

## **La reacción de Maillard. Oscurecimiento no enzimático.**

El oscurecimiento no enzimático es el resultado de reacciones originadas por las condensaciones entre compuestos carbonilos y derivados de aminas; o por la degradación de compuestos con enlaces dobles conjugados a grupos carbonilo. Este proceso implica la presencia de carbohidratos en el alimento, ya sea sacarosa, glucosa libre o alguno otro.

Esta serie de reacciones conduce a la formación de polímeros oscuros que en algunos casos pueden ser deseables (aromas cárnicos sintéticos o color caramelo). Pero que en la mayoría de casos conllevan a alteraciones organolépticas y pérdidas del valor nutritivo de los alimentos afectados.

Hay cuatro tipos de reacciones de oscurecimiento en los alimentos:

- A)** La reacción de Maillard. Un compuesto carbonílico (azúcar reductor) y una amina (aminoácido, péptido o proteína)
- B)** La caramelización (azúcares).
- C)** La oxidación del ácido ascórbico.
- D)** El oscurecimiento por fenolasa.

Las primeras tres son de naturaleza no enzimática, y el oscurecimiento por oxidación con fenolasa u oscurecimiento por oxidación catalítica enzimática es de importancia comercial, particularmente en frutas y vegetales en los cuales la fenolasa es muy común.

### **A) Reacción de Maillard (Oscurecimiento no enzimático)**

- Conjunto complejo de reacciones químicas.
- Reportada en 1912 por Louis-Camille Maillard.
- Aparición de pigmentos (melanoidinas) en los alimentos.
- Formación de productos responsables del sabor y del olor (compuestos volátiles) en los alimentos.
- Se lleva a cabo entre azúcares (glucosa, fructosa, maltosa, lactosa).
- Aminas, principalmente primarias (por ejemplo un grupo  $\alpha$ -amino de los aminoácidos lisina, el grupo guanidino de la arginina).
- Depende del pH, temperatura, concentración, tiempo.

Esta reacción fue descrita por primera vez por el investigador francés Louis-Camille Maillard (1878-1936).

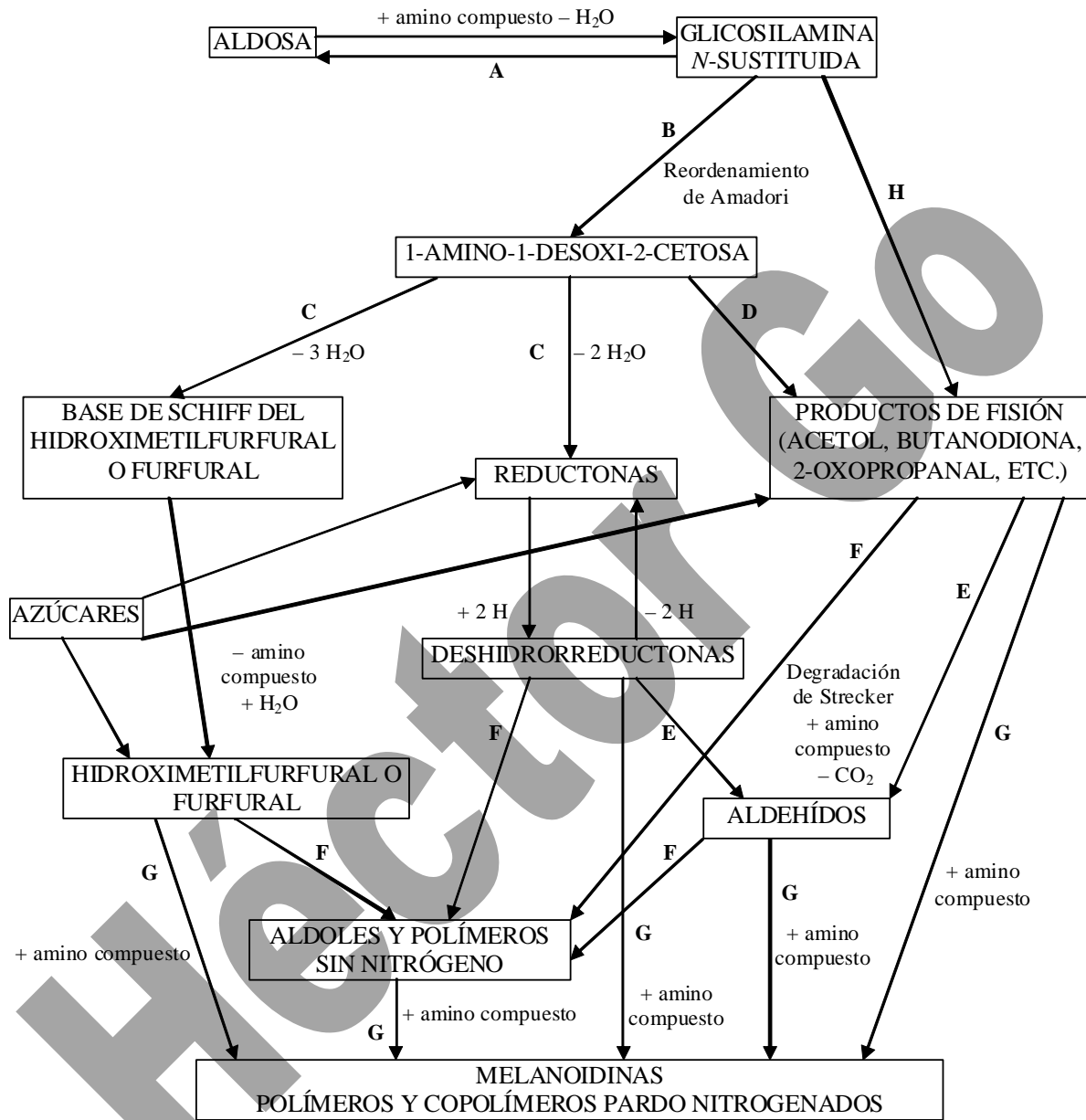


En 1912, Maillard estaba investigando como se combinaban los aminoácidos para formar proteínas. Por casualidad (serendipia, ciencia por casualidad) el descubrió la química básica que hay detrás de algo que el hombre había estado haciendo desde el descubrimiento del fuego: calentando carne con un calor intenso. (L.-C. Maillard, *Action des acides amines sur les sucres: formation des melanoïdines par voie methodique*, *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.*, 1912, 154, 66-68).

La reacción de Maillard es un tipo de reacción de oscurecimiento, la cual se llama así por el color café oscuro que se imparte al alimento. Es una reacción increíblemente compleja. (C. Billaud, J. Adrian, Louis-Camille Maillard, 1878-1936, *Food Rev. Intern.*, 2003, 19, 345-347).



**Oscurecimiento no enzimático** (J. E. Hodge, Chemistry of browning reactions in model systems, *J. Agric. Food Chem.*, 1953, 1, 928-943)



I Etapa inicial: Productos sin color, sin absorción en el UV.

Reacción A: Condensación azúcar-amina.

Reacción B: Reordenamiento de Amadori.

Reacción H: Ruptura por radicales libres de los intermediarios de Maillard.

II Etapa intermedia: Productos sin color o amarillos, con fuerte absorción en el UV.

Reacción C: Deshidratación de azúcares.

Reacción D: Fragmentación de azúcares.

Reacción E: Degradación de aminoácidos (Degradación de Strecker).

III Etapa final: Productos muy coloridos.

Reacción F: Condensación aldólica.

Reacción G: Condensación aldehído-amina y formación de compuestos heterocíclicos nitrogenados.

Los productos finales del oscurecimiento no enzimático son llamados melanoidinas, mientras que los productos del oscurecimiento enzimático son llamados melaninas. Teóricamente la distinción es clara, pero en la práctica es muy difícil clasificar los compuestos, que dan el color café oscuro, formados en los alimentos, ya que se forman mezclas químicamente complejas.

**La reacción de Maillard se puede subdividir en tres etapas:**

**I Etapa inicial: Productos sin color, sin absorción en el UV.**

- Reacción A: Condensación azúcar-amina.
- Reacción B: Reordenamiento de Amadori.
- Reacción H: Reacciones por radicales libres.

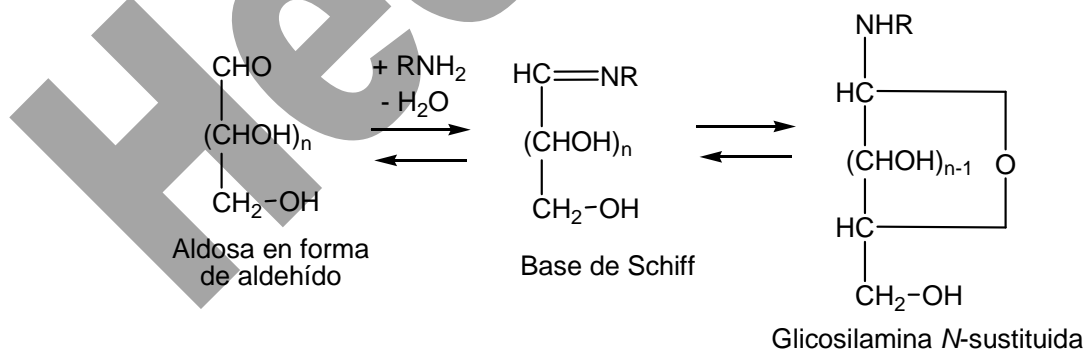
**II Etapa intermedia: Productos sin color o amarillos, con fuerte absorción en el UV.**

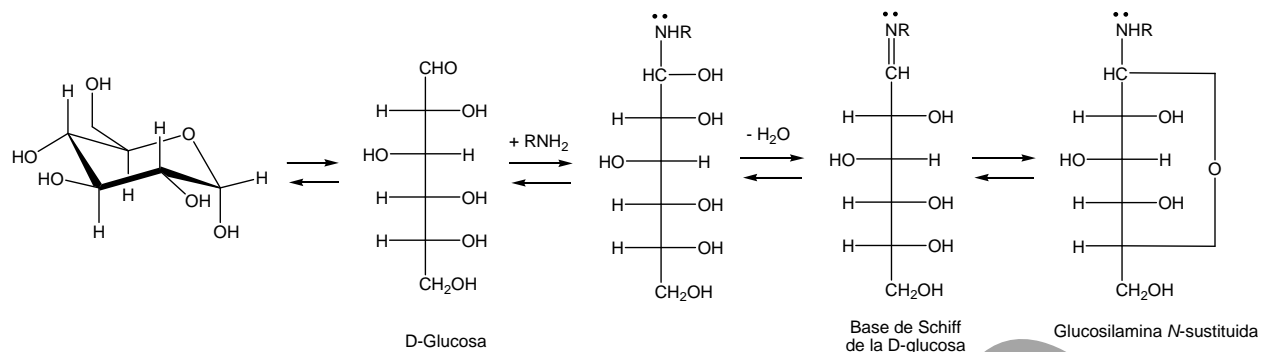
- Reacción C: Deshidratación de azúcares.
- Reacción D: Fragmentación de azúcares.
- Reacción E: Degradación de aminoácidos (Degradación de Strecker).

**III Etapa final: Productos muy coloridos.**

- Reacción F: Condensación aldólica.
- Reacción G: Condensación aldehído-amina y formación de compuestos heterocíclicos nitrogenados.

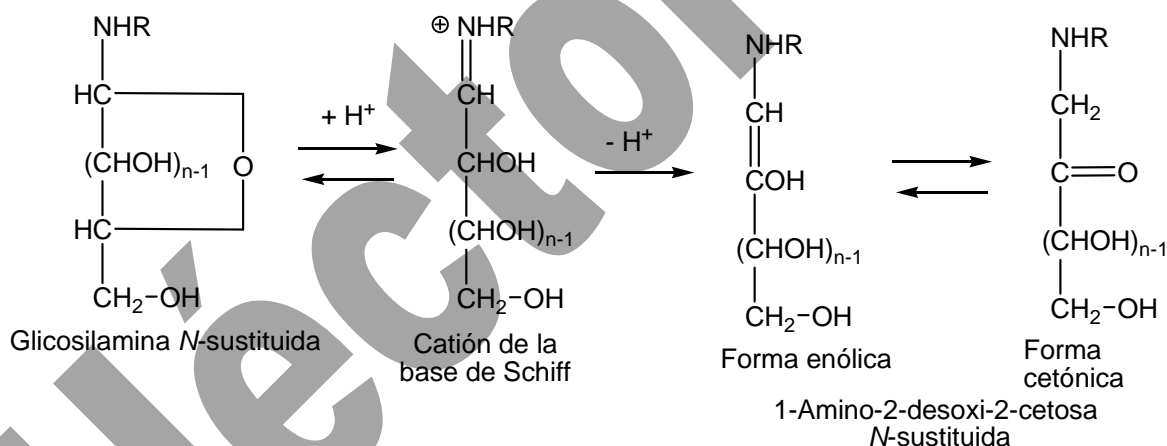
**Reacción A: Condensación azúcar-amina. Formación de las glicosilaminas N-sustituidas.**





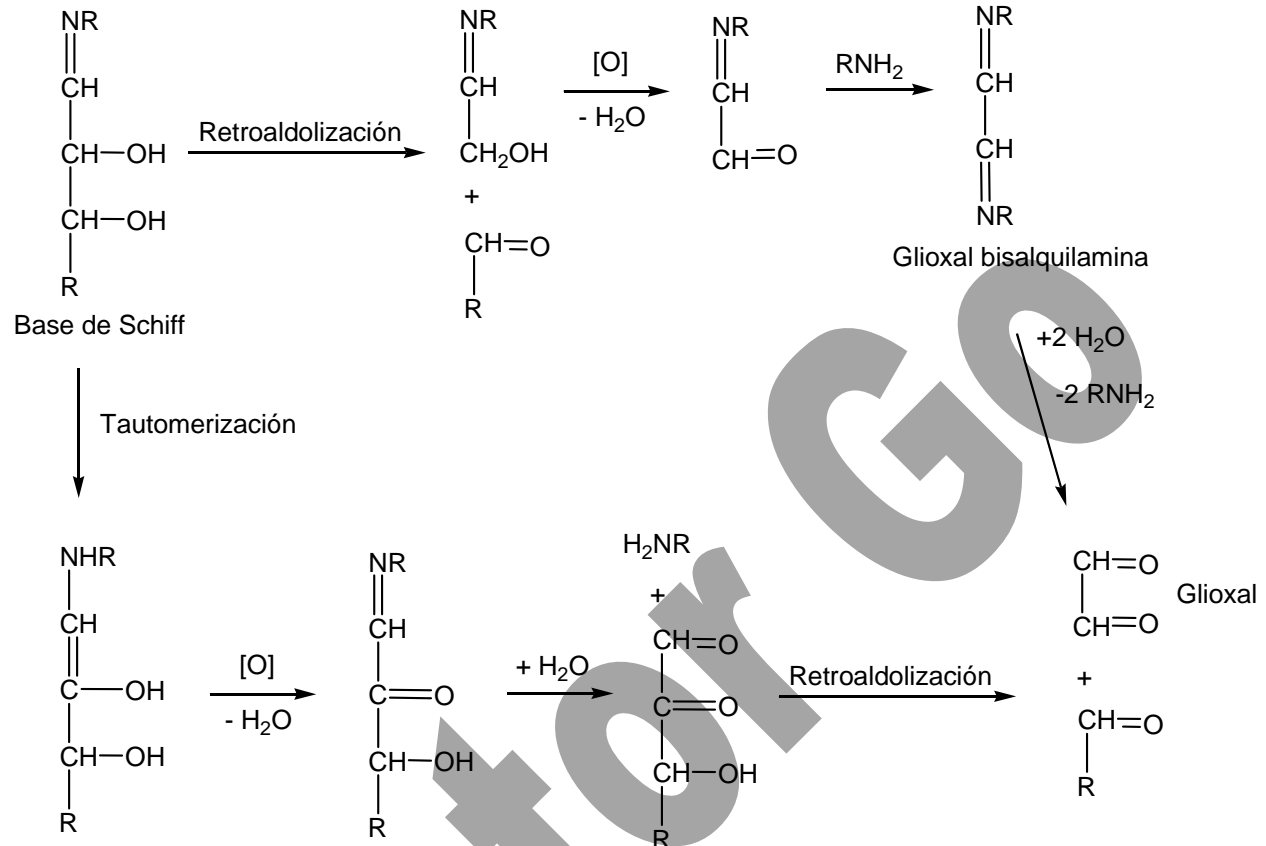
Cada paso es reversible. La amina puede ser una proteína y se ha demostrado que la insulina reacciona con la glucosa a temperatura ambiente. La glucosilamina podría reaccionar con otra molécula de aldosa para dar una diglicosilamina. Las glucosilaminas *N*-sustituidas al calentarse dan compuestos nitrogenados fluorescentes, los cuales reaccionan rápidamente con la glicina para dar melanoidinas.

**Reacción B: Reordenamiento de Amadori para la obtención de las 1-amino-2-desoxi-2-cetosas *N*-sustituidas.**



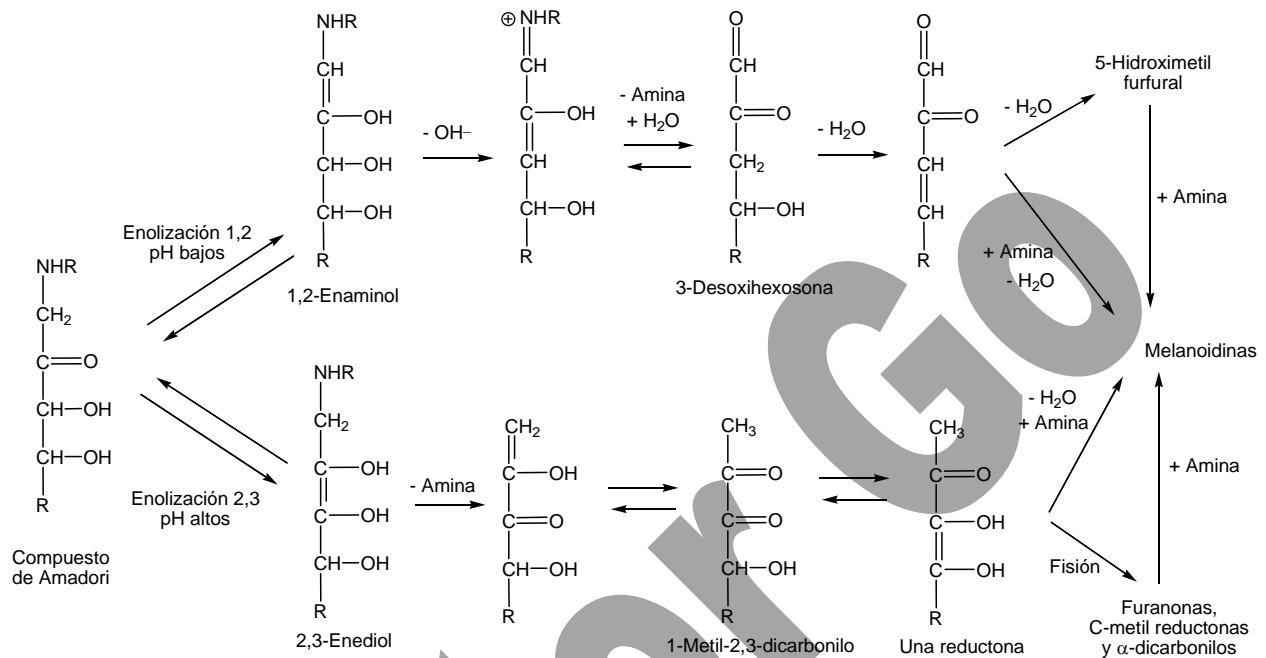
Es una reacción catalizada por ácido. Este reordenamiento no es reversible. Si reaccionan aldosas se forman 1-amino-2-desoxi-2-cetosas *N*-sustituidas, pero si son cetosas las que reaccionan se forman 2-amino-2-desoxialdosas *N*-sustituidas.

## Reacción H: Reacciones por radicales libres.



Se ha comprobado la presencia de radicales libres estables en la formación de melanoidinas. Se ha concluido que pueden ser el azúcar o la glicosilamina los compuestos de partida para esta reacción, con la formación de la base de Schiff y una oxidación subsecuente a la retroaldolización. (a) M. Namiki, T. Hayashi, Development of novel free radicals during amino-carbonyl reaction of sugar with amino acids, *J. Agric. Food Chem.*, 1975, 23, 487-491. b) T. Hofmann, W. Bors, K. Stettmaier, Studies on radical intermediates in the early stage of the non-enzymatic browning of carbohydrates and primary amino acids, *J. Agric. Food Chem.*, 1999, 47, 379-390).

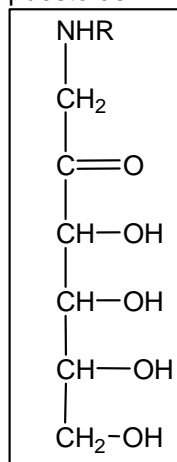
**Reacción C: Deshidratación de azúcares. Reacciones de Maillard, las dos rutas principales de la formación de melanoidinas a partir de los compuestos de Amadori.**



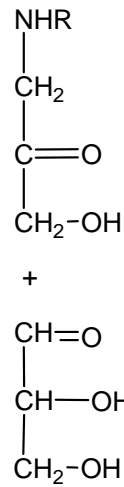
Ocurre por dos caminos. Bajo condiciones ácidas se forman furfurales, y en condiciones alcalinas se forman las reductonas. (a) I. Tosun, N. S. Ustun, Nonenzymatic browning during storage of white hard grape pekmez (Zile pekmesi), *Food Chem.*, 2003, 80, 441-443. b) M. S. Feather, Amine-assisted sugar dehydration reactions, in C. Eriksson (ed), *Maillard Reactions in Food: Chemical, Physiological and Technological Aspects*, Vol. 5, Pergamon Press, Oxford, 1981).

## Reacción D: Fragmentación de azúcares

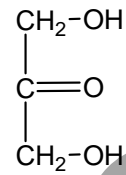
Compuesto de Amadori



Retroaldolización



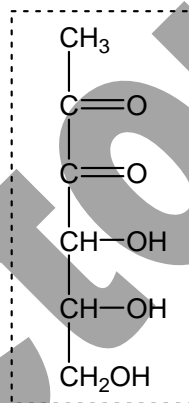
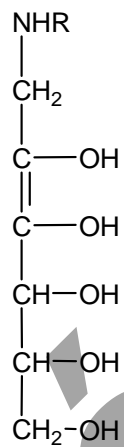
- RNH<sub>2</sub>  
+ H<sub>2</sub>O



Dihidroxicetona

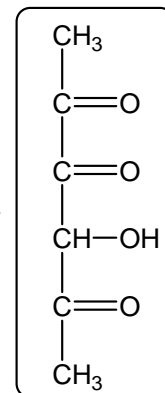
Gliceraldehído

Enolización 2,3



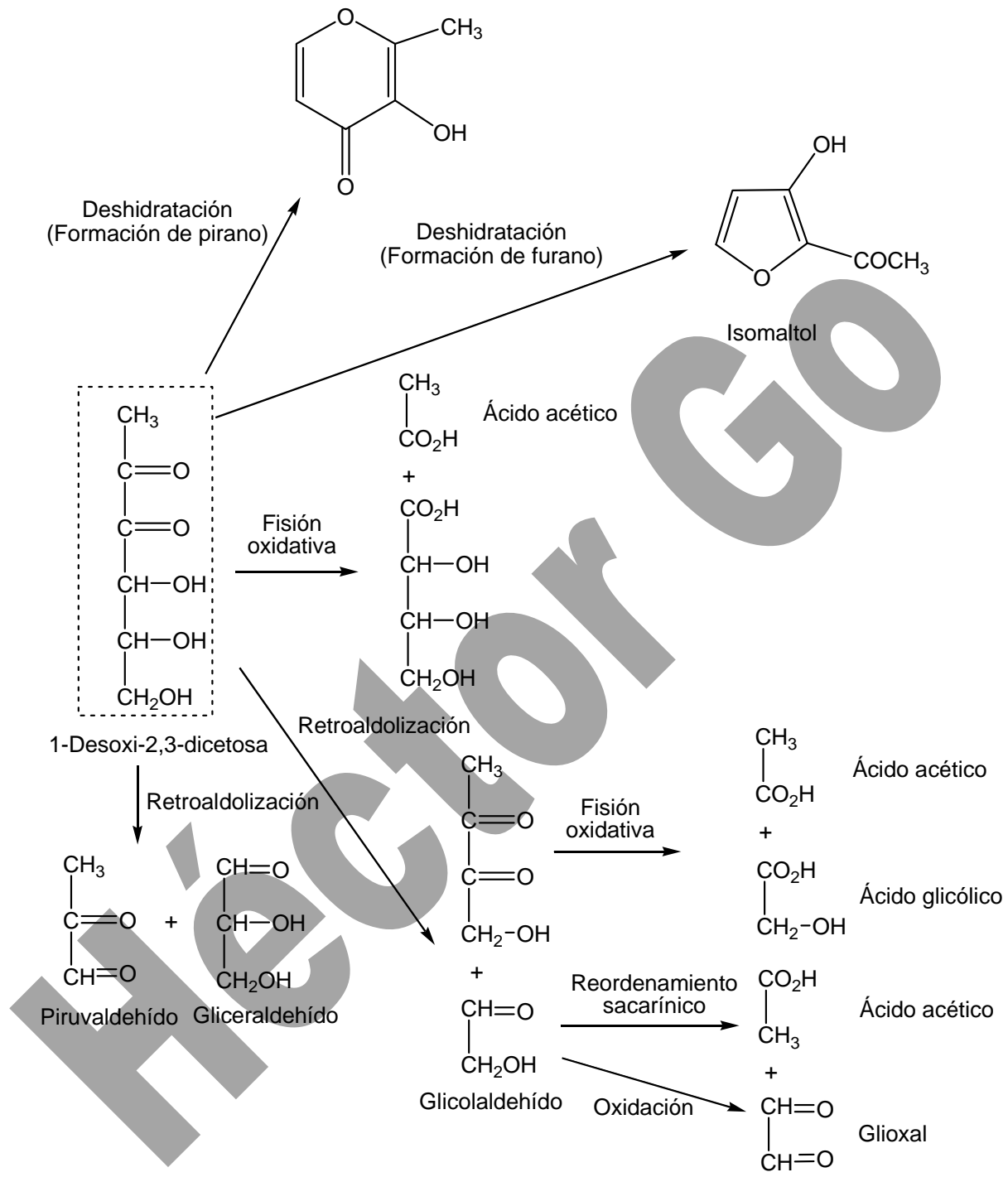
1-Desoxi-2,3-dicetosa

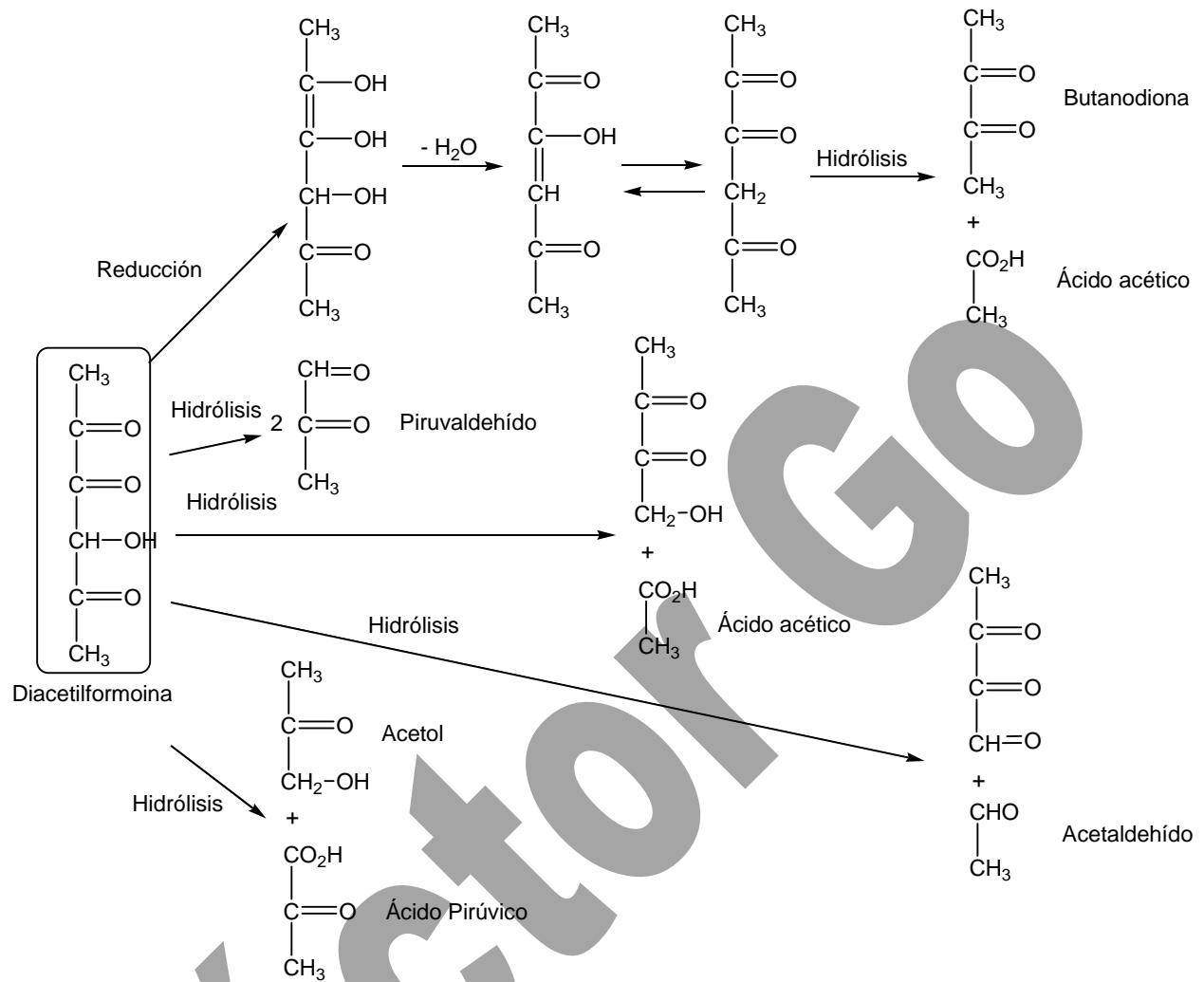
Reordenamiento



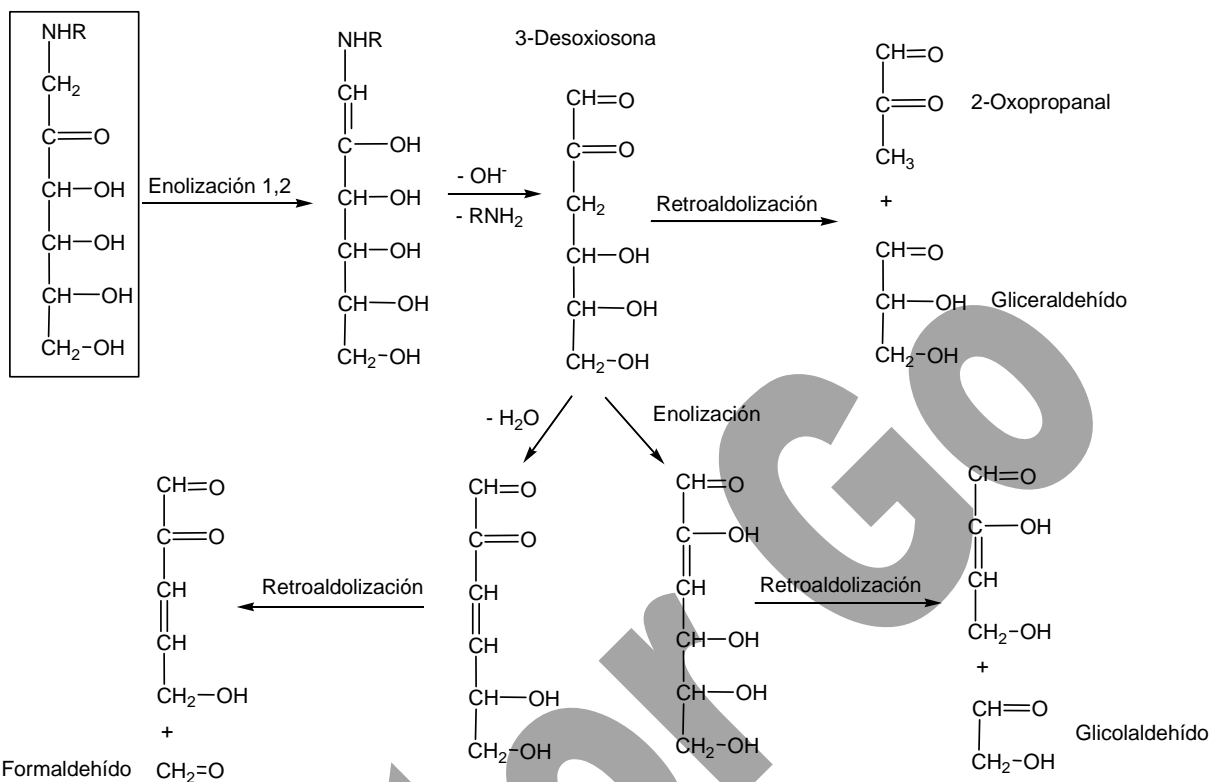
Diacetilformoína





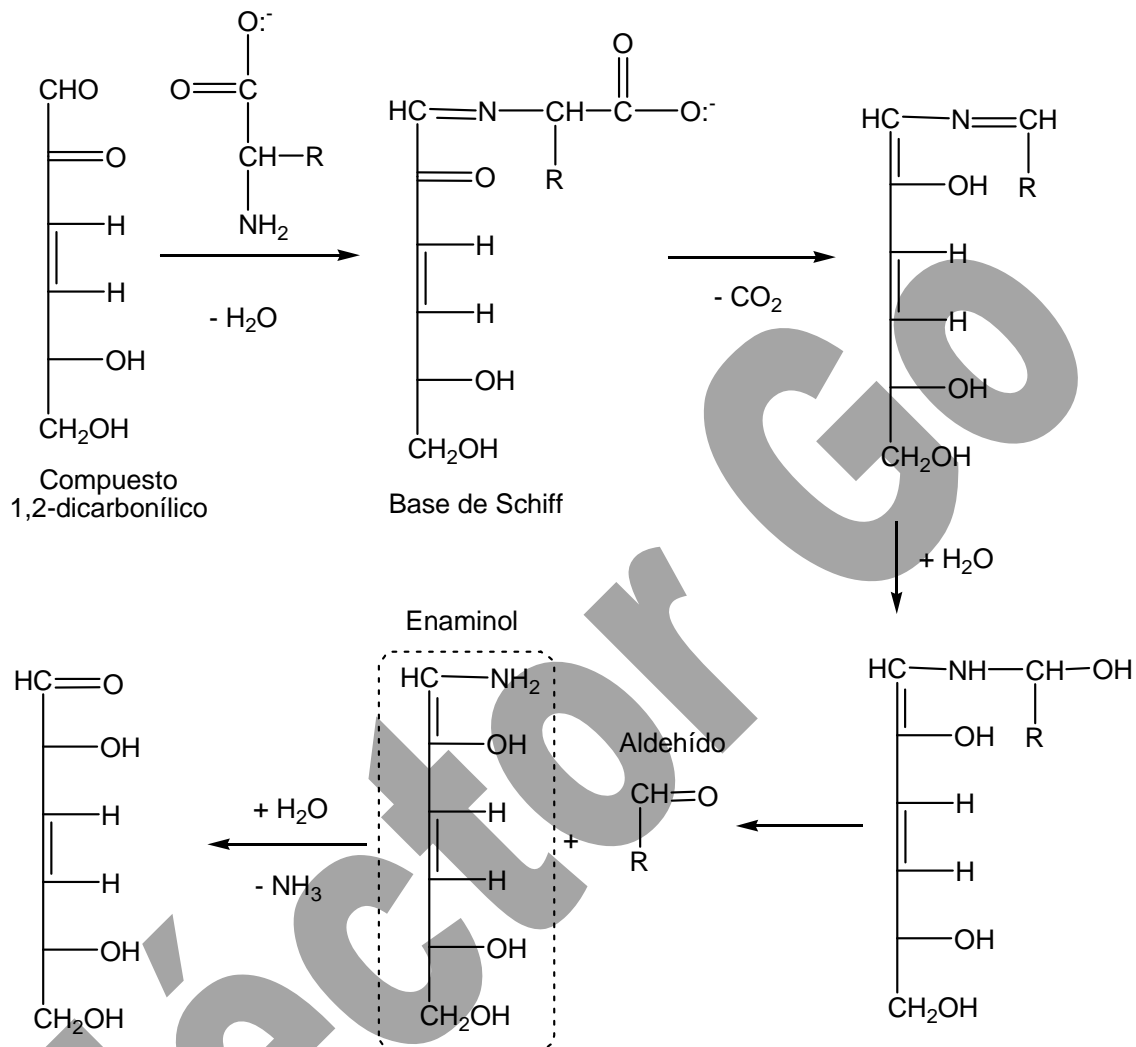


Compuesto de Amadori



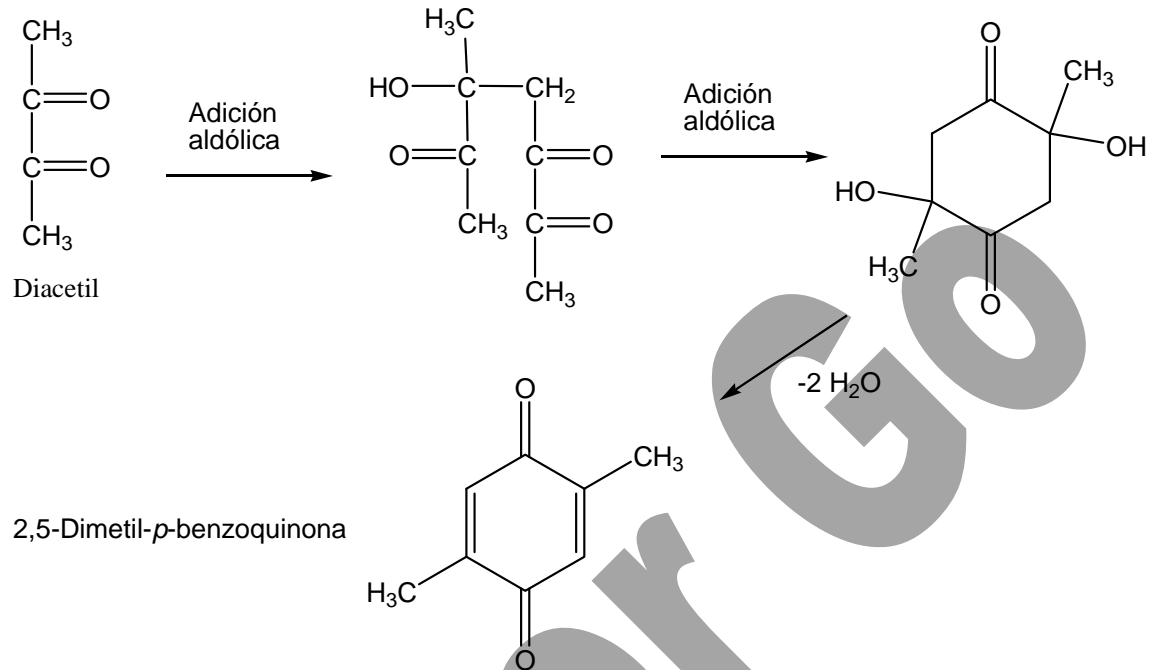
El mecanismo por el cual ocurre principalmente una retroaldolización y una fisión oxidativa. La fragmentación de las hexosas puede ser en C5/C1, C4/C2 o C3/C3. (H. Weenen, W. Apeldoorn, Carbohydrate cleavage in the Maillard reaction. In *Flavour Science: Recent Developments*, Vol. 197, A. J. Taylor and D. S. Mottram (eds), Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1996, 211-216).

## Reacción E: Degradación de Strecker.



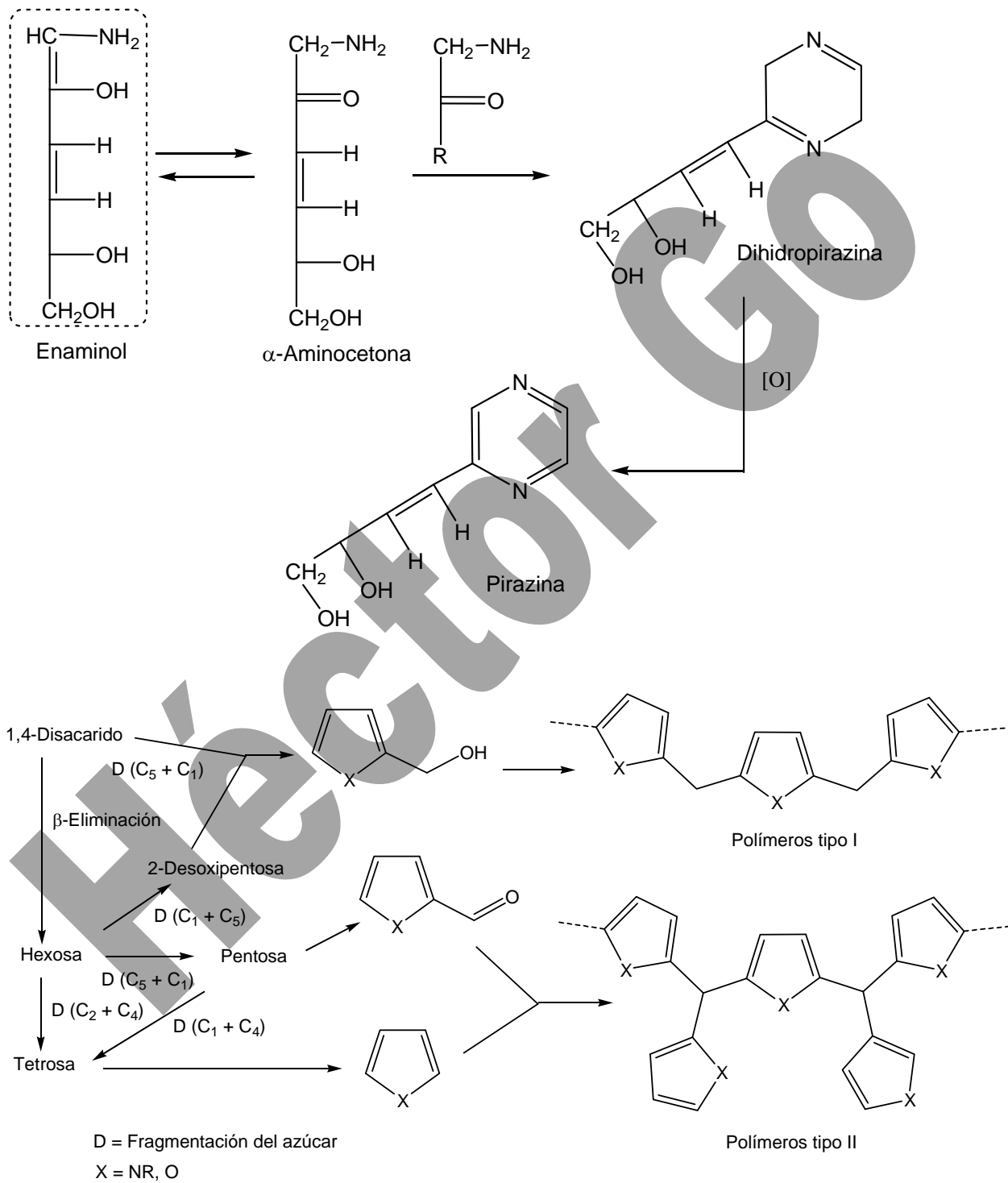
Los compuestos dicarbonílicos de la reacción de Maillard reaccionan con el grupo  $\alpha$ -amino de un aminoácido para formar una base de Schiff. La forma enólica es un  $\alpha$ -aminoácido que se descarboxila con facilidad para dar un enaminol. El enaminol experimenta una autocondensación para formar un polímero café o bien una hidrólisis a la amina y al aldehído, correspondiendo el último al aminoácido original con un átomo de carbono menos. Los aldehídos que se forman por la degradación de Strecker constituyen muchos de los compuestos más importantes que tienen sabor en los alimentos. (a) A. Strecker, A note concerning a peculiar oxidation by alloxan, *Annalen*, 1862, 123, 363-365. b) G. P. Rizzi, The Strecker degradation and its contribution to food flavor, in *Flavor Chemistry: Thirty Years of Progress*, R. Teranishi, E. L. Wick, I. Hornstein (eds), Kluwer/Plenum, New York, 199, 335-343).

**Reacción F: Condensación aldólica. Formación de quinonas a partir de productos de fragmentación de los azúcares.**



Los aldehídos pueden originarse de las reacciones C, D y E, y pueden reaccionar entre ellos por una condensación aldólica. También pueden participar en esta reacción los compuestos carbonílicos derivados de la oxidación de lípidos. Las benzoquinonas pueden participar como componentes dicarbonílicos en la reacción de Strecker, formando iminas que pueden ser involucradas en la producción de melanoidinas.

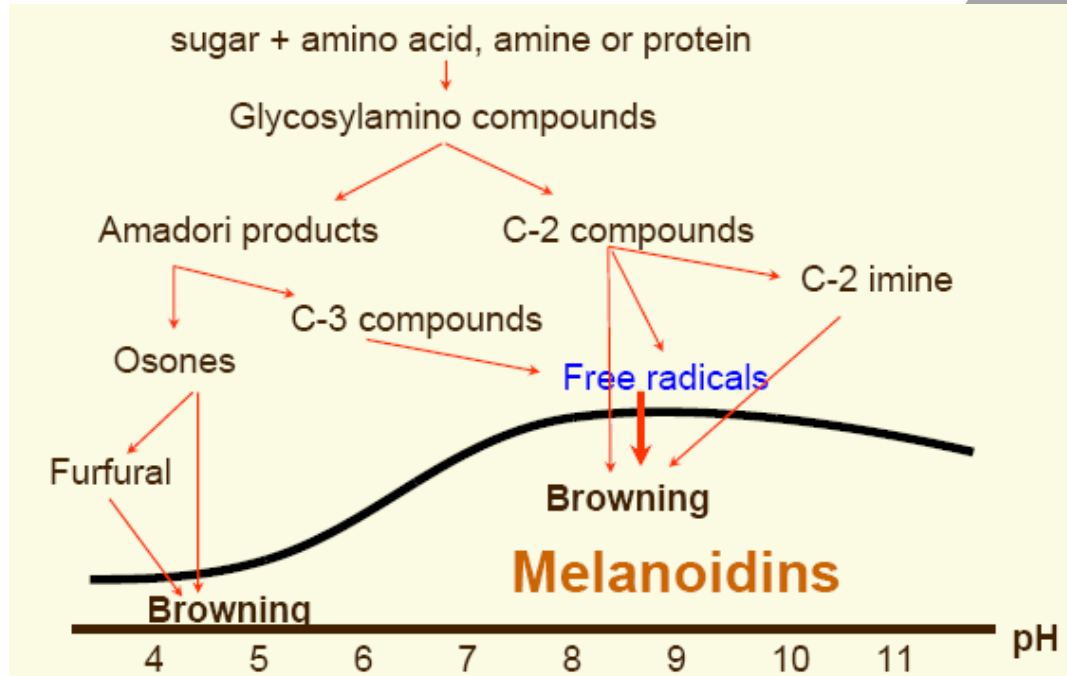
**Reacción G: Condensación aldeído-amina. Formación de compuestos heterocíclicos nitrogenados.**



Los aldehídos, y en particular los  $\alpha,\beta$ -insaturados, reaccionan con aminas para dar polímeros de alta masa molecular, que son productos coloridos de estructura

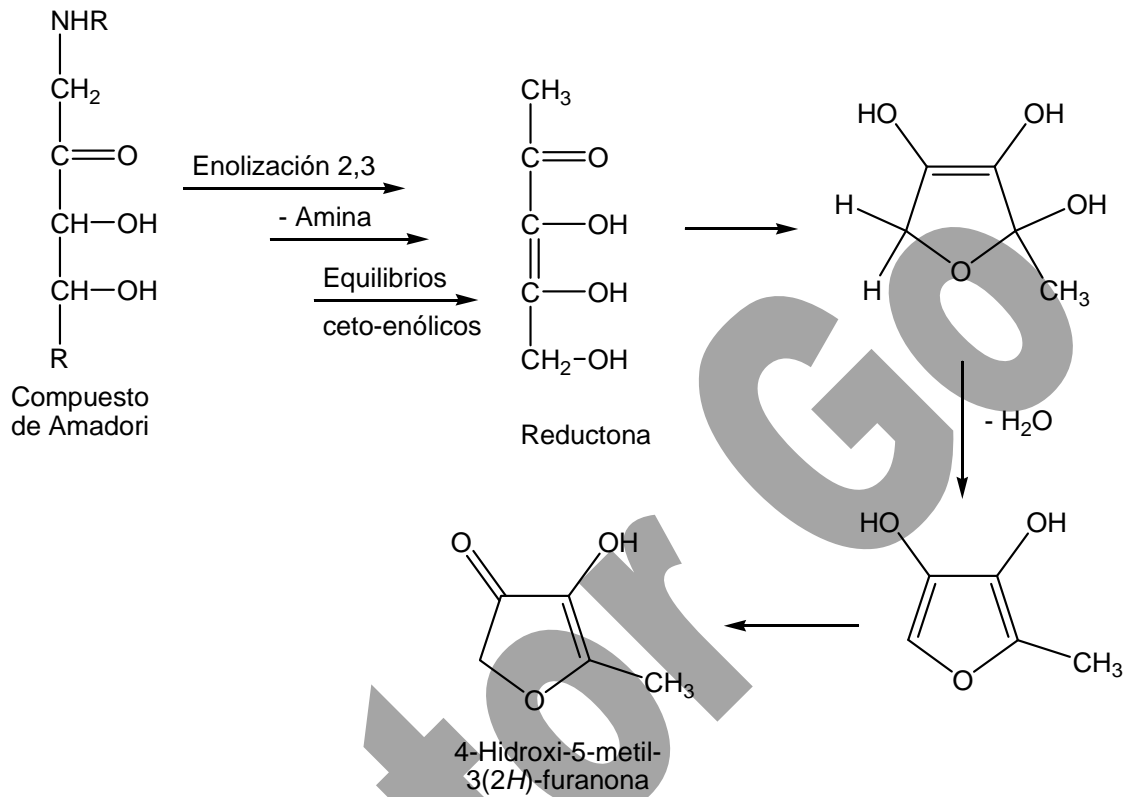
desconocida (melanoidinas). Se han encontrado sistemas heterocíclicos como piridinas, pirazinas, pirroles e imidazoles en las melanoidinas. La constitución de las melanoidinas depende de cómo hayan sido producidas. (H. Kato, F. Hayase, An approach to estimate the chemical structure of melanoidins, in S. Horiuchi, N. Taniguchi, F. Hayese, T. Kurata, T. Osawa (eds), the Maillard Reaction in *Food Chemistry and Medical Science: Update for the Postgenomic Era*, Vol. 1245, Elsevier, Amsterdam, 2002).

### Efecto del pH en la formación de melanoidinas.



El pH ejerce un efecto crucial sobre la reacción de Maillard una vez que el compuesto de Amadori ha sido formado. Enolización 1,2 a pH bajos y enolización 2,3 a pH altos. (D. S. Mottram, A. Leseigneur, The effect of pH on the formation of aroma volatiles in meat-like Maillard systems, in *Flavor Science and Technology*, Y. Bessièrè and A. F. Thomas (eds), Wiley, Chichester, 1990, 121-124).

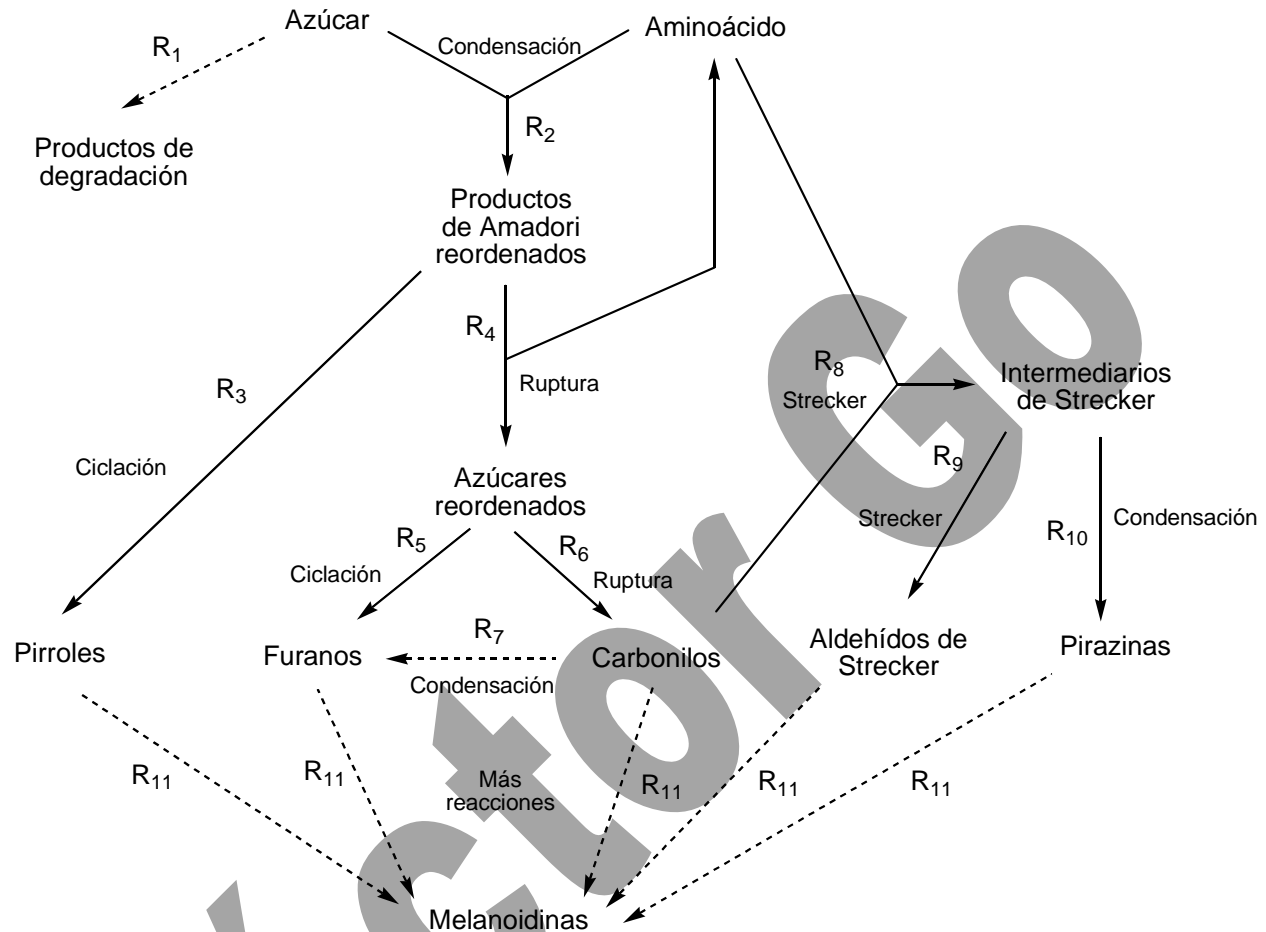
**Formación de la 4-hidroxi-5-metil-3(2H)-furanona a partir de una pentosa vía una enolización 2,3 de un compuesto de Amadori.**



Este compuesto (norfuraneol) contribuye en gran parte al sabor en carnes cocidas y al olor tipo caramelo.



## Esquema cinético simplificado para la generación de los compuestos responsables del sabor en la reacción de Maillard.

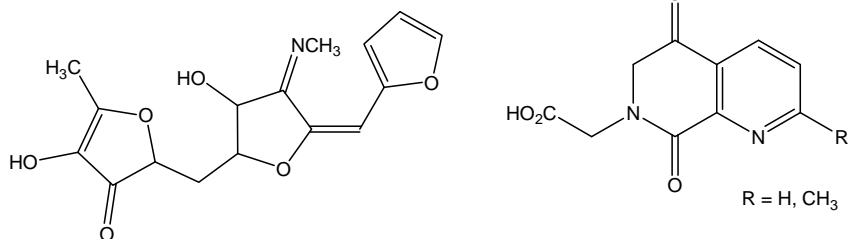
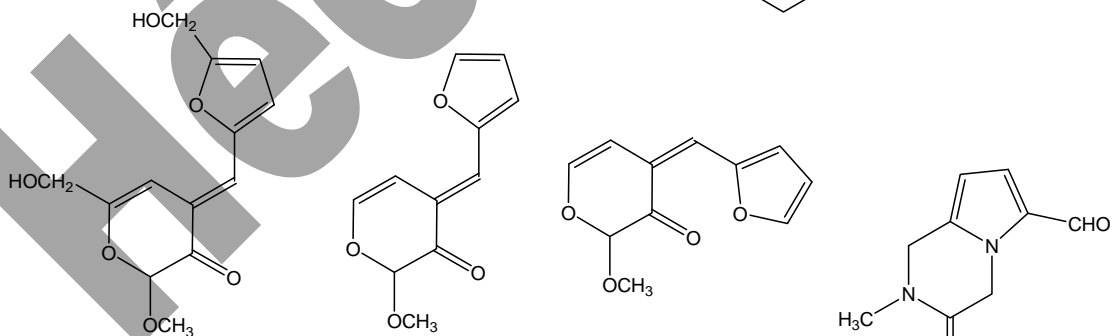
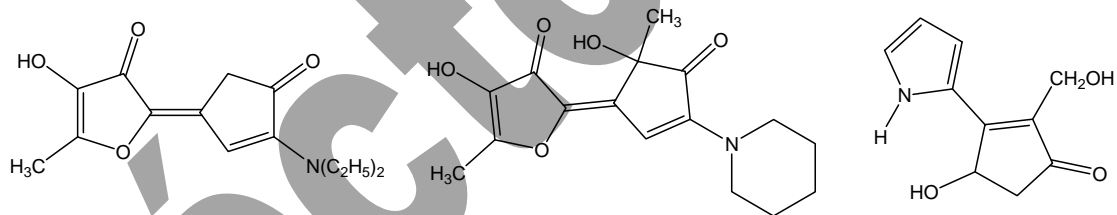
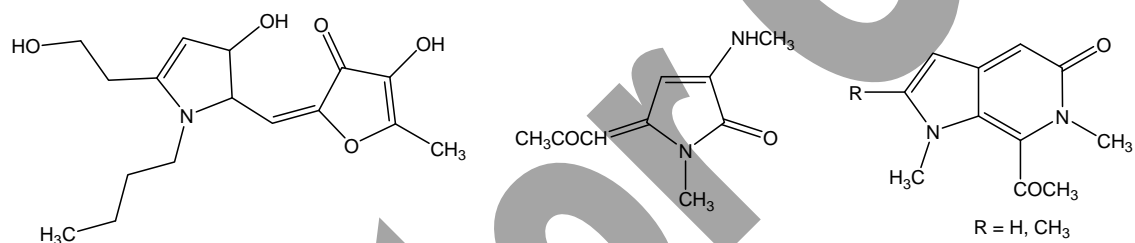
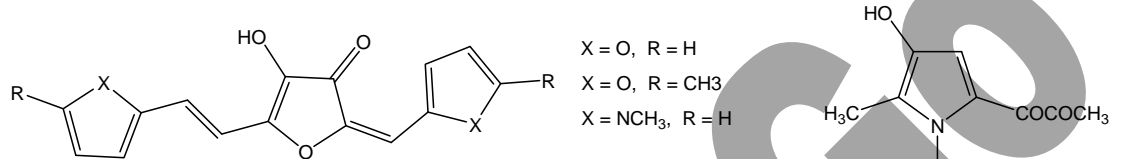
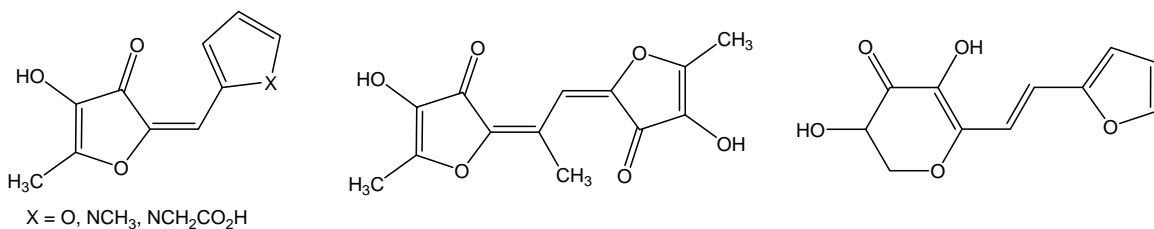


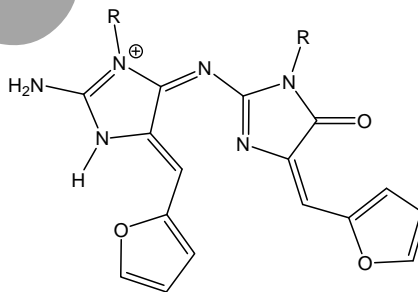
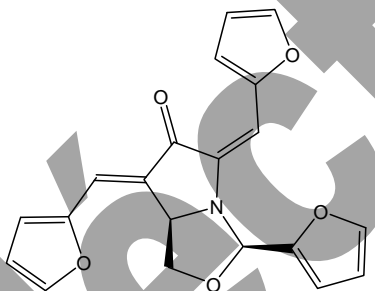
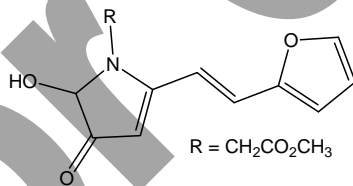
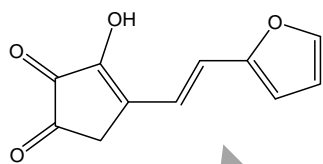
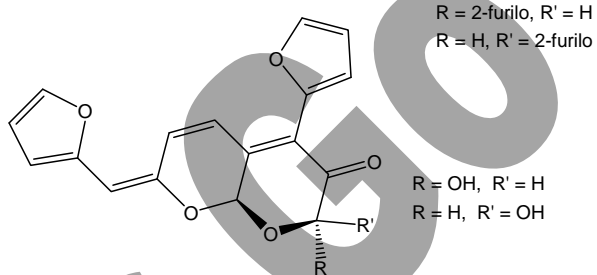
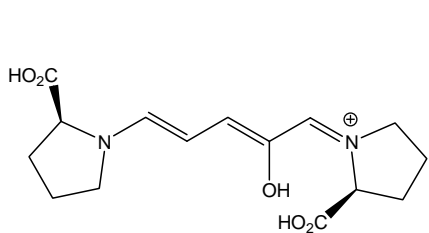
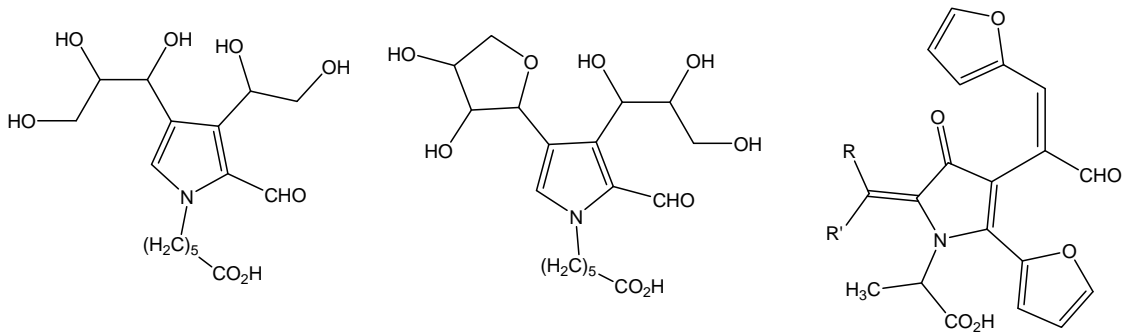
(F. Jousse, T. Jongen, W. Agterof, S. Russell, P. Braat, Simplified kinetic scheme of flavor formation by the Maillard Reaction, *J. Food Sci.*, **2002**, 67, 2534-2542).

### Formación de color en el oscurecimiento no enzimático.

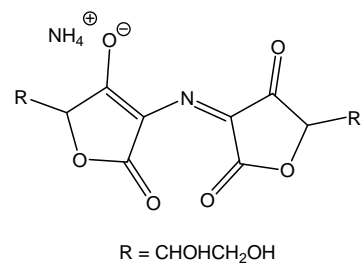
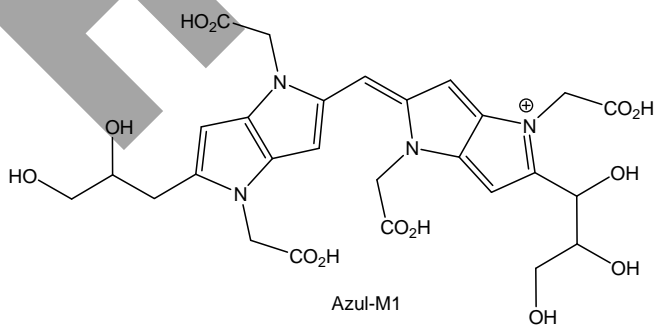
La formación del color es la característica principal de la reacción de Maillard, pero el conocimiento que se tiene de los compuestos responsables de esto no está del todo esclarecido. Un amplio rango de sustancias pequeñas que dan color han sido aisladas de sistemas modelo. Pero falta identificar estructuralmente a las melanoidinas.

## Estructuras de algunos compuestos coloridos de baja masa molar formados en los sistemas modelo de Maillard





R = (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH(CO<sub>2</sub>H)NHCOCH<sub>3</sub>



## Clasificación de los compuestos volátiles producidos en la reacción de Maillard.

Productos del deshidratación/fragmentación de azúcares:

- Furanos (Hidroximetilfurano).
- Pironas (Maltol).
- Ciclopentenos (Metilciclopentenolona).
- Carbonilos (Diacetil).
- Ácidos (Ácido acético).

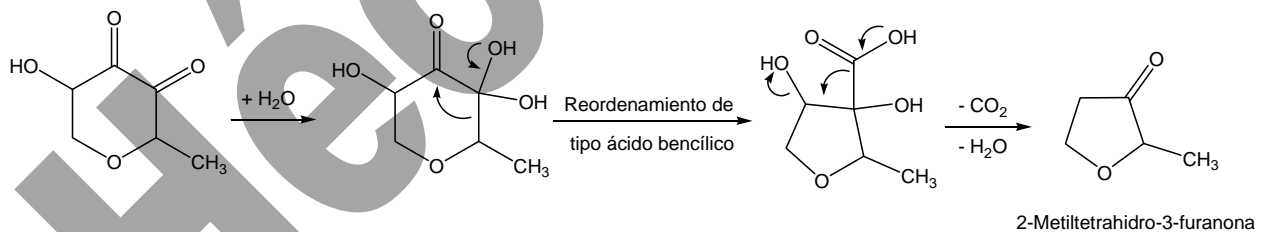
Productos de la degradación de aminoácidos:

- Aldehídos de la degradación de Strecker.
- Compuestos con azufre.

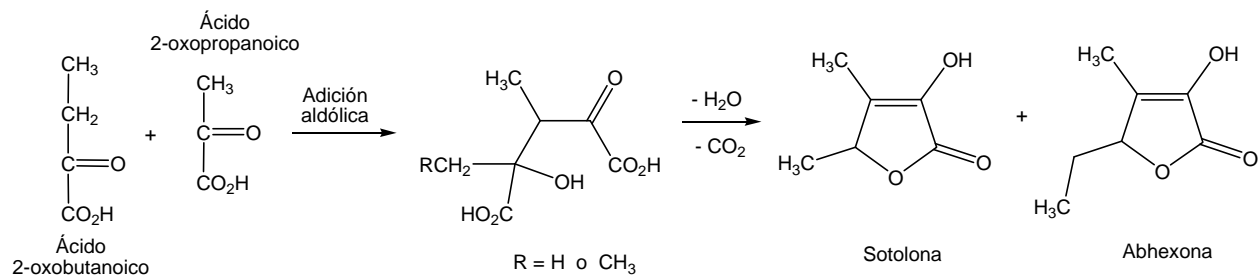
Productos de interacciones posteriores:

- Pirroles.
- Piridinas.
- Imidazoles.
- Pirazinas.
- Oxazoles.
- Tiazoles.

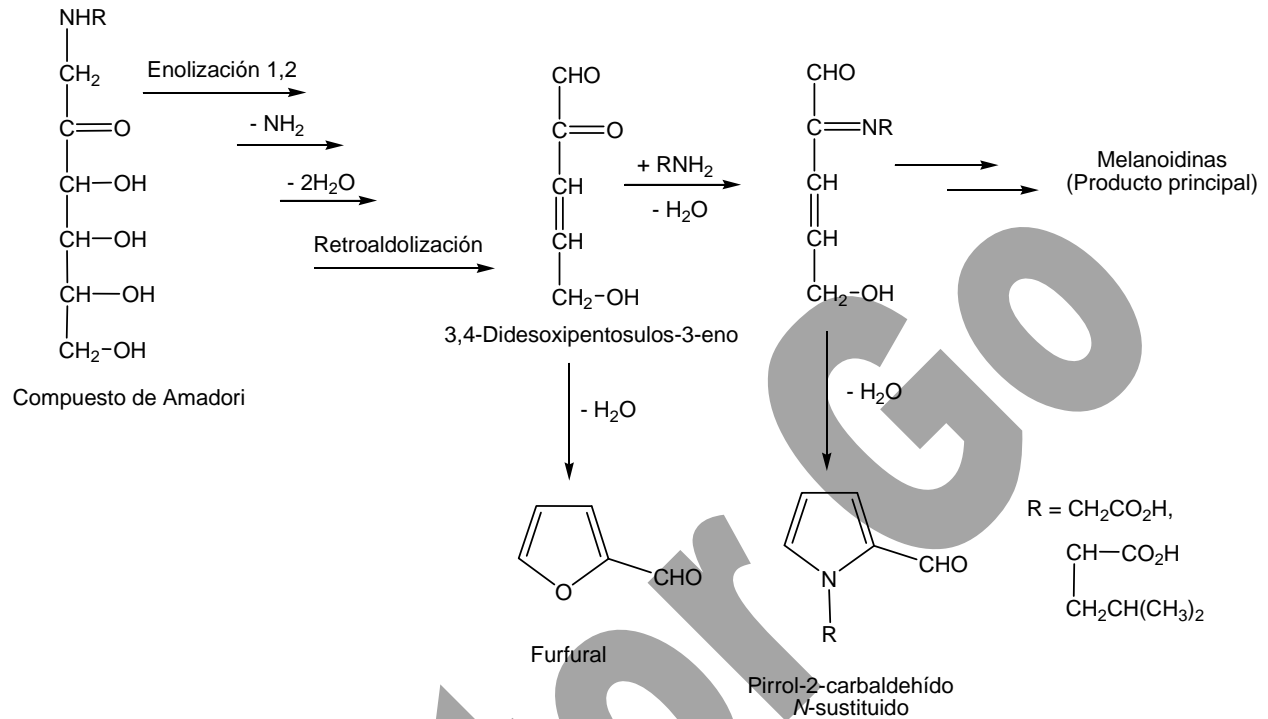
**Propuesta para la formación de la 2-metiltetrahydro-3-furanona a partir de la 1-desoxi-3,4-dicetosa.**



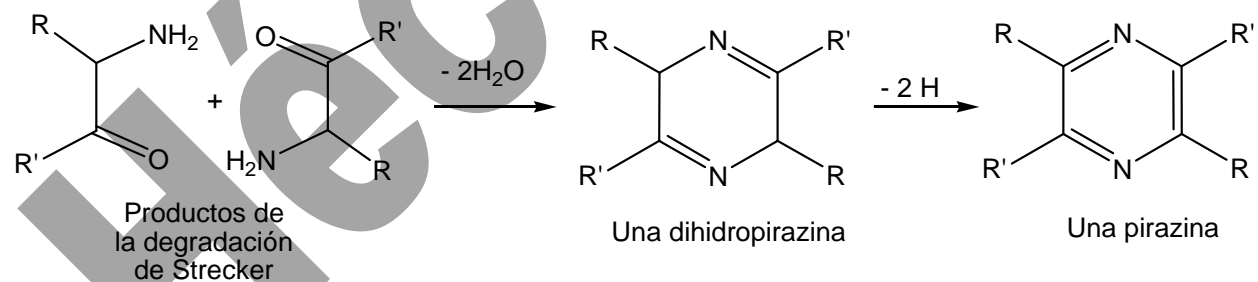
**Propuesta para la formación de la sotolona y de la abhexona a partir de 2-oxoácidos.**



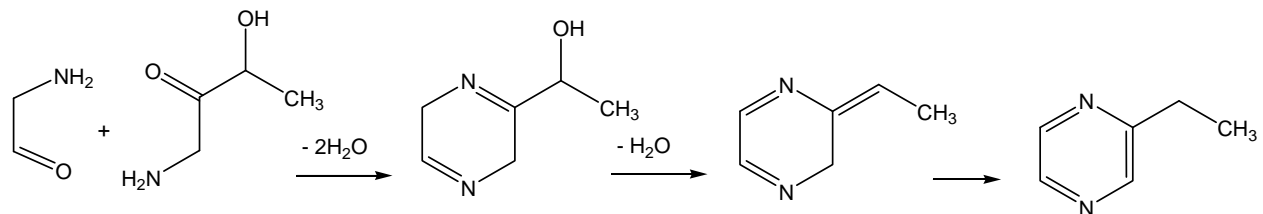
## Formación del furfural y del pirrol-2-carbaldehído *N*-sustituido.



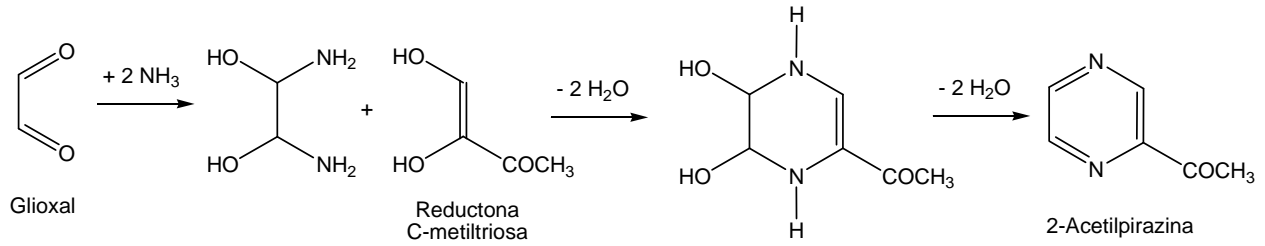
## Formación de pirazinas a partir de derivados 1,2-aminocarbonílicos obtenidos en la degradación de Strecker.



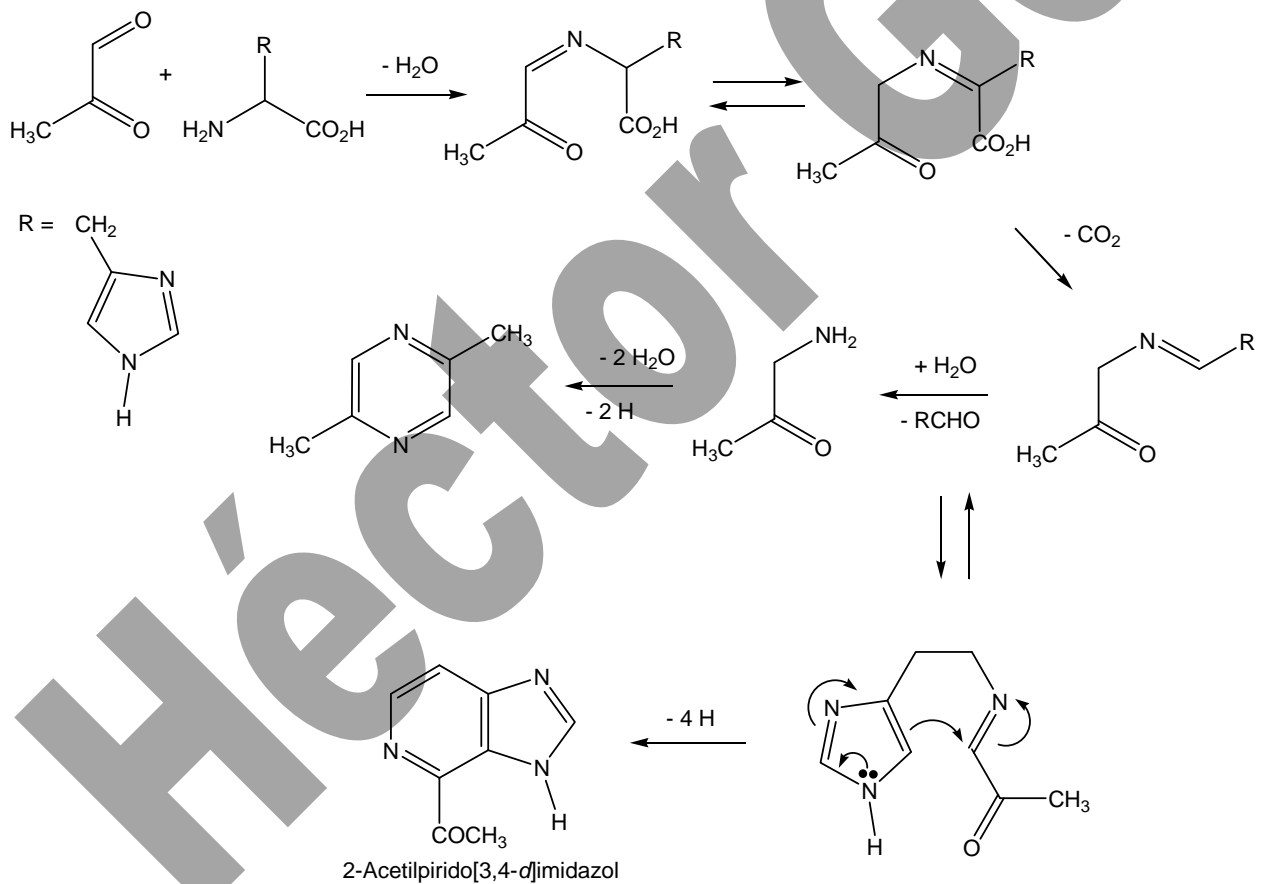
## Formación de pirazinas sin la necesidad de un paso de oxidación.



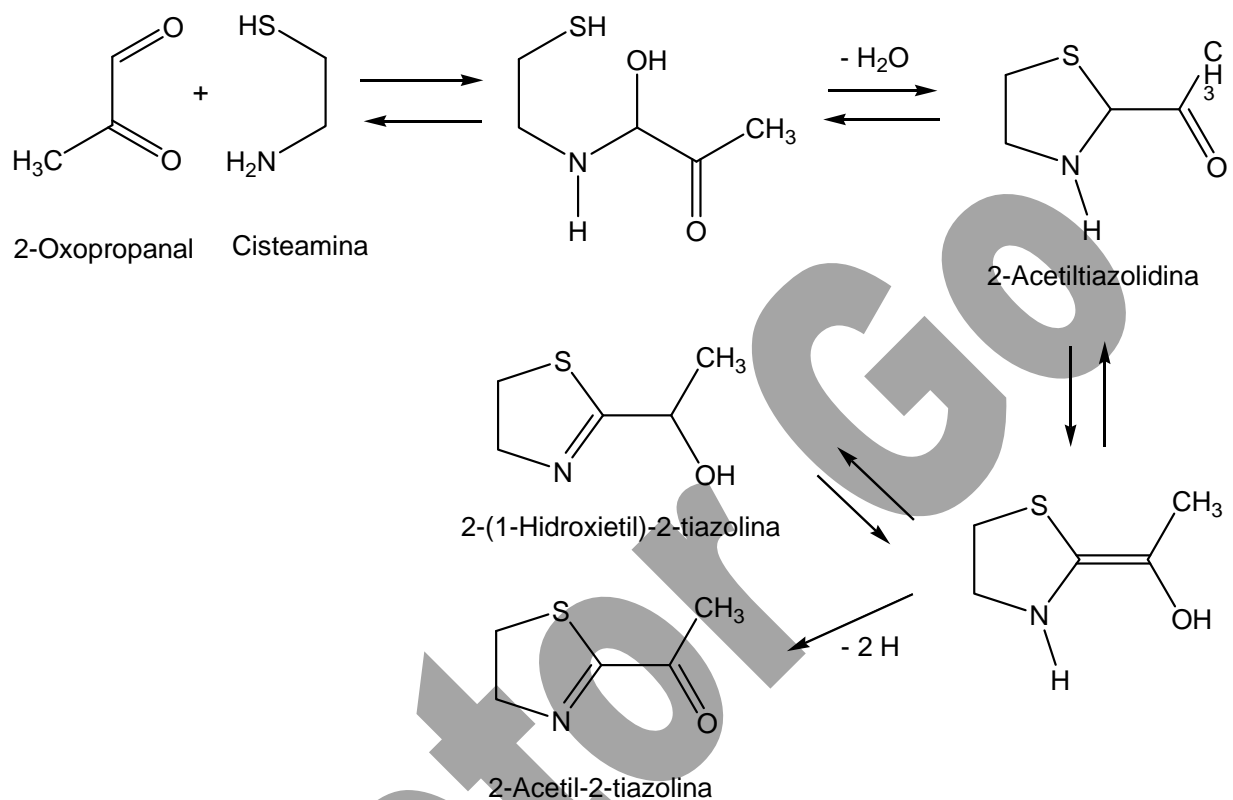
### Formación de la 2-acetilpirazina a partir del glioxal.



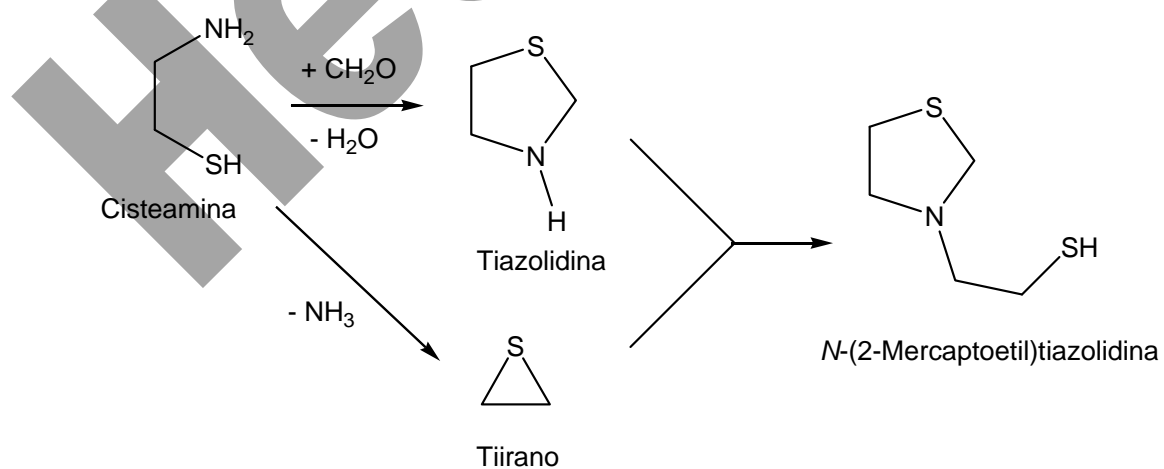
### Propuesta para la formación del 2-acetilpirido[3,4-d]imidazol vía la degradación de Strecker de la histidina con 2-oxopropanal.



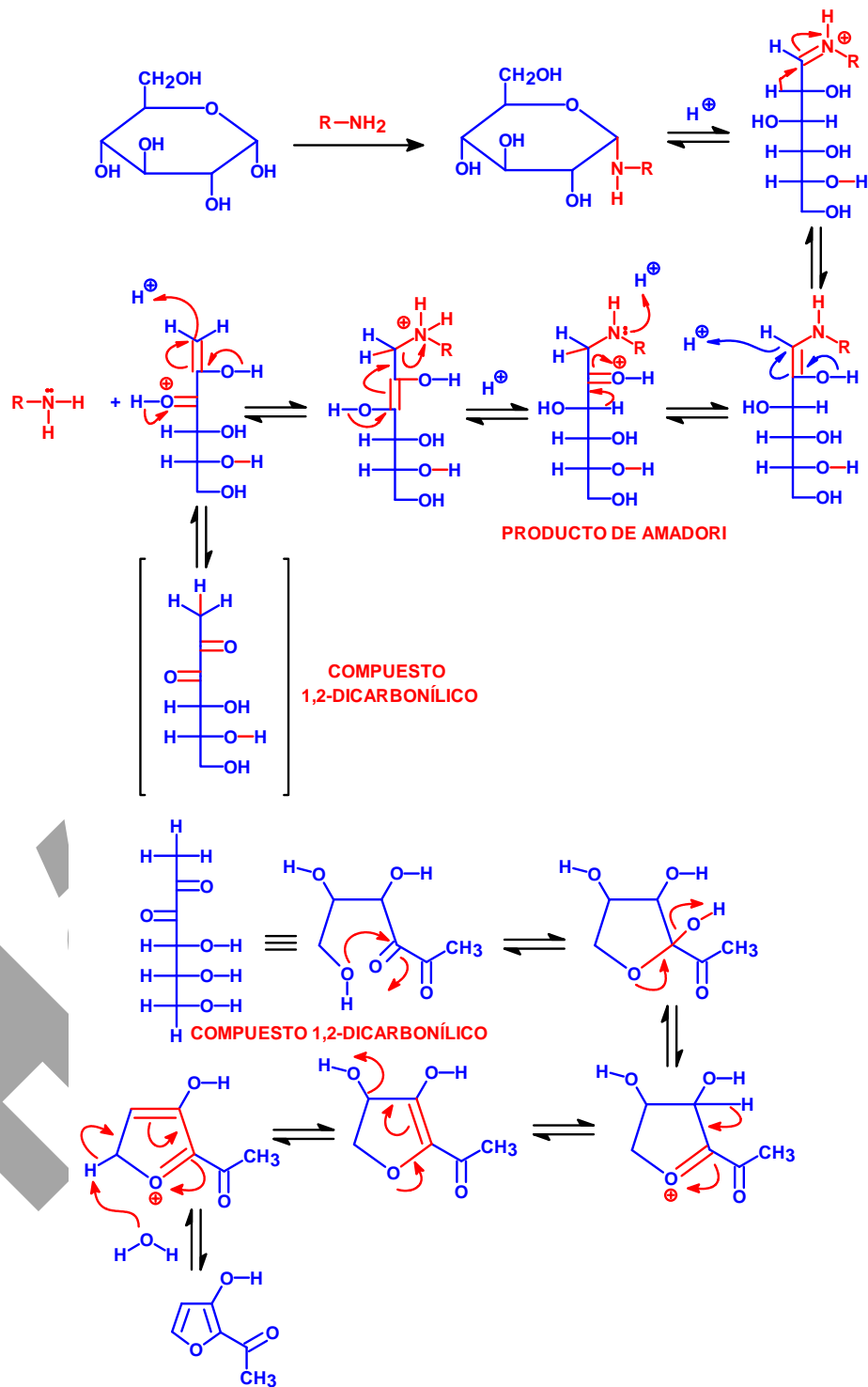
**Formación de la 2-acetiltiazolidina, la 2-(1-hidroxietyl)-2-tiazolina y la 2-acetil-2-tiazolina a partir de cisteamina y 2-oxopropanal.**



**Formación de la N-(2-mercaptoetil)tiazolidina a partir de cisteamina y formaldehído.**

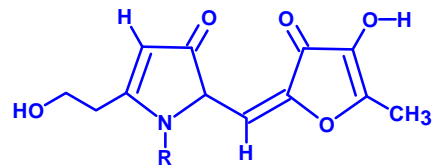


## Obtención del 2-acetil-3-hidroxifurano.



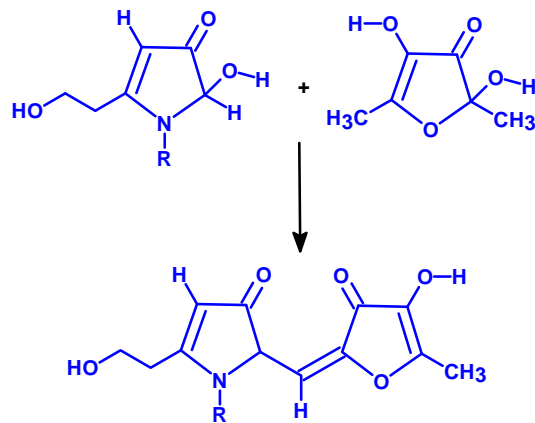


El compuesto colorido A se forma cuando se calientan alimentos, como durante la fabricación del pan o bien durante la formación de la malta.

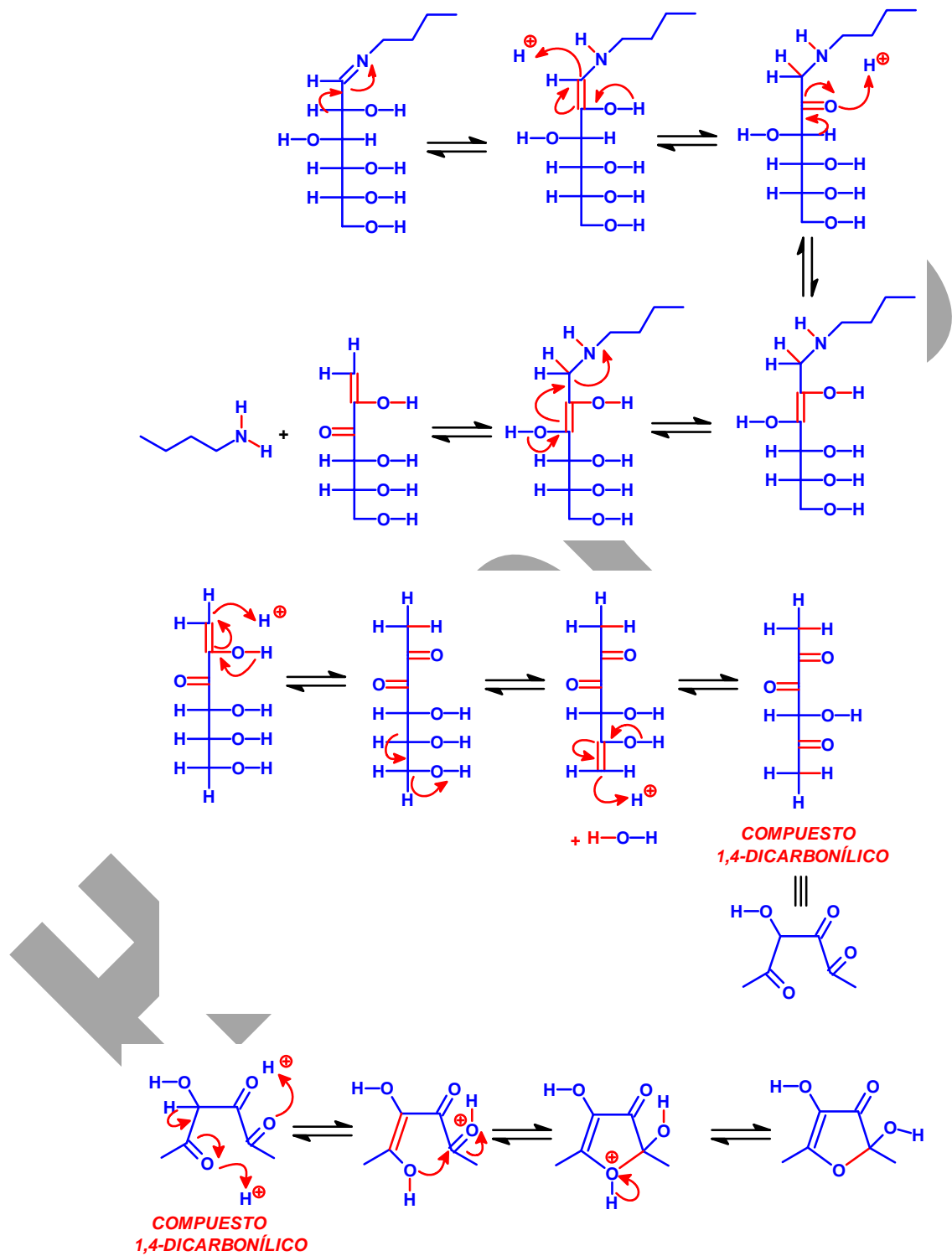


**COMPUESTO A**

Se forma a partir de la 1-alquil-2-hidroxi-5-(2-hidroxi-2-etil)-3-pirrolona y la 2,4-dihidroxi-2,5-dimetil-3-furanona.

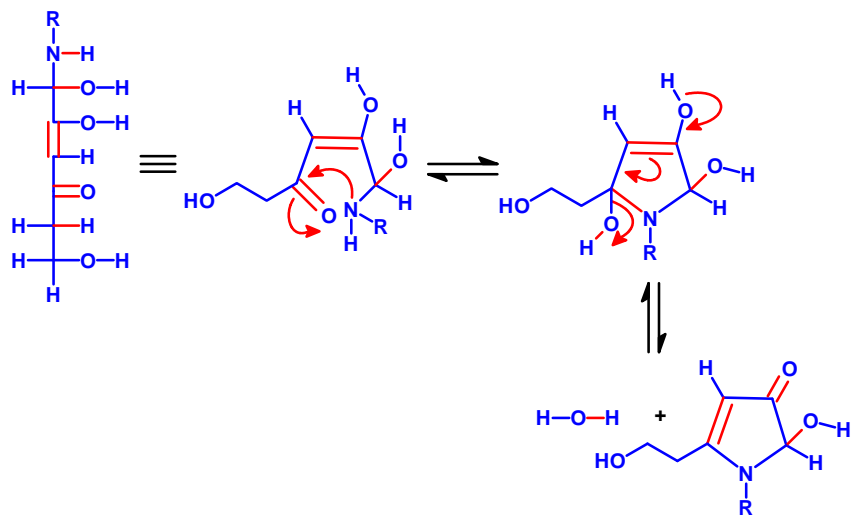
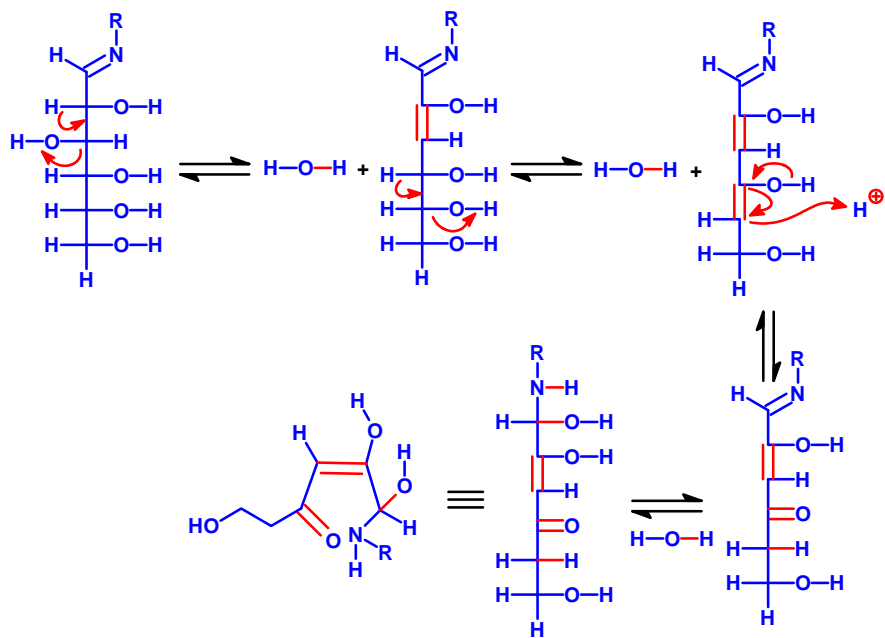


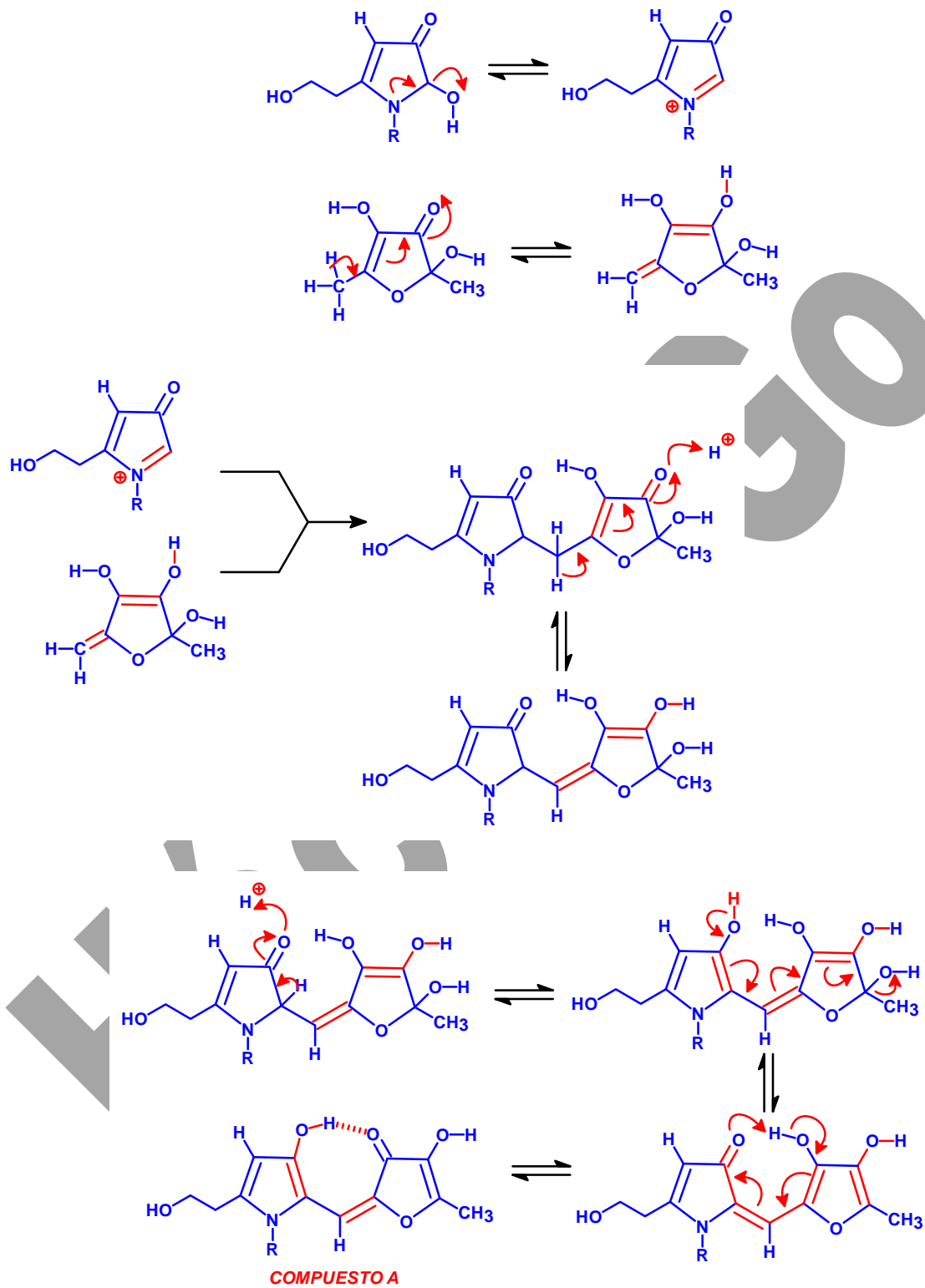
## Formación de la 2,4-dihidroxi-2,5-dimetil-3-furanona.



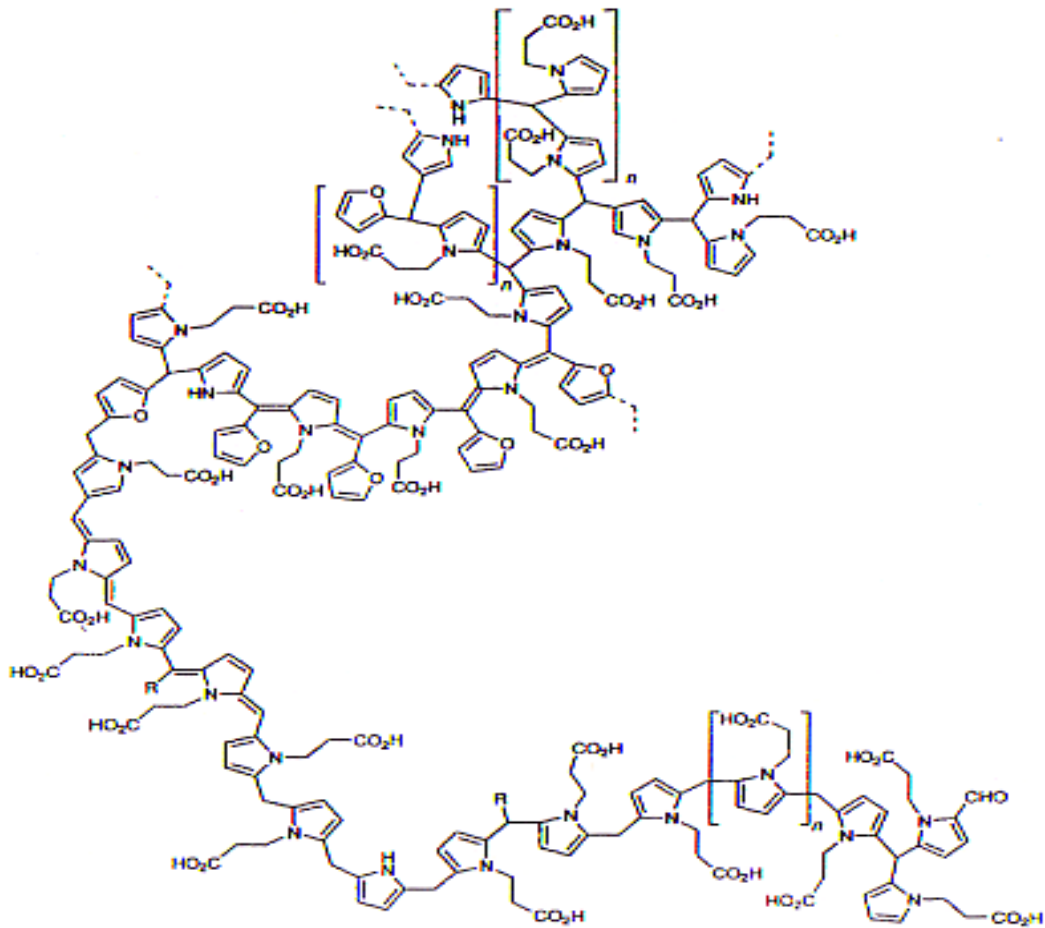


## Formación de la 1-alkil-2-hidroxi-5-(2-hidroxi-etil)-3-pirrolona.

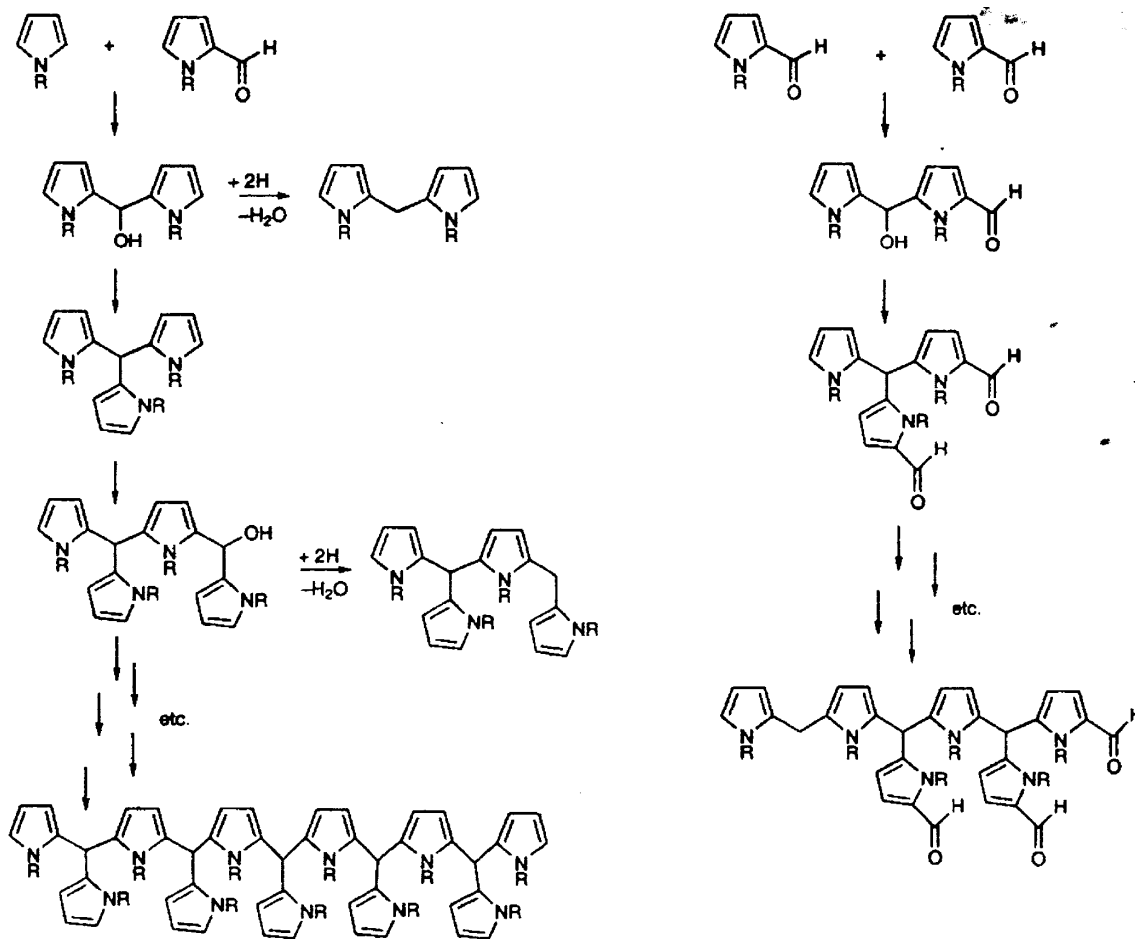




## Últimas etapas de la reacción de Maillard.



Fe



**Los procesos metabólicos normales del cuerpo, también producen moléculas de Maillard a través de rutas metabólicas que no usan alimentos.**

Se ha incrementado el interés por estudiar la reacción de Maillard *in vivo* (en organismos vivos como lo opuesto a *in vitro*, i. e., en “tubos de ensayo” o bien en otras situaciones fuera de un organismo vivo) y en forma particular en relación con la diabetes y el envejecimiento. Se piensa que el entrecruzamiento entre las proteínas que tienen un tiempo de vida media prolongado como el colágeno y los azúcares libres (en especial la fructosa, la cual tiene un alto potencial de entrecruzamiento) produce productos finales de Glicación Avanzada (AGEs, por sus siglas en inglés) (los productos de la reacción de Maillard en una etapa avanzada) los cuales contribuyen a la degeneración del tejido [Baynes y Monnier 1989]. Para el lector intrigado, la fructosa es un producto intermediario de una cadena de reacciones llamadas la “ruta del sorbitol”, la cual es una de las posibles vías metabólicas del metabolismo de la glucosa.

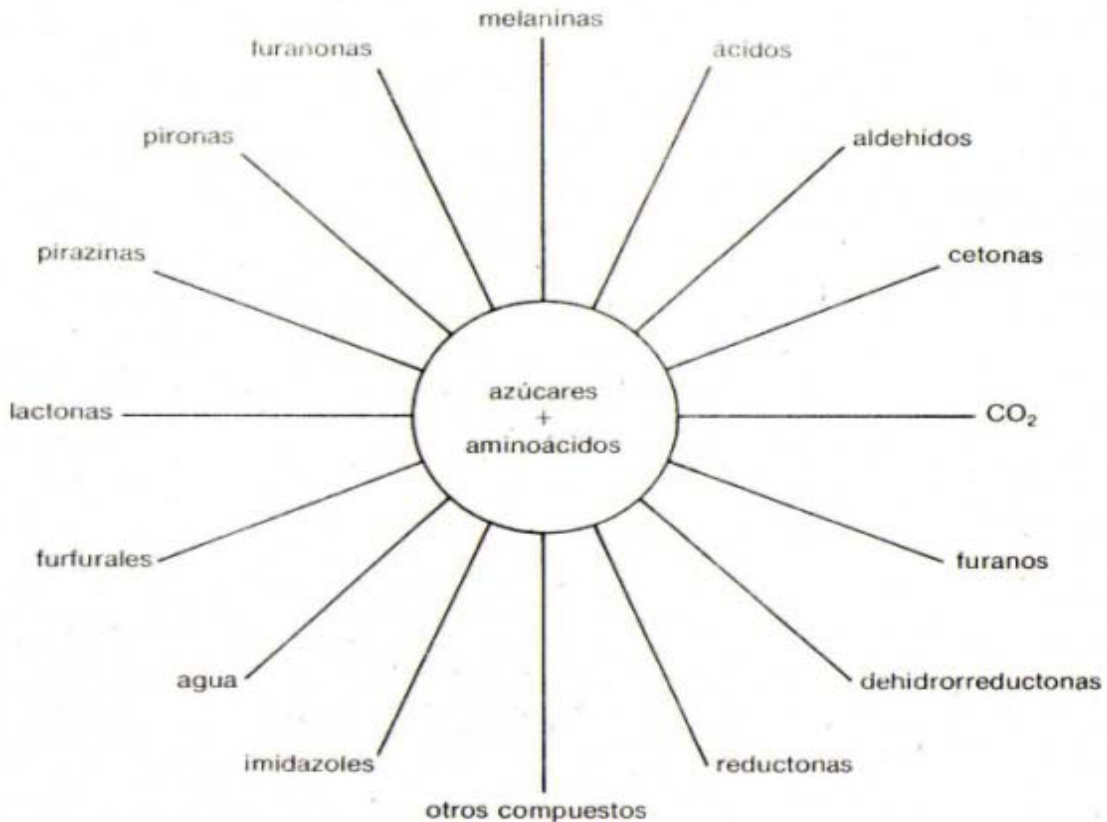
El oscurecimiento de la reacción de Maillard, crea sabor y cambios en el color del alimento. Hasta que ocurre la reacción de Maillard, la carne tiene relativamente poco sabor. Las reacciones de Maillard empiezan a ocurrir, en general, arriba de los 140 °C.

Si se coloca la carne en una cacerola, para hacer un estofado, y se utiliza una estufa con cocimiento lento, o bien si se asa en un horno de baja temperatura, en el cual la temperatura nunca llegue arriba del punto de ebullición del agua (100 °C ), así nunca se llevarán a cabo las reacciones de Maillard. La carne estará cocida, pero no tendrá sabor. Esta es la razón por la que en las recetas casi siempre primero dan instrucciones para oscurecer la carne por todos lados, para desarrollar el sabor de la carne.

Las reacciones de Maillard ocurren sólo en la superficie de la carne, ya que la humedad en la carne se mantiene en el interior, ya que aquí la temperatura no llega arriba de los 100 °C. Para obtener un mayor sabor en la carne, esta se debe de cortar en piezas pequeñas para exponer una mayor área de superficie al oscurecimiento.

Compound class	Associated flavour/aroma	Food examples	Remarks
Pyrazines	Cooked, roasted, toasted, baked cereals	Heated foods in general	
Alkylpyrazines	Nutty, roasted	Coffee	
Alkylpyridines	Green, bitter, astringent, burnt	Coffee, barley, malt	Generally regarded as unpleasant
Acylpyridines	Cracker-like	Cereal products	
Pyrroles	Cereal-like	Cereals, coffee	
Furans, furanones, pyranones	Sweet, burnt, pungent, caramel-like	Heated foods in general	
Oxazoles	Green, nutty, sweet	Cocoa, coffee, meat	
Thiophenes	Meaty	Heated meat	Typical for heated meat, formed from ribose and cysteine





## B) La caramelización.

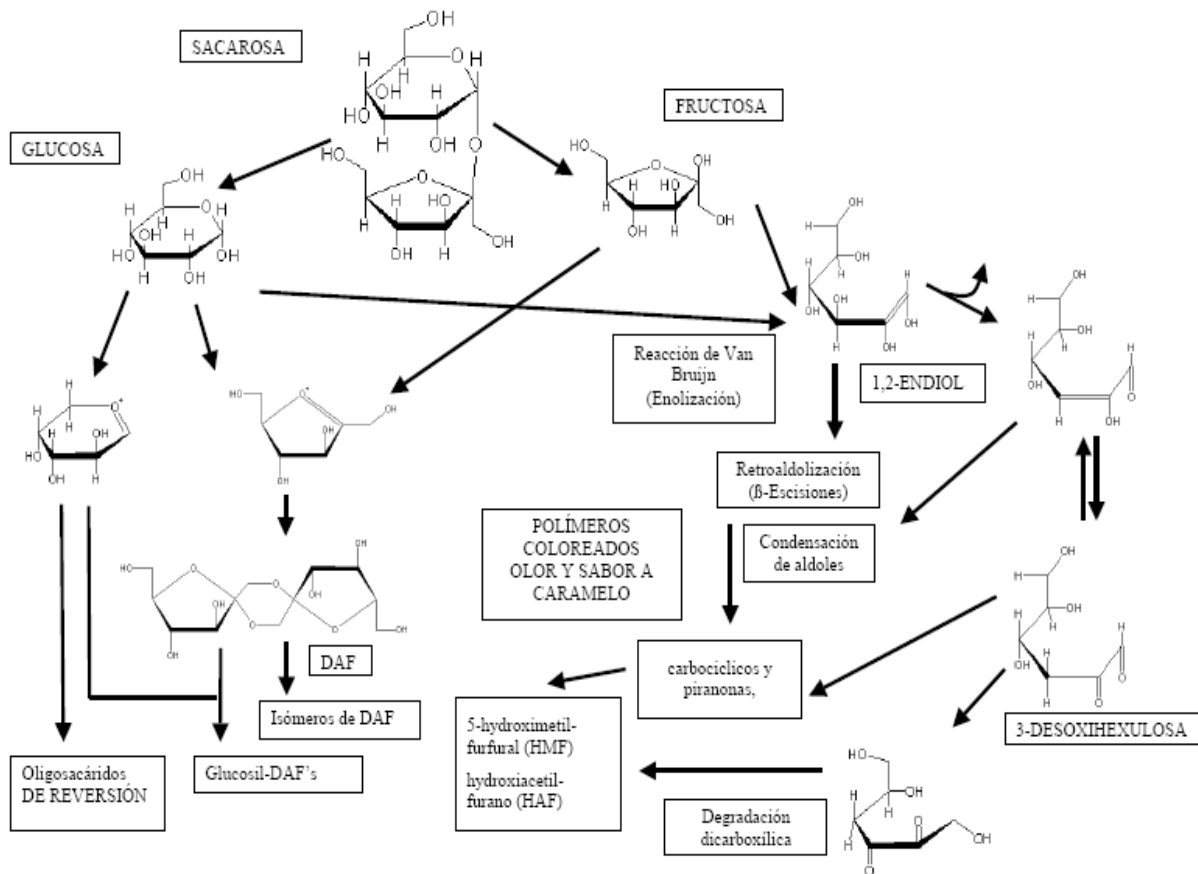
La caramelización es una reacción de oscurecimiento que experimentan los azúcares en ausencia de aminos. El término caramelo relaciona a los productos de color más o menos café intenso. No confundir con los azúcares aromáticos usados para dar sabor. El caramelo es el producto del calentamiento (>150 °C) de azúcares comestibles y tienen cuatro clasificaciones según su proceso de obtención. El caramelo es el único color permitido en el pan de malta, en el vinagre y en las bebidas alcohólicas tales como la cerveza, whisky y licores.

Algunos caramelos son parecidos a las melanoidinas, pero no hay detalles de su estructura. Los colores caramelo son ampliamente usados como agentes para dar color en los alimentos (en un 90% de los colorantes totales usados). Al igual que en la reacción de Maillard se forman compuestos responsables del olor y se libera agua y bióxido de carbono.

Además de los azúcares, también los polisacáridos, los ácidos polihidroxicarboxílicos, las reductonas, los compuestos  $\alpha$ -dicarbonílicos y las quinonas experimentan el oscurecimiento en ausencia de aminos.

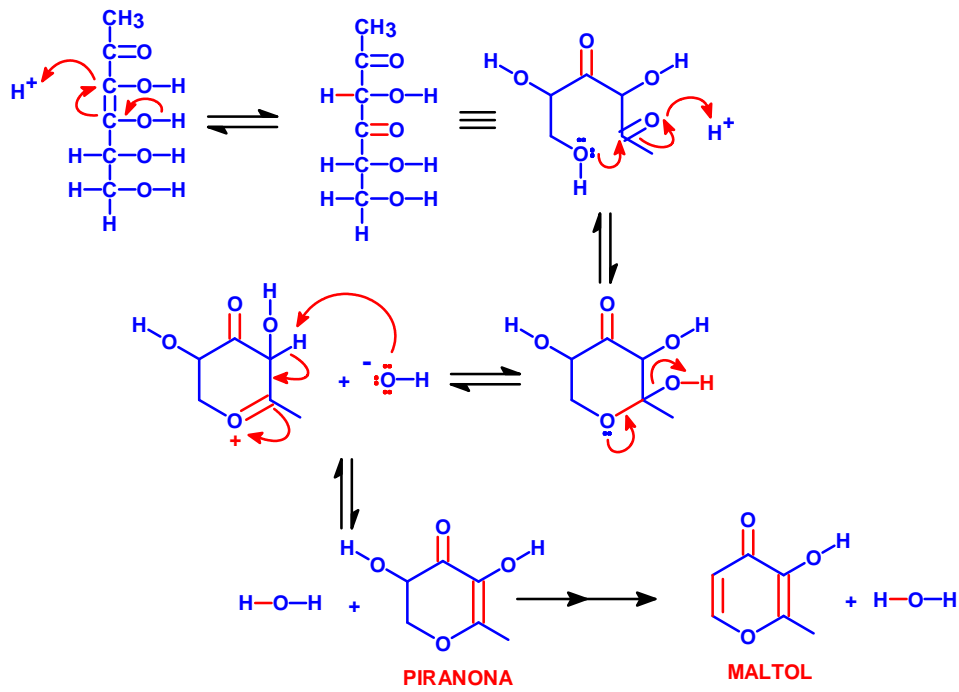
La formación del color se favorece a pH altos. Las reacciones principales son la enolización 1,2 (reordenamiento de Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein, reordenamiento de Amadori), la deshidratación de furfurales y la fisión.

Los compuestos volátiles producidos por la degradación de los azúcares contribuyen al sabor.

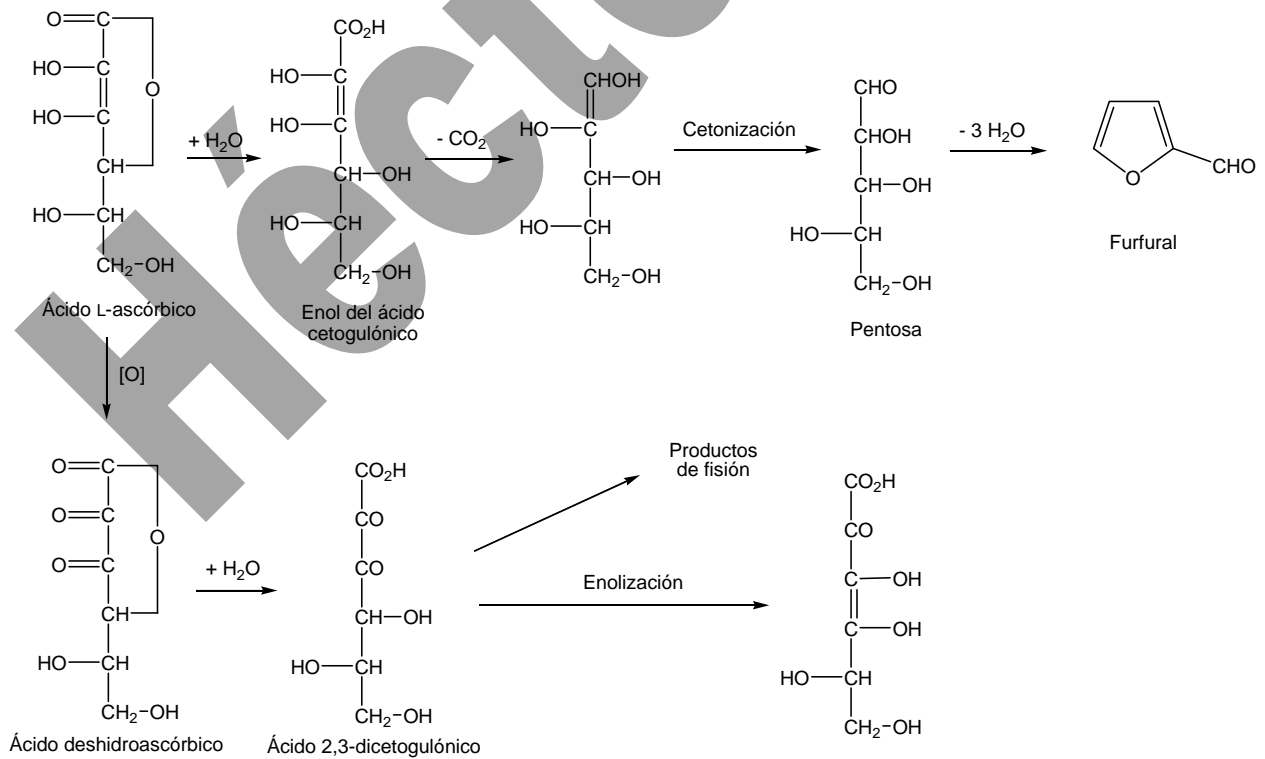


Como consecuencia de la desestabilización térmica de los azúcares aparecen dos grupos diferentes de compuestos:

- Compuestos de baja masa molar, formados por deshidratación y ciclación. Entre ellos se encuentran furanos y piranosas, muchos de ellos volátiles y responsables del olor y sabor típicos del caramelo.
- Polímeros de azúcares de tipo muy variado y complejo; en su mayoría son povidextras, oligosacáridos de glucosa. Productos más típicos de la caramelización son los dianhídridos de fructosa (DAF) o mixtos de fructosa y glucosa.



### C) La oxidación del ácido ascórbico.



El ácido ascórbico se vuelve café produciendo furfural y bióxido de carbono. El pardeamiento con ácido ascórbico se favorece arriba de un pH de 7. A pH ácidos el pardeamiento ocurre por la degradación del ácido ascórbico a compuestos carbonílicos altamente reactivos (3-desoxipentosa y 3,4-didesoxipentosa-3-eno) los cuales reaccionan con aminas para dar el color.

#### **D) El pardeamiento por fenolasa. Pardeamiento enzimático.**

El pardeamiento enzimático es poco común en un tejido intacto, ya que los sustratos fenólicos y las fenolasas se encuentran separados. El pardeamiento enzimático es muy común en cuando se corta la superficie de frutas y vegetales ligeramente coloridas. La superficie cortada puede cambiar con rapidez a un color café debido a la oxidación de fenoles a *orto*-quinonas, las cuales a su vez se polimerizan con rapidez para formar pigmentos oscuros o melaninas.

Las enzimas que catalizan la oxidación de los fenoles se pueden clasificar como fenolasas, las cuales son oligómeros en los alimentos y contienen un grupo prostético de cobre por subunidad.

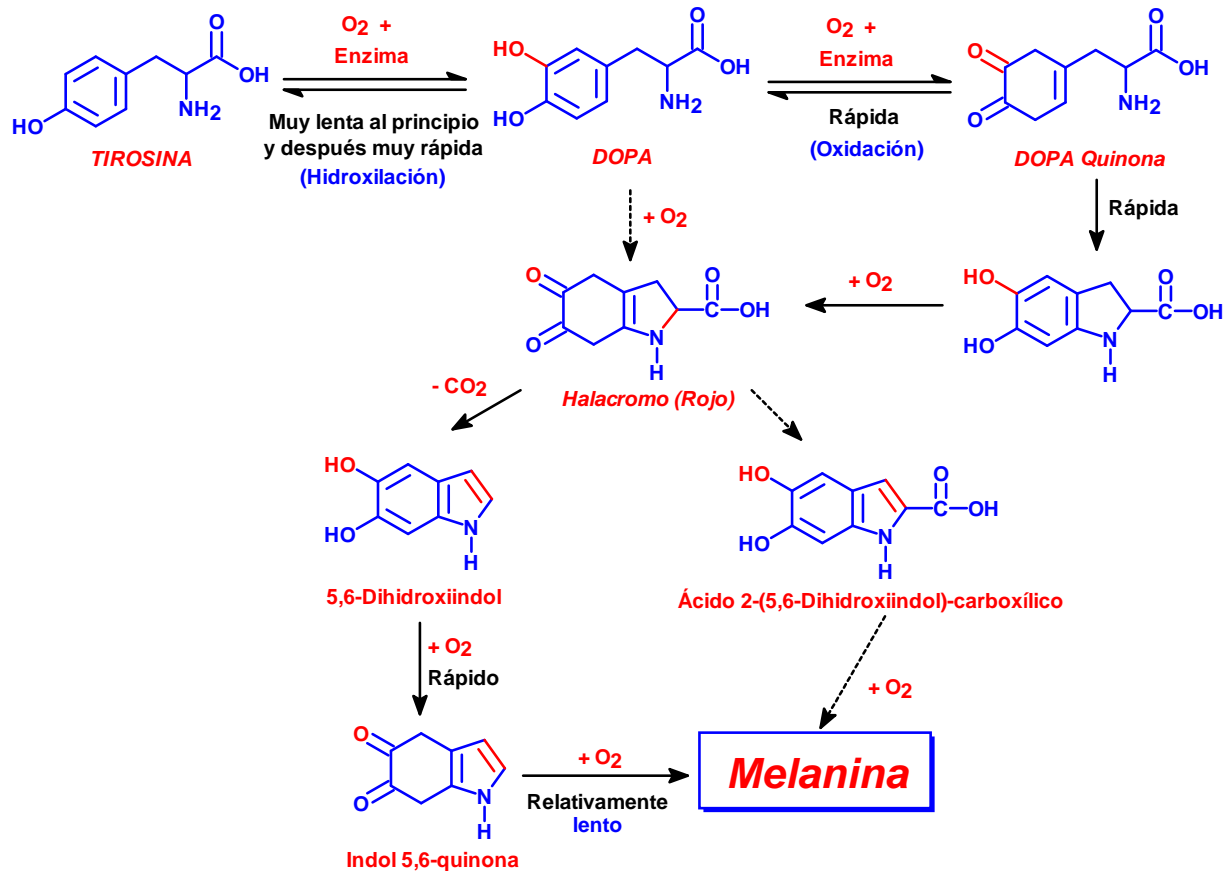
Estas enzimas pertenecen a las óxidorreductasas y se conocen con diferentes nombres:

- Fenoloxidasas.
- Tirosinasa.
- Catecolasa.
- Polifenoloxidasas.
- Polifenolasa.
- Fenolasa.

Están involucrados dos tipos de reacción en la reacción catalítica de la fenolasa:

- la hidroxilación.
- la oxidación.

La hidroxilación de los monofenoles es lenta y es el paso que determina la rapidez de la reacción. Tanto la tirosina como el ácido clorogénico son dos de los sustratos más frecuentes de la fenolasa debido a su rapidez de reacción relativamente alta. La fenolasa es activa a pH 5 a 7, y puede ser inactivada en forma irreversible a pH menor a 3.



## La reacción de Maillard.

La reacción de Maillard es excepcionalmente compleja. Ocurre en los alimentos, particularmente en procesos a temperaturas elevadas (asar, cocer, preparar) o durante el almacenado por periodos largos. Es importante en las reacciones que producen el sabor en el café y chocolate. También sucede en los tejidos. Tiene un papel importante en las sustancias aromáticas ácidas de color oscuro ("humic") que hay en suelos y mares. Los cambios que brinda a los alimentos tienen efectos tanto nutricionales como toxicológicos. Tiene implicaciones médicas importantes, ya que también ocurre en el cuerpo en donde hay contacto entre amino compuestos y azúcares reductores, particularmente en periodos prolongados (envejecimiento, cataratas, diabetes, diálisis, fibrosis pulmonar, alzheimer). ( H. Nursten, *The Maillard Reaction*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2005).