

УДК 547.4: 664.16

UDC 547.4 : 664.16

02.00.00 Химические науки
05.00.00 Технические наукиChemical Sciences
Technical Sciences**ИЗУЧЕНИЕ РАННИХ СТАДИЙ ПРОЦЕССА
МЕЛАНОИДИНООБРАЗОВАНИЯ В
МОДЕЛЬНОЙ ЭТАНОЛЬНОЙ
СИСТЕМЕ D-ГЛЮКОЗА – *n*-ТОЛУИДИН****STUDY OF EARLY STAGES OF
MELANOIDIN'S FORMATION PROCESSES IN
MODEL ETHANOLIC D-GLUCOSE – *p*-
TOLUIDINE SYSTEM**

Черепанов Игорь Сергеевич
к.х.н., РИНЦ SPIN-код: 4591-2207
ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный
университет», Россия, 426034, г. Ижевск, ул.
Университетская, 1, cherchem@mail.ru

Cherepanov Igor Sergeevich
Candidate of Chemical Sciences
RINC SPIN-code: 4591-2207
FSBEI «Udmurt State University», Russia, 426034,
Izhevsk, Universitetskaya, 1, cherchem@mail.ru

В работе представлены результаты исследований по изучению динамики ранних стадий процессов меланоидинообразования в подкисленных этанольных системах *D*-глюкоза – *n*-толуидин. На основании данных элементного анализа, ИК- и УФ-спектроскопии показано, что в ходе развития «браун»-процессов в исследуемой системе продукт перегруппировки Амадори претерпевает элиминирование ариламина с образованием безазотных редуктонов, растворы которых показывают антиоксидантную активность, ингибируя окисление линолевой кислоты. Отмечено, что в этанольных средах практически подавлен процесс прямой деструкции исходного углевода вследствие образования *O*-этилгликозидов, нереакционноспособных в отношении «браун»-реакций. Полученные результаты могут быть полезны при разработке технологий переработки углеводного сырья

The results of investigation of melanoidin's formation early stages in acidic ethanolic *D*-glucose – *p*-toluidine model system are presented. Based on the elemental analysis, IR- and UV-spectroscopy data obtained we have shown, that in system studied Amadori rearrangement product undergo the aryl amine elimination during browning to form a non-nitrogenous reductons with antioxidative activity in processes of linoleic acid oxidation. It is also noted, that in system studied inhibition of carbohydrate's destruction occurs because of non-reactive *O*-ethylglycosides formation. The data obtained may be useful for technology of carbohydrate-containing raw material

Ключевые слова: *D*-ГЛЮКОЗА, АРИЛАМИНЫ,
n-ТОЛУИДИН, ЭТАНОЛ, МЕЛАНОИДИНЫ

Keywords: *D*-GLUCOSE, ARYL AMINES,
p-TOLUIDINE, ETHANOL, MELANOIDINS

Doi: 10.21515/1990-4665-132-057

Введение

Реакция Майяра, как одна из наиболее важных в пищевой химии технологии, исследуется уже более ста лет, при этом за последние десятилетия опубликовано значительное число работ, посвященное изучению различных стадий меланоидинообразования, подавляющее большинство которых, за редким исключением [1, 2], освещают результаты исследований реакции Майяра в водных средах с алифатическими аминопроизводными в качестве реагентов. Особый интерес к продуктам реакции Майяра в неводных системах с участием

ариламинопроизводных связан с возможностью проявления ими комплекса биологически важных свойств, в частности антиоксидантной, антимикробной, антикоагулянтной активности [3]. Ранее нами была изучена структура «браун»-продуктов, формирующихся в кислых водно-этанольных системах на основе *D*-лактозы в присутствии *n*-толуидина [4], при этом рассмотрение закономерностей трансформации первичных азотсодержащих продуктов детально проведено не было, в то время как именно начальные стадии меланоидинообразования определяют дальнейшее развитие реакций неферментативного окрашивания в целом. В связи с чем **цель** настоящего исследования – изучение закономерностей протекания и природы продуктов начальных стадий процессов меланоидинообразования в модельной этанольной системе *D*-глюкоза – *n*-толуидин.

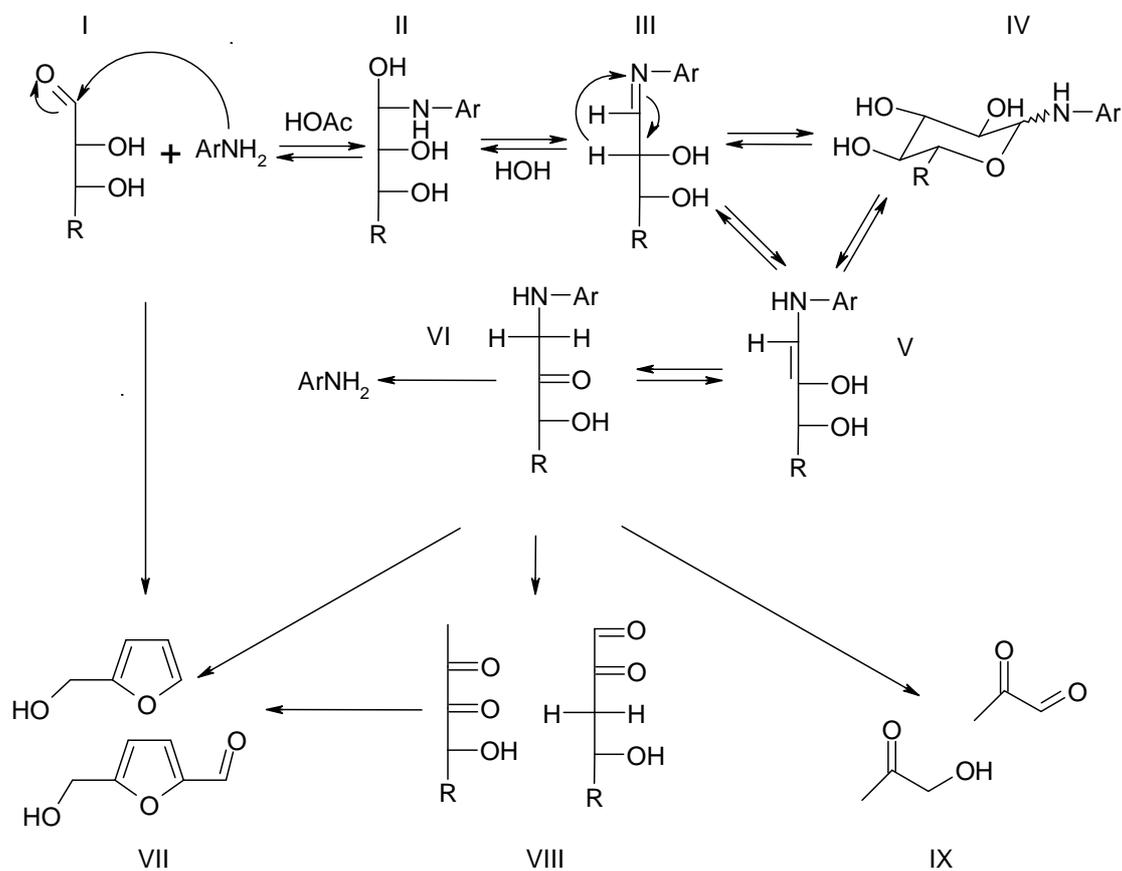
Материалы и методы

В работе использовались реагенты марки «ч.д.а.», процессы в исследуемой системе осуществлялись нагреванием исходных реагентов (0,005 моль, 80⁰С, 3 часа) в подкисленном (ледяная уксусная кислота, 0,2 мл) этанольном растворе (96% этанол, 20 мл) в колбах с обратным холодильником. Контроль за ходом реакций выполнялся методами спектроскопии УФ-области и тонкослойной хроматографии. Электронные спектры разбавленных проб снимались в кварцевых кюветах на спектрофотометре СФ-2000 ($l=1$ см, $\lambda=200-500$ нм). Тонкослойная хроматография проводилась на пластинках Silufol в элюентной системе бутанол–этанол–вода (5:2:1). Антиоксидантная активность определялась железом-тиоцианатным методом, инкубационный период составлял 120 часов, модельные растворы для каждого измерения готовились в виде отдельных проб, степень ингибирования окисления (%) оценивалась по снижению оптической плотности (A_{520}) по отношению к контрольному образцу без добавления исследуемого раствора. Также отдельно

готовились образцы рабочих растворов для диализа, который проводился в течение 12 часов, после чего диализаты фотометрировались. Конечные «браун»-продукты дважды промывались эфиром и высушивались, их ИК-спектры снимались на ИК-Фурье спектрометре ФСМ-2201 в таблетках бромида калия (1:200), дополнительно выполнялся элементный анализ (элементный анализатор «Vario MICRO Cube»).

Результаты и их обсуждение

На основании данных [5] схема amino-карбонильных взаимодействий на ранних стадиях может быть представлена в виде:



Моносахарид I при конденсации с ариламином в присутствии уксусной кислоты дает N-гликозиламин в открытой III или циклической IV форме, претерпевающий последующую перегруппировку Амадори с образованием дезоксиаминокетозы VI. Дальнейшие превращения предполагают элиминирование амина с образованием производных фурана VII, C₅, C₆-редуктонов VIII, либо C₃-редуктонов IX. Впоследствии

происходит постепенное формирование меланоидиновых структур, в том числе с участием аминокомпонентов.

Изучение динамики развития меланоидинообразования показывает нарастание во времени оптической плотности в видимой области и соотношение A_{280}/A_{420} свидетельствует об интенсивном формировании структуры окрашенных продуктов (таблица 1) [6].

Таблица 1

Динамика развития ранних стадий меланоидинообразования в этанольной системе *D*-глюкоза – *n*-толуидин

τ , мин	A_{280}/A_{420}	Ингибирование, %
20	2,5	10,2
50	1,5	38,5
80	1,2	25,2
110	0,8	24,3

Данные тонкослойной хроматографии показывают исчезновение пятна углевода ($R_f=0,30$) уже вначале термостатирования, при этом, несколько смещаясь, остается пятно ариламина ($R_f=0,90$) и появляются пятна конъюгатов и продуктов деструкции ($R_f=0,60-0,80$). Кроме того, наблюдается торможение процессов окисления линолевой кислоты продуктами изучаемых процессов, при этом максимальный процент ингибирования фиксируется для $\tau=50$ минут (таблица 1).

Спектрофотометрический анализ диализатов (рис.1) для каждого значения времени показывает наличие *n*-толуидина ($\lambda_{max}=204, 234, 285-290$ нм [7]) во всех исследованных образцах, при этом его количество в пробах практически постоянно, что может свидетельствовать об отсутствии расхода толуидина в ходе процесса. Кроме того, в спектрах диализатов отсутствуют полосы поглощения, характерные для низкомолекулярных азотсодержащих продуктов реакции Майяра [8], что говорит об образовании кислородсодержащих редуцтонов.

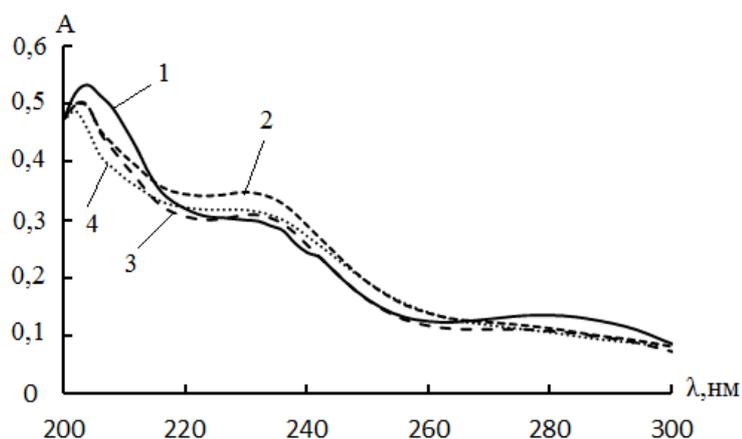
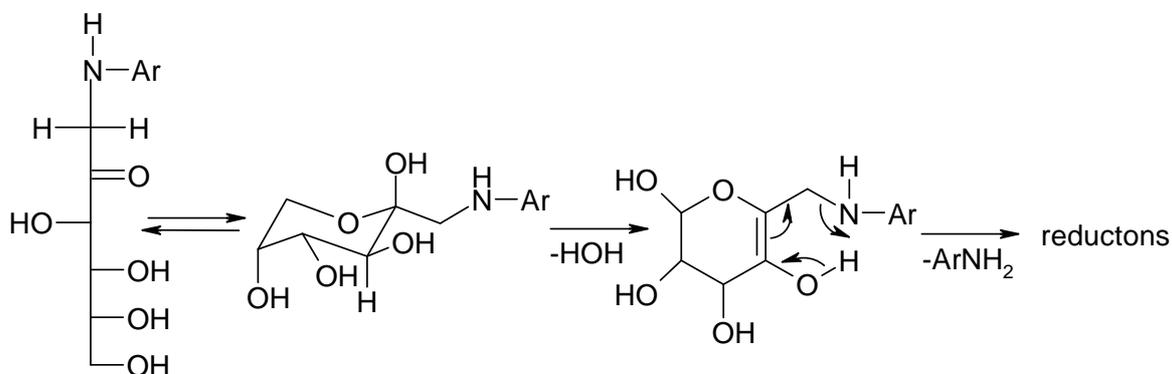


Рисунок 1 – УФ-спектры диализатов в динамике развития реакции Майяра: 1 – 20 мин, 2 – 50 мин, 3 – 80 мин, 4 – 110 мин

Поскольку механизмы дезаминирования дезоксиаминокетоз, традиционно предполагаемые для алифатических производных [9], не реализуются, представляется возможным предположить для исследуемой системы *орто*-элиминирование *n*-толуидина из дегидратированной циклической формы продукта перегруппировки Амадори [4, 10]:



Последующая конденсация толуидина с редуктонами с образованием азотсодержащих фрагментов структуры меланоидинов в принятых условиях незначительна вследствие пониженной реакционной способности ариламинов [5], что предполагает получение конечных «браун»-продуктов с низким содержанием азота (подтверждено данными элементного анализа: С - 62,1%; Н - 7,2%; О - 26,5%; N - 1,3%). Анализ ИК-спектра твердого продукта, выделенного из реакционной системы по окончании

эксперимента, не показывает значительного количества N-арилфрагментов в структуре «браун»-полимера [4,8].

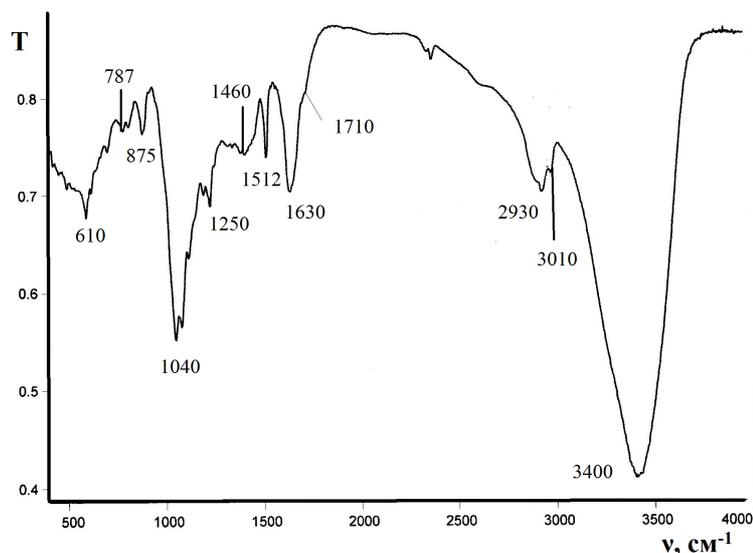
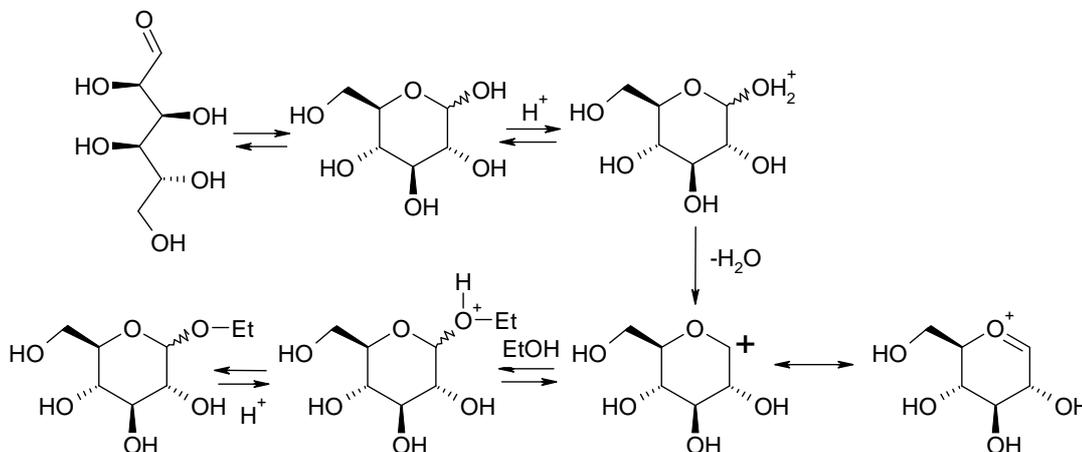


Рисунок 2 - ИК-спектр твердого продукта, выделенного из реакционной системы *D*-глюкоза – *n*-толуидин (KBr 1:200)

Дополнительно исследовалась возможность протекания в условиях эксперимента прямой деструкции *D*-глюкозы (I→VII), при этом показано, что процесс карамелизации подавлен: значения A_{420} не превышают 0,005 при термостатировании свободного от ариламина раствора глюкозы в течение трех часов. Можно предположить, что торможение этанолом превращений углеводов в отсутствие амина реализуется вследствие возможности протекания процесса *O*-гликозирования с образованием устойчивых к дециклизации этилгликозидов:



что позволяет отнести изученные эффекты к процессам меланоидинообразования [1].

Таким образом, проведенные исследования подтверждают протекание amino-карбонильных взаимодействий в изученной системе через стадии образования и деградации продукта Амадори, но, в отличие от систем с алифатическими аминами, значительная часть *n*-толуидина элиминируется на ранних стадиях процесса и впоследствии в формировании структуры продуктов практически не участвует. Данный экспериментальный факт может служить основанием для предположения об отсутствии протекания процессов формирования азотсодержащих конечных продуктов, обладающих мутагенными свойствами [11], что может быть использовано в технологии переработки углеводного сырья с целью получения «браун»-полимеров с биологически важными для сельскохозяйственной продукции характеристиками.

Литература

1. Shen, S.-C. Maillard browning in ethanolic solution / S.-C. Shen, J.S.-B. Wu // J. Food Sci. - 2004. - Vol. 69(4). - P. 273–279. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb06328.
2. Shen, S.-C. An analysis of Maillard reaction products in ethanolic glucose-glycine solution / S.-C. Shen, K.-C. Tseng, J.S.-B. Wu // Food Chem. - 2007. - Vol. 102(2). – P. 281–287. DOI:10.1016/j.foodchem.2006.05.018
3. Gu, F.-L. Structure and antioxidant activity of high molecular weight Maillard reaction products from casein–glucose / F.-L. Gu, J.-M. Kim, S. Abbas and others // Food chem. - 2010. - Vol. 120(2). - P. 505–511. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.10.044
4. Черепанов, И.С., Изучение диализуемых меланоидиновых фракций водно-этанольных систем *D*-лактоза – ариламин / И.С. Черепанов, Г.М. Абдуллина // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. - 2017. - Т. 17(2). - С. 181–184. DOI: 10.21285/2227-2925-2017-7-2-181-184
5. Yaylayan, V. Classification of the Maillard reaction: A conceptual approach / V. Yaylayan // Trends Food Sci. Technol. - 1997. - Vol. 8(1). - P.13–18. DOI: 10.1016/S0924-2244(96)20013-5
6. Benjakul, S. Antioxidative activity of caramelization products and their preventive effect on lipid oxidation in fish mince / S. Benjakul, W. Visessanguan, V. Phongkanpai // Food Chem. – 2005. – Vol. 90(2). – P. 231-239. DOI: 10.1016/J.foodchem.2004.03.045
7. Trivedi, M. Characterization of physical, thermal and spectroscopic properties of biofield energy treated *p*-phenylenediamine and *p*-toluidine / M. Trivedi, A. Branton, D. Trivedi and other // J. Environ. Anal. Toxicol. – 2015. – Vol. 5(6): 329. DOI: 10.4172/2161-0525.1000329

8. Sonobe, H. Formation of 1-butyl-5-hydroxymethylpyrrole-2-carboxaldehyde in the Maillard reaction between lactose and n-butylamine / H Sonobe, H. Kato, M. Fujimaki // *Agric. Biol. Chem.* – 1977. – Vol. 41(3). – P. 609–610. DOI: 10.1271/bbb1961.41.609.
9. Patzold, R. Mass spectrometric detection and formation of *D*-amino acids in processed plant saps, syrups, and fruit juice concentrates / R. Patzold, H. Bruckner // *J. Agric. Food Chem.* - 2005. - Vol. 53(25). - P.9722–9729. DOI: 10.1021/jf051433u
10. Yaylayan, V. Stereochemical control of maltol formation in Maillard reaction / V. Yaylayan, S. Mandeville // *J. Agric. Food Chem.* - 1994. - Vol. 42(3). P.771–775. DOI: 10.1021/jf00039a034
11. Wu, M.-C. The formation of IQ type mutagens from Maillard reaction in ethanolic solution / M.-C. Wu, C.-Y. Ma, C.-C. Yang and others // *Food Chem.* - 2011. - Vol. 125(2). - P.582–587. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.08.067

References

1. Shen, S.-C. Maillard browning in ethanolic solution / S.-C. Shen, J.S.-B. Wu // *J. Food Sci.* - 2004. - Vol. 69(4). - P. 273–279. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb06328.
2. Shen, S.-C. An analysis of Maillard reaction products in ethanolic glucose-glycine solution / S.-C. Shen, K.-C. Tseng, J.S.-B. Wu // *Food Chem.* - 2007. - Vol. 102(2). – P. 281–287. DOI:10.1016/j.foodchem.2006.05.018
3. Gu, F.-L. Structure and antioxidant activity of high molecular weight Maillard reaction products from casein–glucose / F.-L. Gu, J.-M. Kim, S. Abbas and others // *Food chem.* - 2010. - Vol. 120(2). - P. 505–511. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.10.044
4. Cherepanov, I.S. Izucheniye dializuemyh melanoidinovyh fraktsij vodno – etanol'nyh sistem *D*-laktoza – *p*-toluidin / I.S.Cherepanov, G.M. Abdullina // *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya.* - 2017. - Vol. 17(2). - P. 181-184. DOI: 10.21285/2227-2925-2017-7-2-181-184
5. Yaylayan, V. Classification of the Maillard reaction: A conceptual approach / V. Yaylayan // *Trends Food Sci. Technol.* - 1997. - Vol. 8(1). - P.13–18. DOI: 10.1016/S0924-2244(96)20013-5
6. Benjakul, S. Antioxidative activity of caramelization products and their preventive effect on lipid oxidation in fish mince / S. Benjakul, W. Visessanguan, V. Phongkanpai and others // *Food Chem.* – 2005. – Vol. 90(2). – P. 231-239. DOI: 10.1016/J.foodchem.2004.03.045
7. Trivedi, M. Characterization of physical, thermal and spectroscopic properties of biofield energy treated *p*-phenylenediamine and *p*-toluidine / M. Trivedi, A. Branton, D. Trivedi and others // *J. Environ. Anal. Toxicol.* – 2015. – Vol. 5(6): 329. DOI: 10.4172/2161-0525.1000329
8. Sonobe, H. Formation of 1-butyl-5-hydroxymethylpyrrole-2-carboxaldehyde in the Maillard reaction between lactose and n-butylamine / H Sonobe, H. Kato, M. Fujimaki // *Agric. Biol. Chem.* – 1977. – Vol. 41(3). – P. 609–610. DOI: 10.1271/bbb1961.41.609.
9. Patzold, R. Mass spectrometric detection and formation of *D*-amino acids in processed plant saps, syrups, and fruit juice concentrates / R. Patzold, H. Bruckner // *J. Agric. Food Chem.* - 2005. - Vol. 53(25). - P.9722–9729. DOI: 10.1021/jf051433u
10. Yaylayan, V. Stereochemical control of maltol formation in Maillard reaction / V. Yaylayan, S. Mandeville // *J. Agric. Food Chem.* - 1994. - Vol. 42(3). P.771–775. DOI: 10.1021/jf00039a034
11. Wu, M.-C. The formation of IQ type mutagens from Maillard reaction in ethanolic solution / M.-C. Wu, C.-Y. Ma, C.-C. Yang and others // *Food Chem.* - 2011. - Vol. 125(2). - P.582–587. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.08.067