

不同温度对酪蛋白-木糖模式美拉德反应产物 抗氧化性的影响

章银良, 张陆燕, 周文权, 时国庆

(郑州轻工业学院食品与生物工程学院, 河南郑州 450001)

摘要: 对在不同温度下的酪蛋白-木糖美拉德反应产物(MRPs)进行抗氧化性能测定, 结果表明: 美拉德反应褐变程度随着温度的升高而升高, 在 100~160 °C 范围内, 差异显著 ($p < 0.05$); MRPs 对铁离子螯合能力随反应温度变化先增强后下降, 并在 100 °C 时达最大值 53.26%。而铜离子螯合能力随着温度的升高而逐渐下降; MRPs 对自由基的清除能力随着温度的升高而增加, 对 DPPH 自由基的清除能力要大于对羟基自由基; MRPs 的还原能力随反应温度的增加而增大, 差异显著 ($p < 0.05$)。从 GC-MS 分析结合抗氧化性能测定可以判断, 酪蛋白-木糖美拉德反应产物抗氧化物质主要是醛类、酮类、酚类、烯烃和杂环类物质; MRPs 整体抗氧化能力中的自由基清除率、还原力与美拉德反应温度呈现显著相关性, MRPs 中的抗氧化机制从机理上初步推断为自由基清除方式而非螯合金属离子的方式进行。

关键词: 美拉德反应产物(MRPs); 抗氧化; 构效关系

文章编号: 1673-9078(2014)4-211-219

Effect of Temperature on Antioxidation of Casein-Xylose Maillard Reaction Products

ZHANG Yin-liang, ZHANG Lu-yan, ZHOU Wen-quan, SHI Guo-qing

(School of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: The antioxidation determination of Maillard reaction products (MRPs) were carried out under different temperatures on the casein-xylose model system. The results showed that the browning degree of Maillard reaction increased with a rise of temperature and had significant difference ($p < 0.05$) within 100~160 °C. MRPs of iron chelating ability first increased and then gradually declined with increasing reaction temperature, and maximum value (53.26%) was obtained at 100 °C. Copper chelating ability gradually decreased with temperature increasing. Free radical scavenging ability of MRPs increased with a rise of temperature and had significant difference, and DPPH free radical scavenging ability was better than hydroxyl free radical scavenging ability. Reducing power of MRPs increased with the increase of reaction temperature and had significant difference ($p < 0.05$). GC-MS analysis combining with the determination of the antioxidation indicated that the antioxidant compounds of casein-xylose MRPs mainly were aldehydes, ketones, phenols, alkene and heterocyclic substances. There was significant correlation between the variation of free radicals clearance and change of reduction force in MRPs overall antioxidant capacity with the maillard reaction temperature. The preliminary judgment of MRPs antioxidant compounds from the mechanism was carried out with radical scavenging method instead of chelating metal ions.

Key words: Maillard reaction products; antioxidation; structure-function relationship

美拉德反应是由法国化学家 Maillard 在 1912 年提出的, 是指食品中的羰基化合物(糖类)和氨基化合物(胺、氨基酸、肽和蛋白质)在食品加工和储藏过程中发生的非酶促褐变反应。美拉德反应是连续的多途径并行的瀑布式化学过程, 通常被分为 3 个阶段:

收稿日期: 2013-11-19

基金项目: 河南省基础及前沿计划研究项目(112300410145)

作者简介: 章银良(1963-), 男, 博士, 教授, 主要研究方向: 食品化学与添加剂

初级阶段、高级阶段和终级阶段, 美拉德反应机理十分复杂, 其反应历程、产物组成及其性质等受多种因素影响, 氨基化合物和还原糖的种类、性质、以及它们间的反应比例, 反应 pH 值、温度、反应时间、水分活度、缓冲液浓度等对反应的速率以及最终产物的组成有着重要的影响。美拉德反应产物中含有类黑精、还原酮及一系列含 N、S 的杂环化合物。研究表明, 这类物质具有一定的抗氧化性能, 其中某些物质的抗氧化强度可以与食品中常用的抗氧化剂相媲美^[1~2]。

目前美拉德反应产物 (Maillard Reaction Products, MRPs) 的抗氧化活性方面的研究主要集中在以下几个方面: 1) 模拟体系中不同糖与氨基酸组合MRPs的抗氧化活性的比较和工艺优化; 2) 实际体系中MRPs的抗氧化活性研究; A Michalska等^[3]研究了面粉提取率对黑麦粉面包、面包皮和面包屑的抗氧化活性的影响, 采用福林反应, 通过TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) 和ORAC_{FL} (Oxygen Radical Antioxidant Capacity) 进行测定, 结果表明烘烤有利于抗氧化化合物的形成。3) 各种加工技术对模拟体系MRPs抗氧化活性的影响: 例如Y G Guan等^[4]研究了脉冲电场对牛血清白蛋白和葡聚糖模拟体系MRPs的抗氧化活性影响, 结果表明脉冲电场能明显改善MRPs的抗氧化活性, 还有其他相关的性质如蛋白质二级结构发生改变; M S Rao等^[5]研究了100 kGy的辐射剂量对壳聚糖和葡萄糖溶液体系的还原力影响, 结果表明, MRPs的DPPH自由基和超氧自由基清除能力明显增强; F L Gu等^[6]研究了酪蛋白与葡萄糖组成的模拟体系MRPs通过超滤形成不同分子量的组分的抗氧化活性, 不同的超滤组分显示出不同的抗氧化活性。W H Shi^[7]等研究了超声波处理对牛血清白蛋白-葡萄糖模拟体系MRPs抗氧化活性的影响, 结果显示, 超声强度为17.83 W/cm², MRPs的抗氧化活性明显增强。

虽然MRPs的抗氧化活性得到了广泛的研究和认可, 但是对美拉德反应中抗氧化成分进行提取分离及结构分析的研究极少甚至尚无, 其抗氧化产物的机理方面研究还未见报道。因此研究MRPs的抗氧化性能与其物质之间的构效关系, 为科学评价食品抗氧化剂使用标准提供依据, 同时为MRPs作为抗氧化剂走向市场提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

D-木糖, 邻苯二酚紫 (BC), 阿拉丁公司; 酪蛋白 (BC), Sigma 公司; 三氯乙酸 (TCA), FeCl₃, FeSO₄, K₃Fe(CN)₆ (AR), 天津市风船化学试剂科技有限公司; 吡啶, 过氧化氢, 邻二氮菲, 过硫酸钾, 硫酸铜, FeCl₂ (AR), 天津市科密欧化学试剂科技有限公司; DPPH (1, 1-二苯基-2-苦肼基自由基), ABTS[2, 2'-连氨基-双-(3-乙基苯并二氢噻唑啉-6-磺酸)二铵盐], 菲洛嗪 (AR), 上海生工生物工程技术有限公司。

1.2 实验设备

HH-1智能型数显恒温油浴槽, 金坛市正基仪器有限公司; UV-2102PC紫外可见分光光度计, 上海尤尼柯仪器有限公司; JA1203电子天平, 上海越平科学仪器有限公司; F-7000荧光分光光度计, 日本日立公司; 800型离心沉淀器, 上海手术器械厂; pH计, 梅特勒-托利多公司。

1.3 实验方法

1.3.1 美拉德反应产物的制备

准确称量一定量的木糖 (4 g) 和酪蛋白 (6 g), 溶解于100 mL去离子水中。准确量取10 mL反应液转移至25 mL具塞试管中, 密封严实后, 分别置于60 °C、80 °C、100 °C、120 °C、140 °C、160 °C恒温油浴锅中反应30 min。反应结束后迅速置于冰水中冷却并进行相关测定, 剩余样品于-20 °C冰箱中保存。

1.3.2 GC-MS 分析

色谱条件: HP-5 弹性石英毛细管色谱柱 (30.0 mm×0.25 mm×0.25 μm); 进样口温度 260 °C, 柱温采用程序升温, 初温 50 °C保持 2 min, 然后以 4 °C/min 升温至 260 °C, 保持 15 min; 进样量 1 μL; 载气 N₂, 流量 1 mL/min; 分流比 10:1。

质谱条件: 传输线温度: 280 °C; EI 源电子能量: 70 eV; 电子倍增器电压: 1635 V; 质量扫描范围: 30~550 amu; 离子源温度: 230 °C; 四极杆温度: 150 °C。

样品前处理: 取30 mL美拉德反应产物样品于50 mL离心管中, 在5000 r/min, 4 °C条件下离心10 min, 再取上清液20 mL并用10 mL乙醚反复萃取4次, 收集每次的上层萃取液, 最后进行旋转浓缩, 用0.45 μm的PVDF微孔滤膜过滤后进行GC-MS分析。

1.3.3 吸光度的测定

美拉德反应产物褐变程度与紫外吸收的测定参考Ajandouz^[8]的方法。MRPs经20倍稀释后, 分别于420 nm和294 nm条件下测定样品的吸光度, 用来作为衡量美拉德反应的褐变程度和非酶褐变过程中中间产物的指标。

1.3.4 金属离子螯合能力的测定

1.3.4.1 Cu²⁺螯合能力的测定

MRPs对过渡金属离子Cu²⁺螯合能力的测定参考Wang^[9]等人的方法。将1 mL 2 mmol/L的CuSO₄溶液与1 mL pH 7.0的吡啶、20 μL 0.1%的邻苯二酚紫溶液混合均匀, 然后向上述混合液中加入1 mL经10倍稀释后的样品溶液, 充分混合均匀后, 于室温条件下静置5 min, 并于632 nm下测定其吸光度值, 计作As。相同操作条件下, 以1 mL的去离子水替代稀释后的样品溶液作为对照, 并于632 nm下测定其吸光度值, 计作Ac。美拉

德反应产物对 Cu^{2+} 的螯合能力通过下式进行计算:

$$\text{Cu}^{2+}\text{螯合能力}(\%) = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

1.3.4.2 Fe^{2+} 螯合能力的测定

MRPs对过渡金属离子 Fe^{2+} 螯合能力的测定参考Decker等^[10]的方法。分别将1 mL经10倍稀释后的样品溶液、3.7 mL的去离子水、0.1 mL 2 mmol/L的 FeCl_2 溶液以及0.2 mL 5 mmol/L的菲洛嗪溶液充分混合均匀,然后在室温条件下放置20 min,测定反应溶液在562 nm下的吸光度值,计作 A_s 。相同操作条件下,以1 mL的去离子水替代稀释后的样品溶液作为对照,并于562 nm下测定其吸光度值,计作 A_c 。美拉德反应产物对 Fe^{2+} 的螯合能力通过下式计算:

$$\text{Fe}^{2+}\text{螯合能力}(\%) = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

1.3.5 自由基清除率的测定

1.3.5.1 羟基自由基清除率的测定

MRPs对羟基自由基($\cdot\text{OH}$)清除能力的测定参考翟爱华^[11]的方法。将1 mL 2.5 mmol/L的邻二氮菲溶液于试管中,分别加入2 mL的磷酸盐缓冲溶液(pH 7.4)和1 mL的去离子水,混合均匀后,再分别加入1 mL 2.5 mmol/L的硫酸亚铁溶液和1 mL 20 mmol/L的过氧化氢溶液,以上混合物经充分混合均匀后,置于37 °C恒温水浴中反应60 min,并在536 nm条件下迅速测定混合溶液的吸光度值,即损伤管的吸光度值 $A_{\text{损}}$ 。相同操作条件下,以1 mL去离子水代替1 mL过氧化氢溶液,并在536 nm条件下迅速测定其吸光度值,记为未损伤管的吸光度值 $A_{\text{未}}$ 。对于样品溶液的吸光度值,其操作方法同损伤管,只是用1 mL经10倍稀释后的样品溶液替代1 mL去离子水,测得其在536 nm条件下的吸光度值,记为 $A_{\text{样}}$ 。MRPs对羟基自由基的清除率用下式计算:

$$\text{自由基清除率}(\%) = \frac{A_{\text{样}} - A_{\text{未}}}{A_{\text{未}} - A_{\text{未}}} \times 100$$

1.3.5.2 DPPH 自由基清除率的测定

MRPs对DPPH自由基($\text{DPPH}\cdot$)清除能力的测定参考Yen^[12]的方法。首先配置0.12 mmol/L的DPPH酒精溶液,避光保存。分别取1 mL经10倍稀释后的样品溶液和4 mL DPPH酒精溶液,剧烈摇晃使其充分混合均匀,置于室温避光条件下反应30 min。然后在517 nm条件下测定混合液的吸光度值,记为 A_s 。相同操作条件下,以1 mL去离子水代替稀释后的样品溶液,作为控制组,记录其在517 nm条件下的吸光度值,记为 A_c 。美拉德反应产物对DPPH自由基清除率用下式计算:

$$\text{DPPH}\cdot\text{清除率}(\%) = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

1.3.6 还原能力的测定

MRPs还原能力的测定参考Yen^[13]等人的方法。取1 mL经10倍稀释后的样品溶液添加到2.5 mL磷酸盐缓冲液(pH 6.6)中,混合均匀后再加入2.5 mL 1%的的铁氰化钾溶液,以上反应液经混匀后置于50 °C恒温水浴中反应20 min,然后加入2.5 mL 10%的三氯乙酸溶液,在3000 r/min的条件下离心10 min。离心结束后,取上清液2.5 mL,并分别加入2.5 mL去离子水和1 mL 0.1%的三氯化铁溶液,充分混匀后于700 nm下测定其吸光度值。吸光度值越大,表明MRPs还原能力越强。

1.3.7 统计分析

试验均做三次平行,采用Origin8.0及方差分析方法进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 吸光度的变化

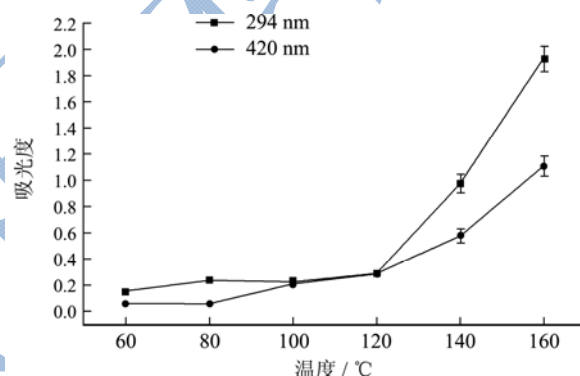


图1 MRPs吸光度随温度的变化

Fig.1 Changes in absorbance of MRPs as a function of temperature

美拉德反应褐变程度的变化可以通过测定体系在420 nm下的吸光度来观察研究。如图1所示,模拟体系的褐变程度在100 °C以下时增加很缓慢,差异不显著($p>0.05$)。随着温度继续升高,从100~160 °C褐变程度迅速加深,差异显著($p<0.05$)。这可能是由于氨基基团在温度较高的情况下更易产生褐变,从而提高了褐变反应的进程。

美拉德反应与紫外吸收化合物的形成有关,而紫外吸收化合物是褐变聚合物的前体物质。由图1可以看出,MRPs在294 nm下的吸光度随反应温度的增加而增大,在120 °C以下,差异不显著($p>0.05$),在反应温度120 °C以上时差异显著($p<0.05$)。这是因为随着反应的进行,由于糖脱水分解以及糖裂解造成中间体化合物的大量产生^[14],反应温度高,紫外吸收中间体更易通过聚合而形成类黑精,从而只有一小部分中间体产生。这个实验结果与L N Vhangani等^[15]

的研究结果相一致。

2.2 金属离子螯合能力的变化

MRPs 是一种金属螯合剂，它们对金属离子的螯合机理与其所具有的抗氧化活性有关^[16]。这是因为过渡金属离子，尤其是 Cu^{2+} 和 Fe^{2+} ，可以与 MRPs 发生了作用，使 MRPs 中的一些小分子物质发生电子重排^[17]。这说明具有供氢和供电子活性的小分子物质具有螯合金属离子的作用，螯合金属离子后自身发生电子重排，全部或部分损失对光吸收的能力，但金属离子螯合后不影响大分子产物的发色团结构。当金属离子被螯合时，其参与的自由基生成反应就可能被束缚。由试验数据可知，MRPs 对 Cu^{2+} 和 Fe^{2+} 的螯合能力随反应温度的变化如图 2 所示。随反应温度的上升，铁离子螯合能力先增强而后逐渐下降，并在反应 100 °C 时达到最大值 53.26%。而铜离子螯合能力则逐渐下降，并且低于 35%，目前对产生这种现象的阐述说明没有较为深入的理论判据，但是根据螯合原理进行分析，测定 Fe^{2+} 螯合率时，反应温度小于 100 °C 时，随着温度升高 MRPs 中的某种物质增加，从而增加了与菲洛嗪溶液反应能力，相应的降低了菲洛嗪溶液与 Fe^{2+} 反应的可能性，因而提高了 MRPs 螯合 Fe^{2+} 的能力；随着温度继续增大，MRPs 中的某种物质达到最高点，因而慢慢减少与菲洛嗪溶液反应能力，相应的提高了菲洛嗪溶液与 Fe^{2+} 反应的可能性，MRPs 螯合 Fe^{2+} 的能力就慢慢下降，所以在 100 °C 时，MRPs 螯合 Fe^{2+} 的能力达到最大。反之对于 Cu^{2+} 的螯合数据看，随着美拉德反应温度升高，由于 MRPs 中具有类似邻苯二酚紫结构的物质增加，加强了 Cu^{2+} 与邻苯二酚紫的反应，因而在 632 nm 下的吸收也随着增大，从而表现为对 Cu^{2+} 螯合能力的下降。

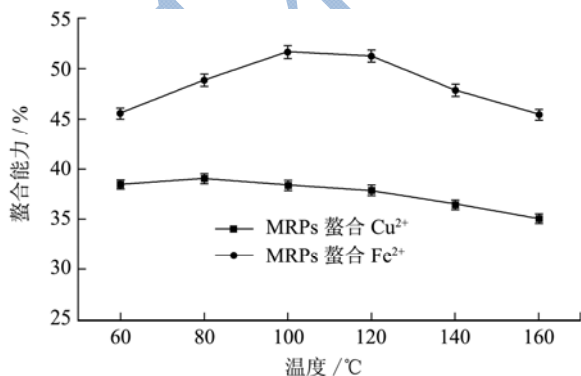


图 2 MRPs 螯合金属离子能力随反应温度的变化

Fig.2 Changes in metal ion chelating activity of MRPs as a function of temperature

2.3 自由基清除率的变化

羟基自由基因其在氧原子上含有一个未配对的电子，因此具有较强的夺取电子的能力，在体内存在可导致多种生理病变。MRPs 对羟基自由基清除率的变化如表 1 所示，即随着反应温度的升高，MRPs 对羟基自由基的清除能力增大。在 80 °C 以下，其对羟基自由基的清除能力差异不显著 ($p>0.05$)，在 80~160 °C 范围内，MRPs 对羟基自由基的清除能力差异显著 ($p<0.05$)。

DPPH 是一种含发色团的化合物，可以直接与抗氧化活性物质反应。抗氧化剂通过提供氢原子与 DPPH 结合形成稳定的 DPPH-H 分子，从而达到清除自由基的目的。MRPs 对 DPPH 自由基 ($\text{DPPH}\cdot$) 的清除率随反应温度的增加而逐渐增大，见表 1。在整个实验范围内 MRPs 对 DPPH 自由基 ($\text{DPPH}\cdot$) 的清除率差异显著 ($p<0.05$)，这一实验结果与文献^[15]结果相一致。

由以上实验结果可知，MRPs 对自由基的清除能力不同，随温度升高其对 DPPH 自由基的清除能力要大于对羟基自由基的清除能力。美拉德反应中抗氧化活性物质在反应温度较高的情况下活性更强。

表 1 MRPs 对自由基清除率随反应温度的变化

Table 1 Changes in radical scavenging activity of MRPs as a function of temperature

反应温度 / °C	自由基清除率 / %	
	$\cdot\text{OH}$	$\text{DPPH}\cdot$
60	19.16±0.86	8.44±0.56
80	19.79±0.91	10.09±0.69
100	21.26±0.81	12.05±0.75
120	23.16±1.12	16.89±0.79
140	26.53±1.03	21.52±0.93
160	29.47±1.26	41.61±1.86

2.4 还原能力的变化

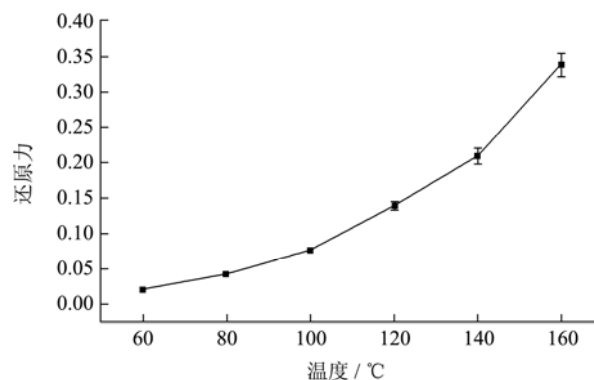


图 3 还原能力随反应温度的变化

Fig 3 Changes in reducing power of MRPs as a function of temperature

本实验中还原性物质能将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} , 由此可以通过测定反应所形成的普鲁士蓝在 700 nm 下的吸光度来检测 Fe^{2+} 的存在, 吸光度越大, 表明还原能力越强。从而可以测定 MRPs 的还原能力大小。由图 3 可知, MRPs 的还原能力随反应温度的增加而增大, 差异显著 ($p < 0.05$), 反应温度越高, 反应越剧烈, 颜色越深。有研究表明^[18], 美拉德反应中温度是一个非常重要的因素, 随着反应温度的升高, 美拉德反应的速度大为加快, 且温度较高时产生许多香味物质, 使 MRPs 的还原能力增强。还原力的结果揭示了 MRPs 可以作为电子供体, MRPs 中的羟基在还原力中起着重要作用, 这个结果与文献^[19]相一致。

2.5 GC-MS 分析

酪蛋白-木糖体系 100 °C、140 °C、160 °C 温度下所得反应产物如表 2。总离子流图见图 4~图 6。

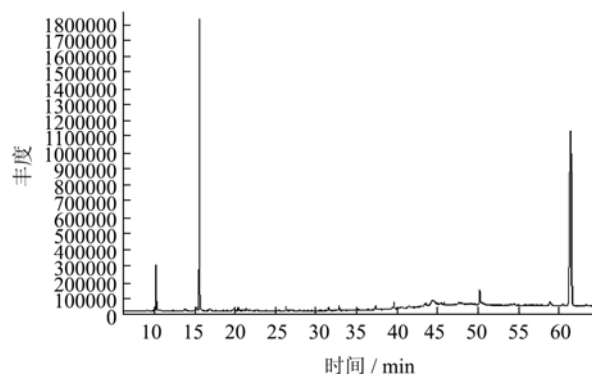


图 5 140 °C 下的酪蛋白-木糖体系 GC-MS 总离子流图

Fig.5 Total ion chromatography of casein-xylose model system at 140 °C

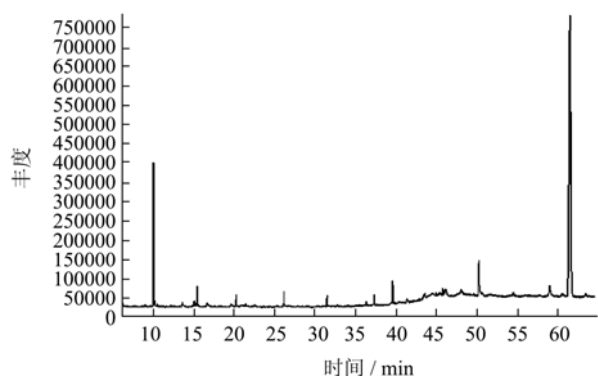


图 4 100 °C 下的酪蛋白-木糖体系 GC-MS 总离子流图

Fig.4 Total ion chromatography of casein-xylose model system at 100 °C

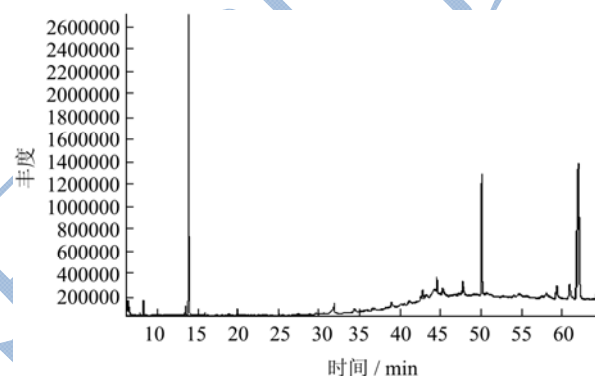


图 6 160 °C 下的酪蛋白-木糖体系 GC-MS 总离子流图

Fig.6 Total ion chromatography of casein-xylose model system at 160 °C

表 2 不同温度下 MRPs 成分分析

Table 2 Volatile compounds of MRPs at different temperatures

序号	保留时间 /min	化合物名称	峰面积百分比/%			匹配度
			100 °C	140 °C	160 °C	
1	8.241	广霍香烷	-	-	1.846	90
2	9.655	过氧乙酰	-	-	0.162	93
3	10.06	环己酮	10.762	4.52	1.012	95
4	13.599	2,4,6-三甲基-辛烷	-	0.16	-	80
5	14.453	十四烷	0.249	-	-	97
6	15.074	乙酸	-	0.295	0.567	91
7	15.277	亚硫酸-2-丙基十一烷基酯	0.399	-	-	87
8	15.45	糠醛	1.266	25.185	26.726	95
9	16.632	十五烷	-	0.197	-	64
10	17.417	苯甲基过氧化氢	-	-	0.088	74
11	18.245	5-羟甲基糠醛	1.024	1.863	2.341	92
12	19.615	正三十六烷	0.141	-	-	76
13	19.636	十六烷	0.345	0.184	-	83
14	19.672	二十七烷	-	0.054	-	64

转下页

接上页						
15	20.219	丁酸	0.803	0.347	-	80
16	20.251	6-溴己酸	-	-	0.088	72
17	21.217	糠醇	-	0.184	0.347	95
18	26.175	己酸	1.06	0.364	0.095	83
19	31.447	辛酸	0.698	0.258	-	87
20	32.29	十氢番茄红素	-	-	0.179	72
21	32.403	2, 6, 10, 14, 18-五甲基-2, 6, 10, 14, 18-二十碳五烯	-	-	0.405	86
22	32.687	乙酸金合欢酯	-	-	0.864	80
23	32.78	1, 4-二甲基哌嗪	-	0.629	0.807	93
24	36.305	2-丁烯酸-2-甲氧基-3-甲基酯	0.217	-	-	82
25	36.359	癸酸	-	-	0.088	83
26	36.608	4-(2, 2-二甲基-6-甲基烯环己基)丁醛	-	-	0.089	79
27	37.179	亚硫酸丁基十七烷基酯	-	0.152	-	77
28	37.257	2,4-二特丁基苯酚	0.61	0.454	-	93
29	37.261	2, 3-氧鲨烯	-	-	0.199	80
30	37.297	丙烯酰胺	0.164	0.132	0.186	94
31	37.474	亚硫酸十八烷基-2-丙基酯	-	-	0.14	81
32	37.524	正二十三烷	-	-	0.11	95
33	38.902	1-甲酰基-2, 2-二甲基-3-反式-(3-甲基-2-丁烯基)-6-亚甲基-环己烷	-	-	0.167	88
34	39.331	亚硫酸-2-丙基十四烷基酯	-	0.407	-	73
35	39.409	三十一烷	-	0.156	-	80
36	39.576	苯甲酸	1.776	0.763	0.551	86
37	39.64	氯二十七烷	-	-	0.161	83
38	39.69	正二十四烷	-	-	0.077	95
39	40.318	三十五烷	-	0.224	-	75
40	40.41	七氟三十烷	-	0.138	-	77
41	40.67	七氟二十烷	-	-	0.116	84
42	40.748	2-环丙基-2-甲基-N-(1-环丙基乙基)-环丙烷甲酰胺	-	-	0.299	84
43	40.819	三十五烷	-	-	0.077	91
44	41.082	2, 2, 4-三甲基环己烷	-	-	0.209	73
45	41.319	七氟三十四烷	0.283	-	-	78
46	41.348	草酰环丁基十五烷基酯	-	0.534	-	84
47	41.454	甲氧基乙酸-4-十三烷基酯	-	0.137	-	67
48	41.544	4-(5, 5-二甲基-1-氧杂螺辛烷)-3-丁酮	-	-	0.121	82
49	41.622	三十八基五氟丙酸酯	-	-	0.258	72
50	41.665	3-烯丙基紫罗酮	-	-	0.098	81
51	41.707	1, 54-二溴五十四烷	-	-	0.125	70
52	41.736	顺式-对薄荷烷-2-烯-7 醇	-	-	0.128	68
53	41.873	溴乙醇	-	0.092	-	71
54	42.503	4-(2, 2-二甲基-6-亚甲基环己基)丁醛	-	-	0.234	64
55	43.27	三十碳六烯	-	-	1.467	91

转下页

接上页						
56	43.372	亚硫酸-十八基-2-丙基酯	-	0.757	-	84
57	43.542	二环己基并-18-冠-6	0.553	-	-	72
58	43.66	8-(2-硝基苯氧基)辛基-1-醇	-	-	0.476	83
59	43.731	十九碳烯	-	-	0.274	90
60	43.781	$\alpha, \beta, 2, 2, 6$ -五甲基环己烷丙醇	-	-	0.181	67
61	44.089	二十六碳烯	-	0.335	-	83
62	44.246	环戊二烯并吡喃-4-羧酸,7-甲基酯	-	0.938	-	60
63	44.288	五甘醇	-	0.296	-	77
64	44.299	9-二十六碳烯	-	-	1.964	91
65	44.317	二十八基三氟乙酸	-	0.336	-	75
66	44.373	三十五烷	-	0.627	-	78
67	44.981	正十四酸	-	-	1.259	83
68	45.325	八乙二醇	0.312	-	-	86
69	45.67	2-甲基-3-(3-甲基-2-丁烯基)-2-(4-甲基-3-戊烯基)-氧杂环丁烷	-	-	3.494	95
70	45.744	7,9-二叔丁基-1-氧杂螺(4,5)癸-6,9-二烯-2,8-二酮	0.615	-	-	77
71	46.035	2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚)	1.255	-	-	96
72	46.92	1-甲酰基-2,2,6-三甲基-3-(3-甲基-丁-2-烯基)-6-环己烯	-	-	0.072	68
73	47.484	甲氧基乙酸-3-十五烷基酯	-	0.015	-	81
74	48.078	17-氯-7-炔	-	-	2.531	56
75	50.329	棕榈酸	4.146	2.354	9.427	96
76	50.912	1,1,6-三甲基-3-亚甲基-2-(3,6,9,13-四甲基-6-乙烯基-10,14-二亚甲基十五碳-4-烯基)环己烷	-	-	0.243	86
77	52.843	甲醚	-	-	0.12	91
78	52.865	(3- β ,5- α ,6- β ,12- β)-麦角甾-25-烯-3,5,6,12-四醇	-	-	0.117	73
79	54.15	E-2,6,10,15,19,23-六甲基-廿四碳六烯-3醇	-	-	0.069	86
80	54.186	三十碳六烯	-	-	0.064	83
81	54.402	18-冠醚-6	0.666	1.799	-	81
82	57.382	2,6,10,15,19,23-六甲基-廿四碳六烯	-	-	0.094	86
83	57.538	十五炔	-	-	0.141	78
84	57.943	2,3,5,8-四甲基-1,5,9-癸三烯	-	-	0.089	82
85	59.179	硬脂酸	2.513	-	2.411	97
86	60.496	15-冠醚-5	0.616	0.405	-	72
87	60.734	反式-13-十八碳烯酸	-	-	1.016	95
88	60.762	十八碳-9-烯酸	-	-	1.174	95
89	61.792	邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯	62.763	49.672	31.708	99
90	63.372	八乙二醇单十二烷基醚	0.902	1.11	-	65
91	64.051	十四碳烯-3-炔-14-醇	-	-	1.038	93

注：“-”表示未检出。

由表2可知,酪蛋白-木糖美拉德反应过程中3种温度下可共同产生邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯、环己酮,糠醛,糠醇,己酸、苯甲酸,棕榈酸和丙烯酰

胺等化合物,其总量分别为94.138%、96.073%、98.389%。环己酮、糠醛为还原性醛酮,有一定抗氧化活性;糠醇为糠醛反应后的产物,也具有一定的抗

氧化性; 苯甲酸、棕榈酸均为弱酸, 能形成盐、酯等, 都不易被氧化。

2.6 MRPs 抗氧化的构效关系

从表 2 结合理论可知, 酪蛋白-木糖 MRPs 抗氧化物质主要是醛类、酮类、酚类、烯烃和杂环类物质, 随着温度的升高, 裂解越来越复杂, 在 100 °C 反应温度下, 具有抗氧化性的物质约占总量的 1/5; 在 140 °C 反应温度下, 具有抗氧化性的物质约占总量的 1/3; 在 160 °C 反应温度下, 具有抗氧化性的物质约占总量的 2/5。不同温度下 MRPs 具有共同的抗氧化性能的物质是环己酮、糠醛、5-甲基糠醛 3 类, MRPs 整体抗氧化能力中的自由基清除率的变化、还原力的变化与美拉德反应温度呈现显著相关性, 温度越高, MRPs 中含抗氧化物质越多, 自由基清除率也越大, 还原力也越强。但是 MRPs 的铁离子螯合能力在 60~160 °C 范围内, 先增强而后逐渐下降, 并在反应 100 °C 时达到最大值 53.26%, 而铜离子螯合能力随着温度升高而渐渐下降, 反映了 MRPs 中的抗氧化物质从机理上初步判断为非螯合金属离子的方式进行, 因为实际抗氧化能力是随着温度的升高而升高的^[20-21]。而从吸光度上分析, 随着反应温度升高, 美拉德反应加快, 产物中具有在紫外和可见区有吸收的官能团数量增加, 也从一个侧面反映美拉德产物中抗氧化基团增加。

3 结论

对在不同温度下进行的酪蛋白-木糖 MRPs 进行抗氧化能力测定和构效关系分析, 结果表明, 美拉德反应褐变程度随着温度升高而升高; 美拉德反应产物对铁离子螯合能力随反应温度的上升, 先增强而后逐渐下降, 并在反应 100 °C 时达到最大值。而铜离子螯合能力随着温度升高而逐渐下降; MRPs 对自由基的清除能力随着温度升高而增加, 同时随温度升高其对 DPPH 自由基的清除能力要大于对羟基自由基的清除能力; MRPs 的还原能力随反应温度的增加而增大。从 GC-MS 分析结合抗氧化性能测定可以判断, 酪蛋白-木糖 MRPs 抗氧化物质主要是醛类、酮类、酚类、烯烃和杂环类物质, MRPs 整体抗氧化能力中的自由基清除率的变化、还原力的变化与美拉德反应温度呈现显著相关性, MRPs 中的抗氧化物质从机理上初步判断为自由基清除方式而非螯合金属离子的方式进行。

参考文献

[1] 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(3): 375-382

[2] Lingnert H, Hall G. Formation of Anti-oxidative Maillard reaction Products During Food Processing, Amino-carbonyl Reactions in Food and Biological Systems [M]. Tokyo: Elsevier, 1986

[3] Michalska A, Amigo-Benavent M, Zielinski H, et al. Effect of bread making on formation of Maillard reaction products contributing to the overall antioxidant activity of rye bread [J]. Journal of Cereal Science, 2008, 48: 123-132

[4] Guan Y G, Lin H, Han Z, et al. Effects of pulsed electric field treatment on a bovine serum albumin-dextran model system, a means of promoting the Maillard reaction [J]. Food Chemistry, 2010, 123: 275-280

[5] Rao M S, Chawla S P, Chander R, et al. Antioxidant potential of Maillard reaction products formed by irradiation of chitosan-glucose solution [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 83: 714-719

[6] Gu F L, Kim J M, Hayat K, et al. Characteristics and antioxidant activity of ultrafiltrated Maillard reaction products from a casein-glucose model system [J]. Food Chemistry, 2009, 117: 48-54

[7] Shi W H, Sun W W, Yu S J. Study on the characteristic of bovine serum albumin-glucose model system, treated by ultrasonic [J]. Food Research International, 2010, 43: 2115-2118

[8] Ajandouz E H, Tchiakpe L S, Ore F D, et al. Effects of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics in fructose-lysine model systems [J]. J. of Food Science, 2001, 66: 926-931

[9] Wang L, Xiong Y L. Inhibition of lipid oxidation in cooked beef patties by hydrolyzed potato protein is related to its reducing and radical scavenging ability [J]. J. Agric. Food Chem., 2005, 53: 9186-9192

[10] Decker E A, Welch B. Role of ferritin as lipid oxidation catalyst in muscle food [J]. J. Agric. Food Chem., 1990, 38: 674-677

[11] 翟爱华, 赵明生. 麦胚黄酮在不同氧化体系中的抗氧化作用的研究 [J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2004, 16(1): 79-82
ZHAI Ai-hua, ZHAO Ming-sheng. Research on Flavonoids of Wheat Germ Antioxidizability in Different Oxidation System [J]. J. of Heilongjiang August First Land Reclamation University, 2004, 16(1): 79-82

[12] Yen G, Hsieh P. Antioxidative activity and scavenging effects on active oxygen of xylose-lysine Maillard reaction products

- [J]. *J. Sci Food Agric.*, 1995, 67: 415-420
- [13] Yen G C, Duh P D. Antioxidant properties of methanolic extracts from peanut hulls [J]. *J. of the American Oil Chemists' Society*, 1993, 70: 383-386
- [14] Hodge J E. Dehydrated food: Chemistry of browning reaction in model systems [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 1953, 1: 928-943
- [15] Vhangani L N, Wyk J V. Antioxidant activity of Maillard reaction products (MRPs) derived from fructose-lysine and ribose-lysine model systems [J]. *Food Chemistry*, 2013, 137: 92-98
- [16] Jing H, Kitts D D. Antioxidant activity of sugar-lysine Maillard reaction products in cell free and cell culture systems [J]. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2004, 429: 154-163
- [17] Bersuder P, Hole M, Smith G. Antioxidants from a heated histidine-glucose model system. Investigation of the copper (II) binding ability [J]. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2001, 78: 1079-1082
- [18] 徐献兵,于淑娟.超滤分离美拉德反应产物的特性研究[J].现代食品科技,2010,26(12):1338-1340
XU Xian-bing, YU Shu-juan. Characterization of the Maillard Reaction Products Sepreated by Ultrafiltration [J]. *Modern Food Science and Technology*. 2010, 26(12): 1338-1340
- [19] Yoshimura Y, Iijima T, Watanabe T, et al. Antioxidative effect of Maillard reaction products using glucose-glycine model system [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, 45: 4106-4109
- [20] Eun Jung Cho. The effect of steaming on the free amino acid contents and antioxidant activity of *Panax ginseng* [J]. *Food Chemistry*, 2008, 107: 876-882
- [21] Yusuf Yilmaz, Romeo Toledo. Antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products [J]. *Food Chemistry*, 2005, 93: 273-278