 作为定量离子。在多反应监测模式下,能够通过筛选目标物的特征离子来定性定量,可以提高检测方法的灵敏度和选择性。

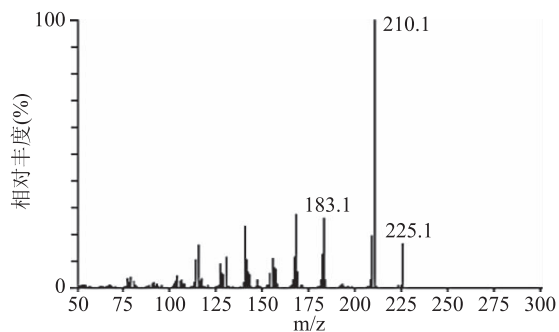


图 3 PhIP 的碎片离子质谱图

Fig.3 Fragment ion mass spectrometry of PhIP

2.3 PhIP 检测色谱条件的确定

2.3.1 不同色谱柱对分离效果的影响 实验中采用 BEH C_{18} 、BEH T_3 和 BEH phenyl 三种分离原理不同的色谱柱对样品体系中的 PhIP 进行分离,PhIP 的信号强度来对色谱柱进行筛选,结果如图 4 所示。由图 4 可知,BEH C_{18} 、BEH T_3 、BEH phenyl 三种色谱柱得到的 PhIP 保留时间分别为 3.44、3.49、4.49 min。但是使用 BEH C_{18} 柱进行分离时,拖尾现象非常明显。BEH T_3 柱的拖尾不明显,色谱峰却有轻微分叉。 C_{18} 柱和 T_3 柱分离效果不佳,是由于这两种色谱柱只能在反相 UPLC 条件下分离和保留极性有机化合物,对 PhIP 这样的极性杂环胺分离效果较差。而采用 BEH phenyl 柱得到的峰型对称性好,没有分叉现象。这与满正印等^[27]的结论相似,可能由于苯基柱能形成 p-p 共轭相互作用,对极性芳香族化合物的保留能力比 C_{18} 柱和 T_3 柱强。此外,苯基柱对含有苯环的目标物分离更有选择性,更利于 PhIP 的分离^[27]。因此,最终选择 BEH phenyl 柱进行 PhIP 的色谱分离。

2.3.2 流动相对分离效果的影响 本研究固定乙腈为流动相 A,分别考察了 0.1% 甲酸水和 3 mmol/L 乙酸铵为流动相 B 对 PhIP 的分离效果。Shah 等^[24]采用乙酸铵作为流动相,因其能使峰型得到改善,溶剂峰小,降低干扰性。乙酸铵容易残留在柱子中,对色谱柱损伤较大,且成本高,价钱昂贵。仲伶俐等^[28]采

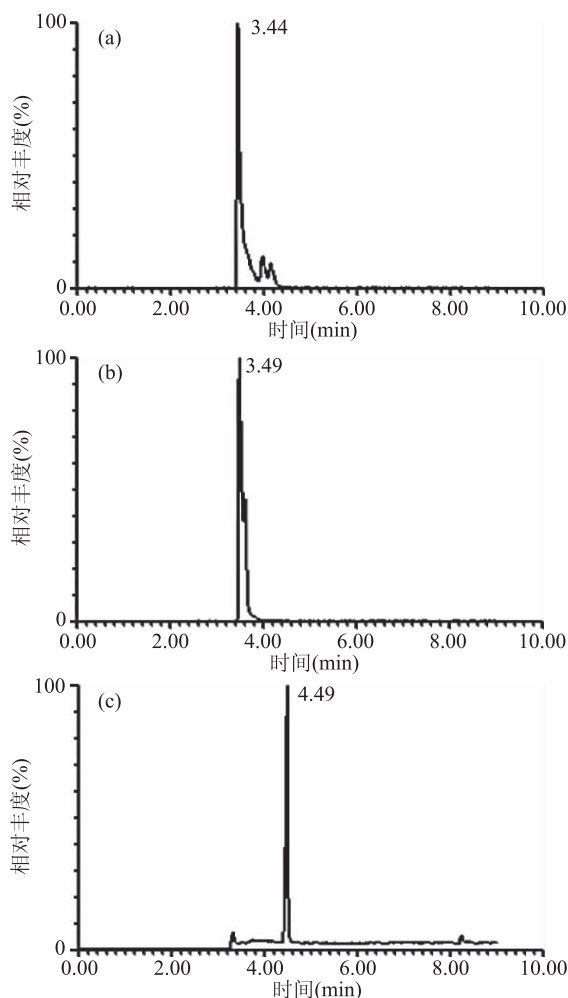


图4 采用不同色谱柱——BEH C₁₈(a)、BEH T₃(b)、BEH phenyl(c)对PhIP的分离效果影响

Fig.4 The effect of BEH C₁₈(a), BEH T₃(b)

and BEH phenyl column(c) on the isolation of PhIP

用选择 phenyl 色谱柱测定水果中萘衍生物,发现用乙腈-0.1%甲酸作为流动相能够改善色谱峰形,且对保留值并无影响,故本实验对比了0.1%甲酸水和乙酸铵分离 PhIP 的效果,结果如图5所示。由图5可知,采用0.1%甲酸水作为流动相B时,缩短了保留时间,且基线比采用乙酸铵时稳定,峰型较好。0.1%甲酸能提供质谱离子化时所需的 H⁺,促进分子的电离,保证化合物在质谱下的离子化,大大增强检测信号的强度^[29-30]。故本研究采用乙腈-0.1%甲酸水作

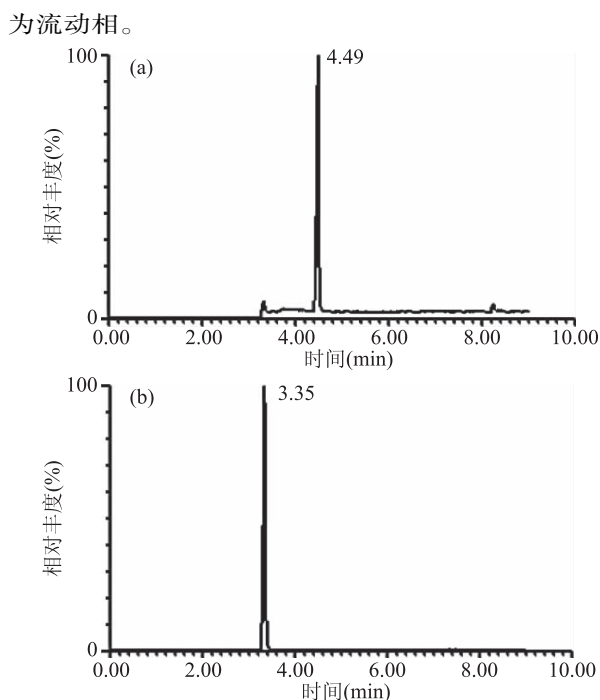


图5 采用流动相3 mmol/L 乙酸铵(a)和0.1%甲酸水(b)对PhIP的UPLC-MS/MS分离效果的影响
Fig.5 The effect of using 3 mmol/L ammonium acetate(a) and 0.1% formic acid(b) on the isolation of PhIP

2.4 样品前处理与检测方法的评价

2.4.1 线性范围、检出限和定量限 以对应的标准液浓度为 X 轴, PhIP 峰面积为 Y 轴绘制标准曲线,其线性关系和相关系数见表3,结果显示,本方法的线性范围为0.5~15 ng/mL,决定系数为0.999。添加标准溶液后,测得的 PhIP 定量限为0.332 ng/mL,检出限为0.110 ng/mL。

2.4.2 回收率和精密度 向空白样品中添加10、15、30 ng/mL三个浓度的 PhIP 标准品,测定的平均回收率见表4。加标水平为10、15、30 ng/mL时,新方法的平均收率分别为78.16%、81.22%、82.03%,试验中检测 PhIP 的相对标准偏差为6.32%、5.40%、4.28%,实验结果表明,冻干萃取法的稳定性和可重复性均较好。

3 结论

本研究对化学体系中 PhIP 的前处理和 UPLC-MS 检测方法进行了优化,重点研究了浓缩方式、萃取剂用量、萃取时间三个因素对 PhIP 提取效果的影

表3 冻干法应用于 PhIP 分析的方法学数据

Table 3 Methodology data for the freeze-drying method applied to the analysis of PhIP

杂环胺	线性范围(ng/mL)	回归方程	决定系数(R ²)	定性限(ng/mL)	定量限(ng/mL)
PhIP	0.5~15	y = 0.0268x + 0.0552	0.9990	0.110	0.332

表4 冻干法应用于 PhIP 分析的平均回收率实验结果

Table 4 Mean recoveries of freeze-drying method applied to the analysis of PhIP

杂环胺	添加水平					
	10 ng/mL		15 ng/mL		30 ng/mL	
	回收率(%)	精密度(%)	回收率(%)	精密度(%)	回收率(%)	精密度(%)
PhIP	78.16	6.32	81.22	5.40	82.03	4.28

响。将样品冻干处理后,采用 NaOH-乙酸乙酯 2:5 的比例进行萃取,可使 PhIP 得到比较完全的萃取。采用 Waters BEH phenyl 色谱柱,以乙腈-0.1% 甲酸为流动相进行梯度洗脱,可以得到对称性好的峰型。本方法检测 PhIP 的线性范围为 0.5~15 ng/mL,决定系数为 0.999,检出限为 0.110 ng/mL,定量限为 0.332 ng/mL,在加标水平为 10、15、30 ng/mL 时的平均收率分别为 78.16%、81.22%、82.03%,相对标准偏差(RSD)分别为 6.32%、5.40%、4.28%。本方法对样品前处理过程和检测条件进行了优化,可用于分析化学体系中的 PhIP 含量。目前国内对于化学体系中 PhIP 检测方法的报道还很少,本法的建立为探究化学体系中 PhIP 的有效抑制方法提供了检测依据。本方法操作简便、可重复性高,可作为测定化学模型中 PhIP 的有效方法。

参考文献

- [1] Felton J S, Fultz E, Dolbear F A, et al. Effect of microwave pretreatment on heterocyclic aromatic amine mutagens/carcinogens in fried beef patties [J]. Food and Chemical Toxicology, 1994, 32(10): 897-903.
- [2] Jinap S, Mohd-Mokhtar M S, Farhadian A, et al. Effects of varying degrees of doneness on the formation of heterocyclic aromatic amines in chicken and beef satay [J]. Meat Science, 2013, 94(2): 202-207.
- [3] Zheng W, Gustafson D R, Sinha R, et al. Well-done meat intake and the risk of breast cancer [J]. Journal of the National Cancer Institute, 1998, 90(22): 1724-1729.
- [4] Sinha R, Gustafson D R, Kulldorff M, et al. 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine, a carcinogen in high-temperature-cooked meat, and breast cancer risk [J]. Journal of the National Cancer Institute, 2000, 92(16): 1352-1354.
- [5] Murkovic M M M T A. Formation of heterocyclic aromatic amines in model systems [J]. Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2004, 802(1): 3-10.
- [6] 蒋智, 赵广华, 胡小松. 鸡肉中 2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑并[4,5-b]吡啶(PhIP)前处理条件优化及液相色谱串联四级杆质谱检测 PhIP 方法的建立 [J]. 食品工业科技, 2009(10): 326-329.
- [7] Shioya M, Wakabayashi K, Sato S, et al. Formation of a mutagen, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine(PhIP) in cooked beef, by heating a mixture containing creatinine, phenylalanine and glucose [J]. Mutat Res, 1987, 191(3): 133-138.
- [8] Puangsombat K, Gadgil P, Houser T A, et al. Occurrence of heterocyclic amines in cooked meat products [J]. Meat Science, 2012, 90(3): 739-746.
- [9] Weisburger J H, Nagao M, Wakabayashi K, et al. Tea polyphenols inhibit the formation of mutagens during the cooking of meat [J]. Mutation Research, 2002, 516(1): 19-22.
- [10] Cheng K W, Feng C, Wang M. Inhibitory activities of dietary phenolic compounds on heterocyclic amine formation in both chemical model system and beef patties [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2010, 51(8): 969-976.
- [11] Abdulkarim B G, Smith J S. Heterocyclic amines in fresh and processed meat products [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(11): 4680-4687.
- [12] Toribio F, Busquets R, Puignou L, et al. Heterocyclic amines in griddled beef steak analysed using a single extract clean-up procedure [J]. Food and Chemical Toxicology, 2006, 45(4): 667-675.
- [13] 李利洁, 范大明, 赵月亮, 等. 加热方式对 PhIP 及麩皮素加成物形成的影响 [J]. 中国食品学报, 2018, 18(9): 8-15.
- [14] Wong D, Cheng K W, Wang M. Inhibition of heterocyclic amine formation by water-soluble vitamins in Maillard reaction model systems and beef patties [J]. Food Chemistry, 2012, 133(3): 760-766.
- [15] Gonzalo L R, Rosales-Conrado N, Leon-Gonzalez M E, et al. Capillary liquid chromatography with diode array and mass spectrometry detection for heterocyclic aromatic amine determination in ready-to-eat food treated with electron-beam irradiation [J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(43): 6778-6784.
- [16] Ga G, A G. Quantitation of mutagenic/carcinogenic heterocyclic aromatic amines in food products [J]. Journal of Chromatography A, 1992, 592(1-2): 271-278.
- [17] Szterk A, Roszko M, Małek K, et al. Profiles and concentrations of heterocyclic aromatic amines formed in beef during various heat treatments depend on the time of ripening and muscle type [J]. Meat Science, 2012, 92(4): 587-595.
- [18] Calbiani F, Careri M, Elviri L, et al. Validation of an ion-pair liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry method for the determination of heterocyclic aromatic amines in meat-based infant foods [J]. Food Additives and Contaminants, 2007, 24(8): 833-841.
- [19] Khan M R, Busquets R, Santos F J, et al. New method for the analysis of heterocyclic amines in meat extracts using pressurised liquid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1194(2): 155-160.
- [20] Janoszka B, Błaszczuk U, Damasiewicz-Bodzek A, et al. Analysis of heterocyclic amines (HAs) in pan-fried pork meat and its gravy by liquid chromatography with diode array detection [J]. Food Chemistry, 2009, 113(4): 1188-1196.
- [21] Ristic A, Cichna M, Sontag G. Determination of less polar heterocyclic aromatic amines in standardised beef extracts and cooked meat consumed in Austria by liquid chromatography and fluorescence detection [J]. Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical & Life Sciences, 2004, 802(1): 87-94.
- [22] Toribio F, Moyano E, Puignou L, et al. Comparison of different commercial solid-phase extraction cartridges used to extract heterocyclic amines from a lyophilised meat extract [J]. Journal of Chromatography A, 2000, 880(1): 101-112.

(下转第 291 页)

- [39]周之辉,史奎雄,潘碧霞,等.牛初乳提取物(BCE)对老年人抗衰老作用的研究[J].营养学报,1994,16(2):169-172.
- [40]程光宇,唐梓进,吴京燕,等.活性初乳素对小鼠的抗衰老作用[J].南京师大学报:自然科学版,1996,19(3):69-72.
- [41]汪岱迪,金卫红,孟群,等.活性初乳素对受孕母鼠胎鼠生长发育的影响[J].南京师大学报:自然科学版,1997,20(1):60-63.
- [42]柏茂盛,赵建宁,洪叶.脂代谢与骨代谢信号通路及与骨代谢相关疾病的关系:理论进展与热点方向[J].中国组织工程研究,2018,22(20):3269-3274.
- [43]崔洪斌,那晓琳,方庆伟.大豆异黄酮对去卵巢大鼠脂、骨代谢的影响[J].中国公共卫生,2003,19(7):836-837.
- [44]史琳娜,苏宜香,杨春丽.大豆异黄酮对去势雌鼠血脂和

(上接第160页)

- [16]熊燕.金花茶多酚 HPMCP 微胶囊的制备及其抗氧化性研究[D].广西:广西大学,2011.
- [17]王爱萍,毛双法,林燕飞,等.人工胃肠液对纳豆激酶纤溶活性影响研究[J].食品安全质量检测学报,2018,9(18):4800-4803.
- [18]皇甫志杰,张维,李光哲,等.复凝聚法制备香味微胶囊及其缓释性能[J].印染,2017,43(24):13-17,25.
- [19]卢晓霞,许中畅,王田田,等.玉米多孔淀粉-海藻酸钠-壳聚糖-葡萄糖多酚缓释微胶囊的制备及表征[J].中草药,2016,47(13):2252-2259.
- [20]Tanzina Huq, Carole Frascini, Avik Khan, et al. Alginate based nanocomposite for microencapsulation of probiotic: Effect of

(上接第258页)

- [23]邵斌,彭增起,杨洪生,等.固相萃取-高效液相色谱法同时测定传统禽肉制品中的9种杂环胺类化合物[J].色谱,2011,29(8):755-761.
- [24]Shah F U, Barri T, JÅ Jönsson, et al. Determination of heterocyclic aromatic amines in human urine by using hollow-fibre supported liquid membrane extraction and liquid chromatography-ultraviolet detection system[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2008, 870(2):203-208.
- [25]肖正华,张翔鸿,张敏,等.乙酸乙酯萃取虫草素的量效关系研究[J].食品与发酵科技,2011,47(6):50-53.
- [26]邓燕莉,龚志华,胡雅蓓,等.乙酸乙酯萃取茶多酚的量效关系研究[J].分析测试学报,2009,28(10):1115-1120.

(上接第283页)

- [31]向志钢,李先辉,张永康.杜仲翅果油体外抗氧化能力研究[J].食品科学,2011,32(17):133-136.
- [32]曾维才,石碧.天然产物抗氧化活性的常见评价方法[J].化工进展,2013(6):1205-1213.
- [33]蹇宇,赵欣,等.抗消化淀粉对盐酸/乙醇诱导大鼠胃损伤的影响[J].中国粮油学报,2014,29(8):33-37.
- [34]毕云生,徐建江,李允江,等.胃得安片对应激性胃损伤

骨量的影响[J].食品科学,2002,23(2):116-118.

- [45]Potter S M, Baum J A, Teng H, et al. Soy protein and isoflavones: Their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women [J]. American Journal of Clinical Nutrition, 1998, 68:1375s-1379s.
- [46]Kim J H, Jung W S, Choi N J, et al. Health-promoting effects of bovine colostrum in Type 2 diabetic patients can reduce blood glucose, cholesterol, triglyceride and ketones [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2009, 20:298-303.
- [47]Davis P F, Greenhill N S, Rowan A M, et al. The safety of New Zealand bovine colostrum: Nutritional and physiological evaluation in rats [J]. Food and Chemical Toxicology, 2007, 45:229-236.

cellulose nanocrystal (CNC) and lecithin [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 168:61-69.

- [21]王婷婷.内源乳法制备干酪乳杆菌微胶囊及其在乳清发酵中应用[D].哈尔滨:东北农业大学,2016.
- [22]贾新超,徐建中,杨文江,等.微胶囊化虾青素的工艺优化[J].中国调味品,2017,42(8):57-62.
- [23]高丹丹,安文强,陈红.响应面法优化兰州百合多糖的提取工艺[J].食品工业科技,2013,34(5):226-229.
- [24]郑健姿,岳田利.魔芋葡甘聚糖为壁材的苹果多酚微胶囊制备及缓释[J].食品研究与开发,2017,38(24):48-52.
- [25]孟庆廷,陈万东.壳聚糖-海藻酸钠叶绿素亚铁微胶囊的制备及缓释性能研究[J].食品科学,2010,31(20):137-140.

[27]满正印,王全林,李和生,等.超高效液相色谱-三重四极杆质谱法同时测定美术颜料中33种游离态初级芳香胺[J].色谱,2014,32(12):1340-1348.

- [28]仲伶俐,李曦,郭灵安,等.超高效液相色谱-荧光检测法测定水果中3种茶衍生物[J].食品工业科技,2018,39(14):200-204.
- [29]冒玉娟,邢晓玲,沈小良,等.UPLC-MS/MS法测定鸡肉中阿维菌素类药物残留检测方法的建立[J].江苏农业科学,2018(15):146-150.
- [30]薛焕,金雁,于永丽.超高效液相色谱-串联三重四极杆线性离子阱质谱法同时检测猪肉中33种兽药残留[J].分析科学学报,2018(3):387-392.

模型大鼠胃功能及胃组织中EGF,EG-FR表达的影响[J].中国药房,2017,28(25):3528-3531.

- [35]蹇宇,索化夷,易若琨,等.干酪乳杆菌 Qian 增强京尼平苷对盐酸/乙醇诱导小鼠胃损伤的预防效果[J].食品科学,2017,38(21):230-240.
- [36]新华龙.单次大剂量电子线照射 SD 大鼠胃的损伤观察[D].石河子:石河子大学,2017.