

黄梅桂, 张晓鸣. 半胱氨酸抑制大豆肽美拉德反应体系色泽形成的动力学研究[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(12): 293–295.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.12.099

# 半胱氨酸抑制大豆肽美拉德反应体系色泽形成的动力学研究

黄梅桂<sup>1</sup>, 张晓鸣<sup>2</sup>

(1. 南京林业大学轻工科学与工程学院, 江苏南京 210037; 2. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214122)

**摘要:**通过测定褐变程度  $D_{420\text{ nm}}$ 、色差值, 对半胱氨酸抑制大豆肽美拉德反应体系色泽形成随时间、温度变化的动力学过程进行研究, 对大豆肽-木糖-半胱氨酸美拉德反应体系的色泽变化进行回归分析。结果表明, 色泽参数  $D_{420\text{ nm}}$ 、 $L^*$  均符合零级反应动力学, 回归方程具有较高的  $r^2$ , 数值在 0.86~0.97 之间, 说明方程拟合良好; 色泽参数  $\Delta E$  经非线性拟合, 模型符合指数方程; 分析色泽变化的动力学关系, 可用于该体系中给定温度和时间下色泽的追踪、预测及优化控制, 为研究抑制大豆肽美拉德体系中色泽的形成与控制提供理论依据。

**关键词:**大豆肽; 美拉德反应; 色泽形成; 动力学; 活化能

**中图分类号:** TS201.1      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1002-1302(2014)12-0293-03

大豆肽来源于大豆蛋白, 是大豆蛋白经酸、碱或酶的水解作用, 使肽键断裂后得到的由不同氨基酸组成的低相对分子质量短肽的总称。大豆肽消化吸收率高, 能迅速提供能量, 是食品工业的重要原料。大豆肽参与美拉德反应可为食品提供丰富的色泽香气和滋味。产物色泽是由错综复杂的反应产生的多种产物共同呈现出来的, 国际上诸多学者致力于研究美拉德反应的呈色物质, 美拉德产物中色泽的形成与温度和时间有着密切的联系, 因此控制温度和时间对色泽的控制非常重要, 这就需要对试验数据进行理论分析, 采用化学反应动力学原理来建立美拉德产物颜色变化与时间和颜色抑制剂关系的模型, 推导其动力学方程, 建立色泽动力学模型将为研究美拉德过程中色泽的形成、有效控制反应过程中颜色的变化提供强有力的理论依据。

美拉德反应的每步反应对温度的敏感性都不相同, 温度的高低会促使反应网络沿着不同的反应支路而生成不同的呈色呈味物质。每一类物质, 甚至每一类中的每一种物质都有可能具有它们自己的反应活化能, 由此可以认识到温度对美拉德反应中化合物的形成有着重要的影响。学者们对多种体系的美拉德反应色泽动力学进行了研究, Reyes 等对牛奶体系褐变的形成动力学研究发现, 色泽的形成主要由高级阶段的美拉德反应产生, 并随温度和时间显著变化<sup>[1]</sup>。Franzen 等发现其形成动力学符合假零级反应模型<sup>[2]</sup>。本研究借助化学反应动力学理论, 应用数学原理重点研究半胱氨酸对大豆肽-木糖体系色泽的抑制过程并进一步推导随温度时间的色泽动力学变化过程, 计算其活化能, 目的在于明确色泽被抑制

的本质过程, 对于开发新型美拉德风味增强肽、获得高附加值的大豆新产品具有重要的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

大豆肽, 笔者实验室自制;  $D$ -木糖、 $L$ -半胱氨酸, 购自国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 试验仪器

UV-1600 紫外可见分光光度计, 上海美谱达公司; WSC 测色色差计, 上海精密科学仪器有限公司。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 温度对色泽形成的影响** 配制 100 g/L 大豆肽底物溶液, 添加 1.5% 木糖(质量含量)、1.00% 半胱氨酸, 配成 10 mL 溶液, 置于 50 mL 耐温耐压反应瓶中, 调节反应液的 pH 值至 6.5, 旋紧瓶盖使溶液置于密闭环境中以防挥发性香气逸出, 在 100、110、120、130、140 °C 下反应 20、40、60、80、100、120 min。反应结束后, 为迅速猝灭反应, 冰浴冷却至室温, 测定色泽, 重复 3 次。

**1.3.2 褐变程度  $D_{420\text{ nm}}$  的测定** 准确吸取 0.1 mL 样品, 用蒸馏水稀释至 10 mL(稀释 100 倍), 以蒸馏水作空白对照, 在 420 nm 下测定吸光度  $D_{420\text{ nm}}$ 。

**1.3.3 色差值的测定** 定量移取 2 mL 美拉德反应产物(Maillard reaction products, MRPs)用于测定  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  值(分别表示亮度、红绿值、黄蓝值), 以水作空白对照<sup>[3]</sup>。测定 3 次并取平均值, 按如下公式计算相应参数<sup>[4]</sup>:

$$\text{总色差 } \Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (1)$$

所用标准白板的三原色刺激值: 红原色刺激值( $x_0$ ) = 75.11; 绿原色刺激值( $y_0$ ) = 79.19; 蓝原色刺激值( $z_0$ ) = 85.02。

**1.3.4 动力学参数的计算和统计分析** 根据所得的动力学试验数据, 采用 Student- $t$  检验法和 Pearson 法对各参数进行显著性和相关性分析, 利用 SPSS 13.0 软件进行模型拟合, 建

收稿日期: 2014-09-27

基金资助: 国家自然科学基金(编号: 31401679)。

作者简介: 黄梅桂(1983—), 女, 四川自贡人, 博士, 讲师, 从事食品风味研究。E-mail: huangmg@njfu.edu.cn。

通信作者: 张晓鸣, 博士, 教授, 从事食品化学研究。E-mail: xzmzhang@jiangnan.edu.cn。

立大豆肽-木糖-半胱氨酸(PXC)体系色泽形成的动力学方程。

2 结果与分析

2.1 美拉德反应中  $D_{420\text{ nm}}$  的变化

为了解释半胱氨酸抑制大豆肽-木糖体系美拉德反应过程中颜色形成的变化情况,采用动力学模型和动力学常数进行说明。褐变指数  $D_{420\text{ nm}}$  随温度(100~140℃)变化情况如图1所示,可以看出温度越高,随着反应时间的延长,  $D_{420\text{ nm}}$  越大;以  $D_{420\text{ nm}}$  的变化对时间  $t$  作图,通过动力学拟合,各温度下  $D_{420\text{ nm}}$  随时间  $t$  的变化均符合零级反应( $y=kt+a$ ),具体如表1所示。Pauletti 等也证实了果糖体系中色泽随时间呈零级变化<sup>[5]</sup>。从表1还可以看出,该模型显著性均为极显著( $P>$

$F$ ),达  $10^{-4}$  级,远远小于 0.001,这表明拟合的回归方程极显著,且  $r^2$  较高(均为 0.86 以上),说明该方程拟合程度良好,可以反映出  $D_{420\text{ nm}}$  随温度变化的情况。

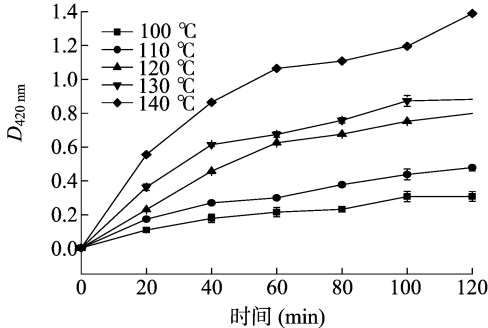


图1 温度对  $D_{420\text{ nm}}$  的影响

表1  $D_{420\text{ nm}}$  的动力学方程回归系数及显著性检验

$T(^{\circ}\text{C})$	常数项	斜率 $k$	$r^2$	$k$ 值的 95% 下限	$k$ 值的 95% 上限	$P>F(\times 10^{-4})$
100	0.048 46	0.002 43	0.930 2	0.001 66	0.003 19	4.48
110	0.071 75	0.003 68	0.942 1	0.002 63	0.004 73	2.80
120	0.116 52	0.006 50	0.913 45	0.004 20	0.008 80	7.72
130	0.188 98	0.006 78	0.864 94	0.003 70	0.009 86	24.00
140	0.275 27	0.010 13	0.874 00	0.005 71	0.014 55	20.10

比较表1中PXC的  $D_{420\text{ nm}}$  变化结果可以看出,随着温度的升高,  $D_{420\text{ nm}}$  形成的速度加快,110℃时的  $k$  值是100℃时的1.51倍,120℃时的  $k$  值是100℃时的2.67倍,130、140℃时的  $k$  值分别为100℃时的2.79、4.17倍。由此可以看出,温度对该体系下美拉德反应  $D_{420\text{ nm}}$  的形成影响较大,根据阿伦尼乌斯公式,反应速率不仅与温度有关,还与反应的活化能有关。Buera 等对多种糖(果糖、木糖、葡萄糖、乳糖等)的研究发现,反应色泽形成符合零级动力学,糖的种类不同,活化能略有差异,范围在25~48 kJ/mol 之间<sup>[6]</sup>。进一步通过反应速率  $\ln k$  与温度  $1/T$  线性回归作图,如图2所示,可得方程  $y=-5\,390.4x+8.444\,3$  ( $r^2=0.958\,5$ ),并由此计算可得本体系中  $D_{420\text{ nm}}$  的活化能为44.82 kJ/mol。

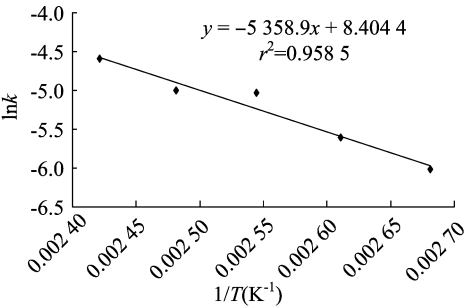


图2  $D_{420\text{ nm}}$  褐变程度的活化能拟合

2.2 美拉德反应中  $L^*$  的变化

颜色变化可以用不同的色泽指标来衡量,色度空间  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  值可以直观反映美拉德反应过程中色泽的三维变化,将色差值与褐变指数结合起来分析能从不同角度更方便全面地表达可见的色泽变化。PXC 体系中亮度  $L^*$  值随温度变化结果如图3所示,  $L^*$  值表示样品的明暗程度,  $L^*$  值降低表明颜色变暗<sup>[7]</sup>。可以看出,随着温度的升高、时间的延长,  $L^*$  呈

明显下降趋势,且温度越高,降低幅度越大。经拟合,PXC 体系中  $L^*$  值随温度的变化符合零级反应,显著性水平均为极显著( $P<0.001$ ),详细拟合参数如表2所示。色泽形成的动力学规律与文献报道有差异,反应级数也与文献报道不完全吻合,这是由美拉德反应的复杂性所决定的。美拉德反应产生的最终色泽受反应体系自身组成及温度、pH 值、水分活度等多个因素的影响而发生复杂变化,如 Keller 等研究发现,在葡萄糖-甘氨酸体系中色泽的形成符合一级动力学模式<sup>[7]</sup>; van Boekel 却发现,只有 pH 值发生极小改变时色泽形成却符合二级动力学模式<sup>[8]</sup>; Morales 发现,酪蛋白-葡萄糖体系中的色泽形成受温度影响极大,符合零级反应<sup>[9]</sup>。

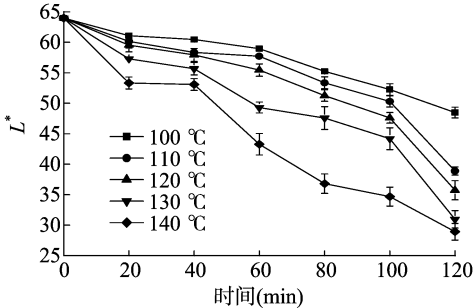


图3 温度对  $L^*$  的影响

通过反应速率  $\ln k$  与温度  $1/T$  线性回归,所得直线满足  $y=-3\,022.3x+6.060\,1$ ,且具有较高的  $r^2$  (0.965 3),如图4所示。根据阿伦尼乌斯公式计算,其活化能为25.11 kJ/mol,  $L^*$  的活化能值低,表明反应中  $L^*$  的变化受温度影响大。

2.3 美拉德反应中  $\Delta E$  的变化

总色差  $\Delta E$  随温度变化情况如图5所示,在各温度下,  $\Delta E$  随着时间的延长呈增大趋势;但随着温度的升高,  $\Delta E$  的变化

表 2  $L^*$  的动力学方程回归系数及显著性检验

$T(^{\circ}\text{C})$	常数项	斜率 $k$	$r^2$	$k$ 值的 95% 下限	$k$ 值的 95% 上限	$P > F(\times 10^{-4})$
100	64.638 21	0.123 93	0.959 81	-0.153 09	-0.094 78	1.12
110	65.389 94	0.178 56	0.871 9	-0.257 24	-0.099 88	20.90
120	65.414 17	0.205 77	0.905 81	-0.282 05	-0.129 49	9.57
130	64.139 64	0.238 07	0.929 71	-0.313 32	-0.162 81	4.56
140	61.869 41	0.283 60	0.967 76	-0.342 82	-0.223 90	6.41

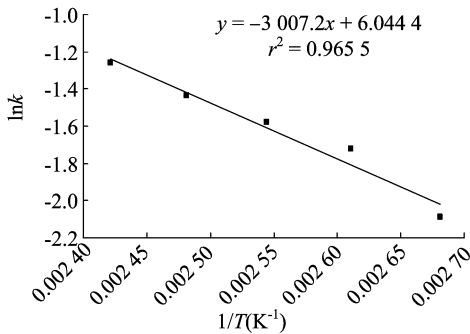


图 4  $L^*$  的活化能拟合图

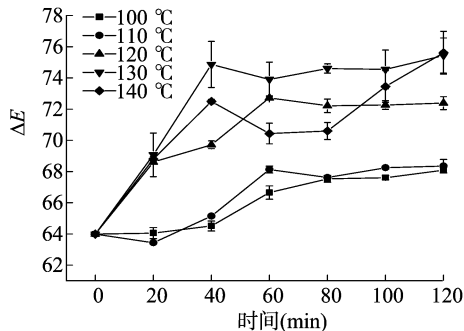


图 5 温度对  $\Delta E$  的影响

趋势较复杂,而且从散点图上可以发现,在 130、140  $^{\circ}\text{C}$  高温下, $\Delta E$  数值偏差较大,增大规律也不十分明显。这可能是因为  $\Delta E$  是综合亮度、红绿、黄蓝值体现在整个色度空间的色泽,具有色泽的空间性,因而呈现出比较复杂的变化情况。

$\Delta E$  值随温度变化趋势比较复杂<sup>[10-11]</sup>,Buera 等研究了葡萄糖和二甘肽、三甘肽体系中的色泽动力学形成,结果表明,色泽的形成成为混合级数型,表现出 2 种速率常数<sup>[6]</sup>。在本体系中通过非线性拟合,得到 1 条显著性极高的拟合曲线(达  $10^{-9}$  级),详细参数如表 3 所示,该曲线为复合指数式方程  $y = \exp[a + b/(x + c)]$ ,方程  $r^2$  较高,这表明所得模型可以较好地反映美拉德反应过程中总色差的变化,可以根据实际情况对美拉德反应的色泽进行监控。

表 3  $\Delta E$  的动力学方程回归系数及显著性检验

$T(^{\circ}\text{C})$	$a$	$b$	$c$	$r^2$	$P > F(\times 10^{-9})$
100	4.591 41	-264.703 0	602.284 3	0.868 15	7.26
110	4.359 51	-39.110 6	185.151 1	0.753 85	49.20
120	4.312 72	-3.636 1	23.515 9	0.940 66	10.90
130	4.355 36	-4.479 5	22.537 4	0.953 38	17.80
140	4.411 37	-21.624 1	89.066 8	0.838 51	138.00

3 结论

对大豆肽-木糖-半胱氨酸美拉德反应体系的色泽变化进行回归分析,结果表明,色泽参数  $D_{420\text{ nm}}$ 、 $L^*$  均符合零级反应动力学,回归方程具有较高的  $r^2$ ,在 0.86~0.97 之间,说明方程拟合良好。色泽参数  $\Delta E$  经非线性拟合,模型符合指数方程。分析色泽变化的动力学关系,可用于该体系中给定温度和时间下色泽的追踪、预测及优化控制,从而为研究抑制美拉德色泽的形成与控制提供理论依据。

参考文献:

[1] Reyes F G R, Poocharoen B, Wrolstad R E. Maillard browning reaction of sugar-glycine model systems: changes in sugar concentration, colour and appearance[J]. Journal of Food Science, 1982, 47(4): 1376-1377.

[2] Franzen K, Singh R K, Okos M R. Kinetics of nonenzymatic browning in dried skim milk[J]. Journal of Food Engineering, 1990, 11(3): 225-239.

[3] 黄梅桂,汪 剑,张晓鸣,等. 芦丁对大豆肽美拉德反应色香味的影响[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(12): 31-36.

[4] Özoğlu H, Bayrırdırlı A. Inhibition of enzymic browning in cloudy apple juice with selected antibrowning agents[J]. Food Control, 2002, 13(4/5): 213-221.

[5] Pauletti M S, Rozycki S, Matta E J. Kinetics of heat-induced browning in concentrated milk with sucrose as affected by pH and temperature[J]. Food Science and Technology International, 1999, 5(5): 407-413.

[6] Buera P, Chirife J, Resnik S L, et al. Nonenzymatic browning in liquid model systems of high water activity: Kinetics of color changes due to reaction between glucose and glycine peptides[J]. Journal of Food Science, 1987, 52(4): 1068-1070.

[7] Keller C, Wedzicha B L, Leong L P, et al. Effect of glyceraldehyde on the kinetics of Maillard browning and inhibition by sulphite species[J]. Food Chemistry, 1999, 66(4): 495-501.

[8] Van Boekel M A. Kinetic aspects of the Maillard reaction: a critical review[J]. Die Nahrung, 2001, 45(3): 150-159.

[9] Morales F J, van Boekel M. A study on advanced Maillard reaction in heated casein/sugar solutions: Fluorescence accumulation[J]. International Dairy Journal, 1997, 7(11): 675-683.

[10] Nourian F, Ramaswamy H S, Kushalappa A C. Kinetic changes in cooking quality of potatoes stored at different temperatures[J]. Journal of Food Engineering, 2003, 60(3): 257-266.

[11] Ibarz A, Pagan J, Garza S. Kinetic models for colour changes in pear puree during heating at relatively high temperatures[J]. Journal of Food Engineering, 1999, 39(4): 415-422.