

葡萄糖酸内酯试析——应用制备及检测

上海市油脂科学研究所 陈新民

引言

豆腐是一种营养丰富、物美价廉的传统付食品,深受广大城乡群众所喜爱。然而,豆腐凝固剂的品种、用量及其使用方法对豆腐质量具有决定性的影响。我国制作豆腐已有近千年历史,是豆腐的起源地。但长期以来大体上仍沿用古老的豆腐制作工艺。采用的凝固剂大多是卤水或石膏,制作不当容易使豆腐带有苦涩味,降低了豆腐的食用品质。随着人民生活水平的不断提高,对豆腐制品的数量和质量的要求也日益提高。因此,选用新型凝固剂发展豆腐生产势在必行。

国外对豆腐凝固剂进行了大量的研究,开发了许多种新型凝固剂。其中葡萄糖酸内酯GDL(glucono-delta-lactone即glucono- δ -lactone)尤为引人注目。日本科学家对葡萄糖酸内酯开展了比较广泛的研究,发表的文献包括在日本和欧美诸国申请的专利颇多。美国、西德和荷兰等国也先后发表了一些研究报道。作为使用性能良好的豆腐凝固剂和食品添加剂,葡萄糖酸内酯正日益受到我国食品工业界的关注,一些科研单位相继开展了葡萄糖酸内酯的制备及应用方面的研究工作。

葡萄糖酸内酯的化学物理性质

葡萄糖酸内酯的分子式为 $C_6H_{10}O_6$,分子量178.14。

根据葡萄糖酸内酯分子中C-O-C键上两个碳原子的相对位置不同,可分成1,4内酯和1,5内酯等数种异构体。通常,人们所谈的内酯均指后一种。

葡萄糖酸内酯为白色结晶或结晶状粉末。无嗅或稍带异味。初尝有区别于葡萄糖酸的甜

味,然后稍觉酸味。能溶于水(59克/100克水),微溶于乙醇(1克/100克),不溶于乙醚。遇水易水解成葡萄糖酸。新鲜制取的1%葡萄糖酸内酯水溶液其PH值为3.6,然后在2小时内逐渐降低至2.5^[1]。

美国实验生物学协会 FASEB (Federation of American Societies for Experimental Biology) 从人体健康角度论证葡萄糖酸内酯作为食品添加剂是安全的^[2]。美国食品与药物管理局 USFDA (United States Food and Drug Administration) 也正式加以认可,批准可直接用于食品制作中^[3]。

葡萄糖酸内酯的开发应用

如前所述,由于葡萄糖酸内酯具有易溶于水并能缓慢水解产生葡萄糖酸的特性,它在食品工业中已被广泛地用作蛋白质(豆腐)凝固剂、酸味剂、面制品质量改良剂、pH调节剂及食品防腐剂等。据报道,采用葡萄糖酸内酯作凝固剂制作的豆腐质地结实,带有弹性,易于成型,但豆腐略带酸味。而单用石膏或盐水作凝固剂,则用量过多易产生苦涩味。若将葡萄糖酸内酯与其他凝固剂复合使用,既能降低生产成本又能提高凝固剂的使用性能。郑州粮食学院采用葡萄糖酸内酯与石膏混合凝固剂制作豆腐,在豆腐持水力、硬度、弹性及口感等方面都比较好^[4]。其中,采用内酯/石膏配比为1/3~2/3,加入量为干豆重的2.5%,加入温度在40℃以下所制作的原浆豆腐(即嫩豆腐)其品质较好,豆腐出率为干豆重的5倍;而用配比为1/4.5~1/6,加入量为干豆重的2~2.5%,采用90℃冲浆静置30分钟,破脑挤压成型制作的破浆豆腐(即老豆腐),品质也较好,

豆腐出率为干豆重的 2.5 倍。

作为食品添加剂, 葡萄糖酸内酯也常常与其它添加剂复合使用。据报道^[5], 将葡萄糖酸内酯 0.3~1.0 份、焦磷酸钠 0.8~1.5 份, 单甘油酯 0.2~1.0 份和酪朊钠 0.2~1.4 份混匀后加到面团中, 能改善糕点的细腻感、口味、香味和色泽, 并且能减少煎炸油的耗用量。若将葡萄糖酸内酯(0.1~3%)与淀粉(1~20%)加到未精制的普通面粉中也会显著地改善糕点的口感及其食用品质^[6]。这是提高中、低档糕点质量的一种比较经济有效的方法。另外有报道, 将葡萄糖酸内酯(0.01~0.3%)、抗坏血酸(15~70ppm)及蔗糖脂肪酸酯(0.1~1.0%)混合后加到面团中能改善面包的品质^[7]。

为了延长面包的贮藏期, 将 0.7~1.5 份葡萄糖酸内酯与 1 份醋酸钠混合即成为一种优良的食品保鲜剂和防腐剂^[8]。将用量为 0.25% 的该混合物加到面包中, 可使面包至少保存 4 天而不发霉, 并且使面包的风味及其外观仍然保持良好。这是由于葡萄糖酸内酯在受热时会发生分解, 释放出 H^+ 离子。而 H^+ 离子又与醋酸钠作用产生具有防腐作用的醋酸。

日本学者上野龙三等在西德申请的专利报道^[9], 为了提高葡萄糖酸内酯作为食品酸化剂的使用效果, 应先将其溶于醇溶液中例如丙二醇、丙三醇或乙醇中, 加入少量盐如醋酸钠、磷酸氢钾、谷氨酸钠、碳酸镁或赖氨酸盐酸盐等。具体实例: 将 695 克丙二醇、300 克葡萄糖酸内酯和 5 克醋酸钠在 120℃ 加热搅拌即得到一种稳定而清澈的溶液。这种食品酸化剂可用于豆腐、鱼酱、鸡蛋面或面包的制作工艺中。

在食品工业生产中往往会产生含有蛋白质的废水, 容易被细菌发酵而发臭, 造成环境污染。在废水中加入由钙盐、镁盐和葡萄糖酸内酯混合而成的絮凝剂能使蛋白质聚集沉淀, 再通过物理方法加以除去。尽管这种絮凝剂并不具有生物降解功能, 但却能有效地处理含有蛋白质的废水^[10]。

葡萄糖酸内酯的制备工艺

关于葡萄糖酸内酯制备工艺的文献发表不少, 究其基本原理而言, 大体上可分为生物发酵和化学合成两大类。国外有些学者研究了以葡萄糖酸或其盐类为起始原料制备葡萄糖酸内酯的工艺, 也有一些学者研究了以葡萄糖甚至淀粉为起始原料直接制备葡萄糖酸内酯的工艺。现简要介绍如下。

1. 以葡萄糖为起始原料

(1) 直接制备葡萄糖酸内酯

日本学者锦户条二等人的研究结果表明, 采用以炭为载体的铂或钯催化剂能将葡萄糖直接氧化成葡萄糖酸内酯。催化剂通常配成 5% 的有机溶剂溶液加入; 常用的溶剂如甲醇、二甲基亚砷、N-甲基吡咯烷、二噁烷、二甲氧基乙烷、丁醇等。例如, 5 克粉状葡萄糖加入含有 5 克钯催化剂(含钯量 5%)的 260 克甲醇中, 通入氧气在 50℃ 下反应 2 小时。葡萄糖酸内酯收率为 56%, 葡萄糖转化率为 61%^[11]。若采用等量的铂催化剂在 70℃ 下反应 2 小时, 则葡萄糖酸内酯收率为 49%, 葡萄糖转化率为 57%^[12]。假如将 5% 钯催化剂以 1:2 比例与助催化剂氧化铅混合使用, 则葡萄糖酸内酯收率和葡萄糖转化率分别提高到 83% 和 87%^[13]。

另据报道, 采用生物方法在 50 毫升 10% 葡萄糖溶液中, 加入 100 毫克葡萄糖氧化酶 *Azpergillus Niger*, 在 pH2.0、30℃ 下保温振荡 20 小时。大约有 96.6% 的葡萄糖转化成葡萄糖酸内酯。

S. Ernst 等人对采用电化学方法制取葡萄糖酸内酯作了研究。他们采用磷酸盐缓冲液 (PH7.5), 以铂金属为电极进行阴极氧化反应, 其主要氧化产物为葡萄糖酸内酯。

(2) 制备葡萄糖或其盐类

日本学者塚本丰久等人(日本京都大学)对生物发酵法和化学合成法制取葡萄糖酸分别进行了研究^[16, 17]。在生物发酵法中, 以沉积在活性炭上的葡萄糖氧化酶和催化酶为催化剂, 采用喷淋床反应器。研究结果表明, 在 25℃ 及常压下测定的全反应速率是催化剂用量、粒径、

表面液体速度和表面气体速度的函数。可以认为,反应速率是液体和气体复盖催化剂颗粒表面的速率之总和。在化学合成法中,葡萄糖氧化反应在碱水溶液中进行,以铂为催化剂,采用喷淋床反应器。他们在忽略液固传质效应的前提下测定了氧气在反应中的扩散速率。而液固接触效率的测定是在同一反应条件下进行的。在实验条件范围内(催化剂粒径 0.110~0.242 厘米,表面液体速度 0.0236~0.337 厘米/秒),液固接触效率近乎常数,其平均值为 0.91。而表面气体(氧气)速率对反应速率无显著影响。

我国台湾学者苏逸成(译音)研究了由葡萄糖经生物发酵制取葡萄糖酸钠和葡萄糖酸内酯的工艺^[18]。将含有葡萄糖(或淀粉水解产物)20 份,硫酸铵 0.05 份,磷酸二氢钾 0.1 份,硫酸镁 0.05 份的水溶液在 26~28℃、pH 7.8~8.0 条件下保温 35 小时,97%的还原糖转化成葡萄糖酸钠。将发酵液经离子交换、蒸发及真空脱水即获得葡萄糖酸内酯,其收率为85%。将超细胞葡萄糖氧化酶P. Pullulans培养 20 小时即可获得最大活性。部化纯化的葡萄糖氧化酶被固定在DEAE-Sephadex A-25载体上。天然的和固定的葡萄糖氧化酶的适宜反应温度分别为 25℃和 30℃,而 PH 值二者一样皆为6.0。固定酶的热稳定性优于天然酶。

荷兰学者TM. Dirkx 等人(荷兰技术大学)发表了数篇有关采用铂催化剂氧化葡萄糖制取葡萄糖酸的研究论文^[19]。他指出葡萄糖与化学吸收氧(Pt—O)作用生成葡萄糖酸的反应速率是很快。而在与含氧空气的反应中会发生付反应,产生相当数量的糖醛酸。这一付反应很可能涉及分子态氧,其结果导致葡萄糖分子中伯醇基团及醛基的氧化。在反应过程中,催化剂的失活是由于 PtO₂ 的生成所致。而 PtO₂ 的生成及葡萄糖的氧化在化学上是并存的二个反应。

在化学合成法制取葡萄糖酸的工艺中,还包括采用辐射化学或光化学的制备方法。西德学者 H. P. Degelmann 等人报道^[20],不断通入氧气或氮气鼓泡的葡萄糖溶液在具有适当波长

的高压汞灯下被光分解。在该氧化反应中,加入 H₂O₂ 作氧化剂而不是氧气。由光分解作用产生的 OH 游离基是氧化反应的引发剂。但是该氧化反应的选择性较低。另一位西德学者 Esterbauer, Hermann 等人研究了采用钴 60 γ 射线使葡萄糖溶液发生辐射化学作用从而获得葡萄糖酸,然后将葡萄糖酸从溶液中分离出来并用阴离子交换树脂加以纯化^[21]。

2. 以葡萄糖酸或其盐类为起始原料

波兰学者 Kiersznicki, Tabeusz 等人对这一类制备工艺进行了研究^[22]。其具体方法是将葡萄糖酸钙的单水化物与一定量的硫酸及水混合并加热至 80~90℃,然后将溶液稀释并分别用氢氧化钡溶液及草酸溶液洗涤,过滤。滤液用阳离子交换树脂处理,从而获得含有 99% 与葡萄糖酸内酯的结晶产品。

葡萄糖酸内酯的检测方法

目前,国际上尚未有统一的检测葡萄糖酸内酯的标准方法。从已发表的国外文献来看,检测方法有多种,既有化学分析方法也有仪器分析方法。前者主要是化学滴定法,后者则包括气液色谱。高效液相色谱、质谱和红外光谱等多种方法。检测物种类也有所不同,有些方法侧重于分析葡萄糖氧化产物即由葡萄糖、葡萄糖酸和葡萄糖酸内酯等构成的混合物中的内酯含量,有些方法侧重于分析食品中的内酯含量。由于检测物种类不同,因此检测方法往往也随之不同。通常,分析食品中的内酯含量需要有样品预处理步骤。

在有关葡萄糖酸内酯检测方法的研究文献中,有不少是采用气液色谱法的。在此我们着重加以讨论。

芬兰学者 Hyppanen, Tapani 等人(芬兰 Helsinki 大学)研究了用玻璃毛细管气相色谱仪检测葡萄糖氧化产物的方法^[23]。该方法的基本原理是将葡萄糖酸用弱酸性阳离子交换树脂处理使其转化成铵盐,然后再使其甲硅烷化。采用 OV—101 型石英毛细管色谱柱及火焰离子鉴定器,氢气作载体。尽管这一方法主要用于

测定葡萄糖酸,但是若能将葡萄糖酸内酯定量地转化成葡萄糖酸,则该方法也能较准确地检测内酯含量。

日本学者代三津田等人报道⁽²⁴⁾,用玻璃毛细管气相色谱仪检测食品中葡萄糖酸内酯获得较为满意的结果。具体方法是先将样品用60~70℃水高速均质化,过滤。滤液用NH₄OH—NH₄Cl溶液(PH10)缓冲,并通过阴离子交换树脂QAE-Sephadex A25柱处理。用水冲洗柱子,并用0.1NHCl洗提内酯。将一定量的洗提液蒸发至干,并用吡啶、N,o—双(三甲硅烷基)三氟乙酰胺和三甲基氯硅烷TMS(trimethylchlorosilane)在室温下处理。于是,葡萄糖酸内酯以TMS衍生物的形式加以检测。采用2%OV—17型柱,柱温180℃。测定内酯含量为0.1%的食品如面包、豆腐、果胶等,其内酯回收率为92~106%,标准偏差2.2~9.8%。检测极限约为0.025%。

讨 论

如同其他食品添加剂一样,葡萄糖酸内酯并非是完美无缺的。在实际应用中通常需要同其它食品添加剂复合使用才能起到改善食品质量降低生产成本的作用。就制备工艺而言,尽管国外文献报道不少,但是从工艺的成熟程度及工业上投产的可能性来看,还是以生物发酵法生产内酯较为适合我国国情。因为在国内以淀粉为原料经生物发酵制取葡萄糖进而制取葡萄糖酸钙的生产工艺比较成熟,生产成本也较低。化学合成法生产内酯需要用铂或钯等稀有贵金属,而且所涉及的催化剂制备及废催化剂回收工艺的技术要求较高。

当前,我国食品工业方兴未艾。食品工业在我国国民经济中占有十分重要的地位。然而,国内食品添加剂的生产仍然是食品工业部门的一个薄弱环节。有些食品添加剂至今依靠从国外进口;有些虽然国内已经能够生产,但质差价高。这些都使食品添加剂在食品工业生产中的广泛使用受到限制。顾名思义,食品添加剂在食品中的使用量是不多的。但是对其质

量及食用安全性的要求却较高。因此研究、生产及开发应用食品添加剂不宜一哄而起,而应选择技术力量较强、生产基础较好的大专院校、科研机构和工厂有所侧重地从事这方面的工作。生产食品添加剂的不少主要原料如淀粉、蔗糖、油脂及天然脂肪酸等都来自食品工业本身,我们食品工业部门应当扬长避短搞好这一工作。随着国民经济的不断发展和人民生活水平的逐步提高,对食品数量、质量及品种的要求也日益提高。所以,大力加强食品添加剂的科学研究和生产应用将是今后我国食品工业的一项长期的重要任务。

参考文献:

1. Martha Windholz et al Merck Index 8th edition MERCK & CO New York 1976
2. Gov. Rep. Announce Index (US) 82 (1):42 (1982)
3. Fed Regist 47(159); 35778-80(1982)
4. 魏云路等 郑州粮食学院学报 2:58—61(1984)7
5. 日本公开特许 81 48,845
6. IBID 82 27,692
7. IBID 80 118,334
8. 日本特许 75 21,531
9. Ger Offen 2 158,530
10. 日本公开特许 75 59,399
11. IBID 80 40,606
12. IBID 80 47,672
13. Ger Offen 2,936,652
14. 日本公开特许 82, 08,793
15. S. Ernst et al J. Electroanal. Chem 100:173-83 (1979)
16. Tsukamoto Toyohisa et al Clem Pharm Bull, 30(5):1539—49(1982)
17. Tsukamoto Togohisa et al IBID 28(7):2188—93(1980)
18. Su Yuan-Chi et al Proc Natl Sci Counc Partz (Taiwan) 14:143—60(1977)
19. T. M. Dirkx et al J. Catal 67(1):1—13(1981)
20. H. P. Degelmann et al Zuckerindustrie (Berlin) 107(2):117—25(1982)
21. Esterbauer Llermann Z. N aturforsch, B. Anorg. Chem., Org.chem. 32 B No. 3 315—20
22. Pol 87,391
23. Hyppanen Tapani et al J. Chromatogr. 2610(2):320—3(1983)
24. Taizo Tsuda et al J. Assoc. Off. Anal Chem 66 (6):1532—4(1983)