

УДК 547.1:577.1

И. С. Черепанов

Удмуртский государственный университет  
426034 РФ, Ижевск, Университетская, 1

## СТРУКТУРА И АНТИОКИСЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОДУКТОВ РЕАКЦИИ НЕФЕРМЕНТАТИВНОГО ОКРАШИВАНИЯ В СИСТЕМЕ D-ЛАКТОЗА — Л-АМИНОБЕНЗОЙНАЯ КИСЛОТА — CU (II)

© И. С. Черепанов, 2017

Представлены результаты исследований по изучению закономерностей формирования структуры и антиокислительной активности продуктов реакции неферментативного окрашивания в водно-этанольной системе D-лактоза — л-аминобензойная кислота в присутствии ионов меди (II). Предположено, что в условиях эксперимента формируются структуры, имеющие в основе ациклические цепи с сопряженными системами кратных связей, на модели ингибирования реакции окисления линолевой кислоты показана их антиоксидантная активность.

**Ключевые слова:** D-лактоза, л-аминобензойная кислота, неферментативное окрашивание, антиокислительная активность, медь (II).

### Введение

Углевод-аминные реакции неферментативного окрашивания, являясь широко распространенной в природе группой процессов, протекают в присутствии ионов различных металлов в таких случаях как формирование гумуса почв и ряда органических ископаемых, образующиеся при этом продукты часто обладают значительным физиологическим действием. Кроме того, наличие макро- и микроэлементов в пищевых системах позволяет предположить возможность их прямого действия на процессы амино-карбонильных конденсаций, что может играть важную роль в технологии продуктов питания. Ионы металлов могут проявлять комплекс различных свойств на разных стадиях реакции неферментативного окрашивания, в том числе окислять N-гликозиламины и дезоксиаминокетозы, а также их производные, катализировать далее реакции окисленных форм. Кроме того, рассматривается возможность связывания ионов металлов меланоидинами, вероятно, за счет образования комплексов. Однако механизм взаимодействия металлов с промежуточными продуктами сахар-аминных реакций остается не до конца ясным, главным образом вследствие того, что структура конечных «браун»-продуктов как правило не известна в деталях [1]. При этом в большинстве посвященных изучаемой проблеме публикаций не приводится информация о влиянии ионов металлов на протекание «браун»-процессов и свойствах образующихся продуктов в смешанных растворителях, а также использовании в качестве реагентов биологически активных ариламинокомпонентов, что подтверждает актуальность исследований в данном направлении.

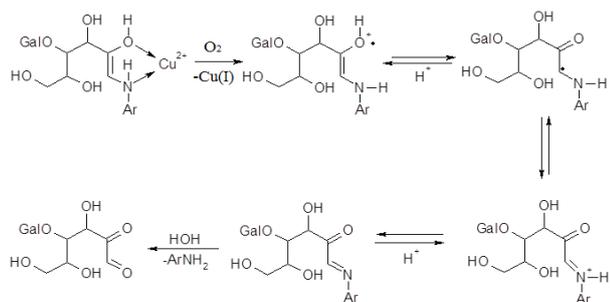
### Материалы и методы эксперимента

Для изучения процессов формирования структуры продуктов реакции в присутствии ионов меди (II) и синтеза «браун»-продуктов смесь эквимольных (0,002 моль) количеств D-лактозы и л-аминобензойной

кислоты (ПАБК) растворяли в 20 мл этанола (62% EtOH) и добавляли заданный объем этанольного раствора хлорида меди (II) для создания концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$  в растворе равной 120 мг/дм<sup>3</sup>. Реакционную систему термостатировали в колбе с обратным холодильником в бане с водяным нагревом при  $t = 80^\circ\text{C}$ , в ходе реакции через заданные промежутки времени отбирали микропробы, которые разбавляли и фотометрировали в кварцевых кюветах ( $l = 1$  см, спектрофотометр СФ-2000) в интервале длин волн 200–650 нм. По окончании измерений к раствору добавляли равный объем диэтилового эфира и оставляли реакционную смесь для кристаллизации, после чего высушивали и снимали ИК-спектры твердых продуктов (ИК-Фурье спектрометр ФСМ-2201). Антиоксидантную активность определяли железотиоцианатным методом [2] при  $40^\circ\text{C}$  в реакции окисления линолевой кислоты в водно-этанольной среде в присутствии растворов «браун»-продуктов, в качестве стандарта использовали  $\alpha$ -токоферол. Количественное определение меди в конечных продуктах оценивали рентгено-флуоресцентным методом («Спектроскан Макс-GV»).

### Обсуждение результатов

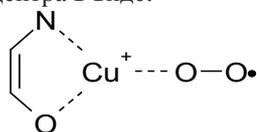
Проведенные ранее исследования позволили обнаружить каталитическую активность ионов меди и предложить обоснование начальных стадий амино-карбонильных взаимодействий в модельной системе D-лактоза — аминокомпонент в присутствии ионов Cu (II) [1], при этом было показано, что результатом первичных превращений продукта перегруппировки Амадори является 1,2-дикарбонильное производное лактозы, способное к образованию редуктонов. Аналогично может быть представлен механизм окисления N-гликозиламинов, в случаях, когда перегруппировка Амадори затруднена вследствие низкой основности ариламина:



Дальнейшие представления о развитии изучаемых процессов могут быть получены посредством анализа экспериментальных данных, полученных в изучаемой модельной системе.

Данные количественного элементного анализа малое содержание меди (<0,5%) в конечных продуктах, что свидетельствует об отсутствии способности «браун»-полимеров к связыванию ионов металла в процессе синтеза. Последний вывод не противоречит литературным данным о высокой хелатирующей способности меланоидинов, поскольку результаты исследований по комплексообразованию относятся к реакциям взаимодействия ионов  $M^{n+}$  с уже готовыми «браун»-продуктами при невысоких температурах, в то время как при повышенных температурах устойчивость комплексов существенно снижается. Введение в реакцию систему ионов Cu (II) через 30 мин после термостатирования раствора при 80 °C не показывает ускорения реакции (измеренные значения оптической плотности  $A_{420}$  остаются на одном уровне), что также может быть связано с обратной температурной зависимостью устойчивости комплексов.

Механизм первой стадии, включающей одновременное участие кислорода и ионов меди (II) является, вероятно, наиболее проблемным, дополнительно осложняющийся малой изученностью комплексообразования в водно-этанольных средах; имеющиеся к настоящему времени немногочисленные данные показывают, что основную роль играют сольватационные эффекты. Данные об участии кислорода в окислении на начальных стадиях превращений аминоконъюгатов в присутствии меди в кислой среде приводятся авторами [3], предполагающими структуру енаминольного реакционного центра в виде:



Вероятно, происходит электронный перенос, в котором ион металла играет роль мостика. ИК-спектры «браун»-продуктов, выделяемых из изучаемой реакционной системы при различной продолжительности проведения реакции содержат большое число полос, часть из которых не поддается расшифровке, при этом анализ спектров показывает наличие тонкой структуры полос пропускания в области 980–1100  $cm^{-1}$ , отвечающей колебаниям углеводных колец (рис. 1. А), что свидетельствует о наличии последних в структуре «браун»-полимеров [4], а также отсутствие по-

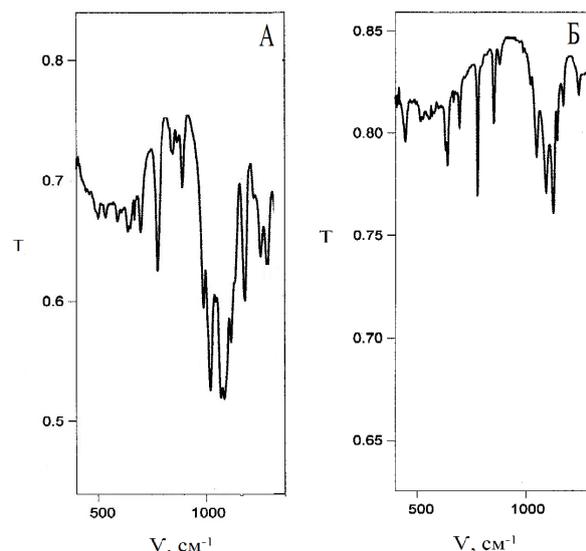
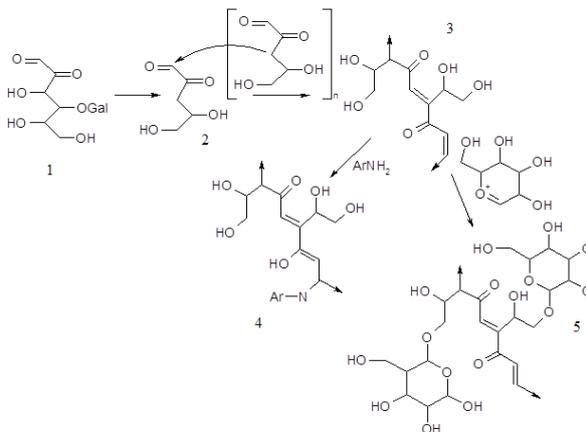


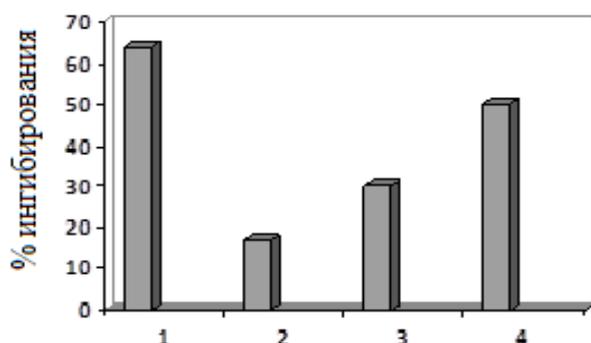
Рис. 1. Фрагменты ИК-спектров «браун»-продуктов, выделенных из системы D-лактоза — ПАБК — Cu (II) при различной продолжительности синтеза (KBr, 1:200): А — 80 мин; Б — 120 мин.

лос колебаний связей металл — кислород в области 500–570  $cm^{-1}$ , что подтверждает данные элементного анализа.

На основании представленного экспериментального материала формирование структуры «браун»-полимеров в изучаемой системе может быть представлено следующим образом: лактозон (1) претерпевает окислительную деструкцию с образованием 3-дезоксопентазона (2) [5], после чего имеет место альдольно-кетоновая конденсация, приводящая к образованию продуктов [6], содержащих сопряженные системы кратных связей (3). Дальнейшие процессы возможны в направлении образования продуктов аминирования (4), что менее вероятно по причине низких нуклеофильных свойств атома азота ПАБК, или гликозирования (5) [6]:



Со временем интенсивность группы полос колебаний  $\nu_{C-O-C}$  несколько снижается (рис. 1. Б), что может свидетельствовать о трансформации гликозидных колец, сопровождающееся дальнейшим усложнением структуры, элементы которой трудно идентифицируются, но в общем случае можно утверждать, что фор-



**Рис. 2.** Уровень ингибирования процессов окисления линолевой кислоты «браун»-продуктами: 1. —  $\alpha$ -токоферол; 2, 3, 4 — «браун»-полимеры, синтезированные в течение 120, 160 и 220 мин соответственно

мирующаяся структура вследствие существенной неопределенности должна обладать высокой антиокислительной активностью, что было показано в реакции окисления линолевой кислоты железом-тиоцианатным методом (рис. 2).

Данные рис. 2 свидетельствуют об увеличении степени торможения «браун»-полимерами реакции радикального окисления по мере развития процессов неферментативного окрашивания (роста молекулярной массы) и приближается по показателям уровня ингибирования к известным антиоксидантам.

#### Выводы

1. Представлены результаты исследований по изучению закономерностей формирования структуры и антиокислительной активности продуктов реакции неферментативного окрашивания в водно-этанольной

системе *D*-лактоза — *p*-аминобензойная кислота в присутствии ионов меди (II).

2. Предположено, что в условиях эксперимента в результате процессов конденсации формируются структуры, имеющие в основе ациклические цепи с сопряженными системами кратных связей, при этом ионы меди (II), катализируя свободно-азрируемое окисление аминоконъюгатов, в состав конечных продуктов не входят.

3. На модели ингибирования реакции окисления линолевой кислоты показана антиоксидантная активность «браун»-полимеров, возрастающая по мере роста их молекулярной массы и близкая по значениям к известным антиоксидантам.

#### Список литературы (References)

1. Ramonaityte D., Kerstiene M., Adams A. et al. The interaction of metal ions with Maillard reaction products in a lactose-glycine model system // *Food Res. Int.* 2009. Vol. 42. Pp. 331–336.
2. Osawa T., Namiki M. A novel type of antioxidant isolated from leaf wax of Eucalyptus leaves // *Agric. Biol. Chem.* 1981. Vol. 45. Pp. 735–739.
3. Hoffmann T., Schieberle P. Formation of aroma-active Strecker-aldehydes by a direct oxidative degradation of Amadori compounds // *J. Agric. Food Chem.* 2000. Vol. 48. Pp. 4301–4305.
4. Gu F-L., Kim J. M., Abbas S. et al. Structure and antioxidant activity of high molecular weight Maillard reaction products from casein — glucose // *Food Chem.* 2010. Vol. 120. Pp. 505–511.
5. Smuda M., Glomb M. Fragmentation pathways during Maillard-induced carbohydrate degradation // *J. Agric. Food Chem.* 2013. Vol. 61. Pp. 10198–10208.
6. Cammerer B., Jalyschko W., Kroh L. Intact carbohydrate structures as part of melanoidin skeleton // *J. Agric. Food Chem.* 2002. Vol. 50. Pp. 2083–2087.

#### I. S. Cherepanov

Udmurt State University  
426034 Russia, Izhevsk, Universitetskaya str., 1

#### STRUCTURE AND ANTIOXIDANT ACTIVITY NONENZYMATIC BROWNING PRODUCTS FORMED IN *D*-LACTOSE — *p*-AMINOBENZOIC ACID–*Cu* (II) SYSTEM

Results on studying of structure formation regularities and antioxidant activity of nonenzymatic browning products in aqueous-ethanolic *D*-lactose — *p*-aminobenzoic acid system in the presence of copper (II) ions are presented. It is assumed that in experimental conditions the acyclic structures with conjugated systems of multiple bonds are formed; on reaction of linoleic acid oxidation their antioxidant activity is shown.

**Key words** *D*-lactose, *p*-aminobenzoic acid, nonenzymatic browning, antioxidant activity, copper (II) ions.