

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241227007

引用格式: 李骏函, 邓鹏, 马斯迪, 等. 不同热加工条件下植物汉堡肉中杂环胺和晚期糖基化末端终产物的同步生成规律 [J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(7): 45–54.

LI JH, DENG P, MA SD, *et al.* Synchronous generation pattern of heterocyclic amines and advanced glycation end products in plant hamburger meat under different thermal processing conditions [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(7): 45–54. (in Chinese with English abstract).

# 不同热加工条件下植物汉堡肉中杂环胺和晚期糖基化末端终产物的同步生成规律

李骏函, 邓鹏, 马斯迪, 林卓佳, 陈秋铭, 王召君, 何志勇, 陈洁, 曾茂茂\*

(江南大学食品学院, 无锡 214122)

**摘要:** **目的** 探究植物汉堡肉在不同热加工条件下杂环胺(heterocyclic amines, HAs)和晚期糖基化末端终产物(advanced glycation end products, AGEs)的生成规律。**方法** 采用超高效液相色谱-串联质谱仪(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)分析不同处理方式(未熟制、蒸制、烤制)、烤制温度(160、180、200 °C)、烤制时间(4、8、12 min)对植物汉堡肉游离态 HAs 和 AGEs、结合态 HAs 和 AGEs 以及氨基酸含量的影响, 并采用主成分分析(principal component analysis, PCA)探讨不同热加工条件下植物汉堡肉中游离态及结合态 HAs 和 AGEs 的同步生成规律。**结果** PCA 结果表明, 烤制样品组中 200 °C/12 min 烤制条件下植物汉堡肉中游离态 HAs 和 AGEs、结合态 HAs 含量最高。生汉堡肉中共检测出游离态 HAs 总量(11.44±2.68) ng/g、结合态 HAs 总量(80.24±9.56) ng/g、游离态 AGEs 总量(1.99±0.29) μg/g、结合态 AGEs 总量(46.00±4.00) μg/g; 与生汉堡肉相比, 蒸制后植物汉堡肉结合态羧乙基赖氨酸(N<sup>ε</sup>-carboxyethyl-lysine, CEL)含量有所增加, 游离态 AGEs 和 HAs 差异较小。蒸后烤制(200 °C、12 min)危害物总量显著增加, 相比于空白组分别增加 191.83%、164.38%、218.59%、15.70%。在烤制时, 植物汉堡肉中游离态和结合态 HAs、游离态 AGEs 生成量随着烤制温度和时间的增加而增加。在烤制温度为 180 °C、烤制时间为 4~12 min 时, 游离态及结合态 HAs、游离态 AGEs 总量分别增长了 79.14%、23.38%、88.05%; 在烤制时间为 8 min 时, 烤制温度 200 °C 较 160 °C 植物汉堡肉中危害物含量分别增长了 61.28%、34.82%、67.93%。**结论** 不同处理方式及热加工条件对 HAs 和 AGEs 的生成具有显著影响, 植物汉堡肉中 HAs 和 AGEs 生成量随着烤制温度和时间的增加而增加。该研究旨在为植物汉堡肉热加工中 HAs 和 AGEs 减控提供理论和实验依据。

**关键词:** 植物汉堡肉; 杂环胺; 晚期糖基化末端终产物; 热加工; 生成规律

收稿日期: 2024-12-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(32272430)

第一作者: 李骏函(2001—), 女, 硕士, 主要研究方向为食品加工与健康。E-mail: Ljhan2024@163.com

\*通信作者: 曾茂茂(1982—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为食品加工与健康。E-mail: mmzeng@jiangnan.edu.cn

## Synchronous generation pattern of heterocyclic amines and advanced glycation end products in plant hamburger meat under different thermal processing conditions

LI Jun-Han, DENG Peng, MA Si-Di, LIN Zhuo-Jia, CHEN Qiu-Ming,  
WANG Zhao-Jun, HE Zhi-Yong, CHEN Jie, ZENG Mao-Mao\*

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**ABSTRACT: Objective** To investigate the generation pattern of heterocyclic amines (HAs) and advanced glycation end products (AGEs) in plant hamburger meat under different thermal processing conditions. **Methods** ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was used to analysed the effects of different treatments (uncooked, steamed and grilled), grilling temperatures (160, 180, 200 °C), and grilling times (4, 8, 12 min) on the content of free HAs and AGEs, bound HAs and AGEs, and amino acids in the plant hamburger meat. AGEs and amino acid content of plant hamburger meat, and investigate the simultaneous generation of free and bound HAs and AGEs in plant hamburger meat under different thermal processing conditions using principal component analysis (PCA). **Results** The results of PCA showed that the highest levels of free HAs and AGEs and bound HAs were found in plant hamburger meat under 200 °C/12 min roasting condition in the roasted sample group. A total of (11.44±2.68) ng/g of total free HAs, (80.24±9.56) ng/g of total bound HAs, (1.99±0.29) µg/g of total free AGEs and (46.00±4.00) µg/g of total bound AGEs were detected in the raw hamburger meat. Compared with raw plant hamburger meat, there was an increase in bound N<sup>ε</sup>-carboxyethyl-lysine (CELs) and a smaller difference in free AGEs and HAs in steamed plant hamburger meat. There was a significant increase in hazardous material content after steaming and roasting (200 °C, 12 min), which increased by 191.83%, 164.38%, 218.59% and 15.70%, respectively, as compared to the blank group. During roasting, the free and bound HAs, free AGEs in plant hamburger meat showed a increase with the increase of roasting temperature and time. The total amount of free and bound HAs and free AGEs increased by 79.14%, 23.38% and 88.05%, respectively, under the conditions of roasting temperature of 180 °C and roasting time of 4–12 min; under the condition of roasting time of 8 min, the content of hazards in plant hamburger meat at roasting temperature of 200 °C compared with that at 160 °C increased by 61.28%, 34.82% and 67.93%, respectively. **Conclusion** Different treatments and thermal processing conditions has significant effects on the generation of HAs and AGEs, which increase with the increase of roasting temperature and the prolongation of roasting time in plant hamburger meat. This study aims to provide theoretical and experimental basis for the reduction and control of HAs and AGEs in thermal processing of plant hamburger meat.

**KEY WORDS:** plant hamburger meats; heterocyclic amines; advanced glycation end products; thermal processing; generation pattern

## 0 引言

近年来, 由于人口的增长和饮食结构的改变, 人们对蛋白质的需求日益增加, 随之带来的是畜牧过度生产以及温室气体过度排放导致的全球变暖等问题的严重恶化<sup>[1-2]</sup>。因此, 能有效解决人们对蛋白质需求问题和减缓资源消耗的植物肉(plant-based meat alternatives, PBMA)受到了广泛的关注, 用植物蛋白制造植物基人造肉以替代动物源肉类食品正成为目前食品工业的研究热点之一<sup>[3]</sup>。

PBMAs以植物蛋白为主要原料, 通过3D打印、纺丝、蛋白质和亲水胶体混合、剪切、高水分挤压、冷冻排列等加工工艺使蛋白质降解、重组形成与动物肉相似的纤维结

构<sup>[4-6]</sup>。大豆和豌豆由于其蛋白含量高、容易获取且成本较低, 已成为PBMA最常见的植物原料<sup>[7-8]</sup>。一些已具有与肉类相似的产品特性和感官属性的汉堡肉、油炸肉丸等植物肉产品在市场中的销量不断增加。PBMA的市场规模迅速扩大, 从2018年的46亿美元预计增至2030年的850亿美元<sup>[9]</sup>。目前, PBMA的研究重点仍然是如何改善产品口味和提升营养价值, 对于PBMA在加工生产过程中相关安全性研究及危害物减控方面研究较少。PBMA通常使用水、油、蛋白质、碳水化合物、香精、色素和黏合剂等成分加工而成<sup>[8]</sup>。由于PBMA富含脂质和蛋白质, 烹饪等热处理过程会促进这些成分之间的相互作用, 从而产生杂环胺(heterocyclic amines, HAs)和晚期糖基化末端终产物

(advanced glycation end products, AGEs)等一些危害物<sup>[10]</sup>。

Ames 试验和长期动物研究证实, HAs 是一大类致癌和致突变化合物, 长期摄入 HAs 会增加人类罹患胃癌、结肠癌等癌症的风险<sup>[11-13]</sup>。AGEs 是一类在美拉德反应的最后阶段中形成的结构复杂、化学性质稳定的美拉德反应有害产物<sup>[14]</sup>。研究表明, AGEs 可以通过食物摄入并在人体内累积, 导致人体氧化应激, 进而引发血管疾病、糖尿病并发症、尿毒症等慢性疾病, 在日常饮食中减少 AGEs 的摄入对伤口愈合、心血管疾病有一定的积极影响<sup>[15-17]</sup>。HAs 和 AGEs 有共同的前体和中间体, 可以在富含蛋白质食品的高温加工过程中同时生成。动物源肉制品中 HAs 和 AGEs 的研究较多, 但在植物基肉制品中特别是 HAs 和 AGEs 的同步生成研究很少。

本研究采用超高效液相色谱-串联质谱法 (ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 分析了植物汉堡肉在不同热加工条件下 HAs 和 AGEs 以及前体氨基酸的含量变化, 以探究 HAs 和 AGEs 的同步生成规律。本研究对植物基肉制品加工过程危害物的控制具有一定的理论和实际应用价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

颗粒状大豆组织蛋白(台湾弘阳食品股份有限公司); 片状大豆组织蛋白(烟台双塔食品股份有限公司); 17种 HAs 标准品: 2-氨基-3-甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(2-amino-3-methyl-3H-imidazo[4,5-f]quinoline, IQ)、2-氨基-3,4-二甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline, MeIQ)、2-氨基-1-甲基咪唑并[4,5-b]喹啉(2-amino-1-methylimidazo[4,5-b]quinoline, IQ[4,5-b])、2-氨基-3-甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoxaline, IQx)、2-氨基-3,8-二甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline, MeIQx)、2-氨基-3,4,8-三甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(2-amino-3,4,8-trimethyl-imidazo[4,5-f]quinoxaline, 4,8-DiMeIQx)、2-氨基-1,5,6-三甲基咪唑并[4,5-b]吡啉(2-amino-1,5,6-trimethylimidazole and [4,5-b]pyridine, 1,5,6-TMIP)、2-氨基-3,7,8-三甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(2-amino-3,7,8-trimethyl-imidazo [4,5-f]quinoxaline, 7,8-DiMeIQx)、2-氨基-3,4,7,8-四甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(2-amino-3,4,7,8-tetramethyl-imidazo [4,5-f]quinoxaline, 4,7,8-TriMeIQx)、2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑并[4,5-b]吡啉(2-amino-1-methyl-6-phenyl-imidazo[4,5-b]pyridine, PhIP)、2-氨基-1,6-二甲基咪唑并[4,5-b]吡啉(2-amino-1,6-dimethyl imidazole and [4,5-b]pyridine, DMIP)、2-氨基-9H-吡啉并[2,3-b]咪唑(2-amino-9Hpyrido[2,3-b]indole, AaC)、2-氨基-3-甲基-9H-

吡啉并[2,3-b]咪唑(2-amino-3-methyl-9H-pyrido [2,3-b]indole, MeAaC)、1-甲基-9H-吡啉并[4,3-b]咪唑(1-methyl-9H-pyrido [2,3-b]indole, Harman)、9H-吡啉并[4,3-b]咪唑(9H-pyrido[2,3-b]indole, Norharman)、2-氨基-5-苯基吡啉(2-amino-5-phenylpyridine, Phe-P-1)和2-氨基-6-甲基二吡啉并[1,2-a:3',2'-d]咪唑(2-amino-6-methyldipyrido [1,2-a:3',2'-d]imidazole, Glu-P-1)(纯度>99%, 上海圣克鲁斯生物技术有限公司); 2种 AGEs 标准品: 羧甲基赖氨酸(N<sup>c</sup>-carboxymethyl-lysine, CML)、羧乙基赖氨酸(N<sup>c</sup>-carboxyethyl-lysine, CEL)及同位素标准品 d<sub>4</sub>-CML、d<sub>4</sub>-CEL(纯度>98%, 美国 Santa Cruz Biotechnology 公司); 17种氨基酸标准品: 天冬氨酸(aspartic acid, Asp)、精氨酸(arginine, Arg)、酪氨酸(tyrosine, Tyr)、半胱氨酸(cysteine, Cys)、缬氨酸(valine, Val)、蛋氨酸(methionine, Met)、苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)、异亮氨酸(isoleucine, Ile)、亮氨酸(leucine, Leu)、赖氨酸(lysine, Lys)、脯氨酸(proline, Pro)、甘氨酸(glycine, Gly)、丙氨酸(alanine, Ala)、丝氨酸(serine, Ser)、苏氨酸(threonine, Thr)、组氨酸(histidine, His)和谷氨酸(glutamic acid, Glu)(纯度>99%, 美国 Sigma-Aldrich 公司); 甲醇、乙腈(色谱级, 美国赛默飞公司); 盐酸、氢氧化钠、正己烷、乙酸乙酯、硼氢化钠、硼酸、三氯乙酸、1-辛醇、氨水(分析级, 国药集团化学试剂有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

莱欣诺®全新 iCombi Pro 膳酷盛®智能厨房烹饪系统(德国 Rational 公司); Acquity UPLC TQD 超高效液相色谱串联三重四极杆质谱联用仪、配有 2998 二极管阵列检测器的 Waters e2695 高效液相色谱仪、Waters Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)、X-Bridge C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)(美国 Waters 公司); Agilent Hypersil OSD 色谱柱(250 mm×4.0 mm, 5 μm)(美国 Agilent Technologies 公司); Fotector Plus 高通量全自动固相萃取仪和 Auto EVA-60 全自动平行浓缩仪[睿科集团(厦门)股份有限公司]; AL104 电子天平[精度 0.1 mg, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; SB-4200 DTD 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); DHG-9140A 电热恒温鼓风干燥箱(江苏盛蓝仪器制造有限公司); GT10-1 离心机(上海安亭科学仪器厂); Oasis MCX 固相萃取小柱(60 mg/3 cc)(上海沃特世科技有限公司); 厚壁耐压瓶(48 mL, 北京欣维尔玻璃仪器有限公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 植物汉堡肉的制作和烹饪

将市售植物蛋白(颗粒状大豆组织蛋白+片状大豆组织蛋白)复水, 洗涤至水无色, 将洗好的蛋白脱水, 拆丝, 加入魔芋胶和碳酸钠、盐、味精、酱油和预制棕榈油、酵母提取物混合均匀, 取 40 g 于直径 6 cm 培养皿中压紧实,

制成肉饼,放入烤箱中 100 °C 蒸 1 h 成型,蒸好的肉饼冷却后采用不同温度(160、180、200 °C)和时间(2、4、6 min/面)条件烤制。

### 1.3.2 HAs 的定性定量分析

参考 DENG 等<sup>[18]</sup>的方法稍作修改,进行游离态和结合态 HAs 的提取。游离态 HAs 提取:称取 4 g 待测样品,加入 20 mL 正己烷,振荡,以 4 °C, 8000 r/min 离心 15 min,除去正己烷层,重复 3 次。挥干剩余样品中的正己烷后,加入 30 mL 1 mol/L 氢氧化钠溶液均质 1 min,转移至盛有 14 g 硅藻土的三角瓶中,加入 50 mL 乙酸乙酯混合,混匀后 40 kHz, 50 °C 超声提取 60 min。将超声提取后的样品以 3000 r/min 离心 10 min,收集上清液,继续向剩余的下层样品加入 50 mL 乙酸乙酯溶液,重复上述步骤 3 次,确保提取完全。将收集到的上清乙酸乙酯提取液汇总并氮吹浓缩至 20 mL 左右后,加入 1 mL 2 mol/L 盐酸溶液中和残留的氢氧化钠溶液,随后进行固相萃取。

游离态 HAs 固相萃取:对 Oasis MCX 固相萃取小柱活化后(色谱级甲醇、超纯水、乙酸乙酯各 6 mL),上样乙酸乙酯提取液,随后淋洗(0.1 mol/L 盐酸溶液、甲醇各 6 mL),最后,用甲醇-氨溶液(19:1, V:V)洗脱保留在小柱中的 HAs,得到 6 mL 洗脱液。洗脱液用氮气吹干,再用 0.3 mL 甲醇复溶,涡旋 30 s,再用 0.22 μm 滤膜过滤后进行 UPLC-MS/MS 分析。

结合态 HAs 提取:将上述采用乙酸乙酯提取游离态 HAs 的剩余滤渣转移到耐压瓶中,然后加入 40 mL 6 mol/L 盐酸,氮吹 2 min 后,于 110 °C 水解 24 h。水解后过滤并定容至 100 mL,取 10 mL 定容后的水解液进行固相萃取。

结合态 HAs 固相萃取:分别各用 6 mL 色谱级甲醇、超纯水、0.1 mol/L 盐酸溶液对 Oasis MCX 固相萃取小柱活化后,上样水解液,后续淋洗、洗脱等步骤与游离态 HAs 固相萃取步骤相同。最终,洗脱液用氮气吹干,再用 0.3 mL 甲醇复溶,涡旋 30 s,再用 0.22 μm 滤膜过滤后进行 UPLC-MS/MS 分析。色谱条件:Waters Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub> 柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm);柱温:45 °C;流动相:A 相为 100%乙腈,B 相为 0.1%甲酸(pH=4.75);洗脱梯度:0~2 min 为 2% A, 2~12 min 为 2%~20% A, 12~14 min 为 20%~100% A, 14~17 min 为 100%~2% A, 17~20 min 为 2% A。

质谱条件:多反应监测模式;电喷雾正离子模式;离子源温度:100 °C;脱溶剂气温度:400 °C;脱溶剂气流速:700 L/h;毛细管电压:3.5 kV;锥孔气体(氮气)流速:50 L/h;碰撞气(氩气)流速:0.15 mL/min;HAs 的质谱参数如表 1 所示。

### 1.3.3 AGEs 的定性定量分析

AGEs 的测定参考 DENG 等<sup>[18]</sup>方法并稍作修改。游离态 AGEs:称取 50 mg 样品,加入 5 mL 正己烷,振荡,离

表 1 17 种 HAs UPLC-MS/MS 分析的多反应监测模式参数  
Table 1 Multiple reaction monitoring model parameters for UPLC-MS/MS analysis of 17 kinds of HAs

HAs	保留时间/min	前体离子 [M+H] <sup>+</sup> (m/z)	子离子(m/z)	锥孔电压/V	碰撞电压/eV	驻留时间/s
IQ	3.97	199	130	30	40	0.15
DMIP	4.63	163	148	30	25	0.15
MeIQ	4.75	213	198	30	25	0.15
IQx	5.79	200	185	30	25	0.15
1,5,6-TMIP	6.21	177	162	30	25	0.15
Glu-P-1	6.37	199	145	30	30	0.15
MeIQx	7.35	214	131	30	40	0.15
IQ[4,5-b]	7.81	199	115	30	40	0.15
7,8-DiMeIQx	8.77	228	213	30	25	0.15
Norharman	8.90	169	115	30	30	0.15
4,8-DiMeIQx	8.97	228	212	30	30	0.15
Phe-P-1	9.80	171	127	30	30	0.15
Harman	9.96	183	115	30	30	0.15
4,7,8-TriMeIQx	10.34	242	227	30	30	0.15
PhIP	11.41	225	210	30	30	0.15
AαC	11.84	183	140	30	30	0.15
MeAαC	13.34	198	181	30	25	0.15

心 15 min,除去正己烷层,重复 3 次。挥干剩余样品中的正己烷。加入硼酸盐缓冲液(1.5 mL 0.2 mol/L),加入硼氢化钠溶液(1 mL),加入适量的 1-辛醇,在室温下静置 4 h。向还原后的样品液加入 2.5 mL 20%的三氯乙酸溶液,使得最后样品液中的三氯乙酸浓度为 10%,充分混合后静置,然后在 10000 g/min 下离心 10 min,沉淀备用。吸取 500 μL 上清液,氮气吹干,用 3 mL 5 mmol/L 的九氟戊酸水溶液复溶,并加入 150 μL 0.1 μg/mL 的 d<sub>4</sub>-CML 和 d<sub>4</sub>-CEL 混合内标溶液,涡旋振荡 30 s 充分混匀。结合态 AGEs 提取:取剩余沉淀 5 mL 6 mol/L 的盐酸溶液,氮吹 30 s,于 110 °C 烘箱水解 24 h。水解完成后,过滤,定容至 25 mL。吸 500 μL 水解液,60 °C 下吹干,同样复溶后加入 150 μL 含有 0.0891 μg d<sub>4</sub>-CML 和 0.0825 μg d<sub>4</sub>-CEL 的内标溶液。

游离态和结合态提取液随后进行固相萃取:对 Oasis MCX 固相萃取小柱进行活化(甲醇、超纯水各 3 mL),润洗(3 mL 0.1 mol/L HCl 溶液),上样,淋洗(0.1 mol/L HCl、超纯水各 3 mL),洗脱[3 mL 甲醇-氨溶液(19:1, V:V)]。将洗脱液用氮气吹干,用 600 μL 超纯水复溶,涡旋 30 s,再用 0.22 μm 水系滤膜过滤,进行高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)分析。

HPLC-MS/MS 分析条件: X-Bridge C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相 A: 5 mmol/L NPFA, B: 乙腈; 柱温: 35 °C; 进样量: 5 μL; 洗脱梯度: 0~0.1 min, 5% A; 0.1~5.0 min, 60% A; 5.0~9.0 min, 100% A; 9.0~10.0 min, 5% A。

电离方式: 电喷雾正离子模式; 检测方式: 多反应监测模式; 毛细管电压: 3.55 kV; 离子源温度: 110 °C; 脱溶剂气温度: 350 °C; 锥孔气流量: 50 L/h; 脱溶剂气流量: 500 L/h; 碰撞气流量: 0.15 mL/min。AGEs 的质谱参数如表 2 所示。

表 2 AGEs 的 HPLC-MS/MS 多反应监测模式的质谱参数  
Table 2 Mass spectrometry parameters of multiple reaction detection mode for HPLC-MS/MS analysis of AGEs

目标物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	锥孔 电压/V	碰撞 能量/eV	驻留 时间/ms	中性碎片损失
CML	205	84	20	14	20	NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H, H <sub>2</sub> CO <sub>2</sub>
d <sub>4</sub> -CML	209	88	20	15	20	NH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H, H <sub>2</sub> CO <sub>2</sub>
CEL	219	84	20	16	20	NH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )CO <sub>2</sub> H, H <sub>2</sub> CO <sub>2</sub>
d <sub>4</sub> -CEL	223	88	20	13	20	NH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )CO <sub>2</sub> H, H <sub>2</sub> CO <sub>2</sub>

### 1.3.4 氨基酸的测定

参考 DENG 等<sup>[18]</sup>的方法, 采用 6 mol/L 盐酸 120 °C 水解 22 h, 加入 10 mol/L NaOH 进行中和后定容, 过滤, 得到总氨基酸提取液。采用 Agilent Hypersil OSD 色谱柱(250 mm×4.0 mm, 5 μm)进行高效液相色谱法分析。流动相为 29.3 mmol/L 乙酸钠-三乙胺-四氢呋喃(A, 500:0.09:2.5, V:V:V, pH=7.2)和 49.0 mmol/L 乙酸钠-乙腈-甲醇(B, 1:2:2, V:V:V, pH=7.2)。洗脱梯度: 0~27.0 min, 92%~50% A, 1.0 mL/min; 27.0~31.0 min, 50%~0% A, 1.0 mL/min; 31.0~31.5 min, 0% A, 1.5 mL/min; 31.5~33.5 min, 0%~100% A, 1.5 mL/min; 33.5~35.0 min, 100% A, 1.0 mL/min。进样量 1 μL, 柱温 40 °C, 检测波长: 338 nm, 脯氨酸为 262 nm。

## 1.4 数据处理

实验样品设置 3 组平行, 测定数据采用平均值±标准偏差的形式表示; 用 Masslynx V4.1 软件进行液相色谱质谱数据进行分析; 用 Statistix 9.0 软件进行显著性差异分析; 用 SIMCA 绘制 PCA 图; 用 Origin 9.0 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同热加工条件下植物汉堡肉中 HAs 含量的变化

不同热加工条件下植物汉堡肉中游离态 HAs 含量如表 3 所示。共检测到 4 种游离态 HAs: PhIP、Harman、Norharman、AαC, 主要为咪唑类 HAs。根据化合物结构及极性不同, HAs 可分为氨基咪唑氮杂芳烃(amino-imidazoazarene, AIA), 即极性 HAs; 氨基咪唑类(amino-carbolin congener), 即非极性 HAs 两类。检测到的 4 种游离态 HAs 中, PhIP 属于极性 HAs, Harman、Norharman 及 AαC 属于非极性 HAs。生植物汉堡肉中 4 种游离态 HAs 含量分别为 PhIP (0.13±0.02 ng/g)、Harman (5.48±0.70 ng/g)、Norharman (5.46±2.96 ng/g)、AαC (0.37±0.02 ng/g), 总量(11.44±2.68) ng/g, 4 种游离态 HAs 含量及总量在 11 个样品组中数值最低。在未经熟制的生植物汉堡肉中即可检测到危害物存在, 这可能是生植物汉堡肉的原料组织蛋白在高温挤压过程中所产生的, 在挤压过程中环境温度升高, 生植物汉堡肉原料组织蛋白发生热解, 其所含氨基酸部分经斯特勒克降解生成苯乙醛进而和肌酸酐发生缩合反应生成危害物; 部分氨基酸同葡萄糖发生反应其重排产物进一步环化、氧化形成危害物<sup>[19]</sup>。此外植物汉堡肉制作过程中所添加的盐、味精、酱油等调味料本身也存在一定量的危害物<sup>[18,20]</sup>。有研究表明酱油中存在大量的非极性 HAs, 以 Harman、Norharman 为主, 这也可能是生汉堡肉中 Harman、Norharman 较另两种 HAs 含量较高的原因<sup>[21]</sup>。

表 3 不同热加工条件下植物汉堡肉中游离态 HAs 含量(ng/g)

Table 3 Free HAs content in plant hamburger meats under different thermal processing conditions (ng/g)

加工方式(条件)	PhIP	Harman	Norharman	AαC	总量	
生植物汉堡肉	0.13±0.02 <sup>ab</sup>	5.48±0.70 <sup>f</sup>	5.46±2.96 <sup>c</sup>	0.37±0.02 <sup>f</sup>	11.44±2.68 <sup>f</sup>	
蒸制(100 °C/1 h)	0.11±0.03 <sup>b</sup>	6.53±0.82 <sup>cf</sup>	6.21±0.16 <sup>bc</sup>	0.76±0.23 <sup>c</sup>	13.56±0.45 <sup>cf</sup>	
100 °C/1 h 蒸制后 烤制	160 °C/4 min	0.15±0.02 <sup>a</sup>	6.87±0.75 <sup>cf</sup>	6.96±0.45 <sup>bc</sup>	1.16±0.25 <sup>d</sup>	15.13±0.65 <sup>def</sup>
	160 °C/8 min	0.13±0.03 <sup>ab</sup>	8.56±0.53 <sup>dc</sup>	8.46±2.44 <sup>abc</sup>	1.29±0.12 <sup>cd</sup>	18.44±2.14 <sup>bcd</sup>
	160 °C/12 min	0.15±0.02 <sup>a</sup>	9.97±1.30 <sup>cd</sup>	9.21±1.00 <sup>abc</sup>	1.39±0.28 <sup>bcd</sup>	20.72±0.58 <sup>bc</sup>
	180 °C/4 min	0.15±0.02 <sup>a</sup>	7.07±0.67 <sup>cf</sup>	7.41±1.06 <sup>bc</sup>	1.34±0.13 <sup>cd</sup>	15.96±0.65 <sup>def</sup>
	180 °C/8 min	0.15±0.01 <sup>a</sup>	11.91±2.73 <sup>c</sup>	8.85±5.05 <sup>abc</sup>	1.52±0.16 <sup>bc</sup>	22.43±1.93 <sup>b</sup>
	180 °C/12 min	0.15±0.02 <sup>ab</sup>	14.75±2.89 <sup>b</sup>	12.09±2.20 <sup>a</sup>	1.61±0.07 <sup>abc</sup>	28.59±4.14 <sup>a</sup>
	200 °C/4 min	0.14±0.02 <sup>ab</sup>	10.79±0.46 <sup>cd</sup>	5.90±1.38 <sup>bc</sup>	1.44±0.35 <sup>bcd</sup>	18.27±1.56 <sup>bcd</sup>
	200 °C/8 min	0.14±0.03 <sup>ab</sup>	18.14±0.84 <sup>a</sup>	9.78±1.58 <sup>ab</sup>	1.68±0.17 <sup>ab</sup>	29.74±1.98 <sup>a</sup>
200 °C/12 min	0.15±0.01 <sup>a</sup>	19.31±2.77 <sup>a</sup>	12.04±2.59 <sup>a</sup>	1.88±0.02 <sup>a</sup>	33.38±4.33 <sup>a</sup>	

注: 同一列中不同小写字母表示 95%置信水平下的值存在显著差异(P<0.05), 下同。

在 10 种不同热加工条件下,植物汉堡肉中检测到游离态 HAs 含量分别为 PhIP 0.11~0.15 ng/g, Harman 6.53~19.31 ng/g、Norharman 5.90~12.09 ng/g、AaC 0.76~1.88 ng/g, 总量 13.56~33.38 ng/g。对比不同热加工条件下植物汉堡肉中游离态 HAs 总量发现,蒸制后游离态 HAs 总量与生汉堡肉中总量没有明显差异;蒸后烤制的植物汉堡肉所生成的游离态 HAs 总量均高于生汉堡肉和蒸制汉堡肉,在烤制温度 200 °C、烤制时间 12 min 条件下游离态 HAs 总量较生植物汉堡肉增加了 191.83%。此外,植物汉堡肉中的游离态 HAs 含量随烤制温度增加、时间延长呈现持续增长的趋势,在烤制温度为 180 °C、烤制时间为 4~12 min 时,游离态 HAs 总量增长了 79.14%;在烤制时间为 8 min 时,烤制温度 200 °C 较 160 °C 植物汉堡肉中游离态 HAs 总量增长了 61.28%。LIAO 等<sup>[22]</sup>测定蒸煮、微波烹煮、烤制、油炸等不同烹饪条件下鸭肉的 HAs 含量,发现一样的增长趋势,即蒸煮<微波烹煮<烤制。在不同热加工条件下,植物汉堡肉中 PhIP 含量相对较低在 0.11~0.15 ng/g 范围内浮动,差异性较小,通过研究结果不能看出 PhIP 的生成规律,这可能是因为目前的加工条件(100~200 °C)没有达到 PhIP 大量生成的条件。有研究表明,高温更有利于 PhIP 的形成,当温度高于 200 °C 时 PhIP 生成速度会显著加快,含量发生显著变化<sup>[23-25]</sup>。蒸后烤制条件下,Harman、Norharman、AaC 3 种游离态 HAs 含量均随烤制温度增加、时间延长而增加且温度影响较大,这可能是因为随着温度升高、时间延长,由美拉德反应等途径生成 HAs 的反应逐渐加剧,累计的 HAs 含量也逐渐增多<sup>[26]</sup>。

由表 4 可知,不同热加工条件下植物汉堡肉中共检测出 4 种结合态 HAs,包括 MeAaC、Harman、Norharman 和 AaC。生植物汉堡肉中 4 种结合态 HAs 含量分别为 MeAaC (23.85±2.90 ng/g)、Harman (20.53±4.60 ng/g)、Norharman (25.75±1.88 ng/g) 和 AaC (10.12±3.18 ng/g), 总量为 (80.24±9.56) ng/g。蒸制处理后的植物汉堡肉中 4 种结合态 HAs 含量及总量与生植物汉堡肉差异较小。蒸后烤制加工的 9 个样品组 4 种结合态 HAs 含量均有所升高,分别为

MeAaC (39.80~65.25) ng/g, Harman (26.77~69.83) ng/g、Norharman (36.00~65.13) ng/g、AaC (10.89~15.99) ng/g。同一体系下,Harman、Norharman 和 AaC 3 种结合态 HAs 的含量都比对应的游离态 HAs 高 3~10 倍,这可能是因为结合态 HAs 的生成途径有多种,除蛋白质总氨基酸残基与 HAs 前体发生反应生成外,游离态 HAs 中氨基与蛋白质或氨基酸中羧基也可以反应形成酰胺键生成 HAs,游离态 HAs 本身也可有选择性地吸附在蛋白质表面生成结合态 HAs 所致<sup>[27]</sup>。

对比不同热加工条件下植物汉堡肉中结合态 HAs 含量发现,结合态 MeAaC、Harman 及 HAs 总量随烤制温度增加、烤制时间延长呈增加的趋势。蒸后烤制的植物汉堡肉中结合态 MeAaC、Harman 及 HAs 总量较生植物汉堡肉增加了 66.88%~173.58%、30.39%~240.14%、44.89%~164.38%。在烤制温度确定为 180 °C、烤制时间为 4~12 min 时,结合态 HAs 总量增长了 23.38%;在烤制时间为 8 min 时,烤制温度 200 °C 较 160 °C 植物汉堡肉中危害物含量分别增长了 34.82%。结合态 Norharman 随烤制温度变化明显,温度增加含量随之增加,但烤制时间对其含量的影响仅表现在烤制温度为 200 °C 条件下。在烤制温度 160 °C 及 180 °C 条件下其含量随时间变化没有显著差异及明显规律;在烤制温度 200 °C 时含量随烤制时间延长增加,这可能是因为结合态 Norharman 在较低温度条件下生成的含量是有限的,不足以观察到明显的变化规律<sup>[23]</sup>。结合态 AaC 在烤制温度 160 °C 及 180 °C 条件下随烤制温度增加、烤制时间延长而随之增加,但烤制温度为 200 °C 时,其含量随时间延长而有所下降,这可能是因为结合态 AaC 在 ≥ 200 °C 条件下会向游离态转变所致<sup>[28]</sup>。与传统肉类如烤猪肉、烤羊肉、烤牛肉等肉类制品中 HAs 含量相比,植物汉堡肉中的 HAs 种类更少、含量更低,这可能是由于传统肉类制品相较植物汉堡肉营养价值更高、氨基酸种类及含量更丰富,由此氨基酸进一步反应所生成的危害物种类更多,含量更高<sup>[19]</sup>。

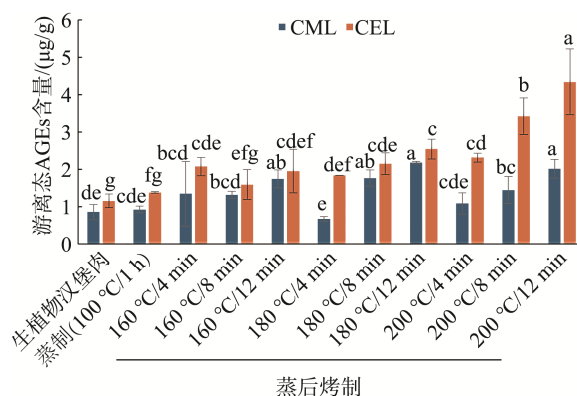
表 4 不同热加工条件下植物汉堡肉中结合态 HAs 含量(ng/g)

Table 4 Content of bound HAs in plant hamburger meats under different thermal processing conditions (ng/g)

加工方式(条件)	MeAaC	Harman	Norharman	AaC	总量	
生植物汉堡肉	23.85±2.90 <sup>f</sup>	20.53±4.60 <sup>e</sup>	25.75±1.88 <sup>de</sup>	10.12±3.18 <sup>d</sup>	80.24±9.56 <sup>e</sup>	
蒸制(100 °C/1 h)	26.84±1.73 <sup>f</sup>	15.66±2.87 <sup>e</sup>	32.50±1.58 <sup>c</sup>	6.33±1.82 <sup>c</sup>	81.33±2.97 <sup>e</sup>	
100 °C/1 h 蒸制后 烤制	160 °C/4 min	39.80±4.17 <sup>e</sup>	26.77±2.12 <sup>f</sup>	38.80±3.88 <sup>cd</sup>	10.89±2.98 <sup>cd</sup>	116.26±3.22 <sup>f</sup>
	160 °C/8 min	47.80±2.39 <sup>de</sup>	29.55±2.06 <sup>cf</sup>	40.08±1.13 <sup>cd</sup>	12.98±2.67 <sup>abcd</sup>	130.40±5.79 <sup>ef</sup>
	160 °C/12 min	43.91±4.14 <sup>de</sup>	35.83±2.47 <sup>d</sup>	43.50±4.02 <sup>cd</sup>	14.65±0.28 <sup>ab</sup>	137.88±2.47 <sup>de</sup>
	180 °C/4 min	46.00±9.33 <sup>de</sup>	33.78±1.58 <sup>de</sup>	36.00±7.60 <sup>cd</sup>	13.85±0.50 <sup>abc</sup>	129.63±0.65 <sup>ef</sup>
	180 °C/8 min	56.20±9.03 <sup>abc</sup>	42.45±3.26 <sup>c</sup>	47.28±5.77 <sup>bc</sup>	12.28±0.33 <sup>bcd</sup>	158.20±6.51 <sup>c</sup>
	180 °C/12 min	60.45±9.95 <sup>ab</sup>	39.38±2.83 <sup>cd</sup>	44.13±4.10 <sup>cd</sup>	15.99±1.59 <sup>a</sup>	159.94±8.91 <sup>bc</sup>
	200 °C/4 min	45.65±6.55 <sup>de</sup>	52.08±7.02 <sup>b</sup>	38.28±15.95 <sup>cd</sup>	13.11±2.58 <sup>abcd</sup>	149.11±16.49 <sup>cd</sup>
	200 °C/8 min	52.95±3.13 <sup>bcd</sup>	54.70±3.90 <sup>b</sup>	57.05±3.82 <sup>ab</sup>	11.10±1.40 <sup>cd</sup>	175.80±5.43 <sup>b</sup>
	200 °C/12 min	65.25±4.06 <sup>a</sup>	69.83±2.61 <sup>a</sup>	65.13±11.96 <sup>a</sup>	11.94±1.39 <sup>bcd</sup>	212.14±10.29 <sup>a</sup>

## 2.2 不同热加工条件下植物汉堡肉中 AGEs 的含量变化

由于化学结构不同, AGEs 主要可分为具有荧光性(戊糖素等)和不具有荧光性(CML、CEL 等)两类<sup>[29]</sup>。本研究分别检测游离态和结合态的 CML 和 CEL 含量变化来表征 AGEs 在不同热加工条件下的生成规律。不同热加工条件下植物汉堡肉中游离态 AGEs 含量变化如图 1 所示, 在生植物汉堡肉中检测到游离态 CML 含量(0.85±0.20) μg/g、CEL 含量(1.15±0.18) μg/g, 游离态 AGEs 总量(1.99±0.29) μg/g。生植物汉堡肉中 AGEs 的来源可能源于植物汉堡肉中加入的酱油调味品, CHAO 等<sup>[30]</sup>测定酱油中 CML 含量为(224±43) μg/100 mL。蒸制后的植物汉堡肉所测游离态 CML 和 CEL 含量与生植物汉堡肉差异较小; 蒸后烤制处理下的植物汉堡肉中游离态 CML 和 CEL 含量大多增加。蒸后烤制的游离态 AGEs 总量随烤制温度增加、烤制时间延长有所增加, 在烤制温度为 180 °C、烤制时间为 4~12 min 时, 游离态 AGEs 总量 88.05%; 在烤制时间为 8 min 时, 烤制温度 200 °C 较 160 °C 增长了 67.93%。在烤制热处理方式下, 随烤制温度增加植物汉堡肉中游离态 CML 含量没有明显变化趋势, 当烤制温度确定、烤制时间延长游离态 CML 含量呈现显著增加的趋势, LIU 等<sup>[31]</sup>曾报道过类似的结果, 即在 140、150、160 °C 不同油炸条件下面粉肉制品 CML 含量并无显著变化, 这表明相对而言烤制温度可能对游离态 CML 的生成影响较小, 烤制时间影响较大。随烤制温度增加、烤制时间延长, 植物汉堡肉中游离态 CEL 含量显著增加。当烤制时间确定为 12 min, 200 °C 烤制条件下的植物汉堡肉中游离态 CEL 含量较 160、180 °C 分别提高了 33.33%、39.58%; 当烤制温度确定为 200 °C 时, 烤制 12 min 的植物汉堡肉中游离态 CEL 含量较 4、8 min 提高了 48.05%、26.90%。



注: 不同字母表示组间具有显著差异性( $P < 0.05$ ), 图 2 同。  
图 1 不同热加工条件下植物汉堡肉中游离态 AGEs 含量变化  
Fig.1 Changes of free AGEs content in plant hamburger meats under different thermal processing conditions

不同热加工条件下植物汉堡肉中结合态 AGEs 含量变化如图 2 所示。在生植物汉堡肉中检测到结合态 CML 含

量(21.14±2.74) μg/g、CEL 含量(24.86±4.06) μg/g、结合态 AGEs 总量(46.00±4.00) μg/g。不同热处理方式、不同烤制温度、时间下, 植物汉堡肉中结合态 CML 没有明显变化规律。结合态 CEL 含量变化规律明显, 蒸制及蒸后烤制处理后植物汉堡肉中结合态 CEL 含量明显高于生植物汉堡肉, 分别达(27.68±4.27) μg/g、29.34~43.38 μg/g。经过蒸后烤制加工的植物汉堡肉所生成的结合态 CEL 随烤制温度增加呈现增加的趋势, 随时间延长呈现先增加后降低的趋势, 这可能是反应到后期 CEL 从结合态向游离态转变导致的<sup>[32]</sup>。

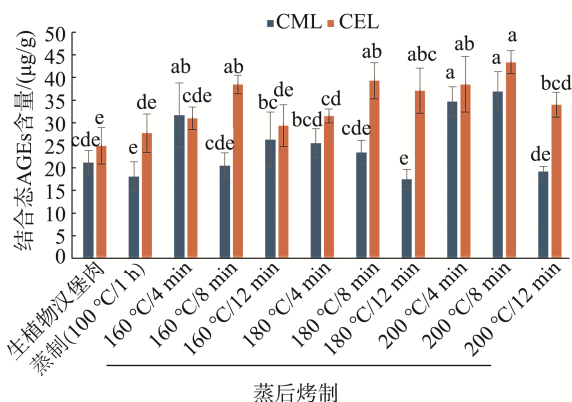


图 2 不同热加工条件下植物汉堡肉中结合态 AGEs 含量变化  
Fig.2 Changes in the content of bound AGEs in plant hamburger meats under different thermal processing conditions

## 2.3 不同热加工条件下植物汉堡肉中氨基酸的含量变化

美拉德反应是危害物形成过程中的关键环节, 研究报道反应中还原糖和氨基酸发生斯特勒克降解生成的吡啶和吡嗪等物质会同肌酸酐与醛类脱水生成的氨基咪唑发生缩合反应进一步生成咪唑啉、咪唑啉啉及咪唑吡啶等物质<sup>[33]</sup>。因此, 氨基酸是反应生成 HAs 和 AGEs 的重要前体物质<sup>[34]</sup>。不同热加工条件下植物汉堡肉中氨基酸组成及含量如图 3 所示, 加工处理后植物汉堡肉中均可检测出 17 种氨基酸: Asp、Arg、Tyr、Cys、Val、Met、Phe、Ile、Leu、Lys、Pro、Gly、Ala、Ser、Thr、His、Glu。所有处理组的植物汉堡肉中 Cys、Met 含量均较低, 这可能是由于植物汉堡肉原料特殊性所致, 大豆蛋白和豌豆蛋白自身含硫氨基酸(Cys、Met)较少<sup>[35]</sup>。PhIP 的前体物质已被证实为 Phe<sup>[36]</sup>。CHEN 等<sup>[37]</sup>报道选用 Phe、葡萄糖和肌酐模拟体系进行加热可以生成 MeAaC、Harman、Norharman 和 AaC 4 种 HAs。因此, Phe 是生成 HAs 的重要前体物质之一。在不同热加工条件下的植物汉堡肉中, 蒸后烤制处理组的 Phe 含量显著低于生植物汉堡肉及蒸制处理组, 但其随烤制温度及时间没有明显变化规律, Phe 含量与 HAs 生成含量不存在显著相关性, 这与廖国周等<sup>[38]</sup>研究结果一致。Lys 是 CML 和

CEL 的前体氨基酸, 有研究报道 Lys 与二羰基的结合是形成 CML 和 CEL 的主要反应之一<sup>[39]</sup>。本研究中, 蒸后烤制处理后植物汉堡肉中 Lys 含量显著低于生植物汉堡肉与蒸制处理组, 而其 CML 及 CEL 含量显著高于生植物汉堡肉与蒸制处理组, 二者可能存在较强的相关性。

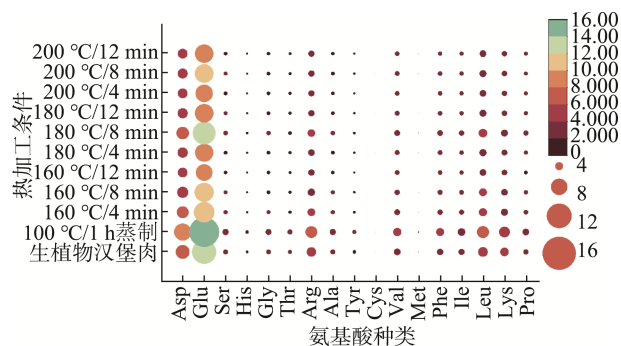


图 3 不同热加工条件下植物汉堡肉中氨基酸组成及含量  
Fig.3 Amino acid composition and content in plant hamburger meats under different thermal processing conditions

## 2.4 HAs 和 AGEs 主成分分析

采用 PCA 主成分分析表明不同热加工条件下植物汉堡肉中游离态 HAs 和 AGEs 水平的差异, 如图 4 所示。主成分分析模型中 PC1 和 PC2 累积贡献率为 76.2%, 大于 60%, 可以充分反映不同热加工条件对植物汉堡肉中生成游离态 HAs 和 AGEs 的影响。图中 PC1 方向来看, 生植物汉堡肉组和蒸制组位于最左侧, 偏离游离态 HAs 和 AGEs 的位置, 烤制组均位于蒸制组右侧, 这表明游离态 HAs 和 AGEs 生成含量与加工条件密切相关, 生植物汉堡肉和蒸制组游离态 HAs 和 AGEs 生成含量最少。随着温度升高,

样本点向 PC1 方向向右迁移, 逐渐靠近 HAs 和 AGEs 位置, 这说明温度越高, AGEs 和 HAs 的生成量越高。从烤制加热时间角度分析, 在每一烤制温度组别内, 烤制 12 min 均在最右侧, 这表明烤制加热时间延长可增加植物汉堡肉游离态 HAs 和 AGEs 的生成。从 PC2 方向可以发现, 不同热加工条件下的样品组集中在中间区域, 上下并没有明显分离且与 PhIP 距离较远, 这表明本研究中的热加工条件 (100~200 °C) 对游离态 PhIP 的生成没有产生较大的影响, 可能并没有达到 PhIP 显著变化的条件, 研究表明当温度高于 200 °C 时 PhIP 生成速度会显著增快, 含量发生显著变化<sup>[25]</sup>。

不同热加工条件对植物汉堡肉中结合态 HAs 和 AGEs 生成的影响如图 5 所示。两个主成分方差累计贡献率为 71.3% (>60%), 可以反映不同热加工条件对植物汉堡肉中生成结合态 HAs 和 AGEs 的影响。不同样本点在 PC1 方向出现明显分离, 3 种不同处理方式(生植物汉堡肉、蒸制组、蒸后烤制组)下, 生植物汉堡肉与蒸制组位于最左侧, 蒸后烤制组分布在中间和右侧区域, 这说明不同处理方式对植物汉堡肉生成结合态 HAs 和 AGEs 具有显著影响, 蒸后烤制组会使植物汉堡肉生成更多的结合态 HAs 和 AGEs。160、180、200 °C 3 个不同加热温度样品点在 PC1 方向上有明显的分离, 这表明烤制温度对结合态危害物的生成具有显著的影响。这是因为烤制温度越高, 越接近危害物的最佳生成温度, 危害物越易生成<sup>[40-41]</sup>。随着烤制温度从 160 °C 升高至 200 °C, 同一温度下不同烤制时间的样本点呈现越来越分散的趋势, 这说明烤制温度越高的样品中危害物的生成受烤制时间影响越大。A $\alpha$ C 接近于 200 °C/12 min 的位置, CEL 位于 200 °C/8 min 的位置, 这些危害物可能是导致这些样品点之间存在差异的因素。

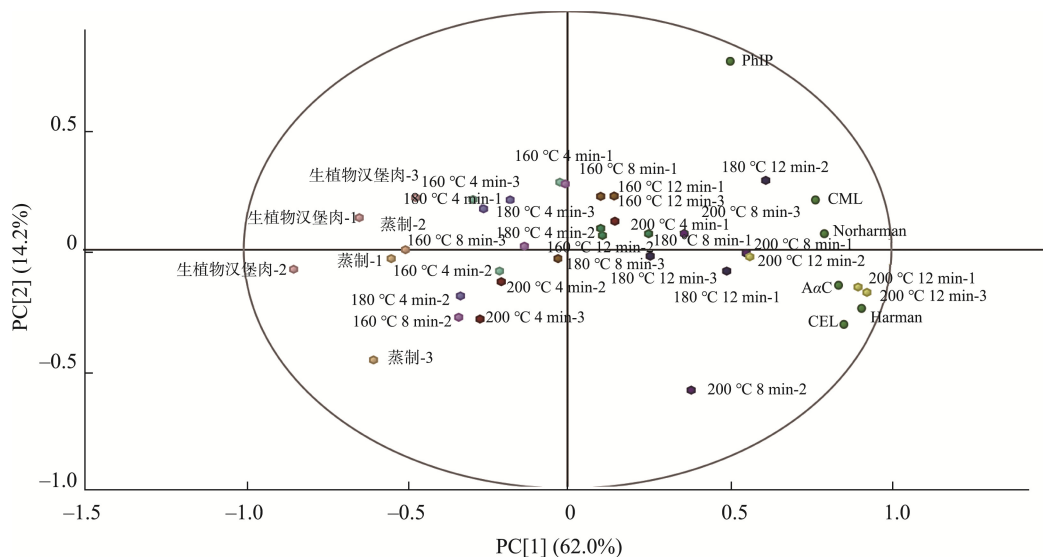


图 4 不同热加工条件下植物汉堡肉中游离态 HAs 和 AGEs PCA 图  
Fig.4 PCA of free HAs and AGEs in plant hamburger meats under different thermal processing conditions

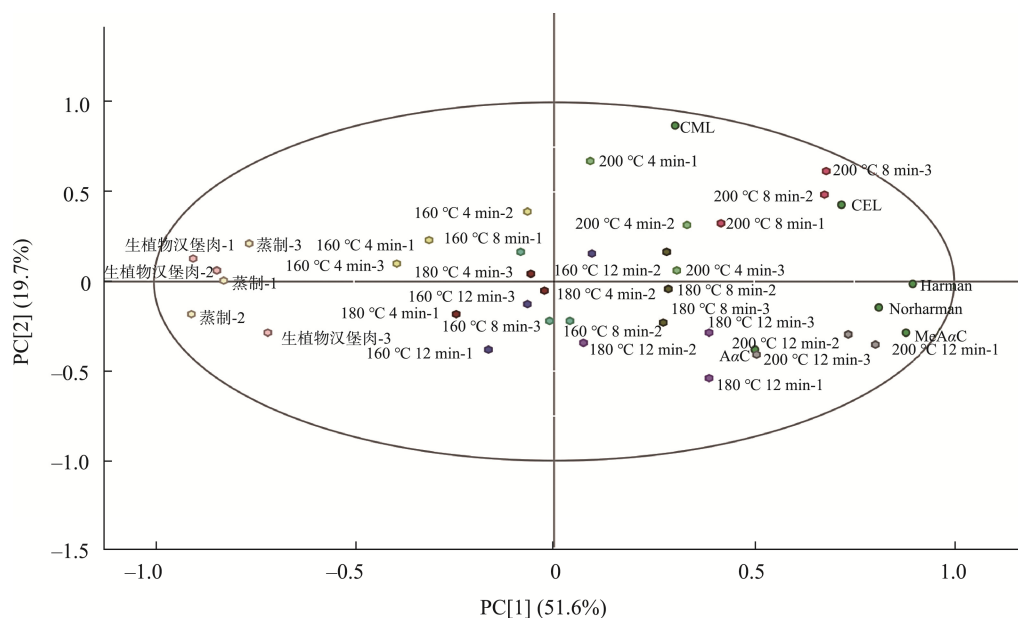


图 5 不同热加工条件下植物汉堡肉中结合态 HAs 和 AGEs PCA 图

Fig.5 PCA of bound HAs and AGEs in plant hamburger meats under different thermal processing conditions

### 3 结论

本研究探讨了在不同热加工条件下植物汉堡肉中 HAs 和 AGEs 的生成规律, 比较了不同处理方式(未熟制、蒸制、蒸后烤制)、不同烤制温度(160、180、200 °C)、烤制时间(4、8、12 min)下植物汉堡肉中游离态 HAs 和 AGEs、结合态 HAs 和 AGEs、氨基酸含量的影响。与生植物汉堡肉、蒸制组相比, 蒸后烤制处理后的植物汉堡肉中 HAs 和 AGEs 含量最高, 氨基酸总量较低。PCA 结果表明, 烤制样品组中 200 °C/12 min 烤制条件下植物汉堡肉中游离态 HAs 和 AGEs、结合态 HAs 含量最高, 与生汉堡肉相比 200 °C/12 min 烤制条件下植物汉堡肉中游离态 HAs、结合态 HAs、游离态 AGEs 及结合态 AGEs 总量分别增加了 191.83%、164.38%、218.59%、15.70%。综上所述, 植物汉堡肉中 HAs 和 AGEs 生成规律为随烤制温度增加、烤制时间延长, HAs 和 AGEs 整体上也随之增加, 本研究旨在为 PBMA 的安全生产提供理论参考。

### 参考文献

- [1] WANG Y, CAI W, LI L, *et al.* Recent advances in the processing and manufacturing of plant-based meat [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(3): 1276–1290.
- [2] ROJAS-DOWNING MM, NEJADHASHEMI AP, HARRIGAN T, *et al.* Climate change and livestock: Impacts, adaptation, and mitigation [J]. *Climate Risk Management*, 2017, 16: 145–163.
- [3] WU GY, FANZO J, MILLER DD, *et al.* Production and supply of high-quality food protein for human consumption: Sustainability, challenges, and innovations [M]. New York: Annals of the New York Academy of Sciences, 2014: 1–19. DOI: 10.1111/nyas.12500
- [4] DEKKERS BL, BOOM RM, VAN-DER-GOOT AJ. Structuring processes for meat analogues [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, 81: 25–36.
- [5] ZHANG J, CHEN Q, KAPLAN DL, *et al.* High-moisture extruded protein fiber formation toward plant-based meat substitutes applications: Science, technology, and prospect [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2022, 128: 202–216.
- [6] SANDOVAL-MURILLO JL, OSEN R, HIERMAIER S, *et al.* Towards understanding the mechanism of fibrous texture formation during high-moisture extrusion of meat substitutes [J]. *Journal of Food Engineering*, 2019, 242: 8–20.
- [7] ZHANG X, ZHAO Y, ZHAO X, *et al.* The texture of plant protein-based meat analogs by high moisture extrusion: A review [J]. *Journal of Texture Studies*, 2023, 54(3): 351–364.
- [8] COSTA-CATALA J, TORO-FUNES N, COMAS-BASTÉ O, *et al.* Comparative assessment of the nutritional profile of meat products and their plant-based analogues [J] 2023, 15(12). DOI: 10.3390/nu15122807
- [9] SHA L, XIONG YL. Plant protein-based alternatives of reconstructed meat: Science, technology, and challenges [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, 102: 51–61.
- [10] CHEN Y, XI J. Effects of the non-covalent interactions between polyphenols and proteins on the formations of the heterocyclic amines in dry heated soybean protein isolate [J]. *Food Chemistry*, 2022, 373: 131557.
- [11] CROSS AJ, SINHA R. Meat-related mutagens/carcinogens in the etiology of colorectal cancer [J]. *Environmental And Molecular Mutagenesis*, 2004, 44(1): 44–55.
- [12] KHAN IA, KHAN A, ZOU Y, *et al.* Heterocyclic amines in cooked meat products, shortcomings during evaluation, factors influencing formation, risk assessment and mitigation strategies [J]. *Meat Science*, 2022, 184: 108693.
- [13] ALAEJOS MS, GONZÁLEZ V, AFONSO AM. Exposure to heterocyclic aromatic amines from the consumption of cooked red meat and its effect on human cancer risk: A review [J]. *Food Additives and Contaminants Part*

- A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment, 2008, 25(1): 2–24.
- [14] KUZAN A. Toxicity of advanced glycation end products (Review) [J]. Biomedical Reports, 2021, 14(5): 46.
- [15] LUEVANO-CONTRERAS C, CHAPMAN-NOVAKOFSKI K. Dietary advanced glycation end products and aging [J]. Nutrients, 2010, 2(12): 1247–1265.
- [16] WEI Q, LIU T, SUN DW. Advanced glycation end-products (AGEs) in foods and their detecting techniques and methods: A review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2018, 82: 32–45.
- [17] DAVIS KE, PRASAD C, VIJAYAGOPAL P, *et al.* Advanced glycation end products, inflammation, and chronic metabolic diseases: Links in a chain? [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2016, 56(6): 989–998.
- [18] DENG P, CHEN Y, XIE S, *et al.* Accumulation of heterocyclic amines and advanced glycation end products in various processing stages of plant-based burgers by UHPLC-MS/MS [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(46): 14771–14783.
- [19] 徐燕, 梁俭, 马吉娜, 等. 烹调方式对不同肉及其制品中杂环胺的影响概述[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(8): 2974–2983.  
XU Y, LIANG J, MA JN, *et al.* Overview of the effects of cooking methods on heterocyclic amines in different meats and their products [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(8): 2974–2983.
- [20] 孟圆, 孟醒, 夏秀芳. 酱卤肉制品中杂环胺的生成及分离检测技术研究进展[J]. 肉类研究, 2020, 34(8): 91–101.  
MENG Y, MENG X, XIA XF. Progress of heterocyclic amines in meat products with sauce and marinade and their separation and detection techniques [J]. Meat Research, 2020, 34(8): 91–101.
- [21] 潘哈. 酱肉中 norharman 和 harman 形成机理的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.  
PAN H. Study on the formation mechanism of norharman and harman in soy meat [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014.
- [22] LIAO GZ, WANG GY, ZHANG YJ, *et al.* Formation of heterocyclic amines during cooking of duck meat [J]. Food Additives and Contaminants: Part A, 2012, 29(11): 1668–1678.
- [23] PERSSON E, SJÖHOLM I, SKOG K. Heat and mass transfer in chicken breasts-effect on PhIP formation [J]. European Food Research and Technology, 2002, 214(6): 455–459.
- [24] 潘哈, 张春晖, 王振宇, 等. 畜禽产品加工过程中有害物质的形成机制及抑制措施——以杂环胺为例[J]. 食品科学技术学报, 2013, 31(1): 24–29.  
PAN H, ZHANG CH, WANG ZY, *et al.* The formation mechanism and inhibitory measures of harmful substances in the processing of livestock and poultry products-Taking heterocyclic amines as an example [J]. Journal of Food Science and Technology, 2013, 31(1): 24–29.
- [25] KNIZE MG, DOLBEARE FA, CARROLL KL, *et al.* Effect of cooking time and temperature on the heterocyclic amine content of fried beef patties [J]. Food and Chemical Toxicology, 1994, 32(7): 595–603.
- [26] 阳日东, 倪来学, 姚现琦, 等. 肉制品中杂环胺影响因素及检测方法的研究进展[J]. 肉类研究, 2023, 37(8): 52–60.  
YANG RD, NI LX, YAO XQ, *et al.* Research progress on the influencing factors and detection methods of heterocyclic amines in meat products [J]. Meat Research, 2023, 37(8): 52–60.
- [27] 陈静. 烤牛肉饼中不同结合状态杂环胺的生成、抑制及体外消化研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019.  
CHEN J. Generation, inhibition and *in vitro* digestion of heterocyclic amines in grilled beef patties with different binding states [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.
- [28] 陈俏纯. 肌肉蛋白-杂环胺结合物的生成途径及体外消化规律的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2022.  
CHEN QC. Generation pathway of muscle protein-heterocyclic amine conjugate and *in vitro* digestion [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.
- [29] LI L, ZHUANG Y, ZOU X, *et al.* Advanced glycation end products: A comprehensive review of their detection and occurrence in food [J]. 2023, 12(11). DOI: 10.3390/foods12112103
- [30] CHAO PC, HSU CC, YIN MC. Analysis of glycative products in sauces and sauce-treated foods [J]. Food Chemistry, 2009, 113(1): 262–266.
- [31] LIU Y, LIU C, HUANG X, *et al.* Exploring the role of Maillard reaction and lipid oxidation in the advanced glycation end products of batter-coated meat products during frying [J]. Food Research International, 2024, 178: 113901.
- [32] CHEN QC, XUE CY, HE ZY, *et al.* Generation of sarcoplasmic and myofibrillar protein-bound heterocyclic amines in chemical model systems under different heating temperatures and durations [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(10): 3232–3246.
- [33] 薛超轶, 何志勇, 高大明, 等. 加工肉制品中杂环胺的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(14): 3590–3597.  
XUE CY, HE ZY, GAO DM, *et al.* Research progress of heterocyclic amines in processed meat products [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2018, 9(14): 3590–3597.
- [34] KNIZE MG, FELTON JS. Formation and human risk of carcinogenic heterocyclic amines formed from natural precursors in meat [J]. Nutrition Reviews, 2005, 63(5): 158–165.
- [35] ANGELIS DD, PASQUALONE A, SQUEO G, *et al.* Amino acid and fatty acid compositions of texturized vegetable proteins [J]. Italian Journal of Food Science, 2023, 35(1): 19–25.
- [36] 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]. Mutation Research, 1987, 191(3-4): 133–138.
- [37] CHEN BH, MENG CN. Formation of heterocyclic amines in a model system during heating [J]. Journal of Food Protection, 1999, 62(12): 1445–1450.
- [38] 廖国周, 王桂瑛, 徐幸莲, 等. 前体物含量对杂环胺形成的影响[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(4): 215–220.  
LIAO GZ, WANG GY, XU XL, *et al.* Effect of precursor content on the formation of heterocyclic amines [J]. Food and Fermentation Industry, 2011, 37(4): 215–220.
- [39] ZHU Z, FANG R, HUANG M, *et al.* Oxidation combined with Maillard reaction induced free and protein-bound N<sup>ε</sup>-carboxymethyllysine and N<sup>ε</sup>-carboxyethyllysine formation during braised chicken processing [J]. Food Science and Human Wellness, 2020, 9(4): 383–393.
- [40] 刘甜甜, 姚瑶, 王未, 等. 模型体系中 PhIP、Norharman、Harman 3 种杂环胺的形成与抑制[J]. 肉类研究, 2020, 34(3): 1–7.  
LIU TT, YAO Y, WANG W, *et al.* Formation and inhibition of three heterocyclic amines, PhIP, Norharman and Harman, in a model system [J]. Meat Research, 2020, 34(3): 1–7.
- [41] ZAMORA R, LAVADO-TENA CM, HIDALGO FJ. Reactive carbonyls and the formation of the heterocyclic aromatic amine 2-amino-3,4-dimethylimidazo(4,5-*f*)quinoline (MeIQ) [J]. Food Chemistry, 2020, 324: 126898.

(责任编辑: 蔡世佳 于梦娇)