

UPLC 法测定不同加工方式鹿茸中的生物胺成分

王燕华^{1,2}, 孙印石^{1,2*}, 王玉方¹, 陈宝², 霍晓慧¹, 刘畅¹, 张磊¹

(1. 中国农业科学院特产研究所, 吉林 长春 130112; 2. 吉林农业大学 中药材学院, 吉林 长春 130118)

摘要:首次应用超高效液相色谱法(UPLC)同时测定了鹿茸中10种生物胺组分的含量,比较了不同加工方式的鹿茸中生物胺的差异。鹿茸样品中的生物胺用0.4 mol/L高氯酸浸提,10 g/L丹磺酰氯衍生化,UPLC法定量分析。色谱柱为ACQUITY UPLC® BEH C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm),流动相为乙腈-水,柱温为35℃,流速为0.4 mL/min,检测波长为217 nm。结果显示,10种生物胺在一定浓度范围内呈良好线性关系,其相关系数为0.997 8~0.999 9,检出限为10.87~19.63 μg/L,回收率为71.6%~101%。煮炸茸和冻干茸蜡片、粉片、纱片、骨片4个部位的生物胺总量依次为312.33、176.88、105.31、55.674 mg/kg和291.77、152.85、114.49、74.73 mg/kg;排血茸蜡片、粉片、纱片、骨片4个部位的生物胺总量分别为357.07、226.26、125.18、77.74 mg/kg,带血茸的分别为343.42、216.72、125.15、76.16 mg/kg。就生物胺总量而言,冻干茸高于煮炸茸,排血茸高于带血茸,且按蜡片、粉片、纱片、骨片部位依次减少,不同部位之间差异显著($P < 0.05$)。

关键词:鹿茸;生物胺;加工方式;部位;比较;超高效液相色谱法(UPLC)

中图分类号:O657.72;O623.732 文献标识码:A 文章编号:1004-4957(2018)09-0995-07

Simultaneous Determination of Biogenic Amine in Cervi Cornu Pantotrichum Processed with Different Methods by UPLC

WANG Yan-hua^{1,2}, SUN Yin-shi^{1,2*}, WANG Yu-fang¹, CHEN Bao², HUO Xiao-hui¹,
LIU Chang¹, ZHANG Lei¹

(1. Institute of Special Wild Economic Animal and Plant, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130112, China; 2. College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: A method of ultra high performance liquid chromatography(UPLC) was developed for the simultaneous determination of 10 biogenic amine components in Cervi Curnu Pantotrichum(CCP), and the differences among the biogenic amines in Cervi Curnu Pantotrichum(CCP) processed with different methods were compared. Biogenic amines in the CCP samples were extracted with 0.4 mol/L perchloric acid, derivatized with dansyl chloride(DNCSI), then determined by UPLC. The optimal conditions were follows: chromatographic column: ACQUITY UPLC® BEH C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), mobile phase: acetonitrile-water, column temperature: 35℃, flow rate: 0.4 mL/min, detection wavelength: 217 nm. The calibration curves for 10 biogenic amines were linear in a certain concentration with their correlation coefficients of 0.997 8-0.999 9 and the detection limits of 10.87-19.63 μg/L. The recoveries ranged from 71.6% to 101%. The total biogenic amines in wax slice, powder slice, gauze slice and bone slice for the boiled CCP were 312.33, 176.88, 105.31 and 55.674 mg/kg, respectively, and that for the freeze-dried CCP were 291.77, 152.85, 114.49 and 74.73 mg/kg, respectively. Likewise, those in these 4 sections for the blood-drained CCP and the blood-filled CCP were 357.07, 226.26, 125.18 and 77.74 mg/kg, and 343.42, 216.72, 125.15 and 76.16 mg/kg, respectively. As a whole, the total biogenic amines in freeze-dried CCP were higher than that in boiled CCP, while those in blood-drained CCP were higher than that in blood-filled CCP. The total biogenic amines in CCP with 4 processing methods

收稿日期:2018-03-26;修回日期:2018-05-27

基金项目:吉林省科技发展计划项目(20170201034YY, 20170309002YY, 20170311027YY);中国农业科学院科技创新工程项目(CAAS-ASTIP-2016-ISAPS)

*通讯作者:孙印石,研究员,研究方向:特种动植物贮藏与产品研发, E-mail: sunyinshi2015@163.com

showed a trend of decline from wax slice downward to bone slice, and the differences in different sections were all significant ($P < 0.05$).

Key words: Cervi Cornu Pantotrichum; biogenic amines; processing methods; sections; comparative analysis; ultra high performance liquid chromatography (UPLC)

鹿茸是鹿科动物梅花鹿 *Cervus nippon* Temminck 或马鹿 *Cervus elaphus* Linnaeus 的雄鹿未骨化密生茸毛的幼角,前者习称“花鹿茸”,后者习称“马鹿茸”。夏、秋二季锯取鹿茸,经加工后,阴干或烘干^[1-2]即得。鹿茸的加工可分为排血加工和带血加工,按照干燥方式又可分为沸水煮炸和冷冻干燥。根据组织结构特征,整枝鹿茸由尖部至基部可分为蜡片、粉片、纱片、骨片4个部位。生物胺是一类具有生物活性、含氨基的低分子量化合物,主要由微生物氨基酸脱羧酶作用于氨基酸脱羧或经胺化醛和酮的转氨基作用而生成^[3-4]。生物胺广泛存在于鱼及其制品、发酵食品及饮料中^[4-6],是合成激素、碱基、核苷酸、蛋白质等的前体物质,适量摄入生物胺可促进生长、加速代谢、增强免疫力、清除自由基等,但摄入过量则会引起头疼、腹部痉挛、呕吐等不良生理反应^[5-11]。富含蛋白质的水产品、肉类及其制品中生物胺的含量与其品质密切相关,对产品的感官特性也有一定影响^[6],生物胺有望成为评价此类食品新鲜程度的一个指标^[11-13]。李可强等^[14]对不同加工方式的马鹿茸中腐胺的含量进行了对比分析,发现传统煮炸茸中腐胺的含量高于冻干茸,排血加工的腐胺含量高于带血加工,蜡片中含量最高,但未见有关不同加工方式或不同部位花鹿茸中生物胺含量差异的文献报道。本研究采用超高效液相色谱法(UPLC)同时检测鹿茸中的10种生物胺组分,并对不同加工方式及不同部位的花鹿茸中生物胺的含量进行对比分析,旨在为鹿茸的加工及质量控制提供科学依据。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

ACQUITY UPLC H-Class 超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); EX125DZH 电子天平(奥豪斯仪器有限公司); MS204S 电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); Milli-Q Advantage A10 超纯水器(美国 Millipore 公司); XW-80A 微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器厂有限公司); JP-100ST 超声清洗机(广州市洁盟超声波清洗设备有限公司); QYC-2102C 恒温培养摇床(上海福玛实验设备有限公司); TGL-16G 高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

盐酸、无水碳酸钠、丙酮、氨水(分析纯,北京化工厂); 乙腈(色谱纯,美国 Fisher 公司); 丹磺酰氯(上海源叶生物科技有限公司); 高氯酸(分析纯,成都金山化学试剂有限公司)。

对照品购自上海源叶生物科技有限公司。色胺(批号即 LOT 为: KM0522YB14), 2-苯乙胺(LOT: T28M6C1), 腐胺(LOT: L05D6S7162), 尸胺二盐酸盐(LOT: P1069349), 组胺(LOT: Y22F8J29786), 5-羟色胺盐酸盐(LOT: B01022DA14), 酪胺盐酸(LOT: XJ0704XA14), 亚精胺(LOT: A29M7L12090), 多巴胺盐酸盐(LOT: S05J6G2), 精胺(LOT: B10D7L26660)。

对照品溶液的配制: 准确称取色胺、腐胺、尸胺二盐酸盐、组胺、5-羟色胺盐酸盐、酪胺盐酸、亚精胺、多巴胺盐酸盐、精胺各 5 mg, 移取 2-苯乙胺 100 μL , 置于 10 mL 容量瓶中, 以 0.1 mol/L 盐酸溶解并定容, 配制成单标储备液。准确量取各单标溶液 2 mL 于 25 mL 容量瓶中, 用 0.1 mol/L 盐酸定容, 配制成混合标准液母液。

1.2 实验材料

鲜鹿茸购自吉林省双阳区鹿乡镇,经中国农业科学院特产研究所李春义研究员鉴定,为梅花鹿(*Cervus nippon* Temminck)的茸角(二杠)。参考文献方法^[15],随机取3副鲜鹿茸进行煮炸与冻干的对比加工,加工完成的鹿茸分别称为“煮炸茸”(CCP with boiling process, Boil)和“冻干茸”(CCP with freeze-drying technology, Freeze);取3副鲜鹿茸进行排血与带血的对比加工,加工完成的鹿茸分别称为“排血茸”(blood-drained CCP, Drain)和“带血茸”(blood-filled CCP, Fill)。每种加工方式的鹿茸按蜡片(Wax slice)、粉片(Powder slice)、纱片(Gauze slice)、骨片(Bone slice)、整枝(Entire)分为5个样品。

1.3 样品处理

1.3.1 鹿茸样品生物胺试液的制备 参考文献方法^[16], 准确称取鹿茸样品粉末 0.20 g, 置于 4 mL 离心管中, 加入 0.4 mol/L 高氯酸 2.0 mL, 静置过夜, 超声 10 min, 10 000 r/min 离心 10 min。

1.3.2 生物胺的衍生化 参考文献方法^[16], 准确吸取鹿茸生物胺提取液 0.5 mL 于 4 mL 离心管中, 加 0.9 mL 饱和碳酸钠溶液、0.5 mL 丹磺酰氯溶液(10 g 丹磺酰氯/L 丙酮), 涡旋混匀, 置于控温摇床, 40 ℃ 避光振摇 1 h。振摇结束后, 加 100 μL 氨水终止反应, 用 1.0 mL 乙腈萃取目标物, 6 000 r/min 离心 5 min, 上层液过 0.22 μm 滤膜, 上机备用。

1.4 色谱条件

色谱柱: ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm)。流动相: 乙腈(A) - 水(B)。洗脱程序: 0~5 min, 55%~95% A; 5~6 min, 95% A; 6~7 min, 95%~55% A; 7~9 min, 55% A。柱温 35 ℃, 流速 0.4 mL/min, 进样量 3 μL, 检测波长 217 nm。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化

2.1.1 流动相的选择 生物胺属于有机碱, 部分组分呈现一定的碱性, 进行色谱分析时可能会出现拖尾。乙酸铵溶液与甲醇、乙腈等常见流动相混溶, 具有较强的缓冲能力, 常被用作改良剂添加到分析不同 pH 值化合物的流动相中, 以减少次级保留, 改善峰形, 提高积分准确度。但高浓度乙腈洗脱易导致乙酸铵出现盐析现象, 造成铵盐残留在色谱柱中。进一步考察了未添加乙酸铵的乙腈 - 水作为流动相时的效果, 结果显示, 10 种生物胺组分能基线分离, 拖尾现象不明显。原因可能是通过衍生化反应, 生物胺转化为酰胺类成分, 碱性变弱甚至消失, 且反应副产物及过量的衍生试剂不干扰目标物的分离。因此, 本实验选择未添加乙酸铵的乙腈 - 水作为流动相。

2.1.2 洗脱程序的确定 实验尝试采用 50%、55%、60% 乙腈作为初始洗脱梯度, 结果表明, 以 50% 乙腈作为初始条件时出峰杂乱, 不能将 10 种生物胺成分分开; 55% 乙腈初始洗脱时, 10 种生物胺组分可基线分离, 且无明显拖尾; 60% 乙腈作为初始梯度时, 虽然整体保留时间提前, 10 种组分全部洗脱出峰, 且峰宽均匀一致, 但尸胺与组胺的分离效果不佳。因此, 最终采用 55% 乙腈作为初始洗脱梯度。

2.1.3 检测波长的选择 10 种生物胺衍生物的最大吸收波长为 215.6~218.0 nm, 选择 217 nm 作为检测波长, 可使 10 种生物胺组分的峰高达到最大, 易于观察和分析生物胺对照品谱图及鹿茸样品的色谱图(见图 1)。

2.2 方法学考察

2.2.1 线性范围与检出限 混合标准母液中 10 种生物胺的质量浓度分别为 25.00、38.49、22.24、35.80、23.88、30.16、21.64、16.00、31.28、23.56 mg/L。分别准确吸取 20 mg/L 生物胺混合标准溶液母液 0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 mL, 置于 5 mL 容量瓶中, 用 0.1 mol/L 盐酸稀释定容, 按“1.3.2”方法进行衍生化并上机测定。以 10 种生物胺的质量浓度为横坐标, 对应峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。10 种生物胺具有良好的线性关系, 相关系数为 0.997 8~0.999 9。将最低浓度的各生物胺标准溶液逐级稀释, 以 3 倍噪音响应值对应的浓度作为检出限, 10 倍噪音响应值对应的浓度为定量下限(见表 1)。

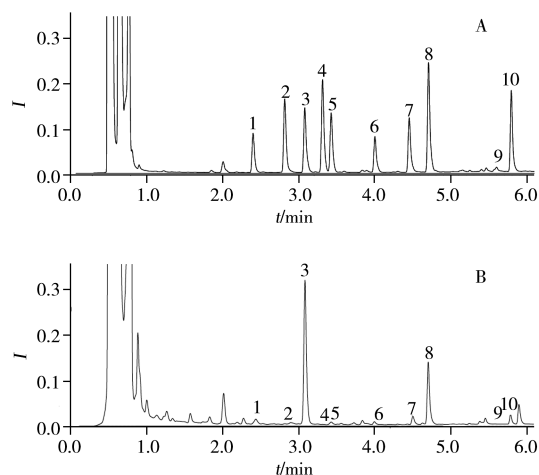


图 1 生物胺对照品(A)与鹿茸样品(B)的色谱图
Fig. 1 UPLC chromatograms of biogenic amine standard reference substances (A) and CCP sample (B)
1. Try; 2. 2-Phe; 3. Put; 4. Cad; 5. His; 6. 5-HT;
7. Tyr; 8. Spd; 9. Dop; 10. Spm

表1 10种生物胺的相关系数(r)、线性范围、检出限及定量下限
Table 1 Correlation coefficients(r), linear ranges, limits of detection(LODs) and limits of quantitation(LOQs) of ten biogenic amines

Biogenic amine	r	Linear range(mg/L)	LOD($\mu\text{g/L}$)	LOQ($\mu\text{g/L}$)
Tryptamine(色胺, Try)	0.999 9	1.25~25.00	10.87	36.23
2-Phenethylamine(2-苯乙胺, 2-Phe)	0.999 8	1.92~38.49	13.67	45.57
Putrescine dihydrochloride(腐胺, Put)	0.999 7	1.11~22.24	13.92	46.40
Cadaverine dihydrochloride(尸胺, Cad)	0.999 8	1.79~35.80	16.54	55.13
Histamine(组胺, His)	0.999 6	1.19~23.88	12.19	40.63
Serotonin hydrochloride(5-羟色胺, 5-HT)	0.998 8	1.51~30.16	16.84	56.13
Tyramine hydrochloride(酪胺, Tyr)	0.999 6	1.08~21.64	19.63	65.43
Spermidine(亚精胺, Spd)	0.999 6	0.80~16.00	12.72	42.40
Dopamine hydrochloride(多巴胺, Dop)	0.997 8	1.56~31.28	11.85	39.50
Spermine(精胺, Spm)	0.998 7	1.18~23.56	15.48	51.60

2.2.2 精密度、稳定性与重复性 取4 mg/L混合标准溶液,连续进样6次,按“1.4”色谱条件上机测试,各成分峰面积的相对标准偏差(RSD)为0.10%~1.2%,说明仪器精密度良好。取排血茸纱片的供试样品溶液,按“1.4”色谱条件分别于0、2、4、6、8、10、12、16 h进样,对各成分峰面积积分,计算得RSD为0~1.9%,说明样品的稳定性良好。准确称取0.20 g排血茸纱片各6份,按“1.3”方法制备供试样品溶液,按“1.4”色谱条件上机测试,对各成分峰面积积分,得RSD为0~4.2%,说明样品的重复性良好。

2.2.3 回收率试验 向鹿茸样品中分别添加2、4、8 mg/L 3个水平的生物胺混合对照品溶液,每个水平做5个平行,按“1.3”方法制备供试品溶液,按“1.4”色谱条件上机测试,计算加标回收率及RSD(表2)。样品加标回收率为71.6%~101%,RSD为0.70%~11.4%。表2中部分化合物的回收率偏低,可能是由于样品的制备需经衍生化,增加了标准物质的损失概率。

表2 10种生物胺的加标回收率及相对标准偏差
Table 2 Spiked recoveries and RSDs of 10 biogenic amines

Biogenic amine	Added 2 mg/L		Added 4 mg/L		Added 8 mg/L	
	Recovery(%)	RSD(%)	Recovery(%)	RSD(%)	Recovery(%)	RSD(%)
Try	74.6	8.9	81.5	6.3	86.1	3.2
2-Phe	73.2	7.6	79.3	5.5	87.6	2.4
Put	82.4	3.3	94.3	4.4	96.5	3.0
Cad	86.7	5.7	91.6	3.2	87.2	0.70
His	79.3	6.8	92.5	4.8	95.0	2.4
5-HT	74.7	8.1	76.6	5.1	84.3	0.95
Tyr	71.6	11.4	79.8	7.3	84.9	5.3
Spd	84.9	9.1	89.6	6.4	101	4.1
Dop	77.4	6.8	79.0	4.8	86.0	1.8
Spm	72.6	7.5	80.6	5.6	86.2	2.9

2.3 实际样品的检测

准确称取鹿茸样品0.20 g,平行3个,按“1.3”方法制备供试样品溶液,按“1.4”色谱条件上机测试。

2.3.1 煮炸茸与冻干茸中生物胺的对比分析 由表3可知,煮炸茸蜡片、粉片、纱片、骨片部位腐胺的含量依次为102.75、119.04、74.49、32.84 mg/kg,均高于冻干茸,且分别为冻干茸相应部位的1.66、1.73、1.69、1.53倍。煮炸茸与冻干茸蜡片部位亚精胺含量分别为114.20 mg/kg和107.96 mg/kg,二者差异不显著($P>0.05$);冻干茸粉片、纱片、骨片部位中亚精胺含量依次为43.05、32.75、25.06 mg/kg,高于煮炸茸的20.77、1.62、2.63 mg/kg,且均差异显著($P<0.05$)。冻干茸蜡片、粉片、纱片、骨片部位精胺的含量依次为96.62、22.41、20.90、15.82 mg/kg,显著高于煮炸茸,且分别为煮炸茸相应部位的1.47、2.26、7.04、3.90倍。煮炸茸蜡片、粉片、纱片、骨片部位的酪胺含量分别为15.18、10.05、7.75、5.70 mg/kg,高于冻干茸相应部位,且均差异显著($P<0.05$)。煮炸茸不同部位多巴胺的含量在7.97~11.57 mg/kg之间,冻干茸在8.36~9.57 mg/kg之间。组胺、色胺、

2-苯乙胺在煮炸茸与冻干茸中的含量均很少, 且在不同部位间的分布规律不明显。5-羟色胺与尸胺在冻干茸中未检出, 其中5-羟色胺仅在煮炸茸蜡片和纱片中测出, 含量分别为 1.36 mg/kg 和 1.56 mg/kg, 尸胺仅在煮炸茸纱片中测出, 含量为 0.96 mg/kg。

表3 煮炸茸和冻干茸中的生物胺含量(mg/kg)

Table 3 Biogenic amine content in CCP with boiling process and freeze-drying technology(mg/kg)

Compound	Wax slice		Powder slice		Gauze slice		Bone slice		Entire	
	Boil	Freeze	Boil	Freeze	Boil	Freeze	Boil	Freeze	Boil	Freeze
Try	2.56 ± 0.06 ^b	2.68 ± 0.18 ^b	2.09 ± 0.15 ^c	1.68 ± 0.04 ^d	6.77 ± 0.36 ^a	1.85 ± 0.14 ^{cd}	0.90 ± 0.06 ^f	- *	1.76 ± 0.14 ^d	1.39 ± 0.08 ^e
2-Phe	0.64 ± 0.01 ^a	0.57 ± 0.04 ^b	0.66 ± 0.06 ^a	0.41 ± 0.02 ^{de}	0.39 ± 0.02 ^e	0.45 ± 0.03 ^{cd}	0.30 ± 0.01 ^f	0.23 ± 0.01 ^g	0.43 ± 0.03 ^{cde}	0.46 ± 0.01 ^c
Put	102.75 ± 8.85 ^b	62.01 ± 4.17 ^e	119.04 ± 3.97 ^a	68.76 ± 0.07 ^d	74.49 ± 0.76 ^d	44.12 ± 1.20 ^g	32.84 ± 0.33 ^h	21.50 ± 0.35 ⁱ	93.02 ± 1.08 ^c	52.28 ± 1.05 ^f
Cad	-	-	-	-	0.96 ± 0.03 ^a	-	-	-	-	-
His	1.13 ± 0.02 ^e	3.99 ± 0.33 ^a	2.78 ± 0.02 ^b	1.34 ± 0.12 ^d	0.85 ± 0.06 ^f	1.75 ± 0.05 ^c	-	0.92 ± 0.04 ^{ef}	1.69 ± 0.07 ^c	1.36 ± 0.11 ^d
5-HT	1.36 ± 0.09 ^b	-	-	-	1.56 ± 0.10 ^a	-	-	-	-	-
Tyr	15.18 ± 0.08 ^a	9.50 ± 0.49 ^e	10.05 ± 0.50 ^b	5.63 ± 0.07 ^{ef}	7.75 ± 0.12 ^d	4.20 ± 0.09 ^g	5.70 ± 0.21 ^e	2.84 ± 0.23 ^h	7.71 ± 0.42 ^d	5.17 ± 0.18 ^f
Spd	114.20 ± 10.96 ^a	107.96 ± 7.93 ^a	20.77 ± 0.88 ^e	43.05 ± 0.77 ^e	1.62 ± 0.08 ^f	32.75 ± 0.87 ^d	2.63 ± 0.06 ^f	25.06 ± 0.49 ^e	9.54 ± 0.44 ^f	50.65 ± 1.35 ^b
Dop	8.66 ± 0.52 ^{bcd}	8.43 ± 0.57 ^{cd}	11.57 ± 0.71 ^a	9.57 ± 0.43 ^b	7.97 ± 0.30 ^d	8.47 ± 0.22 ^{cd}	9.25 ± 0.56 ^{bcd}	8.36 ± 0.09 ^{cd}	9.54 ± 0.44 ^b	8.63 ± 0.85 ^{bcd}
Spm	65.86 ± 6.41 ^b	96.62 ± 3.97 ^a	9.93 ± 0.38 ^f	22.41 ± 0.40 ^d	2.97 ± 0.09 ^g	20.90 ± 0.59 ^d	4.06 ± 0.04 ^g	15.82 ± 0.35 ^e	6.37 ± 0.09 ^g	31.48 ± 0.49 ^c

* : content is below the detection limit or the quantitative limit; a-h: the significant difference at the level of $P=0.05$; the same number on the same line with the same letter means no significant difference ($P>0.05$), otherwise it means that there is a significant difference ($P<0.05$)

所测 10 种生物胺总量在煮炸茸与冻干茸不同部位的分布趋势一致, 即蜡片 > 粉片 > 纱片 > 骨片, 煮炸茸与冻干茸蜡片部位的生物胺总量分别为 312.33 mg/kg 和 291.77 mg/kg, 二者差异显著 ($P<0.05$)。煮炸茸粉片部位的生物胺总量为 176.88 mg/kg, 显著高于冻干茸的 152.85 mg/kg ($P<0.05$)。两种加工方式鹿茸纱片部位的生物胺总量分别为 105.31 mg/kg 和 114.49 mg/kg, 二者无显著性差异 ($P>0.05$)。煮炸茸骨片部位的生物胺总量为 55.674 mg/kg, 低于冻干茸的 74.73 mg/kg, 差异显著 ($P<0.05$)。整体上, 煮炸茸中生物胺总量低于冻干茸, 且差异显著 ($P<0.05$), 与李可强等^[14]的结论不一致。可能与样品群体差异性 or 储藏环境有关, 有待进一步分析证明。

2.3.2 排血茸与带血茸中生物胺的对比分析 由表 4 可知, 排血茸中检测到 9 种生物胺, 其中 5-羟色胺只在蜡片中检出, 含量为 2.08 mg/kg; 本实验所测 10 种生物胺均在带血茸中检出, 与排血茸相同, 只在蜡片中检测到 5-羟色胺, 含量为 1.58 mg/kg。尸胺在鹿茸中的含量很低, 仅测出带血茸骨片中含有 0.02 mg/kg。腐胺、亚精胺、精胺的含量较高。腐胺在排血茸与带血茸中的分布均以粉片部位最高, 分别达 155.63 mg/kg 和 147.23 mg/kg, 二者差异显著 ($P<0.05$); 蜡片、纱片、骨片部位的腐胺含量依次减少。排血茸蜡片部位的腐胺为 125.24 mg/kg, 分别是纱片、骨片部位的 1.28 和 2.28 倍。带血茸蜡片部位的腐胺为 118.62 mg/kg, 与排血茸蜡片部位差异显著 ($P<0.05$); 纱片、骨片部位分别含腐胺 92.47 mg/kg 和 51.93 mg/kg。亚精胺在排血茸与带血茸中的分布呈现蜡片、粉片、骨片、纱片依次减少的趋势。两种加工方式下鹿茸蜡片部位的亚精胺含量分别为 122.18 mg/kg 和 114.61 mg/kg, 二者差异显著 ($P<0.05$)。精胺在不同部位的分布规律与腐胺一致。排血茸蜡片、粉片、纱片、骨片部位的精胺含量分别为 71.44、11.63、2.95、3.12 mg/kg。带血茸蜡片部位含精胺 74.55 mg/kg, 高于排血茸, 且差异显著 ($P<0.05$)。精胺在带血茸粉片、纱片、骨片部位的含量与排血茸无显著性差异 ($P>0.05$)。酪胺在蜡片、粉片、纱片、骨片部位的含量逐渐减少, 排血茸中依次为 15.49、11.53、7.74、6.57 mg/kg, 带血茸中分别为 14.93、10.23、7.77、6.35 mg/kg; 同种加工方式不同部位之间均有显著性差异 ($P<0.05$)。与酪胺相比, 多巴胺在排血茸与带血茸不同部位的分布相对均匀。排血茸蜡片、粉片、纱片、骨片中多巴胺的含量分别为 10.42、11.52、10.12、9.27 mg/kg, 带血茸中相应部位依次为 9.40、11.67、9.76、11.61 mg/kg; 带血茸骨片部位的多巴胺含量高于排血茸, 差异显著 ($P<0.05$)。排血茸与带血茸骨片部位均未检出组胺, 在排血茸和带血茸蜡片、粉片、纱片中组胺的含量依次为 4.12 mg/kg 和 4.19 mg/kg、2.42 mg/kg 和 2.05 mg/kg、0.59 mg/kg 和 0.28 mg/kg, 均呈现蜡片、粉片、纱片、骨片依次减少的趋势。2-苯乙胺在鹿茸不同部位的分布无明显规律, 且含量较少。

对生物胺总量进行分析发现, 排血茸蜡片、粉片、纱片、骨片部位的总量分别为 357.07、226.26、

125.18、77.74 mg/kg, 均高于带血茸相应部位的含量 343.42、216.72、125.15、76.16 mg/kg。排血茸的生物胺总量高于带血茸, 二者差异显著($P < 0.05$), 与李可强等^[14]的结论一致。两种加工方式鹿茸的生物胺总量在不同部位的分布均表现为蜡片、粉片、纱片、骨片逐渐减少, 不同部位之间差异显著($P < 0.05$)。

表4 排血茸和带血茸中的生物胺含量(mg/kg)
Table 4 Biogenic amine content in blood-drained CCP and blood-filled CCP(mg/kg)

Compound	Wax slice		Powder slice		Gauze slice		Bone slice		Entire	
	Drain	Fill	Drain	Fill	Drain	Fill	Drain	Fill	Drain	Fill
Try	5.24 ± 0.08 ^b	4.87 ± 0.25 ^{bc}	2.33 ± 0.22 ^e	4.68 ± 0.35 ^e	4.95 ± 0.31 ^{bc}	11.02 ± 0.65 ^a	2.54 ± 0.04 ^e	1.76 ± 0.13 ^f	3.58 ± 0.16 ^d	2.19 ± 0.13 ^{ef}
2-Phe	0.80 ± 0.06 ^e	0.68 ± 0.02 ^d	1.30 ± 0.13 ^a	0.68 ± 0.04 ^d	0.49 ± 0.03 ^e	0.36 ± 0.02 ^f	0.34 ± 0.03 ^{bc}	0.26 ± 0.01 ^g	0.69 ± 0.01 ^d	0.99 ± 0.04 ^b
Put	125.24 ± 4.75 ^c	118.62 ± 2.77 ^d	155.63 ± 4.36 ^a	147.23 ± 6.08 ^b	97.61 ± 1.74 ^{ef}	92.47 ± 2.39 ^f	54.92 ± 0.93 ^g	51.93 ± 1.32 ^g	102.74 ± 2.20 ^e	100.85 ± 3.30 ^e
Cad	-*	-	-	-	-	-	-	0.02 ± 0.00 ^a	-	-
His	4.12 ± 0.10 ^a	4.19 ± 0.10 ^a	2.42 ± 0.10 ^b	2.05 ± 0.04 ^c	0.59 ± 0.02 ^e	0.28 ± 0.02 ^f	-	-	0.92 ± 0.04 ^d	0.50 ± 0.04 ^e
5-HT	2.08 ± 0.20 ^a	1.58 ± 0.12 ^b	-	-	-	-	-	-	-	-
Tyr	15.49 ± 0.81 ^a	14.93 ± 0.39 ^a	11.53 ± 1.14 ^b	10.23 ± 0.19 ^c	7.74 ± 0.45 ^e	7.77 ± 0.05 ^e	6.57 ± 0.26 ^f	6.35 ± 0.11 ^f	9.28 ± 0.62 ^d	9.41 ± 0.32 ^d
Spd	122.18 ± 2.11 ^a	114.61 ± 4.18 ^b	29.72 ± 1.97 ^c	26.72 ± 1.92 ^c	0.73 ± 0.04 ^e	0.61 ± 0.01 ^e	0.99 ± 0.04 ^e	1.08 ± 0.08 ^e	27.21 ± 1.57 ^c	18.06 ± 0.51 ^d
Dop	10.42 ± 0.39 ^{bc}	9.40 ± 0.52 ^{cd}	11.52 ± 1.14 ^{ab}	11.67 ± 0.29 ^{ab}	10.12 ± 1.33 ^{bc}	9.76 ± 0.91 ^c	9.27 ± 0.81 ^{cd}	11.61 ± 0.44 ^{ab}	8.16 ± 0.54 ^d	12.28 ± 1.17 ^a
Spm	71.44 ± 0.13 ^b	74.55 ± 3.56 ^a	11.63 ± 0.62 ^d	11.42 ± 0.47 ^d	2.95 ± 0.06 ^e	2.89 ± 0.09 ^e	3.12 ± 0.05 ^e	3.15 ± 0.03 ^e	17.62 ± 1.40 ^e	10.31 ± 0.25 ^d

*: the content is below the detection limit or the quantitative limit; a-h represent the significant difference at the level of $P = 0.05$; the same number on the same line with the same letter means no significant difference ($P > 0.05$), otherwise it means that there is a significant difference ($P < 0.05$)

2.3.3 鹿茸中的生物胺组分 鹿茸中含有本实验所测 10 种生物胺组分, 但尸胺和 5-羟色胺的含量很低, 仅在 1×10^0 mg/kg 数量级甚至更低, 冻干茸中未检出。腐胺含量最高, 达 1×10^2 mg/kg, 与李可强等^[14]的报道一致。精胺、亚精胺次之, 含量在 $(1 \sim 5) \times 10^2$ mg/kg。鹿茸中酪胺、多巴胺的含量在 1×10^1 mg/kg 左右。色胺、2-苯乙胺、组胺的含量仅在 $(0 \sim 0.5) \times 10^1$ mg/kg。不同加工方式的鹿茸中生物胺总量在 129.16 ~ 170.20 mg/kg 之间, 整体表现为冻干茸高于煮炸茸, 排血茸高于带血茸。

2.4 生物胺的限量标准

联合国粮食和农业组织(FAO)和世界卫生组织(WHO)于 2012 年联合公布了水产品中生物胺的风险会议报告。美国规定水产品中组胺的含量不得超过 50 mg/kg; 欧盟规定食品中组胺的含量不得超过 100 mg/kg, 酪胺含量不得超过 100 ~ 800 mg/kg; 我国规定鲑鱼中组胺的含量不得超过 1 000 mg/kg, 其他海产鱼类中不超过 300 mg/kg。根据以上标准, 鹿茸中的组胺和酪胺均远低于限量值。目前尚无鹿茸中生物胺的限量标准, 原因可能是生物胺更易在发酵食品中生成, 鹿茸中的生物胺含量远低于生物胺的危害值, 即在安全范围内。

3 结论

本文对不同加工方式花鹿茸中的 10 种生物胺按不同部位分别进行了考察, 结果显示, 鹿茸中的生物胺总量在不同部位具有明显的分布规律, 即蜡片部位 > 粉片部位 > 纱片部位 > 骨片部位, 整体表现为冻干茸高于煮炸茸, 排血茸高于带血茸。研究结果有望为鹿茸质量标准的建立及鹿茸产品开发提供理论依据。

参考文献:

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. *Chinese Pharmacopoeia; Part 1* (国家药典委员会. 中国药典: 一部). **2015**: 323.
- [2] Huang Y M, Gao M, Wu Z J, Ye Z L, Ma E Y, Zhu Q L, Wu S Q, Chen P Y. *Pharm. Today*(黄玉梅, 高明, 吴志坚, 叶志龙, 马恩耀, 朱启亮, 吴生齐, 陈佩毅. 今日药学), **2017**, 27(8): 537-539.
- [3] Redruello B, Ladero V, Del Rio B, Fernández M, Martín M. C, Alvarez M A. *Food Chem.*, **2017**, 217(4): 117-124.
- [4] Chatzimitikos T, Exarchou V, Ordoudi S A, Fiamegos Y, Stalikas C. *Food Chem.*, **2016**, 202(13): 445-450.
- [5] Linares D M, del Rio B, Redruello B, Ladero V, Martín M C, Fernandez M, Ruas-Madiedo P, Alvarez M A. *Food Chem.*, **2016**, 197(7A): 658-663.

- [6] Alvarez M A, Moreno - Arribas M V. *Trends Food Sci. Technol.*, **2014**, 39(2): 146 - 155.
- [7] del Rio B, Redruello B, Linares D M, Ladero V, Fernandez M, Martin M C, Martin M C, Alvarez M A. *Food Chem.*, **2017**, 218(5): 249 - 255.
- [8] Ata Ş, Akyüz M, Çabuk H. *J. Sci. Food Agric.*, **2017**, 97(5): 1427 - 1432.
- [9] Galitsopoulou A, Michaelidou A M, Menexes G, Alichanidis E. *Food Chem.*, **2015**, 173(8): 80 - 85.
- [10] Loizzo M R, Menichini F, Picci N, Puoci F, Spizzirri U G, Restuccia D. *Trends Food Sci. Technol.*, **2013**, 30(1): 38 - 55.
- [11] Omanovic - Miklicanin E, Valzacchi S. *Food Chem.*, **2017**, 235(22): 98 - 103.
- [12] Daniel D, dos Santos V B, Vidal D T R, do Lago C L. *J. Chromatogr. A*, **2015**, 1416(42): 121 - 128.
- [13] Rodriguez M B R, Conte - Junior C A, Carneiro C S, Lázaro C A, Mano S B. *J. Food Process Preserv.*, **2015**, 39(6): 2043 - 2048.
- [14] Li K Q, Shen H W, Chen B, Zheng H X, Zhang Z Q, Li F. *Liaoning J. Tradit. Chin. Med.* (李可强, 沈红薇, 陈斌, 郑洪新, 张振秋, 李峰. 辽宁中医杂志), **2011**, 38(10): 2051 - 2052.
- [15] Li H P, Wang C S. *Deer Breeding Ecologically*. Beijing: China Agricultural Press(李和平, 王春生. 生态养鹿. 北京: 中国农业出版社), **2011**.
- [16] Zeng L W, Cai X Y, Wu Y J, Liang Z Y, Meng W L. *Food Saf. Qual. Detect. Technol.* (曾立威, 蔡翔宇, 吴玉杰, 梁政洋, 蒙韦玲. 食品安全质量检测学报), **2017**, 8(3): 968 - 974.

欢迎订阅 欢迎投稿 欢迎刊登广告

《分析测试学报》

国内刊号: CN 44 - 1318/TH
国际刊名化代码 CODEN: FCEXES
国外代号: BM 6013

国际标准刊号: ISSN 1004 - 4957
邮发代号: 46 - 104
广告经营许可证: 440000100186

《分析测试学报》是由中国广州分析测试中心、中国分析测试协会共同主办的全国性学术刊物, 中文核心期刊。刊登质谱学、光谱学、色谱学、波谱学、电化学、电子显微学等方面的分析测试新理论、新方法、新技术的研究成果, 介绍新仪器装置及在生物、医药、化学化工、商检、食品检验等方面实用性强的实验技术。适合科研院所、高等院校、检测机构、医药、卫生以及厂矿企业分析测试工作和管理人员阅读。

经过多年的发展, 本刊已成为国内知名的化学类核心期刊。2017 版《中国科技期刊引证报告(核心版) 自然科学卷》中, 本刊的影响因子为 1.382, 被引频次为 2 773, 在全国化学类 38 种核心刊物中排名均为第 4, 稿源丰富, 基金论文比超过 70%。近几年, 本刊刊发的论文被 CA(美国化学文摘) 收录率达 94%, 2006 年引文频次在 CA 千种表中国部分中列第 38 名, 并被国际上其它知名的数据库如日本科技文献速报、俄罗斯文摘、英国分析文摘(AA)、《质谱公报》等收录。在《中文核心期刊要目总览》2011 年版的化学类期刊列第 9 位; 入选 2012 年度“中国国际影响力优秀学术期刊”、2017 年度“第四届中国精品科技期刊”和 2017 年度“第六届广东省精品科技期刊”; 进入由全国 8 000 种期刊遴选出的 500 种科技期刊组成的“中国科技期刊精品数据库”; 本刊是中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED) 统计源; 中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊); 《中国科学引文数据库》来源期刊; 中国期刊全文数据库(CJFD) 收录期刊; 《中国核心期刊(遴选) 数据库》收录; 《中国学术期刊(光盘版) 》全文收录期刊; 《中国期刊网》全文收录期刊; 《中国学术期刊文摘(中、英文版) 》源期刊。

本刊为月刊, 国内外公开发行。大 16 开, 单价: 18.00 元/册, 全年 216 元。请在全国各地邮局订阅。未在邮局订到者可直接向本编辑部补订。补订办法: 请从邮局汇款至广州市先烈中路 100 号《分析测试学报》编辑部, 邮编: 510070, 写明订户单位、详细地址、收刊人姓名、邮编及补订份数(全年或某期), 电话: (020)87684776 或 37656606, <http://www.fxcsxb.com>(可在线投稿), E-mail: fxcsxb@china.com。