

食品中羧甲基赖氨酸的危害和检测方法的研究进展

韩文凤^{1,2}, 谭兴和^{1,3}, 林晓丽², 邱泼⁴, 孟宏昌²

(1. 湖南农业大学食品科技学院, 湖南长沙 410128) (2. 漯河职业技术学院食品工程系, 河南漯河 462000)
(3. 食品科学与生物技术湖南省重点实验室, 湖南长沙 410128) (4. 浙江麦吉士食品有限公司, 浙江杭州 310000)

摘要: 食品中的 N^ε-(1-羧甲基)-L-赖氨酸 (N^ε-(1-Carboxymethyl)-L-lysine, 简称羧甲基赖氨酸或 CML) 是还原糖的羰基与蛋白质、氨基酸的氨基等通过美拉德反应产生的晚期糖基化终末产物中的一种主要成分。CML 具有较高的酸稳定性, 可以作为评价食品体系美拉德反应中蛋白质化学修饰、羰基应激和脂质氧化的一个重要指标。CML 通过食品介质进入人体后, 可积聚于多个不同的组织器官中。达到一定数量后, 会直接影响组织器官的功能, 导致机体的病理变化。CML 与人体许多疾病的发生密切相关, 能促进糖尿病、肾病、动脉粥样硬化等疾病的发展和人体器官的快速衰老。CML 的定量检测对指导人们减少 CML 的摄入, 进而降低相关疾病的患病风险有重要的意义。本文就 CML 的危害和检测方法进行综述, 以期寻找具有高灵敏度、高选择性和快速高效的 CML 含量的检测方法提供依据。

关键词: 羧甲基赖氨酸; 危害; 酶标法; 气相色谱法; 液相色谱法; 质谱法

文章编号: 1673-9078(2017)9-299-305

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.9.044

Progress on the Hazards of and Detection Methods for

N^ε-(1-Carboxymethyl)-L-lysine in Foods

HAN Wen-feng^{1,2}, TAN Xing-he^{1,3}, LIN Xiao-li², QIU Po⁴, MENG Hong-chang²

(1.College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China) (2.Department of Food Engineering, Luohe Vocational Technical College, Luohe 462000, China) (3.Hunan Provincial Key Laboratory of Food Science and Biotechnology, Changsha 410128, China) (4.Zhejiang Mage's Food Co., Ltd., Hangzhou 310000, China)

Abstract: N^ε-(1-Carboxymethyl)-L-lysine (CML) in food is one of the main components of advanced glycation end-products, which are produced from the Maillard reaction of the carbonyl group in reducing sugars and the amino group in proteins and/or amino acids. CML has high acid stability and can be used as an important indicator to evaluate protein modifications, carbonyl stress, and lipid oxidation during the Maillard reaction in food systems. After CML enters the human body through food as a medium, it can accumulate in different tissues and organs. When the concentration of CML reaches a certain level, CML will directly affect the function of tissues and organs and lead to pathological changes in the body. CML is closely related to the occurrence of many diseases in the human body and can accelerate the progression of diabetes, nephrosis, and atherosclerosis and the aging of human organs. Quantitative detection of CML can guide the reductions in the intake of CML, which may lower the risk of related diseases. In order to provide a reference for developing highly sensitive, highly selective, fast, and efficient methods for detection of CML content, the hazards of and detection methods for CML were reviewed herein.

Key words: N^ε-(1-carboxymethyl)-L-lysine; harm; enzyme-linked immunosorbent assay; gas chromatography; liquid chromatography; mass spectrometry

食品中的还原糖与蛋白质、氨基酸等可以通过美

收稿日期: 2017-03-22

基金项目: 河南省高等学校青年骨干教师培养计划项目 (2016GGJS-268);
河南省科技攻关项目 (172102110222); 漯河市青年拔尖人才支持计划项目
(LBJZ201606)

作者简介: 韩文凤 (1978-), 女, 博士, 研究方向: 农产品加工及贮藏工程
通讯作者: 谭兴和 (1959-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 农产品加工及贮藏工程

拉德反应产生一组性质稳定的产物, 被称为晚期糖基化终末产物(advanced glycation end-products), 简称 AGEs^[1]。目前已经发现的 AGEs 物质有 20 多种, 代表性化合物包括 CML、羧乙基赖氨酸 (N^ε-carboxyethyllysine, CEL)、吡咯素(pyrraline)、戊糖苷素(pentosidine)、咪唑赖氨酸(imidazolysine)和交联素(crosslines)等。AGEs 化合物中, CML 是第一个从食品(超高温瞬时灭菌乳)中分离鉴定出来的, 同时也是

存在于食品中的最主要的一种 AGEs^[2]。与其它 AGEs 相比, CML 具有较高的酸稳定性, 可以作为评价食品体系美拉德反应中蛋白质化学修饰、羰基应激和脂质氧化的一个重要指标^[3]。CML 与人体许多疾病的发生密切相关, 能促进糖尿病、肾病、动脉粥样硬化等疾病的发展和人体器官的快速衰老。因此食品中 CML 的含量受到广泛的关注, CML 的定量检测对指导人们减少 CML 的摄入, 进而降低相关疾病的患病风险有重要的意义, 如何快速高效地检测出食品中 CML 的含量是目前研究的一个重点方向。本文就 CML 的危害和检测方法进行综述, 以期寻找有应用前景的 CML 检测方法提供依据。

1 CML 的生化特性

CML 分子式为 $C_8H_{16}N_2O_4$, 相对分子质量为 204.22, 其化学分子结构如图 1 所示。CAS 登记号为: 5746-04-3, 是一种白色晶体, 没有荧光特性、没有交联性。熔点为 280 °C, 溶于水和醇, 具有吸湿性, 在温度为 -20 °C 的惰性气氛下能够稳定储存。

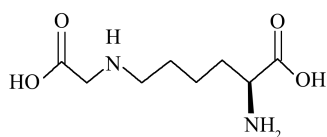


图 1 羧甲基赖氨酸的化学结构

Fig. 1. Chemical structure of N^{ϵ} -(1-carboxymethyl)-L-lysine

2 CML 对人体健康的危害

动物试验发现, CML 等 AGEs 与胰岛素抵抗、内脏肥大和生化酶的活性等有着密切关系。Sandu 等人发现正常小鼠摄入高剂量 CML 等 AGEs 的饲料后, 其体重和内脏脂肪增加并且胰岛素敏感性降低^[4]。Hofmann 等人发现限制 CML 等 AGEs 的摄入, 可以明显地降低 II 型糖尿病小鼠的体重并提高胰岛素的敏感性^[5]。Wenzel 等人给雄性大鼠喂养含有不同剂量 CML 的酪蛋白后发现 CML 对肾脏内的 II 期生物转化酶的活性有抑制作用^[6]。Zheng 等人研究发现高剂量 CML 的膳食结构会促使糖尿病小鼠的肾病加重^[7]。

食品中的 CML 是人体内 CML 的主要来源, 研究发现人体通过食品摄入的 CML 只有 1/3 通过肾脏排出体外, 2/3 会保留在体内, 其中大约有 1/10 进入血液循环。CML 通过食品介质进入人体后, 可积聚于血管内皮细胞、神经细胞、胶原细胞、晶状体循环系统以及肝、肾、肺、血管和腹膜等多个不同的组织器官中, 达到一定数量后, 会直接影响组织器官的功能, 导致机体的病理变化^[8]。CML 会与人体内的蛋白质或核酸

等大分子物质交联, 导致蛋白质或核酸功能遭到破坏; CML 还会与特异性受体结合, 增强机体的氧化应激反应, 增加炎症因子的表达范围, 进而改变组织细胞的结构和功能, 直至组织破坏。CML 与其受体结合是其致病的主要途径^[9]。

CML 与许多疾病的发生密切相关, 能促进糖尿病、克雅二氏病和动脉粥样硬化等疾病的发展和人体器官的快速衰老^[10,11]。CML 在血管壁中积聚后, 会导致血管增厚、弹性下降和功能障碍^[1]; CML 在脑血管和神经组织内中积聚, 会导致神经细胞的再生能力下降, 进而影响细胞内信号的转导, 易产生老年痴呆症(克雅二氏病)^[12]; CML 在晶状体和视网膜中积聚, 使晶状体蛋白糖化并与 CML 形成交联, 产生氧化应激, 会引起白内障^[13]; CML 在骨关节上积聚, 会引起关节炎^[14]; CML 形成过程中产生的自由基也会对人体 DNA 产生的损伤^[15]; 随着年龄的增长, CML 会在人体内不断积聚增多, CML 会与胶原蛋白发生交联作用而使人表现出衰老现象^[16]。

3 食品中 CML 含量的检测方法

随着食品中有关 CML 内容的研究工作逐渐深入, 食品中 CML 含量的检测方法成为国内外科研人员关注的热点之一。目前报道的用于检测食品中 CML 含量的方法主要有 3 类: (1) 基于 CML 抗体的免疫学方法, 主要是指酶联免疫法 (Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA); (2) 仪器检测法, 包括反相高效液相色谱法 (Reversed Phase-High Performance Liquid Chromatography, RP-HPLC)、气相色谱-质谱法 (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS)、液相色谱-质谱法 (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, LC-MS)、超高效液相色谱-串联质谱方法 (Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, UPLC-MS/MS) 等; (3) 荧光传感检测法。

3.1 样品预处理方法

由于 CML 没有荧光性, 是以结合态或游离态两种形态存在于食品中的, 检测前需要首先对样品进行预处理, 以分离出 CML, 然后才能进行检测分析。ELISA 法样品的预处理较为简单; 而仪器检测法的样品预处理程序则相对复杂。检测游离态 CML 需要首先分离掉脂肪, 然后沉淀出蛋白质, 上清液需要冷冻干燥收集, 通过固相萃取柱除杂后方可进行色谱分析; 对于结合态 CML, 沉淀出的蛋白质, 需添加硼氢化钠还原 FL, 防止水解时 FL 转化为 CML, 然后才能进

行水解^[17]。水解方法可以根据情况选择酸水解或酶水解,然后固相萃取柱除杂。有时候为了增加 CML 的荧光性和稳定性还要进行复杂的衍生化处理。

3.2 ELISA 法

酶联免疫法又称酶联免疫吸附测定法、酶标法。采用 ELISA 试剂盒检测 CML 含量时,微孔中依次加入抗原、CML 和酶标抗体,形成抗体-抗原-酶标抗体复合物。CML 最后结合在固相载体上的酶量与其总量呈一定的比例关系,加入酶反应的底物后,底物被酶催化变为有色产物,产物的量与标本中 CML 抗原的总量直接相关,用酶标仪在特定波长下测定吸光度,CML 含量与吸光度值成正比,样品的吸光度值通过与绘制的标准曲线对比,就可计算出样品中 CML 的含量。ELISA 法最早是用于检测人体组织中的 CML 含量,使用的抗原主要来自于动物体或人体的血液。1999 年 Tauer 等人首次采用 ELISA 法检测出了牛乳中的 CML 含量^[18]。Goldberg 等人采用 ELISA 法检测食品中的 CML,结果发现高脂、高蛋白食品中 CML 含量最高,而碳水化合物食品中 CML 含量最低,并指出食品中 CML 的形成与热加工时间、加热温度、水分含量等因素有关^[19]。Uribarri 等人采用 ELISA 法检测了 500 多种食品中 CML 含量,并探讨了食品营养成分和加工工艺对 CML 形成的影响,建立了 2003~2008 年美国关于 CML 的数据信息库^[20]。

ELISA 法用来检测食品中的 CML 含量具有特异性强、检测速度快、操作简单等特点,但也不可避免的存在着一些问题。首先,ELISA 法并不能直接给出样品中的 CML 的绝对浓度含量,而只是一个相对数值(kilo-units (kU)/g);其次,酶标抗体还会受基质效应的影响,并且商业化的 CML 酶标抗体种类也比较少;另外,由于蛋白质空间结构的影响,并不是蛋白质分子上所有的 CML 结合位点都能和相应的 CML 酶标抗体结合,这些因素会导致检测结果存在较大的误差^[21,22]。因此,ELISA 法并没有广泛用于检测食品中的 CML 含量。

3.3 GC-MS 法

气相色谱技术是一种利用不同化合物在流动相和固定相中分配系数的不同,使不同化合物按时间顺序先后在色谱柱中流出,从而达到分离、分析目的检测技术。质谱技术是将汽化的待测样品分子在高真空的离子源内转化为带电荷的离子,经电离、引出和聚焦后进入分析器,在电场或磁场作用下,按时间顺序或空间位置进行质荷比分离,最后用离子检测器检测待

测样品的技术。GC-MS 法是在色谱和质谱技术的基础上,充分利用气相色谱对复杂有机化合物的高效分离能力和质谱对化合物的准确鉴定能力进行定性和定量检测分析的一门技术。GC-MS 法用于检测分析,具有分辨率强、灵敏度高和重现性好等优点。

GC-MS 法被广泛用于分析尿液和蛋白质水解液中 CML。文献资料表明,GC-MS 法也曾被多次用于检测食品中的 CML 含量。Hegele 等人应用甲醇酯化羧基和三氟乙酸酐酰化氨基等处理方法检测了面包中的 CML 含量^[23];Charissou 等人通过三氟乙酸酐衍生化处理样品检测出了曲奇中 CML 含量^[24];Yaacoub 等人检测了芝麻和坚果中 CML 的含量^[25];Wellner 等人通过三氟甲基酯衍生化处理检测出了胡萝卜制品的 CML 的含量^[26]。

近年来,在实际应用中发现,GC-MS 法的衍生化处理操作比较复杂,步骤相对繁琐,对实验的准确性要求高,且重现性一般,不适宜大批量的处理分析;与其它更先进的检测方法相比,没有优势;所以,GC-MS 法现在较少用于检测食品中的 CML 含量。

3.4 RP-HPLC 法

反相高效液相色谱法是化学键合相色谱法的一种,是由非极性固定相和极性流动相所组成的液相色谱体系,它与传统的由极性固定相和非极性流动相所组成的正相液相色谱体系正好相反。RP-HPLC 法的典型固定相是十八烷基键合硅胶,典型的流动相是甲醇和乙腈,乙醇、异丙醇、四氢呋喃及二氧六环常被用作修饰剂^[27]。RP-HPLC 法是当今液相色谱的最主要的分离模式,几乎可用于所有能溶于极性或非极性溶剂中的有机物的分离,具有前处理简单,灵敏度高,干扰小,检测速度快等优点^[28]。1994 年 Hartkopf 等人最先建立了邻苯二甲醛柱前衍生 RP-HPLC 法检测粮谷类和奶制品中的 CML 含量^[29]。随后 Drusch 等人根据不同样品制备方法和色谱条件对 RP-HPLC 法进行改进,用于检测乳制品、调味酱制品以及经调味酱处理的产品中 CML 含量的^[30]。

由于 RP-HPLC 法也需要对 CML 进行柱前衍生化处理,步骤相对繁琐,不适合批量的检测分析食品样品,无法满足食品中 CML 含量定量检测的需要^[31];所以 RP-HPLC 法也没有得到广泛应用。

3.5 LC-MS 法

LC-MS 法是以液相色谱仪为分离手段和质谱仪为检测手段,集液相色谱对复杂化合物的高分离能力和质谱独特的高灵敏度和高选择性于一体的检测分析

方法^[32]。对高沸点、热不稳定和难挥发化合物的分离和检测具有独特的优势。近年来,随着电喷雾、大气压化学电离等软电离技术的成熟,使得其定性定量检测结果更为可靠。由于 LC-MS 法具有诸多优点,已经被广泛应用于食品检测方面。为食品工业中原材料筛选、生产过程中质量控制、成品质量检测等提供了有效的分析检测手段^[33]。串联质谱(Tandem Mass Spectrometry, MS/MS)即由两个质谱仪经 1 个碰撞室串联后可以一次进行二级质谱检测的系统,具有超敏性、高特异性、高选择性和快速方便的特点。

LC-MS/MS 法用于检测食品中的 CML 含量,可以采用选择反应器监测(Selected Reaction Monitoring, SRM)、多反应器监测(Multiple-Reaction Monitoring, MRM)和线性离子阱质谱仪等多种检测模式进行^[34-37]。2005 年 Ahmed 等人采用 LC-MS/MS 法通过 MRM 模式,成功检测出可乐和牛奶中的 CML 含量,发现可乐饮料中存在较低含量的 CML,巴氏杀菌奶和灭菌乳中存在较高含量的 CML^[38]。2006 年 Fenaille 等人采用高效液相色谱-串联质谱法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC-MS/MS)成功检测出了婴幼儿配方奶粉和液态牛奶中的 CML 含量^[39]。贾寒冰等人采用 HPLC-MS/MS 法在正离子模式下通过 MRM 分析,检测糖醋排骨中 CML 的含量;该方法最低检测限为 1.40 $\mu\text{g/g}$,加标回收率在 90.94%~105.26%之间,相对标准偏差在 5.80%~15.46%之间^[40]。黄娟等人采用 HPLC 法对婴幼儿乳粉中 CML 含量进行检测;结果表明,最低检测限为 0.16 $\mu\text{g/mL}$,加标回收率在 92%~107%之间,CML 含量的线性范围为 0.2 $\mu\text{g/mL}$ ~35.0 $\mu\text{g/mL}$,相关性系数为 0.9991^[41]。LC-MS 法用于检测食品中 CML 的含量,在 MRM 模式下通过对目标母离子和子离子的两步筛选,极大地提高了方法的选择性和灵敏度^[42]。

相比 GC-MS 法检测 CML 含量,建立 LC-MS 法检测 CML 含量不需要进行柱前衍生化处理,预处理步骤简单,而且抗干扰能力、选择性和重现性均有很大提高。从 CML 含量检测方法的发展趋势看,LC-MS/MS 法是今后重点研究的领域。

但是 LC-MS 法也存在一定的局限性。首先,由于存在“柱外效应”现象,如果流动相的流型发生变化,样品的滞留和扩散会使色谱峰显著变宽,导致柱效率降低;其次,由于质谱仪会受到样品中非挥发性盐类的污染,样品检测前需要经过复杂的固相萃取除盐步骤;另外,由于 CML 在 C_{18} 色谱柱中保留性很差,需要通过在流动相中添加三氟乙酸和九氟戊酸等离子对试剂增加保留性,这些试剂会在质谱中残留并会导致

检测灵敏度降低。

3.6 UPLC-MS/MS 法

世界上第一台商品化的 UPLC 系统是由 Waters 公司于 2004 年研制成功并推向市场的。UPLC 系统是一种采用粒径小于 2 μm 的小颗粒填料的色谱柱和压力大于 100 MPa 的超高压系统的新型液相色谱技术。UPLC 系统不仅比传统的 HPLC 系统具有更高的分离能力,而且使用 UPLC 系统还可以在很宽的线速度、流速和反压下进行工作,同时大大缩短分析周期,是一种具有高效率、高灵敏度和高特异性的分离方法^[43]。

为了更加高效地定量检测分析食品中的 CML 含量,2009 年 Assar 等人尝试采用 UPLC-MS/MS 法检测不同温度下处理的牛奶、黄油、奶酪、婴儿配方食品、面包、牛肉馅和橄榄油等食品中的 CML 含量,发现白面包皮中的 CML 含量最高,为 15.2 ± 0.63 mmol/mol,生牛肉馅中的 CML 含量最低,为 0.03 ± 0.02 mmol/mol^[44]。2012 年 Hull 等人采用 UPLC-MS/MS 法检测谷类制品和水果蔬菜制品中 CML 含量^[45],也取得了满意的结果。周琼燕在已有的 HPLC 和 UPLC-MS/MS 检测方法的基础上,采用脱脂、 NaBH_4 还原、分离蛋白质、盐酸水解、FMOC-Cl 的柱前衍生和固相萃取进行样品预处理,建立了一种稳定、灵敏的同位素稀释 UPLC-MS/MS 的方法,来检测食品中 CML 含量;该方法中 CML 含量的最低检测限为 2 ng/mL,最低定量限为 7 ng/mL,加标回收率在 98.9~99.6%之间,线性范围为 3.6~360 ng/mL,相关性系数为 0.9995^[46]。通过方法学论证实验表明,该方法适用于大批量样品中 CML 含量的检测,不仅可以缩短单个样品的分析时间,提高检测效率,还可以进一步提高色谱分离能力和灵敏度,并较大地改善了定量的准确度。尽管 UPLC-MS/MS 法与其它色谱分析方法相比具有更高的选择性,但是干扰因素仍然存在,尤其是对一些复杂食品基质(如咖啡)中的 CML 含量进行检测时,杂质会干扰 CML 及其内标,诱导其裂解,导致检测结果出现较大误差^[47,48]。

3.7 荧光传感检测法

基于半导体纳米材料所建立的 CML 荧光传感体系,是近年来所开发的一种较先进的检测方法。Liu 等人以量子点为荧光核心,以四乙氧基硅烷为交联剂,3-氨基-3-乙氧基硅烷为功能单体,建立起 CML 分子印迹聚合物,检测了婴幼儿配方奶粉、面包及牛奶中 CML 的含量^[49]。该方法检出限为 2.6 $\mu\text{g/L}$,线性范

围为 5 $\mu\text{g/L}$ ~400 $\mu\text{g/L}$ 。该方法前处理简单,不需要复杂的除杂质过程,仅需将样品用水稀释,具有操作简单、快速高效和灵敏度高的特点,但这种荧光传感检测方法的检出限略高,对于食品中痕量 CML 的检测能力还有待进一步提升。

4 结论

由于 CML 的摄入与人体多种疾病的发生和发展密切相关,因此,食品中 CML 的含量受到广泛的关注,如何快速高效地检测出食品中 CML 的含量是目前研究的一个重点方向。酶标法和仪器检测法都可用于检测食品中的 CML 含量,对比不同的实验结果发现,酶标法和仪器检测法各有其检测优势及不足之处。酶标法检测 CML 含量的优点是操作简便、快速高效,价格便宜;缺点是容易受到杂质的干扰,导致假阳性结果出现,也不能直接给出样品中 CML 的绝对浓度含量。而且,酶标法中的抗原或抗体主要来自于人体或者动物体,其用于检测食品中 CML 的准确性还有待进一步的鉴定。RP-HPLC 法和 GC-MS 法都需要进行复杂的柱前衍生,操作繁琐,灵敏度低;LC-MS 法和 UPLC-MS/MS 法虽然灵敏度较高,但也会有干扰存在。目前国内外尚无推荐使用的食品中 CML 检测的标准方法。相比其它检测方法荧光传感检测法操作简单、快速高效、灵敏度高,今后的研究工作中如果能将检出限降低到一定水平,将会是继 UPLC-MS/MS 法之后 CML 检测技术发展的新方向。

参考文献

- [1] Singh R, Barden A, Mori T, et al. Advanced glycation end-products: a review [J]. *Diabetologia*, 2001, 44(2): 129-146
- [2] Büser W, Erbersdobler H F, Liardon R. Identification and determination of N^ε-carboxymethyllysine by gas-liquid chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 1987, 387: 515-519
- [3] Thorpe S R, Baynes J W. CML: a brief history [J]. *International Congress*, 2002, 1245: 91-99
- [4] Sandu O, Song K Y, Cai W J, et al. Insulin resistance and type 2 diabetes in high-fat-fed mice are linked to high glycotoxin intake [J]. *Diabetes*, 2005, 54(8): 2314-2319
- [5] Hofmann S M, Dong H J, Li Z, et al. Improved insulin sensitivity is associated with restricted intake of dietary glycoxidation products in the db/db mouse [J]. *Diabetes*, 2002, 51(7): 82-89
- [6] Wenzel E, Tasto S, Erbersdobler H F, et al. Effect of heat-treated proteins on selected parameters of the biotransformation system in the rat [J]. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 2002, 46(1): 9-16
- [7] Zheng F, He C, Cai W, et al. Prevention of diabetic nephropathy in mice by a diet low in glycoxidation products [J]. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 2002, 18(3): 224-237
- [8] 孙红艳,刘洪臣.晚期糖基化终末产物(AGES)与衰老[J].*中华老年口腔医学杂志* 2010,8(5):314-317
SUN Hong-yan, LIU Hong-chen. Advanced glycation end products (AGES) and aging [J]. *Journal of the Chinese Elderly Oral Cavity Medical*, 2010, 8(5): 314-317
- [9] 叶成松,王贻坤,叶山东.晚期糖基化终末产物的特性及其检测[J].*国际病理科学与临床杂志*,2013,33(2):175-178
YE Cheng-song, WANG Yi-kun, YE Shan-dong. Advanced glycation end products characteristics and detection [J]. *International Journal of Pathology Science and Clinical*, 2013, 33(2): 175-178
- [10] Goldin A, Beckman J A, Schmidt A M, et al. Advanced glycation end products sparking the development of diabeticvascular injury [J]. *Circulation*, 2006, 114(6): 597-605
- [11] Baynes J W. The role of AGES in aging: causation or correlation [J]. *Experimental Gerontology*, 2001, 36(9): 1527-1537
- [12] Sasaki N, Takeuchi M, Chowei H, et al. Advanced glycation end products (AGE) and their receptor(RAGE) in the brain of patients with creutzfeldt-jakob disease with prion plaques [J]. *Neuroscience Letters*, 2002, 326(2): 117-120
- [13] Kumar P A, Kumar M S, Reddy G B. Effect of glycation on alpha-crystallin structure and chaperon-like function [J]. *Biochemical Journal*, 2007, 408(2): 251-258
- [14] Mccarthy A D, Uemura T, Etcheverry S B, et al. Advanced glycation end products interfere with integrin-mediated osteoblastic attachment to a type-i collagen matrix [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2004, 36(5): 840-848
- [15] Yen G, Liao C. Effects of maillard reaction products on dna damage in human ccells and their possible mechanisms [J]. *International Congress*, 2002, 1245(2): 321-325
- [16] Kasper M, Funk R H. Age-related changes in cells and tissues due to advanced glycation end products (AGES) [J]. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 2001, 32(3): 233-243
- [17] 付全意.食品模拟体系糖化反应过程中羧甲基赖氨酸的形成和抑制[D].广州:华南理工大学,2012

- FU Quan-yi. Formation and Inhibition of N^ε-(Carboxymethyl) lysine during glycation reaction in food model systems [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012
- [18] Tauer A, Hasenkopf K, Kislinger T, et al. Determination of N^ε-carboxymethyllysine in heated milk products by immunochemical methods [J]. *European Food Research and Technology*, 1999, 209(1): 72-76
- [19] Goldberg T, Cai W, Peppas M, et al. Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods [J]. *Journal of the American Dietetic Association*, 2004, 104(8): 1287-1291
- [20] Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, et al. Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet [J]. *Journal of the American Dietetic Association*, 2010, 110(6): 911-916
- [21] Teerlink T, Barto R, Ten Brink H J. Measurement of N^ε-(Carboxymethyl)lysine and N^ε-(Carboxyethyl)lysine in human plasma protein by stable-isotope-dilution tandem mass spectrometry [J]. *Clinical Chemistry*, 2004, 50(7): 1222-1228
- [22] 高畅,何志勇,曾茂茂,等.食品中晚期糖基化终产物的研究进展[J].*食品与发酵工业*,2013,39(4):151-156
GAO Chang, HE Zhi-yong, ZENG Mao-mao, et al. Research progress of dietary advanced glycation end products [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2013, 39(4): 151-156
- [23] Hegele J, Buetler T, Delatour T. Comparative LC-MS/MS profiling of free and protein-bound early and advanced glycation-induced lysine modifications in dairy products [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 617(1-2): 85-96
- [24] Charissou A, Ait-Ameur L, Birlouez-Aragon I. Kinetics of formation of three indicators of the maillard reaction in model cookies: influence of baking temperature and type of sugar [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(11): 4532-4539
- [25] Yaacoub R, Saliba R, Nsouli B. Formation of lipid oxidation and isomerization products during processing of nuts and sesame seeds [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(16): 7082-7090
- [26] Wellner A, Huettl C, Henle T. Formation of maillard reaction products during heat treatment of carrots [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(14): 7992-7998
- [27] 刘桂洋,毛香菊,陈晋阳.反相高效液相色谱的基本原理及其应用[J].*宁波化工*,2008,3:22-25
LIU Gui-yang, MAO Xiang-ju, CHEN Jin-yang. The basic principle and application of reversed phase high performance liquid chromatography [J]. *Journal of Ningbo Chemical Engineering*, 2008, 3: 22-25
- [28] Büser W, Erbersdobler H F, Liardon R. Identification and determination of N^ε-carboxymethyllysine by gas-liquid chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 1987, 387: 515-519
- [29] Hartkopf J, Pahlke C, Lüdemann G, et al. Determination of N^ε-carboxymethyllysine by a reversed-phase high-performance liquid chromatography method [J]. *Journal of Chromatography A*, 1994, 672(1-2): 242-246
- [30] Drusch S, Faist V, Erbersdobler H F. Determination of N^ε-carboxymethyllysine in milk products by a modified Reversed-phase HPLC method [J]. *Food Chemistry*, 1999, 65(4): 547-553
- [31] Delgado-Andrade C, Seiquer I, Navarro M P, et al. Maillard reaction indicators in diets usually consumed by adolescent population [J]. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2007, 51(3): 341-351
- [32] 蔡宝昌.中药制剂分析[M].北京:高等教育出版社,2007
CAI Bao-chang. *Chinese drugs pharmaceuticals analysis* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2007
- [33] 安蓉.液相色谱技术及液质联用技术在食品及农产品残留检测中的应用[J].*现代科学仪器*,2003,1:20-23
AN Rong. The application of liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry technology in food and agricultural residues detection [J]. *Modern Scientific Instrument*, 2003, 1: 20-23
- [34] Tareke E, Forslund A, Lindh C H, et al. Isotope dilution ESI-LC-MS/MS for quantification of free and total N^ε-(1-Carboxymethyl)-L-Lysine and Free N^ε-(1-Carboxyethyl)-L-Lysine: comparison of total N^ε-(1-Carboxyethyl)-L-Lysine levels measured with new method to ELISA assay in gruel samples [J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(4): 4253-4259
- [35] Zhang G, Huang G, Xiao L, et al. Determination of advanced glycation endproducts by LC-MS/MS in raw and roasted almonds(*Prunus dulcis*) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(22): 120 37-46
- [36] Spanneberg R, Salzwedel G, Glomb M A. Formation of early and advanced maillard reaction products correlates to the ripening of cheese [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2012, 60(2): 600-607
- [37] Céline N L, Frédéric J, Tessier. 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
- [38] Ahmed N, Mirshekar-Syahkal B, Kennish L, et al. Assay of advanced glycation endproducts in selected beverages and food by liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2005, 49(7): 691-699
- [39] Fenaille F, Parisod V, Visani P, et al. Modifications of milk constituents during processing: a preliminary benchmarking study [J]. *International Dairy Journal*, 2006, 16(7): 728-739
- [40] 贾寒冰,申明月,谢俊华,等.糖醋排骨中羧甲基赖氨酸分析方法建立及其烹饪过程中动态变化[J].*食品科学*,2015, 36(24):142-146
JIA Han-bing, SHEN Ming-yue, XIE Jun-hua, et al. Establishment of analytical method for N^ε-(carboxymethyl) lysine in sweet and sour pork ribs and its dynamic change during the cooking process [J]. *Food Science*, 2015, 36(24): 142-146
- [41] 黄娟,杨俊青,陈松润,等.HPLC 法测定婴幼儿配方乳粉中羧甲基赖氨酸[J].*食品研究与开发*,2016,2(30):175-177
HUANG Juan, YANG Jun-qing, CHEN Song-run, et al. Determination of carboxymethyl lysine in infant formula milk powder [J]. *Food Research and Development*, 2016, 2(30): 175-177
- [42] Ames J M. Determination of N^ε-(carboxymethyl)lysine in foods and related systems [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2008, 1126(1): 20-24
- [43] 郝桂明,唐素芳.超高效液相色谱在药物分析中的应用[J].*天津药学*,2009,21(6):64-69
HAO Gui-ming, TANG Su-fang. The application of ultra high performance liquid chromatography in pharmaceutical analysis [J]. *Journal of Tianjin Medicine*, 2009, 21(6): 64-69
- [44] Assar S H, Moloney C, Lima M, et al. Determination of N^ε-(carboxymethyl)lysine in food systems by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Amino Acids*, 2009, 36(2): 317-326
- [45] Hull G L J, Woodside J V, Ames J M, et al. N^ε-(carboxymethyl)lysine content of foods commonly consumed in a western style diet [J]. *Food Chemistry*, 2012, 131(1): 170-174
- [46] 周燕琼.植物多酚抑制食品中晚期糖基化终末产物的形成的作用机理研究[D].杭州:浙江大学,2015
ZHOU Yan-qiong. Study on the inhibition effects and mechanism of plant polyphenol on advanced glycation end-products in food [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015
- [47] Andrzejewski D, Roach J A, Gay M L, et al. Analysis of coffee for the presence of acrylamide by LC-MS/MS [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2004, 52(7): 1996-2002
- [48] Becalski A, Lau B P Y, Lewis David A, et al. Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modeling [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2003, 51(3): 802-808
- [49] LIU Hui-lin, WU Dan, ZHOU Kai-wen, et al. Development and applications of molecularly imprinted polymers based on hydrophobic CdSe/ZnS quantum dots for optosensing of N^ε-(carboxymethyl) lysine in foods [J]. *Food Chemistry*, 2016, 211: 34-40

(上接第 114 页)

- [19] Benzie I F, Strain J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay [J]. *Analytical Biochemistry*, 1996, 239(1): 70-76
- [20] Lee V, Chen C, Liao Y, et al. Structural determination and DPPH radical-scavenging activity of two acylated flavonoid tetraglycosides in oolong tea (*Camellia sinensis*) [J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2008, 56(6): 851-853
- [21] Verotta L, Orsini F, Pelizzoni F, et al. Polyphenolic glycosides from *African proteaceae* [J]. *Journal of Natural Products*, 1999, 62(11): 1526-1531
- [22] Lien E J, Mogi G, Harvey J E, et al. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 26(3-4): 285-294