

APARATURA

BADAWCZA I DYDAKTYCZNA

Kontrowersyjne produkty reakcji Maillarda w żywności

BARTOSZ KRUSZEWSKI, MIECZYŚLAW OBIEDZIŃSKI

SZKOŁA GŁÓWNA GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO W WARSZAWIE, WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOSCI,
KATEDRA BIOTECHNOLOGII, MIKROBIOLOGII I OCENY ŻYWNOSCI

STRESZCZENIE

Reakcja Maillarda to szereg następujących po sobie reakcji pomiędzy cukrami redukującymi a aminokwasami, peptydami i białkami zawierającymi wolną grupę aminową, które prowadzą do utworzenia licznej grupy związków chemicznych. Wpływ na reakcję ma przede wszystkim temperatura ale także czas reakcji, ciśnienie, czy pH środowiska. Grupa nowo powstałych związków nadaje głównie barwę, smak i zapach produktowi spożywczemu. Dane literaturowe wskazują na ich liczne pozytywne i negatywne właściwości. Część substancji uznana została za kancerogenne i mutagenne. Natomiast inne wykazują wysoki potencjał przeciwutleniający, antymutageny i antyrakowy.

Controversial Maillard reaction products in food

ABSTRACT

The Maillard reaction is number of successive reactions between reducing sugars and amino acids, peptides and proteins containing a free amino group, which lead to the creation of large group of chemical compounds. Influence on the reaction has mostly temperature but also the reaction time, pressure, or matrix pH. Group of new formed compounds mainly gives color, taste and smell of the food product. Literature data indicate many of their positive and negative properties. Some substances has been recognized as carcinogenic and mutagenic. The second part has high antioxidant, anti-cancer and anti-mutagenic potential.

1. WSTĘP

Reakcja Maillarda była nieświadomie wykorzystywana przez tysiące lat do produkcji żywności mającej wyglądać i pachnieć atrakcyjnie odkąd człowiek wpadł na pomysł termicznej obróbki surowców, które udało mu się zebrać. Odkrycie istoty reakcji nie zmieniło pierwotnego celu zastosowania reakcji Maillarda. Nadal polega na nadawaniu nie tylko mięsu ale też innym produktom, np. kawie, kakao, wyrobom cukierniczym, piekarskim zapachu i koloru pożądanego przez konsumenta. Głównie z tego powodu współczesny przemysł spożywczy stara się opracowywać technologie kontrolujące w jak największym stopniu ten złożony proces chemiczny.

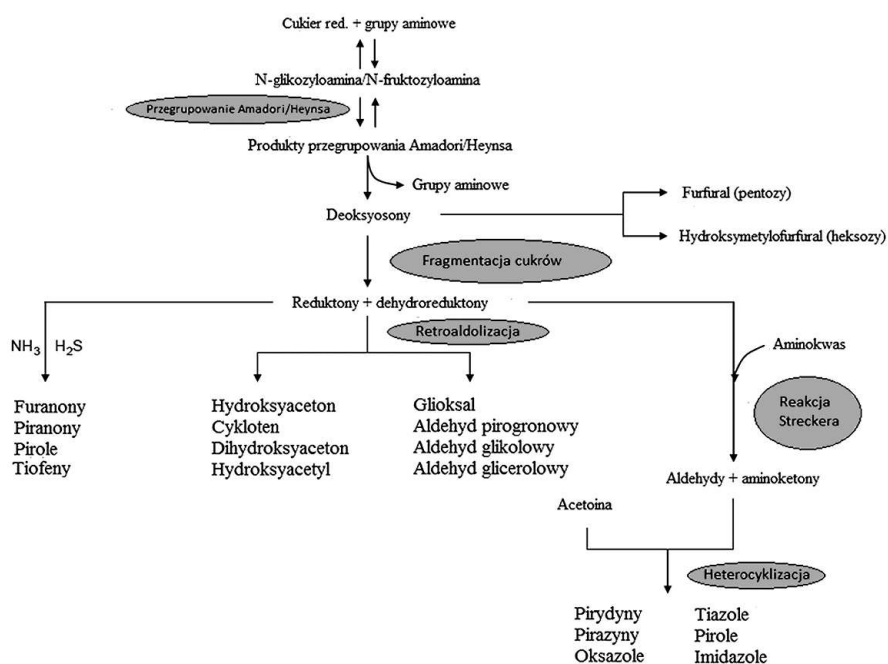
2. CHEMIA REAKCJI

Reakcja Maillarda, nazywana również reakcją nieenzymatycznego brązowienia otrzymała nazwę od francuskiego chemika Louisa Camille Maillarda, który jako pierwszy w 1912 roku opisał przemiany chemiczne inicjowane bezpośrednimi reakcjami pomiędzy grupami karbonyłowymi i hemiacetalowymi cukrów redukujących a grupami aminowymi aminokwasów. Następnie amerykański chemik John Edward Hodgge w 1953 roku opracował pierwszy, szczegółowy i spójny schemat tych reakcji. Na jego podstawie możemy wyróżnić trzy etapy powstawania charakterystycznych związków: wczesny, zaawansowany i końcowy prowadzący ostatecznie do utworzenia tzw. melanoidyn.

We wczesnym etapie cukier redukujący, np. glukoza reaguje z wolną grupą aminową najczęściej aminokwasu, rzadziej peptydu, białka w konsekwencji tworząc N-podstawne glikoaminy. Te natomiast ulegają przegrupowaniu Amadori lub przegrupowaniu Heynsa (jeśli cukrem jest ketoza) tworząc odpowiednio produkty przegrupowania Amadori lub Heynsa. Związki istniejące na tym etapie uważane są za prekursorsy związków kształtujących cechy sensoryczne produktów spożywczych [1].

W zaawansowanym etapie w zależności od pH środowiska degradacja produktów Amadori/Heynsa może potoczyć się różnymi drogami. Przy $\text{pH} \leq 7$ w wyniku 1,2-enolizacji powstaje furfural (w przypadku pentoz) lub hydroksymetylofurfural (w przypadku heksoz). Przy $\text{pH} > 7$ pod wpływem reakcji 2,3-enolizacji powstają reduktony, np. 4-hydroksy-5-metylo-2,3-dihydrofuran-3-on oraz różnorodne produkty rozszczepienia jak acetal, aldehyd pirogronowy, diacetyl. Wszystkie powstałe na tym etapie związki są bardzo reaktywne i biorą udział w dalszych reakcjach. Produkty Amadori mogą ulegać degradacji do związków karbonylowych lub dikarbonylowych, po czym wchodzić w reakcję z wolnymi grupami aminowymi tworząc aldehydy i α -aminoketony. Proces ten nazywany jest degradacją Streckera [2].

Końcowy etap reakcji na schemacie Hodgga to szereg następujących po sobie cyklizacji, dehydratacji, reorganizacji i izomeryzacji cząsteczek a następnie proces kondensacji ostatecznie prowadzący do utworzenia barwnych (głównie brązowych) związków wielkocząsteczkowych głównie polimerów i kopolimerów (do 100kDa) zwanych ogólnie melanoidynami [1-3].



Rysunek 1. Schemat reakcji Maillarda ukazujący związki smakowe jako końcowe produkty [1]

3. WPŁYW PARAMETRÓW REAKCJI NA JEJ PRZEBIEG

Początkowy etap reakcji Maillarda inicjowany jest z niską szybkością już w temperaturze pokojowej, a przy temperaturze powyżej 90°C szybkość reakcji zaczyna gwałtownie rosnąć. Jednak nadmierny wzrost temperatury powyżej 110°C przy stałej zawartości substratów wcale nie zwiększa ilości tworzących się charakterystycznych substancji. W temperaturze 120°C może wręcz zabraknąć jednego z substratów-cukrów redukujących, ze względu na rozpoczynający się konkurencyjny proces karmelizacji, polegający na usuwaniu wody z cząsteczek cukrów a następnie ich polimeryzacji.

Duży wpływ na tempo reakcji ma również aktywność wody charakterystyczna dla poszczególnych rodzajów żywności. Reakcje Maillarda najlepiej inicjuje się w matrycach o średniej aktywności wody $a_w \approx 0,7$. Ponieważ w trakcie przebiegu reakcji tworzą się cząsteczki wody wzrasta również a_w . Wraz ze wzrostem a_w wzrasta szybkość reakcji Maillarda, która przebiega optymalnie przy aktywności wody mieszczącej się w przedziale 0,6-0,9. Odpowiednikiem najbardziej sprzyjającego a_w jest wilgotność żywności na poziomie 10-15% [4].

Innym optimum dla reakcji nieenzymatycznego brązowienia jest optimum pH w przedziale od 6,5 do 7. Wnioskując z chemii reakcji preferowane są warunki alkaliczne, gdyż wtedy powstają związki najbardziej pożądane w przemyśle spożywczym [5]. Hamująco na reakcję Maillarda działają skrajnie kwaśne i zasadowe warunki pH.

Nie bez znaczenia dla przebiegu reakcji Maillarda jest podwyższone ciśnienie jakie stosuje się w skojarzonych procesach obróbki żywności. Wysokie ciśnienie pozwala na zmniejszenie temperatury podczas procesów pasteryzacji i sterylizacji półproduktów oraz produktów żywnościowych. W pasteryzacji wysokociśnieniowej (400-600 MPa) stosowanej w przemyśle spożywczym między innymi do utrwalania soków, używa się temperatur rzędu 10-40°C. Według danych literaturowych dla żywności o $pH \leq 8$ ciśnienie na tym poziomie i przy danym przedziale temperatury wpływa hamująco na zaawansowany etap reakcji Maillarda, przy czym nie wpływa w ogóle na etap początkowy i końcowy [5]. W sterylizacji wysokociśnieniowej (600-900 MPa) stosowanej do żywności dla niemowląt, używa się temperatur w przedziale 80-120°C. Dane literaturowe przy takiej kombinacji temperatury i ciśnienia oraz $pH \leq 8$ wskazują na przyspieszenie początkowego etapu reakcji Maillarda, jednocześnie hamowanie etapu zaawansowanego

i brak wpływu na etap końcowy. Niezależnie od warunków temperatury przy pH w okolicy 10, wysokie ciśnienie znacząco przyspiesza wszystkie etapy nieenzymatycznego brązowienia [5].

Oprócz parametrów fizykochemicznych wpływ na przebieg reakcji ma również dostępność substratów, forma w której występują (wielkość cząsteczki, chiralność, izomeryzacja cząsteczek) oraz ich odpowiednie proporcje, które są właściwe dla każdego produktu żywnościowego. Nie należy pomijać także innych towarzyszących cukrom i aminokwasom substancji, które mogą propagować, inhibować lub być neutralne wobec reakcji Maillarda.

4. NIEPOŻĄDANE PRODUKTY REAKCJI MAILLARDA

Ze względu na dużą różnorodność związków biorących udział w poszczególnych etapach reakcji Maillarda, oprócz substancji kształtujących smak i zapach żywności powstają produkty niepożądane takie jak furan czy akryloamid.

Akryloamid jest substancją chemiczną, która może powstawać w żywności w sposób naturalny podczas przyrządzania w wysokiej temperaturze (pieczenia, smażenia, prażenia) produktów zawierających skrobię lub cukry redukujące, np. glukozę. Obecna jest nie tylko w produktach żywnościowych przemysłu przetwórczego, ale także w potrawach domowych czy podawanych w placówkach żywienia zbiorowego [6]. Fakt jego powstawania jest odkryciem stosunkowo nowym. W 2002 roku szwedzcy naukowcy odkryli akryloamid w produktach mącznych poddawanych obróbce cieplnej czyli chipsach ziemniaczanych, frytkach, chlebie, ciastkach. W wyniku kolejnych badań do wcześniej wymienionych produktów dołączyła kawa, kruche przekąski i płatki zbożowe. Akryloamid jako jeden z produktów reakcji Maillarda powstaje głównie w wyniku reakcji wolnych aminokwasów asparaginy z glukozą w temperaturze $\geq 120^\circ\text{C}$. W wyniku badań dowiedziono również, że substancja ta powstaje w mieszaninach aminokwasów zawierających metioninę, glutaminę, cysteinę, asparaginę i cukrów takich jak fruktoza, galaktoza, laktoza czy sacharoza [4]. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) sklasyfikowała akryloamid jako związek rakotwórczy dla zwierząt oraz prawdopodobnie rakotwórczy dla ludzi. Uważa się, że substancja ta może stwarzać podwyższone ryzyko chorób układu krążenia i nerwowego. Jednak nie zdołano udowodnić jednoznacznego wpływu na żadną z wcześniej wymienionych chorób [6]. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO), Organizacja Narodów Zjednoczonych do Spraw Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) oraz

szwedzki Krajowy Urząd ds. Żywności to tylko niektóre organizacje monitorujące poziomy akryloamidu w żywności. Z uwagi na jego niekorzystne działanie Naukowy Komitet ds. Żywności Unii Europejskiej ustalił, że jego dopuszczalna dawka dla człowieka nie powinna przekraczać 10 µg/kg masy ciała. Konfederacja Producentów Żywności i Napojów Unii Europejskiej (CIAA) opublikowała broszurę zawierającą wskazówki, jakie środki powinni stosować producenci żywności oraz konsumenci, aby zmniejszyć zawartość akryloamidu w produktach spożywczych. W sprawozdaniu EFSA z dnia 30 kwietnia 2009 roku stwierdzono, że nie obserwuje się stałej tendencji do obniżania poziomów akryloamidu w różnych grupach produktów oraz że na danym etapie postępowania nie jest jasne, czy zestaw narzędzi dotyczący akryloamidu przyniósł pożądany skutek.

Z kolei obecność innego produktu reakcji Maillarda – furanu stwierdzono w wielu produktach żywnościowych poddawanych obróbce cieplnej. Można zaliczyć do nich kawę, chipsy, pieczywo oraz produkty pakowane hermetycznie jak żywność w słoikach dla dzieci czy ryby w puszkach. W zaawansowanym etapie reakcji Maillarda podczas przejściowych przemian cząsteczek cukrów powstają aldotetrozy, które następnie ulegając dehydratacji mogą wytworzyć 3-furanon. Redukcja oraz dalsza dehydratacja tego związku tworzy w konsekwencji furan. W przeprowadzonych badaniach udowodniono, że 50% furanu powstającego w ramach reakcji Maillarda powstaje z aldotetroz. Kolejne 30% furanu powstaje z cząsteczek aminokwasów, np. seryny, cysteiny. Ilość furanu, jaka powstaje w wyniku rozkładu cukrów prostych, zależy od ich rodzaju. D-erytroza tworzy ośmiokrotnie więcej furanu niż glukoza czy fruktoza. Aldotetrozy mogą powstać nie tylko w reakcji Maillarda ale także w wyniku kolejnych etapów rozkładu utlenionych i zhydrolizowanych cząsteczek kwasu askorbinowego. Furan został zaliczony do tej samej grupy związków co akryloamid czyli przypuszczalnie kancerogennych dla ludzi (grupa 2B). Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) wskazuje na genotoksyczny mechanizm działania furanu na organizm człowieka i przypuszczalny udział tego związku w indukowaniu schorzeń nowotworowych wątroby i nerek zwierząt doświadczalnych [7].

Niepokojący jest fakt iż o ile dla akryloamidu opracowano porady ograniczania powstawania tego związku w żywności, to badania nad furanem nie dały praktycznych, efektywnych rozwiązań w obniżaniu jego zawartości w żywności. Według raportu Komisji Codex Alimentarius z stycznia 2011 roku o kontaminantach w żywności potencjalne pola interwencji

w obniżaniu zawartości furanu to dodatek poszczególnych składników (receptura produktu) oraz obróbka cieplna żywności [8].

Choć nie opublikowano jednoznacznego dowodu na mutagenność produktów reakcji Maillarda w organizmie człowieka, wielu badaczy po przeprowadzeniu analiz *in vitro* stwierdza takie działanie. Najczęstszą mieszaniną wykorzystywaną do badań jest mieszanka bakteryjnego DNA w formie kolistej, superskręconej i prostej pojedynczej nici z substratami reakcji Maillarda w ilościach równo molowych. Przedstawicielami cukrów redukujących są zazwyczaj glukoza lub fruktoza a aminokwasów lizyna. W każdym badaniu został wyeliminowany wpływ wolnych jonów metali. Stwierdzono, że próbki modelowe zawierające glukozę z lizyną wykazują niską mutagenność w porównaniu do mieszanki fruktozy i lizyny. Nasuwa się wniosek, iż ketozy oraz produkty ich degradacji są bardziej reaktywne i szybciej przechodzą kolejne przemiany niż heksozy. Jednakże każda forma bakteryjnego DNA niezależnie od rodzaju cukru ma naruszoną strukturę. Elektroforeza na żelu agarowym wykazuje spadek koncentracji superskręconego DNA, zwiększenie koncentracji formy kulistej oraz brak zmian w koncentracji prostej nici [9].

5. POZYTYWNE ASPEKTY PRODUKTÓW REAKCJI MAILLARDA

Główną rolą reakcji Maillarda jest nadawanie odpowiednich cech organoleptycznych przetwarzanemu produktowi. Początek reakcji prowadzi do szybkiego rozwinięcia się żółtego koloru i powstania wielu lotnych związków różnych grup chemicznych. W miarę przebiegu reakcji powstają związki nadające ciemno brązowy odcień (stąd druga nazwa reakcji – nieenzymatyczne brązowienie) oraz jeszcze bardziej różnicujące frakcję lotną produktu. Największy udział w nadawaniu barwy mają produkty końcowego etapu reakcji Maillarda – melanoidyny. Należy zauważyć, iż barwa oraz powstawanie substancji zapachowych w produkcie to zjawiska współzależne [3].

Niektóre produkty reakcji Maillarda posiadają właściwości przeciwutleniające. Jednym z przejawów tej zdolności jest inhibicja procesu enzymatycznego brązowienia. Jest to reakcja chemiczna zachodząca w owocach, warzywach i „owocach morza” pod wpływem enzymu oksydazy polifenolowej, w wyniku której powstaje brązowe zabarwienie, które jest niekorzystne dla jakości tego typu żywności. Brązowienie enzymatyczne może być odpowiedzialne za prawie 50% wszystkich strat, jakie następują w przetwórstwie owoców i warzyw. Oksydaza

polifenolowa katalizuje dwie podstawowe reakcje: hydroksylacji i utleniania. W obu reakcjach zużywany jest tlen cząsteczkowy z powietrza. Najlepszy efekt inhibicji enzymu przejawiają produkty reakcji Maillarda utworzone z aminokwasów takich jak arginina, histydyna, lizyna i prolina oraz cukru glukozy. Najintensywniejszą aktywność przeciwutleniającą posiadają zaawansowane produkty reakcji Maillarda (reduktony i dehydroreduktony) oraz melanoidyny, które oprócz blokady oksydazy polifenolowej zmniejszają wolne rodniki i unieszkodliwiają chelatujące metale. Aktywność przeciwutleniająca zależy nie tylko

od rodzaju związków chemicznych ale także od pH środka spożywczego, temperatury czy czasu [10]. Wielkocząsteczkowe produkty reakcji Maillarda- melanoidyny niegdyś były uważane za antyodżywczy składnik żywności. Dziś przypisywane są im różne właściwości od przeciwutleniających, antymutagennych i antyrakowych po indukowanie produkcji ochronnych enzymów w organizmie człowieka. Udowodniono również iż melanoidyny identycznie jak błonnik podlegają fermentacji w przewodzie pokarmowym człowieka. Stymulują wzrost dobroczynnej populacji bakterii w okrężnicy – szczególnie tej z rodzaju *Bifidobacteria* [11].

LITERATURA

- [1] M.A.J.S van Boekel: Formation of flavour compounds in the Maillard reaction. *Biotechnology Advances* 24, 230-233, 2006.
- [2] Michalska A., Zieliński H.: Produkty Reakcji Maillarda W Żywności. *Żywność.Nauka.Technologia.Jakość* 51, 5-16, 2007.
- [3] Knerr T., Lerche H., Pischetsrieder M., Severin T.: Formation of Novel Colored Product during the Maillard Reaction of D-Glucose. *J. Agric. Food Chem.* 49, 1966-1970, 2001.
- [4] Friedman M.: Chemistry, Biochemistry, and Safety of Acrylamide. A Review. *J. Agric. Food Chem.* 51, 4504-4521, 2003.
- [5] Vleeschouwer D.K., Plancken I.V., Loey A.V., Hendrickx M.E.: The Effect of High Pressure - High Temperature Processing Conditions on Acrylamide Formation and Other Maillard Reaction Compounds. *J. Agric. Food Chem.* 58, 11740-11747, 2010.
- [6] Jurga R.: Akryloamid- fakty i opinie. *Przegląd Zbożowo- Młynarski* 7, 11, 2009.
- [7] Kowalski B., Łobacz M., Kowalska D.: Furan w żywności. *Przemysł Spożywczy* 6, 42-45, 2008.
- [8] Codex Alimentarius Commission, Codex Committee on Contaminants in Foods, 5th Session, The Hague, The Netherlands, 21-25 March 2011.
- [9] Wijewickreme A.N., Kitts D.D.: Influence of Reaction Conditions on the Oxidative Behavior of Model Maillard Reaction Products. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4571-4576, 1997.
- [10] Mogol B.A., Yildirim A., Gökmen V.: Inhibition of enzymatic browning in actual food systems by the Maillard reaction products. *J. Sci. Food Agric.* 90, 2556-2562, 2010.
- [11] Silvan J.M., Morales F.J., Saura- Calixto F.: Conceptual Study on Maillardized Dietary Fiber in Coffee. *J. Agric. Food Chem.* 58, 12244-12249, 2010.