

Enantiomerisierung von Prolin in der Amadoriverbindung Fruktose-Prolin

C. Mayer, R. Pätzold, H. Brückner
Institut für Ernährungswissenschaft,
Interdisziplinäres Forschungszentrum
(IFZ), JLU Gießen

Amadoriverbindungen stellen die ersten isolierbaren Intermediärverbindungen der Maillard-Reaktion dar. Sie konnten in zahlreichen Lebensmitteln nachgewiesen werden [1]. Bei vorhergehenden Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass bei Erhitzung von Fruktose-Phenylalanin (Fru-Phe) schon nach kurzer Zeit eine Enantiomerisierung (Razemisierung) dieser Ami-

nosäure eintritt [2–4]. In weiterführenden Untersuchungen sollte überprüft werden, ob sich die Befunde auf die Amadoriverbindung Fruktose-Prolin (Fru-Pro), einer Verbindung mit einer sekundären Aminosäure, übertragen lassen. Hierzu wurden die Fructose-Aminosäuren Fru-L-Pro und Fru-D-Pro durch Reaktion von D-Glukose mit L-Pro bzw. D-Pro synthetisiert und mittels präparativer DC isoliert. Die gewonnenen Reinsubstanzen, sowie das im Laufe der Erhitzung gebildete bzw. wieder freigesetzte

Lebensmittelchemie 60, 137–184 (2006)

Tab. 1: Analysenergebnisse [mg/kg] ausgewählter Proben (n=Anzahl der unterschiedlichen Proben) nach Aufarbeitung mit Polyamid.

	n	Farbstoff	Gehalt [mg/kg]
Tortenguss*	3	E 122	885 - 996 (29,4 - 33,2)
Götterspeise Himbeer*	4	E 104	n.d. - 11,2 (1,9)
		E 122	37,2 - 88,5 (6,31 - 15,0)
Rote Grütze	3	E 122	14,8 - 23,9
Cocktailkirschen (rot)	3	E 124	27,2 - 39,9
		E 127	156 - 180
Cocktailkirschen (grün)	2	E 142	11,4 - 15,7
Dragierte Erdnüsse (Mix)	3	E 104	30,7 - 43,2
		E 110	n.d. - 0,41
		E 129	n.d. - 30,7
		E 133	15,1 - 26,0
Schokolinsen (Mix)	1	E 104	116
		E 110	9,05
		E 122	34,5
		E 129	36,0
		E 133	83,8
Schokobananen	3	E 104	5,21 - 7,03
Apfelringe	6	E 104	5,28 - 11,8
		E 131	1,71 - 2,73
Kaubonbons	3	E 104	21,8 - 28,8
		E 124	5,04 - 6,72
		E 132	0,11 - 0,28
Fruchtgummi-Mix	3	E 104	16,6 - 52,4
		E 124	11,3 - 25,1
		E 129	n.d. - 7,73
		E 131	0,61 - 1,07
Wine Gums (GB)	1	E 104	28,0
		E 142	3,3
Schaum-Erdbeeren	2	E 129	46,3 - 64,8
Speckmäuse	2	E 124	23,2 - 35,7
Erbsen (Import aus GB)	1	E 102	107,3
		E 142	8,3
Seelachs-Paste	1	E 110	142
		E 124	44,4
Fischrogen (E 124)	1	E 124	1548
Fischrogen (E 102,E 110,E 151)	4	E 102	n.d. - 198
		E 110	45,4 - 354
		E 151	370 - 807
Fischrogen (E 104,E 110,E 132,E 151)	13	E 104	10,2 - 218
		E 110	16,0 - 253
		E 132	n.d. - 13,1
		E 151	62,4 - 1583
Fischrogen (E 110,E 151)	3	E 110	73,2 - 368
		E 151	86,0 - 322
Fischrogen (E 102,E 129,E 133)	1	E 102	199
		E 129	531
		E 133	223

*: Werte in Klammern sind auf das verzehrfähige Produkt (zubereitet laut Verpackung) berechnet

Pro wurden auf das Enantiomerenverhältnis vor und nach der Erhitzung analysiert.

Methoden

Nach der Synthese entsprechend Yaylayan et al [5] wurden die Produkte mittels präparativer DC getrennt. Als Laufmittel diente eine Mischung aus n-Butanol/Aceton/Eisessig/H₂O (35/35/7/23 v/v/v/v). Als stationäre Phase wurde eine polare Cellulose-Platte mit UV-Indikator eingesetzt. Die trockene Erhitzung von 2 mg Standardmaterial erfolgte in Zeitintervallen von 5–60 min bei 200 °C. Anschließend wurde in Methanol/Wasser 50/50 aufgenommen, filtriert und schonend zur Trockne eingedampft. Bei Experiment A wurde anschließend eine Totalhydrolyse des Materials durchgeführt (Zugabe von 500 µL 6 M HCl, 17 h 100 °C). Bei Experiment B wurde das nach dem Erhitzen freigesetzte Prolin direkt bestimmt. Bei beiden Experimenten wurden die freien Aminosäureantimere durch Kationenaustausch an Dowex 50 WX8 isoliert und von gebildeten Nebenprodukten gereinigt. Anschließend erfolgte deren Derivatisierung durch Veresterung mit 1-Propanol in AcCl, gefolgt von einer Pentafluoracetylierung mit Pentafluorpropionsäureanhydrid. Die Trennung der Enantiomere erfolgte auf einer Chirasil®-L-Val-Trennsäule und die Detektion mittels Selected Ion Monitoring Massenspektrometrie (GC-SIM-MS) an einem Gerät der Serie 5000 Shimadzu, Japan.

Ergebnisse

Die durch präparative DC gewonnenen Substanzen wurden mittels HPLC-MS charakterisiert. Im positiven Ionisierungsmodus konnten charakteristische Fragmentationen bei m/z 278 [M + H], m/z 260 [M + H – H₂O] und m/z 242 [M + H – 2 H₂O] sowie m/z 300 [M + Na] detektiert werden.

Die trockene Erhitzung der Amadori-Verbindungen erfolgte in verschlossenen Glasgefäßen bei 200 °C. Bei Experiment A (Totalhydrolysate) konnten nach 50 Minuten die Bildung von jeweils ca. 8% D-Pro aus Fru-L-Pro bzw. von L-Pro aus Fru-D-Pro ermittelt werden.

Bei Experiment B (Ermittlung des freien Pro) wurden nach 40 min die Bildung von jeweils ca. 7% freies D-Pro aus Fru-L-Pro bzw. L-Pro aus Fru-D-Pro ermittelt. Die relativen Anteile wurden nach der Formel %D = 100D / (D+L) bzw. %L = 100L / (L+D), berechnet, wobei L und D für die jeweiligen Peakflächen der Enantiomere stehen. Es scheint übrigens, dass die reversible Freisetzung der Pro-Enantiomere und Rückbildung der Amadori-Verbindung einer kinetischen (sterischen) Diskriminierung unterliegen.

Lebensmittelchemie 60, 137–184 (2006)

Zusammenfassung

Es konnte gezeigt werden, dass, in Analogie zu der kürzlich in ähnlicher Weise untersuchten Amadori-Verbindung Fru-Phe auch aus der mit der sekundäre Aminosäure Pro gebildete Fru-Pro teilweise racemisiertes (enantiomerisiertes) Pro freigesetzt wird. Dies ist von besonderem Interesse, weil Pro die mengenmäßig am häufigsten vorkommende Aminosäure insbesondere in Fruchtsäften, Weinen und Honigen ist und Fru-Pro in zahlreichen pflanzlichen Nahrungsmitteln festgestellt wurde [1, 3].

Literatur

1. Eichner K, Ciner-Doruk M (1979) Z. Lebens. Unters. Forsch. 168: 360–367
2. Friebertshäuser N, Pätzold R, Brückner H (2004) Lebensmittelchemie 58: 127–128
3. Pätzold R, Brückner H (2005) J Agric Food Chem 53: 9722–9729
4. Pätzold R, Brückner H (2006) Europ. Food Res. Technol. in press, online DOI: 10.1007/s00217-005-0211-y
5. Yaylayan VA, Huyghues-Despointes A (1994) Critical Reviews in Food Science and Nutrition 34: 321–369