



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

Βιοχημεία Τροφίμων Ι

Ενότητα 13^η

Η Αμαύρωση των Τροφίμων (μέρος β)

Όνομα καθηγητή: Έφη Τσακαλίδου

Τμήμα: Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ
2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ





Στόχοι ενότητας

- Κατανόηση της δομής και της λειτουργικότητας των φαινολικών ενώσεων και των ταννινών.
- Κατανόηση του μηχανισμού της ενζυμικής αμαύρωσης και του ρόλου των ενζύμων που εμπλέκονται.
- Κατανόησης της παρασκευής του τσαγιού.
- Κατανόηση της μη ενζυμικής αμαύρωσης.



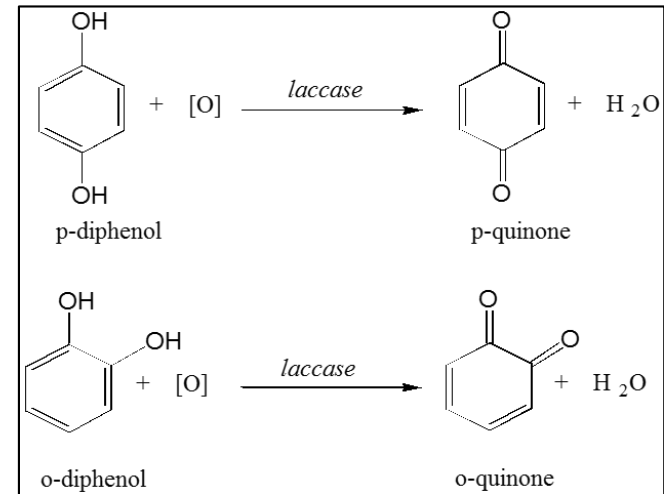
Λέξεις - κλειδιά

- Λέξεις κλειδιά: Ενζυμική Αμαύρωση, Φαινολικές Ενώσεις, Ταννίνες, Λακκάση, Πολυφαινολοξειδάση, Παρεμπόδιση, Τσάι, Αντίδραση Maillard, Καραμελοποίηση.
- Key words: Enzymatic Browning, Phenolic Compounds, Tannins, Laccase, Polyphenoloxidase, Inhibition, Tea, Maillard Reaction, Caramelization.



Λακκάση

- στη λάκα (*Melanorrhea* sp.), σε μύκητες, άλλα δένδρα (ροδακινιά).
- διαλυτή γλυκοπρωτεΐνη κυτταροπλάσματος.
- περιέχει Cu.
- δεν παρεμποδίζεται από CO.
- MB και βέλτιστο pH (όξινο ή ουδέτερο) ποικίλουν ανάλογα με την προέλευση.

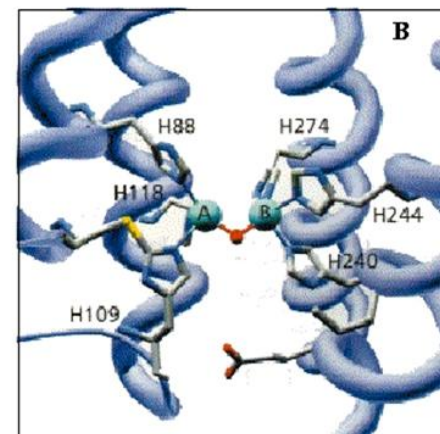
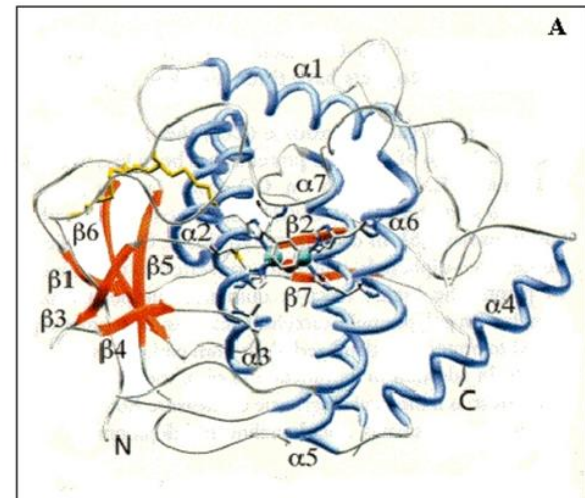


Η ενζυμική (μέσω της λακκάσης) αντίδραση οξειδωσης δι-φαινολών προς κινόνες.



Πολυφαινολοξειδάση (α)

- 10 ισοένζυμα με διαφορετική εξειδίκευση.
- απαντάται:
 - ως διαλυτό ένζυμο.
 - ως μεμβρανικό ένζυμο.
- βέλτιστο pH: μεταξύ 4,0 και 7,0.
- ενεργό κέντρο:
 - 2 άτομα Cu,
 - συνδεδεμένα με 2 μόρια His.
- 3 μορφές:
 - οξυ- **Cu (II) — O — Cu (II)**.
 - δεοξυ- **Cu (II) — CO — Cu (II)**.
 - μετα- **Cu (I) — Cu (I)**.

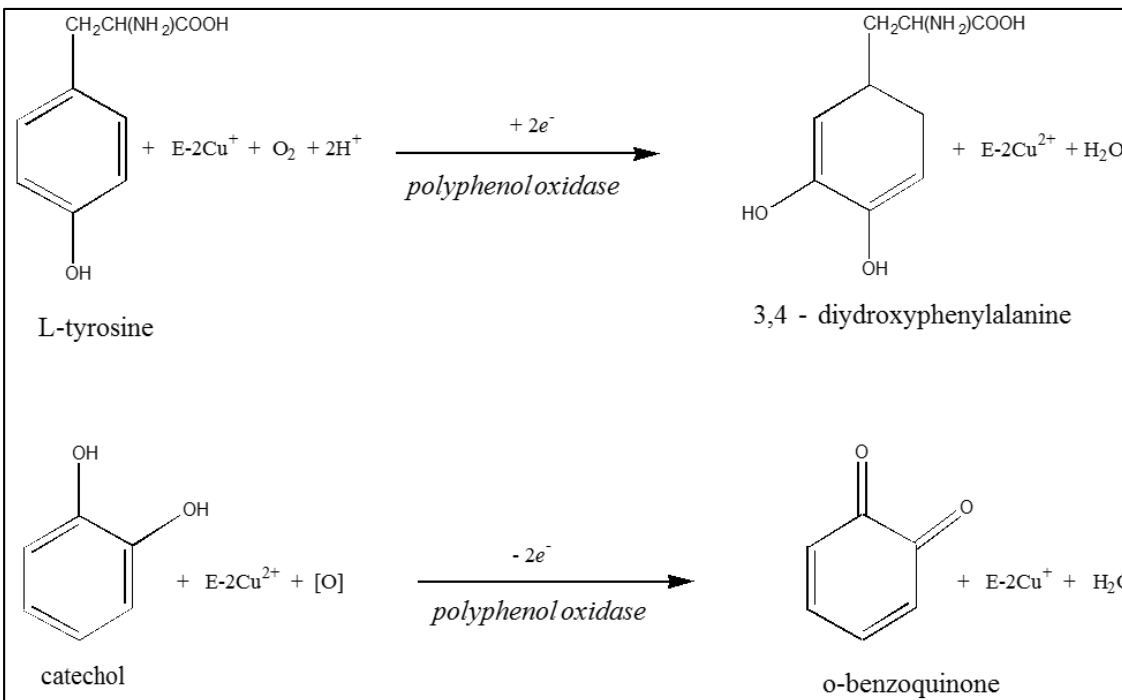




Πολυφαινολοξειδάση (β)

● καταλύει:

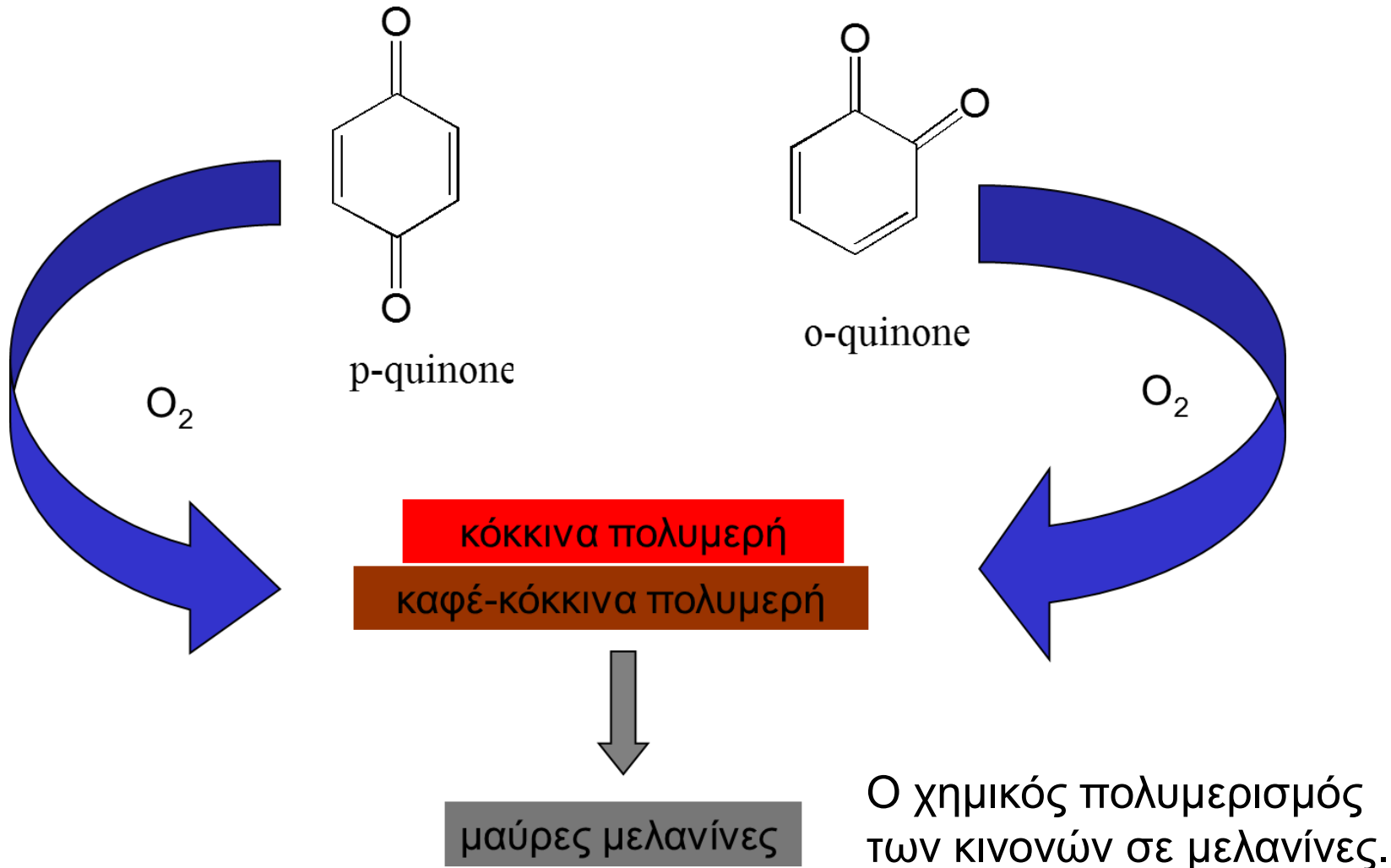
- υδροξυλίωση μονοφαινολών σε ο-διφαινόλες.
- οξείδωση ο-διφαινολών σε κινόνες.
- δεύτερη αντίδραση με πολύ μεγαλύτερη ταχύτητα.



Η ενζυμική (μέσω της πολυφαινολοξειδάσης) αντίδραση υδροξυλίωσης μονοφαινολών σε ο-διφαινόλες και οξείδωσης ο-διφαινολών σε κινόνες.



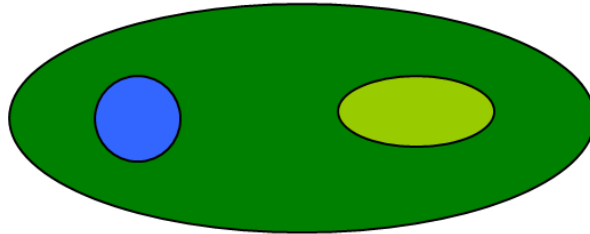
Κινόνες





Ρόλος πολυφαινολοξείδωσης

ΚΕΝΟΤΌΠΙΑ,
φαινολικές ενώσεις

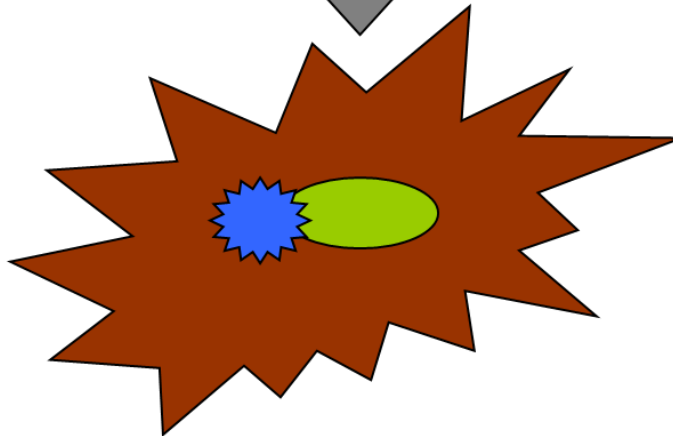


χλωροπλάστες
θυλακοειδής μεμβράνη
αδρανής
πολυφαινολοξειδάση

καταπόνηση



φαινολικές
ενώσεις



χλωροπλάστες
θυλακοειδής μεμβράνη
ενεργή
πολυφαινολοξειδάση

αδιάλυτο πολυμερές,
προστατεύει το φυτό από την εξαπλωση της προσβολής




Τσάι (α)

- ρόφημα με την μεγαλύτερη κατανάλωση στον κόσμο.
- φρέσκα φύλλα φυτού:
 - πολυφαινόλες (ταννίνες), 40% επί του ξηρού βάρους.
- κυριότερες πολυφαινόλες:
 - κατεχίνη.
 - επιγαλλοκατεχίνη.
 - επικατεχίνη.
 - γαλλική επικατεχίνη.
 - γαλλοκατεχίνη.
 - γαλλική επιγαλλοκατεχίνη.





Τσάι (β)

ζύμωση  οξειδωτικές αλλαγές πολυφαινολών
(ταννινών)

οξείδωση ταννινών

φλαβίνες,
κοκκινωπό χρώμα

επιτεϊοφλαβικά οξέα,
μαύρο χρώμα

μείωση πικρής γεύσης

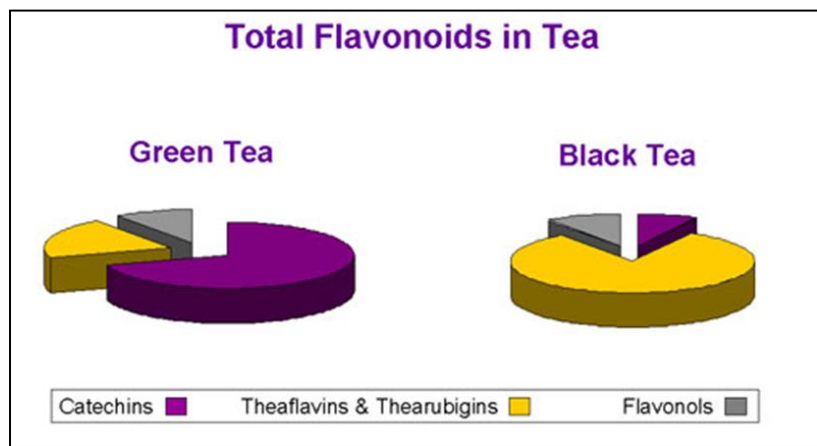
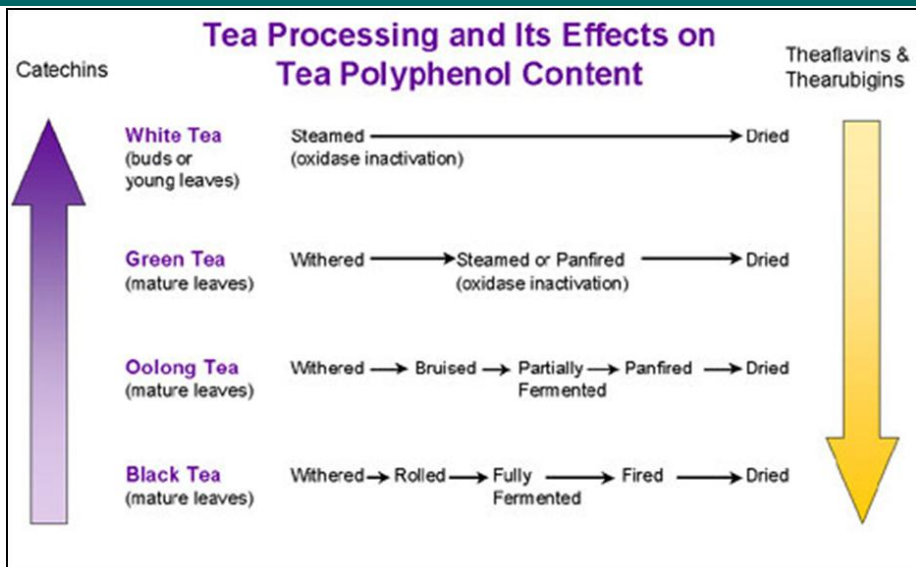


Παραγωγή του τσαγιού (α)

1. οι βλαστοί του φυτού αφήνονται να μαραθούν.
2. σπάει μηχανικά ο φυτικός ιστός:
 - καταστρέφεται η κυτταρική δομή.
 - κατάλληλες συνθήκες για οξειδωτικές διαδικασίες.
3. ζύμωση:
 - θερμοκρασία περιβάλλοντος.
 - υγρή ατμόσφαιρα.
 - παροχή O_2 .
 - δράση πολυφαινολοξειδάσης στις ταννίνες.
4. διακοπή ζύμωσης:
 - ξήρανση φύλλων στους $90-95^{\circ}C$.
 - μείωση υγρασίας στο 3-4%.



Παραγωγή του τσαγιού (β)



Σχηματική απεικόνιση της επεξεργασίας του τσαγιού και της διαμόρφωσης των φαινολικών ενώσεων.



Μέθοδοι ελέγχου ενζυμικής αμαύρωσης (α)

- χρήση αναστολέων πολυφαινολοξειδάσης.
- αποκλεισμός οξυγόνου.
- μετουσίωση της πολυφαινολοξειδάσης.
- ρύθμιση του pH.
- συμπλοκοποίηση του χαλκού.
- δέσμευση των φαινολικών υποστρωμάτων ή των κινονών.



Μέθοδοι ελέγχου ενζυμικής αμαύρωσης (β)

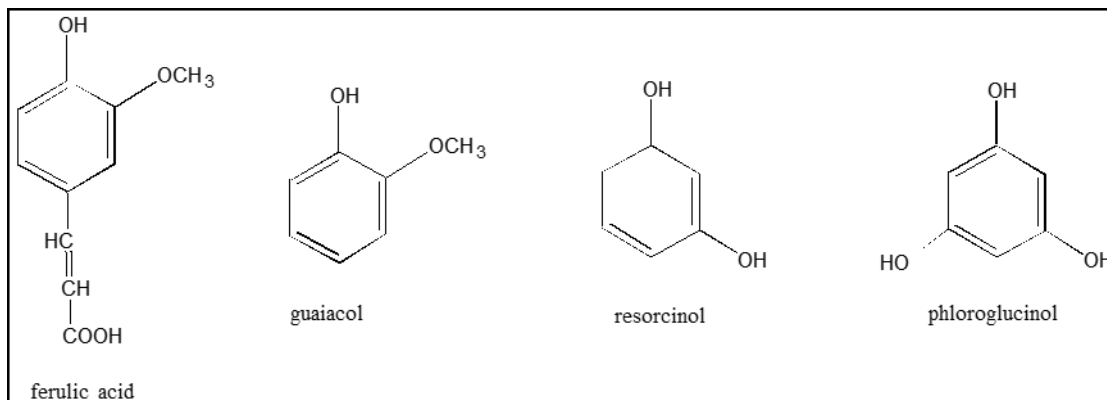
Αναστολείς της πολυφαινολοξειδάσης.

- ενώσεις με δομή όμοια των ο-διφαινολών (συναγωνιστικοί αναστολείς):
 - μεθυλιωμένα φαινολικά παράγωγα (π.χ. φερουλικό οξύ).
 - μ-διφαινόλες.
- κυστεΐνη (αναγωγική δράση, δέσμευση κινονών):
- χηλικά αντιδραστήρια (συμπλοκοποίηση χαλκού δέσμευση κινονών):
 - διαιθυλο-διθειο-καρβαμικό νάτριο (DIECA).
 - αιθυλο-ξανθικό κάλιο.
 - αιθυλενο-διαμινο-τετραοξικό οξύ (EDTA).
 - αζίδιο του νατρίου.



Μέθοδοι ελέγχου ενζυμικής αμαύρωσης (γ)

Αναστολείς της πολυφαινολοξειδάσης. (συνέχεια)



Συντακτικοί τύποι αναστολέων της πολυφαινολοξειδάσης.



Μέθοδοι ελέγχου ενζυμικής αμαύρωσης (δ)

παρεμποδιστές πολυφαινολοξειδάσης

υδροκυάνιο
υδρόθειο



τοξικοί

δισουλφο-διθειο-καρβαμικό νάτριο



δυσάρεστη οσμή

ATP
κυστεΐνη



υψηλό κόστος



Μέθοδοι ελέγχου ενζυμικής αμαύρωσης (ε)

Παρεμποδιστές πολυφαινολοξειδάσης.

Ενώσεις του θείου (SO₂, θειώδη άλατα):

- μηχανισμός δράσης:
 - αντιδρούν με τους S-S δεσμούς της πολυφαινολοξειδάσης.
 - αντιδρούν με τις κινόνες προς άχρωμα προϊόντα προσθήκης.
- πλεονεκτήματα:
 - χρήσιμοι όταν η θέρμανση επηρεάζει αρνητικά δομή / άρωμα.
 - έχουν αντισηπτικές ιδιότητες.
 - δεν καταστρέφουν τη βιταμίνη C.



Μέθοδοι ελέγχου ενζυμικής αμαύρωσης (στ)

Ενώσεις του θείου (SO_2 , θειώδη άλατα): (συνέχεια)

- μειονεκτήματα:
 - η οσμή τους.
 - η λεύκανση των φυσικών χρωστικών προϊόντος.
 - η διάβρωση της μεταλλικής συσκευασίας.
 - τοξικά σε συγκεντρώσεις $> 0.01 \text{ M}$.
 - καταστρέφουν την βιταμίνη B1.
 - προκαλούν αλλεργικές αντιδράσεις.
- χρησιμοποιούνται ευρέως λόγω:
 - του χαμηλού κόστους.
 - της αποτελεσματικότητάς τους.



Μέθοδοι ελέγχου ενζυμικής αμαύρωσης (ζ)

Αποκλεισμός οξυγόνου.

- η πιο απλή μέθοδος.
- μειονέκτημα:
 - η αντίδραση ξεκινά και πάλι όταν το φυτό επανεκτεθεί στο O_2 .
- ασκορβικό οξύ:
 - δέσμευση οξυγόνου



Μέθοδοι ελέγχου ενζυμικής αμαύρωσης (η)

Μετουσίωση πολυφαινολοξειδάσης.

- με θέρμανση,
 - εφ' όσον δεν επηρεάζει το φρούτο/λαχανικό.
- εξαρτάται από τον χρόνο και το pH.

επίδραση ζεστού νερού



απώλειες σε υδατοδιαλυτά συστατικά,
αργή διαβίβαση θερμότητας.

μικροκύματα



γρήγορη απενεργοποίηση,
ανέπαφη δομή φυτού.



Μέθοδοι ελέγχου ενζυμικής αμαύρωσης (θ)

Ρύθμιση του pH.

- το pH επηρεάζει:
 - την ενζυμική αντίδραση πολυφαινολοξειδάσης.
 - τον πολυμερισμό των κινονών.
- πολυφαινολοξειδάσες:
 - βέλτιστο pH μεταξύ 4 και 7.
 - πολύ μικρή ενεργότητα σε $\text{pH} < 3$.



Μέθοδοι ελέγχου ενζυμικής αμαύρωσης (I)

Ρύθμιση του pH. (συνέχεια)

- πολυμερισμός:
 - καθαρά χημική αντίδραση.
 - ταχύτερος σε τιμές pH 6-7.
 - με πολύ μικρή ταχύτητα σε pH < 5.
- ρύθμιση του pH:
 - κιτρικό οξύ.
 - ασκορβικό οξύ.
 - μηλικό οξύ.
 - φωσφορικό οξύ.



Μέθοδοι ελέγχου ενζυμικής αμαύρωσης (κ)

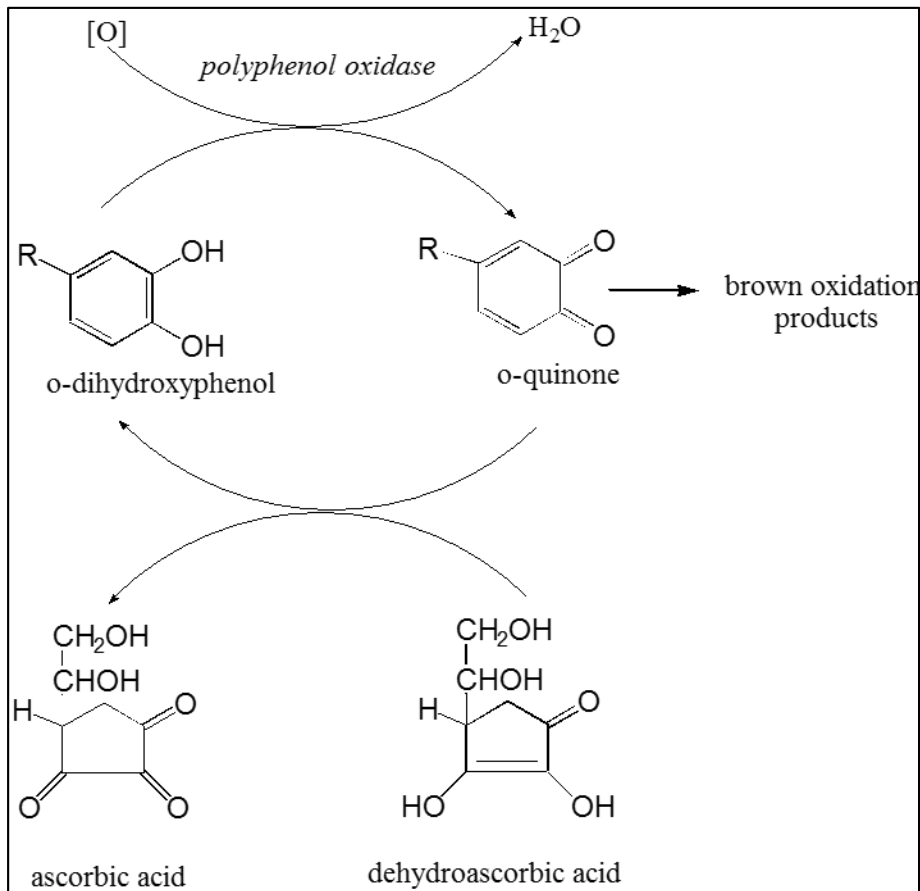
Ασκορβικό οξύ.

- πολύ αποτελεσματικός αναστολέας ΡΡΟ.
- δραστικό σε χαμηλές συγκεντρώσεις.
- δεν επηρεάζει το άρωμα του φρούτου.
- δεν προσβάλλει την μεταλλική συσκευασία.
- τρόπος δράσης:
 - κινόνες μετατρέπονται στις μητρικές δι-υδροξυφαινόλες.
- μηχανισμός δράσης:
 - μάλλον ασαφής.
 - το προϊόν της αντίδρασης αντιδρά ομοιοπολικά με το ένζυμο;
 - η παρεμπόδιση οφείλεται στην αναγωγή του Cu;



Μέθοδοι ελέγχου ενζυμικής αμαύρωσης (λ)

Ασκορβικό οξύ. (συνέχεια)

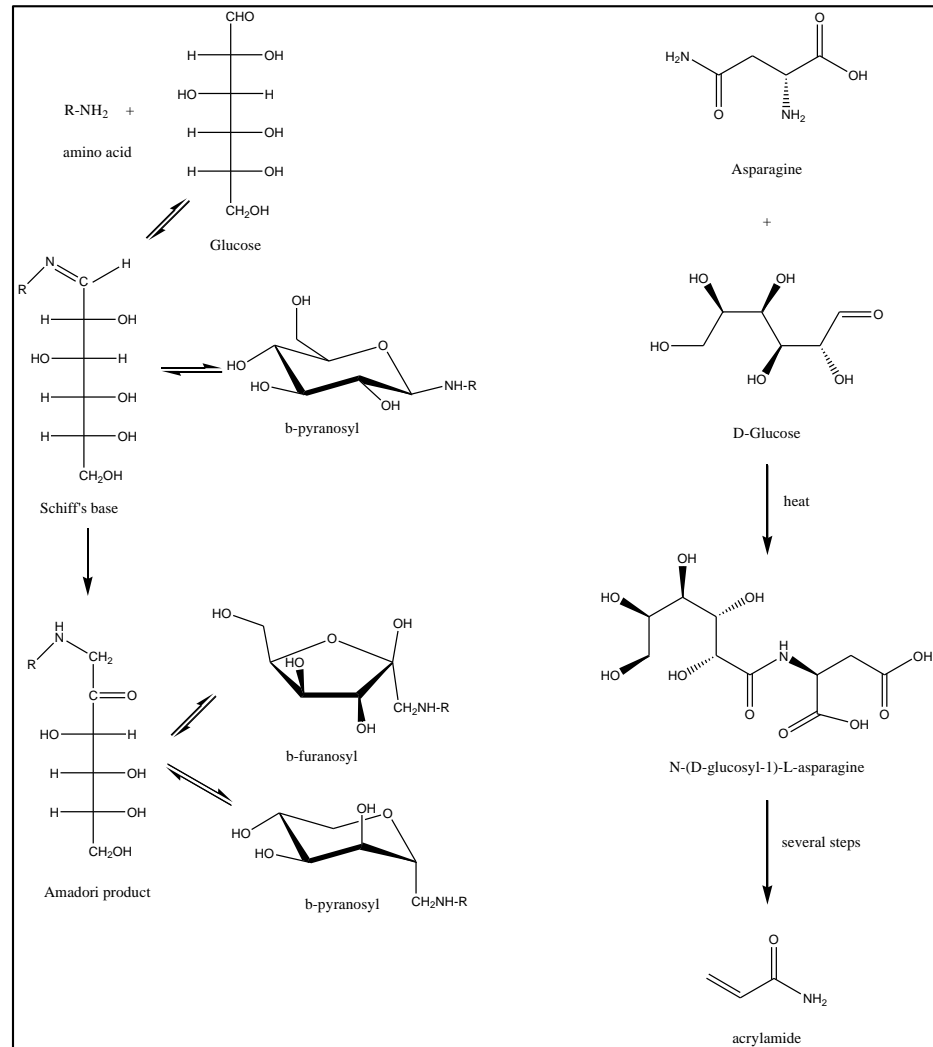


Αντίδραση αναστολής της ενζυμικής αμαύρωσης παρουσία ασκορβικού οξέος.



Αντίδραση Maillard (α)

- μεγάλο εύρος πολύπλοκων μετατροπών.
- σχηματισμός μεγάλου αριθμού πτητικών και μη πτητικών ενώσεων.
- σε τρεις κύριες φάσεις.





Αντίδραση Maillard (β)

1^η φάση:

- συμπύκνωση πρωτοταγών αμινομάδων πρωτεϊνών, πεπτιδίων, αμινοξέων με καρβονυλικές ομάδες αναγόντων σακχάρων.
 - κατά τη συμπύκνωση χάνεται ένα μόριο νερού και,
 - μέσω σχηματισμού βάσεως του Schiff παράγεται το **προϊόν Amadori** (1-αμινο-1-δεοξυ-2-κετόζη).
- **Amadori** ονομάζεται το προϊόν όταν το αρχικό ανάγον σακχαρο είναι μια αλδόζη.
 - **Heyns** ονομάζεται το προϊόν όταν το αρχικό ανάγον σακχαρο είναι μια κετόζη.



Αντίδραση Maillard (γ)

- Σε πολλά τρόφιμα η πρωτοταγής αμινομάδα είναι κυρίως η **ε-αμινομάδα της λυσίνης** (απαραίτητο αμινοξύ), με αποτέλεσμα να μειώνεται:
 - η βιοδιαθεσιμότητα της και άρα,
 - η διατροφική αξία της πρωτεΐνης.
- Τα προϊόντα Amadori αποτελούν πρόδρομες ενώσεις για το σχηματισμό:
 - χαρακτηριστικού αρώματος, γεύσης.
 - καστανών πολυμερών.
- Τα προϊόντα Amadori σχηματίζονται:
 - πριν γίνουν αντιληπτές οι οργανοληπτικές μεταβολές στο τρόφιμο.
- Ο προσδιορισμός τους μπορεί να αποτελέσει
 - έναν ευαίσθητο δείκτη ανίχνευσης των επερχόμενων μεταβολών.



Αντίδραση Maillard (δ)

2^η φάση:

- τα προϊόντα Amadori αποικοδομούνται και σχηματίζονται ενεργές ενδιάμεσες ενώσεις, όπως:
 - η 3-δεοξυ-γλυκοζόνη.
 - πτητικές ενώσεις (σχηματισμός αρώματος).
- η 3-δεοξυ-γλυκοζόνη συμμετέχει:
 - στη διασταύρωση πρωτεϊνών με μεγαλύτερες ταχύτητες από τη γλυκόζη.
- περαιτέρω αποικοδόμηση της οδηγεί στο σχηματισμό ενώσεων όπως:
 - η 5-υδροξυμεθυλο-2φουραλδεΐδη και η πυρραλίνη.



Αντίδραση Maillard (ε)

3^η φάση:

- σχηματισμός αζωτούχων καστανών πολυμερών (μελανοϊδίνες).
- δομή είναι σε μεγάλο βαθμό αδιευκρίνιστη.
- πολυμερή που αποτελούνται από επαναλαμβανόμενες ομάδες:
 - φουρανίων ή πυρρολών,
 - που σχηματίζονται στα τελευταία στάδια της αντίδρασης Maillard.



Αντίδραση Maillard (στ)

- Η ταχύτητα της αντίδρασης Maillard εξαρτάται από:
 - τη χημική σύσταση του τροφίμου.
 - την ενεργότητα του νερού (a_w).
 - το pH.
 - τη θερμοκρασία.
- Κινητικές μελέτες σε συστήματα-μοντέλα προσομοίωσης τροφίμων:
 - οι πεντόζες αντιδρούν ταχύτερα από τις εξόζες.
 - οι εξόζες ταχύτερα από τους δισακχαρίτες.
 - η ε-αμινομάδα της λυσίνης ταχύτερα από τις υπόλοιπες αμινομάδες.



Αντίδραση Maillard (ζ)

- η ταχύτητα μειώνεται:
 - αυξανομένης της ενεργότητας του νερού.
- η ταχύτητα αυξάνει:
 - με την αύξηση του pH ή της θερμοκρασίας.
- στην επεξεργασία τροφίμων η αντίδραση Maillard μπορεί να έχει επιθυμητά ή ανεπιθύμητα αποτελέσματα.
- στο ψήσιμο ή το τηγάνισμα, η αντίδραση Maillard βάση για την ανάπτυξη αρώματος, γεύσης και χρώματος.



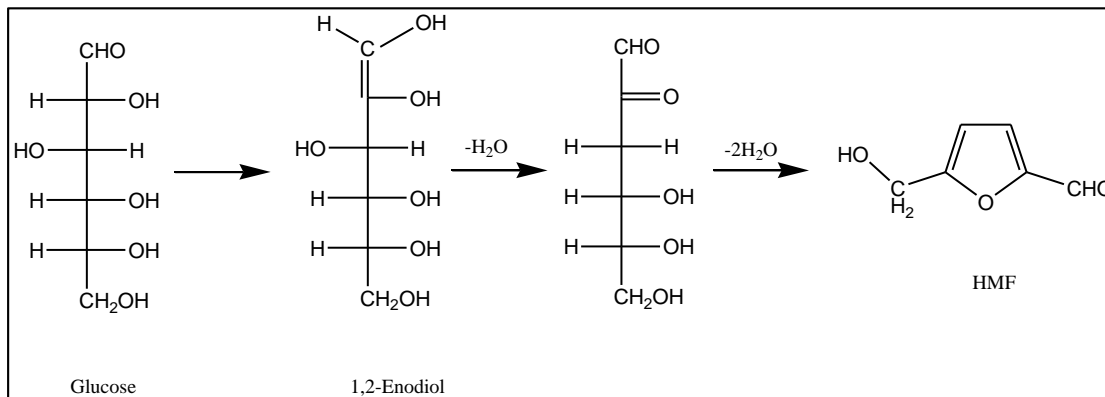
Αντίδραση Maillard (η)

- στην παστερίωση, αποστείρωση ή ξήρανση:
 - ανεπιθύμητες διατροφικές μεταβολές,
 - μείωση διατροφικής αξίας πρωτεϊνών,
 - σχηματισμός καρκινογόνων ετεροκυκλικών αμινών και ακρυλαμιδίου.
- σε κάποια προϊόντα της αντίδρασης Maillard αποδίδονται ευεργετικές δράσεις:
 - αντιοξειδωτικές,
 - αντικαρκινογόνες και,
 - αντιμικροβιακές.



Καραμελόποιηση (α)

- καραμελοποίηση των υδατανθράκων, χωρίς τη συμμετοχή αμινομάδων,
 - σε θερμοκρασίες $> 120^{\circ}\text{C}$,
 - σε $\text{pH} > 9$ και < 3 .
- κάτω από όξινες ή αλκαλικές συνθήκες:
 - άνοιγμα του ημιακεταλικού δακτυλίου αναγόντων υδατανθράκων.
 - ενολοποίηση και σχηματισμός ισομερών υδατανθράκων.



Αντίδραση
καραμελοποίησης
της γλυκόζης.



Καραμελόποιηση (β)

- σε όξινο περιβάλλον:
 - ευνοείται η αφυδάτωση.
 - παραγωγή φουραλδεϋδών:
 - 5-υδροξυμεθυλο-2-φουραλδεϋδη (HMF) από εξόζες.
 - 2-φουραλδεϋδη από πεντόζες.
- σε αλκαλικό περιβάλλον:
 - αργές αντιδράσεις αφυδάτωσης.
 - αποικοδόμηση προς προϊόντα (ακετόνη, ακετοΐνη, διακετύλιο).
- παρουσία οξυγόνου:
 - οργανικά οξέα (φορμικό, οξικό).



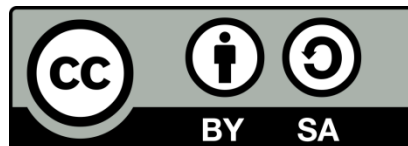
Βιβλιογραφία

- B.K. Simpson (2012) Food Biochemistry and Food Processing, Wiley-Blackwell (ISBN 081380874X).
- M.J. Berg, L.J. Tymoczko, L. Stryer (2011) Βιοχημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης (ISBN 978-960-524-190-2).



Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδεια χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.





Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.





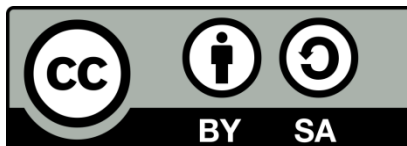
Σημείωμα Αναφοράς

- Copyright Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Τσακαλίδου Έφη, «Βιοχημεία Τροφίμων Ι». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2015. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:
<https://mediasrv.aua.gr/eclass/courses/OCDFSHN109/>



Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων, π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



Η άδεια αυτή ανήκει στις άδειες που ακολουθούν τις προδιαγραφές του Ορισμού Ανοικτής Γνώσης [2], είναι ανοικτό πολιτιστικό έργο [3] και για το λόγο αυτό αποτελεί ανοικτό περιεχόμενο [4].

[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

[2] <http://opendefinition.org/okd/ellinika/>

[3] <http://freedomdefined.org/Definition/EI>

[4] <http://opendefinition.org/buttons/>



Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει) μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.