

Lebensmittelchemie 2001

Inhaltsstoffe in Nahrungsmitteln beeinflussen sowohl deren Qualität als auch unsere Gesundheit. Großes Interesse gilt zur Zeit den Bildungsmechanismen von Proteinmodifikationen in Lebensmitteln auf molekularer Ebene und der Strukturaufklärung von Ballaststoffkohlenhydraten.

Reaktionen von Aminosäuren in Lebensmitteln

◆ Ziel der industriellen Lebensmittelherstellung ist es, ein für den Verbraucher vollwertiges und attraktives Produkt zu schaffen. Die exakte Steuerung und Planung der Eigenschaften von Nahrungsmitteln setzt unbedingt voraus, dass die Vorgänge auf molekularer Ebene verstanden werden. Lebensmittel können sowohl chemisch-synthetisch modifiziert werden als auch auf natürliche Weise durch eine gezielte Prozessführung bei der Herstellung. Proteinmodifikationen beeinflussen direkt die Stabilität von Emulsionen und Schäumen, die Textur, die Farbe, den Geschmack und die physiologische Aminosäureverfügbarkeit in Lebensmitteln. Detaillierte mechanistische Studien erlaubten in jüngster Zeit tiefere Einblicke in die zugrunde liegenden molekularen Prozesse; Forschungsschwerpunkt ist hierbei die Maillard-Reaktion. Von großem Interesse ist auch die biologische Verfügbarkeit der gebildeten Derivate sowie ihre physiologische Relevanz.

Direkte Quervernetzung von Aminosäureseitenketten

◆ Schon lange bekannt sind Reaktionen, bei denen sich aus proteingebundenem Glutamin oder Asparagin mit Lysin in der Hitze Isopeptid-

bindungen (Teilstruktur 1 in Abbildung 1) bilden. Diese Vernetzung kann auch enzymatisch generiert werden. Sie beeinflusst allgemein die Funktionalität eines Proteins^{1,2)} und bestimmt z. B. die Gelstärke von Joghurt. Von Bedeutung ist auch die Vernetzung von Aminosäuren über Dehydroalanin, insbesondere Lysinalanin (Teilstruktur 2 in Abbildung 1) und Histidinoalanin.³⁾ Dabei wird bevorzugt unter alkalischen Bedingungen zunächst H₂O aus Serin, H₂PO₄⁻ aus Phosphoserin oder H₂S aus Cystein eliminiert. Lysin oder Histidin greifen die resultierende Doppelbindung anschließend nucleophil an. Die Konzentration derartiger Strukturen nimmt z. B. beim Erhitzen oder Lagern von Milchprodukten zu. Ihre Bedeutung im Verhältnis zu anderen Vernetzungsstrukturen wurde auf maximal 10 bis 30 % geschätzt.⁴⁾

α-Dicarbonylverbindungen aus der Maillard-Reaktion

◆ Die Maillard-Reaktion kann – zumindest teilweise – weitere nicht-enzymatische Reaktionen von Proteinen erklären. Darunter versteht man die Umsetzung von reduzierenden Zuckern wie Glucose, Fructose, Maltose oder Lactose mit Proteinen oder anderen Aminen.⁵⁾ Bei der klassischen Maillard-Reaktion bildet sich zunächst ein Glycosylamin, das sich über das offenkettige Aldimin zu einer Aminoketose umlagert, dem Amadori-Produkt (Teilstruktur 3 in

Abbildung 1 für die Reaktion mit Glucose). Die Reaktion führt in komplizierten Kaskaden über hochreaktive Intermediate letztendlich zu einer unüberschaubaren Vielfalt von stabilen Endprodukten. Eine wichtige Gruppe der reaktiven Schlüsselintermediate hat α-Dicarbonylstruktur.

Heute hat sich das Verständnis der Maillard-Reaktion erweitert: So weiß man, dass bereits vor der Bildung des Amadori-Produkts Reaktionsschritte stattfinden, die den Gesamtverlauf stark beeinflussen. Auch die Folgereaktionen von α-Dicarbonylverbindungen, die nicht aus dem aminkatalysierten Zuckerabbau stammen, werden mittlerweile als Maillard-Reaktionen bezeichnet.

Aufgrund ihrer Reaktivität entziehen sich die α-Dicarbonylstrukturen in der Regel dem unmittelbaren Nachweis. Sie können nur indirekt anhand von Folgeprodukten oder über Abfangreaktionen als stabile Derivate strukturell identifiziert werden. Die Abfangreaktionen müssen jedoch äußerst kritisch betrachtet werden, da sie je nach verwendeter Chemikalie und Methode das resultierende α-Dicarbonylspektrum sowohl qualitativ als auch quantitativ drastisch beeinflussen können.⁶⁾

Die Synthese von 1-Desoxyd-erythro-hexo-2,3-diulose,⁷⁾ die Quantifizierung und der Nachweis von proteingebundenem N⁶-(5,6-Dihydroxy-2,3-dioxohexyl)lysin⁸⁾ sowie die erstmalige Identifizierung von N⁶-(2,3-Dihydroxy-5,6-dioxo-

hexyl)lysin⁹⁾ erhöhten das Verständnis der Bildung von Proteinmodifikationen erheblich. N⁶-(2,3-Dihydroxy-5,6-dioxohexyl)lysin ist z. B. Vorstufe des quantitativ bedeutenden Quervernetzungsprodukts Glucosepan (Teilstruktur 12 in Abbildung 1).

Monovalente Maillard-Proteinmodifikationen

◆ Das Amadori-Produkt hat sich als Indikator der frühen Phase der Maillard-Reaktion in Lebensmitteln bewährt, z. B. bei der Bräunung von Brot oder der Reifung von Käse.^{10,11)} Analysiert wird die Verbindung normalerweise über die Abbauprodukte während der sauren Proteinhydrolyse. Auch möglich ist der direkte Nachweis nach enzymatischer Proteinhydrolyse. Die Unzulänglichkeiten beider Verfahren konnten weitgehend eliminiert werden – dank der Entwicklung einer Isotopenverdünnungsanalyse zum Nachweis der nativen Struktur.¹²⁾

Als Indikatoren für fortgeschrittene Maillard-Modifikation von Proteinen wurden verschiedene Verbindungen vorgeschlagen: So korreliert die Bildung von Pyralin (Teilstruktur 4 in Abbildung 1) in Nudelteigwaren mit der thermischen Belastung bei der Herstellung.¹³⁾ Das Gleiche gilt für N⁶-(Carboxymethyl)lysin (Teilstruktur 5 in Abbildung 1) in Milch und Milchprodukten.¹⁴⁾ Diese Struktur entsteht bei der oxidativen Fragmentierung des Amadori-Produkts und bei der Reaktion von Lysin mit Glyoxal.¹⁵⁾ Da der Nachweis von N⁶-(Carboxymethyl)lysin über die saure Proteinhydrolyse zu erheblichen Überbefunden führen kann, wurde alternativ ein immunchemischer Nachweis mit polyclonalen Antikörpern entwickelt.¹⁶⁾

Das säurelabile Imidazolinon (Teilstruktur 6 in Abbildung 1) geht aus der Reaktion von proteingebundenem Arginin mit Methylglyoxal hervor. Retroaldolreaktionen, die u. a. diese α -Dicarbonylstruktur liefern, nehmen unter alkalischen Bedingungen stark zu. In Brezelkrusten können z. B. nach enzymatischer Hydrolyse bis zu 30% des proteingebundenen Arginins als

Derivat (Teilstruktur 6 in Abbildung 1) nachgewiesen werden. Die Struktur ist allerdings nicht stabil und wird selbst bei Raumtemperatur relativ rasch abgebaut.¹⁷⁾ Die Reaktion von Methylglyoxal mit der Guanidino-Gruppe von Arginin führt auch zur Bildung von Argpyrimidin (Teilstruktur 7 in Abbildung 1), das in Bier identifiziert und mit dem Gehalt an Stammwürze und der Bierfarbe positiv korreliert werden konnte.¹⁸⁾ Alternative Reaktionswege zur Bildung von Argpyrimidin gehen von 5-Desoxypentosen aus, die erstmals als Intermediate des aminkatalysierten Maltoseabbaus beschrieben wurden. Die Reaktion von Glyoxal mit Arginin hingegen führt zum stabilen Endprodukt N⁷-Carboxymethylarginin.¹⁹⁾ Im Modellversuch reagiert Arginin nahezu vollständig mit Glyoxal. Das deutet darauf hin, dass N⁷-Carboxymethylarginin von erheblicher Bedeutung in Lebensmitteln sein sollte.

In erhitzten Milchprodukten wurde N⁶-(Carboxycarbonyl)lysin (Teilstruktur 8 in Abbildung 1) mit immunochemischen Analysetechniken nachgewiesen.²⁰⁾ Eine mechanistische Erklärung für die Bildung dieser Struktur aus Lactose steht noch aus.

Proteinquervernetzung durch Maillard-Prozesse

◆ Neben den monovalenten Modifikationen von Aminosäureseitenketten verändern insbesondere Vernetzungsstrukturen die ernährungsphysiologischen und funktionellen Eigenschaften von Lebensmittelproteinen. So wurde Pentosidin (Teilstruktur 9 in Abbildung 1) in verschiedenen Lebensmitteln, z. B. geröstetem Kaffee, bestimmt. Pentosidin ist quantitativ zwar unbedeutend, die Verbindung ist aber säurestabil und hat eine Eigenfluoreszenz. Dadurch eignet sie sich als leicht erfassbare Indikatorverbindung für die Proteinveränderung in Lebensmitteln.²¹⁾ Die Struktur von Pentosidin ist seit langem bekannt, der Bildungsmechanismus aber konnte erst kürzlich aufgeklärt werden.^{9,22)}

Eine ähnliche Vernetzung bewirkt die Bildung von Imidazoliumstruktu-

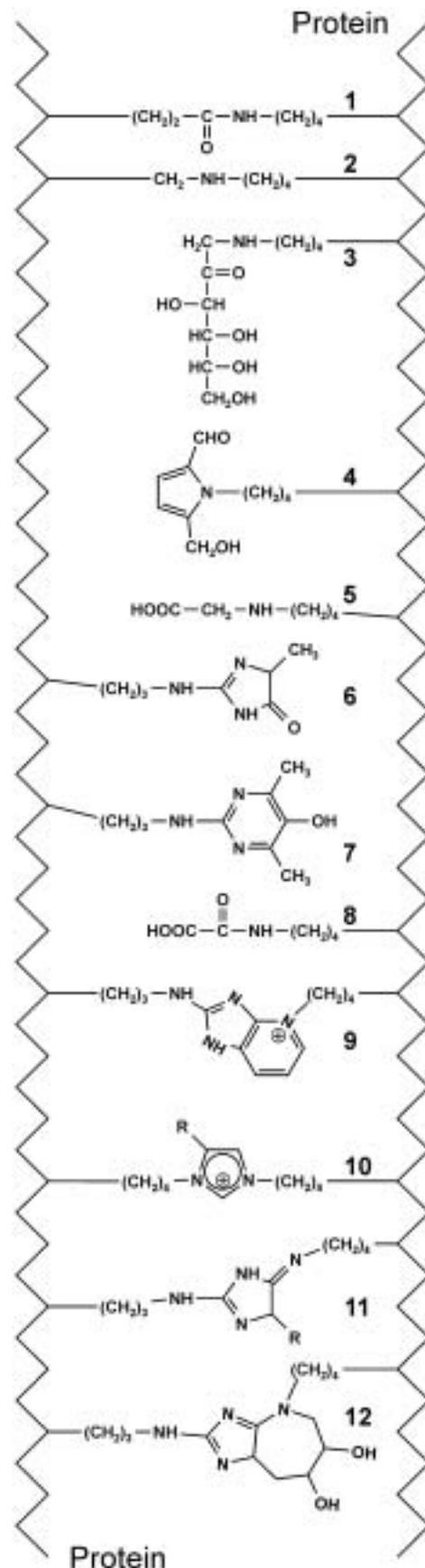


Abb. 1. In Lebensmitteln nachgewiesene Proteinmodifikationen. Teilstrukturen 1 und 2: direkte Quervernetzung; Teilstrukturen 3 bis 8: monovalente Maillard-Proteinmodifikationen; Teilstrukturen 9 bis 12: Quervernetzung durch Maillard-Prozesse.

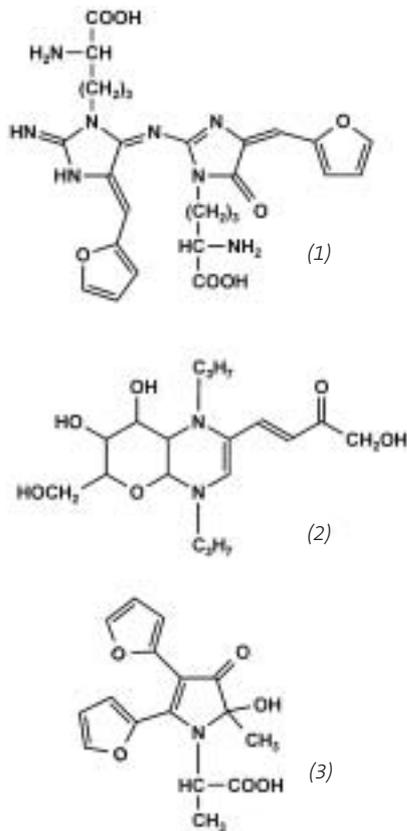


Abb. 2. Beispiele für identifizierte farbige Produkte aus Modellreaktionen.

ren wie GOLD (Teilstruktur 10 in Abbildung 1, R=H) und MOLD (Teilstruktur 10 in Abbildung 1, R=CH₃), die bei der Reaktion von zwei Lysinresten mit zwei Molekülen Glyoxal bzw. Methylglyoxal entstehen. Die Konzentrationsverhältnisse der Reaktionspartner im Lebensmittel liegen drastisch zu Ungunsten der Dicarboxylverbindungen. Die Bedeutung von Imidazoliumstrukturen ist daher gering im Gegensatz zu Imidazolinstrukturen wie GODIC oder MODIC (Teilstruktur 11 in Abbildung 1; R=H bzw. CH₃) oder Amidquervernetzungen.^{15,23)} Dies konnte bestätigt werden in Untersuchungen u. a. von Süß- und Salzgebäck, die auch Glucosepan (Teilstruktur 12 in Abbildung 1) identifizierten.²⁴⁾

Unvollständiges Bild der Proteinmodifikationen

◆ Ein exakter quantitativer Vergleich aller in Abbildung 1 dargestellten Teilstrukturen in Lebensmitteln ist zum jetzigen Zeitpunkt nicht möglich. Es handelt sich in der Regel um Einzeluntersuchungen von verschiedenen Arbeitsgruppen mit entsprechend ab-

weichenden Analysetechniken an nicht vergleichbaren Lebensmitteln. Modellexperimente zeigen, dass die in Abbildung 1 dargestellten Teilstrukturen nur einen kleinen Ausschnitt von Proteinmodifikationen in Lebensmitteln beschreiben. Großer Forschungsbedarf besteht daher sowohl bei der Identifizierung als auch beim Nachweis der Proteinmodifikationen in Lebensmitteln. Das gilt auch für die Frage nach Verbleib und Wirkung der über die Nahrung aufgenommenen Proteinmodifikationen im Körper – vor dem Hintergrund, dass diese in vivo mit pathologischen Prozessen wie den Spätkomplikationen bei Diabetes in Verbindung gebracht werden.^{25,26)}

Farbige Maillard-Produkte

◆ Zuckerinduzierte Proteinmodifikationen beeinflussen auch die Farbe von Lebensmitteln. Der heutige Wissensstand beruht ausschließlich auf der Untersuchung von Modellreaktionen.^{27–29)} So wurden z. B. aus Reaktionen von N^α-Acetylarginin mit den Maillard-Intermediaten Glyoxal und Furfural Imidazolderivate wie (1) (Abbildung 2) und aus Umsetzungen von Propylamin (Modell der Lysinseitenkette) bzw. Alanin mit Glucose Pyranopyrazine bzw. Imidazolinone des Typs (2) bzw. (3) (Abbildung 2). Die Farbverdünnungsanalyse spielte dabei eine entscheidende Rolle.²⁹⁾ Bei quantitativer Arbeitsweise kann der exakte Anteil der aufgetrennten Fraktionen – und damit der einzelnen Modifikationen – an der Gesamtfarbe bestimmt werden. Dieses Vorgehen ist zunächst auch ohne Kenntnis der einzelnen Struktur möglich und erlaubt damit, die Strukturauflösung auf die wirklich relevanten Verbindungen zu konzentrieren. Es bleibt zu hoffen, dass die Methode auch zur Identifizierung der tatsächlichen Lebensmittelpigmente führt.

Marcus A. Glomb
Institut für Lebensmittelchemie
TU Berlin
marcus.glomb@tu-berlin.de
Markus O. Lederer
Institut für Lebensmittelchemie
Universität Hohenheim
ledererm@uni-hohenheim.de

- 1) S. Lauber, T. Henle, H. Klostermeyer, Eur. Food Res. Technol. 2000, 210, 305.
- 2) T. Ohtsuka, A. Sawa, R. Kawabata, N. Nio, M. Motoki, J. Agric. Food Chem. 2000, 48, 6230.
- 3) M. Friedman, J. Agric. Food Chem. 1999, 47, 1295.
- 4) S. Lauber, H. Klostermeyer, T. Henle, Food 2001, 45, 215.
- 5) F. Ledl, E. Schleicher, Angew. Chem. 1990, 102, 597.
- 6) M. A. Glomb, R. Tschirrnich, J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 5543.
- 7) M. A. Glomb, C. Pfahler, Carbohydr. Res. 2000, 329, 515.
- 8) M. A. Glomb, R. L. Hiller, J. Agric. Food Chem. 2002, eingereicht.
- 9) K. M. Biemel, J. Conrad, M. O. Lederer, Angew. Chem. 2002, 114, im Druck.
- 10) A. Ramirez-Jimenez, E. Guerra-Hernandez, B. Garcia-Villanova, J. Agric. Food Chem. 2000, 48, 4176.
- 11) N. Corzo, M. Villamiel, M. Arias, S. Jimenez-Perez, F. J. Morales, Food Chem. 2000, 71, 255.
- 12) F. Vinale, V. Fogliano, P. Schieberle, T. Hofmann, J. Agric. Food Chem. 1999, 47, 5084.
- 13) P. Resmini, L. Pellegrino, Cereal Chem. 1994, 71, 254.
- 14) S. Drusch, V. Faist, H. F. Erbersdobler, Food Chem. 1999, 65, 547.
- 15) M. A. Glomb, C. Pfahler, J. Biol. Chem. 2001, 276, 41638.
- 16) A. Tauer, K. Hasenkopf, T. Kislinger, I. Frey, M. Pieschetsrieder, Eur. Food Res. Technol. 1999, 209, 72.
- 17) P. J. Thornalley, 7th International Symposium on the Maillard Reaction in Kumamoto/Japan, Okt./Nov 2001.
- 18) M. A. Glomb, D. Röscher, R. H. Nagaraj, J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 366.
- 19) M. A. Glomb, G. Lang, J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 1493.
- 20) H. Hasenkopf, B. Übel, T. Bördiehn, M. Pieschetsrieder, Food 2001, 45, 206.
- 21) U. Schwarzenbolz, H. Klostermeyer, T. Henle, Eur. Food Res. Technol. 2000, 211, 208.
- 22) K. M. Biemel, O. Reihl, J. Conrad, M. O. Lederer, J. Biol. Chem. 2001, 276, 23405.
- 23) M. O. Lederer, R. G. Klaiber, Bioorg. Med. Chem. 1999, 7, 2499.
- 24) K. M. Biemel, H. P. Bühler, O. Reihl, M. O. Lederer, Food 2001, 45, 210.
- 25) H.F. Erbersdobler, V. Faist, Food 2001, 45, 177.
- 26) V. Faist, C. Müller, S. Drusch, H.F. Erbersdobler, Food 2001, 45, 218.
- 27) T. Hofmann, J. Agric. Food Chem. 1998, 46, 3896.
- 28) T. Knerr, H. Lerche, M. Pieschetsrieder, T. Severin, J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 1966.
- 29) O. Frank, T. Hofmann, J. Agric. Food Chem. 2000, 48, 6303.