

# 虾蟹壳提取物氨基葡萄糖美拉德反应 及其产物的抗氧化性能研究\*

唐杰 刘必谦 周湘池 庄怡 林晓彰

(宁波大学海洋学院 应用海洋生物学教育部重点实验室 宁波 315211)

**提要** 首次使用虾蟹壳提取物氨基葡萄糖单一物质制备美拉德反应产物(MRPs)。结果表明, MRPs 清除 DPPH·能力随反应物浓度、温度和时间的增加而增强; 还原能力、清除·OH 能力随反应物浓度增加而增强, 还原能力随温度、时间增加先增后降, 清除·OH 能力随温度升高先增后降, 随反应时间下降。115℃、0.5mg/ml、90min 条件下制备的 MRPs 清除 DPPH·的能力最强为 88.73%; 65℃、0.6mg/ml、40min 的 MRPs 还原能力最强为  $A_{700nm} = 1.684$ ; 65℃、0.6mg/ml、10min 的 MRPs 清除·OH 的能力最强为 98.72%。MRPs 具有很强的抗氧化活性, 比 Vc 和 TBHQ 抗氧化效果更好, 但其抗氧化能力并不完全依赖于产物的褐变程度。氨基葡萄糖 MRPs 是优良的新型保鲜剂材料。

**关键词** 虾蟹壳氨基葡萄糖, 美拉德反应, 美拉德反应产物, 抗氧化性, 清除自由基

**中图分类号** R917

我国已经成为世界第一养虾大国, 目前有多种具有重要经济价值的虾蟹养殖, 加上海捕虾蟹, 每年有大量废弃虾蟹壳(高保全等, 2010)。我国也是虾蟹壳甲壳质、壳聚糖第一生产和出口大国(周湘池等, 2008), 年产值百亿元以上, 但生产、出口产品以低端原料和中间体为主, 出口量虽大, 附加值却低。由于科技含量普遍不高, 产品雷同, 企业间竞争激烈, 大量虾蟹壳甲壳质生产企业关闭。企业急需扩大产品种类, 特别是科技含量高、具有自主知识产权的新产品, 来提高其国内外市场竞争力和盈利能力。提升甲壳质生物资源精深加工技术水平, 是我国虾蟹壳甲壳质产业转型升级的关键。本文研究了用虾蟹壳中提取的氨基葡萄糖制备美拉德反应产物(Maillard reaction products, MRPs), 分析了 MRPs 的抗氧化、祛除自由基和还原能力。初步研究发现虾蟹壳氨基葡萄糖 MRPs 具有优良性状和较广的应用范围, 可供开发多种具有自主知识产权的高端产品。

美拉德反应又称为非褐变反应, 是指具有氨基

和羟基的化合物之间发生的复杂反应。反应在其早期、中间阶段及其高级阶段具有多种产物。蛋白质和还原糖之间的反应最终产物通常认为是类黑精(Chellan *et al*, 1999)。现阶段许多研究表明, MRPs 在改变食品的色泽和气味、抗氧化性、抗过敏、抑菌以及抑制细胞毒素方面具有很广泛的应用性(Liu *et al*, 2008; Plavsic *et al*, 2006; Rufian *et al*, 2006)。传统的抗氧化剂以酚类化合物为主, 如常见的有特丁基对苯二酚(TBHQ)、二丁基羟基甲苯(BHT)、丁基羟基茴香醚(BHA)等。近年来的研究表明, 酚类化合物如 BHT、BHA 等可能有致癌作用(Umemura *et al*, 2001), 在许多国家已经被禁止使用。而茶多酚等天然的抗氧化剂在价格上比较昂贵不能大量用作抗氧化剂, 因此能开发出一种价格相对便宜没有毒副作用的天然抗氧化剂是现在研究的热点。

已报道的国内外 MRPs 抗氧化性研究中使用的 MRPs 都是由含有氨基和含有羰基的两种不同的物质反应生成的, 美拉德反应过程和 MRPs 成分随反应底

\* 浙江省重大科研社会发展资助项目, 2004C13037 号; 宁波市科技计划项目, 2006B100069 号。唐杰, 硕士研究生, E-mail: xinninggubao125@163.com

通讯作者: 刘必谦, 研究员, E-mail: lbqhy@nbu.edu.cn

收稿日期: 2011-09-03, 收修改稿日期: 2011-11-12

物含氨基和含羰基物质的不同而异,有些MRPs还具有毒副作用(Wang *et al*, 2011)。氨基葡萄糖(分子式为 $C_6H_{13}NO_5$ )含氨基和羰基,单一物质具备发生美拉德反应的条件。氨基葡萄糖单一物质发生的美拉德反应,由于反应物的结构和成分相对简单,作者分析发现其MRPs组分也相对较少,成分相对明确,没有检出毒性物质,因而更安全和绿色(另文发表)。本研究为此类物质MRPs制备以及建立美拉德反应模式提供了依据。

本研究将纯化的氨基葡萄糖在不同的反应条件下加热得到多种MRPs,测定了不同的反应时间、反应物浓度、反应温度对MRPs抗氧化能力的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

氨基葡萄糖参照付辰炜等(2007)方法实验室制备,原料虾蟹壳壳聚糖盐酸盐购自浙江金壳海洋生物化学有限公司。1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)购自Sigma公司;特丁基对苯二酚(TBHQ)、乙酸、三氯乙酸、铁氰化钾、抗坏血酸(Vc)、硫酸亚铁、邻二氮菲、过氧化氢等其它试剂均为化学纯。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 MRP<sub>s</sub>的制备** 试验样品依次分为温度组、pH组、浓度组、时间组、不同溶剂组,不同反应条件如下:

**温度组:**精确称量氨基葡萄糖4g,加蒸馏水溶解并定容至100ml配成4%的溶液,pH=8,分别在30、40、50、60、70、80、90、100、110、120℃条件下保温1h。

**浓度组:**反应初始pH=8、温度80℃,分别在精确称量氨基葡萄糖0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5加蒸馏水溶解并定容至50ml制得质量分数分别为1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%保温1h。

**时间组:**精确称量氨基葡萄糖4g,加蒸馏水溶解并定容至100ml配成4%的溶液,反应温度80℃,保温时间分别为:0、60、120、180、240、300、360、420min。

按上述条件,准确称量药品,蒸馏水溶解、定容后转到密封玻璃管中进行反应,反应结束后置4℃冰箱,待冷却后分装到5ml冷冻管中并于-20℃保存备用。

**1.2.2 MRP<sub>s</sub>吸光度的测定** 美拉德反应往往伴随着褐变现象,产生的一类物质称为类黑精,随着美拉德反应时间的增加,颜色也越来越深,通过在

420nm测定不同条件下的MRPs的吸光度来反映美拉德反应的褐变程度(Calligaris *et al*, 2004)。

**1.2.3 MRP<sub>s</sub>抗氧化能力的测定** MRP<sub>s</sub>的抗氧化能力测定采用Morales等人的方法但稍有改进,考察不同的MRPs对DPPH·的清除率。其测定方法如下:抗氧化活性以清除DPPH·自由基能力大小表示,将MRPs样品稀释100倍后,取0.1ml加入 $2 \times 10^{-4}$  mol/L的DPPH的乙醇溶液0.1ml,混匀,于常温下避光反应30min,使用酶标仪测定反应液在517nm处的吸光值( $A_i$ )。同时测定0.1ml  $2 \times 10^{-4}$  mol/L的DPPH溶液和0.1ml无水乙醇混合物的吸光值 $A_0$ 及0.1ml样品液和0.1ml无水乙醇混合物的吸光值 $A_j$ 。自由基的清除率可由式(1)计算得出:

$$\text{清除率} = [A_0 - (A_i - A_j)] / A_0 \times 100\%$$

**1.2.4 MRP<sub>s</sub>还原能力的测定** MRP<sub>s</sub>样品稀释100倍后,取1ml加1ml pH=6.6的0.2mol/L磷酸盐缓冲液,加入1ml 1% (W/V)铁氰化钾,混匀,50℃恒温水浴20min,加1ml 10%三氯乙酸,离心(3000r/min)10min,取1ml上清液、1ml蒸馏水和0.2ml 0.1%三氯化铁,混合均匀,静置10min后取1ml使用酶标仪测定700nm处的吸光度,吸光度越大,样品的还原能力越强(Feng *et al*, 2010)。

**1.2.5 MRP<sub>s</sub>清除·OH能力的测定** MRP<sub>s</sub>清除·OH能力采用金鸣等(1996)的反应但稍有改进。制备1.6mg/ml的Vc溶液。取0.5ml 3.75mmol/L邻二氮菲溶液于试管中,依次加入1ml pH=7.40磷酸缓冲液(PBS)和1ml蒸馏水,充分混匀后,加入0.5ml 3.75mmol/L硫酸亚铁水溶液,混匀后,加入0.5ml 0.01%过氧化氢水溶液,于37℃恒温水浴中准确反应60min后取样1ml使用酶标仪在536nm波长快速测其吸光度,所得的数据为损伤管的吸光度 $A_{损}$ 。未损伤管以0.5ml蒸馏水代替损伤管中0.5ml 0.01%的双氧水,操作方法同损伤管,可测得536nm未损伤管的吸光度 $A_{*}$ 。样品管以1ml样品(稀释25倍后为0.4—2.8mg/ml)代替损伤管中的1ml蒸馏水,操作方法同损伤管,可测得536nm样品管的吸光度 $A_{\#}$ 。样品对·OH的清除率公式如下:

$$\text{清除率 } I(\%) = \frac{A_{\#} - A_{损}}{A_{*} - A_{损}} \times 100$$

## 2 结果与讨论

### 2.1 美拉德反应褐变程度

图1描述了在不同的条件下发生美拉德反应的

产物褐变程度随条件不同的变化关系。从图 1 中可以看出,不管是在不同浓度、不同温度、还是不同的时间,MRPs 吸光度与氨基葡萄糖浓度、温度和反应时间密切相关,且氨基葡萄糖 MRPs 的褐变非常明显。

由图 1 可知,反应物浓度越低,MRPs 的颜色浅,随着反应物浓度的增加,溶液颜色逐渐加深,吸光值稳步增加。在 70℃ 以下的温度时产物的吸光值变化很小;70℃ 后产物吸光值稳步上升,120℃ 达到最大值。说明 70℃ 以下的温度、短时间内发生褐变反应的度很小,随着温度的升高褐变反应明显。随着反应时间的延长,褐变程度变化明显,反应时间达 420min 时吸光值达最高水平,表明形成了褐色的聚合物——类黑精。类黑精是美拉德反应后期形成的具有复杂结构的大分子产物,它是通过糖中具有还原性的醛基和氨基酸中的氨基发生聚合反应而得到的(Plavsic *et al.*, 2006)。

类黑精是美拉德反应中主要抗氧化成分。因为类黑精是一种以指碳水化合物(一般指糖类)与带有自由氨基的含氮化合物之间发生美拉德反应的后期形成的一种棕褐色物质。美拉德反应时间越长、温度越高、浓度越大越有利于色素物质产生,从而加深了反应产物的褐变程度。随着美拉德反应时间的延长,产物的抗氧化能力也显著增强(Yen *et al.*, 1993)。

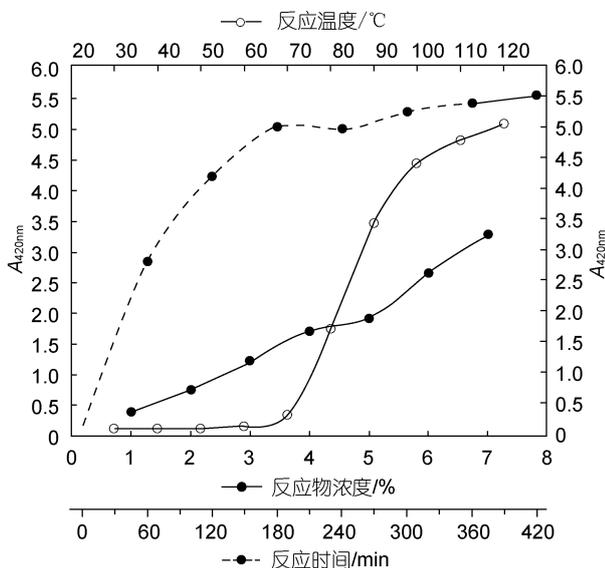


图 1 不同反应条件下的 MRPs 褐变程度变化

Fig.1 Changes in browning of MRPs during various reactive conditions

## 2.2 MRPs 清除 DPPH· 的能力

DPPH 是一种稳定的自由基,其乙醇溶液显紫色,在 517nm 处有最大吸收,当有自由基清除剂存在时,

DPPH 的单电子由于被配对, DPPH 浓度减小而使其颜色变浅,在 517nm 波长处的吸光度变小,这种颜色变浅的程度与配对电子数成化学计量关系,因而可用分光光度法进行定量分析(Lu *et al.*, 2001)。不同条件下的氨基葡萄糖反应产生的 MRPs 对 DPPH· 自由基的清除作用如图 2 所示。

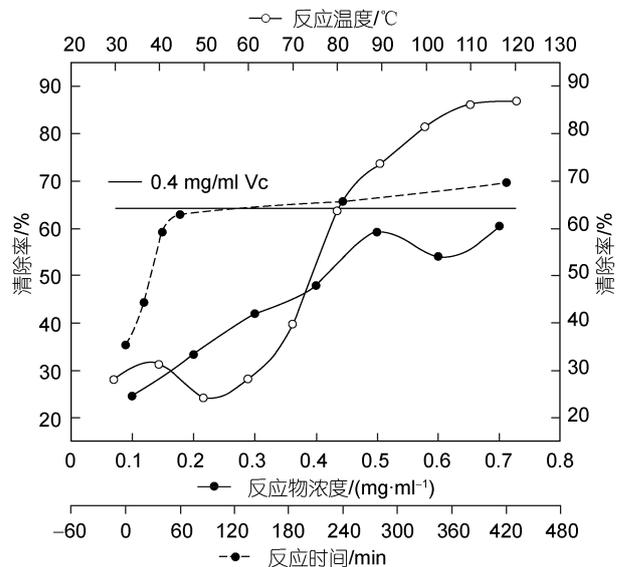


图 2 不同反应条件下的 MRPs 与 DPPH· 清除率的关系

Fig.2 The relation between various reactive conditions of MRPs and its scavenge DPPH·

从图 2 可以看出,MRPs 具有清除 DPPH· 自由基的能力,产物的清除率随着反应物浓度的升高而增加,当反应物浓度为 0.5mg/ml 时达到 59.19%,这个清除率与对照物 0.4mg/ml TBHQ 63.97% 的清除率相近。在浓度达到 0.5mg/ml 以后,MRPs 清除 DPPH· 自由基的能力变化缓慢。

MRPs 清除 DPPH· 自由基能力随着美拉德反应温度的升高而增强,当反应温度达到 120℃ 时清除率达到最高的 86.69%,这个清除率水平比 0.4mg/ml 的 TBHQ 63.97% 的清除率要高出 22.72%,说明在较高温度下生成的 MRPs 具有非常高的清除能力。在 70℃ 以前,MRPs 清除率差异不明显,70℃ 以后产物清除率随温度变化明显,说明 MRPs 清除 DPPH· 自由基能力受反应温度的影响明显。

美拉德反应产物在不同的美拉德反应时间下均具有一定的清除 DPPH· 自由基能力,反应时间在 420min 时出现最大清除率 69.64%,比对照物 (0.4mg/ml TBHQ) 63.97% 的清除率略高。产物清除率在反应时间 60min 以前增长迅速,60min 后变化较平

稳,说明清除 DPPH·自由基的物质的生成在 60min 后时间的影响并不大。

### 2.3 MRP<sub>s</sub> 还原能力测定

MRPs 抗氧化效果与还原力密切相关。还原能力的测定是以样品是否为良好的电子供体为指标。还原能力大的样品是良好的电子供体,其供应的电子不仅能使 Fe<sup>3+</sup>还原成 Fe<sup>2+</sup>,同时能与自由基反应,使自由基成为较为稳定的物质,从而中断自由基连锁反应(Yen *et al*, 1995),在 700nm 处吸光度越大表明样品的还原力越强。MRPs 的还原能力测定结果见图 3。

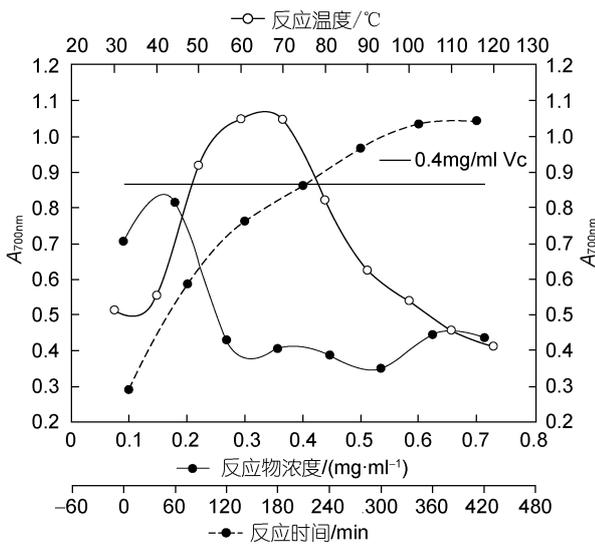


图 3 不同反应条件下的 MRP<sub>s</sub> 的还原能力  
Fig.3 Reducing power of MRP<sub>s</sub> at various reactive conditions

从图 3 可以看出,反应温度、时间、浓度均对 MRP<sub>s</sub> 的还原能力有明显的影 响。图 3 表明 MRP<sub>s</sub> 还原能力随浓度升高而升高变化明显,存在正相关的量效关系。图中反应温度对 MRP<sub>s</sub> 还原能力的影响呈抛物线型,反应温度 60—70℃ 时达到最大还原能力,温度再高还原能力开始明显下降。这是由于 MRP<sub>s</sub> 的还原力主要源于还原酮类物质,过高温度使一些还原性物质分解(王延平等, 1998)。MRPs 吸光度值变化表明美拉德反应产物的还原能力随时间增加而降低,说明在 80℃ 时还原酮类物质随反应时间延长逐渐减少,与图中反应温度对 MRP<sub>s</sub> 还原能力的影响结果一致。

Yoottana 等(2009)研究报道了在碱性条件下加热半胱氨酸、半胱氨酸与葡萄糖所得的产物均具有较强的还原能力,应用于海虾的保鲜具有不错的效果,能够抑制海虾的黑变反应达 12 天。20mmol/L 半胱氨酸碱性条件下产物的 A<sub>700nm</sub> 值为 5.416, 20mmol/L 的半

胱氨酸与葡萄糖在碱性条件下的产物 A<sub>700nm</sub> 值为 3.131, 而本研究 20mmol/L 氨基葡萄糖的 60℃ 加热 1h 得到的 MRP<sub>s</sub> A<sub>700nm</sub> 值为 5.496, 比两者都高。表明氨基葡萄糖 MRP<sub>s</sub> 具有较好的保鲜应用前景。

### 2.4 MRP<sub>s</sub> 清除·OH 能力的测定

羟基自由基(·OH)清除率是反映物质抗氧化作用的重要指标。·OH 在其氧原子上含有一个未配对电子,夺取电子的能力很强,是体内最活泼的活性氧,可导致许多病理变化。在过渡金属离子催化作用下,过氧化氢可发生均裂产生羟自由基(·OH),反应式如下(Yilmaz *et al*, 2005):



取不同反应条件下得到的 MRP<sub>s</sub> 测定其清除·OH 的能力。从图 4 可以看出,MRPs 具有一定的清除·OH 能力,随着反应物浓度增大清除能力增强,具有一定的线性关系。MRPs 在温度 80℃ 下,具有较高的清除羟基能力并在 60℃ 时达到最大 98.53%, 这比对照物(1.6mg/ml Vc)溶液 82.92% 清除率要高很多,说明在这个温度下得到的 MRPs 具有比 Vc 更高的清除·OH 的能力。但温度超过 70℃ 时,反应物清除·OH 能力随温度升高而降低。从图 4 中可以看出,美拉德反应产物清除·OH 能力随反应时间延长而降低,在 0min 时最大为 90.23%, 而反应时间为 420min 时,MRPs 的清除羟基能力仅为 15.02%。这表明反应物氨基葡萄糖本身具有很强的清除·OH 能力,过高的温度不仅不产生,反而破坏了具有清除能力的小分子,从而导致 MRP<sub>s</sub> 的清除能力下降。

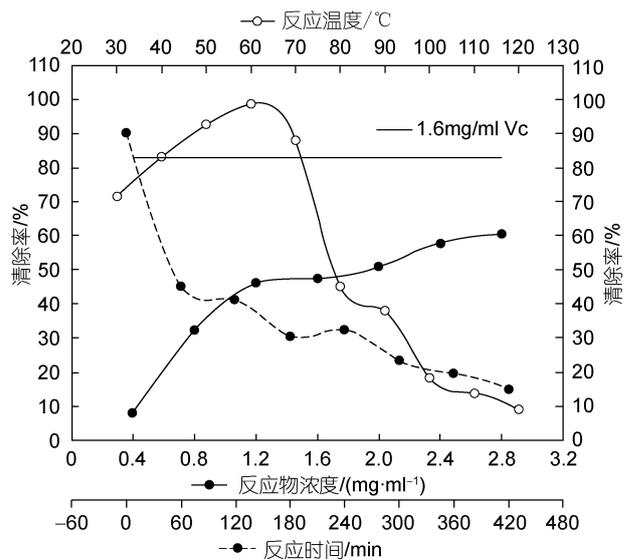


图 4 不同反应条件下 MRP<sub>s</sub> 清除·OH 自由基能力  
Fig.4 Scavenging effects of MRP<sub>s</sub> against ·OH radical with various reactive conditions

## 2.5 正交实验

根据单因素试验结果,可大致确定反应温度、反应物浓度、反应时间的适量范围,分别三个量,确定如表 1、表 2 所示的三个水平,进行正交试验。正交试验结果方差分析如表 3 所示。

表 1 MRP<sub>s</sub> 清除 DPPH·正交试验的因素水平  
Tab.1 Orthogonal experiment factors and levels of MRP<sub>s</sub> against DPPH·

水平	因素		
	A(反应温度)	B(反应物浓度)	C(反应时间)
1	85℃	0.4mg/ml	30min
2	100℃	0.5mg/ml	60min
3	115℃	0.6 mg/ml	90min

表 2 MRP<sub>s</sub> 还原能力和清除·OH 自由基正交试验因素水平  
Tab.2 Orthogonal experiment factors and levels of reducing power and against ·OH radical of MRP<sub>s</sub>

水平	因素		
	A(反应温度)	B(反应物浓度)	C(反应时间)
1	55℃	0.4 (1.6) mg/ml	10min
2	65℃	0.5 (2.0) mg/ml	40min
3	75℃	0.6 (2.4) mg/ml	70min

注: 括号内数据为清除·OH 自由基的反应物浓度

从表 1、表 2 和表 3 可知,对于给定显著性水平  $*P<0.05$  和  $**P<0.01$ ,在选定的三个条件的三种梯度下,温度以及反应时间对 MRP<sub>s</sub> 清除 DPPH·自由基有极其显著的影响、反应物浓度对 MRP<sub>s</sub> 还原能力实验中有显著影响。

对 MRP<sub>s</sub> 的清除 DPPH·试验测定结果进行极差

分析, A 为 11.395, B 为 0.498, C 为 17.616, 所以其重要性依次为  $C>A>B$ , 优方案为 C3A3B2。即温度为 115℃, 浓度 0.5mg/ml, 反应时间 90min。

对 MRP<sub>s</sub> 的还原能力试验测定结果进行极差分析, B 为 0.164, C 为 0.071, A 为 0.059, 所以其重要性依次为  $B>C>A$ , 优方案为 B3C2A2 或 B3C1A2。即浓度 0.6mg/ml, 反应时间 40min, 温度 65℃。

对 MRP<sub>s</sub> 清除羟自由基试验的测定结果进行极差分析, C 为 15.070, B 为 14.044, A 为 4.527, 所以其重要性依次为  $C>B>A$ , 优方案为 C1B3A2。即反应时间 10min, 浓度 0.6mg/ml, 温度 65℃。

三项实验中的最佳组合未出现在正交试验中,因此对于结果中的最佳组合是否真的是最佳组合,需要进一步的实验进行验证。根据三组最优方案制备三组不同条件下的 MRP<sub>s</sub>, 测定样品的 DPPH·自由基清除率为 88.73%, 还原能力试验结果为  $A_{700nm} = 1.684$ ; 清除羟基自由基清除率为 98.72%。

目前有关美拉德反应的研究集中在不同的蛋白质或者氨基酸与具有醛基的糖发生的反应之间。Feng 等(2010)对高分子量的干酪素和葡萄糖美拉德反应产物的结构以及抗氧化性进行了分析, Chang 等(2011)研究了壳聚糖与葡萄糖美拉德反应产物的抗氧化性以及其对猪肉冷冻储藏的品质影响。Li 等(2011)研究了木聚糖与壳聚糖美拉德反应产物用作食品保鲜剂的潜在可能性。Rao 等(2011)研究了射线照射壳聚糖与葡萄糖美拉德反应产物的抗氧化性潜能以及抑菌作用。Tomoko 等(2011)证明了在牛奶中发生的美拉德反应有氨基还原酮的存在。Yoottana 等(2009)研究了

表 3 MRP<sub>s</sub> 正交实验结果方差分析  
Tab.3 The variance analysis of result of MRP<sub>s</sub> orthogonal test

MRP <sub>s</sub> 抗氧化正交实验	因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
DPPH·清除率(%)	反应温度	194.761	2	32.342	18.000	**
	反应物浓度	0.391	2	0.065	18.000	
	反应时间	595.118	2	98.824	18.000	**
	误差	12.04	4			
还原能力( $A_{700nm}$ )	反应温度	0.006	2	1.091	6.940	
	反应物浓度	0.044	2	8.000	6.940	*
	反应时间	0.007	2	1.273	6.940	
	误差	0.01	4			
清除羟基(%)	反应温度	31.223	2	1.000	19.000	
	反应物浓度	357.687	2	11.456	19.000	
	反应时间	342.212	2	10.960	19.000	
	误差	31.22	2			

注:  $*P<0.05$ ,  $**P<0.01$

含硫氨基酸与葡萄糖在碱性条件下加热得到的美拉德反应产物的抗褐变和抗氧化性活性以及对冷冻存储的虾品质的影响。

虾蟹壳氨基葡萄糖含有氨基和含有羰基,符合美拉德反应的物质条件。在加热条件下,氨基葡萄糖发生明显的褐变反应,符合美拉德反应的现象特征;对氨基葡萄糖MRPs的紫外和荧光分析表明MRPs中的小分子物质随着反应时间和温度改变发生明显的变化,符合美拉德反应的物质变化特征,综合说明氨基葡萄糖发生了美拉德反应。分析发现氨基葡萄糖的MRPs组分相对较少和稳定(唐杰等,2012)<sup>1)</sup>,表明它可以作为美拉德反应的模式物质,是全面研究和阐述美拉德反应原理和MRPs组分的最佳选择。

虾蟹壳氨基葡萄糖MRPs具有较强的清除DPPH·自由基、·OH自由基和还原能力,表明这种新型海洋物质具有较广的应用范围,在食品保鲜剂、保健食品、护肤等新产品开发方面大有作为,为海洋甲壳质衍生物高附加值的、具有自主知识产权的高端产品研发开辟了一个新的领域,十分有利于我国海洋甲壳质及其衍生物产业转型升级。

### 3 结论

氨基葡萄糖的氨基和羰基使其具有发生美拉德反应的条件,在一定条件下发生美拉德反应并生成MRPs。

在不同的反应条件下得到的氨基葡萄糖美拉德反应产物MRPs均表现出了很高的抗氧化性能,特别是在清除DPPH·自由基和还原能力方面具有很强的能力,在同等浓度条件下比Vc和TBHQ具有更好的抗氧化能力。产物的抗氧化性与反应物浓度、反应温度呈正量效关系。通过正交试验选出了不同条件下抗氧化性的最优组合条件。

MRPs的抗氧化能力并不完全依赖于产物的褐变程度。美拉德反应是一个复杂的反应体系,MRPs的具体组成、结构和性质等依然尚未十分清楚,对其中的抗氧化物质和抗氧化机理也有待于进一步研究。

用虾蟹壳氨基葡萄糖制备的MRPs具有较好的应用前景,为虾蟹壳甲壳质衍生物高端产品开发提供了基础,有利于推进我国虾蟹壳甲壳质产业转型升级。

### 参 考 文 献

- 王延平,赵谋明,彭志英等,1998.美拉德反应产物抗氧化性能研究进展.食品与发酵工业,24(1):70—73
- 付辰炜,刘万顺,韩宝芹等,2007.氨基葡萄糖对小鼠免疫功能的影响.营养学报,29(1):51—57
- 金 鸣,蔡亚欣,李金荣等,1996.邻二氮菲·Fe<sup>2+</sup>氧化法检测H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup>产生的羟自由基.生物化学与生物物理进展,23(6):553—555
- 周湘池,刘必谦,郭春苹等,2008.生物技术清洁生产替代高污染化学法制备甲壳素的研究与应用.海洋与湖沼,39(5):517—522
- 高保全,刘 萍,李 健等,2010.三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)体重遗传力的估计.海洋与湖沼,41(3):322—326
- Calligaris S, Manzocco L, Anese M *et al*, 2004. Effect of heat-treatment on the antioxidant and pro-oxidant activity of milk. International Dairy Journal, 14(5): 421—427
- Chang H L, Chen Y C, Tan F J, 2011. Antioxidative properties of a chitosan-lucose Maillard reaction product and its effect on pork qualities during refrigerated storage. Food Chem, 124(2): 589—595
- Chellan P, Nagaraj R H, 1999. Protein crosslinking by the Maillard reaction: Dicarbonyl-erived imidazolium crosslinks in aging and diabetes. Archives of Biochemistry and Biophysics, 368(1): 98—104
- Feng L G, Kim J M, Abbas S *et al*, 2010. Structure and antioxidant activity of high molecular weight Maillard reaction products from casein-lucose. Food Chem, 120(2): 505—511
- Li X X, Shi X W, Wang M *et al*, 2011. Xylan chitosan conjugate-potential food preservative. Food Chem, 126(2): 520—525
- Liu S C, Yang D J, Jin S Y *et al*, 2008. Kinetics of color development, pH decreasing, and antioxidant activity reduction of Maillard reaction in galactose/glycine model systems. Food Chem, 108(2): 533—541
- Lu Y R, Foo Y L, 2001. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). Food Chem, 75(2): 197—202
- Plavsic M, Cosovic B, Lee C, 2006. Copper complexing properties of melanoidins and marine humic material. Sci of the Total Environ, 366(1): 310—319
- Rao M S, Chawla S P, Chander R *et al*, 2011. Antioxidant potential of Maillard reaction products formed by irradiation of chitosan-lucose solution. Carbohydrate Polymers, 83(2): 714—719
- Rufian H J A, Delgado A C, Morales F J, 2006. Occurrence of acetic acid and formic acid in breakfast cereals. Science of Food and Agriculture, 86(9): 1321—1327

1) 唐 杰,刘必谦,周湘池等,2012.不同反应条件下氨基葡萄糖美拉德反应产物光谱分析.分析化学(待刊)

- Tomoko S, Yoshikazu K, Shinya K *et al*, 2011. Demonstration of the presence of aminoreductone formed during the Maillard reaction in milk. *Food Chem*, 129(3): 1088—1092
- Umemura T, Kodama Y, Hioki K *et al*, 2001. Butylhydroxytoluene (BHT) increases susceptibility of transgenic ras-H2 mice to lung carcinogenesis. *J Cancer Res Clin Oncol*, 127(10): 583—590
- Wang H Y, Qian H, Yao W R, 2011. Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. *Food Chem*, 128(3): 573—584
- Yen G C, Chau C F, Lii D J, 1993. Isolation and characterization of most antimutagenic Maillard reaction products derived from xilose and lysine. *Food Chem*, 41: 771—776
- Yen G C, Chen H Y, 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Agric Food Chem*, 43(1): 27—32
- Yilmaz Y, Toledo R, 2005. Antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products. *Food Chem*, 93(2): 273—278
- Yootana P, Soottawat B, Wonnop V *et al*, 2009. Sulfur-containing compounds heated under alkaline condition: antibrowning, antioxidative activities, and their effect on quality of shrimp during iced storage. *Journal of Food Science*, 74(6): 240—247

## MAILLARD REACTION OF SHRIMP CRAB GLUCOSAMINE AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF ITS MRPs (MAILLARD REACTION PRODUCTS)

TANG Jie, LIU Bi-Qian, ZHOU Xiang-Chi, ZHUANG Yi, LIN Xiao-Zhang  
(Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology of Ministry of Education, School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo, 315211)

**Abstract** For the first time preparation of the MRPs which is base on single material glucosamine originated from shrimp crab chitosan. The result suggested that MRPs' ability to scavenge the DPPH· free radicals increased as the reactant concentration, reaction temperature and reaction time did. Its reducing power and ability to scavenge the ·OH free radicals as the reactant concentration increased. Meanwhile, the reducing power of MRPs first increased and then decreased as the increase of the reaction temperature and reaction time. Its ability of scavenging the ·OH free radicals first increased then decreased with the increase of the reaction temperature and decreased with the increase of reaction time. The results of the orthogonal experiments indicated that the highest ability of MRPs, which was prepared with the concentration of 0.5mg/ml for 90min at 115℃, scavenging DPPH· free radicals was 88.73%, its highest reducing power prepared with the concentration of 0.6mg/ml for 40min at 65℃ was  $A_{700nm} = 1.684$ , and its highest ability to scavenge ·OH free radicals with the concentration of 0.6mg/ml for 10min at 65℃ was 98.72%. These results presented that there was always a high antioxidant activity of MRPs in spite of different reaction conditions. With the same concentration, MRPs had got better antioxidant effect than that of Vc and TBHQ. Nevertheless, the antioxidant capacity of MRPs did not entirely depend on the browning degree of the products. The MRPs of glucosamine is an excellent substances for antistaling agent.

**Key words** Shrimp crab glucosamine, Maillard reaction, MRPs, Oxidative stability, Radical scavenging