

论著

非还原性糖对丙烯酰胺形成的抑制作用

侯 咏^{1,2} 孙长颢² 杨丽炜¹ 扬长志¹ 刘 永¹
(1. 黑龙江出入境检验检疫局,黑龙江 哈尔滨 150001;
2. 哈尔滨医科大学公共卫生学院,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘 要:目的 建立丙烯酰胺(AcA)生成的水相模型,研究非还原性糖对其形成的抑制作用。方法 根据 AcA 的形成机理用天门冬酰胺和葡萄糖在高温下反应生成高含量的 AcA,添加 3 种还原性糖(果糖、半乳糖、麦芽糖)和 5 种非还原性糖(木糖醇、甘露醇、海藻糖、蔗糖、山梨醇)研究抑制效果。结果 确定了生成 AcA 的最佳条件为 0.1 mmol 天门冬酰胺(0.015 g)、0.1 mmol 葡萄糖(0.020 g)、蒸馏水(10 μl)于干燥箱中160 反应 30 min。甘露醇、山梨醇、木糖醇对 AcA 生成的抑制率分别为 43 %、16 %、6 %,海藻糖对 AcA 的抑制率为 60 %。结论 非还原性糖中除蔗糖外都对 AcA 的形成有抑制作用,海藻糖和甘露醇是最佳抑制性添加剂。
关键词:丙烯酰胺;非还原性糖;模型;结构

表 2 国内外贝类水产品重金属限量标准 mg/kg

国家或地区	Hg	As	Cd	Cr	Pb	资料来源
CAC 标准	0.5	-	1.0	-	1.0	[9]
中国大陆	0.3	1.0 ^a	0.1	2.0	0.5	[1]
澳大利亚	0.5, 1.0	1.0, 1.5	0.2~5.5	-	-	[15]
加拿大	0.5	3.5	-	-	-	[15]
中国香港	0.5	10	2.0	1.0	6.0	[11]
美国	1.0	-	-	-	-	[15]
新西兰	0.5	-	-	-	-	[15]
日本	0.4	-	-	-	-	[16]

注:a 为无机砷含量;“-”表示相关国家或地区标准中对该项指标未予限值要求。

综合以上分析,考虑到贝类食用安全 and 人体健康,兼顾国际标准和国内外贸易要求,我国海洋贝类生物标准中重金属指标,特别是铅、镉的限量要求,应考虑予以适当放宽。

参考文献

[1] GB 18406.4—2001. 农产品安全质量·无公害水产品安全要求[S].
[2] 张卫兵,王咸钢,周颖,等. 南通沿岸贝类体内重金属含量分析[J]. 中国公共卫生,2003,19(12):1490-1491.
[3] BERROW S D. Heavy metals in sediments and shellfish from Cork Harbour, Ireland[J]. Mar Pollut Bull, 1991,22(9):467-479.
[4] 高淑英,邹栋梁. 湄洲湾生物体内重金属含量及其评价[J]. 海洋环境科学,1994,13(1):39-45.

[5] CHEUNG Y H. Trace metal contents of the pacific oyster (Crassostrea gigas) purchased from markets in Hongkong[J]. Environ Manag, 1992,16(6):753-761.
[6] 罗伟权. 珠江口海域重金属污染浅析[J]. 海洋通报,1984,3(5):64-69.
[7] 吕海燕,曾江宁,周青松,等. 浙江沿海贝类生物 Hg、Cd、Pb、As 分析[J]. 东海海洋,2001,19(3):25-31.
[8] 薛克,韩家波,庄人沁. 辽宁沿海贝类重金属含量调查[J]. 水产科学,1994,13(2):16-19.
[9] 郑云雁. 食品中污染物的中国国家标准及国际法典标准对比(一)化学污染物[J]. 中国食品卫生杂志,2002,14(1):47-53.
[10] 杨惠芬,梁春穗,董仕林,等. 食品中无机砷限量卫生标准的研究[J]. 中国食品卫生杂志,2003,15(1):27-31.
[11] 香港食物环境卫生署. 食物掺杂(金属杂质含量)规例[EB/OL]. <http://sc.info.gov.hk/20020706>.
[12] 黄宏瑜,许悦生,王丽玲,等. 珠海市售水产品中汞镉铅砷污染状况[J]. 中国公共卫生,1998,14(1):23-25.
[13] 赵丹宇,郑云雁,李晓瑜. 编译. 国际食品法典应用指南[M]. 北京:中国标准出版社,2001.
[14] 中华人民共和国卫生部. 参加第 34 次食品添加剂和污染物法典委员会会议报告(摘要)[EB/OL]. [2002-07-19]. <http://www.moh.gov.cn>.
[15] 郑长春,许昆灿. 长江口以南沿岸海域主要贝类卫生质量[J]. 台湾海峡,1994,13(2)138-143.
[16] 中国渔市. 日本水产品食品卫生要求介绍[OL]. [2001-08-04]. <http://www.cfm.com.cn>.

[收稿日期:2007 - 07 - 28]

中图分类号:R15;X503.225 文献标识码:A 文章编号:1004 - 8456(2008)01 - 0027 - 03

作者简介:侯咏 女 博士生

Suppressive Effect of Non-reducing Saccharides on Acrylamide Formation

HOU Yong, SUN Chang-hao, YANG Li-wei, YANG Chang-zhi, LIU Yong

(Heilongjiang Entry - Exit Inspection and Quarantine Bureau of the P. R. of China,
Heilongjiang Harbin 150001, China)

Abstract: Objective To set up aqueous model of formation of acrylamide (AcA), and investigate the suppressive effect of nonreducing saccharides on AcA formation. **Method** Asparagine and glucose heated at the condition of high temperature produced significant amounts of AcA in order to investigate suppressive effect of 3 reducing saccharides (fructose, galactose and maltose) and 5 non-reducing saccharides (xylitol, mannitol, trehalose, sucrose and sorbitol). **Results** The best conditions on AcA formation were 0.1 mmol asparagines (0.015 g), 0.1 mmol glucose (0.020 g) and distilled water (10 μ l) in the drying boxes under 160 with reaction time 30 min. The suppressive rates of mannitol, sorbitol and xylitol on AcA formation were 43%, 16% and 6%, respectively, and suppressive rate of trehalose on AcA formation was 60%. **Conclusion** Non-reducing saccharides except for sucrose have suppressive effect on AcA formation. Trehalose and mannitol may be the best suppressive additives.

Key word: Acrylamide; Non-Reducing saccharides; Models, Structural

2002 年瑞典国家食品局和 Stockholm 大学的研究结果发现,长时间油炸食品,如炸土豆条,特别是法式炸土豆条和谷物中含有一定量的具有神经毒性和潜在致癌性的丙烯酰胺(acrylamide AcA)^[1],虽然到目前为止还没有报道证明 AcA 对人体致癌,但动物试验和体外细胞试验都证明 AcA 确实可导致遗传物质的改变和癌症的发生^[2],长期摄入 AcA 也可产生营养性毒物兴奋效应^[3]。目前,降低 AcA 的方法研究主要是降低土豆的 pH 值^[4],但添加酸性物质对口感影响较大,需要寻找更为理想的添加剂。AcA 的生成是土豆和淀粉中的主要氨基酸天门冬酰胺和还原性糖发生美拉德反应^[5,6],美拉德反应又称非酶褐变反应,它使油炸食物具有诱人香气和色泽。本文根据此原理模拟土豆油炸时的条件建立生成 AcA 的反应模型,该模型重复性好,生成含量稳定,并以此研究了添加非还原性糖是否对 AcA 的形成有抑制作用。

1 材料与方法

1.1 试剂与主要仪器

甘露醇(纯度 > 99%)、果糖(> 99%)、半乳糖(> 99%)、麦芽糖(> 99%)、山梨醇(> 99%)、木糖醇(98.0%)、维生素 C(> 99%)、海藻糖(> 99%)、葡萄糖(M = 180, 纯度 > 99%)、蔗糖(> 99%)均购自北京麒麟生物制品公司。天门冬酰胺(M = 150.13, 纯度 > 99%)、AcA 标准品(99.9%)均购自美国 Sigma 公司。其它试剂为分析纯。

Agilent1200 高效液相色谱仪、Inertsil ODS - C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, i. d. , 5 μ m) 色谱柱,电热鼓风干燥箱(重庆试验设备厂,最高温度 300)。

1.2 方法

1.2.1 反应模型的建立 为使反应模型能生成足量的 AcA 从而易于被检测器检出,需要通过实验确定: 最佳反应时间和反应温度; 反应体系中各组成成分的构成比包括天门冬酰胺和葡萄糖的摩尔比和加入水分的百分比。方法为准确称取一定含量的天门冬酰胺和葡萄糖放于 5 ml 圆底磨口离心玻璃瓶中,加入水后旋紧玻璃瓶盖,充分混匀后放于干燥箱中加热,反应完毕待温度恢复到室温后取出,加入 5 ml 水在超声波中震荡,使壁上的反应物全部溶解到水中,待净化。

1.2.2 洗脱 用 AcA 标准品做洗脱试验,确定收集前 2 ml 洗脱液,并确定真空抽取速度在 28 ~ 32 滴/min。标准品不需要净化,试样液的净化用活性炭柱。方法是先用 5 ml 水、5 ml 甲醇和 5 ml 水洗柱,再将 5 ml 试样液装柱,真空抽取速度控制在 28 ~ 32 滴/min,待试样液全部通过柱子后,加 5 ml 甲醇洗脱,滴速同前,收集前 2 ml 洗脱液过 0.45 μ m 滤膜供色谱分析。

1.2.3 色谱分析 Inertsil ODS - C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, i. d. , 5 μ m) 色谱柱,紫外检测器,波长 210 nm,柱温 30 ,流动相:水 + 甲醇(95 + 5),流速:1.0 ml/min,进样量 20 μ l。

1.2.4 各种糖对 AcA 生成的抑制效果 先将天门冬酰胺和 3 种还原性糖(果糖、半乳糖、麦芽糖),5 种非还原性糖(木糖醇、甘露醇、海藻糖、蔗糖、山梨醇)分别反应,观察生成的 AcA 的情况,选择具有抑制作用的糖类加入反应体系中和天门冬酰胺与葡萄糖同时反应,观察抑制效果。

2 结果与讨论

2.1 AcA 反应体系的建立

2.1.1 反应体系的温度、时间 AcA 只有在反应温度超过100 时才能生成,超过170 大多数食物会变黑变焦,所以反应体系温度确定为160 使生成含量达到最高而又不至于碳化;反应时间越长生成 AcA 含量越多,但是超过 40 min 后糖就会碳化,因此确定反应时间为 30 min^[1,3,5,6]。

2.1.2 反应体系中水分的含量 食物在油炸或烘烤的过程中水分丧失较快,要模拟这个过程,混合物应在干燥条件下或含微量水分后加热才比较相近,实验中选择水分占反应物总质量的 0 %、10 %、20 %、30 %、40 %、50 %分别进行测定,发现水分含量在 10 %~20 %之间 AcA 的生成最多,含有 50 %的水分几乎没有 AcA 生成,这与水煮土豆中检测不到 AcA 结果相符。为使糖和氨基酸在水中更好地混合,水分含量确定为 20 %。见表 1。

表 1 实验体系中水分含量对丙烯酰胺形成的影响

水分体积 (μl)	水分质量 浓度 (%)	实验次数	AcA 峰面积 (均数 ±标准差)
0	0	3	73.3 ±4.2
5	10	3	224.2 ±8.9
10	20	3	297.4 ±10.3
23	30	3	209.5 ±12.5
35	40	3	199.0 ±4.8
100	50	3	0.0

2.1.3 反应体系中天门冬酰胺 (Asn) 和葡萄糖 (Glu) 的摩尔比确定 反应物体系 A 组分别含有 0 ~0.6 mmol 的天门冬酰胺与 0.1 mmol 葡萄糖;反应体系 B 组分别含有 0 ~0.6 mmol 的葡萄糖和 0.1 mmol 的天门冬酰胺。结果表明当两者摩尔比例接近 1 1 时反应生成的 AcA 含量较多且完全能被液相色谱检测,因此确定反应体系如下。

0.1 mmol 天门冬酰胺 (0.015 g)、0.1 mmol 葡萄糖 (0.020 g)、蒸馏水 (10 μl)、各种抑制性添加剂,于干燥箱中160 反应 30 min(见图 1)。

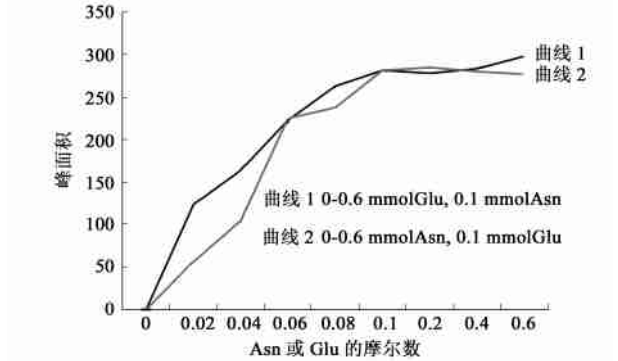


图 1 反应体系中不同比例天门冬酰胺和葡萄糖生成 AcA 量

2.2 天门冬酰胺和不同种类糖、醇形成 AcA 还原糖的分子中含有游离醛基或酮基,葡萄糖

分子中含有醛基,果糖分子中含有游离的酮基,乳糖和麦芽糖分子中含有游离的潜醛基,所以葡萄糖、果糖、麦芽糖、乳糖都是还原性糖,蔗糖虽然本身不具有还原性,但加热后通过水解能生成葡萄糖和果糖从而具有还原特性。糖醇是由相应的糖经过加氢还原而成,不具有还原性。由表 2 可见醇类不会和天门冬酰胺生成 AcA。海藻糖是由两个葡萄糖分子以 α, α,1,1 - 糖苷键构成的非还原性糖,高温加热后不着色、不分解、不产生褐变反应,也不与天门冬酰胺生成 AcA。根据表 2 的实验结果选择木糖醇、甘露醇、山梨醇和海藻糖研究他们的抑制作用。

表 2 不同种类糖、醇和天门冬酰胺形成丙烯酰胺

糖、醇	AcA (mg)	糖、醇	AcA (mg)
果糖	344.9 ±15.3	蔗糖	190.5 ±20.9
木糖醇	0.0	甘露醇	0.0
海藻糖	0.0	半乳糖	189.2 ±30.8
麦芽糖	162.8 ±9.1	山梨醇	0.0
葡萄糖	157.1 ±24.3		

注:糖、醇 天门冬酰胺为 1 mol 1 mol。

2.3 非还原性糖对 AcA 生成的抑制作用

非还原性糖对 AcA 生成的抑制作用见表 3,甘露醇、山梨醇、木糖醇对 AcA 生成的抑制率分别为 43 %、16 %、6 %,海藻糖对 AcA 的抑制作用最强,通过高效液相色谱法^[7]测定峰面积,反应体系中加入海藻糖与不加入海藻糖峰面积分别为 158.457 和 397.015,抑制作用达到 60 % (见图 2、3)。

表 3 非还原性糖对丙烯酰胺生成的抑制作用

非还原性糖	AcA (mg)	抑制率 (%)
空白对照(葡萄糖)	202.8 ±13.4	0
木糖醇	189.4 ±10.2	6
甘露醇	114.4 ±28.5	43
海藻糖	81.6 ±15.8	60
山梨醇	170.0 ±16.7	16

注:糖、醇 比天门冬酰胺为 1 mol 1 mol。

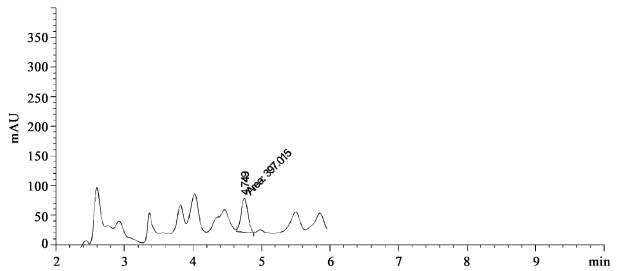


图 2 无海藻糖时天门冬酰胺和葡萄糖生成丙烯酰胺的 HPLC 图

目前,大量控制 AcA 含量的研究重点在影响其形成的各个因素上面。欧仕益^[9]等人曾报到过添加 Ca 剂和 NaHSO₃ 形成中间体复合物,从而影响丙稀

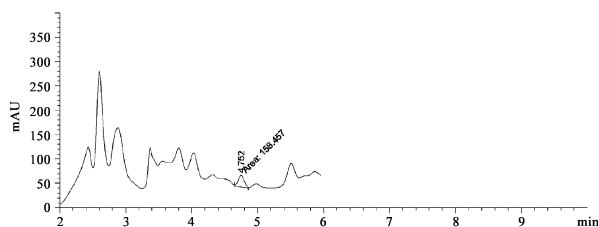


图 3 有海藻糖时天门冬酰胺和葡萄糖生成
丙烯酰胺的 HPLC 图

酰胺的形成,但比起糖醇食品类添加剂,他们在味道、口感和安全性方面有所欠缺。国外的研究重点是通过提高培育温度等方法降低土豆本身含有的还原性糖含量^[10],但周期较长难以实现。糖醇类添加剂的弊端是增加了生产成本。总之,寻找工艺简单、成本低廉的降低 AcA 的方法是今后研究的方向。

参考文献

[1] Swedish National Food Agency website[DB/OL]. <http://www.slv.se>.

- [2] WHO. Guidelines for drinking water quality [M]. Second. Geneva, 1993(1): 73.
- [3] HAYES D P. Nutritional hormesis [J]. Eur J Clin Nutr, 2006, 24.
- [4] AGNIESZKA K, ERLAND B, SVEIN H, et al. Effective ways of decreasing acrylamide content in potato crisp during processing [J]. Agric Food Chem, 2004, 52: 7011 - 7016.
- [5] MOTTRAM D S. Acrylamide is formed in maillard reaction [J]. Nature, 2002, 419: 448-449.
- [6] STADLER R H. Acrylamide from maillard reaction products [J]. Nature, 2002, 419: 449.
- [7] 侯咏,孙长颢,富英群,等.油炸食品中丙烯酰胺高效液相色谱法测定[J].中国公共卫生,2006,8(22):986.
- [8] KAZUYUKI O, MAYUMI K, TOHRU O, et al. Suppressive effect of trehalose on acrylamide formation from asparagines and reducing saccharides[J]. Biochem, 2005, 69(8): 1520-1526.
- [9] 林奇龄,欧仕益,黄才宽,等.几种添加剂对热加工食品中丙烯酰胺产生的影响[J].食品科技,2005,3:54.
- [10] 侯咏,富英群,孙长颢.食品中丙烯酰胺分析方法的研究进展[J].中国国境卫生检疫杂志,2006,6(29):381-384.

[收稿日期:2007 - 05 - 09]

中图分类号:R15;O623.626 文献标识码:A 文章编号:1004 - 8456(2008)01 - 0029 - 04

[上接]

“福建省河鲀鱼安全利用状况调查分析”的调查研究由于我国对河鲀鱼食用的限制,拿不到多少数据,所以只是一个概况。

为配合“全国青少年儿童食品安全行动”,本期我们刊登了3篇关于幼儿和学生食堂的文章。我国第三季度发生在集体食堂的食物中毒54起,其中25起发生在学校集体食堂。主要原因是食品采购、餐具消毒、加工储存等关键环节把关不严,导致食物变质、原料和用具容器污染(见本刊“卫生部办公厅关于2007年第三季度食物中毒情况的报告”)。“学校食品卫生安全工作的探索与实践”一文的工作做得非常好。学校位于监督与经营者之间,对于执法者,学校是管理相对人,对于食堂的经营者,学校是管理者。除了法律关系,学校与执法者的关系还是积极寻求业务指导;除了管理关系,学校与食堂经营者的关系是热情帮助,不但从业务上帮助,而且从感情上温暖。这样不但提高了工作质量,而且减少了监督机构的工作量;不但避免了无意造成的食物中毒,而且可避免故意造成的食物中毒,保证了师生的饮食安全。这篇文章中关心食堂经营者的人文情怀值得大家学习。希望通过这样的工作,大幅度减少学校集体食堂的食物中毒。“私立幼儿园食品卫生状况的调查”的作者对经济体制改革后产生的新事物比较敏感,做了认真的工作,对加强对私立幼儿园的食品卫生管理提供了信息。

2007年12月卫生部在10个省、自治区、直辖市进行了餐饮消费安全专项整治工作,欢迎大家认真学习陈啸宏副部长的讲话,对所做的工作认真总结积极投稿。

我国从2007年起在10个试点开展餐饮业卫生监督公示制度。本期我们刊登了“餐饮业试行卫生监督公示制度问答”,对在执行工作时发生的问题解惑答疑。希望试点的同志就该项工作撰文,为将来工作的进一步开展提供经验和教训。

2006年7月,第29届CAC大会确定我国为国际食品法典农药残留委员会和国际食品法典食品添加剂委员会新任主席国,本期我们特邀何艺兵等同志就我国举办的国际食品法典农药残留委员会第39届会议的主要内容进行了报道,请大家关注。

《中国食品卫生杂志》在大家的关心与爱护下,每年都有一定的进步,我们将中国科学技术信息研究所万方数据库关于本刊的信息见期刊信息浏览,敬请大家浏览。

参考文献

[1] 乔富龙. 推动中国奶业实现跨越式发展[J]. 乳业科学与技术, 2007, (6): 269.