

麦胚蛋白水解物美拉德反应工艺优化及产物挥发性风味物质分析

陈金明¹, 杨盛茹^{2*}, 张秋双³, 闫东旭², 黄继红⁴, 侯银臣², 亲雨立²

(1. 广州联丰香料科技有限公司, 广州 510663; 2. 河南牧业经济学院食品与生物工程学院, 郑州 450046; 3. 河南省兽药饲料监察所, 郑州 450001; 4. 河南工业大学粮油食品学院, 郑州 450001)

摘要: **目的** 优化麦胚蛋白水解物(wheat germ protein hydrolysate, WGH)美拉德反应(Maillard reaction, MR)工艺条件, 并对美拉德反应产物(Maillard reaction products, MRPs)挥发性风味物质进行分析。**方法** 以麦胚蛋白为原料, 经超声协同酶解得到麦胚蛋白水解物 WGH, 在此基础上以 MRPs 感官评分为指标, 对 WGH 与葡萄糖的最佳 MR 工艺条件进行优化。然后采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法(headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS)分析 MRPs 的挥发性风味物质成分, 最后通过紫外和红外光谱对其产物结构进行初步表征。**结果** MR 最佳反应条件为: 反应温度 100.6°C、反应液初始 pH 8.80、时间 79.1 min, 在该工艺条件下, 所得产物感官评价为 85.52±0.89; GC-MS 分析表明: 在麦胚蛋白最佳水解工艺条件下, MRPs 共检出 23 种的挥发性风味成分, 包括醇、酯、酮、醛、呋喃、吡嗪、含硫化合物等 8 大类, 其中吡嗪类化合物相对百分含量最高达 39.484%; 紫外和红外光谱分析表明: MRPs 的结构和种类相对于 MR 前发生了变化且产物复杂。**结论** 麦胚蛋白水解物与葡萄糖通过美拉德反应形成的 MRPs 含有挥发性风味物质, 可为麦胚蛋白水解物作为风味增强剂增强食品风味提供理论参考。

关键词: 麦胚蛋白水解物; 美拉德反应; 响应面; 挥发性风味物质

Maillard reaction process optimization of wheat germ protein hydrolysate and analysis of volatile flavor compounds

CHEN Jin-Ming¹, YANG Sheng-Ru^{2*}, ZHANG Qiu-Shuang³, YAN Dong-Xu², HUANG Ji-Hong⁴, HOU Yin-Chen², QIN Yu-Li²

(1. Guangzhou Levon Flavour and Fragrance Technology Company, Guangzhou 510663, China; 2. College of Food and Bioengineering Engineering, Henan University of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou 450046, China; 3. Henan Province Institute of Veterinary Drug and Feed Control, Zhengzhou 450001, China; 4. School of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the process conditions of Maillard reaction (MR) of wheat germ protein hydrolysate (WGH), and analyze the volatile flavor compounds of Maillard reaction products (MRPs). **Methods** WGH was obtained from wheat germ protein by ultrasounded-assisted enzymatic hydrolysis. On this basis, the

基金项目: 河南省科技攻关项目(212102110313)、河南省重大公益专项(201300110300)、河南省创新示范专项(201111110100)

Fund: Supported by the Science and Technology Research Project of Henan Province (212102110313), the Major Science and Technology Projects for Public Welfare of Henan Province (201300110300), and the Innovation Demonstration Special Project of Henan Province (201111110100)

*通信作者: 杨盛茹, 硕士, 讲师, 主要研究方向为功能性食品加工。E-mail: 81692@hnuah.edu.cn

*Corresponding author: YANG Sheng-Ru, Master, Lecturer, Henan University of Animal Husbandry and Economy, No.6 Long Zi Hu Road, Zhengdong New District, Zhengzhou 450046, China. E-mail: 81692@hnuah.edu.cn

optimal MR process conditions of WGH and glucose was optimized with the sensory evaluation of MRPs as the index. Then, the volatile flavor compounds of MRPs were analyzed by headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS). Finally, the structure of MRPs was characterized by ultraviolet and infrared chromatography. **Results** The optimal reaction conditions of MR were: Reaction temperature of 100.6°C, initial pH of reaction solution of 8.80, and time of 79.1 min. Under these conditions, the sensory evaluation of the product was 85.52±0.89; GC-MS analysis showed that a total of 23 kinds of volatile flavor compounds were detected in MRPs under the optimal hydrolysis conditions of wheat germ protein, containing 8 categories, including alcohol, ester, ketone, aldehyde, furan, pyrazine and sulfur-containing compounds, of which the relative percentage of pyrazine compounds was up to 39.484%; ultraviolet and infrared chromatographic analysis showed that the structures and types of MRPs had changed compared with those before MR, and the products were complex. **Conclusion** MRPs formed by Maillard reaction between wheat germ protein hydrolysate and glucose contain volatile flavor components, which can provide a theoretical reference for wheat germ protein hydrolysate as a flavor enhancer to enhance food flavor.

KEY WORDS: wheat germ protein hydrolysate; Maillard reaction; response surface; volatile flavor compounds

0 引言

小麦是世界上广泛种植的农作物,总产量在世界粮食作物中居第二位^[1]。我国小麦产量位居世界第一,麦胚占整个小麦籽粒的 3%,我国每年产出麦胚高达 1500 万 t^[2]。麦胚是面粉加工副产物,含有极其丰富且优质的蛋白质、脂肪、多种维生素、矿物质及微量生理活性成分^[3-5],麦胚蛋白占麦胚的 30%左右,其蛋白含量仅次于大豆^[6-8]。麦胚蛋白由清蛋白(30.2%)、球蛋白(18.9%)、醇溶蛋白(14.0%)、谷蛋白(0.3%~0.37%)、不溶性蛋白质(30.2%)等组成,富含精氨酸、谷氨酸、甘氨酸和亮氨酸,含有人体所需要的 8 种必需氨基酸,是潜在的植物蛋白资源^[9-10],麦胚蛋白可作为一种功能成分用于改善食品的某些特性如提高食品稳定性、营养价值及延长储藏期等^[11]。

目前,我国麦胚大部分作为饲料使用,利用率低,对麦胚蛋白深加工研究及开发利用相对较少,麦胚资源未得到充分、合理、有效的利用^[12-13]。麦胚蛋白含有许多活性氨基酸序列,在蛋白酶的作用下,某些特定的肽键被水解形成多肽化合物,其具有良好的物理、化学性质和较好的功能特性^[14-16],同时麦胚蛋白可以作为反应前体物参与美拉德(羰氨)反应,为食品带来特有风味^[17]。美拉德反应(Maillard reaction, MR)存在于食品加工行业的各个环节,其本质是羰基化合物与氨基酸类化合物发生加成、缩合、重排、聚合等反应,生成一系列挥发性风味物质及类黑精^[18],如 OGASAWARA 等^[19]通过美拉德(羰氨)反应制备出的大豆肽(1000~5000 Da)具有较好风味增强效果。

目前,对麦胚蛋白的研究多集中在其水解物的抗氧化性^[20-21]、降血糖^[22]、降血压^[23]、免疫调节性^[24-25]等功能活性方面,对其水解物可参与的美拉德(羰氨)反应的研究较少。通过美拉德反应赋予产物独特的香气和色泽,将

使得麦胚蛋白相关产品更符合我国食品添加剂关于“天然、营养、健康”要求和发展趋势。本研究以麦胚为原料提取麦胚蛋白并制备蛋白水解物,以美拉德反应产物(Maillard reaction products, MRPs)感官评分为指标,研究麦胚蛋白水解物(wheat germ protein hydrolysate, WGH)与葡萄糖的最佳美拉德反应条件,分析 MRPs 的挥发性风味物质成分,并对其产物结构进行初步表征,为麦胚蛋白水解物作为风味增强剂增强食品风味提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

脱脂小麦胚芽(蛋白质含量 31.5%,冠县新瑞有限公司);碱性蛋白酶(200 U/mg,上海源叶生物科技有限公司);甲醛(分析纯,洛阳昊华化学试剂有限公司);氢氧化钠、盐酸(分析纯,天津市大茂化学试剂厂);硫酸铜、酒石酸钾钠(分析纯,天津天力化学试剂有限公司);75%乙醇(分析纯,卫辉市众诚消毒制剂有限公司);葡萄糖(分析纯,天津市恒兴化学试剂制造有限公司)。

1.2 仪器与设备

TG16-WS 高速离心机(湖南湘仪实验室仪器有限公司);800Y 多功能粉碎机(永康市铂欧五金制品有限公司);ZNHW 智能恒温电热套(天津工兴实验室仪器有限公司);SOPTOP 电子分析天平(0.001 g,舜宇恒平仪器有限公司);UV-759CRT 紫外分光光度计、FT-IR5500 红外光谱分析仪(上海佑科仪器仪表有限公司);75 μm CAR/PDMS 萃取头、手动 SPME 进样器、15 mL SPME 专用样品采集瓶(美国 Supelco 公司);19091S-433 毛细柱(30 m×250 μm, 0.25 μm)、7890A/5975C 气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司)。

1.3 实验方法

小麦胚蛋白酶解及美拉德反应工艺流程: 脱脂小麦胚芽→粉碎过筛(15 min、过 100 目筛)→调浆(料液比 1:8, g:mL)→调 pH 至 10.00→离心→取上清→酸沉(温度 55°C、pH 4.0、1.5 h)→离心→冷冻干燥→加水酶解(加酶量 13000 U/g、温度 55°C、pH 8.0、2.5 h)→灭酶→冷却→调 pH 至 7.00→离心→取上清→干燥(麦胚蛋白水解物)→麦胚蛋白水解物+葡萄糖+蒸馏水→美拉德反应→冷却→离心→上清(MRPs)。

1.3.1 小麦胚蛋白的提取

参照曾祺等^[26]的方法稍加修改, 将新鲜、品质良好的脱脂小麦胚芽置于粉碎机中, 粉碎化处理 15 min, 经 100 目过筛, 按照料液比 1:8 加入蒸馏水混合搅拌均匀, 采用 4% NaOH 溶液调整 pH 至 10.0, 并于 8000 r/min 离心 15 min。取上清液采用 2% HCl 溶液调整 pH 至 4.0, 酸沉(温度 55°C) 1.5 h, 采用无水乙醇进行醇沉, 8000 r/min 离心 10 min, 冷冻干燥得到麦胚蛋白粗提物。

1.3.2 麦胚蛋白水解物的制备

参照王琪等^[27]的方法稍加修改, 称取一定质量的麦胚蛋白粗提物溶于蒸馏水中, 磁力搅拌 30 min 后, 缓慢加入 1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 8.0, 再加入碱性蛋白酶, 在 55°C 条件下水浴 2.5 h。反应结束后, 混合液体于 95°C 灭酶 15 min, 然后冷却到室温加入 1 mol/L HCl 溶液调 pH 至 7.0, 将得到的水解液 8000 r/min 离心 10 min, 取上清液得麦胚蛋白水解物。

1.3.3 MRPs 的制备

按 1:1 的质量比将小麦蛋白水解物与葡萄糖混合, 用 0.1 mol/L NaOH 或 1 mol/L HCl 溶液调节混合溶液 pH, 然后将混合溶液转移至 250 mL 耐高温圆底烧瓶内, 并借用铁架台将烧瓶安装在电热套上, 同时在圆底烧瓶上部安置冷凝回流管再设置加热温度, 反应至设定时间后取下冷凝管冷却至室温, 将反应产物 8000 r/min 离心 10 min, 取上清液用于感官评价。

1.3.4 MRPs 制备工艺条件优化

(1) 单因素实验

美拉德反应是复杂的化学反应, 与反应物浓度、反应时间、反应温度及 pH 变化等有关。将 MRPs 作为研究对象, 在前期实验基础上, 本研究选择初始 pH 7.00、8.00、9.00、10.00、11.00 5 个水平, 反应温度 80、90、100、110、120°C 5 个水平, 反应时间 60、70、80、90、100 min 5 个水平, 以感官评分为指标, 考察美拉德反应溶液初始 pH、反应温度、反应时间对 MRPs 感官评价的影响, 每组实验重复 3 次。

(2) 响应面实验

在单因素实验的基础上, 以反应溶液初始 pH (A)、反应温度 (B)、反应时间 (C) 为自变量, 以 MRPs 的感官评分为响应值, 根据 Box-Behnken 实验设计原理优化 MRPs 制备

工艺条件, 因素与水平设计如表 1 所示。

表 1 响应面实验因素与水平
Table 1 Response surface test factors and levels

| 因素 | | 水平 | | |
|----------|---|------|------|-------|
| | | -1 | 0 | 1 |
| 初始 pH | A | 8.00 | 9.00 | 10.00 |
| 反应温度/°C | B | 90 | 100 | 110 |
| 反应时间/min | C | 70 | 80 | 90 |

1.3.5 MRPs 的感官评价

参照安攀宇等^[28]的方法略加修改, 对待测样品进行编号, 选 10 名经过严格训练的食品专业本科生(5 男, 5 女)组成评价小组对 MRPs 的气味、色泽、组织状态 3 个方面进行感官评分, 3 者相加即为感官评价总分, 满分 100, 分值越大说明可接受度越高, 具体感官评价标准见表 2。

1.3.6 MRPs 挥发性风味物质分析

参考孙福犁等^[29]的方法并稍加修改, 使用 HS-SPME-GC-MS 进行 MRPs 挥发性风味物质分析。

HS-SPME 条件: 将固相微萃取头在气相色谱进样口以 250°C 老化 30 min。称取 5 g 待测样品放入 SPME 专用样品采集瓶中, 加入 1.5 g 氯化钠和转子, 在恒温水浴锅里 50°C 预热保温 20 min。将老化后的固相微萃取头通过隔垫插入采集瓶中, 推出纤维头, 在 50°C 温度条件下顶空吸附 30 min。随后插入 GC-MS 进样口, 于 250°C 解吸 2 min, 进行数据采集。所有样品重复 3 次。

GC-MS 条件: 气相色谱条件: Agilent 19091S-433 毛细柱(30 m×250 μm, 0.25 μm); 柱流速 0.8 mL/min, 初始柱温 40°C, 保持 2.5 min, 以 5°C/min 升温至 160°C, 保持 2 min, 再以 10°C/min 升温至 230°C, 保持 3 min 后结束; 载气为高纯氦气(纯度>99.999%), 进样口温度 250°C, 恒压 31.1 kPa; 进样模式为不分流模式。质谱条件: 电子轰击(electron impact, EI)电离方式; 离子源温度 230°C, 四极杆温度 150°C; 采集模式为全扫描, 质量扫描范围 50.00~550 u; 溶剂延迟 0.00 min; 电子倍增器电压(electron multiplier voltage, EMV)增益模式, 增益系数 1.00。

定性定量分析: 按上述条件对待测样品进行测定, 通过 NIST 标准质谱库匹配和人工解析, 得到定性结果(取相似度>800 的化合物鉴定结果)。根据峰面积, 采用峰面积归一化法计算各组分的相对百分含量。

1.3.7 MRPs 结构表征

(1) 红外光谱分析

参考颜辉等^[30]的方法并稍加修改。在红外灯照射下将待测样品与溴酸钾混匀压片, 并放入样品检测口。波长扫描范围在 3400~400 cm⁻¹ 之内, 设定检测分辨率 2 cm⁻¹, 扫描次数 16 次。

表 2 MRP 感官评价标准
Table 2 MRPs sensory evaluation criteria

| 评价指标 | 要求 | 评价标准 | 感官评价/分 |
|--------------------|-----------------------------|---------------------------|--------|
| 色泽 (30 分) | 焦糖色, 颜色均匀有光泽 | 呈均匀一致的焦糖色或稍带褐色, 有光泽 | 26~30 |
| | | 色泽有轻度变化, 焦糖色中稍带黄色或深褐色 | 21~25 |
| | | 呈黄色或色泽发暗, 表面不均匀 | 16~20 |
| | | 色泽有明显变化, 呈浅褐色或暗黑色 | 11~15 |
| | | 色泽差呈浅黄色或其他异常颜色 | 0~10 |
| 气味 (40 分) | 具有美拉德反应独特的芳香 味, 无其他任何异味 | 有浓厚醇香的焦糖味, 无任何麦胚的气味 | 36~40 |
| | | 稍带美拉德反应特有的气味, 无异味 | 31~35 |
| | | 反应气味不纯正, 有轻度麦胚味 | 26~30 |
| | | 反应固有的芳香味较差, 有较重的异味 | 21~25 |
| | | 麦胚味浓厚 | 11~20 |
| 组织 状态 (30 分) | 呈均匀的流体, 无沉淀、凝块, 无黏稠和浓厚现象 | 有陈腐味或其他异味 | 0~10 |
| | | 组织细腻, 质地均匀, 黏度适中, 无杂质和悬浮物 | 26~30 |
| | | 呈均匀的流体, 无沉淀, 稍带少量微小颗粒 | 21~25 |
| | | 黏度微高, 稍有沙粒状沉淀物 | 16~20 |
| | | 呈稠而不匀的溶液状, 有结成的致密凝块或絮状物 | 11~15 |
| | | 凝结成软膏状, 稍有固液分离 | 0~10 |

(2) 紫外光谱分析

参照毛丽^[31]的方法对 MRPs 进行紫外光谱分析, 借助缓冲试剂磷酸盐(浓度为 0.01 mol/L、pH 7)将初始样液浓度按相应体积稀释至 1 mg/mL, 设定紫外分光光度计波长扫描范围在 200~800 nm, 光度计扫描出样品的紫外吸收光谱。

1.3.8 数据处理

采用 Excel 2010 作图, Design Expert 8.0 软件进行统计分析, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 MRPs 制备工艺条件研究

2.1.1 单因素实验结果

(1) 反应溶液 pH 对美拉德反应的影响

在反应时间为 80 min, 温度为 100°C 的条件下, 当 pH 从 7.00 至 9.00 时, 感官得分随着 pH 的升高而升高; 当 pH 从 9.00 至 11.00 时, 感官得分随着 pH 的升高而降低。这是因为溶液 pH 对氨基酸解离状态有影响, 在酸性条件下中间产物不活跃, 芳香类物质较少; 而在碱性介质中, 氨基酸呈阴离子态, 反应速度加快, 但随着 pH 逐渐升高, 焦糖化等副产物的生成加快, 引起不良气味进而影响感官^[32-33]。方差分析结果显示, pH 对美拉德反应产物的感官评分影响显著($P < 0.05$), 且在 pH 为 9.00 时感官得分最大,

因此本研究选择反应溶液初始 pH 为 8.00、9.00、10.00 进行响应面优化。

(2) 反应温度对美拉德反应的影响

温度是影响美拉德反应的重要因素, 温度过低会导致反应度不够, 香气不够浓郁, 感官评价差; 温度升高会加速反应, 但过高会产生较强异味, 反而影响感官^[34-35]。在 pH 9.00, 反应时间为 80 min 的条件下, 当反应温度在 80 至 100°C 时, 感官得分随着温度的升高而升高, 当反应温度大于 100°C 时, 感官得分开始下降。方差分析结果显示, 反应温度对美拉德反应产物的感官评分影响显著($P < 0.05$), 且在 100°C 时感官得分最高, 因此本研究选择 90、100、110°C 进行响应面优化。

(3) 反应时间对美拉德反应的影响

反应时间影响美拉德反应的进程, 反应时间过短, 得到的 MRPs 中吡嗪、硫化物等一系列小分子风味物质较少, 反应时间过长, 体系中水分损失使得产物浓度不断增高, 反应得到的焦糖化等副产物增多, 呈现出令人不悦的深褐色及焦苦味^[36], 感官评分明显降低。在 pH 9.00, 温度为 100°C 的条件下, 反应时间在 60 到 80 min, 感官评分随着反应时间延长而逐步增加, 反应时间在 80 到 100 min 之间时, 感官评分迅速下降。方差分析结果显示, 反应时间对美拉德反应产物的感官评分影响显著($P < 0.05$), 且在反应时间 80 min 时感官评分最大, 因此本研究选择 70、80、90 min 进行响应

面优化。

2.1.2 响应面实验结果

在单因素实验基础上,对美拉德反应条件进行优化,响应面实验设计及响应值见表 3 所示,实验数据采用 Design Expert 8.0 软件设计三因素三水平的二次旋转回归响应面,并作方差和显著性分析,结果见表 4。

表 3 响应面实验结果
Table 3 Response surface experiment results

| 编号 | 因素 | | | Y 感官评价 /分 |
|----|---------|------------|-------------|-----------|
| | A 初始 pH | B 反应温度 /°C | C 反应时间 /min | |
| 1 | 1 | 0 | 1 | 76±0.71 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 88±0.69 |
| 3 | -1 | 1 | 0 | 80±1.04 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 89±0.85 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 88±0.74 |
| 6 | -1 | 0 | -1 | 80±0.92 |
| 7 | -1 | -1 | 0 | 74±1.31 |
| 8 | 0 | -1 | -1 | 76±0.86 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 76±1.34 |
| 10 | -1 | 0 | 1 | 78±1.72 |
| 11 | 0 | -1 | 1 | 87±0.85 |
| 12 | 0 | 1 | -1 | 87±0.81 |
| 13 | 1 | 1 | 0 | 75±0.95 |
| 14 | 0 | 0 | 0 | 75±0.93 |
| 15 | 0 | 1 | 1 | 79±0.86 |
| 16 | 1 | -1 | 0 | 75±0.72 |
| 17 | 1 | 0 | -1 | 74±0.88 |

对实验结果进行二次回归分析,计算得到回归方程:

$$Y=87.80-1.87A+1.00B+0.63C-1.25AB+0.50AC+0.75BC-5.90A^2-5.65B^2-5.40C^2$$

由表 4 可以看出该模型 $P<0.01$,说明该回归模型极显著,且失拟项 $P=0.2890>0.05$ 不显著,表征模型有较高拟合度,可以预测 MRPs 感官评价。

方差分析中的显著性检验可以判断自变量对因变量的影响。由表 4 可知,A 对 Y 的影响极显著($P<0.01$),B 对 Y 的影响显著($P<0.05$),而 C 影响不显著($P>0.05$);模型中的交互项 AB 对 Y 的影响显著($P<0.05$),AC 和 BC 对 Y 的影响不显著($P>0.05$);模型中的二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 对 Y 的影响均达极显著水平($P<0.01$)。由此可知,三因素对 MRPs 感官评价的影响力:初始 pH>反应温度>反应时间。

2.1.3 响应面实验的交互因素分析

分别将模型中的一个因素固定在中间水平,得到另外两个因素交互作用对 MRPs 的感官评价的子模型,并根

据模型绘制三维曲面图和等高线图(图 1)。曲面越陡、倾斜度越高说明因素间交互作用对响应值影响越大^[37];当等高线图呈现出椭圆时说明因素交互作用显著影响响应值变化,当其为圆形时说明因素交互作用对响应值变化无显著影响^[38]。相较于其他图,AB 交互作用等高线图呈椭圆形,等高线分布密集,对应的曲面较为陡峭,说明初始 pH 和反应温度之间的交互作用明显,且对响应值的影响较为显著,与表 4 中的数据有着较好的一致性。

表 4 回归模型方差分析
Table 4 Regression model analysis of variance

| 方差来源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F | P | 显著性 |
|-------|--------|-----|--------|--------|---------|-----|
| 模型 | 499.92 | 9 | 55.55 | 59.36 | <0.0001 | ** |
| A | 28.12 | 1 | 28.12 | 30.06 | 0.0009 | ** |
| B | 8.00 | 1 | 8.00 | 8.55 | 0.0222 | * |
| C | 3.12 | 1 | 3.12 | 3.34 | 0.1104 | |
| AB | 6.25 | 1 | 6.25 | 6.68 | 0.0362 | * |
| AC | 1.00 | 1 | 1.00 | 1.07 | 0.3356 | |
| BC | 2.25 | 1 | 2.25 | 2.40 | 0.1649 | |
| A^2 | 146.57 | 1 | 146.57 | 156.64 | <0.0001 | ** |
| B^2 | 134.41 | 1 | 134.41 | 143.64 | <0.0001 | ** |
| C^2 | 122.78 | 1 | 122.78 | 131.21 | <0.0001 | ** |
| 残差 | 6.55 | 7 | 0.94 | | | |
| 失拟项 | 3.75 | 3 | 1.25 | 1.79 | 0.2890 | |
| 纯误差 | 2.80 | 4 | 0.7 | | | |
| 总差 | 506.47 | 16 | | | | |

注:**表示差异极显著($P<0.01$);*表示差异显著($P<0.05$)。

2.1.4 模型的优化及验证实验

通过 Design-Expert 软件对实验进行优化,按照回归模型预测可得到最佳 MR 条件为: pH 8.79、反应温度 100.63°C、反应时间 79.12 min,在此条件下 MRPs 感官评价为 85.49。结合实际操作方便,工艺参数调整为:初始 pH 8.80、反应温度 100.6°C、反应时间 79.1 min,在此条件下,经 3 组平行实验得到 MRPs 感官评分为 85.52±0.89,与预测结果无显著性差异($P<0.05$),说明回归模型可靠。

2.2 MRPs 挥发性风味物质分析

通过 GC-MS 分析 MRPs 挥发性成分组成及其含量,共鉴定出 23 种挥发性风味物质,详见表 5。大致可分为醇类(2.183%)、酯类(3.305%)、酮类(11.894%)、醛类(31.271%)、呋喃类(5.892%)、吡嗪类化合物(39.484%)、含硫化合物(1.719%)及其他物质(*d*-柠檬烯,4.254%)等。美拉德(羰氨)反应产物的产香机制较复杂,其特征风味可能由阈值低的醛、醇、酯、酮等化合物及含氮氧、硫、原子等杂环化合物的共同作用

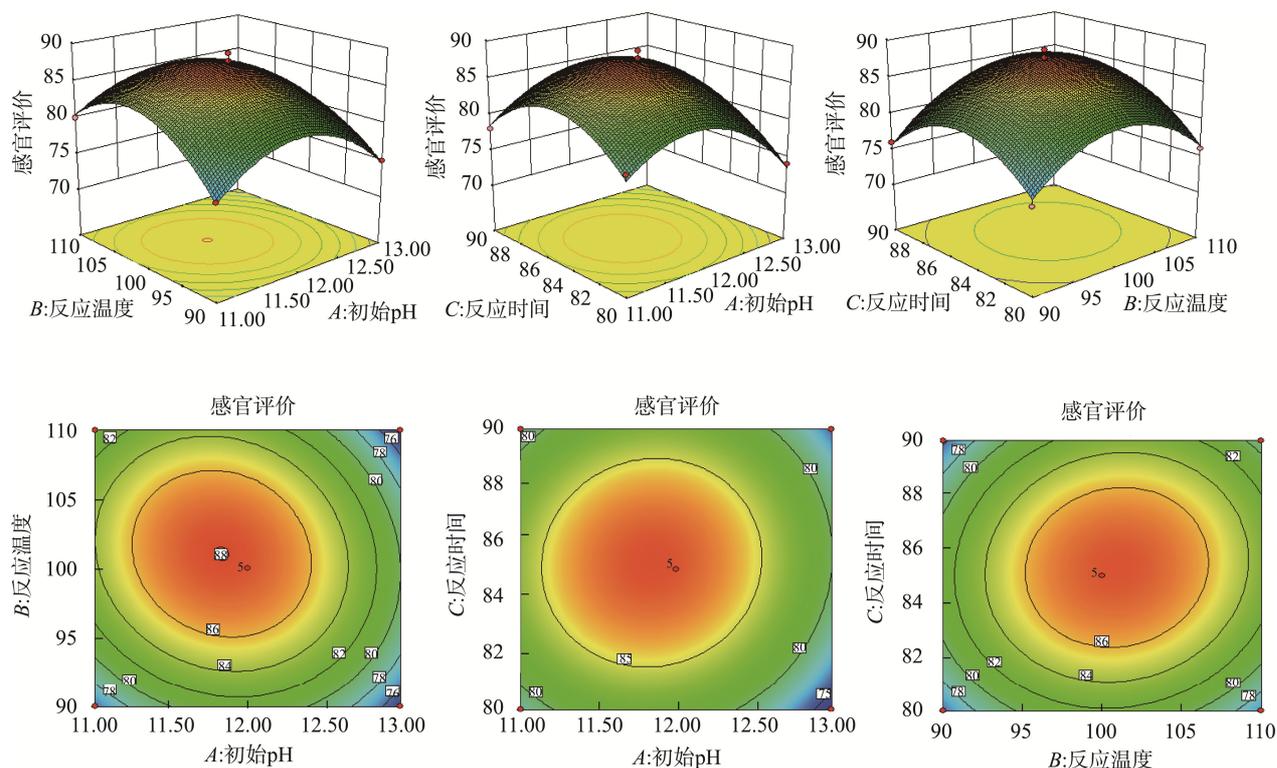


图 1 初始 pH、反应温度和反应时间交互作用对 MRPs 感官评价影响的响应面图和等高线图

Fig.1 Response surface plots and contour plots of the interaction effects between factors of initial pH, reaction temperature and reaction time on sensory evaluations of MRPs

形成。醇类物质, 阈值较高, 对整体风味影响不大; 醛类物质异戊醛(18.327%)作为食用香料已广泛用于食品工业中, 具有水果香等风味, 苯甲醛(4.523%)具有樱桃味, 是工业上常用芳族醛, 己醛(3.762%)、庚醛(1.034%)具有脂肪香气, 稀释后呈玫瑰、橙子香味; 酮类物质阈值高于醛类物质, 有一定的水果香、坚果香; 呋喃类、吡嗪类等杂环化合物阈值较低, 具有浓郁烤肉、坚果等令人愉悦风味。MRPs 中吡嗪类化合物是一大类物质, 具有较强风味、气味, 且酸性环境中羰-氨缩合速率慢难以生成^[39], 与工艺优化结果一致, 形成更佳和谐、整体的风味。

表 5 MRPs 挥发性风味物质组成及其含量
Table 5 Composition and content of volatile components in MRPs

| 化合物 | 相对百分含量/% | 保留时间/min |
|-----|----------|----------|
| 己醛 | 3.762 | 2.195 |
| 庚醛 | 1.034 | 3.625 |
| 苯甲醛 | 4.523 | 4.909 |
| 异戊醛 | 18.327 | 1.330 |
| 壬醛 | 0.866 | 10.123 |
| 糠醛 | 2.759 | 2.948 |

表 5(续)

| 化合物 | 相对百分含量/% | 保留时间/min | |
|-------|-------------------|----------|-------|
| 丙酮 | 1.965 | 1.044 | |
| 二乙酰 | 4.100 | 1.164 | |
| 酮类 | 2,3-戊二酮 | 3.379 | 1.469 |
| | 2-甲基-2-环戊烯酮 | 0.729 | 3.721 |
| | 3-甲基-2-羟基-2-环戊烯酮 | 1.721 | 8.528 |
| 醇类 | 正丙醇 | 2.183 | 1.117 |
| 酯类 | 甲酸乙酯 | 1.595 | 1.066 |
| | 乙酸乙酯 | 1.710 | 1.213 |
| 呋喃类 | 2-甲基呋喃 | 1.534 | 1.201 |
| | 2,5-二甲基呋喃 | 4.358 | 1.544 |
| | 2-乙烷基-3,5-二甲基吡嗪 | 3.211 | 8.336 |
| 吡嗪类 | 2,5-二甲基吡嗪 | 20.871 | 3.794 |
| | 2-甲基吡嗪 | 8.474 | 2.459 |
| | 2-甲基-3-(2-甲基丙基)吡嗪 | 0.819 | 4.551 |
| | 2-乙基-6-甲基吡嗪 | 6.109 | 5.892 |
| 含硫化合物 | 2,4,5-三甲基噻唑 | 1.719 | 5.759 |
| 其他 | <i>d</i> -柠檬烯 | 4.254 | 6.660 |

2.3 MRP 结构表征

2.3.1 红外光谱分析

由图 2 可以看出, 经 MR 反应后肽链结构发生变化, 酰胺 I 带的 N-H 弯曲振动(约 1500 cm^{-1} 处)、C=O 伸缩振动(约 1600 cm^{-1} 处)吸收强度减弱, 这可能是 MR 反应氨基、羰基含量减少, 逐渐聚合形成大分子物质而产生的变化, 但伴随 MR 反应初级产物 Amadori 化合物、吡嗪及薛夫碱形成, MRP 在此处有一定吸收; 酰胺 III 带($1450\sim 1240\text{ cm}^{-1}$)主要来自于 C-N 的伸缩、N-H 的变化^[40]。RHIM 等^[41]研究表明, 酰胺 III 带的变化是由于芳香族结构中 C-H 向平面外弯曲而产生。

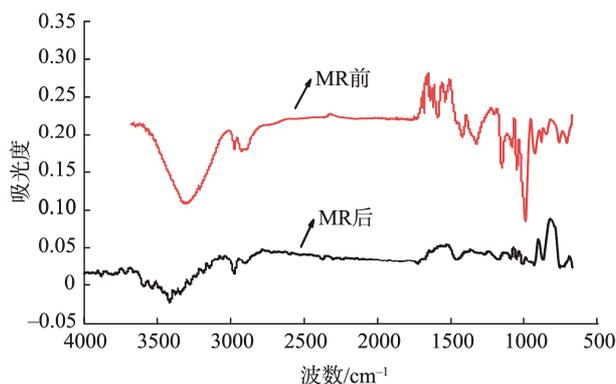


图 2 MR 前与 MR 后红外吸收光谱

Fig.2 Infrared absorption spectra of wheat germ protein hydrolysate before and after MR

2.3.2 MRP 紫外光谱分析

在波长 $200\sim 800\text{ nm}$ 下对 MR 前与 MR 后进行紫外扫描, 结果如图 3 所示。紫外光谱可以描述美拉德反应的特性, 波长 $260\sim 320\text{ nm}$ 下较稳定的吸收峰是类黑精的特征范围^[42]。从图 3 看出, MRP 在 $200\sim 430\text{ nm}$ 波长范围内有吸收峰的出现, 可以判断麦胚蛋白水解物与葡萄糖确实发生了 MR; 在波长 $220、260\text{ nm}$ 附近均有吸收峰出现, 与 YU 等^[43]报道的赖氨酸、精氨酸、蛋氨酸与葡萄糖发生 MR, MRP 吸收峰的波长大约在 265 和 215 nm 处的结果相似。

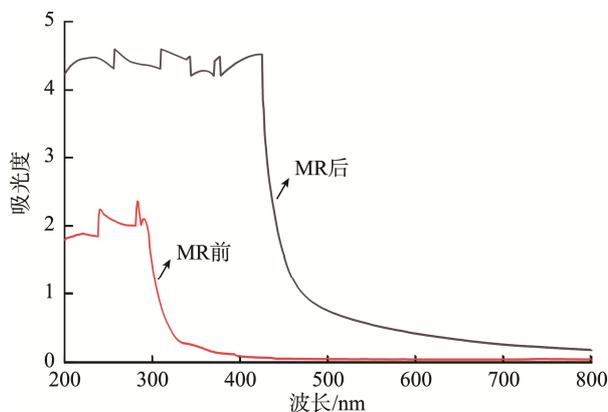


图 3 MR 前与 MR 后紫外可见光谱吸收图

Fig.3 Ultraviolet-visible absorption spectrum of wheat germ protein hydrolysate before and after MR

3 结 论

在单因素实验基础上, 通过响应面实验优化得到麦胚蛋白水解物与葡萄糖的最佳 MR 条件为初始 pH 8.80、反应温度 100.6°C 、反应时间 79.1 min , 在此条件下, 所得产物感官评分为 85.52 ± 0.89 。MRPs 共鉴定出 23 种挥发性气体成分, 大致可分为醇类、酯类、酮类、醛类、呋喃类、吡嗪类、含硫化合物等 8 大类, 形成整体的和谐风味, 光谱分析结果表明 MR 后, MRP 的结构和种类相对于 MR 前发生了变化。

参考文献

- [1] KHALID HK, OHM JB, SIMSEK S. Whole wheat bread: Effect of bran fractions on dough and end-product quality [J]. *J Cere Sci*, 2017, 78(4): 48–56.
- [2] 黄继红, 陈文静, 廖爱美, 等. 麦胚活性成分研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2021, 42(1): 114–123.
HUANG JH, CHEN WJ, LIAO AIM, *et al.* Review on active components of wheat-embryo [J]. *J Henan Univ Technol (Nat Sci Ed)*, 2021, 42(1): 114–123.
- [3] BOUKID F, FOLLONI S, RANIERI R, *et al.* A compendium of wheat germ: Separation, stabilization and food applications [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2018, 78: 120–133.
- [4] NILÜFER G, KINCAL NS, YENER ME. Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of antioxidants from roasted wheat germ based on yield, total phenolic and tocopherol contents, and antioxidant activities of the extracts [J]. *J Supercritical Fluids*, 2009, 48(3): 217–224.
- [5] ZOU Y, YANG M, ZHANG G, *et al.* Antioxidant activities and phenolic compositions of wheat germ as affected by the roasting process [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2015, 92(9): 1303–1312.
- [6] TIAN SQ, YU BX, DU K, *et al.* Purification of wheat germ albumin hydrolysates by membrane separation and gel chromatography and evaluating their antioxidant activities [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113365>
- [7] SILVINA PM, MARIA CP, SEBASTIEN C, *et al.* Effect of microwave and hot air treatment on enzyme activity, oil fraction quality and antioxidant activity of wheat germ [J]. *Food Chem*, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132760>
- [8] TIAN SQ, DU K, YAN F, *et al.* Microwave-assisted enzymatic hydrolysis of wheat germ albumin to prepare polypeptides and influence on physical and chemical properties [J]. *Food Chem*, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131707>
- [9] WANG L, LI T, SUN D, *et al.* Effect of electron beam irradiation on the functional properties and antioxidant activity of wheat germ protein hydrolysates [J]. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 2019, 54: 192–199.
- [10] KANOI BN, NAGAOKA H, MORITA M, *et al.* Leveraging the wheat germ cell-free protein synthesis system to accelerate malaria vaccine development [J]. *Parasitol Int*, 2021, 80: 1–8.
- [11] YL A, LGA B, NING MA, *et al.* Evaluation of quality deterioration of

- dried whole-wheat noodles with extrusion-stabilized bran and germ during storage [J]. *J Cere Sci*, 2020. [https://doi: 10.1016/j.jcs.2020.103143](https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103143)
- [12] GILI RD, MARTIN TIR, CECILIA PM, *et al.* Physical characterization and fluidization design parameters of wheat germ [J]. *J Food Eng*, 2017, 212(11): 29–37.
- [13] ZHANG Y, TANG N, SHI L, *et al.* Characterization and comparison of predominant aroma compounds in microwave-treated wheat germ and evaluation of microwave radiation on stability [J]. *J Cere Sci*, 2020. [https://doi: 10.1016/j.jcs.2020.102942](https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102942)
- [14] OGAWA A, TAKAMATSU M. Mutation of the start codon to enhance *Cripavirus* internal ribosome entry site-mediated translation in a wheat germ extract [J]. *Bioorganic Med Chem Lett*, 2019. [https://doi: 10.1016/j.bmcl.2019.126729](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.126729)
- [15] ZK A, SHP A, JH A, *et al.* Antioxidant, anticancer and ACE-inhibitory activities of bioactive peptides from wheat germ protein hydrolysates [J]. *Food Biosci*, 2019. [https://doi: 10.1016/j.fbio.2019.100450](https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100450)
- [16] LI W, TLA B, DS C, *et al.* Effect of electron beam irradiation on the functional properties and antioxidant activity of wheat germ protein hydrolysates [J]. *Innovative Food Sci Emerg Technol*, 2019, 54: 192–199.
- [17] 兰小红. 大豆肽美拉德反应特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009.
LAN XH. The characteristics of soybean peptide Maillard reaction [D]. Wuxi: Jiang Nan University, 2009.
- [18] 戚繁. 美拉德反应在食品工业中的研究进展[J]. *现代食品*, 2020, 21(19): 44–46.
QI F. Research progress of Maillard reaction in food industry [J]. *Mod Food*, 2020, 21(19): 44–46.
- [19] OGASAWARA M, KATSUMATA T, EGI M. Taste properties of Maillard-reaction products prepared from 1000 to 5000 Da peptide [J]. *Food Chem*, 2006, 99(3): 600–604.
- [20] 陈思远, 刘永祥, 曹小舟, 等. 从麦胚清蛋白分离制备高活性抗氧化肽 [J]. *中国农业科学*, 2016, 49(12): 2379–2388.
CHEN SY, LIU YX, CAO XZ, *et al.* The preparation process for isolation of a highly active antioxidant peptide derived from wheat germ albumin [J]. *Sci Agric Sin*, 2016, 49(12): 2379–2388.
- [21] 颜辉, 张琦, 江明珠, 等. 麦胚降血糖肽的分离纯化及鉴定[J]. *食品科学*, 2018, 39(20): 92–98.
YAN H, ZHANG Q, JIANG MZ, *et al.* Isolation and structural identification of hypoglycemic peptides from wheat germ protein [J]. *Food Sci*, 2018, 39(20): 92–98.
- [22] 贾俊强, 马海乐, 赵伟睿, 等. 小麦胚芽蛋白组分酶解物降血压和抗氧化作用[J]. *营养学报*, 2010, 32(1): 55–59.
JIA JQ, MA HL, ZHAO WR, *et al.* Study on the antihypertensive and antioxidant properties of wheat germ protein fractions hydrolysates [J]. *Acta Nutr Sin*, 2010, 32(1): 55–59.
- [23] HUANG L, LIU B, MA H, *et al.* Combined effect of ultrasound and enzymatic treatments on production of ACE inhibitory peptides from wheat germ protein [J]. *J Food Process Preserv*, 2014, 38(4): 1632–1640.
- [24] 黄继红, 纪小国, 张业奇, 等. 麦胚蛋白对系统性红斑性狼疮的作用机制及其功能分析[J]. *发酵科技通讯*, 2017, (1): 20–24.
HUANG JH, JI XG, ZHANG YQ, *et al.* Mechanism of wheat germ protein on systemic *Lupus erythematosus* and its functional analysis [J]. *Bull Ferment Sci Technol*, 2017, (1): 20–24.
- [25] JI XG, HUANG JH, ZHANG YQ. *et al.* The analysis of wheat germ globulins proteomics and its immune regulatory mechanism on the immunosuppressive mice [C]. The 6th National Plant Protein Research Congress, 2016.
- [26] 曾祺, 郑安娜, 张志国. 麦胚蛋白的提取及其酶解制备多肽工艺参数优化[J]. *粮食与油脂*, 2019, 32(6): 20–24.
ZENG Q, ZHENG ANN, ZHANG ZG. Process parameter optimization of extraction of wheat germ protein and hydrolysis preparation of polypeptides [J]. *Cere Oils*, 2019, 32(6): 20–24.
- [27] 王琪, 王月慧, 吴永宁, 等. 酶法水解麦胚蛋白及其产物的抗氧化活性研究[J]. *粮食与饲料工业*, 2012, (2): 41–44.
WANG Q, WANG YH, WU YN, *et al.* Enzymatic hydrolysis of wheat germ protein and antioxidant activity of the product [J]. *Cere Feed Ind*, 2012, (2): 41–44.
- [28] 安攀宇, 李燮昕, 李艳梅, 等. 美拉德反应制备鸡肉风味基料的工艺条件优化[J]. *核农学报*, 2021, 35(10): 2328–2340.
AN PY, LI XX, LI YM, *et al.* Optimization of processing conditions for chicken flavor base by Maillard reaction [J]. *J Nucl Agric Sci*, 2021, 35(10): 2328–2340.
- [29] 孙福犁, 徐慢, 崔和平, 等. 谷朊粉肽美拉德反应中间体的制备及风味形成能力研究[J]. *食品与机械*, 2019, 35(3): 1–7.
SUN FL, XU M, CUI HP, *et al.* Preparation of Maillard reaction intermediates (MRIs) of gluten peptides-xylose and study on its flavor formation capacity [J]. *Food Mach*, 2019, 35(3): 1–7.
- [30] 颜辉, 张琦, 聂旭东, 等. 超声预处理对麦胚蛋白结构的影响[J]. *食品与机械*, 2017, 33(4): 13–17.
YAN H, ZHANG Q, NIE XD, *et al.* Effect of ultrasonic pretreatment on the structure of wheat germ protein [J]. *Food Mach*, 2017, 33(4): 13–17.
- [31] 毛丽. 基于不同工作模式超声预处理的麦胚酶解及其产物活性和稳定性的研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2016.
MAO L. Effect of different working mode of ultrasound pretreatment on enzymatic from wheat germ and evaluating the activity and stability of hydrolysates [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2016.
- [32] YANG SY, KIM SW, KIM Y, *et al.* Optimization of Maillard reaction with ribose for enhancing anti-allergy effect of fish protein hydrolysates using response surface methodology [J]. *Food Chem*, 2015, 176: 420–425.
- [33] 解万翠, 杨翰彬, 章超桦, 等. Maillard 反应型虾风味料的制备[J]. *食品与机械*, 2008, 24(1): 34–44.
XIE WC, YANG HB, ZHANG CY. *et al.* Preparation of shrimp flavoring by Maillard reaction [J]. *Food Mach*, 2008, 24(1): 34–44.
- [34] 黄珊, 王修俊, 刘佳慧, 等. 贵州三穗鸭鸭骨酶解液美拉德反应条件优化及挥发性风味物质分析[J]. *中国酿造*, 2019, 38(9): 117–123.
HANG S, WANG XJ, LIU JH. *et al.* Optimization of Maillard reaction conditions of Guizhou Sansui duck bone enzymatic hydrolysate and analysis of its volatile components [J]. *China Brew*, 2019, 38(9): 117–123.
- [35] TAN ZW, YU AN. Volatiles from the Maillard reaction of *L*-ascorbic acid

- with *L*-glutamic acid/*L*-aspartic acid at different reaction times and temperatures [J]. *Asia-Pac J Chem Eng*, 2012, 7(4): 563–571.
- [36] MOWLAEIFARR MH, AMINLARI M, NIAKOSARI M, *et al.* Effect of microwave treatment on glycation extent of lysozyme-maltodextrin Maillard conjugates [J]. *J Food Sci Technol*, 2017, 13(60): 105–113.
- [37] ÜNSAL M, IŞIK-GÜLSAÇ I, ÜRESİN E, *et al.* Optimisation of biomass catalytic depolymerisation conditions by using response surface methodology [J]. *Waste Manag Res*, 2020, 38(3): 322–331.
- [38] XUE HK, LIU CH, LIU C, *et al.* A comparative study of the optimization of microwave extraction of anthocyanins from blueberry by response surface methodology and genetic algorithm-artificial neural network [J]. *Food Sci*, 2018, 39(16): 280–288.
- [39] 孙丽平, 汪东风, 徐莹, 等. pH 和加热时间对美拉德反应挥发性产物的影响[J]. *食品工业科技*, 2009, 30(4): 122–125.
SUN LP, WANG DF, XU Y, *et al.* Effect of pH and heating time on volatile products of Maillard reaction [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2009, 30(4): 122–125.
- [40] 韩易, 赵燕, 徐明生, 等. 美拉德反应产物类黑精的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(9): 7.
HAN Y, ZHAO Y, XU MS. *et al.* Research progress on the melanoidins of maillard reaction product [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2019, 40(9): 7.
- [41] RHIM JW, MOHANTY KA, SINGH SP, *et al.* Preparation and properties of biodegradable multilayer films based on soy protein isolate and poly (lactide) [J]. *Ind Eng Chem Res*, 2006, 45(9): 3059–3066.
- [42] KIM JS, LEE YS. Effect of reaction pH on enolization and racemization reactions of glucose and fructose on heating with amino acid enantiomers and formation of melanoidins as result of the Maillard reaction [J]. *Food Chem*, 2008, 108(2): 582–592.
- [43] YU X, ZHAO M, HU J. *et al.* Correspondence analysis of antioxidant activity and UV-Vis absorbance of Maillard reaction products as related to reactants [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2012, 46(1): 1–9.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

作者简介



陈金明, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为香精香料与天然产物分离方面的研究工作。

E-mail: 841737945@qq.com



杨盛茹, 硕士, 讲师, 主要研究方向为功能性食品加工。

E-mail: 81692@hnuahc.edu.cn