

Blóðþrýstingslækkandi eiginleikar próteina úr skyri og mysu

Sigrún Mjöll Halldórsdóttir ^{a,b}, Patricia Y. Hamaguchi ^a, Margrét Geirsdóttir ^a,
Guðjón Þorkelsson ^{a,b}, Hörður G. Kristinsson ^{a,c} og Arnljótur B. Bergsson ^a
Matis ohf^a, Háskóli Íslands^b, University of Florida^c

Útdráttur

Rannsóknir þær sem lýst er í þessari grein eru þáttur í verkefninu *Nýting ostamysu í heilsutengd matvæli*. Verkefnið fjallar um að bæta nýtingu og auka verðmæti mysu sem fellur til við ostaframleiðslu hjá Mjólkursamlagi KS á Sauðárkróki með því að nýta bæði prótein og mjólkursykur til framleiðslu á heilsudrykkjum og fæðubótarefnum í samvinnu Iceprotein og Líftæknismiðju Matis ohf. í Verinu á Sauðárkróki. Ætlunin er sú að bestu efnisþættirnir verði prófaðir í uppskriftir að drykkjum og öðrum heilsuvörum þar sem aðrir efnisþættir gætu komið úr öðrum áttum. Í lok verkefnisins er þess vænst að ný þekking á eiginleikum mysu-próteina og mjólkursykurs hafi leitt til bættrar nýtingar og aukinna verðmæta ostamysu og annarra vannýttra aukahræfna með því að nýta þau til framleiðslu á heilsudrykkjum og öðrum heilsutengdum matvælum. Með bættri nýtingu mjólkur t.d. með notkun próteina úr mysu má komast hjá óþarfa losun lífefna út í umhverfið. Hvort sem efnisþættir mysu nýtast í sérstaka nýja vöru eða til að drýgja þekktar vörur þá má ná fram aukinni verðmætasköpun.

Mæld voru sýni úr ostamysu auk sýna úr skyri, venjulegri mysu og súrri mysu. Mælingar sýndu fram á blóðþrýstingslækkandi virkni próteina í ostamysu. Áform eru uppi um að sía mysuna og mæla blóðþrýstingslækkandi virkni einstakra efnisþátta hennar.

1. Inngangur

Sýnt hefur verið fram á að prótein og peptíð í fæðu hafa lífvirka eiginleika í líkama mannsins umfram hefðbundið næringargildi (Hartmann and Meisel, 2007). Neysla á lífvirkum peptíðum getur stuðlað að betri heilsu á margan hátt m.a. geta þau haft blóðþrýstingslækkandi áhrif (ACE-hamlandi áhrif) (Bordenave et al., 2002; Theodore and Kristinsson, 2007; Murray and FitzGerald, 2007), unnið gegn oxunaráhrifum (andoxunarvirkni) (Boukourt et al., 2004; Raghavan and Kristinsson, 2008), styrkt ónæmiskerfið (Gildberg, 2003), lækkað kólesteról (Wergedahl et al., 2004) og haft jákvæð áhrif á sykursýki (Rustad, 2007). Þá má hafa áhrif á eiginleika próteina með ýmsum leiðum. Sú aðferð sem mest er notuð er ensímatískt vatnsrof (Kristinsson and Rasco, 2000). Algengasta uppspretta próteina í matvælaíðnaðinum er mjólk og soja baunir og hefur sala á þessum afurðum aukist umtalsvert á undanförunum árum (Jansen and Krijger, 2003).

Ostamysa er aukaafurð sem fellur til við ostaframleiðslu og er dælt í hafið sem úrgangi og er tímaspursmál mál hvenær sú lífefnalosun verði takmörkuð með skírskotun til mengunar. Mysa er góð næring, hefur lífvirka eiginleika og góða vinnslueiginlega. Því er hún mjög góð uppspretta sem fæða hvað varðar lífvirka eiginleika. Mysa er oft notuð í matvælaíðnaði vegna góðra froðu- og ýrueiginleika en einnig sem viðbót til að auka næringargildi afurðar (Pescuma et.al, 2008). Mörg lönd framleiða verðmætar afurðir úr mysu s.s. próteinduft, próteinþykkni og laktósa. Úr því eru síðan unnar vörur á borð við íþróttadrykki, ungbarnablöndur og ýmis konar markfæði. Einnig eru á markaði vörur sem eru sérhannaðar fyrir fólk með mjólkurþol og/eða mjólkurofnæmi. En sum mjólkurprótein geta verið meginorsök

mjólkuróþols og/eða mjólkurofnæmis (laktósi getur einnig verið orsök) sökum stærðar próteinanna. Með því að vatnsrjúfa þessi prótein er dregið verulega úr þeim þáttum sem valda ofnæminu/óþolinu (Pescuma et.al, 2008).

Verð á markfæði er mjög hátt. Heilsumedvitað fólk er tilbúið að greiða hátt verð fyrir vörur sem hafa möguleika á því að bæta heilsu þess og þannig lífsgæði. Í mörgum löndum eru vörur sem hafa blóðþrýstingslækkandi áhrif vinsælar og eru að verða mikilvægur hluti markaðarins (Mellentin, 2006). Með því að framleiða markfæði úr mysu er möguleiki á að auka verðmæti hennar til muna og mögulega hámarka þau.

Tilgangurinn með þessari tilraun var að rannsaka blóðþrýstingslækkandi áhrif ostamysu og mismunandi mjólkurafurða sem þegar eru á markaðnum. Nýta má niðurstöður til þess að benda á notkunarmöguleika mysupróteina og sem grunn að þróun á vatnsrofnum próteinum sem nýta má sem innihaldsefni í markfæði.

2. Efni og aðferðir

2.1. Efni

2.1.1. Sýni

Mismunandi sýni (tafla 1) voru fengin frá matvælaframleiðendum. Sýnin voru sett í skilvindu í 10 mínútur við 20.000 x g (Beckman Coulter TM, Avanti J-20 XPI centrifuge,) við 4-8 °C. Flotinu var safnað saman og það síað í gegnum 0.45 µm sprautusíu (e. syringe filter). Þá voru sýnin frostþurrkuð. Frostþurrkuðu sýnin voru leyst upp í 0.1 M fosfat buffer pH 7.5 áður en þau voru greind.

Tafla 1. Sýni. Upplýsingar á umbúðum varanna.

Nr	Sýni	Framleiðandi	Prótein [g/100 g]	Kolvetni [g/100 g]	Fita [g/100 g]
1	Skyr	MS	11,5	3,3	0,2
2	Skyr óhrært	KEA	13,3	3,9	0,2
3	Skyr hrært	KEA	13,3	3,3	0,5
4	Mysa	MS	0,4	4,2	0,0
5	Ostamysa	KS			
6	Súrmysa	Norðlenska*			

*Mysa notuð súrsunar matvæla, útveguð af Norðlenska

2.2. Aðferðir

2.2.1. ACE hamlandi virkni

ACE virkni var mæld með aðferð Vermeirssens o.fl. (2003) með nokkrum breytingum. Eimað vatn (blindsýni) eða hamlandi lausnin (100 µl) var blandað við 25 µl af 0.2 U/ml ACE (angiotensin converting enzyme) úr kanínulunga (Sigma A 6778; Sigma-Aldrich) og lausnin forhituð í vatnsbaði við 37°C í 2 mín. Því næst var 900 µl af hvarfefnalausninni (0.5 mM N-[3-(2-Furyl)acryloyl]-Phe-Gly-Gly í 50 mM Tris-HCl buffer sem innihélt 300 mM NaCl við pH 7.5, Sigma-Aldrich) bætt í og hitað í aðrar 2 mín. Lausnin var sett í hitaðan kúvettuhaldara-ljósgleypnimæli (e.heated cuvette holder spectrophotometer) (Ultrospec 3000 pro UV/VIS, Amersham, Bioscience) sem var stilltur á 37°C og hvarfið var látið fara fram í 5 mín eftir 30 sek bið við 340 nm. ACE hamlandi virkni (%) var reiknað samkvæmt jöfnu (1).

$$(1 - (\Delta_{sýni} / \Delta_{viðmið}) \times 100) \quad (1)$$

þar sem $\Delta_{sýni}$ er hallatala sýnis sem inniheldur vatnsrofnar einingar (e. hydrolysates), og $\Delta_{viðmið}$ er hallatala viðmiðunarsýnis.

2.2.2. Prótein innihald

Prótein innihald var mælt með aðferð Dumas.

3. Niðurstöður

3.1. ACE hamlandi virkni

3.1.1. Beinar mælingar

ACE hamlandi virkni var hæst í óhrærðu KEA skyri og lægst í Skyri frá MS (tafla 2).

Tafla 2. ACEI (Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory) gildi (%) fyrir mismunandi sýni mjólkurafurða.

Nr	Sýni	Framleiðandi	Prótein innihald		
			(mg/mL)	ACEI [%]	IC50(µg/mL)
1	Skyr	MS	0,10	37,9 ± 6,4	-
2	Skyr óhrært	KEA	0,11	62,1 ± 2,1	16
3	Skyr hrært	KEA	0,16	42,4 ± 4,3	-
4	Mysa	MS	0,59	71,2 ± 6,4	265
5	Ostamysa	KS	1,07	51,5 ± 4,3	909
6	Súrmysa	Norðlenska*	0,76	71,2 ± 2,1	57

*Mysa notuð súrsunar matvæla, útveguð af Norðlenska

IC50 er gildi sem sýnir þann styrk af völdum vatnsrofinna próteina sem þarf til að hamla ACE um 50%. Það er fundið með því að kanna vatnsrofin sýni við mismunandi próteinstyrk. Þá er % ACE hömlunar teiknuð sem fall af prótein styrk. Þegar ACEI gildið er lægra en 50% er ekki hægt að mæla IC50 gildið.

4. Umræður

Niðurstöður sýna að prótein í óhrærðu KEA Skyri hafa besta ACE hamlandi eiginleikan en það þarf aðeins 16 µg/mL af peptíðum til að hamla 50% af ACE. Skyr frá MS og hrært KEA Skyr hafa minni ACE hamlandi virkni. Öll mysusýnin sýna góðar niðurstöður og hafa öll talsverða ACE hamlandi virkni. Súrmysa sýnir mjög góða niðurstöðu en það þarf 57µg/mL til að hamla ACE um 50%. Þetta eru jákvæðar niðurstöður og benda til þess að mysa sé góð uppspretta af lífvirkum peptíðum sem má nota sem innihaldsefni í markfæði.

Við túlkun gagna þarf að hafa í huga að öll sýnin innihalda talsvert magn af kolhýdrötum úr mjólkinni eða sem viðbættur sykur eða sætuefni (tafla 1). Jafnframt þarf að hafa í huga hvert sýrustig (pH) sýnanna er vegna þess hve viðkvæm *utan líkama* (e. *in-vitro*) aðferðin við mælingu á ACEI er. Þá hefur mysa mjög lágt pH gildi. Því voru sýnin frostþurrkuð og síðan leyst upp í pH 7.5 fosfat buffer til að forðast að pH gildi sýna trufluðu niðurstöðurnar.

Örsíun og úðaþurrkun eru þekktar aðferðir sem víða eru notaðar við vinnslu mysu. Með því að nota slíka tækni má skilja mysuna í mismunandi hluta hennar, einangra peptíðin og þetta mysuna. Þetta eru nauðsynleg skref fyrir frekari mysuvinnslu (Pescuma et.al., 2008). Líftæknismiðja Mátis, á Sauðárkróki, hefur slíkan tækjabúnað sem og búnað til að vatnsrjúfa með ensimtækni. Eins og rætt var í innganginum má hafa áhrif á lífvirkni próteina með nokkrum aðferðum og er ensímatískt vatnsrof algengust slíkra. Þar af leiðandi má auðveldlega framleiða lífvirk peptíð úr mysu með sterka lífvirka eiginleika, nota þau sem innihaldsefni í markfæði og þannig hámarka verðmæti mysunnar. Í Líftæknismiðju Mátis er einnig rannsóknastofa með aðstöðu til að mæla ACE hamlandi virkni, aðra lífvirka eiginleika s.s. andoxunavirkni sem og

gera aðrar grunnmælingar á efnainnihaldi. Matís hefur þegar hafið að skilja mysu með örsíunarbúnaði með góðum árangri og hafið ýmsar grunnmælingar á þeim efnivið. Niðurstöðurnar eru jákvæðar og fljótlega verður gefin út skýrsla sem fjallar um þær tilraunir.

Aðrar hugmyndir varðandi hvernig má nýta mysu eru m.a. að bæta unninni mysu í tilbúnað afurðir t.d. ost eða jógúrt til þess að auka næringargildi þeirra. Unna mysu má nýta á þann hátt án þess að hafa áhrif á eiginleika vörunnar og án þess að þurfa að breyta merkingum á umbúðum. Einnig má nýta unna mysu til sælgætisgerðar.

Eitt er víst, að engin ástæða er til að dæla mysu í sjóinn sem úrgangi. Mysa er góð uppspretta lífvirkra og góðra vinnslueiginleika og má nýta hana á tiltölulega ódýran hátt. Mysa er líkleg til að verða mikilvægari sem næring í framtíðinni en hún nú er. Á Íslandi fellur talsvert magn til af þessum mikilvæga efnivið. Því er það tækifæri fyrir íslenskan landbúnað að vinna mysu, nýta hana, hámarka verðmæti hennar og um leið vernda íslenska náttúru.

5. Þakkir

Höfundar vilja þakka Framleiðnisjóði landbúnaðarins og Vaxtarsamningi Norðurlands vestra fyrir stuðning þeirra við verkefnið sem og Mjólkursamlagi Kaupfélags Skagfirðinga fyrir þeirra framlag með sýnum sem og MS Akureyri, fyrir skyr og Norðlenska á Akureyri fyrir súra mysu.

6. Heimildir

Bordenave S, I Fruitier I, Ballander F, Sannier A, Gildberg I, Batista J M, Piot I. 2002. HPLC preparation of fish waste hydrolysate fractions. Effect on guinea pig ileum and ACE activity. *Prep. Biochem. Biotechnol.* 32, 65-77.

Boukourt F O, A Girard, J Prost, D. Ait-Yahia, M. Bouchenak, and J. Belleville. 2004. Fish protein improves the total antioxidant status of streptozotocin-induced diabetes in spontaneously hypertensive rat. *Med. Sci. Monit.* 10, BR397-404.

Gildberg, A. J. 2003. Enzymes and bioactive peptides from fish waste related to fish silage: Fish feed and fish sauce production. In: *Proceedings of the First Joint Trans-Atlantic Fisheries Technology Conference – TAFT 2003.* pp. 328-331. June 10-14, Reykjavik, Iceland. Published by The Icelandic Fisheries Laboratories.

Hartmann R, Meisel H. 2007. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Curr Opin Biotechnol* 18: 163-9.

Jansen JMM, Krijger A. 2003. Beyond butter, cheese and powder: Non-traditional dairy products: Facts, implications and challenges. *Bulletin of the IDF* 384:19-23.

Kristinsson HG, Rasco BA. 2000. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. *Crit Rev Food Sci Nutr* 40:43-81.

Mellentini J. 2006. Strategies for blood pressure lowering products: lessons from Europe, the U.S. and Japan. *New Nutrition Business.* The Centre for Food & Health Studies. London: 56.

Murray BA, FitzGerald RJ. 2007. Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins: Biochemistry, bioactivity and production. *Curr Pharm Des*, 13: 773-91.

Pescuma M, Hérbert EM, Mozzi F, and Valdez GF. 2008. Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. *Food Microbiol.* 25, 442-451.

Raghavan, S. and Kristinsson, H.G. 2008. Antioxidative efficacy of alkali treated tilapia protein hydrolysates: A comparative study of five enzymes. *J. Agric. Food Chem.*, Accepted.

Rustad T. 2007: Physical and chemical properties of protein seafood by-products. Í Shahidi F.: *Maximising the value of marine by-products*, 3-21. Woodhead Publishing Cambridge England.

Theodore, A. and Kristinsson, H. G. 2007. Angiotensin converting enzyme inhibition of fish protein hydrolysates prepared from alkaline-aided channel catfish protein isolate. *J. Sci. Food Agric.* 87(12), 2353-2357.

Vermeirssen V, Van Camp J, Decroos K, VanWijmelbeke L, Verstraete W. 2003. The impact of fermentation and in vitro digestion on the formation of ACE inhibitory activity from pea and whey protein. *J Dairy Sci.* 86:429-38.

Wergedahl, H., B. Liaset, O. A. Gudbrandsen, E. Lied, M. Espe, Z. Muna, S. Mork, and R. K. Berge. 2004. Fish protein hydrolysate reduces plasma total cholesterol, increases the proportion of HDL cholesterol, and lowers acyl-CoA:Cholesterol acyltransferase activity in liver of Zucker rats. *J. Nutr.* 134 (6), 1320-1327.