

Objetivos:

Conocer la reacción de Maillard y los factores que afectan a dicha reacción.

Temporización:

90 min



En el procesado de algunos alimentos, como los lácteos, los efectos de la reacción de Maillard son indeseables.

INTRODUCCIÓN

En 1912, Louise-Camille Maillard, médico de profesión, presentó a la academia francesa de medicina, una breve comunicación sobre unas sencillas observaciones realizadas en el laboratorio, cuando calentaba azúcares y aminoácidos disueltos en agua, observó que se desarrollaban unos compuestos de color amarillo pardo.

De ahí el nombre de este tipo de reacciones que también tienen lugar en muchos alimentos al cocinarlos a alta temperatura, por ejemplo, en la corteza del pan cuando se cuece en el horno, en el tostado de las semillas del chocolate, en el asado de la carne o al saltear verduras con soja. En todos ellos, se producen un conjunto de compuestos sápidos y aromáticos muy agradables, de color marrón, responsables del sabor y del aroma característicos de estos alimentos.

El mecanismo de la reacción de Maillard es muy complejo y no está definido de forma total, ya que se producen simultáneamente muchas reacciones. Cuando la reacción tiene lugar en los alimentos o en sistemas biológicos, la reacción es todavía más compleja, por el conjunto de diferentes compuestos que pueden interactuar que conducen a diferentes productos intermedios y finales.

La reacción de Maillard para su estudio, se ha dividido en varias etapas principales:

1-Condensación del azúcar con el grupo amino; el grupo carbonilo de la molécula de azúcar (glucosa, fructosa) reacciona con un aminoácido o un grupo amino libre de la proteína (residuos de lisina, tripófano, histidina y arginina). La base de Schiff resultante es lábil y puede sufrir dos reestructuraciones consecutivas, dando una aminocetosa más estable: denominado el producto de Amadori.

2- Transposición de los productos de la condensación y reacción de productos de transposición. A partir de los productos de Amadori, la situación es más compleja: se forman varios compuestos y cada uno de ellos, por sí mismo, es un reactivo que participará en multitud de reacciones, produciendo cientos de subproductos

Con el fin de minimizar esta reacción en el procesado industrial se controlan los siguientes factores:

-pH

-Temperatura

-Actividad del agua

-Ingredientes y aditivos

-y condiciones del almacenaje.

diferentes. Se forman por tanto una gran cantidad de compuestos de bajo peso molecular; muchos de ellos todavía no se han caracterizado.

3-Polimerización y formación de melanoidinas.

En la última fase se polimerizan las moléculas formadas en el apartado anterior. Esto da lugar a compuestos de elevado peso molecular, muy heterogéneos y difíciles de caracterizar, llamadas melanoidinas.

4- **La cuarta y última fase es la degradación de Strecker.** En esta fase se forman los denominados aldehídos de Strecker, que son compuestos con bajo peso molecular que se detectan fácilmente por el olfato.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

En esta ficha compararemos la velocidad de reacción entre el aminoácido glicina y diferentes azúcares: glucosa, fructosa y sacarosa, así también como la influencia del pH y la temperatura en la reacción.

Para visualizar el desarrollo de las diferentes reacciones, compararemos el color alcanzado en las disoluciones, y si se dispone de espectrofotómetro mediremos la absorbancia de las distintas disoluciones a una longitud de onda de 400 nm.

En primer lugar, se preparan las disoluciones tampón de fosfato a pH 5 y 8:

Preparar dos disoluciones de concentración 1/15M de KH_2PO_4 y Na_2HPO_4 y realizar las siguientes mezclas con las proporciones indicadas.

	Tampón pH = 5	Tampón pH = 8
KH_2PO_4 (1/15 M)	98,7 mL	7,4 mL
Na_2HPO_4 (1/15 M)	1,3 mL	92,6 mL

Hay que tener en cuenta que siempre se deberá comprobar el pH con el pH-metro y ajustar si es necesario con ácido o base diluida.

Material y reactivos

- Disoluciones tampón a pH=8 y pH=5
- Glicina, glucosa, fructosa y sacarosa.
- Sulfito sódico
- Tubos de ensayo
- Matraz aforado de 10 mL y 25 mL,
- Pipetas.
- Opcional: Espectrofotómetro

En segundo lugar, se preparan en matraces aforados de 25 mL, las diferentes disoluciones disolviendo en ellas el soluto correspondiente (fructosa, glucosa, glicina).

- 25 mL de una disolución 0,5 M de fructosa en tampón pH=8
- 25 mL de una disolución 0,5 M de glucosa en tampón pH=8
- 25 mL de una disolución 0,5 M de sacarosa en tampón pH=8
- 25 mL de una disolución 0,5 M de glicina en tampón pH=8
- 10 mL de una disolución 0,5 M de fructosa en tampón pH=5
- 10 mL de una disolución 0,5 M de glucosa en tampón pH=5
- 10 mL de una disolución 0,5 M de glicina en tampón pH=5



Por último, en 12 tubos de ensayo se pipetea las siguientes disoluciones, siguiendo las cantidades que se indican en el cuadro adjunto:

Disoluciones a pH=8

	Sacarosa pH= 8	Fructosa pH= 8	Glucosa pH= 8	Glucosa pH= 8
Glicina pH= 8	3 mL + 3 mL	3 mL + 3 mL	3 mL + 3 mL (Preparar dos disoluciones)	3 mL + 3 mL + 2g de Sulfito sódico
Tampón pH= 8	3 mL + 3 mL	3 mL + 3 mL	3 mL + 3 mL	

Disoluciones a pH= 5

	Fructosa pH= 5	Glucosa pH= 5
Glicina pH=5	3 mL + 3 mL	3 mL + 3 mL
tampón pH=5	3 mL + 3 mL	3 mL + 3 mL

Todos los tubos se colocan en el interior del baño de agua caliente, menos uno de los tubos de glucosa y glicina que se habían preparado por duplicado, que se dejará a temperatura ambiente.

Observar cada 10 min la coloración de las disoluciones.

Una vez transcurridos 30 min, se dejan enfriar.

Comprobar el olor y el color de los diferentes tubos.

Si se dispone de espectrofotómetro medir la absorbancia a 400 nm, utilizando como blanco la disolución tampón.



Una mayor absorbancia o color, indica que las reacciones se han producido en mayor proporción. Las reacciones que han tenido lugar son la reacción de Maillard y la reacción de caramelización.



CUESTIONES

- Indicar los resultados obtenidos e identifica las reacciones que han tenido lugar en los tubos coloreados.
- Completa el siguiente cuadro con las diferentes características de la reacción de Maillard y la caramelización

	Caramelización	Reacción de Maillard
Reactivos		
Tª a la que tiene lugar la reacción		
Olor y sabor		

- c) Valorar la influencia del pH, la temperatura y los efectos de los sulfitos en la reacción en la reacción de Maillard.
- d) En la preparación del pato laqueado, ¿cómo se produce la reacción de Maillard?
Visualizar el video Pato laqueado, plato estrella Año Nuevo Chino (YouTube))
- e) Si al fabricar un producto se pretende minimizar la reacción de Maillard. ¿Qué ingredientes, técnicas de procesamiento y condiciones de almacenamiento se usarían?

RESULTADOS

Respuesta a)

Observaciones:

Al preparar las disoluciones inicialmente ninguna de ellas presenta color.

Se introducen en el baño María, se observa lo siguiente;

- El primer tubo que presenta color pardo es el de la fructosa con glicina a pH= 8, seguido de la glucosa con glicina a pH= 8, con un color menos intenso.
- Al finalizar los 30 min de reacción establecidos en el procedimiento experimental, se observa que ninguna de las disoluciones a pH= 5 presenta color.
- Las disoluciones de glucosa y fructosa a pH= 8 presentan color amarillo
- Medida de las absorbancias con el espectrofotómetro a pH= 8

Muestras	Absorbancia (400 nm)
Glicina y fructosa (dilución 1/125)	0,185
Glicina y fructosa (dilución 1/25)	0,148

- Al finalizar la reacción, los olores que se perciben son:
Fructosa y glicina pH= 8: olor a carne
Glucosa y glicina pH= 8: olor a caramelo
Glucosa pH= 8: caramelo

Fructosa pH =8: caramelo



De izquierda a derecha en la gradilla disoluciones a pH= 8:

1- sacarosa y glicina, 2- fructosa y glicina, 4- glucosa y glicina, 5- glucosa, 6-glucosa, glicina y sulfito

Conclusiones:

- 1- La reacción de Maillard, ha ocurrido con los azúcares fructosa y glucosa al reaccionar con el aminoácido glicina, en cambio con la sacarosa (no reductora), no ha tenido lugar la reacción
- 2- En los tubos donde solo había azúcares a pH=8 ha tenido lugar la caramelización.

fructosa y glicina a pH =8	Reacción Maillard
glucosa y glicina a pH =8	Reacción de Maillard
glucosa a pH =8	Caramelización
fructosa a pH =8	Caramelización

La caramelización es una reacción entre los azúcares. Los productos que se obtienen varían desde un color amarillo hasta el color pardo, con el aroma característico a caramelo.

En la cocina para obtener caramelo se calienta el azúcar por encima del punto de fusión, para fundirlo y a partir de ese momento podemos observar como el color y la textura van cambiando progresivamente, debido a las reacciones de deshidratación, fragmentación e isomerización, que tiene lugar entre las moléculas de azúcar. Como resultado de obtienen una gran cantidad de productos, desde moléculas aromáticas volátiles de pequeño tamaño hasta polímeros sin mucho sabor, de color pardo.

Respuesta b)

	Caramelización	Reacción de Maillard
Reactivos	Azúcares	Azúcares con aminoácidos
Tª a la que tiene lugar la reacción	Altas temperaturas	Cualquier temperatura
Olor y sabor	Dulce, agrio, amargo, nuez, caramelo...	Umami, cebolla, carne, tierra... y los de la caramelización.

Respuesta C)

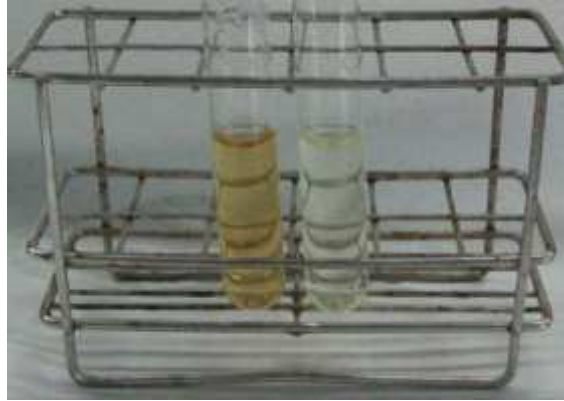
1- El pH básico ha favorecido esta reacción entre la glicina y los monosacáridos; fructosa y la glucosa. A pH ácidos el grupo amino está protonado y no favorece el ataque nucleófilo, que tiene lugar al inicio de la reacción, en la condensación.

2- La disolución a temperatura ambiente no ha reaccionado. La reacción de Maillard en los alimentos suele apreciarse cuando se alcanzan altas temperaturas.

3- Si se comparan las dos disoluciones de glicina y glucosa, con y sin sulfito, observamos que la del tubo con sulfito sódico (a la derecha de la foto), no se aprecia color.

Si se miden las absorbancias con el espectrofotómetro se obtiene una absorbancia de 1,185 en la disolución de glicina y glucosa y de 0,213 en la disolución de glucosa, glicina y sulfito, lo que indica que los productos formados en presencia de sulfitos son muy poco apreciables.

Los sulfitos inhiben la reacción de Maillard, debido a que reaccionan con el grupo carbonilo dificultando la formación de la base de Schiff.



Tubo izq; disolución glucosa y glicina / Tubo dcha: disolución glucosa, glicina y sulfito

Respuesta e)

En la preparación del pato laqueado, se unta el pato con miel y se introduce en el horno. Los azúcares de la miel, fructosa y glucosa mayoritariamente, aumentan el desarrollo de la reacción de Maillard y la presencia de azúcares hace que también se produzca la caramelización.

Respuesta f)

Para minimizar la reacción de Maillard, se debe tener en cuenta que:

- Los azúcares preferiblemente deben ser azúcares no reductores como la sacarosa y evitar la glucosa y fructosa.
- El pH se debe disminuir si es posible y no altera las características del producto.
- Si es posible, añadir sulfitos como conservantes (E-220 a E-228)
- La temperatura, tanto en el procesado y la conservación, sea lo más baja posible.

