

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.04.001

山奈、白芷和香叶对猪肉加热过程中晚期糖化终末产物含量的影响

Effects of *galangal*, *angelica root* and *bay leaves* on the formation of advanced glycation end-products in pork during heating

陈 铭¹ 吴 帅¹ 黄轶群² 牛丽红³

CHEN Ming¹ WU Shuai¹ HUANG Yi-qun² NIU Li-hong³

樊玉霞^{1,4} 赖克强^{1,4}

FAN Yu-xia^{1,4} LAI Ke-qiang^{1,4}

(1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306; 2. 长沙理工大学化学与食品工程学院,

湖南 长沙 410114; 3. 鲁东大学食品与工程学院, 山东 烟台 264035;

4. 上海海洋大学食品热加工工程技术研究中心, 上海 201306)

(1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. School of Chemistry and Food Engineering, Changsha University of Science & Technology, Changsha, Hunan 410114, China; 3. School of Food Engineering, Ludong University, Yantai, Shandong 264025, China; 4. Engineering Research Center of Food Thermal Processing Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

摘要:采用超高效液相色谱—串联质谱联用仪结合羧甲基赖氨酸(*N*^ε-carboxymethyllysine, CML)和羧乙基赖氨酸(*N*^ε-carboxyethyllysine, CEL)的同位素内标物作为 AGEs 的分析方法,研究了山奈、白芷和香叶 3 种食用香料的添加以及加热(100 °C, 5~120 min)对猪肉中结合态 CML 和 CEL 含量的影响。研究表明:加热对猪肉中 AGEs 的产生有促进作用,且 AGEs 的含量随着加热时间的延长而增加,经 120 min 加热后的猪肉中 CML 和 CEL 的含量约为生肉的 5~8 倍,分别达到(35.60±2.20)~(40.68±5.66) mg/kg(CML)和(13.32±1.49)~(16.85±2.44) mg/kg(CEL)。在 0~40 min 的加热时间过程中,加入或未加入香料的猪肉中 CML [$R^2=0.971\sim0.996$; $k=0.355\sim0.590$ mg/(kg·min)]和 CEL [$R^2=0.942\sim0.997$; $k=0.150\sim0.368$ mg/(kg·min)]的形成均符合零级反应动力学方程。香料的添加对于猪肉在加热过程中

AGEs 形成的影响因香料的种类、加热时间、肉的批次的不同而不同,总体来说,香料对猪肉加热过程中 CML 的形成影响较小,但是对 CEL 的形成有一定的促进作用,尤其是加热 5 min 处理的肉样,其 CEL 含量增加 13%~61%。

关键词:晚期糖化终末产物;羧甲基赖氨酸;羧乙基赖氨酸;猪肉;香料

Abstract: The accumulation of dietary advanced glycation end-products (AGEs) in human body may be a potential safety problem. In this study, ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) combined with the isotope internal standard of carboxymethyllysine (CML) and carboxyethyllysine (CEL) was used to analyze AGEs in pork. The effects of *galangal*, *angelica root* and *bay leaves* on the levels of protein-bound CML and CEL in pork during heat treatments (100 °C, 5~120 min) were investigated. The results showed that heating promoted the production of AGEs, and the content of AGEs continuously increased with an increase of heating time. The content of AGEs in pork heated at 120 min was about 5~8 times as much as that of raw meat, leading to (35.60±2.20)~(40.68±5.66) mg/kg of CML and (13.32±1.49)~(16.85±2.44) mg/kg of CEL in pork. During the first 40 minutes of heat treatment, the formation of CML [$R^2=0.971\sim0.996$; $k=0.355\sim0.590$ mg/(kg·min)] and CEL [$R^2=$

基金项目:十三五国家重点研发计划项目(编号: 2016YFD0401501);国家自然科学基金项目(编号: 31871733)

作者简介:陈铭,男,上海海洋大学在读硕士研究生。

通信作者:赖克强(1976—),男,上海海洋大学教授,博士。

E-mail: kqlai@shou.edu.cn

收稿日期:2019-01-02

0.942~0.997; $k=0.150\sim0.368\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{min})$] in pork with or without spice could be considered as zero order reaction. The effects of each spice on the formation of AGEs in meat during heating varied with the change of spices, heating time and the batch of meat used. The influence of each spice on the formation of CML in pork during heating is minor, however, all three species could promote the formation of CEL in pork during heating, especially the content of CEL in 5 min heat treated meat, which increased by 13%~61% as compared to their control counterparts.

Keywords: advanced glycation end-products; carboxymethyllysine; carboxyethyllysine; spice; pork

食源性晚期糖化终末产物(Advanced glycation end-products, AGEs)是在非酶促反应条件下,主要通过葡萄糖、果糖等还原糖的羰基和蛋白质、多肽、氨基酸或核酸的氨基,经过一系列复杂的反应而产生的一组化学结构稳定的化合物^[1-2],如羧甲基赖氨酸(N^{ϵ} -carboxymethyllysine, CML)、羧乙基赖氨酸(N^{ϵ} -carboxyethyllysine, CEL)和吡咯素等。食源性 AGEs 在人体内的积累,与人体的衰老和一些慢性疾病的发生(如阿尔茨海默病、慢性肾病、高血压等)有关^[3-4]。因此,膳食中的 AGEs 含量、形成与控制成为近 10 年来食品安全领域的研究热点之一。

肉类食品中富含蛋白质和脂肪,有利于 AGEs 的形成,加之肉类食品往往经较高温度或长时间煮制,极大地促进 AGEs 的产生^[5-6],故而肉类食品中的 AGEs 含量通常很高,具有潜在的安全隐患。目前,肉类食品 AGEs 相关的研究较为缺乏,基本还停留在收集数据阶段,主要集中在不同的加工方式(蒸煮、油炸、辐照、烘焙等)及原料组分(包括肉的种类、脂肪和蛋白质含量、酱料、亚硝酸盐和食盐等添加剂)对 AGEs 含量的影响^[6-8],近年来,储藏过程对肉品中 AGEs 含量及其后续热加工过程中 AGEs 形成的影响也有报道^[8-9]。

香辛料(如八角、香叶、白芷、山奈等)常用于肉品的烹饪及加工中,以赋予其一些特有的风味。有关香辛料的挥发性成分以及香辛料的抗氧化作用方面的研究报道很多,此外,柠檬草、姜黄、咖喱姜、八角、小茴香等香辛料被用来降低牛肉及其制品中杂环胺的含量^[10-11]以及猪肉中丙烯酰胺的含量^[12]。近几年来,有研究表明,香辛料可以抑制蛋白质的糖化作用,例如, Cazzola 等^[13]在牛乳清蛋白-葡萄糖模拟体系中加入鼠尾草、辣椒、洋葱、大蒜、迷迭香等,可以抑制 30%~75% 蛋白质糖化作用; Ramkissoon 等^[14]在同样的模拟体系中加入百里香、欧芹及其他混合香辛料,可以抑制 10%~40% AGEs 含量; Hafsa 等^[15]采用莫邪菊的醇溶性提取物,最高可减少牛乳清蛋白-葡萄糖体系中 77.8% 的 AGEs 形成。但是,

这些香辛料对 AGEs 的影响的研究都是采用简单的模拟体系,而且都是采用荧光分光光度法分析添加香辛料的样品与空白对照样品的某一特征波长的荧光强度的相对变化,并未分析具体的 AGEs 含量。经检索,迄今尚未见常用香辛料对肉品中 AGEs 含量的影响的研究报道。

本研究拟以猪肉为对象,采用超高效液相色谱-串联质谱联用仪(UPLC-MS/MS)结合 CML 和 CEL 的同位素内标物作为 AGEs 的分析方法,研究山奈、白芷和香叶 3 种肉品加工中常用食用香料的添加,对猪肉在加热过程中 AGEs 形成的影响,为最终减低肉制品中 AGEs 的含量提供试验依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与仪器

猪肉:里脊肉,上海市浦东新区惠南镇爱森优选店;

香料:香叶、白芷、山奈,购于上海市麦德龙(上海浦东龙阳路店);

浓盐酸、氢氧化钠、氨水、氯仿、硼氢化钠、硼酸、硼砂:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

甲醇、甲酸、乙酸铵:色谱纯,百灵威公司;

AGEs 标准品和内标物: d_4 -CML、 d_4 -CEL、CML、CEL(纯度均为 98%),加拿大 Toronto Research Chemicals 公司。

高速组织捣碎机:HGBTWTS3 型,美国 Waring Commercial 公司;

真空干燥箱:DZF-6050 型,上海精宏真空设备有限公司;

手持式均质机:T10 型,德国 IKA 公司;

数显鼓风干燥箱:GZX-9146 MBE 型,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;

离心机:TDL-5-A 型,上海安亭科学仪器厂;

阳离子交换固相萃取小柱:CNWMCX 混合型(60 mg/3 mL),上海安谱实验科技股份有限公司;

氮吹仪:DC-12 型,上海安谱实验科技股份有限公司;
色谱柱:Atlantis HILIC Silica 186002015 型(150 mm \times 2.1 mm, 3 μ m),美国 Waters 公司;

超高效液相色谱仪:A-30 型,美国 PerkinElmer 公司;

三重四级杆质谱仪:Qtrap 4500 型,美国 SCIEX 质谱系统公司。

1.2 试验方法

1.2.1 标准溶液的配制 配制标准品和内标的母液 CML(100 mg/L)、 d_4 -CML(100 mg/L)、CEL(200 mg/L)、 d_4 -CEL(200 mg/L),放置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存。将上述 CML 和 CEL 母液混合配制成 4 mg/L 标准液, d_4 -CML 和 d_4 -CEL 混合配制成含 4 mg/L 混合内标液(d_4 -CML-CEL),

并放置在一20℃冰箱贮藏。

1.2.2 猪肉的加热处理 去除猪肉里脊表面可见的筋膜,将其切成大约 $1\times 1\times 1\text{ cm}^3$ 的小方块,按猪肉重量添加1%的白芷、山奈或香叶,用搅拌机混匀。随后称取约13 g的肉糜置于金属铝盒(内径50 mm;内高5 mm)中,在100℃油浴锅中加热5,10,20,40,120 min后,取出,在冰水混合物中冷却30 min,收集猪肉样及其汁水于研钵中研磨均匀,放置于自封袋中冰藏,并在60 min内用于AGEs提取。采用不同批次的猪肉重复试验2次。

1.2.3 猪肉中结合态CML和CEL的提取 猪肉中结合态AGEs含量的提取方法参照 Assar 等^[16]、Niquet-Léridon 等^[17]和 Niu 等^[8]的提取方法,具体的提取过程如下:称取约0.2 g的肉样,加入2 mL 硼酸钠缓冲液(0.2 mol/L,pH 9.2)和0.4 mL 硼氢化钠溶液,混合后置于0℃冰箱中过夜还原12 h;加入4 mL 氯仿-甲醇(体积比2:1),震荡混匀,在5 000 r/min条件下离心10 min,去除脂肪并沉淀蛋白质;去除液态层,向沉淀的蛋白质中加入4 mL 盐酸(6 mol/L),然后在110℃温度下酸解24 h;将水解液稀释至10 mL容量瓶中,移取2 mL,加入0.2 mL混合内标液 d_1 -CML-CEL(4 mg/L)后,进行真空干燥;用4 mL超纯水重新溶解,并震荡混匀,后经SPE固相萃取净化,将最终洗脱液经氮气吹干后,溶解于2 mL甲醇-水(体积比80:20)溶液中,再经0.22 μm滤膜过滤后,进行UPLC-MS/MS分析。每个样品进行3次平行试验。

1.2.4 基于UPLC-MS/MS分析样品中的CML和CEL含量 采用PerkinElmer Altus A-30 UPLC色谱仪和Qtrap 4500三重四级杆质谱仪在正电喷雾电离模式下,对提取液中AGEs含量进行分析。仪器测定条件参照牛丽红^[8]的方法,其中,质谱检测的定性定量条件如表1所示,分别采用 m/z 209→88和 m/z 223→88作为 d_1 -CML和 d_1 -CEL的定量离子, m/z 205→130和 m/z 219→130作为CML和CEL的定量离子。标准曲线中CML、CEL的浓度范围各为20~800 ng/mL。

1.2.5 蛋白质、脂肪、水分的测定 按2007年AOAC标准执行,分别采用凯氏定氮法测定样品中蛋白质含量(AOAC 928.08-2007)、索氏提取法测定脂肪含量(AOAC 991.36-2007)以及烘箱干燥法测定水分含量(AOAC 950.46-2007)。每个样品进行3次平行试验。

1.3 数据处理

除非特别说明,猪肉中AGEs、蛋白质等含量按肉样的重量计算。

采用Microsoft Excel 2013对试验数据进行分析,用以下动力学反应方程式对CML和CEL的形成速率及反应级数进行拟合或计算:

$$\frac{dc}{dt} = kc^n, \quad (1)$$

表1 在多反应监测模式下检测CML、CEL、 d_1 -CML和 d_1 -CEL所用的质谱参数

Table 1 Mass parameters in multiple reaction monitoring mode for CML, CEL, d_1 -CML and d_1 -CEL

分析物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压 (DP)/V	碰撞能 (CE)/V
CML	205	130	66	15
		84	66	25
CEL	219	130	65	17
		84	65	25
d_1 -CML	209	134	68	15
		88	68	25
d_1 -CEL	223	134	73	17
		88	73	25

式中:

k ——反应速率常数,mg/(kg·min);

t ——反应时间,min;

c ——CML或CEL的在时间 t 时的浓度,mg/kg;

n ——反应级数(本试验验证反应级数为0,1,2)。

依照化学方程式(1)所示,分别以 $c(n=0)$, $\ln c(n=1)$, $1/c(n=2)$ 为 y 轴,时间 t 为 x 轴作图,根据其线性的相关系数 R^2 的大小确定反应级数。

2 结果与分析

2.1 加热对猪肉中AGEs含量的影响

试验中所用猪肉样品的水分、蛋白质和脂肪的百分比含量分别为(73.63±0.78)%~(75.38±1.07)%、(22.10±0.78)%~(24.10±0.94)%和(0.52±0.04)%~(3.47±0.29)%。

表2为两不同批次的新鲜猪肉及其在100℃下加热后CML和CEL的含量,新鲜猪肉中CML含量为(6.79±0.13)~(7.32±0.46) mg/kg,CEL含量为(2.21±0.12)~(2.80±0.26) mg/kg,与其他研究的结果相似^[19-20],随着加热时间的增加,CML和CEL的含量也逐渐增加,尤其是经120 min加热后,猪肉中CML的含量高达(35.60±2.20)~(40.68±5.66) mg/kg,CEL达(13.32±1.49)~(16.85±2.44) mg/kg,比生肉的AGEs含量增加约5~8倍,表明长时间加热对猪肉中AGEs的含量影响很大,远高于已报道的一些经油炸或高温炙烤的高AGEs含量的肉类食品,如在160℃下加热72 min的猪肉中,CML含量为26 mg/100 g·蛋白质^[19];在140℃下油炸4 min的猪肉中,CML含量为105 mg/kg·蛋白质^[21];在204℃下油炸20 min的牛肉和猪肉中,CML含量分别为20.03,17.53 mg/kg^[22]。高温条件下,猪肉中的美拉德反应、蛋白质和脂肪氧化反应

表 2 生肉及加热处理(100 °C, 5~120 min)后猪肉中的羧甲基赖氨酸(CML)和羧乙基赖氨酸(CEL) 含量
Table 2 The amounts of N^ε-carboxymethyllysine (CML) and N^ε-carboxyethyllysine (CEL) in raw and heat treated (100 °C, 5~120 min) pork (n=3)

加热时间/min	第一批次		第二批次	
	CML/(mg · kg ⁻¹)	CEL/(mg · kg ⁻¹)	CML/(mg · kg ⁻¹)	CEL/(mg · kg ⁻¹)
生肉	6.79±0.13	2.21±0.12	7.32±0.46	2.80±0.26
5	7.83±1.02	3.03±0.16	8.30±0.07	3.47±0.39
10	11.99±1.15	3.64±0.44	10.83±1.06	5.30±0.95
20	14.43±2.21	6.28±0.58	17.07±0.26	6.86±0.61
40	29.35±3.21	13.02±1.68	23.58±2.19	8.75±1.08
120	40.68±5.66	16.85±2.44	35.60±2.20	13.32±1.49

加速,促进 AGEs 或其活前体物的形成,从而增加 AGEs 的含量^[19-22]。

因生肉本身含有 AGEs,加热后猪肉中 CML 或 CEL 含量减去生肉中 CML 或 CEL 的含量,即为加热过程中猪肉的 CML 和 CEL 的生成量,图 1 为两批猪肉加热过程中 CML 和 CEL 的形成量,在加热的前 40 min,猪肉中 CML 和 CEL 的形成速度快,在 40~120 min 时,CML 和 CEL 生成速度减慢。猪肉中 CML 和 CEL 的形成量与加热时间(0~40 min)的关系基本符合零级反应动力学方

程($R^2=0.942\sim0.981$)(表 3),意味着 CML 和 CEL 的浓度对其生成速率无影响,食品中美拉德的反应产物的形成速率大多数都属于零级反应,是由于生成物浓度通常远低于反应物的浓度^[20]。在 0~40 min 时间内,CML 的反应速率为 0.41~0.56 mg/(kg · min),CEL 的反应速度为 0.15~0.27 mg/(kg · min),表明 CML 和 CEL 在不同的反应时间里的生成速率是不同的,可能是由于 CML 和 CEL 的形成途径不尽相同,如其对应的前体物质乙二醛和甲基乙二醛的生成速率不同,进而导致 CML 和 CEL 的生成速率不同。Sun 等^[20]发现牛肉在加热过程(在 100 °C,0~60 min)中也存在相似的规律:其 AGEs 的形成成为零级反应($R^2=0.902\sim0.907$),CML 的生成速率[0.23 mg/(kg · min)]高于 CEL 为的生成速率[0.12 mg/(kg · min)]。

表 3 不同动力学模型下(n=0,1,2)猪肉中羧甲基赖氨酸(CML)和羧乙基赖氨酸(CEL)含量变化与加热时间(100 °C,0~40 min)的线性相关系数(R²)

Table 3 Correlation of determination (R²) for kinetic models (n=0, 1 or 2) of the formation of N^ε-carboxymethyllysine (CML) and N^ε-carboxyethyllysine (CEL) during heating (100 °C, 0~40 min)

肉的批次	CML			CEL		
	0	1	2	0	1	2
第一批次	0.971	0.973	0.884	0.978	0.991	0.891
第二批次	0.981	0.944	0.878	0.942	0.862	0.762

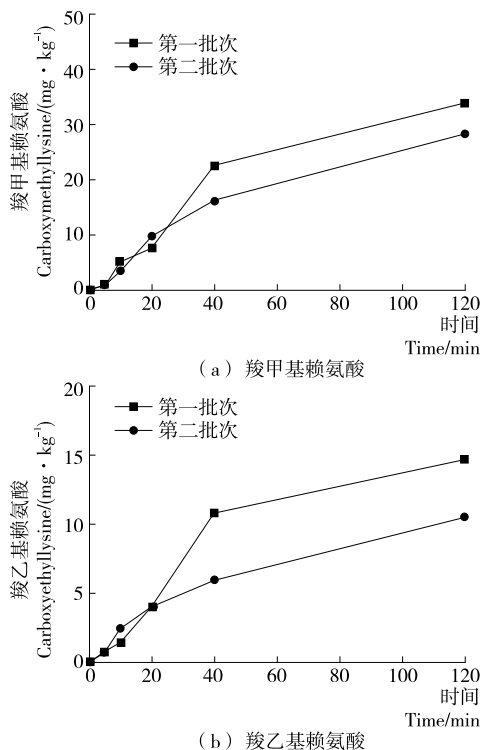


图 1 猪肉加热过程中(100 °C, 5~120 min)羧甲基赖氨酸(CML)和羧乙基赖氨酸(CEL)的形成量

Figure 1 The amount of N^ε-carboxymethyllysine (CML) and N^ε-carboxyethyllysine (CEL) in pork formed during heating (100 °C, 5~120 min)

2.2 香料对猪肉加热过程中 AGEs 含量的影响

表 4 为 2 个批次的猪肉分别加入山奈、白芷、香叶在 100 °C 条件下加热后结合态 CML 和 CEL 的含量,从中可知:与未加香料的猪肉相类似,加热时间越长,加入香料处理的肉中 CML 和 CEL 的含量越高,加热的前 40 min, CML 和 CEL 的增长速度较快,40~120 min 时 CML 和 CEL 增长速度较缓慢;加入香料的两批肉样,加热不同时间后产生的 CEL 均比对应的未加香料的高,尤其是 5 min

表 4 生肉及含山奈、白芷、香叶的猪肉加热处理(100 °C, 5~120 min)后羧甲基赖氨酸(CML)和羧乙基赖氨酸(CEL)含量

Table 4 The amounts of *N*^ε-carboxymethyllysine (CML) and *N*^ε-carboxyethyllysine (CEL) in raw and heat treated (100 °C, 5~120 min) pork added with galangal, angelica root or bay leaves (*n*=3)

肉的批次	加热时间/ min	山奈		白芷		香叶	
		CML/ (mg · kg ⁻¹)	CEL/ (mg · kg ⁻¹)	CML/ (mg · kg ⁻¹)	CEL/ (mg · kg ⁻¹)	CML/ (mg · kg ⁻¹)	CEL/ (mg · kg ⁻¹)
第一批	0	6.79±0.13	2.21±0.12	6.79±0.13	2.21±0.12	6.79±0.13	2.21±0.12
	5	9.23±0.61	4.89±0.82	8.64±0.11	4.52±0.37	9.32±0.60	4.52±0.14
	10	10.67±0.43	6.45±0.32	10.99±0.81	5.07±0.14	9.92±0.30	4.65±0.32
	20	16.48±1.10	9.86±1.58	15.46±0.19	9.30±0.10	14.25±0.35	9.77±0.17
	40	30.21±0.40	16.90±0.77	27.11±2.24	14.43±1.77	27.02±0.90	16.84±0.30
	120	48.81±2.88	17.40±0.52	55.58±1.54	17.27±0.46	48.40±2.32	17.59±0.26
第二批	0	7.32±0.46	2.80±0.26	7.32±0.46	2.80±0.26	7.32±0.46	2.80±0.26
	5	9.28±0.37	4.37±0.82	7.44±0.29	3.91±0.30	9.26±0.48	4.17±0.10
	10	12.43±1.10	5.78±0.57	9.61±1.08	5.85±1.05	11.99±1.15	5.44±0.78
	20	17.54±0.70	7.73±0.58	14.12±0.46	7.00±0.46	15.83±0.78	7.85±0.63
	40	25.96±2.86	10.97±1.98	20.66±1.94	10.73±1.82	22.66±1.46	10.96±1.99
	120	38.88±1.78	15.10±0.33	38.29±0.97	15.60±0.63	43.48±2.10	16.31±1.26

加热处理的样品,其 CEL 含量平均增加 42%(山奈,两批肉样分别为 61%和 24%)、30%(白芷,两批肉样分别为 49%和 13%)和 34%(香叶,两批肉样分别为 49%和 20%),不过,加热 120 min 的样品,加入香料的肉样与未加香料的肉样相比其 CEL 差别较小,平均增加 8~12%;香料对加热过程中 CML 的形成总体来说影响较小,而且因香料的种类、加热时间、肉的批次的不同而不同,尽管经 120 min 加热处理后,加入香料的肉样的 CML 平均增加 15%(山奈,两批肉样分别为 20%和 9%)、23%(白芷,两批肉样分别为 37%和 8%)和 20%(香叶,两批肉样分别为 19%和 22%),在其他的加热条件下,如加入白芷和香叶加热 40 min 的肉样,香料的加入可能对 CML 的形成有一定的抑制作用;对于 CML 和 CEL 的总量来说,山奈的加入,使得猪肉在加热过程中(5~120 min)的 AGEs 含量增加 6%~30%,而肉中添加白芷和香叶除了在 120 min 加热条件下,使得 AGEs 总量分别增加 19%(白芷,两批分别为 27%和 10%)和 18%(香叶,两批肉样分别为 15%和 22%)外,在其他的加热条件下对加热过程中 AGEs 总量的产生的影响趋势不明确。

山奈、白芷、香叶中存在一定数量的酚类、黄酮类物质,具有抗氧化性^[23-25],另外,一些研究^[13-15]表明,富含天然抗氧化剂的香辛料对蛋白质糖化反应有显著的抑制作用,而且,Kim 等^[26]还发现从白芷中提取的异欧前胡素能够有效地减少牛血清蛋白-葡萄糖果糖体系中 16.3% 的吡咯酮含量。但是,本研究在猪肉中直接添加山奈、白芷或香叶粉,对加热过程中 CML 和 CEL 的产生

不但没有明显的抑制作用,而是显示出一定的促进作用,因 AGEs 产生途径复杂多样,且目前缺乏香辛料对 AGEs 变化的影响报道,山奈、白芷、香叶对猪肉加热过程中 AGEs 形成的潜在促进作用的机理有待进一步明确。

与未加香料的猪肉类似,加入山奈、白芷或香叶后的猪肉在加热过程中(0~40 min),其 CML 和 CEL 的形成均为零级反应,CML 的和反应速率为 0.434~0.531 mg/(kg · min)(*R*²=0.985~0.992),CEL 反应速率为 0.249~0.288 mg/(kg · min)(*R*²=0.984~0.989)。另外,如图 2 所示,试验中所涉及的所有猪肉样品中 CML 与 CEL 含量有较强的线性相关性(*R*²=0.882)。

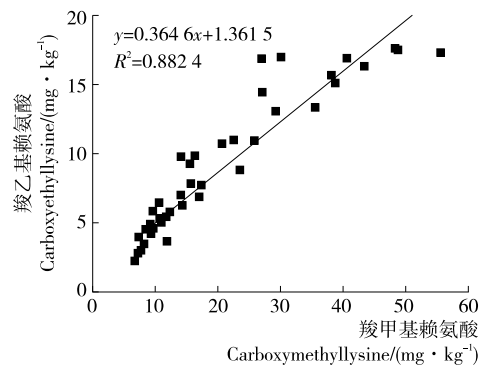


图 2 猪肉中羧甲基赖氨酸(CML)和羧乙基赖氨酸(CEL)含量的相关性

Figure 2 Relationship between *N*^ε-carboxymethyllysine (CML) and *N*^ε-carboxyethyllysine (CEL) in pork

3 结论

加热对猪肉中结合态 CML 和 CEL 的形成有促进作用,且加热时间越长,其 AGEs 含量也越大,当加热到 120 min 后,CML 和 CEL 的含量约为生肉的 5~8 倍。加热时间为 0~40 min 时,不管是否添加香料,CML 和 CEL 的反应速率均为零级反应($R^2 = 0.942 \sim 0.992$)。肉中添加白芷、山奈或香叶,对加热过程中 AGEs 的影响因香料的种类、加热时间、肉的批次的不同而不同,总体来说,香料对加热过程中猪肉的 CML 的形成影响较小,但对 CEL 的形成有一定的促进作用,尤其是 5 min 加热处理的肉样,其 CEL 含量增加 13%~61%。山奈、白芷、香叶对猪肉加热过程中 AGEs 形成的潜在促进作用的机理有待进一步明确。此外,其他常用香料,如八角、小茴香等或者复合香料对肉类食品加工及储藏过程中 AGEs 形成的影响尚待研究,这些研究将有助于预测肉类食品在不同的加工条件下 AGEs 的形成规律,对肉制品的工业生产具有重要的指导意义。

参考文献

- [1] RABBANI N, THORNALLEY P J. Glycation research in amino acids: a place to call home[J]. *Amino Acids*, 2012, 42(4): 1 087-1 096.
- [2] SINGH R, BARDEN A, MORI T, et al. Advanced glycation end-products: A review [J]. *Diabetologia*, 2001, 44: 129-146.
- [3] VLASSARA H, URIBARRI J. Advanced glycation end products (AGE) and diabetes: Cause, effect, or both? [J]. *Current Diabetes Reports*, 2014, 14(1): 453.
- [4] POULSEN M W, HEDEGAARD R V, ANDERSEN J M, et al. Advanced glycation endproducts in food and their effects on health[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2013, 60: 10-37.
- [5] NIU Li-hong, SUN Xiao-hua, TANG Ju-ming, et al. Free and protein-bound N^ε-carboxymethyllysine and N^ε-carboxyethyllysine in fish muscle: biological variation and effects of heat treatment [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2017, 57: 56-63.
- [6] CHAO P C, HSU C C, YIN M C. Analysis of glycation products in sauces and sauce-treated foods[J]. *Food Chemistry*, 2009, 113(1): 262-266.
- [7] SUN Xiao-hua, TANG Ju-ming, WANG Jing, et al. Formation of advanced glycation endproducts in meats during sterilization[J]. *Meat Science*, 2016, 116: 1-7.
- [8] NIU Li-hong, SUN Xiao-hua, TANG Ju-ming, et al. Combination effects of salts and cold storage on the formation of proteinbound N^ε-(carboxymethyl) lysine and N^ε-(carboxyethyl)lysine in raw and subsequently commercially sterilized ground pork[J]. *Food Chemistry*, 2018, 264: 455-461.
- [9] YU Li-gang, HE Zhi-yong, ZENG Mao-mao, et al. Effect of irradiation on N^ε-carboxymethyl-lysine and N^ε-carboxyethyl-lysine formation in cooked meat products during storage[J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2016, 120: 73-80.
- [10] JINAPS, IQBAL S Z, SELVAM R M P. Effect of selected local spices marinades on the reduction of heterocyclic amines in grilled beef (satay)[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 63(2): 919-926.
- [11] GIBIS M, WEISS J. Antioxidant capacity and inhibitory effect of grape seed and rosemary extract in marinades on the formation of heterocyclic amines in fried beef patties[J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(2): 766-774.
- [12] 刘玲玲. 红烧肉加工过程中营养成分变化及丙烯酰胺抑制研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2016: 1-72.
- [13] CAZZOLA R, CAMEROTTO C, CESTARO B. Anti-oxidant, anti-glycant, and inhibitory activity against α-amylase and α-glucosidase of selected spices and culinary herbs[J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2011, 62(2): 175-184.
- [14] RAMKISSOON J S, MAHOMOODALLY M F, AHMED N, et al. Relationship between total phenolic content, antioxidant potential, and antiglycation abilities of common culinary herbs and spices[J]. *Journal of Medicinal Food*, 2012, 15(12): 1 116-1 123.
- [15] HAFSA J, HAMMI K M, KHEDHER M R B, et al. Inhibition of protein glycation, antioxidant and antiproliferative activities of carpobrotus edulis extracts[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2016, 84: 1 496-1 503.
- [16] ASSAR S H, MOLONEY C, LIMA M. Determination of N^ε-(carboxymethyl)-lysine in food systems by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Amino Acids*, 2009, 36(2): 317-326.
- [17] NIQUET-LÉRIDON C, TESSIER F J. Quantification of N^ε-carboxymethyl-lysine in selected chocolate-flavoured drink mixes using high-performance liquid chromatography-linear ion trap tandem mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2011, 126(2): 655-663.
- [18] 牛丽红. 肌肉类食品晚期糖基化终末产物在加热及储藏过程中的含量变化[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017: 1-79.
- [19] BHASKAR M, RENE L, INES G, et al. Advanced glycation end products, protein crosslinks and post translational modifications in pork subjected to different heat treatments[J]. *Meat Science*, 2018, 145: 415-424.
- [20] SUN Xiao-hua, Tang Ju-ming, Wang Jing, et al. Formation of advanced glycation endproducts in ground beef under pasteurisation conditions [J]. *Food Chemistry*, 2015, 172: 802-807.

(下转第 13 页)

结果可为以谷氨酸为原料制备 MRI 及其在烘焙食品中的应用提供一定参考。

参考文献

- [1] LUND M N, RAY C A. Control of Maillard reactions in foods: strategies and chemical mechanisms[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(23): 4 537.
- [2] OGUTU B, KIM Y J, KIM D W, et al. Optimization of Maillard reaction between glucosamine and other precursors by measuring browning with a spectrophotometer[J]. *Preventive Nutrition and Food Science*, 2017, 22(3): 211-215.
- [3] 于海艳, 杨剑, 张兴, 等. 香精微胶囊制备技术新进展及其发展趋势分析[J]. *食品与发酵工业*, 2007, 33(2): 108-113.
- [4] DAVIDEK T, CLETY N, DEVAUD S, et al. Simultaneous quantitative analysis of Maillard reaction precursors and products by high-performance anion exchange chromatography[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(25): 7 259-7 265.
- [5] HAU J, DEVAUD S, BLANK I. Detection of Amadori compounds by capillary electrophoresis coupled to tandem mass spectrometry[J]. *Electrophoresis*, 2004, 25(13): 2 077-2 083.
- [6] YU Jia-hao, ZHANG Shu-qin, ZHANG Lian-fu. Evaluation of the extent of initial Maillard reaction during cooking some vegetables by direct measurement of the Amadori compounds[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018, 98: 190-197.
- [7] CHANDA D, HAROHALLY N V. Revisiting Amadori and Heyns synthesis: critical percentage of acyclic form play the trick in addition to catalyst[J]. *Tetrahedron Letters*, 2018, 59: 2 983-2 988.
- [8] BEKSAN E, SCHIEBERLE P, Robert F, et al. Synthesis and sensory characterization of novel umami-tasting glutamate glycoconjugates[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(18): 5 428-5 436.
- [9] ZHOU Yong-yan, LI Ya, YU Ai-nong. The effects of reactants ratios, reaction temperatures and times on Maillard reaction products of the L-ascorbic acid/L-glutamic acid system[J]. *Food Science and Technology*, 2016, 36(2): 268-274.
- [10] JOSEPHINE C, SONIA M, ARNE G. Analysis of umami taste compounds in a fermented corn sauce by means of sensory-guided fractionation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(8): 1 863-1 871.
- [11] MOON J, CHOI I, CHOI H, et al. Flavor pattern and sensory properties of meat flavor based on Maillard reaction products with supercritical fluid extracted lard fractions. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 2012, 32(5): 644-651.
- [12] 汪晓琳. 桃酥的工艺技术及其改良研究[J]. *农产品加工*, 2015, 11(22): 40-41.
- [13] PASQUALONE A, BIANCO A M, PARADISO V M, et al. Physico-chemical, sensory and volatile profiles of biscuits enriched with grape marc extract [J]. *Food Research International*, 2014, 65(7): 385-393.
- [14] GE S, LEE T. Kinetic significance of the schiff base reversion in the early-stage Maillard reaction of a phenylalanine-glucose aqueous model system[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, 45(5): 1 619-1 623.
- [15] 吴少雄. 温度对美拉德反应的研究[J]. *食品科学*, 2005, 26(7): 63-66.
- [16] CUI He-ping, HAYAT K, JIA Cheng-sheng, et al. Synergistic effect of a thermal reaction and vacuum dehydration on improving xylose-phenylalanine conversion to N-(1-deoxy-d-xylulos-1-yl)-phenylalanine during an aqueous Maillard reaction [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(38): 10 077-10 085.
- [17] 孙宝国. 香料与香精[M]. 北京: 中国石化出版社, 2000: 167-173.
- [18] MAEDA T, KIKUMA S, ARAKI T, et al. The effects of mixing stage and fermentation time on the quantity of flavor compounds and sensory intensity of flavor in white bread[J]. *Food Science and Technology Research*, 2009, 15(2): 117-126.
- [19] MATSAKIDOU A, BLEKAS G, PARASKEVOPOULOU A. Aroma and physical characteristics of cakes prepared by replacing margarine with extra virgin olive oil[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2010, 43(6): 949-957.
- [20] 杨宇迪, 程湛, 满媛, 等. 葡萄籽超微粉添加对曲奇饼干香气的影响[J]. *食品科学*, 2017, 38(20): 110-118.

(上接第 6 页)

- [21] XU Rui, YUE Lu, KANG Shi-mo, et al. Assessment of the concentration of advanced glycation end products in traditional Chinese foods[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2016, 41(2): 1-9.
- [22] CHEN Geng-jun, SCOTT S J. Determination of advanced glycation endproducts in cooked meat products[J]. *Food Chemistry*, 2015, 168: 190-195.
- [23] 王锐, 何媚, 周云, 刘磊, 等. 山奈提取物抗氧化性能研究[J]. *广东农业科学*, 2011, 38(6): 156-157.
- [24] 李蜀眉, 王丽荣, 刘玉玲, 等. 白芷黄酮类化合物的提取及抗氧化性研究[J]. *食品科技*, 2018, 43(7): 221-224.
- [25] 钟方丽, 金龙哲, 王晓林, 等. 离子液体超声辅助提取香叶总黄酮及其抗氧化性研究[J]. *中国调味品*, 2018, 43(4): 69-74.
- [26] KIM H Y, LEE K H, LEE D G, et al. The protective activity of linear furanocoumarins from angelica dahurica against glucose-mediated protein damage[J]. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 2012, 55(3): 355-358.