

低聚壳聚糖与葡萄糖的美拉德反应及其衍生物活性研究

孙 涛, 刘华巍, 陈春红, 谢 晶, 张 硕

(上海海洋大学 食品学院, 上海 201306)

摘要: 研究低聚壳聚糖与葡萄糖的美拉德反应, 考察了三种体系(低聚壳聚糖的氨基与葡萄糖的羰基的物质量比分别为 1:1、1:3 和 3:1)反应过程中 pH、吸光度峰值以及荧光值峰值的变化, 醇沉法提取低聚壳聚糖美拉德反应衍生物 CG1:1、CG1:3 和 CG3:1。对三种衍生物进行红外表征和分子质量测定, 并研究其抗氧化效果(对超氧阴离子 O_2^- , 羟基自由基·OH, DPPH 的清除能力, 还原能力), 结果显示: 三种低聚壳聚糖衍生物对 O_2^- 、·OH、DPPH 的清除能力及还原能力都明显优于低聚壳聚糖, 且 CG1:1 最佳, 其次是 CG1:3, 最差的是 CG3:1。同时, 研究了低聚壳聚糖及其三种衍生物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果, 结果显示: 低聚壳聚糖及其三种衍生物随着浓度增加, 对两种菌的抑菌效果增强, 且三种衍生物的抑菌效果优于低聚壳聚糖本身。同时, 三种衍生物对金黄色葡萄球菌的抑制作用强于对大肠杆菌的抑制作用。提示: 低聚壳聚糖与葡萄糖的美拉德反应产物有强的抗氧化性和抑菌性, 且其抗氧化性和抑菌性的强弱与反应物的氨基与羰基比例有关。

关键词: 低聚壳聚糖; 美拉德反应; 抗氧化性; 抑菌性

中图分类号: R284; Q539; TS202.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2012)08-0079-07

低聚壳聚糖(COS)具有降低胆固醇、降血脂、抗肿瘤、抗菌、提高机体免疫功能、调节肠道菌群以及促进药物吸收等生理活性, 在食品行业 COS 作为抗菌剂、保鲜剂及抗氧化剂已被广泛关注^[1]。美拉德反应是指发生在食品加工和贮存过程中还原糖的羰基与蛋白质、氨基酸及一些含氮化合物的氨基产生的一系列复杂反应的集合, 产物具有一定的抗氧化性能, 其中某些物质的抗氧化活性可以与食品中常用的抗氧化剂相媲美^[2]。

COS 是一种含有大量氨基的特殊多糖, 其结构的特殊性决定了它可以作为氨基的供应体与还原糖发生美拉德反应。本研究以美拉德反应为手段来制备 COS 衍生物, 考察其抗氧化性能, 并且测定 COS 及其衍生物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制效果, 以期拓宽 COS 的应用和开发天然高效的生物保鲜剂提供新思路。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

低聚壳聚糖, 购自浙江金壳生物化学有限公司; 鲁米诺, DPPH, 购自 Sigma 公司; 胰蛋白胨大豆琼脂培养基和胰蛋白胨大豆肉汤培养基, 北京陆桥技术有限责任公司; *E.coli* O157 (ATCC 43889)和

S.aureus (AB 91093), 由上海海洋大学食品学院生物技术研究室提供; 其余试剂均为分析纯, 购自上海化学试剂公司; 抗氧化测试所需溶液由二次蒸馏水配制。

1.2 主要设备和仪器

WFZ UV2000 型紫外分光光度计; 970CRT 荧光分光光度计; EQUINOX55 傅立叶红外-拉曼光谱仪; Waters 515 型凝胶色谱仪; IFFM-D 型流动注射化学发光分析仪。

1.3 低聚壳聚糖衍生物的制备

称取壳聚糖 20.0 g 3 份, 分别加入葡萄糖 20.0、60.0 和 6.7 g, 使得壳聚糖氨基和葡萄糖羰基的物质量比分别为 1:1、1:3 和 3:1, 用 200 mL 的二次蒸馏水溶解, 在 80℃ 下回流反应, 测其反应过程中 pH、吸光度以及荧光度的变化。反应结束后, 产物多次醇提, 经碘量法测定无葡萄糖存在, 烘干得壳聚糖衍生物 CG1:1、CG1:3 和 CG3:1。

收稿日期: 2011-09-12; 修回日期: 2012-01-15

基金项目: “十二五”国家支撑计划项目(2012BAD38B09); 上海市教委重点学科建设项目(J50704)

作者简介: 孙涛(1970-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然多糖的多功能化。E-mail: taosun@shou.edu.cn; 电话: 021-61900363; 谢晶, 通信作者, 教授, 电话: 021-61900364; E-mail: jxie@shou.edu.cn

1.4 COS 美拉德衍生物的测试表征

红外光谱在 EQUINOX55 傅立叶红外-拉曼光谱仪上进行, 采用 KBr 压片法制样, 测定波数范围为 $400 \sim 4000 \text{ cm}^{-1}$, 分辨率为 0.8 cm^{-1} 。

产物的相对平均分子质量及其分布采用 GPC 法测定。GPC 测试条件如下: 流动相: 0.1 mol/L 硝酸钠水溶液; 监测器: Waters 2410 示差折光监测器; 柱子: Ultrahydrogel 500, 120 串连; 温度: 40°C ; 标准物质为: 葡聚糖。

1.5 抗氧化性能测定

1.5.1 对超氧阴离子自由基 O_2^- 的清除

浓度为 $1.5 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的鲁米诺溶液用 $\text{pH } 10.20$ 的 $0.05 \text{ mol/L Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3$ 缓冲溶液配制, 浓度为 0.1 mol/L 的邻苯三酚储备液用 $1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的盐酸配制, 使用前用去离子水稀释至 $1 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 。以缓冲液作为溶剂, 配制不同浓度的样品溶液。用流动注射化学发光分析仪依次测定从稀到浓的 COS 及其衍生物样品溶液, 读出峰面积^[3]。清除率 $= (A_0 - A_i) / A_0 \times 100\%$ 。其中 A_0 为空白溶液峰面积; A_i 为样品溶液峰面积。经 SOD, 过氧化氢酶及甘露醇检测, 该体系产生的自由基为超氧阴离子 O_2^- 。

1.5.2 对羟基自由基 $\cdot\text{OH}$ 的清除

浓度为 $6.4 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 的鲁米诺溶液、 $0.012 \text{ mol/L H}_2\text{O}_2$ 和 0.8 mg/mL 亚铁氰化钾溶液用 $\text{pH } 7.40$ 的 $0.05 \text{ mol/L KH}_2\text{PO}_4\text{-NaOH}$ 缓冲溶液分别配制。以缓冲液作为溶剂, 配制系列不同浓度 COS 及其衍生物的样品溶液^[3]。依上述流动注射化学发光分析方法测定并计算样品清除羟基自由基的活性。

1.5.3 对 DPPH 自由基的清除

取不同浓度的 COS 及其衍生物样品溶液 2.0 mL , 分别加入在装有 2.0 mL 的浓度为 $1 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ DPPH 无水乙醇溶液的比色管中, 室温下避光静置 30 min , 在 517 nm 处测量吸光度 A_i 。用去离子水代替样品溶液, 得吸光度 A_0 , 无水乙醇代替 DPPH, 得吸光度 A_j 。清除率 $= [1 - (A_i - A_j) / A_0] \times 100\%$ ^[4]。

1.5.4 还原能力的测定

还原能力根据文献[5]测定并稍做改进。取 2.0 mL 不同浓度的 COS 及其衍生物样品, 加入 $\text{pH } 6.60$ 的 0.2 mol/L 磷酸缓冲液 1% 铁氰化钾溶液各 2.5 mL , 混匀。 50°C 水浴 20 min 后迅速冷却, 加入 $2.5 \text{ mL } 10\%$ 三氯乙酸溶液, 混匀后在 3000 r/min 下离心 10 min , 取上清液 2.0 mL , 加入 2.5 mL 去离子水和 0.5 mL

0.1% 的三氯化铁溶液, 静置 10 min 后在 700 nm 处测定吸光度。

1.6 抑菌性能测定

1.6.1 菌悬液的制备

配制胰蛋白胨大豆肉汤培养基, 将斜面上的 *E. coli* 和 *S. aureus* 菌种分别接种至装有 20 mL 种子培养基的 250 mL 三角瓶中培养, 37°C , 200 r/min 培养 12 h 。将扩培好的菌液用无菌水稀释成含菌数为 10^4 CFU/mL 左右的菌悬液, 备用。

1.6.2 滤纸片法测定抑菌作用

取直径 6 mm 的灭菌圆滤纸片放入不同浓度的 COS 及其衍生物溶液中浸泡。将 0.1 mL 菌悬液涂布在胰蛋白胨大豆琼脂培养基平板上, 用无菌镊子取浸泡过的圆滤纸片并贴于培养皿中, 每个培养皿贴 3 片。

本实验将 COS 及其衍生物设 2 种浓度, 分别为 0.5 g/L , 2.0 g/L , 并以无菌水为对照, 3 次平行实验, 在 37°C 下培养 24 h , 测定抑菌圈直径。

1.7 数据分析

利用 SPSS17.0 软件进行试验数据分析, 结果以平均值 \pm 平均偏差表示, 利用 t-检验进行组间分析, 当 $P < 0.01$ 时为极显著差异, $0.01 < P < 0.05$ 时为显著性差异, $P > 0.05$ 时不显著差异, 并采用 Origin 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 pH 的变化

COS 与葡萄糖的美拉德过程中体系查 pH (平行 3 次) 均呈下降趋势, 如图 1 所示。这是由于美拉德反

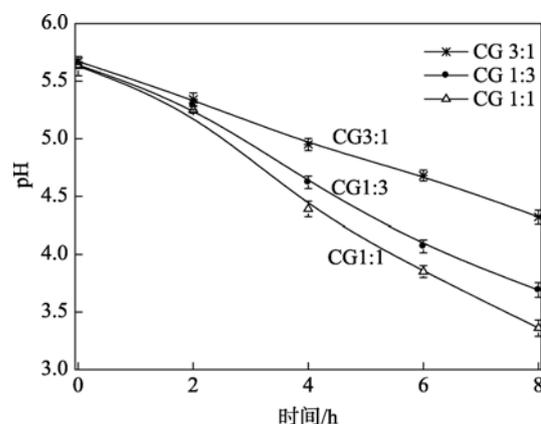


图 1 COS 与葡萄糖美拉德反应过程中 pH 的变化
Fig. 1 The pH changes in Maillard reaction

应中形成了一些有机酸, 如甲酸和乙酸^[6-7]。其中壳聚糖与葡萄糖 1:1 的体系 pH 下降的最快, 这可能是由于壳聚糖是一个含有大量氨基的大分子, 当羰基和氨基摩尔比相近时, 反应较快, 更易于生成甲酸和乙酸, 故 1:1 体系的 pH 下降最快。

2.2 吸光度峰值的变化

图 2 描述了氨基与羰基摩尔比是 1:1、1:3 以及 3:1 的 COS 与葡萄糖反应过程中在 278 nm 处的吸光度峰值(平行 3 次)变化。由图 2 可知, 在 278 nm 处吸收峰有明显增加, 表明有新的物质生成并不断积累。在酸性条件下, 美拉德反应易发生糖的异构和脱水, 产生糠醛类物质^[8]。羟甲基糠醛是美拉德反应的标示物, 在 278 nm 左右存在特征吸收峰^[9]。

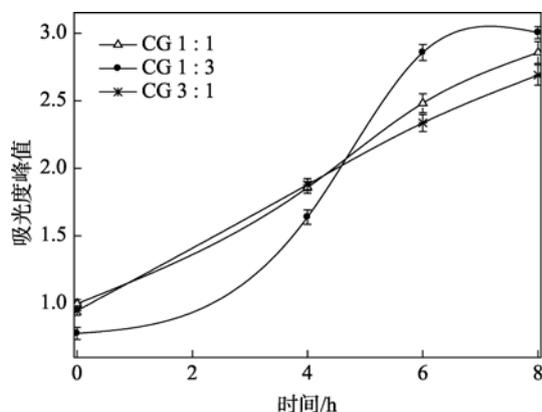


图 2 COS 与葡萄糖美拉德反应过程中在 278 nm 处吸光度峰值的变化

Fig. 2 The UV-Vis absorbance peak value of Maillard reaction at 278 nm

2.3 荧光值峰值的变化

图 3 描述的是在美拉德反应过程中, 三种体系在 343 nm 的激发波长和 435 nm 发射波长下测得的荧光峰值(平行 3 次)变化。荧光物质被视为美拉德反应的指示剂, 因为它们灵敏地反映了美拉德反应的早期过程^[10]。美拉德反应初期产物经过脱水、裂变会产生无色的还原酮与荧光物质, 此时不饱和的羰基化合物增加, 产生了一些小分子化合物, 荧光物质在反应初期(2 h 内)积累的最快, 因此, 这个体系的荧光特性明显增强。而反应后期(2 h 后)这些化合物会与其他物质聚合生成类黑素等大分子, 随着反应的进行, 荧光物质的积累会越来越来少^[11], 体系的荧光强度增长比较缓慢。

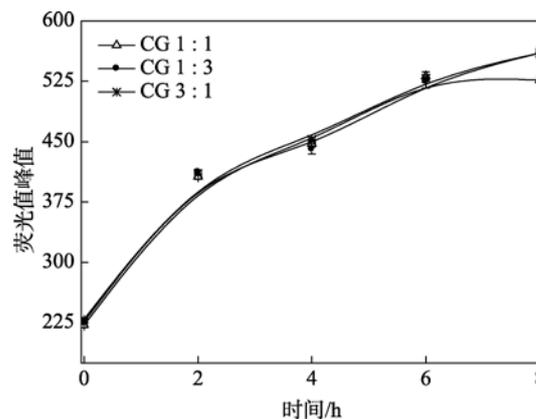


图 3 COS 与葡萄糖美拉德反应的过程中在 435 nm 处荧光值峰值的变化

Fig. 3 The fluorescence absorbance peak value of Maillard reaction at 435 nm

2.4 COS 美拉德产物的结构表征

图 4 是 COS 及其衍生物的红外光谱图。壳聚糖及三种衍生物在 $1\ 100\ \text{cm}^{-1}$ 附近都有 3 个较强的多糖特征吸收峰, 分别是 $1\ 037$ 、 $1\ 085$ 以及 $1\ 155\ \text{cm}^{-1}$, 这些吸收峰都来自壳聚糖主链环状结构, 可作为判定 COS 及其衍生物存在的特征吸收峰^[3]。壳低聚糖在 $1\ 622$ 、 $1\ 516$ 和 $1\ 381\ \text{cm}^{-1}$ 附近的吸附带, 分别归因于酰胺 I(C=O)、自由氨基(-NH₂)和酰胺 III^[12]。图中显示 COS 美拉德衍生物在 $1\ 516\ \text{cm}^{-1}$ 的峰较 COS 有明显降低, 表明了自由氨基的减少; 同时, 在 $1\ 155$ 和 $896\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰, 分别归因于 C-O 伸缩振动和 β -D-氨基葡萄糖结构, 当加入葡萄糖进行美拉德反应后, 该吸收峰降低, 表明壳聚糖的糖单元发生了变化^[13]。

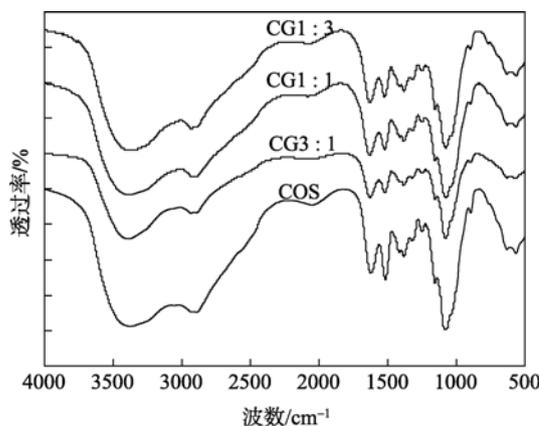


图 4 COS 及三种 COS 美拉德衍生物的红外光谱图

Fig. 4 FTIR spectra of COS, CG1:3, CG1:1 and CG3:1

采用 Waters 515 型凝胶色谱仪, 测得样品 COS 的分子质量为 8 190, 美拉德反应制得的 COS 衍生物 CG1 : 1、CG1 : 3 和 CG3 : 1 的分子质量分别为 12 430、11 540 和 11 790。美拉德衍生物的分子质量较 COS 都有所增加, 表明壳低聚糖分子中氨基酸和葡萄糖相互反应形成了更大的分子。

2.5 超氧阴离子自由基 O_2^- 的清除

超氧阴离子 O_2^- 是一类较毒的活性氧, 由多种生物反应和光化学反应产生, 它还能分解形成更强的活性氧物质, 如单线态氧和羟自由基, 导致脂质过氧化。邻苯三酚在碱性条件下能迅速自氧化, 释放出 O_2^- , 生成有色的产物。当有自由基清除剂存在时, 可清除 O_2^- , 阻止有色产物的积累。

图 5 描述了 COS 及其衍生物对 O_2^- 的清除效果。其中 CG1 : 1 较好, 其 IC_{50} (对自由基清除率为 50% 时所需要的自由基清除剂浓度) 为 0.068 mmol/L, 三种衍生物对 O_2^- 的清除能力均优于 COS (IC_{50} 0.197 mmol/L)。研究表明, COS 对 O_2^- 的清除活性可能与其分子中的活性羟基和氨基有关^[14]。COS 作为氨基的供体与提供羰基的葡萄糖发生美拉德反应, 在活性氨基和羟基位置引入取代基之后, 活性基团减少了, 但其对 O_2^- 的清除能力反倒提升, 相关机理较复杂, 有待进一步考察。

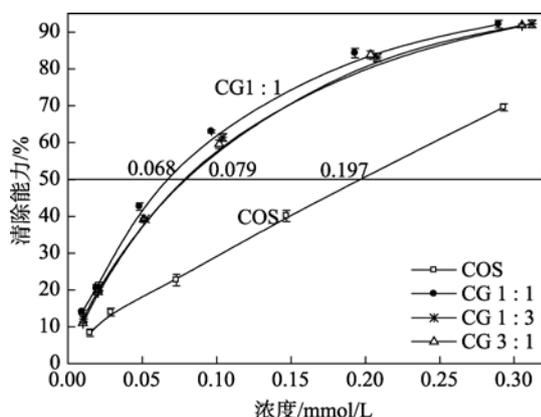


图 5 COS 及其美拉德衍生物对超氧阴离子的清除能力
Fig. 5 Scavenging activity of COS, CG1 : 3, CG1 : 1 and CG3 : 1 on superoxide anion

2.6 对羟基自由基 $\cdot OH$ 的清除

羟基自由基 $\cdot OH$ 是毒性最大的活性氧, 对细胞内 DNA 的破坏作用很大。它可以加成至碱基双键中造成碱基破坏, 从而产生突变。研究发现壳聚糖中的

活泼羟基和氨基对 $\cdot OH$ 有以下作用: (1) 羟基的氢原子与 $\cdot OH$ 作用而达到清除目的; (2) 氨基与 $\cdot OH$ 反应生成稳定的大分子自由基; (3) 氨基先与溶液中的氢作用形成氨正离子, 再与 $\cdot OH$ 作用形成稳定物质^[15]。

COS 及其美拉德衍生物对 $\cdot OH$ 的清除活性如图 6 所示。随着浓度的升高, 对 $\cdot OH$ 的清除能力都增强, 其中 CG1 : 1 效果最佳, 并且美拉德衍生物对 $\cdot OH$ 的清除能力都优于 COS, 这现象与对 O_2^- 的清除效果一致。

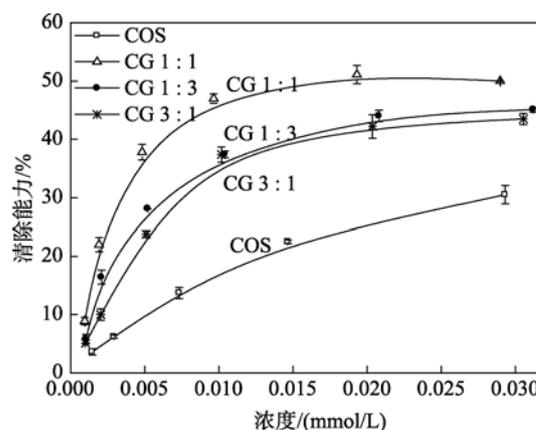


图 6 COS 及其美拉德衍生物对羟基自由基的清除能力
Fig. 6 Scavenging activity of COS, CG1 : 3, CG1 : 1 and CG3 : 1 on hydroxyl radicals

2.7 对 DPPH 自由基的清除

DPPH 在有机溶剂中是一种稳定的自由基, 其结构中含有 3 个苯环, 氮原子上有 1 个孤对电子, 其乙醇溶液呈紫色, 在 517 nm 附近有强吸收。当 DPPH 溶液中加入自由基清除剂时, 孤对电子被配对, 吸收消失或减弱。

图 7 描述了 COS 及其衍生物对 DPPH 自由基的清除能力。由图 7 可知, CG1 : 1、1 : 3 和 3 : 1 体系制得的衍生物的 IC_{50} 分别为 0.022、0.026 以及 0.037 mmol/L, 即抗氧化能力 CG1 : 1 > CG1 : 3 > CG3 : 1 > COS。研究表明, COS 分子链中的活性氨基和羟基可以提供氢与 DPPH 结合, 从而达到清除 DPPH 的目的^[3]。这一结果同样显示, 虽然经美拉德反应后氨基的含量减少, 但 COS 衍生物对 DPPH 的清除能力明显增强, 与对 O_2^- 和 $\cdot OH$ 的清除结果相仿。

2.8 还原能力的测定

还原能力是表示抗氧化物质提供电子能力的重要指标, 通过提供电子, 阻断 Fe^{2+} 向 Fe^{3+} 的转变, 从而表现出一定的还原能力。研究表明, 抗氧化活性和

还原能力之间存在着密切的关系^[16]。CG1:1、CG1:3、CG3:1以及COS的还原性如图8所示。随着浓度的增加,各样品的吸光值随之增加,即还原能力逐渐增强。在浓度为0.20 mmol/L时,COS、CG1:1、CG1:3和CG3:1的吸光度分别为0.328、0.864、1.273和1.380,即还原能力顺序为CG1:1>CG1:3>CG3:1>COS。壳聚糖的还原能力也与其提供电子的活性氨基和羰基有关,美拉德反应后还原能力却因活性基团的减少而增强,这与前面的结果一致。

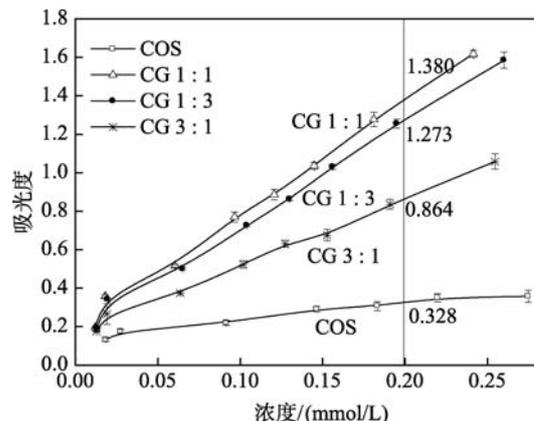


图8 COS及其美拉德衍生物的还原能力测定

Fig. 8 Reducing capacity of COS, CG1:3, CG1:1 and CG3:1

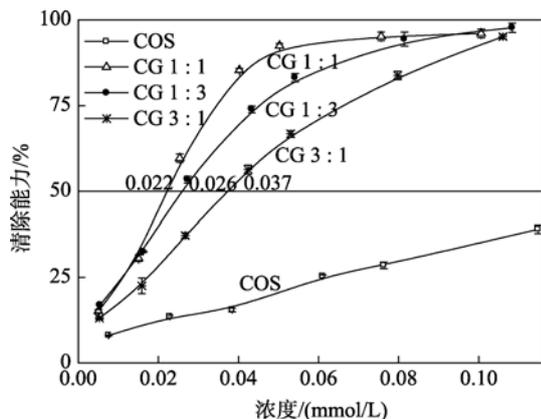


图7 COS及其美拉德衍生物对DPPH的清除能力

Fig. 7 Scavenging activity of COS, CG1:3, CG1:1 and CG3:1 on DPPH radicals

美拉德反应过程中会产生具有抗氧化性的物质,其中某些有抗氧化性的小分子物质可能生成、积累或者挥发,也可能聚合成抗氧化性较好的大分子物质,如类黑素等。通过美拉德反应制备三种COS衍生物,尽管消耗了活性氨基,但其衍生物的抗氧化性却得到了较大的提升,其机理还有待进一步研究。

2.9 COS及其衍生物对*E.coli*和*S.aureus*的抑菌效果

COS及其衍生物的抑菌圈结果表明(表1),COS及其衍生物对*E.coli*和*S.aureus*均有抑制作用。随着COS及其衍生物浓度的增加,抑菌圈直径增大,抑菌效果增强,并且COS衍生物对两种菌抑制效果优于COS本身。同时,COS与其衍生物也表现出对*S.aureus*(革兰氏阳性菌)的抑菌效果好于对*E.coli*(革兰氏阴性菌)的抑菌效果,这可能与各种菌种的特异性(如革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌之间细胞壁的差别)以及COS及其衍生物对菌种不同的作用机制有关^[17-19]。0.5 g/L以及2.0 g/L的CG1:1作用于*E.coli*的抑菌圈直径分别为9.80和12.00 mm;作用于*S.aureus*的抑菌圈直径分别为10.20和13.00 mm,说明CG1:1对*E.coli*和*S.aureus*两种菌抑制效果最佳。

表1 COS及其衍生物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果

Tab. 1 The inhibitory effect of COS and its derivatives on *E.coli* and *S.aureus*

抑菌剂	抑菌圈直径(平均值±标准偏差)(mm)			
	大肠杆菌(革兰氏阴性菌)		金黄色葡萄球菌(革兰氏阳性菌)	
	0.5 g/L	2.0 g/L	0.5 g/L	2.0 g/L
无菌水	6.00±0.01	6.00±0.01	6.00±0.01	6.00±0.01
COS	6.80±0.01	9.00±0.05	7.10±0.98	9.50±0.01
CG1:1	9.80±0.01	12.00±0.59	10.20±0.01	13.00±0.59
CG1:3	8.60±0.59	10.00±0.01	9.20±0.01	10.20±0.01
CG3:1	8.80±0.01	10.20±0.01	8.80±0.01	10.40±1.39

(1) COS及其衍生物,随其浓度的增加,其抗菌作用的效果增强,当浓度为2.0 g/L时,衍生物对*E.coli*和*S.aureus*有明显的抑制作用。

(2) 美拉德反应制得的COS衍生物抑菌性与参加反应物比例相关,其中CG1:1效果最好。

(3) COS及其衍生物对*S.aureus*(革兰氏阳性菌)

的抑制作用强于对 *E.coli* (革兰氏阴性菌)的抑制作用。COS 及其衍生物的抑菌机理, 目前不同研究者研究得出的结果也不一样^[16]。通过与还原糖发生美拉德反应制得的 COS 衍生物对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的抑菌机理还有待进一步研究。

3 结论

本文通过 COS 与葡萄糖的美拉德反应, 制备了三种 COS 衍生物, 检测了三种衍生物抗氧化性和抑菌性。结果显示, COS 及其衍生物随着浓度的增加, 抗氧化性和抑菌性均增强, 且 COS 衍生物的抗氧化性和抑菌性均优于 COS, 其中 COS 的氨基与葡萄糖的羰基的物质量比为 1:1 体系制得的 COS 衍生物的抗氧化效果和抑菌效果均最好。说明, 美拉德反应制得的 COS 衍生物的抗氧化性和抑菌性与反应物比例有关。COS 的抗氧化性和抑菌性可能与其活性氨基有关, COS 衍生物活性氨基含量下降了, 抗氧化性能和抑菌性却得到了提升, 并且 COS 衍生物抗氧化性能好的, 抑菌性也相对好些, 抗氧化性与抑菌性呈现一定的相关性, 具体机理较复杂, 有待进一步的研究, 这为研究新型高效生物保鲜剂提供了新思路。

参考文献:

- [1] ZENG L T, QIN C Q, CHI W L, et al. Browning of chitooligomers and their optimum preservation[J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 67: 551-558.
- [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] 姚倩, 孙涛, 徐轶霞. 低聚壳聚糖衍生物的制备及其抗氧化性能[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20 (3): 530-533.
- [4] Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T, et al. HPLC Method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl[J]. Bioscience Biotechnology Biochemistry, 1998, 62: 1201-1204.
- [5] Yen G C, Chen H Y. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995, 43(1): 27-32.
- [6] Ames J M. Applications of the Maillard reaction in the food industry[J]. Food Chemistry, 1998, 62: 431-439.
- [7] Brands C M J, Van Boekel M. Kinetics modeling of reactions in heated monosaccharide-casein system[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50: 6725-6739.
- [8] 孙丽平, 汪东风, 徐莹. 初探 pH 和加热时间对美拉德反应挥发性产物的影响[J]. 食品工业科技, 2009, 30(4): 122-125.
- [9] Morales F J, Romero C, Jimenez-perez S. Chromatographic determination of bound hydroxymethylfurfural as an index of milk protein glycosylation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45: 1570-1573.
- [10] Matiacevich S B, Buera M P. A critical evaluation of fluorescence as a potential marker for the Maillard reaction[J]. Food Chemistry, 2006, 95: 423-430.
- [11] Wittayachai L, Soottwat 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: 669-677.
- [12] Qin C Q, Du Y M, Xiao L, et al. Enzymic preparation of water-soluble chitosan and their antitumor activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2002, 31: 111-117.
- [13] Umemura K, Kawai S. Modification of chitosan by the Maillard reaction using cellulose model compounds[J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 68: 242-248.
- [14] Xie W M, Xu P X, Liu Q. Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2001, 11: 1699-1701.
- [15] Jing H, Kitts D D. Chemical and biochemical properties of casein-sugar Maillard reaction products[J]. Food Chemistry and Toxicology, 2002, 40: 1007-1015.
- [16] 吴小勇, 曾庆孝, 阮征, 等. 壳聚糖的抑菌机理及抑菌特性研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2004(6): 46-49.
- [17] 罗仓学, 吕嘉枋, 陈雪峰. 壳聚糖对大肠杆菌抑制效果的研究[J]. 西北轻工业学院学报, 2000, 18(2): 98-99.

- [18] 杨声, 冯小强, 伏国庆, 等. 水溶性壳聚糖对几种常见菌的抑制作用及其机理初探[J]. 中国酿造, 2007(5): 15-18.
- [19] Sudarshan N R, Hoover D G, Knorr D. Antibacterial action of chitosan[J]. Food Biotechnology, 1992, 6(3): 257-272.

The Maillard reaction of chitosan oligosaccharide with glucose and the bioactivity of the chitosan oligosaccharide derivatives

SUN Tao, LIU Hua-wei, CHEN Chun-hong, XIE Jing, ZHANG Shuo
(College of Food Science and technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Received: Sep.,12,2011

Key words: chitosan oligosaccharide; Maillard reaction; antioxidant activity; antibacterial activity

Abstract: Three kinds of chitosan oligosaccharide (COS) derivatives were prepared through Maillard reaction by heating chitosan oligosaccharide and glucose with different proportions (the ratio of $-NH_2$ and $-C=O$ was 1 : 1, 1 : 3 and 3 : 1, respectively). The pH, UV absorbance and fluorescence peak values were determined during the reaction. The chitosan oligosaccharide derivatives were characterized by FTIR and their molecular weight was determined by GPC. Their antioxidant activity was investigated by employing various established in vitro systems, such as superoxide/hydroxyl/1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radicals scavenging assays and reducing capability examination. In addition, the antibacterial activity of COS and its derivatives on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was determined. The results showed three kinds of chitosan oligosaccharide derivatives had stronger antioxidant activity compared to chitosan oligosaccharide. The antioxidant activity was found to be in the order of CG1 : 1 > CG1 : 3 > CG3 : 1 > COS. COS and its derivatives exhibited higher antibacterial activity on *S. aureus* than that on *E. coli*, and the antibacterial activity increased with the increase of concentration. The antibacterial activity of the derivatives was better than that of COS, and the antibacterial activity of CG 1 : 1 (the ratio of amino and carbonyl was 1 : 1) was the best. The result showed that the antioxidant and antibacterial activities of COS derivatives were stronger than those of COS, and the results may be related to the ratio of $-NH_2$ in COS and $-C=O$ in glucose.

(本文编辑: 康亦兼)