

文章编号 :1009 - 038X(2002)04 - 0357 - 05

功能性食品添加剂 N-乙酰-D-葡萄糖胺的理化性质

赵黎明, 夏文水

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘要: N-乙酰-D-葡萄糖胺是一种具有多种生理活性和功能性质的重要氨基糖. 实验研究了 NAG 的一些重要理化性质和加工稳定性, 为 NAG 在食品中的应用提供理论依据. 结果表明, NAG 易溶于水, 微溶于乙醇; NAG 晶体在 120 °C、6 h 下保留率大于 98%, 性质稳定; 在 100 °C、6 h、pH 3.0 ~ 8.5 的条件下, NAG 水溶液稳定性好, pH 超过 8.5 则保留率大大降低, 并伴有颜色变化; NAG 在牛奶杀菌条件下性质稳定; NAG 不具有吸湿性和保湿性.

关键词: N-乙酰-D-葡萄糖胺 理化性质 溶解性 稳定性

中图分类号: Q 532.3

文献标识码: A

Physicochemical Properties of N-Acetyl-D-Glucosamine Used as Functional Food Additive

ZHAO Li-ming, XIA Wen-shui

(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: N-acetyl-D-glucosamine (NAG) is an important amino sugar with a lot of physiological activities and functional properties. A few of physicochemical properties and processing stability of NAG were investigated, and the results could be supplied for its application in foods as a theoretical basis. The results indicated that NAG was easily soluble in water but insoluble in alcohol; NAG was very stable at 120 °C for 6 hours, and more than 98% was retained under this conditions; NAG was stable in the solution with the pH-values between 3.0 ~ 8.5 at 100 °C for 6 hrs, but its remains could reduce greatly, accompanying with some color changes when the pH-value was higher than 8.5; NAG was very stable in milk under the sterilization conditions of milk. NAG had no moisture-absorption and moisture-holding properties.

Key words: NAG; physicochemical property; solubility; stability

N-乙酰-D-葡萄糖胺(N-Acetyl-D-Glucosamine, NAG)是组成甲壳素的基本单位,是一种在 C₂ 上有乙酰氨基的 D-葡萄糖. 目前工业生产 NAG 一般都是由氨基葡萄糖盐酸盐(Glucosamine Hydrochloride, GAH)经 N-乙酰化制得.

NAG 具有多种生理活性和功能性质,在食品、医药等领域具有广泛的应用^[1]. 作为一种食品添加剂, NAG 的理化性质对于产品的生产工艺及其在食品中的应用具有重要影响. 目前国内外对于 NAG 的熔点、比旋光度等一般理化性质的测定已有报

收稿日期 2002-01-29; 修订日期 2002-03-15.

基金项目 教育部高等学校骨干教师资助计划项目资助课题.

作者简介 赵黎明(1977-),男,山东德州人,工学硕士.

道,而对于其热稳定性、酸碱稳定性以及食品加工稳定性等的研究尚未见报道。

在食品加工过程中,NAG添加后将会与食品中的其他成分如蛋白质、脂肪、水分、盐类等接触,并可能会遇到热、酸、碱等,这些都有可能引起NAG发生结构破坏、褐变、吸湿结块等不良现象。因此,NAG的热稳定性、酸碱稳定性、在复杂食品体系和较极端处理条件下的加工稳定性、吸湿保湿性等NAG功能性的发挥对于食品的安全性、营养成分的损失以及食品感观都将产生影响,同时也会影响到NAG在食品领域中的应用范围。而NAG的溶解度等研究结果,则可为产品的生产及分离纯化工艺提供理论依据。

1 材料、设备与方法

1.1 实验材料

NAG标准品:Sigma公司产品;NAG(纯度99.5%):自制(经IR,¹³C-NMR,HPLC,DSC鉴定);GAH(纯度99%):河南张良化工厂生产;新鲜牛奶:无锡光明乳业有限公司提供;其他试剂均为分析纯。

1.2 实验设备

CS501型超级恒温水浴锅;TC-PⅡG型全自动测色色差计;UV-754紫外分光光度计;WZZ-2A型自动旋光仪;Perker-Elma Pyris1 DSC仪;Materlerr pH计。

1.3 实验方法

1.3.1 NAG的定量测定方法 Elson-Morgan改良法^[2]。

1.3.2 NAG在水中的溶解度测定 在具塞试管中加入适量的NAG和去离子水,在5~100℃范围内,由低温到高温,每间隔一定温度,充分振荡15 min以上,并始终保持恒温,使溶液处于饱和状态;静置澄清后分别吸取一定量上清液,稀释到一定浓度后测定其O.D.₅₈₅,与标准曲线对照求出溶解度。

1.3.3 NAG在乙醇溶液中的溶解度测定 配制体积分数为30%、50%、70%、80%、90%、100%的乙醇溶液,各取10 mL于具塞试管中。用超级恒温水浴锅调节温度,使其稍高于待测温度,保持温度的变化在±0.5℃范围内。将一定量的NAG标准品放入试管中,间歇振荡,使之充分溶解,恒温放置3~4 h,并且一直保持溶液处于过饱和状态。吸取上清液1 mL,水浴蒸干后定容到一定浓度。用Elson-Morgan改良法在585_{nm}波长下进行比色,对照标准曲线求得溶解度。

1.3.4 NAG热稳定性测定 将1.000 g精确称重并干燥至恒重的NAG晶体粉末置于玻璃皿中,于120℃烘箱中保温6 h,在干燥器中冷却后配制成50 mL溶液,20℃下放置24 h,测定溶液的比旋光度。根据同一样品热处理前后的比旋光度差异可以求出样品的保留率^[3]。

$$X = \frac{[\alpha]}{[\alpha]_b^{20}}$$

其中:X为保留率;[α]为热处理后样品溶液于20℃时的比旋光度;[α]_b²⁰为未经热处理的样品溶液于20℃时的比旋光度。

准确称取10~20 mg NAG,置于DSC专用铝盒中,以5℃/min的扫描速度从80~280℃范围内测定NAG的热性质。

1.3.5 NAG酸碱稳定性测定 配制pH为3.0~10.0的水溶液于具塞试管中,各加入1 mL质量浓度为0.1 g/mL、pH为中性的NAG溶液,常压置于100℃烘箱中,放置6 h,冷却,稀释到一定浓度后在585 nm下测定O.D.值,对照标准曲线求出NAG含量并计算出保留率。

1.3.6 NAG与GAH在牛奶杀菌条件下的加工稳定性 分别在两份新鲜的原牛奶中添加1 g/dL的NAG或GAH,将试管放置在85℃湿热杀菌环境中,于不同时间测定样奶的色差值。将1 g/dL NAG和GAH的两种新鲜原牛奶在121℃下湿热杀菌10 min,测定色差值。

$$\Delta E_{ab}^* = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}}$$

式中:ΔE_{ab}^{*}为实际的色空间两点距离,即色差值;ΔL^{*} Δa^{*} Δb^{*}分别为两点三坐标值的差。

1.3.7 NAG吸湿性和保湿性试验 室温下(20℃)将样品在干燥器中用P₂O₅减压干燥12 h以上,用该样品进行吸湿性试验;干燥后的样品中加入其质量10%的去离子水,用甘油作对照^[4]。

1) 吸湿试验:室温下(20℃),精确称取0.5000 g样品加入到称量瓶中,将称量瓶放置在干燥器中,干燥器内放有碳酸钙饱和溶液(相对湿度81%)或硫酸铵饱和溶液(相对湿度43%),放置时间分别为12、24、36、48 h,分别称量样品,计算吸湿率。

$$\text{吸湿率} = \frac{W_2 - W_1}{W_1}$$

其中,W₁为放置前质量;W₂为放置后质量。

2) 保湿性试验:室温下(20℃)精确称取0.5000 g样品及其质量10%的去离子水,加入到称量瓶中,将称量瓶放置在装有硫酸铵饱和溶液或干

硅胶的干燥器中,放置时间为 12、24、36、48 h,分别称重,计算保湿率.

$$\text{保湿率} = \frac{W_2}{W_1}$$

其中, W_2 为放置后水分质量; W_1 为添加的水分质量.

2 结果与讨论

2.1 NAG 在水中的溶解度

Morgan-Elson 改良法是在 Morgan-Elson 方法基础上经过几十年的不断改进后得出的方法,是 NAG 的特征反应,可以准确地定量测定 NAG 的含量. NAG 和 Ehrlich 试剂可以直接进行颜色反应,在碱性溶剂中, NAG 会产生有色物质,可能是 3-乙酰氨基-5-(1,2-二羟基)咪喃,这种物质在酸溶液和 Ehrlich 试剂中在 585 nm 下会产生有最大吸收波长的紫色化合物^[5]. 图 1 是 NAG 的标准曲线,可以看出,在 0~80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的质量浓度范围内,该方法有很好的线性关系.

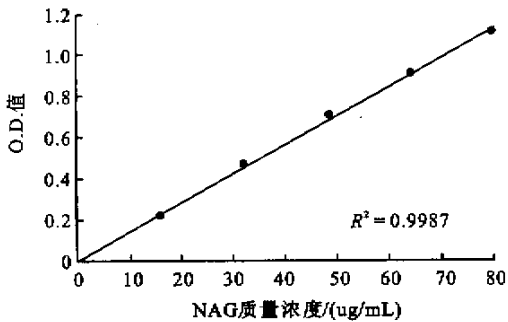


图 1 NAG 标准曲线

Fig.1 Standard curve of NAG

由图 2 可以看出, NAG 在水中的溶解度很大,在 5 $^{\circ}\text{C}$ 即达到了 20 g/dL . 随着温度的升高,溶解度也随之迅速升高. 在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下,溶解度约为 30 g/dL ; 40 $^{\circ}\text{C}$ 下为 42 g/dL ; 在 100 $^{\circ}\text{C}$ 下溶解度已经超过了 60 g/dL , 说明 NAG 是易溶于水的.

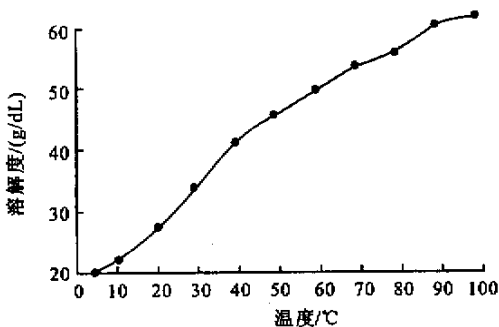


图 2 NAG 在水中的溶解度曲线

Fig.2. The solubility curve of NAG in water

2.2 NAG 在不同体积分数乙醇中的溶解度

由图 3 可以看出,随着乙醇体积分数的升高, NAG 的溶解度迅速下降. 随着温度的上升, NAG 的溶解度也随之增大. NAG 在 100% 的乙醇中溶解度极低, 5 $^{\circ}\text{C}$ 时溶解度只有 0.12 g/dL . 在 60 $^{\circ}\text{C}$ 时也仅有 0.53 g/dL 溶解, 说明 NAG 是微溶于乙醇的. 低体积分数的乙醇溶液中 NAG 的溶解度稍大. 在 70% 乙醇中, 5 $^{\circ}\text{C}$ 时 NAG 的溶解度为 1.8 g/dL , 60 $^{\circ}\text{C}$ 时为 8.84 g/dL ; 在 30% 的乙醇中, 5 $^{\circ}\text{C}$ 时 NAG 的溶解度为 5.97 g/dL , 60 $^{\circ}\text{C}$ 时为 23 g/dL . 结果表明, 在 NAG 的生产过程中, 选择适当体积分数的乙醇, 利用 NAG 在不同温度下的溶解度差异可进行重结晶使其分离纯化.

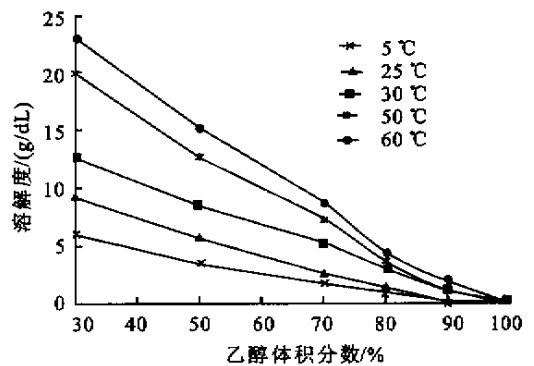


图 3 NAG 在不同乙醇溶液中的溶解度

Fig.3 Solubility of NAG in various concentrations of alcohol

2.3 NAG 的热稳定性研究

NAG 晶体在 120 $^{\circ}\text{C}$ 保温 6 h 条件下的热稳定性较好. 3 批样品的测定结果见表 1. 得出的样品平均保留率大于 98%, 说明 NAG 在该温度下是稳定的.

表 1 NAG 热稳定性测试结果

Tab.1 Determination results of thermo stability of NAG

项目	$[\alpha]_{\text{D}}^{\text{热处理后}}/^{\circ}$	$[\alpha]_{\text{D}}^{\text{热处理前}}/^{\circ}$	保留率/%
1	41.27	42.04	98.18
2	41.28	41.91	98.51
3	41.31	42.01	98.34
平均			98.34

从图 4 所示的 NAG 的 DSC 图可以看出, NAG 在 190 $^{\circ}\text{C}$ 以下时的 DSC 热流曲线比较平衡, 吸热值基本不变, 说明没有热性质的明显变化. 在 190~215 $^{\circ}\text{C}$ 范围内有一个吸热峰, ΔH 只有 50.6 J/g , 210~215 $^{\circ}\text{C}$ 是 NAG 的分解温度, 分解后的吸热曲线仍然很平滑. NAG 的熔点为 202~205 $^{\circ}\text{C}$, 峰值为

204 °C. NAG 的 DSC 分析进一步证明 NAG 的热稳定性较好.

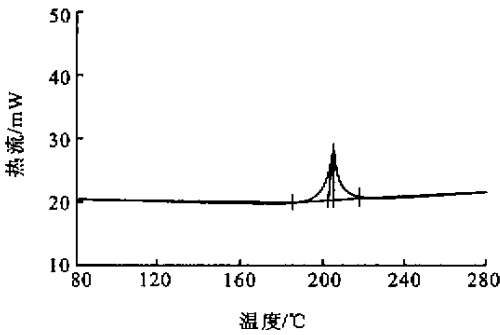


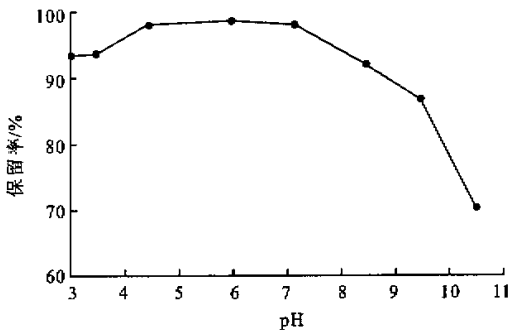
图 4 NAG 的 DSC 热性质图

Fig.4 Thermo property of NAG determined by DSC

2.4 NAG 的酸碱稳定性研究

NAG 产品本身是 α 、 β 两种异构体的混合晶体, 在水溶液中会发生 α 、 β 构象异构相互变化, 同时随着 pH 的变化, 其结构的稳定性也不相同.

由图 5 可知, 在 100 °C 下, pH 3~8.5 的环境中 NAG 的保留率均超过了 93%, 而且没有任何颜色变化, 说明在此 pH 范围内 NAG 的稳定性是比较好的. 而在 pH 8.5 以上时, NAG 的保留率明显下降, 说明随着碱性的增强, NAG 的结构受到破坏. 同时观察到在 pH 10.5 的试液中, 温度上升不久就开始有颜色变化, 随着温度的升高逐渐加深, 最终为黄褐色, 而其他的溶液仍保持原来的澄清状态. 这可能是由于在较高 pH、较高温度下, NAG 脱掉乙酰基后形成了氨基葡萄糖(GA), NAG 或 GA 与 GA 自身的游离氨基在碱性环境和较高温度下发生了美拉德反应而产生颜色[6].



反应条件为 100 °C 反应 6 h.

反应条件为 100 °C 反应 6 h.

图 5 NAG 的酸碱稳定性

Fig.5 The Acidic and Alkali Stability of NAG

2.5 NAG 在牛奶杀菌条件下的稳定性研究

由于 NAG 和 GAH 都是含氮单糖, 在复杂的条件下, 如含氨基酸、高温等可能会发生美拉德反应, 从而造成色泽变化.

为了研究变色程度或测定近似颜色之间的差别程度, 采用 CIELAB 表色系统 (或 $L^* a^* b^*$ 表色系统). 根据表 2[7], 测定 NAG 和 GAH 在加热牛奶中的变色情况, 结果见表 3 A.

表 2 ΔE_{ab}^* 值与色差程度

Tab.2 Relation between ΔE_{ab}^* -value and appearance

ΔE_{ab}^*	感觉到的色差程度
0~0.5	极小的差异
0.5~1.5	稍有差异
1.5~3.0	感觉到有差异
3.0~6.0	较显著差异
6.0~12.0	很明显差异
12.0 以上	不同颜色

表 3 是在添加 NAG 和 GAH 后, 在 85 °C 下不同时间杀菌后牛奶色泽的变化情况. 可以看出, 在巴氏杀菌的条件下, NAG 在牛奶体系中是比较稳定的. 而添加了 GAH 的牛奶在加热开始时就明显变暗, 说明发生了美拉德反应, 且随着加热时间的增加, 牛奶发生了凝集现象, 这可能是由于 GAH 的加入引起牛奶 pH 值下降造成的.

表 3 85 °C 杀菌条件下不同时间的 ΔE_{ab}^*

Tab.3 ΔE_{ab}^* in various time under sterilization condition at 85 °C

添加样品	ΔE_{ab}^*					
	1 min	3 min	7 min	10 min	15 min	30 min
NAG	0.75	1.65	2.44	3.25	5.29	5.47
GAH	6.11	8.18	9.58	11.34	13.03	14.38

添加了 NAG 和 GAH 于 121 °C 杀菌 10 min 后牛奶的变化情况见表 4. 可以看出, NAG 在较长时间高温下, 在牛奶体系中仍是很稳定的, 而 GAH 却发生了非常显著的反应, 乳液变成了膏状体, 颜色为深咖啡色. 因此, NAG 的稳定性远比 GAH 好.

表 4 高温杀菌条件下 NAG 和 GAH 的稳定性

Tab.4 Stability of NAG under sterilization condition

添加样品	ΔE_{ab}^*	颜色	状态
原乳	—	淡黄色	液态
加 NAG	5.34	淡黄色	液态
加 GAH	30.14	深咖啡色	膏状

2.6 NAG 的吸湿性和保湿性

NAG 的吸湿性和保湿性对于产品的保藏、质量的保持及产品应用具有重要影响, 特别是在一些要

求防潮防吸湿的食品如奶粉、豆奶粉或其它粉末状食品或保健品中。

从图 6 可以看出,随着时间的延长,在两种相对湿度下,NAG 都没有吸湿性,而对照品甘油则具有非常明显的吸湿性,而且可以看出,相对湿度的大小对甘油的吸湿性也有影响。

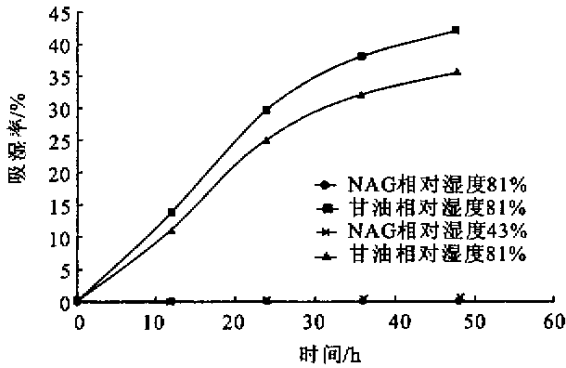


图 6 NAG 和甘油在相对湿度 81% 和 43% 下的吸湿性曲线

Fig. 6 The moisture-absorption curves of NAG and glycerin in RH 81% and RH 43%

从图 7,8 可以看出,NAG 的保湿性也很差,在 43% 的相对湿度下,随着时间的延长,样品中的水分越来越少,48 h 后只有 4% 左右的残存水分,而甘油中的水分不但不降反而上升,保湿率达 400%。在干硅胶环境中,NAG 中的水分很快下降为 0,甘油中的水分也下降到 22%。上述试验说明,NAG 不具有吸湿和保湿性质。

3 结 论

NAG 在水中的溶解度大,微溶于纯乙醇,在稀

乙醇溶液中有一定的溶解度,NAG 经热处理和一定的食品加工条件处理后性质稳定,说明 NAG 可以在多种食品中作为功能性添加剂应用.NAG 不具有吸湿保湿性,为在要求防潮防湿的食品中应用(如奶粉等)提供了依据。

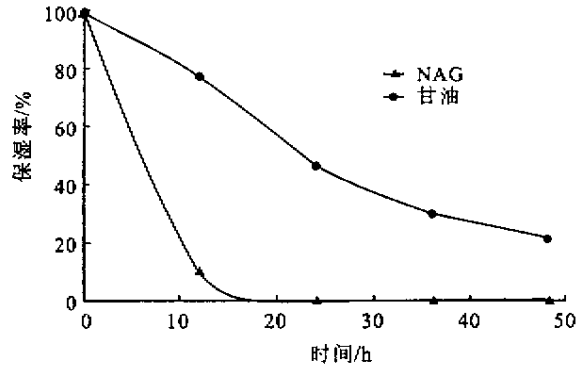


图 7 NAG 和甘油在干硅胶中的保湿进程曲线

Fig. 7 The moisture-retaining curves of NAG and glycerin in dry silica gel

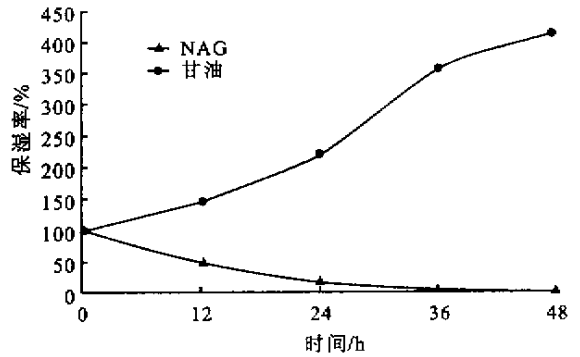


图 8 相对湿度 43% 条件下 NAG 及甘油的保湿性进程曲线

Fig. 8 The moisture-retaining curves of NAG and glycerin in RH 43%

参考文献

[1] 赵黎明,夏文水. N-乙酰-D-葡萄糖胺的特性及其在食品中的应用 [J]. 食品科技, 2001 (6): 31 - 34.

[2] WHISTLER ROY L, WOLFROM M L. Method in Carbohydrate Chemistry [M]. New York :Academic Press INC ,1962. 511 - 512.

[3] 卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典(1995 年版) [M]. 广州 :广东科技出版社, 1995.

[4] SHUICHI M, HANCHING C. Synthesis and water uptake and holding capacity of chitin and chitosan derivatives [J]. Oil Chem, 1989, 38(6): 492 - 500.

[5] JULIO J BENSON. Assay for 2-Amino-2-Deoxy-D-Glucose in the presence of other primary amines [J]. Carbohydrate Research, 1975, 42 :192 - 196.

[6] 又平芳春. 天然型 N-アセテルグルコサミンの特性と食品への利用 [J]. New Food Industry, 1999, 41(9): 9 - 13.

[7] 李里特. 食物物性学 [M]. 北京 :中国农业出版社, 1998.