

## LA RÉACTION DE MAILLARD

### 1. ÉTUDE DU COMPORTEMENT DE LA LYSINE PURE

par

JEAN ADRIAN et JEAN-CLAUDE FAVIER

avec la collaboration technique de M<sup>lle</sup> Régine HÉLIAS

Centre de Recherches sur la Nutrition du C. N. R. S., Bellevue (S.-et-O.)

---

(Reçu le 28 juin 1961)

#### INTRODUCTION

En 1912, MAILLARD (31) s'étonnait que l'attention des chimistes n'ait pas été attirée plus tôt sur une réaction se produisant en chauffant un acide aminé en présence de sucre, et il envisageait de suite les répercussions d'une telle réaction dans le domaine de la chimie biologique.

Depuis cette époque, la réaction à laquelle MAILLARD donna son nom prit une importance considérable, aussi bien dans le domaine de la chimie organique que sur le plan de la nutrition.

Si la réaction est encore confuse du point de vue chimique et bien que ses différentes étapes soient toujours discutées, il semble possible d'esquisser son évolution de la manière suivante en se basant sur les revues de ELLIS (11), de ELLIS et HONEYMAN (12) et de HODGE (19) en particulier :

Le premier stade donne naissance à un produit d'addition ou de conden-

J. P. 131016.

I A

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 8495

Cote : B

sation de l'amine de l'acide aminé sur l'aldéhyde du sucre; on obtient alors l'aldosylamine ou l'aldonylamine correspondant aux réactifs de départ;

Ensuite cette substance s'isomérisé en une amino-1-desoxy-1-cétose selon un « réarrangement » décrit initialement par AMADORI.

Ce nouveau produit serait en réaction d'équilibre avec son isomère énolique, selon HODGE (18).

Les étapes suivantes sont extrêmement mal connues. On sait seulement qu'il se forme des substances à noyau de furfural, un dégagement de CO<sub>2</sub>, signalé par MAILLARD lui-même (32) ainsi que des corps noirâtres, insolubles

Ces substances insolubles sont appelées humines, acides humiques, mélanoidines, plus ou moins indistinctement, et il nous semble utile de rechercher les diverses définitions correspondant à ces noms.

Selon LITRE, les « humines » correspondent au résidu insoluble naissant du chauffage des sucres en présence d'acide sulfurique, bien qu'« humique » soit ce qui se rapporte à la dégradation des matières organiques au contact du sol.

MAILLARD, de son côté, propose de classer les produits noirâtres obtenus dans différentes conditions selon qu'ils renferment ou non de l'azote et estime qu'« il convient de réserver le nom de matières humiques aux constituants naturels de l'humus, toujours azotés... ainsi qu'aux produits synthétiques que j'ai réalisés par condensation des sucres avec des acides aminés ».

Bien que MAILLARD ait constaté la présence d'azote dans de tels produits de condensation, nous montrerons qu'il n'y a pas là une règle absolue.

Enfin, DANEHY et PIGMAN (8) proposent les définitions suivantes :

— les « humines » ou « acides humiques » proviennent de la pyrolyse des sucres en milieu acide;

— les « mélanoidines » représentent les produits résiduels du chauffage des sucres en présence de groupements aminés ou ammoniacaux;

— les « acides humiques » désignent également pour ces auteurs le résidu insoluble extrait de l'humus végétal.

Le terme de « mélanoidine » avait été employé originellement par SCHMIEBERG (40) pour désigner le résidu prenant naissance à la suite d'un chauffage de substances protidiques en présence d'acides minéraux forts.

Pour ne pas laisser subsister de confusion possible entre un phénomène naturel, la formation de l'humus, et une substance prenant naissance *in vitro*; nous adoptons le terme de « mélanoidines » pour désigner le résidu obtenu à la suite d'un traitement thermique des sucres. Nous montrerons, du reste, que ce produit semble identique quelles que soient les conditions dans lesquelles ait lieu la pyrolyse.

Sur le plan nutritionnel, la réaction de MAILLARD présente une importance majeure, car elle a pour conséquence un abaissement de la valeur biologique des protéines. Ce fait a été constaté pour de nombreux aliments : lait [HENRY

et coll. (16), MAURON (34), ROSS et KRAMPITZ (38)]; tourteaux [BALIGA et coll. (3), BENSABAT et coll. (5)]; biscuits [CLARK et coll. (7), MAURON et coll. (35)], etc. Des revues d'ensemble font ressortir que, pour la majorité des aliments, un traitement thermique intense entraîne une chute de la valeur protidique [JACQUOT et coll. (23), JACQUOT (22), RICE et BEUK (37)].

Par ailleurs, dans le domaine de l'analyse des acides aminés, une des difficultés essentielles qui subsiste actuellement est l'hydrolyse des échantillons de nature complexe. En effet, l'extraction des aminoacides demande un traitement thermique très drastique, allant de six à vingt-quatre heures ou davantage à une température de 120 ou de 130°. Dans de telles conditions, le mélange de glucides et de protéines peut également donner naissance à la réaction de MAILLARD, et par là-même fausser le résultat de l'analyse.

En nous plaçant sous l'angle de l'analyse et de la nutrition, nous avons voulu entreprendre une étude sur le comportement des acides aminés libres au cours de la réaction de MAILLARD. Afin de mettre en évidence les facteurs qui conditionnent la stabilité ou, au contraire, la destruction des acides aminés, nous avons choisi de travailler dans les conditions les plus simples possible et pour cela nous n'avons considéré que des substances pures (acides aminés et sucres). De cette manière, les résultats obtenus pourront être considérés comme une première approximation des phénomènes qui ont lieu lorsque la réaction de MAILLARD se produit dans des conditions plus complexes.

Nous rapportons aujourd'hui les résultats concernant le comportement de la lysine chauffée en présence de sucres. On distinguera d'une part la coloration et le précipité qui apparaissent à la suite de ce traitement, d'autre part les pertes de l'acide aminé. Enfin, on recherchera la récupération ou l'utilisation possible de la lysine.

## MÉTHODES ET TECHNIQUES

Le principe de nos essais consistait à chauffer pendant six heures à 120° une quantité connue de lysine racémique (200 mg environ de DL lysine) en présence de 2 g de sucre dissous dans 10 ml de liquide. Les modifications apportées à ce protocole seront précisées chaque fois.

Après autoclavage, les solutions sont éventuellement filtrées sur verre fritté et le précipité lavé deux fois avec 10 ml du liquide utilisé pour dissoudre la lysine et le sucre. Le précipité est séché, pesé et parfois on recherche sa teneur en azote.

De son côté, le filtrat et les eaux de lavage sont réunis, neutralisés et ajustés à un volume connu. On procède alors au dosage microbiologique de la lysine directement utilisable par *L. mesenteroides* P. 60. Dans certains cas, le filtrat

a été hydrolysé en milieu ClH 6N pendant six heures à 120° (protocole utilisé pour l'extraction des acides aminés en vue du dosage microbiologique) et ensuite on procède à nouveau au dosage de la lysine (2).

Chaque dosage microbiologique est fait en double et chaque série d'échantillons représente la moyenne de deux essais. Les résultats de l'analyse microbiologique sont multipliés par deux pour donner les valeurs sous forme de lysine racémique, *L. mesenteroides* n'étant sensible qu'à l'isomère L des acides aminés.

Dans certains cas, le filtrat est destiné à être mesuré au colorimètre, et pour que les variations de pH ne puissent interférer, il est dilué à volume connu avec le milieu dans lequel a eu lieu le traitement thermique.

Nous utilisons un électrophotomètre de MEUNIER, avec un filtre de 590 m $\mu$ .

## RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

### A. Formation d'une coloration et d'un précipité au cours de la réaction de Maillard

Après chauffage d'une solution mixte de glucose et de lysine, on observe toujours la formation d'une coloration brun-foncé plus ou moins intense, pouvant être accompagnée d'un précipité de mélanoïdines.

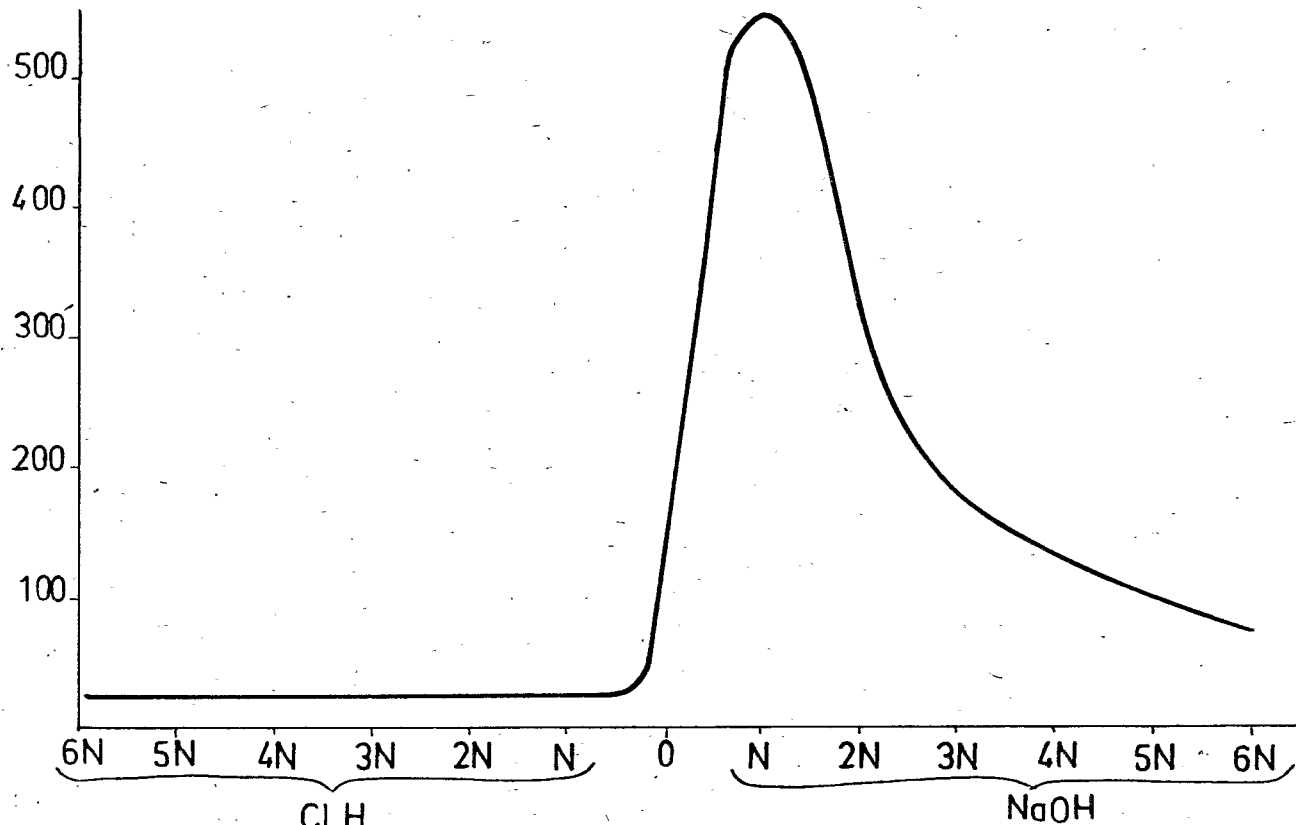
Des phénomènes analogues se produisent lorsqu'on chauffe simplement une solution de glucose, et la première question qui se pose est de distinguer la réaction de MAILLARD de la pyrolyse du sucre. Dans ce but, nous avons étudié le comportement de solutions pures de glucose et de solutions mixtes de glucose et de lysine afin de déterminer la part qui revient à la caramélisation du sucre de celle qui est due à la présence de la lysine.

Nous rapportons tout d'abord les faits relatifs aux solutions mixtes de glucose et de lysine.

#### 1. FORMATION D'UNE COLORATION

Dans une telle solution, la coloration est avant tout sous la dépendance du pH comme le montre le graphique n° 1. En milieu acide (ClH 6N à 0,5 N) la coloration demeure faible et constante. A l'opposé, en milieu alcalin, elle est beaucoup plus intense et irrégulière : son point culminant correspond à un milieu NaOH 1N et pour des pH plus alcalins l'intensité de la coloration diminue.

Colorimètre  
Meunier



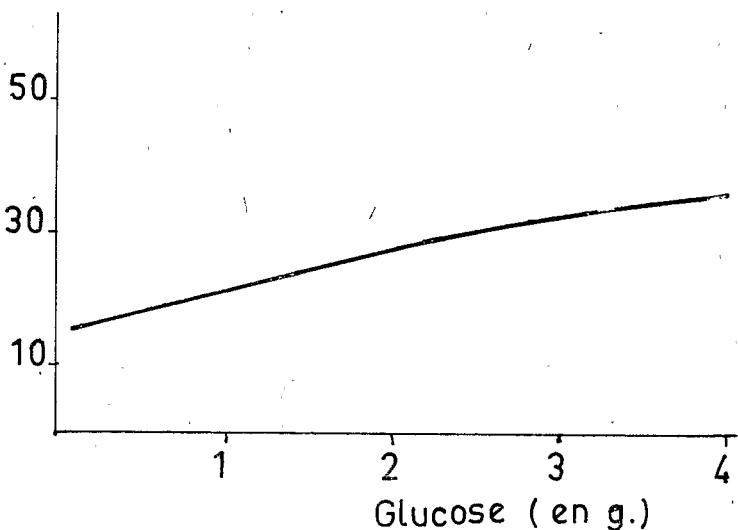
Cl H

NaOH

GRAPHIQUE 1. — Influence du pH sur la formation de la coloration

Les facteurs autres que le pH influencent peu le brunissement des solutions. Nous n'en donnerons qu'un exemple dans le graphique n° 2. Lorsque le milieu renferme 0,1 g de glucose pour 10 ml d'eau, la coloration est de 15 divisions (électrophotomètre de MEUNIER, écran 590 m $\mu$ ) et pour 4 g de glucose l'intensité de la coloration atteint 35 dans les mêmes conditions. C'est dire qu'elle double seulement quand la quantité de sucre augmente de quarante fois.

### Colorimètre Meunier



GRAPHIQUE 2.

*Influence de la quantité de sucre sur la formation de la coloration*

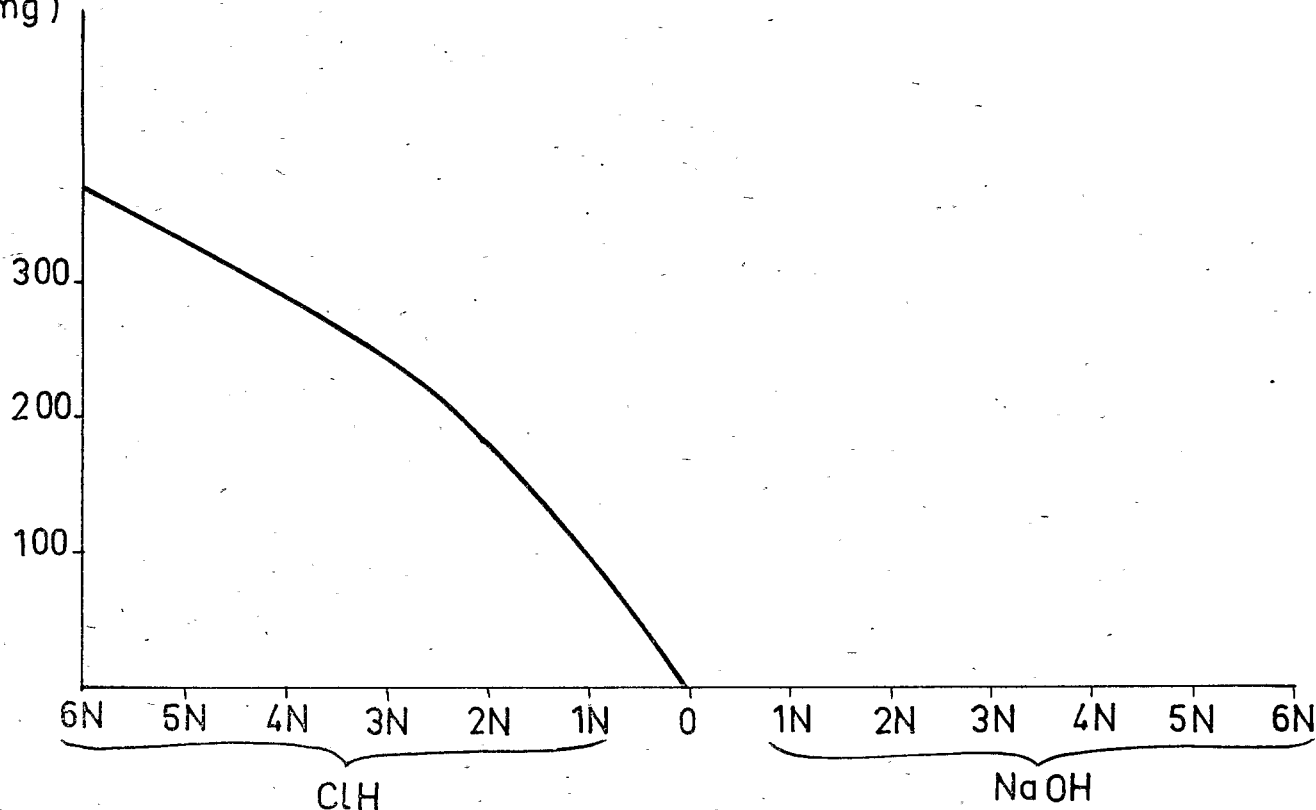
Il en est de même des autres facteurs que nous avons étudié : aucun ne semble présenter une importance comparable à celle du pH.

## 2. FORMATION D'UN PRÉCIPITÉ

Dans les solutions mixtes de glucose et de lysine, l'apparition des mélanoidines est sous la dépendance d'un certain nombre de facteurs.

Tout d'abord, le précipité ne se formant qu'en milieu acide, sa masse est proportionnelle à l'acidité du milieu (graphique n° 3).

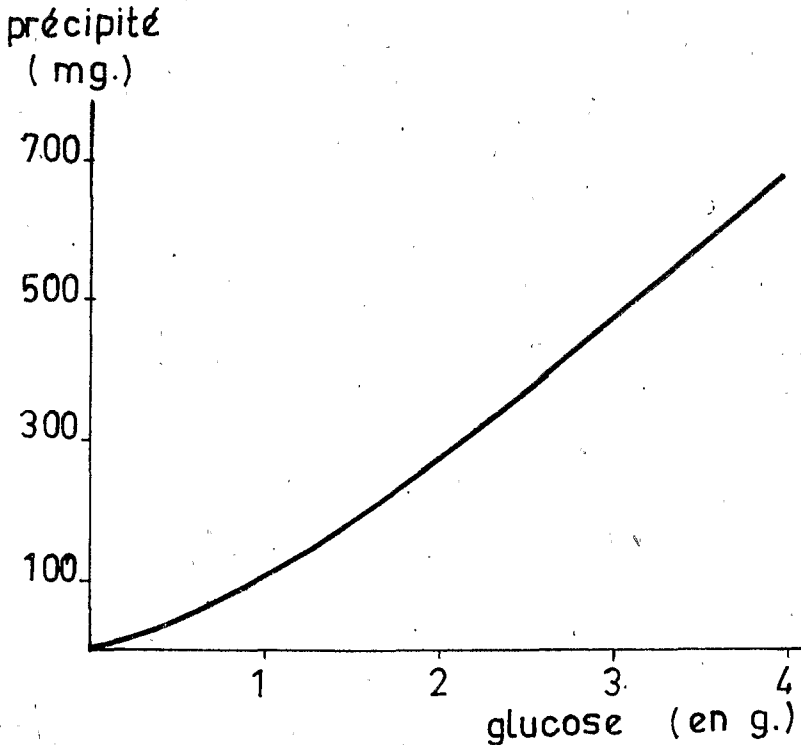
précipité  
(mg)



GRAPHIQUE 3. — Influence du pH sur la formation des mélanoidines

Pour mieux mettre ce précipité en évidence, les essais suivants sont tous réalisés en milieu ClH 6N.

Dans ces conditions, il apparaît que le poids de mélanoidines est en relation directe avec la quantité de glucose mise en jeu (graphique n° 4).



GRAPHIQUE 4

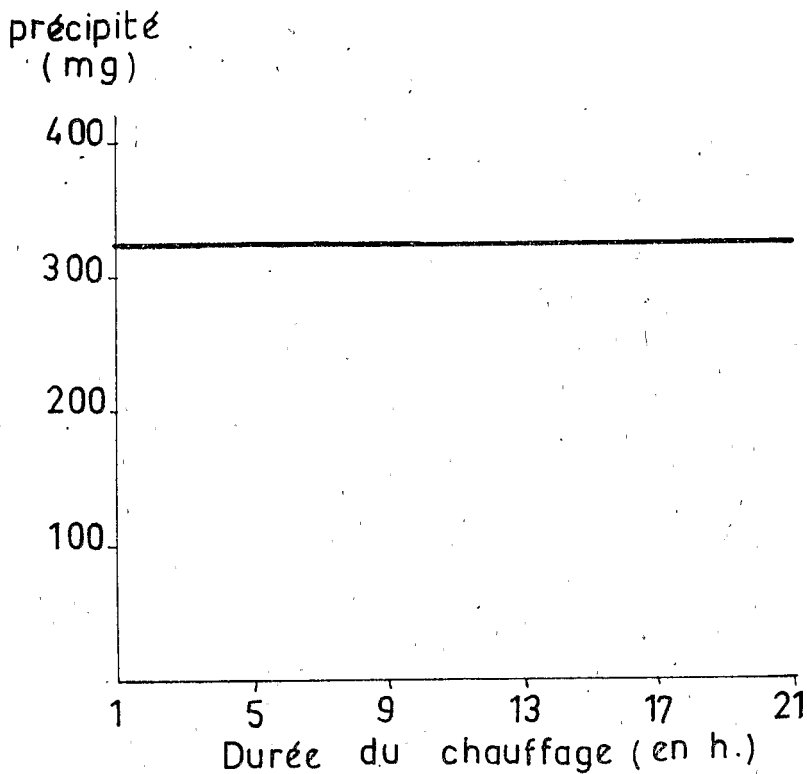
*Influence de la quantité de sucre sur la formation de mélanoidines*

La courbe obtenue présente l'allure d'une exponentielle ainsi qu'il ressort des chiffres ci-dessous :

Quantité de glucose pour 10 ml de ClH 6N (en g)	Poids du précipité (en mg)
0,2.....	16
1,0.....	90
2,0.....	257
4,0.....	655



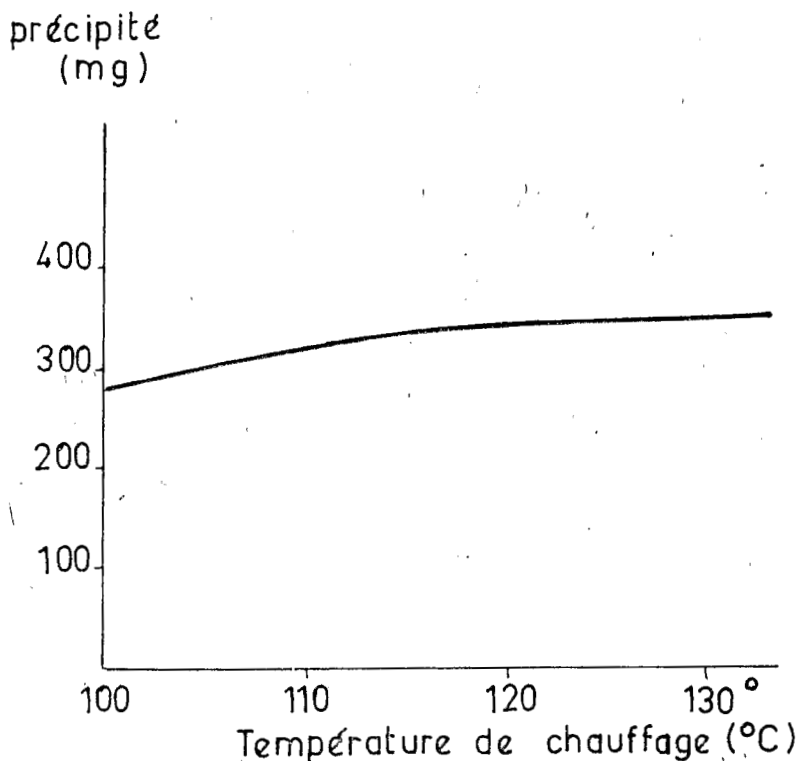
Par ailleurs, ce précipité se forme très rapidement et à des températures relativement basses. Ceci ressort des graphiques nos 5 et 6. Après une heure



GRAPHIQUE 5

*Influence de la durée du chauffage sur la formation des mélanoidines*

de chauffage, le poids du précipité atteint son maximum et demeure constant quel que soit le prolongement du traitement thermique. D'autre part, un chauffage à 100° provoque déjà l'apparition d'un précipité presque maximum; et des températures supérieures n'augmentent que de très peu la masse des mélanoides.



GRAPHIQUE 6

*Influence de la température de chauffage sur la formation des mélanoidines*

### 3. RÔLE DE LA LYSINE

#### DANS LA FORMATION DE LA COLORATION ET DU PRÉCIPITÉ

Les faits qui viennent d'être observés dans les solutions mixtes de glucose et de lysine peuvent-ils être rattachés à la réaction de MAILLARD ou relèvent-ils simplement de la caramélisation du glucose?

Pour répondre à cette question, nous avons comparé, dans des conditions identiques, le comportement d'une solution de glucose pur et celui d'une solution mixte de glucose-lysine.

Dans la première série, on dissout dans 10 ml de ClH 6N, soit une quantité variable de glucose seul (de 0,1 à 4,0 g), soit la même quantité de glucose additionnée de 200 mg de DL lysine. Les solutions sont chauffées six heures à 120°.

Dans la deuxième série, le glucose est à taux constant (2 g) soit seul, soit avec 200 mg de lysine, mais le pH de la solution passe de ClH 6N à NaOH 6N. Les résultats figurent dans le tableau n° 1.

TABLEAU I

*Influence de la lysine sur la coloration et le précipité se formant au cours du chauffage*

1<sup>re</sup> série : glucose variable

Glucose g pour 10 ml	Coloration		Précipité	
	Glucose seul	Glucose + lysine	Glucose seul	Glucose + lysine
			mg	mg
0,1.....	13	15	8	13
0,25.....	14	16,5	26	29
0,5.....	16,5	19	69	71
1,0.....	20	21	191	180
1,5.....	22,5	27,5	342	316
2,0.....	23	28	474	489
4,0.....	29	35	1 150	1 200

2<sup>e</sup> série : pH variable

pH du milieu	Coloration		Précipité		
	Glucose seul	Glucose + lysine	Glucose seul	Glucose + lysine	
			mg	mg	
ClH.....	6 N.....	24	25	330	320
	4 N.....	21	23	254	247
	2 N.....	20	25	232	226
	1 N.....	20	25,5	224	212
	0,5 N.....	13,5	17,5	92	81
NaOH....	0,5 N.....	407	407	0	0
	1 N.....	530	550	0	0
	2 N.....	360	327	0	0
	4 N.....	149	137	0	0
	6 N.....	84	73	0	0

Que ce soit sur l'intensité de la coloration ou sur la masse de mélanoïdine formée, l'influence de la lysine est extrêmement réduite, si même elle existe.

Il semblerait seulement que l'acide aminé augmente très légèrement la coloration de la solution en milieu acide; la tendance serait renversée en milieu alcalin. Quant au poids du précipité, il apparaît entièrement indépendant de la lysine présente dans la solution, les variations observées relevant davantage d'erreurs expérimentales que d'une action systématique de l'acide aminé.

En conclusion, la coloration et le précipité observés après chauffage de solutions mixtes de glucose et de lysine semblent dus à la pyrolyse du sucre et ne supposent pas une intervention de l'acide aminé.

Nous en avons cherché une preuve supplémentaire en analysant les mélanoïdines obtenues dans les solutions chauffées à pH variable (Tableau I). Sur les huit précipités recueillis et analysés nous avons trouvé une teneur totale d'azote de 0,96 mg pour un poids correspondant de mélanoïdines de 2,01 g. Au départ, l'ensemble de la lysine mise en œuvre représentait une quantité de 245 mg d'azote. Ceci revient à dire que l'on a retrouvé dans les mélanoïdines 0,48 p. 100 de l'azote des solutions, et que les précipités renfermaient seulement 0,05 p. 100 d'azote.

Une telle teneur tranche nettement des valeurs fournies par MAILLARD initialement (33), mais il convient de rappeler que ROXAS (37), en analysant des mélanoïdines obtenues en présence de divers aminoacides, avait montré que ces précipités pouvaient présenter des taux très faibles d'azote, et que les acides aminés donnaient, à ce point de vue, des réactions très sélectives. C'est ainsi qu'il retrouvait seulement 1 à 2 p. 100 de l'azote de la lysine sous forme de mélanoïdines, mais par contre 70 p. 100 de l'azote du tryptophane.

GORTNER et BLISH (15) avaient été encore plus catégoriques affirmant que l'azote des mélanoïdines ne provenait pas d'autres acides aminés que le tryptophane.

En ce qui concerne la lysine ce point de vue se confirme, nos valeurs faisant nettement conclure que l'azote de la lysine demeure en solution, même en présence d'un précipité important de mélanoïdines.

#### B. Pertes de lysine au cours de la réaction de Maillard Influence de différents facteurs

La coloration de la solution ou la masse de mélanoïdines obtenues au cours d'un chauffage relèvent principalement de la pyrolyse du sucre, et, par conséquent, ne sont pas des manifestations de la réaction de MAILLARD. Pour mettre en évidence au cours d'un traitement thermique une réaction de la lysine

avec les glucides, il est nécessaire d'étudier directement le comportement de l'acide aminé lui-même et d'en effectuer le dosage.

Nous allons passer en revue l'influence d'un certain nombre de facteurs sur la stabilité de la lysine après chauffage en présence de sucres.

La lysine sera toujours en solution avec le glucose et généralement, soit en milieu aqueux, qui ne provoque pas l'apparition d'un précipité de mélanoidines, soit en milieu chlorhydrique 6N qui entraîne la formation d'un résidu insoluble. Ce dernier milieu est utilisé pour l'extraction des acides aminés en vue de leur dosage, il présente donc un intérêt sur le plan analytique.

## I. INFLUENCE DU VOLUME DE LIQUIDE SUR LA PERTE DE LYSINE

Pour hydrolyser un échantillon contenant des protéines et des glucides en vue du dosage des acides aminés, la plupart des auteurs recommandent de suspendre la prise dans un grand volume de liquide. Parmi les travaux récents, DUSTIN et coll. (10) proposent d'hydrolyser une quantité de produit correspondant à 50 mg de protéines dans 200 ml de ClH 6N, tandis que FILIPPOVICH et VAINER (13) recommandent un rapport « échantillon sur ClH 6N » de 1/200 à 1/400 pour les substances riches en glucides.

Ceci laisse supposer que la dilution de l'échantillon dans un grand volume de liquide restreint la destruction des acides aminés. C'est le premier point que nous avons voulu étudier.

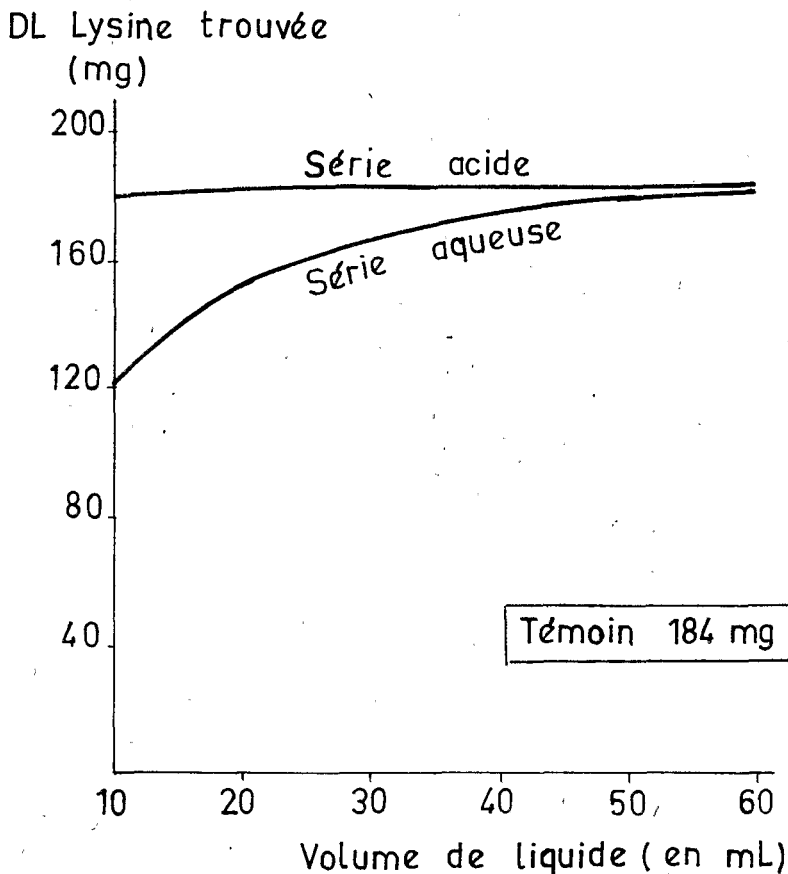
Pour cela, nous suspendons environ 200 mg de DL lysine (exactement 184 mg) et 2 g de glucose dans des volumes d'eau ou d'acide chlorhydrique 6N allant de 10 à 60 ml. Ceci constitue des dilutions plus faibles que celles que nous venons de rapporter, puisque le rapport « acide aminé sur liquide » va de 1/50 à 1/300 et le rapport « échantillon total sur liquide » de 1/5 à 1/30.

Les solutions sont portées à 120 °C pendant six heures, filtrées, et le filtrat est neutralisé. Les pertes de lysine sont rapportées dans le graphique n° 7.

*En milieu aqueux.* — La dilution présente une importance notable, puisque pour la solution la plus concentrée (10 ml d'eau) la perte de lysine est de 34 p. 100 et seulement de 1 p. 100 lorsque le volume de dilution est de 60 ml. C'est-à-dire qu'en milieu aqueux suffisamment dilué il est possible de retrouver quantitativement la lysine.

*En milieu chlorhydrique 6N.* — La dilution est pratiquement sans effet sur la tenue de la lysine : quand cet amino-acide est en solution dans seulement 10 ml de ClH on retrouve déjà 98 p. 100 de l'acide aminé, et pour les dilutions plus grandes on n'observe aucune perte. Parallèlement, dans tous les cas, il se forme un précipité important de mélanoidines dont le poids va en diminuant avec la dilution (306 mg pour 10 ml de ClH 6N contre 159 mg pour 60 ml).

Ceci confirme donc bien que l'aspect de la solution chauffée, et notamment le résidu insoluble qui se forme, est indépendant de la stabilité de la lysine.



GRAPHIQUE 7

*Influence du volume de liquide sur la stabilité de la lysine*

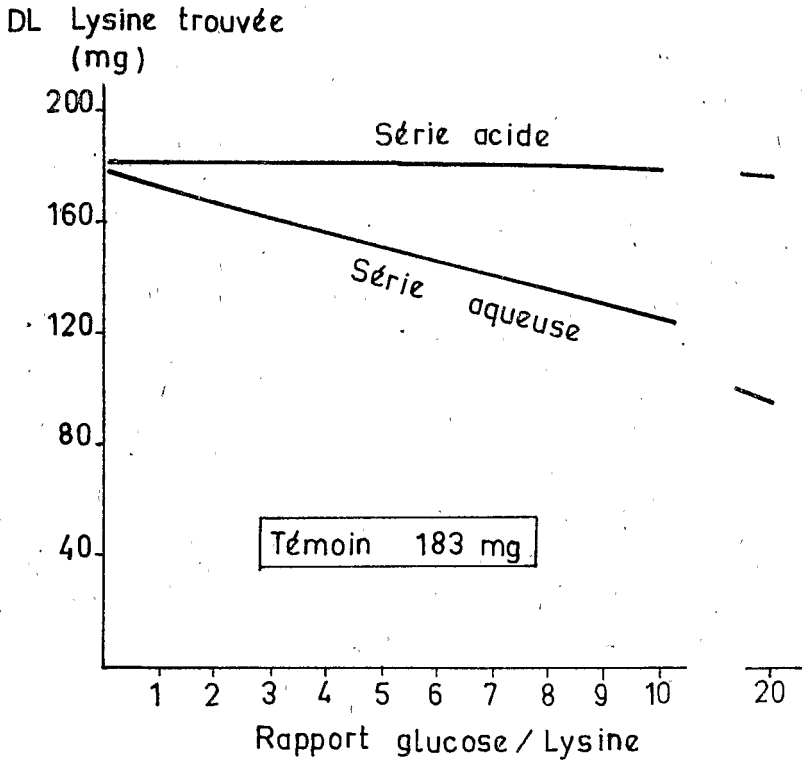
D'autre part, la comparaison de ces deux séries (aqueuse et chlorhydrique) permet d'établir un classement relatif de l'influence de la dilution et de l'acidité. Lorsque les solutions aqueuses sont particulièrement concentrées, on observe des pertes de lysine, mais étant donné qu'une forte acidité fait disparaître le phénomène, on peut en conclure que l'influence de l'acidité l'emporte sur l'effet de la concentration de la solution. Néanmoins, une dilution aqueuse convenable permet d'obtenir le même résultat qu'une forte acidité : on aboutit dans les deux cas à une stabilité parfaite de la lysine.

## II. INFLUENCE DU RAPPORT « SUCRE/LYSINE » SUR LES PERTES DE LYSINE

Nous avons vu précédemment que le poids de mélanoidines était proportionnel à la quantité de glucose mise en jeu. Dans quelle mesure ce fait peut-il influencer la stabilité de la lysine? La perte de lysine est-elle proportionnelle au rapport sucre/lysine?

Pour répondre à ces questions, nous avons traité dans des conditions identiques (chauffage six heures à 120 °C) des solutions contenant 200 mg environ de DL lysine (exactement 183 mg) et un taux variable de glucose (de 0,02 g à 4,0 g) dissous soit dans 10 ml d'eau, soit dans 10 ml de ClH 6N.

Après filtration, la solution est neutralisée, et on dose la lysine. Les résultats figurent dans le graphique n° 8.



GRAPHIQUE 8

*Influence du rapport glucose/lysine sur la stabilité de la lysine*

*En milieu aqueux.* — Même pour de très faibles quantités de glucose, le chauffage entraîne des pertes d'acides aminés. C'est ainsi que pour un rapport « glucose/lysine » de 1/10 on ne retrouve que 97 p. 100 de la lysine; pour un rapport de 1 la perte est de 7 p. 100, et ensuite elle prend des proportions considérables pour atteindre 47 p. 100 dans le cas d'un rapport « glucose/lysine » égal à 20.

*En milieu chlorhydrique 6N.* — La lysine est pratiquement stable quelle que soit la quantité de glucose introduite : on retrouve quantitativement la lysine jusqu'à des valeurs « glucose/lysine » de 7,5. Pour des rapports plus élevés la perte de lysine demeure faible et ne dépasse pas 4 p. 100 dans nos conditions expérimentales. Cette stabilité de la lysine a lieu malgré la formation d'un poids important de mélanoidines, comme nous l'avons vu dans le graphique n° 4.

Comme précédemment, il apparaît que le fait de mettre des solutions de glucose et de lysine en milieu très fortement acide permet de préserver l'acide aminé et d'éviter une destruction intense. Le milieu chlorhydrique 6N constitue un excellent moyen de protection, bien que pour de très fortes quantités de glucose il ne suffise pas à stabiliser quantitativement la lysine.

### III. INFLUENCE DE LA NATURE DU SUCRE SUR LES PERTES DE LYSINE

Après avoir étudié le rôle quantitatif du sucre, nous abordons l'aspect qualitatif du problème à savoir les répercussions de la nature des glucides sur la stabilité de la lysine. Cette question a été soulevée à plusieurs reprises et c'est ainsi que ROXAS (39) avait noté que le xylose et le fructose détruisent une plus forte quantité d'acides aminés que le glucose. MAILLARD (32) ainsi que LEWIS et LEA (30) ont montré que les pentoses réagissent d'une manière plus intense que les hexoses. En se plaçant dans des conditions plus complexes, c'est-à-dire en prenant des aliments, différents auteurs ont constaté que les pertes d'acides aminés étaient en relation avec le type de glucides présents au cours du traitement thermique [KOGAN (24), HSU et coll. (20), OVERBY et coll. (36), etc.].

La nature du sucre mérite donc une attention particulière dans l'étude de la réaction de MAILLARD. Nous avons procédé comme d'habitude : 200 mg environ de DL lysine (exactement 236 mg) et 2 g de sucres variés sont dissous soit dans 10 ml d'eau, soit dans 10 ml de ClH 6N. Le traitement thermique dure six heures à 120 °C.

Notons tout d'abord que dans la série acide la masse de mélanoidines varie considérablement selon la nature du sucre. C'est ainsi que le glucose donne un précipité de 400 mg, tandis que le sorbose fournit une masse de mélanoidines deux fois plus abondante (818 mg). On observe des variations de même ordre avec des sucres en C<sub>5</sub>.



*En milieu aqueux.* — Les divers sucres provoquent des pertes très variables de lysine : la présence des uns permet une stabilité parfaite tandis que d'autres provoquent une destruction de plus de 80 p. 100 (Tableau II).

TABLEAU II  
Influence de la nature du sucre sur la stabilité de la lysine  
(En milieu aqueux)

Nature du sucre	Lysine retrouvée	Poids du précipité
	p. 100	mg
<b>a. Sucre en C 6 :</b>		
1° Fonction alcool :		
Sorbitol.....	100	0
Mannitol.....	99	0
2° Fonction aldéhyde :		
Glucose.....	65	0
Mannose.....	55,5	0
3° Fonction cétone :		
Sorbose.....	54	0
4° Divers :		
Saccharose.....	67	0
<b>b. Sucre en C 5 :</b>		
1° Fonction aldéhyde :		
Ribose.....	17,5	0
Xylose.....	31	0
Arabinose.....	38	0
<b>c. Divers :</b>		
Glycérine.....	97	0

Les hexoses à fonction alcool (sorbitol, mannitol) sont des sucres qui ne se pyrolysent pas. Ils ne réagissent pas avec l'acide aminé que l'on retrouve intégralement après le traitement thermique. Cette propriété des sucres à fonction alcool est, du reste, bien connue et elle est largement utilisée dans l'industrie pharmaceutique.

Les hexoses à fonction aldéhydrique (glucose et mannose) provoquent des pertes importantes (de l'ordre de 40 p. 100), sensiblement égales à celles enregistrées avec un sucre en C<sub>6</sub> à fonction cétonique (sorbose).

Les pentoses que nous avons utilisés sont tous à fonction aldéhydique; en leur présence les pertes de lysine deviennent considérables (de 60 à 80 p. 100 environ).

Différentes remarques se dégagent de ces essais :

— seuls interviennent dans la réaction de MAILLARD les sucres qui se pyrolysent, c'est-à-dire à fonction aldéhydique ou cétonique. Les glucides à fonction alcool, sorbitol ou glycérine n'entrent pas en réaction avec la lysine;

— parmi les sucres aldéhydiques, des isomères comme le ribose, le xylose et l'arabinose réagissent différemment avec la lysine; il en est de même du glucose et du mannose. Il ne paraît donc pas y avoir de règles concernant la réactivité des différents sucres;

— si on ramène les hexoses et les pentoses à des taux équimoléculaires, leur action demeure profondément différente :

*Pertes de lysine provoquées par des pertes en C<sub>6</sub> et C<sub>5</sub> introduits à des taux équimoléculaires*

Hexoses		Pentoses	
Glucose.....	35 p. 100	Ribose.....	79 p. 100
Mannose.....	44,5 p. 100	Xylose.....	63 p. 100
Sorbose.....	46 p. 100	Arabinose.....	54,5 p. 100
MOYENNE.....	42 p. 100	MOYENNE.....	65,5 p. 100

D'autre part, l'absence de réaction des sucres à fonction alcool et de la glycérine nous a incité à rechercher si leur action était purement passive ou si, au contraire, ces produits pouvaient agir positivement en inhibant plus ou moins complètement la réaction de MAILLARD. Aussi avons-nous introduit un mélange de 2 g de sucre à fonction aldéhydique et de 2 g de sucre à fonction alcool dans 10 ml de solution de lysine contenant environ 200 mg de DL lysine (236 mg exactement). Le chauffage a duré six heures à 120° C. Le Tableau III rapporte les résultats de ces essais.

La destruction de la lysine par le glucose ou le xylose n'est pas modifiée par la présence de sorbitol ou de glycérine, c'est-à-dire de corps à fonction alcool. Ceux-ci ne peuvent donc exercer aucun rôle protecteur dans la réaction de MAILLARD; ils sont simplement inertes et la fonction alcool n'entre pas en compétition avec le groupement aldéhydique. Nous verrons par la suite que les réducteurs minéraux ou organiques, même puissants, sont pour la plupart incapables de protéger efficacement la lysine; on ne doit donc pas s'étonner que des fonctions alcool demeurent sans effet. Tous ces faits se produisent en milieu aqueux.

TABLEAU III  
Action d'un mélange de sucres sur la stabilité de la lysine  
(En milieu aqueux)

Sucre ou mélange de sucres	DL lysine trouvée
	mg
TÉMOIN .....	236
Glucose .....	157
Xylose .....	75
Sorbitol .....	240
Glycérine .....	230
Sorbitol + glucose .....	156
Sorbitol + xylose .....	74
Glycérine + glucose .....	158
Glycérine + xylose .....	80

En milieu chlorhydrique 6N (Tableau IV) les choses sont beaucoup plus simples. En effet, à elle seule une forte acidité assure une protection pratiquement totale de la lysine. C'est ainsi qu'en présence de ClH 6N, les sucres

TABLEAU IV  
Influence de la nature du sucre sur la stabilité de la lysine  
(En milieu ClH 6N)

Nature du sucre	Lysine retrouvée	Poids du précipité
	p. 100	mg
a. Sucre en C 6 :		
1° Fonction alcool :		
Sorbitol .....	98	0
Mannitol .....	99	0
2° Fonction aldéhyde :		
Glucose .....	98	439
3° Fonction cétone :		
Sorbose .....	97	818
4° Divers :		
Saccharose .....	94	522
b. Sucre en C 5 :		
1° Fonction aldéhyde :		
Xylose .....	95	747
Arabinose .....	94	1 070

en C<sub>5</sub>, si nuisibles à la stabilité de l'acide aminé en milieu neutre perdent à peu près toute activité. Dans les cas les plus défavorables on retrouve environ 95 p. 100 de la lysine. Il est possible de conclure que la lysine est à peu près intégralement protégée du simple fait que le traitement thermique est effectué en milieu chlorhydrique 6N, quelle que soit la nature du sucre.

#### IV. INFLUENCE DES IONS MINÉRAUX SUR LES PERTES DE LYSINE

En dehors de la quantité et de la qualité des glucides, d'autres facteurs chimiques peuvent-ils modifier l'intensité de la réaction de MAILLARD? Certaines observations le laisseraient supposer. En effet, WEBB (44), par exemple, a montré que le fer catalysait le brunissement des solutions et que l'étain freinait, au contraire, la réaction. De son côté, DESCHREIDER (9) estime que le développement de la coloration est inhibé par des traces de cuivre, de fer ou de zinc.

Pour d'autres, les ions ferriques augmentent l'intensité de la coloration tandis que le manganèse la réduit [BOHART et CARSON (6)].

A plusieurs reprises il a été montré également que les phosphates abaisseraient la valeur protidique d'une ration, et le fait vient d'être confirmé par SPIVEY et MICKELSEN (43).

Il faut remarquer que la plupart des travaux que nous venons de citer relatent l'influence d'ions sur le brunissement d'un mélange de protéines et de glucides; ils n'envisagent que rarement l'évolution de l'azote aminé pendant le traitement thermique.

Cependant, ces faits nous ont incité à rechercher le rôle possible des cations et des anions sur la stabilité de la lysine au cours de la réaction de MAILLARD.

Le protocole expérimental est le suivant :

— pour les cations : 200 mg environ de DL lysine (exactement 250 mg) plus 2 g de glucose sont dissous dans 10 ml d'eau. On ajoute à cette solution un des cations étudiés à raison de 1 mg ou de 0,25 mg ou encore de 0,5 mg. Ces quantités représentent respectivement 1/200, 1/800 ou 1/4.000 de la lysine. Ces diverses solutions sont chauffées six heures à 120° C en milieu aqueux;

— pour les anions : on procède de la même manière. Chaque solution renferme exactement 162 mg de DL lysine plus 2 g de glucose et 1 mg ou 0,25 mg ou 0,05 mg d'un des anions étudiés. Le traitement thermique dure également six heures à 120° C. Ces essais sont faits uniquement en milieu aqueux.

TABLEAU V

*Influence des cations sur la stabilité de la lysine (en milieu aqueux)*

Cation	Forme	Quantité de cation pour 10 ml	DL Lysine trouvée	Variation en p. 100 de la lysine trouvée par rapport à la solution pure lysine-glucose
		mg	mg	
TÉMOIN .....			250	
Lysine-glucose purs. ....			138	0
Aluminium .....	Cl <sub>3</sub> Al	1	140	+ 1,5
		0,25	138	0
		0,05	135	- 2
Chrome .....	Cl <sub>3</sub> Cr	1	145	+ 5
		0,25	138	0
		0,05	141	+ 2
Étain .....	Cl Sn	1	141	+ 2
		0,25	135	- 2
		0,05	135	- 2
Étain .....	Cl <sub>2</sub> Sn	1	141	+ 2
		0,25	138	0
		0,05	136	- 1,5
Cuivre .....	Cl <sub>2</sub> Cu	1	144	+ 4
		0,25	134	- 3
		0,05	138	0
Plomb .....	Cl <sub>2</sub> Pb	1	135	- 2
		0,25	133	- 3,5
		0,05	135	- 2
Magnésium .....	Cl <sub>2</sub> Mg	1	145	+ 5
		0,25	139	+ 1
		0,05	139	+ 1
Manganèse .....	Cl <sub>2</sub> Mn	1	136	- 1,5
		0,25	132	- 4,5
		0,05	135	- 2
Cobalt .....	Cl <sub>2</sub> Co	1	135	- 2
		0,25	132	- 4,5
		0,05	138	0
Calcium .....	Cl <sub>2</sub> Ca	1	135	- 2
		0,25	137	- 1
		0,05	134	- 3

TABLEAU V (Suite et fin)

Cation	Forme	Quantité de cation pour 10 ml	DL Lysine trouvée	Variation en p. 100 de la lysine trouvée par rapport à la solution pure « l. sine-glucose »
		mg	mg	
Baryum.....	Cl <sub>2</sub> Ba	1	141	+ 2
		0,25	134	- 3
		0,05	141	+ 2
Mercure.....	Cl <sub>2</sub> Hg	1	135	- 2
		0,25	141	+ 2
		0,05	137	- 1
Argent.....	ClAg	1	61	- 54
		0,25	93	- 32,5
		0,05	126	- 9
Potassium.....	ClK	1	136	- 6
		0,25	137	- 1
		0,05	141	+ 2
Sodium.....	ClNa	1	133	- 3,5
		0,25	133	- 3,5
		0,05	138	0
Ammonium.....	ClNH <sub>4</sub>	1	-	-
		0,25	135	- 2
		0,05	135	- 2

Les résultats sont rassemblés dans les Tableaux n° V et VI. On donne à côté des valeurs absolues de lysine trouvée, le pourcentage d'écart par rapport à la solution dans ions minéraux.

En ce qui concerne les cations (Tableau V), nous avons étudié un certain nombre d'éléments : les alcalins (sodium, potassium, etc.); les alcalino-terreux (calcium, baryum), des métaux bivalents (plomb, cuivre, magnésium, manganèse, etc.), des cations trivalents (aluminium, chrome), etc.

Aucun de ces éléments — à l'exception de l'argent — n'exercent une action significative sur la stabilité de la lysine chauffée en présence de glucose : on n'enregistre jamais d'écart notable avec la solution pure; de plus, s'il y a

une différence celle-ci ne paraît pas homogène quand on compare les trois doses auxquelles sont introduits les cations.

L'argent représente une exception. Au taux de 0,05 mg la perte de lysine est de 10 p. 100; au taux de 1 mg la moitié de l'acide aminé est détruite. Mais ce phénomène est indépendant de la réaction de MAILLARD, l'argent se combinant avec les acides aminés pour donner des produits insolubles.

On peut donc conclure que, dans nos conditions expérimentales, aucune des familles d'éléments et aucun cation ne modifie l'intensité de la réaction de MAILLARD mesurée par la perte de lysine.

Par ailleurs, nous avons étudié l'influence possible des anions à un double point de vue : d'une part nous considérons l'anion *sensu stricto* constituant le radical de l'ion (Cl, S, P, etc.), et d'autre part le niveau d'oxydation des différents ions contenant le même anion (chlorure, chlorate, etc.).

Les résultats obtenus figurent dans le Tableau VI.

Si aucun des ions mis en jeu ne modifie d'une manière importante la stabilité de la lysine, les valeurs trouvées présentent néanmoins une homogénéité quelque peu défectueuse qui nécessite quelques commentaires. En analysant les résultats par anions, les faits suivants se dégagent :

— les ions renfermant du chlore apparaissent sans effet sur le comportement de la lysine;

— il en est de même pour ceux à base de soufre;

— ceux dont le radical est à base d'azote montrerait une action légèrement favorable sur la stabilité de la lysine (le gain moyen est de l'ordre de 7 p. 100);

— les phosphates permettent également de retrouver environ 7 p. 100 de lysine supplémentaire.

Ces deux derniers types d'anions ne donnent cependant pas un gain de lysine proportionnel au taux où ils sont introduits dans la solution; aussi, estimons-nous dans ces conditions que l'on ne doit pas attribuer à leur action apparente une signification certaine.

La réaction de MAILLARD est-elle sensible à la présence de faibles quantités d'oxydants ou de réducteurs? D'après ces essais il ne semble pas que l'on puisse différencier l'action des oxydants (nitrate, chlorate, sulfate) des anions correspondant non-oxydants ou même réducteurs (nitrite, chlorure, sulfite).

En résumé, les cations sont certainement sans effet sur le comportement de la lysine au cours de la réaction de MAILLARD et il est vraisemblable qu'il en est de même pour les anions. De plus, la stabilité de la lysine ne semble pas sous la dépendance de faibles quantités d'oxydants ou de réducteurs minéraux.

TABLEAU VI

*Influence des anions sur la stabilité de la lysine (en milieu aqueux)*

Anions	Forme	Quantité d'anion pour 10 ml	DL Lysine trouxée	Variation en p. 100 de la lysine trouxée par rapport à la solution pure <i>lysine-glucose</i>
		mg	mg	
TÉMOIN .....			162	
Lysine-glucose purs. ....			94	0
Chlorure .....	ClK	1 0,25 0,05	94 93 —	0 — 1 —
Chlorure. ....	ClNa	1 0,25 0,05	91 101 96	— 3 + 7 + 2
Chlorate.....	ClO <sub>3</sub> K	1 0,25 — 0,05	97 96 104	+ 3 + 2 + 10
Sulfate .....	SO <sub>4</sub> K <sub>2</sub>	1 0,25 0,05	94 94 97	0 0 + 3
Sulfate .....	SO <sub>4</sub> Na <sub>2</sub>	1 0,25 0,05	99 97 94	+ 5 + 3 0
Sulfite.....	SO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub>	1 0,25 0,05	96 96 94	+ 2 + 2 0
Nitrate .....	NO <sub>3</sub> K	1 0,25 0,05	99 100 97	+ 5 + 6 + 3
Nitrate .....	NO <sub>3</sub> Na	1 0,25 0,05	101 105 96	+ 7 + 12 + 2
Nitrite.....	NO <sub>2</sub> Na	1 0,25 0,05	99 105 103	+ 5 + 12 + 10
Phosphate. ....	PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> K	1 0,25 0,05	100 102 100	+ 6 + 8 + 6
Phosphate.....	PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> K	1 0,25 0,05	100 100 102	+ 6 + 6 + 8



V. INFLUENCE DES RÉDUCTEURS SUR LES PERTES DE LYSINE

Nous n'avons envisagé jusqu'à présent que l'action de faibles doses de réducteurs, mais il est bien connu qu'un certain nombre d'entre eux présentent la propriété d'inhiber la coloration produite au cours de la réaction de MAILLARD ou plus exactement pendant la pyrolyse du sucre.

L'emploi de certains d'entre eux a été préconisé dans la technologie alimentaire : le bisulfite ou l'anhydride sulfureux [BARNES et KAUFMAN (4)], le mélange d'acide ascorbique et de bisulfite [FRIEDMAN et KLINE (14)], le métabisulfite, l'hydrosulfite et le formaldéhyde sulfoxylate [OVERBY et coll. (34)].

Du point de vue analytique, HLAZIWETZ et HABERMANN (17) proposent d'effectuer l'hydrolyse des protéines en présence d'étain métallique ou de chlorure stanneux; de notre côté (1), nous avons également recommandé l'emploi de l'étain métallique pour inhiber la destruction de la lysine, et actuellement KRAMPITZ a repris cette conclusion.

KOSSEL et KUTSCHER (25) utilisent pour l'hydrolyse un mélange d'acides réducteurs (iodhydrique et phosphoreux).

Ces différents faits nous ont incité à chercher dans quelle mesure des réducteurs minéraux — qui présentent souvent une action très nette sur la coloration — pouvaient offrir un intérêt en prévenant la destruction de la lysine.

Dans 10 ml d'eau contenant environ 200 mg de DL lysine (exactement 230 mg) et 2 g de glucose, nous avons ajouté un des réducteurs suivants à la dose de 2 g ou de 0,5 g : acide thioglycolique, métabisulfite, chlorure stanneux (après traitement thermique l'étain est éliminé à l'aide de  $\text{SH}_2$  à pH 3,0).

Le pourcentage de lysine retrouvé (Tableau VII) en présence d'acide glycolique ou de bisulfite demeure très faible malgré les doses massives de réducteurs; par conséquent, il est hors de doute que ces substances n'agissent que sur la coloration et ne peuvent prétendre offrir un intérêt pour la stabilité de la lysine.

TABLEAU VII  
Influence des réducteurs à haute dose sur la stabilité de la lysine  
(En milieu aqueux)

Nature du réducteur	Dose	DL lysine	Lysine
	pour 10 ml	trouvée	retrouvée
	g	mg	p. 100
TÉMOIN.....		230	
Acide thioglycolique .....	2,0	125	54,5
	0,5	100	43,5
Métabisulfite .....	2,0	102	44,5
	0,5	100	43,5
$\text{Cl}_2\text{Sn}$ .....	2,0	218	95,5
	0,5	180	78,0

Par contre, sur le plan analytique, nous retrouvons l'action protectrice de l'étain; mais quand il est introduit sous forme de chlorure, il demande à être utilisé à fortes doses pour que son action soit satisfaisante.

En conclusion, que ce soit à faibles doses (expériences avec les anions) ou à hautes doses (expérience présente), il est difficile d'obtenir une protection de la lysine par addition de substances réductrices, l'étain faisant exception.

## VI. INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE DE CHAUFFAGE SUR LES PERTES DE LYSINE

Après avoir passé en revue l'influence de certains facteurs chimiques sur la stabilité de la lysine chauffée en présence de sucre, nous abordons l'étude de facteurs physiques, et, en premier lieu la température de chauffage.

Dans 10 ml de liquide on dissout exactement 200 mg de DL lysine et 2 g de glucose, ces solutions étant maintenues pendant six heures à des températures allant de 100° C à 132° C. Ces essais ont été faits dans trois conditions : en milieu aqueux, en milieux chlorhydriques 0,1N et 6N. Les résultats figurent dans le graphique n° 9.

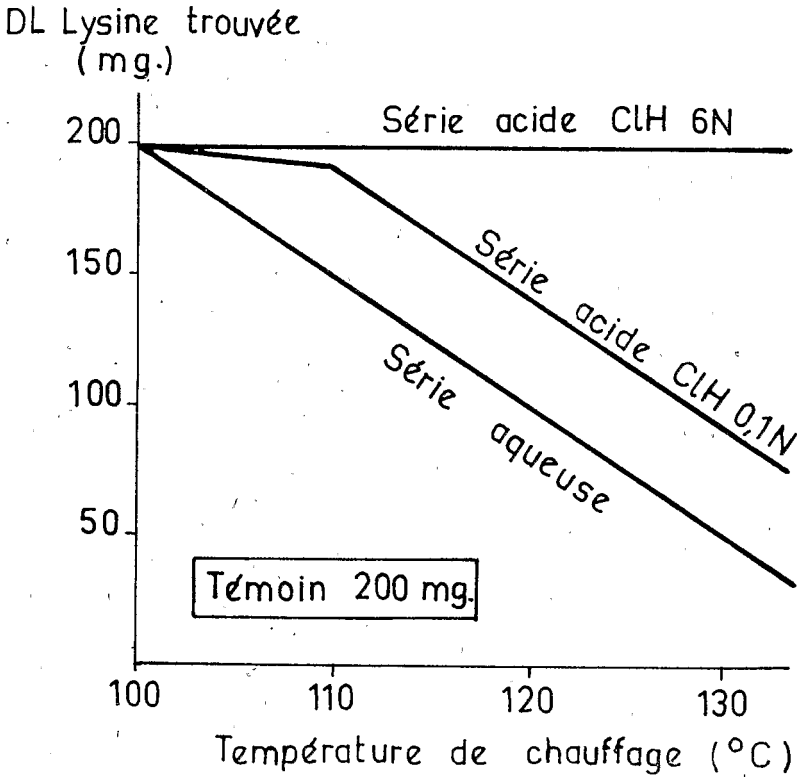
*En milieu aqueux.* — La perte de lysine est pratiquement nulle à 100° C (1 p. 100) mais elle augmente fortement avec une élévation de la température pour atteindre 84 p. 100 après un chauffage à 132° C. Cette relation linéaire entre la température et la perte de lysine permet de calculer le préjudice causé à la lysine par suite d'une élévation de l'intensité du chauffage. Dans nos conditions, l'accroissement de 1° C de la température provoque une augmentation de 2,7 p. 100 pour la perte de lysine.

Néanmoins, cette perte moyenne ne rend pas compte correctement de l'influence de la température. Étant donné que la perte observée est régulière avec l'accroissement de la température, cela signifie que le pourcentage de lysine détruit augmente proportionnellement à l'élévation de la température. En effet, les pourcentages de la lysine détruits pour toute augmentation de 10 °C de la température sont les suivants :

Température	DL lysine	Différence pour une	
	trouvée	élévation de 10°	
	mg	mg	p. 100
Témoin.....	200	—	—
100°.....	198	—	—
110°.....	146	52	26
120°.....	108	38	26
130°.....	44	64	59

En conclusion, pour des températures supérieures à 100° C, la perte de lysine croît régulièrement avec la température, et en extrapolant nos résultats on arriverait à une destruction totale pour une température de 140° C environ.

En milieu chlorhydrique 0,1N c'est-à-dire très faiblement acide, la lysine est à peu près stable jusqu'à 110 °C (5 p. 100 de perte), mais au-delà de cette température les pertes de lysine sont rigoureusement parallèles à celles observées en milieu aqueux (graphique n° 9), et pour 132 °C la perte est de 56 p. 100.



GRAPHIQUE 9

*Influence de la température de chauffage sur la stabilité de la lysine*

Ici encore l'acidité, même faible, présente un effet protecteur, mais la compétition entre la température et l'acidité offre un caractère particulier. En effet, l'un des facteurs l'emporte obligatoirement en inhibant totalement l'effet de l'autre : pour des températures faibles la présence de l'acide annule l'effet de la température; les choses sont inversées pour des températures plus élevées : l'acidité faible ne présente plus aucun effet protecteur, et le comportement de la lysine est comparable à celui de l'acide aminé en milieu aqueux.

*En milieu chlorhydrique 6N*, c'est-à-dire en milieu fortement acide, l'influence de l'acidité l'emporte d'une manière absolue sur l'effet de la température et jusqu'à 132 °C la lysine est parfaitement stable. Comme précédemment le fait de traiter un mélange de glucose et de lysine dans un milieu très acide annule totalement la réaction de MAILLARD.

#### VII. INFLUENCE DE LA DURÉE DE CHAUFFAGE SUR LES PERTES DE LYSINE

En ce qui concerne les facteurs vitaminiques thermolabiles, on sait qu'il existe un rapport optimum entre le degré de chauffage et la durée du traitement thermique, et que la tenue des vitamines est supérieure lorsqu'elles subissent un chauffage intense et court plutôt que modéré mais plus long.

Étant donné que les acides aminés — normalement thermostables — deviennent thermolabiles en présence de sucre, on peut se demander si l'observation faite au sujet des vitamines s'applique également aux aminoacides soumis à la réaction de MAILLARD, c'est-à-dire si la perte est moins forte à la suite d'un traitement intense mais bref.

Aussi, après avoir examiné l'influence de l'intensité du chauffage est-il nécessaire de considérer l'action de la durée du traitement thermique.

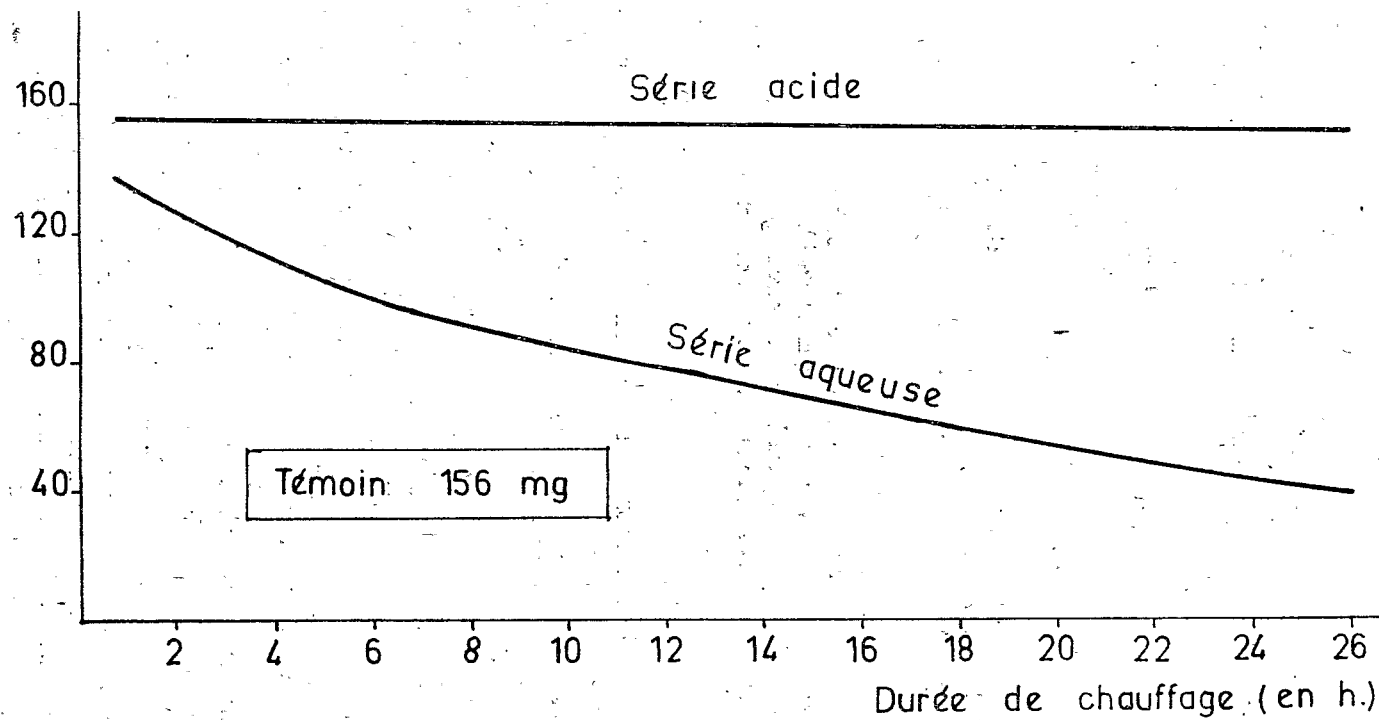
Environ 200 mg de DL lysine (exactement 156 mg) et 2 g de glucose sont dissous dans 10 ml d'eau ou de ClH 6N et traités à 120 °C pendant une période allant de une heure à vingt-six heures. La lysine restante est représentée dans le graphique n° 10.

*En milieu aqueux*, la perte de lysine, déjà notable après une heure de chauffage (13 p. 100), va en augmentant avec le temps pour atteindre 76 p. 100 lorsque la solution est chauffée pendant vingt-six heures.

Dans un autre essai effectué dans les mêmes conditions, on n'a enregistré aucune perte après trente minutes de chauffage et après une heure, une destruction de 10 p. 100.

En valeur relative, si on calcule le pourcentage de lysine détruite on s'aperçoit que la perte est sensiblement constante tout au long du chauffage et qu'en quatre heures la destruction est de l'ordre de 20 p. 100 de la lysine présente.

DL Lysine trouvée  
( mg )



GRAPHIQUE 10. — Influence de la durée du chauffage sur la stabilité de la lysine

Il y a cependant une exception dans les débuts du traitement thermique : pour la première heure la perte est de 10 à 13 p. 100 et pour les quatre premières elle est de 35 p. 100 environ. Passé ce stade, le taux de destruction est voisin de 5 p. 100 par heure supplémentaire de chauffage :

Période de chauffage	DL lysine	Différence de teneur	
	trouvé au début et à la fin de la période	durant la période de chauffage	
h	mg	mg	p. 100
De la 4 <sup>e</sup> à la 8 <sup>e</sup> .....	112 à 91	21	19
De la 6 <sup>e</sup> à la 10 <sup>e</sup> .....	103 à 84	19	18,5
De la 18 <sup>e</sup> à la 22 <sup>e</sup> .....	64 à 50	14	22
De la 22 <sup>e</sup> à la 26 <sup>e</sup> .....	50 à 39	11	22

En milieu acide 6N, la lysine se révèle très stable. Après plusieurs heures de chauffage, on retrouve quantitativement l'acide aminé, et il demeure encore 97 p. 100 après vingt-six heures de chauffage.

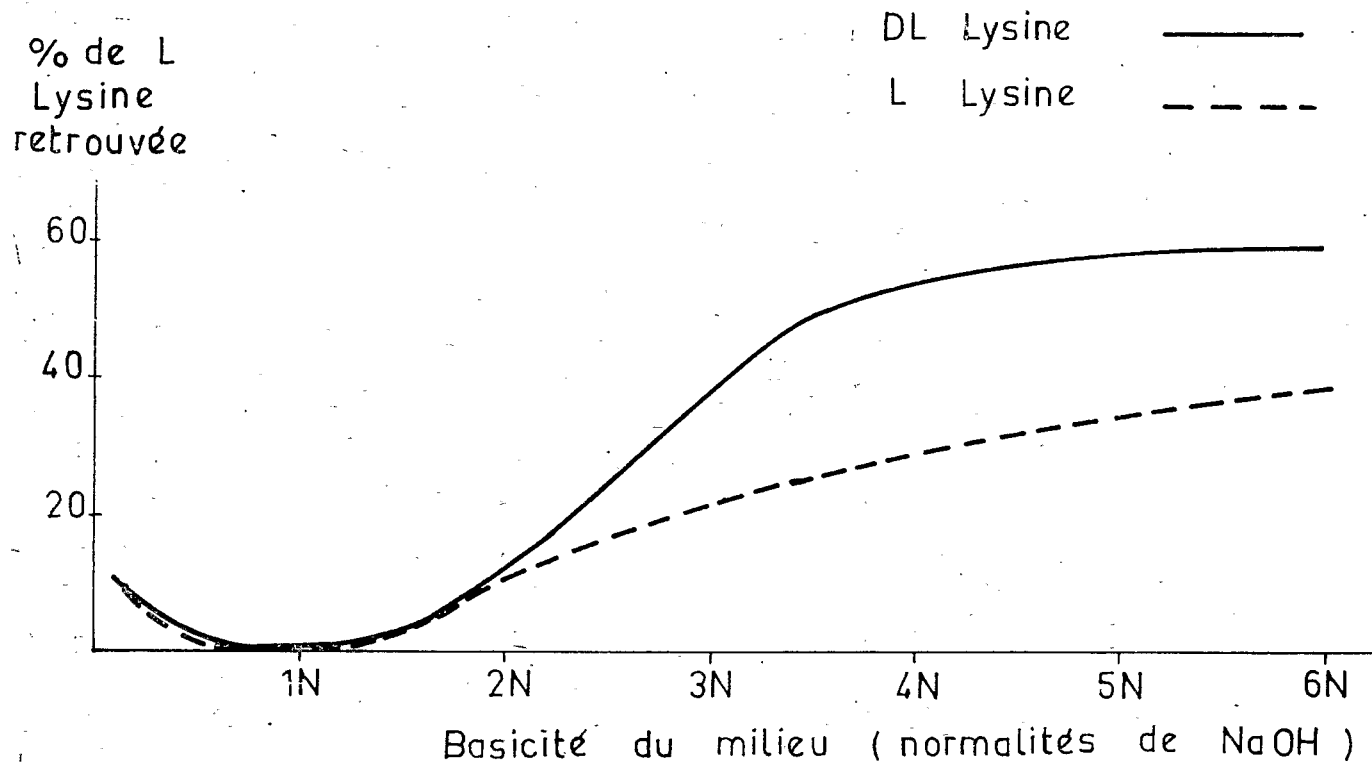
Il est donc permis de dire que, là encore, une forte acidité inhibe la réaction de MAILLARD.

### VIII. INFLUENCE DU pH SUR LES PERTES DE LYSINE

Dans tous nos essais, il a été montré qu'en milieu fortement acide (ClH 6N) la réaction de MAILLARD était pratiquement inhibée, et que l'on retrouvait toujours au moins 95 p. 100 de l'acide aminé. Il est donc certain que le pH du milieu offre une importance capitale pour la stabilité de la lysine.

Un grand nombre de travaux ont montré cette influence, et les revues d'ensemble déjà citées en font état. Néanmoins, la gamme de pH étudiée est assez restreinte, de pH 3 à pH 9 environ, c'est-à-dire que l'on a surtout envisagé les pH naturels de différentes substances alimentaires. Tous les auteurs sont d'accord pour conclure que plus le pH est alcalin, plus la réaction de MAILLARD est intense et qu'au contraire, lorsqu'on va vers les milieux acides, la perte d'acides aminés tend à diminuer.

Pour notre part, nous avons largement étendu la gamme de pH et nous avons observé le comportement de la lysine depuis des acidités très fortes (ClH 6N) jusqu'à des basicités également fortes (NaOH 6N). Si l'étude de tels milieux ne présente pas d'intérêt pour la technologie alimentaire, elle intéresse l'analyste qui utilise l'acide chlorhydrique 6N pour hydrolyser les protéines ou éventuellement un milieu sodique 5N (extraction du tryptophane). Dans ce dernier cas, il se pose, en plus de la réaction de MAILLARD, le problème de la racémisation des acides aminés.



GRAPHIQUE 11. — *Influence de la basicité sur la stabilité d'une même quantité de L-lysine introduite sous forme L ou DL*

Aussi, pour les milieux basiques, avons-nous comparé le comportement de la L lysine à celui de l'acide aminé racémique : dans 10 ml de liquide dont le pH allait de la neutralité à NaOH 6N étaient dissous 2 g de glucose et environ 200 mg de DL lysine ou 100 mg de L lysine. Le chauffage durait six heures à 120 °C.

Nous rapportons les résultats de différentes expériences en rappelant qu'il n'y a pas formation de mélanoidines dans les milieux basiques (graphique n° 3).

Le comportement de la L et de la DL lysine est rapportée dans le graphique n° 11. On constate que la racémisation de la L lysine ne commence qu'à des basicités dépassant NaOH 2N. Jusqu'à cette valeur les deux courbes sont identiques. Quand la basicité dépasse 2N la racémisation est immédiatement très forte, sans être cependant quantitative : les valeurs correspondant à la L lysine sont toujours supérieures à la moitié des valeurs obtenues avec la DL lysine pour laquelle il ne peut y avoir de racémisation. C'est ainsi que pour le milieu NaOH 4N on retrouve 29 p. 100 de la lysine introduite sous forme L et 54 p. 100 de la lysine active introduite sous forme DL; de même pour NaOH 6N les valeurs sont respectivement de 40 et 60 p. 100.

Pour l'étude complète de l'influence du pH sur la stabilité de la lysine, nous avons choisi l'acide aminé sous forme racémique pour éviter d'avoir un phénomène secondaire se créant dans les milieux très alcalins. Dans ces conditions, le comportement de la DL lysine figure dans le graphique n° 12.

Le pH présente un intérêt considérable pour la réaction de MAILLARD, puisque toutes choses étant égales certains pH permettent une stabilité quantitative de la lysine alors que pour d'autres la destruction de la lysine par la réaction de MAILLARD est presque totale. Précisons qu'en l'absence de sucre la lysine est parfaitement stable dans ces conditions.

Il est possible de fractionner en plusieurs intervalles la courbe représentant le comportement de la lysine en fonction du pH du milieu (\*) :

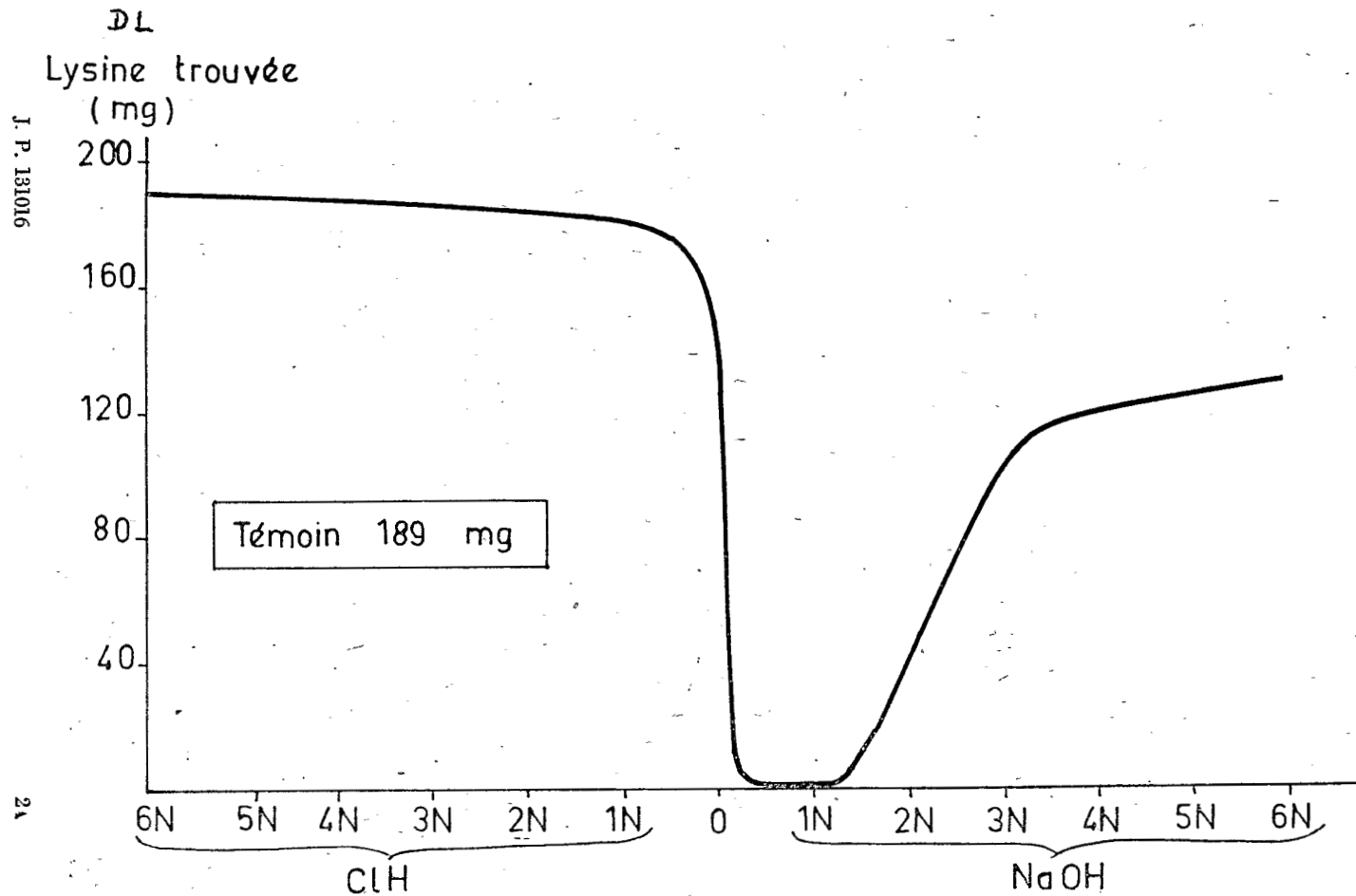
— pour des acidités allant de 6N à 0,5N, la lysine retrouvée tend à baisser avec la diminution de l'acidité, mais on n'enregistre jamais de pertes considérables : entre 6N et 3N l'acide aminé est pratiquement retrouvé intégralement et, pour les acidités plus faibles, la perte est inférieure à 10 p. 100;

— si le pH est voisin de la neutralité, entre ClH 0,5N et NaOH 0,5N, on observe des variations très importantes dans la tenue de la lysine. Sa stabilité s'effondre très rapidement dans cet intervalle de pH, la perte étant de 10 p. 100 pour le premier point et de 97 p. 100 pour le second. A la neutralité, on retrouve environ 70 p. 100 de l'acide aminé;

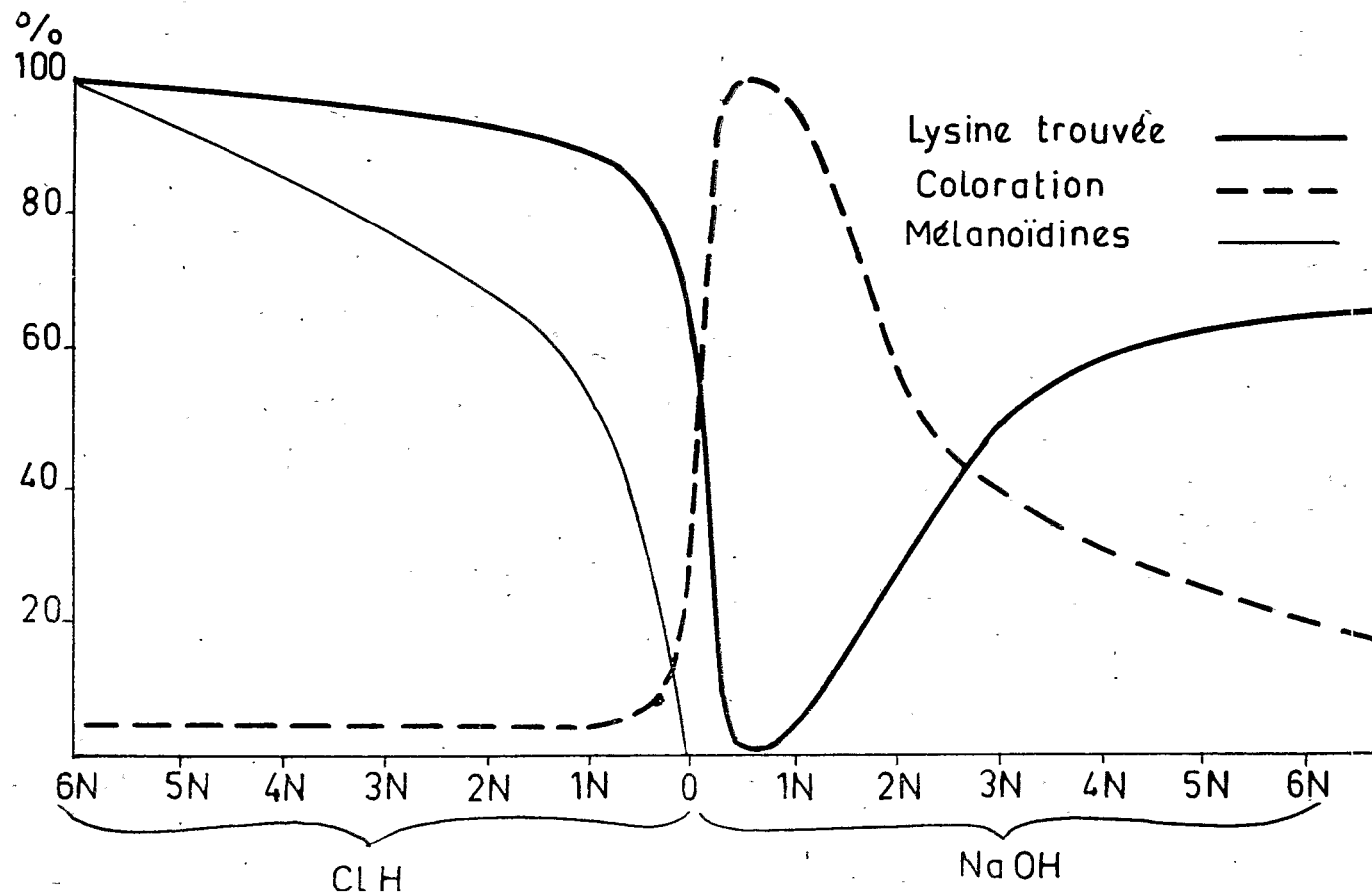
---

(\*) Le pH s'abaisse au cours du traitement thermique, ainsi que l'ont noté en particulier SCHREDER et coll. (41). Dans notre expérience les pH indiqués correspondent aux milieux initiaux avant chauffage





GRAPHIQUE 12. — Influence du pH sur la stabilité de la lysine



GRAPHIQUE 13. — Influence du pH sur la coloration, la formation des mélanoidines, et la lysine retrouvée après un chauffage de 6 h. à 120°  
 (valeurs exprimées en pourcentage du chiffre le plus élevé)

— pour les basicités faibles, le pourcentage de lysine retrouvée est toujours très faible comme le fait ressortir les chiffres suivants :

En milieu NaOH	p. 100 de lysine retrouvée
0,2N.....	8
0,5N.....	3
1,0N.....	3

Le traitement thermique abaisse suffisamment le pH pour que les trois solutions dont le pH initial va de NaOH 0,2N à 1,0N soient en milieu acide ou neutre à la fin du chauffage. Il suffit donc que le chauffage commence en milieu basique pour qu'il provoque des répercussions drastiques pour la stabilité de la lysine;

— enfin, des basicités plus fortes (NaOH 2N à 6N) provoquent également des destructions intenses de lysine, mais néanmoins moins élevées que des alcalinités faibles. Il semble même qu'à partir de NaOH 4N une élévation de la basicité ne produise qu'une très légère amélioration de la tenue de la lysine. En milieu NaOH 6N, un tiers de la lysine est encore détruit.

En conclusion, en fonction du pH, la courbe de la lysine retrouvée est une courbe en cloche inversée et dissymétrique.

Le point où la destruction est la plus forte correspond à un pH initial de NaOH 0,5N environ. Quel que soit le taux de basicité du milieu, la destruction de la lysine est plus importante que celle observée en milieu acide : en milieu alcalin la perte est au moins de 30 p. 100 et en milieu acide elle est au plus de 10 p. 100.

### C. Récupération et utilisation de la lysine disparue au cours de la réaction de Maillard

En dosant directement la lysine dans les solutions chauffées on constate qu'une fraction plus ou moins importante de l'acide aminé n'est plus disponible pour la souche bactérienne.

Cette fraction disparue est-elle définitivement perdue sur le plan analytique et dans le domaine nutritionnel ?

Dans un lait chauffé, MAURON (34) distingue la lysine sous différents états qui correspondent aux définitions suivantes :

— *lysine détruite* : lysine non récupérable par hydrolyse acide chimique;

— *lysine bloquée* : lysine qui est récupérable par hydrolyse chimique acide mais non pas libérable par voie enzymatique. Cette fraction est inutilisable pour l'animal;

— *la somme de la lysine détruite et de la lysine bloquée* constitue la lysine détériorée;

— enfin, *la lysine disponible* (pour l'animal) est la différence entre la lysine totale de l'échantillon avant chauffage et la lysine détériorée.

Plusieurs auteurs, LEA et HANNAN (28), IACOBELLIS (21), MAURON (34) ont constaté que la réaction de MAILLARD débutait par une condensation de l'acide aminé sur le sucre, et que l'aldosylamine ainsi formée ne pouvait être hydrolysée par les enzymes digestives, c'est-à-dire qu'elle formait un lien enzyme résistant, alors que l'hydrolyse chimique permet la récupération du sucre et de l'acide aminé. Selon MAURON la lysine ainsi bloquée serait retrouvée à 100 p. 100, ou à 75 p. 100 environ d'après LEA et HANNAN, après hydrolyse chimique.

La présence d'une telle aldosylamine dans un échantillon constitue donc une cause de divergence entre les mesures *in vitro* (dosage de l'acide aminé) et les mesures *in vivo* (efficacité pour l'animal), les premières fournissant une valeur supérieure aux secondes.

C'est la validité des résultats analytiques que nous voudrions déterminer maintenant.

Nous recherchons tout d'abord la présence de l'aldosylamine dans nos solutions chauffées en dosant la lysine avant et après hydrolyse chimique : les différences de teneurs apparaissent entre les deux séries d'analyses proviendront de l'hydrolyse de l'aldosylamine.

En même temps nous confrontons les dosages analytiques à des mesures sur animaux de l'efficacité de la lysine chauffée. De cette manière il sera possible de vérifier si l'aldosylamine éventuellement décelée *in vitro* est inefficace pour l'animal, et en plus nous pourrions déterminer la validité du dosage microbiologique de la lysine dans les produits chauffés.

## I. RÉCUPÉRATION DE LA LYSINE PAR HYDROLYSE CHIMIQUE

Nous avons effectué des dosages comparatifs de lysine, avant et après hydrolyse de la solution chauffée, sur des séries dans lesquelles il était permis de penser qu'une fraction de la lysine disparue n'était pas encore détruite, c'est-à-dire demeurait sous forme d'aldosylamine. Pour ce faire, nous avons choisi une série où l'intensité de chauffage variait (de 100 °C à 132 °C) et une série où la durée de chauffage était plus ou moins longue (de trente minutes à dix heures).

1<sup>re</sup> série. — 200 mg de DL lysine environ et 2 g de glucose sont dissous dans 10 ml d'eau et chauffés six heures à des températures allant de 100 °C à 132 °C.

2<sup>e</sup> série. — Les mêmes quantités de réactifs sont chauffées à 120 °C pendant une durée allant de trente minutes à dix heures.

Après le chauffage, une partie de la solution est hydrolysée en milieu ClH 6N pendant six heures à 120 °C (hydrolyse adoptée pour les dosages microbiologiques). Le dosage est effectué simultanément sur la solution intacte et sur la fraction hydrolysée (Tableau VIII).

TABLEAU VIII

*Récupération de la lysine disparue, à l'aide de l'hydrolyse chimique acide*

1 <sup>re</sup> série : Chauffage à températures variées				
Température de chauffage	p. 100 de lysine trouvée par rapport au témoin			
	1 <sup>er</sup> essai		2 <sup>e</sup> essai	
	avant hydrolyse	après hydrolyse	avant hydrolyse	après hydrolyse
100° .....	78	84	80	82
110° .....	—	—	64	66
120° .....	61	68	61	66
132° .....	17,5	17,5	15	14

2 <sup>e</sup> série : durée de chauffage variée		
	p. 100 de lysine trouvée par rapport au témoin	
	avant hydrolyse	après hydrolyse
1/2 h. ....	100	100
1 h. ....	91	100
2 h. ....	80	83
4 h. ....	57	58
10 h. ....	39,5	42,5

L'hydrolyse chimique ne permet jamais, dans nos conditions expérimentales, la récupération d'une quantité importante de lysine. Dans les solutions chauffées à différentes températures, il n'y a pas de relation entre le taux de disparition de la lysine et la quantité retrouvée par hydrolyse : pratiquement, après traitement hydrolytique, on récupère environ 5 à 10 p. 100 de la quantité de lysine décelée avec le dosage sur la solution intacte.

Dans les solutions chauffées plus ou moins longtemps, l'hydrolyse ne récupère pas l'acide aminé disparu à une exception près : après une heure de chauffage, on observe un déficit de 10 p. 100 qui est quantitativement comblé après hydrolyse acide de la solution.

A ce stade précis, une fraction de l'acide aminé semble récupérable par voie chimique. Ceci confirmerait bien que dans les premiers stades de la réaction de MAILLARD il se forme un composé hydrolysable par voie chimique, cette aldosylamine n'étant pas utilisable par *L. mesenteroides*.

Si le chauffage est prolongé, la perte de l'acide aminé devient importante, et définitive en même temps. L'aldosylamine ne constitue donc qu'un intermédiaire instable de la réaction de MAILLARD.

En résumé, nous n'avons jamais pu faire réapparaître une quantité notable de lysine à la suite de l'hydrolyse chimique d'une solution de lysine-glucose ayant subi un chauffage. Au mieux, ce traitement hydrolytique augmente de 10 p. 100 le taux d'acide aminé.

Ceci permet de conclure que l'aldosylamine, décelée chimiquement, n'offre pas de répercussions importantes dans le domaine nutritionnel : la différence entre la lysine totale (c'est-à-dire dosée après hydrolyse) et la lysine directement utilisable par *L. mesenteroides* demeure faible, et, par conséquence, le dosage de l'acide aminé représente une mesure valable sur le plan biologique. C'est à une conclusion analogue que PION (36 bis) a abouti en comparant par des dosages chimiques la lysine « disponible » et la lysine totale d'une série de poudres de lait.

## II. CONFRONTATION DE LA TECHNIQUE MICROBIOLOGIQUE ET DE LA TECHNIQUE SUR ANIMAUX

Pour cet essai, nous avons repris de manière identique la série de solutions lysine-glucose que nous avons déjà utilisée pour mettre en évidence l'influence de la température.

Ces solutions ont les concentrations suivantes : 15 g de DL lysine plus 150 g de glucose dans 750 ml. Elles sont traitées pendant six heures dans les conditions suivantes :

- solution A : solution témoin non chauffée;
- solution B : chauffée à 110° C;
- solution C : chauffée à 120° C;
- solution D : chauffée à 132° C.

*Technique microbiologique.* — Une partie de la solution est utilisée directement pour le dosage, tandis qu'une autre est préalablement hydrolysée en milieu ClH 6N pendant six heures à 120 °C. De cette manière, comme précédemment, on pourra mettre en évidence la lysine provenant de l'aldosylamine.

*Essai sur animaux.* — Ces mêmes solutions servent à compléter un régime déficient en lysine, ce qui permettra de déduire l'efficacité de la lysine chauffée à différentes températures.

Le régime de base a la composition suivante :

Protéines de gluten.....	9,9 p. 100
Huile d'arachide.....	5
Sels minéraux.....	3,5
Mélange vitaminique.....	1
Cellulose.....	2
DL valine.....	0,5
DL thréonine.....	0,5
Saccharose.....	77,6

Les lots d'animaux sont constitués chacun de douze rats mâles pris au sevrage. Ils reçoivent le régime de base supplémenté ou non avec une des solutions de lysine-glucose :

*Lot : Base.* — Aucun supplément.

A. — 150 ml de solution A par kg de ration (= 3 g de DL lysine).

B. — 150 ml de solution B par kg de ration (= 3 g de DL lysine).

C. — 150 ml de solution C par kg de ration (= 3 g de DL lysine).

D. — 150 ml de solution D par kg de ration (= 3 g de DL lysine).

L'expérience a duré vingt-cinq jours.

#### *Confrontation des résultats.*

Les résultats des analyses microbiologiques et de l'efficacité de la lysine mesurée sur animaux figurent dans le Tableau IX.

Les analyses effectuées avant et après hydrolyse chimique confirment nos conclusions précédentes : la lysine récupérable par traitement chimique demeure toujours faible. Il existe très peu d'acide aminé sous forme de glucosylamine.

Entre les analyses microbiologiques et les mesures effectuées sur animaux la concordance est très bonne pour les solutions chauffées à 100 °C (solution B) et à 132 °C (solution D). Pour ces deux solutions, l'efficacité de la lysine mesurée sur animaux et le dosage dans la solution hydrolysée ne présentent que 2 ou 3 p. 100 d'écart.

Par contre, une divergence plus importante apparaît pour la solution C, chauffée à 120 °C.

TABEAU IX

Confrontation de résultats obtenus par microbiologie et d'essais sur animaux

<i>Résultats de l'analyse microbiologique</i>					
	Solution				
	A	B	C	D	
<i>Analyse directe :</i>					
DL lysine trouvée (mg).....	226	176	138	40	
p. 100 de la lysine témoin.....	100	78	61	17,5	
<i>Analyse après hydrolyse :</i>					
DL lysine trouvée (mg).....	226	190	144	44	
p. 100 de la lysine témoin.....	100	84	64	19,5	
<i>Résultats de l'essai sur animaux</i>					
	Base	Lot			
		A	B	C	D
Gain de poids moyen en 25 jours (g).....	5,5	34	18,5	15,0	8,5
Efficacité protidique.....	0,46	1,79	1,55	1,22	0,73
Efficacité due à la lysine.....		1,33	1,09	0,76	0,27
p. 100 d'efficacité de la lysine.....		100	82	57	20

Cependant, il est permis de conclure que les méthodes *in vivo* et *in vitro* fournissent des valeurs du même ordre de grandeur, ce qui indique que *L. mésenteroides* et le rat réagissent de la même manière en ce qui concerne l'utilisation de la lysine engagée dans la réaction de MAILLARD.

### DISCUSSION

Le traitement thermique d'un mélange de glucides et de protéines entraîne l'apparition d'un certain nombre de phénomènes : coloration, formation de mélanoidines et destruction d'acides aminés.

Il convient de distinguer dans cet ensemble ce qui relève seulement de la pyrolyse du sucre et ce qui appartient à la réaction de MAILLARD elle-même, dans laquelle interviennent les acides aminés.



Dans nos conditions expérimentales, la formation du précipité de mélanoidines relève uniquement de la pyrolyse du sucre, et il n'apparaît pas que la présence de la lysine influence d'une manière nette l'intensité de la coloration.

Ces conclusions sont en plein accord avec celles de SCHRÆDER et coll. (41), qui attribuent nettement ces phénomènes à la caramélisation des sucres et non pas à la réaction d'un acide aminé avec un ose. Néanmoins, certains auteurs ne partagent pas ce point de vue et tout récemment encore LENTO et coll. (29, 45) montraient que la position du groupement aminé dans la chaîne de l'amino-acide modifiait la coloration. D'après ces auteurs, ce seraient les acides diamminés, telle la lysine, qui favoriseraient le plus l'intensité de la coloration. C'est un fait qui n'apparaît pas nettement dans nos conditions.

De plus, la présence de substances « blanchissantes », comme les sulfites, qui réduisent la coloration, n'exercent pas de rôle protecteur vis-à-vis de la lysine.

Il ne semble donc pas que l'on puisse établir un rapport de causalité entre le degré de coloration et la réaction de MAILLARD. La principale, sinon l'unique, manifestation de cette réaction est la perte de l'acide aminé.

Néanmoins, si l'aspect physique de la solution ne constitue pas en lui-même un test de la destruction de la lysine, il est permis de se demander si l'intensité de la destruction des glucides n'est pas en relation, dans une certaine mesure, avec le comportement de l'acide aminé.

Pour cela, nous avons porté sur un même graphique n° 13 le poids du précipité recueilli, la coloration de la solution et le pourcentage de lysine retrouvée, en fonction du pH de la solution.

En milieu acide, le comportement de la lysine est en relation avec le poids de mélanoidines : plus leur masse est importante, plus l'acide aminé est stable.

Cependant, comme ces résidus de la pyrolyse ne se forment qu'en milieu acide, ils ne sauraient donner aucune indication du comportement des acides aminés en milieu neutre ou alcalin.

En milieu alcalin, la stabilité de la lysine est étroitement liée à l'intensité de la coloration. Ici le degré de destruction de l'acide aminé est proportionnel au développement de la couleur de la solution. Cette relation avait déjà été établie pour des pH de 7 et de 9 par WILLITS et coll. (45). Elle se révèle exacte pour tout le domaine alcalin.

En conséquence, toutes choses égales par ailleurs — et uniquement dans ce cas — la stabilité de la lysine est proportionnelle à la masse des mélanoidines en milieu acide et inversement proportionnelle à l'intensité de la coloration en milieu alcalin. Il convient néanmoins de bien souligner que l'exemple ci-dessus représente un cas très particulier où n'intervient qu'une variable, le pH. Il ne doit pas faire conclure faussement à des corrélations absolues entre mélanoidines ou coloration d'une part et destruction d'acides aminés d'autre part.

En effet, les facteurs responsables de l'aspect physique de la solution chauffée sont bien distincts de ceux qui sont préjudiciables à la lysine. C'est ainsi, par exemple, que la durée de chauffage qui provoque des pertes de lysine pouvant atteindre 80 p. 100 demeure sans action sur le poids des mélanoidines.

De plus, si l'on observe des relations entre l'aspect physique de la solution et le comportement de la lysine quand le pH varie, ces corrélations semblent dénuées de rapport de causalité.

Par ailleurs, toujours à la lumière du graphique n° 13, il devient parfaitement compréhensible que les mélanoidines ne renferment pas obligatoirement de l'azote, ni qu'elles constituent un indice de dégradation des protéines, du moins *a priori*. En effet, ces substances se forment principalement au moment où la lysine est retrouvée quantitativement.

D'un autre côté, dans un certain nombre de nos essais, nous avons traité chaque fois 200 mg environ de lysine avec 2 g de glucose, soit dans 10 ml d'eau, soit dans 10 ml d'acide chlorhydrique 6N pendant six heures à 120 °C. En milieu aqueux le traitement a provoqué la destruction du tiers de la lysine, tandis que l'acide aminé se révélait stable en milieu acide.

Nous avons pu ainsi constater que — quelles que soient les conditions dans lesquelles se trouve la lysine — celle-ci est toujours protégée au moins à 95 p. 100 si elle est en milieu chlorhydrique 6N. Plus l'acidité sera forte, plus les pertes de lysine seront faibles, et la plupart du temps elles sont insignifiantes dans ces conditions.

Par contre, si la lysine n'est pas traitée en présence d'une acidité très forte elle se révèle instable.

Peut-on établir un classement des facteurs qui — en milieu aqueux — provoquent une destruction de l'acide aminé? Cela paraît difficile car comment pourrait-on comparer l'influence de la durée de chauffage à l'action du taux de glucose, par exemple?

Néanmoins, dans nos conditions expérimentales, certains facteurs semblent plus préjudiciables pour la lysine que d'autres. Aussi, pouvons-nous établir une sorte de hiérarchie relative basée sur les résultats obtenus, cette classification n'étant valable que pour notre propre travail.

Parmi les facteurs qui se révèlent particulièrement néfastes, on doit placer en premier lieu le pH. Dès qu'on approche de la neutralité, et encore plus si on la dépasse, les destructions de lysine deviennent soudain massives et presque quantitatives pour un pH légèrement alcalin.

Une telle observation est riche de conséquences dans le domaine de la technologie alimentaire, où les pH des substances traitées à chaud sont toujours proches de la neutralité.

Lorsqu'une substance alimentaire subira un traitement thermique celui-ci sera d'autant plus préjudiciable qu'il sera effectué à un pH tendant vers l'alcalinité.

On peut en effet admettre que — toutes choses égales — en milieu NaOH 0,2N, 90 p. 100 de la lysine sera détruite tandis qu'en milieu ClH 0,2N la perte ne dépassera pas 10 p. 100. En supposant que la courbe de destruction de la lysine soit linéaire dans cet intervalle, on en déduit que pour l'élévation d'un dixième d'unité pH correspond un accroissement de destruction de la lysine de 8 p. 100.

Ce fait doit expliquer, au moins partiellement, les très grandes différences de valeur protidique existant dans certaines catégories de produits, notamment les farines de poisson ou les poudres de lait. On sait que pour ces substances, toute altération provoque une variation de pH : il augmente dans le cas d'un poisson, il s'abaisse pour le lait. Si donc un traitement thermique est appliqué à des denrées relativement détériorées, ses conséquences seront aggravées pour la farine de poisson, tandis qu'elles seront minimisées dans le cas du lait.

On ne peut donc que conseiller de vérifier le pH des denrées alimentaires destinées à subir un chauffage intense et même de les acidifier le cas échéant.

C'est, du reste, une recommandation analogue qui avait été formulée par LEA (26) en ce qui concerne les poudres d'œuf. Il préconise d'acidifier les œufs liquides vers pH 5,5 ou 6,0 avant le séchage, plutôt que d'effectuer l'opération au pH naturel de l'œuf, c'est-à-dire vers 8,5 ou 9,0.

Les deux facteurs physiques, durée et intensité de chauffage, méritent une attention spéciale. Dans nos conditions en milieu aqueux, ils provoquent une destruction de 75 et 85 p. 100 respectivement.

La durée de chauffage exerce une action régulière : pour chaque heure supplémentaire on assiste à une perte de 5 p. 100 de la lysine présente. Il n'en est pas de même de la température de chauffage : plus la température s'élève, plus la perte relative de lysine est importante. Entre 100° C et 120° C l'élévation de la température de 1° C entraîne une perte de l'ordre de 2 à 3 p. 100, mais au-delà de 120° C la destruction est de 6 p. 100.

Il en découle qu'en milieu aqueux, pour des températures supérieures à 120° C l'augmentation d'un degré supplémentaire est plus nuisible qu'une heure de chauffage à 120° C.

A ce point de vue, le comportement de la lysine semblerait différent de celui des vitamines, pour lesquelles on reconnaît qu'un traitement intense et bref est moins préjudiciable qu'une chaleur modérée appliquée longtemps. Néanmoins, une telle conclusion demanderait à être vérifiée dans des conditions plus complexes, et notamment dans le cas des protéines lorsque la lysine est sous forme combinée.

Par ailleurs, en première approximation, les facteurs chimiques apparaissent moins nuisibles que les conditions physiques du traitement thermique. Il convient cependant de faire une exception en ce qui concerne la nature du sucre : les pentoses sont extrêmement préjudiciables à la stabilité de la lysine.

La quantité de glucose intervient relativement peu sur la destruction de l'acide aminé en milieu aqueux où multiplié par 20, le taux de glucose fait

passer la quantité de lysine perdue de 5 p. 100 à 45 p. 100, soit une augmentation de 10 fois environ.

Un fait plus important est que la réaction de MAILLARD n'est pas sous la dépendance d'éléments minéraux; elle n'est pas influencée non plus par des traces d'oxydants ou de réducteurs, leur rôle s'arrête à la décoloration, et par là-même à la présentation du produit, mais ils demeurent sans effet en ce qui concerne la protection nutritionnelle des protéines.

Il en est de même des sucres à fonction alcool : ils restent inertes vis-à-vis de la réaction de MAILLARD, mais ne présentent pas de pouvoir inhibiteur.

Enfin, il y a un facteur très important que nous n'avons pas abordé, il s'agit de l'humidité relative. Les auteurs [LEA et HANNAN (27), SCHARTZ et LEA (42), etc.], s'accordent pour reconnaître que la destruction des amino-acides serait maximum pour une humidité relative de 60 à 80 p. 100. En ce qui nous concerne, nous pouvons ajouter qu'une fois les produits en solution, les pertes de lysine diminuent au fur et à mesure de la dilution. On peut donc penser, en raccordant nos résultats à ceux ayant trait à l'humidité relative, qu'il existe un maximum pour lequel la destruction est massive et qu'en deça et au-delà de ce point, la perte va en diminuant. C'est ainsi qu'avec une dilution suffisante, il est possible de récupérer intégralement la lysine chauffée en milieu aqueux. En conséquence, une forte acidité n'est pas une condition *sine qua non* de la stabilité de la lysine, bien qu'elle apparaisse comme le meilleur agent protecteur de l'acide aminé en présence des sucres.

## CONCLUSIONS

En chauffant à l'autoclave une solution mixte de lysine et de glucose (ou d'un autre sucre), on observe d'abord une coloration de la solution et un précipité de mélanoidines. Ces deux phénomènes relèvent uniquement de la pyrolyse du sucre et ne semblent qu'en relation indirecte avec la destruction de l'acide aminé.

*En milieu aqueux*, les conditions physiques du chauffage (durée et intensité) provoquent une perte importante de lysine. La nature du sucre constitue également un facteur important de la réaction de MAILLARD, qui est nulle avec les oses à fonction alcool et particulièrement intense avec les pentoses.

Le taux de sucre présente une importance relativement moindre.

La destruction de lysine n'est pas sous la dépendance d'ions minéraux et les réducteurs ne la réduisent pas, exception faite pour l'étain.

*L'acidité* réduit considérablement la perte de lysine et peut même l'éviter complètement, tandis qu'en milieu alcalin la destruction est toujours importante et est même totale pour les alcalinités faibles.

Dans nos essais, la quantité de lysine combinée à l'état de glucosylamine N substituée est toujours très faible, c'est-à-dire que l'hydrolyse chimique n'augmente pas le taux de lysine dosable.

Entre la méthode microbiologique de dosage de la lysine et l'efficacité de l'acide aminé mesurée sur animaux il existe une bonne concordance : l'utilisation de la lysine chauffée en présence de glucides est voisine pour l'animal et le micro-organisme.

### BIBLIOGRAPHIE

1. ADRIAN J., *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1955, **37**, 107. — 2. ADRIAN J., *Cahier de l'A.E.C. Amino-acides, peptides, protéines*, 1960, **4**, p. 121. — 3. BALIGA B. P., BAYLISS M. E., LYMAN C. M., *Arch. Biochem. Biophys.*, 1959, **34**, 1. — 4. BARNES H. M., KAUFMAN C. W., *Ind. Eng. Chem.*, 1947, **39**, 1167. — 5. BENSARAT L., FRAMPTON V. L., ALLEN L. E., HILL R. A., *Agric. Food. Chem.*, 1958, **6**, 778. — 6. BOHART G. S., CARSON J. F., *Nature*, 1955, **175**, 470. — 7. CLARK H. E., HOWE J. M., MERTZ E. T., REITZL L., *J. Am. Diet. Assos.*, 1959, **35**, 469. — 8. DANEHY J. P., PICMAN W. W., *Advances in food res.*, 1951, **3**, 241. — 9. DESCHREIDER A. R., *Rev. Ferm. Indust. Alim.*, 1954, **9**, 25 et 111. — 10. DUSTIN J. P., CZAJKOWSKA C., MOORE S., BIGWOOD E. J., *Anal. Chem. Acta.*, 1953, **9**, 256.
11. ELLIS G. P., *Advances in carbohydrate chem.*, 1959, **14**, 63. — 12. ELLIS G. P., HONEYMAN J., *Advances in carbohydrates chem.*, 1955, **10**, 95. — 13. FILIPPOVICH Y. B., VAINER L. I., *Uchebye Zapiski Moscou*, 1958, **140**, 223. — 14. FRIEDMAN L., KLINE O. L., *J. Biol. Chem.*, 1950, **184**, 599. — 15. GORTNER R. A., BLISH M. J., *J. Am. Chem. Soc.*, 1915, **37**, 1630. — 16. HENRY K. M., KON S. K., LEA C. H., SMITH J. A. B., WHITE J. C. D., *Nature*, 1946, **158**, 348. — 17. HLAZIWETZ H., HABERMANN J., *Ann.*, 1873, **169**, 150. — 18. HODGE J. E., *Agric. Food. Chem.*, 1953, **1**, 928. — 19. HODGE J. E., *Advances in carbohydrates chem.*, 1955, **10**, 169. — 20. HSU P. T., MC GINNIS J., GRAHAM W. D., *Poultry Sci.*, 1948, **27**, 668.
21. IACOBELLIS M., *Arch. Biochem. Biophys.*, 1955, **59**, 199. — 22. JACQUOT R., *Ann. Zootech.* 1954, **3**, 189. — 23. JACQUOT R., MATET J., FRIDENSON O., *Ann. Nutrit. Alimen.*, 1947, **1**, 157. — 24. KOCAN E. A., *Biokhimiya.*, 1959, **24**, 210. — 25. KOSSEL A., KUTSCHER F., *Z. physiol. Chem.*, 1900, **31**, 165. — 26. LEA C. H., *Chem. and Indust.*, 1950, 155. — 27. LEA C. H., HANNAN R. S., *Biochem. Biophys. Acta.*, 1949, **3**, 313. — 28. LEA C. H., HANNAN R. S., *Biochem. Biophys. Acta.*, 1950, **5**, 433. — 29. LENTO G. H. Jr., UNTERWOOD J. C., WILLITS C. O., *Food res.*, 1958, **23**, 68. — 30. LEWIS V. M., LEA C. H., *Biochem. Biophys. Acta.*, 1950, **4**, 532.
31. MAILLARD L. C., *C. R. Ac. Sci.*, 1912, **154**, 66. — 32. MAILLARD L. C., *Ann. Chim.*, 1916, **6**, 258. — 33. MAILLARD L. C., *Ann. Chim.*, 1917, **7**, 113. — 34. MAURON J., *Rev. Intern. Vitaminologie.*, 1956, **27**, 85. — 35. MAURON J., MOTTU F., EGLI R. H., *Ann. Nutrit. Alim.*, 1960, **14**, 135. — 36. OVERBY L. R., FREDRICKSON R. L., FROST D. V., *J. Nutrit.*, 1959, **69**, 318. — 36 bis. PION R., *Cahier de l'A.E.C. ; Amino acides, peptides, protéines*, 1960, n° 4, p. 87. — 37. RICE E. E., BEUK J. F., *Advances in food res.*, 1953, **4**, 233. — 38. ROSS I., KRAMPITZ G., *Z. Tierphysiol Tierernäh Futtermittel*, 1960, **15**, 95. — 39. ROXAS M. L., *J. Biol. Chem.*, 1916, **27**, 71. — 40. SCHMIEDEBERG O., *Arch. f. exp. Pathol. Pharmacol.*, 1897, **39**, 1.
41. SCHROEDER L. J., IACOBELLIS M., SMITH A. H., *J. Biol. Chem.*, 1955, **212**, 973. — 42. SCHWARTZ H. M., LEA C. H., *Biochem. J.*, 1952, **50**, 713. — 43. SPIVEY FOX M. R., MICKELSEN O., *J. Nutrit.*, 1959, **68**, 289. — 44. WEBB B. H., *J. Dairy Sci.*, 1935, **18**, 81. — 45. WILLITS C. O., UNTERWOOD J. C., LENTO H. G. Jr., RICCIUTI, C., *Food. Res.*, 1958, **23**, 61

# LA RÉACTION DE MAILLARD

## I. ÉTUDE

### DU COMPORTEMENT DE LA LYSINE PURE

par

Jean ADRIAN et Jean-Claude FAVIER

avec la collaboration technique de M<sup>lle</sup> Régine HÉLIAS

Centre de Recherches sur la Nutrition, C. N. R. S., Bellevue (S.-et-O.)

---

Extrait des ANNALES DE LA NUTRITION ET DE L'ALIMENTATION

1961, Vol. XV, N° 5

DIETOM Fonds Documentaire

N° 8495

Cote : B