مقایسه چهار روش اندازه گیری قابلیت آنتی اکسیدانی برای بررسی اثر تخمیر شیر و شیر سویای فرادما توسط باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

سحر ترکی باغبادرانی[۱]، محمدرضا احسانی[۲]، مریم میرلوحی [۳*]، حمید عزت پناه[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی،دانشگاه ازاد اسلامی،واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران
۲- استاد گروه تخصصی علوم و صنایع غذایی،دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ازاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران
۳- استادیار، مرکز تحقیقات امنیت غذایی،گروه صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۴- دانشیار گروه تخصصی علوم و صنایع غذایی،دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ازاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران
(تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۸)

چکیده

در سالهای اخیر بخش مهمی از مطالعات مواد غذایی به خواص آنتی اکسیدانی ترکیبات تشکیل دهنده غذا معطوف شده است و در این رابطه، در منابع مختلف، روش های آزمایشگاهی متفاوتی برای ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی گروههای مختلف مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته است. در این پژوهش، چهار روش ارزیابی خصوصیت آنتی اکسیدانی شامل اثر مهارکنندگی اتواکسیداسیون آسکوربات، اثر ممانعت کنندگی از رادیکال آزاد DPPH، فعالیت مهار کنندگی هیدروژن پراکسید و فعالیت احیاکنندگی،جهت بررسی خصوصیات آنتی اکسیدانی شیر و شیر سویای فرادما و محصولات ناشی از تخمیر آنها مورد مقایسه قرار گرفت. جهت تخمیر از یک سویه بومی لاکتوباسیلوس با منشاء انسانی *لاکتو باسیلوس پلانتاروم* A7 استفاده شد. نتایج بدست آمده نشان داد که نوع روش مورد استفاده می تواند در نتایج بدست آمده اثر گذار باشد. نتایج بدست آمده از روشهای مختلف در مواردی با یکدیگر همخوانی نداشت. از چهار روش مورد مقایسه، اثر ممانعت کنندگی از رادیکال آزاد DPPH و فعالیت احیاء کنندگی همبستگی بیشتری نسبت به سایر روشهای ارزیابی داشتند. با این وجود روش اثر ممانعت کنندگی از رادیکال آزاد DPPH به عنوان بهترین روش در نظر گرفته شد. بر اساس هر دو آزمایش، قابلیت آنتی اکسیدانی در شیر سویای فرادما بیشتر از شیر اندازه گیری شد. با این حال، با کاربرد هر چهار روش ، تخمیر شیر سویا منجربه کاهش قابل توجهی در قابلیت آنتی اکسیدانی شیر سویا گردید.

کلید واژگان: شیر، شیرسویا، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، قابلیت آنتی اکسیدانی،رادیکال ازاد

* مسئول مکاتبات: m_mirlohi@hlth.mui.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

۱- مقدمه

قابلیت آنتی اکسیدانی[1]، پتانسیل مهار و جذب رادیکال های آزاد و یا گونه های فعال اکسیژن تعریف شده است[۱]. رادیکال های آزاد گونه های شیمیایی پر انرژی هستند که از طریق مواد غذایی به بدن انسان منتقل می شوند و یا بوسیله مواد شیمیایی خارجی یا فرایند های متابولیک داخلی در بدن انسان تولید می گردند و می توانند با اکسید کردن بیومولکول ها سبب آسیب های اکسیداتیو گردند و منجر به مرگ سلول و آسیب های بافتی شوند [۲]. مواجهه با رادیکالهای آزاد و آسیب اکسیداتیو ناشی از آنها با بیماری هایی مثل تصلب شرائین، سرطان، بیماری های کبدی و ورم مفاصل مرتبط دانسته شده است [۲، ۳و ۴]. حضور و ورود مکمل های آنتی اکسیدان یا مواد غذایی حاوی آنتی اکسیدان ها می تواند آسیب های اکسیداتیو ناشی از رادیکال های آزاد را در بدن انسان کاهش دهد[۶-۳]. فعالیت آنتی اکسیدانی طبیعی در بسیاری از مواد غذایی وجود دارد. سویا و فراورده های آن از جمله شیر سویا به دلیل حضور ترکیبات فنولیک و ایزوفلاونوئیدهای آن واجد خصوصیات آنتی اکسیدانی هستند[۲،۴و۶-۸] . علاوه بر این مشاهده شده است که تخمیر شیر سویا با باکتری های لاکتیک قابلیت آنتی اکسیدانی آنرا افزایش می دهد[۲،۷]. مصرف شیر سویا و فراورده های تخمیری آن در برخی از کشور های آسیایی به طور سنتی مرسوم بوده است اما امروزه با وجود اطلاعات موجود از خواص آنتی اکسیدانی، استفاده از آن در مناطقی که سابقه مصرف آنرا نداشتند نیز توصیه می شود[۹-۱۴]. بخصوص به دلیل شباهت فیزیکی با شیر و عدم حضور لاکتوز، کلسترول ، اسید های چرب اشباع ومیزان پایین فسفر نظریاتی مبنی بر جایگزینی آن با شیر گاو در افرادی که از ناراحتی های التهابی رنج می برند مطرح گردیده است[۱۵-۱۷]. از طرفی، مطالعات فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین های هیدرولیز شده شیر و پپتیدهای منفرد آزاد شده بعد از هیدرولیز را نیز توضیح داده اند. در این تحقیقات ، فعالیت آنتی اکسیدانی شیر به توالی های خاص اسیدآمینه ها، غلظت بالای هیستیدین و برخی از اسیدهای آمینه هیدروفوبیک نسبت داده شده است .در مورد قابلیت آنتی اکسیدانی شیر نیز مطالعات نشان داده اند که با تخمیر شیر این خاصیت افزایش می یابد [۱۸]. در حالیکه اطلاعات زیادی از خواص آنتی اکسیدانی شیر سویا موجود است، در مورد مقایسه این خاصیت بین شیر و شیر سویا اطلاعات بسیار محدودی ارائه شده است و گزارشی نیز از مقایسه خواص آنتی اکسیدانی شیر سویای تخمیر شده و شیر تخمیر شده ارائه نشده است. بطور کلی روش های تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی به دو گروه کلی عمده تقسیم می شوند و بیشتر آنها نقش مکمل یکدیگر را دارند. از جمله این روشها، روشهایی با مکانیسم واکنش انتقال اتم هیدروژن از جمله روش ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن[2]، اندازه گیری کامل رادیکال[3]، کمیلومینسنس[4]، فتو کمیلومینسنس[5]، لیپوپروتئین با دانسیته پائین[6] و روشهای با مکانیسم واکنش انتقال الکترون منفرد که بر اساس احیاء شدن اکسیدان باعث ایجاد یک تغییر رنگ می شود که شامل روش قدرت انتی اکسیدانی احیای اهن (FRAP)[7] می باشد. و روش هایی با مکانیسم واکنش انتقال توام اتم هیدروژن و الکترون منفرد شامل روش قدرت آنتی اکسیدانی معادل تورولوکس[8]،مهارکنندگی بوسیله رادیکال پایدار ۱ و ۱- دی فنیل-۲- پیکریل هیدرازیل(DPPH)[9] و تشخیص طیف سنجی رزونانس اسپینی الکترون[10]هستند. این روشها برپایه واکنش متقابل با مولکولهای واکنش پذیر یا واکنش پذیری آنها با یونهای فلزی بوده واثرات آنها با اندازه گیری های شیمیایی بررسی شده است.نتایج متعارضی دررابطه باتوانایی و فعالیت آنتی اکسیدانی درتحقیقات مختلفی دیده شده که ازجمله به دلیل وجودترکیبات واکنش دهنده،نوع شروع اکسایش یاروش اندازه گیری برای سنجش اکسایش می باشد[۱،۲،۳،۵و۷].

بررسی منابع نشان می دهد که نوع نمونه غذای مورد آزمایش و روش مورد استفاده در ارزیابی قابلیت آنتی اکسیدانی می تواند در ارزیابی این خاصیت در مواد غذایی اثر گذار باشد[۲،۲۰].خصوصاً زمانی که عوامل مختلف با ماهیت آنتی اکسیدان در نمونه های غذایی حضور دارند، بسته به نقش و میزان شرکت هرکدام نتایج حاصل از بررسی مقاومت آنتی اکسیدانی می تواند کاملا متفاوت باشد [۱].

1. Antioxidant Capability

2. Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)
3. Total Radical Trapping Antioxidant Parameter (TRAP)
4. Chemilumine scence (CL)
5. Photochemilumine scence (PCL)
6. Low Density Lipoprotein (LDL)
7. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)
8. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)
9. 1,1- Diphenyl-2- Picrylhydrazyl (DPPH)
10. Electron Spin Resonance (ESR)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

هدف از این مطالعه مقایسه چهار روش ارزیابی خصوصیت آنتی اکسیدانی شامل اثر مهارکنندگی اتواکسیداسیون آسکوربات، اثر ممانعت کنندگی از رادیکال آزاد DPPH، فعالیت مهار کنندگی هیدروژن پراکسید و فعالیت احیاکنندگی، جهت بررسی خصوصیات آنتی اکسیدانی شیر و شیر سویای فرادما و محصولات ناشی از تخمیر آنها بوسیله سویه بومی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم A7* می باشد. در مرکز تحقیقات امنیت غذایی دانشکده تغذیه و علوم غذایی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، در تحقیقی به شکل موازی با مطالعه حاضر نمونه های شیر و شیر سویای فرادمای مورد استفاده در این مطالعه در رژیم غذایی بیماران دیابت نوع ۲ مبتلا به نفروپاتی قرار گرفتند و تغییرات فاکتور های التهابی و قلبی عروقی در دوگروه مصرف کننده شیر سویا و گروه مصرف کننده شیر بررسی و مقایسه شد[۱۵، ۱۶].

۲- مواد و روش ها

۲-۱- ترکیب نمونه های شیر و شیر سویا

برای انجام این تحقیق از شیرکم چرب (۱/۵درصدچربی) فرادما از شرکت میهن و شیر سویای ساده از شرکت مک سوی (۱درصدچربی) به عنوان محیط تخمیر استفاده شد.بر اساس اطلاعات تولید کننده نمونه شیر مورد استفاده در ۱۰۰ میلی لیتر دارای ترکیبات شامل ۳/۳ گرم پروتئین، ۴/۹ گرم کربوهیدرات، ۱/۵گرم چربی، ۰/۶ گرم مواد معدنی، ۱۰۰میلی گرم کلسیم و ۱۲۰میلی گرم فسفر بود. همچنین نمونه شیر سویای مورد استفاده در ۱۰۰میلی لیتر دارای ترکیبات شامل ۲/۵گرم پروتئین، ۵/۵ گرم کربوهیدرات، ۱/۰ گرم چربی، ۴۰میلی گرم کلسیم و ۴۰ میلی گرم سدیم بود. علاوه بر این، جهت اطمینان از دقت ترکیبات اعلام شده اندازه گیری چربی شیر با روش ژربر[۲۱] و اندازه گیری چربی شیر سویا با روش فلش[11][۲۲] انجام شد. کربو هیدرات در هر دو نمونه با روش فهلینگ اندازه گیری شد .در مورد شیر سویا فاکتور تصحیح برای گزارش ساکارز در نظر گرفته شد.

۲-۲- آماده سازی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم A7* از کلکسیون میکروبی آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه صنعتی اصفهان فراهم گردید. این سویه قبلا از فلور روده ای یک کودک ۱۹ ماهه ایزوله شده است و شناسایی آن باروش های بیوشیمیایی و مولکولار صورت گرفته است[۲۳، ۲۴]. باکتری مورد تحقیق در ۱۰میلی لیتر از محیط کشت مایع MRS[12] رشد داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰-۱۶ ساعت گرمخانه گذاری گردید. از کشت مایع تازه باکتری برای کشت در محیط شیر و شیر سویا استفاده شد.

۲-۳- تخمیر شیر و شیر سویا

نمونه های شیر و شیر سویا به میزان ۲۰۰میلی لیتر تحت شرایط استریل در داخل ارلن های استریل ریخته شد. به محیط های تخمیر بر پایه شیر سویا و شیر گاو به میزان ۲ ٪(حجمی/حجمی) از مایه تلقیح حاوی سلول های باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* A7 با دانسیته نوری ۱/۲در طول موج ۶۲۰ نانومتر (حاوی حداقل10^8 سلول باکتریای در هر میلی لیتر) در محیط MRS اضافه شد و ظروف تخمیر در داخل انکوباتور(WT_Binder -آلمان) در شرایط هوازی و دمای ۳۷ °C به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری شد.

۲-۴- شمارش تعداد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در محیط های تخمیر

جهت انتخاب نمونه تخمیر شده، تغییرات جمعیت و تغییرات pH محصولات تخمیری در مدت ۳۷ ساعت بررسی شد تا نمونه های مناسب برای مقایسه خاصیت آنتی اکسیدانی انتخاب شود.پس از کشت باکتری در دو محیط شیر و شیر سویا، درفاصله های زمانی ۳، ۵،۷،۱۵و۳۷ ساعت نمونه برداری انجام شد (۱۰ میلی لیتر). از یک میلی لیتر از هر نمونه، با استفاده از محلول کلرور سدیم ۰/۸۵ درصد، رقتهای متوالی تهیه شد. شمارش کلی باکتری ها در سطح محیط جامدMRS (مرک آلمان) با روش شمارش کلی[13] انجام گرفت. مابقی نمونه برای اندازه گیری میزان pH (HANNA- ایتالیا) مورد

11. Folch

12. deMan-Rogosa-Sharpe (MRS) broth

13. Plate count agar

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

استفاده قرار گرفت. کلیه آزمایشات در سه تکرار مستقل انجام گردید تا نمونه های تخمیری حاوی بیشترین تعداد باکتری زنده مشخص گردند. نمودار تغییرات تعداد با کتری برحسب Log (cfu/ml) و تغییرات pH در برابر زمان رسم گردید.

۲- ۵- انـــدازه گیـــری اثـــر مهارکننـــدگی اتواکسیداسیون آسکوربات

مقدار ۰/۱ میلی لیتر از نمونه های مورد آزمون و همچنین آب مقطر به عنوان شاهد با محلول های آسکوربات (۰/۱ میلی لیتر از محلول ۵ میلی مولار) و بافر فسفات (۹/۸ میلی لیتر، از محلول ۰/۲ مولاربا pHv) مخلوط گردید. سپس نمونه ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد و جذب این مخلوط ها در طول موج ۲۶۵ نانومتر اندازه گیری شد. سرعت ممانعت از اتواکسیداسیون آسکوربات بر طبق فرمول زیر محاسبه گردید [۲] :

درصد بازدارندگی = ۱۰۰×{۱- (جذب شاهد/جذب نمونه)}

۲-۶- اثر ممانعت کنندگی از رادیکال آزاد (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) DPPH

به مقدار ۰/۲ میلی لیتر از نمونه به ۳/۸ میلی لیتر از محلول اتانول حاوی حاوی ۰/۱ میلی مول رادیکال DPPH (سیگما المان) اضافه شد. مخلوط به مدت یک دقیقه بطور یکنواخت تکان داده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرارت اتا ق در محیط تاریک قرار داده شد. سپس جذب نمونه های مورد آزمون با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (JENWAY – انگلیس)در طول موج ۵۱۷ نانومتر در برابر شاهد اندازه گیری شد. در نمونه شاهد ۰/۲ میلی لیتر اتانول به جای نمونه، مورد استفاده قرار گرفت. درصد رنگبری رادیکال آزاد DPPH نمونه ها بر طبق معادله زیر محاسبه شد[۵]:

درصد رنگبری = ۱۰۰ × { (جذب شاهد/جذب نمونه)-۱ }

۲-۷- اندازه گیری فعالیت مهار کنندگی هیدروژن پراکسید

اساس این آزمایش اکسایش فنل رد بوسیله پراکسید هیدروژن در حضور آنزیم پر اکسیداز است. محصولات واکنش در ۶۱۰ نانومتر، جذبی معادل با غلظت H_2O_2 ایجاد می کنند. حضور ترکیبات احیاءکننده شدت اکسایش فنل رد را کاهش می دهد. بطور خلاصه، ۵۰ ماکرولیتر از نمونه یا آب مقطر به عنوان کنترل در ابتدا با ۵۰ ماکرولیتر از محلول ۵ میلی مولار H_2O_2 مخلوط شد و در دمای اتاق برای مدت ۲۰ دقیقه گرمخانه گذاری شد.سپس این مخلوط به ۱۰۰ ماکرولیتر محلول پراکسیداز ریشه خردل–فنول رد (۱۰۰ میلی مولار بافر فسفات حاوی۳۰۰ میکروگرم/میلی لیتر از پراکسیداز ریشه خردل(مرک آلمان) و فنول رد ۴/۵ میلی مولار) اضافه شد. بعد از ۱۰ دقیقه انکوباسیون، جذب نمونه ها در ۶۱۰ نانومتر بوسیلیه دستگاه قرائت گردید. قدرت مهار هیدروژن پراکسید طبق رابطه زیر محاسبه گردید[۲] :

درصد مهار فعالیت هیدروژن پر اکسید= ۱۰۰ ×{(جذب شاهد /جذب نمونه) -۱}

۲-۸- اندازه گیری فعالیت احیاءکنندگی

میزان ۰/۵میلی لیتر از نمونه ، با ۰/۵ میلی لیتر از محلول ۱/۰ درصد پتاسیم فری سیانید و ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۰۲ مولار۰ با pH ۷ مخلوط شد. سپس مخلوط حاصل در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد برای مدت ۲۰ دقیقه گرمخانه گذاری شد و سپس به آن ۰/۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد اضافه شد. مخلوط در g ۷۸۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و ۱/۵ میلی لیتر از لایه بالایی با ۰/۲ میلی لیتر از محلول ۰/۱درصد فری کلرید مخلوط شده و جذب آن در ۷۰۰ نانومتر اندازه گیری شد. از آب مقطر به عنوان نمونه کنترل استفاده گردید[۲]. جذب بیشتردر این واکنش ، دلالت بر فعالیت احیاکنندگی بالاتر دارد. از فعالیت احیاکنندگی سیستئین به عنوان استاندارد استفاده شد.

۲-۹- تجزیه و تحلیل آماری

تخمیر نمونه های شیر و شیر سویا در سه بار آزمایش مستقل ودر هر بار در دو تکرار صورت گرفت. نتایج بدست آمده تحت آزمون تجزیه واریانس (ANOVA) قرار گرفت و برای بررسی اختلاف معنی دار بین میانگین نمونه های مورد آزمون ($p< ۰/۰۵$) از آزمون دانکن و نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) استفاده شد. کلیه آزمایشات در سه تکرار بصورت مستقل انجام گردید.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

۳- نتایج

۳-۱- نتایج آزمایشات شیمیایی در مورد شیر سویا و شیر

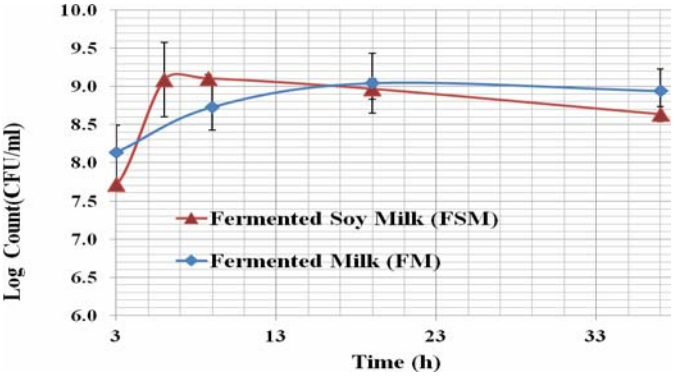
چربی نمونه شیر سویا باروش فلش ۰/۹ درصد و چربی نمونه شیر با استفاده از روش ژربر ۱/۳ درصد محاسبه شد. درصد کربوهیدرات نمونه شیر بر اساس روش فهلینگ ۴/۶ و برای شیر سویا ۶/۳ درصد محاسبه شد. به این ترتیب در صد چربی ±۰/۱ درصد و درصد کربوهیدرات حداکثر± ۰/۴ درصد از ادعای تولید کننده متفاوت بود.

۳-۲- تغییرات جمعیت باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و pH در محیط های تخمیر و انتخاب نمونه های تخمیر شده برای بررسی قابلیت آنتی اکسیدانی

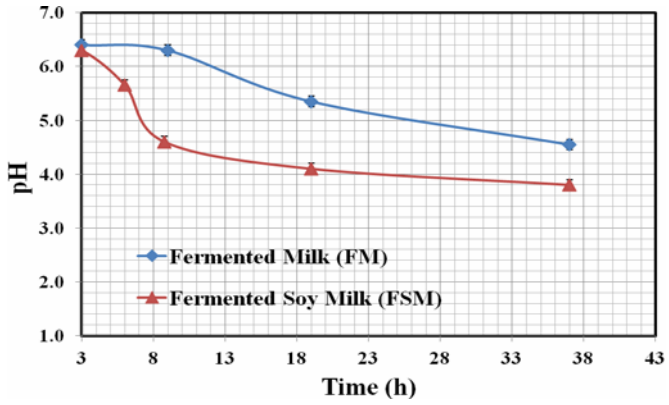
شکل ۱ تغییرات تعداد باکتری *لاکتو باسیلوس پلانتاروم* را بر حسب Log (cfu/ml) و شکل ۲ تغییرات pH را در محیط های تخمیری در برابر زمان نشان می دهند. اولین نمونه برداری بعد از مدت ۳ ساعت از شروع تخمیر انجام گرفت میزان pH در هر دو نمونه در اولین نمونه نزدیک به ۶/۵ بود و تقریباً به میزان 10^8 سلول باکتریای در هر میلی لیتراز در هر دو نمونه وجود داشت. با افزایش زمان تخمیر میزان اسیدیته نمونه ها در اثر فعالیت *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* افزایش پیدا کرد و منجر به کاهش pH محیط گردید. همانطور که در نمودار مشاهده می شود سرعت رشد باکتری مورد نظر در محیط تخمیر شیر سویا سریعتر از شیر بوده و کاهش جمعیت آن نیز در این محیط سریعتر از شیر رخ داده است. فرایند تخمیر به مدت ۳۷ ساعت انجام گردید که بعد از مدت زمان فوق pH نمونه های شیر سویا به ۳/۸ رسید. در حالیکه بعد از این زمان pH محیط تخمیر حاوی شیر حدود ۴/۶ بود. بنابر نتایج بدست آمده، انتخاب نمونه های شیر تخمیر شده از پایان تخمیر و پس از ۳۷ ساعت تخمیر انتخاب شد. در این شرایط اگرچه pH در حدود ۴/۵ رسیده ولی تعداد باکتری نسبت به حداکثر آن در منحنی رشد تغییر ی نداشته است. اما در مورد نمونه های شیر سویا، نمونه های تخمیر شده پس از ۶ تا ۸ ساعت تخمیر برای بررسی قابلت آنتی اکسیدانی استفاده شد و دراین شرایط pH حدود۰/۱ ± ۴/۶ بوده و جمعیت باکتری زنده در حداکثر بوده است.

۳-۳- اثر مهارکنندگی اتواکسیداسیون آسکوربات

شکل ۳ اثر ممانعت کنندگی اتواکسیداسیون آسکوربات در نمونه های مختلف شیر (M)، شیر تخمیر شده (FM)، شیر سویا (SM) و شیر سویای تخمیر شده (FSM) را نشان می دهد. در مقایسه میانگین نتایج بین نمونه ها اختلاف اماری معنی دار ($p< ۰/۰۵$) مشاهده شد. با این حال بین نمونه شیر سویا و شیر فرادما تفاوت قابل ملاحظه ای مشاهده نشد. فعالیت تخمیر در هر دو نمونه شیر و شیر سویا توسط باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* منجر به کاهش فعالیت ممانعت کنندگی اتواکسیداسیون آسکوربات گردیده است.

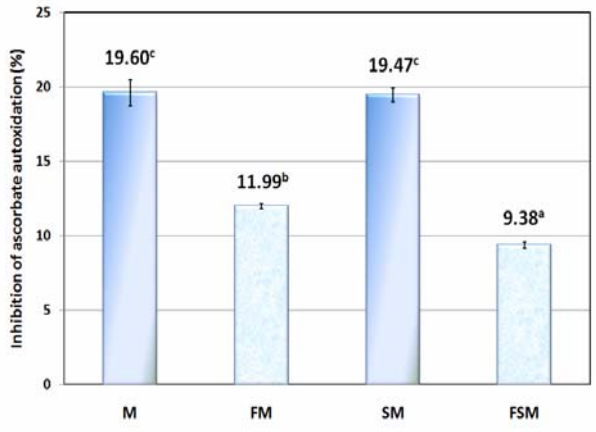


شکل ۱ تغییرات تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در شیر و شیر سویا در برابر زمان



شکل ۲ تغییرات pH ناشی از رشد باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در شیر و شیر سویا در برابر زمان

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]



شکل ۳ اثر ممانعت کنندگی اتواکسیداسیون آسکوربات در نمونه های مختلف شیر (M)، شیر تخمیر شده (FM)، شیر سویا (SM) و شیر سویای تخمیر شده (FSM). حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری در سطح $p < ۰/۰۵$.

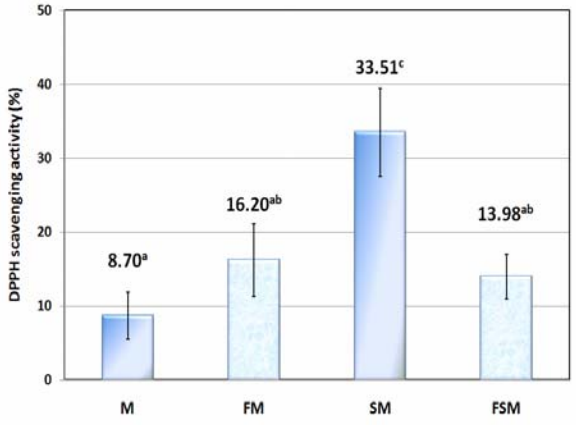
۳-۴- اثر ممانعت کنندگی از رادیکال آزاد DPPH

شکل ۴ اثر ممانعت کنندگی فعالیت رادیکال DPPH در نمونه های مختلف شیر (M)، شیر تخمیر شده (FM)، شیر سویا (SM) و شیر سویای تخمیر شده (FSM) را نشان می دهد. اختلاف معنی دار آماری($p< ۰/۰۵$) بین میانگین نتایج مشاهده شد.همانطور که در شکل۴ نشان داده شده است نمونه شیر سویا بیشترین قابلیت ممانعت کنندگی از رادیکال آزاد DPPH را نسبت به سایر نمونه ها نشان داد.تفاوت نتایج مشاهده شده از شیرسویا حتی نسبت به شیر نیز در این آزمایش کاملا محسوس بود. ولی به واسطه تخمیر، قابلیت آنتی اکسیدانی در شیر افزایش نسبی و در شیر سویا این خاصیت کاهش یافت.

۳-۵- اندازه گیری فعالیت احیاءکنندگی

شکل ۵ نمودار استاندارد فعالیت احیاء سیستئین را نشان می دهد. رابطه فعالیت احیاء کنندگی سیستئین با غلظت بصورت معادله $Y = 0.0022X + 0.0064$ بدست آمد که مقدار R^2 = ۰/۹۸ نشان دهنده همبستگی مناسب بین میزان جذب در فعالیت احیاکنندگی و غلظت سیستئین می باشد.

شکل ۶ فعالیت احیاءکنندگی در نمونه های مختلف شیر (M)، شیر تخمیر شده (FM)، شیر سویا (SM) و شیر سویای تخمیر شده (FSM) را نشان می دهد.اختلاف معنی دار آماری ($p < ۰/۰۵$) بین میانگین نتایج مشاهده شد. همانطور که در شکل ۶ نشان داده شده است نمونه شیر سویا دارای فعالیت احیاءکنندگی بیشتری نسبت به نمونه شیر می باشد. این افزایش با آزمون بررسی اثر ممانعت کنندگی فعالیت رادیکال DPPH همخوانی دارد و می تواند نشان دهنده حساسیت مشابه ترکیبات آنتی اکسیدان در شیر سویا نسبت به این دو آزمایش باشد.همچنین از نتایج مشخص گردید که در نمونه های تخمیری، افزایشی در فعالیت احیاءکنندگی صورت نگرفت.

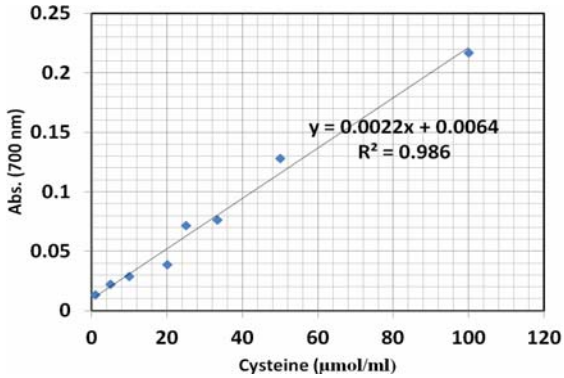


شکل ۴ اثر ممانعت کنندگی فعالیت رادیکال DPPH در نمونه های مختلف شیر (M)، شیر تخمیر شده (FM)، شیر سویا (SM) و شیر سویای تخمیر شده (FSM). حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری در سطح $p < ۰/۰۵$.

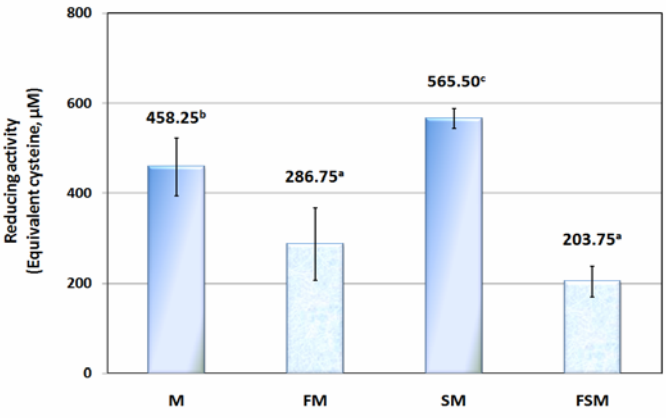
۳-۶- فعالیت مهارکنندگی هیدروژن پراکسید

شکل ۷ اثر مهارکنندگی پراکسید هیدروژن در نمونه های مختلف شیر (M)، شیر تخمیر شده (FM)، شیر سویا (SM) و شیر سویای تخمیر شده (FSM) را نشان می دهد.کلیه تیمار ها دارای اختلاف معنی دار آماری در سطح $p < ۰/۰۵$ می باشند. همانطور که در شکل ۷ نشان داده شده است هیچ یک از نمونه های مورد آزمون دارای فعالیت مهارکنندگی پراکسید هیدروژن نبوده اند و در همه نمونه های تخمیر شده و تخمیر نشده تجمع پراکسید هیدروژن مشاهده می شود. نمونه های غیر تخمیری دارای بیشترین میزان H_2O_2 بودند.

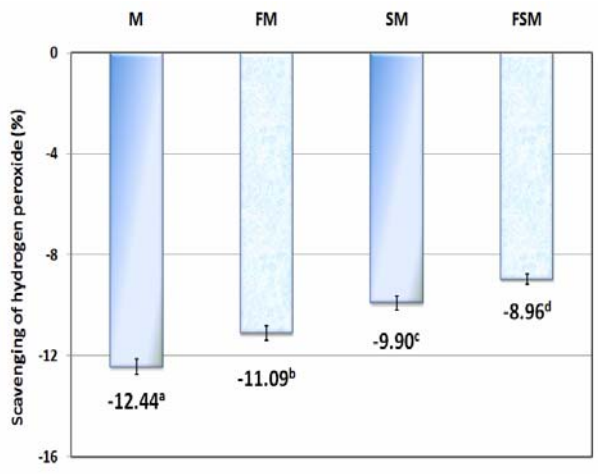
[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]



شکل ۵ نمودار استاندارد فعالیت احیاءکنندگی غلظت های مختلف سیستئین



شکل ۶ فعالیت احیاکنندگی در نمونه های مختلف شیر (M)، شیر تخمیر شده (FM)، شیر سویا (SM) و شیر سویای تخمیر شده (FSM). حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری در سطح $p < ۰/۰۵$.



شکل ۷ اثر مهارکنندگی پراکسید هیدروژن در نمونه های مختلف شیر (M)، شیر تخمیر شده (FM)، شیر سویا (SM) و شیر سویای تخمیر شده (FSM). حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری در سطح $p < ۰/۰۵$ می باشد

۴- بحث

در مطالعه حاضر، رسم تغییرات تعداد با کتری و تغییرات pH در برابر زمان جهت انتخاب نمونه شیر یا شیر سویای تخمیر شده مناسب در مقابل نمونه های غیر تخمیری صورت گرفت. در برخی از مطالعات نمونه های تخمیری با بیشترین تعداد باکتری زنده برای بررسی قابلیت آنتی اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفته اند [۲]. هوبرت و همکاران(۲۰۰۸) نشان دادند که قابلیت آنتی اکسیدانی فراورده های حاصل از جوانه سویا تابع زمان تخمیر است. در مطالعه آنها با کاربرد دو روش بررسی قابلیت آنتی اکسیدانی،بعد از ۵۰ ساعت تخمیر،خواص آنتی اکسیدانی به حدکثر رسید[۲۰]. با اینحال در دیگر مطالعات، نمو نه های تخمیر شده پس از ۲۴ ساعت برای آزمایشا ت آنتی اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفتند[۷]. رشد لاکتو باسیلوسهای غیر لبنی و بخصوص انواع پروبیوتیک که از دستگاه گوارش انسان جداسازی شده اند در شیر به صورت بطئی انجام می گیرد.علت رشد کند لاکتوباسیلوسهای پروبیوتیک در شیر عدم وجود پپتید های قابل دسترس برای رشد این باکتریها ذکر شده است [۱۹]. در مورد *لاکتوباسیلوس پلانتارم* ذکر شده است که این باکتری به جای تبدیل پیرووات به اسید لاکتیک آنرا به صورت استوئین در محیط ترشح می کند و بدینوسیله از افت pH محیط جلوگیری می شود[۲۵]. در مطالعه رکها و همکاران (۲۰۰۸)دیده شد که تغییراتpH شیر سویا توسط این باکتری نسبت به سایر گونه های لاکتوباسیلوس کمتر بوده است[۷]. در مطالعه حاضر، قابلیت رشد و کاهش pH توسط این باکتری در شیر شاید به دلیل فرادما بودن نمونه های مورد استفاده در این تحقیق بوده است. تحمل حرارت تا حدود ۱۴۰ درجه سانتی گراد شاید امکان تشکیل پپتید های قابل استفاده برای باکتری را فراهم کرده و شرایط احیا شدن پروتئینها که محیطی با پتانسیل اکسایش و احیاء پایین تر را ایجاد می کنند در شرایط فرادما احتمالا عامل دیگری برای تقویت رشد این باکتری در این آزمایش بوده است. از طرفی، مقاومت کمتر پروتئینهای سویا نسبت به حرات در برابر کازئین شیر شاید باعث رشد سریع تر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در شیر سویا نسبت به شیر باشد. البته باید درنظر داشت که ماهیت قند در دو محصول کاملا با هم متفاوت بوده است. با این حال در مطالعه قبلی در مورد این باکتری نشان

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

داده شد که این سویه، قابلیت استفاده از هر دو قند را بخوبی داراست[۲۳].

در مورد نتایج بدست آمده از اثر ممانعت کنندگی از اکسایش آسکوربات، از نظر تغییرات قابلیت آنتی اکسیدانی شیر سویا پس از تخمیر با مطالعات ونگ و همکاران(۲۰۰۶) و رکها و همکاران(۲۰۰۸) مغایرت دارد. در دو مطالعه فوق سرعت ممانعت از اتواکسیداسیون آسکوربات بواسطه تخمیر شیر سویا با کشتهای خالص از لاکتوباسیلوس یا استفاده از گونه های کشت های ترکیبی از حدود ۴ تا ۹ درصد در شیر سویای خام به ۶تا ۱۶ درصد در نمونه های تخمیری افزایش داشته است. افزایش قابلیت آنتی اکسیدانی پس از تخمیر به آزادسازی جنیستئین و دایادزئین در طول فعالیت کاتالیکی بتا- دی- گلوکوزیداز و حضور آنتی اکسیدان های داخل سلولی استارترهای مورد استفاده نسبت داده شده است[۲، ۷]. اما در مطالعه حاضر رقم فوق در مورد شیر سویای فرا دما حدود ۱۹درصد محاسبه شد که پس از تخمیر به شدت تا ۹ درصد کاهش یافت. نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که بخش قابل توجهی از خاصیت آنتی اکسیدانی اندازه گیری شده در مطالعه ما مربوط به فراوری شیر سویا و آزاد شدن عوا مل آنتی اکسیدان دیگری مانند پپتید های هیدروفوب و آنتی اکسیدان طی فرایند های حرارتی است.به این صورت رشد مناسب باکتری و سریعتر آن در محیط شیر سویا با کاهش بیشتر قابلت آنتی اکسیدانی در این محیط نسبت به شیر قابل توجیه است. جلوگیری از اکسایش آسکوربات با اثر تخمیر شیر سویا در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است[۲] .در هیچ یک از مطالعات قبلی از نمونه های شیر یا شیر سویای فرادما استفاده نشده است. بر اساس این آزمایش تفاوتی میان شیر و شیر سویای فرادما از نظر قابلیت آنتی اکسیدانی وجود نداشت. شاید در جلوگیری از اکسایش اسید آسکوربیک عوامل آنتی اکسیدان ایجاد شده طی فرایند فرادما نقش مهمتری نسبت به ترکیبات فنولیک اختصاصی در شیر سویا داشته و از این رو هر دو محصول در این شرایط خاصیت یکسان نشان داده اند.

روش ممانعت کنندگی از رادیکال آزاد DPPH در مطالعات زیادی برای ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی محصولات سویا مورد استفاده قرار گرفته است. دوی و همکاران(۲۰۰۹) با اندازه گیری و مقایسه قابلیت آنتی اکسیدانی در محصولات مختلف سویا گزارش کردند که فعالیت انتی اکسیدانی در عصاره بدست آمده از محصولات مشتق شده از سویا بر اساس این آزمایش می تواند بین ۴۱/۶تا ۸۱/۶ درصد متغیر باشد . در مطالعه اخیر کمترین قابلیت آنتی اکسیدانی به شیر سویا نسبت داده شد. و علت این کاهش اثر فرایند های انجام گرفته بر این محصولات تعیین شد. از جمله از بین رفتن ترکیبات فنولیک کل را در محصولات فراوری شده سویا در حین فرایند علت این رخداد ذکر کردند. گزارشات مشابهی از سایر مطالعات در کاهش قابلیت آنتی اکسیدانی عصاره لوبیای سویا فرایند شده ارائه شده است.در مطالعات فوق از اثر ممانعت کنندگی از رادیکال آزاد استفاده شده بوده است[۵]. بر اساس شکل ۴ نتیجه بدست آمده از نظر میزان قابلیت آنتی اکسیدانی شیر سویای صنعتی براساس روش DPPH در مطالعه حاضر ۳۳ درصد و در محدوده نتایج مطالعه دوی و همکاران(۲۰۰۹) است[۵]. با این حال در مطالعه فوق گزارش نشده که شیر سویای مورد استفاده در مطالعه چه نوع فرایندی را گذرانده و تنها به اینکه یک نمونه تجارتی بوده است بسنده شده است. نتایج مطالعه حاضر با نتایج رکها و همکاران(۲۰۰۸) ازنظر محدوده نتایج حاصله و تغییرات طی تخمیر مغایرت دارد. در مطالعه فوق قابلیت ممانعت از رادیکال آزاد DPPH در شیر سویا و محصول تخمیر شده به ترتیب مقادیر۷/۲۱ و ۲۲/۸ اعلام شد و الکترون دهندگی گروههای هیدروکسیل و ترکیبات فنولیک(عمدتا ایزوفلاونها و توکوفرولها)در خنثی کردن رادیکال آزاد DPPH و جلوگیری از آغاز یا پیشرفت اکسیداسیون لیپیدها موثر دانسته شد[۷]. با این حال ،هوبرت و همکاران(۲۰۰۸)با استفاده از همین روش نشان دادند که قابلیت آنتی اکسیدانی با افزایش روند تخمیر تا ۲۴ ساعت کاهش و سپس افزایش نسبی نشان می دهد[۲۰]. این نتایج با نتیجه بدست آمده در مطالعه ما همسو است. آنها در توجیه این مسئله تمایل ضعیف ترکیبات ایزوفلاون های غیر کنژوگه را برای واکنش با رادیکال آزاد DDPH عنوان کردند. انها نشان دادند که غلظت این ترکیبات طی تخمیر افزایش می یابد. علاوه براین این محققان عنوان کردند که از میان ترکیبات آنتی اکسیدان در عصاره جوانه سویا، توکوفرول ها بیشترین تمایل و حساسیت را برای واکنش با رادیکال آزاد DPPH داشته و تخریب توکوفرول ها در طی تخمیر، را دلیل دیگری برای توجیه کاهش قابلیت انتی اکسیدانی پس از تخمیر اعلام نمودند[۲۰]. در مورد افزایش قابلیت آنتی اکسیدانی شیر پس

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

از تخمیر که در مطالعه حاضر مشاهده شد، نتایج منطبق بر نتایج سایر مطالعات است. در تحقیق ویرتانن و همکاران (۲۰۰۶) افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی در شیر در طول فرایند تخمیر با استفاده از گونه های متداول استارتر در صنایع لبنی را مورد بررسی قرار دادند.همچنین میزان پروتئولیز و رشد باکتریایی نیز در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. آنها بیان داشته اند که در تخمیر شیر، فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS[14] بیشتر مرتبط با توسعه پروتئولیز است و ممانعت از پرواکسیداسیون لیپید ها بیشتر با رشد باکتریایی ارتباط دارد. مطالعات اخیر فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین های شیر هیدرولیز شده و پپتید های منفرد آزاد شده بعد از هیدرولیز را توضیح داده اند. فعالیت آنتی اکسیدانی به توالی های خاص اسید آمینه نسبت داده شده است. توانایی آنتی اکسیدانی به غلظت بالایی از هیستیدین و برخی اسید های آمینه هیدروفوبیک نسبت داده شده است.

در مطالعه فوق، توالی پپتیدی ایزولوسین،اسپارتیک اسید،سرین،الانین،متیونین،الانین،لوسین،سرین،تریپتوفان،ترئونین که دارای فعالیت محصور کنندگی رادیکال آزاد بیشتری نسبت به BHA[15] داشت شناسایی شده است. به علاوه برخی اسید های آمینه آزاد، عمدتاً آروماتیک ها، واجد خصوصیات آنتی اکسیدانی شناخته شده اند. همچنین بخشی از خواص ممانعت کنندگی رادیکالی را به آمینو اسید تایروزین موجود در زنجیره انتهایی C برخی از پپتیدها نسبت دادند[۱۸]. در تحقیق دیگری طی بررسی فعالیت انتی اکسیدانی در ایزوله پروتئین آب پنیر، علت افزایش فعالیت ممانعت کنندگی رادیکال آزادDPPH به تغییرات ساختاری پروتئین نسبت داده شده است . این پدیده با دگرگونی ساختار ایزوله پروتئین آب پنیر بوسیله هیدرولیز آنزیمی سبب باز شدن ساختار تا خورده پروتئین و در معرض قرار گرفتن گروه های جانبی آمینو اسید هایی که قادر به انتقال الکترون و واکنش با رادیکال های آزاد هستند توجیه شده است [۳].

در ارتباط با نتایج بدست آمده از طریق روش احیاءکنندگی ، نتایج مشابهی توسط هوبرت و همکاران در مورد تغییر قابلیت احیاء کنندگی در عصاره جوانه سویا گزارش شده است[۲۰]. این محققان نشان دادند که تخمیر لاکتیکی به شدت قابلیت احیاکنندگی را در فراورده سویا کاهش می دهد آنها بیان داشتند که در میان فیتوکمیکا ل های بیو اکتیو موجود در جوانه سویا، فیتواسترول ها(بتا فیتواسترول) حساس ترین ترکیبات به روش قابلیت احیاء کنندگی بوده و کاهش قابلیت آنتی اکسیدانی را به کاهش فیتواسترول از طریق از بین رفتن انها در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد در شرایط انکوباسیون وحضور اکسیژن حل شده در محیط نسبت دادند. در مقایسه کمی نتایج حاصل شده از شیر سویا،تفاوت قابل ملاحظه ایی با آنچه از سایر تحقیقات انجام شده گزارش شده وجود دارد. با تعمیم نتایج قابلیت آنتی اکسیدانی بر حسب غلظت سیستیئن به عنوان آنتی اکسیدان استاندارد، نتایج مشاهده شده در این آزمایش در مورد شیر سویا حدود ۵۶۶ میکرومولار سیستئن بدست آمد که با تخمیر به حدود ۲۰۴ میکرومولار کاهش پیدا کرد. در حالیکه در مطالعه مشابه ونگ و همکاران این اعداد حدود ۴ میکرومول در شیر سویا بوده که با تخمیر نهایتا ۱۱ میکرومولار افزایش پیدا کرده است [۲] . بخشی از بالاتر بودن نتایج بدست آمده در مورد نمونه های غیر تخمیری می تواند به دلیل متفاوت بودن نوع شیر سویا و فرایند حرارتی شدید متحمل شده و تشکیل پپتیدهایی با قابلیت آنتی اکسیدانی بیشتر باشد. بخش دیگر ممکن است به دلیل روش این آزمایش باشد. یکی از مشکلات اصلی انجام این آزمایش عدم رسوب کامل پروتئین های شیر وشیر سویای فرا دما در شرایط تعیین شده در دستورالعمل آزمایش بود.در دستور العمل آزمایش، پیشنهاد شده که تری کلرو استیک اسید با غلظت ۱۰ درصد برای رسوب پروتئینهای شیر سویا مورد استفاده قرار گیرد.در تحقیق حاضر بارها این شرایط تغییر داده شد تا محلول شفافی برای اندازه گیری اسپکتروفوتومتریک محصولات واکنش فراهم شود. با این حال به نظر می رسد که کدورت حاصل در نمونه های غیر تخمیری بخصوص نمونه های شیر ، عامل خطا در اندازه گیری قابلت آنتی اکسیدانی به این روش باشد. از آنجائیکه نمونه های تخمیر شده واجد اسیدیته بیشتری بودند، شرایط رسوب پروتئینهای محلول و پپتید های ریز فراهم بوده و نمونه های آزمایشی با شفافیت بیشتری حاصل می شد. به خصوص نمونه های تخمیری شیر سویا نسبت به شیر شفافیت محسوس تری داشتند. شاید نتایج واقعی از آنچه در این آزمایش اندازه گیری شده کمتر باشد. احتمالاً دمای بالای استریلیزاسیون شرایط تشکیل پپتید ها و

14. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
15. Butylated Hydroxy Toluene

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

مواد ازته محلول بیشتری را نسبت به نمونه خام یا پاستوریزه ایجاد می کند. در مجموع می توان گفت که این آزمایش برای نمونه های مورد استفاده با درصد خطای نسبی بیشتری همراه بود. نتایج این آزمایش در مورد تخمیر شیر با نتایج پنگ و همکاران(۲۰۱۰) که فعالیت احیاء کنندگی پروتئین آب پنیر هیدرولیز شده را به روش FRAP بررسی کردند مطابقت دارد[۳].آنها نشان دادند که فعالیت احیاء کنندگی پروتئین هیدرولیز شده معادل ۱۱۵۱ میکرو مول بر لیتر سولفات آهن و بیشتر از پروتئین آب پنیر هیدرولیز نشده می باشد.

نتایج بدست آمده از آزمایش مهار پراکسید نشان داد که این آزمایش روش مناسبی برای مقایسه نمونه های شیر ، شیر سویا و محصولات تخمیری آنها نیست. جذب در کلیه نمونه ها در هر سه تکرار آزمایش بیش از نمونه شاهد قرائت شد که نشانه عدم کفایت این روش برای بررسی قابلیت آنتی اکسیدانی محصولات مشابه است. البته تجمع پراکسید هیدروژن ممکن است در اثر ورود این ماده به نمونه های شیر و شیر سویا در هنگام بسته بندی در کارخانه در شرایط آسپتیک باشد، در این صورت، مدت زمان سپری شده طی تخمیر شرایط تجزیه شدن آن را فراهم کرده و به این صورت کاهش مشاهده شده قابل توجیه است.نتایج مشاهده شده در این آزمایش بانتایج ونگ و همکاران(۲۰۰۶) در اندازه گیری قابلیت آنتی اکسیدانی شیر سویا به این روش از جهاتی همخوانی دارد. در مطالعه فوق نمونه های شیر سویای خانگی اثر مهار کنندگی H_2O_2 داشته و این اثر درمورد آنها حدود ۷ درصد اندازه گیری شد. و تخمیر این قابلیت را در آنها به شدت کاهش داد. در توجیه این مسئله محقیق در تحقیق فوق، اعلام کردند که قسمتی از این تجمع H_2O_2 می تواند بواسطه ارگانیسم استارتر تولید شده باشد. تحقیقات متعدد، تولید H_2O_2 را توسط استارتر های مختلف تایید کرده اند. برخی لاکتیک اسید باکتریها و بیفیدوباکتریها می توانند با تولید NADH اکسیداز در حین اکسید کردن NADH موجب تجمع H_2O_2 در محیط شوند. متأسفانه در منابع مورد بررسی هیچ تحقیق دیگری برای مقایسه بیشتر قابلیت آنتی اکسیدانی شیر سویا و شیر به این روش گزارش نشده است[۲].

۵- نتیجه گیری کلی

در این تحقیق چهار روش اندازه گیری قابلیت انتی اکسیدانی برای اندازه گیری این خاصیت در شیر و شیر سویای فرادما استفاده شد.دو روش قابلیت مهار رادیکال آزاد DPPH و قابلیت احیاء کنندگی درمورد بیشتر بودن قابلیت آنتی اکسیدانی شیر سویا نسبت به شیر و کاهش قابلیت آنی اکسیدانی شیر سویا با تخمیر نتایج همسویی داشتند. اما اشکلات مطرح شده در بخش نتایج در مورد روش احیاءکنندگی باعث می شود تا در مقایسه این دو روش، روش مهار رادیکال DPPH روش بهتری برای اندازه گیری قابلیت آنتی کسیدانی نمونه های غذایی با خصوصیات نمونه های مورد استفاده در این تحقیق باشد. از طرفی روش احیاءکنندگی با روش قابلیت جلوگیری از اکسایش آسکوربات از نظر تغییرات قابلت آنتی اکسیدانی در شیر پس از تخمیر مطابقت بیشتری داشتند.روش اثر مهار کنندگی پر اکسید هیدروژن برای تعیین قابلیت آنتی اکسیدانی نمونه های غذایی مشابه روش مناسبی نیست.

به نظر می رسد که با وجود اثر حرارت استرلیزاسیون و کاهش ایزوفلاوونوئید ها طی فرایند حرارتی که در مطالعات قبلی به آن اشاره شده است، فعالیت آنتی اکسیدانی در شیر سویای فرادما به دلیل ترکیبات دیگری می باشد و رشد سریع باکتری لاکتوباسیلوس در آن این احتمال را ایجاد می کند که پپتید های تولید شده مسئول چنین قابلیتی در شیر سویا باشند. به این صورت، مصرف این پپتیدها طی رشد باکتری باعث کاهش این قابلیت خواهد شد که این موضوع در این مطالعه از نتیجه هر سه روش اندازه گیری قابلیت آنتی اکسیدانی مشاهده شد.

احتمالا مقاومتر بودن کازئین شیر نسبت به حرارت فراوری، باعث می شود که علی رغم افزایش این قابلیت در شیر فرادما نسبت به شیر خام یا پاستوریزه، همچنان از نظر قابلیت آنتی اکسیدانی نسبت به شیر سویای فرادما کمتر باشد.رشد و فعالیت پروتئولیتیک باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در این محیط احتمالا باعث افزایش نسبی این خاصیت در شیر پس از تخمیر می شود که با روش DPPH مشاهده شد. از آنجائیکه نتایج تحقیق موازی با مطالعه ما، با دو نمونه شیر سویا و شیر فرا دمای مورد استفاده در این مطالعه، حاکی از این بود که مصرف شیر سویا نسبت به گروه مصرف کننده شیر در بیماران دیابتی نوع۲ موجب کاهش معنی دار فشار خون سیستول می شود؛ احتمال نقش پپتید هایی با قابلیت کاهش فشار خون در

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

این نمونه تقویت می گردد. بررسی کیفیت و کمیت ترکیبات فلاونوئیدی و ماهیت ترکیبات پروتئینی و مشتقات آنها در نمونه های شیر و شیر سویا در ادامه این تحقیق مورد توجه است.

۶- تشکر و قدر دانی

بدینوسیله نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه سرکار خانم دکتر آزادبخت، ریاست مرکز تحقیقات امنیت غذایی و جناب آقای محمد جواد یاحی کارشناس آزمایشگاه شیمی مواد غذایی در این مرکز اعلام می نمایند.

۷- منابع

[1] Müller, L., Fröhlich, K., Böhm, V. 2011. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (αTEAC), DPPH assay and peroxyl radical scavenging assay. Food Chemistry. 129(1):139-148.

[2] Wang, Y.C., Yu, R.C. and Chou, C.C. 2006. Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. Food Microbiology. 23(2):128-135.

[3] Peng, X., Kong, B., Xia, X. and Liu, Q. 2010. Reducing and radical-scavenging activities of whey protein hydrolysates prepared with Alcalase. International Dairy Journal. 20(5): 360-365.

[4] Villares, A., Rostagno, M.A., García-Lafuente, A., Guillamón, E. and Martínez, J.A. 2011. Content and Profile of Isoflavones in Soy-Based Foods as a Function of the Production Process. Food and Bioprocess Technology .4(1):27–38.

[5] Devi, M., Gondi, M., Sakthivelu, G., Giridhar, P., Rajasekaran, T. and Ravishankar, G. 2009. Functional attributes of soybean seeds and products, with reference to isoflavone content and antioxidant activity. Food Chemistry. 114(3):771-776.

[6] Tyug, T.S., Prasad, K.N. and Ismail, A. 2010. Antioxidant capacity, phenolics and isoflavones in soybean by-products. Food Chemistry. 123(3): 583-589.

[7] Rekha, C.R. and Vijayalakshmi, G. 2008 . Biomolecules and Nutritional Quality of Soymilk Fermented with Probiotic Yeast and Bacteria. Applied Biochemistry Biotechnology. 151(2-3):452–463.

[8] Yang, S., Wang, L., Yan, Q., Jiang, Z. and Li, L. 2009.Hydrolysis of soybean isoflavone glycosides by a thermostable β-glucosidase from *Paecilomyces thermophila.* Food Chemistry. 115(4): 1247-1252.

[9] Azadbakht, L., kimiagar, M., Mehrabi, Y., Esmaillzadeh, A., Hu, F.B. and Willett, W.C. 2007. Dietary soya intake alters plasma antioxidant status and lipid peroxidation in postmenopausal women with the metabolic syndrome. British Journal of Cancer. 98(4): 807-813.

[10] Azadbakht, L., kimiagar, M., Mehrabi, Y., Esmaillzadeh, A., Padyab, M., Hu, F.B. and Willett, W.C. 2007. Soy inclusion in the diet improves features of the metabolic syndrome: a randomized crossover study in postmenopausal women. American Journal of Clinical Nutrition. 85(3): 735-741

[11] Cassidy, A., Brown, J.E., Hawdon, A., Faughnan, M.S., King, L.J., Millward, J. Zimmer-Nechemias, L., Wolfe, B. and Setchell, K.D.R. 2006. Factors affecting the bioavailability of soy isoflavones in humans after ingestion of physiologically relevant levels from different soy foods. Journal of Nutrition. 136(1):45-51

[12] Franke, A.A., Ashburn, L.A., Kakazu, K., Suzuki, S., Wilkens, L.R., Halm, B.M. 2009. Apparent bioavailability of isoflavones after intake of liquid and solid soya foods. British Journal of Nutrition. 102(8): 1203-1210

[13] Nhan, S., Anderson, K.E., Nagamani, M., Grady J.J. and Lu, L.J. 2005. Effect of a soymilk supplement containing isoflavones on urinary F2 isoprostane levels in premenopausal women. Nutrition Cancer. 53(1):73-81

[14] Reinwald, S., Akabas, S.R. and Weaver, C.M. 2010. Whole versus the pie cemeal approach to evaluating soy. Journal of Nutrition. 140(12): 2335S-2343S.

[15] Miraghajani M.S., Mortazavi Najafabadi, M., Surkan, P.J., Esmaillzadeh, A., Mirlohi, M. and Azadbakht, L. 2013. Soy Milk Consumption and Blood Pressure Among Type 2 Diabetic Patients With Nephropathy.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

Journal of Renal Nutrition. 23(4): 277-282. e271.

[16] Miraghajani, M.S., Esmaillzadeh, A., Najafabadi, M.M., Mirlohi, M. and Azadbakht, L. 2012. Soy milk consumption, inflammation, coagulation, and oxidative stress among type 2 diabetic patients with nephropathy. Diabetes Care. 35(10):1981-1985.

[17] Mateos Aparicio, I., Redondo Cuenca, A., Villanueva Suarez M.J. and Zapata Revilla, M.A. 2008. Soybean, a promising health source. Nutrición Hospitalaria. 23(4): 305-312.

[18] Virtanen, T., Pihlanto, A., Akkanen, S. and Korhonen, H. 2007. Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria. Journal of Applied Microbiology. 102(1): 106-115.

[19] Shihata, A. and Shah, N.P. 2000. Proteolytic profile of yogurt and probiotic bacteria. International Dairy. 10(5): 401-408.

[20] Hubert, J., Berger, M., Nepveu, F., Paul, F. and Dayde, J. 2008. Effects of fermentation on the phytochemical composition and antioxidant properties of soy germ. Food Chemistry. 109(4): 709-721.

[21] Firestone, D. 2000. Oils and fats. In: Horwitz W, editor. Official Methoda of Analysis of AOAC . 17th ed. Washington, DC, USA: Association of Official Analytical Chemists; (Ch 41)12

[22] Folch, J., Lees, M. and Sloane Stanley, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry. 226(1): 497-509.

[23] Mirlohi, M., Soleimanian-Zad S., and Sheikh-Zeinodin, M. 2008. Identification of Lactobacilli from fecal flora of some Iranian infants. International Journal of Pediatrics. 18(4): 357-363.

[24] Mirlohi, M., Soleimanian-Zad, S., Dokhani, Sh., Sheikh-Zeinodin, M. and Abghary, A. 2009. Investigation of acid and bile tolerance of native lactobacilli isolated from fecal samples and commercial probiotics by growth and survival studies. Iranian Journal of Biotechnology. 4(7): 233-240

[25] Tsau, J.L., Guffanti, A.A. and Montville, T.J. Conversion of pyruvate to acetoin helps to maintain pH homeostasis in Lactobacillus plantarum. Applied and environmental microbiology. 1992;58(3):891-894.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

Comparison of 4 methods for measuring anti-oxidant capability in order to investigate the effect for fermentation of ultra heat treatment soy milk by *Lactobacillus Plantarum* "

Torki Baghbadorani, S. [1], Ehsani, M. R. [2*], Mirlohi, M. [3], EzzatPanah, H. [4]

1. Graduate student in Food Science and Technology, Food Science and Technology Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Professor, Food Science and Technology Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Assistant – Professor, Food Security research Center, Deparmant of Food Technology, School of nutrition and Food Science, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
4. Associate Professor, Food Science and Technology Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

(Received: 89/9/23 Accepted: 90/12/8)

During the recent years, a great deal of food studies has been dedicated to anti -oxidant properties of the food constituents and in this relation various laboratory methods have been used for evaluating anti -oxidant property in various foods. In the present study , four methods for measuring anti-oxidant capability including ascorbat auto-oxidation inhibition , the scavenging effect for DPPH free radical, the hydrogen peroxide scavenging activity , and reducing activity were compared for investigating anti -oxidant properties of commercial ultra heated (UHT) milk and soy milk as well as the products resulted form their fermentation. For fermentation, a human isolated strain of *Lactobasillus*, *Lactobasillus plantarum* A7 was used. The obtained results were affected by the type of applied method. The results from various methods did not agree in some cases. Among the four compared methods, The scavenging effect from DPPH free radical and reducing activity were more coordinated in comparison with other evaluative methods. Nonetheless The scavenging effect for DPPH free radical was considered as the best method used in this study. Based on the both tests results, anti –oxidant capability was measured in UHT soy milk more than milk. Using all the four methods, considerable decrease in anti –oxidant capability was observed with fermentation of soy milk.

Keywords: Milk, Soy milk, *Lactobacillus plantarum*, Anti - oxidant capability, Free radical

*Corresponding Author E-Mail Address: m_mirlohi@hlth.mui.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]