

“水解植物蛋白液+葡萄糖”模型热反应中 3-氯-1,2-丙二醇的研究

黄明泉^{1,2,3*}, 吴继红^{1,2,3}, 孙宝国^{1,2,3}, 陈海涛^{1,2,3}, 田红玉^{1,2,3}, 孙培培^{1,2,3}

(1. 北京工商大学 北京市食品风味化学重点实验室, 北京 100048;

2. 北京工商大学 食品质量与安全北京实验室, 北京 100048;

3. 北京工商大学 食品添加剂与配料北京高校工程研究中心, 北京 100048)

摘要: **目的** 通过设计“水解植物蛋白液+葡萄糖”热反应模型, 并结合气质联机对模型热反应中生成的 3-氯-1,2-丙二醇(3-MCPD) 的含量进行分析。 **方法** 通过单因素实验考察不同 3-MCPD 含量的水解植物蛋白(HVP)液、葡萄糖用量、反应温度、反应时间等因素对模型热反应产物中 3-MCPD 含量的影响, 并初步探究 3-MCPD 的生成规律。 **结果** 模型热反应产物中 3-MCPD 含量随着 HVP 液中 3-MCPD 的含量增加而增加; 随着葡萄糖用量增加而减少; 随着反应温度的升高, 3-MCPD 的量先增加后减少, 在 100 °C 达到最大, 120 °C 开始减少, 140 °C 急剧减少; 在一定的时间范围内, 3-MCPD 的生成量随着反应时间的增加而升高。 **结论** 该热反应模型的构建, 对 3-MCPD 的生成规律探究有一定的价值, 为实际生产中减少 3-MCPD 的含量具有指导作用。

关键词: 3-氯-1,2-丙二醇; HVP 液; 葡萄糖; 模型热反应

Studies on the formation of 3-chloro-1, 2-propanediol in the model of hydrolyzed vegetable protein liquid and glucose

HUANG Ming-Quan^{1,2,3*}, WU Ji-Hong^{1,2,3}, SUN Bao-Guo^{1,2,3}, CHEN Hai-Tao^{1,2,3}, TIAN Hong-Yu^{1,2,3}, SUN Pei-Pei^{1,2,3}

(1. Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;

2. Beijing Laboratory of Food Quality and Safety, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;

3. Beijing Higher Institution Engineering Research Center of Food Additives and Ingredients, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

ABSTRACT: Objective The effects of thermal reaction meaty flavorings ingredients and processing on 3-chloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) have been investigated using gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS) in this paper. **Methods** The proposed protocol is based on the establishment of model which is consisted of hydrolyzed vegetable protein (HVP) liquid and glucose. **Results** The amount of HVP and glucose, reaction temperature and reaction time were all key factors on generation of 3-MCPD. 3-MCPD levels increased with raising the amount of HVP liquid. But the amount of glucose had an inhibiting effect on 3-MCPD levels. The influence of the system tem-

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31101350)、北京市属高等学校高层次人才引进与培养计划项目(CIT&TCD201404034)、国家科技计划项目子课题项目(2012BAK17B11-4)

Fund: Supported by Young National Natural Science Fund Project (31101350), the Importation and Development of High-Caliber Talents Project of Beijing Municipal Institutions(CIT&TCD201404034), and Chinese Twelve-second National Science and Technology Support Program (2012BAK17B11-4)

*通讯作者: 黄明泉, 博士, 副教授, 主要研究方向为香料香精、食品分析与检测。E-mail: hmqsir@163.com

*Corresponding author: HUANG Ming-Quan, Ph. Doctor, Associate Professor, School of Food and Chemical Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China. E-mail: hmqsir@163.com

perature was relatively complicated. Raising temperatures lead to more 3-MCPD generation at first, but then the amount of 3-MCPD decreased. With the increase of reaction time, the content of 3-MCPD increased to a high level.

Conclusion The construction of thermal reaction model for generating of 3-MCPD is valuable in reducing the amount of 3-MCPD in the actual production.

KEY WORDS: 3-chloro-1, 2-propanediol, hydrolyzed vegetable protein, glucose, thermal reaction model

1 引言

氯丙醇一般指丙三醇上羟基被氯原子取代所构成一系列同系物、同分异构体的总称,包括 3-氯-1,2-丙二醇 (3-MCPD)、2-氯-1,3-丙二醇 (2-MCPD)、1,3-二氯-2-丙醇 (1,3-DCP) 和 2,3-二氯-1-丙醇 (2,3-DCP)^[1]。3-MCPD 因在食品中污染量最大,毒性强^[2,3],常作为氯丙醇的代表和毒性参照物。国外的相关研究显示,各类食品都可能存在氯丙醇的污染,但酸水解植物蛋白液 (hydrolyzed vegetable protein, HVP) 及含 HVP 的配制酱油中氯丙醇的污染最为严重^[4-6]。

热反应肉味香精是以还原糖类和多种氨基酸及其他原料在一定条件下加热反应(以 Maillard 反应为主)生成的一类食品添加剂^[7]。热反应肉味香精中常用的糖源为葡萄糖、半乳糖、甘露糖、果糖和木糖等,常用的氨基酸源为水解植物蛋白、水解动物蛋白、酵母及单一的氨基酸等^[8]。HVP 液作为常用的氨基酸源,之所以含有 3-MCPD,是因为其在生产时采用了盐酸水解工艺^[9]。JECFA 等的调查报告显示 80% 的 HVP 液中的 3-MCPD 含量超标^[10]。本课题组对市场上的不同的热反应肉味香精中的 3-MCPD 进行了调研,发现大部分肉味香精都含有一定量的 3-MCPD^[11]。热反应肉味香精中含有 3-MCPD 的原因之一,是在生产过程中为了降低成本而大量使用含有 3-MCPD 的 HVP 液作为氨基酸源。

本文通过建立“HVP 液+葡萄糖”模型热反应,对各种反应因素进行考察,研究了该模型反应产物中的 3-MCPD 在热反应过程中的变化情况,国内外未见相关研究报道。本研究可为实际生产中改善肉味香精加工工艺,减少肉味香精中 3-MCPD 的含量提供一定的参考数据。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

HVP 液(总氮 1.50 g/100 mL,氨基酸态氮 1.0

g/100 mL),分别产自天津、石家庄、四川、沧州、徐州;氯化钠、正己烷、无水乙醇、无水硫酸钠、乙醚、2,2,4-三甲基戊烷(均为分析纯),购自国药集团化学试剂有限公司;七氟丁酰基咪唑、葡萄糖、L-半胱氨酸(均为分析纯),购自北京百灵威科技有限公司;海沙(化学纯),购自国药集团化学试剂有限公司;3-MCPD 标准品(纯度 > 99%),购自北京百灵威科技有限公司。

2.2 仪器与设备

精密微量移液枪 (P 型, P10、P20、P100)、气密针 (1.0 mL),北京吉尔森科技有限公司;玻璃层析柱(柱长 40 cm,柱内径 2 cm),购自北京欣维玻璃仪器有限公司;KH-500DE 型数控超声波清洗器,购自昆山超声仪器有限公司;EYELAN-100L 型旋转蒸发仪,购自上海爱朗仪器有限公司;N-EVAP 型氮吹仪,购自上海思伯明仪器设备有限公司;TRACE ULTRA-DSQ 型气相色谱-质谱联用仪,购自美国 Thermo Fisher 公司。

2.3 模型热反应

本实验以热反应牛肉香精的制备为参照配方^[12],取 25.0 g 去离子水、9.5 g HVP 液(3-MCPD 的含量 2.270 mg/kg)、0.8 g 葡萄糖加入到已放入磁力搅拌子的密封耐压反应管中,在 100 °C 下反应 2 h 后停止,取出、冷却,待分析^[13,14]。

2.4 3-MCPD 含量的测定

采用气相色谱-质谱法 (GC/MS) 测定 3-MCPD 含量,参见 GB/T5009.191-2006 《食品中氯丙醇含量的测定》^[15]。采用 Xcail 软件对热反应模型产物中的 3-MCPD 进行分析,并使用 Excel 工具计算各组数据的标准偏差。

色谱条件:毛细管色谱柱,RTx-5ms 柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);进样口温度 230 °C;传输线温度 250 °C;载气氦气,恒压模式 41.4 kPa (6 psi);不分流进样,进样体积 1.0 μL;升温程序,初始

50 ℃保持 1 min, 以 2 ℃/min 速度升至 90 ℃, 再以 40 ℃/min 的速度升至 250 ℃, 并保持 5 min。

质谱参数: EI 源, 能量为 70 eV; 离子源温度为 200 ℃; 溶剂延迟为 12 min; 选择离子扫描 (SIM)。以 m/z 253、275、289、291、354 作为 3-MCPD 定性鉴别离子, 并考察各碎片离子与 m/z 453 离子的强度比, 要求四个离子 (m/z 253、275、289、291) 中至少两个离子的强度比不得超过标准溶液的相同离子强度比的 $\pm 20\%$; 以 m/z 253 作为 3-MCPD 定量分析离子。

3 结 果

3.1 不同 3-MCPD 含量的 HVP 液对热反应产物中 3-MCPD 含量的影响

为考察不同 3-MCPD 含量的 HVP 液对热反应产物中 3-MCPD 含量的影响, 在 HVP 液中分别添加 0.0、1.3、2.6、3.9、5.2 mL 的 3-MCPD 标准液(2 mg/L), 使得 HVP 液中 3-MCPD 的含量分别为 2.270、2.554、2.817、3.091、3.365 mg/kg。检测分析模型热反应产物中的 3-MCPD 的含量, 经过 3 次平行检测后其结果如表 1 所示。

表 1 不同 3-MCPD 含量的 HVP 液对热反应产物中 3-MCPD 含量的影响
Table 1 Influence of different amounts of 3-MCPD in HVP liquids on the production of 3-MCPD

HVP 液中 3-MCPD 的含量 (mg/kg)	2.270	2.544	2.817	3.091	3.365
热反应前混合物 中 3-MCPD 含量 (mg/kg)	0.611	0.684	0.758	0.832	0.906
热反应后混合物 中 3-MCPD 含量 (mg/kg)	1.007	1.312	1.565	2.090	2.344
3-MCPD 增加量 (mg/kg)	0.396	0.628	0.807	1.258	1.438

由表 1 可知, HVP 液中 3-MCPD 含量越高, 模型热反应产物中的 3-MCPD 含量也越高, 其增加量也越大。HVP 液本身含一定量的氯离子和 3-MCPD, 同时还含有一定量的氨基酸、肽、蛋白质、糖及油脂, 在热反应的过程中, HVP 液中含有的脂肪或其水解产物与氯化物进一步反应生成 3-MCPD, 从而造成反应后 3-MCPD 含量的增加。3-MCPD 的含量增加是由于热反应产生还是由于 HVP 液中本身含有不同量的

3-MCPD 而引起^[16], 还有待于进一步的研究。

3.2 葡萄糖用量对热反应模型产物中 3-MCPD 含量的影响

为考察葡萄糖用量对热反应产物中 3-MCPD 含量的影响, 在模型反应体系中分别添加 0.8、1.6、2.4、3.2、4.0 g 葡萄糖, 检测热反应产物中的 3-MCPD 的含量, 经过 3 次平行检测后其结果如表 2 所示。

表 2 葡萄糖的用量对热反应产物中 3-MCPD 含量的影响
Table 2 Influence of different amounts glucose on the production of 3-MCPD

葡萄糖用量(g)	0.8	1.6	2.4	3.2	4.0
热反应前混合物 中 3-MCPD 含量 (mg/kg)	0.611	0.597	0.584	0.572	0.560
热反应后混合物 中 3-MCPD 含量 (mg/kg)	1.007	0.894	0.869	0.794	0.762
3-MCPD 增加量 (mg/kg)	0.396	0.297	0.285	0.222	0.202

由表 2 可知, 在热反应过程中, 随着葡萄糖用量的增加, 反应产物中的 3-MCPD 含量不断减少。葡萄糖可以降低模型反应产物中的 3-MCPD 含量, 其原因可能是葡萄糖裂解产生一些小分子化合物, 如 3-羟基丙酮^[17]、1,3-二羟基-2-丙酮^[18]、甘油醛^[19,20]、丙烯醛^[21]等三碳低分子量化合物, 这些小分子化合物可能与 3-MCPD 发生反应从而使得模型反应产物中的 3-MCPD 含量降低。

3.3 温度对热反应模型产物中 3-MCPD 含量的影响

为考察不同热反应温度对反应产物 3-MCPD 含量的影响, 将模型反应体系分别在 80、100、120、140、160 ℃条件下反应 2 h。检测分析热反应产物中的 3-MCPD 的含量, 经过 3 次平行检测后其结果如表 3 所示。

由表 3 可知, 在热反应过程中, 热反应的温度升高, 生成的 3-MCPD 含量先增加后减少, 在 100 ℃时其含量最高。当温度高于 120 ℃时, 产物中 3-MCPD 的含量急剧下降。其原因可能是随热反应温度升高(反应温度低于 100 ℃), 3-MCPD 的生成速率增加, 从而其含量也增加; 但当温度达到 120 ℃或更高时, 3-MCPD 的分解反应加快或发生其他反应, 从而使其含量下降。在实验中发现, 在 120 ℃到 160 ℃之间,

表 3 不同温度对热反应产物中 3-MCPD 含量的影响
Table 3 Influence of different reaction temperatures on the production of 3-MCPD

温度(°C)	80	100	120	140	160
热反应前混合物 中 3-MCPD 含量 (mg/kg)	0.611	0.611	0.611	0.611	0.611
热反应后混合物 中 3-MCPD 含量 (mg/kg)	0.673	0.970	0.773	0.276	0.263
3-MCPD 增加量 (mg/kg)	0.062	0.359	0.162	-0.335	-0.348

可以明显看出耐压瓶中的溶液炭化变黑,说明反应混合物中有葡萄糖或其他成分发生了碳化反应。

3.4 热反应时间对热反应模型产物中 3-MCPD 含量的影响

为考察不同热反应温度对反应产物 3-MCPD 含量的影响,将模型反应体系分别在 80、100、120、140、160 °C 条件下反应 2 h。检测分析热反应产物中的 3-MCPD 的含量,经过 3 次平行检测后其结果如表 4 所示。

表 4 不同热反应时间对热反应产物中氯丙醇含量的影响
Table 4 Influence of different reaction-time on the production of 3-MCPD

反应时间(h)	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
热反应前混合物 中 3-MCPD 含量 (mg/kg)	0.611	0.611	0.611	0.611	0.611
热反应后混合物 中 3-MCPD 含量 (mg/kg)	0.995	1.154	1.273	1.407	1.525
3-MCPD 增加量 (mg/kg)	0.384	0.543	0.662	0.796	0.914

由表 4 可知,在热反应过程中,热反应的时间越长(1.0~3.0 h),生成的氯丙醇含量越高。其原因可能是,反应开始时受反应速率的影响,反应较慢,随着反应进行,生成的 3-MCPD 逐渐增多。随着时间的延长,HVP 液中的脂肪水解程度增大,从而形成的 3-MCPD 速率增加而含量上升。

4 讨 论

通过设计模型热反应,并对各影响因素进行研

究,发现热反应产物中 3-MCPD 的含量随着 HVP 液中 3-MCPD 的含量增加而增加;随着葡萄糖用量增加,热反应产物中 3-MCPD 的含量减少;热反应温度升高,3-MCPD 的量先增大后减少,在 100 °C 达到最大,120 °C 开始减少,140 °C 急剧减少;热反应时间越长,由于累积效应,3-MCPD 的含量不断增加。

但本实验只构建了“水解植物蛋白液+葡萄糖”模型反应,初步探究了不同 3-MCPD 含量的 HVP 液、葡萄糖用量、反应温度、反应时间等因素对模型热反应产物中 3-MCPD 含量的影响规律。但是 HVP 液的用量、其他种类的糖、氨基酸等原料(如果糖、核糖、甘氨酸、谷氨酸、丝氨酸等)对热反应产物中 3-MCPD 含量的影响规律没有进行探究。因此在后续的实验中,我们可以通过构建更多的热反应模型来探究 3-MCPD 的生成规律,这也将为减少食品生产加工过程中 3-MCPD 的含量提供一定的理论指导。

参考文献

- [1] 王悦宏. 快速测定 HVP 和酱油中 3-MCPD 方法的研究与应用[D]. 长春: 东北师范大学, 2008.
Wang YH. Research and Application on Rapid Determination of 3-MCPD in HVP and Soy Sauce[D]. Changchun: Northeast Normal University, 2008.
- [2] 刘晓艳, 张妍. 发酵调味料中氯丙醇的危害与检测[J]. 中国调味品, 2005, (5): 7-12.
Liu XY, Zhang Y. The harm and test of chloropropanols in fermented flavorings [J]. China Condiment, 2005(5): 7-12.
- [3] Kim K. Differential expressions of neuronal and inducible nitric oxide synthase in rat brain after sub chronic administration of 3-monochloro-L, 2-propanediol [J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46: 955-960.
- [4] 孙宝国, 何坚. 香精概论[M]. 第二版. 北京: 化学工业出版社, 2006.
Sun BG, He J. Introduction of Perfume [M]. 2nd Edition. Beijing: Chemical Industry Press, 2006.
- [5] 陈锦屏, 张志国. 关于影响食品安全因素的探讨[J]. 食品科学, 2005, 26(8): 490-493.
Chen JP, Zhang ZG. Discuss on Factors of Impacting Food Safety[J]. Food Sci, 2005, 26(8): 490-493.
- [6] 黎景丽, 文一彪. 从生产工艺技术角度找酸水解氨基酸液产生 3-MCPD 的原因(续)[J]. 中国调味品, 2000, (12): 19-22, 24.
Li JL, Wen YB. Reasons of 3-MCPD generation in hydrolyzed vegetable proteins from technologies[J]. China Condiment, 2000,

- (12): 19–22, 24.
- [7] 孙宝国. 中国第三代肉味香精生产技术[J]. 中国食品学报, 2010, 10(5): 1–4.
- Sun BG. The Third-generation Process Technology of Meat Flavorings in China[J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2010, 10(5): 1–4.
- [8] 李珺, 钟耀广, 刘长江. 肉味香精制备的研究进展[J]. 食品工业科技, 2010, 31(1): 429–431.
- Li J, Zhong YG, Liu CJ. Research advance of preparing of meat flavor[J]. Food Ind Sci Technol, 2010, 31(1): 429–431.
- [9] Collier PD, Cromie DDO, Davies AP. Mechanism of Formation of Chloropropanols Present in Protein Hydrolysates[J]. J American Oil Chem Soc, 1991, 68(10): 785–790.
- [10] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives(JECFA). Safety evaluation of certain food additives and contaminants prepared by the fifty-seventh meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), WHO Food Additives Series 48, WHO, Geneva, 2002. 401–432.
- [11] 孙培培. 模型反应中油脂与氯化钠反应生成氯丙醇的研究[D]. 北京: 北京工商大学, 2012.
- Sun PP. Model Studies on the Formation of Monochloropropanediols in the Presence of Lipid and Sodium Chloride[D]. Beijing: Beijing Technology and Business University, 2012.
- [12] 黄明泉, 吴继红, 孙培培, 孙宝国. 甘油三酯与氯化钠模型反应中 3-氯-1,2-丙二醇的形成研究[J]. 食品科学, 2014, <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20140113.1624.146.html>.
- Huang MQ, Wu JH, Sun PP, Sun BG. Model Studies on the Formation of 3-chloro-1, 2-propanediol in the Presence of Triglyceride and Sodium Chloride[J]. Food Sci, 2014, <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20140113.1624.146.html>.
- [13] 张思群, 王志元, 许毅. 调味品中氯丙醇的 GC/ECD 和 GC/MS/MS 衍生化检测方法研究及应用[J]. 分析科学学报, 2003, 19(6): 543–545.
- Zhang SQ, Wang ZY, Xu Y. Determination of Chloropropanol in Condiment by GC/ECD and GC/MS/MS[J]. Journal of Analytical Science, 2003, 19(6): 543–545.
- [14] Van Bergen CA, Collier PD, Cromie DDO, *et al.* Determination of chloropropanols in protein hydrolysates[J]. J Chromatogr A, 1992, 589(12): 109–119.
- [15] GB/T 5009.191-2006 食品中氯丙醇含量的测定[S].
- GB/T 5009.191-2006 Determination of chloropropanols in foods [S].
- [16] 吴继红, 黄明泉, 杨绍祥等. 2 种油脂与氯化钠热反应模型中氯丙醇的生成[J]. 食品与发酵工业, 2014, (2): 42–46.
- Wu JH, Huang MQ, Yang SX *et al.* Producing of 3-Monochloropropanediols in models consisted of Oils and Fats, Sodium chloride and water[J]. Food Ferment Ind Editorial Staff, 2014, (2): 42–46.
- [17] Kuntzer J, Weibhaar R. The Smoking Process-A Potent Source of 3-Chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in Meat products[J]. Deut Lebensm-Rundsch, 2006, (9): 397–400.
- [18] Hu X, Lievens C, Larcher A, *et al.* Reaction pathways of glucose during esterification: effects of reaction parameters on the formation of humin type polymers [J]. Biores Technol, 2011, 102(21): 10104–10113.
- [19] Carlson TR, Jae J, Lin YC, *et al.* Catalytic fast pyrolysis of glucose with HZSM-5: the combined homogeneous and heterogeneous reactions[J]. J Catal, 2010, 270(1): 110–124.
- [20] Sasaki M, Oshikawa T, Watanabe H, *et al.* Reaction kinetics and mechanism for hydrothermal degradation and electrolysis of glucose for producing carboxylic acids[J]. Res Chem Intermed., 2011, 37(2-5): 457–466.
- [21] Shen C, Zhang I Y, Fu G, *et al.* Pyrolysis of D-glucose to acrolein[J]. Chin J Chem Phys, 2011, 24(3): 249–252.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



黄明泉, 博士, 副教授, 主要研究方向为香料香精、食品分析与检测。
E-mail: hmqsir@163.com