

# 低4-甲基咪唑焦糖色素制备工艺优化

娄迎霞<sup>1,2</sup>, 张安安<sup>2</sup>, 程雷<sup>2</sup>, 孙宝国<sup>2</sup>, 王成涛<sup>2</sup>, 张婵<sup>2,\*</sup>

(1.北京市饲料监察所,北京 100107;

2.北京食品营养与人类健康高精尖创新中心,北京工商大学,北京 100048)

**摘要:**为研究减少焦糖色素中4-甲基咪唑(4-Methylimidazole, 4-MeI)生成的工艺,以葡萄糖为原料,碳酸铵为催化剂,利用高压反应制备4-甲基咪唑含量低、色率及红色素指数高的焦糖色素。采用正交试验设计考察了反应温度、反应时间、催化剂添加量(以 $\text{NH}_4^+$ 计)、葡萄糖液质量浓度四个因素对焦糖色素的色率、红色指数、4-甲基咪唑含量的影响。结果表明,利用综合平衡法确定生产参数为135℃、80 min、3%  $\text{NH}_4^+$ 及500 g/L葡萄糖浓度,制备得到的氨法焦糖色素色率 $6.73 \times 10^4$  EBC,红色素指数5.21,4-甲基咪唑的含量198.34  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。通过对焦糖色素的生产工艺进行优化,得到了4-MeI明显降低的焦糖色素,为其生产提供了理论依据。

**关键词:**焦糖色素,4-甲基咪唑,工艺优化

## Optimization of Preparation Technology of Caramel Color Decreasing 4-Methylimidazole

LOU Ying-xia<sup>1,2</sup>, ZHANG An-an<sup>2</sup>, CHENG Lei<sup>2</sup>, SUN Bao-guo<sup>2</sup>, WANG Cheng-tao<sup>2</sup>, ZHANG Chan<sup>2,\*</sup>

(1.Beijing Institute of Feed Control, Beijing 100107, China;

2.Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, Beijing Technology & Business University(BTBU), Beijing 100048, China)

**Abstract:** To reduce the production of 4-methylimidazole (4-MeI) in caramel pigment, so as to solve the problem of toxicity caused by 4-methylimidazole. How to study the preparation of reduce 4-methylimidazole content in caramel color, glucose and ammonium carbonate were used for preparing caramel color with a high quality, and decreasing the 4-methylimidazole by high-pressure reaction technology. Orthogonal array design was employed for investigating the effects of heating temperature and time, the mass fraction of catalyst (calculated by  $\text{NH}_4^+$ ) and the mass concentration of glucose on color intensity, red index and 4-methylimidazole (4-MeI) content. The results showed that: An optimized product, prepared at 135 °C for 80 min using 500 g/L glucose-water solution with 3% ammonium chloride (calculated by  $\text{NH}_4^+$ ) as reactant, was obtained with the color intensity  $6.73 \times 10^4$  EBC, red index 5.21 and 4-methylimidazole content as 198.34  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . This study optimized the caramel production process and obtained a good quality caramel with low 4-MeI, which provided a theoretical basis for the production of high quality caramel.

**Key words:** caramel color; 4-methylimidazole; preparation technology optimization

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)16-0132-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2018.16.024

引文格式: 娄迎霞, 张安安, 程雷, 等. 低4-甲基咪唑焦糖色素制备工艺优化[J]. 食品工业科技, 2018, 39(16): 132-137.

焦糖色素(Caramel Color; CNS:08.108-110; INS: 150a, b, c, d)俗称“酱色”,是一种在食品工业中使用量最大的天然着色剂<sup>[1-4]</sup>。氨(铵)法焦糖色素是指在加工过程中没有使用亚硫酸盐而仅采用氨或铵盐作为催化剂制成的一类焦糖色素<sup>[5]</sup>,在食品中使用范围较广,用量较大,为目前国内焦糖生产的主流方式<sup>[6]</sup>。由于氨(铵)法焦糖色素在制备过程中,铵离子参与美拉德反应会产生一定量的4-甲基咪唑(4-methylimidazole, 4-MeI),曾被禁止在食品中添加。

后经研究和试验认为氨法焦糖色素中4-MeI的含量不会超过每日摄入量(200 ppm)<sup>[7-10]</sup>,作为色素在食品中添加是安全的。我国于1988年在新制定的焦糖色素国家标准(GB 8817-88)中恢复了氨法焦糖色素的使用。

随着人们对食品安全问题越来越关注,近年来焦糖产品中存在4-甲基咪唑的问题使该产业的发展受到限制,因此研究低4-MeI焦糖色素产品成为近年来新的研究热点。目前的研究多关注在低4-甲基

收稿日期:2017-11-17

作者简介:娄迎霞(1991-),女,硕士研究生,研究方向:食品质量安全,E-mail:louyingxia.1991@163.com。

\*通讯作者:张婵(1984-),女,博士,副教授,研究方向:食品生物技术,E-mail:zhangchan@th.btbu.edu.cn。

基金项目:获国家自然科学基金项目(31301411);北京市教委(KM201410011009);北京市科技计划项目(Z151100001215008)。

咪唑的制备<sup>[11-14]</sup>及焦糖色素与其相关食品和调味品中4-甲基咪唑含量的测定<sup>[15-18]</sup>。市售氨法焦糖色素色率多为 $3.2\sim 5.0 \times 10^4$ ,红色素指数并无要求<sup>[19]</sup>。焦糖色素的色率和红色素指数限制了低4-甲基咪唑产品在市场中的广泛应用,因此,在关注低4-甲基咪唑生成的同时,尚需保证焦糖色素的色率和红色素指数。

本试验以葡萄糖为原料,以碳酸铵为催化剂,利用高压反应釜制备焦糖色素,考察了氨法焦糖色素制备过程中的反应温度、反应时间、催化剂分数(以 $\text{NH}_4^+$ 计)、葡萄糖液质量浓度四个因素对焦糖的色率、红色指数、4-甲基咪唑生成量的影响。对上述四个单因素进行正交试验设计,以色率、红色素指数、4-甲基咪唑生成量为考察指标,利用综合平衡法<sup>[20]</sup>从中寻找出最佳生产工艺,为进一步控制焦糖色素氨法制备过程中4-甲基咪唑生成量提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

4-甲基咪唑标准品、4-甲基咪唑-d3标准品 百灵威科技有限公司,色谱纯;乙腈 赛默飞世尔科技(中国)有限公司,色谱纯;氨水 天津光复化学试剂有限公司,色谱纯;葡萄糖、碳酸铵 国药集团化学试剂有限公司,分析纯。

1290 高效液相色谱仪、6460 三重四级杆串联质谱仪、C<sub>18</sub> Extend 色谱柱(100×4.6 mm, 5 μm) 美国 Agilent 公司;4523 高压反应釜 美国 Parr 设备公司;UV-2450 紫外分光光度计 日本岛津公司;Free Zone 真空冷冻干燥机 美国 Labconco 公司;DHG-9145 电热恒温鼓风干燥箱 上海一恒科技有限公司;AL204 分析天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 制备工艺 将碳酸铵按实验设计要求溶解于葡萄糖水溶液中,制成焦糖色素制备母液,取300 mL 该溶液加入容积为1 L的钢制高压反应釜中,调节搅拌器转速为500 r/min,制备焦糖色素<sup>[4]</sup>。选择135℃、60 min、6%  $\text{NH}_4^+$ 及500 g/L葡萄糖浓度为氨法焦糖色素制备初始条件。将优化后所得焦糖色素的色率、红色素指数、4-MeI含量与初始条件制备的产品进行比较。

1.2.2 单因素选择及工艺优化 影响焦糖色素品质的主要生产工艺包括反应温度、反应时间、催化剂种类、催化剂用量(以 $\text{NH}_4^+$ 计算)、碳水化合物浓度、压强、pH等。本次实验选择碳酸铵为催化剂,对焦糖色素品质影响较大的反应温度、时间、碳酸铵添加量(以 $\text{NH}_4^+$ 计算)、葡萄糖浓度进行优化。

1.2.2.1 反应温度的选择 将含有4%碳酸铵(以 $\text{NH}_4^+$ %计算)的500 g/L葡萄糖水溶液,作为焦糖色素制备母液,反应时间60 min条件下,结合实际生产情况(温度过低焦糖化反应无法充分进行,温度过高对反应釜要求增大),选择115、125、135、145℃为反应温度进行实验,考察反应温度对焦糖色素的色率、红色素指数、4-MeI含量的影响。

1.2.2.2 反应时间的选择 将含有4%碳酸铵(以 $\text{NH}_4^+$ %计算)的500 g/L葡萄糖水溶液,作为焦糖色素制备母液,135℃条件下,选择反应时间为40、60、80、100、120 min进行实验,考察反应时间对焦糖色素的色率、红色素指数、4-MeI含量的影响。

1.2.2.3 碳酸铵含量的选择 在反应温度135℃,反应时间60 min条件下,选取碳酸铵(以 $\text{NH}_4^+$ %计算)浓度3%、4%、5%、6%、7%、8%,分别加入500 g/L葡萄糖溶液中混匀,进行实验。

1.2.2.4 葡萄糖浓度的选择 选择200、300、400、500、600、700 g/L葡萄糖浓度,在碳酸铵浓度(以 $\text{NH}_4^+$ %计算)为4%,反应温度135℃,保温时间60 min条件下进行实验,考察葡萄糖浓度对焦糖色素的色率、红色素指数、4-MeI含量的影响。

1.2.3 正交试验设计优化焦糖色素氨法制备工艺 选择反应温度、反应时间、碳酸铵浓度、葡萄糖浓度进行四因素三水平试验,为减少试验误差,选择 $L_{18}(3^7)$ 正交表进行正交试验设计。对各单因素进行分析,以水平值为横坐标,同一水平对应的试验结果的算术平均数为纵坐标绘制趋势图,根据各单因素对氨法焦糖色素各考察指标的趋势图选择最佳生产工艺(见表1)。

### 1.2.4 指标测定

1.2.4.1 感官评定及指标评价 根据GB 1886.64-2015食品安全国家标准食品添加剂焦糖色<sup>[21]</sup>进行感官评定。

1.2.4.2 色率测定 参照文献[22],利用真空冷冻干燥机去除液态焦糖色素中的水分,称取1.000 g(±0.002 g)焦糖色素冻干粉,经水溶解、稀释制得0.1%浓度样液,10000 r/min离心10 min,取上清液,测得610 nm波长处吸光值,重复三次测定,取其平均值 $A_1$ ,按式(1)计算色率(EBC):

$$\text{色率(EBC单位)} = A_1 \times 20000 / 0.076 \quad \text{式(1)}$$

其中,EBC单位的意义为:当于610 nm处,光密度为0.076时,设定为20000 EBC单位。

1.2.4.3 红色素指数测定 参照文献[22],对上述色率测定样液,用紫外可见分光光度计分别在610 nm和510 nm波长下,测定吸光度 $A_1$ 、 $A_2$ ,按式(2)计算

表1 氨法焦糖色素生产工艺因素水平表

Table 1 Factors and levels of the orthogonal array design

水平	A 反应温度 (℃)	B 误差列	C 葡萄糖浓度 (mol/L)	D 误差列	E 碳酸铵浓度 (%)	F 反应时间 (min)	G 误差列
1	125		400		3	60	
2	135		500		4	80	
3	145		600		5	100	

焦糖色素红色指数:

$$\text{红色指数} = 10 \times \lg(A_2/A_1) \quad (2)$$

式中:  $A_1$  为 610 nm 处的吸光值,  $A_2$  为 510 nm 处的吸光值。

1.2.4.4 4-甲基咪唑含量的测定<sup>[23]</sup> 准确称取 10 mg 4-MeI 和 4-MeI- $d_3$  标准品于 100 mL 棕色容量瓶中, 制得 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度的标准储备液, 密封保存于 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中。测定时将 4-MeI 标准储备液, 梯度稀释, 得到 0.05~5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 4-MeI 标准品溶液, 绘制标准工作曲线, 采用内标法定量。以 4-MeI- $d_3$  作为内标物, 内标浓度为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

对焦糖产品进行 200 倍的稀释处理, 并加入浓度为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 4-MeI- $d_3$ , 10000 r/min 离心 5 min, 取上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜, 上机检测。

HPLC 检测部分的参数设定: 高效液相色谱仪: Agilent1290; 色谱柱: Agilent  $C_{18}$ , Extend 100  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; 流动相: A: 乙腈, B: 含有 0.2% 氨水的超纯水。按照如下条件进行梯度洗脱: 0 min: 35: 65 (A: B); 3 min: 35: 65; 4 min: 50: 50; 8 min: 65: 35; 12 min: 50: 50; 13 min: 35: 65; 16 min: 35: 65。流速: 0.2 mL/min; 柱温: 38  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样量 1  $\mu\text{L}$ 。

三重四级杆串联质谱参数设定: QQQ 型号: Agilent 6460; 离子源: 电喷雾离子源 (ESI); 扫描模式: 正离子模式; 扫描质量范围:  $m/z$  20~200  $\text{aum}$ ; 喷雾器压力: 15.0 psi; 干燥气: 氮气; 温度: 300  $^{\circ}\text{C}$ ; 流速: 10.0 L/min。

分别对 4-MeI 标准溶液和处理好的焦糖色素样液进行检测。采用内标法进行定量, 标准工作曲线为  $y = 0.743620x + 7.654302E-04$ ,  $R^2 = 0.999$ 。

### 1.3 数据处理

实验操作重复三次, 采用 Excel 软件进行数据计算和绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 感官评价结果

全文制备的焦糖色素均为性状均一的黑褐色液体, 无杂质, 肉眼观察无明显不溶固形物, 将其稀释成 10 g/L 水溶液具有焦香味, 满足实际生产需求, 因此感官评定结果不作为主要考察指标。

### 2.2 单因素的选择

2.2.1 反应温度对焦糖色素的影响 色率和 4-MeI 含量随着反应温度升高而增加, 红色指数则与之相反。焦糖化反应过程中单糖在  $\text{pH} < 7.0$  时, 加热进行脱水生成糠醛或其衍生物<sup>[24-25]</sup>, 两类物质互相聚合或与胺类反应生成深褐色物质, 提高色率, 反应温度  $> 80$   $^{\circ}\text{C}$ , 美拉德反应褐变速度受温度影响较小<sup>[26]</sup>。4-MeI 是美拉德反应的副产物, 随着温度的升高, 4-MeI 的量也不断增多, 因此过高的温度不利于 4-MeI 的生成控制。由图 1 可知在 125~145  $^{\circ}\text{C}$  范围内色率数值较高, 145  $^{\circ}\text{C}$  时达到最大值, 115  $^{\circ}\text{C}$  时红色指数最高, 4-MeI 含量最低。综合考察反应温度对产品特性的影响, 选择 125、135、145  $^{\circ}\text{C}$  三个水平。

2.2.2 反应时间对焦糖色素的影响 对制备好的焦糖色素进行指标测定, 结果发现反应时间的变化对

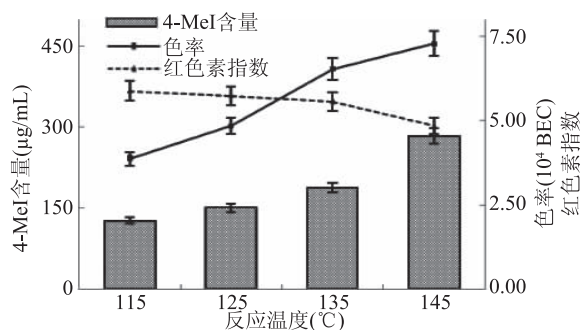


图 1 反应温度对氨法焦糖色素品质的影响

Fig.1 Effects of reaction temperature on caramel color quality

焦糖品质有着重要的影响。图 2 结果显示: 反应时间的增加使焦糖色率和 4-MeI 含量有了明显的提升, 说明随着反应时间的延长成色物质及 4-MeI 不断的积累。随着反应时间的延长, 焦糖色素的红色指数有所降低。为了避免 4-MeI 的过度积累, 保证焦糖色素良好的红色色调, 综合考虑后, 因此选择 60、80、100 min 三个时间作为正交试验设计的水平。

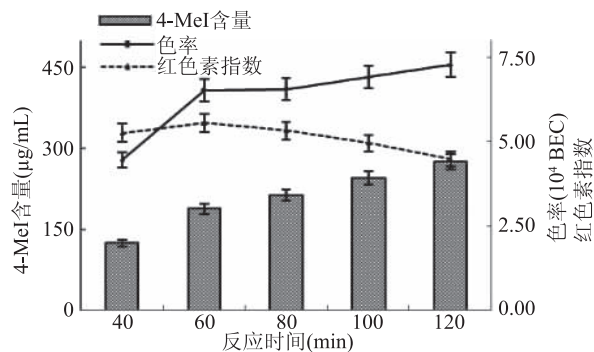


图 2 反应时间对氨法焦糖色素品质的影响

Fig.2 Effects of reaction time on caramel color quality

2.2.3 催化剂浓度对焦糖色素的影响 图 3 结果显示碳酸铵浓度对 4-MeI 含量及红色色素指数的影响较为明显, 对色率影响较弱。碳酸铵浓度  $> 4\%$  时, 色率的增加趋势变得平缓, 在 8% 处再次突然升高。受碳酸铵浓度增加的影响红色指数降低。4-MeI 含量随碳酸铵浓度增加不断升高, 这是由于碳酸铵提供了体系中丙酮醛水解所需的  $\text{NH}_3$  为 4-MeI 生成提供必要条件<sup>[27]</sup>。主要考虑 4-MeI 含量及红色色素指数两个因素, 选择 3%、4% 和 5% 三个碳酸铵浓度进行试验。

2.2.4 葡萄糖浓度对焦糖色素的影响 由图 4 发现, 葡萄糖浓度的变化对各评价指标的影响较小, 且趋势与其它因素影响结果相似。葡萄糖浓度  $> 500$  g/L 时, 对色率的影响不显著。葡萄糖提供了反应所需的糖类物质, 浓度增加会使反应产生的呈色物质增加, 达到 500 g/L 浓度时反应物接近饱和, 因此对色率无显著影响。红色色素指数受葡萄糖浓度变化的影响不明显。当葡萄糖浓度在 200~400 g/L 时, 4-MeI 含量随葡萄糖浓度增加而加大; 当葡萄糖浓度在 500~700 g/L 时, 4-MeI 含量不随葡萄糖浓度变化而变化。葡萄糖作为反应的主原料, 随着浓度的增加会提高反应后各物质的产量, 当原料浓度达到饱和后, 对

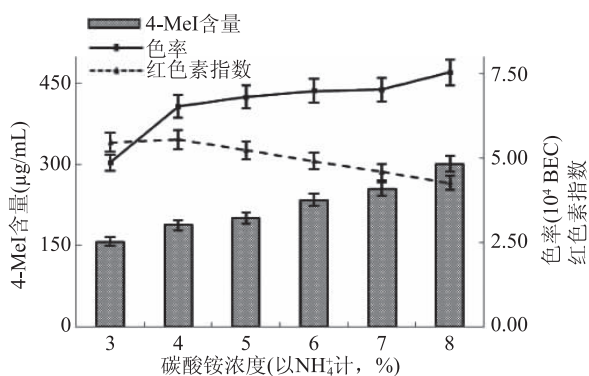


图3 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 浓度对氨法焦糖色素品质的影响

Fig.3 Effects of concentration of (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> on caramel color quality

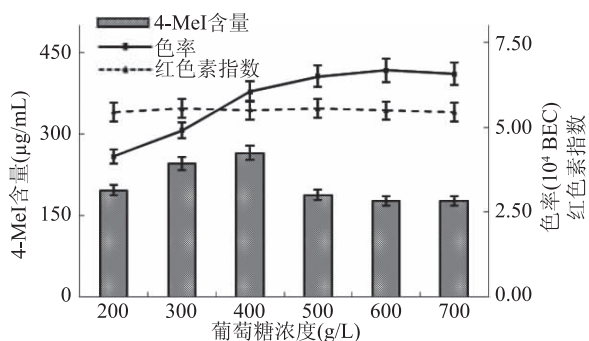


图4 葡萄糖浓度对氨法焦糖色素品质的影响

Fig.4 Effects of concentration of glucose on caramel color quality

反应的影响并不明显,因此选择 400、500 和 600 g/L 进行单因素试验。

### 2.3 正交试验

2.3.1 因素水平选择 在单因素试验结果基础上,选择反应温度、反应时间、碳酸铵浓度、葡萄糖浓度进行四因素三水平试验,为减少误差特设误差列,选择 L<sub>18</sub>(3<sup>7</sup>) 正交表进行正交试验设计(见表 2)。并将优化结果与初始条件制备的焦糖色素进行比较,初始焦糖色素的色率 6.32 × 10<sup>4</sup> EBC,红色素指数 5.07,4-甲基咪唑的含量 256.63 µg/mL。

2.3.2 正交试验结果 按表 1 进行正交试验设计,结果见表 2。

由表 2 的结果和极差分析可知,影响焦糖色素中 4-MeI 生成的主次因素顺序:A(反应温度) > E(碳酸铵浓度) > F(反应时间) > C(葡萄糖浓度)。根据极差分析低 4-MeI 含量焦糖色素生产参数为 A<sub>1</sub>C<sub>1</sub>E<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, 125 °C、60 min、3% NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、400 g/L 葡萄糖。影响焦糖色素色率和红色素指数的主次因素顺序:A(反应温度) > F(反应时间) > E(碳酸铵浓度) > C(葡萄糖浓度)。高色率生产工艺参数为 A<sub>3</sub>C<sub>3</sub>E<sub>3</sub>F<sub>3</sub>, 145 °C、100 min、5% NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、600 g/L 葡萄糖;然而在 A<sub>1</sub>C<sub>2</sub>E<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, 125 °C、60 min、3% NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、500 g/L 条件下,制备得到的红色指数最高,不同考察指标对应的最优生产工艺不同。

### 2.4 方差分析

试验结果显示反应温度、反应时间、催化剂浓度对

焦糖色素的色率、红色素指数和 4-甲基咪唑含量影响较为明显,而葡萄糖浓度对焦糖色素品质影响不大。因此对各因素对不同指标的影响效果分别进行分析。以焦糖色率为因变量进行反应温度、时间、催化剂浓度和葡萄糖浓度的主体间效应检验,经检验分析发现各因素间无交互作用,采用单因素方差分析。

2.4.1 各因素对焦糖色素色率的影响 由表 3 可知:反应温度主体效应 F 值为 349.566, p 值为 0.000,反应时间的 p 值为 0.020,表明二者对色率影响显著 (p < 0.05);葡萄糖浓度和催化剂浓度的变化对色率均无显著影响 (p > 0.05)。同时,误差列对试验结果无影响。

表 3 各因素对焦糖色素色率影响方差分析结果

Table 3 Results of one-way analysis of variance

因素	Ⅲ类平方和	自由度	均方	F	p
A	3.752	1	3.752	349.566	0.000
B	0.008	2	0.004	0.002	0.998
C	0.081	2	0.040	0.028	0.972
D	0.039	2	0.019	0.011	0.989
E	0.121	2	0.060	5.623	0.097
F	0.411	2	0.206	19.147	0.020
G	0.055	2	0.028	0.019	0.981

以焦糖红色素指数为因变量进行各因素主体间效应检验。结果见表 4,反应温度对色率红色素指数影响显著 (p = 0.001),其余因素对焦糖色素红色素指数影响不大 (p > 0.05)。

表 4 各因素对焦糖色素红色素指数影响方差分析结果

Table 4 Results of one-way analysis of variance

因素	Ⅲ类平方和	自由度	均方	F	p
A	1.584	1	1.584	260.405	0.001
B	0.021	2	0.010	0.027	0.974
C	0.181	2	0.091	0.283	0.757
D	0.035	2	0.018	0.045	0.956
E	0.027	2	0.014	2.241	0.254
F	0.032	2	0.016	2.656	0.217
G	0.054	2	0.027	0.081	0.922

经方差分析(结果见表 5)可知:反应温度和碳酸铵浓度对焦糖色素中 4-甲基咪唑生产的影响显著 (p < 0.05),反应时间和葡萄糖浓度对 4-甲基咪唑生成无显著影响 (p > 0.05);各误差列对试验结果无影响。

根据方差分析可知,反应温度对三个考察指标均有显著影响 (p < 0.05),反应时间、碳酸铵浓度分别对色率、4-甲基咪唑含量具有显著影响 (p < 0.05)。由此可见,最优生产工艺的确定应主要对反应温度、反应时间和碳酸铵浓度进行筛选。焦糖色素作为一种天然色素在食品中添加使用,应以色率、红色素指数为主要考察,同时筛选出 4-甲基咪唑含量低的优质产品。因为各因素对焦糖色素色率的影响趋势与各因素对红色素指数、4-甲基咪唑含量影响趋向相反,所以对最佳生产工艺的选择很困难。色率高要

表2 焦糖色素氨法工艺优化 L<sub>18</sub>(3<sup>7</sup>)正交表试验结果表Table 2 Results of L<sub>18</sub>(3<sup>7</sup>) orthogonal array design

实验号	A	B	C	D	E	F	G	色率 (10 <sup>4</sup> EBC)	红色素 指数	4-甲基咪唑 含量(μg/mL)
1	1	1	1	1	1	1	1	4.70	5.97	134.69
2	1	2	2	2	2	2	2	4.73	5.70	149.44
3	1	3	3	3	3	3	3	5.41	5.36	190.95
4	2	1	1	2	2	3	3	6.48	4.87	203.70
5	2	2	2	3	3	1	1	6.52	5.45	203.23
6	2	3	3	1	1	2	2	6.23	5.27	188.42
7	3	1	2	1	3	2	3	7.23	4.58	241.49
8	3	2	3	2	1	3	1	7.86	4.48	231.70
9	3	3	1	3	2	1	2	7.28	4.52	223.42
10	1	1	3	3	2	2	1	4.89	5.51	160.42
11	1	2	1	1	3	3	2	5.23	5.34	199.95
12	1	3	2	2	1	1	3	4.62	5.97	134.42
13	2	1	2	3	1	3	2	6.64	5.21	193.70
14	2	2	3	1	2	1	3	6.25	5.24	179.74
15	2	3	1	2	3	2	1	6.41	5.08	220.21
16	3	1	3	2	3	1	2	7.71	4.15	253.49
17	3	2	1	3	1	2	3	7.37	4.53	235.42
18	3	3	2	1	2	3	1	7.79	4.50	252.82
色率极差 分析	K <sub>1</sub>	29.58	37.65	37.47	37.43	37.42	37.08	38.17		
	K <sub>2</sub>	38.53	37.96	37.53	37.81	37.42	36.86	37.82		
	K <sub>3</sub>	45.24	37.74	38.35	38.11	38.51	39.41	37.36		
	R	15.66	0.31	0.88	0.68	1.09	2.55	0.81		
红色素指数 极差分析	K' <sub>1</sub>	33.85	30.29	30.31	30.90	31.43	31.30	30.99		
	K' <sub>2</sub>	31.12	30.74	31.31	30.25	30.34	30.67	30.19		
	K' <sub>3</sub>	26.76	30.70	30.01	30.58	29.96	29.76	30.55		
	R'	7.09	0.45	1.30	0.65	1.47	1.54	0.80		
4-甲基咪唑 生成量 极差分析	K'' <sub>1</sub>	969.87	1187.49	1217.39	1197.11	1118.35	1128.99	1203.07		
	K'' <sub>2</sub>	1189.00	1199.48	1175.10	1192.96	1169.54	1195.40	1208.42		
	K'' <sub>3</sub>	1438.34	1210.24	1204.72	1207.14	1309.32	1272.82	1185.72		
	R''	468.47	22.75	42.29	14.18	190.97	143.83	22.70		

表5 各因素对焦糖色素中4-甲基咪唑含量影响方差分析结果

Table 5 Results of one-way analysis of variance

因素	Ⅲ类平方和	自由度	均方	F	p
A	5180.870	1	5180.870	154.167	0.001
B	43.172	2	21.586	0.011	0.989
C	157.018	2	78.509	0.049	0.952
D	17.716	2	8.858	0.004	0.996
E	1134.951	2	567.475	16.886	0.023
F	535.955	2	267.977	7.974	0.063
G	46.941	2	23.470	0.015	0.985

求高温长时间多葡萄糖进行反应,但温度过高导致焦糖色素颜色发黑,色调不好,同时还会促使4-甲基咪唑的生成;红色素指数高,色调好且4-甲基咪唑含量低的产品要求低温短时间反应,但是色率无法保证,又降低了焦糖色素的生产效率。

在 A<sub>1</sub>C<sub>2</sub>E<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 条件下,生产的焦糖色素色率小于

4.75 × 10<sup>4</sup> EBC, 无法达到实际应用需求。而 A<sub>3</sub>C<sub>3</sub>E<sub>3</sub>F<sub>3</sub> 条件下制得的焦糖色素,虽然色率高,但是红色素指数低,4-甲基咪唑含量 > 230 μg/mL, 不宜采用。结合实际生产、应用情况,经过综合平衡各因素对焦糖品质的影响,选取 A<sub>2</sub>C<sub>1</sub>E<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 确定最适生产参数为 135 ℃、80 min、3% NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 及 500 g/L 葡萄糖。对该条件下的生产条件进行验证,焦糖色素色率: 6.73 × 10<sup>4</sup> EBC, 红色素指数 5.21, 4-甲基咪唑的含量 198.34 μg/mL, 焦糖色素的综合质量较优化前有明显提升。(因为各因素对焦糖色素色率的影响趋势与各因素对焦糖色素红色素指数、4-甲基咪唑含量影响趋向相反,所以对最佳生产工艺的选择很困难。色率高要求高温长时间多葡萄糖进行反应,但温度过高导致焦糖色素颜色发黑,色调不好;红色素指数高色调好的产品要求低温短时间,但是色率无法保证;4-甲基咪唑作为有害物质要求越少越好,要求低温、短时间,少催化剂,降低了焦糖色素的色率和生产效率)。

本工艺的优化不仅有效降低了4-甲基咪唑的生

成,更对焦糖色素的感官、性状、色率、色调等天然色素的主要应用指标进行优化分析。

### 3 讨论与结论

以葡萄糖为原料,以碳酸铵为催化剂,利用高压反应制备焦糖色素。焦糖色素制备过程主要包括焦糖化反应和美拉德反应。为了加速反应,提高焦糖产品的色率和着色效果,在焦糖制备时加入铵盐。反应体系  $\text{NH}_4^+$  的引入为美拉德反应产生的丙酮醛氨解提供的必要条件,丙酮醛经过氨解产生的甲酰胺或乙酰胺与反应体系中的醛类物质进一步反应生成羟基丙酮,生成的羟基丙酮继续同氨反应,生成的2-氨基丙醛与酰胺类物质发生加成缩醛反应后再进一步脱水形成4(5)-甲基咪唑<sup>[28-32]</sup>。整个反应体系十分复杂,涉及的物质较多,而且很多反应是在短时或瞬时发生,机理研究极为复杂。除葡萄糖浓度外,反应温度的升高、反应时间的延长以及催化剂浓度的增大,均对4-甲基咪唑的生成有促进作用,同时提高色率,降低红色素指数,影响焦糖色素的色调。催化剂对焦糖色素中4-甲基咪唑的生成有较大贡献,同时提高焦糖色素的合成速率,因此高浓度的催化剂用量对色率提高有明显促进作用。通过正交试验设计,确定焦糖色素中最佳生产工艺为:135℃、80 min、3%  $\text{NH}_4^+$  及500 g/L葡萄糖浓度。对该条件下的生产条件进行验证,制备得到的氨法焦糖色素色率:  $6.73 \times 10^4$  EBC,红色素指数5.21,4-甲基咪唑的含量198.34  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,焦糖色素的综合质量较优化前有明显提升。

### 参考文献

[1] 陈其钢,古丽奴尔·吐拉西,李丹,等.焦糖色素在酱油中应用状况及前景[J].农产品加工,2015(9):28-30.  
 [2] 崔金梅,高丽华,刘婷.食品中4-甲基咪唑的分析方法[J].中国酿造,2016(11):7-14.  
 [3] 陈洪兴,顾正彪.影响焦糖色素色泽的因素分析[J].中国调味品,2015,40(9):66-68.  
 [4] 邓丽卿,王松磊,史文慧,等.高品质焦糖色素(IV)的制备工艺优化[J].食品工业科技,2012,33(24):353-354.  
 [5] 钟俊松,谢长兴.焦糖色素的分类和鉴别——介绍美国食品用化学品法典的方法[C]//中国食品添加剂生产应用工业协会着色剂专业委员会年会,2007:49-51.  
 [6] 王华丽,骆鹏杰,张霖月,等.GB2760-2011中部分食品添加剂的技术必要性再评估研究[J].中国食品添加剂,2013(4):75-82.  
 [7] 吕慧威,于爽,孙玉梅,等.焦糖色素稳定性及其对食醋稳定性的影响[J].中国调味品,2010,35(8):24-25.  
 [8] 杨调调,何志勇,秦昉,等.美拉德反应对产品风味品质的影响及其衍生危害物研究进展[J].食品安全质量检测学报,2017,8(3):854-861.  
 [9] YB Monakhova, C Schlee, T Kuballa, et al. Rapid determination of 4-methylimidazole in caramel colours using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy [J]. Lebensmittelchemie, 2012, 66(6): 145-147.  
 [10] KG Lee, H Jang, T Shibamoto. Formation of carcinogenic 4(5)-methylimidazole in caramel model systems: A role of sulphite[J]. Food Chemistry, 2013, 136(3-4): 1165-1168.

[11] 史文慧.氨法焦糖色素品质优化与4-甲基咪唑含量控制的研究[D].广州:华南理工大学,2012.  
 [12] 汪丰云,彭云龙,吕金安,等.焦糖色素与食品安全[J].化学教育,2013,34(7):1-2.  
 [13] 谭文兴,农立忠,黄玉南,等.低4-甲基咪唑含量的焦糖色素制备工艺的研究[J].甘蔗糖业,2013(6).  
 [14] 史文慧,于淑娟,何树珍.正交实验法优化酱油用焦糖色素的制备工艺[J].食品工业科技,2012,33(4):320-322.  
 [15] S C Cunha, A I Barrado, M A Faria, et al. Assessment of 4-(5-)methylimidazole in soft drinks and dark beer[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2011, 24: 609-614.  
 [16] 熊珺,陈美玲,赖毅东.固相萃取-选择离子气质联用法测定液态调味料中的4-甲基咪唑[J].现代食品科技,2012, 28(5):567-569.  
 [17] 张晓燕,芦春梅,郭娜,等.高效液相色谱法测定饮料中的4-甲基咪唑[J].中国酿造,2013(5):47.  
 [18] 姜雪,苏媛媛,吴小松,等.液相法测定焦糖色中4-甲基咪唑的不确定度评定[J].中国酿造,2013,32(2).  
 [19] 金惠平,汪青.焦糖色素的生产工艺及其使用性能[J].湖州职业技术学院学报,2005,3(3):88-91.  
 [20] 马成良,张海军,李素平.现代实验设计优化方法及应用[M].郑州:郑州大学出版社,2007:127-132.  
 [21] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.GB1886.64-2015食品安全国家标准食品添加剂焦糖色[S].北京:中国标准出版社,2016.  
 [22] 秦祖赠,龙明贵.焦糖色素的色率及红色指数与pH关系的研究[J].中国调味品,2003,(1):27-29.  
 [23] 庞美蓉,林钦,戴明,等.超高效液相色谱-串联质谱法同步检测食品中的2-甲基咪唑及4-甲基咪唑[J].分析测试学报,2016,35(8):943-948.  
 [24] Wittayachai L, Soottawat B, Munehiko T. Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-glucose model system as influenced by pH [J]. Food Chemistry, 2007, 100(2): 669-677.  
 [25] Delgado Andrade C. Maillard reaction products: Some considerations on their health effects [J]. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2014, 52(1): 53-60.  
 [26] 高晓彬,魏力军.浅谈食品中碳水化合物在加热处理中的几种变化[J].食品科技,2000(1):61-63.  
 [27] 吴惠玲,王志强,韩春,等.影响美拉德反应的几种因素研究[J].现代食品科技,2010,26(5):441-444,440.  
 [28] Ou S, Shi J, Huang C, et al. Effect of antioxidants on elimination and formation of acrylamide in model reaction systems [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 182(1-3): 863-868.  
 [29] Capuano E, Fogliano V. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies [J]. LWT - Food Science & Technology, 2011, 44(4): 793-810.  
 [30] 刘仲能,金文清,沈琴,等.4-甲基咪唑合成工艺技术进展[J].精细化工,2000,17(2):103-105.  
 [31] 吴敏,姚成.4-甲基咪唑的合成及应用[J].化工时刊,2002(12):43-45.  
 [32] Joon - Kwan Moon, Takayuki Shibamoto. Formation of carcinogenic 4(5)-methylimidazole in Maillard reaction systems [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2011, 59(2): 615-618.