

干热条件下大豆分离蛋白—木糖 美拉德反应研究

徐真真, 黄国清, 肖军霞

(青岛农业大学 食品科学与工程学院, 山东 青岛 266109)

摘要:采用干热条件处理大豆分离蛋白(SPI)和木糖,使两者发生美拉德反应,研究反应温度、混合比例、相对湿度及反应时间对美拉德反应的影响,同时检测美拉德反应产物的热性能和流变学性质。结果表明,在干热条件下SPI与木糖极易发生美拉德反应,且最适条件为反应温度80℃、SPI:木糖混合比例4:1、相对湿度26.10%、反应时间5h,在此条件下所得产物在290nm处有最大吸光值。示差扫描量热法表明美拉德反应产生了易分解的中间产物,流变学研究则表明SPI和木糖通过美拉德反应形成了大分子产物,使得产物溶液的弹性特征明显增强、粘度明显增加。综上所述,干热条件下的美拉德反应在SPI改性中具有较大的应用潜力。

关键词:大豆分离蛋白;木糖;干热法;美拉德反应

中图分类号:TS 202.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2015)02-0026-05

Study on the Maillard reaction between SPI and xylose in the dry state

XU Zhen-zhen, HUANG Guo-qing, XIAO Jun-xia

(College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao Shandong 266109)

Abstract:The SPI and xylose were treated in dry heat condition, and the Maillard reaction was taken place between SPI and xylose. The effects of temperature, mixing ratio, relative humidity and reaction duration on the reaction were investigated. Meanwhile, the thermal performance and rheological property of the resultant Maillard reaction product were detected as well. The results indicated that the Maillard reaction occurred readily between SPI and xylose and the optimum condition was temperature 80℃, SPI to xylose ratio 4:1, relative humidity 26.10% and reaction duration 5 h. The Maillard reaction product yielded under such condition possessed the highest absorbance at 290 nm. DSC analysis revealed that labile intermediates were produced during the reaction and rheological measurements indicated that enhanced elastic properties and increased viscosity, implying the formation of high-molecular weight products. It was concluded that the Maillard reaction in dry state has great potential in the modification of SPI.

Key words:soybean protein isolate(SPI); xylose; dry heating method; Maillard reaction

大豆分离蛋白(soybean protein isolate, SPI)是以低温脱溶大豆粕为原料生产的食品添加剂,其蛋白质含量高达90%以上^[1],且消化率极高,可达到93%~97%^[2]。由于SPI营养丰富,而且具有一定的功能活性,因此在食品领域具有非常广泛的应用。但SPI的溶解性、乳化性等功能性质较差,这在一定程度上限制了其应用。因此,国内外对SPI的改性

方面进行了大量的研究。目前SPI的改性方法主要有物理改性、化学改性与酶法改性。物理改性方法主要包括高静压^[3-4]、热处理^[5]等,这些方法能有效提高SPI的凝胶性、乳化性等功能性质,但物理改性存在成本高、能耗大等缺点。常用的化学改性方法主要有酰化^[6-7]、磷酸化^[8-9]等方法,其中酰化反应法因条件温和、改性产品营养价值较高而得到广泛认可^[10],但由于化学试剂的残留等问题在一定程度上限制了改性产品的安全性与实际应用。酶法改性^[11-12]相对化学改性具有反应

收稿日期:2014-09-05

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31101319);青岛农业大学校高层次人才启动基金(631415)

作者简介:徐真真,1992年出生,女,硕士研究生。

通讯作者:肖军霞,1977年出生,女,教授,博士。

过程温和、很少或无副产物生成、最终产品的功能性质可以通过控制反应条件加以控制、水解物可直接为消化不良者提供营养等优点,但水解产物有一定的苦味或豆腥味^[13],这影响了其最终的感官质量。

糖基化能有效改善 SPI 的功能性质,美拉德反应是实现蛋白质糖基化的一种重要途径^[14]。美拉德反应不需要化学试剂仅加热就可使反应进行,极大地避免了产物的毒性残留风险,且改性后 SPI 功能性质有很大的提高,是目前 SPI 改性中较为理想的一种方法。关于美拉德反应在 SPI 改性中的应用,目前报道的方法主要有两种:一种是湿热法,即 SPI 与还原糖在溶液状态下进行反应;另一种是半湿热法,即将 SPI 与还原糖在溶液中充分混合后冻干成固体,再在一定温度和湿度下使两者发生美拉德反应^[15-18]。但是这两种方法工艺较为繁琐,设备投资较高,能源消耗较大,这在很大程度上限制了美拉德反应在 SPI 改性中的实际应用。

为了克服湿热法和半湿热法存在的问题,本文探索了干热状态下 SPI 与还原糖发生美拉德反应的可能性。木糖是广泛用于蛋白质糖基化改性的一种单糖,因此本文以木糖为模式多糖,将其与 SPI 粉末直接混合,然后研究各种反应条件对两者美拉德反应的影响,并对所得产物的部分性质进行表征。与已报导的方法相比,干热法具有工艺简单、成本低及能耗小等优点,因此可为推动美拉德反应在 SPI 改性中的实际应用提供理论参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

大豆分离蛋白:青岛天新食品添加剂有限公司;D-木糖(分析纯):天津市化学试剂公司分公司;氯化钠(分析纯):天津市广成化学试剂有限公司;氢氧化钠(分析纯)、盐酸(分析纯):莱阳市康德化工有限公司;氯化镁(分析纯):天津市致远化学试剂有限公司;无水氯化锂(分析纯):天津市瑞金特化学品有限公司;溴化钠(分析纯):天津市巴斯夫化工有限公司。

康威氏皿:北京朋利驰科技有限公司;分析天平、DSC822 差示扫描热量仪、Delta320 pH 计:Mettler Toledo 仪器公司;302 型电热鼓风干燥箱:中国龙口市先科仪器公司;UV-2000 紫外分光光度计:上海尤尼科仪器有限公司;KONICA MINOLTA 色彩色

差计:柯尼卡美能达投资有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 美拉德反应的检测

美拉德反应中间产物在 290 nm 波长下具有特征性吸收。Shao^[19] 等人发现糖基化的 SPI 在酸性条件下溶解性较好,因此将 SPI-木糖美拉德反应产物溶解于 0.25% (w/v) 的乙酸溶液中,利用分光光度计于 290 nm 处测定吸光度值。

研究中发现,美拉德反应程度过高会形成不溶性产物,此时用比色法就不能准确地反应美拉德反应的进程。根据 Kato^[20] 等人的研究,美拉德反应末期主要生成类黑精。色差代表不同样品之间颜色的差异,常用 L、a、b 值来表示,L 值表示颜色的黑白值、a 值表示颜色的绿红值、b 值表示颜色的蓝黄值,类黑精主要表现为黑白差异,所以本文同时通过测定产物 L 值的差异来反应美拉德反应的进程。称取不少于 3.00 g 的美拉德反应产物置于 4 cm × 4 cm 的真空袋内,用色彩色差仪测定样品的 L 值。

1.2.2 美拉德反应条件的优化

1.2.2.1 温度对 SPI 与木糖美拉德反应的影响

称量 5 份 SPI,以 SPI:木糖为 2:1 的重量比加入木糖,于研钵内充分研磨并混合均匀后置于康威氏皿内室中,外室中添加饱和 NaCl 溶液,分别放入 40、50、60、70、80 °C 干燥箱中(此时相对湿度分别为 74.7% ± 0.7%、74.5% ± 0.9%、74.4% ± 0.9%、74.1% ± 0.9%、73.9% ± 0.9%^[21],差别不大,故视为相对湿度不变),反应 4 h。按 1.2.1 方法检测美拉德反应发生的程度。

1.2.2.2 混合比例对 SPI 与木糖美拉德反应的影响

称量 5 份 SPI,分别以 SPI:木糖质量比为 4:1、3:1、2:1、1:1、1:2 的比例加入木糖,于研钵内充分研磨后置于康威氏皿中,放入 80 °C 干燥箱以饱和 NaCl 溶液提供 73.90% 的相对湿度反应 4 h。按 1.2.1 方法检测美拉德反应发生的程度。

1.2.2.3 相对湿度对 SPI 与木糖美拉德反应的影响

称量 4 份 SPI,以 4:1 的比例添加木糖,于研钵内充分研磨后置于康威氏皿中,放入 80 °C 干燥箱中,分别以饱和 LiCl、MgCl₂、NaBr、NaCl 溶液提供对应 10.5% ± 0.5%、26.1% ± 0.4%、51.4% ± 1.5%、73.9% ± 0.9% 的相对湿度,反应 4 h。按 1.2.1 方法检测美拉德反应发生的程度。

1.2.2.4 反应时间对 SPI 与木糖美拉德反应的影响

称量 5 份 SPI,以 4:1 的比例添加木糖,于研钵内充分研磨后置于康威氏皿中,放入 80 °C 干燥箱以饱和 MgCl₂ 溶液提供 26.1%±0.4% 的相对湿度条件下分别反应 2、3、4、5、6 h。按 1.2.1 方法检测美拉德反应发生的程度。

1.2.3 SPI - 木糖美拉德反应产物的表征

1.2.3.1 SPI - 木糖美拉德反应产物的热性能

测定最佳条件下反应物的热性能,同时将未经处理的 SPI 与木糖按相同的比例进行混合,以所得混合物作为对照。示差扫描量热法(DSC)的分析条件为:温度从 30 °C 升至 300 °C,升温速率为 5 °C/min,保护气为氮气。

1.2.3.2 SPI - 木糖美拉德反应产物的流变学性质

将所得美拉德反应产物溶解于 0.25% (W/V) 的乙酸溶液中,测定其流变学特性。

在触变测定中,用阶变剪切速率测试来测定 SPI - 木糖美拉德反应产物及两者按相同比例混合得到的简单混合物的触变性,分为两个区间进行测量,即上升测量区间:0.3 ~ 200 s⁻¹;下降测量区间:200 ~ 0.3 s⁻¹。

频率扫描测定:频率扫描范围在 0 ~ 50 Hz 之间,测定 SPI 和木糖的美拉德反应产物及两者按相同比例混合所得的简单混合物的储能模量(G')和损失模量(G'')随频率变化的关系。

1.2.4 数据分析

每种样品每次均测定 3 个平行,结果以平均值 ± 标准偏差表示,采用 SPSS17.0 (美国 SPSS 公司) 进行统计分析。组间差异显著性分析采用方差分析 (Analysis of Variance, ANOVA) 中的 Tukey HSD 进行, P < 0.05 时认为差异显著。

2 结果与分析

2.1 美拉德反应条件的优化

2.1.1 温度对 SPI 与木糖美拉德反应的影响

温度对 SPI 与木糖美拉德反应的影响见图 1。由图 1 可知,温度对美拉德反应具有重要影响。当温度从 40 °C 升高至 50 °C 时,美拉德反应产物在 290 nm 下吸光值随温度的增大而降低,但是当温度进一步从 50 °C 增至 80 °C 时,290 nm 下吸光值随温度的增大而增大;L 值随温度的升高持续降低,表明 SPI - 木糖美拉德反应产物的颜色持续加深。40 °C 时吸光值较其他温度大的原因是温度过

低导致美拉德反应发生不明显,在溶液 pH 为 4 时接近 SPI 等电点,其溶解性较差,溶液中的悬浮物使得吸光度值过大。由此可知,随着反应温度的升高,美拉德反应逐渐强烈,这与吴惠玲^[22] 等人的研究中结果一致。因此,在后续的实验反应均在 80 °C 下进行。

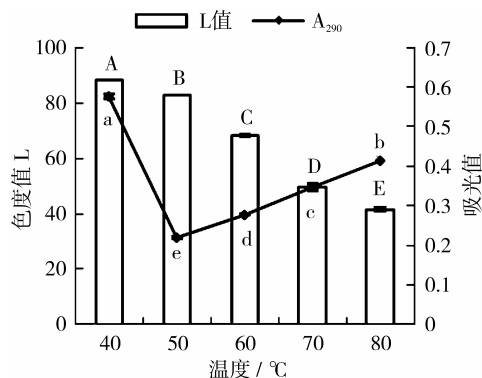


图 1 温度对 SPI - 木糖美拉德反应的影响

注:同一系列数据中不含相同字母表示差异显著 (P < 0.05), 其中大写字母代表色度值 L,小写字母代表吸光值,下同。

2.1.2 混合比例对 SPI 与木糖美拉德反应的影响

混合比例对 SPI 与木糖美拉德反应的影响见图 2。从图 2 可以看出,当 SPI 与木糖的比例为 4:1 时吸光值最大;当两者比例降至 3:1 时,吸光值降至最低值;当该比例进一步降至 1:1 时,吸光值又开始随之增加,但是当两者比例达到 1:2 时,吸光值又显著降低。从 L 值的变化可以看出,当 SPI 与木糖的比例为 3:1 和 2:1 时两者美拉德反应的程度最强,这与吸光值的测定结果不一致。考虑到不同比例下 L 值的变化不如吸光值变化明显,在此以吸光值为标准,选择 4:1 为最佳的 SPI: 木糖比例。

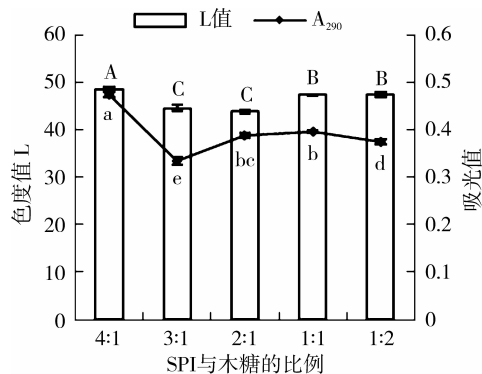


图 2 混合比例对 SPI - 木糖美拉德反应的影响

2.1.3 相对湿度对 SPI 与木糖美拉德反应的影响

相对湿度对 SPI 与木糖美拉德反应的影响见图 3。由图 3 可知,相对湿度对 SPI - 木糖之间的美拉

德反应有重要影响,在相对湿度为 26.10% 时 290 nm 下的吸光值和 L 值均最大,这表明相对湿度过高或过低均不利于美拉德反应的发生。后续研究在相对湿度为 26.10% 的条件下进行。

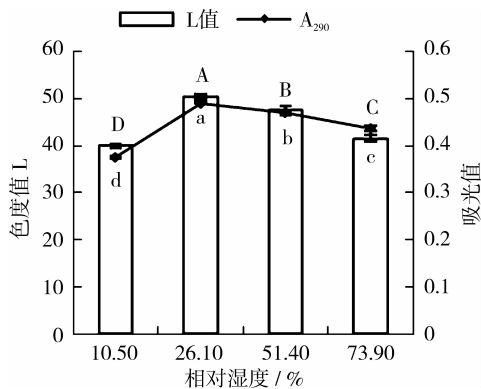


图3 相对湿度对 SPI-木糖美拉德反应的影响

2.1.4 反应时间对 SPI 与木糖美拉德反应的影响

反应时间对 SPI 与木糖美拉德反应的影响见图4。由图4可知,随着反应时间的延长,290 nm 下吸光值逐渐增大,当反应时间为 5 h 时,吸光度值达到最大值,此后随着时间的推移,吸光度值下降,L 值则随着时间的延长一直减小,说明 SPI-木糖颜色持续加深,这与 Shao^[19]的研究结果类似。这表明,随着反应时间的延长,美拉德反应的程度逐渐加深;但是当反应时间达到 6 h 时,美拉德反应进入了最终阶段,此时虽然产物的颜色继续加深,但是在 290 nm 下有吸收的中间产物的数量开始降低,类黑精逐渐累积,使得 290 nm 处的吸光值反而开始下降。由于利用美拉德反应对蛋白质进行改性时一般需要使反应停留在中间阶段,因此确定 SPI-木糖的最佳反应时间为 5 h。

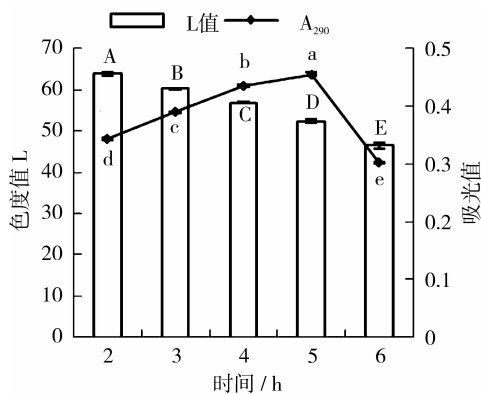


图4 反应时间对 SPI-木糖美拉德反应的影响

综上所述,SPI-木糖美拉德反应的最适条件为温度 80 °C、SPI:木糖=4:1、相对湿度为 26.10%、反应时间 5 h。

2.2 SPI-木糖美拉德反应产物的表征

2.2.1 热性能

SPI-木糖美拉德反应产物及对照的热行为见图5。由图5可知,未经处理的SPI和木糖的简单混合物在 90 °C 附近均出现了一个吸热峰,这是由于混合物中水分蒸发,导致出现了吸热峰;最适条件下得到的美拉德反应产物出现吸收峰的温度比未处理混合物略低,这可能是由于美拉德反应使 SPI 的结构发生了一定的变化,从而使其持水能力有所降低;SPI和木糖的美拉德反应产物及两者的简单混合物均在 150 °C 附近出现了一个放热峰,但是 SPI和木糖的美拉德反应产物在 180 °C 左右还出现了一个明显的新的放热峰,这表明 SPI和木糖通过美拉德反应生成了易分解的中间产物。

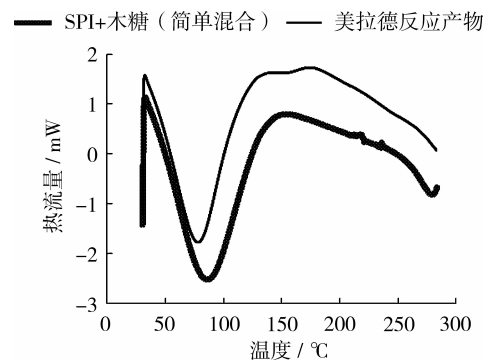


图5 SPI-木糖美拉德反应物的热性质

2.2.2 流变学性质

SPI-木糖美拉德反应产物及对照的流变学性质见图6和图7。由图6可知,SPI-木糖美拉德反

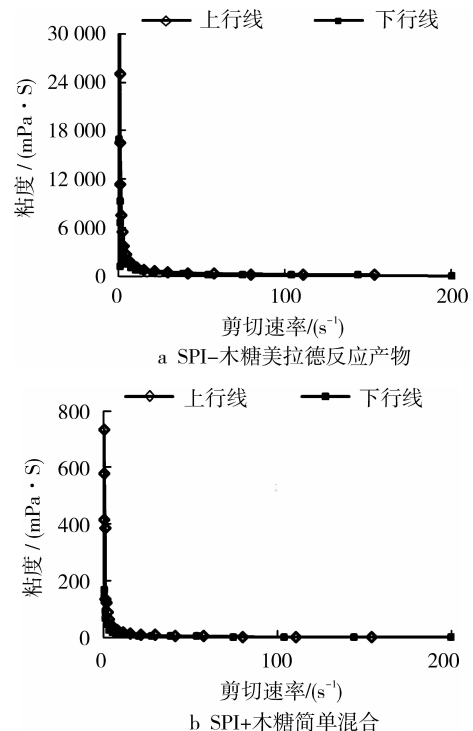


图6 SPI-木糖美拉德反应物的动态粘度曲线

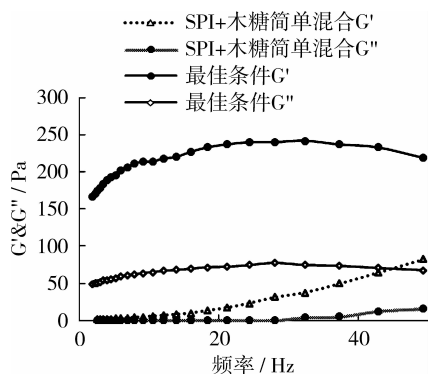


图7 SPI-木糖美拉德反应物的频率扫描曲线

应产物的初始粘度远远高于两者的简单混合物,表明美拉德反应引发了大分子物质的形成,从而使得粘度剧烈增加。由图7可知,SPI-木糖美拉德反应产物在溶液中的储能模量(G')及损失模量(G'')均大于SPI和木糖简单混合物的模量值,表明SPI和木糖通过美拉德反应生成了结构更加复杂的分子。这表明,SPI与木糖的美拉德反应可明显改变产物的粘弹性。

3 结论

本文采用干热法处理SPI与木糖,研究了反应温度、混合比例、相对湿度及反应时间对SPI-木糖美拉德反应的影响,同时检测了美拉德反应产物的热性能和流变学性质。结果表明,在干热条件下SPI与木糖极易发生美拉德反应,且两者发生反应的最适条件为:反应温度 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、SPI:木糖的混合比例4:1(W/W)、相对湿度26.10%、反应时间5 h。在此条件下所得美拉德反应产物在290 nm处有最大光吸收。美拉德反应产生了加热易分解的中间产物,且美拉德反应产物在溶液中的弹性特征更加明显,且粘度显著增加,表明美拉德反应改变了SPI的部分性质。本文对于推动美拉德反应在SPI改性中的实际应用具有重要参考价值。

参考文献:

[1] 赵光明,蔡淑萍.改善大豆分离蛋白功能性质的方法[J].食品科技,2001(5):21-22,31.
 [2] 董怀海.大豆分离蛋白的提取及其改性方法[J].西部粮油科技,2001,26(1):34-35.
 [3] 张宏康,李里特,辰巳英三.超高压对大豆分离蛋白凝胶的影响[J].中国农业大学学报,2001,6(2):87-91.
 [4] 张少兰,曾庆孝.高静压对大豆分离蛋白变性作用的研究[J].食品研究与开发,2003,24(4):6-9.
 [5] 陶红,梁岐,张鸣镝.热处理对大豆蛋白水解度的影响[J].中国

油脂,2003,28(9):61-63.

[6] 赵国华,熊正俊.酰化对大豆蛋白结构和功能性质影响[J].粮食与油脂,2001(9):5-7.
 [7] 姚玉静,杨晓泉.乙酰化大豆分离蛋白的功能特性研究[J].中国调味品,2001(9):16-19.
 [8] 卢寅泉,陈彤华,陈连就.磷酸化大豆功能性的研究[J].食品与发酵工业,1993(1):17-24.
 [9] 田少君,李小阳,曾艳菊,等.大豆分离蛋白的磷酸化改性[J].中国粮油学报,2003,18(2):46-49.
 [10] 陈伟斌.大豆分离蛋白的功能性和改性研究进展[J].粮食加工,2006,31(4):67-71.
 [11] Chee G; Lai C; Azhar E. Physicochemical properties and microstructures of soy protein isolate gels produced using combined cross-linking treatments of microbial transglutaminase and Maillard cross-linking[J]. Food research international, 2008, 41(6):600-605.
 [12] Achouri A; Zhang W; Shiyong X. Enzymatic hydrolysis of soy protein isolate and effect of succinylation on the functional properties of resulting protein hydrolysates[J]. Food research international, 1998, 31(9):617-623.
 [13] 肖凯军,高孔荣,曾庆孝.木瓜蛋白酶水解大豆分离蛋白的研究[J].食品科学,1995,16(9):3-7.
 [14] 宋春丽,赵新准.食品蛋白质的糖基化反应:美拉德反应或转谷酰胺酶途径[J].食品科学,2013,34(9):369-374.
 [15] Chevalier F, Hobert J, Popineau Y, et al. Improvement of functional properties of β -lactoglobulin glycosylated through the Maillard reaction is related to the nature of the sugar[J]. International Dairy Journal, 2001,11(3):145-152.
 [16] Brands C, Van Boekel M. Kinetic modeling of reactions in heated disaccharide-casein systems[J]. Food Chemistry, 2003, 83(1):13-26.
 [17] Jing H, Kitts D. Chemical and biochemical properties of casein-sugar Maillard reaction products[J]. Food and Chemical Toxicology, 2002, 40(7):1007-1015.
 [18] Diftis N, Kiosseoglou V. Improvement of emulsifying properties of soybean protein isolate by conjugation with carboxymethyl cellulose[J]. Food Chemistry, 2003, 81(1):1-6.
 [19] Shao J T, Jie C, Small D M. Enhancement of solubility and emulsifying properties of soy protein isolates by glucose conjugation[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2011, 35(1):80-95.
 [20] Kato Y, Matsuda T, Kato N, et al. Browning and protein polymerization induced by amino carbonyl reaction of ovalbumin with glucose and lactose[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1988, 36(4):806-809.
 [21] OMIL R121-2000,国际建议[S].
 [22] 吴惠玲,王志强,韩春,等.影响美拉德反应的几种因素研究[J].现代食品科技,2010,26(5):440,441-444. 