

بررسی پیشرفت واکنش مایلارد در دو روش حرارت دهی مایکروویو و متداول در سامانه سرم آلبومین گاوی - مالتودکسترین

فرزانه نصرالله زاده^۱، مهدی وریدی^{۲*}، آرش کوچکی^۳، فرزین هادی زاده^۴

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۴- استاد گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۶/۲۰)

چکیده

حرارت دهی مایکروویو به عنوان یکی از روش های رایج گرمادهی در پخت و فرآوری مواد غذایی می باشد که گفته می شود علاوه بر اثرات حرارتی، اثرات غیر حرارتی نیز بر اجزای مواد غذایی دارد. در پژوهش حاضر اثر حرارت دهی مایکروویو و مقایسه آن با حرارت دهی متداول بر پیشرفت واکنش مایلارد در سامانه سرم آلبومین گاوی - مالتودکسترین مورد مطالعه قرار گرفت. واکنش مایلارد در دمای ۹۰°C در شرایط مرطوب و با نسبت های مختلف ۱:۱، ۱:۳ و ۱:۵ از مالتودکسترین: سرم آلبومین گاوی در زمان های ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه انجام پذیرفت. سپس به منظور بررسی پیشرفت واکنش مایلارد، درصد گلیکوزیلاسیون، شدت رنگ، تشکیل ترکیبات حد واسط و ثابت سرعت واکنش توسط آزمون های ارتو فتال دی آلدئید، جذب در ۴۲۰ نانومتر، جذب در ناحیه فرابنفش و ارزیابی پارامترهای رنگی L^* ، a^* و b^* اندازه گیری گردید. آنالیز واریانس داده ها نشان داد که روش حرارت دهی مایکروویو تاثیر بیشتری در پیشبرد واکنش مایلارد داشت، به طوری که درجه گلیکوزیلاسیون و جذب در ۴۲۰ نانومتر اعداد بالاتری را نسبت به روش معمول حرارت دهی نشان دادند. با این وجود، تفاوت آماری معنی داری بین شاخص های رنگی L^* ، a^* و b^* در بین دو روش حرارت دهی مشاهده نگردید ($p > 0.05$). همچنین نتایج موید آن بود که مقادیر بیشتر مالتودکسترین در محیط واکنش (نسبت: ۵: در قیاس با نسبت های ۱:۳ و ۱:۱ مالتودکسترین: پروتئین) اثر معنی داری در پیشرفت واکنش داشت ($p < 0.05$). نتایج بدست آمده نشان داد که واکنش مایلارد تحت مایکروویو از سرعت بالاتری نسبت به روش حرارت دهی حمام آب برخوردار است.

کلید واژگان: واکنش مایلارد، حرارت دهی مایکروویو، حرارت دهی متداول، سرم آلبومین گاوی، مالتودکسترین

*مستول مکاتبات: m.varidi@um.ac.ir

۱- مقدمه

استفاده از انرژی مایکروویو برای انجام واکنش‌های شیمیایی مانند مایلارد هنگامی آغاز گردید که دانشمندان متوجه تفاوت روش معمول حرارتی و مایکروویو در تسریع واکنش‌ها شدند [۱، ۲]. امواج مایکروویو به دسته‌ای از امواج الکترومغناطیسی اطلاق می‌شود که محدوده فرکانسی آن‌ها در بازه ۳۰۰GHz- ۳۰۰MHz قرار دارد [۳]. تبدیل انرژی مایکروویو به گرما از طریق دو مکانیسم چرخش مولکول‌های دوقطبی و هدایت یونی صورت می‌گیرد که در اثر این چرخش گرما در سامانه مورد نظر تولید می‌شود. این در حالی است که حرارت‌دهی به روش‌های معمول اصولاً بر پایه پخش انرژی توسط فرآیندهای همرفت^۱، هدایت^۲ و تابش^۳ در محیط واکنش صورت می‌گیرد [۴]. عقیده بر این است اثر مایکروویو بر واکنش‌های شیمیایی از طریق ترکیبی از دو اثر حرارتی و غیر حرارتی اعمال می‌شود [۵].

از مزیت‌های استفاده از حرارت‌دهی مایکروویو در قیاس با حرارت‌دهی معمول در سنتزهای شیمیایی می‌توان به انتخاب‌گری این پرتوها در برهم‌کنش با ترکیبات، کاهش زمان انجام واکنش، افزایش میزان تولید و خلوص محصول اشاره کرد [۶].

مایلارد، یکی از مهم‌ترین واکنش‌ها در مواد غذایی می‌باشد که حین فرآیند حرارتی و طی زمان نگهداری، بدون استفاده از هیچ‌گونه واکنشگر شیمیایی اضافی بین گروه کربونیل یک قند احیاکننده و گروه آمین آزاد یک اسید آمینه رخ می‌دهد [۷، ۸]. واکنش مایلارد در شرایط کنترل شده به‌عنوان روشی ایمن برای بهبود ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و حسی نظیر رنگ، بو، طعم و ویژگی‌های عملکردی پروتئین‌ها معرفی شده است [۹-۱۳]. با این وجود، طبق بررسی‌های صورت گرفته تشکیل ترکیب سمی آکریل آمید طی واکنش مایلارد در غذاهای غنی از کربوهیدرات بالا به اثبات رسیده است [۱۴، ۱۵].

به لحاظ تکنولوژیکی، کنترل کیفیت مواد غذایی به معنای کنترل تغییرات شیمیایی، فیزیکی و میکروبیولوژیکی طی فرآیند تولید و نگهداری مواد غذایی است [۱۶]. گستردگی واکنش مایلارد در فرآیندهای پخت، حرارت‌دهی و نگهداری مواد غذایی از یک سو

و توسعه استفاده از روش مایکروویو در فرآیندهای مختلف صنایع غذایی [۱۷، ۱۸] از سوی دیگر، ضرورتی را به منظور بررسی این واکنش مهم غذایی تحت مایکروویو و سپس مقایسه آن با روش معمول حرارت‌دهی ایجاد می‌کند تا بدین وسیله اقدامات لازم جهت کنترل یا تسریع این واکنش تحت مایکروویو صورت پذیرد.

پژوهش‌هایی در زمینه بررسی واکنش مایلارد در دو روش حرارت‌دهی معمول و مایکروویو، در سامانه‌های مختلف همچون کازئین- گلوکز/سیکلودکسترین در شرایط مرطوب [۱۹]، اوبومین- گلوکز در شرایط خشک [۲۰]، گالیسین- گلوکز در شرایط مرطوب [۲۱] و ایزوله پروتئین سویا- لاکتوز/ نشاسته در شرایط مرطوب [۲۲] صورت گرفته است. لازم به ذکر است که کنترل متغیرهای دما و زمان در بررسی و مقایسه واکنش مایلارد در این روش‌های حرارتی مختلف از اهمیت بالایی برخوردار است. از آنجایی که در پژوهش‌های گذشته سیستم کنترلی دقیقی برای ثابت نگهداشتن متغیرهای زمان- دما در مایکروویو موجود نبوده است، در نتیجه دسترسی به نتایج قابل استناد برای مقایسه دو روش حرارت‌دهی دشوار به نظر می‌آید [۶].

سرم آلبومین گاوی^۴، بیشترین مقدار پروتئین پلاسما خون گاو را به خود اختصاص می‌دهد و یکی از محصولات جانبی بدست آمده از کشتار دام است. این پروتئین از طریق هفده پیوند دی‌سولفیدی درون مولکولی پایدار شده و دارای ساختمان کروی و مستحکم^۵ می‌باشد [۲۳]. سه ناحیه^۶ اصلی در ساختمان سرم آلبومین گاوی به گونه‌ای آرایش یافته‌اند که باعث ایجاد ساختمان انعطاف‌پذیر در پروتئین شده و توانایی مولکول را برای اتصال با سایر مولکول‌ها افزایش می‌دهند [۲۴، ۲۵]. از طرفی دیگر، از این پروتئین می‌توان برای کاربردهای تکنولوژیکی نظیر حمل ترکیبات فلاونوئیدی و دارویی نیز استفاده نمود [۲۶-۲۸]. به دلیل ویژگی‌های بیولوژیکی، فیزیکوشیمیایی و ساختمانی شناخته شده، در تحقیقات سرم آلبومین گاوی به طور گسترده‌ای در سامانه‌های مدل به کار گرفته می‌شود.

4. Bovine Serum Albumin (BSA)
5. Rigid
6. Domain

1. Convection
2. Conduction
3. Radiation

تیمار حرارتی مایکروویو: بدین منظور از دستگاه مایکروویو آزمایشگاهی میکرو سینس^۳ (مایل استون^۴، آمریکا) استفاده شد. دما و زمان واکنش در این دستگاه که مجهز به سنسور دمایی IR و فیبر نوری با حساسیت بالا بود، کنترل گردید. نوسانات دمایی محلول واکنش و تغییرات فشار به ترتیب برابر $1^{\circ}\text{C} \pm 0/5$ و بار گزارش شد. دمای محلول حاوی بیوپلیمرها، در مدت ۴ دقیقه در دستگاه مایکروویو، با توان ۸۰۰ وات، از 25°C به 90°C رسید. مدت زمان اعمال تیمار حرارتی پس از این ۴ دقیقه در نظر گرفته شد و سپس تیمار حرارتی مایکروویو با توان ۴۵۰ وات در مدت زمان ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه انجام گرفت. محلول واکنش پس از اعمال تیمار حرارتی، به سرعت در حمام آب و یخ خنک شده و برای انجام آنالیزهای بعدی در دمای 4°C نگهداری گردید.

تیمار حرارتی حمام آب: برای این منظور، ظرف حاوی بیوپلیمرها در داخل حمام آب قرار گرفت و دمای محلول طی واکنش با دماسنج دیجیتال کالیبر شده (فرنج کوکینگ^۵، فرانسه)، کنترل گردید. در ابتدا محلول با دمای 25°C بر روی هات پلیت^۶ قرار گرفته و طی ۴ دقیقه دمای آن به 90°C رسید. سپس ظرف واکنش به داخل حمام آب منتقل گردیده و پس از گذشت مدت زمان های ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه، به منظور متوقف نمودن واکنش ظرف نمونه به حمام آب و یخ منتقل و به منظور انجام آزمون های بعدی، در دمای 4°C نگهداری گردید. تغییرات دمایی برای تیمار حرارتی حمام آب $1^{\circ}\text{C} \pm$ ثبت شد.

۲-۲-۲- اندازه گیری درصد گلیکوزیلاسیون

با استفاده از آزمون ارتو- فتالیدی آلدئید و بر اساس روش چارچ و همکاران (۱۹۸۳) [۲۹] و با اندکی اصلاح به روش گارسیا آسکوئا و همکاران (۲۰۱۴) [۳۰] صورت گرفت؛ بدین ترتیب که مقدار ۴۰ میلی گرم از ارتو- فتالیدی آلدئید در ۱ میلی لیتر متانول (۹۸ درصد) حل و سپس به ترتیب ۲۵ میلی لیتر از بافر بوراکس (pH معادل ۹/۷۵ و غلظت ۱۰۰ میلی مولار)، ۲/۵ میلی لیتر محلول ۲۰ درصد وزنی/ حجمی سدیم دو دسیل سولفات و ۱۰۰ میکرولیتر بتا- مرکاپتواتانول به آن افزوده و سپس محلول

مالتودکسترین^۱، پلی ساکاریدی ساخته شده از مونومرهای گلوکز با پیوندهای (۱→۴) α می باشد که از هیدرولیز جزئی نشاسته بدست می آید. به دلیل خثی بودن زنجیره و همچنین قابلیت احیاکنندگی، می توان از آن به عنوان جزء پلی ساکاریدی شرکت کننده در واکنش مایلارد، استفاده کرد.

هدف از پژوهش حاضر، بررسی پیشرفت واکنش مایلارد در حرارت دهی مایکروویو و سپس مقایسه آن با روش معمول حرارت دهی (حمام آب) در شرایط کاملا برابر و کنترل شده دمایی (90°C) و زمانی (۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه)، در سامانه سرم آلبومین گاوی- مالتودکسترین می باشد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

سرم آلبومین گاوی، مالتودکسترین با دکستروز اکی والان ۱۹/۵- ۱۶/۵ و ارتوفتالیدی آلدئید^۲ از شرکت سیگما (آمریکا) خریداری گردید. دیگر مواد مورد استفاده در این پژوهش از کیفیت آزمایشگاهی برخوردار بودند.

۲-۲- روش ها

۲-۲-۱- تهیه کمپلکس های کووالانسی سرم آلبومین

گاوی- مالتودکسترین

سرم آلبومین گاوی و مالتودکسترین مورد استفاده در این پژوهش به طور جداگانه در بافر فسفات سدیم (pH برابر ۷/۵ و غلظت ۵۰ میلی مولار) برای رسیدن به غلظت نهایی ۲ درصد و با نسبت های ۱:۱، ۱:۳ و ۱:۵ وزنی- وزنی مالتودکسترین: سرم آلبومین گاوی تهیه و روی همزن مغناطیسی به مدت ۴۵ دقیقه حل شد. سپس محلول های سرم آلبومین گاوی و مالتودکسترین که به طور جداگانه به مدت ۱۸ ساعت در دمای 4°C جذب آب کرده بودند، با یکدیگر مخلوط گردیده و محلول حاصل مجددا روی همزن مغناطیسی به مدت ۱ دقیقه قرار گرفت. پس از این مرحله، تیمار حرارتی مطابق زیر صورت پذیرفت.

3. MicroSYNTH
4. Milestone
5. French cooking
6. Hot plate

1. Maltodextrin (MD)
2. Ortho-phthalaldehyde (OPA)

وارد ظرف مخصوص شده و پارامترهای رنگی آن در فضای L^* ، a^* ، b^* ثبت شد.

۲-۲-۵- محاسبه ثابت سرعت واکنش

محاسبه ثابت سرعت بر حسب قانون سرعت واکنش‌های شیمیایی و بر اساس مصرف آمین آزاد صورت گرفت (گوان و همکاران، ۲۰۰۶) [۱۷]:

$$\frac{dA}{dt} = kA^n$$

که در آن سرعت کاهش غلظت جزء A طی زمان t بستگی به غلظت آن جزء در نمونه و ثابت سرعت k و n (مرتبه واکنش) دارد. با انتگرال‌گیری از معادله بالا، روابط زیر حاصل خواهد شد:

$$[A] = [A]_0 - k t \quad (\text{معادله ۳. واکنش مرتبه صفر})$$

$$[A] = [A]_0 e^{-kt} \quad (\text{معادله ۴. واکنش مرتبه یک})$$

$$[A]^{-1} = [A]_0^{-1} + kt \quad (\text{معادله ۵. واکنش مرتبه دو})$$

در این پژوهش، A غلظت آمین آزاد است. با توجه به معادلات بالا، ثابت سرعت واکنش برای مصرف آمین آزاد در هر دو روش حرارت‌دهی و در نسبت‌های مختلف از MD-BSA بدست آمد.

۲-۲-۶- آنالیز آماری

آزمون‌های شیمیایی حداقل در دو تکرار انجام گرفت. به منظور بررسی اثرات معنی‌داری تیمارها، داده‌های بدست آمده به روش تجزیه واریانس ANOVA در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد توسط نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۹، ۲۰۱۰، آمریکا) و اثرات متقابل متغیرها توسط نرم‌افزار آماری Minitab (نسخه ۱۶/۲/۴، ۲۰۱۳، آمریکا) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ارزیابی درجه گلیکوزیلاسیون

اساس آزمون ارتو- فتال‌دی‌آلد‌هید اینگونه است که ترکیب فلورسنسی ارتو- فتال‌دی‌آلد‌هید می‌تواند در شرایط قلیایی شدید و در حضور بتا- مرکاپتواتانول و سدیم دو دسیل سولفات با گروه آمین آزاد پروتئین‌ها وارد واکنش شود. کمپلکس حاصل در

حاصل با آب دیونیزه به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. به‌منظور اندازه‌گیری میزان آمین بلوکه شده طی واکنش مایلارد، ۴ میلی‌لیتر از محلول ارتو- فتال‌دی‌آلد‌هید تهیه شده به ۲۰۰ میکرولیتر از محلول‌های کونژوگه (با غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پروتئین) افزوده و پس از دو دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای 35°C ، جذب توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر ماوراء بنفش- مرئی (مدل یو وی ۲۶۰۱، شرکت رای لی، چین) در 340 نانومتر خوانده شد. درصد گلیکوزیلاسیون به صورت زیر محاسبه گردید:

$$DG = \frac{(A_m - A_s)}{A_p}$$

که در آن DG ، A_m ، A_s و A_p به ترتیب نمایانگر درصد گلیکوزیلاسیون، میزان آمین آزاد در مخلوط پروتئین و پلی‌ساکارید (بدون تیمار حرارتی)، میزان آمین آزاد در محلول کونژوگه حاصل و میزان آمین آزاد در محلول پروتئینی می‌باشد. منحنی استاندارد با استفاده از L - لیزین مونوهیدرات و با تهیه محلول مادر با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رسم گردید (غلظت‌های 0.15 - 0.02 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از محلول مادر L - لیزین مونوهیدرات).

۲-۲-۳- اندازه‌گیری جذب در 220 و 294 نانومتر

به‌منظور بررسی پیشرفت تولید ترکیبات ملانوییدینی و ترکیبات آمادوری طی واکنش مایلارد با اندکی تغییر بر اساس روش گوان و همکاران (۲۰۱۱) [۲۲]، به ترتیب جذب محلول‌های کونژوگه در 220 و 294 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر ماوراء بنفش- مرئی (مدل یو وی ۲۶۰۱، شرکت رای لی، چین) اندازه‌گیری شد. محلول کونژوگه ۵ برابر با بافر فسفات سدیم (pH برابر 7.5 و غلظت 50 میلی‌مولار) رقیق و سپس جذب در 294 نانومتر خوانده شد. برای اندازه‌گیری جذب در 220 نانومتر، محلول‌های کونژوگه حاوی 3 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پروتئین تهیه و سپس جذب آن‌ها در 220 نانومتر قرائت گردید.

۲-۲-۴- اندازه‌گیری پارامترهای رنگی L^* ، a^* و b^*

برای تعیین پارامترهای رنگی از رنگ‌سنج دیجیتال (مدل ۴۱۰- سی آر، شرکت کونیتا مینولتا سنسینگ، ژاپن) استفاده گردید. کالیبراسیون اولیه دستگاه به کمک کاشی سفید استاندارد انجام شد. به این ترتیب که مقدار 8 میلی‌لیتر از محلول‌های کونژوگه

مایکروویو و حمام آب به ترتیب برابر ۱۱/۱ و ۱۲ درصد بود که این میزان با گذشت ۱۲۰ دقیقه به ترتیب به ۶۶/۶۵ و ۶۳/۰۵ درصد افزایش یافت. گارسیا آمسکوتا و همکاران (۲۰۱۴) [۳۰] و سنو و همکاران (۲۰۱۲) [۳۳] در پژوهش‌های خود، کاهش درصد آمین‌های آزاد را با افزایش زمان تیمار حرارتی طی واکنش مایلارد گزارش کردند. اثر زمان را می‌توان این گونه تفسیر کرد که در پروتئین‌های کروی شکل، بسیاری از گروه‌های فعال جهت شرکت در واکنش مایلارد، در ساختمان سوم و چهارم پروتئین پنهان شده‌اند؛ با افزایش زمان حرارت دادن و دناتوراسیون پروتئین، این گروه‌ها در معرض قرار گرفته و قابلیت شرکت در واکنش را بدست می‌آورند [۷]. با توجه به شکل ۲ می‌توان دریافت که سرعت افزایش درصد گلیکوزیلاسیون طی زمان در تیمارهای تحت مایکروویو بیشتر از تیمارهای حمام آب بوده است. گوان و همکاران (۲۰۱۱) در تحقیق خود در خصوص بررسی اثرات غیر حرارتی مایکروویو بر واکنش مایلارد دریافتند که سرعت شکستن پیوندهای دی‌سولفیدی پروتئین‌ها در حرارت‌دهی مایکروویو به طور معنی‌داری بیشتر از شکستن این پیوندها در حرارت‌دهی معمول است. این امر موجب باز شدن سریعتر ساختمان پروتئین شده، که نتیجتاً افزایش سرعت گلیکوزیلاسیون را به همراه خواهد داشت [۲۲].

نتایج آنالیز آماری، تغییرات معنی‌دار درجه گلیکوزیلاسیون را در نسبت‌های مختلف مالتودکسترین: سرم آلبومین گاوی نشان داد (شکل ۲). به این صورت که میانگین درصد گلیکوزیلاسیون در نسبت‌های ۱:۱، ۱:۳ و ۱:۵ مالتودکسترین: سرم آلبومین گاوی به ترتیب برابر ۲۴، ۲۸ و ۴۰ درصد مشاهده شد. ژائو و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که طی گلیکوزیلاسیون پروتئین سویا توسط دکستران، با افزایش نسبت پلی‌ساکارید به پروتئین، درجه گلیکوزیلاسیون نیز افزایش می‌یابد [۳۴]. یافته‌های ژانگ و همکاران (۲۰۱۲) روی تاثیر نسبت دکستران بر پیشبرد گلیکوزیلاسیون بتاکانگلاپسین سویا طی واکنش مایلارد نیز این موضوع را تایید نمود [۳۵].

طول موج ۳۴۰ نانومتر جذب خواهد داشت که نشانگر درصد گلیکوزیلاسیون می‌باشد [۲۹].

اندازه‌گیری‌ها نشان دادند که میزان آمین بلوکه شده در هر سه نسبت ۱:۱، ۱:۳ و ۱:۵ از مالتودکسترین: سرم آلبومین گاوی بدون تیمار حرارتی، تقریباً برابر صفر بودند (نتایج نشان داده نشده‌اند). در نتیجه، کاهش میزان آمین آزاد در محلول کونژوگه حاصل و به عبارتی افزایش درصد گلیکوزیلاسیون می‌تواند نشان‌گر اتصال کووالانسی مالتودکسترین به گروه‌های آمین آزاد سرم آلبومین گاوی باشد.

نتایج حاصل از آنالیز واریانس نشان داد که روش حرارت‌دهی مایکروویو نسبت به روش حرارت‌دهی حمام آب اثر بیشتری بر افزایش میزان گلیکوزیلاسیون سرم آلبومین گاوی دارد ($p < 0.05$). یافته‌های گوان و همکاران (۲۰۱۱) [۲۲] روی گلیکوزیلاسیون پروتئین سویا به همراه چهار عامل قندی متفاوت، نشان داد طی تیمار حرارتی، ساختمان پروتئین از حالت ناخورده به حالت باز تبدیل می‌شود؛ در حرارت‌دهی متداول ساختمان پروتئین دستخوش آگلومریزاسیون ثانویه می‌گردد. در حالی که تحت مایکروویو، به علت تغییرات ساختمان دوم پروتئین و همچنین شکستن بیشتر پیوندهای دی‌سولفیدی، آگلومریزاسیون به میزان کمتری رخ می‌دهد در نتیجه وجود ساختارهای تجمعی کمتر در تیمارهای تحت مایکروویو می‌تواند عاملی برای دسترسی بیشتر گروه‌های آمین آزاد برای انجام واکنش مایلارد و به تبع آن درجه گلیکوزیلاسیون بالاتر باشد (شکل ۱). بر اساس یافته‌های بوهر و بوهر (۲۰۰۰) امواج مایکروویو می‌تواند منجر به تغییر سینتیک تاشدگی و دناتوراسیون پروتئین‌ها گردد [۳۱]. همچنین، با بررسی‌های صورت گرفته مشخص شده است که امواج مایکروویو با اثر بر الکترولیت‌های موجود در سامانه‌های غذایی می‌تواند بر تسریع واکنش مایلارد و در نتیجه افزایش شدت رنگ و ترکیبات طعمی اثر گذار باشد [۳۲].

با افزایش زمان حرارت‌دهی، روند افزایشی در گلیکوزیلاسیون سرم آلبومین گاوی مشاهده شد. همانطور که از شکل ۲ پیداست، درصد گلیکوزیلاسیون طی ۱۵ دقیقه از گذشت واکنش در نسبت ۱:۵ مالتودکسترین: سرم آلبومین گاوی، در روش‌های حرارت‌دهی

نتایج نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری بین دو روش حرارت‌دهی در جذب ۴۲۰ نانومتر وجود دارد ($p < 0.05$)، به طوری که مقدار مشاهده شده در گرمادهی مایکروویو (۰/۱۵) بالاتر از حمام آب (۰/۱۲) ثبت گردید. این پدیده را می‌توان به بالاتر بودن درجه گلیکوزیلاسیون در گرمادهی مایکروویو نسبت داد. نتایجی مشابهی در پژوهش بی و همکاران (۲۰۱۵) و گوان و همکاران (۲۰۱۱) به ترتیب در گلیکوزیلاسیون کازئین و پروتئین سویا طی روش مایلارد مشاهده شد و علت آن بالاتر بودن درجه گلیکوزیلاسیون و به دنبال آن پیشرفت واکنش به سمت تولید ترکیبات قهوه‌ای رنگ گزارش گردید [۱۹، ۲۲]. این در حالی است که گوان و همکاران (۲۰۰۶) در گلیکوزیلاسیون پروتئین سویا توسط مالتوز و لاکتوز عدد جذب بالاتری را در طول موج ۴۲۰ نانومتر برای نمونه‌های تحت تیمار حمام آب نسبت به مایکروویو بدست آوردند و علت این پدیده را انجام واکنش‌جانبی کاراملیزاسیون طی حرارت‌دهی حمام آب گزارش کردند [۱۷].

با توجه به شکل ۳، با گذشت زمان میزان جذب در هر دو روش حرارتی روند افزایشی به دنبال داشت که با نتایج حاصل از پژوهش بی و همکاران (۲۰۱۵) و تو و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت داشت [۱۹، ۳۹]. چرا که با گذشت زمان و پیشرفت واکنش، تشکیل ترکیبات مولد رنگ قهوه‌ای افزایش یافت و در نتیجه جذب در ۴۲۰ نانومتر نیز با افزایش قابل ملاحظه‌ای همراه بود. با توجه به شکل ۳ می‌توان دریافت که با تغییر نسبت مالتودکسترین به سرم آلبومین گاوی از نسبت ۱:۱ به نسبت ۱:۵ مالتودکسترین: سرم آلبومین گاوی در هر دو روش حرارت‌دهی میزان جذب به طور چشم‌گیری در ۴۲۰ نانومتر افزایش یافت ($p < 0.05$). این نشان می‌دهد که با افزایش مقدار مالتودکسترین به عنوان قند احیاکننده در محیط واکنش، پیشرفت واکنش بیشتر شده است. زیرا تعداد آمین‌های آزاد به ازای هر مولکول پروتئین نسبت به تعداد گروه احیاکننده در هر مولکول پلی‌ساکارید بیشتر بوده و در نتیجه مقدار بیشتر پلی‌ساکارید در محیط واکنش به پیشرفت واکنش کمک می‌کند. گارسیا آمسکوتا و همکاران (۲۰۱۴) مشاهده کردند با تغییر نسبت مالتودکسترین: پروتئین آب پنیر از نسبت ۱:۱ به ۱:۲ جذب در ۴۲۰ نانومتر به طور چشم‌گیری افزایش یافت [۳۰].

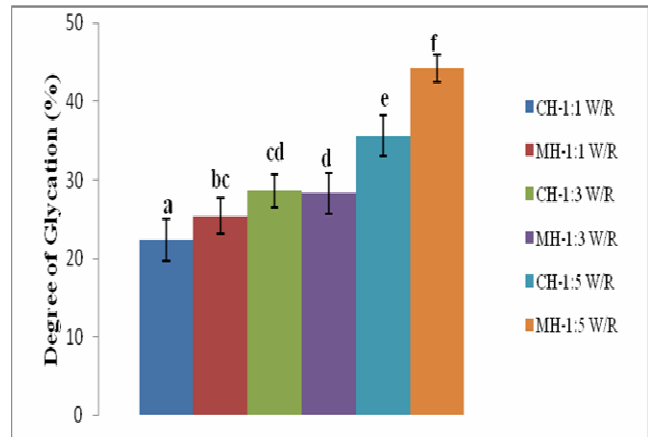


Fig 1 Development of degree of glycation (DG) under both MH (microwave heating) and CH (conventional heating) at 90°C in 1:1, 1:3 and 1:5 weight ratios (W/R) of BSA: MD.

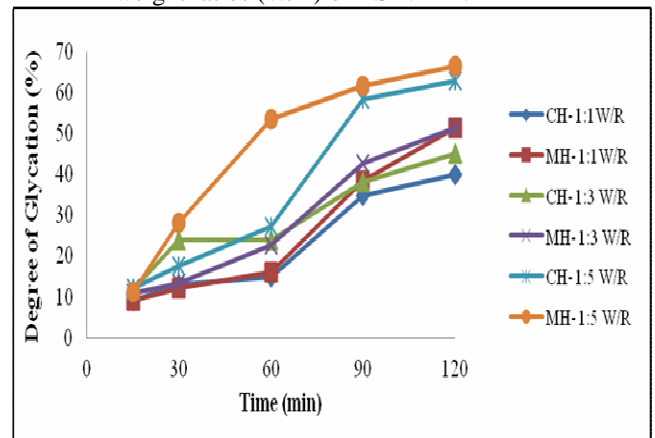


Fig 2 Development of degree of glycation (DG) under both MH (microwave heating) and CH (conventional heating) at 90°C during 120 min of BSA: MD.

۳-۲- پیشرفت قهوه‌ای شدن

تولید ترکیبات رنگی از ویژگی‌های مهم واکنش مایلارد می‌باشد. یکی از روش‌های آسان به منظور بررسی رنگ تولید شده، اندازه‌گیری میزان جذب در ناحیه مرئی و در طول موج ۴۲۰ نانومتر است [۳۶]. مطالعات نشان داده است بخشی از رنگ تولید شده طی واکنش مایلارد مربوط به مولکول‌های غیر اشباع با وزن مولکولی پایین و دارای باندهای دوگانه مزدوج [۳۷] و بخشی مربوط به ترکیبات هتروسیکلیک با وزن مولکولی بالا مانند پیریدین و پیروزین است که در مراحل انتهایی واکنش تولید می‌شوند و در تشکیل رنگ قهوه‌ای نقش به‌سزایی دارند [۳۸].

جذب در ۲۹۴ نانومتر در زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه به ترتیب برابر ۰/۶۳، ۰/۵۷، ۰/۴۸، ۰/۴۵ و ۰/۳۷ بدست آمد. همچنین کمترین و بیشترین میزان جذب در ۲۹۴ نانومتر در هر دو روش حرارت‌دهی به ترتیب در نسبت‌های ۱:۵ و ۱:۱ مالتودکسترین: سرم آلبومین گاوی مشاهده گردید، که نشان می‌دهد در یک نسبت ثابت از پروتئین، افزایش میزان پلی‌ساکارید در محیط واکنش، منجر به تسریع واکنش مایلارد شده و سرعت مصرف محصولات ثانویه و تبدیل آن‌ها به محصولات پایانی را افزایش می‌دهد. نتایج حاصل از آزمون‌های اندازه‌گیری آمین آزاد و جذب در ۴۲۰ نانومتر نیز تایید کننده این واقعیت بودند. همچنین آجاندوز و همکاران (۲۰۰۱) در رابطه با کاهش جذب در این طول موج اظهار داشتند یکی از علل آن می‌تواند تبدیل شدن محصولات ثانویه به محصولات پلیمری باشد که باعث می‌شود جذب در این طول موج کاهش یابد [۴۱].

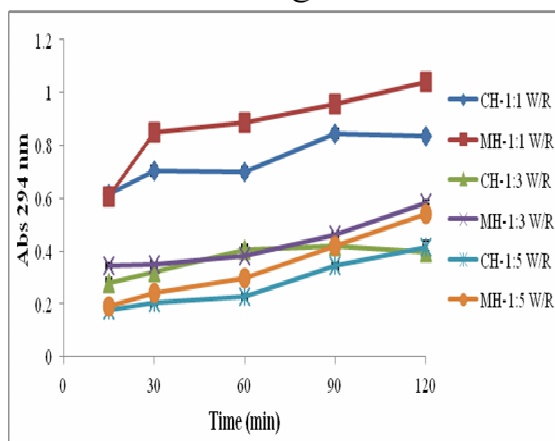


Fig 4 UV absorbance at 294 nm under both MH (microwave heating) and CH (conventional heating) at 90°C during 120 min in 1:1, 1:3 and 1:5 weight ratios (W/R) of BSA: MD.

۴-۳- بررسی تغییرات پارامترهای رنگی L^* و a^*

و b^*

۴-۳-۱- شاخص L^*

شاخص L^* نمایانگر روشنایی نمونه بوده (مقادیر صفر تا ۱۰۰) و مرتبط با میزان نوری است که توسط نمونه انعکاس می‌یابد. تغییرات شاخص L^* در برابر زمان در شکل ۵ رسم شده است. با گذشت زمان، شاخص L^* در هر دو روش حرارتی مایکروویو و حمام آب به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$). علتی

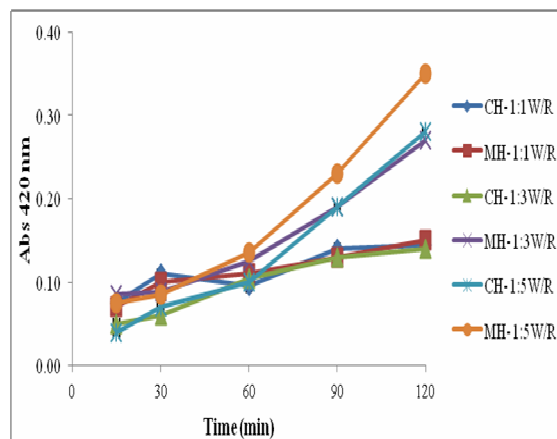


Fig 3 Development of browning intensity (as an indicator of MR end products) under both MH (microwave heating) and CH (conventional heating) at 90°C during 120 min in 1:1, 1:3 and 1:5 weight ratios (W/R) of BSA: MD.

۳-۳- بررسی تغییرات جذب ۲۹۴ نانومتر

بر اساس یافته‌های هادج (۱۹۵۳) در مرحله ثانویه واکنش مایلارد، ترکیبات بی‌رنگ و یا زرد رنگ تولید می‌شوند که جذب بالایی در ناحیه فرابنفش دارند. در واقع، این ترکیبات هستند که با شرکت در واکنش‌های بعدی محصولات پایانی و قهوه‌ای رنگ را ایجاد می‌نمایند [۴۰].

مقایسه میانگین‌های بدست آمده از آزمون اندازه‌گیری جذب در ۲۹۴ نانومتر در دو روش حرارت‌دهی، نشان داد که روش مایکروویو (میانگین ۰/۵۴) جذب بالاتری در ناحیه فرابنفش نسبت به روش حمام آب (میانگین ۰/۴۶) به خود اختصاص داده است ($p < 0.05$) که می‌تواند نمایانگر تشکیل ترکیبات حدواسط بیشتر، در نمونه‌های تحت تیمار حرارتی مایکروویو باشد. پژوهش بی و همکاران (۲۰۱۵) روی تفاوت دو روش حرارت‌دهی متداول و مایکروویو بر تسریع گلیکوزیلاسیون کازئین توسط گلوکز نیز تایید کننده نتایج تحقیق حاضر بود. آن‌ها دریافتند طی زمان‌های اولیه از شروع واکنش، مقدار جذب ۲۹۴ نانومتر در تیمارهای حمام آب بالاتر از مایکروویو بود؛ در حالی که پس از گذشت زمان ۳۰ دقیقه، نتایج عکس آن مشاهده گردید [۱۹].

میزان جذب در ۲۹۴ نانومتر طی زمان با افزایش معنی‌داری همراه بود ($p < 0.05$)، که نشان داد با افزایش زمان تیمار حرارتی، تشکیل ترکیبات حدواسط بیشتر شده است. براین اساس، میزان

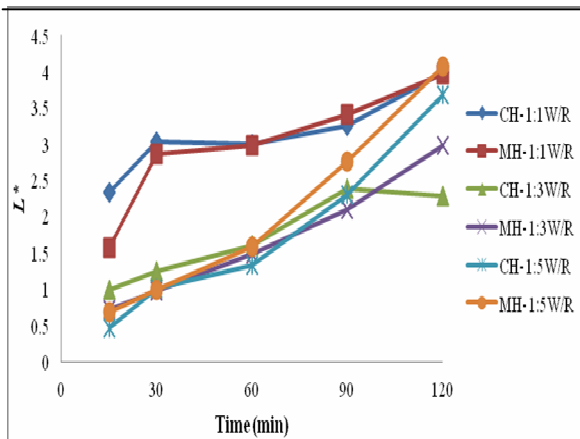


Fig 5 Changing of L^* value under both MH (microwave heating) and CH (conventional heating) at 90°C during 120 min in 1:1, 1:3 and 1:5 weight ratios (W/R) of BSA: MD.

۳-۲-۴- شاخص a^*

مولفه رنگی a^* از رنگ قرمز تا سبز را شامل می‌شود که مقادیر مثبت آن قرمزی و مقادیر منفی سبزی بیشتر نمونه را نشان می‌دهد. با گذشت زمان و ورود واکنش مایلارد به مراحل انتهایی آن، تشکیل ترکیبات پلیمری رنگی با وزن مولکولی بالا و با ساختمان نامشخص افزایش می‌یابد. به این دسته از ترکیبات ملانوییدین^۲ گفته می‌شود [۴۰] که حاوی ۳-۴ درصد نیتروژن بوده و عامل اصلی تولید رنگ قهوه‌ای طی واکنش مایلارد می‌باشند [۳۶]. با تحلیل آماری داده‌های حاصل از آزمون اندازه‌گیری شاخص رنگی a^* مشخص شد که با افزایش زمان تیمار حرارتی از ۱۵ به ۹۰ دقیقه، این مولفه با افزایش معنی‌داری همراه بود ($p < 0.05$) و پس از آن در زمان ۱۲۰ دقیقه کاهش یافت (شکل ۶). همانطور که در آزمون جذب ۴۲۰ نانومتر دیده شد، طی زمان با ورود واکنش مایلارد به مراحل پایانی واکنش، تشکیل ترکیبات رنگی قهوه‌ای افزایش یافته که می‌تواند علتی برای افزایش مولفه a^* از عدد ۰/۴۸ به سمت عدد مثبت‌تر ۱/۰۸ (قرمزی بیشتر) باشد.

از طرف دیگر، نسبت‌های مختلف مالتودکسترین: سرم آلبومین گاوی نیز اختلاف آماری معنی‌داری را در این مولفه رنگی نشان دادند ($p < 0.05$) به طوری که مقادیر ۰/۶۵، ۰/۹۳ و ۰/۹۷ برای مولفه a^* به ترتیب برای نسبت‌های ۱:۱، ۱:۳ و ۱:۵ مالتودکسترین: سرم آلبومین گاوی ثبت گردید. براساس یافته‌های حاصل از آزمون اندازه‌گیری آمین آزاد و جذب در ۴۲۰ نانومتر (شکل‌های ۱، ۲ و ۳) با افزایش نسبت مالتودکسترین به سرم

که در توجیه این پدیده وجود دارد این است که با شروع فرآیند حرارتی در دمای 90°C ، ساختمان پروتئین‌های سرم آلبومین به سرعت باز شده و دناتوراسیون جزئی (باز شدن یک یا دو منطقه از پروتئین) اتفاق می‌افتد [۴۲]. در اثر باز شدن ساختمان پروتئین، گروه‌های هیدروفوب به سطح آمده و در نتیجه با افزایش برهم‌کنش‌های هیدروفوب-هیدروفوب تشکیل ساختارهای تجمعی^۱ تسریع می‌شوند [۴۳]. این ساختارهای تجمعی به علت دارا بودن سطح بزرگتر، نور تابیده شده را منعکس کرده که نمایانگر شاخص رنگی L^* می‌باشد. به این ترتیب، با گذشت زمان، پروتئین‌ها به طور برگشت‌ناپذیر دناتوره و باعث افزایش ساختارهای تجمعی می‌شوند که این پدیده افزایش معنی‌دار شاخص L^* با ادامه فرآیند حرارتی را توجیه می‌کند.

از سوی دیگر، با افزایش نسبت مالتودکسترین به سرم آلبومین گاوی، شاخص L^* به صورت چشمگیری کاهش یافت ($p < 0.05$). به طوری که مقادیر ۱/۶۸، ۱/۸۹ و ۳/۰۴ در نسبت‌های ۱:۵، ۱:۳ و ۱:۱ از مالتودکسترین: سرم آلبومین برای این شاخص حاصل گردید. براساس یافته‌های میلیتو و همکاران (۲۰۰۴) و کوسا و همکاران (۱۹۹۸) که اثر گرمادهی بر پایداری حرارتی سرم آلبومین گاوی و سینتیک تجمع آن را مورد مطالعه قرار دادند، یکی از فاکتورهای موثر بر پدیده تجمع پروتئین‌ها، غلظت پروتئین در محیط واکنش است [۴۴، ۴۵]. به طور کلی با بالا رفتن غلظت پروتئین، تعداد ساختارهای تجمعی افزایش می‌یابد که این امر می‌تواند بر افزایش شاخص L^* موثر باشد. علت دیگری که در تفسیر این پدیده می‌توان در نظر گرفت این است که با افزایش میزان مالتودکسترین (نسبت ۱:۵) در محیط واکنش و به دنبال آن تسریع واکنش مایلارد، تشکیل ترکیبات مولد رنگ افزایش یافت (شکل ۳، جذب ۴۲۰ نانومتر). بنابراین بخشی از نور تابیده شده به نمونه جهت اندازه‌گیری شاخص L^* جذب این ترکیبات مولد رنگ شده و از مقدار پرتو منعکس شده کاسته می‌شود که تیرگی بیشتر نمونه (کاهش شاخص L^*) را به دنبال خواهد داشت.

همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، اختلاف آماری معنی‌داری در مولفه L^* در روش‌های حرارتی مایکروویو و حمام آب دیده نشد ($p > 0.05$).

۳-۵- اندازه‌گیری ثابت سرعت واکنش

روش‌های مختلف حرارتی (حمام آب و مایکروویو) و نسبت‌های مختلف ۱:۱، ۱:۳ و ۱:۵ مالتودکسترین: سرم آلبومین گاوی اثر معنی‌داری بر شاخص b^* نداشتند ($p > 0.05$).

به منظور بررسی سرعت واکنش گلیکوزیلاسیون سرم آلبومین گاوی، کاهش میزان آمین آزاد طی زمان توسط مدل‌های سینتیکی برآورد گردید. با برآزش داده‌های آزمایشی بر مبنای معادلات ۲، ۳ و ۴ برای هر یک از روش‌های حرارت‌دهی و در نسبت‌های مختلف از مالتودکسترین: سرم آلبومین گاوی، اطلاعات حاصل از مدل سینتیکی بدست آمده با بالاترین ضریب تبیین (R^2) در جدول شماره ۱ آورده شده است. بر این اساس، مصرف آمین آزاد طی واکنش مایلارد در هر دو روش حرارتی و در نسبت‌های مختلف از مرتبه یک تبعیت می‌کند؛ به استثنای روش مایکروویو که در نسبت ۱:۵ مالتودکسترین: سرم آلبومین گاوی، مرتبه واکنش صفر را نسبت به مصرف آمین آزاد نشان داد. این نتایج حاکی از آن است که در نسبت ۱:۵ سرعت کل واکنش وابسته به تغییر غلظت پروتئین نمی‌باشد.

اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شده در ثابت سرعت مصرف آمین آزاد طی واکنش در گرمادهی به روش‌های حمام آب و مایکروویو، می‌تواند در اثر دو پدیده صورت گرفته باشد: (۱) طبق معادله آرنیوس، که رابطه بین ثابت سرعت و دما را بیان می‌کند، ضریب پیش‌نمایی A نشان دهنده کل برخوردهای موثر در واحد زمان و در واحد حجم بین مولکول‌های نمونه و وابسته به فرکانس ارتعاشات مولکول‌ها در واکنش است. امواج مایکروویو می‌توانند ارتعاش مولکول‌ها را در سطح چرخشی^۱ افزایش داده و به تبع آن بر افزایش ضریب پیش‌نمایی A و در نتیجه بر ثابت سرعت واکنش موثر باشد [۴۷]. (۲) علاوه بر این، امواج مایکروویو با اثر بر انرژی آزاد فعال‌سازی ΔG منجر به تغییر ضریب پیش‌نمایی می‌شوند [۴۸]. گوان و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که سرعت مصرف آمین آزاد در واکنش مایلارد در سامانه پروتئین سویا- دکستران تحت حرارت‌دهی مایکروویو، ۵۷ برابر سرعت آن در حمام آب بوده است [۱۷].

آلبومین گاوی، تسریع در سرعت واکنش مایلارد مشاهده شد که به دنبال آن ورود به مراحل پایانی واکنش و تشکیل ترکیبات ملانوئیدی افزایش یافت.

پس از بررسی‌های انجام گرفته مشخص شد که اختلاف آماری معنی‌داری در مولفه a^* در دو روش حرارت‌دهی مایکروویو و حمام آب وجود نداشت ($p > 0.05$).

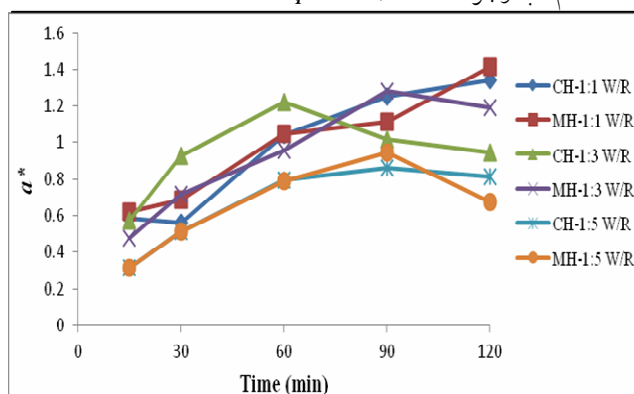


Fig 6 Changing of a^* value under both MH (microwave heating) and CH (conventional heating) at 90°C during 120 min in 1:1, 1:3 and 1:5 weight ratios (W/R) of BSA: MD.

۳-۴-۳- مولفه b^*

مولفه b^* نشان دهنده میزان زرد بودن و آبی بودن نمونه می‌باشد و مقادیر مثبت (زرد) تا منفی (آبی) را شامل می‌شود. همانطور که در شکل ۷ نشان داده شده است، مولفه رنگی b^* با گذشت زمان به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$).

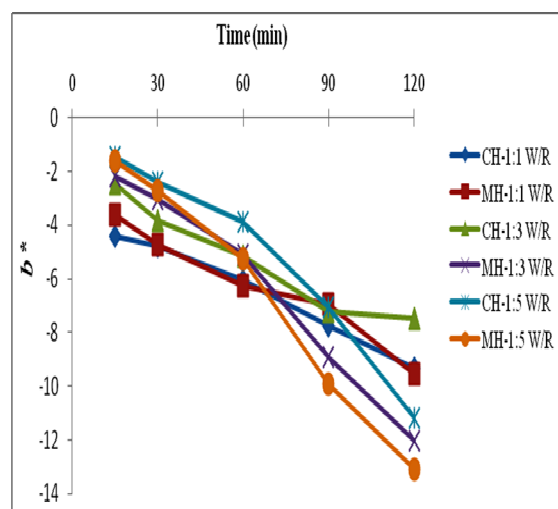


Fig 7 Changing of b^* value under both MH (microwave heating) and CH (conventional heating) at 90°C during 120 min in 1:1, 1:3 and 1:5 weight ratios (W/R) of BSA: MD.

Table 1 Rate constant and reaction order of free amino group consumption during MR, under MH (Microwave heating) and CH (conventional heating), at 90 °C.

Microwave heating			Convictional heating			BSA-MD
R ²	k	Reaction order	R ²	k ¹	Reaction order	weight ratio
0.9878	0.0165±0.0018 ^b	First-order	0.9676	0.0141±0.0020 ^d	First-order	1:1
0.9793	0.0160±0.0013 ^c	First-order	0.9716	0.0140±0.0012 ^d	First-order	1:3
0.8890	0.0020±0.0002 [*]	Zero-order	0.9530	0.0169±0.0010 ^a	First-order	1:5

1The rate constant dimension for zero and first- order reactions are mol/s and 1/s, respectively.

* This treatment was not included in statistical analysis due to different reaction order.

Mean ± standard deviations of triplicate analysis are given. Different letters indicate significant ($p < 0.05$) differences among samples.

[3] Sorrentino, R. and G. Bianchi, *Microwave and RF engineering*. Vol. 1. 2010: John Wiley & Sons.

[4] Kingston, H.M. and L.B. Jassie, *Introduction to microwave sample preparation: theory and practice*. 1988: American Chemical Society.

[5] de la Hoz, A., A. Diaz-Ortiz, and A. Moreno, *Microwaves in organic synthesis. Thermal and non-thermal microwave effects*. Chemical Society Reviews, 2005. 34(2): p. 164-178.

[6] Datta, A.K., *Handbook of microwave technology for food application*. 2 : CRC Press.

[7] Kato, A., *Industrial Applications of Maillard-Type Protein-Polysaccharide Conjugates*. Food Science and Technology Research, 2002. 8(3): p. 193-199.

[8] Fennema, O.R., S. Damodaran, and K.L. Parkin, *Fennema's Food chemistry*. 2008: CRC.

[9] Sun, W.-W., et al., *Properties of whey protein isolate-dextran conjugate prepared using pulsed electric field*. Food Research International, 2011. 44(4): p. 1052-1058.

[10] Zhu, D., S. Damodaran, and J.A. Lucey, *Physicochemical and emulsifying properties of whey protein isolate (WPI)- dextran conjugates produced in aqueous solution*. Journal of agricultural and food chemistry, 2010. 58(5): p. 2988-2994.

[11] Wang, W.-q., Y.-h. Bao, and Y. Chen, *Characteristics and antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products from interactions in a whey protein isolate and sugars system*. Food chemistry, 2013. 139(1): p. 355-361.

[12] Xue, F., et al., *Comparative studies on the physicochemical properties of soy protein isolate-maltodextrin and soy protein isolate-*

نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر تشکیل کونژوگه مایلارد بین سرم آلبومین گاوی و مالتودکسترین را در هر دو روش حرارت دهی تایید نمود. آزمون ارتوفتالدی آلدئید نشان داد که درصد آمین های آزاد بلوکه شده به عنوان معیاری از درصد گلیکوزیلاسیون در روش حرارت دهی میکروویو به طور معنی داری بیشتر از حرارت دهی در حمام آب بود. علاوه بر این، جذب در ۴۲۰ نانومتر و در ناحیه فرابنفش نیز تایید کننده این نتایج بودند. نسبت های مختلف مالتودکسترین: سرم آلبومین گاوی تفاوت آماری معنی داری در تغییرات شاخص های رنگی L^* ، a^* و b^* با یکدیگر داشتند. با این وجود، اختلاف آماری معنی داری بین روش های حرارت دهی میکروویو و حمام آب در شاخص های L^* ، a^* و b^* مشاهده نگردید. بررسی و اندازه گیری ثابت سرعت واکنش مایلارد نشان داد که مرتبه واکنش بر اساس مصرف آمین آزاد در هر سه نسبت از پروتئین و پلی ساکارید از درجه یک می باشند، به استثنای نسبت ۱:۵ در روش میکروویو که از مرتبه صفر پیروی می کند. بر این اساس، می توان نتیجه گرفت که امواج میکروویو می تواند منجر به افزایش سرعت واکنش مایلارد نسبت روش حرارت دهی متداول گردد.

منابع

[1] Gedye, R., et al., *The use of microwave ovens for rapid organic synthesis*. Tetrahedron letters, 1986. 27(3): p. 279-282.

[2] Gedye, R.N., F.E. Smith, and K.C. Westaway, *The rapid synthesis of organic compounds in microwave ovens*. Canadian Journal of Chemistry, 1988. 66(1): p. 17-26.

- [23] Peters Jr, T., *All about albumin: biochemistry, genetics, and medical applications*. 1995: Academic press.
- [24] Roche, M., et al., *The antioxidant properties of serum albumin*. FEBS letters, 2008. 582(13): p. 1783-1787.
- [25] Rondeau, P. and E. Bourdon, *The glycation of albumin: structural and functional impacts*. Biochimie, 2011. 93(4): p. 645-658.
- [26] Khodarahmi, R., et al., *Comparative spectroscopic studies on drug binding characteristics and protein surface hydrophobicity of native and modified forms of bovine serum albumin: possible relevance to change in protein structure/function upon non-enzymatic glycation*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2012. 89: p. 177-186.
- [27] Liu, E.-H., L.-W. Qi, and P. Li, *Structural relationship and binding mechanisms of five flavonoids with bovine serum albumin*. Molecules, 2010. 15(12): p. 9092-9103.
- [28] Gülseren, İ., et al., *Structural and functional changes in ultrasonicated bovine serum albumin solutions*. Ultrasonics Sonochemistry, 2007. 14(2): p. 173-183.
- [29] Church, F.C., et al., *Spectrophotometric Assay Using o-Phthaldialdehyde for Determination of Proteolysis in Milk and Isolated Milk Proteins*. Journal of Dairy Science, 1983. 66(6): p. 1219-1227.
- [30] Garcia-Amezquita, L., et al., *Effect of Maillard reaction conditions on the degree of glycation and functional properties of whey protein isolate-Maltodextrin conjugates*. Food Hydrocolloids, 2014. 38: p. 110-118.
- [31] Bohr, H. and J. Bohr, *Microwave-enhanced folding and denaturation of globular proteins*. Physical Review E, 2000. 61(4): p. 4310.
- [32] YEO, H. and T. SHIBAMOTO, *Effects of moisture content on the Maillard browning model system upon microwave irradiation*. Journal of agricultural and food chemistry, 1991. 39(10): p. 1860-1862.
- [33] Seo, S., et al., *Glycation of lysozyme with galactose, galactooligosaccharides and potato galactan through the Maillard reaction and optimization of the production of prebiotic glycoproteins*. Process Biochemistry, 2012 2:, (47) p. 297-304.
- gum acacia conjugate prepared through Maillard reaction*. Food research international, 2013. 51(2): p. 490-495.
- [13] Hodge, J.E., *Origin of flavor in foods. Nonenzymatic browning reactions*. 1967: Avi Publishing: Westport, CT.
- [14] Donald, S., L. Bronislarnv, and T. Andrew, *ACrylarnide is formed in the maillard reaction*. Nature, 2002. 419: p. 448-449.
- [15] Mottram, D.S., B.L. Wedzicha, and A.T. Dodson, *Food chemistry: acrylamide is formed in the Maillard reaction*. Nature, 2002. 419(6906): p. 448-449.
- [16] Martins, S.I. and M.A. Van Boekel, *Kinetics of the glucose/glycine Maillard reaction pathways: influences of pH and reactant initial concentrations*. Food chemistry, 2005. 92(3): p. 437-448.
- [17] Guan, J.-J., et al., *Microwave improvement of soy protein isolate-saccharide graft reactions*. Food chemistry, 2006. 97(4): p. 577-585.
- [18] CHEN, S.T., et al., *Rapid hydrolysis of proteins and peptides by means of microwave technology and its application to amino acid analysis*. International journal of peptide and protein research, 1987. 30(4): p. 572-576.
- [19] Bi, W., et al., *Study on microwave - accelerated casein protein grafted with glucose and β - cyclodextrin to improve the gel properties*. International Journal of Food Science & Technology, 2015. 50(6): p. 1429-1433.
- [20] Wang, H., et al., *Comparison of glycation in conventionally and microwave-heated ovalbumin by high resolution mass spectrometry*. Food chemistry, 2013. 141(2): p. 985-991.
- [21] Zhou, C., et al., *Examining of athermal effects in microwave-induced glucose/glycine reaction and degradation of polysaccharide from Porphyra yezoensis*. Carbohydrate polymers, 2013. 97(1): p. 38-44.
- [22] Guan, J.-J., et al., *Mechanism of microwave-accelerated soy protein isolate-saccharide graft reactions*. Food Research International, 2011. 44(9): p. 2647-2654.

- [42] Clark, A., G. Kavanagh, and S. Ross-Murphy, *Globular protein gelation—theory and experiment*. Food Hydrocolloids, 2001. 15(4): p. 383-400.
- [43] Van Stokkum, I., et al., *Temperature-induced changes in protein structures studied by Fourier transform infrared spectroscopy and global analysis*. Biochemistry, 1995. 34(33): p. 10508-10518.
- [44] Kosa, T., T. Maruyama, and M. Otagiri, *Species differences of serum albumins: II. Chemical and thermal stability*. Pharmaceutical research, 1998. 15(3): p. 449-454.
- [45] Militello, V., et al., *Aggregation kinetics of bovine serum albumin studied by FTIR spectroscopy and light scattering*. Biophysical chemistry, 2004. 107(2): p. 175-187.
- [46] Agoston, G.A., *Color theory and its application in art and design*. Vol. 19. 2013: Springer.
- [47] Langa, F., et al., *Microwave irradiation: more than just a method for accelerating reactions*. Contemporary organic synthesis, 1997. 4(5): p. 373-386.
- [48] Berlan, J., et al., *Organic-synthesis in microwave field-1st example of specific activation under homogeneous conditions*. Tetrahedron letters, 1991. 32(21): p. 2363-2366.
- [34] Zhuo, X.Y., et al., *Formation of soy protein isolate-dextran conjugates by moderate Maillard reaction in macromolecular crowding conditions*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2013. 93(2): p. 316-323.
- [35] Zhang, X., et al., *Characterization of soy β -conglycinin-dextran conjugate prepared by Maillard reaction in crowded liquid system*. Food Research International, 2012. 49(2): p. 648-654.
- [36] Nursten, H.E., *The Maillard reaction: chemistry, biochemistry, and implications*. 2005: Royal Society of Chemistry.
- [37] Labuza, T.P., et al., *Maillard reactions in chemistry, food and health*. 1998: Elsevier.
- [38] Akagawa, M., T. Sasaki, and K. Suyama, *Oxidative deamination of lysine residue in plasma protein of diabetic rats*. European Journal of Biochemistry, 2002. 269(22): p. 5451-5458.
- [39] Tu, Z.-c., et al., *Microwave heating enhances antioxidant and emulsifying activities of ovalbumin glycosylated with glucose in solid-state*. Journal of Food Science and Technology, 2013: p. 1-9.
- [40] Hodge, J.E., *Dehydrated foods, chemistry of browning reactions in model systems*. Journal of agricultural and food chemistry, 1953. 1(15): p. 928-943.
- [41] Ajandouz, E., et al., *Effects of pH on Caramelization and Maillard Reaction Kinetics in Fructose - Lysine Model Systems*. Journal of Food Science, 2001. 66(7): p. 926-931.

Evaluation of Maillard Reaction Progression through Microwave and Conventional Heating in Bovine Serum Albumin- Maltodextrin System

Nasrollahzadeh, F. ¹, Varidi, M. ^{2*}, Koocheki, A. ³, Hadizadeh, F. ⁴

1. M.Sc. student, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2. Assistant professor (Ph.D), Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3. Associate professor (Ph.D), Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
4. Professor, Medicinal Chemistry Department, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

(Received: 2016/05/02 Accepted: 2016/09/11)

Microwave heating as a widely used method in food industry considered to have non-thermal effects in addition to thermal impacts on food. For examining this hypothesis, Maillard reaction as a pervasive reaction in food processing was evaluated in Microwave (MH) and conventional (CH) heating under well controlled condition. The glycation process was carried out in bovine serum albumin (BSA) – Maltodextrin model system with three different weight ratios (1:1, 1:3 and 1:5) for 15, 30, 60, 90 and 120 min at 90 °C. The extent of glycation was assessed by *ortho*-phthaldialdehyde assay (OPA), *Abs* 420, *Abs* 294 and CIE *L**, *a** and *b** parameters. Statistical analysis showed MH was much more influential in reduction of free amino groups and increase in *Abs* 420 and *Abs* 294 than CH ($p < 0.05$). The least and the greatest glycation percent were observed about 9% in CH during 15 min, and 66.65% by MH in 120 min, respectively. The value of *L** and *a** increased in the time of heating. However, dramatic difference between MH and WH was not seen in these parameters ($p > 0.05$). It showed that graft reactions under MH were much faster than those by WH and microwave can accelerate the rate of Maillard reaction.

Key words: Maillard reaction, Microwave heating, Conventional heating, Bovine Serum Albumin, Maltodextrin

* Corresponding Author E-Mail Address: m.varidi@um.ac.ir,