

استفاده از واکنش‌های مایلارد در جهت بهبود خواص عملکردی پروتئین‌ها

فائزه طغیانی^۱، نفیسه سلطانی زاده^۲

۱- دانش آموخته کارشناسی گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان)

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

تاکنون تلاش‌های زیادی جهت افزایش کاربرد پروتئین‌های زیست فعال انجام گرفته است. این پروتئین‌ها در حالت طبیعی خود نسبت به عوامل شیمیایی و فیزیکی مثل حرارت و پروتئولیز آسیب پذیرند. تکنولوژی‌هایی به منظور غلبه بر این کمبودها و توسعه بکارگیری پروتئین در مواد غذایی توسعه یافته است. گلیکوزیلاسیون، یکی از روش‌های اصلاح ساختار پروتئین‌هاست که می‌تواند پروتئین را پایدارتر کرده و ویژگی‌های عملکردی که به منظور بکارگیری در مواد غذایی ضروری می‌باشند، را بهبود بخشد. برای تهیه کنجوجه‌های پروتئین- پلی ساکارید مخلوطی از پودر لیوفیلزه پروتئین- پلی ساکارید تهیه شده و سپس در رطوبت نسبی کنترل شده، حرارت‌دهی می‌گردد. بررسی‌ها نشان داده است که پروتئین‌های اصلاح شده به این روش از مقاومت حرارتی بالاتری نسبت به پروتئین‌های طبیعی برخوردار بوده ضمن این که در برخی موارد خواص ضد باکتریایی را نیز دارا می‌باشند. یکی از خواص عملکردی که با استفاده از این روش به شدت بهبود می‌یابد خاصیت امولسیون‌کنندگی است، به گونه‌ای که پروتئین‌های تولید شده ظرفیت امولسیون‌کنندگی بسیار بهتری نسبت به امولسیفایرهای تجاری داشته که تحت تاثیر پاره‌ای از عوامل فرایند از قبیل نسبت اولیه قند به پروتئین، ساختار پلی ساکارید و زمان انجام واکنش قرار می‌گیرد. از سوی دیگر کنجوجه‌های تولید شده به این روش موجب کاهش آلرژی‌زایی پروتئین‌ها گردیده و لذا می‌توان از آنها در کاهش حساسیت به برخی از مواد غذایی حاوی پروتئین‌های سویا استفاده نمود. از دیگر ویژگی‌های این نوع پروتئین‌ها، قابلیت ایجاد ژلهای قوی و خواص آنتی‌اکسیدانی است که کاربرد آنها در مواد غذایی را گسترده‌تر می‌سازد. آزمایشات انجام گرفته به منظور تعیین ایمنی این نوع ترکیبات حاکی از عدم جهش‌زایی آنها بوده است استفاده از واکنش‌های مایلارد در جهت بهبود خواص عملکردی پروتئین‌ها، کاربرد آنها را در طیف وسیعی از مواد غذایی گسترش داده است.

کلیدی کلمات: خواص عملکردی، پروتئین، پلی ساکارید، واکنش مایلارد

مقدمه:

در سالهای اخیر تلاش‌های زیادی در جهت افزایش کاربرد پروتئین‌ها انجام گرفته است. پروتئین‌ها در حالت طبیعی خود نسبت به عوامل شیمیایی و فیزیکی مثل حرارت و پروتئولیز معمولاً آسیب پذیرند. تکنولوژی‌هایی در جهت غلبه بر این کمبودها و توسعه

بکارگیری پروتئین در مواد غذایی برای اهداف سلامت توسعه یافته کرده است. گلیکوزیلاسیون (تهیه کنجوجه‌های پروتئین-پلی ساکارید)، یکی از روش‌های اصلاح ساختار پروتئین هاست که می‌تواند پروتئین را به شکل‌های پایدار تبدیل کند و ویژگی‌های عملکردی که به منظور بکارگیری در مواد غذایی ضروری می‌باشند را بهبود بخشد. یک راه مناسب برای تهیه کنجوجه‌های کوالانسی از ترکیب پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها از طریق واکنش مایلارد کنترل شده در حرارت خشک است. در خلال واکنش‌های پیچیده، گروه‌های آمینی بر روی مولکول پروتئینی به قندهای احیاء پلی ساکاریدها متصل می‌شوند. در این مقاله به بررسی خواص عملکردی کنجوجه‌های پروتئین-پلی ساکارید پرداخته می‌شود.

تهیه کنجوجه‌های پروتئین - پلی ساکارید:

اولین طرح در رابطه با واکنش مایلارد بوسیله هاج در سال ۱۹۵۳ ارائه شده است. واکنش مایلارد به سه مرحله آغازین، میانی و پایانی تقسیم می‌شود. مرحله اول واکنش مایلارد، واکنش بین گروه کربونیل قندهای احیاء با گروه آمین پروتئین‌هاست که با تشکیل باز شیف همراه با آزاد کردن آب همراه است. باز شیف تشکیل شده به صورت چرخه به N گلیکوزیل آمین مربوطه تبدیل شده، سپس دستخوش یک واکنش برگشتی آمادوری شده که ۱- آمینو- ۱- داکسی- ۲- کتوز تولید می‌کند. در رابطه با کتوزها مثل فروکتوز، واکنش مرتب شده Heyn's، کتوزیل آمین را به ۲- آمینو- ۲- داکسی آلدوز تبدیل می‌نماید. در این مرحله هیچ رنگی تولید نمی‌شود. مرحله میانی با احیاء محصول آمادوری یا Heyn's شروع شده و با شرکت در واکنش‌های مختلف شامل اکسایش، تجزیه، دهیدراتاسیون، هیدرولیزاسیدی و واکنش‌های رادیکال آزاد ترکیبات مختلفی را تولید می‌کند. اگر چه بعضی ترکیبات رنگی در این مرحله تولید می‌شوند اما بیشتر آنها تا مراحل پایانی شکل نخواهند گرفت. در مرحله پایانی، مقدار زیادی ترکیبات رنگی و ترکیبات پلیمری به نام ملانوئیدین حاصل می‌شوند.

برای تهیه کنجوجه‌های پروتئین- پلی ساکارید می‌توان مخلوطی از پودر لیوفیلیزه شده پروتئین- پلی ساکارید را تهیه نمود و سپس آنرا در دما و رطوبت نسبی کنترل شده که با استفاده از محلول‌های اشباع نمکی به دست می‌آید، قرار داد. باید توجه نمود که مولکول‌های کربوهیدرات کوچک مانند گلوکز یا لاکتوز تحت حرارت دهی خشک کنترل شده به راحتی با اکثر اسید آمینه لیزین موجود در سطح پروتئین واکنش داده و به دلیل واکنش‌های جانبی تدریجی، توده‌های غیر محلول تشکیل می‌دهند. اگر چه کنجوجه‌های منو یا الیگوساکارید با پروتئین می‌تواند در مرحله اول واکنش، حلالیت را بهبود بخشد اما به منظور بهبود خواص عملکردی پروتئین‌ها، پیوند کووالان آنها با پلی ساکاریدها و نه الیگوساکاریدها برای کاربردهای صنعتی مطلوب هستند.

تغییر در بافت و خصوصیات ژل کنندگی:

کنجوجه‌های پروتئین-پلی ساکارید از خواص ژل‌کنندگی بهتری نسبت به پروتئین‌های طبیعی برخوردارند. در این رابطه، قندهای احیاء کننده‌ای که در واکنش‌های مایلارد فعال‌ترین قدرت ژل کنندگی بیشتر اما رنگ تیره‌تری ایجاد می‌کنند. افزایش قدرت ژل می‌تواند به ایجاد پیوندهای عرضی کووالان بین پروتئین و قند نسبت داده شود. از این رو در حضور قندهای احیاء کننده، ژل شدن در غلظت‌های کم پروتئین اتفاق می‌افتد. به نظر می‌رسد بهبود ویژگی‌های ژل کنندگی پروتئین‌ها با کنترل شدت پلیمریزاسیون در مراحل پیشرفته واکنش مایلارد حاصل می‌شود.

ویژگی های امولسیون کنندگی:

قابلیت امولسیون کنندگی در کنجوجه‌ها بسیار بهتر از امولسیفایرهای تجاری است حتی در شرایط اسیدی یا غلظت بالای نمک دیده خواهد شد. بررسی‌ها نشان داده است که لیزوزیم با قدرت امولسیون کنندگی ضعیف در حالت طبیعی پس از کنجوجه شدن با دکستران خاصیت امولسیون کنندگی زیادی خواهد داشت. در حقیقت در بعضی موارد، حرارت‌دهی محلول‌های کنجوجه قبل از امولسیون کردن، خواص امولسیون کنندگی آنها را ارتقا می‌بخشد. از آنجایی که در صنعت استفاده از غلظت بالای نمک، شرایط اسیدی و فرایند حرارتی رایج هستند، کنجوجه‌های پروتئین- پلی ساکارید می‌توانند به عنوان امولسیفایرهای سودمندی در فرایند غذایی مورد توجه قرار گیرند. تاکنون کنجوجه‌های سرم آلبومین گاوی-گالاکتومانان، پروتئین سویا- گالاکتومانان، کازئینات- مالتودکسترین، او آلبومین- دکسترین، او آلبومین- گالاکتومانان و پروتامین- گالاکتومانان خواص امولسیون کنندگی مطلوبی از خود نشان داده‌اند. برخی از عوامل بر ویژگی‌های امولسیون کنندگی کنجوجه‌ها مؤثرند:

الف) نسبت اولیه قند به پرتئین: از آنجایی که خواص امولسیون کنندگی به تعادل بخش آبگریز و آبدوست کنجوجه‌های پروتئین- پلی ساکارید وابسته است بنابراین با افزایش نسبت پروتئین به پلی ساکارید تا حدی که این تعادل را به هم نزند، خواص امولسیون کنندگی بهبود می‌یابد. طی تشکیل امولسیون، توالی آبگریز پروتئین به قطرات روغن وارد شده، در حالیکه ساکاریدهای متصل به آن مولکول‌های آب را در اطراف قطرات روغن جذب می‌کنند. این امر به تشدید شکل‌گیری لایه پایدارکننده ضخیم در اطراف امولسیون کمک نموده و از این رو از به هم پیوستن قطرات روغن جلوگیری می‌کند.

ب) ساختار پلی ساکارید: پلی ساکاریدهای منشعب مانند گالاکتومانان و دکستران خواص عملکردی کنجوجه‌های پروتئین- پلی ساکارید را بطور موثری بهبود می‌دهند، در حالیکه پلی ساکاریدهای مستقیم زنجیر چنین اثری را ندارند. این امر پیشنهاد می‌کند که پلی ساکاریدهای منشعب مانع فضایی بیشتری ایجاد کرده و از به هم پیوستن قطرات روغن جلوگیری می‌کنند.

ج) وزن مولکولی پلی ساکارید: بررسی‌ها نشان داده است که استفاده از پلی ساکاریدهای با وزن مولکولی بیشتر، خواص امولسیون کنندگی بهتری ایجاد خواهد نمود. افزایش طول گالاکتومانان موجب بهبود خواص عملکردی می‌شود هرچند در مورد زایلوگلوکان با وزن مولکولی $1/4$ کیلودالتون چنین اثری مشاهده نمی‌شود.

د) زمان واکنش: معمولاً مخلوط‌های حرارت‌دهی نشده پروتئین- پلی ساکارید خصوصیات امولسیون کنندگی مشابه پروتئین طبیعی دارد. با پیشرفت واکنش‌های میلارد، خصوصیات امولسیون کنندگی افزایش می‌یابد، به طوری که در مورد S- α -کازئین- دکستران و S- α -کازئین-گالاکتومانان پس از ۲۴ ساعت به حالت پایانی خود می‌رسد. در حالیکه برای پروتئین پلاسما- گالاکتومانان ۵ روز زمان نیاز است و برای پروتامین- گالاکتومانان این زمان به ۱۰ روز هم می‌رسد زیرا پروتامین ۸۵٪ آرژنین و مقدار کمی والین، پرولین و سرین داشته و هیچ لیزینی ندارد. گروه گوانیدین آرژنین واکنش‌پذیری کمتری نسبت به گروه‌های آمینو دارد، بنابراین به زمان بیشتری برای انجام واکنش نیاز است.

مقاومت حرارتی کنجوجه‌های پروتئین- پلی ساکارید:

به منظور بررسی اثر کنجوجه‌های پروتئین و پلی ساکارید بر روی مقاومت حرارتی پروتئین، لیزوزوم در دو حالت طبیعی و در ترکیب با پلی ساکارید مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از کنجوجه‌های لیزوزوم- گالاکتومانان نشان داد که مقاومت حرارتی از ۸۵ درجه سانتی‌گراد برای لیزوزوم طبیعی به بالای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای کنجوجه آن افزایش یافت. بنابراین ترکیب پروتئین و پلی ساکارید موجب افزایش مقاومت حرارتی پروتئین می‌گردد. گالاکتومانان، هر چند موجب افزایش مقاومت حرارتی پروتئین گردید اما این افزایش مانند زمانی که از پلی‌ساکارید استفاده می‌شود، چشمگیر نبود. بنابراین استفاده از پلی‌ساکاریدهای با وزن ملکولی چند کیلو دالتون برای افزایش مقاومت حرارتی لازم است. پلی ساکاریدها با ایجاد ممانعت فضایی، همانند یک قفس پروتئین را احاطه کرده و تا زمانی که پلی ساکارید به دمای انتقال شیشه‌ای خود نرسد مانع از انتقال حرارت به پروتئینی که در بخش داخلی آن قرار گرفته است، می‌شود. همچنین، از آنجایی که فرایند دناتوراسیون پروتئین شامل باز شدن زنجیره‌های پروتئینی و سپس برهمکنش این زنجیره‌هاست، پلی ساکارید مانع از برهمکنش مجدد پروتئین‌ها خواهد شد و از این طریق پروتئین را در برابر دناتوراسیون محافظت می‌کند. از سوی دیگر این احتمال وجود دارد که فرایند دناتوراسیون پروتئین در کنجوجه‌های پروتئین- پلی ساکارید برگشت پذیر باشد.

تاثیر ضد میکروبی کنجوجه‌های پروتئین- پلی ساکارید:

یکی از ترکیبات ضد میکروبی، لیزوزیم سفیده تخم مرغ است. از آنجایی که کنجوجه‌های پروتئین- پلی ساکارید، آن را به یک امولسیفایر مبدل می‌سازد بنابراین لیزوزیم به راحتی از لایه هیدروفوب باکتری‌های گرم منفی گذشته و به دیواره سلولی دست می‌یابد. کیتوزان نیز یک ترکیب ضد میکروبی است بنابراین زمانی که از کنجوجه‌های لیزوزوم و کیتوزان استفاده گردد، فعالیت ضد میکروبی به شدت افزایش خواهد یافت و در این رابطه استفاده از کیتوزان‌های با وزن ملکولی بیشتر موثرتر خواهد بود.

حذف مواد آلرژی‌زا از ساختار پروتئین‌ها :

پروتئین سویا معروفترین پروتئین آلرژی‌زا است که پروتئینی با وزن مولکولی ۳۴ کیلودالتون شناخته شده‌ترین عامل حساسیت‌زا در آن می‌باشد. اکثر بیماری‌ها که قادر به مصرف پروتئین سویا نیستند به این پروتئین ۳۴ کیلودالتونی حساسیت دارند. پروتئین آلرژی‌زای سویا می‌تواند از طریق واکنش مایلارد به سادگی با پلی‌ساکارید واکنش دهد. در واقع، اتصال پروتئین به پلی‌ساکارید، بهترین روش برای کاهش حساسیت‌زایی پروتئین سویا است. این نتایج نوید بخش استفاده از کنجوجه‌های پروتئین- پلی ساکارید در درمان حساسیت است.

ایمنی غذایی در کنجوجه‌های پروتئین- پلی ساکارید :

یکی از مسائلی که به هنگام استفاده از ترکیبات حاصل از واکنش مایلارد موجب نگرانی است، سرطان‌زایی اینگونه ترکیبات می‌باشد. بدین منظور آزمایشاتی بر روی موش‌ها انجام گرفته و عدم مسمومیت‌زایی این ترکیبات به اثبات رسیده است. همچنین آزمون‌های جهش‌زایی حاکی از عدم جهش‌زایی کنجوجه‌های پروتئین- پلی ساکارید بوده است. بررسی‌ها نشان داده است که پس از مصرف خوراکی کنجوجه‌های اوآلبومین- گالاکتومانان و کنجوجه‌های لیزوزیم-گالاکتومانان توسط موش‌ها، هیچ‌گونه اثر سمی مشاهده نشد. علاوه



بر این در برخی موارد پلی‌ساکاریدهای مورد استفاده می‌توانند اثرات مثبتی در سلامتی انسان ایفا نمایند، به گونه‌ای که مصرف گالاکتومانان در این گونه کنجوجه‌ها موجب کاهش چربی کبد شده است.

نتیجه گیری کلی:

بررسی‌ها نشان داده است که پروتئین‌های اصلاح شده به این روش از مقاومت حرارتی بالاتری نسبت به پروتئین‌های طبیعی برخوردار بوده ضمن این که در برخی موارد خواص ضد باکتریایی را نیز دارا می‌باشند. یکی از خواص عملکردی که با استفاده از این روش به شدت بهبود می‌یابد خاصیت امولسیون‌کنندگی است، به گونه‌ای که پروتئین‌های تولید شده ظرفیت امولسیون‌کنندگی بسیار بهتری نسبت به امولسیفایرهای تجاری داشته که تحت تاثیر پاره‌ای از عوامل فرایند از قبیل نسبت اولیه قند به پروتئین، ساختار پلی‌ساکارید و زمان انجام واکنش قرار می‌گیرد. از سوی دیگر کنجوجه‌های تولید شده به این روش موجب کاهش آلرژی‌زایی پروتئین‌ها گردیده و لذا می‌توان از آنها در کاهش حساسیت به برخی از مواد غذایی حاوی پروتئین‌های سویا استفاده نمود. از دیگر ویژگی‌های این نوع پروتئین‌ها، قابلیت ایجاد ژلهای قوی و خواص آنتی‌اکسیدانی است که کاربرد آنها در مواد غذایی را گسترده‌تر می‌سازد. آزمایشات انجام گرفته به منظور تعیین ایمنی این نوع ترکیبات حاکی از عدم جهش‌زایی آنها بوده است. استفاده از واکنش‌های میلارد در جهت بهبود خواص عملکردی پروتئین‌ها، کاربرد آنها را در طیف وسیعی از مواد غذایی گسترش داده است.

مراجع

- 1) Nakamura, S. and Kato, A. 2000. Multi-functional biopolymer prepared by covalent attachment of galactomannan to egg-white proteins through naturally occurring maillard reaction . *Nahrung*. 44: 201-205 .
- 2) Usui, M., Tamura, H., Nakamura, K., Ogawa, T., Muroshita, M., Azakami, H., Kanuma, S., and Kato, A. 2004. Enhanced bactericidal action and masking of allergen structure of soy protein by attachment of chitosan through maillard-type protein-polysaccharide conjugation. *Nahrung*. 48: 70-72.
- 3) Kato, A. 2002. Industrial application of maillard-type protein-polysaccharide conjugates . *Food Science and Technology Research*. 8: 193-199 .
- 4) Oliver, C. M., Melton, L. D., Stanley, R. A. 2006. Creating protein with Novel functionality via the maillard Reaction: A Review. *Food Science and Nutrition*. 46: 339-349 .
- 5) Dickinson, E. 2008. Interfacial structure and stability of food emulsions as affected by protein-polysaccharide interactions. *Soft Matter*. 4: 933-934 .
- 6) Morris, G.A., Sims, I.M., Robertson, A.J., Furneaux, R.H. 2004. Investigation in to the physical and chemical properties of sodium caseinate-maltodextrin glycol-conjugates. *Food Hydrocolloids*. 18: 1007-1014 .
- 7) Diftis, N.G., Biliaders, C.G., Kisooglou, V.D. 2005. Rheological properties and stability of model salad dressing emulsions prepared with a dry-heated soybean protein isolate-dextran mixture. *Food Hydrocolloids*. 19: 1025-1031 .
- 8) Miralles, B., Martinez-Rodriguez, A., Santiago, A., Lagemaat, J.r.d., Heras, A.2007. The occurrence of a maillard-type protein-polysaccharide reaction between B-lactoglobulin and chitosan. *Food chemistry*. 100: 1071-1075 .
- 9) Song, Y., Babiker, E.E., Vsui, M., Saito, A., Kato, A. 2002. Emulsifying properties and bacterial action of chitosan-lysozyme conjugates. *Food Research International*. 35: 459-466 .