

УДК 664.165:547.1

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ВОДНО-СПИРТОВОЙ СРЕДЫ НА КАРАМЕЛИЗАЦИЮ ЛАКТОЗЫ В ПРИСУТСТВИИ *n*-ТОЛУИДИНА

Черепанов И.С.*ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», Ижевск, e-mail: cherchem@mail.ru*

Представлены результаты исследований по изучению влияния состава водно-этанольной среды на динамику начальных стадий карамелизации лактозы и закономерности образования «браун»-продуктов в модельных системах с *n*-толуидином. Показано, что увеличение содержания этанола от 15 до 62% приводит к возрастанию интенсивности окрашивания, что может быть связано с ростом содержания енольных форм в спиртовой среде. Установлено, что активирующее влияние спирта в составе смешанного растворителя наиболее заметно проявляется при его концентрации выше 40%, что, вероятно, обусловлено совместным влиянием состава среды и присутствием аминокомпонента. По данным ИК-Фурье спектроскопии структура продуктов карамелизации лактозы отличается от структуры продуктов в системах в присутствии ариламины, что позволяет предположить возможность взаимодействия толуидина с промежуточными продуктами карамелизации, о чем также свидетельствует bathochromное смещение полос в электронных спектрах в области 340–380 нм. Присутствие в системе щелочи в каталитических количествах позволяет реализовать процесс по ионному механизму диссоциации углевода на начальных стадиях, образующиеся при этом ендольные формы далее формируют редуктоны, развивая процессы карамелизации, при этом щелочность среды определяет образование моноионизированных форм, конденсирующихся на начальных стадиях в олигомерные продукты, содержащие практически не трансформированные пиранозные кольца. Применение смешанных растворителей позволяет оптимизировать динамику реакций неферментативного окрашивания лактозы путем варьирования содержания этанола, что, в совокупности с подбором других параметров реакционной системы, может быть полезно в технологии переработки углеводного сырья.

Ключевые слова: лактоза, карамелизация, водно-этанольные среды, *n*-толуидин, редуктоны, спектроскопия

INFLUENCE OF AQUEOUS-ETHANOLIC MEDIA CONTENT ON LACTOSE CARAMELIZATION IN THE PRESENCE OF *p*-TOLUIDINE

Cherepanov I.S.*Federal Budgetary Educational Institution of Higher Education Udmurt State University,
Izhevsk, e-mail: cherchem@mail.ru*

Results of studying of aqueous-ethanolic media content influence on the incipient states of lactose caramelization dynamics and regularity of browning products formation in model systems with *p*-toluidine are presented. It is shown that increase of ethanol content from 15 to 62% leads to coloring intensity increase that can be bound to growth of enolic forms content in the ethanol-containing media. It is established that activating influence of alcohol as a part of the mixed solvent most is considerably shown at its concentration higher than 40% that is possibly caused by collateral influence of media content and presence of amino component. According to IR-Fourier spectroscopy data lactose caramelization product's structure differs from structure of products in systems with the arylamine that allows to assume a possibility of toluidine interaction with caramelization intermediates what the bathochromic band shift in electronic spectra in the area of 340-380 nanometers. Presence of alkaline catalysts leads to realize the ionic mechanism of carbohydrate's dissociation on the initial stages and endiolic intermediates forming a reductones, accelerating the caramelization. Medium alkalinity leads to mono ionized forms, condensed on initial stages forming oligomeric products, containing non transformed pyranose rings. Use of mixed solvents allows to optimize the nonenzymatic browning reaction dynamics by the ethanol content variation, which together with choosing of another reaction system parameters, may be useful in carbohydrate raw material technology.

Keywords: lactose, caramelization, aqueous-ethanolic media, *p*-toluidine, reductones, spectroscopy

Реакции неферментативного окрашивания лактозы в углевод-аминных системах представляются перспективными [1], что подтверждается возросшим в последние годы интересом к их изучению [1, 2], при этом, как и в системах с другими дисахаридами [3], а также моносахаридами [4], исследования проводились преимущественно в водных системах и алифатическими аминами и аминокислотами, в то время как неводные и смешанные растворители могут оказывать существенное влияние на процессы в углеводных системах [5].

Влияние аминов на процессы превращений углеводов наиболее полно изучено в условиях протекания реакции Майяра, в частности показано, что присутствие аминокислот интенсифицирует реакции неферментативного окрашивания, при этом анализ механизмов amino-карбонильных взаимодействий авторами не приводится. В работе [1] выдвигается предположение о каталитическом ускорении сахар-аминных реакций в присутствии высокомолекулярных аминов, но детального рассмотрения закономерностей процессов авторами

работы также не проводят. Аналогичное предположение справедливо и для сред с $pH > 7$, при этом каталитическое действие аминокислот на ранних стадиях проявляется в процессах отрыва и переноса протона с образованием промежуточных лабильных аминоконъюгатов. Очевидно, что на образовании подобных интермедиатов должен оказывать влияние характер реакционной среды, в связи с чем целью настоящего исследования являлось изучение влияния содержания этанола на динамику карамелизации и структуру продуктов в системе *D*-лактоза – *n*-толуидин в присутствии щелочи.

Материалы и методы исследования

Динамика карамелизации изучалась термостатированием водно-этанольного раствора лактозы (0,002 моль) в присутствии *n*-толуидина (0,002 моль) и каталитических количеств щелочи ($NaOH, 2 \cdot 10^{-4}$ моль) в 25 мл смешанного растворителя в колбах с обратным холодильником в течение 1 часа при 80 °С. Содержание этанола (EtOH) в смешанном растворителе варьировалось в интервале 15–62%. Дополнительно в аналогичных условиях изучалась карамелизация лактозы в системе без толуидина. Для контроля динамики процесса выполнялись спектрофотометрические измерения (спектрофотометр СФ-2000), для чего по окончании нагревания отбирались пробы (1 мл), которые разбавлялись растворителем соответствующего состава (1:5), после чего в кварцевых кюветах снимались электронные спектры. Из оставшегося раствора удалялся растворитель, продукты промывались эфиром и высушивались. ИК-спектры выделенных и высушенных «браун»-продуктов снимались на ИК-Фурье спектрометре ФСМ 2201 (КВг, 1:200).

Результаты исследования и их обсуждение

Содержание этанола в реакционных системах варьировалось до 62%, что связано с ограниченной растворимостью лактозы в более концентрированных растворах. Использование *n*-толуидина в качестве аминокон компонента связано с характером реакционной среды, а также недостаточной изученностью ариламинов в качестве реагентов процессов неферментативного окрашивания. Анализ спектров поглощения реакционных систем (рис. 1) показывает увеличение поглощения в ближней УФ и видимой областях с ростом содержания этанола, при этом пологий максимум поглощения при 340–370 нм постепенно батохромно

смещается, что может свидетельствовать об образовании конъюгатов взаимодействием редуктонов с аминокон компонентом.

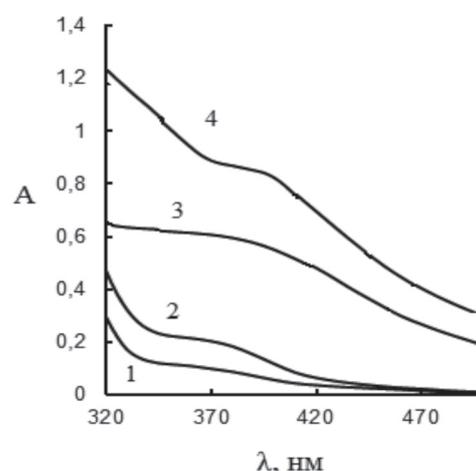
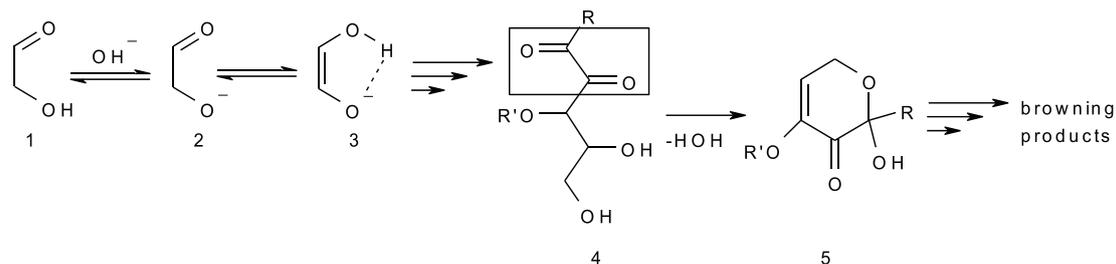


Рис. 1. Спектры поглощения исследуемых реакционных систем при варьируемом составе растворителя: 1 – 15% EtOH; 2 – 30% EtOH; 3 – 45% EtOH; 4 – 62% EtOH

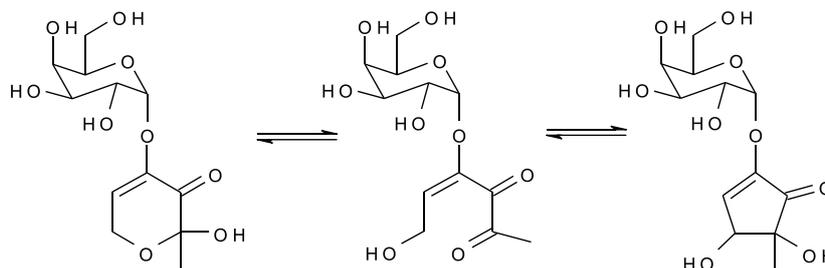
ИК-спектры продуктов, выделенных при термостатировании реакционных систем в течение 1 часа, показывают практически идентичный профиль полос во всех интервалах частотного диапазона (рис. 2), что говорит об однотипном механизме взаимодействия независимо от состава растворителя. В спектрах четко прослеживается наличие остатков исходного углевода (тонкая структура сигналов в области 1010–1090 cm^{-1} , а также полоса при 1140 cm^{-1}), что предполагает наличие связанных гликозидных колец в составе «браун»-продуктов, и, вероятно, в структуре промежуточных конъюгатов.

Сравнивая положение полос поглощения в «аномерной» области, также можно прийти к выводу о наличии в продукте остатков лактозы: широкая полоса в области 750–780 cm^{-1} , относимая к веерным колебаниям нескольких фрагментов углеводного скелета, а также сигналы при 875, 899 и 915 cm^{-1} надежно свидетельствуют о практически нетрансформированных пиранозных циклах в структуре «браун»-продуктов.

В водно-этанольных средах с высоким содержанием воды механизмы реакций неферментативного окрашивания, вероятно, близки к таковым для водных сред. В связи с этим можно предположить ионизацию ацилоинового фрагмента углевода (1) и образование аниона (2), находящегося в таутомерном равновесии с ендиольным анионом (3):



Дальнейшие превращения приводят к α -дикарбонильным структурам (4), циклизующимся в β -пироны (5), которые являются ключевыми интермедиатами образования «браун»-продуктов. Рассмотренный механизм характерен в большей степени для моносахаридов ($R' \equiv \text{OH}$) [4]; в случае дисахаридов производные типа (5) также могут образоваться, в частности авторами [5] описан замещенный 2Н-пиран-3(6Н)-он ($R' \equiv$ галактозил; $R \equiv$ метил):



находящийся в растворах в равновесии с производным с ациклической формой агликона и способный замыкать пятичленный цикл. В системах с моносахаридами подобная структура является предшественником обеспечивающих окраску хромофоров, наличие же гликозидной связи, по мнению авторов [5] является основной причиной пониженной реакционной способности дисахаридов, при этом авторы [6] предполагают возможность трансформации редутонов (5) в более реакционноспособные интермедиаты.

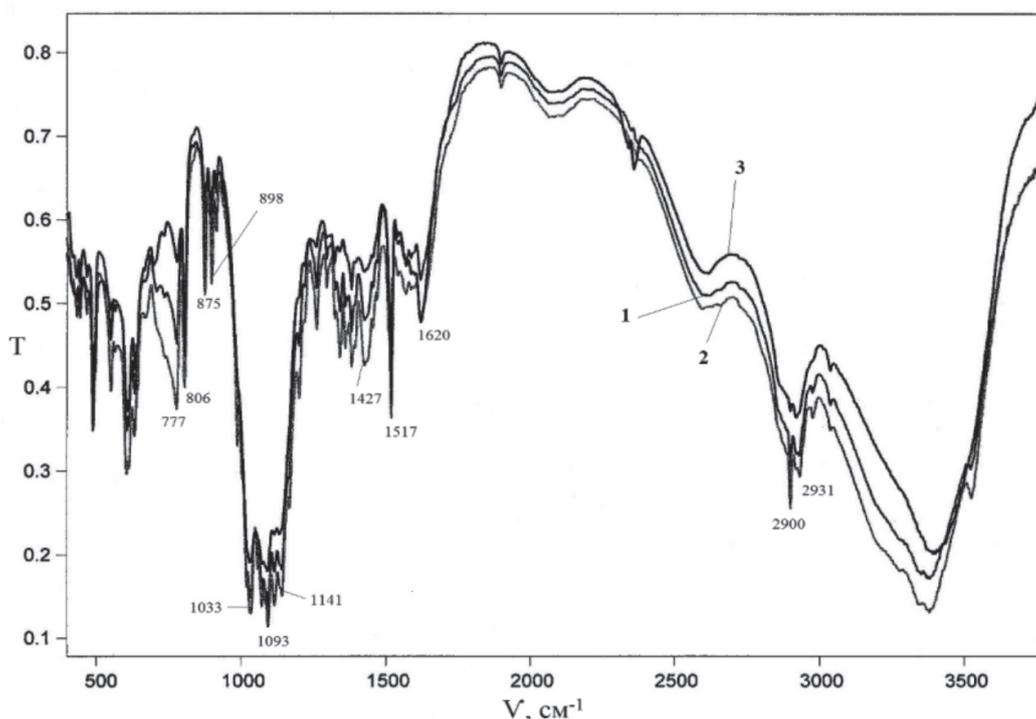


Рис. 2. ИК-Фурье спектры твердых продуктов, выделенных из реакционных систем: 1 – 15% EtOH; 2 – 30% EtOH; 3 – 62% EtOH

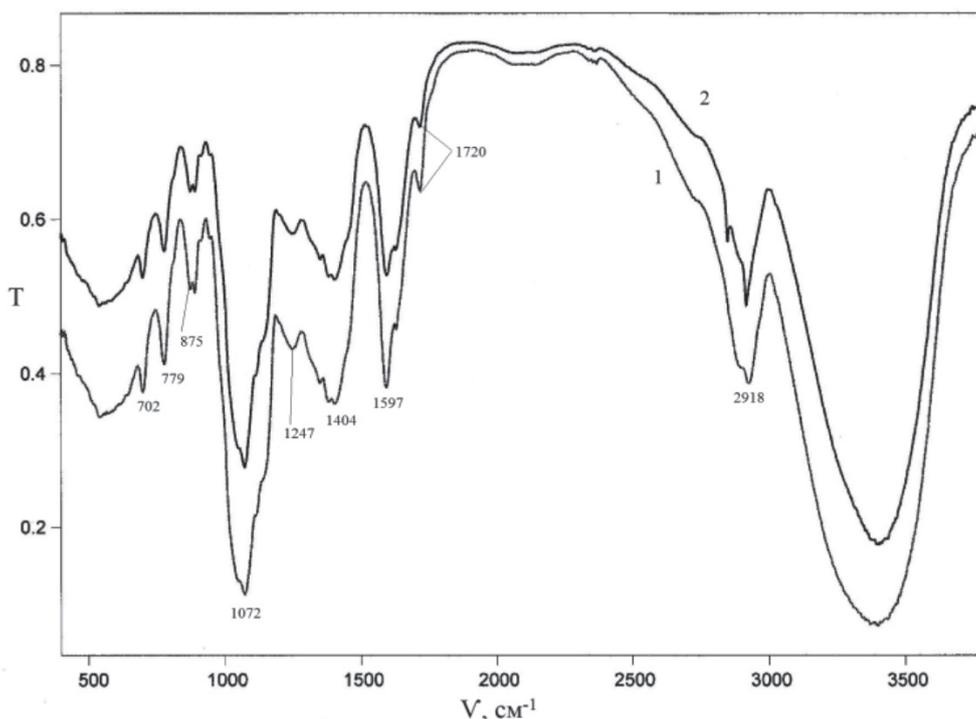
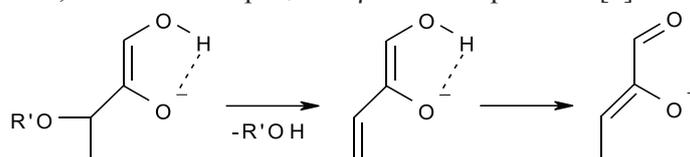


Рис. 3. ИК-Фурье спектры твердых продуктов, выделенных из реакционных систем в отсутствие *n*-толуидина при термостатировании в течение: 1 – 1 ч; 2 – 1,5 ч

Образование хромофорных фрагментов в структуре продуктов в изученных системах отчетливо наблюдается, в связи с чем можно предположить другие механизмы трансформации интермедиатов, в частности процессы β -элиминирования [2]:



с образованием 4-дезоксипроизводных, учитывая при этом присутствие амина в системе.

Независимо от механизма формирования редуктонов можно считать, что аминокомпонент принимает непосредственное участие в процессах, на что указывает в том числе отличие характера ИК-спектров продуктов, выделенных из реакционных систем, термостатированных в отсутствие *n*-толуидина (рис. 3).

Характер и положение полос поглощения существенно меняется, что свидетельствует о различии механизмов трансформации лактозы и непосредственном участии амина в ключевых стадиях процессов.

Интересно сопоставление результатов работы с данными, полученными нами ранее [7] для систем с более высоким ($6 \cdot 10^{-3}$ моль) содержанием щелочи. Было показано, что в этом случае преобладающим про-

цессом является распад молекул углеводов с образованием низкомолекулярных редуктонов, продукты дальнейшей конденсации которых претерпевают бензильную перегруппировку.

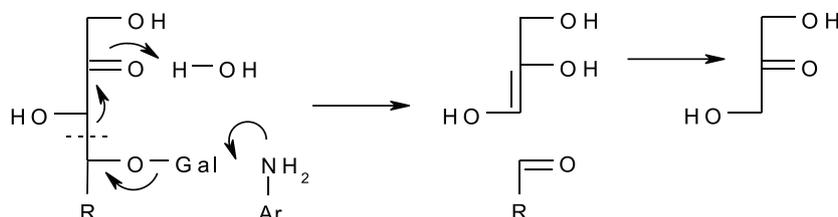
Максимумы поглощения реакционных систем в лактоза-*n*-толуидина в средах с различной щелочностью (62 % EtOH)

Полученные данные		Данные работы [6] ¹		
A ₃₅₀	A ₄₂₀	A ₂₈₀	A ₃₅₀	A ₄₂₀
0,92	0,70	2,50	1,85	1,25

Примечание. ¹Представлено с корректурой на разбавление проб.

Анализ данных таблицы показывает более высокие значения оптических плотностей в системах с высокой щелоч-

ностью, что можно связать с более интенсивно протекающим в этом случае процессом образования реакционноспособных C_2 - C_4 -редуктонов, интенсифицирующим карамелизацию. Основываясь на данных авторов [8], можно дать ориентировочную количественную оценку возможности реализации различных процессов с участием углевода. В частности, ориентируясь на константы кислотности модельных дикарбониллов [8], можно показать, что неионизированная форма редуктона существует при концентрациях $[OH^-] < 10^{-4}M$, единожды ионизированная – при выполнении условия $10^{-4}M < [OH^-] < 10^{-1}M$, и дважды ионизированная – при $[OH^-] > 10^{-1}M$. Таким образом, в принятых условиях реализуется образование единожды ионизированных форм редуктонов, что способствует формированию на начальных этапах их трансформации олигомерных продуктов, включающих остатки углеводов в форме пиранозных колец, что подтверждается также характером ИК-спектров продуктов (рис. 2). С ростом щелочности возрастает вероятность трансформации α -дикетонных фрагментов редуктонов посредством бензильной перегруппировки [7], что связано с активирующим эффектом ионизации на миграцию радикалов к соседней карбонильной группе [8].



о чем косвенно свидетельствует более интенсивное возрастание значений A_{420} в присутствии аминов [7].

Заключение

Результаты проведенных исследований позволяют сформулировать следующие выводы:

1. Увеличение содержания этанола в реакционной среде от 15 до 62% приводит к возрастанию интенсивности окрашивания, что может быть связано с ростом содержания енольных форм в спиртовой среде, при этом активирующее влияние спирта в составе смешанного растворителя наиболее заметно проявляется при его концентрации выше 40%, что, вероятно, обусловлено совместным влиянием состава среды и присутствием аминок компонента.

2. По данным ИК-Фурье спектроскопии структура продуктов карамелизации лак-

тозы отличается от структуры продуктов в системах в присутствии ариламина, что позволяет предположить возможность взаимодействия толуидина с промежуточными продуктами карамелизации, о чем также свидетельствует батохромное смещение полос в электронных спектрах в области 340–380 нм.

3. Присутствие в системе щелочи в каталитических количествах позволяет реализовать процесс по ионному механизму диссоциации углевода на начальных стадиях, образующиеся при этом енольные формы далее формируют редуктоны, развивая процессы карамелизации, при этом щелочность среды определяет образование моноионизированных форм, конденсирующихся на начальных стадиях в олигомерные продукты, содержащие практически не трансформированные пиранозные кольца.

Список литературы

1. Hellwig M. 3-deoxygalactosone, a «new» 1,2-dicarbonyl compound in milk products / M. Hellwig, J. Degen, T. Henle // *J. Agric. Food Chem.* – 2010. – Vol. 58. – P. 10752–10760.
2. Pfeifer Y. Investigation of reactive α -dicarbonyl compounds generated from the Maillard reactions of L-methionine with reducing sugars via their stable quinoxaline derivatives / Y. Pfeifer, L. Kroh // *J. Agric. Food Chem.* – 2010. – Vol. 58. – P. 8293–8299.
3. Smuda M. Novel insights into the Maillard catalyzed degradation of maltose / M. Smuda, M. Glomb // *J. Agric. Food Chem.* – 2011. – Vol. 59. – P. 13254–13264.
4. Gobert J. Degradation of glucose: reinvestigation of reactive α -dicarbonyl compounds / J. Gobert, M. Glomb // *J. Agric. Food Chem.* – 2009. – Vol. 57. – P. 8591–8597.
5. Frank O. On the influence of carbohydrate moiety on chromophore formation during food-related Maillard reaction of pentoses, hexoses and disaccharides / O. Frank, T. Hofmann // *Helv. Chem. Acta.* – 2000. – Vol. 83. – P. 3246–3261.
6. Degen J. 1,2-dicarbonyl compounds is commonly consumed foods / J. Degen, M. Hellwig, T. Henle // *J. Agric. Food Chem.* – 2012. – Vol. 60. – P. 7071–7079.
7. Черепанов И.С. Формирование структуры продуктов реакции неферментативного окрашивания D-лактозы в присутствии *n*-толуидина в щелочных водно-этанольных средах / И.С. Черепанов // *Ползуновский вестник.* – 2017. – № 2. – С. 90–94.
8. de Bruijn J. Alkaline degradation of monosaccharides. Part VII. Mechanistic picture / J. de Bruijn, A. Kieboom, H. van Bekkum // *Starch.* – 1987. – Vol. 39. – P. 23–28.
9. Vuorinen T. Kinetic of alkali catalyzed isomerization of D-glucose and D-fructose in ethanol-water solution / T. Vuorinen, E. Sjostrom // *Carbohydr. Res.* – 1982. – Vol. 108. – P. 23–29.
10. Smuda M. Degradation of 1-deoxy-D-erythro-hexo-2,3-diulose in the presence of lysine leads to formation of carboxylic acid amides / M. Smuda, M. Voigt, M. Glomb // *J. Agric. Food Chem.* – 2010. – Vol. 58. – P. 6458–6464.