

反应条件对美拉德反应模拟体系中的 α -二羰基化合物的影响

吕梦莎¹, 曾永青², 黄雪松^{1,*}

(1.暨南大学食品科学与工程系, 广东 广州 510632; 2.广州市食品工业研究所有限公司, 广东 广州 510663)

摘要: 为了解反应条件对美拉德反应(MR)中形成的 α -二羰基化合物(α -DCC)的影响, 以邻苯二胺(OPD)捕获“核糖/L-半胱氨酸MR模拟体系”中的 α -DCC, 用HPLC和LC-ESI-MS-MS分离、鉴定该体系在不同pH值、温度和时间条件下形成的 α -DCC。结果表明: 该体系形成的 α -DCC包括1,2-二酮戊糖、2,3-二酮戊糖、3-脱氧-1,2-二酮戊糖(3-DP)、1-脱氧-2,3-二酮戊糖(1-DP)、N-L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖、1,4-二脱氧-2,3-二酮戊糖(1,4-DDP)、乙二醛(GO)和丙酮醛(MGO)。其中, 以1,2-二酮戊糖、1,4-DDP、1-DP和N-L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖为主。pH3.6时, 有利于形成N-L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖和GO; pH4.6~6.6时, 有利于形成1,2-二酮戊糖、3-DP和1,4-DDP; pH7.6时, 有利于形成2,3-二酮戊糖、1-DP和MGO。初步推断了 α -DCC在不同pH值条件下的形成路径。 α -DCC在115℃条件下的含量较高, 高温(125℃)长时间(>60min)加热后 α -DCC的含量减小。温度和pH值是影响 α -DCC形成的主要因素。

关键词: 核糖; L-半胱氨酸; 美拉德反应; α -二羰基化合物

Effects of Reaction Conditions on the Formation of α -Dicarbonyl Compounds in Maillard Reaction Model System

LÜ Meng-sha¹, ZENG Yong-qing², HUANG Xue-song^{1,*}

(1. Department of Food Science and Engineering, Jinan Universiy, Guangzhou 510632, China;

2. Guangzhou Food Industry Research Institute, Guangzhou 510663, China)

Abstract: The effects of reaction conditions including pH, temperature and time on the formation of α -dicarbonyl compounds (α -DCCs) from ribose/L-cysteine Maillard reaction model system were examined by separation and identification of α -DCCs by HPLC and LC-ESI-MS-MS after trapped with *o*-phenylenediamine (OPD). The results showed that the α -DCCs identified in the model were 1,2-pentosone, 2,3-pentosone, 3-deoxypentosone (3-DP), 1-deoxypentosone (1-DP), N-1,4,5-trideoxy-2,3-dioxopentyl-L-cysteine, 1,4-dideoxypentosone (1,4-DDP), glyoxal (GO) and methylglyoxal (MGO). Among them the dominant were 1,2-pentosone, 1,4-DDP, 1-DP and N-1,4,5-trideoxy-2,3-dioxopentyl-L-cysteines. At pH 3.6, N-1,4,5-trideoxy-2,3-dioxopentyl-L-cysteine and GO; at pH 4.6~6.6, 1,2-pentosone, 3-DP and 1,4-DDP; and at pH 7.6, 2,3-pentosone, 1-DP and MGO were readily formed. Based on these results, a pathway of α -DCC formation at different pH was proposed. The concentration of α -DCC at 115 °C was higher and then was decreased when heated at a higher temperature (125 °C) after long reaction time (60 min). The temperature and pH were the most important factors that affect the formation of α -DCCs.

Key words: ribose; L-cysteine; Maillard reaction; α -dicarbonyl compounds

中图分类号: TS201.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)24-0050-07

doi:10.7506/spkx1002-6630-201324010

α -二羰基化合物(α -dicarbonyl compounds, α -DCC)是美拉德反应(Maillard reaction, MR)的重要中间产物, 在食品热加工(烧烤、烘焙和煎炸)过程中形成^[1], 是产生食品中颜色和香味物质的重要前体物质。另外, 它也会引

起蛋白质变性, 导致营养流失和晚期糖化终产物(advanced glycation end products, AGEs)的形成。研究^[2]表明AGEs能够导致糖尿病和衰老。因此, 对食品中 α -DCC的研究具有重要意义。近年来, 有研究者在一些食品中检测到

收稿日期: 2012-12-13

基金项目: 广州市科信局技术创新服务体系项目(2060502); 农业部公益性行业(农业)科研专项(201303077)

作者简介: 吕梦莎(1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品科学。E-mail: lv.mengsha@163.com

*通信作者: 黄雪松(1957—), 男, 教授, 博士, 研究方向为功能性食品。E-mail: thxs@jnu.edu.cn

α -DCC, 包括曲奇^[3]、蜂蜜^[4]、酒^[5]、咖啡^[1]和番茄^[6]; 也有研究报道过 α -DCC在单糖^[7]、多糖^[8-9]以及不同的还原糖与氨基酸^[10-11]的MR模拟体系中的形成, 但反应条件(pH值、温度和时间)对 α -DCC形成的影响的研究较少有报道。在各种还原糖和氨基酸中, 核糖和L-半胱氨酸是产生肉香味物质的典型前体物质, 研究该体系中 α -DCC的形成对探索风味物质和美拉德终产物的形成有重要意义。因此, 本研究利用邻苯二胺(*o*-phenylenediamine, OPD)捕获方法^[12]以及色谱分离检测和质谱鉴定技术, 测定不同pH值、温度和时间条件下核糖/L-半胱氨酸MR模拟体系中 α -DCC的种类和变化, 研究了不同反应条件对 α -DCC形成的影响, 以期为研究MR机理以及利用美拉德反应制备肉味香精提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

D-核糖、L-半胱氨酸 广州齐云生物技术公司; 柠檬酸、磷酸二氢盐(分析纯) 天津市大茂化学试剂厂; 邻苯二胺、喹喔啉、甲基喹喔啉(>99%) 上海市阿拉丁试剂公司; 甲醇(色谱纯) 美国Mallinckrodt Baker公司; 液相用水 华润怡宝食品饮料(深圳)有限公司。

1.2 仪器与设备

Varian Prostar 210制备液相色谱仪、1100 LC-ESI-MS-MS(配有AB 4000Q TRAP质谱) 美国Agilent公司; LC-20AT高效液相色谱(配有SIL-20A自动进样器、SPD-M20A光电二极阵列检测器(PAD)和Class-vp色谱工作站) 日本岛津公司。

1.3 方法

1.3.1 核糖/L-半胱氨酸MR模拟体系中 α -DCC喹喔啉衍生物的制备

参考Gobert等^[12]的方法并略作修改, 用OPD作为捕获剂与 α -DCC反应生成稳定的喹喔啉衍生物。取0.3mol/L核糖、0.3mol/L L-半胱氨酸以及0.15mol/L邻苯二胺, 加入20mL 0.2mol/L磷酸盐缓冲液(pH值分别为3.6、4.6、5.6、6.6、7.6), 置于高压灭菌锅中, 分别在105、115℃和125℃条件下反应5、15、30、60、90min和120min, 反应后置于冰水中冷却, 过滤后用于定性和定量分析。

1.3.2 α -DCC的分离和定性

1.3.2.1 LC制备液相分离条件

色谱柱: Agilent Eclipse DB-C₁₈色谱柱(250mm×2.1mm, 5μm); 流动相A为水, 流动相B为甲

醇; 流速1mL/min; 检测波长320nm; 进样量2mL; 梯度洗脱程序如表1所示, 根据出峰时间直接取每个峰所对应的 α -DCC喹喔啉衍生物的洗脱液, 供定性分析。

表1 HPLC梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program in HPLC

时间/min	流动相A/%	流动性B/%
0	30	70
5	30	70
15	60	40
25	30	70
30	30	70

1.3.2.2 LC-ESI-MS-MS定性条件

色谱柱: Agilent Eclipse DB-C₁₈色谱柱(150mm×2.1mm, 5μm); 进样量10μL。

质谱条件: ESI离子源; 正离子模式; 气帘气压力20psi; 离子源温度450℃; 雾化气压力45psi; 辅助气压力40psi; 离子源电压5500V。

1.3.3 α -DCC的定量

1.3.3.1 HPLC分析条件

色谱柱: Agilent Eclipse DB-C₁₈色谱柱(250mm×2.1mm, 5μm); 流动相A为水, 流动相B为甲醇; 流速1mL/min; 检测波长320nm; 进样量2μL; 梯度洗脱程序同1.3.2.1节。

1.3.3.2 α -DCC含量的计算

以喹喔啉为内标物, 在320nm波长处, α -DCC喹喔啉衍生物主要的摩尔吸光系数来源于喹喔啉端, 相比之下, 碳骨架产生的摩尔吸光系数较小, 不影响对不同条件下形成的 α -DCC含量变化的研究, 故忽略不计。因此, 可以根据式(1)计算 α -DCC喹喔啉衍生物的含量:

$$w\% = A_i/A_s \times 0.5 \times 100 \quad (1)$$

式(1)中: w为 α -DCC含量/(每100mol核糖中含 α -DCC的物质的量); A_i 为 α -DCC喹喔啉衍生物峰面积; A_s 为内标物的峰面积。

1.3.3.3 相对贡献率的计算^[13]

相对贡献率表示不同因素(pH值、温度和时间)对 α -DCC形成的影响的大小, 计算见式(2):

$$\text{相对贡献率}/\% = \frac{SS_i \times df_t}{SS_t \times df_i} \times 100 \quad (2)$$

式(2)中: SS为偏差平方; df为自由度; 下标i和t分别表示各个因素和各个因素加和总量。

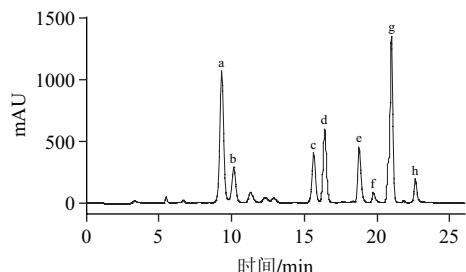
1.4 数据分析

用SPSS的一般线性模型来分析pH值、温度和时间条件对 α -DCC形成的影响和相互作用。定量结果为3次重复实验的平均数。

2 结果与分析

2.1 核糖/L-半胱氨酸MR模拟体系中 α -DCC的LC-ESI-MS-MS鉴定

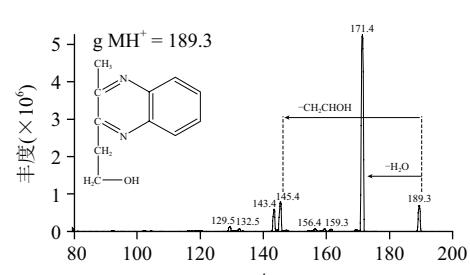
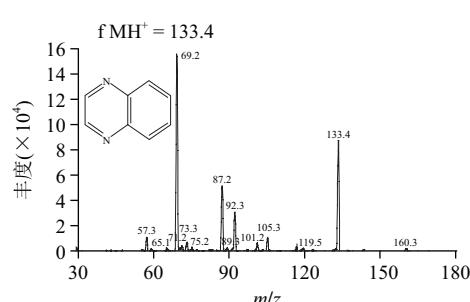
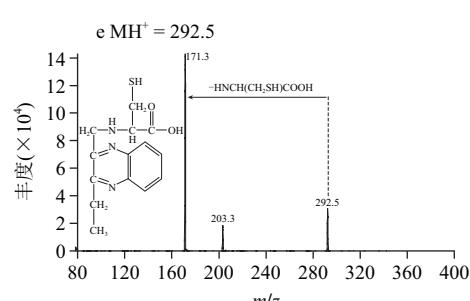
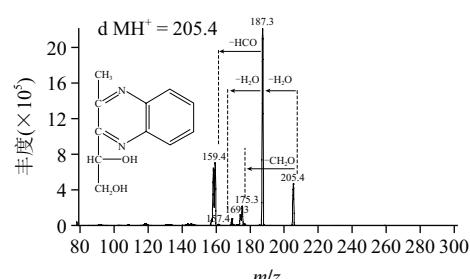
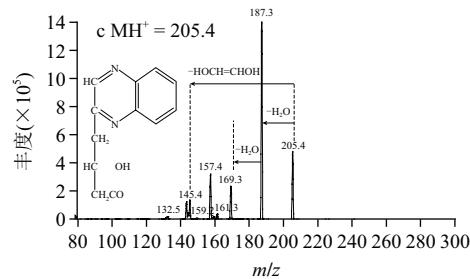
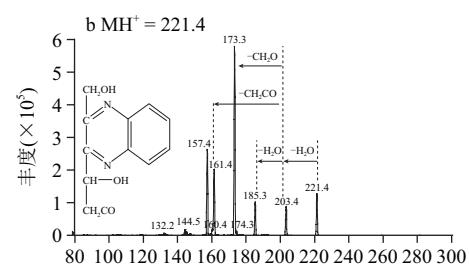
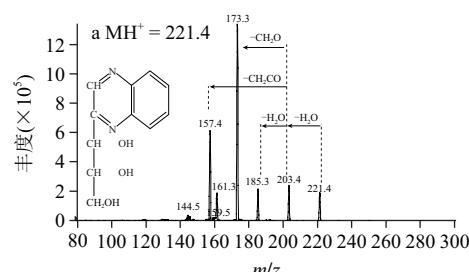
核糖/L-半胱氨酸MR模拟体系中 α -DCC 喹喔啉衍生物的HPLC色谱图及LC-ESI-MS-MS质谱分别如图1和图2所示。通过分析各峰的二级质谱、与文献谱图和标准品谱图对照，判断a~h分别是1,2-二酮戊糖(1,2-pentosone)、2,3-二酮戊糖(2,3-pentosone)、3-脱氧-1,2-二酮戊糖(3-deoxypentosone, 3-DP)、1-脱氧-2,3-二酮戊糖(1-deoxypentosone, 1-DP)、N-L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖(N-1,4,5-trideoxy-2,3-dioxopentyl-L-cysteine)、1,4-二脱氧-2,3-二酮戊糖(1,4-dideoxypentosone, 1,4-DDP)、乙二醛(glyoxal, GO)和丙酮醛(methylglyoxal, MGO)的喹喔啉衍生物。这8种物质的分子结构式分别见图2a~h。

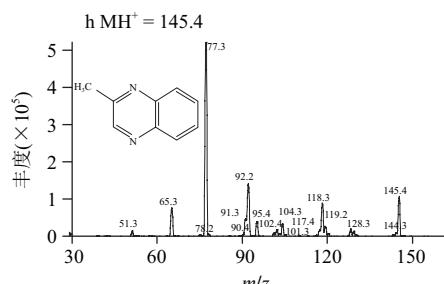


a. 1,2-二酮戊糖；b. 2,3-二酮戊糖；c. 3-脱氧-1,2-二酮戊糖(3-DP)；d. 1-脱氧-2,3-二酮戊糖(1-DP)；e. N-L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖；f. 乙二醛(GO)；g. 1,4-二脱氧-2,3-二酮戊糖(1,4-DDP)；h. 丙酮醛(MGO)。下同。

图1 核糖/L-半胱氨酸MR模拟体系中 α -二羰基化合物喹喔啉衍生物的HPLC色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of α -dicarbonyl quinoxaline derivatives from ribose/L-cysteine MR model systems





主要特征离子：a. m/z 221.4、203.4、185.3、173.3、161.3、157.4；b. m/z 221.4、203.4、185.3、174.3、161.4、157.4；c. m/z 205.4、187.3、169.3、157.4、145.4；d. m/z 205.4、187.3、175.3、169.3、159.4；e. m/z 292.5、203.3、171.3；f. m/z 133.4、105.3、92.3、87.2、69.2；g. m/z 189.3、171.4、145.4；h. m/z 145.4、118.3、91.2、77.3。

图2 α -二羰基化合物喹喔啉衍生物的二级质谱图(MS-MS)

Fig.2 MS-MS spectra of α -dicarbonyl quinoxaline derivatives

α -DCC的喹喔啉衍生物的质谱裂解特点是：1)容易失去1分子或2分子 H_2O ，例如图2A的准分子离子分别失去1分子和2分子 H_2O 产生 m/z 203.4和 m/z 185.3；2) C—C键断裂，如图2a的碎片离子 m/z 203.4发生C—C键断裂后，失去 CH_2O 和 CH_2CO 分别产生 m/z 173.3和 m/z 161.4；图2c的准分子离子裂解失去 $CHOH=CHOH$ 产生 m/z 145.4^[10]；图2d的准分子离子裂解失去 HCO 产生 m/z 158.4^[6]；图2g的准分子离子失去 C_2H_4OH 产生 m/z 143.4^[11]。

需要指出的是：由图2e的准分子离子 $MH^+(m/z 292.5)$ 和二级碎片离子 m/z 203.3、 m/z 171.3，推断e为带有L-半胱氨酸基团的一种新的 α -DCC(N -L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖)。判断的依据是：1)由准分子离子 $MH^+(m/z 292.5)$ 可知，减去喹喔啉端后，该 α -DCC的相对分子质量(M_r)为219，由氮规律可知该物质含有奇数氮，因而含有L-半胱氨酸基团；2)与其他 α -DCC喹喔啉衍生物的二级质谱图比较，它的二级质谱图不符合上述质谱裂解特点1)，说明该 α -DCC喹喔啉衍生物不含羟基；3) α -DCC的 M_r 与核糖和L-半胱氨酸的Amadori产物1-半胱氨酸基-1-脱氧-2-戊酮糖($M_r=253$)的 M_r 差34，推断该差值是由Amadori产物失去2个羟基得来。4)Reihl等^[14]研究D-乳糖和赖氨酸MR模拟体系，发现1种带有赖氨酸残基的新物质 N^6 -L-赖氨酸基-2,3-二羟基-5,6-二酮己糖，它是由C-4位的脱水和Amadori产物糖骨架的烯醇化反应形成的，与之类似， N -L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖可能是由核糖和L-半胱氨酸反应生成的Amadori产物1-半胱氨酸基-1-脱氧-2-戊酮糖经过烯醇化作用和脱水作用形成。 N -L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖与AGEs有类似的结构，可能有类似的生理功能，但它与AGEs的联系、其形成路径和生理功能还有待进一步的研究。

2.2 pH值对核糖/L-半胱氨酸MR模拟体系形成的 α -DCC的影响

2.2.1 不同pH值条件下核糖/L-半胱氨酸MR模拟体系中主要的 α -DCC

从图3～5可以看出，在不同的pH值条件下，1,2-二酮戊糖和1,4-DDP为主要的 α -DCC，分别占 α -DCC总量的20%以上；当pH值为3.6～4.6时 N -L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖也是主要的 α -DCC之一；当pH值为7.6时，1-DP也是主要的 α -DCC之一。

2.2.2 pH值对 N -L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖和GO的影响

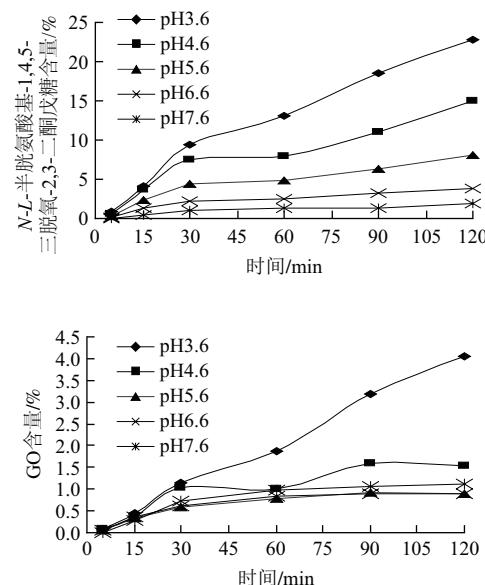


图3 105℃时不同pH值条件下 N -L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖和GO的含量随时间的变化

Fig.3 Changes in the concentrations of N -1,4,5-trideoxy-2,3-dioxopentyl-L-cysteine and GO with reaction time at different pH and 105 °C

从图3可以看出，随着pH值的增加， N -L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖和GO含量逐渐减小。pH3.6时，两者的含量随时间增加而不断增加，而其他pH条件下两者的含量随时间变化不大。结果说明，pH3.6有利于形成 N -L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖和GO。如2.1节所述， N -L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖是经过糖氨缩合和脱水形成的，糖氨缩合是形成亚胺的过程，亚胺形成的速度最快是在pH4.5左右^[15]，因此酸性溶液有利于该反应的进行， N -L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖的含量较高。

2.2.3 pH值对1,2-二酮戊糖、3-DP和1,4-DDP的影响

从图4可以看出，1,2-二酮戊糖、3-DP和1,4-DDP在弱酸性至中性(pH4.6～6.6)条件下含量较高，在酸性(pH3.6)和碱性(pH7.6)条件下含量较低。pH4.6～7.6时，3者的含量在前30min的加热阶段迅速增加，随后变化趋于平稳。pH3.6时，3者的含量在前15min的加热阶段增加至最大值，随后不断减小，120min时分别减小了34.4%、44.4%和56.4%。结果说明，pH4.6～6.6时，有利于形成1,2-二酮戊糖、3-DP和1,4-DDP，而pH3.6时3者

易转化降解。从MR机理可知,酸性条件有利于1,2-烯醇化的进行,形成1,2-二烯醇类物质^[16],核糖/L-半胱氨酸MR模拟体系中的1,2-二酮戊糖和3-DP是通过1,2-烯醇化作用形成的,故在pH4.6~6.6时含量较高。1,4-DDP在不同pH值条件下的变化规律与Pfeifer等^[11]研究D-葡萄糖和L-蛋氨酸MR体系中的1,4-DDP的变化规律一致,即在弱酸性条件下较碱性条件下的含量高。研究发现,1,4-DDP可通过还原糖脱水^[17]和Amadori产物的Strecker降解、水解或脱氨基形成^[18],弱酸性条件可能有利于以上反应的进行。但在pH3.6条件下,1,2-二酮戊糖、3-DP和1,4-DDP的含量反而有所降低,可能与上述N-L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖的大量形成有关,这有待进一步的研究。

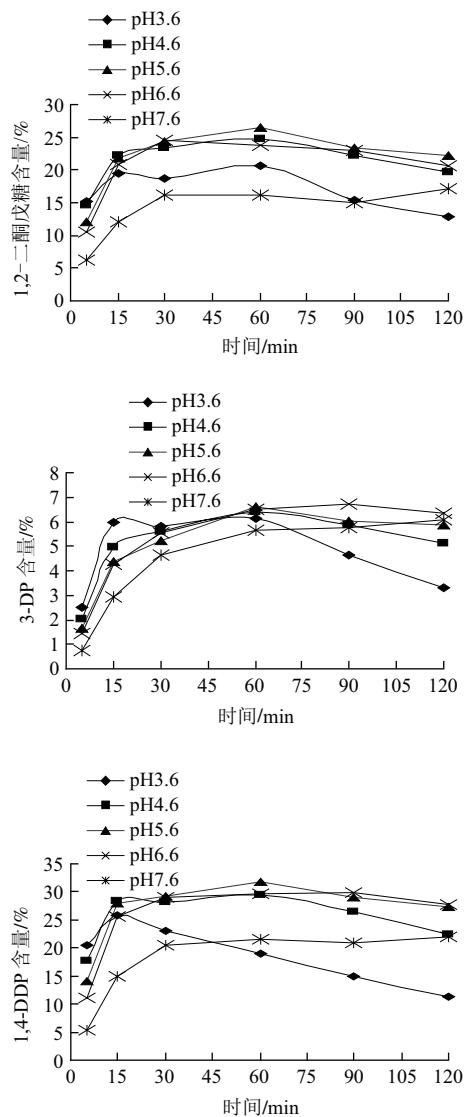


图4 105℃时不同pH值条件下1,2-二酮戊糖、3-DP和1,4-DDP的含量随时间的变化

Fig.4 Changes in the concentrations of 1,2-pentosone, 3-DP and 1,4-DDP with reaction time at 105 °C at different pH

2.2.4 pH值对2,3-二酮戊糖、1-DP和MGO的影响

从图5可以看出,随着pH值升高,2,3-二酮戊糖、1-DP和MGO的含量增大。pH6.6~7.6时,2,3-二酮戊糖在前30min、1-DP和MGO在前90min,含量增加至最大值,随后变化趋于平稳。在其他pH值条件下,三者的含量随时间变化不大。结果说明,pH7.6时,有利于形成2,3-二酮戊糖、1-DP和MGO。碱性条件下,Amadori产物发生2,3-烯醇化反应^[16],生成2,3-二酮戊糖和1-DP,故两者含量随着pH值升高而增大。Weenen等^[19]研究发现MGO是由脱氧葡糖醛酮通过逆醇醛缩合作用裂解形成的,pH值大于7时,逆醇醛缩合和β-裂解加强^[20],有利于形成MGO,故含量增大。

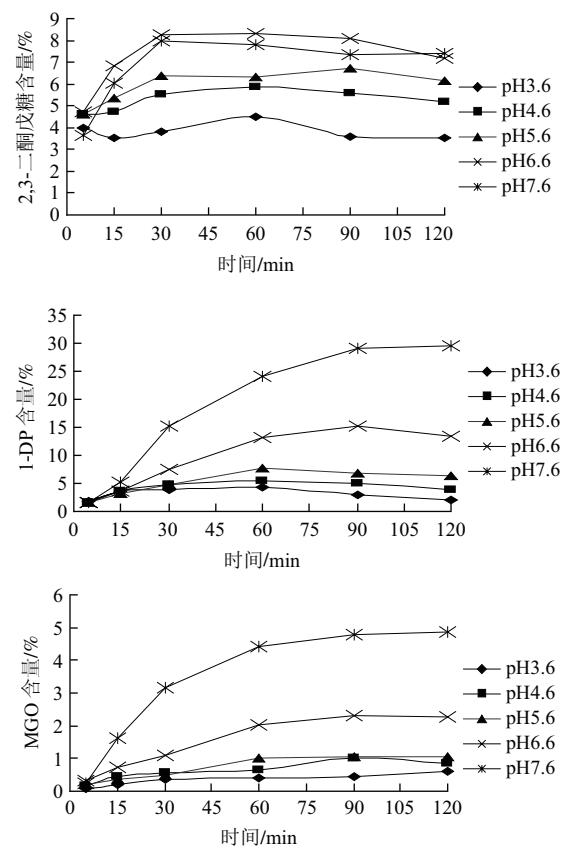


图5 105℃时不同pH值条件下2,3-二酮戊糖、1-DP和MGO的含量随时间的变化

Fig.5 Changes in the concentrations of 2,3-pentosone, 1-DP and MGO with reaction time at 105 °C and different pH

2.2.5 α-DCC在不同pH值条件下的形成路径

综上所述,根据α-DCC在不同pH值条件下的变化,初步推断核糖/L-半胱氨酸MR模拟体系中α-DCC的形成路径如图6所示。首先是核糖和L-半胱氨酸发生糖氨缩合形成Amadori产物(1-半胱氨酸基-1-脱氧-2-戊酮糖)。接着Amadori产物在不同的pH值条件下形成不同的α-DCC,主要包括2个部分:1)烯醇化和脱水反应:酸性条件下,Amadori产物通过脱水可形成N-L-半胱氨酸

基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖，同时Amadori产物发生1,2-烯醇化和C-3位脱水，形成1,2-二酮戊糖和3-DP；碱性条件下，Amadori产物发生2,3-烯醇化和脱水反应，形成1-DP，1-DP氧化形成2,3-二酮戊糖，此外，*N-L*-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖在该条件下不稳定，经过脱氨基和加水后生成1-DP；1,4-DDP有2条形成路径，1条路径是由1-DP脱水形成，另外1条路径与Nedvidek^[21]、Cerny^[18]等的研究类似，经过Amadori产物的脱氨基和脱水形成。2)逆醇醛缩合反应：1-DP和3-DP的逆醇醛缩合可形成MGO和GO^[19]。

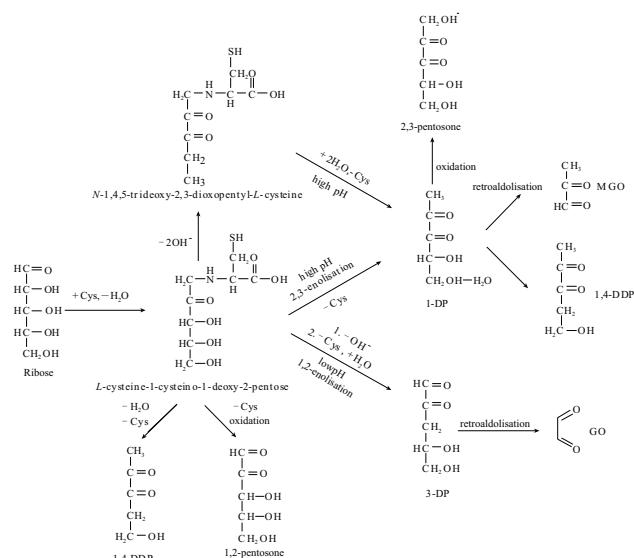


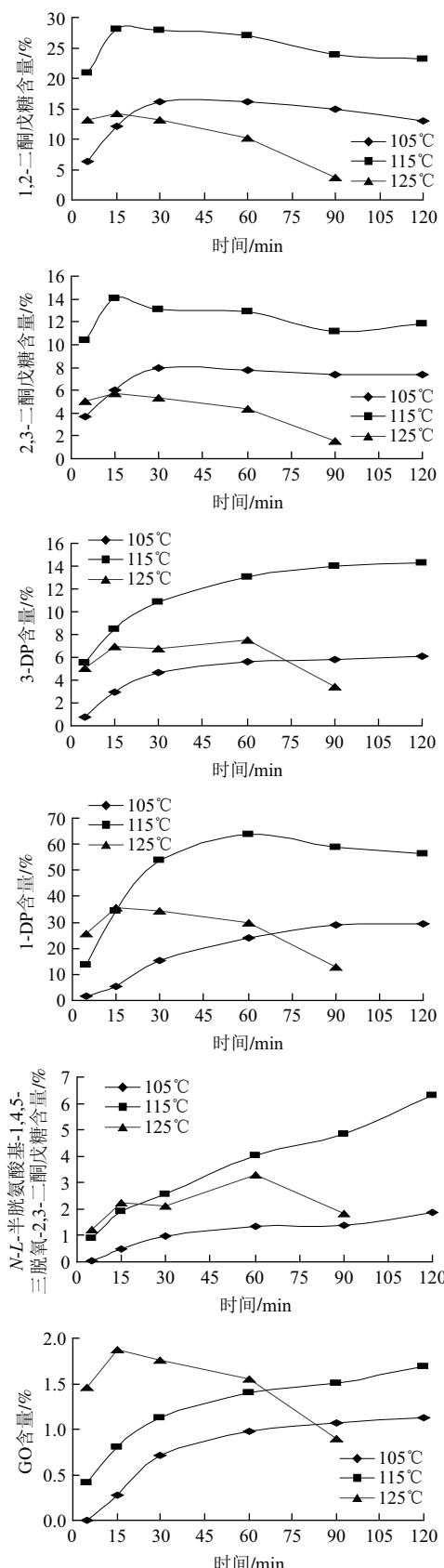
图6 核糖/L-半胱氨酸MR模拟体系中 α -DCC的形成路径图

Fig.6 Proposed formation pathway of α -DCCs in ribose/L-cysteine MR model system

2.3 温度对核糖/L-半胱氨酸MR模拟体系形成的 α -DCC的影响

从图7可以看出，温度对不同的 α -DCC有不同的影响，在相同反应时间内，GO的含量由高到低排列顺序是： $125^{\circ}\text{C} > 115^{\circ}\text{C} > 105^{\circ}\text{C}$ ；1,2-二酮戊糖和2,3-二酮戊糖在15min后，1,4-DDP在30min后的含量由高到低排列顺序是： $115^{\circ}\text{C} > 105^{\circ}\text{C} > 125^{\circ}\text{C}$ ；其他 α -DCC的含量由高到低排列顺序是： $115^{\circ}\text{C} > 125^{\circ}\text{C} > 105^{\circ}\text{C}$ 。温度为 105°C 和 115°C 时，加热前30min， α -DCC的含量快速增加，随后变化不大；温度为 125°C 时，随着反应时间的延长， α -DCC的含量不断减小，加热90min后，*N-L*-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖含量外，其他 α -DCC的含量均降低至3个温度中的最小值。结果表明：高温长时间加热不利于 α -DCC的形成。这与Chen等^[22]的研究发现(在 121°C 条件下，核糖和半胱氨酸体系中的 α -DCC总含量随时间延长而减小)是一致的。 α -DCC是具有高度活性的产生褐变和风味物质的MR中间产物^[23]，能与胺类物质反应形成大分子的类黑精， α -DCC的含量在 125°C 条件下随时

间延长不断降低，可能是因为在高温条件下， α -DCC大部分转化成类黑精。



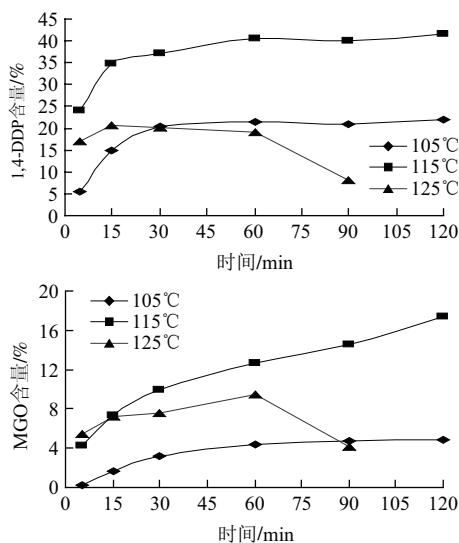


图7 pH7.6时不同温度条件下不同的 α -DCC的含量随时间的变化
Fig.7 Changes in the concentrations of different α -DCCs with reaction time at pH 7.6 and different temperatures

2.4 各因素(pH值、温度和时间)对核糖/L-半胱氨酸MR模拟体系形成 α -DCC的影响主次分析

各因素对核糖/L-半胱氨酸MR模拟体系中8种 α -DCC的贡献率如表2所示: pH值对1-DP、N-L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖和MGO的影响最大; 除了以上3种物质, 温度对其他的 α -DCC以及 α -DCC总量的影响最大。总体上, 与pH值和温度相比, 其他条件对 α -DCC的形成的贡献率较小, 因为pH值和温度对MR速率和美拉德反应路线会产生很大的影响^[10], 从而影响 α -DCC的活性和产量。

表2 各因素和因素的交互作用对 α -DCC产量的贡献率
Table 2 Contributions of factors and their interactions to the production of α -DCC

贡献率/%	a	b	c	d	e	f	g	h	α -DCC总量	%
pH值	18.2	21.2	7.2	68.6	45.9	30.7	17.6	45.9	1.7	
时间	12.0	4.1	8.4	4.1	22.0	19.4	8.7	10.6	12.8	
温度	56.4	64.8	60.9	17.0	24.3	36.5	59.2	36.9	69.7	
pH值×时间	1.3	0.7	3.8	2.0	2.1	1.9	3.0	0.9	0.8	
pH值×温度	0.8	0.4	3.1	2.5	1.7	0.0	1.4	2.3	0.4	
时间×温度	11.1	8.2	16.0	5.0	3.4	10.0	9.6	3.1	14.5	
pH值×时间×温度	0.2	0.5	0.6	0.8	0.5	1.4	0.5	0.4	0.2	

3 结论

核糖/L-半胱氨酸MR模拟体系中检测到的 α -DCC包括1,2-二酮戊糖、2,3-二酮戊糖、3-DP、1-DP、N-L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖、GO、1,4-DDP和MGO, 其中N-L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖是本实验中发现的新物质, 1,2-二酮戊糖、1,4-DDP、1-DP和N-L-半胱氨酸基-1,4,5-三脱氧-2,3-二酮戊糖是主要的 α -DCC。不同的 α -DCC形成的最适宜pH值不同, 本研究初步推断了不同pH值条件下核糖/L-半胱氨酸MR模拟

体系中 α -DCC的形成路径, 为MR形成机理提供了参考。温度为115°C时, α -DCC的含量较高, 高温(125°C)长时间(>60min)加热会使 α -DCC的含量减少。在pH值、温度和时间3个因素中, pH值和温度是影响 α -DCC形成的重要因素, 因此控制MR的pH值、温度和时间对中间产物 α -DCC的形成具有重要意义。

参考文献:

- DAGLIA M, PAPETTI A, ACETI C, et al. Isolation and determination of α -dicarbonyl compounds by RP-HPLC-DAD in green and roasted coffee[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(22): 8877-8882.
- GLOMB M A, TSCHIRNICH R. Detection of α -dicarbonyl compounds in Maillard reaction systems and *in vivo*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(11): 5543-5550.
- ARRIBAS-LORENZO G, MORALES F J. Analysis, distribution, and dietary exposure of glyoxal and methylglyoxal in cookies and their relationship with other heat-induced contaminants[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(5): 2966-2972.
- MARCEAU E, YAYLAYAN V A. Profiling of alpha-dicarbonyl content of commercial honeys from different botanical origins: identification of 3,4-dideoxyglucoson-3-ene (3,4-DGE) and related compounds[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(22): 10837-10844.
- BRAVO A, HERRERA J C, SCHERER E, et al. Formation of α -dicarbonyl compounds in beer during storage of pilsner[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(11): 4134-4144.
- HAUCK T, HÜBNER Y, BRÜHLMANN F, et al. Alternative pathway for the formation of 4,5-dihydroxy-2,3-pentanedione, the proposed precursor of 4-hydroxy-5-methyl-3(2H)-furanone as well as autoinducer-2, and its detection as natural constituent of tomato fruit[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2003, 1623(2/3): 109-119.
- YASUI T, YANAGISAWA S, OHGUCHI M, et al. Identification and determination of α -dicarbonyl compounds formed in the degradation of sugars[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2007, 71(10): 2465-2472.
- HOLLNAGEL A, KROH L W. 3-Deoxypentosulose: an α -dicarbonyl compound predominating in nonenzymatic browning of oligosaccharides in aqueous solution[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(6): 1659-1664.
- MAVRIC E, HENLE T. Isolation and identification of 3,4-dideoxypentosulose as specific degradation product of oligosaccharides with 1,4-glycosidic linkages[J]. European Food Research and Technology, 2006, 223(6): 803-810.
- CHEN Xiumin, KITTS D D. Identification and quantification of α -dicarbonyl compounds produced in different sugar-amino acid Maillard reaction model systems[J]. Food Research International, 2011, 44(9): 2775-2782.
- PFEIFER Y V, KROH L W. Investigation of reactive alpha-dicarbonyl compounds generated from the Maillard reactions of L-methionine with reducing sugars via their stable quinoxaline derivatives[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(14): 8293-8299.
- GOBERT J, GLOMB M A. Degradation of glucose: reinvestigation of reactive α -dicarbonyl compounds[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(18): 8591-8597.
- CHEN Xiumin, KITTS D D. Determining conditions for nitric oxide synthesis in Caco-2 cells using Taguchi and factorial experimental designs[J]. Analytical Biochemistry, 2008, 381(2): 185-192.
- REIHL O, ROTHENBACHER T M, LEDERER M O, et al. Carbohydrate carbonyl mobility-the key process in the formation of α -dicarbonyl intermediates[J]. Carbohydrate Research, 2004, 339(9): 1609-1618.
- Jr. 韦德 L G. 有机化学[M]. 5 版. 北京: 化学工业出版社, 2006: 740-741.
- HODGE J E. Dehydrated foods, chemistry of browning reactions in model systems[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1953, 1(15): 928-943.
- MORITA N, DAIDO Y, HAYASHI H, et al. Quinoxalines derived from D-xylose and o-phenylenediamine under acidic refluxed conditions[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1983, 47(4): 765-770.
- CÉRNÝ C, DAVIDEK T. Formation of aroma compounds from ribose and cysteine during the Maillard reaction[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(9): 2714-2721.
- WEENEN H. Reactive intermediates and carbohydrate fragmentation in Maillard chemistry[J]. Food Chemistry, 1998, 62(4): 393-401.
- NURSTEN H E. Maillard reaction chemistry, biochemistry and implications[M]. UK: Royal Society of Chemistry, 2005: 5-8.
- NEDVÍDEK V, LEDL F, FISCHER P. Detection of 5-hydroxymethyl-2-methyl-3(2H)-furanone and of α -dicarbonyl compounds in reaction mixtures of hexoses and pentoses with different amines[J]. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung, 1992, 194(3): 222-228.
- CHEN Xiumin, KITTS D D. Correlating changes that occur in chemical properties with the generation of antioxidant capacity in different sugar-amino acid Maillard reaction models[J]. Journal of Food Science, 2011, 76(6): C831-C837.
- ARRIBAS-LORENZO G, MORALES F J. Analysis, distribution, and dietary exposure of glyoxal and methylglyoxal in cookies and their relationship with other heat-induced contaminants[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(5): 2966-2972.