

Characterization of melanoidins formed from glucose and some α - carbonyl compounds with alanine by NMR spectroscopy

Ghassan Faisal Mohsin

General Directorate Vocational Education || Ministry of Education || Iraq

Abstract: In this study, NMR spectroscopy can be used to investigate and quantify selected chemical bonds in different melanoidins formed from glucose and some Maillard intermediates as HMF, MGO and GO with alanine. Chemical shifts between 100 ppm and 160 ppm are characteristic for sp^2 hybridized carbons as found in conjugated double bond systems (C=C). The sp^2 hybridized carbons cannot be found in melanoidin formed from Glc/Ala in the region between 110 ppm and 160 ppm and showing a higher content of sp^2 hybridized carbon than in HMF/Ala, GO/Ala and MGO/Ala. Melanoidins formed from HMF/Ala, GO/Ala and MGO/Ala have been shown to be HMW compounds and LMW in melanoidin from Glc/Ala using UV/Vis, FTIR and NMR spectroscopy.

Keywords: melanoidin, NMR spectra, 5- hydroxymethylfurfural, glyoxal, methylglyoxal

تشخيص مركب الميلانويدين المتشكل من الكلوكوز وبعض مركبات الالفا كاربونيل مع الألنين بواسطة مطيافية الرنين المغناطيسي NMR

غسان فيصل محسن

المديرية العامة للتعليم المهني || وزارة التربية || العراق

المخلص: الهدف من الدراسة تضمن العمل في هذا البحث عن إمكانية تشخيص مركب الميلانويدين الناتج من تسخين الكلوكوز وبعض المركبات الوسطية مع الألنين بواسطة الرنين المغناطيسي NMR. الميلانويدين المتشكل من الكلوكوز- ألنين بالمحلول المائي يبين عدم وجود المجال المهجن SP^2 hybridized في المنطقة 100- 160 ppm وهي المنطقة التي تظهر فيها قمة أو قمم للافرة المزدوجة غير المشبعة C=C والتي هي احد المركبات الحاملة للون chromophores، بينما يتواجد المجال المهجن SP^2 hybridized في الميلانويدينات المتشكلة من المركبات الوسطية مع الألنين بسبب اللون الكثيف لهذه المركبات بعد التسخين. يكون البوليمير الناتج من الكلوكوز – ألنين ذو وزن جزيئي منخفض الفقير بمركبات chromophores، بينما يكون ذو وزن جزيئي عالي في HMF وMGO وGO مع الألنين وغني بحاملات اللون chromophores، بالاستناد إلى التشخيص بالتقنيات المطيافية المتعدده.

الكلمات المفتاحية: الميلانويدين، الرنين المغناطيسي، الكلايوكسال، الميثيل كلايوكسال، هيدروكسي ميثيل فورفورال.

المقدمة:

يعتبر تفاعل ميلارد من التفاعلات غير الانزيمية التي تتشكل من تفاعل مجموعة الكاربونيل في السكريات المختزلة مع الأحماض الأمينية لتشكل سلسلة من التفاعلات المعقدة والتي لها الدور الاساسي في تكوين اللون والنكهة والطعم والرائحة في الكثير من الاغذية كالمعجنات والقهوة واللحوم وغيرها [1- 3]. وتعتبر الميلانويدينات مركبات بوليميرية ملونه ذات وزن جزيئي عالي تنشأ من تفاعل السكر مع الحامض الأميني في درجات حرارية عالية [4]. الكثير من الدراسات لم تكشف لحد الان عن التركيب الكيميائي للميلانويدين [5] على الرغم من المحاولات الحثيثة

واستخدام طرق جديدة في التشخيص إلا أن الميلانويدينات ما تزال مركبات غير معروفة. ونرجع أهمية الميلانويدينات إلى وجودها على نطاق واسع في الأطعمة وإلى الأثار التي يمكن أن يكون لهذه المركبات على نوعية الغذاء [6]. اعتماداً على مدى التفاعل الناجم عن الحرارة، الميلانويدينات يمكن أن يضعف أو يحسن من الجودة الشاملة للمنتجات الغذائية [7-8] إذ يكون اللون والطعم أحياناً مهم في الغذاء كوجوده في المعجنات والقهوة، وبعض الأحيان يكون وجود اللون والطعم غير مرغوب فيها في منتجات الحليب. لتشخيص الميلانويدينات استخدمت ثلاث طرق رئيسية في عزلة للحصول على مركب نقي ذو وزن جزيئي عالي منها: أنابيب الديليز المصنوعه من السيليوز ذو المواصفات (cut-off of 12,000 – 14,000 Da and a pore size of 1.5 – 3.0 nm) [9] وطريقة الترشيح الكروماتوغرافي [10] وطريقة الترشيح الفائق [11]. ويمكن تقسيم الميلانويدينات إلى قسمين: مركبات عالية الوزن الجزيئي (HMW) ومركبات واطئة الوزن الجزيئي (LMW)، إلا أن في الأغذية الحقيقية كالقهوة، قد ثبت أن معظم الميلانويدينات تكون مركبات عالية الوزن الجزيئي [12] أي حوالي 59% [13]. بعض الباحثين حضروا الميلانويدينات مختبرياً من الكلوكوز- ألنين واستنتجوا بأن هذا المركب يكون واطئ الوزن الجزيئي في درجات الحرارة 130-150°C وعالي الوزن الجزيئي في درجة الحرارة 160°C فما فوق [14]. الميلانويدينات من المرجح أن تلعب دوراً هاماً في ربط المعادن الهامة من الناحية التغذوية [15]. من المحتمل أن يكون للميلانويدينات المعزول من بعض الأغذية كالقهوة نشاطاً مضاداً للمواد الخافضة للضغط antihypertensive [16] من خلال اختبار الميلانويدينات النقي على خلايا المختبر.

الكثير من الباحثين استخدموا مطيافية الرنين المغناطيسي التي تستخدم الخواص المغناطيسية لبعض النويات الذرية لتشخيص وتحقيق الميلانويدينات [14] سواء الميلانويدينات المعزول من الغذاء أو المحضر كنموذج في المختبر. حيث اعتبر بعض الباحثين أن مطيافية الرنين المغناطيسي تكون أدق تقنية لتشخيص مركبات الميلانويدينات والبعض الآخر يعتبرها طريقة سائدة لتقنيات أخرى كمطيافية الأشعة فوق البنفسجية [14-17] ومطيافية الرامان. توجد الكثير من النظائر المستخدمة لتشخيص المركبات العضوية إلا أن ^{13}C و ^1H و ^{15}N من أكثر نظائر الرامان استخداماً في تشخيص الميلانويدينات [18-19]. الهدف من الدراسة إمكانية تشخيص بعض مركبات الميلانويدينات غير معروفة التركيب الكيميائي باستخدام مطيافية الرنين المغناطيسي NMR تكملة لما تم استنتاجه في دراسات سابقة حول نفس المركب باستخدام تقنيات مختلفة كالأشعة تحت الحمراء FTIR.

مشكلة البحث:

- صعوبة تشخيص مركب الميلانويدينات كيميائياً باستخدام مطيافية واحدة للتشخيص لذلك جاء هذا البحث مكملًا لنتائجنا المنشورة في مجلة كيمياء الأغذية:

Mohsin et al (2019): PCA- based identification and differentiation of FTIR data from model melanoidins with specific molecular compositions. Food chemistry, 281, 106–113.

- عدم وجود دراسات عن إمكانية تشخيص المركب المتشكل من الألفا كاربونييل بالرنين المغناطيسي NMR

فرضية البحث:

إمكانية تشخيص مركب الميلانويدينات بمطيافية الرنين المغناطيسي NMR والخروج بنتائج مهمة ولأول مرة يتم بحثها ودراستها.

أهمية البحث:

تكمن أهمية البحث في إمكانية دراسة تشخيص الميلانويدين غير معروف التركيب الكيميائي المتشكل من سكر الكلوكوز والسكريات الوسطية مع الألنين بالرنين المغناطيسي.

منهجية البحث:

اتبعت الدراسة المنهج التحليلي الإحصائي باستخدام برنامج Origin 9 لتحليل ورسم الأشكال ويعتبر من البرامج المهمة في التحليل الإحصائي، حيث تم اخذ أكثر من قياس للعينه الواحدة ومن ثم تم اخذ المتوسط الحسابي لمجموع القياسات من أجل الحصول على شكل واحد متناسق ودقيق. وتم تحويل الشكل البياني على شكل صورته TIF في نفس البرنامج بدقة 600 Res.

المواد وطرق العمل:

المواد الكيميائية المستعملة:

الكلوكوز كان من انتاج (Carl Roth (Karlsruhe, Germany ، الألنين كان من انتاج (Fluka (Steinheim, Germany) ، انابيب الديلزة كانت من انتاج (Carl Roth (Karlsruhe, Germany) ، محلول HCl (1 mol/L) كان من انتاج (Merck (Darmstadt, Germany) ، محلول NaCl_2 (1 mol/L) كان من انتاج (Bernd-Kraft-GmbH (Duisburg, Germany) ، hydroxymethylfurfural كان من انتاج (Acros Organics (Geel, Belgium) ، methylglyoxal و glyoxal كان من انتاج (Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany).

تحضير الميلانويدين بالمحلول المائي:

تم تحضير الميلانويدين طبقاً ل [12]. 0.1 M من محلول الكلوكوز أو منتجات ميلارد الوسطية مع 0.1 M من الحامض الأميني الألنين. وتم ضبط الرقم الهيدروجيني عند 7.2 وتم خلط المحلولين مع بعض وسخن في حمام من زيت السيلكون لمدة خمس ساعات في درجة حراره 100°C . وتم السيطرة على معدل حموضة أو قاعدية المحلول من خلال إضافة NaOH أو HCl اثناء التسخين من أجل استقرار المحلول عند الرقم الهيدروجيني 7.2. بعد الانتهاء من التسخين برد المحلول في ماء بارد درجة حرارته 4°C ثم وضعت المحاليل في الثلاجة لغرض التجميد ومن ثن في جهاز التجفيد من أجل الحصول على العينة. تم أخذ 5g من العينة واذيبت في 300 mL من الماء المقطر لغرض ديلزه المحلول والحصول على مركب ذو وزن جزيئي عالي. اجريت الديلزة طبقاً ل [14]. وضع المحلول في أنابيب ديلزه مصنوعة من السيليلوز (12، cut-off of 14، 000 – 1.5 – 3.0 nm.000 Da and a pore size of). بعد ذلك وضعت الأنابيب في حمام مائي لمدة 96 ساعة مع تبديل الماء المقطر كل 10 ساعات. بعد انتهاء الديلزة جمدت العينات وتم وضعها في جهاز التجفيد.

الأجهزة:

مطيافية الرنين المغناطيسي NMR

تم إجراء قياس العينات بالرنين المغناطيسي طبقاً ل [14]. وقد سُجلت أطيف NMR باستخدام مطياف بروكر أفانس 400 ميغاهرتز يعمل بسرعة 56,100 MHz ل ^{13}C و 399.88 MHz ل ^1H و ^{13}C - ^1H عبر الاستقطاب (CP-MAS). وقد أُجريت التجارب بمعدل MAS قدره 10 كيلوهرتز باستخدام مسبار رنين مزدوج من طراز MAS HX عيار 4

مم. وكان طول النبض $1\mu s$ 3.1 1/2 H¹ وتم استخدام فصل ثنائي القطب غير المتجانس لطور نبضين (TPPM) أثناء الاقتناء. تم قياس الأطياف باستخدام وقت اتصال 0.2 ملي ثانية لـ ¹³C وتأخير إعادة التدوير من 2 ثانية.

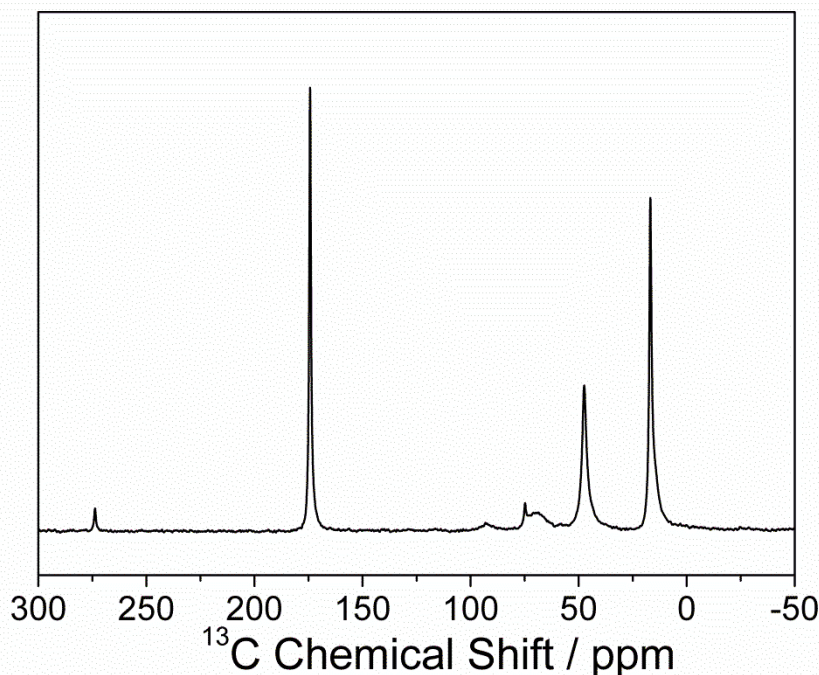
النتائج والمناقشة:

تشخيص الميلا نويدين المتشكل من الكلوكوز- ألنين

الشكل (1) يبين تشخيص الميلا نويدين المتشكل من الكلوكوز مع الألنين المحضر بالمحلول المائي بعد الديلزة بواسطة الرنين المغناطيسي. شخص هذا الميلا نويدين [12] بالأشعة تحت الحمراء FTIR وبين عدم وجود مجموعة الكربونيل (C=O) في المنطقة 1730 cm^{-1} واستنتج أن هذا النوع من الميلا نويدين يكون فقير بـ SP^2 وغني بـ SP^3 . حيث نلاحظ من الشكل عدم وجود المجال المهجن SP^2 hybridized في المنطقة 100-160 ppm وهي المنطقة التي تظهر فيها قمه أو قمم للأصفر المزدوجة غير المشبعة C=C والتي هي احد مركبات chromophores المسؤولة عن تطور اللون البني للميلا نويدينات [14] والمكون الرئيسي للوزن الجزيئي العالي. نستنتج من ذلك أن البوليمير الناتج من تفاعل الكلوكوز مع الألنين يكون ذو وزن جزيئي منخفض. والميلا نويدين المحضر بنظام المحلول المائي aqueous system يشبه إلى حد كبير الميلا نويدينات المحضرة بنظام solvent free system في درجة الحرارة 130°C من حيث اللون ونوع الأوزان الجزيئية [14]. اما عن باقي مناطق الميلا نويدين فيمكن الرجوع إلى جدول (1).

جدول (1) الإزاحات الكيميائية لبروتون ¹³C NMR للمجموعات الوظيفية الشائعة

المنطقة/جزء بالمليون	المركبات	المصادر
10 ~ 50 ppm	carbon atoms or methyl carbons	(17)
20 ~ 40 ppm	methylene's	(18)
60 ~ 80 ppm	Alcohols or ethers	(18)
50~100 ppm	saturated carbons bound with oxygen or nitrogen	(17)
100~160ppm	unsaturated or aromatic carbons	(17)
160~205ppm	carbonyl or carboxyl carbons	(17)
~210 ppm	ketone	(18)

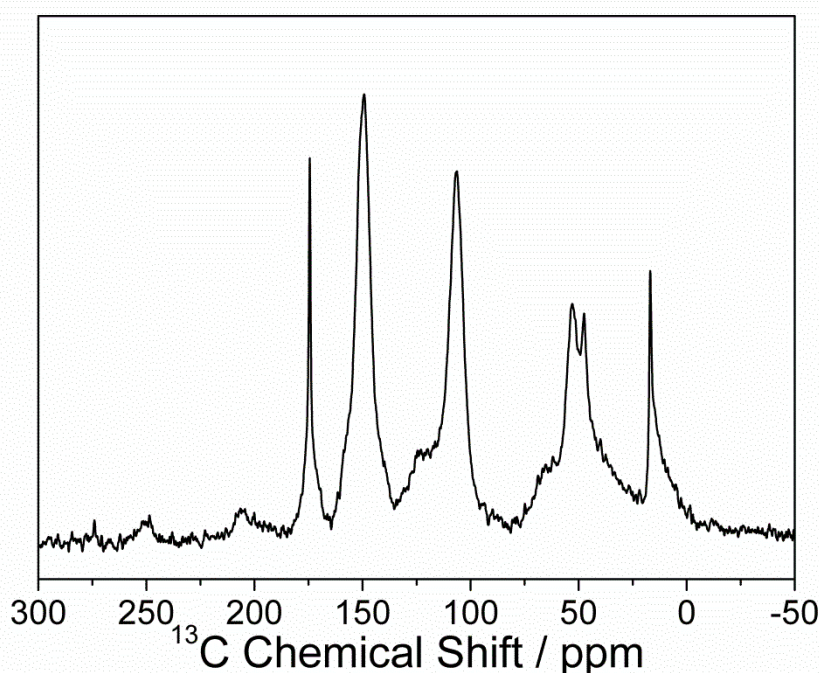
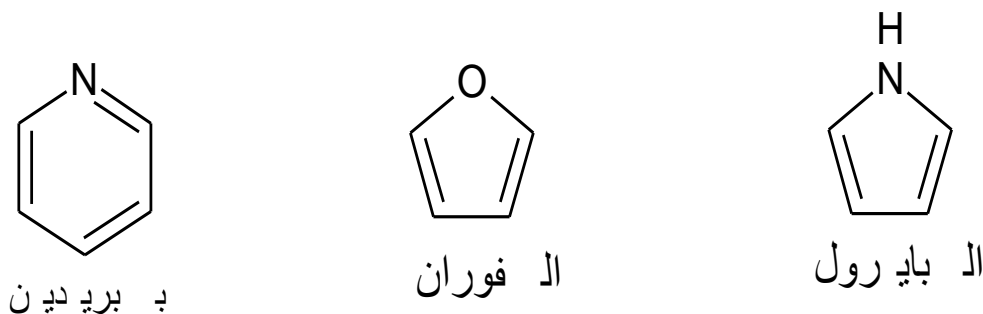


الشكل (1) يبين تشخيص الميلانويدين المتشكل من الكلوكوز مع الأئين في درجة حراره 100°C لمدة 5 ساعات والمحضر بالمحلول المائي بعد الديلزرة بواسطة الرنين المغناطيسي.

تشخيص الميلانويدين المتشكل من الهيدروكسي ميثيل فورفورال - ألئين

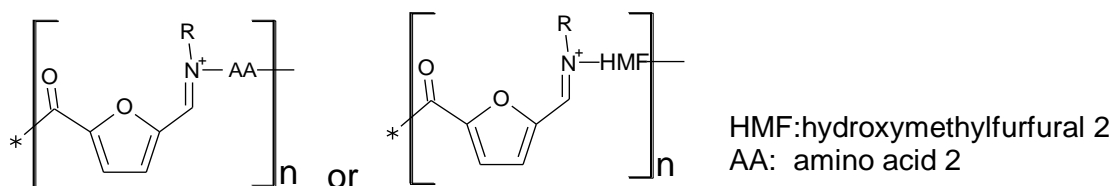
يعتبر الهيدروكسي ميثيل فورفورال من المركبات الوسطية التي تتكون خلال تفاعلات ميلارد أو من سكريات Hexoses. الشكل (2) يبين تشخيص الميلانويدين المتشكل من HMF مع الأئين في درجة حراره 100°C لمدة 5 ساعات. تم تشخيص هذا الميلانويدين أيضاً بواسطة [12] بالأشعة تحت الحمراء FTIR وبين وجود مجموعة الكربونيل (C=O) في المنطقة 1730 cm^{-1} واستنتج أن هذا النوع من الميلانويدين يكون غني بالمجال المهجن SP^2 hybridized وفقير بـ SP^3 hybridized. حيث نلاحظ من الشكل وجود SP^2 في المنطقة 100-160 ppm وهي المنطقة التي تظهر فيها قمة أو قمم للافرة المزدوجة غير المشبعة C=C. وتم قياس امتصاصية هذا المركب من قبل [12] بالأشعة فوق البنفسجية وتبين نشوء قمم في المنطقة 280nm مما يدل عن وجود مركبات اخرى تنشأ من تفاعل HMF مع الأئين مثل الفوران أو البايروليز. أن البوليمير الناتج يكون ثقيل وذو وزن جزيئي عالي وغني بمركبات حاملات اللون chromophores. وقد يقترح على أن الميلانويدين الناتج من هذا التفاعل قد يكون عباره عن سلسلة من الفوران أو البايروليز أو بيريدين Piperidine (مركبات عطرية حلقيه غير متجانسة). ولا يمكن أن نقترح أن الميلانويدين الناتج من تفاعل HMF مع الأئين هو بوليمير من الفوران أو البايروليز على الرغم من أن بعض الباحثين اقترحوا وجود الفوران أو البايروليز في الميلانويدين المتشكل من HMF والفورفورال عند قياس امتصاصيه هذه المركبات بالأشعة فوق البنفسجية في المنطقة 280nm [12]. والسبب هو أن مركبات الفوران والبايروليز تكون فقيره بمركبات حاملات اللون chromophores والميلانويدينات الناتجة من مركبات الالفا كاربونيل تكون ذو لون بني قاتم. إلا أن نضع مقترح يبين على أن الجزيئية الواحدة في سلسلة مركب الميلانويدين يتكون من جزيئين فورال أو بايروليز تنتج من تحلل المركب الوسطي (HMF) مع واحدة من الحامض الأميني (الأئين) أو العكس أو ينتج من تحلل HMF

مركبات حره متعددة مجموعة الكربونيل C=O و C=C بعيدا عن الحامض الأميني الالنين. ويبقى هذا التفسير مجرد اقتراح.



الشكل (2) يبين تشخيص الميلانويدين المتشكل من HMF مع الألنين في درجة حراره 100°C لمدة 5 ساعات والمحضر بالمحلول المائي بعد الديليزة بواسطة الرنين المغناطيسي.

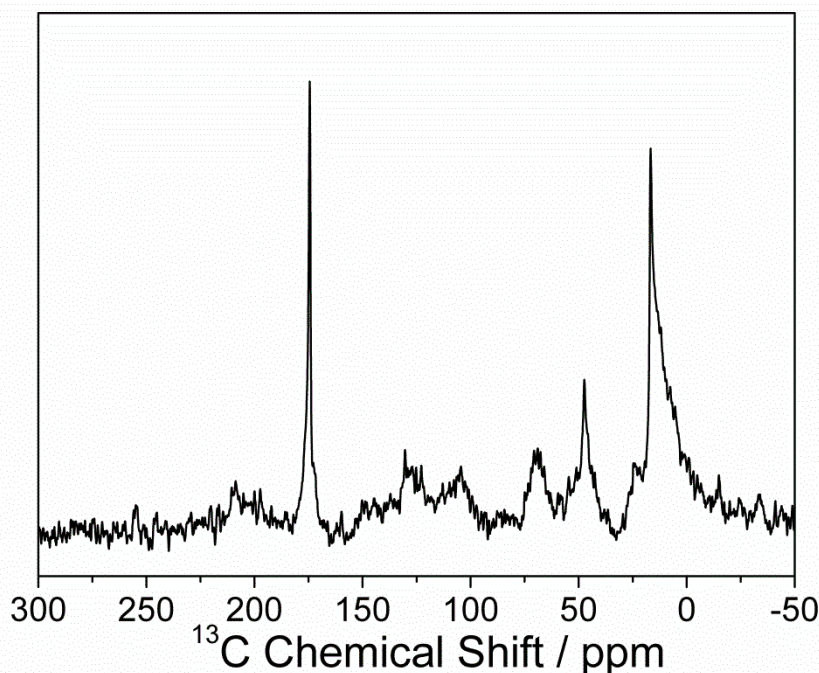
ومن هنا يمكن القول إن هناك بعض الباحثين اقترحوا تركيبا كيميائيا للميلانويدين المتشكل من مركبات وسطية مع الالنين أو من الكلوكوز مع الالنين [9] [12] [14] [20] واستنتجوا بان جزيئة البوليمير الواحدة تحتوي اما على جزيئتين من السكر وجزيئة واحدة من الحامض الأميني أو العكس اعتمادا أيضاً على كمية العناصر العضوية مثل الكربون والاكسجين والهيدروجين والنتروجين الموجودة فيها وعلى مسار التفاعل الذي يتشكل منه مركب الميلانويدين، حيث تتكون الجزيئة الواحدة من البوليمير على جزيئتان من الحامض أميني وجزيئة واحدة من السكر إذا كان الميلانويدين محضرا من مركبات الامدوري ARPs [9] والعكس صحيح في حال كان الميلانويدين محضرا من التفاعل المباشر بين السكر والحامض الأميني في درجات حرارية ووقت معينين [12] [14] [20]. ومن هنا يمكننا اقتراح شكل الميلانويدين الناتج من تفاعل الالنين مع HMF اعتمادا على نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والأشعة تحت الحمراء السابقة والرنين المغناطيسي الحالي كالآتي:



الشكل (3) يبين مقترح تركيب الميلانويدين المتشكل من الألائين مع الهيدركسي مثيل فورفورال

تشخيص الميلانويدين المتشكل من الميثيل كلايوكسال - ألنين

يعتبر مركب الميثيل كلايوكسال من المركبات الوسطية التي تتكون خلال تفاعلات ميلارد - أيضاً. الشكل (3) يبين تشخيص الميلانويدين المتشكل من MGO مع الألائين في درجة حراره 100°C لمدة 5 ساعات. أن تعدد القمم في المنطقة 100- 160 ppm دليل على قوة اللون البني لهذا المركب كما هو الحال في HMF- Ala مما يدل على أن البوليمير الناتج من الميثيل كلايوكسال مع الألائين ذو وزن جزيئي عالي وغني بالمجال المهجن sp^2 hybridized. ويصعب التكهن بالتركيب الكيميائي لهذا الميلانويدين، الا اننا نقترح أن يكون الشكل النهائي لهذا المركب هو 2 جزيئة من MGO مع جزيئة واحدة من الألائين. اما عن باقي مناطق الميلانويدين فيمكن الرجوع إلى جدول (1). وعند تشخيص هذا المركب بالأشعة تحت الحمراء FTIR ظهرت مجموعة الكربونيل في المنطقة تقريبا 1730cm^{-1} بالإضافة إلى مجموعات حاملات اللون chromophores في المنطقة 1670cm^{-1} [12]. مما يستنتج أن هذا البوليمير ذو وزن جزيئي عالي وثقيل.

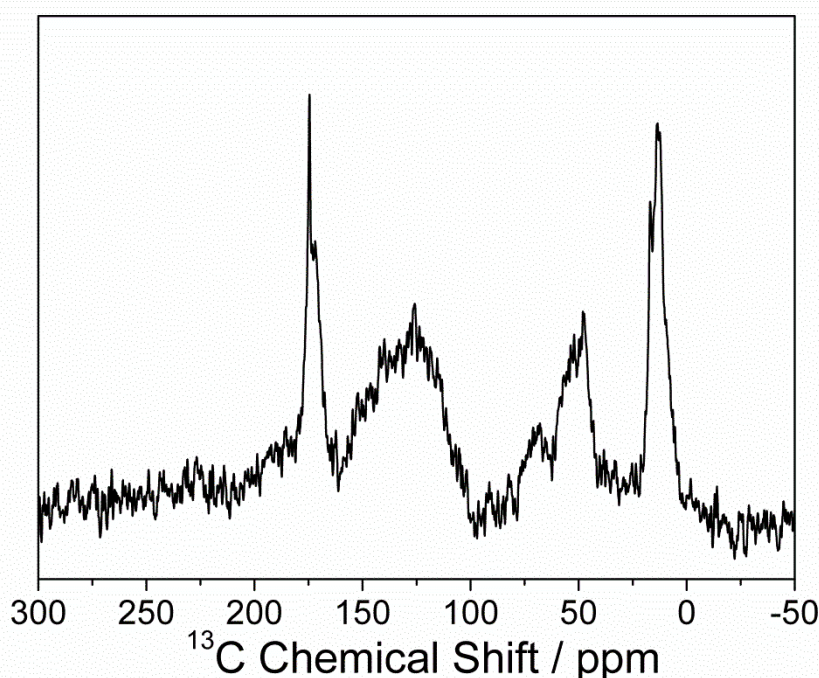


الشكل (4) يبين تشخيص الميلانويدين المتشكل من MGO مع الألائين في درجة حراره 100°C لمدة 5 ساعات والمحضر بالمحلول المائي بعد الديليزة بواسطة الرنين المغناطيسي.

تشخيص الميلانويدين المتشكل من الكلايوكسال - ألنين

يعتبر مركب كلايوكسال من المركبات الوسطية التي تتكون خلال تفاعلات ميلارد - أيضاً. الشكل (4) يبين تشخيص الميلانويدين المتشكل من GO مع الألائين في درجة حراره 100°C لمدة 5 ساعات. أن ارتفاع القمة في المنطقة

100- 160 ppm دليل على اللون البني الغامق جدا لهذا المركب كما هو الحال في MGO- Ala و HMF- Ala ولكن الكلايوكسال يكون أكثر بنية من الميثيل كلايوكسال مما يدل على أن البوليمير الناتج من كلايوكسال مع الأئين ذو وزن جزيئي عالي أيضاً وغني بالمجال المهجن SP^2 hybridized. ويصعب التكهن بالتركيب الكيميائي لهذا الميلاونويدين أيضاً، إلا أننا نقترح أن يكون الشكل النهائي لهذا المركب هو 2 جزيئة من GO مع جزيئة واحدة من الأئين كما هو الحال في الميثيل كلايوكسال- أئين وبالتالي يكون توزيع مركبات حاملات اللون chromophores في جزيئة الميلاونويدين كالتالي: $C=N < C=O < C=C$ ، أي تحتل الاواصر المزدوجة غير المشبعة النسبة الأعلى في تركيب هيكل الميلاونويدين المتشكل من مركبات الالفا كاربونيل مع الأئين ثم مجموعة الكاربونيل فمجموعة الأيمين.



الشكل (5) يبين تشخيص الميلاونويدين المتشكل من GO مع الأئين في درجة حراره $100^{\circ}C$ لمدة 5 ساعات والمحضر بالمحلول المائي بعد الديليزة بواسطة الرنين المغناطيسي.

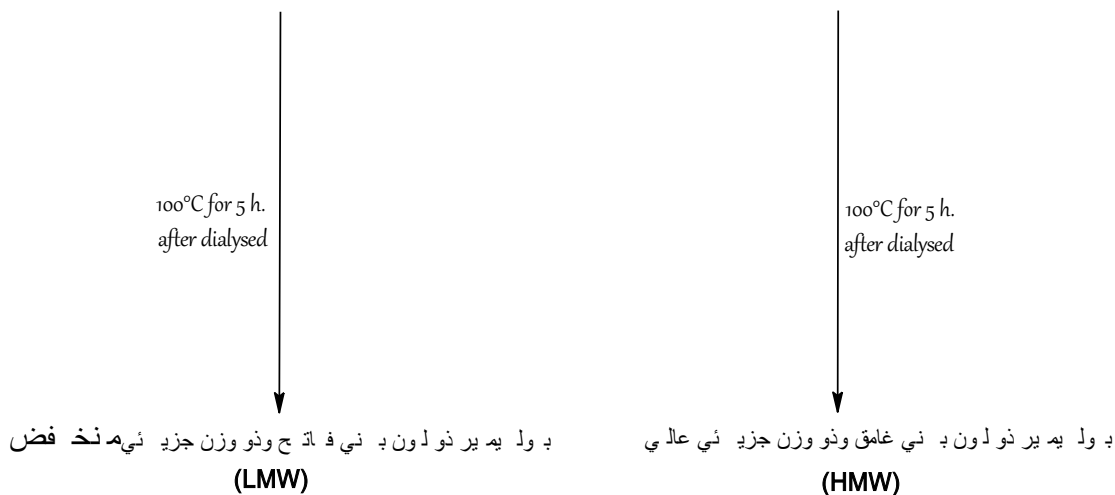
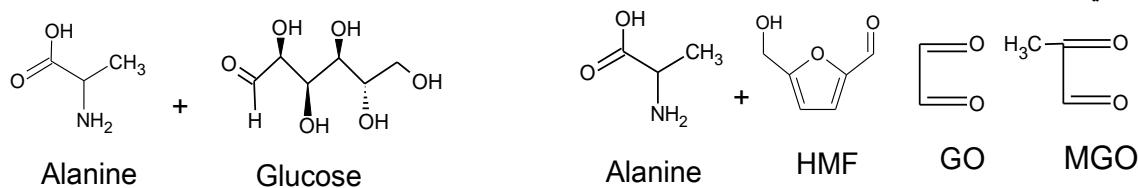
التشخيص بالأشعة تحت الحمراء FTIR

تم تشخيص الميلاونويدينات المتشكله من HMF، MGO، GO، Glc مع الأئين بواسطة الأشعة تحت الحمراء من قبل (Mohsin et al، 2019) واستنتج الباحث بان الميلاونويدين المتشكل من الكلوكوز - أئين يكون ذو وزن جزيئي منخفض بسبب انخفاض حاملات اللون chromophores في هيكل البوليمير النهائي، بينما الميلاونويدين المتشكل من مركبات الالفا كاربونيل الاخرى مع الأئين تكون ذات وزن جزيئي عالي بسبب ارتفاع حاملات اللون chromophores. كما أن استخدام المحلل الإحصائي PCA ساعد إلى حد كبير من تفسير النتيجة.

التشخيص بالأشعة فوق البنفسجية UV/vis

تم تشخيص الميلاونويدينات المتشكله من HMF، MGO، GO، Glc مع الأئين بالأشعة فوق البنفسجية من قبل (Mohsin et al، 2019) واستنتج الباحث بان الميلاونويدين المتشكل من الكلوكوز - أئين يكون الأقل امتصاصا بالمقارنة مع مركبات الكاربونيل الاخرى والسبب يعود إلى لون الميلاونويدين، حيث كان اللون في الكلوكوز- أئين بني

فاتح في درجات الحرارة 100°C لمدة 5 ساعات وذو لون بني قاتم إلى اسود في الميلانويدين المتشكل من الالفا كاربونيل في نفس درجة الحرارة والوقت. يمكن أن نستنتج أن للون العامل المهم في تشكيل الأوزان الجزيئية وقالب البوليمير النهائي.



الشكل (6) مخطط يبين مقترح تشكيل الميلانويدين اعتمادا على مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والأشعة

تحت الحمراء طبقا ل [14-12] والرنين المغناطيسي NMR للدراسة الحالية

ومن الشكل (5) يمكن أن نستنتج بان مركبات الميلانويدين الناتجة من تفاعل السكر المختزل مع الحامض الأميني يمكن أن تكون بوليمرات منخفضة الوزن الجزيئي أو مرتفعة الوزن الجزيئي بالاعتماد على ظروف التفاعل كدرجة الحرارة والوقت ونوع السكر والحامض الأميني والرطوبة. اما عن شكل الميلانويدين الناتج فيصعب تحديد شكله النهائي وذلك لاننا بحاجة للمزيد من الدراسات حول هذا المركب. ولكن يمكننا أن نقول بان المركب الناتج اما أن يحتوي على (2) جزيئات سكر مع المزيد من حاملات اللون chromophores + جزيئة واحدة من الالنين) أو العكس 2 ألنين + جزيئة سكر واحدة متعددة حاملات اللون chromophores. والمقصود من حاملات اللون هي مركبات الاليمين $\text{C}=\text{N}$ والكاربونيل $\text{C}=\text{O}$ و $\text{C}=\text{C}$ وان وجود حاملات اللون في تركيب الميلانويدين من الامور المهمة جدا في تحديد الشكل الكيميائي للمركب، حيث إن زيادتها تعني أن المركب بوليمير ثقيل ذو لون بني غامق وذو وزن جزيئي عالي. وفي قلتها تعني المركب ذو وزن جزيئي منخفض وذو لون بني فاتح.

الاستنتاجات:

نستنتج من هذه الدراسة عن إمكانية تشخيص مركب الميلانويدين الناتج من تسخين الكلوكوز وبعض المركبات الوسيطة مع الألنين بواسطة الرنين المغناطيسي NMR. الميلانويدين المتشكل من الكلوكوز- ألنين بالمحلول المائي يبين عدم وجود المجال المهجن SP^2 hybridized في المنطقة 100-160 ppm وهي المنطقة التي تظهر فيها قمة أو قمم للأصفر المزدوجة غير المشبعة $\text{C}=\text{C}$ والتي هي احد مركبات حاملات اللون chromophores، بينما يتواجد المجال المهجن SP^2 hybridized في الميلانويدينات المتشكلة من المركبات الوسيطة مع الألنين. يكون البوليمير الناتج من

الكلوكوز - ألنين ذو وزن جزيئي منخفض، بينما يكون ذو وزن جزيئي عالي في HMF وMGO وGO مع الألنين اعتماداً عن اللون ونسبة وجود حاملات اللون chromophores في هيكل الميلانويدين.

التوصيات:

بعد تشخيص مركب الميلانويدين المتشكل من الكلوكوز ومركبات الالفا كاربونيل مع الالنين باستخدام تقنيات الأشعة فوق البنفسجية والأشعة الحمراء والرنين المغناطيسي، يجب رسم هيكل قالب الميلانويدين المحتمل كيميائياً كمقترح.

المصادر

- [1] Montavon, P., Mauron, A., & Duruz, E. (2003). Changes in green coffee protein profiles during roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(23),35–2343. <https://doi.org/10.1021/jf020832b>
- [2] Morales, F. (2002). Application of capillary zone electrophoresis to the study of food- model melanoidin. *Food Chemistry*, 76(3), 363–369. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00295-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00295-3)
- [3] Nunes, F., & Coimbra, M. (2010). Role of hydroxycinnamates in coffee melanoidin formation. *Phytochemistry Reviews*, 9,171–185. <https://doi.org/10.1007/s11101-009-9151-7>
- [4] Rufian- Henares, J.A., & Morales, F.J. (2007). Angiotensin- I converting enzyme inhibitory activity of coffee melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 432–438. <https://doi.org/10.1021/jf062604d>
- [5] Rizzi, G. (1997). Chemical structure of colored Maillard reaction products. *Food Reviews International*, 13(1), 1–28. <https://doi.org/10.1080/87559129709541096>
- [6] Martins, S., Jongen,W., & van Boekel. M. (2001). A review of the Maillard reaction in food and implications to kinetic modeling. *Trends in Food Science and Technology*, 11,364–373. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00022-X](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00022-X)
- [7] Bekedam, E., Roos, E., Schols, H., Van Boekel, M., & Gerrit, S. (2008). Low molecular weight melanoidins in coffee brew. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 4060–4067. <https://doi.org/10.1021/jf8001894>
- [8] Zhang, Q., Ames, J., Smith, R., Baynes, J., & Metz, T. (2009). A perspective on the Maillard reaction and the analysis of protein glycation by mass spectrometry: probing the pathogenesis of chronic disease. *Journal of Proteome Research*, 8,754–769. <https://doi.org/10.1021/pr800858h>
- [9] Mohsin, G.F., Schmitt, F- J., Kanzler, C., Epping, J.D., Buhrke, D., & Hornemann, A. (2020). Melanoidin formed from fructosylalanine contains more alanine than melanoidin directly formed from D- glucose with L- alanine. *Food Chemistry*, 305, 125459. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125459>
- [10] Morales, F. (2002). Application of capillary zone electrophoresis to the study of food- model melanoidin. *Food Chemistry*, 76(3), 363–369. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00295-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00295-3)

- [11] Ibarz, A., Garvín, A., Garza, S., Paga'n, J. (2009). Toxic effect of melanoidins from glucose- asparagine on trypsin activity. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 2071–2075. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.05.025>
- [12] Mohsin, G.F., Schmitt, F., Kanzler, C., Hoehl, A., & Hornemann, A. (2019). PCA- based identification and differentiation of FTIR data from model melanoidins with specific molecular compositions. *Food chemistry*, 281,106–113. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.054>
- [13] Bekedam, E., Schols, H., Van Boekel, M., Smit, G. (2006). High molecular weight melanoidins from coffee brew. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7658–7666. <https://doi.org/10.1021/jf0615449>
- [14] Mohsin, G.F., Schmitt, F. J., Kanzler, C., Epping, J.D.,Flemig, S., & Hornemann, A. (2018). Structural characterization of melanoidin formed from D- glucose and L- alanine at different temperatures applying FTIR, NMR, EPR, and MALDIToF- MS. *Food Chemistry*, 245, 761–767. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.115>
- [15] Echavarría, A. P., Paga'n, J. & Ibarz, A. (2012). Melanoidins Formed by Maillard Reaction in Food and Their Biological Activity. *Food Engineering Reviews*, 4, 203–223. <https://doi.org/10.1007/s12393- 012- 9057- 9>
- [16] Rufián- Henares, J.A., & De la Cueva, S.P. (2009). Antimicrobial activity of coffee melanoidins—a study of their metal- chelating properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 432–438. <https://doi.org/10.1021/jf8027842>
- [17] Hayase, F., Kim, S. B., & Kato, H. (1986). Analyses of the Chemical Structures of Melanoidins by ¹³C NMR, ¹³C and ¹⁵N CP- MAS NMR Spectrometry. *Agricultural and Biological Chemistry*, 50(8), 1951- 1957. <https://doi.org/10.1080/00021369.1986.10867690>
- [18] Herzfeld, J., Rand,D., Matsuki,Y., Daviso, E., Mak- Jurkauskas, M., & Mamajanov,I. (2011). Molecular Structure of Humin and Melanoidin via Solid State NMR. *The Journal of Physical Chemistry*, 115, 5741– 5745. <https://doi.org/10.1021/jp1119662>
- [19] Hayase, F., Kim, S. B., & Kato, H.(1986). Analyses of the Chemical Structures of Melanoidins by ¹³C NMR, ¹³C and ¹⁵N CP- MAS NMR Spectrometry. *Agricultural and Biological Chemistry*, 50 (8), 1951- 1957. <https://doi.org/10.1080/00021369.1986.10867690>
- [20] Cämmerer, B., Jalyschko, W., & Kroh, L. W. (2002). Intact carbohydrate structures as part of the melanoidin skeleton. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2083–2087. <https://doi.org/10.1021/jf011106w>