



Βιοχημεία Τροφίμων

Ενότητα 6^η
*Λιπάσες & Τροποποίηση
Ακυλγλυκερολών*



Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας

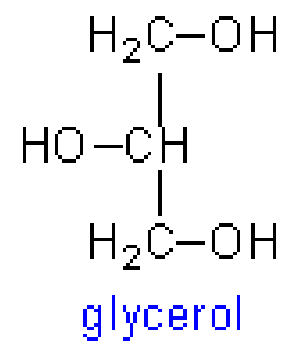
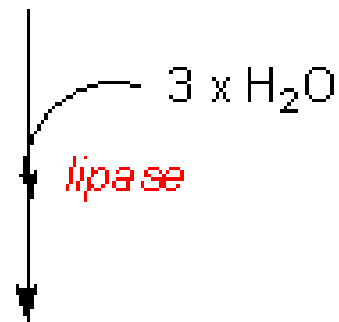
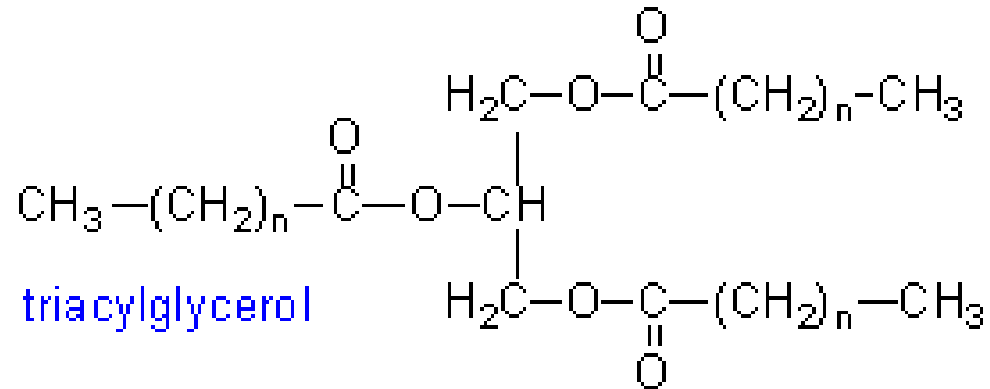
Δημήτρης Π. Μακρής *PhD DIC*
Αναπληρωτής Καθηγητής

Εισαγωγικά

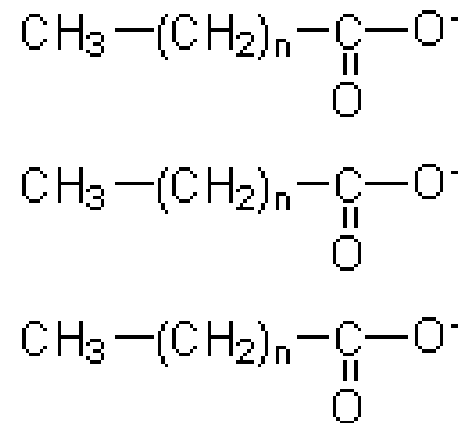
Οι λιπάσες για την επεξεργασία τροφίμων προέρχονται από στομαχικούς ιστούς μοσχарιών ή προβάτων και ζωικών παγκρεατικών ιστών, ως παρασκευάσματα καθαρισμένου ιστού ή υδατικά εκχυλίσματα.

Οι βιομηχανικές λιπάσες παράγονται επίσης από ελεγχόμενες ζυμωτικές διεργασίες με μύκητες όπως ο *Asperillus niger*, ο *Aspergillus oryzae*, η *Candida rugosa* και ο *Rhizomucor miehei*, σε υγρή μορφή ή μορφή σκόνης.

Τυπικές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων συμπεριλαμβάνουν υδρόλυση λιπιδίων, παρασκευή τυριού και αρωμάτων τυριού, μετατροπές λιπιδίων, παρασκευή γαλακτοκομικών προϊόντων και ανάπτυξη αρωμάτων σε επεξεργασμένα τρόφιμα.



+



Διεπιφανειακή Ενεργοποίηση

Οι λιπάσες αποτελούν μια διακριτή τάξη εστερασών που δρουν ειδικά σε μη-υδατοδιαλυτούς εστέρες σε διεπιφάνειες νερού / ελαίου. Η παγκρεατική λιπάση επιδεικνύει μικρή δραστικότητα με τριακετίνη, όταν αυτή είναι σε διάλυμα.

Εντούτοις, όταν η συγκέντρωση της τριακετίνης ξεπεράσει τα όρια διαλυτότητας και αρχίσει να σχηματίζει σωματίδια γαλακτώματος που διαχωρίζονται από το νερό με μια διεπιφάνεια, η δραστικότητα της λιπάσης αυξάνει δραματικά.

Η προσρόφηση της λιπάσης στη διεπιφάνεια έχει σαν επακόλουθο μια αύξηση της δραστικότητας, της τάξης το 10^3 . Αυτό το μοναδικό φαινόμενο να καταλύουν ετερογενή αντίδραση που εμπλέκει διεπιφανειακή ενεργοποίηση, έρχεται σε μεγάλη αντίθεση με τις εστεράσες που δρουν σε υδατοδιαλυτά υποστρώματα και επιδεικνύουν κανονική Michaelis-Menten εξάρτηση από το υπόστρωμα.

Αντιδράσεις Μεταφοράς Ακυλομάδων

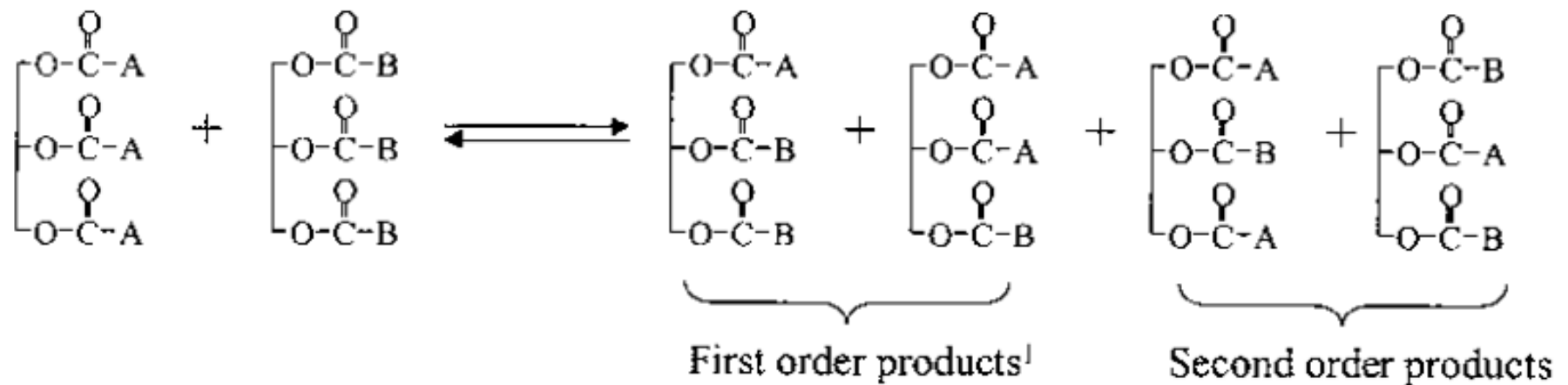
Στον μηχανισμό υδρόλυσης των γλυκεριδίων από τη λιπάση εμπλέκεται πυρηνόφιλη αντίδραση του νερού με ένα ενδιάμεσο σύμπλοκο που ονομάζεται ακυλ-ένζυμο.

Αυτό το στάδιο μπορεί να πραγματοποιηθεί και από άλλα πυρηνόφιλα, όπως αλκοόλες. Τότε πραγματοποιείται μεταφορά ακυλομάδας αντί για υδρόλυση.

Μια από τις αντιδράσεις που καταλύεται από λιπάση και παρουσιάζει ενδιαφέρον στη βιομηχανία τροφίμων είναι η διεστεροποίηση (interesterification) ΤΑΓ.

Σ' αυτές τις αντιδράσεις η ΤΑΓ αντιδρά με ένα λιπαρό οξύ, μια αλκοόλη ή τον εστέρα ενός λιπαρού οξέως, για να παράξει ένα μίγμα νέων ΤΑΓ που προέρχεται από ανασύνταξη των λιπαρών οξέων.

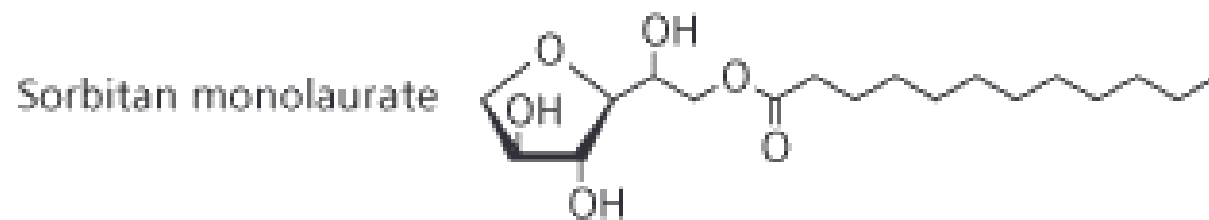
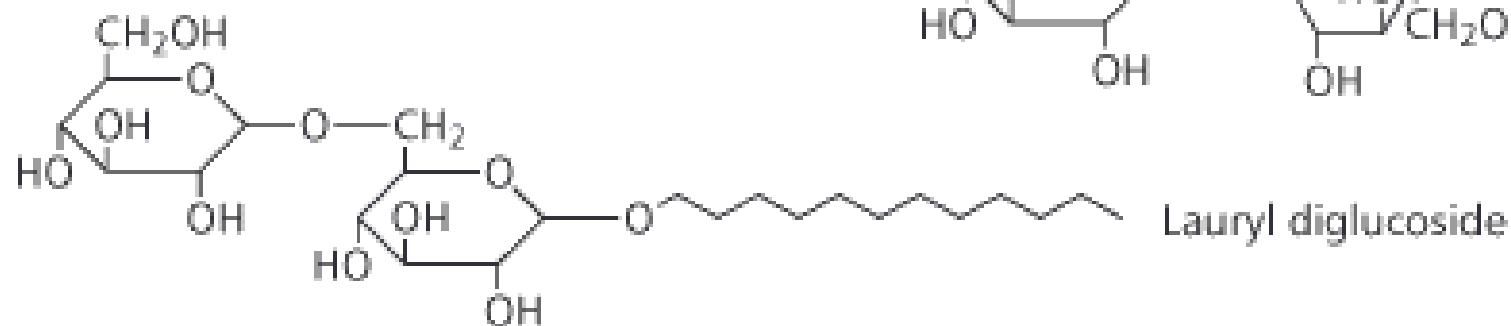
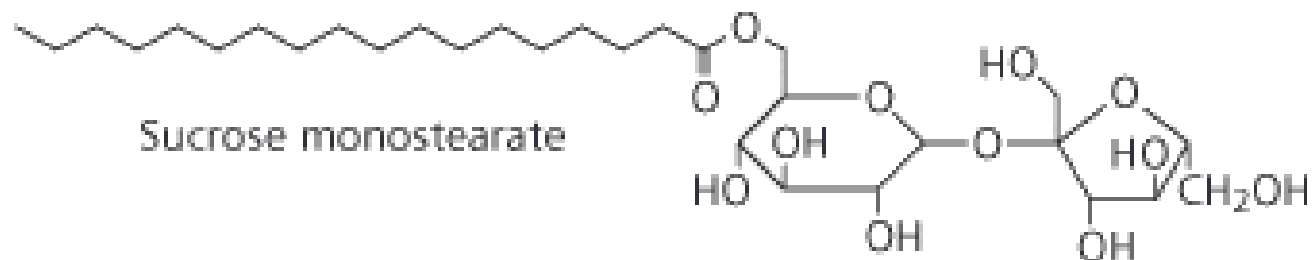
Interesterification

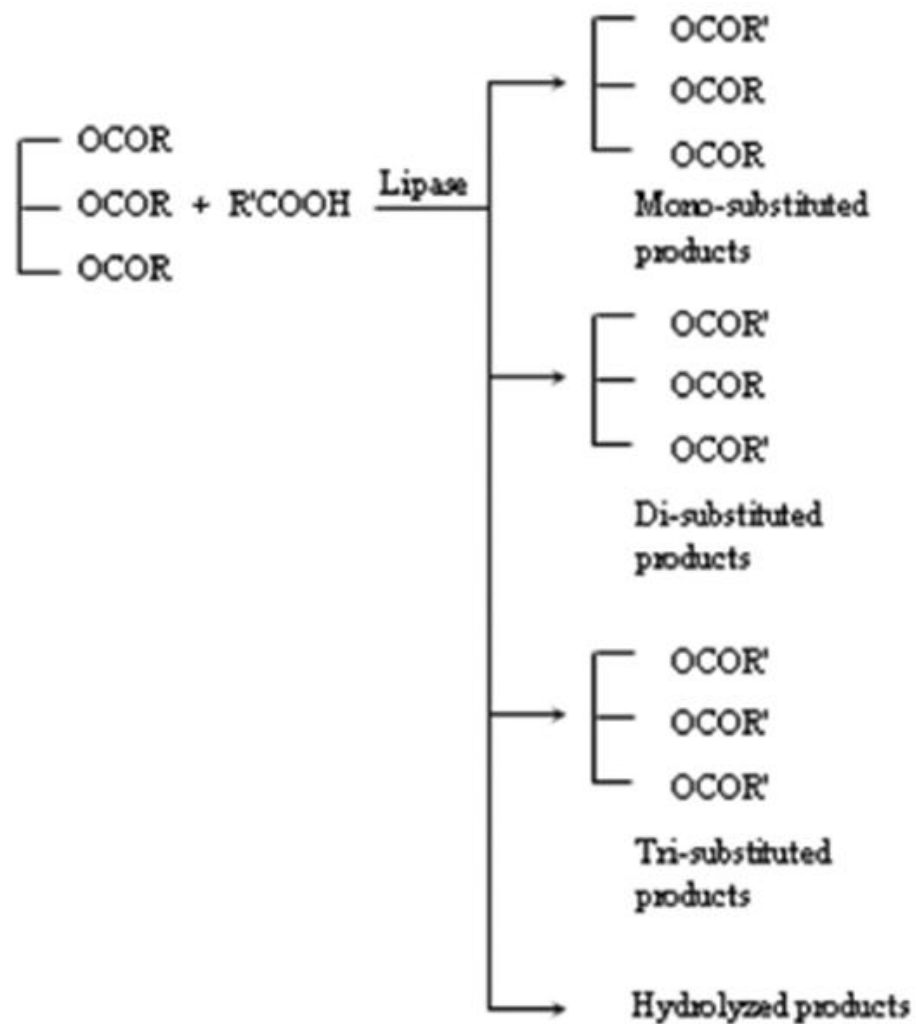


Αντιδράσεις Μεταφοράς Ακυλομάδων

Αυτό μπορεί να επιτευχθεί και με χημικά μέσα, αλλά δεν υπάρχει εξειδίκευση των αντιδράσεων και η κατανομή των λιπαρών οξέων είναι τυχαία. Χρησιμοποιώντας λιπάσες, είναι δυνατόν να παραχθούν προϊόντα, τα οποία είναι εμπλουτισμένα με λιπαρά οξέα σε συγκεκριμένες θέσεις. Έτσι, τροποποιούνται οι φυσικοχημικές και βιολογικές ιδιότητες των ΤΑΓ.

Για παράδειγμα, στη διεστεροποίηση μίγματος ΤΑΓ / λιπαρών οξέων που καταλύεται από λιπάση με εξειδίκευση στις θέσεις 1 και 3, το προϊόν που θα προκύψει αποτελείται από νέες ΤΑΓ, με τα λιπαρά οξέα να έχουν εκλεκτικώς ενσωματωθεί στις θέσεις 1 και 3, ενώ δεν υπάρχει εμπλουτισμός στη θέση 2.





Εξειδίκευση Λιπάσης

Οι τύποι εξειδίκευσης που αποδίδονται στις λιπάσες είναι οι εξής:

1. *Εξειδίκευση υποστρώματος*: Το ένζυμο επιδεικνύει διαφορετικές ταχύτητες λιπόλυσης των διαφορετικών μονο-, δι- και ΤΑΓ, ή διαφόρων λιπαρών οξέων.
2. *Τοποεξειδίκευση*: Το ένζυμο καταλύει την απελευθέρωση λιπαρών οξέων κατά προτίμηση από τον πρωτοταγή εστέρα, δευτεροταγή εστέρα ή δεν παρουσιάζει εξειδίκευση για κανέναν εστέρα.
3. *Στερεοεξειδίκευση*: Το ένζυμο καταλύει τους δύο πρωτοταγείς εστέρες με διαφορετικές ταχύτητες.

Τροποποίηση ακυλγλυκερολών (ΑΓ)

Οι ΑΓ είναι σημαντικά συστατικά ενός εύρους τροφίμων, κυρίως εκείνων που αποτελούνται από γαλακτώματα ελαίου και νερού. Οι ΑΓ αποτελούνται από ένα σκελετό γλυκερόλης, πάνω στον οποίο είναι ενωμένα ένα, δύο ή τρία λιπαρά οξέα, δίνοντας έτσι τις μονο-, δι- και ΤΑΓ, αντίστοιχα.

Η ισορροπία που διαμορφώνεται μεταξύ της υδροφοβικότητας των αλυσίδων των λιπαρών οξέων και της πολικότητας των $-OH$ της γλυκερόλης είναι αυτή που καθορίζει κατά ένα μεγάλο μέρος τη φυσική συμπεριφορά και συνεπώς τις ιδιότητες των ΑΓ μέσα στα τρόφιμα.

Οι ΤΑΓ θεωρούνται οι σημαντικότερες ΑΓ. Είναι τα κύρια συστατικά των λιπών και των ελαίων και διαμορφώνουν διάφορες ιδιότητες των τροφίμων. Εκτός του ότι αποτελούν πηγή ενέργειας, είναι διατροφικώς σημαντικές γιατί παρέχουν απαραίτητα λιπαρά οξέα, λιποδιαλυτές βιταμίνες και φυσικά αντιοξειδωτικά.

Επίσης, σχετίζονται με την υφή του τροφίμου (ικανότητα επάλειψης), καθώς και με τη στοματική αίσθηση και το άρωμα.

Τροποποίηση ΑΓ

Οι ΔΑΓ χρησιμοποιούνται ως γαλακτωματοποιητές, συχνά σε συνδυασμό με ΜΑΓ. Οι ΜΑΓ, έχοντας μια υδρόφοβη αλυσίδα και δύο πολικά $-OH$, είναι οι πιο τασιενεργές ΑΓ. Χρησιμοποιούνται πολύ συχνά για τη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων τύπου λάδι-σε-νερό ή / και νερό-σε-λάδι, σε τρόφιμα αλλά και καλλυντικά.

Επειδή οι ιδιότητες των ΑΓ σχετίζονται με τη σύστασή τους σε λιπαρά οξέα, η τροποποίηση της σύστασης μπορεί ν' αποφέρει ΑΓ με επιθυμητές κατά περίπτωση ιδιότητες.

Γι' αυτό το λόγο η ενζυμική τροποποίηση των ΑΓ κερδίζει τα τελευταία χρόνια σημαντικό έδαφος, σε σχέση με βιομηχανικές εφαρμογές παραγωγής τροποποιημένων γλυκεριδίων.

Ιδιότητα Τήξης

Οι ΤΑΓ είναι η βάση για την παρασκευή προϊόντων επάλειψης, όπως οι μαργαρίνες και τα βούτυρα.

Μια σημαντική λοιπόν ιδιότητα των ΤΑΓ είναι αυτή της τήξης, που σχετίζεται με την υφή του προϊόντος. Η ικανότητα τήξης επηρεάζει την ευκολία με την οποία γίνεται η επάλειψη, αλλά και το στοματικό αίσθημα.

Η ιδιότητα τήξης των λιπών και των ελαίων είναι αποτέλεσμα πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων ανάμεσα στις ΤΑΓ, τα οποία μπορεί να διαφέρουν στη σύσταση των λιπαρών οξέων, αλλά και τη θέση πάνω στο σκελετό γλυκερόλης.

Έτσι, η τροποποίηση της σύστασης ή της κατανομής των λιπαρών οξέων μπορεί να επιφέρει σημαντικές αλλαγές στην ιδιότητα τήξης μιας λιπαρής ουσίας.

Ιδιότητα Τήξης

Η κυριότερη εφαρμογή τροποποίησης ΤΑΓ είναι η παραγωγή βουτύρου κακάο. Αυτή η λιπαρή ουσία παρουσιάζει σημαντικές διαφορές στην τήξη μέσα σ' ένα στενό εύρος θερμοκρασιών, κάτι που την καθιστά κατάλληλο υλικό για εφαρμογές π.χ. στη ζαχαροπλαστική.

Οι ιδιότητες του βουτύρου κακάο οφείλονται στην ιδιαίτερη σύσταση των ΤΑΓ του, που αποτελούνται από παλμιτικό, ολεϊκό και στεαρικό οξύ και δεν είναι πολύ κοινά σε φυτικά υλικά.

Μπορούν όμως να παραχθούν ενζυμικά με χρήση λιπάσης από *Aspergillus niger* με εξειδίκευση στις θέσεις 1,3, χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη στεαρικό οξύ και φοινικέλαιο.

Δομημένες ΤΑΓ

Δομημένες ΤΑΓ είναι οι ΤΑΓ συγκεκριμένης δομής και σύστασης σε λιπαρά οξέα.

Ένα παράδειγμα αποτελεί η ΤΑΓ ΟΡΟ (ολεϊκό, παλμιτικό, ολεϊκό), που είναι η κύρια ΤΑΓ του ανθρώπινου γάλακτος. Η υδρόλυση αυτού της ΤΑΓ από την παγκρεατική λιπάση δίνει ολεϊκό οξύ και 2-μονοπαλμιτίνη, τα οποία απορροφώνται εύκολα από τον οργανισμό.

Πολλά φυτικά λίπη όμως περιέχουν ΡΟΟ, του οποίου η υδρόλυση δίνει παλμιτικό, που σχηματίζει άλας με ασβέστιο και δεν απορροφάται.

Εμπλουτισμός σε Λιπαρά Οξέα

Διατροφικώς σημαντικές ΤΑΓ μπορούν να προέλθουν και από την αφαίρεση ή τον εμπλουτισμό σε συγκεκριμένα λιπαρά οξέα, ανεξάρτητα από τη δομή της ΤΑΓ. Για τη δημιουργία τέτοιων ουσιών η εξειδίκευση των λιπασών καθίσταται πολύ σημαντική.

Η τροποποίηση των ΤΑΓ μπορεί να περιλαμβάνει μείωση της περιεκτικότητας σε κορεσμένα λιπαρά οξέα και αύξηση σε ακόρεστα.

Επίσης, ο εμπλουτισμός μπορεί να γίνει και σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας, τα οποία θεωρούνται ότι έχουν ευεργετικές βιολογικές ιδιότητες.

Παραγωγή ΑΓ

Οι ΜΑΓ χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων και καλλυντικών κυρίως ως γαλακτοματοποιητές, γι' αυτό και παρουσιάζουν πολύ μεγάλο εμπορικό ενδιαφέρον.

Χημικώς, παράγονται με υδρόλυση, αλλά επειδή η επαρκής απόδοση της αντίδρασης απαιτεί σχετικά υψηλές θερμοκρασίες, το προϊόν που προκύπτει έχει σκούρο χρώμα και οσμή «καμένου», με συνέπεια τον περεταίρω καθαρισμό και την αύξηση κόστους.

Η υδρόλυση μπορεί να πραγματοποιηθεί ενζυμικά, χρησιμοποιώντας και παγκρεατική λιπάση χοίρου, αλλά και λιπάση από το μικροοργανισμό *Rhizopus arrhizus*. Και στις δύο περιπτώσεις παρατηρήθηκε παραγωγή 2-ΜΑΓ, με τις αποδόσεις να κυμαίνονται μέχρι και > 90 %.

Η παραγωγή ΜΑΓ μπορεί να πραγματοποιηθεί και με αντίδραση γλυκερόλης με λιπαρά οξέα. Η πατατίνη, ένα ένζυμο από πατάτα, βρέθηκε να πραγματοποιεί την αντίδραση με απόδοση > 95%. Το ένζυμο αυτό όμως δεν είναι εμπορικά διαθέσιμο.