

Süt ve Süt Ürünlerinde Hidroksimetilfurfural (HMF)

Filiz Yangılar 

Ardahan Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ardahan

Geliş Tarihi (Received): 15.08.2013, Kabul Tarihi (Accepted): 12.11.2013

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): f_yangilar@hotmail.com (F. Yangılar)

☎ 0 478 211 64 05 / 3020 📠 0 478 211 32 75

ÖZET

Sütün, süt ürünlerine işlenmesinde uygulanan ısı işlemler (sprey kurutma, sterilizasyon, buharlaştırma), süt ve süt ürünlerinin kalitesini etkileyen özelliklerle, sütün güvenliğini ve raf ömrünün uzatılmasını sağlamada etkili olan faktörlerdir. Ancak sterilizasyon, yüksek sıcaklık uygulaması ve yüksek basınç uygulamaları sırasında uygulanan ısı işlemlerinin; hidroksimetilfurfural, serbest sülfidril grupları, furan, laktoz ve peynir altı suyu proteinlerinin denatürasyonu üzerine zararlı etkileri oluşmaktadır. Hidroksimetil furfural (HMF), Maillard Reaksiyon ürünlerinden birisidir. Bu bileşik gıdaların rengini değiştirerek doğal yapısının bozulmasına neden olmaktadır. Bu derlemede, süt ve süt ürünlerinde HMF oluşumu, sağlık üzerine etkileri ve HMF miktarının tespit yöntemleri araştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Hidroksimetilfurfural, Süt ürünleri, Besin kayıpları, Sağlık

Hydroxymethylfurfural (HMF) in Dairy Products

ABSTRACT

Heat treatments such as spray drying, sterilization and evaporation, which are applied during the processing of dairy products, extend the shelf-life of milk products and ensure milk safety, which are the important factors that affect the quality of dairy products. However, heat treatment during sterilization, ultra high temperature (UHT), ultra-high pressure homogenized (UHPH) may result in the formation of the following detrimental effects; hydroxymethylfurfural, free sulfhydryl content, furosine, lactulose and whey protein denaturation. Hydroxymethylfurfural is a product of Maillard Reaction. This compound leads to the deterioration of the natural structure by the change of colour of foods. In this study, the formation of HMF in dairy products, its effect on human health and methods of its determination are reviewed.

Key Words: Hydroxymethylfurfural, Dairy products, Nutritional losses, Health

GİRİŞ

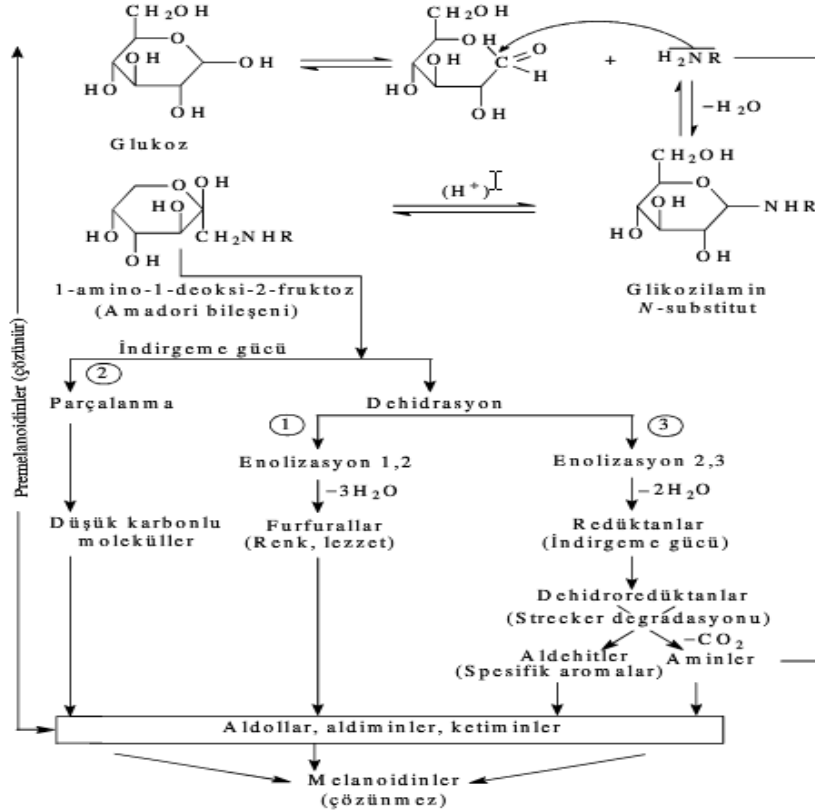
Globalleşen dünyamızda gıda endüstrisinde meydana gelen gelişmeler ışığında tüketici beklentileri de artmaktadır. Mikrobiyal açıdan daha güvenilir, raf ömrü uzun, albenisi yüksek, organik olan ve katkı maddeleri içermeyen gıdaların tercihi ön plana çıkmaktadır. Gıdaların korunmasında en yaygın kullanılan metotlardan birisi de ısı işlemler olup, bu işlemler sırasında mevcut protein ve şeker grupları arasında bazı reaksiyonlar meydana gelmektedir [1, 2]. Çoğu zaman

bu reaksiyonlar içerisinde Maillard Reaksiyonu ve karamelizasyon tepkimeleri aynı reaksiyonlar olarak bilinmektedir. Ancak, Maillard Reaksiyonu glukoz ve maltoz gibi indirgen şekerlerin karbonil grupları ile aminoasitlerin amino grupları arasında oluşurken [3-7], karamelizasyon şekerin su kaybetmesiyle direkt oluşan bir reaksiyondur [5, 8]. Karamelizasyon reaksiyonu; pH, tuz ve sakaroz konsantrasyonundan etkilenen ve karamel rengin oluşması ile kendini gösteren bir reaksiyon olup, bazı gıdalarda istenilen bir reaksiyon iken kontrol altına alınamadığında acı ve yanık tat

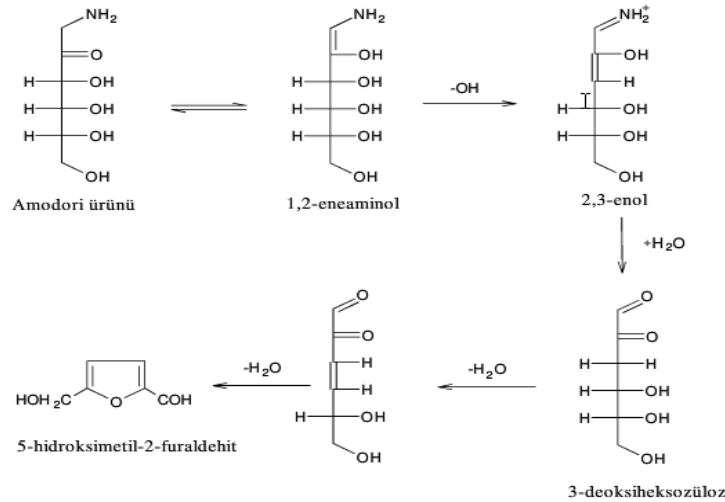
oluşumuna neden olduğu için istenilmediği durumlarda olmaktadır [8].

Süt ve ürünlerinde Maillard reaksiyonu laktozdan türetilen çoğu bileşikler oluşmaktadır. Bu bileşiklerin çoğu reaktif dezoksiozan ara bileşikleri olarak oluştuğu bilinmektedir. Genel olarak laktoz ya 3-dezoksi (1,2

enolizasyon ile asidik pH'da) ya da 1-dezoksi (2,3 enolizasyon ile nötral pH'da) formundadır. 3-dezoksiozanın ileri reaksiyonlarında Hidrosimetilfurfural (HMF) oluşmaktadır [7, 9]. Maillard Reaksiyon şeması Şekil 1'de ve Amadori dönüşümü sonucu HMF oluşumu Şekil 2'de verilmiştir.

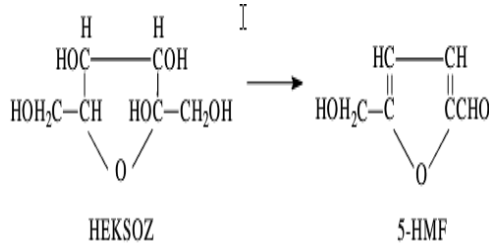


Şekil 1. Maillard reaksiyonu şeması [10, 11]



Şekil 2. Amadori dönüşümü ürünün hidrosimetilfurfurala dönüşümü [11, 12]

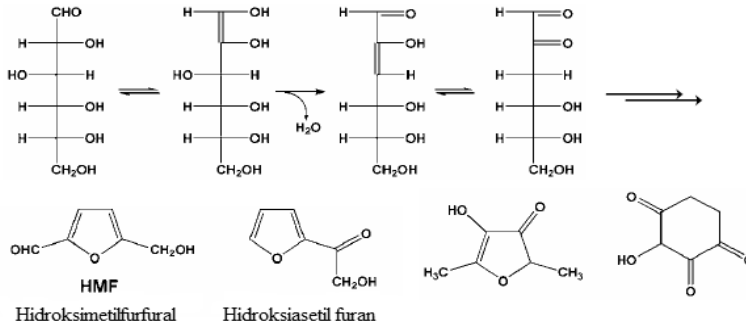
HMF, Maillard Reaksiyonunda oluşabileceği gibi Şekil 3'te verildiği gibi heksozların doğrudan ısıtılması ile de oluşabilmektedir [11, 13]. HMF genel olarak karbonhidratlardan (fruktoz, inülin vb.) oluşmaktadır [14-17].



Şekil 3. Heksozların asidik ortamda ısıtılması sonucu 5-HMF oluşumu

Isıl işlem uygulamaları sırasında gıdalarda aroma ve renk maddelerinin yanında (pH, reaktantların tipi, sıcaklık, su aktivitesi gibi faktörlere bağlı olarak) çok

sayıda Maillard reaksiyonu ürünleri de (hidroksimetil furfural (HMF), furfural, melanoidler ve akrilamid) meydana gelmektedir [18, 19]. Bu ürünlerden birisi de HMF'dir [5, 20, 21]. HMF ısıtılmış gıdalarda düşük konsantrasyonlarda bulunan bir bileşiktir. Bireysel tüketim miktarına bağlı olarak günlük tüketimde HMF miktarı yüksek varyasyonlar gösterebilir. Bir diyetle, sindirilen gıdadan günlük yaklaşık 5–10 mg HMF alınabileceği tahmin edilmektedir [22]. HMF taze, işlenmemiş gıdalarda yok denecek kadar az düzeyde bulunurken [23], ısıtılmış gıdalarda miktarında artış olur. Bu durum gıdalarda ısıtılmanın değerlendirilmesi açısından önemlidir [24, 25]. Ayrıca, gıdanın tazelik ve kalitesinde de tanımlayıcı bir parametredir. Birçok gıda HMF düzeyi, ısıtılma şiddetinin ve kalitesinin belirlenmesi için bir belirteç olarak kullanılmaktadır [26]. Maillard reaksiyonu nedeniyle HMF oluşumu, esmerleşme ve karamelizasyonla oluşuma göre daha fazladır [27]. Karamelizasyon reaksiyonu Şekil 4'te verilmiştir [28].



Şekil 4. Karamelizasyon reaksiyonu

Maillard reaksiyonu ile oluşan polimer bileşiklerin floresans özelliğe sahip olması nedeniyle reaksiyonun belirlenmesinde indikatör olarak kullanılabilmesi belirtilmektedir [29]. Bu ürünler gıdaların aromasını artırmalarının yanı sıra lizin gibi yüksek değerli proteinlerde kayıplara da neden olabilmektedirler. Maillard Reaksiyonunu etkileyici unsurlar arasında; yüksek oranda laktöz ve protein içeriğine sahip olan sütün güvenliğini sağlamak ve raf ömrünü uzatmak için uygulanan ısıtılmış işlemler (UHT, sterilizasyon, evaporasyon, vb), hammadde kalitesi ve depolama şartları [6, 30], depolama süresi, pH ve su aktivitesi (a_w) sayılabilir [31-33].

HMF REAKSİYONUNUN SÜT TEKNOLOJİSİ AÇISINDAN ÖNEMİ

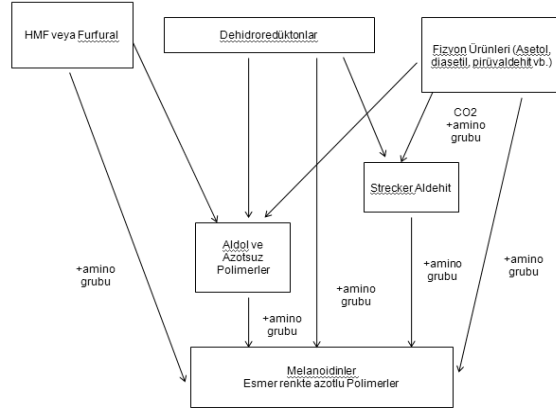
HMF'nin Maillard Reaksiyonu sonucu oluşan önemli bir bileşik olması, Maillard Reaksiyonu üzerinde durulmasının önemini artırmaktadır. Süt ürünleri Maillard reaksiyonlarından en çok etkilenen ürünler arasında yer almaktadır. Özellikle süt tozu içerdiği yüksek lizin ve yüksek laktöz konsantrasyonundan dolayı bu reaksiyonlara karşı çok hassastır. Süt ürünlerinin depolanması ve ısıtılması süresince protein zincirinden amino asitler serbest hale geçmekte ve karbonhidrat

reaksiyonları azalarak şekerler ile amino asitlerin arasında reaksiyonlar oluşmaktadır [34-36]. Maillard reaksiyonlarından metiyonin, sistein, sistin ve triptofan amino asitleri de etkilenmektedir [36]. Maillard Reaksiyonu sonucu oluşan reaksiyon ürünleri Şekil 5'te verilmiştir [37].

Maillard reaksiyonunun süt teknolojisi açısından önemi şu şekilde sıralanabilir [37]:

- Ürünün görünüşünde, özellikle renginde değişimler olur. Rengin esmerleşmesi, çözünürlüğün azalması süttozunda önemli sorunlar oluşturmaktadır.
- Ürünlerde kötü lezzet meydana gelebilir. Kötü koku, fizyon ürünlerinden ve Stecker aldehitleri gibi uçucu ürünlerden kaynaklanır.
- Süt mamulünün besin değerinde azalma meydana gelir. Süt ve mamullerinin bileşiminde bulunan amino asitler ve diğer bazı esansiyel maddeler tahrip olur. En çok zarar gören amino asit lizindir. Yüksek oranda laktöz içeren peynir suyundan kurutulmasında ve bebek mamalarına uygulanan kurutma işleminde lizin kaybı daha fazla olur. Bu reaksiyon ürünleri, sindirim sistemindeki kalsiyum, magnezyum ve çinko gibi bazı mineral maddelerin kaybını da artırır.

- d. İmidazoller ve N-nitrozo türevlerinin oluşumu ile toksisite meydana gelebilir. e. Su oluşumu nedeniyle su aktivitesinde yükselme olmaktadır.



Şekil 5. Maillard reaksiyonu sonucu oluşan ürünler

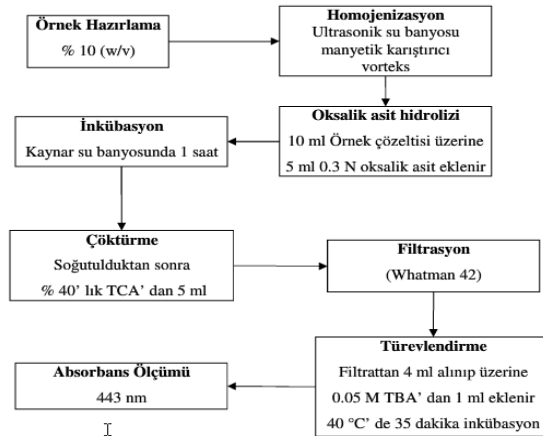
5-HİDROKSİMETİL-2-FURALDEHİDİN İNSAN SAĞLIĞI ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

5-Hidroksimetil-2-furaldehidin, Maillard Reaksiyonunda oluşan bir ara maddedir [20, 38, 39]. HMF'nin yüksek konsantrasyonlarda alınmasının toksik etkisine ilaveten göz, üst solunum yolu, deri ve mukoz membranlarında tahrişe neden olduğu Ulbricht ve ark. [40] tarafından bildirilmiştir. Ayrıca, çeşitli çalışmalar hücre büyümesini engellediğini, sitotoksik etki gösterdiğini, tümör oluşumunu ve gelişimini desteklediğini de göstermiştir [11, 41, 42, 43]. Denek fareler ile yapılan çalışmalarda, 1260–3150 mg HMF uygulamasının deri lezyonları oluşturduğu ve deri tümörünü artırdığı, 200 mg/kg vücut ağırlığı bazında karaciğer tümörü geliştirdiği rapor edilmiştir [11, 44].

HMF'NİN BELİRLENMESİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER

Farklı ısı proseslerinin uygulanarak hazırlandığı gıda ve içeceklerde HMF'nin tespitinin yapılabileceği bildirilmiştir [39, 45-50]. Son yıllarda HMF miktarının tespiti için çoğu spektrofotometrik teknik esaslı metotlar geliştirilmiştir [25, 51]. HMF miktarının belirlenmesinde Resmi Analitik

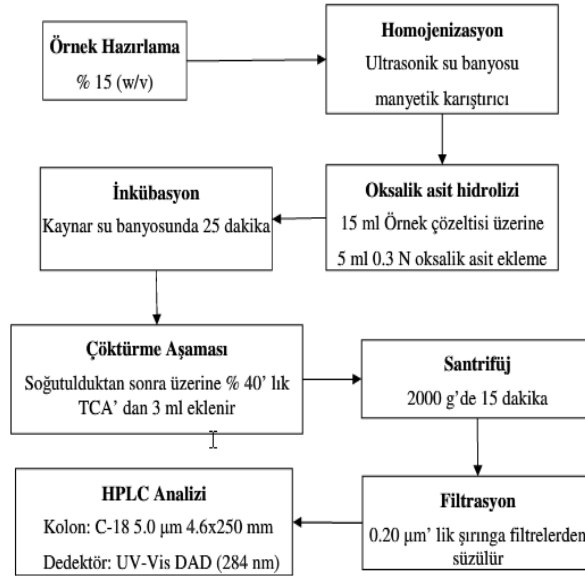
Kimyacılar Topluluğu tarafından [52] UV detektörleriyle sıvı kromatografi (LC) yöntemi en yaygın kullanılan metottur [25]. Son zamanlarda kütle spektrofotometreside (MS) bu amaçla kullanılmaya başlanılmıştır. Bazı gıdalarda HMF analizlerinde LC-MS ve LC-MS/MS yöntemleri de kullanılmaktadır [25, 53, 54]. Ayrıca HMF'nin tespitinde kütle spektrofotometreyle gaz kromatografisinin (GC-MS) kullanımı da önerilmektedir [25, 55, 56]. Mistry ve Pulgar [56] tarafından tanımlanan spektrofotometrik analiz tekniği HMF'nin analizinde kullanılmaktadır. HMF'nin belirlenmesinde spektrofotometrik analiz akım şeması Şekil 6'da verilmiştir. Isıtılmış sütte HMF'nin tespitinde C18 ters fazlı silika kolonundan ayrıldıktan sonra, 280 nm'de absorblanmasında rp-HPLC yöntemi uygulanmaktadır [57]. Günümüzde kapillar elektroforez (CE) yöntemi örnek ve çözelti ihtiyacı az olması ve etkili bir yöntem olmasından dolayı gıda analizlerinde daha çok kullanılmaktadır [25, 58, 59]. CE yönteminin en yaygın kullanılan yöntemlerinden biriside misellar elektro kinetik kapillar (MECC) yöntemidir [25, 60]. Önceki çalışmalarda HMF belirlenmesinde LC-MS/MS yöntemi kullanılırken MECC metodu pratik yöntem olmasından dolayı daha çok tercih edilmektedir [25, 55].



Şekil 6. HMF'nin belirlenmesinde spektrofotometrik analiz akım şeması [11]

HMF analizinde kullanılan diğer bir metot, Ferrer ve ark. [2] tarafından önerilen HPLC yöntemiyle yapılan

tekniktir. HPLC yöntemi ile HMF'nin belirlenmesinin akım şeması Şekil 7'de verilmiştir.



Şekil 7. HMF'nin belirlenmesinde kromatografik analiz akım şeması [11]

SONUÇ

Bu derlemede, süt ve süt ürünlerinde HMF'nin oluşumu, sağlık üzerindeki etkisi ve HMF'nin belirlenmesinde kullanılan metotlar üzerinde durulmuştur. Tüketiciler daha güvenli ve kaliteli, duyuşal özelliklerinin etkilenmeyeceği, raf ömrü uzun olan gıdaları tercih etmelerine karşın, bütün bu istekleri ısı işlem uygulayarak karşılamak biraz zordur. Bunun için gıdanın daha az zarar görebileceği farklı tekniklerin geliştirilmesi (atımlı ışık (PL), ultraviyole ışınlama (UV), süper kritik karbon dioksit (SC-CO₂), vurgulu elektrik alan (PEF) veya koruyucu madde ilavesi gibi) bir zorunluluktur.

KAYNAKLAR

- [1] Husøy, T., Haugen, M., Murkovic, M., Jöbstl, D., Stølen, L. H., Bjellaas, T., 2008. Dietary exposure to 5-hydroxymethylfurfural from Norwegian food and correlations with urine metabolites of short-term exposure. *Food and Chemical Toxicology* 46(12): 3697–3702.
- [2] Ferrer, E., Alegria, A., Farre, R., Abellan, P., Romero, F., 2002. High-performance liquid chromatographic determination of furfural compounds in infant formulas. Change during heat treatment and storage. *Journal of Chromatography A* 947 (1): 85–95.
- [3] Camire, M.E., Camire, A., Krumber, K., 1990. Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 29(1): 35–37.
- [4] Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P., 2004. Aroma compounds. *Food chemistry*. 3rd ed. Berlin: Springer, 342 p.

- [5] Rufian-Henares, J.A., Delgado-Andrade, C., Morales, F.J., 2009. Assessing the Maillard reaction development during the toasting process of common flours employed by the cereal products industry. *Food Chemistry* 114: 93–99.
- [6] Pereyra Gonzales, A.S., Naranjo, G.B., Leiva, G.E., Malec, L.S., 2010. Maillard reaction kinetics in milk powder: Effect of water activity at mild temperatures. *International Dairy Journal* 20: 40–45.
- [7] Andrewes, P., 2012. Changes in Maillard reaction products in ghee during storage. *Food Chemistry* 135: 921–928.
- [8] Quintas, M.A.C., Branda, T.R.S., Silva, C.L.M. 2007. Modelling colour changes during the caramelisation reaction. *Journal of Food Engineering* 83: 483–491.
- [9] Van Boekel, M.A.J.S., 1998. Effect of heating on Maillard reactions in milk. *Food Chemistry* 62(4): 403–414.
- [10] Alais, C. and Linden, G., 1991. Non-enzymatic browning- the Maillard reaction, In "Food Biochemistry", 222 p., I.D.Morton (Ed.), Ellis Horwood Limited, England.
- [11] Oral, R.A., 2006. Bazı Gıdalarda Hidroksimetilfurfural (HMF) İçeriğinin Saptanması, Depolanması Esnasındaki Değişimi ve Biyolojik Yöntemle Azaltılması. Yüksek Lisans Tezi. *Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, 59 s. Kayseri.
- [12] Saldamlı, I., 1998. Gıda Kimyası, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara.
- [13] Lee, F.A., 1983. Basic Food Chemistry, second edition, The AVI Publishing Company, Inc., 564 p., U.S.A.
- [14] Małgorzata, E.Z., Ewa, B.Ł., Rafał, B.Ł., 2011. Ionic liquid-mediated formation of 5-

- hydroxymethylfurfurals a promising biomass-derived building block. *Chem. Rev.* 111: 397–417.
- [15] Guo, F., Fang, Z., Zhou, T., 2012. Conversion of fructose and glucose into 5-hydroxymethylfurfural with lignin-derived carbonaceous catalyst under microwave irradiation in dimethyl sulfoxide–ionic liquid mixtures. *Bioresour. Technol.* 112: 312–318.
- [16] Yemis, O., Mazza, G., 2012. Optimization of furfural and 5-hydroxymethylfurfural production from wheat straw by a microwave-assisted process. *Bioresour. Technol.* 109: 215–223.
- [17] Zhou, L., Liang, R., Ma, Z., Wu, T. and Wu, Y., 2013. Conversion of cellulose to HMF in ionic liquid catalyzed by bifunctional ionic liquids. *Bioresour. Technology* 129: 450–455.
- [18] Yıldız, O., Sahin, H., Kara, M., Aliyazıcıoğlu, R., Tarhan, Ö., Kolaylı, S., 2010. Maillard Reaksiyonları ve Reaksiyon Ürünlerinin Gıdalardaki Önemi. *Akademik Gıda* 8(6): 44–51.
- [19] Hidalgo, F.J., Zamora, R., 2000. The role of lipids in nonenzymatic browning. *Grasas Y Aceites* 51: 35–49.
- [20] Berg, H.E., Boekel, M.A.J.S., 1994. Degradation of lactose during heating of milk. I. Reaction pathways. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 48(3):157–175.
- [21] Ramirez-Jimenez, A., Villanova, B.G. and Hernandez, E.G., 2000. Hydroxymethylfurfural and methylfurfural content of selected bakery products. *Food Research International* pp. 833–838.
- [22] Arribas-Lorenzo, G., Morales, F.J., 2010. "Estimation of dietary intake of 5-hydroxymethylfurfural and related substances from coffee to Spanish population". *Food and Chemical Toxicology* 48 (2): 644–9.
- [23] Babsky, N.E., Toribio, J.L., Lozano, J.E., 1986. Influence of storage on the composition of clarified apple juice concentrate. *Journal of Food Science* 51: 564–567.
- [24] Fallico, B., Arena, E., Zappala, M., 2003. Roasting of hazelnuts. Role of oil in colour development and hydroxymethylfurfural formation. *Food Chemistry* 81(4): 569–573.
- [25] Teixido, E., Nunez, O., Santos, F.J., Galceran, M.T., 2011. 5-Hydroxymethylfurfural content in foodstuffs determined by micellar electrokinetic chromatography. *Food Chemistry* 126: 1902–1908.
- [26] Baldwin, I.T., Staszak-Kozinski L., Davidson R., 1994. Up in smoke: I. Smoke-derived germination cues for postfire annual, *Nicotiana attenuata* torr. ex. Watson. *Journal of Chemical Ecology* 20: 2345–2371.
- [27] Bozkurt, H., Gögüs, F., Eren, S. 1999. Non-enzymatic browning reactions in boiled grape juice and its models during storage. *Food Chemistry* 64: 89–93.
- [28] Anonymous, 2013. http://www.hull.ac.uk/php/chsanb/Food/Food_3.pdf. Erişim Tarihi: 13.06.2013.
- [29] Matiacevich, S.B., Buera M.P., 2006. A critical evaluation of fluorescence as a potential marker for the Maillard reaction. *Food Chemistry* 95: 423–430.
- [30] Ferrer, E., Alegria, A., Courtois, G., Farre, R., 2000. High-performance liquid chromatographic determination of Maillard compounds in store-brand and name-brand ultra-high-temperature-treated cows' milk. *Journal of Chromatography A* 800: 599–606.
- [31] Lingnert, H., 1990. Development of the Maillard reaction during food processing. In: Finot, P.A., Aeschbacher, H.U., Hurrell, R.F., Liardon, R. (Eds.), *The Maillard Reaction in Food Processing, Human Nutrition and Physiology. Birkhauser Verlag, Basel*, pp. 171–185.
- [32] Wijewickreme, A.N., Kitts, D.D., Durance, T.D., 1997. Reaction conditions influence the elementary composition and metal chelating affinity of nondialyzable model Maillard reaction products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 4577–4583.
- [33] Jing, H., Kitts, D.D., 2002. Chemical and biochemical properties of casein-sugar Maillard reaction products. *Food and Chemical Toxicology* 40: 1007–1015.
- [34] Hodge, J.E. 1953. Chemistry of browning reactions in model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1: 928–936.
- [35] Labuza, T.P., 1972. Nutrient losses during drying and storage of dehydrated food. *CRC Critical Reviews in Food Technology* 3: 217–240.
- [36] Block, J.D., Merchiers, M., Mortier, L., Braekman, A., Ooghe, W., Renterghem, R.V., 2003. Monitoring nutritional quality of milk powders: capillary electrophoresis of the whey protein fraction compared with other methods. *International Dairy Journal* 13: 87–94.
- [37] Metin, M., 2001. Süt Teknolojisi Kitabı, "Sütün Bileşimi ve İşlenmesi". *E.Ü. Mühendislik Fakültesi Yayınlar No: 33: 216–217*.
- [38] Friedman, M., 1996. Food browning and its prevention: An overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44(3): 631–653.
- [39] Edris, A.E., Murkovic, M., Siegmund, B., 2007. Application of headspace-solid-phase microextraction and HPLC for the analysis of the aroma volatile components of treacle and determination of its content of 5-hydroxymethylfurfural (HMF). *Food Chemistry* 104:1310–1314.
- [40] Ulbricht, R.J., Northup, S.J., Thomas, J.A., 1984. A Review of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in parenteral solution. *Fundamental and Applied Toxicology* 4: 843–853.
- [41] Janzowski, C., Glaab, V., Samimi, E., Schlatter, J., Eisebbrand, G. 2000. 5-Hydroxymethylfurfural: assessment of mutagenicity, DNA-damaging potential and reactivity towards cellular glutathione. *Food and Chemical Toxicology* 38: 801–809.
- [42] Archer, M.C., Bruce, W.R., Chan, C.C., Carpet, D.E., Medline, A., Roncucci, L., Stamps, D., Zhang, X.M., 1992. Aberrant crypt foci and microadenoma as markers for colon cancer. *Environmental Health Perspectives* 98: 195–197.
- [43] Zhang, X.M., Chan C.C., Stamp D., Minkin S., Archer M.C., Bruce W.R., 1993. Initiation and promotion of colonic aberrant crypt foci in rats by 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in thermolyzed sucrose. *Carcinogenesis* 14: 773–775.

- [44] Miyakawa, Y., Nishi Y., Kato K., Sato H., Takahashi M., Hayashi Y., 1991. Initiating activity of eight pyrolysates of carbohydrates in a two stage mouse skin tumorigenesis model. *Carcinogenesis* 12: 1169–1173.
- [45] Claeys, W., Van Loey, A., Hendrickx, M., 2003. Kinetics of hydroxymethylfurfural, lactulose and furosine formation in milk with different fat content. *Journal of Dairy Research* 70(1): 85–90.
- [46] Consonni, R., Gatti, A., 2004. ¹H NMR studies on Italian balsamic and traditional balsamic vinegars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(11): 3446–3450.
- [47] Driffield, M., Chan, D., Macarthur, R., MacDonald, S., Brereton, P., Wood, R., 2005. Single laboratory validation of a method for the determination of hydroxymethylfurfural in honey by using solid-phase extraction cleanup and liquid chromatography. *Journal of ADAC International* 88(1): 121–127.
- [48] Li, Y., Lu, X., 2005. Investigation on the origin of 5-HMF in Shengmai Yin decoction by RP-HPLC method. *Journal of Zhejiang University Science B* 6(10): 1015–1021.
- [49] Pichler, N., Murkovic, M., 2004. Determination of 5-hydroxymethyl- 2-furaldehyde (HMF) in sweet wine and Balsamic vinegar. *News and References Archives* 11–22.
- [50] Shinoda, Y., Komura, H., Homma, S., Murata, M., 2005. Browning of model orange juice solution: factors affecting the formation of decomposition products. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 69(11): 2129–2137.
- [51] White, J.W.J., 1979. Spectrophotometric method for hydroxymethylfurfural in honey. *Journal of AOAC International* 62(3): 509–526.
- [52] Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis, 1996. Official Methods of Analysis of AOAC International, 4426.
- [53] Gökmen, V., Senyuva, H.Z., 2006. Improved method for the determination of hydroxymethylfurfural in baby foods using liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 2845–2849.
- [54] Teixido, E., Moyano, E., Santos, F.J. and Galceran, M.T., 2008. Liquid chromatography multi-stage mass spectrometry for the analysis of 5-hydroxymethylfurfural in foods. *Journal of Chromatography A* 1185: 102–108.
- [55] Teixido, E., Santos, F.J., Puignou, L., Galceran, M.T., 2006. Analysis of 5-hydroxymethylfurfural in foods by gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1135 (1): 85–90.
- [56] Mistry, V.V., Pulgar, J.B., 1996. Physical and storage properties of high milk protein powder. *International Dairy Journal* 6: 195–203.
- [57] Morales, F.J., Romero C., Jiménez-Pérez, S., 2000. Characterization of industrial processed milk by analysis of heat-induced changes. *International Journal of Food Science and Technology* 35 (2): 193-200.
- [58] Cifuentes, A., 2006. Recent advances in the application of capillary electro migration methods for food analysis. *Electrophoresis* 27 (1): 283–303.
- [59] Garcia-Canas, V., Cifuentes, A., 2008. Recent advances in the application of capillary electro migration methods for food analysis. *Electrophoresis* 29 (1): 294–309.
- [60] Morales, F.J., Jimenez-Perez, S., 2001. Hydroxymethylfurfural determination in infant milk-based formulas by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Food Chemistry* 72: 525–531.