

УДК 664.11:547.97

И. С. Черепанов, К. А. Сергеева

Процессы меланоидинообразования в этанольных системах моносахарид – ариламин – медь (II)

Представлены результаты исследований по изучению закономерностей меланоидинообразования при взаимодействии *D*-глюкозы и *D*-ксилозы с *n*-аминобензойной кислотой (ПАБК) в кислых спиртовых средах; особенностью выбранных тройных систем является, во-первых, наличие малоактивного аминокомпонента бензольного ряда, во-вторых, присутствие каталитических количеств биогенного металла. Закономерности формирования структуры меланоидинов из подобных систем практически не изучены, при этом для них прогнозируются важные биологические свойства, что требует исследования кинетики реакций и разработки методик их направленного синтеза. Изучение проводилось синтетическими методами в совокупности с методикой отбора проб со спектрофотометрической регистрацией и привлечением ИК-спектроскопии. На основании анализа электронных спектров показано более интенсивное меланоидинообразование в случае реакции с *D*-ксилозой, что может быть связано как со стерическими факторами, так и со способностью альдопентоз давать на промежуточных стадиях более реакционно способные интермедиаты по сравнению с альдогексозами. Подтверждена ускоряющая роль ионов меди (II) в качестве комплексообразующего центра, катализирующего как образование, так и распад промежуточных продуктов реакции на разных стадиях, наряду с этим ускоряющее действие заметно проявляется, начиная с концентраций ионов меди около 60 мг/л, в то же время степень хелатирования меди (II) конечными продуктами относительно низкая. Отмечен эффект растворителя, в частности влияние этанола на характер амино-карбонильных взаимодействий, проявляющееся в усилении тенденции углеводов к рециклизации, что также, вероятно, ускоряет процессы меланоидинообразования. Установлено, что процент параллельно протекающих процессов прямой деструкции углеводов (карамелизации) в выбранных условиях незначителен, это позволяет на базе проведенных исследований разработать методики синтеза целевых меланоидиновых продуктов.

Ключевые слова: *D*-глюкоза, *D*-ксилоза, *n*-аминобензойная кислота, этанольные среды, медь (II), меланоидинообразование, карамелизация.

Введение

Амино-карбонильные взаимодействия являются основой группы биологически важных процессов пищевой технологии известных как меланоидинообразование и изучаются в различных аспектах уже более ста лет, при этом происходит постоянное появление и последующее развитие новых направлений исследований, позволяющих существенно расширить как теоретические, так и прикладные представления о закономерностях формирования структуры и свойствах меланоидинов. Одним из таких направлений является сформировавшееся в 60-х гг. XX в. изучение сахар-аминных реакций в присутствии ионов биогенных металлов. К настоящему моменту получены данные как по кинетике взаимодействия, так и по структуре промежуточных и конечных продуктов, в то же время разными авторами зачастую представляются противоречивые выводы. Кроме того, большинство опубликованных работ посвящены исследованию меланоидинообразования в модельных водных системах на основе углеводов и алифатических аминокислот, в связи с чем представляется интересным изучить поведение сахар-аминных систем в присутствии ионов металлов в неводных средах, выбрав вместе с тем биоактивные ароматические амины в качестве реагентов, на основе которых могут быть синтезированы меланоидиновые продукты с ценными физиологическими свойствами.

Материалы и методы

Реагенты для исследований применялись марок "ч.д.а." и "х.ч.", в качестве растворителя использовался неабсолютированный этанол, эксперимент проводился нагреванием этанольных систем углеводов – ПАБК эквимольного состава (0,002 моль, 62–96 % EtOH, 80 °C) в присутствии ионов меди (II), при этом во всех реакционных системах создавалась концентрация $C(\text{Cu}^{2+}) = 100$ мг/л, кроме изучения зависимости $A = f(C_{\text{Cu}})$. Термостатирование проводилось в колбах с водяным обогревом и обратным холодильником [1], через определенные промежутки времени отбирались микропробы (0,2 мл), которые разбавлялись в мерных колбах, в кварцевых кюветах регистрировались спектры поглощения в УФ- и видимой областях спектрального диапазона (спектрофотометр СФ-2000, $l = 1$ см). ИК-спектры твердых образцов, выделяемых из реакционных систем, снимались в таблетках KBr (1 : 200) на ИК-Фурье спектрометре ФСМ-2201, количественное определение меди в твердых образцах проводилось на рентгено-флуоресцентном спектрометре "Спектроскан МАКС-GV".

Результаты и обсуждение

Визуальные наблюдения показывают заметное протекание "браун"-реакций уже через 50 минут после начала эксперимента, тогда как не содержащие ионов меди углеводов-аминные системы не дают окрашивания даже при нагревании в течение двух часов [1]. Электронные спектры, снятые при изучении реакций в системе *D*-глюкоза – ПАБК – Cu(II), показывают нарастание интенсивности поглощения как в УФ-области (рис. 1), так и в видимой части спектра (рис. 2).

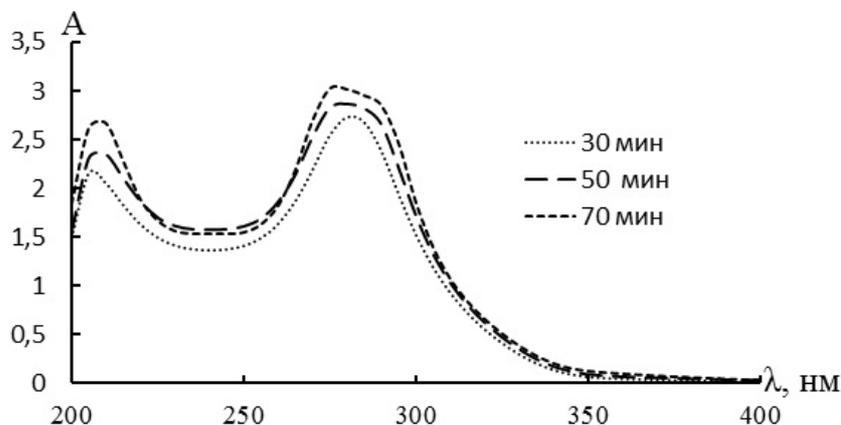


Рис. 1. Спектры поглощения реакционной системы на основе *D*-глюкозы в УФ-области, снятые при различной продолжительности термостатирования

Fig. 1. Absorption UV-spectra of reactive *D*-glucose-containing model system recorded at various heating duration

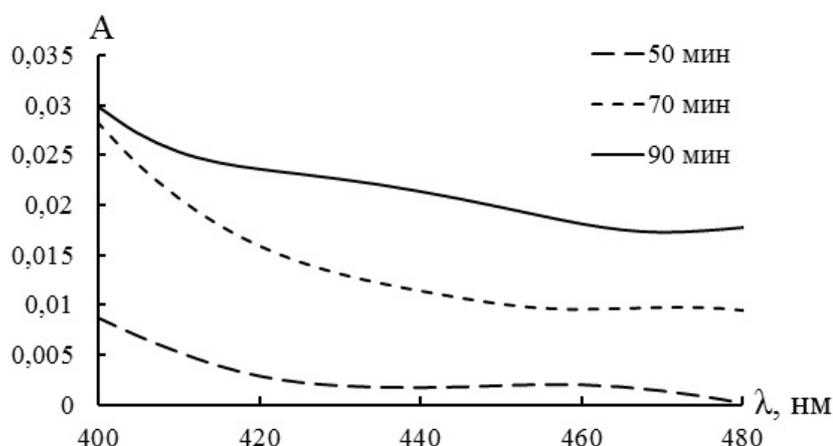


Рис. 2. Спектры поглощения реакционной системы на основе *D*-глюкозы в видимой области, снятые при различной продолжительности термостатирования

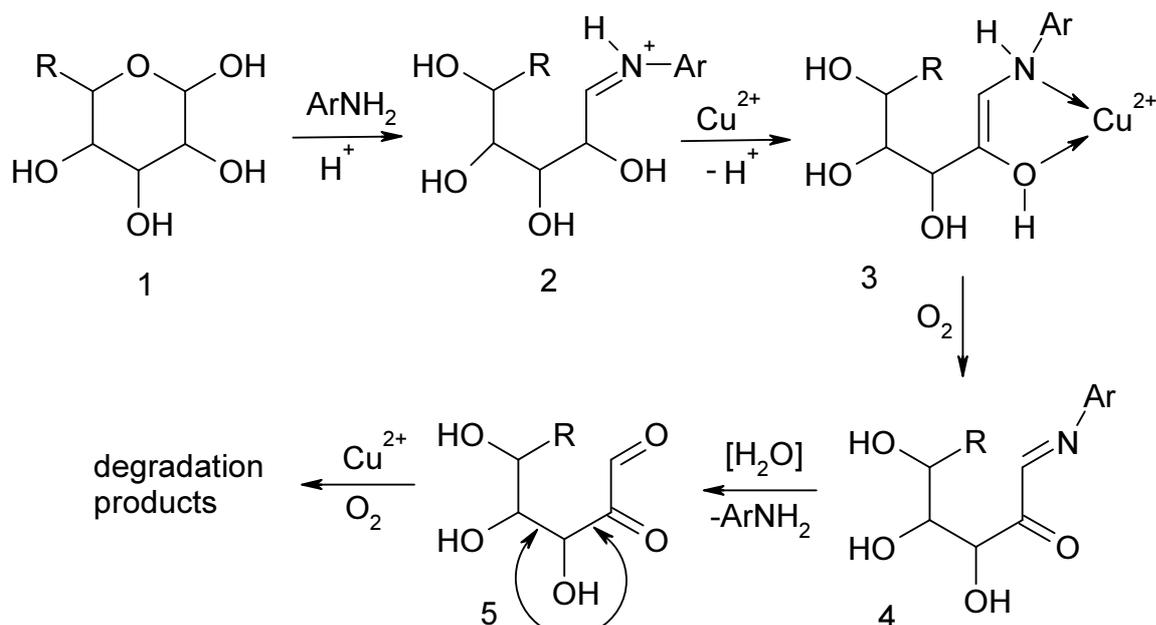
Fig. 2. Absorption visible spectra of reactive *D*-glucose-containing model system recorded at various heating duration

Характерное для конечных стадий меланоидинообразования поглощение при длинах волн около 420 нм усиливается с ростом продолжительности термостатирования и кроме того, с увеличением содержания ионов меди (II) в растворе (таблица), причем заметное ускорение наблюдается при концентрациях Cu^{2+} около 60 мг/л и выше.

Таблица. Изменение оптической плотности в зависимости от концентрации меди (II)
 Table. Optical density as function of copper (II) ions concentration

C_{Cu} , мг/л	20	40	60	80	100	120
$A_{420} (t = 70 \text{ мин})$	–	–	0,010	0,014	0,015	0,030
$A_{420} (t = 90 \text{ мин})$	–	–	0,012	0,020	0,027	0,040

Общая схема процессов взаимодействия альдоз ($R \equiv -H, -CH_2OH$) с ариламинами в кислых этанольных средах может быть представлена в следующем виде:



Альдоза (1) при первичном взаимодействии образует гликозиламин, находящийся в равновесии с протонированным основанием Шиффа (2), при этом предполагается, что этанол в системе способствует образованию реакционноспособных открытых форм углеводов, чем и объясняют его ускоряющее действие [2]; далее, вероятно, происходит развивающийся процесс координации ионов меди (II) с последующим окислением енаминольных комплексов (3 \rightarrow 4) и элиминированием амина, приводящим к образованию альдозона (5) [3, р. 294]. Дальнейшие превращения продолжаются ретро-альдольным распадом по связям, указанным на схеме стрелками, который, возможно, также координативно катализируется ионами меди (II). При проведении реакции с *D*-ксилозой в качестве субстрата отмечается более интенсивное протекание процессов (рис. 3, 4), нежели с *D*-глюкозой.

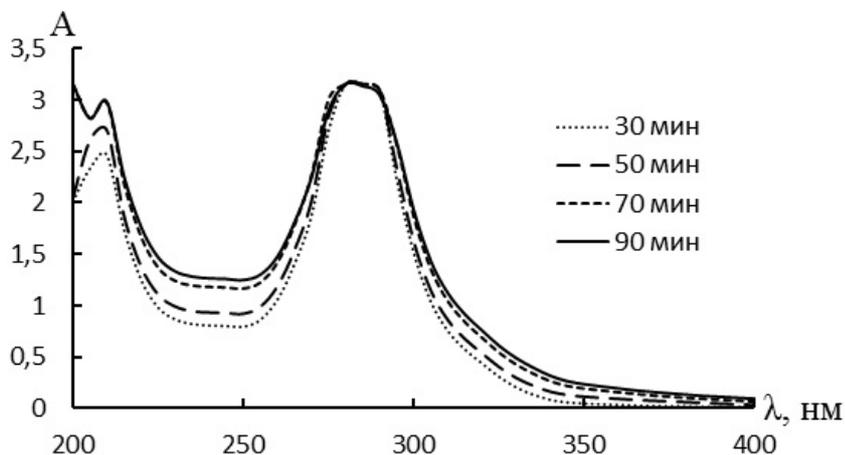


Рис. 3. Спектры поглощения реакционной системы на основе *D*-ксилозы в УФ-области, снятые при различной продолжительности термостатирования

Fig. 3. Absorption UV-spectra of reactive *D*-xylose-containing model system recorded at various heating duration

Как видно из рис. 3, образование неокрашенных продуктов ранних стадий меланоидинообразования ($\lambda = 290$ нм) к моменту первого отбора проб практически заканчивается, в то же время интенсифицируется образование (рис. 4) окрашенных продуктов ($\lambda = 420$ нм). Более четко поведение изученных систем отражается изменением во времени отношения значений поглощения, характеризующих ранние и поздние

стадии (рис. 5): пологая кривая для системы на основе *D*-ксилозы показывает наличие более интенсивной "браун"-полимеризации.

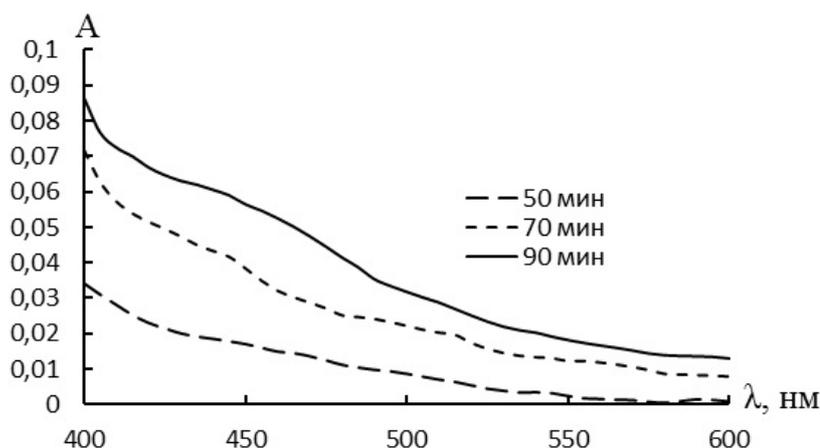


Рис. 4. Спектры поглощения реакционной системы на основе *D*-ксилозы в видимой области, снятые при различной продолжительности термостатирования

Fig. 4. Absorption visible spectra of reactive *D*-xylose-containing model system recorded at various heating duration

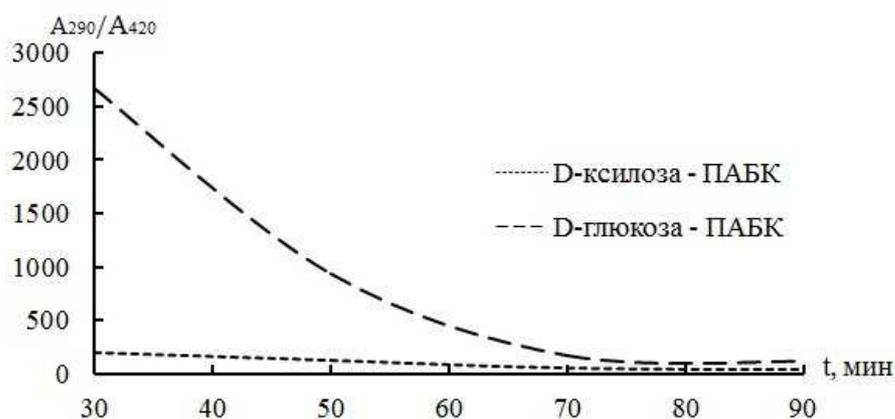


Рис. 5. Изменение отношения A_{290}/A_{420} при увеличении продолжительности нагревания

Fig. 5. Absorption ratio A_{290}/A_{420} as function of heating duration

Влияние природы углеводов на закономерности протекания amino-карбонильных взаимодействий зачастую носит сложный характер, но общая тенденция изменения реакционной способности показывает большую активность альдопентоз. Причины, обуславливающие повышенную активность ксилоты по сравнению с глюкозой, достаточно сложные, и по-видимому, не сводятся к способности альдопираноз к рециклизации [2]. Более вероятными являются предположения о стерических затруднениях, создаваемых метилольным заместителем ($R \equiv -CH_2OH$) в альдегексах [4], а также о способности альдопентоз к образованию более активных промежуточных продуктов [5], наряду с этим дополнительно рассматривается вопрос об участии последних в параллельно протекающих процессах карамелизации [6]. Данные относительно процента реализации прямой термической деструкции углеводов в водных средах в зависимости от их кислотности, полученные разными авторами, существенно разнятся; в частности, для водных растворов фруктозы процент карамелизации составляет 10–36 % по данным [6] и 25–43 % по данным [5]. Проведенные нами исследования показали, что в отсутствие амина углеводы практически не подвергаются прямой деструкции в кислых этанольных растворах даже в присутствии ионов меди (II): значение A_{420} при термостатировании в течение двух часов не превышало 0,002. Полученные данные подтверждаются исследованиями [2], авторы которых сообщают об ингибировании этанолом карамелизации *D*-глюкозы, объясняя это последовательным образованием *O*-этил- β -*D*-альдопиранозидов, избегая реакционноспособных 3-дезоксальдозонов.

ИК-спектры твердых "браун"-продуктов, выделенных из реакционных систем как на основе глюкозы, так и на основе ксилоты по окончании измерений, имеют большое количество полос (рис. 6), что затрудняет

полную интерпретацию спектров. Их анализ показывает отсутствие четких сигналов, отвечающих колебаниям связей Cu – N (Cu – O), при этом о низкой хелатирующей способности формирующихся в выбранных условиях меланоидиновых продуктов свидетельствуют данные количественного определения.

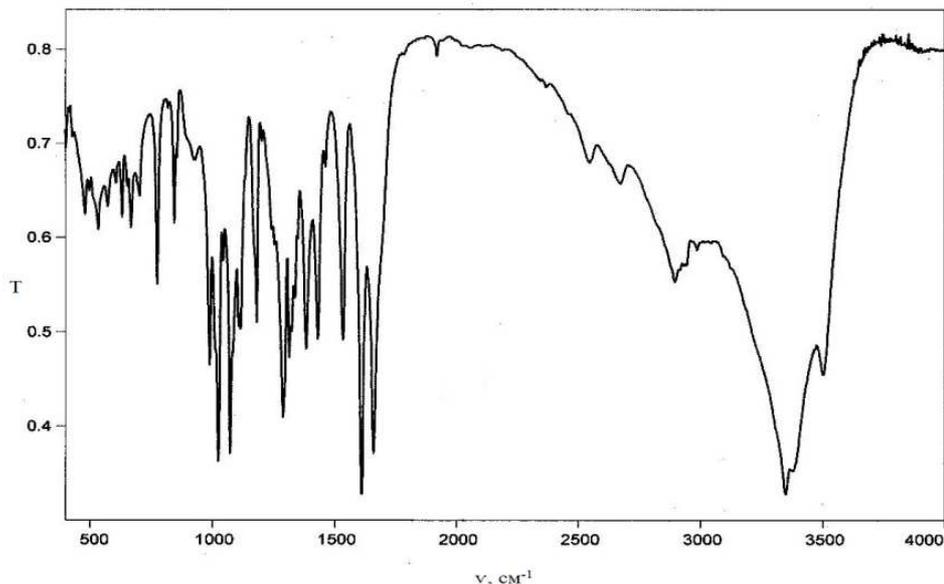


Рис. 6. ИК-спектр продукта, выделенного из тройной системы на основе *D*-глюкозы (KBr, 1 : 200)
 Fig. 6. FTIR-spectrum of the product extracted from *D*-glucose-containing model system (KBr pellet, 1 : 200)

Пониженная склонность к связыванию комплексообразователя объясняется отсутствием в формирующейся структуре "браун"-полимеров аминокарбоксильных фрагментов, характерных для алифатических α -аминокислот и обладающих повышенной хелатирующей способностью.

Заключение

Представлены результаты исследований по изучению закономерностей меланоидинообразования при взаимодействии *D*-глюкозы и *D*-ксилозы с *n*-аминобензойной кислотой (ПАБК) в кислых спиртовых средах. Изучение проводилось синтетическими методами в совокупности с методикой отбора проб с оптической регистрацией и привлечением ИК-спектроскопии.

На основании анализа электронных спектров показано более интенсивное меланоидинообразование в случае реакции с *D*-ксилозой, что может быть связано как со стерическими факторами, так со способностью альдопентоз давать на промежуточных стадиях более реакционно способные интермедиаты по сравнению с альдогексозами.

Подтверждена ускоряющая роль ионов меди (II) в качестве комплексообразующего центра, катализирующего как образование, так и распад промежуточных продуктов реакции на разных стадиях, при этом ускоряющее действие заметно проявляется, начиная с концентраций ионов меди около 60 мг/л, в то время как степень хелатирования меди (II) конечными продуктами относительно низкая.

Отмечен эффект растворителя, в частности влияние этанола на характер амино-карбонильных взаимодействий, проявляющееся в усилении тенденции углеводов к рециклизации, что также, вероятно, ускоряет процессы меланоидинообразования. Установлено, что процент параллельно протекающих процессов прямой деструкции углеводов (карамелизации) в выбранных условиях незначителен, это позволяет на базе проведенных исследований разработать методики синтеза целевых меланоидиновых продуктов.

Библиографический список

1. Черепанов И. С., Трубачев А. В., Абдуллина Г. М. Амино-карбонильные взаимодействия углеводов с замещенными ароматическими аминами // Химическая физика и мезоскопия. 2016. Т. 18, № 2. С. 310–315.
2. Shen S.-C., Wu J.S.-B. Maillard browning in ethanolic solution // Journal of Food Science. 2004. V. 69, N 4. P. 273–279.
3. Chemical and functional properties of food saccharides / ed. P. Tomasik. New York : CRC Press LLC. 2004. 399 p.

4. Jing H., Kitts D. Antioxidant activity of sugar-lysine Maillard products in cell free and cell culture systems // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2004. V. 429, N 1. P. 154–163.
5. Del Pilar Buera M., Chirife G., Resnik S.-L. et al. Nonenzymatic browning in liquid model system of high water activity: kinetics of color changes due to Maillard's reaction between different single sugars and glycine and comparison with caramelization browning // *Journal of Food Science*. 1987. V. 52, N 4. P. 1063–1067.
6. Ajandouz E. H., Tchiakpe L. S., Dalle Ore F. et al. Effect of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics in fructose-lysine model systems // *Journal of Food Science*. 2001. V. 66, N 7. P. 926–931.

References

1. Cherepanov I. S., Trubachev A. V., Abdullina G. M. Amino-karbonilnyie vzaimodeystviya uglevodov s zameschennymi aromaticheskimi aminami [Amino-carbonyl carbohydrate's interaction with substituted aromatic amines] // *Himicheskaya fizika i mezoskopiya*. 2016. V. 18, N 2. P. 310–315.
2. Shen S.-C., Wu J.S.-B. Maillard browning in ethanolic solution // *Journal of Food Science*. 2004. V. 69, N 4. P. 273–279.
3. Chemical and functional properties of food saccharides / ed. P. Tomasik. New York : CRC Press LLC. 2004. 399 p.
4. Jing H., Kitts D. Antioxidant activity of sugar-lysine Maillard products in cell free and cell culture systems // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2004. V. 429, N 1. P. 154–163.
5. Del Pilar Buera M., Chirife G., Resnik S.-L. et al. Nonenzymatic browning in liquid model system of high water activity: kinetics of color changes due to Maillard's reaction between different single sugars and glycine and comparison with caramelization browning // *Journal of Food Science*. 1987. V. 52, N 4. P. 1063–1067.
6. Ajandouz E. H., Tchiakpe L. S., Dalle Ore F. et al. Effect of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics in fructose-lysine model systems // *Journal of Food Science*. 2001. V. 66, N 7. P. 926–931.

Сведения об авторах

Черепанов Игорь Сергеевич – ул. Университетская, 1, г. Ижевск, Россия, 426034; Удмуртский государственный университет, канд. хим. наук, доцент; e-mail: cherchem@mail.ru

Cherepanov I. S. – 1, Universitetskaya Str., Izhevsk, Russia, 426034; Udmurt State University, Cand. of Chem. Sci., Associate Professor; e-mail: cherchem@mail.ru

Сергеева Кристина Александровна – ул. Университетская, 1, г. Ижевск, Россия, 426034; Удмуртский государственный университет, магистрант; e-mail: sca20@mail.ru

Sergeeva K. A. – 1, Universitetskaya Str., Izhevsk, Russia, 426034; Udmurt State University, Undergraduate Student; e-mail: sca20@mail.ru

I. S. Cherepanov, K. A. Sergeeva

Melanoidin formation in ethanolic monosaccharide – arylamine – copper (II) systems

Results of studying of melanoidin formation regularities at interaction of *D*-glucose and *D*-xylose with *p*-amino benzoic acid (PABA) in acidic ethanolic media have been presented; features of the chosen threefold systems are, firstly, existence of the low-active amino-compound of benzene series, secondly, presence of catalytic amounts of the biogenic metal. Regularities of melanoidins structure formation from similar systems are almost not studied, at the same time some important biological properties are predicted for them that demands research of reactions' kinetics and development of techniques of their directional synthesis. Studying has been carried out by synthetic methods in total with a sample drawing technique with UV-Vis-spectrophotometry filing and engaging of FTIR-spectroscopy. Based on electronic spectra analysis more intensive melanoidin formation in case of reaction from *D*-xylose has been shown, this can be bound to steric hindrance and to ability of aldopentoses to give more reactionary capable intermediates in comparison with aldohexoses. The accelerating role of copper (II) ions as the complexing center catalyzing both formation and degradation of the intermediate products at different reaction stages has been confirmed, at the same time the accelerating action is considerably shown since copper ion concentrations about 60 mg/l, but Cu(II) chelation degree by final products is low. The effect of solvent has been noted, in particular the influence of ethanol on nature of amino-carbonyl interactions manifested in strengthening of carbohydrates tendency to re-cyclization, it also probably accelerates melanoidin formation. The data obtained have shown the percent of carbohydrates direct destruction (caramelization) in the presented conditions is insignificant, that allows developing based on the present researches target synthetic techniques for melanoidin products' preparation.

Key words: *D*-glucose, *D*-xylose, *p*-amino benzoic acid, ethanolic media, copper (II), melanoidin formation, caramelization.