

葡萄糖-谷氨酸二肽模型体系中 5-羟甲基糠醛形成的动力学分析

孙颖, 张莉莉, 张玉玉*, 孙宝国, 陈海涛

(北京工商大学化学与材料工程学院 北京市食品风味化学重点实验室 北京 100048)

摘要 为了研究糖-肽模型体系中 5-羟甲基糠醛形成的动力学规律,以葡萄糖-谷氨酸二肽为研究对象,对糖-肽体系中反应物(葡萄糖、谷氨酸二肽)消耗及反应产物(5-羟甲基糠醛)形成的动力学进行分析。结果显示:在加热温度 90~110 °C,加热时间 0~6 h 过程中,一级动力学对样品中反应物葡萄糖和谷氨酸二肽的消耗拟合效果较好,且消耗速率均随温度的升高而增大。在试验温度 90~95 °C(0~6 h) 条件下,零级动力学对葡萄糖-谷氨酸二肽样品中 5-羟甲基糠醛的拟合效果良好;100~110 °C(0~6 h)条件下,一级动力学对其拟合效果较好。

关键词 5-羟甲基糠醛; 糖-肽模型体系; 动力学

文章编号 1009-7848(2022)06-0106-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.06.011

5-羟甲基糠醛是食品在热处理、发酵等加工过程中形成的内源性毒素^[1]。果汁^[2]、咖啡^[3]、啤酒^[4]、面包^[5]、黑蒜^[6]、醋^[7]等食品中均含有 5-羟甲基糠醛。在肉味香精的生产过程中可通过焦糖化反应和美拉德反应产生,进而对肉味香精的外观品质与内在质量产生一定程度的损害。美拉德反应是由还原糖和氨基酸或蛋白质中的氨基在一定条件下发生的一系列复杂的化学反应,是热加工食品中风味和色泽产生的重要途径^[8]。在美拉德反应途径中,游离氨基酸或者蛋白质中的氨基与还原糖结合形成 Amadori 产物,再异构为烯醇式,然后脱去整个氨基^[9]。5-羟甲基糠醛也是焦糖化反应中一类重要的热解产物,在葡萄糖注射液的高压灭菌和储存过程中,或糖含量高的食品(如蜂蜜、甜酒、甜面酱等)的储存过程中,都会产生糠醛和 5-羟甲基糠醛。糖类物质发生焦糖化反应产生的糠醛、羟甲基糠醛等中间物质,可进一步反应生成醇类、烃类、呋喃衍生物及羰基化合物,而其中二羰基和三羰基化合物参与的 Strecker 降解反应及呋喃衍生物与 H₂S 的反应,均会产生大量的风味物质^[10-11]。一般认为糠醛反应的底物是单糖化合物,然而,陆续有相关研究报道了不同的结果:在高于 250 °C

的条件下烘烤饼干,若将葡萄糖或果糖置换为蔗糖,则会产生大量的 5-羟甲基糠醛,这可能是由于蔗糖在高温条件下产生了具有较高活性的呋喃果糖基离子^[12-13]。5-羟甲基糠醛的形成速度受加热时间和温度的影响,动力学模型能够反映化学反应速度的快慢和产物形成的规律,如米酒、蜂蜜和曲奇饼干等^[14-16]。Ameur 等^[17]研究发现,曲奇饼中 5-羟甲基糠醛的形成符合一级动力学模型。在低于 250 °C 时,添加蔗糖的曲奇饼中 5-羟甲基糠醛的形成量远低于添加葡萄糖和果糖的曲奇饼。在单糖溶液体系中,葡萄糖、果糖和半乳糖在加热温度为 80,100,120 °C 时,为一级动力学模型^[18]。在双糖溶液体系中,乳糖、蔗糖和麦芽糖在加热温度为 80,100,120 °C 时,为零级动力学模型^[19]。在蛋糕的烘焙过程中,随着烘烤温度的升高和时间的延长,5-羟甲基糠醛的含量与蛋糕的 pH 值成反比,为一级动力学模型^[20]。阮卫红等^[21]发现在热处理 80,90,100 °C 条件下,5-羟甲基糠醛的含量在桃汁中持续增大,为零级动力学模型($R^2>0.905$)。卜利伟等^[22-23]发现 5-羟甲基糠醛为黑蒜的主要呈色物质之一,在 70~90 °C 条件下加工,加工时间和 5-羟甲基糠醛含量的函数关系为一级反应动力学模型。还有研究发现氨基酸种类会影响 5-羟甲基糠醛形成的速度,天门冬氨酸-葡萄糖体系要比甘氨酸-葡萄糖体系的速率常数 k 值大得多^[24]。

谷氨酸是肉类及其酶解液中广泛存在的一种酸性氨基酸,具有一定的鲜味,可用来提升肉制品的滋味^[25]。含有谷氨酸的鲜味肽呈鲜效果尤为明

收稿日期: 2021-06-05

基金项目: 北京市教委科研计划一般项目(KM202210011006);
北京市自然科学基金青年科学基金项目(6204036);
国家自然科学基金项目(31972191)

作者简介: 孙颖(1991—),女,硕士,实验员

通信作者: 张玉玉 E-mail: zhangyuyu@tbu.edu.cn

显, 鲜味肽作为一种可增强食物鲜味和醇厚味的呈味肽, 具有良好的加工特性、呈鲜效果以及营养价值, 符合“天然、营养、安全”的食品发展潮流。其不仅可直接增强食物的鲜美口感, 还可作为挥发性风味物质的前体物参与美拉德反应, 进一步增强食品的特征香味^[26]。谷氨酸被广泛应用于各类肉味香精的制备。在反应过程中, 谷氨酸对5-羟甲基糠醛的积累具有明显的促进作用。有研究发现氨基酸的二肽、三肽形式比其自身具有更高的反应活性, 小分子肽对于5-羟甲基糠醛的积累作用显著^[27]。

目前对肉味香精制备过程中糖-肽体系中5-羟甲基糠醛形成的动力学研究较少。本试验以葡萄糖-谷氨酸二肽为对象, 对糖-肽体系中反应物(葡萄糖、谷氨酸二肽)及反应产物(5-羟甲基糠醛)的动力学进行研究, 揭示其形成5-羟甲基糠醛的动力学特征, 反映化学反应的速度快慢和产物的形成规律, 旨在为热加工香精中5-羟甲基糠醛的形成提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

葡萄糖(分析纯), 国药集团化学试剂有限公司; 谷氨酸二肽(纯度>95%, 分析纯), 浙江昂拓莱司生物技术有限公司; 乙腈、三氟乙酸(色谱纯), 赛默飞世尔科技公司; 5-羟甲基糠醛(色谱纯), 美国西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司; 甲醇(色谱纯), 赛默飞世尔科技公司; 超纯水, 实验室自制(Milli-Q Integral 5系统); 0.45 μm 尼龙滤膜, 天津博纳艾杰尔科技有限公司。

1.2 仪器与设备

Agilent 1260 Infinity 液相色谱仪, 安捷伦科技(中国)有限公司; Venusil XBP-C18 色谱柱(粒径 5 μm、孔径 100 Å、规格 4.6 mm×250 mm), 天津博纳艾杰尔科技有限公司; Innoval NH₂ 色谱柱(粒径 5 μm、孔径 100 Å、规格 4.6 mm×250 mm)、Venusil XBP-C18(L) 色谱柱(粒径 5 μm、孔径 150 Å、规格 4.6 mm×150 mm), 天津博纳艾杰尔科技有限公司; DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器, 巩义市予华仪器有限公司; T-403 数字电子天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司。

1.3 方法

1.3.1 模型体系的制备 准确称取谷氨酸二肽 0.4362 g、葡萄糖 0.2973 g, 溶解(超纯水)并定容至 50 mL 容量瓶中, 配置成 0.03 mol/L 溶液。将溶液转移至四口烧瓶中, 油浴恒温加热, 反应结束后迅速冷却, 放置于 4 °C 遮光保存, 滤膜过滤后进仪器检测分析。糖-肽模型体系动力学试验设计如表 1 所示。

表 1 动力学试验设计
Table 1 Dynamic test design

加热 温度/°C	加热时间/h						
	0	1	2	3	4	5	6
90	0	1	2	3	4	5	6
95	0	1	2	3	4	5	6
100	0	1	2	3	4	5	6
105	0	1	2	3	4	5	6
110	0	1	2	3	4	5	6

1.3.2 葡萄糖含量的测定 液相色谱条件为: Innoval NH₂ 色谱柱(粒径 5 μm、孔径 100 Å、规格 4.6 mm×250 mm); 柱温 30 °C; RI 检测器(40 °C); 流动相为 80%乙腈水溶液, 等梯度洗脱; 流速 1.0 mL/min; 进样 20 μL。葡萄糖标品和样品的液相色谱图如图 1、图 2 所示。

标准曲线的建立: 准确称取葡萄糖标品 0.7000 g, 在烧杯中溶解(超纯水)后加入容量瓶中, 定容至 50 mL 得到 14.0 mg/mL 的葡萄糖标准品储备液, 分别将储备液用超纯水稀释为 14.0, 12.0, 9.6, 7.4, 6.7, 1.5556, 0.5185, 0.1728, 0.0576 mg/mL 的标准品溶液, 最后用乙腈溶液将 9 个浓度的标准品溶液稀释 2 倍, 得最终标准品溶液, 浓度分别为 7.0, 6.0, 4.8, 3.5, 2.3333, 0.7778, 0.2593, 0.0864, 0.0288 mg/mL。滤膜过滤后进仪器分析, 重复进样 3 次。以葡萄糖的浓度和对应色谱峰面积的数据作图, 得葡萄糖浓度与其峰面积的标准曲线。

葡萄糖浓度与其峰面积的线性关系如图 3 所示, 线性回归方程为: $y = 190500x - 8095.4$, $R^2 = 0.9994$ 。由图 3 可得出, 葡萄糖质量浓度在 0.0288-7.0 mg/mL 范围内与峰面积的线性关系良好。

样品的测定:取 1 mL 热反应溶液,加入 1 mL 乙腈,振荡混匀后静置 1 min,滤膜过滤后进仪器检测分析。

1.3.3 谷氨酸二肽含量的测定 测定条件:色谱条件:Venusil XBP-C18(L)色谱柱(粒径 5 μm 、孔径 150 \AA 、规格 4.6 mm \times 150 mm);柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$;

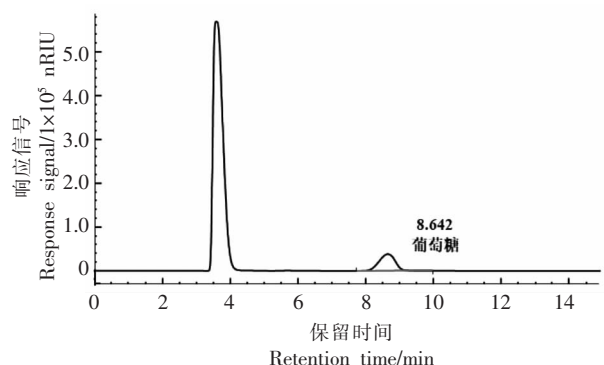


图1 标品中葡萄糖的液相色谱图

Fig.1 Liquid chromatogram of glucose standard

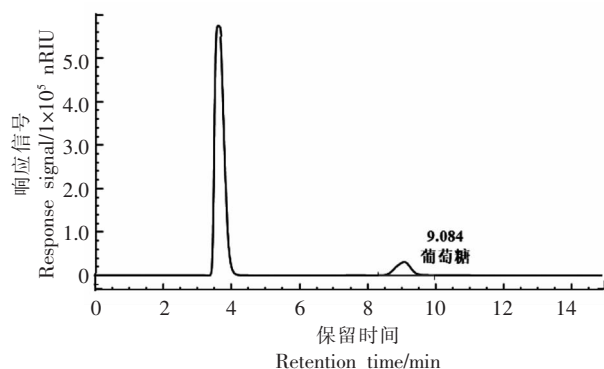


图2 样品中葡萄糖的液相色谱图

Fig.2 Liquid chromatogram of glucose in the sample

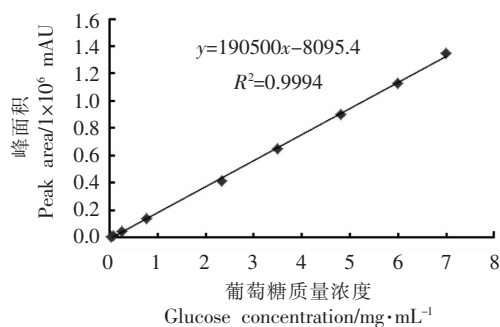


图3 葡萄糖的标准曲线

Fig.3 Standard curve of glucose

DAD 检测器,检测波长 220 nm;流动相为 0.05% 三氟乙酸水溶液,等梯度洗脱;流速:1.0 mL/min;进样 20 μL ;检测 5 min。标品和样品中谷氨酸二肽的液相色谱图如图 4、图 5 所示。

标准曲线的建立:准确称取谷氨酸二肽标品 0.1500 g,在烧杯中溶解(超纯水)后加入容量瓶中,定容至 10 mL,得到 15 mg/mL 的谷氨酸二肽标准品储备液,分别将储备液稀释为 7.5,5.0,3.0,1.5,0.5,0.15,0.015,0.005,0.0015 mg/mL 的标准品溶液。用滤膜过滤后进仪器检测分析,重复 3 次进样。以谷氨酸二肽浓度和对应色谱峰面积作图,得谷氨酸二肽浓度与峰面积的标准曲线。

谷氨酸二肽浓度与峰面积的线性关系,如图 6 所示,线性回归方程为: $y=6655.4x+755.77$, $R^2=0.9943$ 。由图 6 可知,谷氨酸二肽在 0.0015~7.50 mg/mL 的质量浓度范围内与其峰面积线性关系良好。

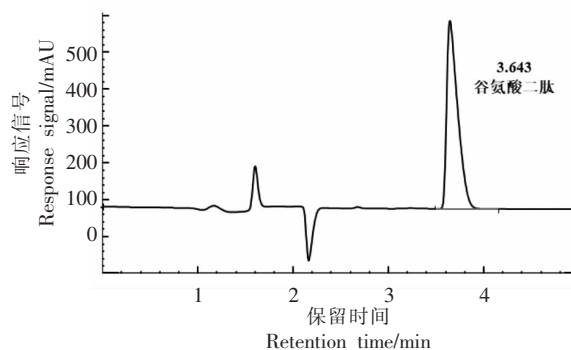


图4 标品中谷氨酸二肽的液相色谱图

Fig.4 Liquid chromatogram of glutamate dipeptide in standard

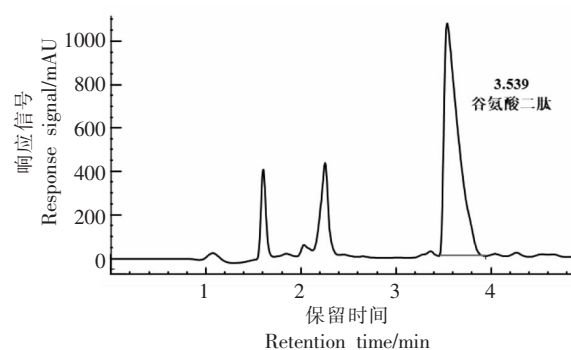


图5 样品中谷氨酸二肽的液相色谱图

Fig.5 Liquid chromatogram of glutamate dipeptide in the sample

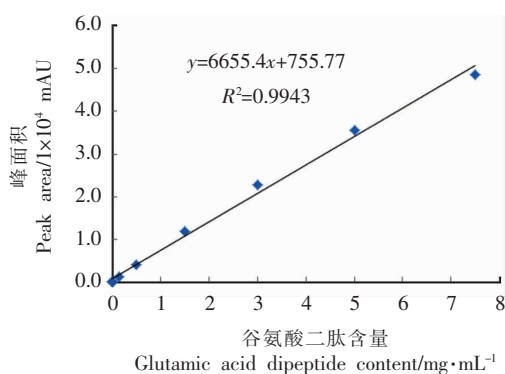


图6 谷氨酸二肽标准曲线

Fig.6 Standard curve of glutamate dipeptide

样品的测定:将热反应制得的样品放置于4℃遮光处,滤膜过滤后进仪器测定分析。

1.3.4 5-羟甲基糠醛含量的测定 测定条件:色谱条件: Venusil XBP-C18 色谱柱(粒径 5 μm、孔径 100 Å、规格 4.6 mm×250 mm);流动相:甲醇-水(5:95, V/V),等梯度洗脱;流速:1.0 mL/min;DAD 检测器,检测波长:284 nm;柱温:30℃;进样量:20 μL;检测 25 min。葡萄糖-谷氨酸二肽样品中5-羟甲基糠醛测定的液相色谱图如图7所示。

标准曲线的建立:准确称取5-羟甲基糠醛标准品 0.0286 g,在烧杯中溶解(超纯水)后,倒入容量瓶中并定容至 100 mL,得 286 μg/mL 的5-羟甲基糠醛标准品储备液,分别将储备液稀释为 71.5, 57.2, 28.6, 11.44, 2.288, 0.4576, 0.2288, 0.0730, 0.0365 μg/mL 的标准品溶液。0.45 μm 滤膜过滤后用高效液相色谱检测分析,重复进样 3 次,取平均值。以5-羟甲基糠醛浓度和对应色谱峰面积作图,得浓度与峰面积的标准曲线。

样品的测定:将热反应制得的样品于4℃遮光存放,0.45 μm 滤膜过滤后,进高效液相色谱检测分析。

2 结果与分析

2.1 加热过程中葡萄糖消耗的动力学分析

图8为不同加热时间和温度对葡萄糖-谷氨酸二肽样品中葡萄糖消耗的影响,如表8为葡萄糖-谷氨酸二肽样品中葡萄糖消耗的动力学分析结果。

由图8可以看出在葡萄糖-谷氨酸二肽模型

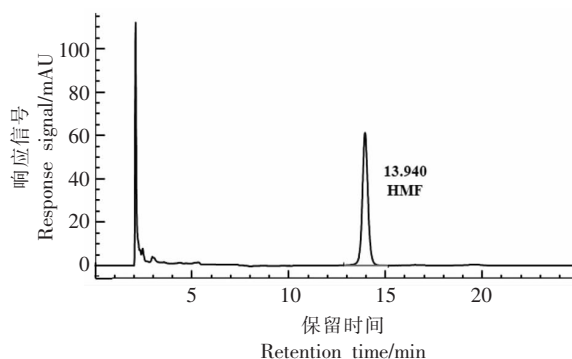


图7 葡萄糖-谷氨酸二肽样品中5-羟甲基糠醛液相色谱图

Fig.7 Liquid chromatogram of 5-hydroxymethyl furfural in glucose-glutamate dipeptide sample

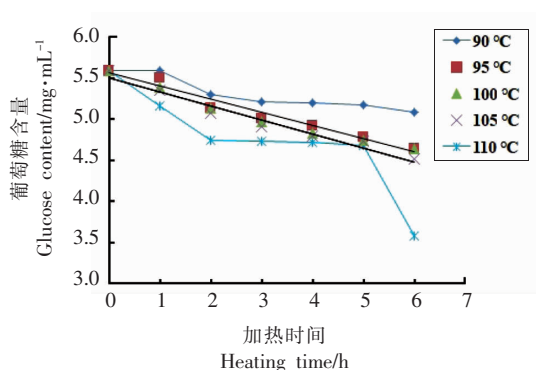


图8 不同加热时间和温度对葡萄糖-谷氨酸二肽样品中葡萄糖消耗的影响

Fig.8 Effect of different heating time and temperature on glucose consumption in glucose-glutamate dipeptide samples

体系中,初始反应物葡萄糖的含量与加热时间呈负相关。在未加热的体系中,葡萄糖的含量为(5.59±0.06)mg/mL,随着加热时间的延长,试验条件下5个温度下葡萄糖的含量均出现不同程度的降低趋势,当反应条件高于95℃,1h时,葡萄糖的消耗速度明显加快。

在体系温度为90℃时,体系中葡萄糖含量由(5.60±0.08)mg/mL(1h)逐渐降低至(5.09±0.03)mg/mL(6h),当加热由1h增加到2h时,样品中葡萄糖的含量出现明显的消耗($P < 0.05$),随着时间的继续增加,样品中葡萄糖的消耗并不显著($P > 0.05$)。最长加热时间条件(6h)下,体系中葡萄糖含量消耗了9.15%,对90℃(0~6h)时所得数据进行动力学分析(表2)可知,7个加热时间条件下,对葡萄糖含量的拟合相关系数为0.8734,葡萄糖

消耗的速率常数为 0.0170。

在体系温度为 95 °C 时, 体系中葡萄糖含量由 (5.50±0.19)mg/mL (1 h) 逐渐减少至 (4.65±0.05) mg/mL (6 h), 随着温度由 90 °C 升高至 95 °C, 体系中葡萄糖含量相比 90 °C (6 h) 时降低增加了 7.85%, 对 95 °C (0~6 h) 时所得葡萄糖数据进行动力学分析 (表 2), 发现该试验条件下, 一级动力学对葡萄糖的消耗拟合效果较好, 消耗的速率常数为 0.0320, 对 Af、Bf、SS、RMSE 进行计算发现模型对数据的拟合效果较好, 且数据的精确性较好 ($R^2=0.9686$)。

在体系温度为 100 °C 时, 体系中葡萄糖的含量由 (5.39±0.03)mg/mL (1 h) 降低至 (4.64 ± 0.05) mg/mL (6 h), 当加热时间由 0 h 增加至 3 h 时, 样品中葡萄糖的消耗增多 ($P<0.05$), 当加热温度为 4~5 h 时, 体系中葡萄糖未出现显著消耗 ($P>0.05$), 当时间继续延长, 样品中葡萄糖消耗显著 ($P<0.05$)。对 100 °C (0~6 h) 时样品中的葡萄糖含量进行分析 (表 2), 发现该试验条件下, 一级动力学对葡萄糖的消耗拟合效果较好, 消耗的速率常数为 0.0310, 且模型对数据的拟合效果及数据的精确性均较好 ($R^2=0.9722$)。

在体系温度为 105 °C 时, 体系中葡萄糖的含量由 (5.35±0.36)mg/mL (1 h) 降低至 (4.51±0.02)

mg/mL (6 h), 在该试验条件下, 葡萄糖的消耗为 19.36%。对 105 °C (0~6 h) 时所得的葡萄糖数据进行动力学分析 (表 2), 发现该试验条件下, 一级动力学对葡萄糖的消耗拟合效果较好, 消耗的速率常数为 0.0340, 模型对数据的拟合效果及数据的精确性均较好 ($R^2=0.9700$)。

在体系温度为 110 °C 时, 体系中葡萄糖的含量由 (5.16±0.30)mg/mL (1 h) 降低至 (3.58±0.05) mg/mL (6 h), 在该试验条件下, 葡萄糖的消耗达到 36.08%。对 110 °C (0~6 h) 时的葡萄糖数据进行动力学分析 (表 2) 可知, 一级动力学模型对葡萄糖含量的拟合相关系数为 0.7467, 葡萄糖消耗的速率常数为 0.0550, 葡萄糖的消耗量最多。

在 90~110 °C 时, 葡萄糖的消耗速率常数整体上呈增长趋势, 且温度越高, 速率常数越大^[28]。Kavousi 等^[29]对单一葡萄糖溶液中葡萄糖的消耗动力学进行了分析, 发现时间和温度的增加均可促进葡萄糖的消耗。结合本试验结果可以看出, 温度、时间均对葡萄糖转化为 5-羟甲基糠醛的促进作用显著, 且在 110 °C, 6 h 时葡萄糖的消耗量达到最高值。当加热时间在 2~5 h 时, 葡萄糖的消耗速率较缓, 但当 5~6 h 葡萄糖的消耗量达到顶峰, 因此可以将反应时间控制在 5 h 以内。

表 2 葡萄糖-谷氨酸二肽样品中葡萄糖消耗的动力学分析

Table 2 Kinetic analysis of glucose consumption in glucose-glutamate dipeptide samples

加热温度/°C	拟合公式	速率常数 <i>k</i>	模型评价				
			R^2	Af	Bf	SS	RMSE
90	$\ln C(t) = -0.0170t + \ln 5.5801$	-0.0170	0.8734	1.0257	0.9970	0.0011	0.0736
95	$\ln C(t) = -0.0320t + \ln 5.5790$	-0.0320	0.9686	1.0229	0.9969	0.0009	0.0646
100	$\ln C(t) = -0.0310t + \ln 5.5283$	-0.0310	0.9722	1.0230	1.0016	0.0008	0.0581
105	$\ln C(t) = -0.0340t + \ln 5.5173$	-0.0340	0.9700	1.0238	0.9992	0.0010	0.0642
110	$\ln C(t) = -0.0550t + \ln 5.5537$	-0.0550	0.7467	1.1225	1.0005	0.0288	0.2945

注: 90, 95, 100, 105, 110 °C (0~6 h) 依照一级动力学公式拟合 $\ln C(t) = \ln C_0 + kt$, $C(t)$: 5-羟甲基糠醛含量 (mg/mL); t : 加热时间 (h); k : 速率常数 (h); R^2 : 回归系数; RMSE: 根平均方差; Af: 精确因子; Bf: 偏差因子; SS: 实测值和预测值之比的自然对数的平方和。

2.2 加热过程中谷氨酸二肽消耗的动力学分析

图 9 为不同加热时间和温度对葡萄糖-谷氨酸二肽样品中谷氨酸二肽消耗的影响, 表 3 为葡萄糖-谷氨酸二肽样品中谷氨酸二肽消耗的动力学分析结果。

由图 9 可以看出在葡萄糖-谷氨酸二肽模型

体系中, 初始反应物谷氨酸二肽的含量与加热时间呈负相关。在未加热的体系中, 谷氨酸二肽的含量为 (7.92±0.02)mg/mL, 随着加热时间的延长, 试验条件中 5 个温度下谷氨酸二肽均出现不同程度的消耗。

在体系温度为 90 °C 时, 样品中谷氨酸二肽的

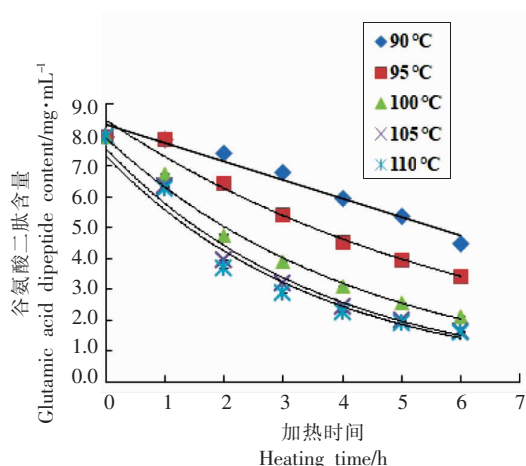


图 9 不同加热时间和温度对葡萄糖-谷氨酸二肽样品中谷氨酸二肽消耗的影响

Fig.9 Effect of different heating time and temperature on the consumption of glutamate dipeptide in glucose-glutamate dipeptide samples

含量随时间增加由 $(7.85 \pm 0.03) \text{ mg/mL}$ (1 h) 显著降低至 $(4.47 \pm 0.01) \text{ mg/mL}$ (6 h) ($P < 0.05$), 当加热 6 h 时, 体系中谷氨酸二肽的消耗率为 43.56%。所以在较低温度 (90 °C) 时, 即使延长加热时间, 谷氨酸二肽的消耗量也没有显著增加。对其动力学分析进行分析 (表 3) 发现, 90 °C 试验条件下, 一级动力学对谷氨酸二肽的消耗拟合效果较好, 速率常数为 0.0960。一级动力学模型对 90 °C (0~6 h) 体系中谷氨酸二肽含量的拟合度较高 ($RMSE=0.3688$, $Af=1.1022$), 且该一级动力学模型描述谷氨酸二肽数据的精确性较好 ($R^2=0.9364$)。

在体系温度为 95 °C 时, 样品中谷氨酸二肽含量在加热时间小于 1 h 时消耗较慢, 加热 1 h 时, 谷氨酸二肽的消耗量为 0.83%。随着加热时间的

不断延长, 体系中谷氨酸二肽的消耗逐渐增大, 由 $(7.85 \pm 0.03) \text{ mg/mL}$ (1 h) 显著降低至 $(3.43 \pm 0.00) \text{ mg/mL}$ (6 h) ($P < 0.05$), 6 h 时, 谷氨酸二肽的消耗量达到最大值, 为 56.75%, 与 90 °C (6 h) 相比, 谷氨酸二肽的消耗量增长了 13.19%。由表 3 可得, 95 °C 试验条件下, 一级动力学对谷氨酸二肽的消耗拟合效果较好, 速率常数为 0.1520, 对拟合模型进行评价得出, 该模型对 95 °C (0~6 h) 体系中谷氨酸二肽含量的拟合度较高 ($RMSE=0.3373$, $Af=1.0739$), 且该一级动力学模型描述谷氨酸二肽数据的精确性较好 ($R^2=0.9821$)。

在 100 °C (1 h) 加热时, 样品中谷氨酸二肽的含量为 $(6.73 \pm 0.02) \text{ mg/mL}$, 随着加热时间的不断延长逐渐减少至 $(2.10 \pm 0.00) \text{ mg/mL}$ (6 h) ($P < 0.05$)。在 0~6 h 的考察范围内, 当加热时间由 1 h 增加至 2 h 时, 体系中谷氨酸二肽的消耗速率最快, 当加热时间大于 2 h 时, 其消耗速率逐渐降低, 加热时间为 6 h 时, 谷氨酸二肽的最终消耗量为 73.51%。与 95 °C (6 h) 相比, 谷氨酸二肽的消耗量增长了 16.76%。由表 3 可得, 100 °C 试验条件下, 一级动力学对谷氨酸二肽的消耗拟合效果较好, 速率常数为 0.2270, 对拟合模型进行评价得出, 该模型对 100 °C (0~6 h) 体系中谷氨酸二肽含量的拟合度较高 ($RMSE=0.2125$, $Af=1.0703$), 且该一级动力学模型描述谷氨酸二肽数据的精确性较好 ($R^2=0.9935$)。

在体系温度为 105 °C (1 h) 时, 样品中谷氨酸二肽的含量为 $(6.33 \pm 0.02) \text{ mg/mL}$, 随着加热时间的不断延长其含量逐渐降低至 $(1.63 \pm 0.00) \text{ mg/mL}$ (6 h) ($P < 0.05$)。当加热时间为 1~2 h 时, 谷氨酸二

表 3 葡萄糖-谷氨酸二肽样品中谷氨酸二肽消耗的动力学分析

Table 3 Kinetic analysis of glutamate dipeptide consumption in glucose-glutamate dipeptide samples

加热温度/°C	拟合公式	速率常数 k	模型评价				
			R^2	Af	Bf	SS	RMSE
90	$\ln C(t) = -0.0960t + \ln 8.5656$	-0.0960	0.9364	1.1022	1.0033	0.0177	0.3688
95	$\ln C(t) = -0.1520t + \ln 8.4948$	-0.1520	0.9821	1.0739	0.9998	0.0118	0.3373
100	$\ln C(t) = -0.2270t + \ln 7.9104$	-0.2270	0.9935	1.0703	0.9974	0.0095	0.2125
105	$\ln C(t) = -0.2700t + \ln 7.5717$	-0.2700	0.9824	1.1625	0.9996	0.0365	0.3440
110	$\ln C(t) = -0.2750t + \ln 7.3346$	-0.2750	0.9658	1.2516	0.9971	0.0748	0.4706

注: 90, 95, 100, 105, 110 °C (0~6 h) 依照一级动力学进行拟合 $\ln C(t) = \ln C_0 + kt$, $C(t)$: 5-羟甲基糠醛含量 (mg/mL), t : 加热时间 (h); k : 速率常数 (h); R^2 : 回归系数; RMSE: 根平均方差; Af: 精确因子; Bf: 偏差因子; SS: 实测值和预测值之比的自然对数的平方和。

肽呈现最大消耗速率,当加热时间为6 h时,体系中谷氨酸二肽的消耗率为79.43%,与100℃(6 h)相比,谷氨酸二肽的消耗量增长了5.92%。由表3可得,105℃试验条件下,一级动力学对谷氨酸二肽的消耗拟合效果较好,速率常数为0.2700,对拟合模型进行评价得出,该模型对105℃(0~6 h)体系中谷氨酸二肽含量的拟合度和精确性均较好(RMSE=0.3440, Af=1.1625, $R^2=0.9824$)。

在体系温度为110℃时,随着加热时间的不断延长体系中谷氨酸二肽的含量由(6.27±0.00) mg/mL,逐渐降低至(1.59±0.00) mg/mL(6 h)($P<0.05$),当加热时间为1~2 h时,体系中谷氨酸二肽的消耗速率最快,当加热时间大于2 h时,消耗速率明显降低。当加热时间为6 h时,谷氨酸二肽的消耗量达到最大值,为79.93%,与105℃(6 h)相比,仅增长了0.50%。由表3可得,110℃试验条件下,一级动力学对谷氨酸二肽的消耗拟合效果较好,速率常数为0.2750,对拟合模型进行评价得出,该模型对110℃(0~6 h)体系中谷氨酸二肽含量的拟合度和精确性均较好。

试验条件下,体系中谷氨酸二肽的消耗量分别为43.56%(90℃, 0~6 h), 56.75%(95℃, 0~6 h), 73.51%(100℃, 0~6 h), 79.43%(105℃, 0~6 h)和79.93%(110℃, 0~6 h),由分析可知,当加热温度为90~100℃时,谷氨酸二肽的最终消耗量随温度变化趋势明显,当在高于100℃反应时,谷氨酸二肽的最终消耗量逐渐趋于定值,且当体系加热温度大于90℃,谷氨酸二肽均在加热时间为1~2 h时出现最大消耗速率,此时成为体系反应的关键阶段。解怡^[30]对葡萄糖-甘氨酸二肽在420 nm处的吸光度进行了动力学分析,发现温度对葡萄糖-甘氨酸二肽体系的褐变程度影响较大。

2.3 加热过程中5-羟甲基糠醛形成的动力学分析

图10为不同加热时间和温度对葡萄糖-谷氨酸二肽样品中5-羟甲基糠醛累积的影响,表4为葡萄糖-谷氨酸二肽样品中5-羟甲基糠醛累积的动力学分析结果。

由图10可以看出在葡萄糖-谷氨酸二肽样品中,5个试验温度下,5-羟甲基糠醛的积累量与时间变化一致。在未加热的体系中,无5-羟甲基糠

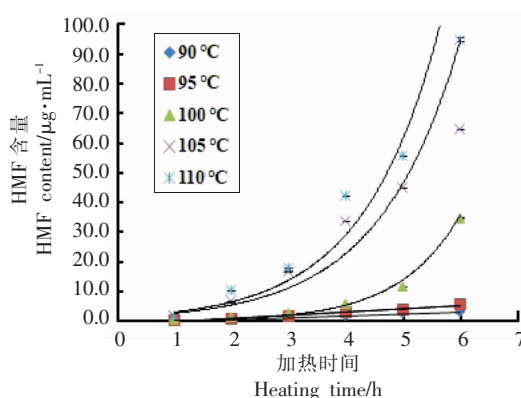


图10 不同加热时间和温度对葡萄糖-谷氨酸二肽样品中5-羟甲基糠醛累积的影响

Fig.10 Effect of different heating time and temperature on accumulation of 5-hydroxymethylfurfural in glucose-glutamate dipeptide samples

醛,此后样品中5-羟甲基糠醛随温度和时间增加均出现不同程度的积累。

当体系温度为90℃时,样品中5-羟甲基糠醛的含量由(0.09±0.00) µg/mL(1 h)增至(3.31±0.01) µg/mL(6 h)。加热时间为5~6 h时,体系中5-羟甲基糠醛的累积最快,其质量浓度增加了0.82 µg/mL。经模型拟合(表4)发现,零级动力学对数据拟合曲线的决定系数较高($R^2=0.9819$)且RMSE值较小(0.1591),实际测量值与模型的预测值的偏离度较大(Af=5.8579, SS=16.9415),总体来说,零级动力学对其拟合效果良好。

当体系温度为95℃时,体系中5-羟甲基糠醛的含量由(0.18±0.00) µg/mL(1 h)增加至(5.93±0.01) µg/mL(6 h),且增长明显($P<0.05$)。当加热时间为5~6 h时,体系中5-羟甲基糠醛出现最快增长速率,增长量为1.95 µg/mL。经模型拟合(表4)发现,零级动力学对数据的拟合效果较好($R^2=0.9716$, RMSE=0.3526),实际测定值略低于模型预测值(Bf=0.8733),整体偏离度较小(SS=0.3081)。

当体系温度为100℃时,体系中5-羟甲基糠醛的含量由(0.20±0.01) µg/mL(1 h)增至(34.54±0.16) µg/mL(6 h),且增长明显($P<0.05$)。当加热时间为5~6 h时,体系中5-羟甲基糠醛出现最大增长速率(22.80 µg/mL/h),该累积量远远高于体系在90~95℃温度下的最大增长量。经模型拟合(表4)发现,100℃时一级动力学对数据的拟合效果较

好($R^2=0.9617$, $RMSE=1.2777$)。

当体系温度为 105 ℃时, 体系中 5-羟甲基糠醛的含量由 $(1.66 \pm 0.02) \mu\text{g/mL}$ (1 h) 增加至 $(64.53 \pm 0.03) \mu\text{g/mL}$ (6 h)。当加热时间为 5~6 h 时, 体系中 5-羟甲基糠醛出现最大增长速率, 为 $19.65 \mu\text{g/mL/h}$ 。经模型拟合(表 4)发现, 一级动力学对数据进行拟合时的拟合效果良好。

当体系温度为 110 ℃时, 体系中 5-羟甲基糠醛的含量由 $(1.68 \pm 0.03) \mu\text{g/mL}$ (1 h) 增加至 $(94.69 \pm 0.55) \mu\text{g/mL}$ (6 h)。当加热时间为 5~6 h 时, 体系中 5-羟甲基糠醛出现最大增长速率, 为 $39.24 \mu\text{g/mL/h}$ 。经模型拟合(表 4)发现一级动力学进行拟合时效果较好。

葡萄糖-谷氨酸二肽样品在 90~110 ℃时, 5-羟甲基糠醛的形成均随时间的延长呈显著增长趋势($P<0.05$), 且体系中的 5-羟甲基糠醛均在加热时间为 5~6 h 时出现最大累积量。当加热温度为 90~95 ℃时, 零级动力学对样品中 5-羟甲基糠醛的拟合效果较好; 随着温度的进一步提高 (100~110 ℃), 5-羟甲基糠醛呈指数累积。葡萄糖-谷氨

酸二肽样品中 5-羟甲基糠醛的含量随温度的升高、时间的延长也呈现显著的增长趋势($P<0.05$)。研究发现, 葡萄糖-谷氨酸二肽体系的速率常数高于葡萄糖-谷氨酸体系。因为羧基在催化分子内反应时具有显著的效果, 谷氨酸二肽侧链中的羧酸残基数比谷氨酸中多, 体系具有更低 pH 值, 从而使得葡萄糖-谷氨酸二肽模型体系具有更高的反应速率^[31]。Kok 等^[32]建立了葡萄糖-甘氨酸二肽模型, 对模型的反应速率进行比较发现, 糖-二肽体系的反应速率远远高于糖-氨基酸体系。因此在葡萄糖-谷氨酸二肽模型体系中, 反应温度高于 100 ℃, 反应时间超过 5 h, 反应速率明显增加, 5-羟甲基糠醛的生成量增长较快。肉味香精在制备中采用“味料同源”的生产理念, 将肉中的大分子蛋白进行酶解, 以释放更多物质来丰富香精产品的滋味轮廓, 然而与氨基酸相比, 肽段更易与还原糖作用, 生成 5-羟甲基糠醛, 因此有效酶解在肉味香精制备过程中尤为重要, 可以有效降低 5-羟甲基糠醛的形成。

表 4 葡萄糖-谷氨酸二肽样品中 5-羟甲基糠醛积累的动力学分析

Table 4 Kinetic analysis of 5-hydroxymethyl furfural accumulation in glucose-glutamate dipeptide samples

加热温度/℃	拟合公式	速率常数 k	模型评价				
			R^2	Af	Bf	SS	RMSE
90	$C(t)=0.6267t-0.6252$	0.6267	0.9819	5.8579	0.2095	16.9415	0.1591
95	$C(t)=1.1025t-1.2124$	1.1025	0.9716	1.4524	0.8733	0.3081	0.3526
100	$\ln C(t)=0.9379t+\ln 0.1295$	0.9379	0.9617	1.7493	0.9994	0.6138	1.2777
105	$\ln C(t)=0.7091t+\ln 1.3462$	0.7091	0.9242	2.0316	1.0002	0.7213	14.5959
110	$\ln C(t)=0.7459t+\ln 1.4820$	0.7459	0.9174	2.2309	0.9996	0.8764	17.2681

注: 90, 95 ℃(1~6 h)按零级动力学进行拟合 $C(t)=C_0+k_0t$; 100, 105, 110 ℃(1~6 h)按一级动力学进行拟合 $\ln C(t)=-kt+\ln C_0$ 。 $C(t)$: 5-羟甲基糠醛含量(mg/mL); t : 加热时间(h); k : 速率常数(h); R^2 : 回归系数; RMSE: 根平均方差; Af: 精确因子; Bf: 偏差因子; SS: 实测值和预测值之比的自然对数的平方和。

3 结论

对葡萄糖-谷氨酸二肽模型体系中两种反应物(葡萄糖、谷氨酸二肽)的消耗及反应产物 5-羟甲基糠醛的形成进行了动力学试验。结果显示: 在试验条件 90~110 ℃(0~6 h) 5 个温度梯度下, 一级动力学对样品中反应物葡萄糖和谷氨酸二肽的消耗拟合效果较好, 且消耗速率不断增大。在试验条件 90, 95 ℃(1~6 h) 温度梯度下, 零级动力学对葡

萄糖-谷氨酸二肽样品中 5-羟甲基糠醛的拟合效果良好, 100, 105 和 110 ℃(1~6 h) 时, 一级动力学对其拟合效果较好。加热时间和加热温度对葡萄糖、谷氨酸二肽的消耗和 5-羟甲基糠醛的生成影响较大。所以, 在香精的加工过程中, 热处理温度低于 100 ℃, 热处理时间短于 5 h, 以及用氨基酸代替二肽与糖反应, 可以有效降低 5-羟甲基糠醛的形成。

参 考 文 献

- [1] SHENG A Z, SU L H, WANG J Y, et al. Hydrazone chemistry mediated toehold strand displacement cascade and its application for 5-hydroxymethylfurfural analysis [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1104(4): 110-116.
- [2] ISIL AKTAG, VURAL GOKMEN. A survey of the occurrence of α -dicarbonyl compounds and 5-hydroxymethylfurfural in dried fruits, fruit juices, puree and concentrates[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2020, 91(8): 103523.
- [3] KONG Q S, LI X L, XU H J, et al. Conversion of 5-hydroxymethylfurfural to chemicals: A review of catalytic routes and product applications [J]. *Fuel Processing Technology*, 2020, 209(1): 106528.
- [4] LEEC H, CHEN K T, LIN J A, et al. Recent advances in processing technology to reduce 5-hydroxymethylfurfural in foods[J]. *Trends in Food Ence& Technology*, 2019, 93(11): 271-280.
- [5] LEI C, IRIS K M, DANIEL C W, et al. Phosphoric acid-activated wood biochar for catalytic conversion of starch-rich food waste into glucose and 5-hydroxymethylfurfural [J]. *Bioresource Technology*, 2018, 267(11): 242-248.
- [6] 孙颖, 丁奇, 张莉莉, 等. Maillard 反应体系中 HMF 和丙烯酰胺的含量分析[J]. *食品科技*, 2016, 41(12): 35-40.
SUN Y, DING Q, ZHANG L L, et al. Analysis of the 5-hydroxymethylfurfural and acrylamide content in Maillard reaction system [J]. *Food Science and Technology*, 2016, 41(12): 35-40.
- [7] 孙颖, 张莉莉, 张王玉, 等. 6 种糖-酶解液模型体系中 5-羟甲基糠醛的形成动力学分析[J]. *食品科学*, 2018, 39(23): 82-88.
SUN Y, ZHANG L L, ZHANG Y Y, et al. Kinetic Studies on 5-hydroxymethylfurfural formation in six sugar-enzymatic protein hydrolysate model systems[J]. *Food Science*, 2018, 39(23): 82-88.
- [8] LI D Y, YUAN Z, LIU Z Q, et al. Effect of oxidation and maillard reaction on color deterioration of ready-to-eat shrimps during storage [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 131(9): 109696.
- [9] HAORAN X, VAROUJAN Y. Mechanochemical generation of schiff bases and amadori products and utilization of diagnostic MS/MS fragmentation patterns in negative ionization mode for their analysis[J]. *Carbohydrate Research*, 2020, 495(7): 108091.
- [10] 钱敏, 白卫东, 蔡培钿, 等. 咸味香精的研究概况 [J]. *中国食品添加剂*, 2008, 6(12): 49-53.
QIN M, BAI W D, CAI P D, et al. The research progress on savory flavoring [J]. *China Food Additives*, 2008, 6(12): 49-53.
- [11] RIOS R, AZCARATE S M, CAMINA J, et al. Assessment of UV-visible spectroscopy as a useful tool for determining grape-must caramel in high-quality wine and balsamic vinegars[J]. *Food Chemistry*, 2020, 323(9): 126792.
- [12] LORENA O, SEBASTIAN H, GUILLERMO M, et al. Insights on the mechanism, reactivity and selectivity of fructose and tagatose dehydration into 5-hydroxymethylfurfural: A DFT study [J]. *Computational and Theoretical Chemistry*, 2020, 1190 (11): 113009.
- [13] CAO L, YU I K, CHEN S S, et al. Production of 5-hydroxymethylfurfural from starch-rich food waste catalyzed by sulfonated biochar[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 252(3): 76-82.
- [14] CHEN L, HUANG H, LIU W B, et al. Kinetics of the 5-hydroxymethylfurfural formation reaction in Chinese rice wine [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(6): 3507-3511.
- [15] FALLICO B, ZAPPALA M, ARENA E, et al. Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys[J]. *Food Chemistry*, 2004, 85(2): 305-313.
- [16] AMEUR L A, MATHIEU O, LALANNE V, et al. Comparison of the effects of sucrose and hexose on furfural formation and browning in cookies baked at different temperatures[J]. *Food Chemistry*, 2007, 101 (4): 1407-1416.
- [17] AMEUR L A, TRYSTRAM G, BIRLOUEZ I. Accumulation of 5-hydroxymethyl-2-furfural in cookies during the backing process: Validation of an extraction method[J]. *Food Chemistry*, 2006, 98(4): 790-796.
- [18] 张王玉, 张兴, 章慧莺, 等. 3 种单糖模拟体系中 5-羟甲基糠醛的形成动力学分析[J]. *食品科学*, 2014, 35(17): 41-47.
ZHANG Y Y, ZHANG X, ZHANG H Y, et al.

- Kinetic studies on 5-hydroxymethylfurfural formation in three kinds of monosaccharide solution model systems during thermal processing[J]. *Food Science*, 2014, 35(17): 41-47.
- [19] 张玉玉, 张兴, 章慧莺, 等. 双糖体系中5-羟甲基糠醛的形成动力学分析[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(3): 93-100.
- ZHANG Y Y, ZHANG X, ZHANG H Y, et al. Analysis of the formation kinetics on 5-hydroxymethylfurfural in disaccharide system during thermal processing[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(3): 93-100.
- [20] ZHANG Y Y, SONG Y, HU X S, et al. Effects of sugars in batter formula and baking conditions on 5-hydroxymethylfurfural and furfural formation in sponge cake models[J]. *Food Research International*, 2012, 49(1): 439-445.
- [21] 阮卫红, 邓放明, 毕金峰, 等. 桃汁热处理过程中非酶褐变动力学研究[J]. *食品科学*, 2014, 35(1): 50-55.
- RUAN W H, DENG F M, BI J F, et al. Kinetic study of non-enzymatic browning of peach juice during thermal treatments[J]. *Food Science*, 2014, 35(1): 50-55.
- [22] 卜利伟, 邱瑞霞, 黄雪松. 黑蒜中呈色物质5-羟甲基糠醛的分离鉴定及其生成动力学[J]. *食品与发酵工业*, 2014, 40(3): 36-40.
- BU L W, QIU R X, HUANG X S. Isolation and identification of color material 5-hydroxy methyl furfural from black garlic and its kinetic formation[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2014, 40(3): 36-40.
- [23] CARABASA-GIRIBET M, IBARZ-RIBAS A. Kinetics of colour development in aqueous glucose systems at high temperatures[J]. *Journal of Food Engineering*, 2000, 44(3): 181-189.
- [24] 张莉莉. 糖-氨基酸反应模型中5-羟甲基糠醛的形成规律分析[D]. 北京: 北京工商大学, 2018: 25-48.
- ZHANG L L. Analysis of 5-hydroxymethylfurfural formation in the sugar-amino acid model system[D]. Beijing: Beijing Technology and Business University, 2018: 25-48.
- [25] MINAMI S, KENTARO M, SHOJI F, et al. Dietary free glutamate comes from a variety of food products in the United States[J]. *Nutrition Research*, 2019, 67(11): 67-77.
- [26] YANG J, HUANG Y, CHUN C, et al. Umami-enhancing effect of typical kokumi-active γ -glutamyl peptides evaluated via sensory analysis and molecular modeling approaches[J]. *Food Chemistry*, 2021, 338(15): 128018.
- [27] JISANG K, YOUNGSON L. Antioxidant activity of Maillard reaction products derived from aqueous glucose/glycine, diglycine, and triglycine model systems as a function of heating time[J]. *Food Chemistry*, 2009, 116(1): 227-232.
- [28] 孙颖. 糖醋排骨热反应香精中5-羟甲基糠醛形成的影响因素分析[D]. 北京: 北京工商大学, 2017: 52-58.
- SUN Y. The analysis of factors on 5-hydroxymethylfurfural formation in sweet and sour spareribs flavoring[D]. Beijing: Beijing Technology and Business University, 2017: 52-58.
- [29] KAVOUSI P, MIRHOSSEINI H, GHAZALI H, et al. Formation and reduction of 5-hydroxymethylfurfural at frying temperature in model system as a function of amino acid and sugar composition[J]. *Food Chemistry*, 2015, 182(2015): 164-170.
- [30] 解怡. NaCl促进L-谷氨酸成肽效应的机理研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2010: 62-65.
- XIE Y. Study on the mechanism of NaCl promoting L-glutamic acid peptide formation[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2010: 62-65.
- [31] ZHANG L L, KONG Y, YANG X, et al. Kinetics of 5-hydroxymethylfurfural formation in the sugar-amino acid model of Maillard reaction[J]. *Journal of the Ence of Food and Agriculture*, 2019, 99(2019): 2340-2347.
- [32] KOK D, ROSING E. Reactivity of peptides in the Maillard reaction[J]. *Microcirculation*, 1993, 18(2): 85-101.

Kinetic Analysis of 5-Hydroxymethylfurfural Formation in Glucose–glutamate Dipeptide Model System

Sun Ying, Zhang Lili, Zhang Yuyu*, Sun Baoguo, Chen Haitao

(College of Chemistry and Materials Engineering, Beijing Technology and Business University,
Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry, Beijing 100048)

Abstract The formation kinetics of 5-hydroxymethylfurfural was investigated in sugar–peptide model systems (glucose–glutamate dipeptide). In this paper, glucose–glutamate dipeptide and 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) contents were indicated by kinetic analysis method. The kinetics analysis showed that the consumption of glucose and glutamate dipeptide were all followed first-order kinetics in glucose–glutamate dipeptide models at 90–110 °C (0–6 h). And the degradation rate of reactants increased gradually with temperature. HMF formation followed zero-order kinetic at 90–95 °C(0–6 h) and followed first-order kinetics at 100–110 °C(0–6 h) in glucose–glutamate dipeptide models.

Keywords 5-Hydroxymethylfurfural; glucose–glutamate dipeptide model system; kinetics