ارزیابی خصوصیات آنتی اکسیدانی کانژوگه های پروتئین های سویا-دکستران

ساره بوستانی[1*]، محمود امین لاری[2]، مرضیه موسوی نسب[3]

[1] دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

[2] استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

[3] دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی و گروه پژوهشی آبزیان، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: 93/5/15 تاریخ پذیرش: 93/10/13

چکیده

خصوصیات آنتی اکسیدانی کانژوگه های حاصل از پروتئین های سویا-دکستران در این تحقیق بررسی شد. کانژوگه ها از مخلوط پروتئین-پلی ساکارید گرمخانه گذاری شده در pH=8/5، دمای 60°C و زمان های 1، 2، 3، 4، 6 و 8 روز بدست آمد. الگوی الکتروفورز و اندازه گیری میزان کانژوگه شدن نشان داد واکنش مایلارد در تمامی تیمارها در مقایسه با پروتئین های طبیعی رخ داده است. قهوه ای شدن و ترکیبات حد واسط که با بررسی میزان جذب در 420 نانومتر بدست آمد، با افزایش زمان گرمخانه گذاری، روند صعودی را نشان داد. نتایج بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی شامل فعالیت جذب کردن رادیکال DPPH و قدرت احیاکنندگی، نشان داد کانژوگه های پروتئین های سویا-دکستران پتانسیل آنتی اکسیدانی بهتری نسبت به نمونه غیرکانژوگه دارند. نتایج بدست آمده امکان بهبود خصوصیات آنتی اکسیدانی پروتئین های سویا از طریق کانژوگه شدن مایلارد با دکستران مناسب جهت کاربرد در سیستم های غذایی را پیشنهاد می دهد.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدان، واکنش مایلارد، جمع آوری رادیکال، قدرت احیا کنندگی

*مسئول مکاتبه: boostani.sareh@yahoo.com

1-مقدمه

اکسیداسیون بطور مستقیم کیفیت محصولات غذایی را تحت تأثیر قرار می دهد و ممانعت از اکسیداسیون لیپید از اهداف اصلی در صنایع غذایی است.کاربرد آنتی اکسیدان های مصنوعی به علت نگرانی ها و مخاطرات موجود برای سلامتی محققان را به سمت استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی هدایت کرده است. واکنش مایلارد اولین بار توسط لوئیس مایلارد (1912) ارائه شد که در آن اتصال کوالانسی بین گروه آمینی پروتئین و انتهای کربونیلی پلی ساکارید رخ می دهد. در طی این واکنش خودبخودی و طبیعی رنگدانه های قهوه ای و مجموعه ای پیچیده از ترکیبات حد واسط تشکیل می شود. اخیراً تحقیقات گسترده ای در زمینه استفاده از واکنش طبیعی مایلارد به منظور اصلاح و بهبود خصوصیات عملکردی پروتئین ها صورت گرفته و گزارشات متعددی در این زمینه ارائه شده است. از جمله خصوصیات امولسیفایری و کف کنندگی بهبود می یابد، حلالیت افزایش می یابد، پایداری حرارتی بیشتر شده و فعالیت ضد میکروبی نیز تقویت می شود (2-4، 11، 14). تحقیقات زیادی نشان می دهد که محصولات واکنش مایلارد[1] (MRP) که بطور طبیعی در مواد غذایی ایجاد می شود، خاصیت آنتی اکسیدانی به محصول می دهد و یا آن را تشدید می کند، گرچه به علت تعدد و پیچیدگی ترکیبات تشکیل شده اطلاعات کمی در رابطه با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی MRP ها موجود می باشد (27). فعالیت آنتی اکسیدانی MRPها در ابتدا توسط فرانکز و ایوانسکی (1954)، شناسایی و تشخیص داده شد. ظرفیت آنتی اکسیدانی MRPها تحت تأثیر عوامل مختلفی مثل نسبت و نوع ترکیبات آمینی و قند شرکت کننده، دما، pH و فعالیت آبی محیط واکنش قرار می گیرد. MRPهای تشکیل شده طی واکنش مایلارد روش های متفاوتی را جهت بروز خاصیت آنتی اکسیدانی ارائه می کنند، از جمله این روش ها: فعالیت شکستن واکنش های زنجیره ای رادیکال های آزاد[2]، چلات کردن فلزات[3]، تخریب هیدروژن پراکسید[4] و مهار کردن انواع مختلف اکسیژن فعال[5] می باشد (8، 13). برسودر و همکاران (2001)، مورالز و جیمنزپیرز (2001)، دیتریچ و همکاران (2003)، ونگر و همکاران (2002)، گزارش هایی را در رابطه با خصوصیات آنتی اکسیدانی محصولات واکنش مایلارد از طریق چلاته کردن مس، جذب کردن رادیکال اکسیژن، به دام انداختن رادیکال DPPH و مهار رادیکال پراکسیل ارائه کردند. بعلاوه آنتی اکسیدان های ایجاد شده طی واکنش مایلارد خاصیت سینرژیستی فوق العاده ای با آنتی اکسیدان های فنولی مورد استفاده و موجود در محصولات غذایی دارند (13 و 21).

یک روش به تنهایی نمی تواند اثرات انواع آنتی اکسیدان ها را اندازه گیری و بررسی نماید بنابراین روش های مختلفی برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی مواد غذایی وجود دارد، این روش های متفاوت بر اساس نحوه غیرفعال کردن فرآیند اکسیداسیون پایه گذاری شده است و به دو نوع عمده مستقیم و غیر مستقیم دسته بندی می شود. روش غیر مستقیم، توانایی ملکول را در کاهش رادیکال آزاد مصنوعی، از طریق قدرت دهندگی هیدروژن[6] یا انتقال الکترون[7] اندازه گیری می کند که خود به دو دسته روش انتقال اتم هیدروژن[8] و انتقال الکترون دسته بندی می شود. در روش مستقیم سوبسترای قابل اکسید شدن مثل لیپید و آنتی اکسیدان در شرایط اکسیداسیون در معرض هم قرار گرفته و فعالیت آنتی اکسیدانی ارزیابی می شود (19، 29). برای بررسی و اندازه گیری خصوصیالت آنتی اکسیدانی MRP های تشکیل شده در این تحقیق روش غیر مستقیم مورد استفاده قرار گرفت.

اهداف این تحقیق کانژوگه کردن پروتئین های ایزوله سویا و دکستران از طریق واکنش مایلارد در زمان های مختلف و تعیین پیشرفت کانژوگه شدن و مقایسه خصوصیات آنتی اکسیدانی نمونه ها می باشد.

2-مواد و روش ها

2-1-مواد

ایزوله پروتئینی سویا[9] ساخت چین و دکستران[10] با وزن ملکولی 76000-64000 دالتون (از شرکت سیگما آمریکا) تهیه شد و

[1] Maillard reaction products (MRP)
[2] Radical chain-breaking activity
[3] Metal chelation
[4] Decomposition of hydrogen peroxide
[5] Scavenging of reactive oxygen species
[6] Hydrogen donation
[7] Electron transfer
[8] Hydrogen atom transfer
[9] Soy protein isolate (SPI) (Pingdingshan tianjing plant albumen CO.,LTD)
[10] Dextran

سایر مواد شیمیایی مورد استفاده از برند های معتبر مواد آزمایشگاهی تهیه و مورد استفاده قرار گرفت.

2-2-تهیه هیبریدهای پروتئین های سویا-دکستران در زمان های مختلف

کانژوگه کردن پروتئین های ایزوله سویا با دکستران بدین صورت انجام شد که ابتدا پروتئین های سویا و دکستران به نسبت 1 به 4 در محلول بافر فسفات با pH 8/5، تهیه و کاملاً مخلوط شد و سپس لیوفیلیز گردید (ابتدا نمونه ها در فریزر 80- درجه سانتی گراد فریز شدند و سپس در فریز دارير[1] به پودر تبدیل شدند). پودر محصول در دسیکاتور با دمای 60 درجه سانتی گراد و زمان های 0، 1، 2، 3، 4، 6 و 8 روز در حضور برمید پتاسیم اشباع (رطوبت نسبی 79%) قرار گرفت تا واکنش مایلارد انجام شود. یک نمونه به عنوان شاهد که حاوی ترکیبات پروتئینی بدون پلی ساکارید است نیز در نظر گرفته شد (14).

3-2-الکتروفورز SDS-PAGE[2]

جهت تأیید تشکیل کانژوگه های پروتئین-پلی ساکارید، الکتروفورز SDS- PAGE مطابق روش لاملی (1970) و با کمی تغییرات صورت پذیرفت. ژل افقی الکتروفورز با 3٪ ژل متراکم کننده و 10٪ ژل جدا کننده تهیه شد و دستگاه الکتروفورز دو طرفه بیو راد ساخت سنگاپور مورد استفاده قرار گرفت. نمونه به غلظت 2 میلی گرم در 1 میلی لیتر، در بافر نمونه مخلوط و در دمای 100 درجه سانتی گراد به مدت 5 دقیقه حرارت داده شد و در هر چاهک 20 میکرولیتر نمونه تزریق شد. میزان جریان الکتریسیته روی 25 میلی آمپر تنظیم شد و در انتها رنگ آمیزی در محلول محتوی کوماسی بریلیانت بلو و متانول و رنگ زدایی در محلول محتوی اسید استیک و متانول صورت پذیرفت.

4-2-تعیین درصد کانژوگه شدن نمونه ها در زمان های مختلف گرمخانه گذاری

به منظور بررسی میزان گروه های آمینی آزاد پروتئین از روش ارزیابی اسپکترومتری O-فتال دی آلدهید (OPA) و مطابق روش نیلسون و همکاران (2001) عمل شد. محلول OPA به صورت روزانه از مخلوط کردن 25 میلی لیتر محلول 100 میلی مولار تتراهیدروبورات و 2/5 میلی لیتر محلول 20٪ وزنی/وزنی سدیم دودسیل سولفات و 40 میلی گرم OPA (که در 1 میلی لیتر اتانول حل شده است) و 100 میکرولیتر بتا مرکاپتواتانول بدست آمد که در نهایت با آب مقطر به حجم نهایی 50 میلی لیتر رسید. برای ارزیابی میزان گروه های آمینی آزاد، حدود 50-100 میکرولیتر از نمونه محلول به 1 میلی لیتر از واکنشگر OPA درون یک کووت کوارتز 1/5 میلی لیتری اضافه شد. محلول حاصله به آرامی تکان داده و به مدت 2 دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس جذب آن در طول موج 340 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و درصد جایگزینی (یا درصد کانژوگه شدن) مطابق فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{درصد کنژوگه شدن} = \frac{A_0 - A_T}{A_0} \times 100$$

A_0 و A_T، به ترتیب جذب نمونه قبل از گرمخانه گذاری و بعد از گرمخانه گذاری در هر زمان تیمار می باشد.

5-2- تعیین شدت قهوه ای شدن[3]

اندازه گیری شدت قهوه ای شدن مطابق روش کیم و لی (2002)، انجام شد. بدین صورت که نمونه ها به میزان 4 برابر در بافرفسفات با pH: 7/4 رقیق شدند، جذب محلول های رقیق شده نمونه ها در 420 نانومتر خوانده و ثبت شد. این آزمون معیاری از پیشرفت کانژوگه شدن می باشد که می تواند با خصوصیات آنتی اکسیدانی رابطه داشته باشد.

6-2- تعیین فعالیت رادیکال گیرندگی محصولات مایلارد به روش DPPH[4]

برای اندازه گیری فعالیت اسکونج کردن رادیکال DPPH (DPPH-RS)، مطابق روش لرتیتیکول و همکاران (2007)، عمل شد. روش کار بدین صورت است که، 0/4میلی لیتر از محلول آبی نمونه ها به 2 میلی لیتر محلول 0/12 میلی مولار DPPH در اتانول اضافه شد و در دمای اتاق به مدت 30 دقیقه در تاریکی نگهداری شد، جذب نمونه ها در طول موج 517 نانومتر خوانده شد، برای شاهد بجای نمونه از آب مقطر استفاده گردید.

[1] Dena vaccum industry FD-5003-BT
[2] Sodium-dodecyl - sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS - PAGE)
[3] Browning intensity
[4] DPPH radical scavenging activity

درصد فعالیت جذب کردن رادیکال آزاد مطابق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\%DPPH\text{-}RS = 1 - \left(\frac{A_{sample}}{A_{blank}}\right) \times 100$$

A_{sample}: جذب نمونه در 517 nm

A_{blank}: جذب شاهد در 517 nm

2-7- تعیین قدرت احیاکنندگی[1] محصولات واکنش مایلارد

اندازه گیری قدرت احیا کنندگی محصولات واکنش مایلارد مطابق روش لرتیتیکول همکاران (2007) صورت پذیرفت. روش کار بدین صورت است که 1 میلی لیتر نمونه (5 مرتبه رقیق شده)، با 2/5 میلی لیتر بافرفسفات 0/2 مولار (pH: 6/6) و 2/5 میلی لیتر فروسیانید پتاسیم 1٪ کاملاً مخلوط شد، مخلوط حاصل در بن ماری با دمای 50°C برای 30 دقیقه نگهداری شد و در ادامه 2/5 سی سی تری کلرواستیک اسید 10٪ به آن اضافه و مخلوط شد، مخلوط حاصل در 1650×g به مدت 10 دقیقه و در دمای 23 °C سانتریفیوژ شد. 2/5 سی سی از محلول آبی به 1 سی سی آب مقطر و 0/5 سی سی فریک کلرید 0/1 درصد اضافه شد. نمونه شاهد نیز به همین ترتیب تهیه و بجای نمونه های کانژوگه آب مقطر جایگزین شد، بعد از 10 دقیقه جذب نمونه ها در 700 نانومتر در اسپکتروفتومتر خوانده شد. قدرت احیا کنندگی با افزایش جذب در 700 نانومتر مشخص می گردد.

2-8-تجزیه وتحلیل داده‌ها

به منظور آنالیز آماری داده ها و بررسی اطلاعات به دست آمده از آزمون های مختلف از طرح کاملاً تصادفی استفاده گردید. آزمونها حداقل در سه تکرار انجام شده و سپس میانگین و انحراف معیار بدست آمد.

به منظور تعیین وجود اختلاف بین میانگین اعداد (سه تکرار هر آزمایش)، از آنالیز واریانس و برای گروه بندی آنها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح 0/05استفاده شد. در تمام مراحل، تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS صورت پذیرفت.

[1] Reducing power

3-نتایج و بحث

3-1-نتایج الگوی الکتروفورز کانژوگه های پروتئین-پلی ساکارید

تأثیر زمان های مختلف واکنش مایلارد بر میزان گلیکوزیله شدن دکستران با پروتئین های ایزوله سویا در شکل 1 نشان داده شده است. مطابق الگوی مشاهده شده در ستون شماره 1، باندهای پروتئینی مربوط به پروتئین های ایزوله سویا و بخصوص باندهای پروتئینی 7S و 11S بخوبی قابل روئیت است.

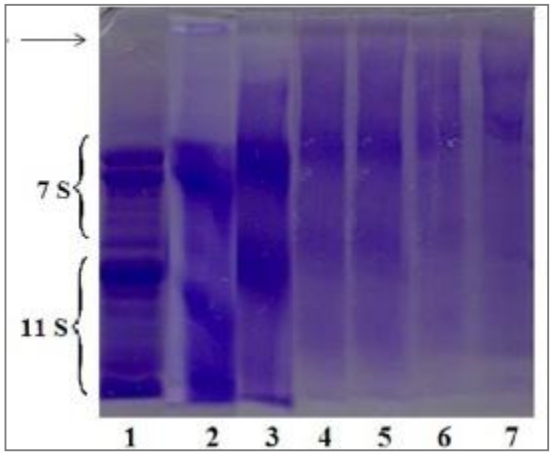
همان گونه که قابل انتظار است حرارت دهی مخلوط پروتئین های سویا-دکستران منجر به تشکیل هیبرید های پروتئین-پلی ساکارید حاصل از واکنش مایلارد می شود و وزن ملکولی پروتئین ها در طی کانژوگه شدن افزایش می یابد. با گذشت زمان از 1 تا 8 روز در 60°C، باعث ظاهر شدن تدریجی یک باند کشیده، وسیع و متراکم در بالای ژل متراکم کننده و حد فاصل بین دو ژل استکینگ[2] (ژل متراکم کننده) و سپریتینگ[3] (ژل جداکننده) شده که مربوط به اجزاء با وزن مولکولی بالای تشکیل شده در طی واکنش مایلارد می باشد (3، 4، 11، 28). آنالیز تصاویر الکتروفورز نشان می دهد که بیشترین تغییرات در طی 8 روز گرمخانه گذاری در دمای 60 °C و pH: 8/5 رخ می دهد و تمامی باند های پروتئینی سویا در واکنش شرکت می کنند. با گذشت زمان باندهای پروتئینی اصلی سویا ناپدید شده و همزمان به باندهای با وزن ملکولی بالا و متعدد شیفت می یابد و در نمونه گرمخانه گذاری شده در طی 8 روز تقریباً تمامی باندهای پروتئینی سویا ناپدید می شود.

نتایج حاصل از تصاویر الکتروفورز تحت تأثیر زمان با گزارشات بدست آمده از سایر محققین مطابقت دارد، اله داد و همکاران (2009) گزارش کردند، با افزایش زمان واکنش مایلارد به منظور اصلاح لیزوزیم با دکستران از زمان صفر تا یک هفته شدت باند ها کاهش یافته و گستردگی باند ها با افزایش زمان گرمخانه گذاری افزایش می یابد.

دیفتیس و کیزلگور با کانژوگه کردن پروتئین های سویا و دکستران در زمان های مختلف، یاداو و همکاران (2010) طی کانژوگه کردن پروتئین های شیر و فیبر ذرت از 2 تا 7 روز، مشاهده کردند که با افزایش زمان گرمخانه گذاری ناپدید شدن

[2] Stacking gel
[3] Separating gel

تدریجی باند های پروتئینی اصلی مشاهده می شود و همزمان باندهای جدید، تیره و وسیع با وزن ملکولی بالا از کانژوگه ها در بالای ژل جداکننده ایجاد می شود.

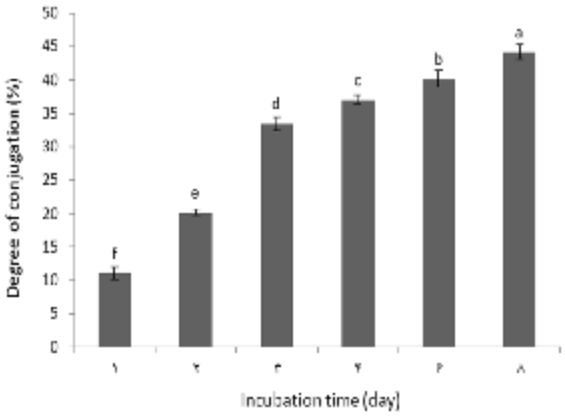


شکل 1- الگوی الکتروفورز پروتئین های سویای کانژوگه شده با دکستران در دمای 60 °C، pH: 8/5 و زمان های مختلف بر روی ژل اکریل آمید

(شماره ستون ها به ترتیب: 1= نمونه کنترل (پروتئین های سویا)، 2= نمونه کانژوگه شده به مدت 1 روز، 3= نمونه کانژوگه شده به مدت 2 روز، 4= نمونه کانژوگه شده به مدت 3 روز، 5= نمونه کانژوگه شده به مدت 4 روز، 6= نمونه کانژوگه شده به مدت 6 روز، 7= نمونه کانژوگه شده به مدت 8 روز)

3-2-نتایج تعیین درصد کانژوگه شدن

اندازه گیری مقادیر گروه های آزاد آمینی به روش OPA شاهد و تأییدی بر ژل الکتروفورز تیمار ها می باشد. مطابق نمودار 2 درصد کانژوگه شدن در نمونه های گرمخانه گذاری شده در 60 °C و در pH: 8/5 ، در مقایسه با نمونه شاهد نشان می دهد که مقادیر گروه های آمینی آزاد در همه نمونه های کانژوگه شده کاهش یافته است. در واقع با افزایش زمان گرمخانه گذاری مقادیر گروه های آمینی آزاد، کمتر می شود (11، 25). وقتی که پروتئین های سویا برای مدت 8 روز در 60 °C و در pH : 8/5 گرمخانه گذاری می شود، کاهش قابل توجهی در مقادیر گروه های آمینی آزاد پروتئین رخ می دهد. درصد گلیکوزیله شدن در نمونه شاهد 0 و در این نمونه 44/23 درصد می باشد، بدین معنی که در این شرایط قسمت اعظم گروه های آمینی آزاد قابل اندازه گیری با این روش، با دکستران واکنش داده و کانژوگه های با وزن ملکولی بالا و پیچیده را تولید می کند (25).



شکل 2- درصد جایگزینی گروه های آمینی در کانژوگه های تیمار شده در دمای 60 °C ، pH: 8/5 و زمان های مختلف

(هر ستون نمایانگر میانگین ±انحراف معیار برای سه تکرار می باشد)

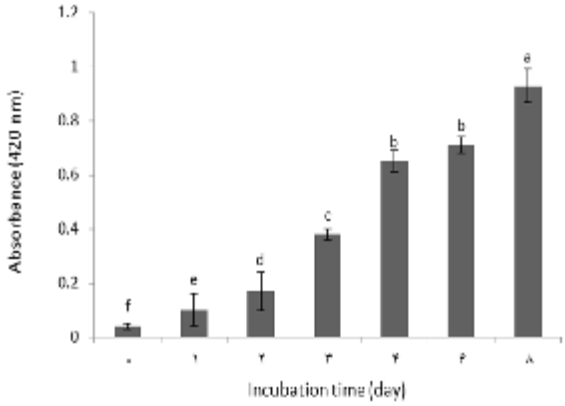
3-3-نتایج شدت قهوه ای شدن

شدت قهوه ای شدن یک معیار غیر اختصاصی از تشکیل محصولات واکنش مایلارد (MRP) و میزان کانژوگه شدن می باشد. در مراحل ابتدایی واکنش مایلارد گروه های کربونیلی با گروه های آمین واکنش داده و محصولات بی رنگ تولید می کند در حالی که با گذشت زمان و در مراحل انتهایی ترکیبات سنگین وزن از جمله ملانوئیدین تولید می شود که بالاترین جذب را در 420 نانومتر نشان می دهد (20، 21).

در این تحقیق اندازه گیری شدت قهوه ای شدن به عنوان معیاری از تشکیل MRPها و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی انجام شد. در شکل 3 تغییرات شدت قهوه ای شدن با گذشت زمان گرمخانه گذاری نشان داده شده است، همانطور که مشاهده می شود با گذشت زمان میزان قهوه ای شدن نیز افزایش می یابدو.

ونکگنی و ونویک (2013) و بنجاکول و همکاران (2005) نیز اعلام کردند با افزایش زمان گرمخانه گذاری شدت قهوه ای شدن افزایش می یابد.

با افزایش شدت قهوه ای شدن در مراحل پایانی واکنش مایلارد امکان تشکیل حداکثر MRP و بروز بیشترین خصوصیات آنتی اکسیدانی توسط کانژوگه ها وجود دارد (1، 21).



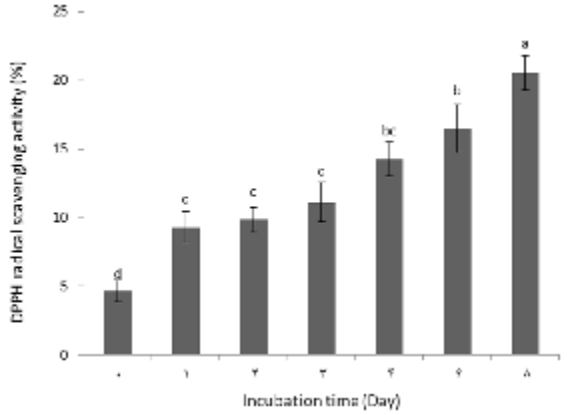
شکل 3- شدت قهوه ای شدن کانژوگه ها در زمان های مختلف گرمخانه گذاری

(هر ستون نمایانگر میانگین ±انحراف معیار برای سه تکرار می باشد)

3-4-نتایج DPPH radical scavenging activity

رادیکال DPPH در یک سیستم با آنتی اکسیدان اسکونج[1] می شود. آنتی اکسیدان از طریق دادن یک هیدروژن به رادیکال آزاد، فرم پایدار DPPH-H را تشکیل می دهد و این روش به طور گسترده ای برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی اولیه[2] بکار می رود. این روش برای اندازه گیری فعالیت مهار کنندگی کلیه آنتی اکسیدان ها چه آنهایی که در فرم خالص وجود داشته و آنهایی که در محصولات غذایی طی فرایند ایجاد می شود، بکار می رود (24). مطابق این روش نمونه ها با رادیکال پایدار DPPH واکنش می دهد و میزان تغییر رنگ محلول نمایانگر پتانسیل آنتی اکسیدانی MRP می باشد. تغییر رنگ از بنفش به زرد با پذیرش یک اتم هیدروژن از آنتی اکسیدان (MPR) و تشکیل یک مکول دو قطبی پایدار (DPPH-H) صورت می گیرد (18، 22).

نتایج فعالیت مهارکردن رادیکال DPPH نمونه های کانژوگه در زمان های مختلف و نمونه شاهد در شکل 4 نشان داده شده است مقدار اندک فعالیت اسکونج کردن رادیکال DPPH که در نمونه شاهد مشاهده می شود به علت ترکیبات بالقوه موجود در سویا است که دارای فعالیت آنتی اکسیدانی می باشد (17). با افزایش زمان گرمخانه گذاری از 1 روز به 8 روز افزایش قابل توجه فعالیت مهار رادیکال DPPH مشاهده می شود. بنجاکول و همکاران (2005) و لرتیتیکول و همکاران (2007) با افزایش زمان گرمخانه گذاری کانژوگه ها، نتایج مشابهی را گزارش کردند. موپالا و همکاران (2012) با تشکیل کانژوگه های نایسین-کربوهیدرات، چنگ و همکاران (2011)، با تشکیل کانژوگه های کیتوزان-گلولز گزارش هایی را مبنی بر افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی با کانژوگه شدن مایلارد ارائه دادند. ونگی و ونکیک (2013) و لرتیتیکول و همکاران (2007) گزارش کردند دما و pH از عوامل اصلی تأثیرگذار در فعالیت آنتی اکسیدانی MRP می باشد و کاهش pH و دما موجب کاهش شدید فعالیت آنتی اکسیدانی می شود و در این تحقیق هر دو عامل دما و pH جهت تشکیل کانژوگه های با فعالیت آنتی اکسیدانی مساعد می باشد.



شکل 4- درصد جذب کردن رادیکال DPPH کانژوگه ها در زمان های مختلف گرمخانه گذاری

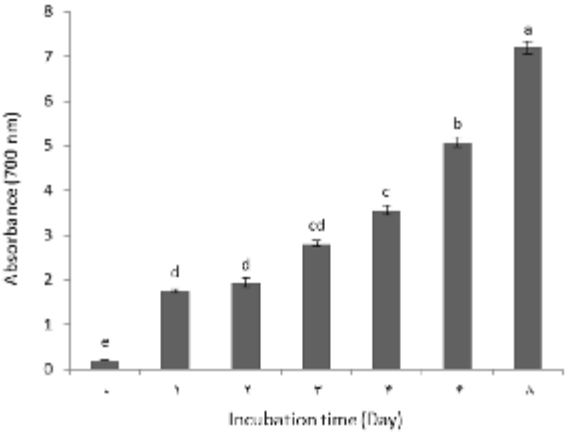
(هر ستون نمایانگر میانگین ±انحراف معیار برای سه تکرار می باشد)

3-5- نتایج ظرفیت احیا کنندگی محصولات واکنش مایلارد

توانایی MRP ها به عنوان احیا کننده از طریق اهدا الکترون برای تشکیل ترکیبات پایدار با تعیین قدرت احیاکنندگی ارزیابی می شود، در این روش توانایی احیا یون فریک به فروس اندازه گیری و تغییر رنگ محیط به آبی گویای فعالیت احیاکنندگی است و با افزایش میزان جذب، قدرت احیاکنندگی نیز بیشتر می شود (21). نتایج بدست آمده برای قدرت احیاکنندگی در این بخش تأییدی بر نتایج فعالیت اسکونج کردن رادیکال DPPH می باشد. مطابق شکل 5 با افزایش زمان گرمخانه گذاری، میزان جذب افزایش یافته و ظرفیت احیا کنندگی نیز بیشتر می شود، بنجکول و همکاران (2005) و لرتیتیکول و همکاران (2007) با تهیه کانژوگه های پروتئین پروسین پلاسما و قند های مختلف در زمان های مختلف نتایج مشابهی را بدست آوردند. شوبیتا و

[1] Scavenged
[2] Primary antioxidant activity

همکاران (2012)، مرالس و جیمینز پیرس (2001) نیز گزارشاتی مبنی بر افزایش قدرت احیا کنندگی با کانژوگه شدن ارائه کردند، در واقع MRPها فعالیت اهدا کنندگی هیدروژن را دارد و گروه های هیدروکسیل MRPها نقش مهمی در بروز فعالیت احیاکنندگی به عهده دارد بعلاوه ترکیبات ردکتون حد واسط حاصل از واکنش مایلارد زنجیره رادیکالی را از طریق احیا اتم هیدروژن می شکند (یوشیمورا 1997). نتایج بدست آمده در این بخش تأییدی بر نتایج حاصل از فعالیت مهار رادیکال DPPH و گویای پتانسیل بالای آنتی اکسیدانی کانژوگه های پروتئین های ایزوله سویا-دکستران می باشد.



شگل 5- قدرت احیا کنندگی کانژوگه ها در زمان های مختلف گرمخانه گذاری

(هر ستون نمایانگر میانگین ±انحراف معیار برای سه تکرار می باشد)

4- نتیجه گیری

در این تحقیق مخلوط پروتئین های ایزوله سویا و دکستران در زمان های مختلف تحت تیمار واکنش مایلارد قرار گرفتند. نتایج الکتروفورز و درصد کانژوگه شدن پیشرفت اتصال پروتئین به پلی ساکارید را با افزایش زمان گرمخانه گذاری نشان داد. شدت قهوه ای شدن در نمونه های گرمخانه گذاری شده بالاتر از نمونه شاهد بدست آمد و فعالیت مهار رادیکال DPPH و قدرت احیا کنندگی محصولات حاصل از واکنش مایلارد در تمامی نمونه های کانژوگه بالاتر از نمونه شاهد حاصل شد.

نتایج پتانسیل بالای آنتی اکسیدانی کانژوگه های حاصل از واکنش مایلارد و امکان استفاده از این ترکیبات را به عنوان منابع آنتی اکسیدانی طبیعی تأیید می کند.

5-منابع

1- Ajandouz, E. H., and Puigserver, A. 1999. Nonenzymatic browning reaction of essential amino acids: effect of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics. J. Agric. Food Chem, 45: 1786–1793.

2- Aminlari, M., Ramezani, R., and Jadidi, F., 2005. Effect of Maillard-based conjugation with dextran on the functional properties of lysozyme and casein. J Sci Food Agric. 85: 2617–2624.

3- Amiri, S. Ramezani, R. and Aminlari, M. 2008. Antibacterial activity of dextran conjugated lysozyme against Escherichia coli and Staphylococcus aureus in cheese curd. J. Food Prot.., 71: 411-415.

4- Alahdad, z., Ramezani, R., Aminlari, M., and Majzoobi., M., 2009. Preparation and Properties of Dextran Sulfate-Lysozyme Conjugate. J.Agric.Food Chem. 57: 6449–6454.

5- Bersuder, P., Hole, M., and Smith, G., 2001. Antioxidants from a heated histidine–glucose model system. Investigation of the copper (II) binding ability. J. Am. Oil Chem. Soc, 78, 1079–1082.

6- Benjakul, S., Lertittikul, W., and Bauer, F., 2005, Antioxidant activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein–sugar model system, Food Chem, 93: 189–196

7- Chevalier, F. Chobert, J. M. Popineau, Y. Nicolas, M. G. and Haertlé, T. 2001. Improvement of functional properties of β-lactoglobulin glycated through the Maillard reaction is related to the nature of the sugar.Int Dairy J, 11: 145–152

8- Chawla, S. P., Chander, R., and Sharma, A. 2009. Antioxidant formation by cirradiation of glucose-amino acid model systems. Food Chem, 116: 122–128.

9- Chang, H.L., Chen, Y.C., and Tan, F.J., 2011, Antioxidative properties of a chitosan–glucose Maillard reaction product and its effect on pork qualities during refrigerated storage, Food Chem, 124: 589–595

10- Dittrich, R., El-Massry, F., Rinaldi, F., Peich, C. C., Beckmann, M. W., and Pischetsrieder, M. 2003. Maillard reaction products inhibit oxidation of human low-density lipoproteins in vitro. J. Agric. Food Chem, 51, 3900–3904.

11- Diftis, N. and Kiosseoglou, V. 2006. Stability against heat-induced aggregation of emulsions prepared with a dry-heated soy protein isolate–dextran mixture. *Food Hydrocolloids*., 20: 787–792.

12- Franzke, C., and Iwainsky, H. 1954. Zur antioxydativen Wirksamveit der Melanoidine. Deutche Lebensmittle-Rundschau, 50: 251-254.

13- Gu, F. L., Kim, J. M., Abbas, S., Zhang, X. M., Xia, S. Q., and Chen, Z. X. 2010. Structure and antioxidant activity of high molecular weight Maillard reaction products from casein-glucose. Food Chem, 120: 505–511.
14- Kato, A., Shimokawa, K., and Kobayashi, K, 1991. Improvement of the Functional Properties of Insoluble Gluten by Pronase Digestion Followed by Dextran Conjugation. J. Agric. Food Chem., 39: 1053-1058.
15- Kim, J. S., and Lee, Y. S. 2008. Effect of reaction pH on enolisation and racemisation reactions of glucose and fructose on heating with amino acid enantiomers and formation of melanoidins as a result of the Maillard reaction. Food Chem, 108: 582–592.
16- Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. Nature, 227: 680-685.
17- Lee, C.H., Yang, L., Xu, J.Z., Ying, S., Yeung, V., Huang, Y., and Chen, Z.Y., 2005, Relative antioxidant activity of soybean isoflavones and their glycosides, Food Chem, 90: 735–741
18- Lertittikul, W., Benjakul, S., and Tanaka, M. 2007. Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein–glucose model system as influenced by pH. Food Chem, 100: 669–677.
19- Laguerre, M., Lecomte, J., and Villeneuve, P. 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Prog. Lipid Res, 46: 244–282.
20- Laroque, D., Inisan, C., Berger, C., Vouland, E., Dufosse, L., & Guerard, F. 2008. Kinetic study on the Maillard reaction. Considering of sugar reactivity. Food Chem, 111: 1032–1042.
21- Morales, J. F., and Jimenez-Perez, S. 2001. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. Food Chem, 72: 119–125.
22- Muppalla, S.R., Sonavale, R., Chawla, S.P., and Sharma, A., 2012, Functional properties of Nisin-Carbohydrate Conjugates Formed by Radiation Induced Maillard Reaction, Radiat. Phys. Chem., Accepted Manuscript
23- Nielsen, P. M., Petersen, D., and Dambmann, C., 2001. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. J Food Sci. 66: 642–646.
24- Sharma, O. P., and Bhat, T. K. 2009. DPPH antioxidant assay revisited. Food Chem, 113: 1202–1205.
25- Van de Lagemaat, J. Manuel Silván, J. Javier Moreno, F. Olano, A. and Dolores del Castillo, M. 2007. In vitro glycation and antigenicity of soy proteins, Food Res Int, 40: 153–160
26- Vhangani, L. N., and Van Wyk, J., 2013, Antioxidant activity of Maillard reaction products (MRPs) derived from fructose–lysine and ribose–lysine model systems, Food Chem, 137: 92–98
27- Yilmaz, Y., and Toledo, R. 2005. Antioxidant activity of water soluble Maillard reaction products. Food Chem, 93: 273–278.
28- Yadav, M.P. Parris, N. Johnston, D.B. Onwulata, C.I. and Hicks, K.B. 2010. Corn fiber gum and milk protein conjugates with improved emulsion stability, Carbohydrate Polymers. 81: 476–483.
29- Zalueta, A., Esteve, M. J., and Frigola, A. 2009. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. Food Chem, 114: 310–316.