

# Maillard 反应产物的提取、分离及分析方法研究进展<sup>△</sup>

魏征<sup>1\*</sup>, 曹玉娜<sup>1</sup>, 曾林燕<sup>2</sup>, 宋志前<sup>2</sup>, 张琳琳<sup>2</sup>, 刘振丽<sup>2#</sup> (1. 天津中医药大学中药学院, 天津 300193; 2. 中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京 100700)

中图分类号 R284.2; R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)23-2194-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.23.30

**摘要** 目的: 为深入研究 Maillard 反应提供参考。方法: 查询国内、外有关 Maillard 反应的文献, 对常用的提取、分离及分析 Maillard 反应产物的方法进行归纳和总结。结果: 常用的提取 Maillard 反应产物的方法有顶空提取法和溶剂提取法, 分离方法主要有膜透析法、柱层析法和超滤法, 分析方法主要有气相色谱-质谱联用法、高效液相色谱法和紫外-可见分光光度法等。结论: 提取、分离及分析 Maillard 反应产物的水平正在逐渐提高, 这对 Maillard 反应的研究具有重要意义。

**关键词** Maillard 反应; 产物; 提取; 分离; 分析方法; 研究进展

Maillard 反应, 又称为非酶催化褐变反应 (Nonenzymic browning), 是氨基化合物 (如氨基酸和蛋白质) 和羰基化合物 (多为糖类) 在加热或贮藏过程中发生的反应。该反应在食品领域研究得很深入, 在中药加工或炮制过程也发现有此反应发生<sup>[1]</sup>, 笔者曾对该反应在中药领域研究情况进行了总结<sup>[2]</sup>。该反应产物有多种化学类型, 某些反应产物具有抗氧化和抗突变等<sup>[3]</sup>作用。本文拟对常用的 Maillard 反应产物提取、分离和分析方法进行归纳、总结。

## 1 Maillard 反应过程及产物类型

Maillard 反应分为初级、中级和最后阶段, 每个阶段都有不同类型的化学成分产生。

初级阶段是氨基化合物和糖的缩合反应形成希夫碱, 再经环化形成 *N*-取代醛糖基胺, 经 Amadori 重排, 形成 Amadori 化合物; 中级阶段是 Amadori 化合物经历还原酮路线、Osulose 路线、Strecker 降解路线, 产生还原酮、糠醛和饱和羰基化合物等, 这些化合物进一步反应, 形成无氮及含氮的褐色化合物; 最后阶段反应较复杂, 可形成蛋白黑素类化合物<sup>[4]</sup>, 但反应机制尚不清楚。

Maillard 反应产物种类很多, 初级阶段形成 Amadori 化合物, 中级阶段产生噻吩类、噻唑类、咪唑类、吡嗪类、稠环类、硫醚类、硫醇类、还原酮类、醛亚胺类、脱氢还原酮类、酮亚胺类等化合物<sup>[5]</sup>, 终产物是蛋白黑素类化合物<sup>[6]</sup>。

## 2 Maillard 反应产物的提取、分离方法

### 2.1 提取方法

**2.1.1 顶空提取法** 顶空进样主要是通过加热, 使被测物质中具有挥发性的成分挥发出来, 通过气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 仪测定。笔者曾采用该方法检测出黄精炮制成酒黄精后产生了 20 多个化合物, 包括杂环类、酸类、酯类、烷烃类、醇类、酮类和烯烃类等<sup>[9]</sup>。该方法具有可简化实验操作步

骤、提高检测灵敏度以及避免样品损失的优点<sup>[7]</sup>。

**2.1.2 溶剂提取法** 常采用的溶剂有甲醇、乙醇和二氯甲烷等。Liu ZL 等<sup>[8]</sup>比较了何首乌与制何首乌的二氯甲烷提取物中成分, 发现炮制后产生了咪唑类、噻唑类等 Maillard 反应产物。提取时常借助超声波<sup>[9]</sup>和微波<sup>[10]</sup>, 以提高提取效率, 通常采用常温提取。

### 2.2 分离方法

**2.2.1 膜透析法** 该法是分离 Maillard 反应产物的一种简便而有效的方法, 可将 Maillard 反应产物依分子量大小的不同进行分级, 得到小分子产物和大分子产物类黑精。采用截留分子量为 14 000~16 000 的纤维素透析膜对 Maillard 反应产物进行分离, 透析膜可以完全分离产物中的小分子<sup>[11]</sup>。

**2.2.2 溶剂萃取法** 该法是利用中药中成分的极性不同进而达到分离。常用的萃取方法有液-液萃取、加速溶剂萃取和固相微萃取。周桂芳等<sup>[12]</sup>采用加速溶剂萃取法萃取当归中 5-羟甲基糠醛。Wang HY 等<sup>[13]</sup>采用固相微萃取方法对油炸食物中产生丙烯酰胺 (Maillard 反应产物) 进行萃取和净化, 效果很好。

**2.2.3 柱层析法** 常采用大孔吸附树脂、离子交换树脂和聚酰胺等柱层析法。已有学者采用大孔吸附树脂柱层析分离纯化酒山茱萸提取物<sup>[14]</sup>, 采用离子交换树脂 IR-120 (H-type) 柱层析纯化麦芽糖、葡萄糖和精氨酸反应生成的 Maillard 反应产物<sup>[15]</sup>, 采用聚酰胺柱分离纯化何首乌炮制后 Maillard 反应产物<sup>[16]</sup>。

**2.2.4 超滤法** 超滤是按分子量范围进行物质分离、浓缩和提纯的一种膜分离技术, 超滤得到的产物品质均一。徐献兵等<sup>[17]</sup>采用螺旋平板膜小试设备, 选择 7 种不同孔径的超滤膜, 将 Maillard 反应产物分成不同级数, 发现截留的不同分子量产物在 420 nm 波长处吸光度、清除 DPPH 自由基能力和热稳定性均不同。

## 3 Maillard 反应产物的分析方法

近些年来, 人们一直在研究 Maillard 反应产物的分析方法, 但对于 Maillard 反应产物的分析仍然具有一定难度, 类黑精的具体结构一直没有搞清楚。但通过对 Maillard 反应的分析, 对其产物成分和分子结构的研究取得了一定进展。

<sup>△</sup> 基金项目: 国家自然科学基金面上课题 (No.81073050)

\* 硕士研究生。研究方向: 药物分析。E-mail: marshallwee@hotmail.com

# 通信作者: 研究员。研究方向: 中药质量标准。电话: 010-64014411-2503。E-mail: zhenli\_liu@sina.com.cn

### 3.1 GC-MS法

GC-MS法是最常用的分析 Maillard 反应产物的方法之一。曹玉娜等<sup>[18]</sup>比较栀子炒制前后脂溶性成分变化,采用了 GC-MS 分析方法,结果在炒栀子和焦栀子中均检测到了 2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4-氢-吡喃-4-酮(Maillard 反应产物)。另外,丁霞等<sup>[14]</sup>采用 GC-MS 法对多种中药炮制后产生的产物进行分析,发现都存在 5-羟甲基糠醛。

### 3.2 高效液相色谱(HPLC)法

HPLC 在现在分析实验中是不可或缺的,在 Maillard 反应产物分析中也是必备的。5-羟甲基糠醛是中药炮制过程中 Maillard 反应产物之一,采用 HPLC 法可测定瓜蒌饮片中 5-羟甲基糠醛的含量<sup>[19]</sup>。

### 3.3 液相色谱(LC)-MS 联用法

LC-MS 法是目前常用的分析方法,采用 LC-MS 法可对当归炮制品提取物中 5-羟甲基糠醛的结构进行鉴定<sup>[20]</sup>。

LC-MS/MS 法是一种更灵敏更准确的分析方法。丙烯酰胺是 Maillard 反应产物之一,采用 LC-MS/MS 法可测定麦芽和山药炮制后丙烯酰胺的含量<sup>[21]</sup>。红参炮制过程中发生了 Maillard 反应,采用 LC-MS/MS 法可检测出新产生的 3 种 Maillard 反应产物,但具体化学结构还未确定<sup>[22]</sup>。

### 3.4 紫外-可见分光光度(UV-vis)法

UV-vis 法在 Maillard 反应中应用得很普遍,可用于测定产物的最大吸收波长<sup>[14]</sup>。Maillard 反应的产物类黑素一般在可见光区 360~490 nm 波长范围内有吸收峰,研究时一般是测定 420、450、470 和 490nm 光密度来表征颜色大分子类黑素的产生情况<sup>[23]</sup>。

### 3.5 红外光谱(IR)法

IR 法是研究有机分子结构的主要手段之一,已经被广泛用于 Maillard 反应产物的分子结构的分析。经 IR 法对酒山茱萸中提取的 5-羟甲基糠醛进行结构鉴定,IR 图谱表明该单体在 3 500~3 100(OH), 1 663(C=O)和 1 400  $\text{cm}^{-1}$ (CH<sub>3</sub>)有特征吸收峰<sup>[14]</sup>。

### 3.6 凝胶渗透色谱(GPC)法

GPC 法是测定 Maillard 反应产物的分子量及分子量分布最常用的方法,同时也能对被测 Maillard 反应产物进行定量分析。低聚壳聚糖衍生物与木糖进行 Maillard 反应中,使用 GPC 法可测定其产物的分子量分布<sup>[24]</sup>。

### 3.7 放射性同位素标记法

放射性同位素标记法是研究 Maillard 反应产物的形成机制和组成来源的一种常用方法。在形成 Maillard 产物过程中,通过对糖分子和氨基酸分子在不同位置上进行同位素标记,可以解决糖分子和氨基酸分子反应机制和氨基酸的 Strecker 降解以及 Maillard 终产物的形成机制等问题。在研究类黑素的形成机制实验中,可选择对葡萄糖和麦芽糖中的 <sup>14</sup>C 进行标记<sup>[25]</sup>。

### 3.8 颜色检验

颜色变化可以反映 Maillard 反应速率快慢。当温度相同时,同种糖类与不同氨基酸的反应速度不同,如木糖-天冬氨酸反应体系褐变速率最慢,木糖-丙氨酸反应体系稍快,而木糖-甘氨酸反应速率最快;同一体系,温度越高,褐变速率越快,说明生成褐变产物越快<sup>[26]</sup>。

### 3.9 pH值的检测

pH 值的检测对 Maillard 反应体系很重要,反应体系的酸

度是随 Maillard 反应产物的生成而改变的。在木糖和低聚壳聚糖衍生物的反应体系中,体系的酸度也是随着反应的进行而升高的<sup>[24]</sup>。在酪蛋白-葡萄糖反应体系中,随着反应的进行,体系酸度逐渐升高<sup>[27]</sup>。

## 4 小结

中药是一个复杂体系,发挥作用的有效成分除药材本身已有的成分外,在加工炮制、制剂工艺过程中内在成分之间会发生包括 Maillard 反应在内的复杂的化学反应,形成的反应产物也直接或间接影响中药整体功效的发挥,所以对于 Maillard 反应产物进行提取、分离并加以准确分析是极为重要的。有些提取、分离和分析的方法在中药领域并没有广泛应用,因此,目前 Maillard 反应在中药领域仍应进行深入的研究。

## 参考文献

- [1] Liu ZL, Chao ZM, Liu YY, *et al.* Maillard reaction involving in the steaming process of root of polygonum multiflorum thunb[J]. *Planta Med*, 2009, 75(1):84.
- [2] 王超,王淳,李青,等. Maillard 反应在中药领域的研究进展[J]. *中国药房*, 2011, 22(11):1 038.
- [3] 曹治云,陈旭征,杜建. 美拉德产物的生物学效应研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2012, 20(7):1 491.
- [4] Zhang Q, Ames JM, Smith RD, *et al.* A perspective on the maillard reaction and the analysis of protein glycation by mass spectrometry: probing the pathogenesis of chronic disease[J]. *J Prot Res*, 2009, 8(2):754.
- [5] 许洪高,滕迪克,袁芳,等. 不同萃取纤维分析“D-核糖-L-半胱氨酸”Maillard 反应挥发性产物的研究[J]. *食品工业科技*, 2008, 29(4):60.
- [6] 魏征,曾林燕,宋志前,等. 顶空-气相色谱-质谱联用分析黄精炮制过程化学成分的变化[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(20):115.
- [7] 钟罗宝,陈谷. 顶空进样器在快速检测食品风味物质中的新应用[J]. *现代食品科技*, 2009, 25(9):1091.
- [8] Liu ZL, Liu YY, Chao ZM, *et al.* In vitro antioxidant activities of Maillard reaction products produced in the steaming process of polygonum multiflorum[J]. *Nat Prod Commun*, 2011, 6(1):55.
- [9] 冯耀华,袁帅,徐然,等. 超声对天冬酰胺和果糖模式美拉德反应体系的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2010, 36(9):60.
- [10] 陈艳云,胡卓炎,余小林,等. 微波加热下美拉德反应条件的优化研究[J]. *食品工业科技*, 2005, 26(8):61.
- [11] 李亚丽,刘晓徐,郑培华,等. 美拉德反应研究进展[J]. *食品科技*, 2012, 37(9):82.
- [12] 周桂芬,郑珊娇. 响应面分析法优化加速溶剂萃取焦当归中 5-羟甲基糠醛的工艺[J]. *中华中医药学刊*, 2011, 29(8):1 900.
- [13] Wang HY, Lee Albert WM, Shuang SM. SPE/HP-LC/UV studies on acrylamide in deep-fried flour-based indigenous Chinese foods[J]. *Microchem J*, 2008, 89(2):90.
- [14] 丁霞,王明艳,余宗亮,等. 山茱萸中 5-羟甲基糠醛的分离鉴定及生物活性研究[J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(4):392.
- [15] Yukio Suzuk, Kang-Ju Choi, Kei Uchida, *et al.* Arginyl-

# 银杏叶提取物对中枢神经系统保护作用的研究进展<sup>Δ</sup>

傅亚<sup>1\*</sup>, 谈宗华<sup>2</sup>, 胡承波<sup>3</sup>, 陈芳<sup>1</sup>, 贾云<sup>1#</sup> (1. 重庆科技学院化学化工学院, 重庆 411331; 2. 天圣制药集团股份有限公司, 重庆 408300; 3. 重庆文理学院材料与化工学院, 重庆 402160)

中图分类号 R284.2; R971.7 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)23-2196-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.23.31

**摘要** 目的: 为进一步研究银杏叶提取物及其临床应用提供参考。方法: 查阅近5年国内、外相关文献, 将文献按不同的疾病类型进行分类, 对银杏叶提取物在保护中枢神经系统方面的研究进行综述。结果: 银杏叶提取物对中枢神经系统的阿尔茨海默病、糖尿病神经病变、脑缺血、脑出血、帕金森病、癫痫、脑损伤、诱导神经细胞分化等模型动物均有药理活性, 银杏叶内酯B是其活性成分, 且涉及多种作用机制。结论: 银杏叶提取物对中枢神经系统具有多种药理作用, 应进一步加强其作用机制及临床研究。  
**关键词** 银杏叶提取物; 中枢神经系统; 药理作用

银杏叶为银杏科植物银杏(*Ginkgo biloba* L.)的干燥叶。银杏叶不仅在我国有悠久的药用历史, 全世界的药学研究者对其研究、开发与利用也十分盛行。银杏叶化学成分复杂, 包括黄酮类、萜内酯类、酚酸类、聚异戊烯醇类等化合物。其中黄酮类、萜内酯类和聚异戊烯醇类是银杏叶发挥独特药理活性的主要有效成分。银杏叶提取物(EGb761)具有多种药理活性, 尤其是在治疗中枢神经系统、心血管、肿瘤等疾病方面。本文对近5年国内、外EGb761在中枢神经系统方面的最新研究进展作一综述。

## 1 阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)

AD是一种中枢神经系统变性病, 起病隐袭, 病程呈慢性进行性, 是老年期痴呆最常见的一种类型<sup>[1]</sup>。目前, EGb761在治疗AD方面的研究较多。吴禹等<sup>[2]</sup>证实EGb761可增强脑组织超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力, 降低乙酰胆碱酯酶(AchE)活力和丙二醛(MDA)含量, 清除氧自由基, 抑制神经细胞凋亡, 改善痴呆大鼠学习记忆力。EGb761可抵消Aβ<sub>1-40</sub>对高电压激活钙通道电流(IHvA)的增强作用, 而抑制钙离子内流, 对痴呆大鼠海马神经元起一定保护作用<sup>[3]</sup>。EGb761可提高Aβ损伤海马神经元活力、提高NeuN+细胞数, 降低神经元凋亡率<sup>[4]</sup>。EGb761对人淀粉样蛋

fructosyl-glucose and arginyl-fructose, compounds related to browning reaction in the model system of steaming and heat-drying processes for the preparation of red ginseng[J]. *J Ginseng Res*, 2004, 28(3): 143.

[16] 刘振丽. 何首乌炮制后化学成分的变化及中药中的Maillard反应[D]. 北京: 中国中医科学院, 2009.

[17] 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): 1 338.

[18] 曹玉娜, 宋志前, 曾林燕, 等. GC-MS分析栀子炒制前后脂溶性成分变化[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(9): 126.

[19] 孙文, 巢志茂, 王淳, 等. HPLC对市售瓜蒌中5-羟甲基糠醛的含量测定[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(18): 73.

[20] 周桂芬, 吕圭源, 陈素红. 当归炮制后新产生成分的分离和结构鉴定[J]. *中华中医药学刊*, 2010, 28(6): 1 320.

[21] 张艳梅. 液相色谱-串联质谱技术在食品和药物安全控制

方面的应用[D]. 保定: 河北大学, 2008.

[22] Du QQ, Liu SY, Xu RF, *et al.* Studies on structures and activities of initial Maillard reaction products by electro-spray ionisation mass spectrometry combined with liquid chromatography in processing of red ginseng [J]. *Food Chem*, 2012, 135(2): 832.

[23] 孙丽平. 美拉德反应体系的光谱特性、抗氧化活性及评价方法[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.

[24] 孙涛, 陈春红, 谢晶. 基于与木糖进行美拉德反应的低聚壳聚糖衍生物的抗氧化性能研究[J]. *天然药物研究与开发*, 2011, 23(2): 219.

[25] Mundt S, Wedzicha BL. Comparative study of the composition of melanoidins from glucose and maltose [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(13): 4 256.

[26] Sun Qian, Yin Zi, Jing Hao. Color characteristics and radical scavenging activity of four model systems of maillard reaction between amino acids and monosaccharides[J]. *Food Chem*, 2009, 30(11): 118.

[27] Gu Feng-Lin, Jin Moon Kim, Khizar Hayat, *et al.* Characteristics and antioxidant activity of ultrafiltrated Maillard reaction products from a casein-glucose model system [J]. *Food Chem*, 2009, 117(1): 48.

(收稿日期: 2012-06-14 修回日期: 2012-12-17)

Δ 基金项目: 国家支撑计划重大新药专项资助(No. 2010ZX09401-306-3-5)  
\* 教授, 博士。研究方向: 天然产物、生物材料。E-mail: cqfuya@163.com  
# 通信作者: 教授, 硕士。研究方向: 化学工程工艺。E-mail: jiaayuncq@163.com