

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

脂質和蛋白質系統氧化劣變螢光生成物之動力學與特性分析

Fluorescent products formed during oxidative deterioration in lipid-protein systems: kinetics and properties

計畫編號：NSC89-2313-B-041-007

執行期限：88年8月1日至89年7月31日

主持人：梁哲豪 嘉南藥理科技大學 食品衛生系

一、摘要

Methyl linoleate-lysine 乳化液、黃豆粉、全脂奶粉等系統，氧化後會生成激發波長 340–350 nm、放射波長 420–440 nm 的螢光性成分。於 pH 7 時，methyl linoleate-lysine 乳化液之螢光生成速率大於 pH 4 和 pH 10 者；於 37–60 °C 氧化時，螢光生成速率隨溫度之上升而提高，且呈零級反應之關係增加，由 Arrhenius 關係式計算之活化能介於 50–60 kJ/mol 之間。

黃豆粉和全脂奶粉於 37–70 °C 氧化時，過氧化價和 TBA 值對時間和溫度之相關性不佳；而前述螢光產物可分離至氯仿/甲醇萃取液之有機層中，且螢光生成速率符合零級反應之關係，螢光產物之活化能分別在 45–60 kJ/mol。以螢光分析法測定螢光氧化產物，並根據零級反應關係和 Arrhenius 方程式，可模擬預測脂質和蛋白質系統於不同溫度和時間下之氧化劣變程度。

關鍵詞：螢光分析法；動力學；氧化

Abstract

The fluorescence of oxidized products showed an excitation maximum at 340–350 nm and an emission maximum at 420–440 nm during storage of methyl linoleate-lysine emulsion, soybean flour, and whole milk powders. The pH influenced fluorescence development in methyl linoleate-lysine emulsion. The fluorescence formation rate was higher at neutral pH. When methyl

linoleate-lysine emulsion was oxidized at temperatures of 37–60 °C, the formation rate of fluorescence increased with temperature. Fluorescence kinetics of methyl linoleate-lysine oxidation showed a zero-order increase, and the rate followed an Arrhenius relationship with activation energies of 50–60 kJ/mol.

Changes in fluorescence and oxidation indices of soybean flour and whole milk powders were studied during storage at 37, 50, 60 and 70 °C. The peroxide value and 2-thiobarbituric acid value did not increase in proportion to the extent of oxidation. The oxidized fluorescent compounds were soluble in the organic phase of chloroform/methanol (2:1, vol/vol) after addition of water. The fluorescence intensity showed a zero-order increase throughout the storage period. The formation rate followed an Arrhenius relationship with activation energies of 45–60 kJ/mol. These results suggest that analysis of fluorescence intensity in the organic phase is a useful indicator for determination of the oxidative deterioration of lipid-protein systems. Experimental kinetic equations were derived to predict the fluorescence intensity in samples due to oxidation at different times and temperatures.

Keywords: spectrofluorometry; kinetics, oxidation

二、計畫緣由與目的

市售含脂質和蛋白質之食品種類相當多，儲存期間品質劣變對健康之危害值得

重視。本計畫針對脂質和蛋白質之乳化液系統和乾燥系統，探討螢光生成物之動力學與影響因子，目的在探討試樣氧化產生之特徵螢光成分，並分析其生成速率對溫度和時間之關係，結果將有助於本類食品品質之檢驗，以應用於控制或改善食品之品質。

三、研究方法

Methyl linoleate-lysine 乳化液系統，以及黃豆粉、全脂奶粉等食品，分別於 37, 50, 60, 70 °C 下氧化，以 transmission 螢光分析法和 reflectance 螢光測定法，分析螢光生成物之特性，探討特徵螢光產物隨儲存時間和溫度之變化，並分析 pH 值對乳化液系統螢光生成物之影響。試樣氧化過程中螢光產物生成速率則利用動力學關係式，以模擬預測脂質和蛋白質系統於不同溫度和時間下之氧化劣變程度。

四、結果與討論

1. Methyl linoleate-lysine 乳化液系統之氧化

Methyl linoleate-lysine 乳化液氧化後會生成激發波長 346 nm、放射波長 434 nm 的螢光性成分(圖一)，且 pH 7 條件下之螢光生成速率大於 pH 4 和 pH 10 者。於 37-60 °C 氧化時，螢光強度隨溫度之提高而上升(圖二)；過氧化價對時間或溫度之相關性則不佳，過氧化價隨時間先上升後下降，可達到之最高濃度則隨溫度之上升而遞減，表示過氧化物之裂解速率隨溫度之上升而加速(圖三)。

Methyl linoleate-lysine 乳化液在 pH 7 時，於 Methyl linoleate 濃度固定時，螢光生成速率隨 lysine 濃度之 0.51 ± 0.01 次方增加；於 lysine 濃度固定時，螢光生成速率隨 methyl linoleate 濃度之 0.75 ± 0.22 次方增加。於 37-60 °C 間，Methyl linoleate-lysine 氧化過程之螢光生成速率常數可由零級反應關係求得，螢光產物生成之活化能則由 Arrhenius 關

係式計算，結果不同 pH 值下之活化能介於 50-60 kJ/mol(表一)。

2. 黃豆粉系統之氧化劣變

黃豆粉於 37、50、60 °C 氧化時，過氧化價和 TBA 值對時間之相關性不佳，以 front-surface 螢光測定法分析時，氧化黃豆粉具有激發波長 350 nm、放射波長 420-430 nm 之特徵螢光，此螢光特徵之氧化產物可分離至氯仿/甲醇萃取液之有機層中(圖四)。氧化過程中，有機層之螢光強度隨時間增加，且螢光生成速率分別為 $60 > 50 > 37$ °C；而氯仿/甲醇萃取液水層中螢光成分隨時間和溫度之變化則不大(圖五)。氯仿/甲醇萃取液有機層之螢光生成速率存在零級反應之關係，37-60 °C 間螢光產物生成之活化能為 47.8 kJ/mol(表二)。

3. 全脂奶粉系統之氧化劣變

全脂奶粉分別於 37、50、60、70 °C 氧化，氧化螢光成分之特徵為激發波長 350 nm、放射波長 440 nm，並可分離至氯仿/甲醇萃取液之有機層中，其螢光強度隨時間增加，螢光生成速率可由零級或一級反應之關係描述(圖六)。不同來源全脂奶粉(WMP1-WMP4)於 37-70 °C 氧化時，螢光生成速率常數對溫度之關係如圖七，活化能等常數見表三。

利用零級反應關係和 Arrhenius 方程式，氧化過程中螢光強度對溫度和時間之關係可以下式描述

$$FI = FI_0 + k_0 t \exp(-E_a/RT)$$

表四為不同來源全脂奶粉氧化過程中螢光測定值和預測值之比較，其數值間無顯著差異($p > 0.05$)。因此利用脂質和蛋白質系統氧化劣變螢光生成物，經由動力學模式之分析，可供本類產品氧化劣變分析之參考。

五、計畫成果自評

本研究之內容與原計畫相符，並達成預期目標。

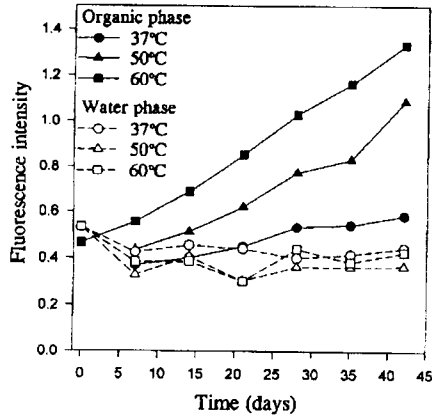


Fig. 5. Changes of fluorescence intensity with time in the organic and water phases of chloroform/methanol extractions after addition of water.

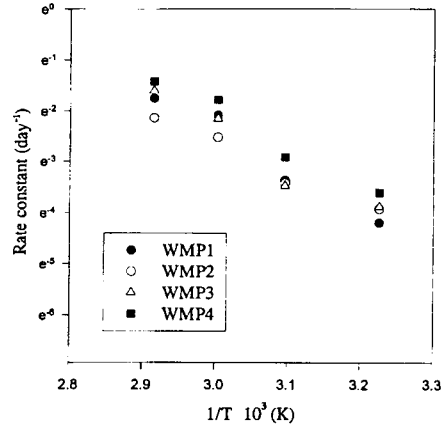


Fig. 7. Arrhenius plot for the formation of fluorescence compounds in whole milk powders.

Table 2
Fluorescence formation kinetics in soybean flour oxidation

Temperature	Fluorescence formation		
	Time (day) ^a	k(day ⁻¹) ^b	r ² ^c
37 °C	0-42	0.0064	0.964
50 °C	0-42	0.0178	0.961
60 °C	0-42	0.0224	0.998
Activation energy		47.8 kJ/mole	0.935

^a Data correspond to the indicated time were employed to calculate zero-order kinetics.

^b k is rate constant value of zero order kinetics.

^c r² is coefficient of determination.

Table 3
Kinetic parameters for formation of fluorescence compounds in whole milk powders during oxidation

Sample	Zero-order analysis		
	E _a (kJ/mole)	ln k ₀	r ²
WMP1	69.6	22.8	0.962
WMP2	50.4	15.5	0.967
WMP3	65.0	21.1	0.930
WMP4	65.2	20.5	0.966

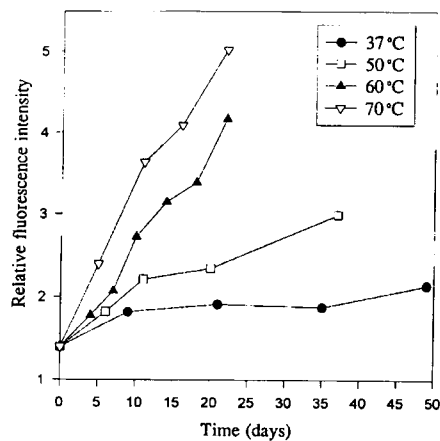


Fig. 6. Changes of fluorescence intensity with time in whole milk powder (WMP1) during oxidation at 37, 50, 60 and 70 °C.

Table 4
Experimental and predictive values of fluorescence intensity in whole milk powders during storage at 60 °C

Time (days)	WMP1 exp/pred	WMP2 exp/pred	WMP3 exp/pred	WMP4 exp/pred
0	1.40 ^a	0.99	1.56	1.50
7	2.07/2.06 (0.63) ^b	1.36/1.48 (8.75)	1.85/2.24 (20.9)	2.08/2.44 (17.3)
14	3.15/2.71 (13.8)	2.22/1.97 (11.4)	2.94/2.92 (0.85)	3.94/3.38 (14.2)
22	4.17/3.47 (16.9)	2.71/2.53 (6.79)	4.02/3.69 (8.23)	4.85/4.45 (8.16)

^a The initial fluorescence intensity (F_{I0}).

^b %error: |experimental-predicted|/experimental × 100