

# REAZIONE DI *MAILLARD*

# Reazione di Maillard

## 1. Introduzione



Louis Camille Maillard (1878 – 1936) is the first scientist who investigated the “browning reaction”. He investigated the reaction between glucose and glycine on heating [1]. He proposed that the brown pigmented product or melanoids involved an initial interaction between amines and saccharides forming Schiff’s base adducts. This is now called the “Maillard reaction”. Other scientists were also interested in similar reactions in food and physiological chemistry. In 1908, Robert Ling produced flavoured and coloured compounds from heat drying proteins with sugars such as glucose and maltose between 120°C to 150°C. He called these compounds glucosamine-like products [2]. These were amongst the earliest recorded adducts formed between monosaccharides and amines.

[...]

1. Maillard LC, Action des acides amines sur les sucres: formation des melanoidines par voie methodique. C.R.Acad.Sci.Ser.2 154: 66-68, 1912.

2. Ling AR and Malting J. J.Inst.Brewing 14: 521, 1908.

# Reazione di Maillard

## 1. Introduzione

[...]

In 1925 -31, **Mario Amadori** demonstrated that the condensation of D-glucose with aromatic amines p-phenetidine, p-anisidine or p-toluidine gave two structurally different isomers which were not anomers [9;10]. One of the isomers was more labile than the other towards hydrolysis and was also more susceptible to decomposition on standing in the solid state in air. He correctly recognised this as the N-glycosylamine but he mistakenly thought that the more stable isomer was a Schiff's base, overlooking its resistance to acid hydrolysis [10;11]. In 1936, **Kuhn and Dansi** found that the stable isomer was not a Schiff's base but rather the product of a molecular rearrangement. They also confirmed that the labile isomer was in fact the N-substituted glycosylamine [12]. In 1937, **Kuhn and Weygand** reported the structure of the Amadori's stable isomer, which was the unbranched N-substituted 1-amino-1-deoxy-2-ketose [13]. Kuhn and Weygand later called the reaction the Amadori rearrangement involving generally aldoses and amines.

In 1953, Hodge suggested that the Maillard reaction involved formation of a Schiff's base followed by Amadori rearrangement in the early stages. He also suggested that fructosamine degraded to glucosone and other adducts via enolisation, oxidation and fragmentation reactions [14].

9. Amadori M. Atti Accad.Nazl.Lincei 2: 337-345, 1925.

10. Amadori M, The product of the condensation of glucose and p-phenetidine. Atti Reale Accad.Nazl.Lincei 9: 68-73, 1929.

11. Amadori M, The condensation product of glucose and p-anisidine. Atti Reale Accad.Nazl.Lincei 9: 226-230, 1929.

12. Kuhn R and Dansi A, A molecular rearrangement of N-glucosides. Ber. 69B: 1745-1754, 1936.

13. Kuhn R and Weygand F, The Amadori rearrangement. Ber. 70B: 769-772, 1937.

14. Hodge JE, Dehydrated foods: chemistry of browning reactions in model systems. J.Agric.Food Chem. 1: 928-943, 1953.

# Reazione di Maillard

## 1. Introduzione

In 1960, Anet reported the degradation of a fructosamine (N,N-difructosylglycine) to 3-deoxyglucosone [15]. This was the first example of the importance of fructosamine dehydration to a 3-deoxyglucosone (3-DG). Kato also isolated 3-deoxyglucosone and 3-deoxypentosone from the browning reactions of glucose and ribose with an amine [16]. These reactive  $\alpha$ -oxoaldehyde products of the Maillard reaction are now seen as important precursors of glycation adduct formation in biological systems.

15. Anet EFLJ, Degradation of carbohydrates. I. Isolation of 3-deoxyhexosones. Australian J.Chem. 13: 396-403, 1960.

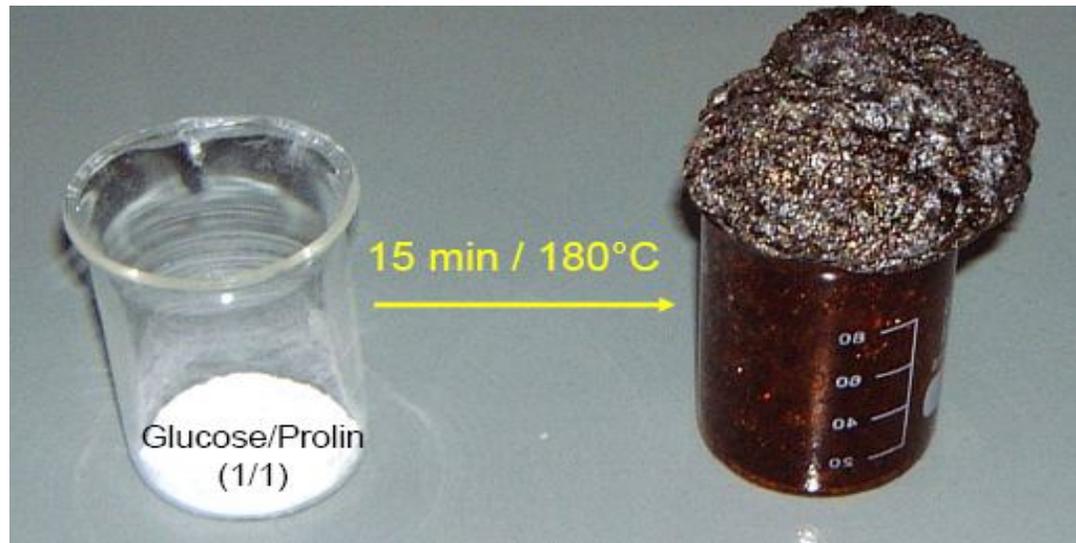
16. Kato H, Studies on browning reactions between sugars and amino compounds. V. Isolation and characterisation of new carbonyl compounds, 3-deoxyglucosones formed from N-glycosides and their significance for browning reaction. Bull.Agric.Chem.Soc.Japan 24: 1-12, 1960.

# Reazione di Maillard

## 1. Introduzione



Reazione tra zuccheri riducenti e composti amminici, caratterizzata dal biochimico francese *Louis Camille Maillard* e anche definita reazione di imbrunimento non enzimatico. Essa si contrappone al ben conosciuto fenomeno di imbrunimento enzimatico che avviene a carico della frazione polifenolica degli alimenti vegetali ad opera di enzimi specifici: polifenolo-ossidasi.



# Reazione di Maillard

## 1. Introduzione

In realtà si tratta di un complesso sistema di reazioni, promosse dal calore, che porta alla formazione di uno spettro composti a differente valenza:



- ✓ Melanoidine (composti pigmentanti ad alto peso molecolare: crosta del pane, carne cotta alla piastra ecc.);
- ✓ Composti dell'aroma (molecole a basso peso molecolare con funzioni carboniliche e basso peso molecolare: aldeidi, chetoni, alcoli, eterocicli ecc.);
- ✓ Composti ad attività antiossidante (reduttori ed aminoreduttori).



- ✓ Composti amari (carne cotta alla piastra);
- ✓ "Off-flavours" (composti che impastiscono aromi sgradevoli o non desiderati agli alimenti – 1-acetyl-1-pyrroline al latte trattato con sterilizzazione UHT);
- ✓ Imbrunimento (latte trattato ad alta temperatura);
- ✓ Riduzione del valore nutrizionale di un alimento (riduzione del tenore di aa e proteine – Lys aa essenziale) o della biodisponibilità della frazione proteica;
- ✓ Formazione di composti tossici/mutageni (furano, acrilamide ecc).

# Reazione di Maillard

## 1. Introduzione

Tra gli zuccheri riducenti i composti di maggior interesse sono:

- ✓ Glucosio (frutta e vegetali)
- ✓ Glucosio-6-fosfato (carni)
- ✓ Fruttosio (frutta e vegetali)
- ✓ Lattosio (latte)
- ✓ Maltosio (cereali)
- ✓ Pentosani (cereali e carne)
- ✓ Esosi (pectine frutta)

Tra i composti amminici maggiormente interessati dalla reazione di Maillard abbiamo:

- ✓ Aminoacidi liberi;
- ✓ Porzione ammino-terminale di proteine e peptidi;
- ✓ Gruppi  $-NH_2$  presenti sulle catene laterali di aa facenti parte di proteine e/o peptidi: Lys (ε-aminogruppo) e Arg (gruppo guanidinico);
- ✓ Alchilammine: amine biogene presenti negli alimenti proteici (carne, pesce e formaggi);
- ✓ Fosfoetanolamina (uova disidratate);
- ✓ Ammoniaca.

# Reazione di Maillard

## 1. Introduzione

Tra i fattori che giocano un ruolo fondamentale nel dare inizio alla reazione di Maillard, ovvero quelle condizioni che in qualche modo possono evitarla sono principalmente legati a:

- ✓ Temperatura;
- ✓ Attività dell'acqua libera ( $a_w$ );
- ✓ pH (3-7);
- ✓ Tipologia di zucchero coinvolto (Pentosi > Fruttosio > Esosi > Disaccaridi e tra gli Esosi Galattosio > Mannosio > Glucosio)

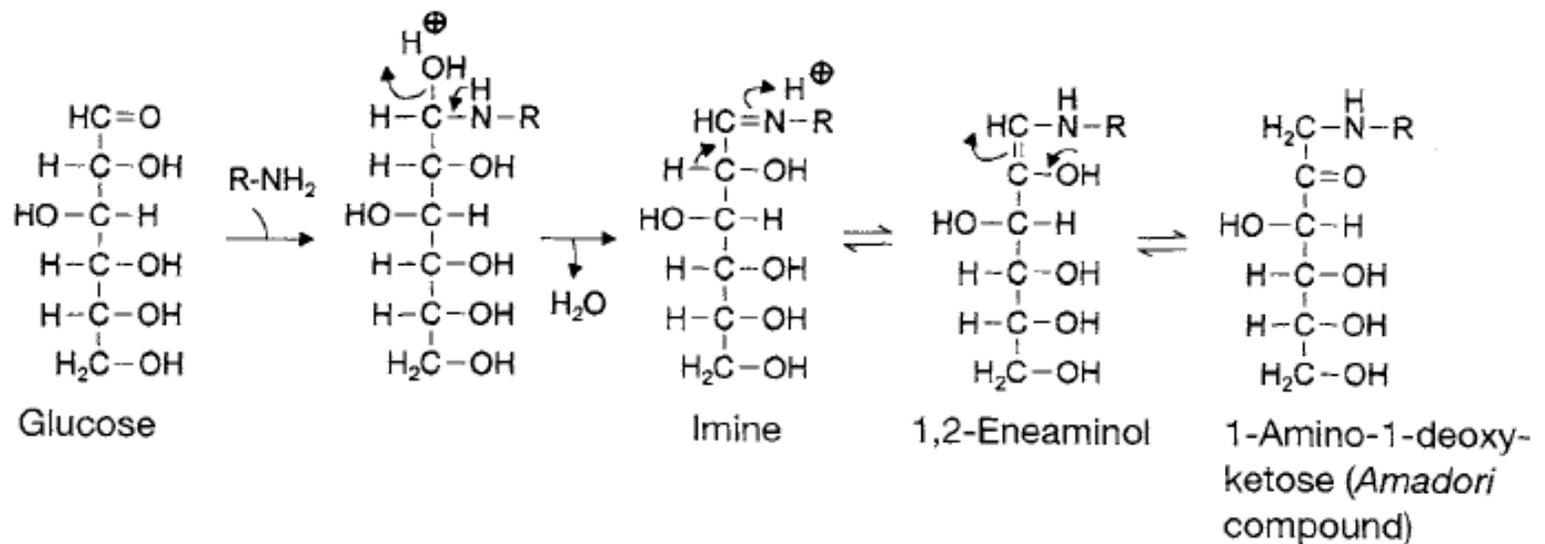


# Reazione di Maillard

## 1. 1 Fase iniziale della Reazione di Maillard

Per semplificare si può immaginare la reazione abbia inizio con la formazione di una *base di Schiff (immina)* per reazione tra una funzione amminica (aa o ammina) ed un gruppo carbonilico di uno zucchero riducente (per semplicità si utilizza il D-glucosio nella forma aperta sebbene la forma emiacetalica sia prevalente in soluzione).

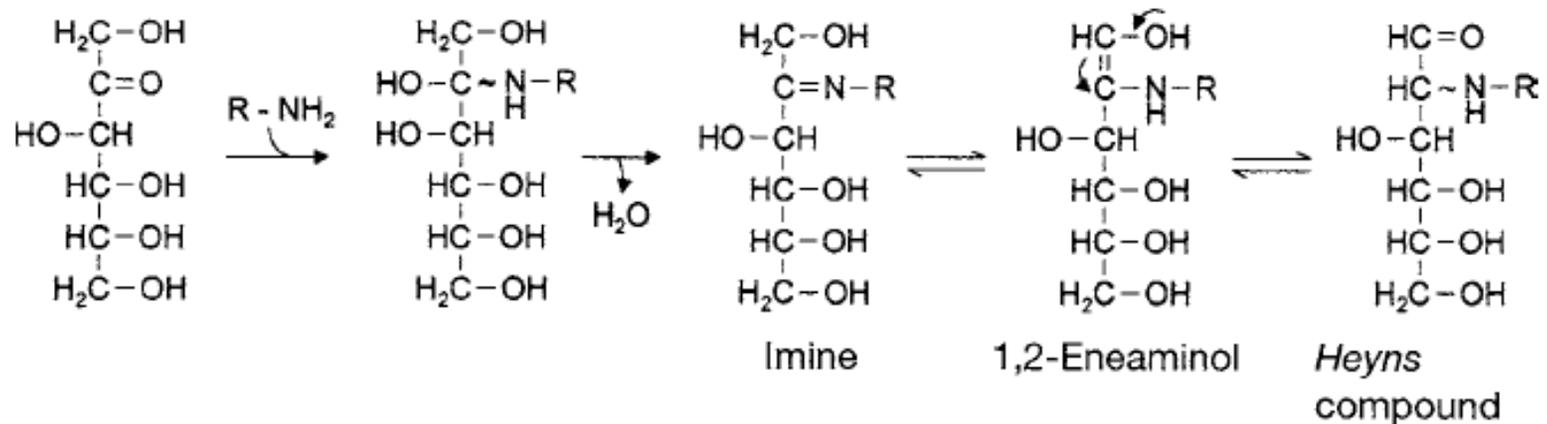
La presenza di  $-OH$  in posizione  $\alpha-$  dell'immina porta ad un riarrangiamento a 1,2-eneaminolo e quindi ad un 1-amino-1-deossi chetoso detto anche *composto di Amadori*.



# Reazione di Maillard

## 1.1 Fase iniziale della Reazione di Maillard

Nel caso in cui a reagire sia un pentoso (il fruttosio ad esempio) la reazione segue lo stesso iter ma porta alla formazione di un amino-aldoso (2-amino-2-desossialdoso) detto anche *composto di Heyns*.



# Reazione di Maillard

## 1. 1 Fase iniziale della Reazione di Maillard

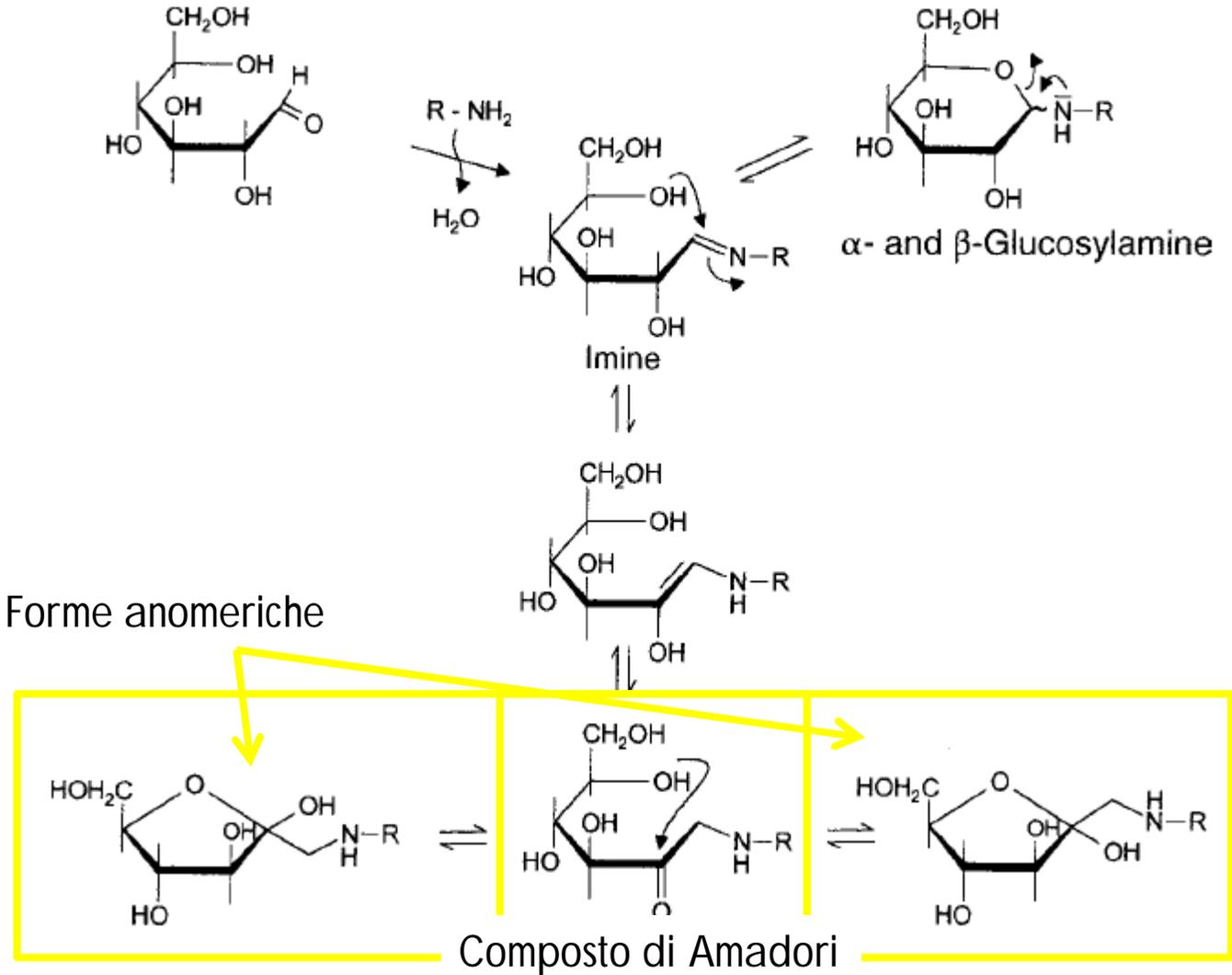
I composti di Amadori formati a partire da differenti aa, sono stati ritrovati in molti alimenti termizzati, o sottoposti ad una lunga conservazione (frutta disidratata e vegetali secchi, derivati del latte, fave di cacao e salsa di soia). E' interessante ricordare che alcuni di questi composti sono stati ritrovati nel siero di pazienti affetti da diabete mellito.

La ragione della parziale stabilità di questi composti, rispetto alle immine, è data dalla struttura ciclica che essi possono acquisire grazie alla presenza della funzione carbonilica e dei gruppi  $-OH$  distribuiti sulla porzione zuccherina.

Nello schema di reazione che segue si può osservare come l'immina, formata dalla reazione di condensazione tra il glucosio e l'ammina, possa ciclizzare formando un emiaminale ( $\alpha-$  e/o  $\beta-$  glucosilammina) la cui stabilità è però piuttosto bassa. D'altra parte però l'immina può riarrangiare formando il composto di Amadori corrispondente il quale può a sua volta formare l'emiacetale nelle due forme anomeriche  $\alpha-$  e  $\beta-$  corrispondenti.

# Reazione di Maillard

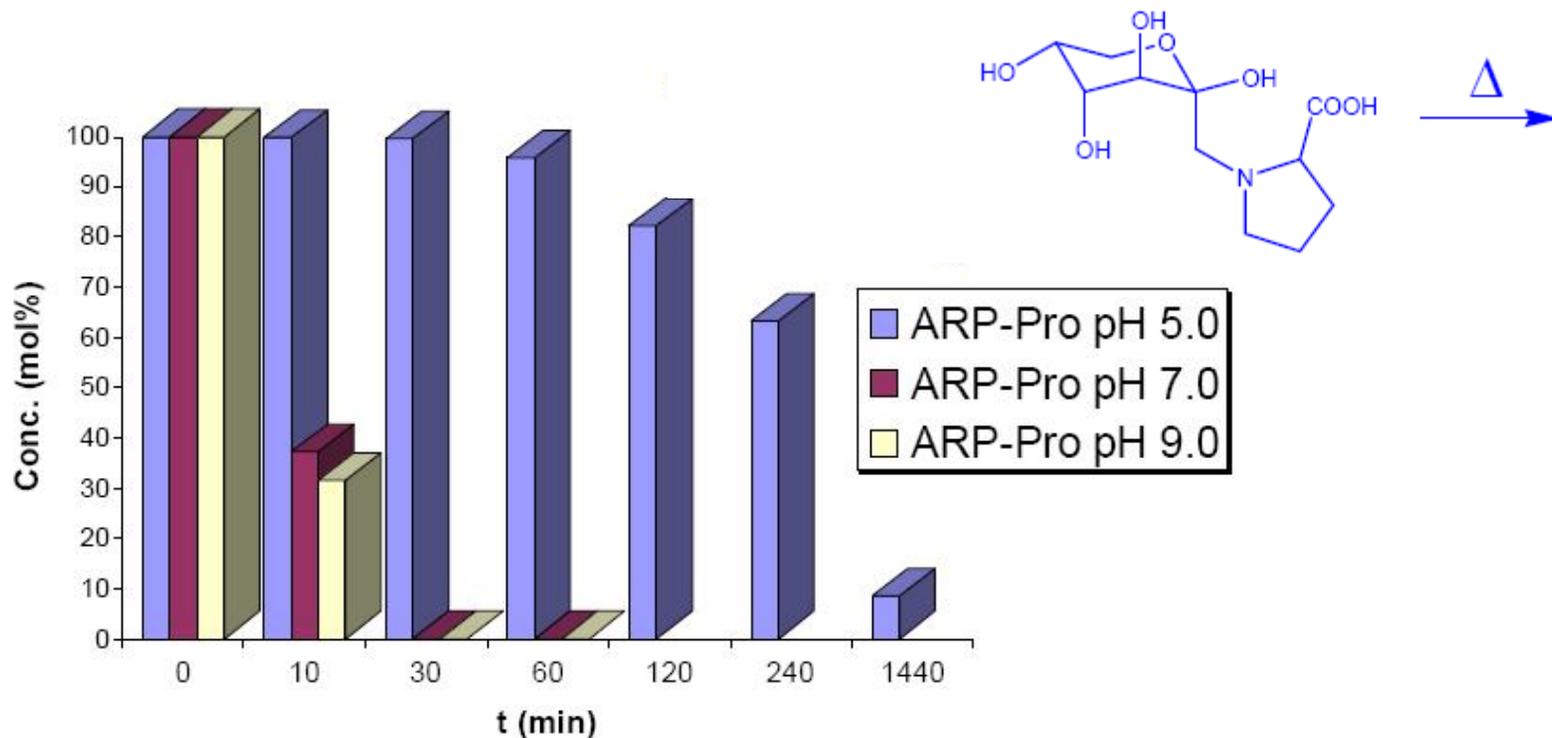
## 1. 1 Fase iniziale della Reazione di Maillard



# Reazione di Maillard

## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)

I composti di Amadori formati nella prima fase della reazione di *Maillard* vanno incontro a rapida degradazione che è funzione del pH del mezzo. In un range compreso tra 4 e 7 essi formano una classe di composti denominati "deossiosoni". Il grafico che segue riporta la stabilità in soluzione del prodotto della reazione tra glucosio e prolina a differenti pH.

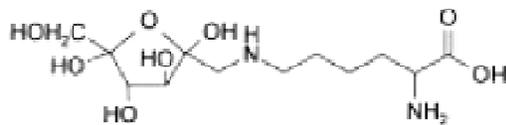


# Reazione di Maillard

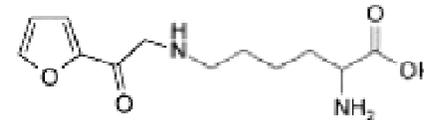
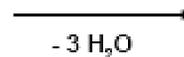
## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)

Le ragioni responsabili della degradazione dei *composti di Amadori* sono:

- Disidratazione della sottostruttura zuccherina (derivati del latte);



N<sup>ε</sup>-Fructosyl-lysine



Furosina (N<sup>ε</sup>-(2-furoylmethyl)-lysine)

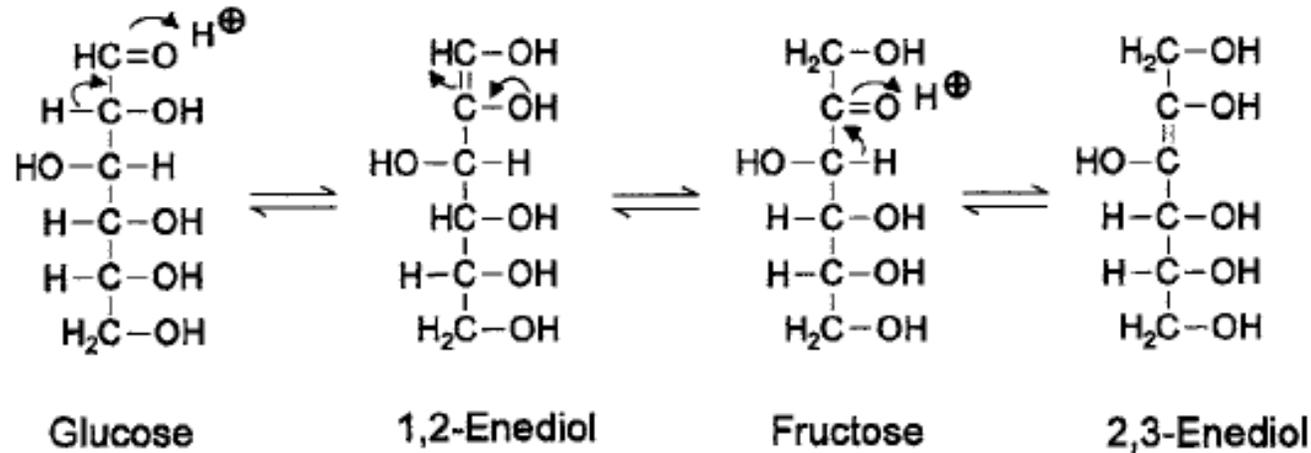
Product	Furosine (mg/kg protein)
Raw milk	35–55
Milk (pasteurized)	48–75
Milk (ultrahigh heated)	500–1800
Sterile milk	5000–12,000
Milk powder	1800–12,000
Baby food (powder)	9300–18,900
Noodles	400–8500
Bakery products	200–6000

Nel latte termizzato e nei suoi derivati, la concentrazione di furosina è utilizzata come indicatore essendo, la sua concentrazione nel prodotto finito, funzione del rapporto tempo/temperatura di trattamento

# Reazione di Maillard

## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)

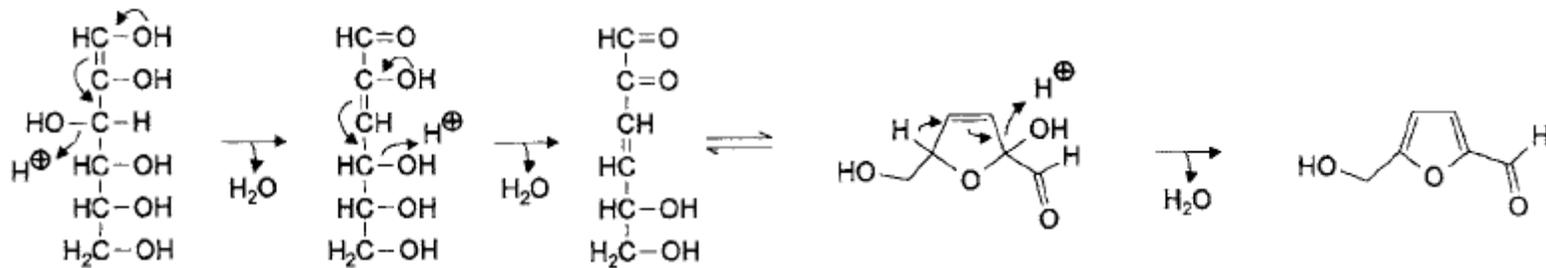
La reazione di disidratazione si verifica come conseguenza del riscaldamento degli zuccheri in condizioni acide (succhi di frutta, cereali panificati, latte ecc...). Essa inizia con una enolizzazione a formare gli enedioli (1,2-enediol da glucosio e 2,3-enediol dal fruttosio).



# Reazione di Maillard

## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)

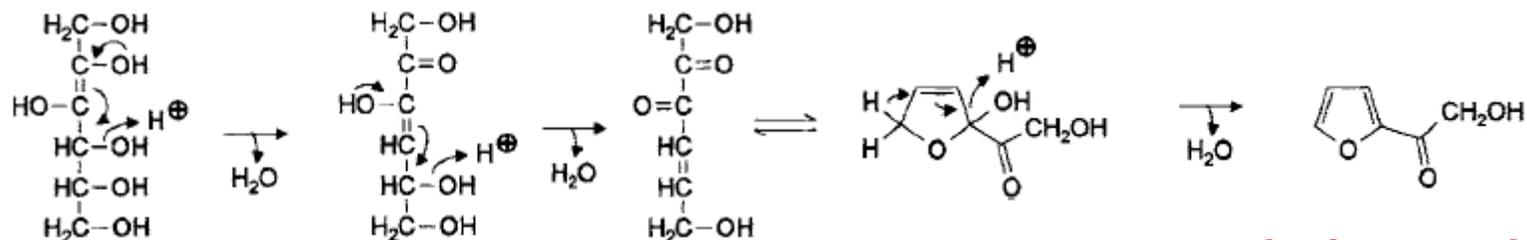
L'1,2-enediolo perde una molecola di acqua al C-3 e poi al C-4 (addizione *retro-Michael*), quindi ciclizza ad emiacetale per perdere una ulteriore molecola di acqua a formare l'HMF (**5-hydroxymethylfurfural**).



1,2-Enediol

**5-hydroxymethylfurfural**

Il 2,3-enediolo (che si forma prevalentemente dal fruttosio) perde una molecola di acqua al C-4 e poi al C-5 (addizione *retro-Michael*), quindi ciclizza ad emiacetale per perdere una ulteriore molecola di acqua a formare l'il **2-hydroxyacethylfuran**.



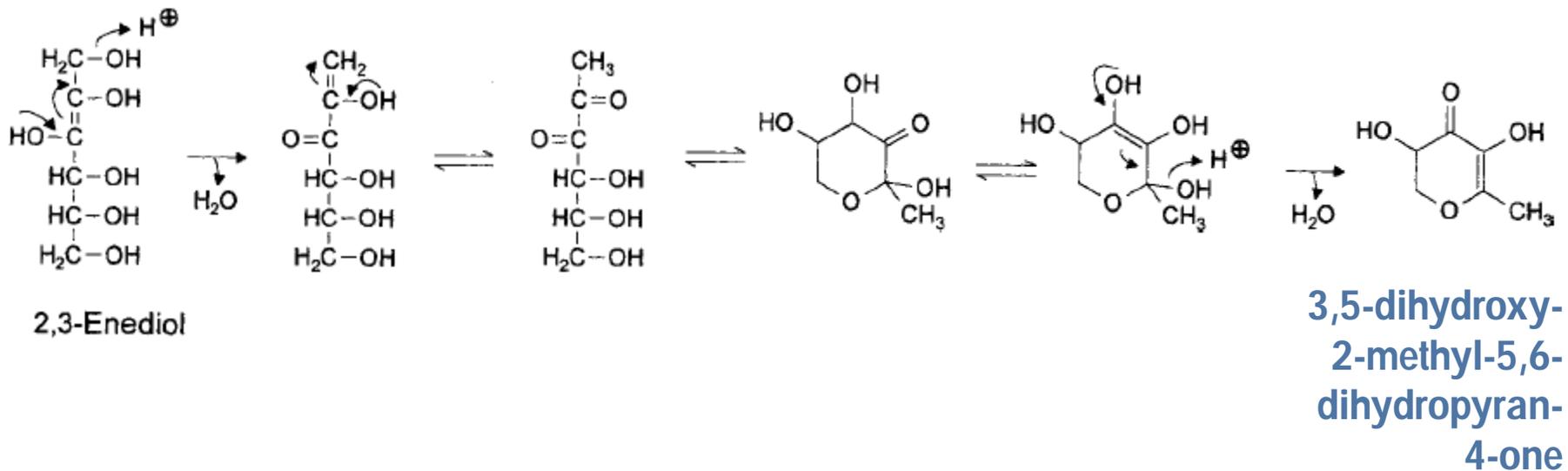
2,3-Enediol

**2-hydroxyacethylfuran**.

# Reazione di Maillard

## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)

Il 2,3-enediolo (che si forma prevalentemente dal fruttosio) può inoltre perdere una molecola di acqua al C-1 (addizione *retro-Michael*), quindi ciclizza ad emiacetale per perdere una ulteriore molecole di acqua a formare l'il **3,5-dihydroxy-2-methyl-5,6-dihdropyran-4-one**.

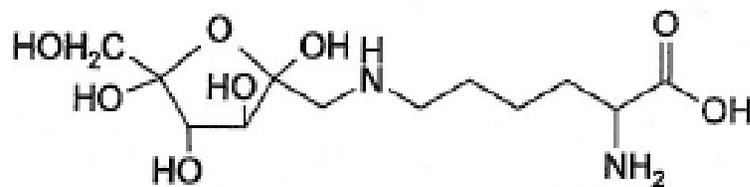


# Reazione di Maillard

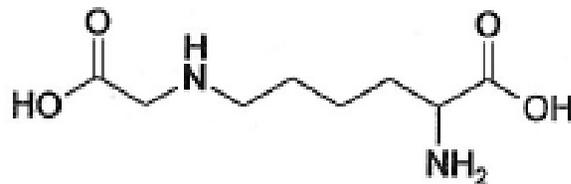
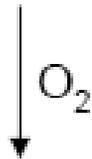
## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)

Le ragioni responsabili della degradazione dei composti di Amadori sono:

- Ossidazione e rottura dei legami C-C in sottostrutture  $\beta$ -dicarboniliche;



N $\epsilon$ -Fructosyl-lysine



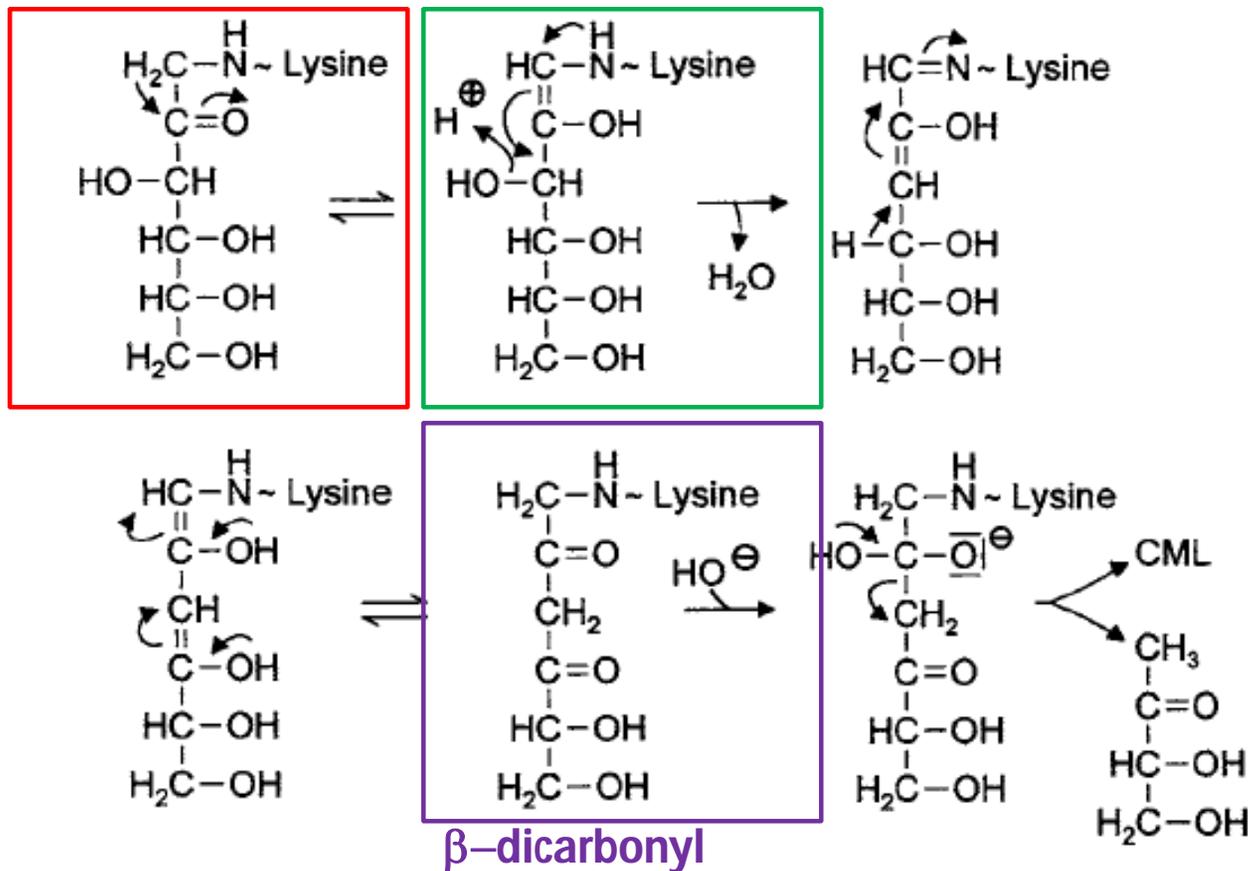
CML (N $\epsilon$ -carboxymethyl-lysine)

# Reazione di Maillard

## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)

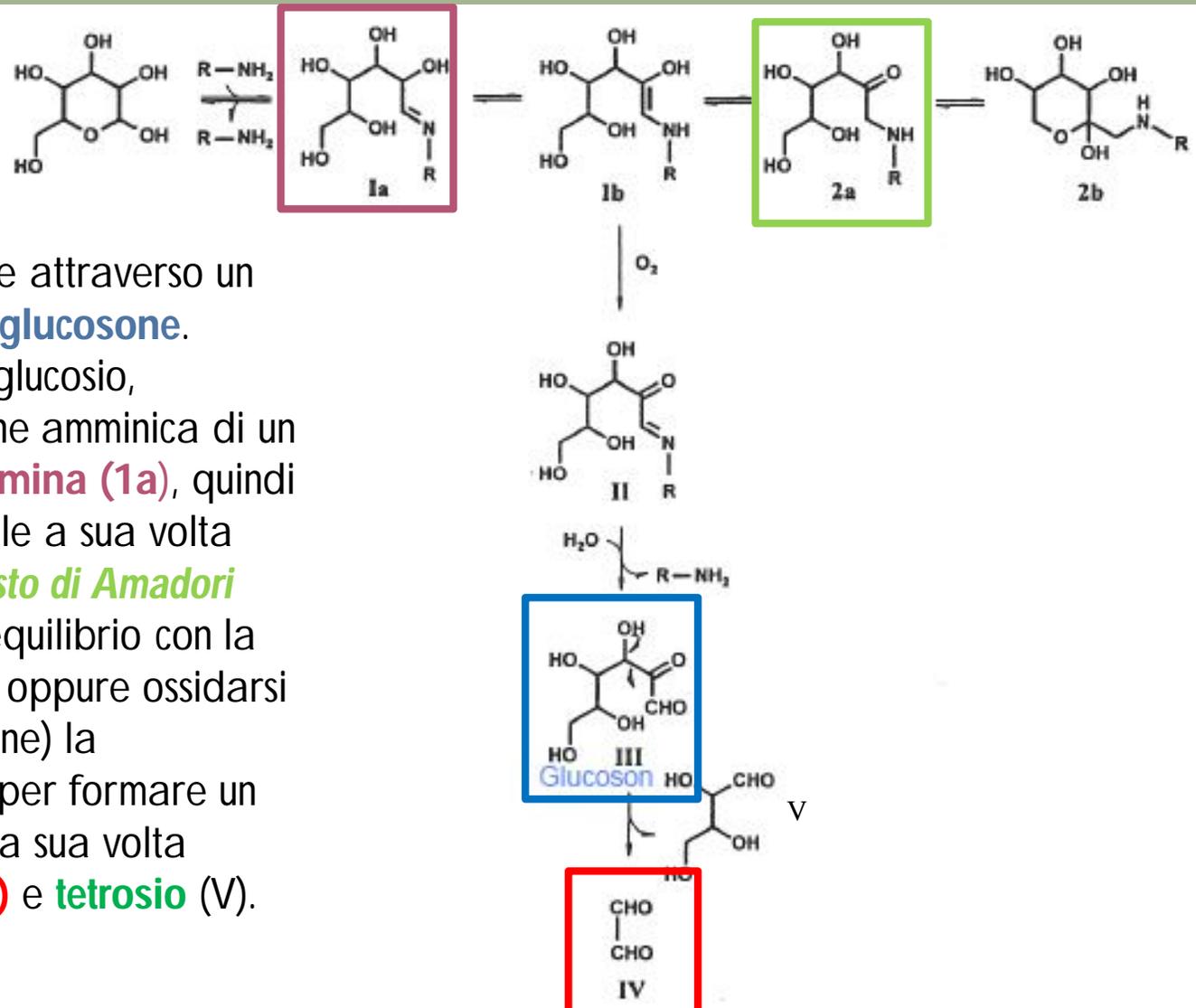
Formazione della CML ( $N^{\epsilon}$ -carboxymethyl-lysine): a partire dalla  **$N^{\epsilon}$ -Fructosyl-lysine** (composto di Amadori), successiva formazione dell'**1,2-eneamminolo** che disidrata, enolizza e porta alla formazione di un sistema  **$\beta$ -dicarbonilico** il quale per idrolisi forma il prodotto finale CML.

### **$N^{\epsilon}$ -Fructosyl-lysine**    **1,2-eneamminolo**



# Reazione di Maillard

## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)



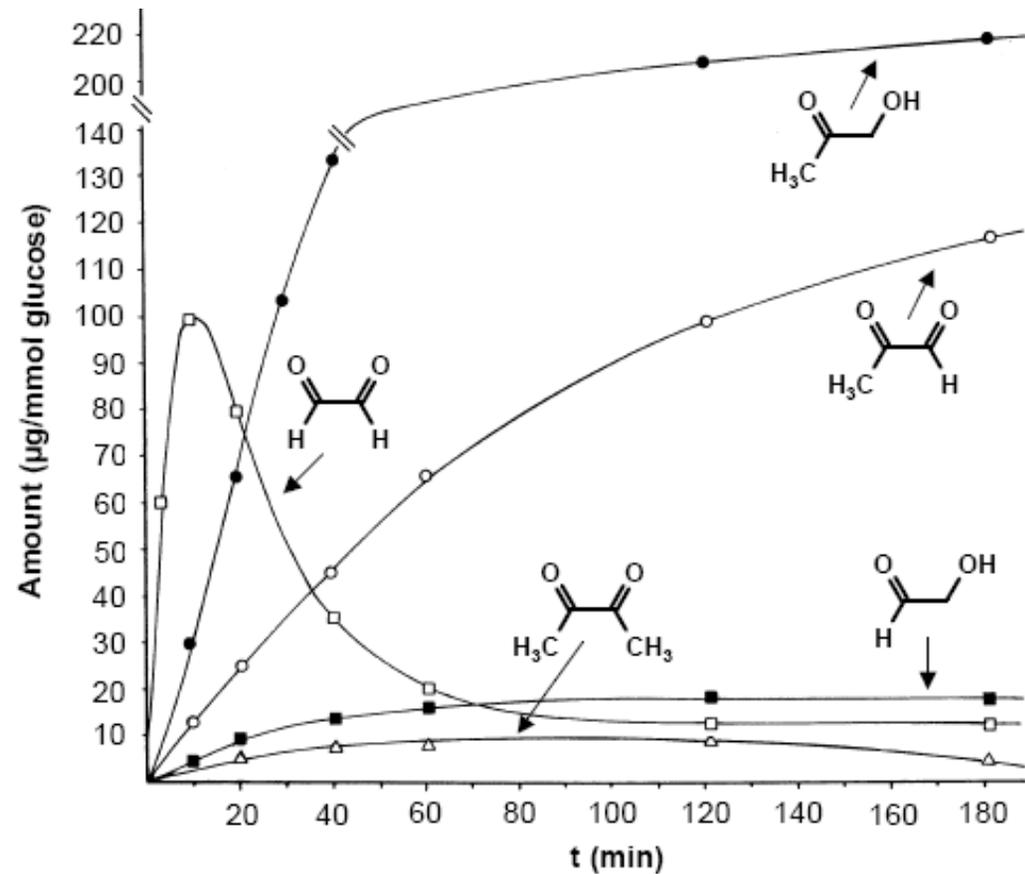
Formazione del glicosale attraverso un intermedio denominato **glucosone**. Anche in questo caso il glucosio, reagendo con la funzione amminica di un aa forma prima una **immina (1a)**, quindi al 1,2-enaminolo, il quale a sua volta potrà formare il **composto di Amadori** corrispondente (**2a**) (in equilibrio con la forma emiacetale 2b) oppure ossidarsi e perdere ( $\beta$ -eliminazione) la sottostruttura amminica per formare un **glucosone** (III) il quale, a sua volta formerà il **glicosale (IV)** e **tetrosio** (V).

# Reazione di Maillard

## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)

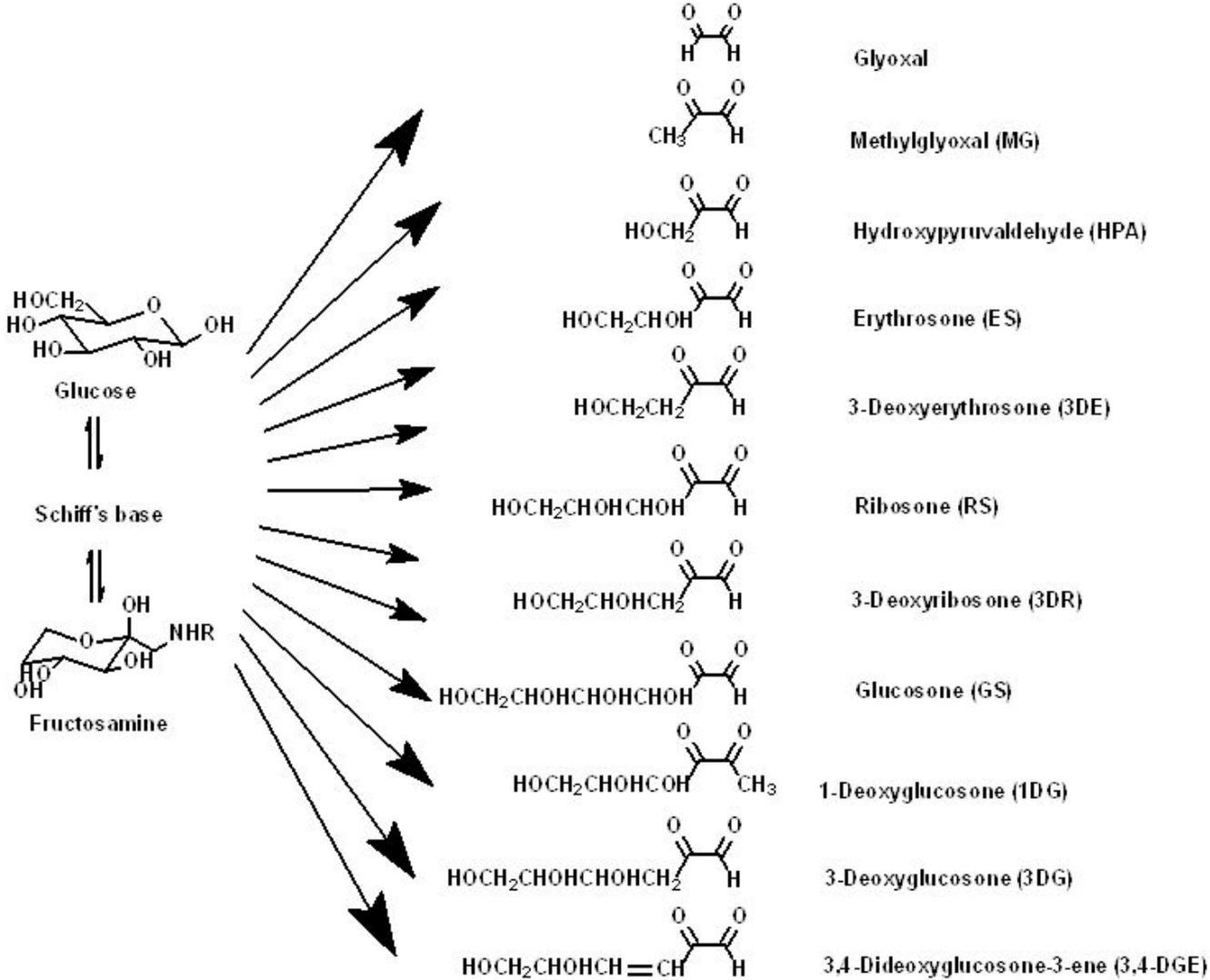
Formazione del gliosale, e di altri derivati  $\alpha$ -dicarbonilici, in un sistema glucosio/alanina a pH 7.0.

Il gliosale è il prodotto di degradazione primario dei composti di Amadori in condizioni ossidanti, si forma già a concentrazioni relativamente basse di glucosio.



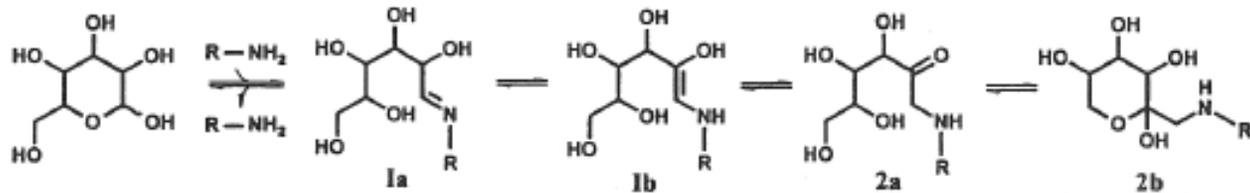
# Reazione di Maillard

## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)



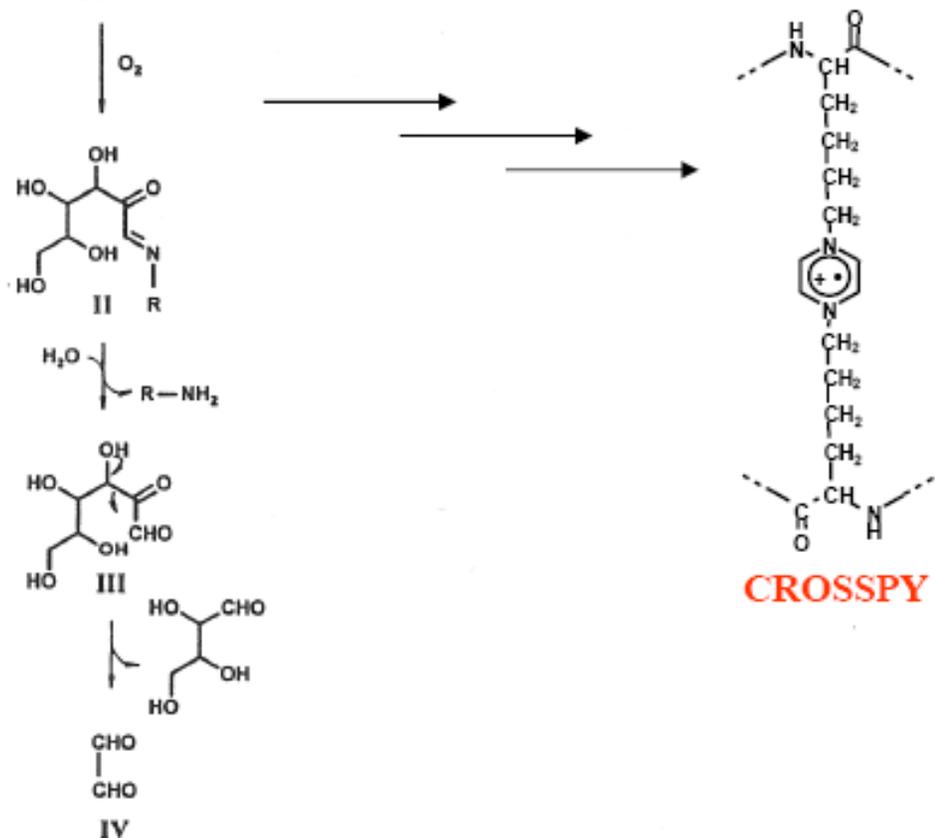
# Reazione di Maillard

## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)



Lo stesso meccanismo di reazione, che prevede la scissione dei composti  $\alpha$ -dicarbonilici può portare anche alla formazione di composti radicalici: i cosiddetti **crosspy-radical**.

Tali composti rappresentano gli intermedi chiave nella formazione dei pigmenti bruni (responsabili dell'imbrunimento dei cibi trattati con calore) definiti melanoidine.



# Reazione di Maillard

## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)

Il grafico riportato a lato descrive lo sviluppo dei pigmenti bruni (melanoidine – linea piena) e la cinetica di formazione dei radicali di tipo crosspy (linea tratteggiata) in funzione del tempo in un sistema modello composto da glucosio e N-acetyl-L-lysine.

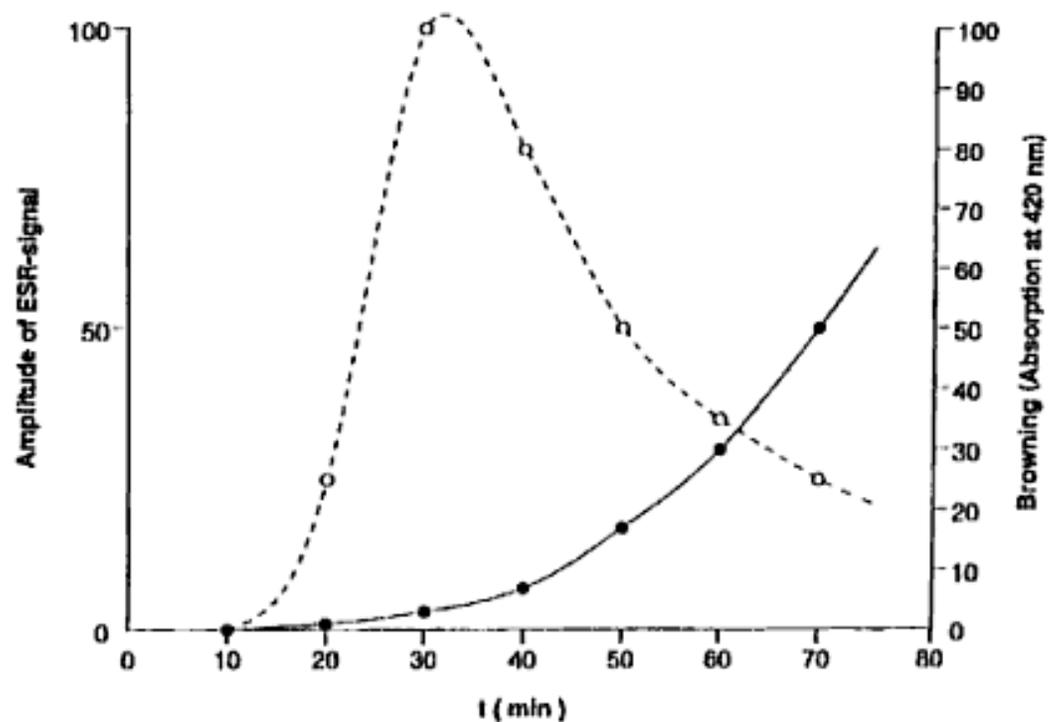
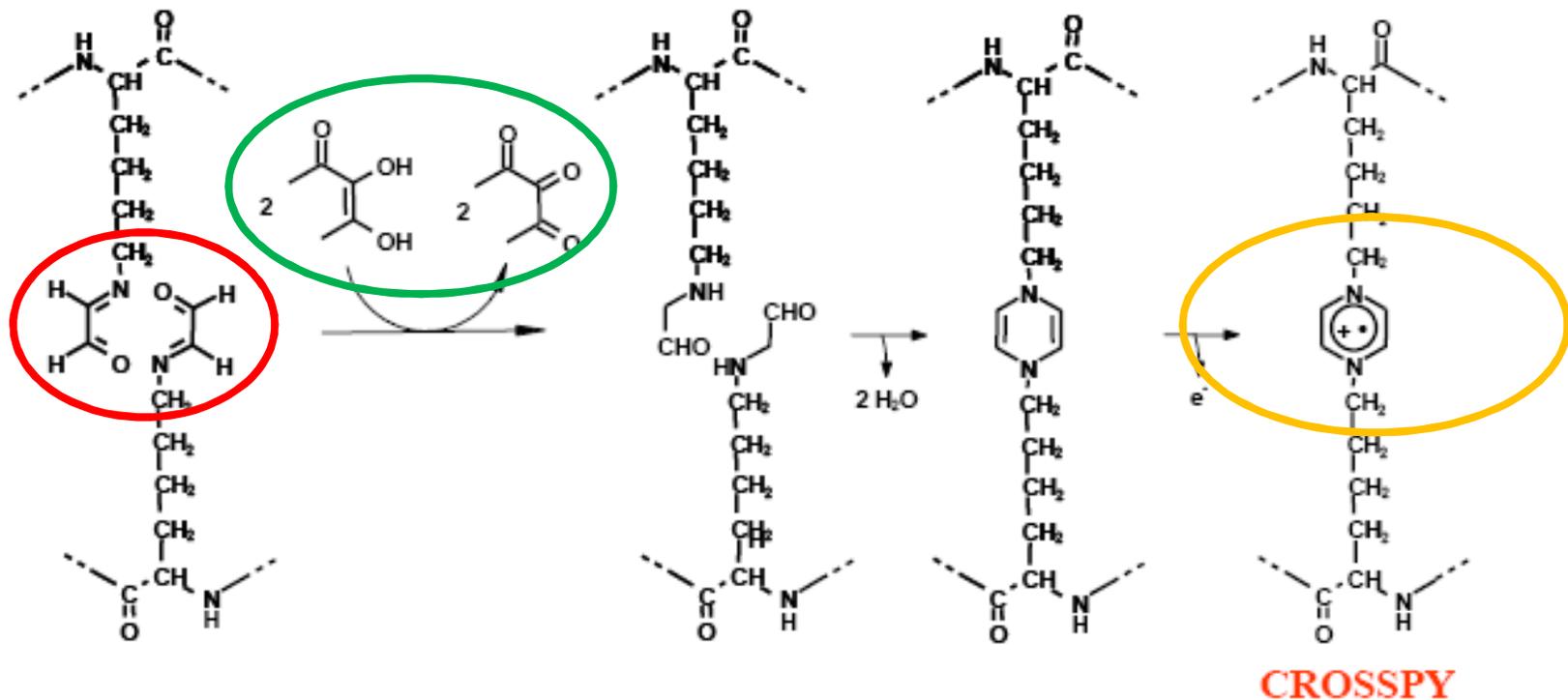


Figure 2.16: Time course of browning development and Crosspy formation in a thermally treated mixture of glucose and  $N_{\alpha}$ -acetyl-L-lysine.

# Reazione di Maillard

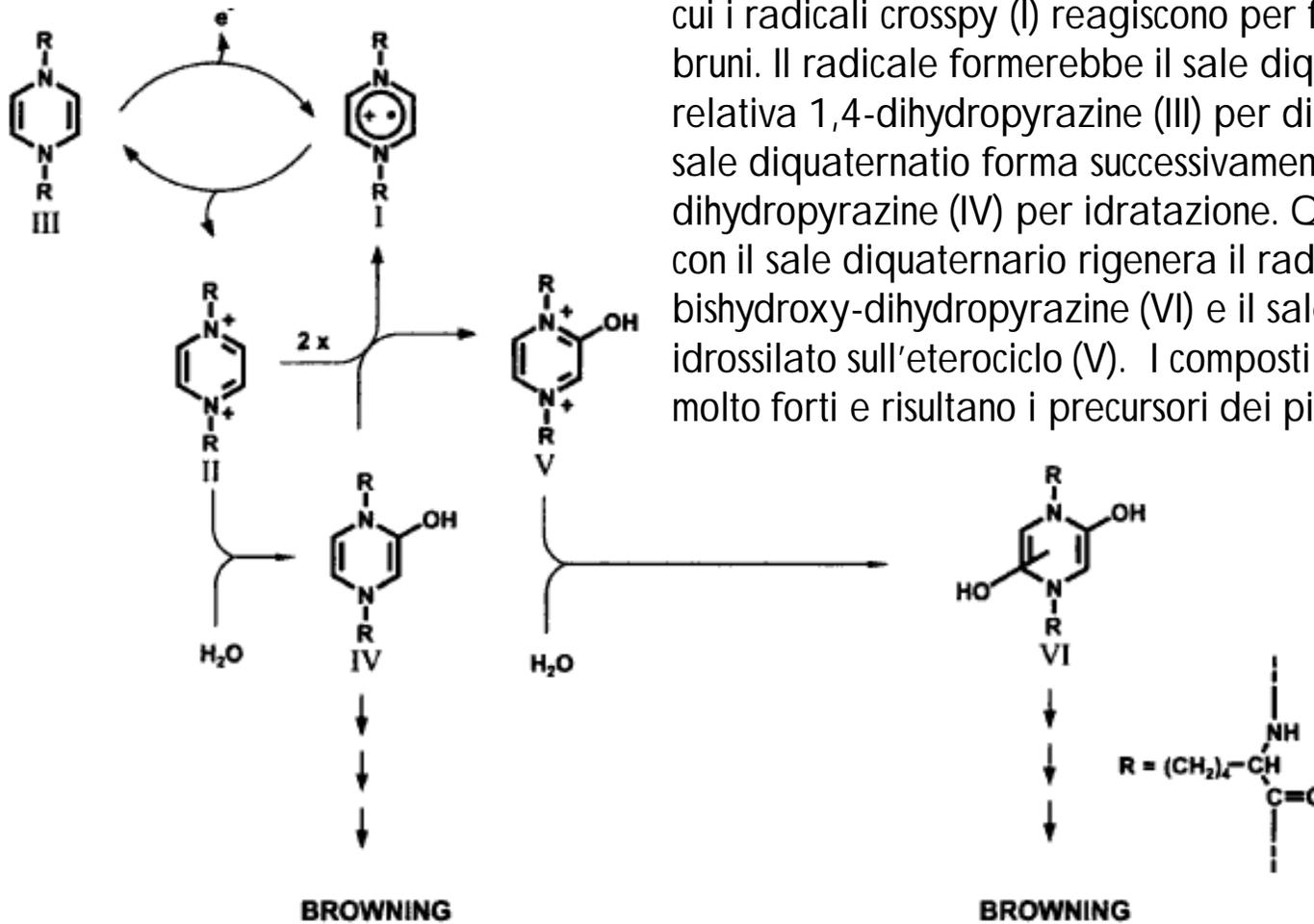
## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)

La formazione dei radicali **crosspy** prevede la reazione di due molecole di **gliosale** con un  $\epsilon$ -ammino gruppo di un residuo lisinico di una proteina a formare una gliossal-immina che per riduzione (con molecole denominate **reduttori**), forma due funzioni aldeidiche terminali che dimerizzano a formare una dididro pirazina la quale, perdendo un elettrone, forma il catione pirazinico **CROSSPY** (**pirazinium radical cation**).



# Reazione di Maillard

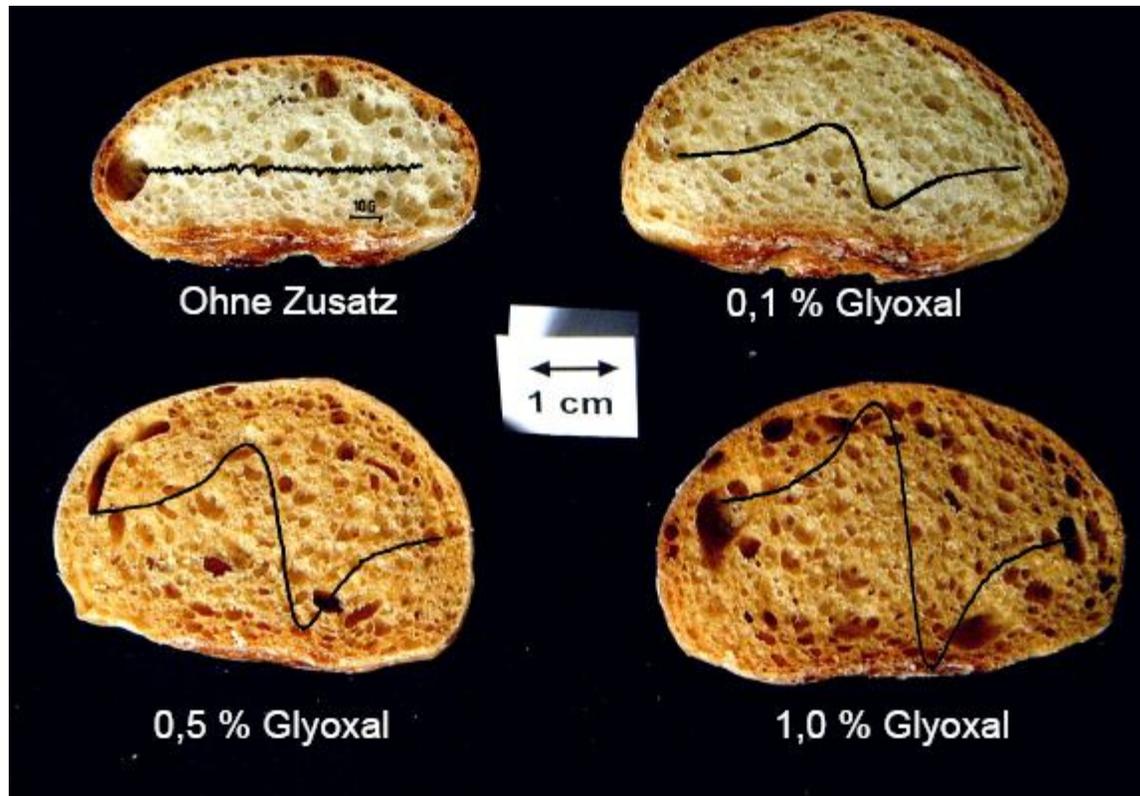
## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)



Nello schema di reazione qui riportato si riassume l'ipotesi con cui i radicali crosspy (I) reagiscono per formare i pigmenti bruni. Il radicale formerebbe il sale diquaternario (II) e la relativa 1,4-dihydropyrazine (III) per disproporzionamento. Il sale diquaternario forma successivamente la 2-idrossi-1,4-dihydropyrazine (IV) per idratazione. Quest'ultima reagendo con il sale diquaternario rigenera il radicale crosspy e forma il bishydroxy-dihydropyrazine (VI) e il sale quaternario idrossilato sull'eterociclo (V). I composti IV e VI sono nucleofili molto forti e risultano i precursori dei pigmenti bruni.

# Reazione di Maillard

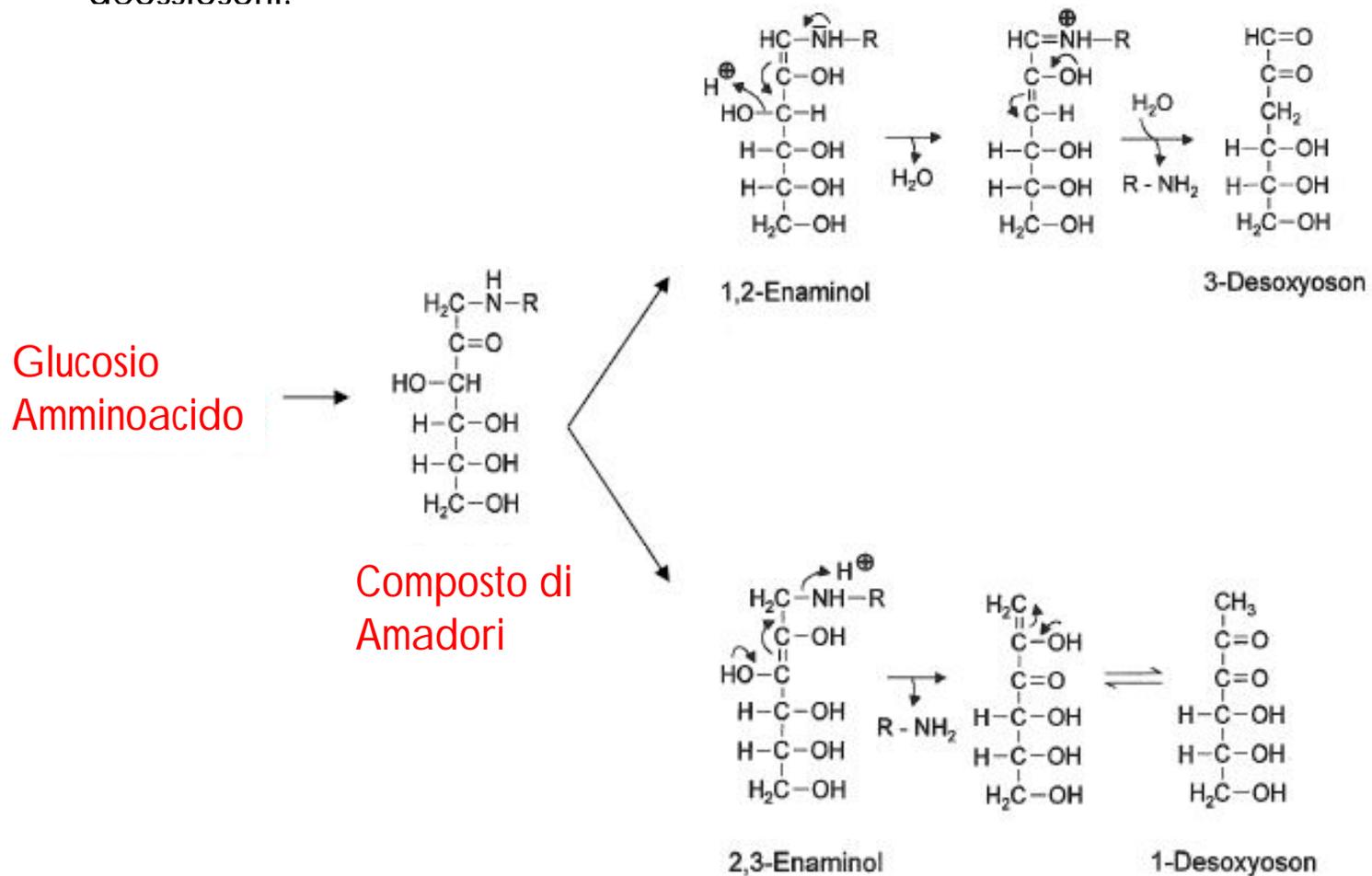
1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)



# Reazione di Maillard

## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)

- Eliminazione della funzione amminica ( $\beta$ -eliminazione) e formazione dei deossiosoni.



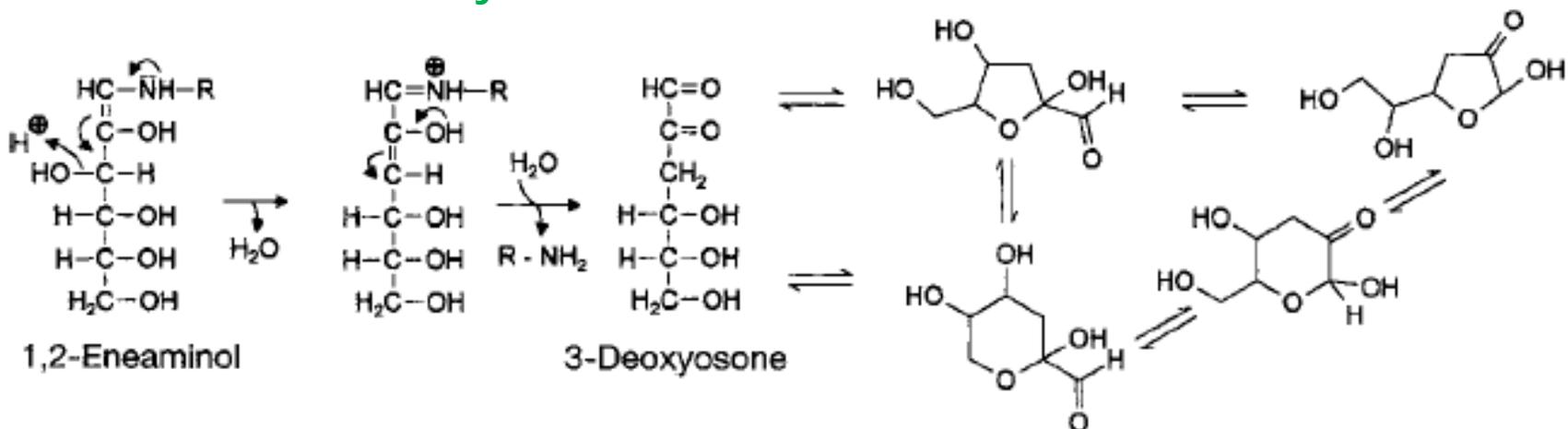
# Reazione di Maillard

## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)

Come già precedentemente introdotto i composti di Amadori possono essere considerati soltanto degli intermedi della reazione di Maillard, essi nel range di pH compreso tra 4 e 7 possono andare incontro a reazioni di disidratazione, b-eliminazione con perdita del residuo amminico (retro-Michael), idrolisi dell'immina a formare i corrispondenti Deossiosoni.

Gli schemi che seguono riassumono la sequenza di reazioni che portano alla formazione rispettivamente del 3-, 1- e 4- Deoxyosones e delle rispettive forme emiacetaliche.

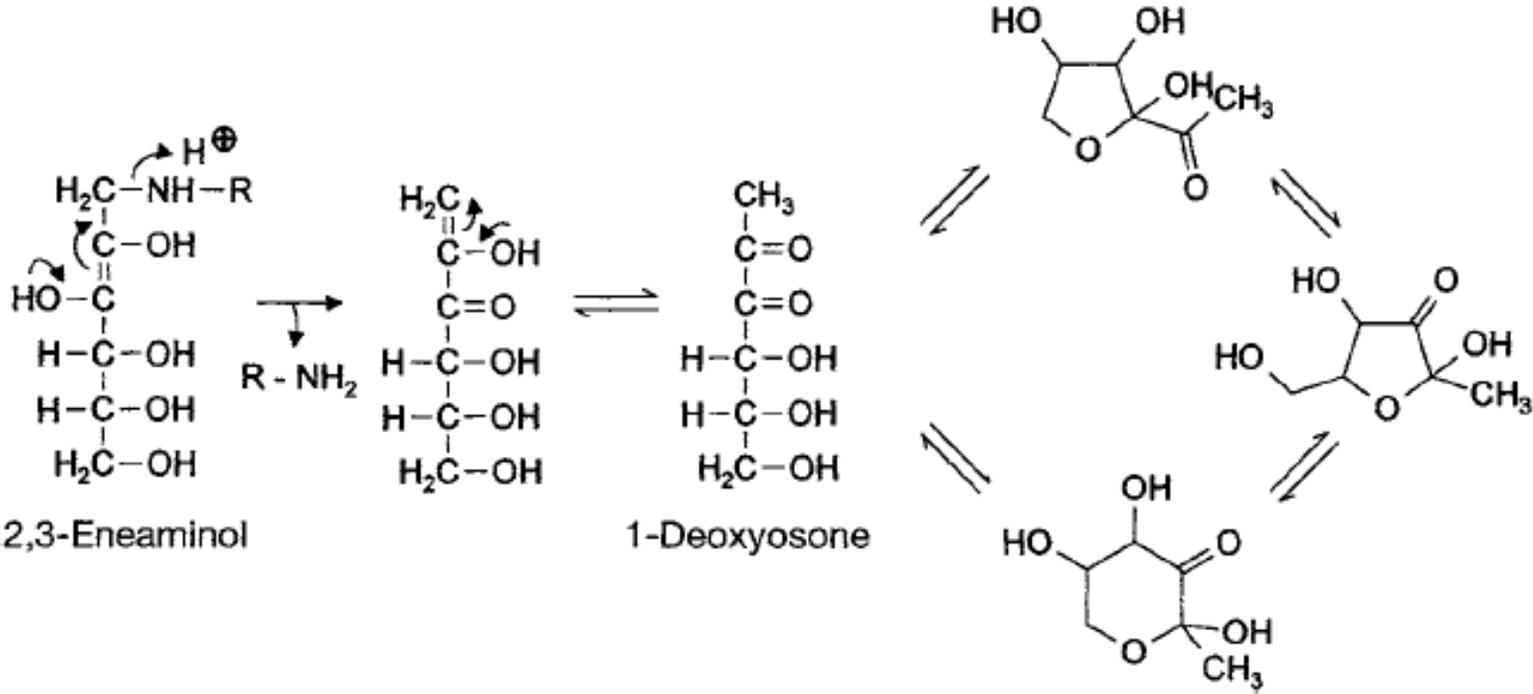
### Formazione del 3-Deoxyosone



# Reazione di Maillard

## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)

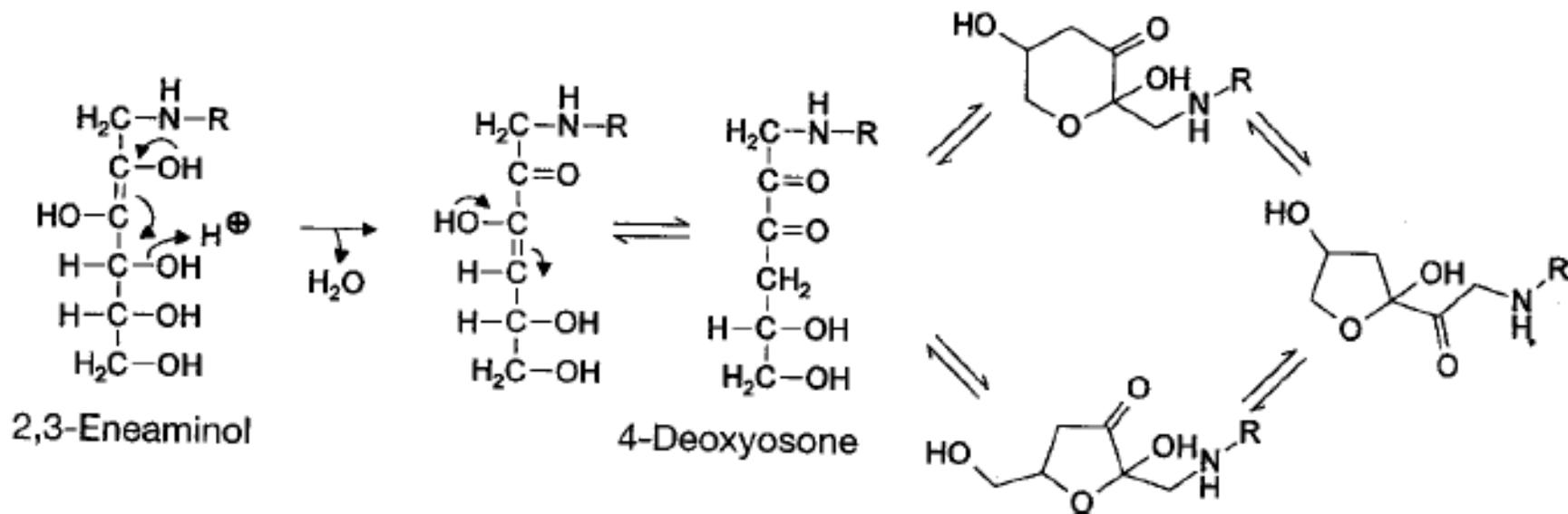
### Formazione dell'1-Deoxyosone



# Reazione di Maillard

## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)

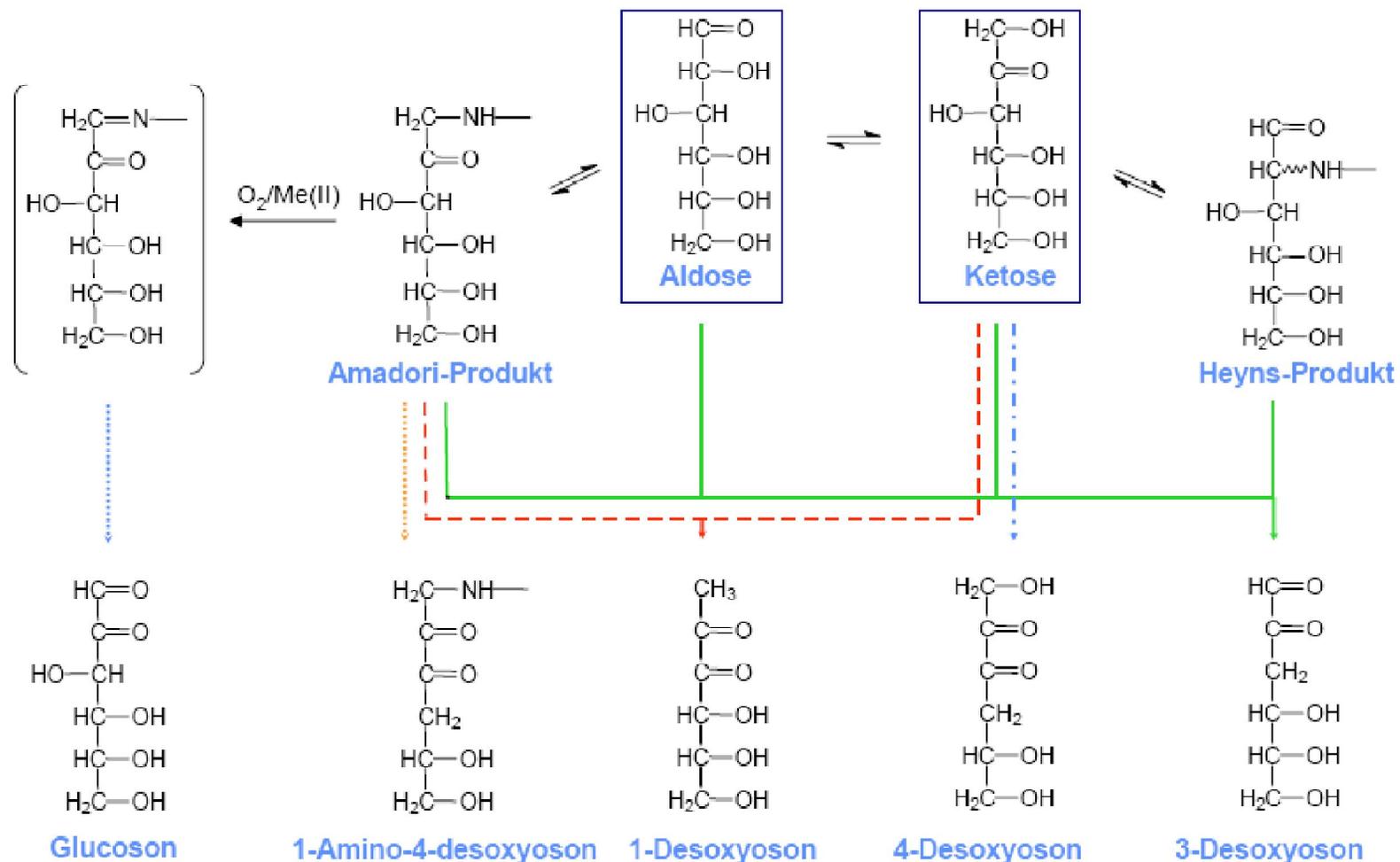
### Formazione del 4-Deoxyosone



# Reazione di Maillard

## 1.2 Degradazione composti primari e formazione dei Deossiosoni (Deoxyosones)

Schema riassuntivo della reazione di Maillard e dei prodotti fino ad ora enunciati.

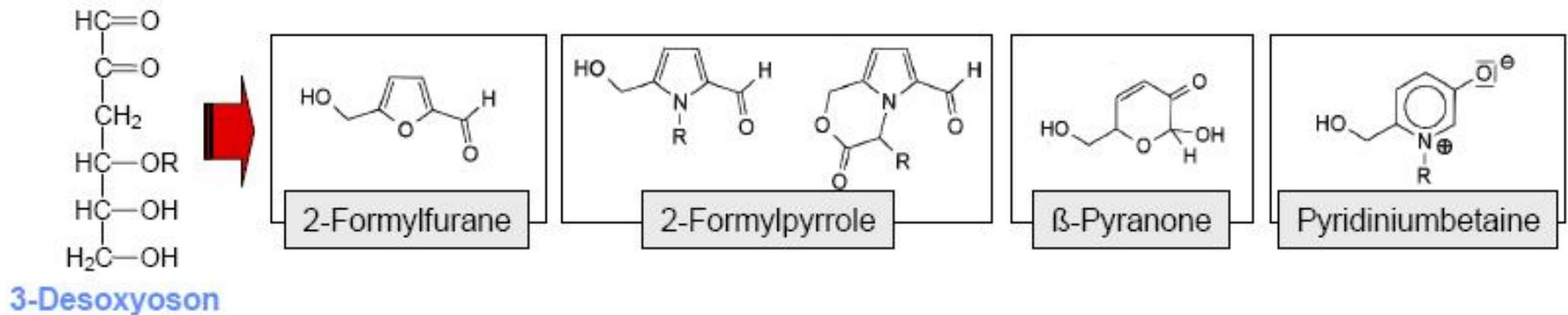


# Reazione di Maillard

## 1.3 Prodotti secondari dei 3-Deoxyosones

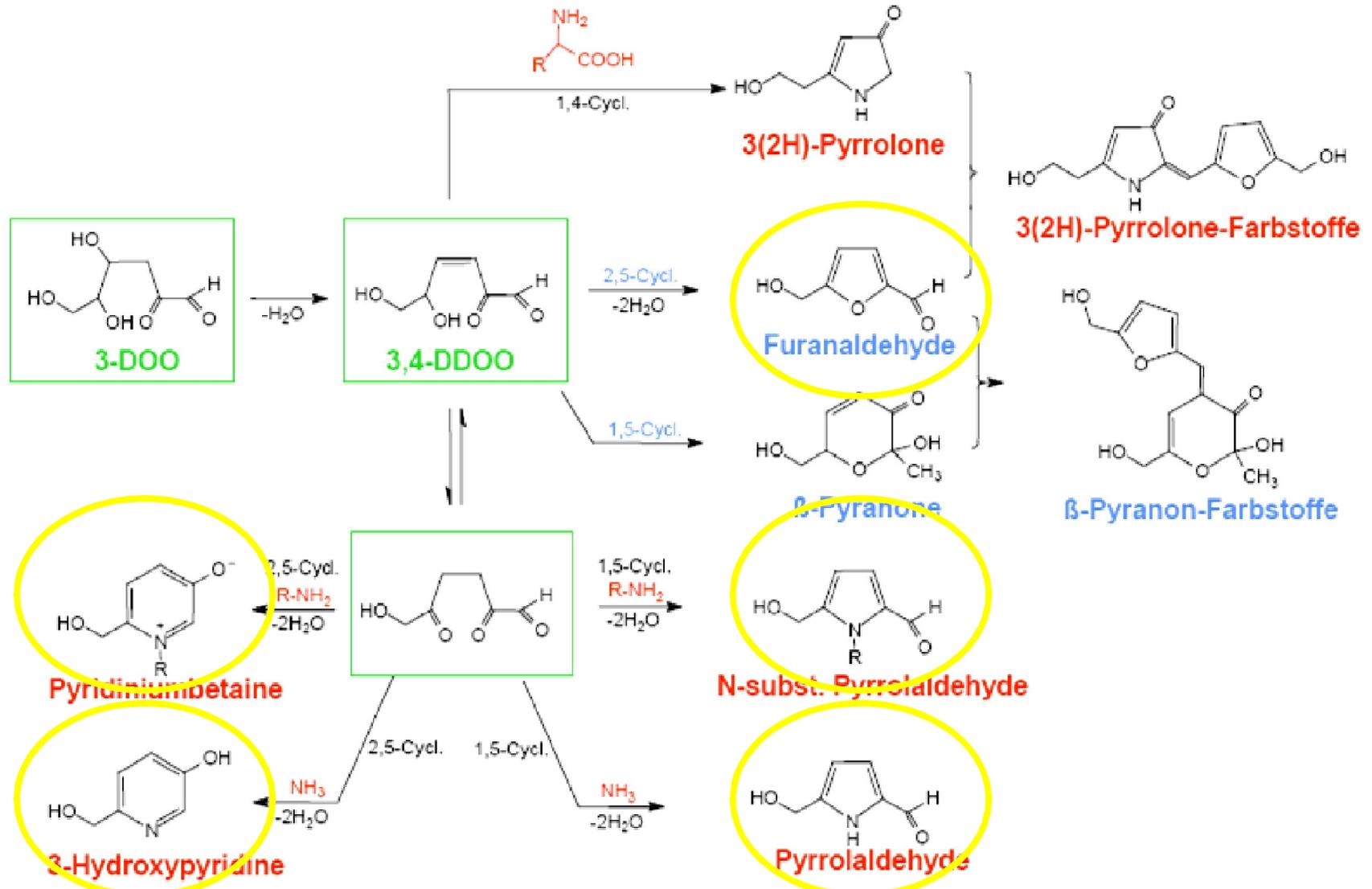
Molti tra i prodotti secondari della *reazione di Maillard* che presentano una sufficiente stabilità chimica da poter essere isolati e caratterizzati dagli alimenti trattati con il calore, possono essere ricondotti ad uno specifico precursore (deossiosone), essi si formano infatti attraverso una sequenza logica di reazioni tra le quali ricordiamo: enolizzazione, eliminazione di una molecola di acqua, scissione retroaldolica, sostituzione di una funzione amminica con un gruppo -OH.

Dai 3-Desoxyosoni si formano sottostrutture furaniche, pirroliche (in presenza di elevate concentrazioni di ammoniaca), piraniche e piridiniche.



# Reazione di Maillard

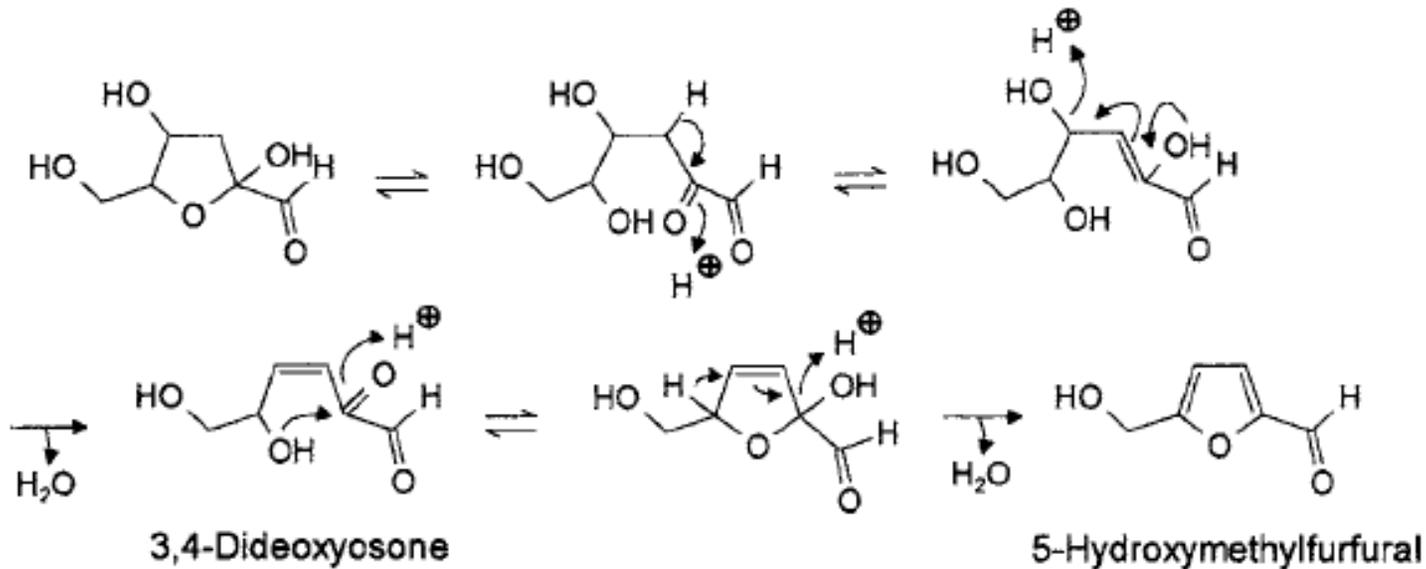
## 1.3 Prodotti secondari dei 3-Deoxyosones



# Reazione di Maillard

## 1.3 Prodotti secondari dei 3-Deoxyosones

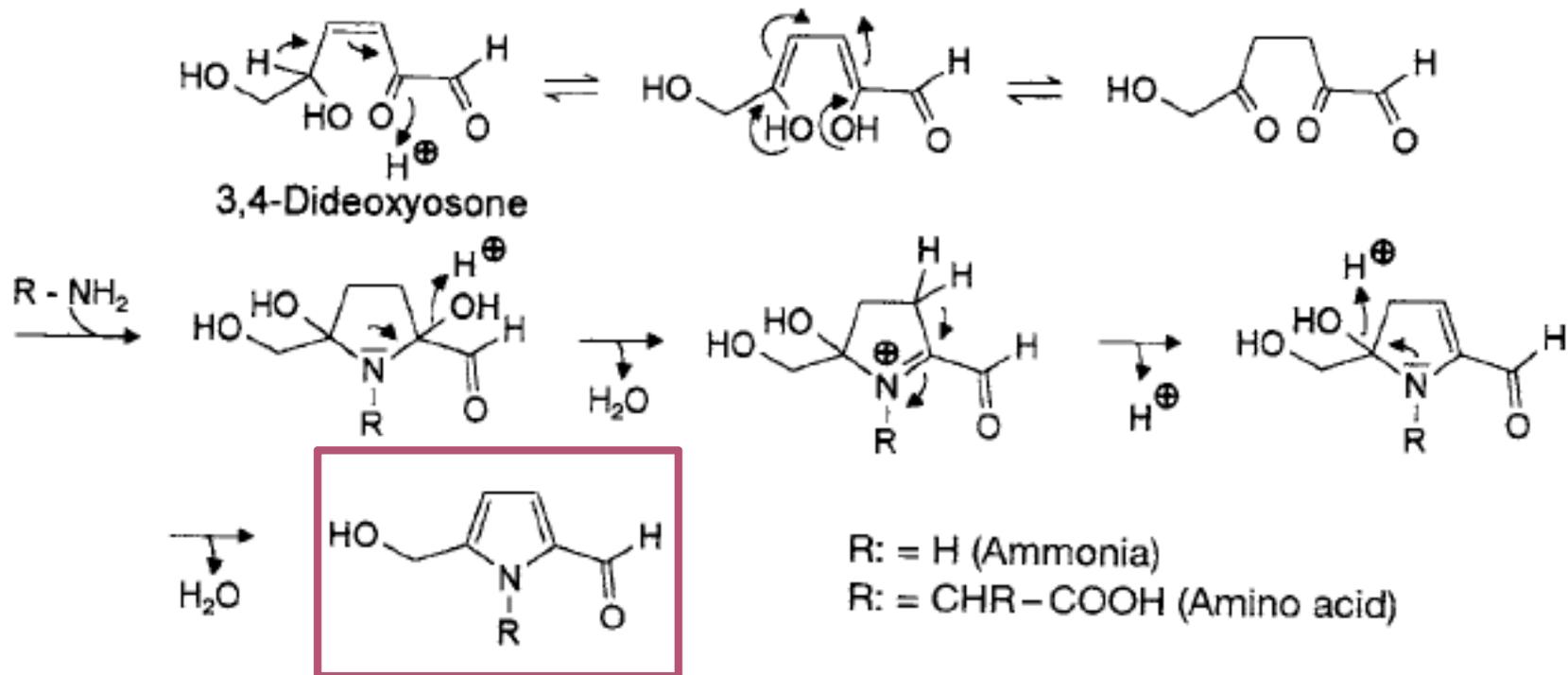
Formazione della sottostruttura furanica: HMF (da non confondere con il meccanismo di reazione indicato nelle precedenti slides e riferito alla reazione di disidratazione in ambiente acido.



# Reazione di Maillard

## 1.3 Prodotti secondari dei 3-Deoxyosones

Formazione della sottostruttura pirrolica: 2-formyl-5-hydroxymethylpyrrole. In presenza di elevate concentrazioni di ammoniaca, ammine primarie o aminoacidi i desossiosoni formano prevalentemente **2-formyl-5-hydroxymethylpyrrole** o i corrispondenti derivati N-alcilati.

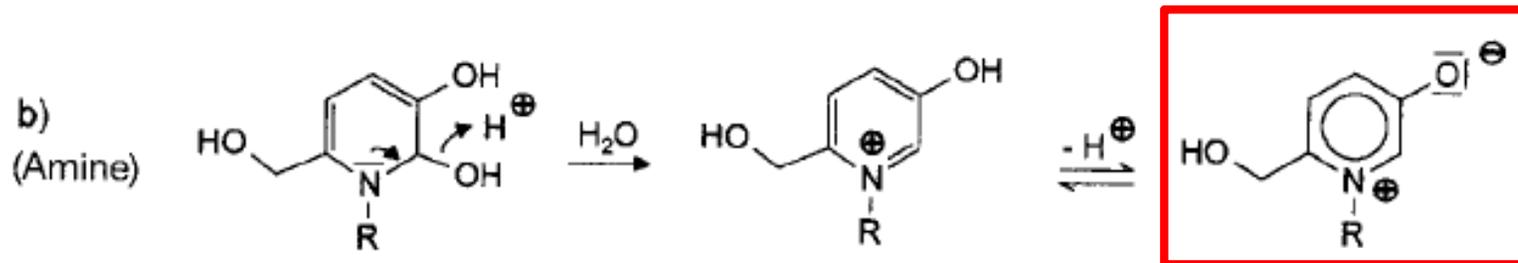
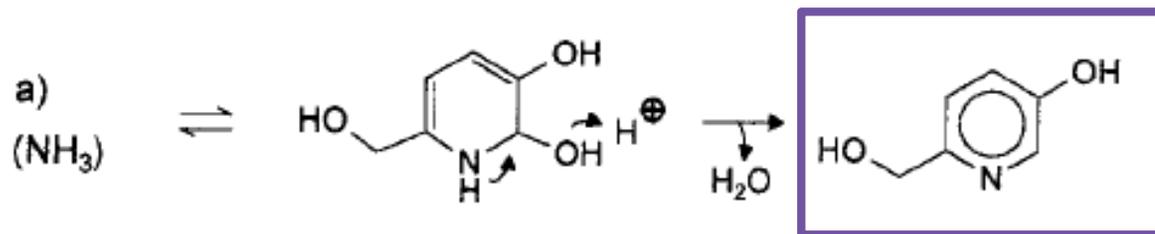
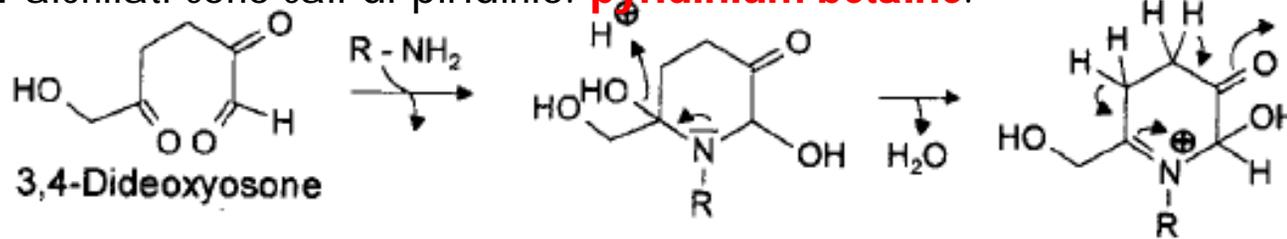


# Reazione di Maillard

## 1.3 Prodotti secondari dei 3-Deoxyosones

Formazione della sottostruttura piridinica: 3-hydroxy-5-hydroxymethylpyridine.

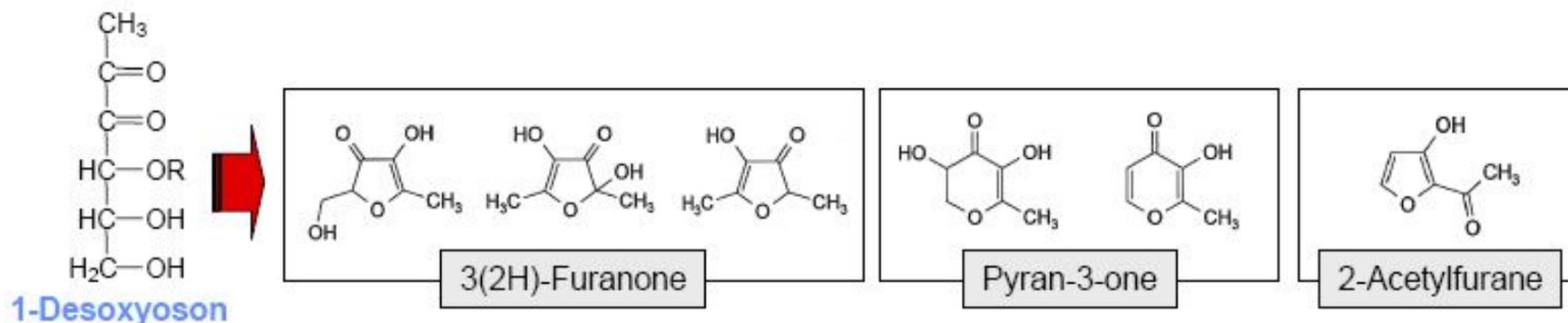
In presenza di elevate concentrazioni di ammoniaca i desossiosoni formano prevalentemente **3-hydroxy-5-hydroxymethylpyridine**; in presenza di ammine e/o aa i derivati N-alchilati sono sali di piridinio: **pyridinium betaine**.



# Reazione di Maillard

## 1.4 Prodotti secondari dei 1-Deoxyosones

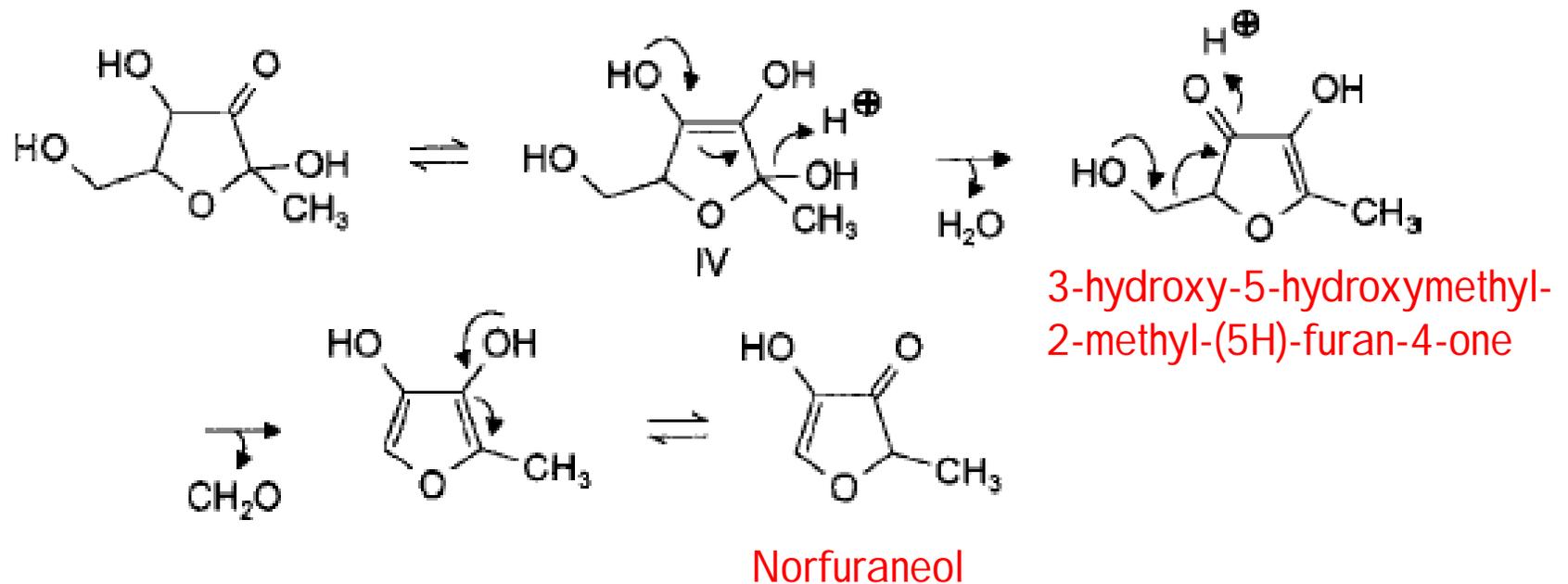
Dai 1-Desoxyosoni si formano sottostrutture furaniche, pirroliche (in presenza di elevate concentrazioni di ammoniaca) e piraniche; sono facilmente distinguibili dai derivati dei 3-Desoxyosoni in quanto presentano un gruppo metilico o acetilico in posizione 2 sull'anello furanico o piranico. Anche in questo caso si verificano disidratazioni successive al C-1, C-2, C-5 o C-6.



# Reazione di Maillard

## 1.4 Prodotti secondari dei 1-Deoxyosones

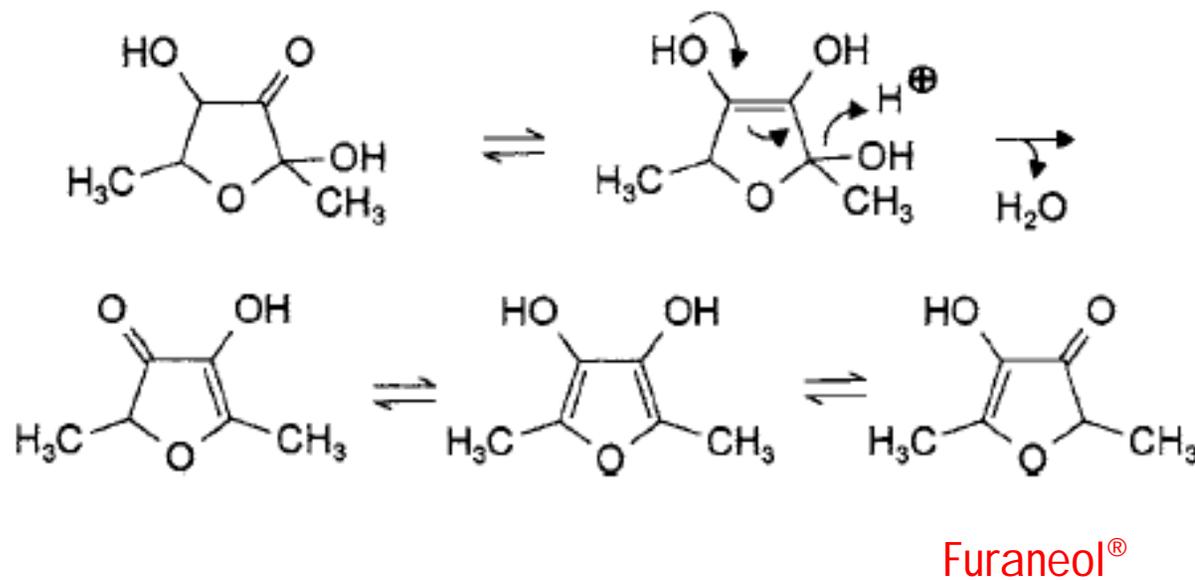
Formazione della sottostruttura furanica: Norfuraneol. Tale composto si forma per eliminazione di acqua dall'emiacetale dell'1-Deossiosone.



# Reazione di Maillard

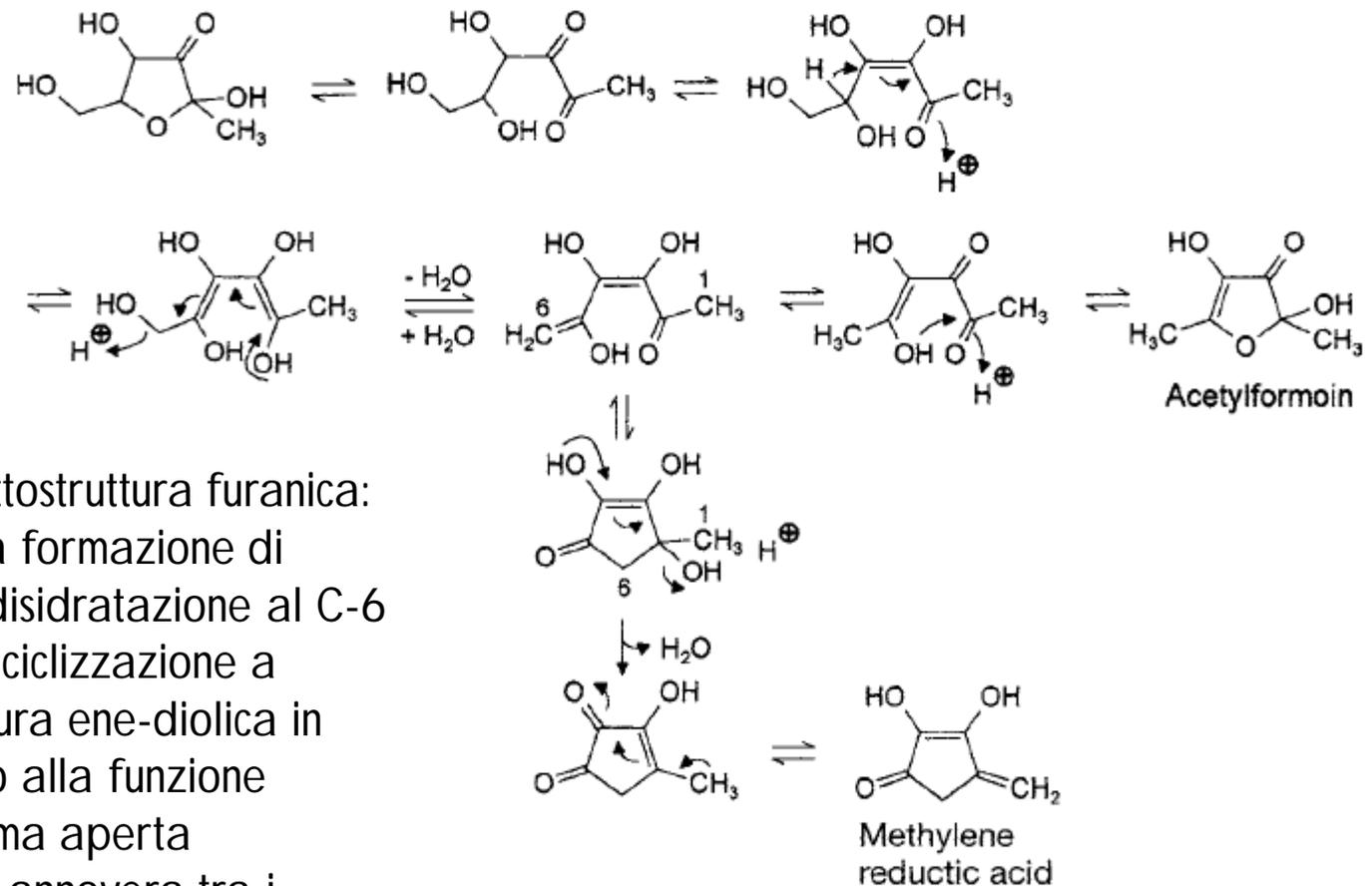
## 1.4 Prodotti secondari dei 1-Deoxyosones

Formazione della sottostruttura furanica: 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone - Furaneol®. Tale composto si forma a partire dal ramnosio.



# Reazione di Maillard

## 1.4 Prodotti secondari dei 1-Deoxyosones

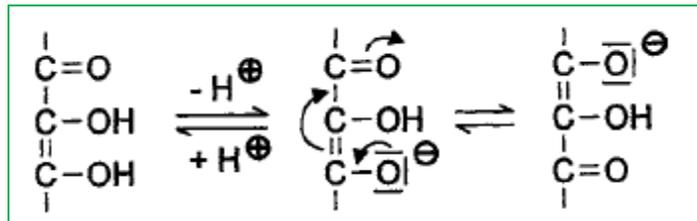


Formazione della sottostruttura furanica: Acetylformoin. Nella formazione di questo composto la disidratazione al C-6 avviene prima della ciclizzazione a furano. La sottostruttura ene-diolica in posizione  $\alpha$ - rispetto alla funzione carbonilica nella forma aperta dell'acetylformoin lo annovera tra i composti definiti **reduttoni**.

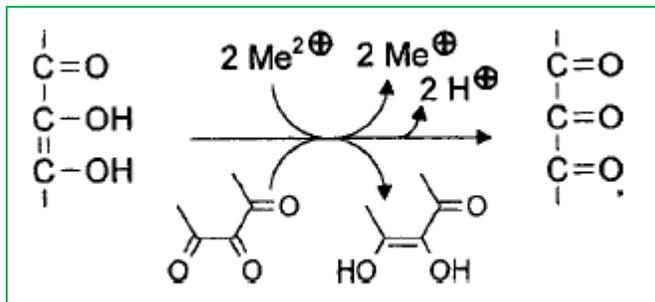
# Reazione di Maillard

## 1.4 Prodotti secondari dei 1-Deoxyosones

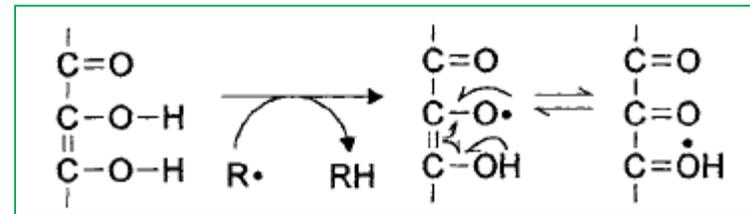
I **reduttori** tra cui ricordiamo anche la vitamina C (acido ascorbico), sono composti debolmente **acidi**,



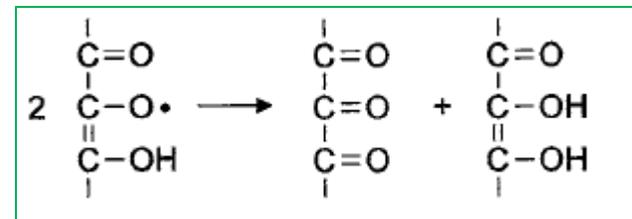
**riducenti**



**e mostrano attività antiossidante.**



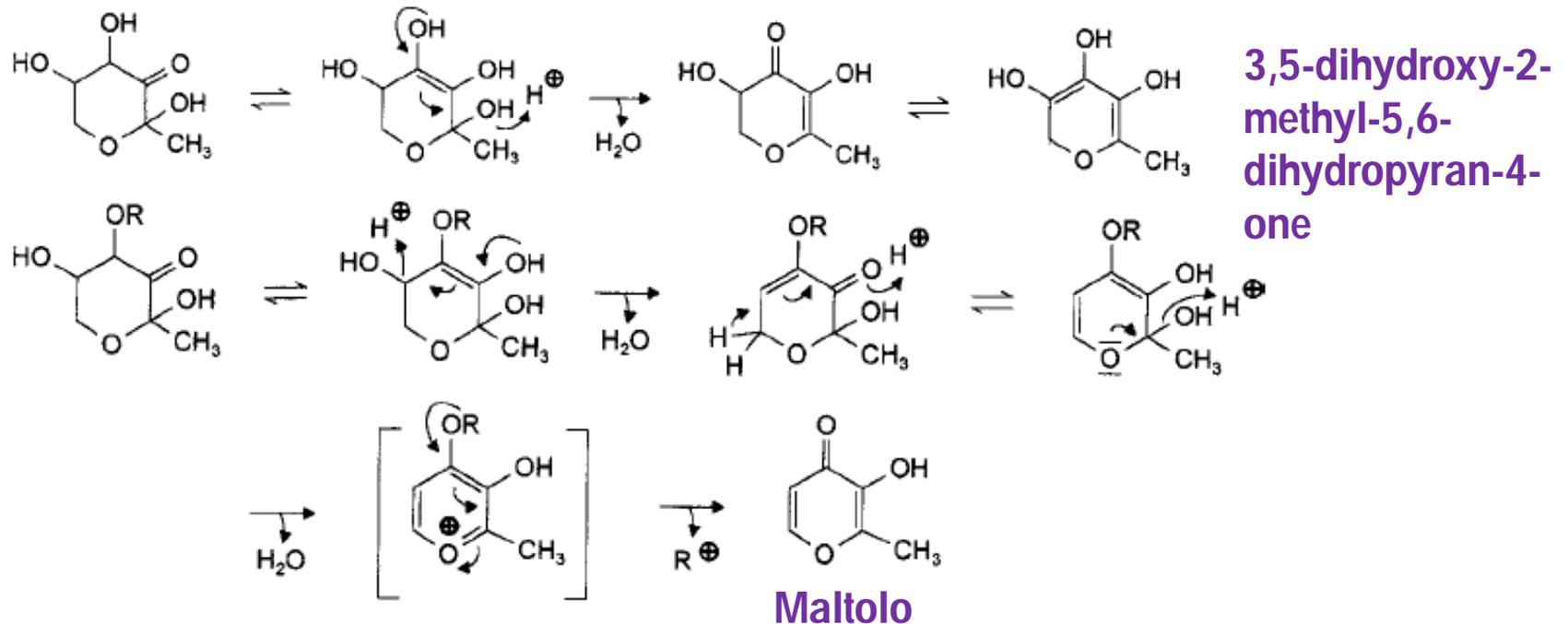
Quest'ultima dovuta alla possibilità di formare dei radicali stabilizzati per risonanza come anche la capacità di dare **reazioni di disproporzionamento** per formare nuovamente reductoni.



# Reazione di Maillard

## 1.4 Prodotti secondari dei 1-Deoxyosones

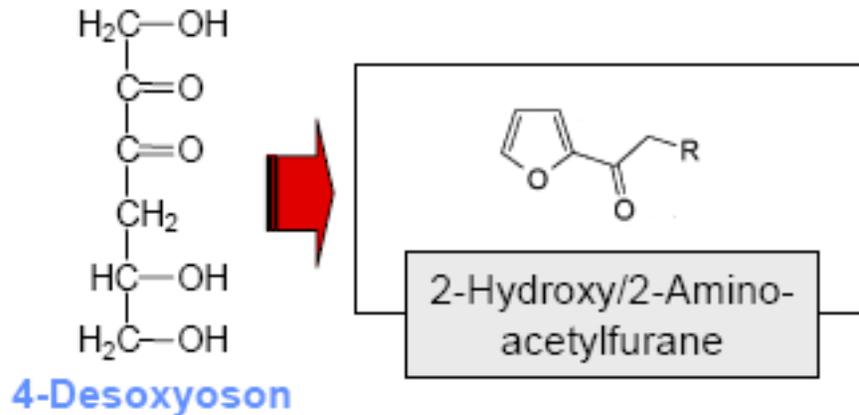
Formazione della sottostruttura piranica: **3,5-dihydroxy-2-methyl-5,6-dihydropyran-4-one** e **Maltolo**. Nella formazione del 3,5-dihydroxy-2-methyl-5,6-dihydropyran-4-one si ha la disidratazione della forma piranosica emiacetalica del 1-deoxy-2,3-hexodiulose (derivato dell'1-Deoxyosone) mentre il derivato disidratato, il Maltolo si forma a partire dai disaccaridi (maltosio e lattosio) e la perdita del residuo zuccherino è facilitata dalla stabilizzazione per risonanza della forma quasi-aromatica dell'intermedio.



# Reazione di Maillard

## 1.5 Prodotti secondari dei 4-Deoxyosones

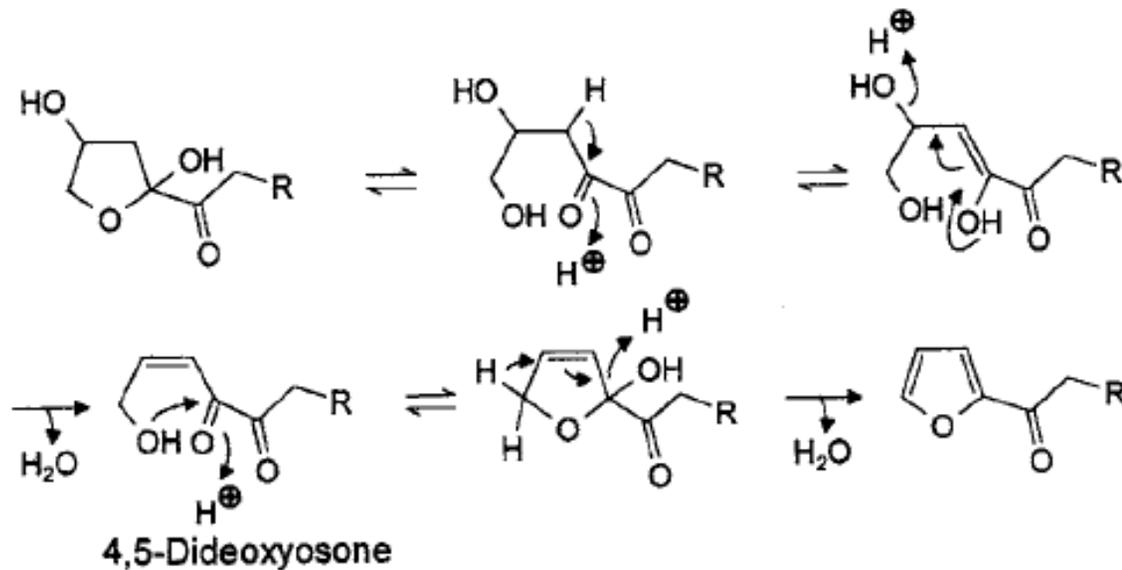
Dai 4-Desoxyosoni si formano sottostrutture furaniche ma anche pirroliche (in presenza di ammine primarie) piridiniche e piraniche



# Reazione di Maillard

## 1.5 Prodotti secondari dei 4-Deoxyosones

Formazione del 2-hydroxyacetylfulan: la formazione di questo derivato avviene per disidratazione successiva del 4-deossosone e successivamente dell'intermedio 4,5-dideoossosone. Sebbene possibile tale composto si forma più facilmente per eliminazione di due molecole di acqua dal 1,2-enediolo a partire dal fruttosio. In alternativa esso può formare per degradazione del *composto di Amadori* e se il residuo amminoacidico è ritenuto nella struttura si avrà la formazione della furosina.



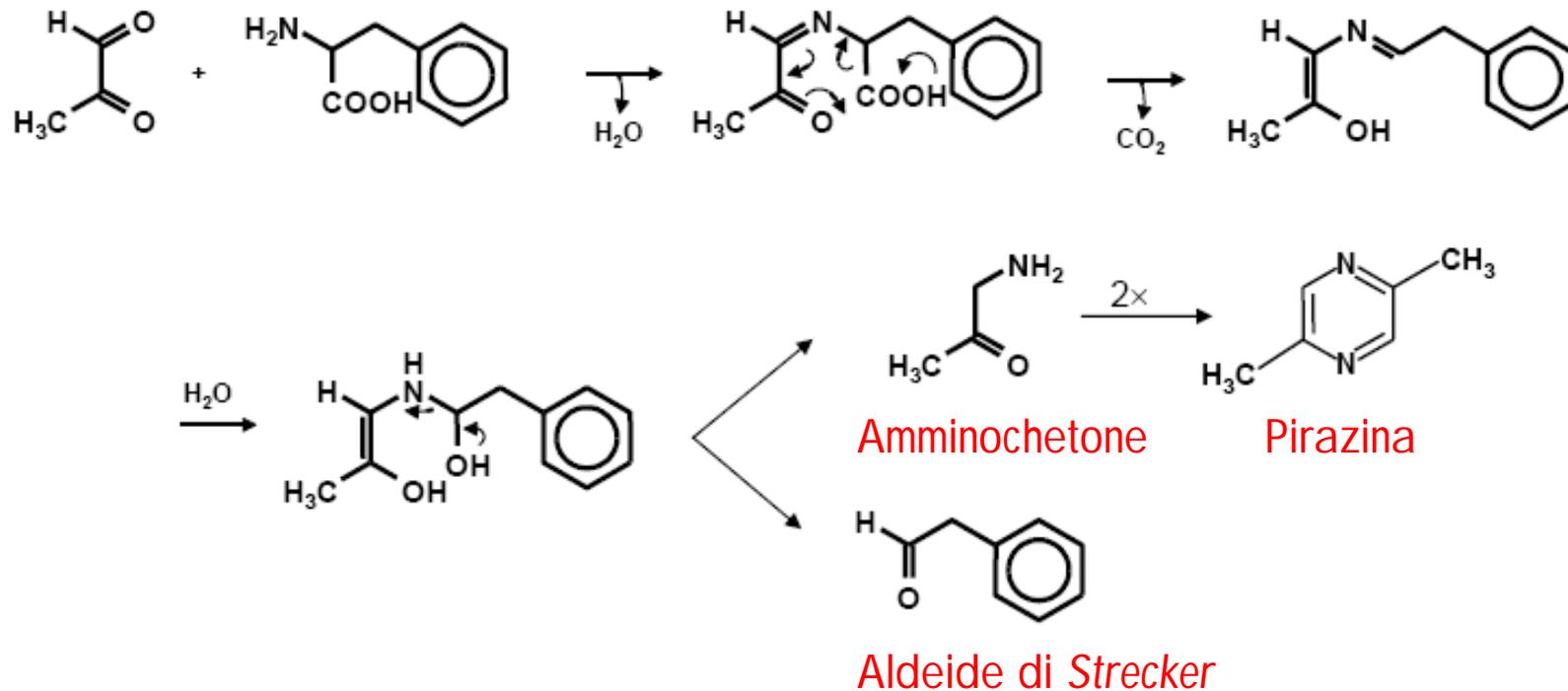
4,5-Dideoxyosone

R = OH (2-Hydroxyacetylfulan)      R =  $\overset{\text{H}}{\text{N}}$  - Lysine (Furosine)

# Reazione di Maillard

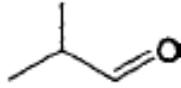
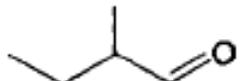
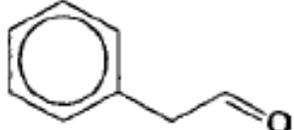
## 1.6 Reazione di Strecker

Le reazioni tra i composti  $\alpha$ -dicarbonilici, tra cui i deossiosoni formatisi dalla reazione di *Maillard*, e gli amminiacidi sono classificate sotto il termine di reazioni di *Strecker*. La reazione porta alla formazione di aldeidi (aldeidi di *Strecker*),  $\text{CO}_2$  ed  $\alpha$ -amminochetoni per mezzo di una decarbossilazione ossidativa degli  $\alpha$ -amminoacidi.



# Reazione di Maillard

## 1.6 Reazione di Strecker

Amino acid precursor	Strecker-aldehyde			Odor threshold value (µg/l; water)
	Name	Structure	Aroma description	
Gly	Formaldehyde	CH <sub>2</sub> O	Mouse-urine, ester-like	50 × 10 <sup>3</sup>
Ala	Ethanal		Sharp, penetrating, fruity	10
Val	Methylpropanal		Malty	1
Leu	3-Methylbutanal		Malty	0.2
Ile	2-Methylbutanal		Malty	4
Phe	2-Phenylethanal		Flowery, honey-like	4

# Reazione di Maillard

## 1.6 Reazione di Strecker

Tale reazione si verifica negli alimenti in presenza di elevate concentrazioni di aa liberi, ad elevata temperatura o per trattamenti ad alta pressione.

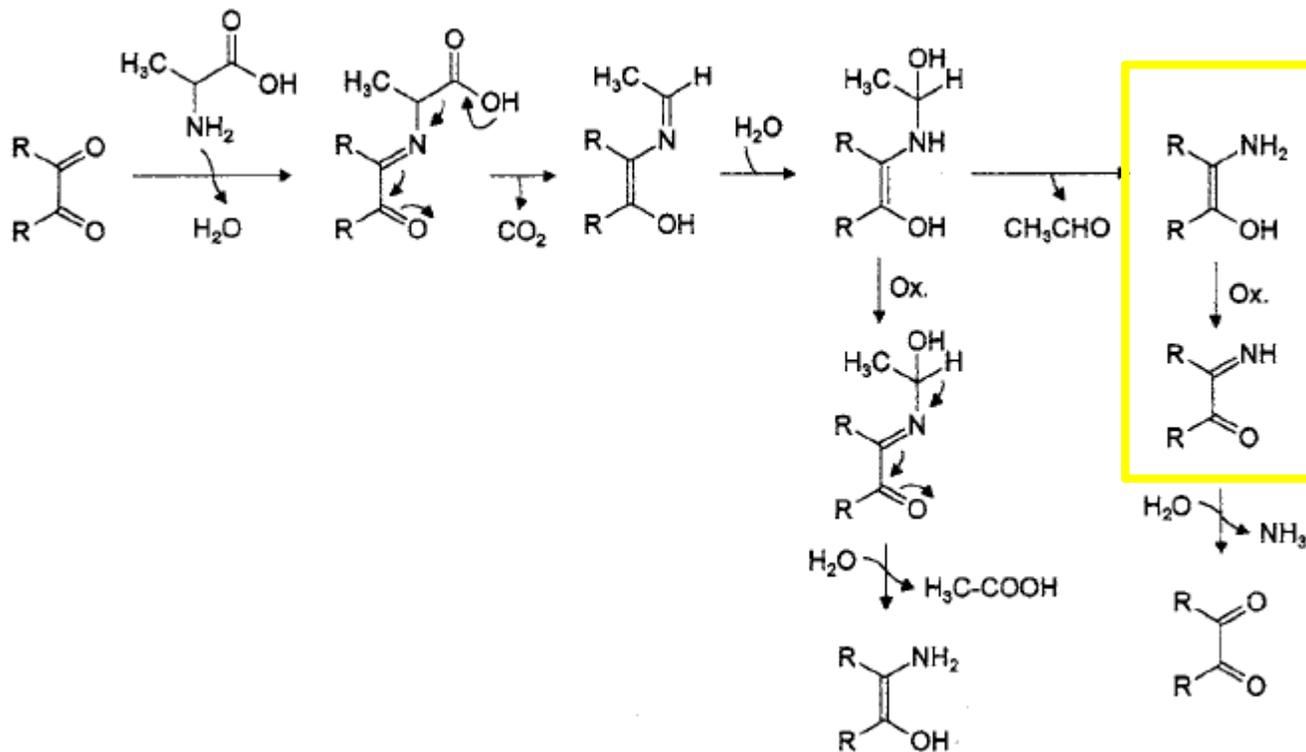
L'aldeide che si forma a partire dall'aa corrispondente, con un atomo di C in meno, sono caratterizzate da aroma intenso e caratteristico.

<i>Aldeide di Strecker</i>	Concentrazione $\mu\text{g}/\text{Kg}$			
	Crosta pane	Caffè tostato	Patate fritte	Malto tostato
<b>3-Methylbutanal</b>	<b>426</b>	<b>12400</b>	<b>2716</b>	<b>7500</b>
<b>2-Methylbutanal</b>	<b>1147</b>	<b>18700</b>	<b>10599</b>	<b>6900</b>
<b>Methylpropanal</b>	<b>4738</b>	<b>13400</b>	<b>5912</b>	<b>4000</b>
<b>Methional</b>	<b>27</b>	<b>213</b>	<b>783</b>	<b>1900</b>

# Reazione di Maillard

## 1.6 Reazione di Strecker

Recentemente si è visto che i corrispondenti acidi di Strecker si formano in ambienti particolarmente ricchi di ossigeno. Essi si formano per ossidazione dell'eneaminolo intermedio.

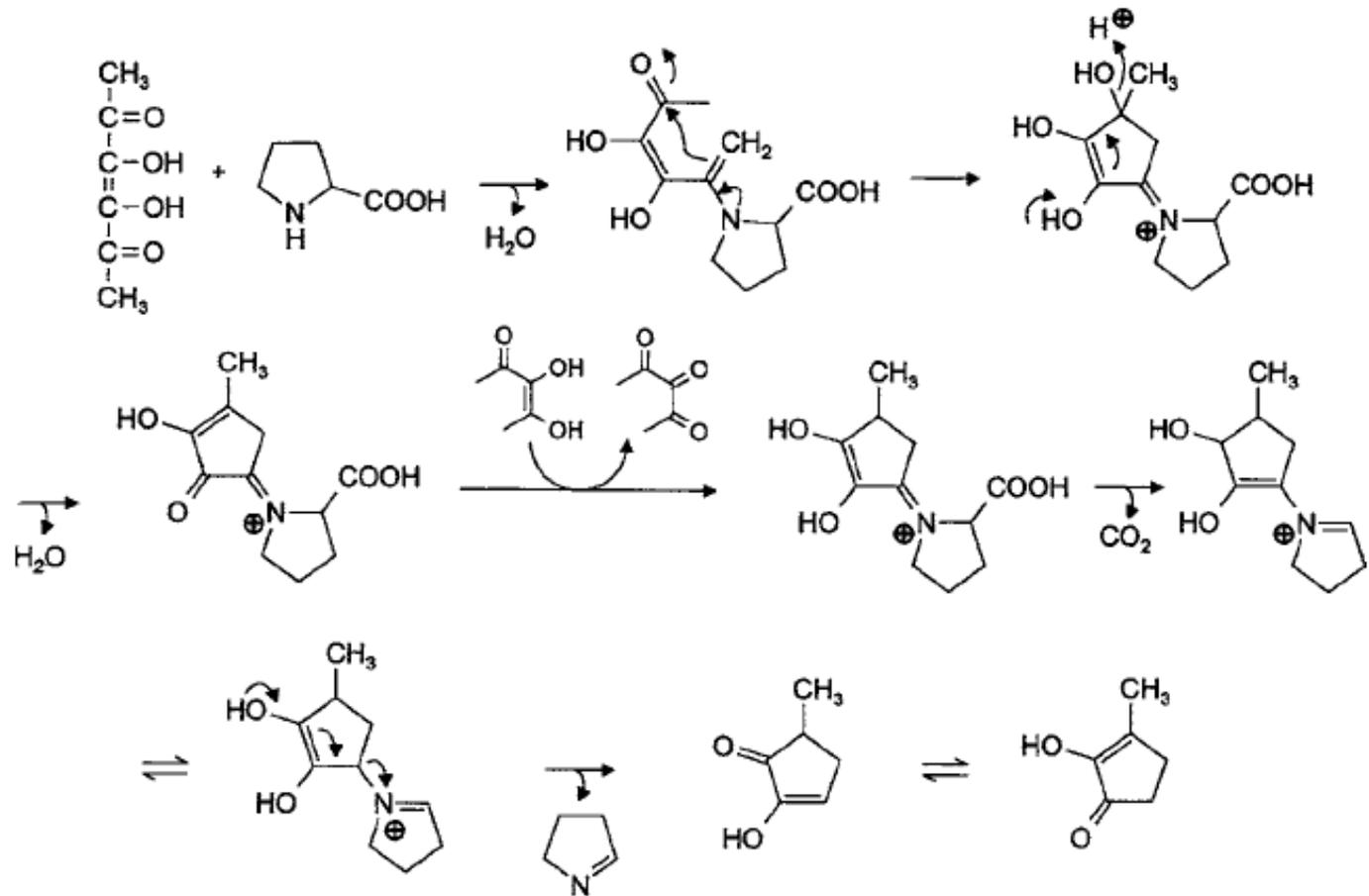


# Reazione di Maillard

## 1.6 Reazione di Strecker

La formazione del 2-hydroxy-3-methyl-cyclopent-3-enone è un esempio di reazione di Strecker piuttosto complesso.

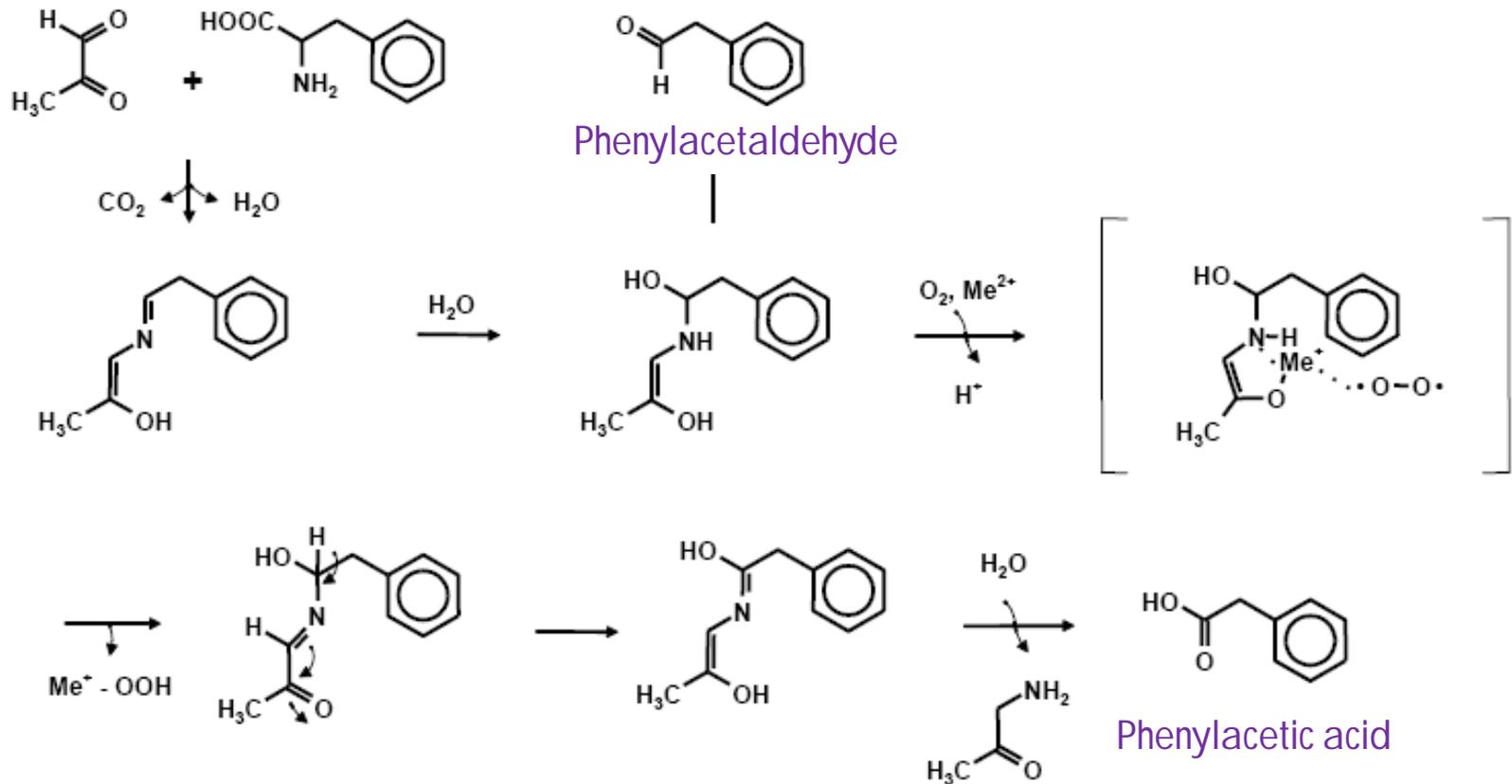
Si noti che tutti i derivati  $\alpha$ -dicarbonilici ottenuti per degradazione dei carboidrati, così come i reduttrici, possono dare tale tipo di reazione.



# Reazione di Maillard

## 1.6 Reazione di Strecker

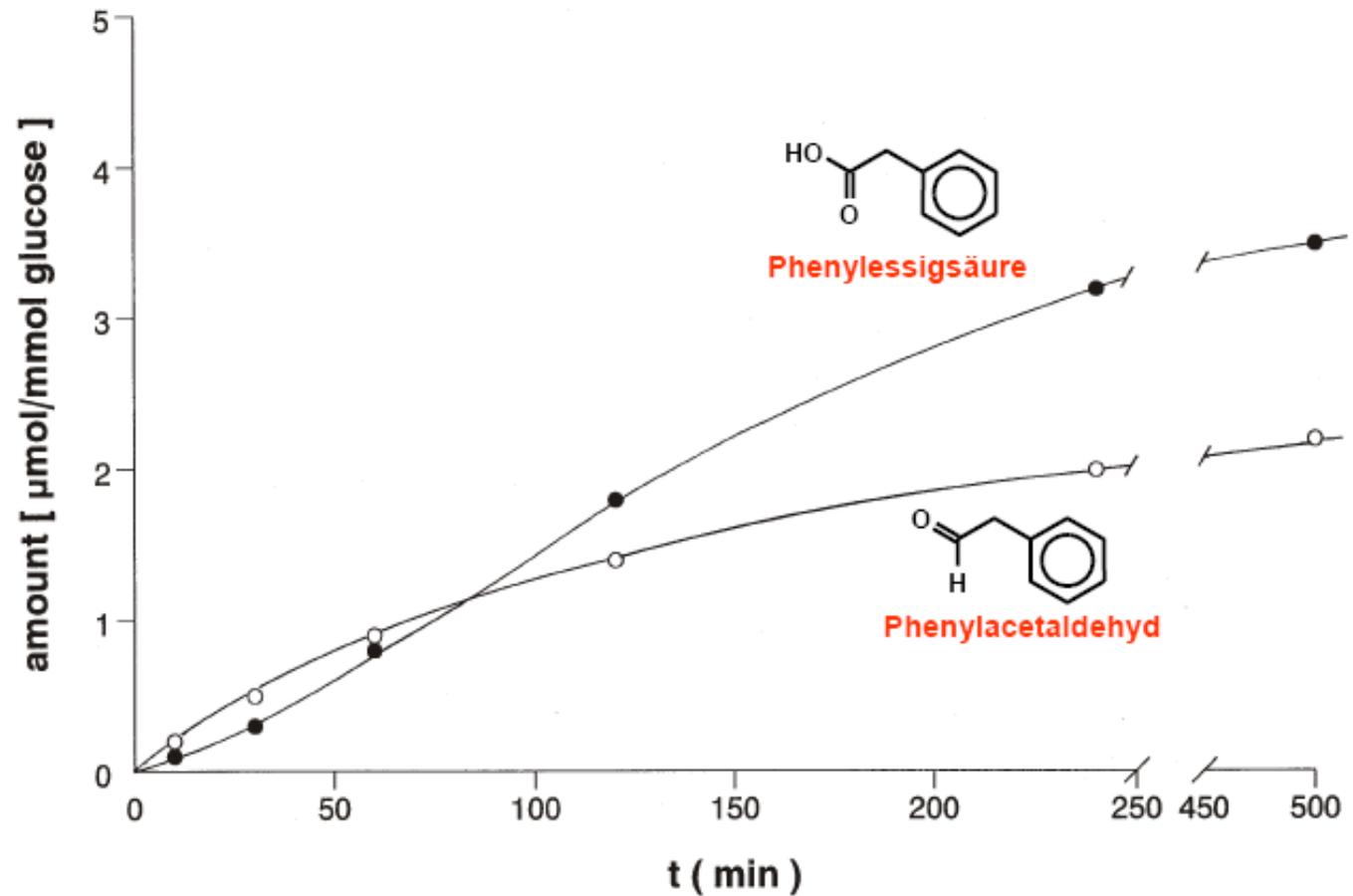
Schema di reazione relativo alla formazione di fenilacetaldeide e acido fenilacetico.



# Reazione di Maillard

## 1.6 Reazione di Strecker

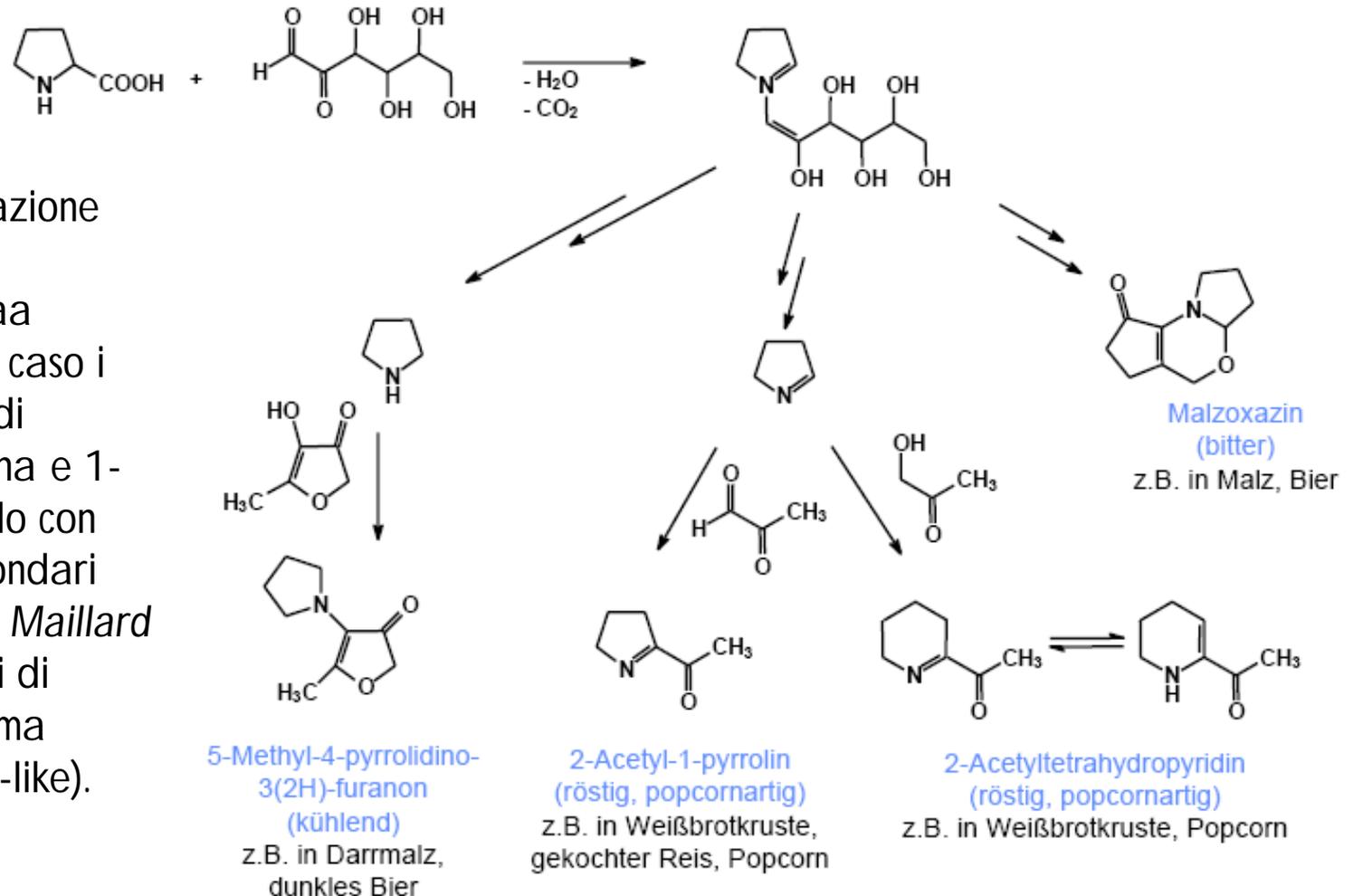
Andamento della concentrazione dei prodotti di reazione nel sistema modello glucosio-Phe in funzione della concentrazione di substrato e del tempo.



# Reazione di Maillard

## 1.6 Reazione di Strecker

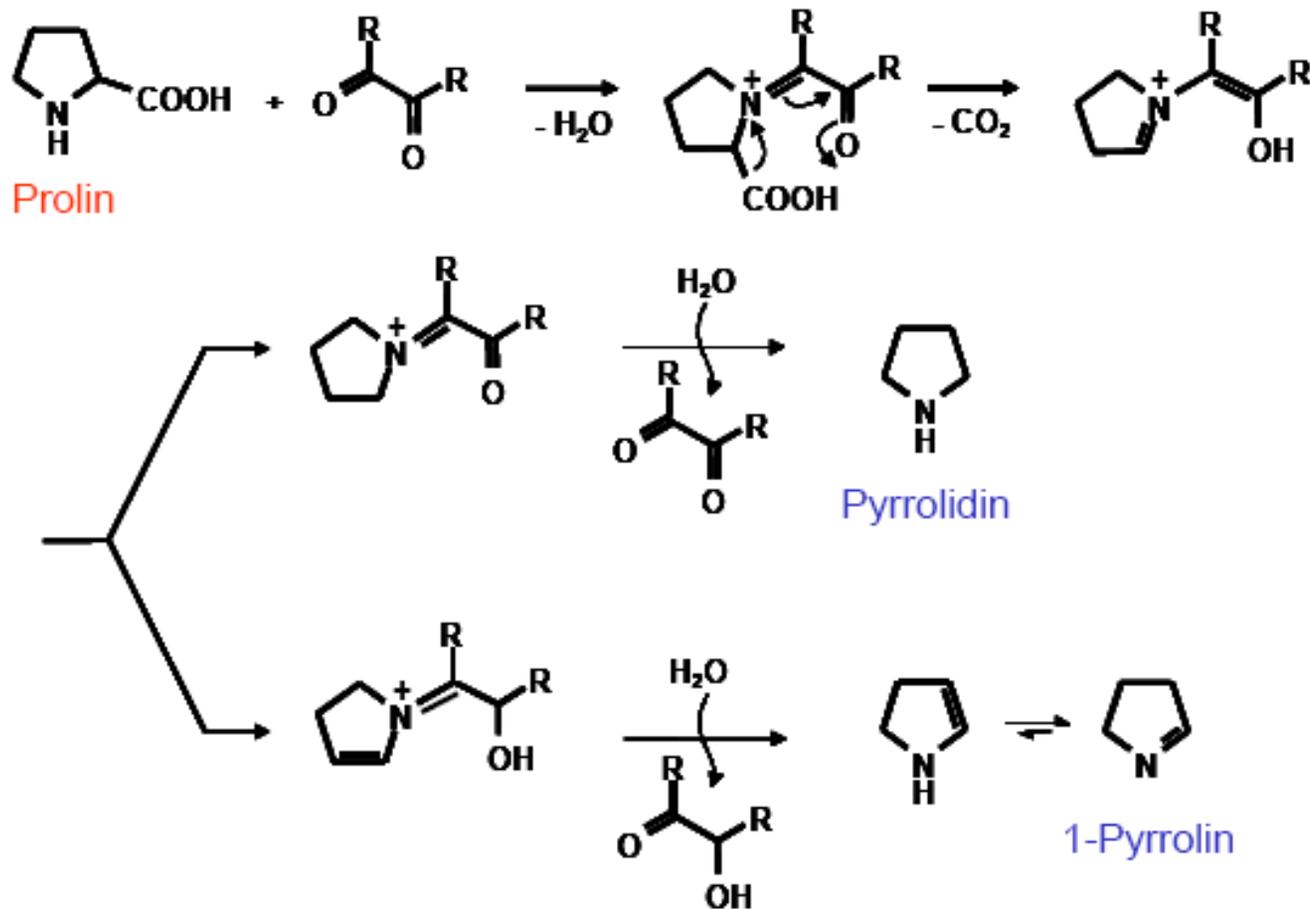
Prodotti della reazione tra un sistema  $\alpha$ -dicarbonilico e l'aa prolina. In questo caso i derivati (aldeidi di Strecker) pirrolidina e 1-pirrolina reagendo con altri prodotti secondari della reazione di Maillard formano composti di caratteristico aroma tostato (pop-corn-like).



# Reazione di Maillard

## 1.6 Reazione di Strecker

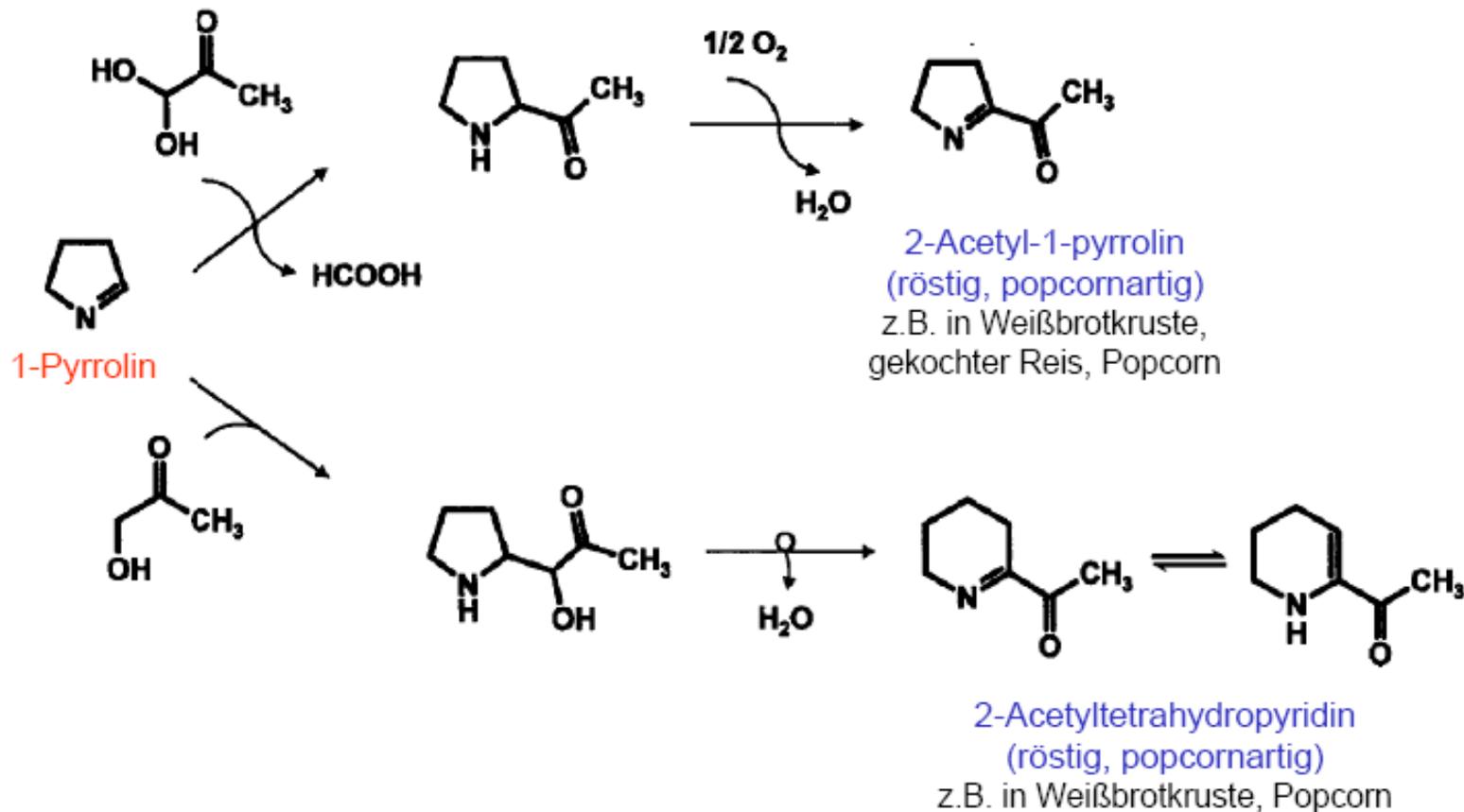
Schema di formazione della pirrolidina e 1-pyrrolina a partire dall'aa prolina.



# Reazione di Maillard

## 1.6 Reazione di Strecker

Formazione di 2-Acetyl-1-pyrrolin e 2-Acetyltetrahydropyridin.

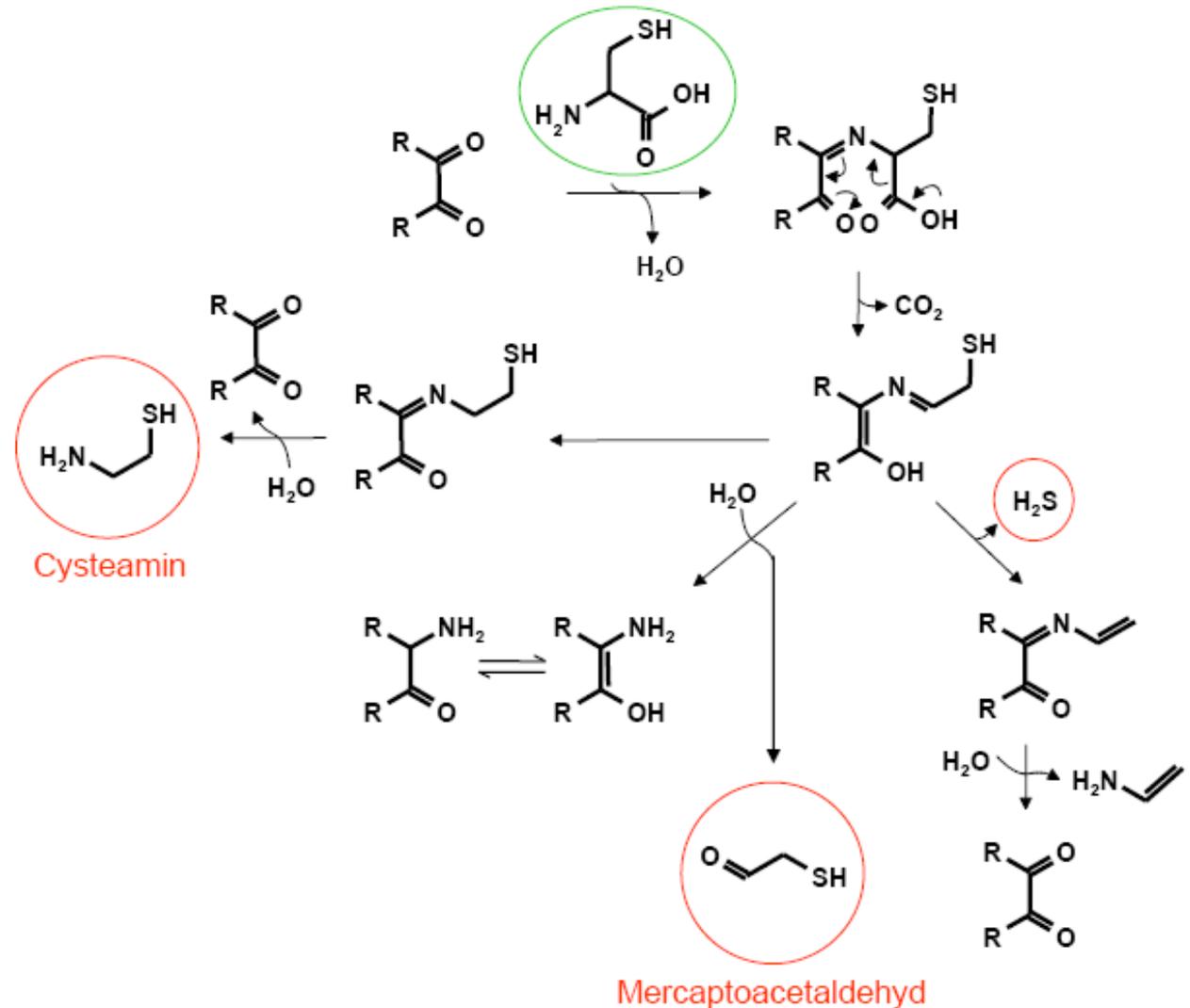


# Reazione di Maillard

## 1.6 Reazione di Strecker

Di notevole interesse sono le reazioni che vedono coinvolti gli aa solforati. Essi formano, attraverso la reazione di Strecker un ampio spettro di composti connotati da caratteristico ed intenso aroma (basse odor threshold).

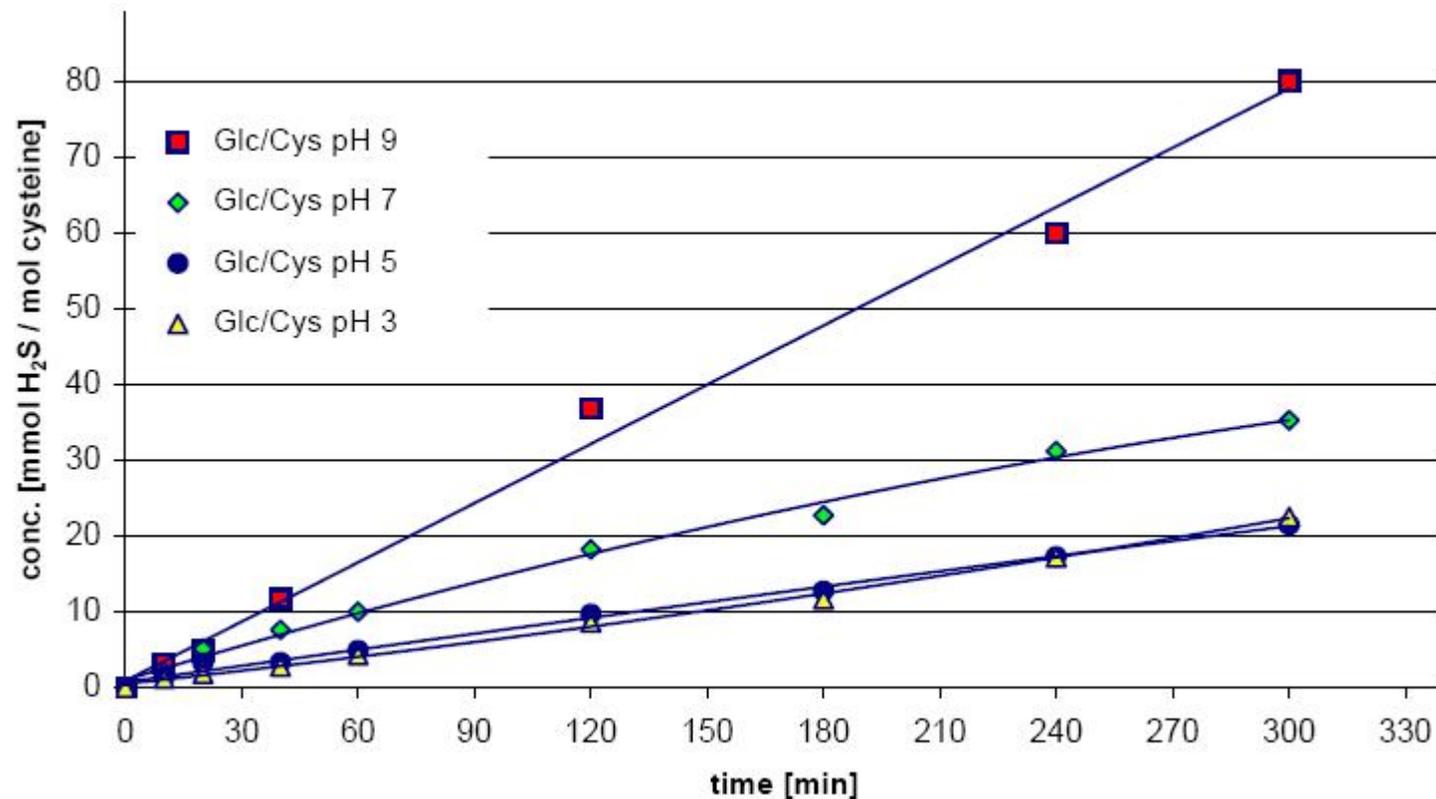
A lato l'esempio della formazione della mercaptoacetaldeide, dell'idrogeno solforato e della cisteamina.



# Reazione di Maillard

## 1.6 Reazione di Strecker

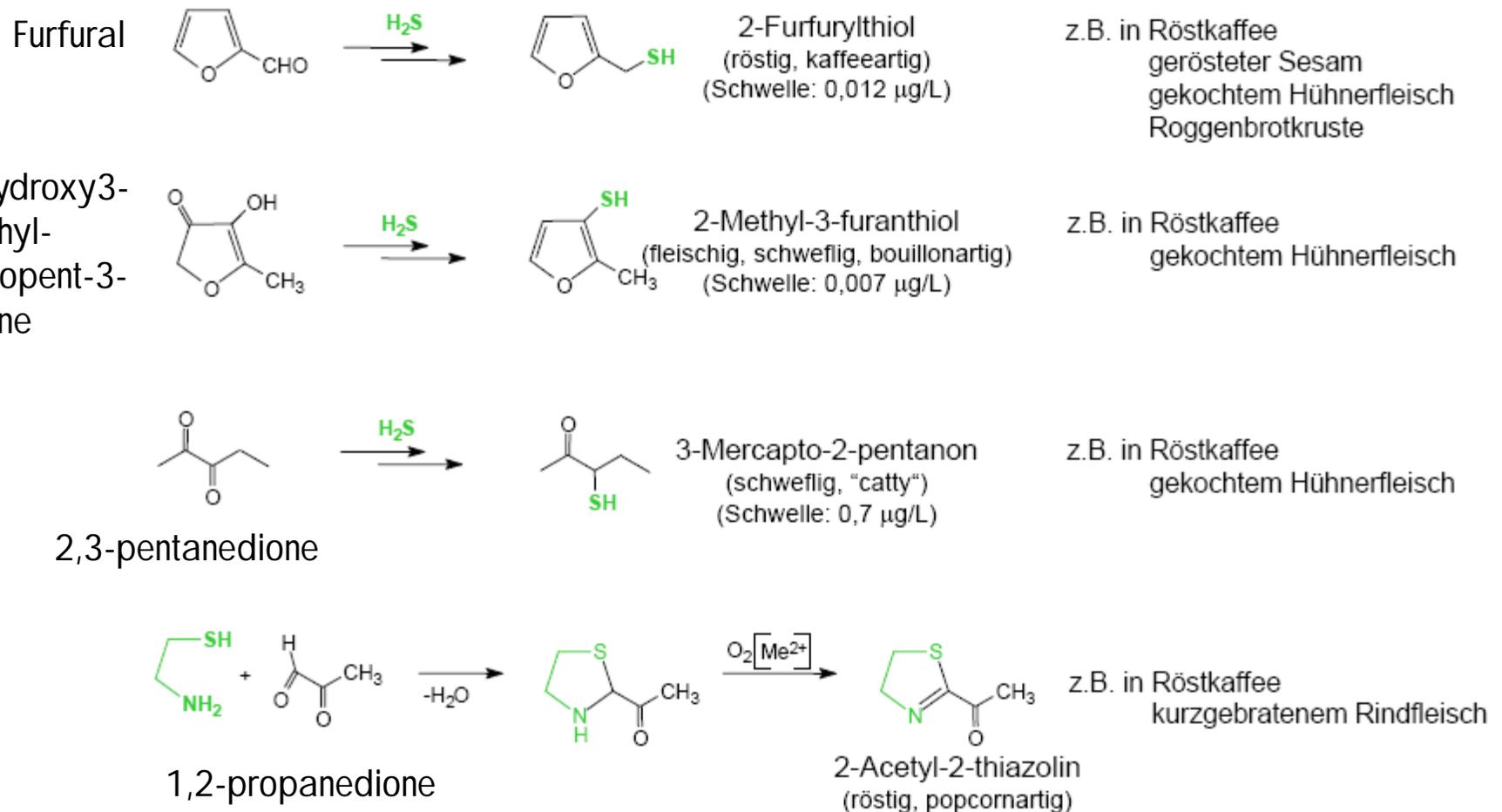
Formazione dell' $\text{H}_2\text{S}$  in un sistema modello glucosio-cisteinaa differenti valori di pH. Come si può notare la formazione di  $\text{H}_2\text{S}$  è favorita a pH basici.



# Reazione di Maillard

## 1.6 Reazione di Strecker

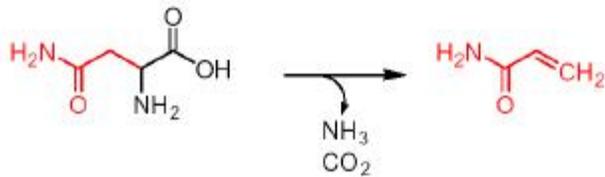
Reazione tra  $H_2S$  e cisteamina e prodotti secondari della reazione di Maillard.



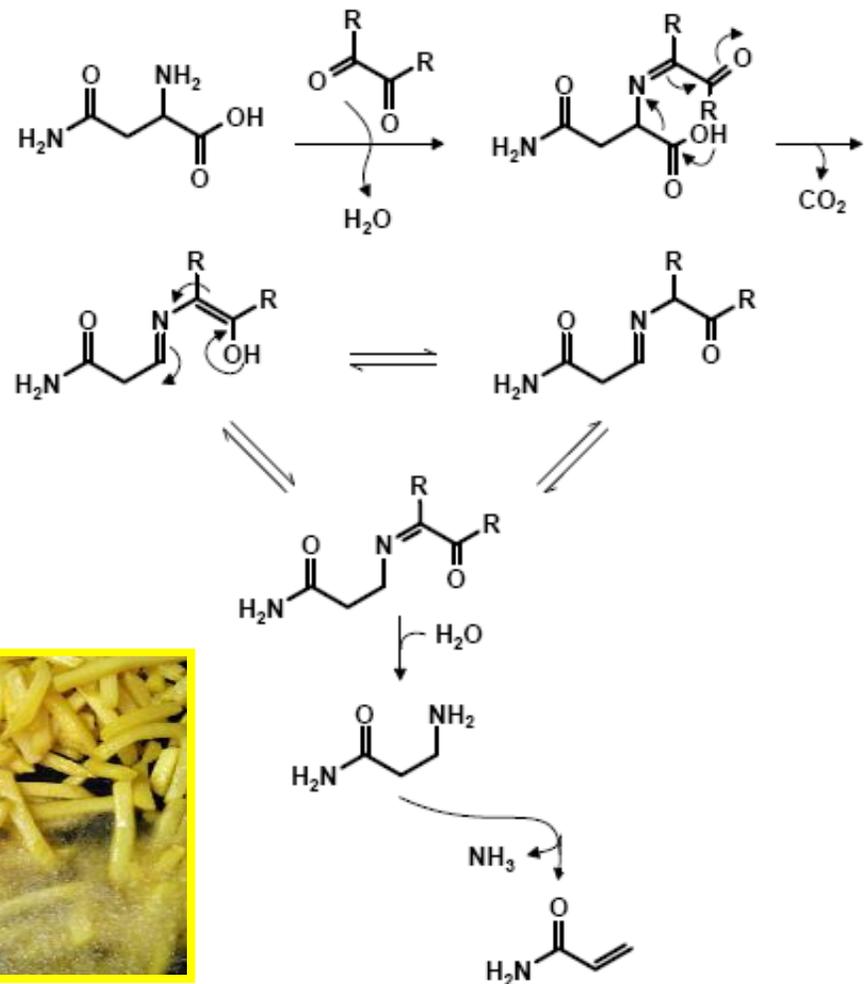
# Reazione di Maillard

## 1.6 Reazione di Strecker

Formazione di acrilammide in patate cotte ad alta temperatura (deep-frying).  
L'acrilammide si forma a partire dall'amminoacido asparagina.

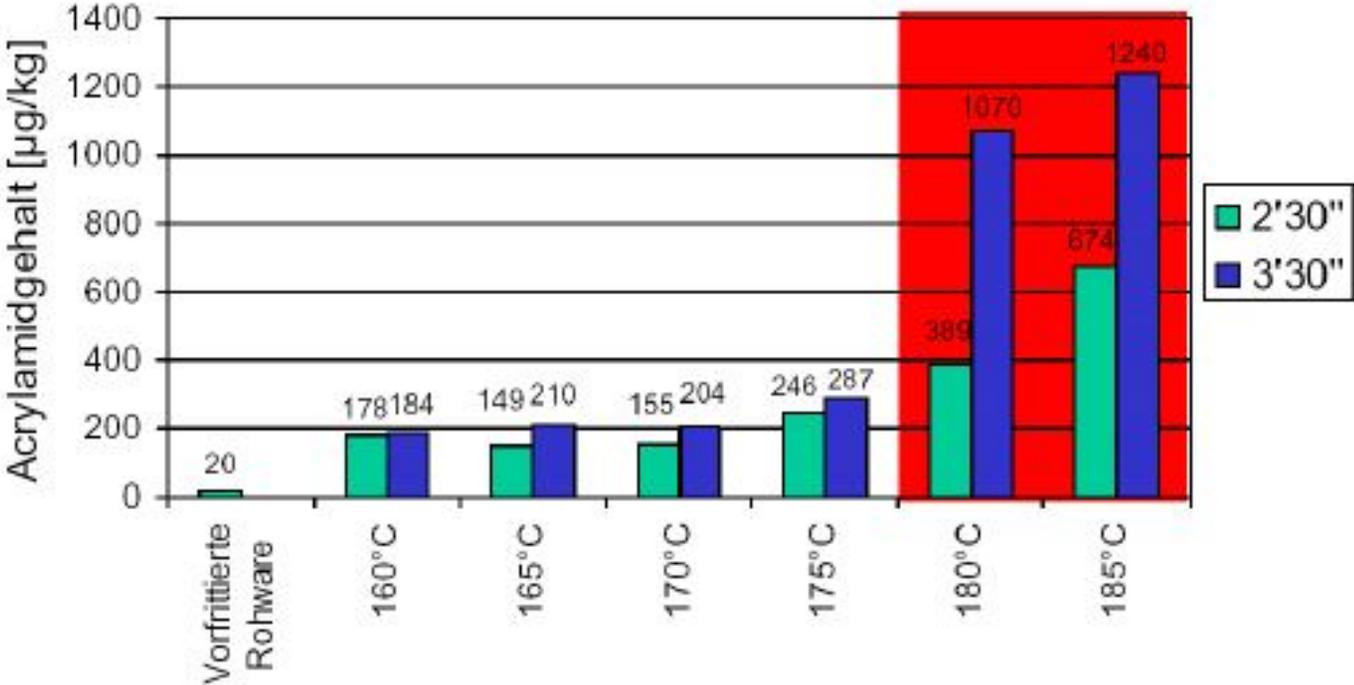


La concentrazione di asparagina aumenta con l'aumentare della temperatura di cottura, è massima tra i 180° ed i 185°C; essa aumenta con l'aumentare del tempo di cottura (2'.30'' e 3'.30'')



# Reazione di Maillard

## 1.6 Reazione di Strecker

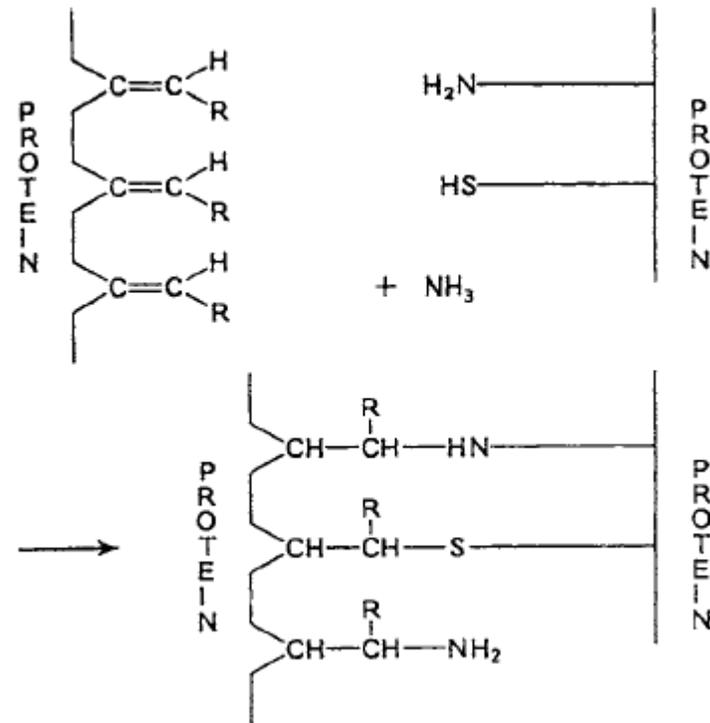


# Reazione di Maillard

## 2. Reazioni a carico delle proteine

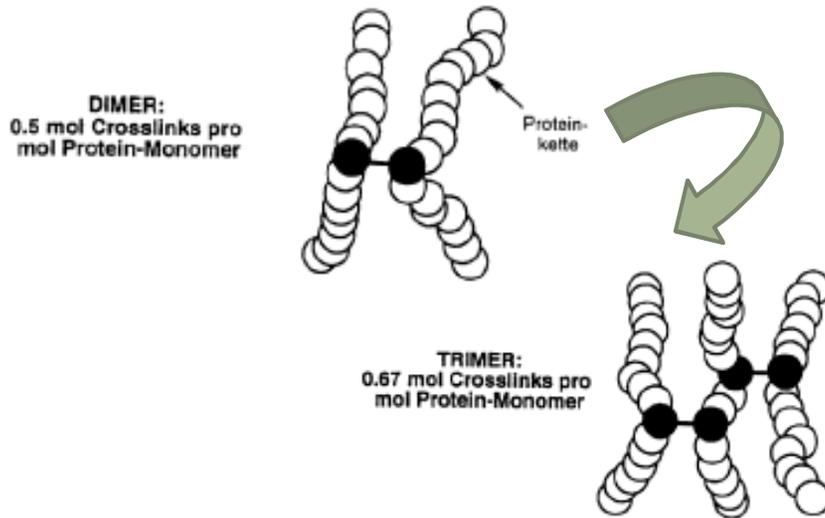
Le catene laterali delle proteine possono andare incontro a modificazioni post-translazionali durante i trattamenti termici. Tali reazioni possono portare alla formazione, tra gli altri, di composti di cross-linking tra proteine.

Una tipica reazione di questo tipo, che avviene in assenza di carboidrati, è quella tra il prodotto di eliminazione (perdita di  $H_2O$ ,  $H_2S$  o  $PO_4^{3-}$ ) di Ser, Cys o SerP rispettivamente, ovvero la deidro-Ala, e gruppi  $-NH_2$  e  $-SH$  di Lys e Cys. Tale reazione, una addizione nucleofila, porta a prodotti di cross-linking.



# Reazione di Maillard

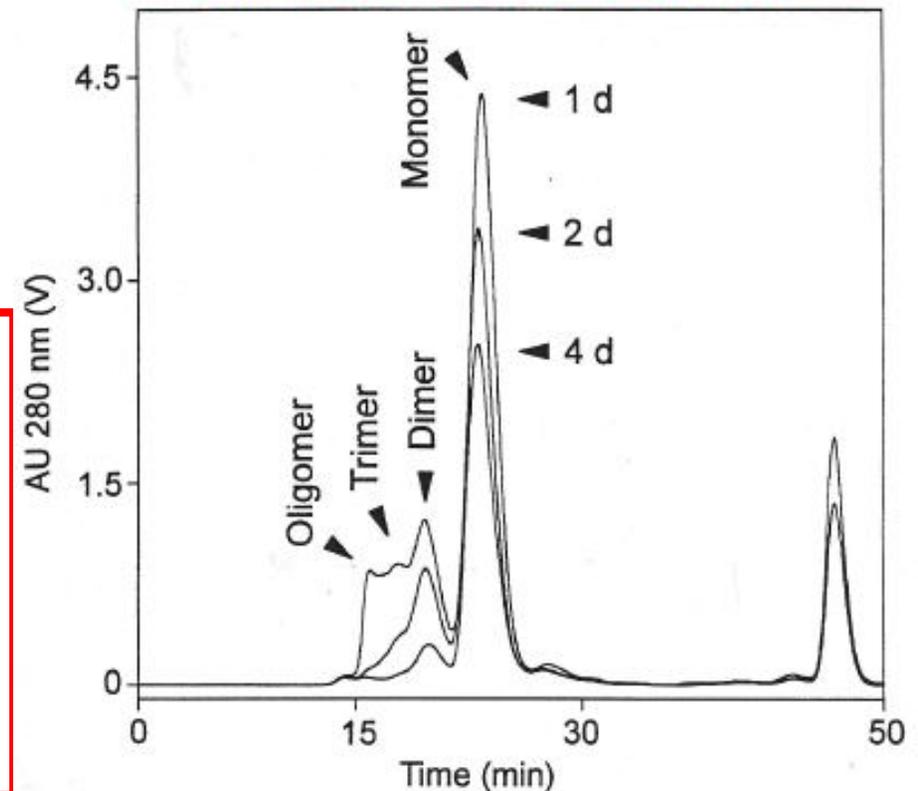
## 2. Reazioni a carico delle proteine



Il tracciato cromatografico (GPC) riportato a lato indica il grado di cross-linking che si ottiene per trattamento a 70°C di caseine.

Con il passare del tempo (1,2,4 giorni di trattamento) le forme dimere, trimere ed oligomeriche aumentano a scapito della forma monomerica nativa.

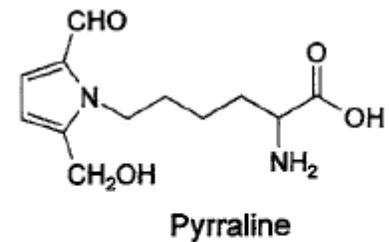
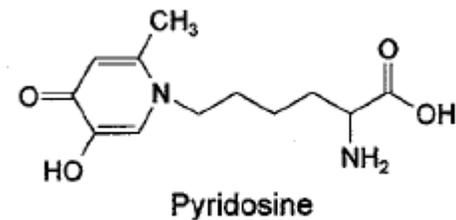
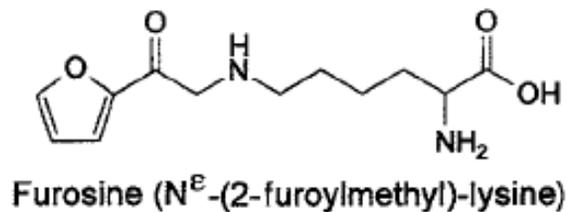
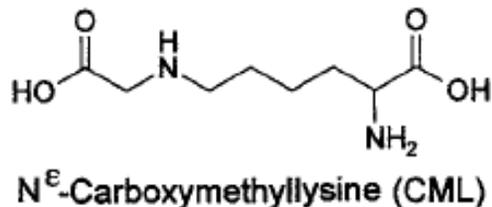
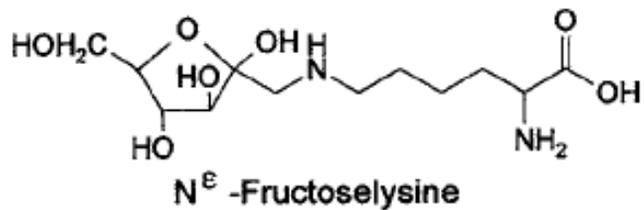
Gelchromatographie von Casein, isoliert aus Magermilchpulver nach Lagerung bei 70°C



# Reazione di Maillard

## 2. Reazioni a carico delle proteine – esempio della Lys

In presenza di carboidrati, o dei loro prodotti di degradazione, le catene laterali di Lys ed Arg sono particolarmente prone a reazioni di modificazione le quali sono accompagnate da una perdita del valore nutrizionale dell'alimento proteico coinvolto. I principali prodotti di degradazione della Lys sono riportati di seguito.

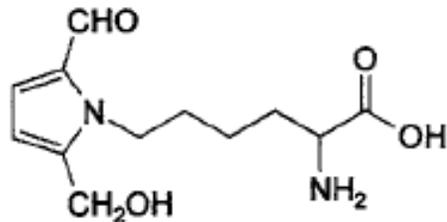


ε-(2-Formyl-5-hydroxymethyl-1-pyrrolyl)-norleucine

# Reazione di Maillard

## 2. Reazioni a carico delle proteine – esempio della Lys

La pyrroline si forma attraverso il 3,4-dideoxyosone (derivato del 4-deoxyosone), concentrazioni piuttosto elevate di tale composto sono state riscontrate in alimenti sottoposto a trattamenti termici piuttosto intensi: biscotti e prodotti da forno; non è trascurabile la sua presenza nei derivati del latte dove però il composto marker più rappresentativo per individuare lo stress termico rimane la furosina.



**Pyrraline**  
**ε-(2-Formyl-5-hydroxymethyl-1-pyrrolyl)-norleucine**

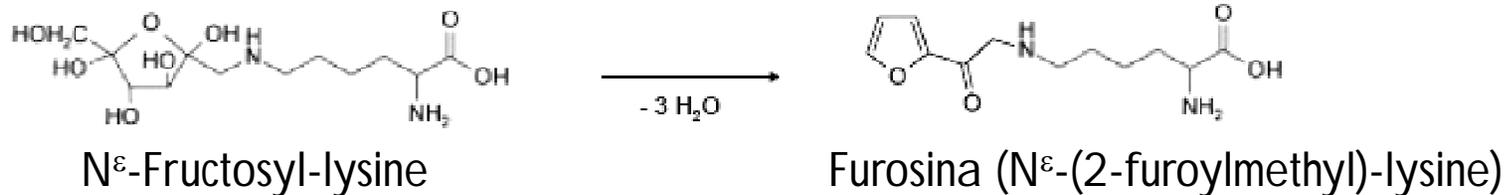
**Table 4.14.** Concentrations of pyrraline in foods

Foods	Pyrraline (mg/kg protein)
UHT milk	<2–5
Sterile milk	60–80
Condensed milk	30–135
Pretzels	220–230
White bread crust	540–3680
White bread crumb	25–110
Nibbling biscuits	970–1320

# Reazione di Maillard

## 2. Reazioni a carico delle proteine – esempio della Lys

La Furosina come già introdotto all'inizio del capitolo si forma per disidratazione del derivato N<sup>ε</sup>-Fructosyl-lysine.



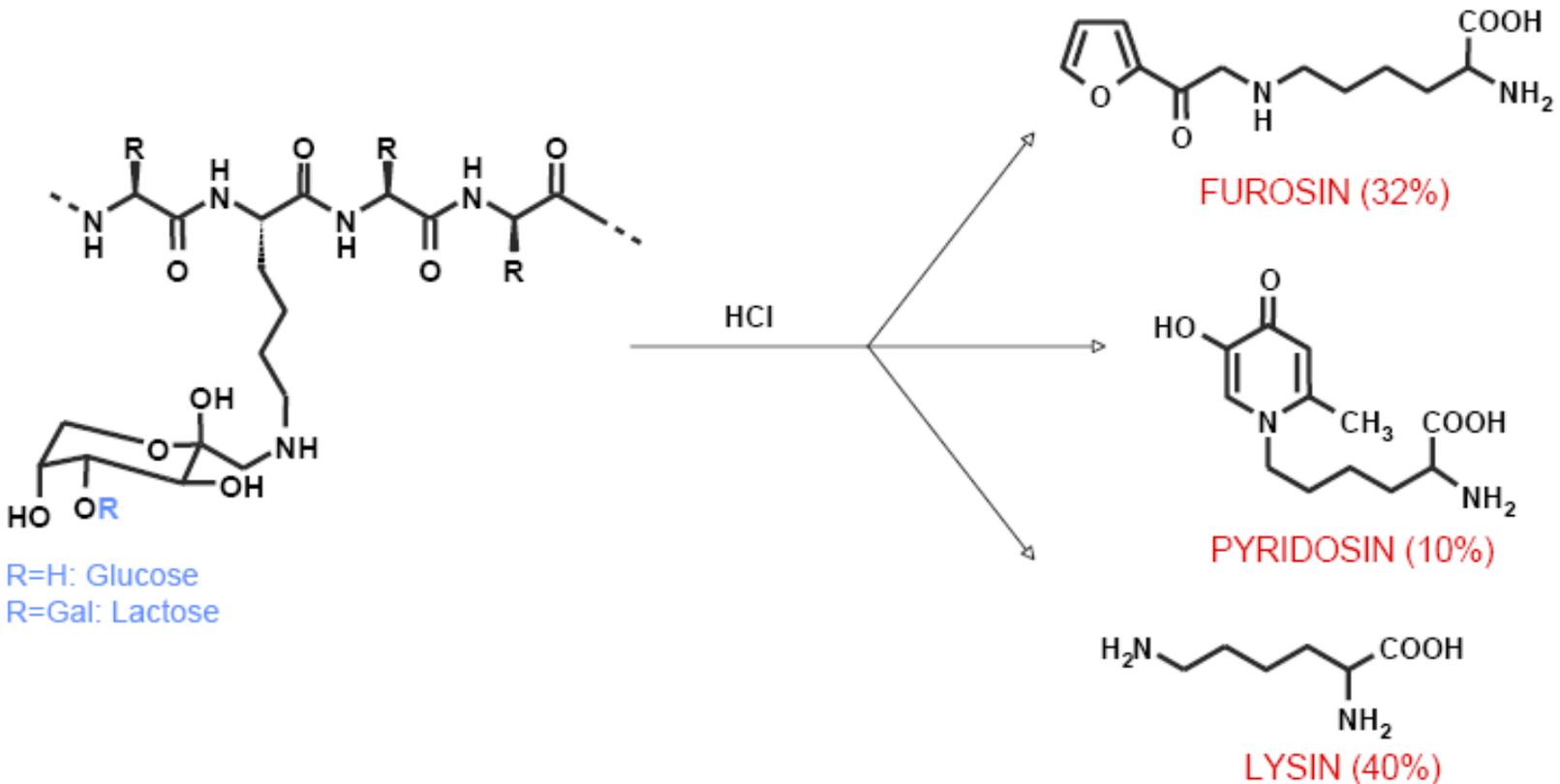
Product	Furosine (mg/kg protein)
Raw milk	35–55
Milk (pasteurized)	48–75
Milk (ultrahigh heated)	500–1800
Sterile milk	5000–12,000
Milk powder	1800–12,000
Baby food (powder)	9300–18,900
Noodles	400–8500
Bakery products	200–6000

Nel latte termizzato e nei suoi derivati, la concentrazione di furosina è utilizzata come indicatore essendo, la sua concentrazione nel prodotto finito, funzione del rapporto tempo/temperatura di trattamento

# Reazione di Maillard

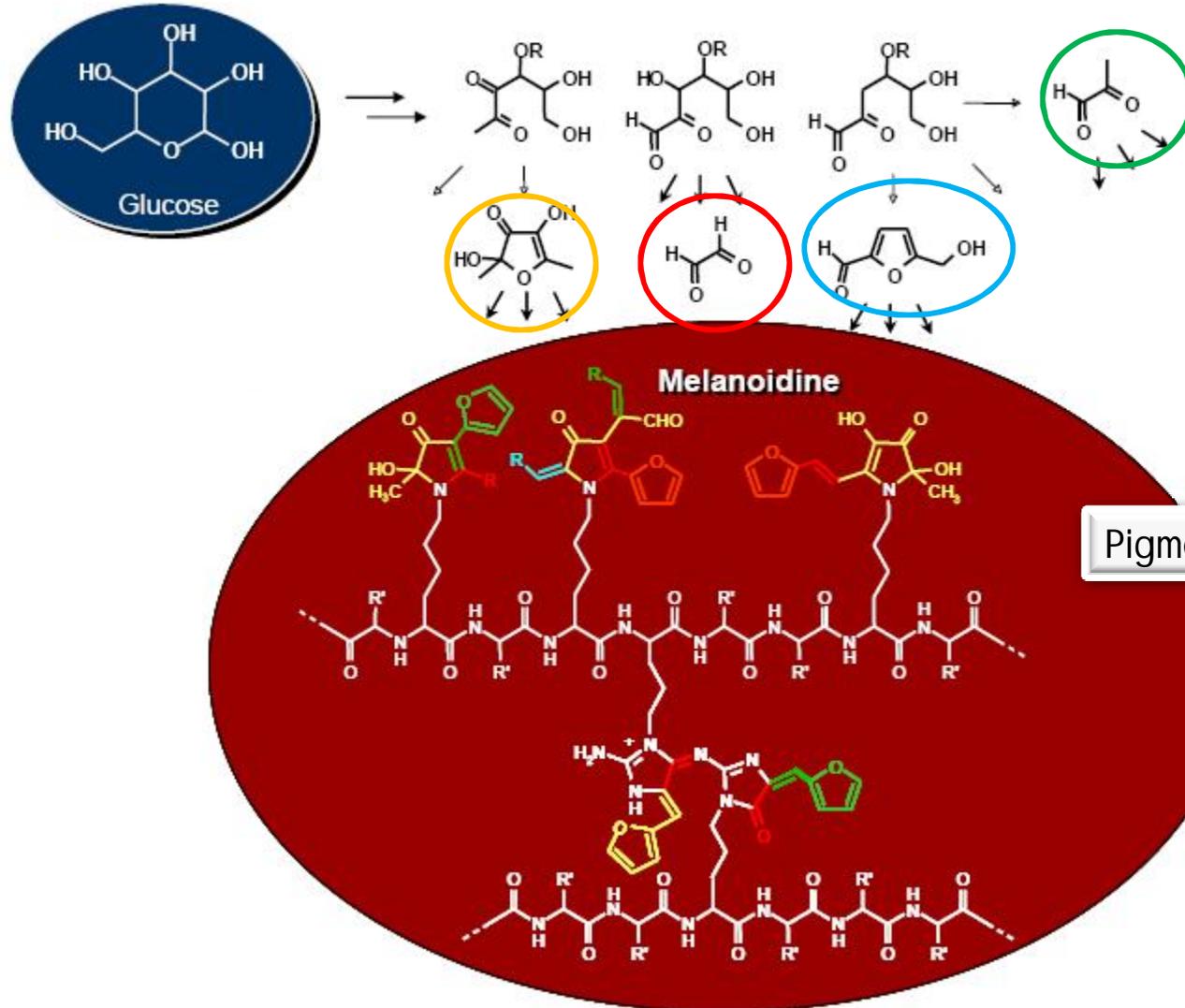
## 2. Reazioni a carico delle proteine – esempio della Lys

A livello analitico, per quantificare il danno termico si procede con una idrolisi acida (HCl) del prodotto che porta ad un rapporto stechiometrico fisso di furosina.



# Reazione di Maillard

## 3. Formazione di polimeri bruni - melanoidine

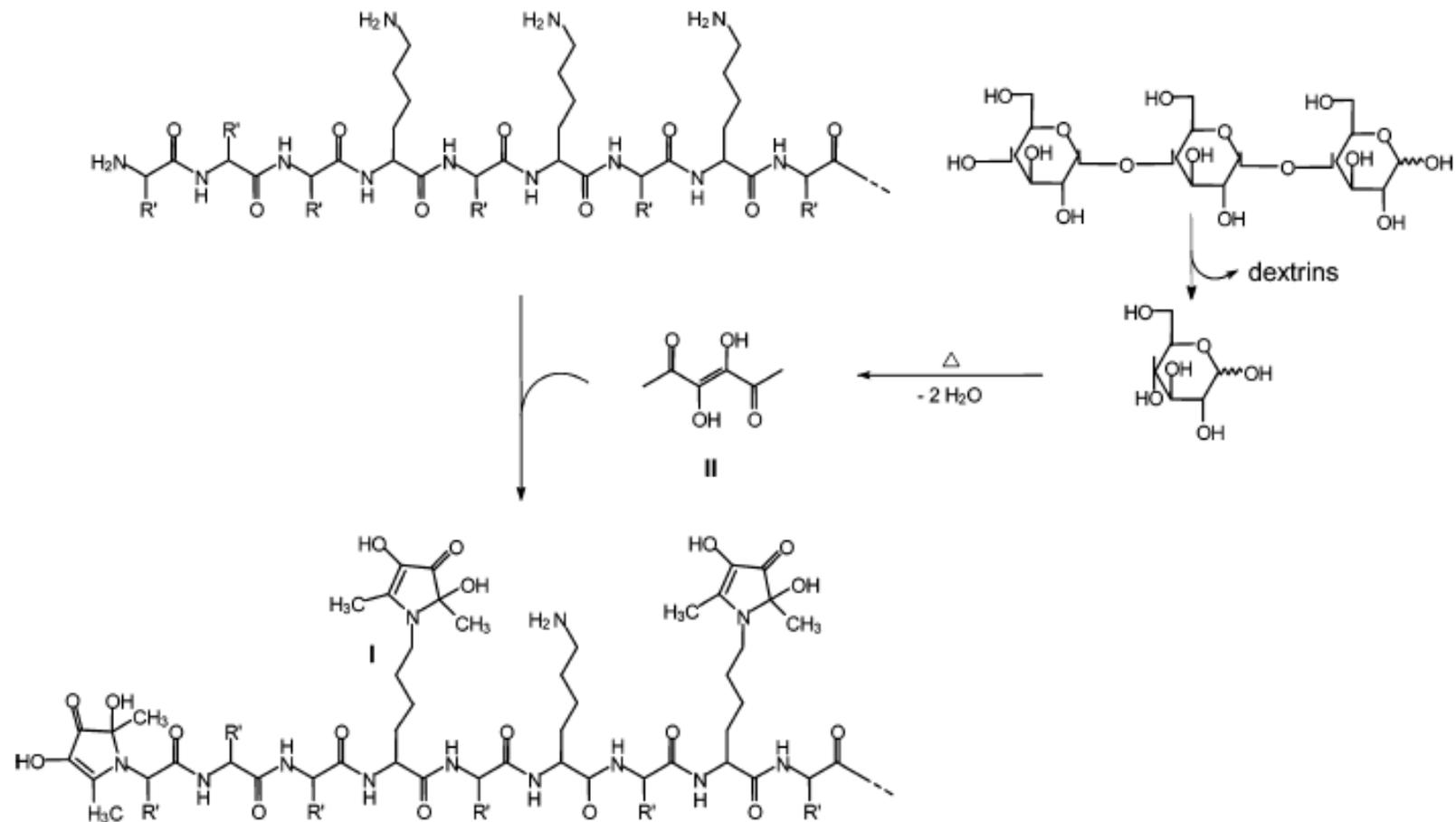


I pigmenti bruni appunto melanoidine si formano per reazione tra i residui di Lys e gli zuccheri. Sono presenti nelle proteine e nei prodotti secondari della reazione di Maillard: gli aminoacidi **glicosilati**, **methylglyoxal**, **5-idrossimetilfurfurale**, **acetylformoin**.

Essi generano dei composti che impartiscono il colore caratteristico color bruno agli alimenti.

# Reazione di Maillard

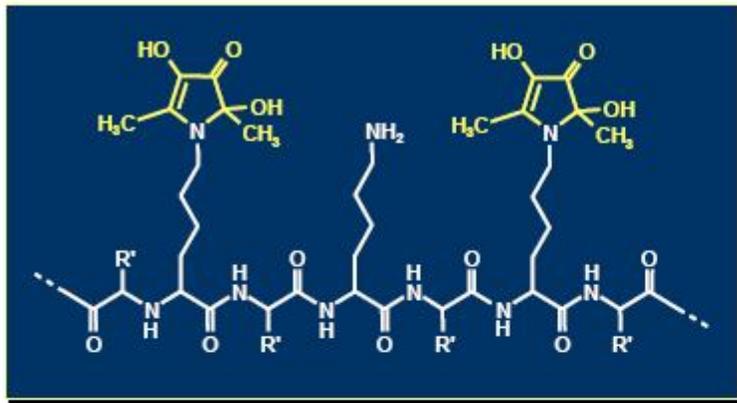
## 4. Formazione di composti ad attività antiossidante – Pronyl-Lys



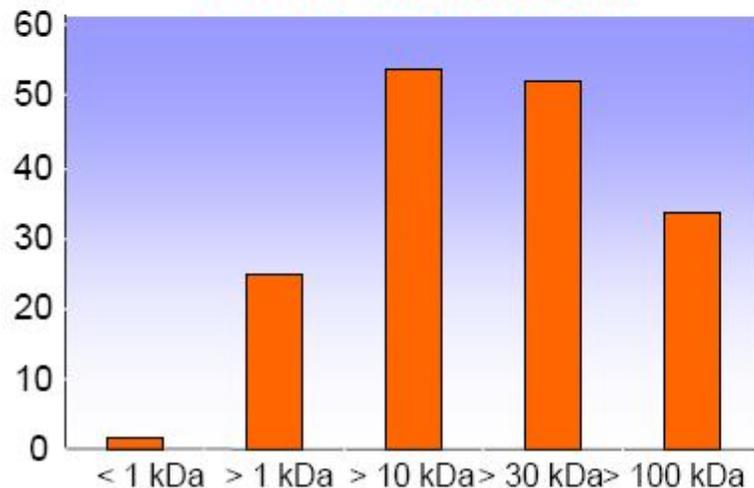
re 1. Reaction scheme on the formation of protein-bound pronyl-L-lysine (I) from proteins and starch via the key intermediate acetylformoin (II).

# Reazione di Maillard

## 4. Formazione di composti ad attività antiossidante – Pronyl-Lys



**PRONYL-Lysin [mg/kg]**



Alla pronyl-Lys, un prodotto della reazione tra i residui Lys delle proteine presenti nei cereali e l'acetylformoino, è stata attribuita una notevole attività antiossidante in-vitro ed in-vivo. Gli istogrammi riportati indicano la distribuzione in pM dei pigmenti e l'attività antiossidante relativa delle frazioni.

