

110 °C 下木糖-半胱氨酸美拉德反应模型风味物质及杂环胺的形成

杜卿卿, 彭增起, 任晓璞, 黄杨斌, 张雅玮*

(南京农业大学食品科技学院, 江苏南京 210095)

摘要:为进一步实现美拉德反应的定向控制, 试验采用牛肉汤提取物为原液, 以 OD 值和感官评价为评定指标, 通过析因试验设计 6 组不同质量浓度下木糖和半胱氨酸的美拉德反应模型, 并采用固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术 (SPME-GC-MS)、超高效液相色谱-质谱联用技术 (UHPLC-MS) 测定其挥发性风味物质和杂环胺的种类和含量。结果表明, 在 pH7, 反应温度 110 °C, 反应时间 70 min 的条件下, 木糖和半胱氨酸浓度均为 0.04 g/mL 时, 获得的美拉德反应模型评分最高, 此组合中共鉴定出 11 类、52 种挥发性风味物质, 主要包括噻唑类 (24.910%)、酮类 (20.220%)、吡嗪 (19.531%) 和呋喃 (14.606%) 等。美拉德反应模型产生杂环胺 2.660 ng/mL。本试验在较低温度下获得一种具备理想风味且杂环胺含量较低的美拉德反应模型产物, 为美拉德反应的定向控制及其在肉制品中的应用提供理论参考。

关键词:牛肉汤提取物, 美拉德反应, 挥发性风味物质, 杂环胺

Development of Flavor Substances and Heterocyclic Amines by Maillard Reaction Models of Xylose-cysteine at 110 °C

DU Qing-qing, PENG Zeng-qi, REN Xiao-pu, HUANG Yang-bin, ZHANG Ya-wei*

(College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: In order to further realize the directional control of the Maillard reaction, the study explored the Maillard reaction models of reducing sugar and amino acid in six groups with different contents by factorial design using the beef broth extract as stock solution, OD value and sensory evaluation as evaluation indexes. The solid phase micro-extraction-gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS) and ultra-high-phase liquid chromatography-mass spectrometry (UHPLC-MS) were used to determine the categories and quantities of volatile flavor compounds and heterocyclic amines. The results indicated that the highest score of the Maillard reaction model was achieved under the following conditions: 0.04 g/mL reducing sugar and 0.04 g/mL amino acid at pH7, temperature 110 °C, time 70 min. The products contained 11 categories (52 kinds) of volatile flavor compounds, such as thiazoles (24.910%), ketones (20.220%), pyrazines (19.531%), furans (14.606%) and so on. The content of heterocyclic amines was 2.660 ng/mL in the Maillard reaction product. This experiment acquired a kind of the Maillard reaction model product with ideal flavor and low contents of heterocyclic amines at lower temperature, which provided theoretical reference for its directional control and application in meat products.

Key words: beef broth extracts; the Maillard reaction; volatile flavor compounds; heterocyclic amines

中图分类号: TS264.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)12-0021-09

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020.12.004

引文格式: 杜卿卿, 彭增起, 任晓璞, 等. 110 °C 下木糖-半胱氨酸美拉德反应模型风味物质及杂环胺的形成[J]. 食品工业科技, 2020, 41(12): 21-28, 34.

美拉德反应过程可以产生大量的风味物质。Kwon 等^[1]将 250 g 牛肉加入 5 L 水中, 450 °C 下加热 1 h, 再文火加热 1 h 制备牛肉汤, 然后将木糖和谷胱甘肽在中性条件下 150 °C 加热 120 min 后加入牛肉汤中, 与同样条件下的葡萄糖和果糖相比, 其牛肉汤的硫刺鼻味较淡, 香气更浓。蛋白酶解产物的美拉

德反应也会对烤肉香气产生一定的影响。Kang 等^[2]将碎牛肉在 85 °C 下水煮 10 min, 冷却后加入蛋白酶和风味酶, 制备出牛肉酶解产物。木糖与酶解产物在 pH6.5、125 °C 加热 2 h 获得的美拉德反应产物具有浓郁的烤牛肉风味。Liu 等^[3]研究表明, pH 为 6.5 时, 木糖和鸡肉酶解产物在 120~140 °C 获得的美拉

收稿日期: 2019-09-24

作者简介: 杜卿卿 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 畜产品加工与质量控制, E-mail: dqq18351009228@163.com。

* 通讯作者: 张雅玮 (1986-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 畜产品加工与质量控制, E-mail: zhangyawei@njau.edu.cn。

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFD0502306); 青海省重点研发与转化计划 (2019-NK-C01)。

德反应产物比 80~100 °C 具有的烤鸡肉风味更浓。然而,高温加热产生风味物质的同时,也会产生大量的杂环胺等危害人类身体健康的物质。Shin 等^[4]发现,苯丙氨酸、肌酐和葡萄糖在 180 °C 下反应 30 min 产生 2-氨基-3-甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(IQx)、2-氨基-3,4-二甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(MeIQx)和 2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑并[4,5-b]吡啶(PhIP);吕慧超等^[5]发现葡萄糖-肌酐-甘氨酸模型体系,130 °C 加热 1.5 h 产生 2-氨基-3,4-二甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(MeIQ)。Linghu 等^[6]指出,180 °C 反应 1 h,色氨酸和赖氨酸可以显著抑制葡萄糖-肌酐-苯丙氨酸模型中 PhIP 的形成,而对其风味特性未做研究。但是,继续降低美拉德反应模型的温度,能否既产生理想烤肉香气又能抑制杂环胺形成,此方面的研究鲜见报道。

因此,本研究以牛肉汤提取物为原料,通过添加不同质量浓度的木糖和半胱氨酸获得美拉德反应模型,以反应液的 OD 值和感官评分为评价指标,探究不同质量浓度下木糖和半胱氨酸在 pH7、110 °C 加热 70 min 对美拉德反应模型的影响,并测定最优组中挥发性风味物质和杂环胺的种类和含量,以期获得较低温度下既具有理想的烤牛肉风味,又含有较少杂环胺的美拉德反应模型。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

牛背部最长肌 南京苏果超市;D-木糖、L-半胱氨酸 食品级,无锡宁维生物科技有限公司;甘氨酸-甘氨酸-酪氨酸-精氨酸(Gly-Gly-Tyr-Arg)标准品、12 种杂环胺标准品:PhIP、2-氨基-3-甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(IQ)、MeIQ、2-氨基-3,8-二甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(8-MeIQx)、2-氨基-3,7,8-三甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(7,8-DiMeIQx)、2-氨基-3,4,8-三甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(4,8-DiMeIQx)、2-氨基-9H-吡啶并[2,3-b]吡啶(AaC)、2-氨基-3-甲基-9H-吡啶并[2,3-b]吡啶(MeAaC)、1-甲基-9H-吡啶并[3,4-b]吡啶(Harman)、9H-吡啶并[3,4-b]吡啶(Norharman)、3-氨基-1,4-二甲基-5H-吡啶并[4,3-b]吡啶(Trp-P-1)和 3-氨基-1-甲基-5H-吡啶并[4,3-b]吡啶(Trp-P-2) Sigma 公司

T25 高速匀浆机 德国 IKA 公司;Allegra 64R 型高速冷冻离心机 美国 Beckman Coulter 公司;日立 L-8900 全自动氨基酸分析仪 日本日立有限公司;M2e 型多功能酶标仪 美国 MD 公司;Bruker 320-MS 气相色谱-质谱联用仪 美国 Bruker Daltonics 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 牛肉汤提取物的制备 牛肉汤提取物的制备方法参照 Liu^[3]的方法,并做修改。选取牛背部最长肌,用绞肉机绞成肉糜。取 100 g,加入等体积的去离子水匀浆,调节 pH 至 6.5,50 °C 下加热 60 min,然后在 95 °C 下分别水浴加热 30、50、70 min。冷却后,4 °C 离心 10 min,转速为 10000 r/min。取上清液,获

得牛肉汤提取物,并测定其还原糖、氨基酸和多肽含量,每个试验重复 3 次。

1.2.1.1 牛肉汤提取物中还原糖含量的测定 牛肉汤提取物中还原糖含量的测定按照 GB5009.7-2016《食品中还原糖的测定》直接滴定法^[7]进行。

1.2.1.2 牛肉汤提取物中氨基酸含量的测定 牛肉汤提取物中氨基酸的测定参照 GB 5009.124-2016 中《食品中氨基酸的测定》^[8]。

1.2.1.3 牛肉汤提取物中多肽含量的测定 牛肉汤提取物中多肽含量的测定参照鲁伟等^[9]的方法并稍作修改,2.5 mL 样品溶液与等体积的 10% (W/V) 的三氯乙酸水溶液混合,静置 10 min;4000 r/min 离心 15 min;将上清液转移到 50 mL 容量瓶中,用 5% 的三氯乙酸定容;取 0.9 与 0.6 mL 双缩脲试剂混合,静置 10 min;2000 r/min 离心 10 min,取上清液测定 540 nm 处的 OD 值。用 5% 的三氯乙酸依次配制 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 和 1.8 mg/mL 的 Gly-Gly-Tyr-Arg 四肽标准溶液,在上述条件下反应并测定吸光度,得到标准曲线为 $y = 0.0712x + 0.0523$ ($R^2 = 0.9999$)。

1.2.2 美拉德反应模型析因试验 取 5.0 mL 牛肉汤提取物,按照表 1,加入木糖和半胱氨酸,混合均匀,将 pH 调至 7.0,110 °C 下加热 70 min,立即冰浴冷却 15 min 以终止美拉德反应。室温条件下放置 30 min 后,进行褐变程度的测定和感官评价,每个试验重复 3 次。

表 1 美拉德反应模型析因试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of factorial experiments of the Maillard reaction models

水平	因素	
	木糖添加量(g)	半胱氨酸添加量(g)
-1	0.2	0.2
0	-	0.6
1	0.6	1.0

注:-表示未添加木糖。

1.2.2.1 美拉德反应模型褐变程度的测定 根据 Yu^[10]的方法,用去离子水将美拉德反应液稀释 40 倍,在 420 nm 波长下测定其吸光度。

1.2.2.2 美拉德反应模型的感官评定 选取 10 名(5 男 5 女)感官评定人员,采取双盲实验法对美拉德反应液进行十分制打分,评定过程中每位成员单独进行且互相零交流,每个样品之间的评定间隔 1 min,感官评定细则如表 2 所示。

1.2.3 美拉德反应模型中挥发性风味物质的测定 按照曾茂茂等^[11]的方法并稍作修改。取 5 mL 样品置于 20 mL 顶空瓶中,加入 10 μ L 50 μ g/mL 的 2-辛醇内标溶液,立即密封,将老化后的 50 μ m CAR/PDMS/DVB 萃取头插入样品瓶顶空部分,于 45 °C 吸附 30 min,吸附后的萃取头取出后插入气相色谱进样口,于 250 °C 解吸 3 min,同时启动仪器采集数据。

色谱条件:挥发性风味物质在 DB-WAX 毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m)中进行分离;萃取头

表2 美拉德反应模型感官评定表
Table 2 Sensory evaluation of the Maillard reaction models

色泽	烤香味	焦糊味	硫刺鼻味	评分(分)
棕色或黄褐色,有光泽	浓郁、纯正	适中	几乎没有	7~10
浅黄色或深褐色,稍有光泽	较淡	较浓或较淡	较淡	4~6
微黄色或黑褐色,无光泽	几乎没有	过浓或几乎没有	较浓	1~3

在进样口进行解吸附,进样口温度 250 ℃;以氦气作为载气,采用恒流模式,流速为 0.8 mL/min;升温程序:初始温度 40 ℃,保持 3 min,然后以 5 deg/min 速度加热至 90 ℃,再以 10 deg/min 的速度升至 230 ℃,保持 7 min。

质谱条件:电离模式 EI⁺;发射电流 100 μA;电子能量 70 eV;检测器电压 1000 V;接口温度 250 ℃;离子源温度 200 ℃;扫面模式为全扫描,质量扫面范围 33~495 m/z。

1.2.4 美拉德反应模型中杂环胺的测定 参考 Zeng^[12]的方法,并作适当修改。取 3 mL 液体样品加入 30 mL 1 mol/L 的 NaOH 溶液中,匀浆 1 min;加入 13 g 硅藻土混合均匀;加入 50 mL 乙酸乙酯,超声处理 30 min;4 ℃下以 12000 × g 的转速离心 10 min,取上清液,重复操作一次;将两次的上清液混合,取 10 mL 上样至预先用 6 mL 甲醇、6 mL 水和 6 mL 盐酸活化的 Oasis MCX (3 cm³/60 mg) 柱中;用 6 mL 0.1 mol/L 的盐酸和 6 mL 甲醇淋洗;最后用 6 mL 甲醇和氨水的混合液 (19:1, v/v) 进行洗脱;将洗脱液通过 0.22 μm 微孔滤膜,待 UPLC-MS 分析。将杂环胺标准溶液稀释成 0.2、0.5、1、2、5、10、20 ng/mL 的混标液,按下述条件进行上机分析,得到标准曲线。

色谱条件:Acquity UPLC BEH C18 色谱柱 (1.7 μm, 2.1 mm × 100 mm);柱温 35 ℃,采用二元流动相梯度洗脱,流动相 A 为 10 mmol/L 的醋酸铵 (pH6.8),流动相 B 为色谱纯乙腈;流速设定为 0.3 mL/min,进样量为 1 μL。流动相洗脱梯度为:0~0.1 min, 10% B; 0.1~18 min, 10~30% B; 18~20 min, 30~100% B; 20~20.1 min, 100~10% B。

质谱条件:离子源:电喷雾离子源;扫描方式:正离子扫描;毛细管柱电压 3.5 kV;离子源温度 120 ℃;脱溶剂温度 350 ℃;锥孔气(氮气)流速 60 L/h;脱溶剂气体(氮气)流速 650 L/h。

1.3 数据处理

使用 SAS 8.1 数据统计软件对试验结果进行数据统计与分析,数据显著性差异使用邓肯多重比较法 (Duncan's Multiple-rang test) 进行分析;数据作图使用 Origin Pro 9 作图软件。

2 结果与分析

2.1 牛肉汤提取物中还原糖、氨基酸、多肽含量的变化

2.1.1 牛肉汤提取物中还原糖和多肽含量的变化 由图 1 可知,95 ℃水浴加热,随着加热时间的延长,牛肉汤提取物中还原糖的含量呈先上升后下降的趋势。加热 30 min 时还原糖的含量最高,为 0.358 g/100 mL,加热至 50 min 时还原糖的含量降低

至 0.308 g/100 mL,加热至 70 min 时含量为 0.208 g/100 mL,比 0 min 时下降了 26.5% ($P > 0.05$)。这可能是因为初始加热过程中,牛肉汤中的蛋白质和多肽加热分解产生还原糖,使之含量上升^[3];随着还原糖含量的增加和加热时间的延长,美拉德反应占主导,还原糖的含量随之下降,50~70 min 时,反应趋于平缓,还原糖含量变化不显著 ($P > 0.05$)。

95 ℃下加热 30 min 时,牛肉汤提取物中的多肽含量最高,为 0.342 mg/mL,分别比 0、50 和 70 min 时高出 66.0%、30.0% 和 40.2% ($P < 0.05$),加热 50 和 70 min 后多肽含量显著高于对照组 ($P < 0.05$)。这与 Zhang^[13]所得结论一致,可能是由于牛肉汤中蛋白质在加热过程中产生中间产物多肽,使牛肉汤提取物中的多肽含量先增加;同时多肽发生降解和美拉德反应,一方面降解成最终产物氨基酸,另一方面与牛肉汤中的还原糖反应,多肽的消耗速率大于生成速率,使之含量又明显降低。牛肉汤提取物中既含有还原糖,又含有多肽等美拉德反应前体物质,能够赋予其理想的风味。

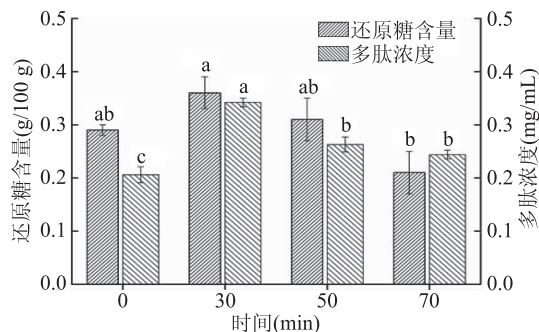


图1 不同加热时间下牛肉汤提取物中还原糖和多肽浓度

Fig.1 Reducing sugar and peptide contents in beef broth extracts at different heating times

注:不同小写字母表示相同指标不同处理组之间差异显著 ($P < 0.05$)。

2.1.2 牛肉汤提取物中氨基酸含量的变化 如表 3 所示,随着加热时间的增加,17 种氨基酸总量呈先上升后下降的趋势,加热 30 min 时氨基酸总量增加 587.312 μg/mL ($P < 0.05$)。随着加热时间的继续延长,总量又显著降低 ($P < 0.05$),加热 50 和 70 min 时氨基酸总量分别比 30 min 时降低 2.66% 和 4.34%。与对照组相比,除天冬氨酸外,加热 30、50、70 min 三个试验组中的氨基酸含量均显著增加 ($P < 0.05$)。这可能是因为加热过程中,牛肉汤中的蛋白质和多肽在蛋白水解酶、氨肽酶等酶的作用下水解产生氨基酸,同时氨基酸也参与了美拉德反应,消耗量多于生成量时导致了最终含量的下降^[14]。

表3 不同加热时间下牛肉汤提取物中氨基酸含量($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Table 3 Amino acid content in peptide extracts at different heating times($\mu\text{g}/\text{mL}$)

氨基酸	0 min	30 min	50 min	70 min
天冬氨酸(Asp)	6.291 ± 1.169 ^b	7.097 ± 0.316 ^{a,b}	8.913 ± 0.090 ^a	9.107 ± 1.009 ^a
苏氨酸(Thr)	27.041 ± 0.218 ^d	72.817 ± 0.391 ^a	66.553 ± 0.380 ^b	62.647 ± 1.127 ^c
丝氨酸(Ser)	29.424 ± 0.540 ^c	58.066 ± 0.617 ^a	56.870 ± 0.486 ^{ab}	54.786 ± 1.625 ^b
谷氨酸(Glu)	33.934 ± 0.169 ^c	64.571 ± 0.303 ^a	56.110 ± 0.489 ^b	57.064 ± 1.284 ^b
甘氨酸(Gly)	29.620 ± 0.400 ^b	77.098 ± 0.605 ^a	76.401 ± 0.135 ^a	76.870 ± 1.666 ^a
丙氨酸(Ala)	88.530 ± 0.883 ^c	224.851 ± 0.839 ^a	223.666 ± 0.381 ^a	211.583 ± 0.247 ^b
半胱氨酸(Cys)	2.175 ± 0.354 ^b	11.017 ± 0.158 ^a	9.268 ± 1.244 ^a	11.163 ± 1.083 ^a
缬氨酸(Val)	24.055 ± 0.238 ^b	55.214 ± 0.183 ^a	53.558 ± 1.102 ^a	54.941 ± 0.886 ^a
甲硫氨酸(Met)	9.120 ± 0.041 ^b	23.632 ± 1.562 ^a	20.922 ± 1.324 ^a	21.345 ± 0.288 ^a
异亮氨酸(Ile)	15.269 ± 0.213 ^c	33.894 ± 1.126 ^a	32.739 ± 0.636 ^{ab}	31.395 ± 0.803 ^b
亮氨酸(Leu)	29.091 ± 0.217 ^b	59.501 ± 1.523 ^a	57.453 ± 0.037 ^a	57.625 ± 1.364 ^a
酪氨酸(Tyr)	21.689 ± 0.193 ^b	35.944 ± 0.783 ^a	35.205 ± 0.293 ^a	34.262 ± 0.887 ^a
苯丙氨酸(Phe)	19.396 ± 0.085 ^b	52.047 ± 0.778 ^a	51.508 ± 0.523 ^a	52.576 ± 1.163 ^a
赖氨酸(Lys)	30.312 ± 0.893 ^b	88.582 ± 0.557 ^a	87.868 ± 0.726 ^a	87.235 ± 0.530 ^a
组氨酸(His)	18.028 ± 0.280 ^b	45.246 ± 1.061 ^a	44.366 ± 0.342 ^a	43.104 ± 0.998 ^a
精氨酸(Arg)	27.422 ± 0.503 ^b	57.934 ± 0.384 ^a	58.087 ± 0.296 ^a	55.798 ± 1.663 ^a
脯氨酸(Pro)	19.645 ± 0.560 ^b	50.846 ± 0.484 ^a	51.767 ± 0.274 ^a	52.647 ± 1.063 ^a
总量	431.038 ± 1.200 ^d	1018.350 ± 0.829 ^a	991.248 ± 0.147 ^b	974.144 ± 0.273 ^c

注:同行不同字母表示差异显著, $P < 0.05$ 。

0 min 时丙氨酸、谷氨酸、赖氨酸、甘氨酸、丝氨酸和亮氨酸含量之和占氨基酸总量的 55.89%,这是因为在 50 °C 条件下加热 60 min 的过程中,组织蛋白酶处于最适反应温度,水解释放出部分游离氨基酸^[15]。不同的加热时间下,半胱氨酸和甲硫氨酸的含量均较少,加热 30、50、70 min 后这两种氨基酸的总量分别只增加了 23.354、18.895、21.213 $\mu\text{g}/\text{mL}$,这与谭斌^[16]的研究结果相似,说明加热过程中,蛋白质和多肽水解产生较少的含硫氨基酸,而产生较多的丙氨酸、甘氨酸和谷氨酸等呈甜味和鲜味的氨基酸^[17],它们是使牛肉汤呈现特殊风味的重要氨基酸。值得注意的是,Jones 等^[18]的研究表明在美拉德反应模型体系中脯氨酸和色氨酸共同作用可以加速对 IQ 类(MeIQx 和 7,8-DiMeIQx)杂环胺的抑制,也就是说,模型中不同氨基酸之间相互作用也会抑制杂环胺的形成。

由图 1 和表 3 的结果可以看出,加热 30 min 的试验组中还还原糖、氨基酸和多肽的浓度均最高(还原糖含量 0.195 g/100 g、总氨基酸含量 1018.350 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、多肽含量 0.342 mg/mL),所以本研究选取加热 30 min 的牛肉汤提取物作为美拉德反应的原液,不仅可以为美拉德反应提供了重要的前体物质,直接影响还原糖-氨基酸(多肽)的美拉德反应过程,从而影响其产生的风味物质^[19-20],还可以影响杂环胺的形成。

2.2 底物浓度对美拉德反应模型褐变程度、色泽和风味的的影响

2.2.1 底物浓度对美拉德反应模型褐变程度和色泽的影响

美拉德反应模型的褐变程度可以由吸光度和色泽评分来表示。由表 4 可以看出,当木糖和半胱氨酸添加量均为 0.2 g 时,美拉德反应产物的色

泽在 6 个试验组中的最受欢迎($P < 0.01$),呈现黄褐色、有光泽,与其相对应的 OD 值大小适中。0.6 g 木糖的所有处理组的色泽评分均比 0.2 g 木糖的 3 个处理组低,呈现深褐色、稍有光泽,OD 值也都比 0.2 g 木糖处理组高。当半胱氨酸添加量 0.2 g,木糖 0.6 g 时体系的褐变程度最大,色泽最不受喜欢,呈现黑褐色、无光泽;与其相比,半胱氨酸增加至 0.6 和 1.0 g 时,OD 值分别降低了 18.41% 和 13.76% ($P < 0.01$),色泽表现为深褐色、稍有光泽。值得注意的是,木糖的方差贡献($F = 3240.614$)是半胱氨酸的($F = 145.710$)22.24 倍,即木糖对 OD 值的影响较半胱氨酸大。

由表 5 可以看出,木糖与半胱氨酸互作对美拉德反应模型的褐变程度和色泽有显著影响($P < 0.05$),木糖、半胱氨酸影响极显著($P < 0.01$)。随着木糖添加量由 0.2 g 增加至 0.6 g,美拉德反应模型的 OD 值增加 97.79%,色泽评分降低 24.36%。0.2 g 半胱氨酸处理组的 OD 值分别比 0.6 和 1.0 g 半胱氨酸处理组高 26.45% 和 16.50% ($P < 0.01$);色泽与 0.6 g 处理组无显著差异,但都高于 1.0 g 处理组($P < 0.01$),分别高出 11.76% 和 6.46%。MacDougall^[21]指出不同浓度的木糖(1%、3%、5%)对木糖-甘氨酸/赖氨酸模型体系色泽作用效果不同;He 等^[22]研究表明分别在 80、100、120 和 140 °C 下反应 2 h,未添加半胱氨酸的油菜籽肽-木糖模型其 OD 值高于添加 1% 半胱氨酸的处理组,色泽更深;这两者与本实验研究结果一致。

2.2.2 底物浓度对美拉德反应模型风味的影响

如表 4 所示,木糖和半胱氨酸添加量均 0.2 g 的美拉德反应模型烤香味浓郁纯正、焦糊味适中、几乎没有硫刺鼻味,在 6 个试验组中最受欢迎($P < 0.01$)。木糖

表4 底物浓度对美拉德反应模型 OD 值、色泽和风味的影响

Table 4 Effect of substrate concentrations on OD value, color and flavor of Maillard reaction models

木糖(g)	半胱氨酸(g)	OD 值	色泽	烤香味	焦糊味	硫刺鼻味
0.2	0.2	0.315 ± 0.007 ^D	7.563 ± 0.401 ^A	7.059 ± 0.315 ^A	6.463 ± 0.372 ^A	6.611 ± 0.284 ^A
	0.6	0.234 ± 0.012 ^F	6.000 ± 0.177 ^B	5.130 ± 0.325 ^C	4.485 ± 0.991 ^{BC}	3.630 ± 0.459 ^C
	1.0	0.267 ± 0.007 ^E	5.688 ± 0.393 ^{BC}	4.270 ± 0.286 ^D	4.060 ± 0.531 ^C	3.326 ± 0.475 ^C
0.6	0.2	0.603 ± 0.015 ^A	4.313 ± 0.086 ^E	6.333 ± 0.289 ^{AB}	5.900 ± 0.173 ^{AB}	6.070 ± 0.451 ^{AB}
	0.6	0.492 ± 0.009 ^C	5.313 ± 0.088 ^{CD}	5.896 ± 0.100 ^{BC}	5.630 ± 0.375 ^{ABC}	5.459 ± 0.486 ^B
	1.0	0.520 ± 0.006 ^B	4.938 ± 0.573 ^D	5.170 ± 0.403 ^C	4.544 ± 0.727 ^{BC}	4.041 ± 0.165 ^C

注:OD 值的大小代表美拉德反应模型的褐变程度;同列不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。

表5 木糖、半胱氨酸及其交互作用的方差分析表

Table 5 ANOVA for different contents of xylose, cysteine and their interaction

木糖(g)	半胱氨酸(g)	OD 值	色泽	烤香味	焦糊味	硫刺鼻味
0.2		0.272 ± 0.036 ^A	6.417 ± 0.904 ^A	5.500 ± 1.690 ^A	4.646 ± 1.490 ^A	4.313 ± 2.234 ^A
0.6		0.538 ± 0.051 ^B	4.854 ± 0.457 ^B	5.813 ± 0.574 ^A	5.333 ± 0.801 ^A	5.458 ± 1.431 ^B
	0.2	0.459 ± 0.158 ^A	5.938 ± 1.878 ^A	7.031 ± 0.766 ^a	6.250 ± 0.368 ^A	6.844 ± 0.438 ^A
	0.6	0.363 ± 0.142 ^B	5.656 ± 0.413 ^A	5.281 ± 0.624 ^B	4.781 ± 1.124 ^B	4.531 ± 1.993 ^A
	1.0	0.394 ± 0.139 ^C	5.313 ± 0.439 ^B	4.656 ± 0.624 ^C	3.938 ± 0.439 ^B	3.281 ± 0.413 ^C
	木糖	**	**	NS	NS	**
显著性	半胱氨酸	**	**	**	**	**
	木糖 × 半胱氨酸	*	*	**	NS	**

注:OD 值的大小代表美拉德反应模型的褐变程度;同列不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$);*、**和 NS 分别表示 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 和 $P < 0.05$,代表木糖、半胱氨酸及其互作对产物色泽和风味的影响。

添加量为 0.2 g 时,模型的烤香味随着半胱氨酸添加量的增加而越来越淡,焦糊味和硫刺鼻味则越来越浓。木糖添加量 0.6 g,半胱氨酸 0.2 g 时,模型体系的烤香味和硫刺鼻味较淡,焦糊味较浓。随着半胱氨酸添加量的增加,烤香味、焦糊味和硫刺鼻味随之变淡。半胱氨酸分别为 0.6 和 1.0 g 时,木糖添加量由 0.2 g 增加至 0.6 g,烤香味和焦糊味增加,硫刺鼻味降低。

木糖对硫刺鼻味具有极显著影响($P < 0.01$),半胱氨酸对这 3 个感官指标均具有极显著性影响($P < 0.01$)。木糖和半胱氨酸互作对烤香味和硫刺鼻味具有极显著影响($P < 0.01$)。因此,影响烤香味、焦糊味和硫刺鼻味得分的主效应排序为:半胱氨酸 > 木糖。木糖处理组中,0.2 g 添加量的烤香味、焦糊味和硫刺鼻味分别比 0.6 g 低 5.38%、12.88% 和 20.98%。对于半胱氨酸,0.2 g 处理组比 0.6 g 的烤香味、焦糊味和硫刺鼻味分别高 33.14%、30.73% 和 51.05% ($P < 0.01$),比 1.0 g 处理组分别高 51.01%、58.71% 和 108.59% ($P < 0.01$)。

半胱氨酸与羰基化合物结合参与高温分解和 strecker 降解反应,产生多种杂环含硫化合物(如噻吩、噻唑),从而影响产物硫刺鼻味的形成,比如 2-甲基-3-呋喃硫醇是热加工牛肉中重要的具有烤肉香味的化合物^[22]。另外,还产生了多种含氮、氧化合物,最典型的是具有明显烤肉香气的吡嗪类物质,赋予产物烤香味;而含氮化合物具有较低的阈值,使产物具有焦糊味^[24-25]。而且,牛肉汤提取物中成分复杂,含有多种还原糖和氨基酸等,同样引起模型体系的风味变化,如半胱氨酸和赖氨酸对鲜味具有正效

应,丝氨酸、亮氨酸和精氨酸则抑制鲜味的形成。这些原因共同作用,从而导致模型产物风味的变化。这些结论与 He 等^[22]的研究结果相同,油菜籽肽-木糖体系中,由于焦糖化反应,产生较多的含氧杂环化合物(如呋喃),阈值较高,产生较淡的焦糖风味;而油菜籽肽-木糖-半胱氨酸体系产生的呋喃衍生物具有肉香味。

由底物浓度对美拉德反应模型褐变程度、色泽和风味的影响结果可以得出,木糖添加量为 0.2 g、半胱氨酸添加量为 0.2 g(即质量浓度分别为 0.04 g/mL)时,获得的美拉德反应产物色泽及风味均最受欢迎,所以获得的最优组的美拉德反应模型为:0.2 g 木糖和 0.2 g 半胱氨酸添加至 5 mL 牛肉汤提取物中,中性条件下 110 °C 反应 70 min。

2.3 美拉德反应模型中挥发性风味物质测定结果

表 6 所示为反应体系中色泽和风味评分最高,即最优组(木糖添加量为 0.2 g,半胱氨酸添加量为 0.2 g)的模型产物中挥发性风味物种类和含量,检测到烷烃、酮类、醛类、醇类、酯类、呋喃、噻吩、吡嗪、噻唑、酸类、酚类共 11 类、52 种挥发性风味物质,相对含量由大到小依次为:噻唑、酮类、吡嗪、呋喃、醛类、噻吩、醇类、酚类、酯类、酸类、烷烃类。噻唑、酮类、吡嗪和呋喃为主要的风味物质,占总挥发性风味物质含量的 70% 以上,吡嗪是烤香味的主要来源,呋喃能够产生甜味和焦糖香味^[24]。在 52 种挥发性风味物质中,含量较高的有:4-甲基-5-羟乙基噻唑、二氢-2-甲基-3(2H)噻吩酮、3,3'-二硫代双(2-甲基)-呋喃、2-甲基吡嗪和 3-甲基丁醛等,相对质量浓度分别为 636.105、439.880、299.445、287.225、255.845 $\mu\text{g/L}$ 。

表6 美拉德反应模型中挥发性风味物质
Table 6 Volatile flavor substances of the Maillard reaction models

序号	分类	挥发性风味物名称	相对质量浓度($\mu\text{g/L}$)	相对含量(%)		
1	烷类(1种)	十一烷	7.400 \pm 1.047	0.243		
2		2-丁酮	42.560 \pm 0.792			
3		2-戊酮	58.250 \pm 2.461			
4		2,3-戊二酮	13.015 \pm 1.747			
5		6-甲基-2-庚酮	10.360 \pm 0.057			
6	酮类(9种)	二氢-2-甲基-3(2H)呋喃酮	23.770 \pm 2.984	20.220		
7		二氢-2-甲基-3(2H)噻吩酮	439.880 \pm 3.210			
8		四氢噻吩-3-酮	3.610 \pm 0.396			
9		二氢-2(5)-乙基-3(2H)噻吩酮	19.980 \pm 0.523			
10		2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-吡喃-4-酮	3.265 \pm 0.375			
11		3-甲基丁醛	255.845 \pm 11.759			
12		醛类(4种)	壬醛		35.540 \pm 3.338	11.486
13			癸醛		4.855 \pm 0.092	
14			3-甲基-2-噻吩醛		52.900 \pm 2.616	
15	醇类(3种)	2-呋喃甲硫醇	2.075 \pm 1.407	1.254		
16		芳樟醇	13.750 \pm 0.339			
17		5-甲基-2-呋喃甲醇	22.300 \pm 2.616			
18	酯类(3种)	乙酰丙基乙酸酯	7.630 \pm 0.410	0.573		
19		2-(4-甲基-5-噻唑)-乙酸乙酯	8.170 \pm 0.537			
20		1,2-苯二甲酸二异丁酯	1.630 \pm 0.297			
21	呋喃(4种)	2-甲基呋喃	69.645 \pm 0.884	14.606		
22		2,3-二氢-5-甲基呋喃	68.180 \pm 1.230			
23		2-甲基-3-巯基呋喃	6.715 \pm 2.581			
24		3,3'-二硫代双(2-甲基)-呋喃	299.445 \pm 6.385			
25		2-甲基噻吩	9.945 \pm 0.219			
26		2,3-二氢-5-甲基噻吩	21.245 \pm 0.007			
27	噻吩(6种)	2-乙酰-5-甲基噻吩	25.900 \pm 1.259	6.056		
28		2-乙酰噻吩	73.250 \pm 0.523			
29		2-甲基-5-丙酰基噻吩	16.785 \pm 0.742			
30		3-羟甲基噻吩	36.955 \pm 0.078			
31		吡嗪	117.210 \pm 7.637			
32		2-甲基吡嗪	287.225 \pm 6.187			
33	吡嗪(12种)	2,5-二甲基吡嗪	24.895 \pm 0.148	19.531		
34		2,6-二甲基吡嗪	55.235 \pm 0.431			
35		2,3-二甲基吡嗪	4.660 \pm 0.226			
36		2-乙基-6-甲基吡嗪	14.245 \pm 0.502			
37		2,3,5-三甲基吡嗪	14.870 \pm 0.226			
38		2-正丙基吡嗪	2.970 \pm 0.000			
39		2-乙基-3,5-二甲基吡嗪	2.830 \pm 0.085			
40		2-甲基-6-丙基吡嗪	4.045 \pm 0.021			
41		3-甲基-2-丁基吡嗪	45.100 \pm 2.164			
42		2-异戊基-6-甲基吡嗪	20.375 \pm 0.417			
43		4,5-二甲基噻唑	12.740 \pm 0.113		24.910	
44		2,4,5-三甲基噻唑	5.290 \pm 0.071			
45	4-乙基-2,5-二甲基噻唑	2.290 \pm 0.028				
46	2-异丁基-5-甲基噻唑	5.310 \pm 0.594				
47	4,5-二甲基-2-异丁基噻唑	12.330 \pm 0.311				
48	2-乙酰基噻唑	52.420 \pm 0.184				
49	酸类(1种)	2-乙酰基-4-甲基噻唑	30.705 \pm 2.482	0.503		
50		4-甲基-5-羟乙基噻唑	636.105 \pm 14.050			
51		乙酸	15.275 \pm 0.007			
52	酚类(1种)	2,4-二叔丁基苯酚	18.655 \pm 0.205	0.614		

本实验获得的模型产物中烷基吡嗪,如2,5-二甲基吡嗪、2,6-二甲基吡嗪、2,3,5-三甲基吡嗪、2-乙基-6-甲基吡嗪和2-乙基-3,5-二甲基吡嗪,相对质量浓度分别为24.895、55.235、14.870、14.245、2.830 $\mu\text{g/L}$,冯涛^[26]和García-Lomillo等^[27]发现这几种吡嗪类风味化合物均具有烤香味;咪唑类物质中2-甲基-3-巯基咪唑和3,3'-二硫代双(2-甲基)咪唑的相对质量浓度分别为6.715、299.445 $\mu\text{g/L}$,Specht等^[22]和Bolton等^[28]指出这两种物质可以赋予牛肉特殊的香气;噻唑类物质,如2-乙酰基噻唑的相对质量浓度为52.420 $\mu\text{g/L}$,可以产生烤牛肉香气^[29];产物中羰基化合物如3-甲基丁醛的相对质量浓度为255.845 $\mu\text{g/L}$,壬醛和癸醛总相对质量浓度为40.395 $\mu\text{g/L}$,谭斌^[16]指出羰基化合物3-甲基丁醛可能对烤牛肉香气非常重要, Van等^[30]发现醛类物质有利于热加工牛肉风味的形成。

2.4 美拉德反应模型中杂环胺含量

12种杂环胺标准品(PhIP、IQ、MeIQx、8-MeIQx、7,8-DiMeIQx、4,8-DiMeIQx、A α C、MeA α C、Harman、Norharman、Trp-P-1、Trp-P-2)的色谱图和标准曲线方程分别如图2、表7所示,线性范围在0.2~110.3 ng/mL之间,相关系数在0.9933~0.9989之间,检出限在0.013~0.205 ng/mL之间。

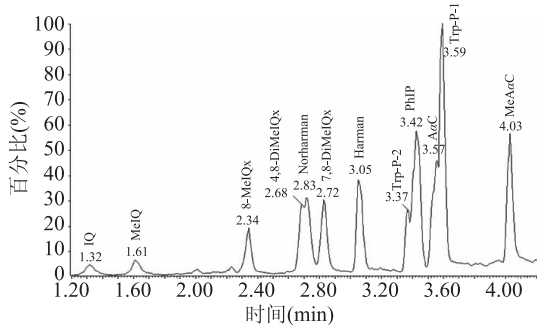


图2 12种杂环胺标准品色谱图

Fig.2 UPLC chromatograms of 12 HCAs standard product

注:纵坐标代表百分比,具体指以峰面积最大 Trp-P-1 为100%,其他杂环胺所占的比例。

表7 UPLC-MS检测12种杂环胺的分析特征

Table 7 Analysis characteristics of 12 HCAs by UPLC-MS

HCAs	线性范围 (ng/mL)	标准曲线方程	决定系数 (R^2)
PhIP	0.4-66.6	$y = 1.005x + 0.0009$	0.9982
IQ	0.9-110.3	$y = 1.102x - 0.2548$	0.9933
MeIQ	0.2-98.5	$y = 0.9501x - 0.024$	0.9977
8-MeIQx	0.3-72.2	$y = 1.0263x - 0.1167$	0.9989
4,8-DiMeIQx	0.3-77.3	$y = 1.0938x - 0.778$	0.9953
7,8-DiMeIQx	0.3-54.1	$y = 1.0892x - 0.8607$	0.9954
A α C	0.3-69.2	$y = 1.0265x - 0.1319$	0.9976
MeA α C	0.3-54.5	$y = 1.0957x - 0.4988$	0.9981
Harman	0.6-53.7	$y = 1.0629x - 0.6594$	0.9945
Norharman	0.3-62.1	$y = 1.2364x - 1.0965$	0.9948
Trp-P-1	0.3-69.0	$y = 1.0606x - 0.3207$	0.9961
Trp-P-2	0.2-70.5	$y = 1.0386x - 0.1989$	0.9978

由图3可以看出,木糖添加量为0.2 g,半胱氨酸添加量为0.2 g的美拉德反应模型产物中共检测出10种杂环胺,分别是PhIP、IQ、8-MeIQx、4,8-DiMeIQx、A α C、MeA α C、Harman、Norharman、Trp-P-1、Trp-P-2,总质量浓度为2.660 ng/mL,主要杂环胺包括IQ、Norharman和PhIP,占总量的63.42%,其中IQ的含量显著高于其余杂环胺($P < 0.05$),共产生1.027 ng/mL,而MeIQ和7,8-DiMeIQx两种杂环胺未检出。

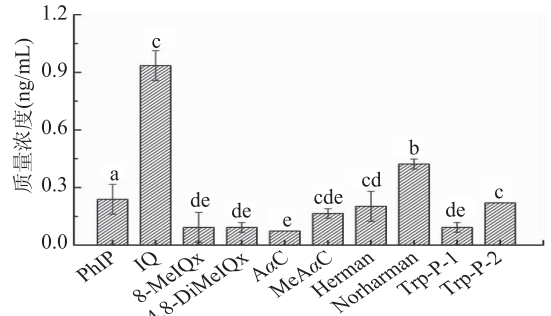


图3 美拉德反应模型中杂环胺的质量浓度

Fig.3 Mass concentration of heterocyclic amines in Maillard reaction model

注:不同小写字母表示不同处理组之间差异显著($P < 0.05$)。

Lee等^[31]将2-甲基吡啶、肌酐和乙醛的水溶液在140 $^{\circ}\text{C}$ 下加热1 h,采用高效液相色谱-质谱联用法测定产生IQ 295 ng/g,而本研究模型产物中IQ的质量浓度为0.935 ng/mL,降低了99.7%。Lee等^[32]对甘氨酸-肌酐-葡萄糖模型体系进行定性检测,发现产物中含有MeIQ和7,8-DiMeIQx,而本试验获得的模型产物中这两种杂环胺未检出。Shin等^[33]研究表明,苯丙氨酸-肌酐-葡萄糖体系在180 $^{\circ}\text{C}$ 下反应30 min,产生杂环胺总量为4761 ng/mL,远远超过本研究模型中的杂环胺浓度。吕慧超等^[5]采用固相萃取-高效液相色谱法测定葡萄糖-肌酐-甘氨酸模型体系中的杂环胺含量,发现130 $^{\circ}\text{C}$ 下加热1.5 h产生杂环胺总质量浓度19.8 ng/mL,是本研究模型中杂环胺浓度的7.44倍。Linghu等^[6]采用同样的方法测出葡萄糖-肌酐-苯丙氨酸在180 $^{\circ}\text{C}$ 下加热1 h

产生 PhIP 共 2446 ng/g, 高出此模型中 PhIP 浓度 (0.238 ng/mL) 10276 倍。与这些结果相比, 分别将 0.2 g 木糖和半胱氨酸加入到 5 mL 牛肉汤提取物中, 在 pH7、110 °C 下反应 70 min, 获得的美拉德反应产物中的杂环胺质量浓度最低, 表明本研究中的牛肉汤提取物-木糖-半胱氨酸体系可以抑制杂环胺含量的生成。

3 结论

以牛肉汤提取物为原液, 通过析因试验研究不同添加量的木糖和半胱氨酸的美拉德反应模型, 得出 pH7、反应温度 110 °C、时间 70 min 的条件下, 木糖和半胱氨酸质量浓度均为 0.04 g/mL 时的模型产物其 OD 值、色泽和风味评分均最优。检测到此模型产物中含有噻唑、酮类、吡嗪和呋喃等共 11 类、52 种挥发性风味物质, 其中 3,3'-二硫代双(2-甲基)呋喃、2-乙酰基噻唑、2,5-二甲基吡嗪、2,3,5-三甲基吡嗪等风味物质具有烤牛肉香气; 共含有 2.660 ng/mL 的杂环胺, 主要包括 IQ、Norharman 和 PhIP, 形成含量大幅减少。本试验获得的美拉德反应模型产物, 进一步实现了美拉德反应的定向控制, 降低杂环胺含量的同时产生理想风味; 为其在烤牛肉中的应用及改善烤牛肉风味、提高烤牛肉品质提供一定的理论依据。

参考文献

- [1] Kwon G Y, Hong J H, Kim Y S, et al. Sensory characteristics and consumer acceptability of beef stock containing glutathione Maillard reaction products prepared at various conditions [J]. *Journal of Food Science*, 2011, 76(1): S1-S7.
- [2] Kang L, Alim A, Song H. Identification and characterization of flavor precursor peptide from beef enzymatic hydrolysate by Maillard reaction [J]. *Journal of Chromatography B*, 2019, 1104(10): 176-181.
- [3] Liu J, Liu M, He C, et al. Effect of thermal treatment on the flavor generation from Maillard reaction of xylose and chicken peptide [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 64(1): 316-325.
- [4] Shin H S, Strasburg G M, Gray J I. A model system study of the inhibition of heterocyclic aromatic amine formation by organosulfur compounds [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(26): 7684-7690.
- [5] 吕慧超, 彭增起, 刘森轩, 等. 温和条件下模型体系中烧烤风味及杂环胺形成测定 [J]. *食品科学*, 2015(8): 150-155.
- [6] Linghu Z, Karim F, Smith J S. Amino acids inhibitory effects and mechanism on 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) formation in the Maillard reaction model systems [J]. *Journal of Food Science*, 2017, 82(12): 3037-3045.
- [7] 国家卫生和计划生育委员会. GB5009.7-2016 食品安全国家标准食品中还原糖的测定 [S]. 2016.
- [8] 国家食品药品监督管理总局. GB 5009.124-2016 食品安全国家标准食品中氨基酸的测定 [S]. 2016.
- [9] 鲁伟, 任国谱, 宋俊梅. 蛋白水解液中多肽含量的测定方法 [J]. *食品科学*, 2005, 26(7): 169-171.
- [10] Yu M, He S, Tang M, et al. Antioxidant activity and sensory characteristics of Maillard reaction products derived from different peptide fractions of soybean meal hydrolysate [J]. *Food Chemistry*, 2018, 243(9): 249-257.
- [11] 曾茂茂, 李伶俐, 何志勇, 等. 甘氨酸对美拉德反应体系及产生肉香风味物质的影响 [J]. *食品科学*, 2012, 33(7): 32-36.
- [12] Zeng M, Li Y, He Z, et al. Effect of phenolic compounds from spices consumed in China on heterocyclic amine profiles in roast beef patties by UPLC-MS/MS and multivariate analysis [J]. *Meat Science*, 2016, 116(2): 50-57.
- [13] Zhang J, Yao Y, Ye X, et al. Effect of cooking temperatures on protein hydrolysates and sensory quality in crucian carp (*Carassius auratus*) soup [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2013, 50(3): 542-548.
- [14] 孙承锋, 喻倩倩, 宋长坤, 等. 酱牛肉加工过程中游离氨基酸含量变化的研究 [J]. *食品研究与开发*, 2013, 34(24): 9-12.
- [15] 崔昱清, 王复龙, 崔保威, 等. 牛胰脏组织蛋白酶 L 的纯化和酶学性质 [J]. *食品科学*, 2015, 36(15): 142-146.
- [16] 谭斌. Maillard 反应体系制备热加工牛肉风味基料的研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2005.
- [17] Liu T X, Zhao M M. Thermal pretreatment and chemical modifications as a means to alter hydrolytic characteristics and prevent bitterness in hydrolysates of fishery by-catch (*Decapterus maruadsi*) protein [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2010, 45(9): 1852-1861.
- [18] Jones R C, Weisburger J H. Inhibition of aminoimidazoquinoline-type and aminoimidazol-4-one type mutagen formation in liquid-reflux models by the amino acids L-proline and/or L-tryptophan [J]. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 1988, 11(4): 509-514.
- [19] Khan M I, Jo C, Tariq M R. Meat flavor precursors and factors influencing flavor precursors—a systematic review [J]. *Meat Science*, 2015, 110(8): 278-284.
- [20] Kasumyan A O. Taste attractiveness of free amino acids and their physicochemical and biological properties (as exemplified by fishes) [J]. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 2016, 52(4): 271-281.
- [21] MacDougall D B, Granov M. Relationship between ultraviolet and visible spectra in Maillard reactions and CIELAB colour space and visual appearance [M]. *The Maillard Reaction in Foods and Medicine*. Woodhead Publishing, 2005: 160-165.
- [22] He S, Zhang Z, Sun H, et al. Contributions of temperature and l-cysteine on the physicochemical properties and sensory characteristics of rapeseed flavor enhancer obtained from the rapeseed peptide and d-xylose Maillard reaction system [J]. *Industrial Crops and Products*, 2019, 128: 455-463.
- [23] Specht K, Baltes W. Identification of volatile flavor compounds with high aroma values from shallow-fried beef [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1994, 42(10): 2246-2253.
- [24] Van Lancker F, Adams A, De Kimpe N. Formation of

(下转第 34 页)

structural characteristics, and bioactivities of water - soluble polysaccharides from *Dendrobium* plants [J] . Bioactive Carbohydrates & Dietary Fibre, 2013, 1(2) : 131-147.

[7] Ge J C, Zha X Q, Nie C Y, et al. Polysaccharides from *Dendrobium huoshanense* stems alleviates lung inflammation in cigarette smoke-induced mice [J] . Carbohydrate Polymers, 2018, 189: 289-295.

[8] 安徽省卫生健康委员会. DBS34/002-2019 霍山石斛茎(人工种植) [S] . 合肥: 安徽省卫生健康委员会, 2019.

[9] 丁亚平, 吴庆生, 于力文, 等. 霍山石斛最佳采收期研究 [J] . 中国药理学杂志, 1998(8) : 13-15.

[10] 葛基春. 霍山石斛体内外抗 Lewis 肺癌作用研究 [D] . 合肥: 合肥工业大学, 2018.

[11] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars [J] . Analytical Chemistry, 1956, 28(3) : 350-356.

[12] Zha X Q, Xiao J J, Zhang H L, et al. Polysaccharides in *Laminaria japonica* (LP) : Extraction, physicochemical properties and their hypolipidemic activities in diet-induced mouse model of atherosclerosis [J] . Food Chemistry, 2012, 134(1) : 244-252.

[13] Shroff R N. Single-point determination of intrinsic viscosity [J] . Journal of Applied Polymer Science, 2003, 9(4) : 1547-1551.

[14] Hestrin S. The reaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivatives with hydroxylamine, and its analytical application [J] . The Journal of Biological Chemistry, 1949, 180(1) : 249-261.

[15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M] . 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015 : 282-283.

[16] Hong T, Matsumoto T, Kiyohara H, et al. Enhanced production of hematopoietic growth factors through T cell activation in Peyer's patches by oral administration of Kampo (Japanese herbal) medicine, " Juzen - Taiho - To " [J] .

(上接第 28 页)

pyrazines in Maillard model systems of lysine - containing dipeptides [J] . Journal of agricultural and food chemistry, 2010, 58(4) : 2470-2478.

[25] Shahidi F, Samaranayaka A G P, Pegg R B. Maillard reaction and browning [J] . Encyclopedia of Meat Sciences, 2014, 38(4) : 391-403.

[26] 冯涛, 赵宇, 张治文, 等. L-阿拉伯糖与氨基酸美拉德反应挥发性风味物质分析 [J] . 食品科学, 2019, 40(8) : 213-217.

[27] García-Lomillo J, González-SanJosé M L, Pino-García D, et al. Effect of a new natural seasoning on the formation of pyrazines in barbecued beef patties [J] . Journal of Chemistry, 2016, 2016(10) : 1-7.

[28] Bolton T A. Role of cysteine in the formation of 2-methyl-3-furanthiol in a thiamine - cysteine model system [J] . ACS National Meeting Book of Abstracts, 2016, 204(5) : 270-278.

[29] Calkins C. A fresh look at meat flavor [J] . Meat Science,

Phytomedicine, 1998, 5(5) : 353-360.

[17] 吕品. 6-甲基香豆素联合紫杉醇对食管癌 Ec-109 细胞的抑制作用及其机制研究 [D] . 开封: 河南大学, 2019.

[18] 李宏杨, 谭啸, 刘扬, 等. 铁皮石斛多糖含量变化研究 [J] . 中国热带农业, 2017(2) : 59-61.

[19] 杨太新, 杜艳华, 刘金娜, 等. 华北平原管花肉苁蓉中多糖的含量分析 [J] . 时珍国医国药, 2013, 24(5) : 1149-1150.

[20] 蒋品, 高言明, 杨玉琴, 等. 龙胆不同采收期中多糖含量变化研究 [J] . 微量元素与健康研究, 2011, 28(2) : 19-20.

[21] Xie S Z, Liu B, Zhang D D, et al. Intestinal immunomodulating activity and structural characterization of a new polysaccharide from stems of *Dendrobium officinale* [J] . Food & Function, 2016, 7(6) : 2789-2799.

[22] 刘苏. 黑果枸杞抗骨质疏松活性多糖的筛选与结构鉴定 [D] . 合肥: 合肥工业大学, 2015.

[23] 张素红. 白茅根、玉竹的质量标准研究 [D] . 北京: 北京中医药大学, 2018.

[24] 冯蕾. 决明子水溶性多糖的精细结构、构象特征及其流变行为研究 [D] . 南昌: 南昌大学, 2018.

[25] 蔡艳妮. 重楼多糖的化学修饰及体外活性研究 [D] . 汉中: 陕西理工大学, 2018.

[26] 梁少茹, 肖霄, 肖斌. 绿茶多糖的乙酰化修饰及其清除自由基、NO₂⁻活性的研究 [J] . 食品工业科技, 2015, 36(11) : 84-87.

[27] 王警. 乙酰化和羧甲基化龙眼肉多糖的制备及其抗氧化和免疫调节活性的研究 [D] . 南宁: 广西医科大学, 2016.

[28] 徐兵, 王华丽, 林晓颖, 等. 猴头菇多糖的乙酰化修饰及其抗氧化活性研究 [J] . 食品工业科技, 2018, 39(8) : 50-55.

[29] Deng Y, Li M, Chen L X, et al. Chemical characterization and immunomodulatory activity of acetylated polysaccharides from *Dendrobium devonianum* [J] . Carbohydrate Polymers, 2018, 180: 238-245.

2007, 77(1) : 63-8053.

[30] Van Ba H, Oliveros C M, Park K M, et al. Effect of marbling and chilled ageing on meat-quality traits, volatile compounds and sensory characteristics of beef longissimus dorsi muscle [J] . Animal Production Science, 2017, 57(5) : 981-992.

[31] Lee H, Lin M Y, Lin S T. Characterization of the mutagen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline prepared from a 2-methylpyridine/creatinine/acetylformaldehyde model system [J] . Mutagenesis, 1994, 9(2) : 157-162.

[32] Lee H, Jiaan C Y, Tsai S J. Flavone inhibits mutagen formation during heating in a glycine/creatine/glucose model system [J] . Food Chemistry, 1992, 45(4) : 235-238.

[33] Shin H S, Strasburg G M, Gray J I A. A model system study of the inhibition of heterocyclic aromatic amine formation by organosulfur compounds [J] . Journal of agricultural and food chemistry, 2002, 50(26) : 7684-7690.