

## L-赖氨酸与葡萄糖美拉德反应及其产物的抗氧化性能研究\*

王惠英, 孙涛, 周冬香, 毛芳

(上海水产大学食品学院, 上海, 200090)

**摘 要** 研究 L-赖氨酸与葡萄糖氨基和羰基不同比例的 3 个体系的美拉德反应(L-赖氨酸的氨基与葡萄糖的羰基的物质质量之比分别为 1:1、1:2 和 2:1), 并以对超氧阴离子  $O_2^-$  清除能力为指标, 评价了美拉德反应产物(MRPs)的抗氧化能力。结果表明:美拉德反应是个酸度和褐变不断增强的反应;MRPs 的最大吸收波长在 460 nm 左右;达到相同的褐变程度, 即吸光度 A 为 2.0 时, 3 个体系的反应速率:1:2>1:1>2:1;不同体系得到的 MRPs 对  $O_2^-$  都具有较好的清除效果, 并且 MRPs 的抗氧化能力不完全依赖于产物的褐变程度。

**关键词** 美拉德反应, 超氧阴离子  $O_2^-$ , 抗氧化能力

美拉德反应又称羰氨反应, 广泛存在于食品、饲料加工过程中, 是一种氨基化合物(氨基酸、肽及蛋白质)与羰基化合物(糖类)之间发生的非酶褐变。美拉德反应历程以及其产物的组成非常复杂, 但大量的研究表明, 美拉德反应产物除了能提供给食品特殊的气味外, 还具有抗氧化、抗诱变、抗病毒等特性<sup>[1~4]</sup>。尤以 1980 年代以来, 美拉德反应产物的抗氧化活性研究已逐渐成为当今食品营养学和食品化学领域的热门课题。

本文以 L-赖氨酸作为氨基供应体, 与提供羰基的葡萄糖发生美拉德反应, 并研究了反应过程中产物 pH 值、吸光度的变化以及对超氧阴离子自由基  $O_2^-$  的清除能力。这为拓宽美拉德反应产物在食品、化学、药物等领域的开发和利用提供了新的思路。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂

L-赖氨酸, 生化试剂; 葡萄糖、邻苯三酚、醋酸、碳酸钠、碳酸氢钠等, 均为分析纯; 二次蒸馏水; 鲁米诺, 购自 Sigma 公司。

### 1.2 主要设备和仪器

WFZ UV2000 型紫外分光光度计, 上海合利仪器有限公司; IFFM-D 型流动注射化学发光分析仪, 西安瑞迈电子科技有限公司; pH 酸度计, 梅特勒-托利多 320 型。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 美拉德反应产物的制备

第一作者: 硕士研究生(孙涛博士为通讯作者)

\*上海市重点学科建设项目专项基金资助(No. T1102), 上海市教委科研项目(No. 0722134)

收稿日期: 2007-07-19, 改回日期: 2007-08-28

称取 L-赖氨酸 1.000 g 3 份(L-赖氨酸中氨基的物质质量为 0.0137 mol/L)于平底烧瓶中, 并加入 150 mL 二次蒸馏水使之完全溶解, 而后分别加入葡萄糖 2.461 g (4.922、1.231 g)(即葡萄糖中羰基的物质质量分别为 0.0137、0.0273、0.0068 mol/L), 使 L-赖氨酸的氨基与葡萄糖的羰基的物质质量之比为 1:1、1:2、2:1。在 80℃ 下回流反应。并每隔一段时间取样, 测其 pH 值、吸光度以及对超氧阴离子自由基  $O_2^-$  的清除率, 直至反应结束。

#### 1.3.2 对超氧阴离子自由基 $O_2^-$ 的清除

用流动注射化学发光法<sup>[6]</sup>考察美拉德反应产物对超氧阴离子自由基  $O_2^-$  的清除活性。用  $1.0 \times 10^{-3}$  mol/L 的盐酸配制浓度为  $1.0 \times 10^{-4}$  mol/L 的邻苯三酚溶液, 配制 pH = 10.20 的 0.5 mol/L  $Na_2CO_3$ - $NaHCO_3$  缓冲溶液, 并以此为溶剂配制浓度为  $1.5 \times 10^{-3}$  mol/L 的鲁米诺溶液和不同浓度的样品待测溶液。用流动注射化学发光分析仪依次测定从稀到浓的样品溶液, 读出峰面积。用下式计算清除率:

$$\text{清除率}/\% = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100$$

式中:  $A_0$  为空白溶液峰面积;  $A_1$  为样品溶液峰面积。

经 SOD,  $H_2O_2$  酶及甘露醇检测, 该体系产生的自由基为  $O_2^- \cdot$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 pH 值的变化

图 1 描述了 3 个体系的 MRPs 的 pH 值与反应时间的关系。由图 1 可知: (1) 3 个体系在反应初始时, 溶液均呈碱性, 随着反应的进行, pH 值均有明显

的下降。这可能是因为反应初始时,体系的 pH 值主要取决于 L-赖氨酸, L-赖氨酸的分子单元中含有一个羧基和 2 个氨基,属于碱性氨基酸。而后的羰氨缩合封闭了游离的氨基,致使反应体系 pH 值的下降。(2)3 个不同物质量之比的 MRPs 的 pH 值的变化范围在 5~10 之间。这可能是羰氨缩合是一个可逆过程, pH 值太低,美拉德反应会受到抑制<sup>[7]</sup>。这种 pH 值的变化范围对开发功能性食品是相当有利的。

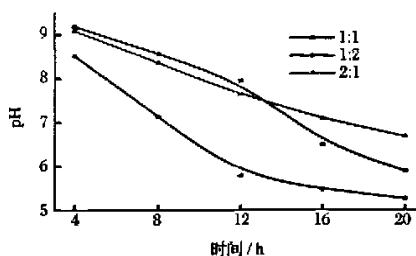


图 1 L-赖氨酸与葡萄糖美拉德反应产物的 pH 值

## 2.2 美拉德反应产物吸光度的测定

图 2 描述了氨基与羰基物质量之比是 1:1 的 L-赖氨酸与葡萄糖的 MRPs 在不同反应时间段的紫外-可见吸收光谱图。由图 2 可知:(1)随着反应的进行,MRPs 的紫外-可见吸收光谱无论在波形还是在吸收程度上均有很大的变化,在 400 nm 附近开始出现新的吸收峰,该峰代表了体系中产生了新的物质,此后,该吸收峰吸收强度增加,说明这新物质的量在不断积累,并在 460 nm 附近出现了另一个新的吸收峰,该处吸收峰的最大吸光度也随反应不断增加,当吸光度达到 2.0 时,停止反应,故选用该波长处的吸收峰值来衡量美拉德反应进行的程度;(2)该 MRPs 的最大吸收波长在 460 nm 附近;(3)到达要求的褐变程度,反应约需 20 h。

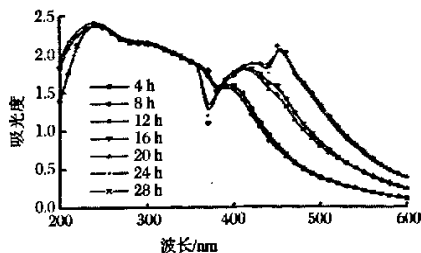


图 2 L-赖氨酸与葡萄糖(1:1)美拉德反应产物的吸光度

氨基与羰基物质量之比是 1:2 和 2:1 的 L-赖氨酸与葡萄糖的 MRPs 在不同反应时间段的紫外-可见吸收光谱图与图 2 大致相同。最大吸收波长也均

在 460 nm 附近,这说明了这 3 种不同比例的 MRPs 结构相近。而氨基与羰基物质量之比为 1:2 和 2:1 的 MRPs,达到要求的褐变程度,分别约需 16 h 和 24 h。因此可以看出,氨基与羰基物质量之比为 1:2 的反应速率最快,其次是氨基与羰基比为 1:1 的反应,氨基与羰基比例为 2:1 的反应最慢。这可能是因为羰基的数量越多,越利于反应的进行。低分子 L-赖氨酸的氨基是处于游离状态,与葡萄糖反应时,增大羰基数量,可有利于羰基对氨基的进攻,进而反应速率也就相对较快。

## 2.3 美拉德反应产物对 $O_2^-$ 的清除

图 3 描述的是氨基与羰基物质量之比是 1:1 的 L-赖氨酸与葡萄糖的 MRPs 对  $O_2^-$  的清除情况。由图 3 可知,(1)MRPs 对  $O_2^-$  的清除率对浓度有一定的依赖性,即随着反应中 MRPs 浓度的增加,对  $O_2^-$  的清除能力也增强,并且这种清除率几乎以线性趋势上升,而后稍趋于平缓。(2)随着反应时间的延长,MRPs 对  $O_2^-$  的清除率也表现出了一定的上升趋势,但反应 30、60 min、4 h 以及到达吸光度值 2.0 时的 MRPs 对  $O_2^-$  的半抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 逐渐减少,但相差不大,分别为 2.756、2.399、2.595 mg/mL 和 2.185 mg/mL。这说明 MRPs 中的抗氧化成分在反应初始阶段就已形成,即 MRPs 的抗氧化能力与其褐变程度没有太大关系。

与氨基和羰基物质的量之比是 1:1 的 MRPs 相比,氨基与羰基物质量之比是 1:2 和 2:1 的 L-赖氨酸与葡萄糖的 MRPs 对  $O_2^-$  的清除情况大致相同。反应 30、60 min、4 h 以及到达吸光度值 2.0 时,其中氨基与羰基比为 1:2 的 MRPs 对  $O_2^-$  的  $IC_{50}$  分别为 4.154、3.832、3.152 和 2.922 mg/mL;氨基与羰基比为 2:1 的  $IC_{50}$  分别为 2.350、2.066、1.805 和 1.691 mg/mL。

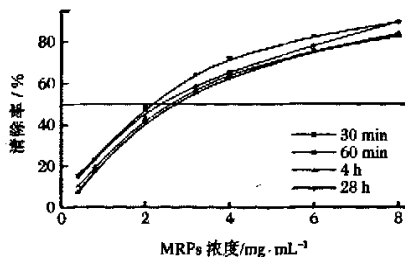


图 3 L-赖氨酸与葡萄糖(1:1)美拉德反应产物对超氧阴离子  $O_2^-$  的清除

图 4 描述的是 3 个不同比例的 L-赖氨酸与葡萄

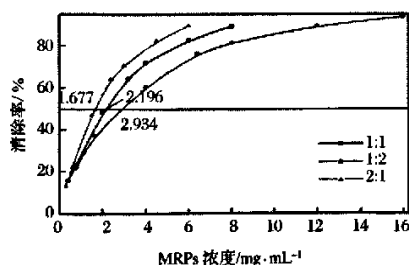


图4 吸光度值2.0的L-赖氨酸与葡萄糖美拉德反应产物对超氧阴离子 $O_2\cdot^-$ 的清除

糖的最终MRPs对 $O_2\cdot^-$ 的清除情况。由图可知,它们对 $O_2\cdot^-$ 的 $IC_{50}$ 分别为2.196、2.934和1.677 mg/mL。氨基与羰基比为2:1的MRPs对 $O_2\cdot^-$ 的清除效果相对最好,其次是氨基与羰基比为1:1的MRPs,氨基与羰基比为1:2的MRPs相对最差。这与3个比例的体系到达要求的褐变程度时的反应速率并不一致的(反应速率:1:2>1:1>2:1)。

在上述条件下,苯甲酸钠、抗坏血酸和硫尿对 $O_2\cdot^-$ 的 $IC_{50}$ 分别为2.5、0.15和0.0356 mg/mL,可见,MRPs对 $O_2\cdot^-$ 的抑制能力与苯甲酸钠相当。

### 3 结论

本实验通过L-赖氨酸与葡萄糖发生美拉德反应制备了3种不同比例的MRPs,并测定了随反应的进行,pH值、吸光度以及对 $O_2\cdot^-$ 清除率的变化情况。

## Reaction on the Maillard Reaction of L-lysine and Glucose and the Antioxidant Activity of Its Products

Wang Huiying, Sun Tao, Zhou Dongxiang, Mao Fang

(College of Food Science, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

**ABSTRACT** The Maillard reaction products (MRPs) were prepared by Maillard reaction using L-lysine and glucose at the ratio of 1:1, 1:2, 2:1, respectively. The antioxidative activity of MRPs was evaluated by scavenging effect on superoxide anion radical. The results showed: browning and acidity increased with the heating time; the biggest absorbance wavelength was about 460 nm; When reaching the same browning degree at absorbency 2.0, their reaction speed were shown as follows: 1:2>1:1>2:1; three kinds of MRPs with different proportions of amino and carbonyl all exhibited good scavenging activities to superoxide anion radical, the antioxidant activities of MRPs were independent of the browning.

**Key words** maillard reaction, superoxide anion, antioxidant activity

结果发现,美拉德反应是一个酸度和褐变不断增强的反应。在反应体系中,均有一定的新物质产生,并且MRPs的最大吸收波长在460 nm左右。3种MRPs都表现出了对 $O_2\cdot^-$ 较好的清除能力,但其抗氧化能力不完全依赖于产物的褐变程度。本实验原料安全、普遍,反应条件温和易操作,且产物的抗氧化能力与一些常见得抗氧化剂相当,这为开发新型的天然抗氧化剂提供了理论依据。

### 参考文献

- 1 Borrelli R C, Mennella C, Barba F, et al. Characterization of coloured compounds obtained by enzymatic extraction of bakery products[J]. Food Chemical Toxicology, 2003, 41: 1 367~1 374
- 2 Wagner K H, Derkits S, Herr M, et al. Antioxidative potential of melanoidins isolated from a roasted glucose-glycine model[J]. Food Chemistry, 2002, 78: 375~382
- 3 Kenichi Yanagimoto, Kwang Geun Lee, Hiroto Ochi, et al. Antioxidative activity of heterocyclic compounds formed in Maillard reaction products[J]. International Congress Series, 2002, 1245: 335~340
- 4 Macku C, Shibamoto T. Volatile antioxidants produced from heated corn oil/glycine model system[J]. J Agric. Food Chem, 1991, 39: 1 990~1 996