

3种常见糖类-氨基酸模型产生呋喃的影响因素研究

张雅楠, 黄军根, 聂少平*, 谢明勇

(南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047)

摘 要: 研究pH值、加热温度及加热时间对美拉德反应产生呋喃的影响, 建立3种常见糖类-氨基酸模型即葡萄糖-甘氨酸、果糖-甘氨酸和蔗糖-甘氨酸模型, 利用顶空气相色谱-质谱法检测反应模型生成呋喃的含量, 探究糖类-氨基酸生成呋喃的影响因素。结果表明: 葡萄糖-甘氨酸、果糖-甘氨酸和蔗糖-甘氨酸在加热模式下均可产生一定量的呋喃, pH值、加热温度及加热时间在糖类-氨基酸形成呋喃的过程中均起到非常重要的作用。中性pH值条件下, 3种糖类-氨基酸模型均产生较多呋喃; 另外, 加热温度越高, 加热时间越长, 3种模型体系产生的呋喃含量也越高; 在同等条件下, 果糖-甘氨酸产生的呋喃含量最高, 蔗糖-甘氨酸产生呋喃最少。而在实际食品体系生产中, 这些结果可以为优化加工工艺、抑制呋喃的产生提供一定的理论参考和技术支持。

关键词: 呋喃; 糖类-甘氨酸模型; 影响因素; 顶空气相色谱-质谱法

Some Factors Affecting the Formation of Furan from Three Sugar-glycine Model Systems

ZHANG Ya-nan, HUANG Jun-gen, NIE Shao-ping*, XIE Ming-yong

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: The aim of this study was to quantify furan levels in three sugar-glycine model systems by using headspace gas chromatography mass spectrometry method (HS-GC/MS) and to explore the effects of pH, temperature, and heating time on furan formation in each model system. The results showed that glucose-glycine, fructose-glycine, and sucrose-glycine model systems could product furan by Maillard reaction due to thermal processing and pH, temperature and heating time affected profoundly furan formation in the sugar-glycine model systems. In a neutral solution, sugar-glycine system could form more furan when compared with acid and alkaline solutions. In addition, higher temperature and longer heating time also could result in more furan formation in each sugar-glycine system. Under the same conditions, the amounts of furan formed in fructose-glycine model system were always higher than those in glucose-glycine system. Therefore, this present study could be regarded as a research basis and a technical support for further eliminating the formation of furan in heat-processed foods.

Key words: furan; sugar-glycine model systems; factors; headspace-gas chromatography-mass spectrometry (HS-GC/MS)

中图分类号: TS201.6

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)21-0001-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201321001

呋喃(分子式 C_4H_4O , 英文名furan), 是一种无色的、易挥发的(沸点为 $31^\circ C$)、具有亲脂性的有机化合物^[1-5]。美国食品药品监督管理局(FDA)报道指出在很多热加工处理的食物中检测出呋喃成分, 尤其是罐装类的热加工食品, 其中包括婴儿食品和配方奶粉。另外, FDA分析检验了近340种食品, 其呋喃含量为 $0\sim 170 ng/g$ ^[6]。国际癌症研究机构(IARC)在1995年就发现呋喃对啮齿动物有致癌性和细胞毒性, 并将呋喃归类为可能使人类致癌物质

的2B组^[7]; 而欧盟食品安全局(EFSA)也检测了大量的热加工类食品, 结果均有呋喃存在^[8-9]。

研究表明, 在食品的热加工过程中, 还原糖与氨基酸共同存在时发生美拉德反应, 其产物可以形成呋喃^[10]。Perez-Locas等^[11]通过研究发现, 己糖(hexose)和氨基酸发生美拉德反应, 可以形成中间活性物质1-脱氧邻酮醛糖(1-deoxy-osone)和3-脱氧邻酮醛糖(3-deoxy-osone), 其中前者通过 α -二羰基键断裂形成丁醛糖(aldotetrose), 而

收稿日期: 2012-08-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(30960242); 国家“973”计划项目(2012CB720805)

作者简介: 张雅楠(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品科学。E-mail: zyn880226@163.com

*通信作者: 聂少平(1978—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品化学与分析, 食品营养与安全。E-mail: spnie@ncu.edu.cn

后者也经过一系列反应可以形成2-脱氧丁醛糖(2-deoxy-aldotetrose),如图1所示,以上的中间物都可以通过脱水 and 环化作用最终形成呋喃。Limacher等^[12]也发现,在水溶液中,大约一半的呋喃是由糖片段的重组产生的,源于糖的C2片段(如乙醛和羟乙醛)在丙氨酸、苏氨酸、丝氨酸的存在下,可以通过重组形成呋喃。

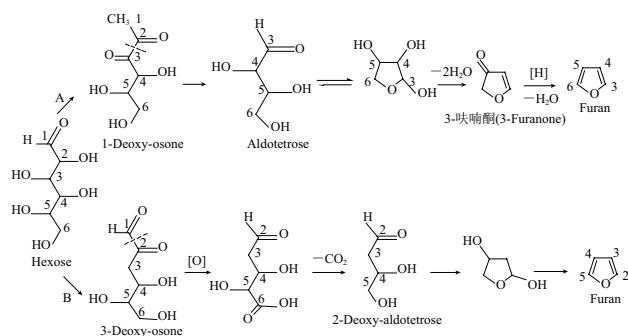


图1 氨基酸存在条件下己糖生成呋喃途径^[11-12]

Fig.1 Mechanistic pathways of furan formation from hexose with amino acids^[11-12]

碳水化合物和氨基酸都是食品中富含的物质,而它们之间的美拉德反应是常见的化学反应,也是在食品热加工过程中不可避免的重要反应。美拉德反应在食品工业中有很多应用,能够通过其产物对食品色泽和香味进行调整,从而提高食品的感官品质,另外其反应产物还具有很好的抗氧化性和抗突变作用,引起了食品工程技术人员的足够重视^[13]。但是上述研究发现美拉德反应还可能产生呋喃,一种具有可能致癌性的污染物。因此,在研究食品热加工中呋喃生成机理和影响因素的过程中,就需要兼顾美拉德反应的正反两方面影响,既要保持其提高食品感官品质的能力,又要降低或抑制其产生呋喃的途径,想要找到其中的平衡点首先就需要对美拉德反应途径生成呋喃的影响因素有一定了解^[14-19]。因此,本实验通过建立3种常见糖类(葡萄糖、果糖和蔗糖)-甘氨酸模型反应物,研究模型在美拉德反应途径形成呋喃的过程中,不同pH值、加热温度及加热时间等食品常见加工工艺条件的影响,对其变化规律进行定量描述和预测,以期对实际食品体系生产中美拉德反应进行合理的控制和利用,从而达到控制生成有害物质呋喃的目的,提高食品质量和安全,为优化加工工艺提供一定的理论参考和技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

D-葡萄糖(≥99%)、D-果糖(≥99%)、蔗糖(≥99.5%)、

甘氨酸(≥99%) 美国Sigma公司;呋喃(>99%)、D4-呋喃(>99%) 德国Dr.Ehrenstorfer GmbH公司。

甲醇(色谱纯) 北京迪科马科技有限公司;磷酸二氢钠、磷酸氢二钠(分析纯) 永大试剂公司。

1.2 仪器与设备

7890A/7000气相色谱-质谱联用仪(配有G1888A自动顶空进样器及20mL顶空样品瓶)、HP-PLOT Q石英毛细管色谱柱(30m×0.32mm, 20μm) 美国Agilent公司; Milli-Q Gradient超纯水器 美国Millipore公司;梅特勒精密pH计 瑞士梅特勒-托利多公司;DF 101-S恒温磁力式搅拌器 中国江苏晓阳电子仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 3种糖类-甘氨酸模型溶液的制备

用50g/L的磷酸二氢钠和磷酸氢二钠溶液配制pH值分别为4.18、7.00、9.40的磷酸盐缓冲液。

准确称量3份(每份0.05mol)葡萄糖、果糖和蔗糖,分别置于3个250mL的容量瓶中,然后分别加入等摩尔的甘氨酸,分别用上述配好的pH值为4.18、7.00、9.40的磷酸盐缓冲液定容至刻度,摇匀,则可得到葡萄糖-甘氨酸、果糖-甘氨酸和蔗糖-甘氨酸3个糖类-氨基酸模型。

1.3.2 pH值和加热温度对3种糖类-甘氨酸模型生成呋喃的影响

准确移取5mL的葡萄糖-甘氨酸、果糖-甘氨酸和蔗糖-甘氨酸模型溶液,分别装至20mL专用顶空瓶中,密封。将顶空瓶作为反应瓶置于恒温磁力式搅拌器中,分别在80、90、100、110、120、130、140、150℃条件下油浴加热30min后,立即取出顶空瓶,冰水浴迅速冷却,再加入40μL质量浓度为2.5μg/mL的D4-呋喃内标液(相当于含D4-呋喃100ng),更换顶空瓶盖,4℃保存,然后通过顶空气相色谱质谱法HS-GC/MS检测分析,记录呋喃的量。

1.3.3 加热时间对3种糖类-甘氨酸模型生成呋喃的影响

准确移取5mL pH9.40的葡萄糖-甘氨酸、果糖-甘氨酸和蔗糖-甘氨酸模型溶液,分别装至20mL专用顶空瓶中,密封。将顶空瓶作为反应瓶置于恒温磁力式搅拌器中,在120℃条件下,分别加热10、20、30、40、50、60min后,立即取出样品,冰水浴迅速冷却,加入40μL质量浓度为2.5μg/mL的D4-呋喃内标液(相当于含D4-呋喃100ng),更换顶空瓶盖,4℃保存,然后通过HS-GC/MS检测分析,记录呋喃的量。

1.3.4 顶空气相色谱-质谱法检测反应体系中呋喃的含量

根据参考文献[20]中的方法绘制呋喃质量为5~1500ng的标准工作曲线,线性方程为 $y=1.0544x+0.1506$,相关系数为0.9993,并对各种模型体系中产生的呋喃进行检测,记下呋喃的量。

2 结果与分析

2.1 pH值和加热温度对3种糖类-甘氨酸模型生成呋喃的影响

2.1.1 对葡萄糖-甘氨酸模型生成呋喃的影响

表1 pH值和加热温度对葡萄糖-甘氨酸溶液产生呋喃的影响
Table 1 Effect of pH and temperature on furan formation in glucose-glycine model systems

加热温度/℃	呋喃质量浓度/(ng/mL)		
	pH4.18	pH7.00	pH9.40
80	ND	ND	ND
90	ND	ND	ND
100	ND	1.08±0.02 ^h	ND
110	ND	1.78±0.03 ^g	ND
120	14.54±2.45 ^e	34.25±4.56 ^d	20.19±3.78 ^e
130	5.97±0.05 ^f	43.23±8.33 ^d	17.14±3.23 ^e
140	17.56±3.30 ^e	88.85±14.22 ^c	79.25±12.34 ^c
150	39.38±3.26 ^d	303.80±26.78 ^a	237.40±22.12 ^b

注：上标小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)；ND. 未检出。下同。

由表1可知，低于110℃时，葡萄糖-甘氨酸溶液基本不生成呋喃，pH值对呋喃产生的作用不显著；但是在高于110℃时，不同pH值的葡萄糖-甘氨酸模型溶液生成呋喃有很明显的不同。即pH4.18的葡萄糖-甘氨酸模型产生的呋喃明显低于pH9.40时的结果 ($P < 0.05$)，而pH7.00葡萄糖-甘氨酸模型产生的呋喃又明显比pH9.40时的多 ($P < 0.05$)。如，140℃时，pH7.00时生成88.85ng/mL的呋喃，高于pH9.40时产生的呋喃79.25ng/mL ($P < 0.05$)，当然也高于pH4.18时生成的呋喃17.56ng/mL ($P < 0.05$)。这说明葡萄糖-甘氨酸模型体系在热加工过程中，pH值对其形成呋喃具有重要影响，中性溶液能促进葡萄糖-甘氨酸模型产生呋喃，而酸性条件下美拉德反应产生的呋喃最低。另外，温度≥110℃时，葡萄糖-甘氨酸模型产生的呋喃量都是随着温度增加而增加。如，pH7.00的葡萄糖-甘氨酸模型溶液在温度120~150℃条件下，其产生的呋喃量为34.25~303.80ng/mL，呈现持续上升的趋势。由此可得出，温度对葡萄糖-甘氨酸模型体系形成呋喃有重要的影响。

2.1.2 对果糖-甘氨酸模型生成呋喃的影响

表2 pH值和加热温度对果糖-甘氨酸溶液产生呋喃的影响
Table 2 Effect of pH and temperature on furan formation in fructose-glycine model systems

加热温度/℃	呋喃质量浓度/(ng/mL)		
	pH4.18	pH7.00	pH9.40
80	ND	1.06±0.02 ^l	ND
90	ND	1.85±0.04 ^k	ND
100	8.31±1.34 ^g	3.57±0.20 ^j	1.09±0.01 ^l
110	18.72±3.45 ^f	5.90±1.03 ^h	2.07±0.07 ^j
120	100.21±20.57 ^{cd}	100.02±19.12 ^{cd}	56.04±7.98 ^d
130	73.32±13.79 ^d	53.62±9.89 ^d	28.71±4.52 ^e
140	107.12±19.12 ^{cd}	122.47±21.73 ^c	93.98±18.21 ^{cd}
150	137.35±23.47 ^c	447.28±33.75 ^a	302.03±34.56 ^b

由表2可知，同葡萄糖-甘氨酸模型相似，在温度≤110℃的范围内，不同pH值条件下的果糖-甘氨酸模型溶液生成呋喃的量基本相同，即pH值对果糖-甘氨酸模型呋喃的产生基本无影响；但当加热温度高于110℃时，不同pH值条件下的果糖-甘氨酸溶液生成呋喃的量差异较大，即pH值对果糖-甘氨酸模型产生呋喃有重要影响。此外，还可以看出，当温度不同时，pH值对果糖-甘氨酸模型产生呋喃的结果也有不同的影响，如，130℃时，模型产生呋喃的量是pH4.18(73.32ng/mL) > pH7.00(53.62ng/mL) > pH9.40(28.71ng/mL)；而150℃时，模型产生呋喃的量是pH7.00(447.28ng/mL) > pH9.40(302.03ng/mL) > pH4.18(137.35ng/mL)，表明pH值和加热温度对果糖-甘氨酸模型产生呋喃有综合影响，二者共同发挥作用。

2.1.3 对蔗糖-甘氨酸模型生成呋喃的影响

表3 pH值和加热温度对蔗糖-甘氨酸溶液产生呋喃的影响
Table 3 Effect of pH and temperature on furan formation in sucrose-glycine model systems

加热温度/℃	呋喃质量浓度/(ng/mL)		
	pH4.18	pH7.00	pH9.40
80	ND	ND	ND
90	ND	ND	ND
100	ND	ND	ND
110	1.66±0.02 ⁱ	ND	ND
120	2.38±0.05 ^g	ND	ND
130	18.05±1.23 ^d	1.80±0.02 ^h	2.45±0.03 ^g
140	51.29±5.67 ^b	9.07±1.33 ^e	6.63±1.23 ^f
150	94.13±12.34 ^a	23.02±2.43 ^c	14.68±2.78 ^d

由表3可知，当低于120℃的加热温度时，不同pH值的蔗糖-甘氨酸模型都基本不产生呋喃，说明pH值对蔗糖-甘氨酸模型呋喃的形成是基本无影响的；但是当温度>120℃的范围内，不同pH值条件下蔗糖-甘氨酸模型产生呋喃有很大的差异。如，140℃时，蔗糖-甘氨酸模型在pH4.18时形成呋喃的量是51.29ng/mL，明显高于pH7.00的产生量9.07ng/mL ($P < 0.05$)，而pH7.00时形成的呋喃的量又高于pH9.40时的呋喃的产生量6.63ng/mL。这就表明蔗糖-甘氨酸模型在热加工过程中，pH值对其形成呋喃影响显著，而且其在碱性条件下最不容易生成呋喃。此外，以pH4.18时的蔗糖-甘氨酸模型为例，在加热温度高于120℃时，蔗糖-甘氨酸模型体系产生的呋喃由2.38ng/mL逐渐上升到94.13ng/mL，明显看出是随着温度上升而增多的。而与上述的葡萄糖-甘氨酸和果糖-甘氨酸模型相比，在相同的处理条件下，蔗糖-甘氨酸模型生成的呋喃最少。

2.2 加热时间对3种糖类-甘氨酸模型生成呋喃的影响

选取3个糖类-甘氨酸模型中的pH9.40溶液为研究对象，在油浴120℃条件下分别加热10、20、30、40、50min和60min。结果如表4所示，总体而言，3个模型产

生的呋喃的量都是随着加热时间的延长而升高。不过对于蔗糖-甘氨酸模型,是加热时间达到40min时,才开始产生少量的呋喃。结果表明,加热时间对3种糖类-甘氨酸模型美拉德途径生成呋喃有显著影响。此外,果糖-甘氨酸产生呋喃的量高于葡萄糖-甘氨酸的,而蔗糖-甘氨酸产生呋喃最少。

表 4 加热时间对葡萄糖-甘氨酸、果糖-甘氨酸和蔗糖-甘氨酸溶液产生呋喃的影响

加热时间/min	呋喃质量浓度/(ng/mL)		
	葡萄糖-甘氨酸	果糖-甘氨酸	蔗糖-甘氨酸
10	1.30±0.04	6.71±0.12	ND
20	13.85±2.32	24.94±3.23	ND
30	20.19±3.78	56.04±7.98	ND
40	578.30±24.86	693.41±15.66	2.50±0.06
50	775.59±34.27	1012.20±56.76	6.33±1.24
60	831.90±41.23	1521.97±49.63	14.89±2.32

3 结 论

食物中一般都含有碳水化合物和氨基酸,而在食品加工中也不可避免地会发生碳水化合物和氨基酸之间的美拉德反应,本研究利用简单的糖类-甘氨酸模型有助于研究其产生呋喃的途径和机理,从而为食品体系加工工艺的优化提供一定的理论参考。结果表明,pH值、加热温度和加热时间都是3种常见糖类-甘氨酸模型生成呋喃的重要影响因素。葡萄糖-甘氨酸模在酸性体系中产生的呋喃量最少;而pH值和加热温度对果糖-甘氨酸形成呋喃起到综合的影响作用;而蔗糖-甘氨酸,其在碱性pH值条件下最难产生呋喃。另外,蔗糖-甘氨酸在低于120℃的温度条件下基本不会产生呋喃;即使在高温条件下,蔗糖-甘氨酸产生的呋喃也比葡萄糖-甘氨酸和果糖-甘氨酸生成的呋喃量少很多。此外,葡萄糖-甘氨酸、果糖-甘氨酸、蔗糖-甘氨酸模型都是随着加热温度的升高而生成更多的呋喃。

因此,合理使用柠檬酸等pH值调节剂调节食品体系的pH值,控制适当的加热温度,减少加热时间,以达到减少或者抑制呋喃产生的效果。在实际应用中,还要注意尽可能维持食品原有风味和感官特性。此外,糖类通常是食物中的必要添加物,根据本研究结果,还可以从优化食物配方的角度来减少呋喃的产生,例如,当食物配方中需要加入糖类物质时,用蔗糖代替葡萄糖和果糖,可以减少热加工过程中的呋喃产生量。

参考文献:

- [1] 谢明勇, 黄军根, 聂少平. 热加工食品中呋喃的研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(1): 1-8.
- [2] MAGA J A. Furan in foods[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1979, 11: 35-40.
- [3] CREWS L, CASTLE A. A review of the occurrence, formation and analysis of furan in heat-processed foods[J]. Trends in Food Science and Technology, 2007, 18: 365-372.
- [4] VRANOVA J, CIESAROVA Z. Furan in food: a review[J]. Journal of Food Science, 2009, 27(1): 1-10.
- [5] CREWS L, CASTLE A. A review of the occurrence, formation and analysis of furan in heat-processed foods[J]. Trends in Food Science and Technology, 2007, 18: 365-372.
- [6] US Food and Drug Administration. Exploratory data on furan in food[R]. Washington DC: FDA, 2004, http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/04/briefing/4045b2_09_furan%20data.pdf.
- [7] International Agency for Research on Cancer, WHO. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans[R]. Monaco: WHO, 1995, 63: 393.
- [8] EFSA. Report of the scientific panel on contaminants in the food chain on provisional findings of furan in food[R]. Parma: EFSA, 2004, 137: 1-20.
- [9] EFSA. Report of the CONTAM panel on provisional findings on furan in food[R]. Parma: EFSA, 2004.
- [10] BALTES W, BOCHMANN G. Model reactions on roast aroma formation. 1. Reaction of serine and threonine with sucrose under the conditions of coffee roasting and identification of new coffee aroma compounds[J]. Agricultural and Food Chemistry, 1987, 35(3): 340-346.
- [11] PEREZ-LOCAS C, YAYLAYAN V. Origin and mechanistic pathways of formation of the parent furan: a food toxicant[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(22): 6830-6836.
- [12] LIMACHER A, KERLER J, DAVIDEK T, et al. Formation of furan and methyl-furan by Maillard-type reactions in model systems and food[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56: 3639-3647.
- [13] 蔡妙颜, 肖凯军, 袁向华. 美拉德反应与食品工业[J]. 食品工业科技, 2003, 24(7): 90-93.
- [14] HASNIP S, CREWS C, CASTLE L. Some factors affecting the formation of furan in heated foods[J]. Food additives and contaminants, 2006, 23(3): 219-227.
- [15] BECALSKI A, SEAMAN S. Furan precursors in food: a model study and development of a simple headspace method for determination of furan[J]. Journal of AOAC International, 2005, 88: 102-106.
- [16] van LANCKER F, ADAMS A, OWCAREK-FENDOR A, et al. Mechanistic insights into furan formation in Maillard model systems[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59: 229-235.
- [17] YAYLAYAN V, KEYHANI A, WNOROWSKI A. Formation of sugar-specific reactive intermediates from C-13-labeled L-serines[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(3): 636-641.
- [18] YAYLAYAN V A, MACHIELS D, ISTASSE L. Thermal decomposition of specifically phosphorylated D-glucoses and their role in the control of the Maillard reaction[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(11): 3358-3366.
- [19] JENNIFER M, ROBIN C, GARY J. Effect of pH, temperature, and moisture on the formation of volatile compounds in glycine/glucose model systems[J]. Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49: 4315-4323.
- [20] 张雅楠, 黄军根, 聂少平, 等. 顶空气相色谱-质谱法检测市售热加工食品中的呋喃[J]. 南昌大学学报: 工科版, 2012, 34(2): 107-110.