مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

اثر پکتین برخصوصیات ضد دیابتی و آنتی اکسیدانی شیرهای تخمیر شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از فرآورده‌های لبنی سنتی ایران

فائزه شیرخان[۱]، سعید میردامادی[۲*]، مهتا میرزایی[۳]، بهروز اکبری آدرگانی[۴]، نیکو نصوحی[۵]

۱-گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده داروسازی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲-استاد پژوهشکده زیست فناوری، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران.

۳-استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

٤-استاد مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران.

۵-استادیار دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، دانشکده علوم نوین، گروه بیوشیمی-بیوفیزیک، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۰۶

کلمات کلیدی:

دیابت نوع دوم،

پکتین،

باکتری‌های اسید لاکتیک،

پلی‌ساکارید،

فعالیت آنتی اکسیدانی،

محصول فراسودمند.

DOI: 10.52547/fsct.19.123.55

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.20.5

* مسئول مکاتبات:

Mirdamadi@irost.ir

چکیده

امروزه پلی‌ساکاریدها جهت بهبود ویژگی‌های تغذیه‌ای و فیزیکوشیمیایی محصول به فرآورده‌های لبنی اضافه می‌شوند. به دلیل ارتباط میان دیابت با استرس اکسیداتیو، شناسایی ترکیبات طبیعی مانند پلی‌ساکاریدها با خاصیت ضد دیابتی و آنتی‌اکسیدانی اهمیت یافته است. لذا مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر پکتین بر فعالیت ضد دیابتی و آنتی‌اکسیدانی شیرهای تخمیر شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) جدا شده از فرآورده‌های لبنی سنتی ایران انجام شد. پس از تخمیر شیر توسط سویه‌های *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی*، پکتین (۱٪) به نمونه‌ها اضافه شد و فعالیت ضد دیابتی با مهار آنزیم آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز بررسی گردید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با مهار رادیکال‌های ۲ و۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدازیل (DPPH)، ۱ و۲-آزینوبیس-٤-بنزوتیازولین-٦-سولفونیک اسید (ABTS) و هیدروکسیل اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها شامل محلول پکتین (۳/۵-۰/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیترو ۱۰-۰/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر به ترتیب برای ارزیابی فعالیت ضد دیابتی و آنتی‌اکسیدانی)، سرم شیر تخمیری و غیرتخمیری با پکتین (۱٪) و بدون پکتین بودند. نتایج بیانگر نقش پکتین در مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز (IC_{50}=۲/۳۸ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) و فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH (٤٤/۵۷٪)، ABTS (۲۸/۰۷٪) و هیدروکسیل (۳۸/۸۵٪) در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود (P<۰/۰۵). با افزودن پکتین به نمونه سرم شیر غیرتخمیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت و بیشترین میزان افزایش مربوط به فعالیت مهار رادیکال‌آزاد DPPH (۳۵٪) بود. همچنین افزودن پکتین به سرم شیر تخمیر شده توسط سویه *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* باعث افزایش معنی‌دار مهار فعالیت آنزیم آلفا گلوکوزیداز (۲۹٪)، مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (٤۱/۲٦٪)، ABTS (۲/۵٪) و هیدروکسیل (۷/٦٤٪) شد (P<۰/۰۵). نتایج نشان دادند پکتین دارای پتانسیل کاربرد در فرمولاسیون محصولات غذایی فراسودمند به دلیل توانایی بهبود خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد دیابتی محصولات شیر تخمیری می‌باشد.

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

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.20.5]

[DOI: 10.52547/fsct.19.123.55]

۱-مقدمه

سندرم متابولیک که با افزایش چربی خون، فشارخون، دیابت و چاقی مشخص می‌شود یک اپیدمی در حال رشد در سراسر جهان است[۱]. دیابت در صورت عدم ترشح کافی انسولین (دیابت نوع۱) یا مقاومت به انسولین (دیابت نوع ۲) ایجاد می‌شود[۲]. امروزه یکی از روش‌های درمان دیابت نوع دوم، کنترل گلوکز خون از طریق مهار آنزیم‌های هیدرولیزکننده کربوهیدرات است اما بیشتر داروهایی که در این زمینه استفاده می‌شوند دارای عوارض جانبی هستند[۳]. از سوی دیگر دیابت با افزایش شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی همراه است[۲]. از این‌رو، جستجو میان ترکیبات طبیعی جهت کاهش قند خون پس از دریافت غذا و استرس اکسیداتیو در سراسر جهان افزایش یافته است. یکی از این ترکیبات فیبرها هستند که با دیابت نوع دو رابطه معکوس دارند[٤]. اثرات بهداشتی و تغذیه‌ای پکتین به عنوان یک ترکیب پری‌بیوتیک و فیبر غذایی روشن شده[٥] و کاربردهای بالقوه آن در کاهش ابتلا به سرطان، کلسترول بالا، دیابت، چاقی و سلامت روده گزارش شده است[٦]. پکتین در دیواره سلول‌های گیاهی وجود دارد و بیشترین میزان آن در پوست مرکبات و تفاله سیب یافت می‌شود[۷]. پکتین‌ها در صنایع غذایی و نوشیدنی‌های تخمیری بعنوان پایدارکننده، امولسیون کننده، بیوپلیمر و پوشش خوراکی کاربرد دارند [۹-۸]. در محصولات تخمیری پکتین با کازئین ارتباط برقرار می‌کند و از تجمع، رسوب و در نتیجه جداسازی سرم آن‌ها جلوگیری می‌کند[۹]. در برخی مطالعات قابلیت و توانایی پکتین در مهار آنزیم‌های هیدرولیز کننده کربوهیدرات مورد توجه قرار گرفته است. سان و همکاران (۲۰۱۸) اثر مهار آنزیم آلفا آمیلاز پانکراس توسط پکتین مرکبات را بر روی فعالیت مهاری پلی فنل‌های چای در برابر آنزیم آلفا آمیلاز بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که پکتین می‌تواند قابلیت مهار آنزیم آلفا آمیلاز را افزایش دهد[۱۰]، گاولیقی و همکاران (۲۰۲۱) نیز خاصیت ضد دیابتی پکتین استخراج شده از پوست انار را از طریق مهار آنزیم آلفا آمیلاز و آلفا گلوکوزیداز گزارش کرده اند[۱۱]. از سوی دیگر با توجه به اینکه شیرهای تخمیری بستر باکتری‌های اسید لاکتیک و پپتیدهای زیستی شناخته شده اند گزینه‌ی مناسبی برای به تأخیر انداختن جذب گلوکز توسط مهار کننده‌های ضد دیابتی و آنتی اکسیدانی هستند[۱۲]. از آنجا که پکتین به طور انتخابی رشد باکتری‌های مفید در روده انسان را بهبود می‌بخشد [۸] و بعنوان حامل پروبیوتیک‌ها (بدلیل توانایی ایجاد ژل‌های سه بعدی و مقاومت در برابر شرایط اسیدی معده) کاربرد دارد[۷]. بنابراین استفاده از آن در شیرهای تخمیری باعث بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی محصول و تقویت رشد پروبیوتیک‌ها می‌شود[۱۳]. لذا با توجه به مطالعات محدود در زمینه تأثیر پکتین بر خصوصیات عملکردی شیرهای تخمیری هدف اصلی مطالعه حاضر، ارزیابی اثر پکتین بر فعالیت ضد دیابتی و آنتی اکسیدانی شیرهای تخمیر شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از فرآورده‌های لبنی سنتی ایران جهت تولید فرآورده‌های غذایی فراسودمنداست.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

پکتین پوست مرکبات (P135)با ۷٦ درصد اسید گالاکتورونیک، محتوای متوکسیل بالاتر از ٦/۷ درصد، کاهش وزن پس از خشک شدن کمتر از ۱۰ درصد، آنزیم آلفا آمیلاز (A3176)، آنزیم آلفا گلوکوزیداز (G5003)، ۲و ۲ دی فنیل۱-پیکریل هیدازیل (DPPH) و۱و۲-آزینوبیس-٤-بنزوتیازولین-٦-سولفونیک اسید (ABTS) از شرکت سیگما (USA, Sigma) و۱ و ۱۰ فنانترولین، ۳ و ۵ دی نیتروسالیسیلیک اسید (DNS)، سولفات آهن، پراکسید هیدروژن (۳٪) از شرکت مرک (Germany, Merck) خریداری شدند.

۲-۲-ارزیابی بار میکروبی شیر UHT

برای ارزیابی بار میکروبی شیر UHT[1]پس از رقت‌سازی شیر درسرم فیزیولوژی، نمونه در محیط کشت ام آر اس آگار[2] برای شمارش لاکتوباسیل‌ها و در محیط کشت تریپتیک سوی آگار[3] برای رشد سایر میکروارگانیسم‌ها کشت داده شد. سپس در دمای

1. Ultra-high temperature
2. De Man, Rogosa and Sharpe agar
3. Tryptic soy agar

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.20.5]
[DOI: 10.52547/fsct.19.123.55]

۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت۴۸ تا ۷۲ ساعت گرماگذاری گردید. شمارش تعداد کلونی برحسب Log CFU/ml منظور شد[۱۴].

۲-۳- تولید شیر تخمیری

برای تولید شیر تخمیری از سویه‌های *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* (PTCC1930) جدا شده از ماست سنتی استان خوزستان و جدایه *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* از شیر شتر تخمیر شده استان گلستان استفاده گردید. پس از فعالسازی سویه‌ها، ۱ میلی‌لیتر از هر کشت به ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت ام آر اس مایع افزوده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرماگذاری شد. سپس در ۸۰۰۰×g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (Universal، Germany) شد و پس از حذف مایع رویی، رسوب بدست آمده به ۱۰۰ میلی‌لیتر شیر اضافه گردید[۱۵]. پس از آن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بمدت ۴۸ ساعت گرماگذاری شد و بعد از رسیدن pH نمونه به میزان ۳/۵، از داخل گرمخانه (Memmert، Germany)خارج شد و پکتین(۱٪) به نمونه‌ها افزوده شد[۱۶].

۲-۴- تهیه و آماده‌سازی نمونه‌ها

محلول پکتین در بافر فسفات (در غلظت‌های۰/۵ تا ۳/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ۰/۵ تا ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ترتیب برای ارزیابی فعالیت ضد دیابتی و آنتی اکسیدانی) و محلول آکاربوز در بافر فسفات (۰/۰۲ تا ۰/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) تهیه شدند. نمونه سرم شیر تخمیری و غیرتخمیری، با تنظیم pH نمونه بر روی۴/۶ و سانتریفیوژ آن به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۰۰۰۰ ×g در دمای محیط تهیه شد. pH مایع رویی با کربنات کلسیم بر روی ۶ تنظیم گردید [۱۷]. نمونه‌ها از نظر فعالیت ضد دیابتی و آنتی اکسیدانی ارزیابی شدند.

۲-۵- ارزیابی فعالیت ضد دیابتی

۲-۵-۱- ارزیابی فعالیت ضد دیابتی به روش مهار آنزیم آلفا آمیلاز

جهت سنجش مهار آنزیم آلفا آمیلاز (≥5 units/mg)،۲۰۰ میکرولیتر از نمونه سرم در لوله آزمایش با ۴۰۰ میکرولیتر آنزیم آلفاآمیلاز محلول در بافر فسفات با pH=۶/۹ و ۴۰۰ میکرولیتر سوبسترای نشاسته یک درصد در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مخلوط شد. جهت توقف واکنش ۱ میلی‌لیتر معرف DNS به محلول اضافه شد و بمدت ۱۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از افزودن ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر، جذب(Ab) نمونه (S) و کنترل (C) در طول موج۵۴۰ نانومتر با دستگاه میکروپلیت ریدر (BioTeck, USA) تعیین شد. میزان درصد مهار طبق رابطه (۱) محاسبه شد[۱۷].

$$(1) = \frac{(\mathbf{Ab\ C - Ab\ S})}{(\mathbf{Ab\ C})} \times \mathbf{100}$$

۲-۵-۲- ارزیابی فعالیت ضد دیابتی به روش مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز

جهت سنجش مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز(≥10 units/mg)، ۵۰ میکرولیتر از نمونه سرم با ۱۰۰ میکرولیتر آنزیم آلفاگلوکوزیداز در بافر فسفات پتاسیم با pH=۶/۸ و۵۰ میکرولیتر پارانیتروفنیل آلفا دی گلوکوپیرانوزید ۵ میلی‌مولار ترکیب شد سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت قرار گرفت. هر ۳۰ دقیقه میزان جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر خوانده شد. درصد مهار مطابق رابطه (۲) بر اساس شیب (Slop) تغییرات جذب نمونه (S) و کنترل (C) بر حسب تغییرات زمان محاسبه شد[۱۷]. ۵۰ درصد غلظت مهارکنندگی (IC_{50})[4] بر اساس معادله میزان غلظت به درصد مهار گزارش گردید.

$$(2) = \frac{(\mathbf{Slop\ C - Slop\ S})}{(\mathbf{Slop\ C})} \times \mathbf{100}$$

۲-۶-ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی

۲-۶-۱- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی با مهار رادیکال ۲، ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل

4. Half-maximal inhibitory concentration

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.20.5]
[DOI: 10.52547/fsct.19.123.55]

برای انجام آزمون ابتدا محلول رادیکال DPPH (۰/۰۰۲ درصد در اتانول ۹۶ درصد) تهیه شد. سپس ۲۵۰ میکرولیتر محلول DPPH به ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه سرم (اتانول به عنوان کنترل) اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در مکان تاریک و دمای محیط قرار گرفت. جذب نوری هر نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان مهار رادیکال آزاد مطابق با رابطه (۱) محاسبه گردید [۱۸].

۲-۶-۲- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی با مهار رادیکال ۱و۲-آزینوبیس-٤-بنزوتیازولین-٦-سولفونیک اسید

برای انجام آزمون ابتدا پتاسیم پرسولفات ۲/٤٥ میلی‌مولار با محلول ABTS ۷ میلی‌مولار (نسبت ۱:۱) با هم ترکیب شدند. پس از گذشت مدت ۱٦ ساعت در مکان تاریک، محلول تازه تهیه شده با بافر فسفات سدیم ۵ میلی‌مولار با pH ۷/٤ رقیق شد تا میزان جذب نوری به ۰/۷±۰/۰۲ برسد. در زمان آزمون۲۰ میکرولیتر از نمونه (بافر بعنوان کنترل) با ۹۸۰ میکرولیتر محلول ABTS مخلوط شد و پس از ٦ دقیقه، جذب نمونه در طول موج ۷۳٤ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان مهار طبق رابطه(۱) محاسبه گردید[۱۹].

۳-۶-۲- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی با مهار رادیکال هیدروکسیل

برای ارزیابی میزان مهار رادیکال هیدروکسیل،۲۰۰ میکرولیتر از نمونه‌سرم با ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۱ و ۱۰ فنانترولین ۱/۸٦۵ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر سولفات آهن ۷ آبه ۱/۸٦۵ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن (۳٪) مخلوط شد و به مدت ٦۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس میزان جذب (Ab) در طول موج ۵۳۸ نانومتر خوانده شد. مخلوط نمونه (S) بدون مهارکننده بعنوان شاهد منفی(NC) و بدون پراکسید هیدروژن بعنوان شاهد مثبت (PC) در نظر گرفته شد و درصد مهار مطابق رابطه (۳) محاسبه شد[۲۰].

$$(3) = \frac{(\text{Ab S} - \text{Ab NC})}{(\text{Ab PC} - \text{Ab NC})} \times 100$$

۲-۷- آزمون آماری

جهت بررسی نتایج از آزمون تجزیه و تحلیل آنالیز واریانس(ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن نرم افزار گراف پد (ورژن ۸، آمریکا) استفاده شد. برای تعیین IC_{50} و معادله رگرسیون از نرم افزار اکسل تحت ویندوز XP استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- خاصیت ضددیابتی پکتین

نتایج ارزیابی خاصیت ضد دیابتی پکتین از طریق مهار فعالیت آنزیم آلفا گلوکوزیداز در جدول ۱ نشان داده شده است.

مطابق نتایج جدول ۱ مشاهده می‌شود که پکتین در غلظت‌های مختلف توانایی مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز را دارد.

Table 1 IC_{50} value for α-glucosidase inhibitory activity of acarbose and pectin

Acarbose			Pectin		
Concentration(mg/ml)	α-glucosidase inhibition (%)	IC_{50} (mg/ml)	Concentration (mg/ml)	α-glucosidase inhibition (%)	IC_{50} (mg/ml)
0.02	05.50^{e}	0.170	0.50	24.00^{e}	2.38
0.10	22.00^{d}		1.50	37.50^{d}	
0.15	47.00^{c}		2.00	44.61^{c}	
0.20	61.00^{b}		2.50	51.27^{b}	
0.25	77.66^{a}		3.50	63.35^{a}	

Different letters, show a statisticalysignificantdifferent between treatments(P<0.05).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.20.5]
[DOI: 10.52547/fsct.19.123.55]

در تحقیقات دیگری نیز اثر ضد دیابتی برخی از فیبرها مانند فیبر آرابینوکسیلان حاصل از آلرون و سبوس گندم و بتاگلوکان در مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز گزارش شده است [۲۱-۲۲]. مقدار IC_{50} پکتین در مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز معادل ۲/۳۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در مقایسه با آکاربوز (۰/۱۷۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) اندازه‌گیری شد. در مطالعه گاولیقی و همکاران (۲۰۲۱) میزانIC_{50} پکتین در مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز در نمونه‌های پکتین استخراج شده با آنزیم، بافر و اسید به ترتیب ۱/۲۳، ٤/۰۲ و ۱۰/۲۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش گردید[۱۱]. دلیل تفاوت مشاهده شده می‌تواند به روش استخراج و احتمالاً خلوص پکتین مرتبط باشد. در برخی از مطالعات اثرگذاری محتوای فنلی برخی از منابع پکتین مانند پوست مرکبات و انار بر مهار آنزیم آلفا آمیلاز و آلفا گلوکوزیداز گزارش شده است[۲۳]. فعالیت مهارکنندگی پکتین می‌تواند به مکانیسم‌های متفاوتی نظیر اتصال پکتین به آنزیم و تغییر ساختار آن، کپسول کردن آنزیم ویا نشاسته (بعنوان سوبسترای آنزیم)، افزایش ویسکوزیته محلول، به تأخیر انداختن اتصال آنزیم-سوبسترا و ممانعت از فعالیت بهینه آنزیم مرتبط باشد[۲٤-۲۵]. در برخی از مطالعات گزارش شده که افزودن پکتین باعث افزایش ویسکوزیته سوسپانسیون نشاسته و کاهش قابلیت هضم آن در شرایط آزمایشگاهی گشته است [۲٦و۲۷]. مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که فیبرهای محلول مانند صمغ آگار، بتاگلوکان و آرابینوکسیلان در اثر هیدرولیز شدن باعث افزایش ویسکوزیته و کاهش سرعت هیدرولیز درشت مغذی‌ها بدلیل جلوگیری از برهمکنش آنزیم-سوبسترا شده اند [۲۸]. در مورد اثر پکتین بر مهار آنزیم آلفا آمیلاز با وجود گزارشات قبلی [۲۹, ۳۰] در خصوص نقش فیبرهای رژیمی در مهار آنزیم آلفا آمیلاز، در تحقیق حاضر مشاهده شد که پکتین در غلظت به کار رفته توانایی مهار این آنزیم را نداشت. این در حالی است که در مطالعه بای و همکاران (۲۰۲۱) محلول پکتین با غلظت۰/۵ درصد آنزیم آلفا آمیلاز را مهار کرد. افزون بر این، مشاهده شد که درجه استری شدن پکتین ارتباط مستقیمی با فعالیت مهار آنزیم آلفاآمیلاز دارد بطوریکه پکتین با درجه استری پایین‌تر توانایی بیشتری در مهار فعالیت آنزیم نشان داد[۳۱]. با توجه به مشابهت درجه استری در نمونه مورد بررسی و پکتین گزارش شده در مطالعه فوق، عوامل دیگری مانند ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی پکتین، میزان خلوص و نوع روش مورد آزمون ممکن است دلیل تفاوت میان نتایج باشد. چلپنوا و همکاران (۲۰۱۲) نیز گزارش کردند که اثر پکتین در مهار آنزیم آلفا آمیلاز به منبع گیاهی، نحوه استخراج، ترکیب شیمیایی و میزان غلظت پکتین بستگی دارد[۳۰]. در برخی مطالعات بالینی نیز به اثرگذاری پکتین بر کاهش میزان قند و انسولین خون اشاره شده است بطوریکه پکتین با کاهش تأخیر در جذب کربوهیدرات، توانسته است میزان قند خون بعد از غذا و قند ناشتا را در بیماران دیابتی نوع دوم کاهش دهد [۸]. در این زمینه سازمان ایمنی غذایی اروپا[5] ، اعتبار علمی ادعاهای تغذیه‌ای و بهداشتی در مورد پکتین رابه عنوان یک مکمل غذایی در کاهش پاسخ‌قند خون پس از غذا، حفظ کلسترول و افزایش سیری تأیید کرده است[۵].

۳-۲- خاصیت ضددیابتی شیرهای تخمیری و غیرتخمیری حاوی پکتین

شیر یک محیط مناسب برای رشد میکروارگانیسم‌ها است لذا قبل از افزودن پکتین به شیر غیرتخمیری و تخمیری، بار میکروبی نمونه شیر در دو محیط کشت مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت و مطابق انتظار مشاهده شد بار میکروبی شیر صفر است. از اینرو پس از اطمینان از عدم آلودگی شیر مورد آزمون، فعالیت ضد دیابتی سرم شیرهای تخمیری و غیر تخمیری در حضور و عدم حضور پکتین بررسی شد که نتایج آن در جدول۲ آمده است.

5. European Food Safety Authority (EFSA)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.20.5]
[DOI: 10.52547/fsct.19.123.55]

Table 2 α-Amylase and α-glucosdiase inhibitory activity of fermented milk by *L. helveticuse* and *L. para-casei* incomparasion with non-fermented milk (NFM)with and without pectin

Whey	α-amylase		α-glucosidase	
L.helveticus	With pectin	Without pectin	With pectin	Without pectin
L. para-casei	ND*	35.00 ± 0.04^{a}	60.00 ± 0.01^{aA}	30.00 ± 0.02^{aB}
NFM	23.00 ± 0.01^{aA}	22.00 ± 0.00^{bA}	ND	ND
	23.00 ± 0.00^{aA}	20.00 ± 0.03^{cB}	17.43 ± 0.16^{bA}	14.59 ± 0.02^{bB}

*ND: Not Detected

Small letters, show a statisticalysignificantdifferent between treatments in each column (P<0.05).
Captall letters, show a statisticaly significantdifferent between treatmentswith and withowut pectin for each enzyme (P<0.05).

مطابق نتایج جدول ۲ در بررسی قابلیت مهارکنندگی دو آنزیم هیدرولیز کننده کربوهیدرات در نمونه‌های مورد آزمون مشاهده می‌شود که سرم شیر غیرتخمیری (نمونه کنترل) توانایی مهار هر دو آنزیم آلفا آمیلاز و آلفا گلوکوزیداز را دارد. علاوه بر این مشاهده می‌شود پس از افزودن پکتین میزان مهار آنزیم آلفا آمیلاز و آلفاگلوکوزیداز در نمونه سرم شیر غیرتخمیری افزایش یافته است (p<۰/۰۵). این در حالی است که محلول پکتین در بافر توانایی مهار آنزیم آلفا آمیلاز را از خود نشان نداد ولی پس از افزودن پکتین به نمونه سرم شیر غیرتخمیری میزان مهار آنزیم آلفا آمیلاز افزایش یافت که می‌تواند اثر مشاهده شده نتیجه برهمکنش پروتئین‌های شیر و پلی‌ساکارید پکتین باشد. پکتین یک پلی‌ساکارید آنیونی است که می‌تواند از طریق فعل و انفعالات الکترواستاتیک با پروتئین‌ها کمپلکس ایجاد کند بطوریکه برهمکنش‌های الکترواستاتیکی ایجاد شده ممکن است بر روی ترکیب فضایی آمیلازها و توانایی‌های کاتالیزوری آن‌ها تأثیر بگذارد[۳۱-۳۲]. مطابق نتایج ارایه شده در جدول ۲ حضور پکتین در شیر تخمیر شده بوسیله سویه *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* باعث افزایش فعالیت مهارکنندگی آنزیم آلفا گلوکوزیداز شد (p<۰/۰۵). از آنجایی که پکتین به تنهایی توانایی فعالیت مهارکنندگی آنزیم آلفا گلوکوزیداز را داشت افزودن آن به شیر تخمیری فعالیت مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز را بالا برده است. همچنین تولید متابولیت‌های اسیدی توسط باکتری‌های اسید لاکتیک می‌تواند در این زمینه موثر باشد [۳۳]. با این وجود افزودن پکتین باعث بهبود توانایی مهار آنزیم آلفا آمیلاز در شیر تخمیری نشد. در شیر تخمیر شده توسط سویه *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* با افزودن پکتین تفاوت معناداری در مهار آنزیم آلفا آمیلاز مشاهده نگردید همچنین قابلیت مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز در نمونه سرم شیر تخمیری با پکتین و بدون پکتین در این سویه مشاهده نشد. لذا افزایش مهار آنزیم‌های متابولیزه کننده کربوهیدرات ممکن است با نوع سویه و استفاده از پکتین در تولید متابولیت‌های دارای قابلیت مهار مرتبط باشد. از سوی دیگر پکتین‌ها با ایجاد ویسکوزیته می‌توانند بر اثرات افزایش میزان قند پس از دریافت غذا تأثیرگذار باشند لذا قابلیت ایجاد ژل توسط پکتین، ممکن است از دلایل مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز باشد[۳٤].

۳-۳-خاصیت آنتی اکسیدانی پکتین

نتایج خاصیت آنتی اکسیدانی محلول پکتین با مهار رادیکال‌های آزادDPPH، ABTS و هیدروکسیل در جدول ۳ ارائه شده است.

Table 3 Antioxidant properties of pectin by DPPH, ABTS and Hydroxyl free radical scavenging activity

Consentration (mg/ml)	DPPH(%)	ABTS(%)	Hydroxyl(%)
0.5	17.68 ± 0.00^{e}	18.23 ± 0.01^{e}	33.33 ± 0.02^{d}
2	20.04 ± 0.04^{d}	19.43 ± 0.01^{d}	35.54 ± 0.01^{c}
5	29.00 ± 0.05^{c}	22.39 ± 0.01^{c}	37.37 ± 0.01^{b}
8	32.78 ± 0.03^{b}	24.30 ± 0.03^{b}	37.52 ± 0.00^{b}
10	44.57 ± 0.04^{a}	28.07 ± 0.06^{a}	38.85 ± 0.02^{a}

Different letters, show a statisticalysignificantdifferent between treatments in each column(P<0.05).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.20.5]
[DOI: 10.52547/fsct.19.123.55]

مطابق نتایج بدست آمده در بررسی مهار رادیکال آزاد DPPH در محلول پکتین مشاهده می‌شود که خاصیت آنتی‌اکسیدانی پکتین وابسته به غلظت نمونه است ($P<0/05$). اسید اسکوربیک (بعنوان نمونه کنترل) درغلظت ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ۸۴ درصد توانایی مهار رادیکال DPPH را نشان داد. در مطالعه رو و همکاران (۲۰۱۳) خاصیت آنتی اکسیدانی پکتین در غلظت ۰ تا ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نشان داد که میزان مهار رادیکال DPPH افزایش یافته است بطوریکه در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر میزان ۴۰ درصد رادیکال DPPH مهار شد که این یافته با نتیجه مطالعه حاضر همخوانی دارد [۳۵]. در مطالعه اکبری آدرگانی و همکاران (۲۰۲۱) بررسی خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH توسط پکتین استخراج شده از انار نیز نشان داد که با افزایش غلظت پکتین در محدوده ۵ تا ۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر میزان مهار رادیکالDPPH افزایش پیدا کرده است تا جایی که در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر میزان مهار پکتین در بالاترین حد (۹۰٪) گزارش گردید[۳۶]. در برخی منابع پکتین استخراج شده از تفاله سیب، کنگر فرنگی و پوست گریپ فروت افزایش خاصیت اکسیدانی پکتین از طریق مهار رادیکال DPPH با افزایش غلظت گزارش شده است[۳۷]. در مطالعه حاضر بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی پکتین نشان داد که اگرچه با افزایش غلظت پکتین میزان مهار رادیکال آزاد ABTS و هیدروکسیل افزایش داشت اما این میزان مانند افزایش مهار رادیکال DPPH نبود. در مقابل در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، اسید اسکوربیک رادیکال ABTS را بیش از ۹۵ درصد مهار کرد. در مطالعه چن و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده شد که با افزایش پکتین استخراج شده از گیاه آلوئه (صبر زرد) میزان مهار رادیکال آزاد ABTS پکتین افزایش یافته است و در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، میزان ۶۱/۱۷ درصد رادیکالABTS مهار شد ولی در مطالعه حاضر در این غلظت رادیکال آزاد ABTS معادل ۲۸/۰۷ درصد مهار گردید. بعلاوه در پژوهش این محققین با افزایش غلظت پکتین استخراج شده از گیاه آلوئه در غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ۱۹/۵۹ درصد، رادیکال هیدروکسیل مهار شد[۳۸]. ولی در مطالعه حاضر در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر میزان ۳۳/۳۳ درصد رادیکال هیدروکسیل مهار گردید. در مجموع نتایج بدست آمده از بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی محلول پکتین نشان دادند که پکتین پوست مرکبات دارای خاصیت آنتی اکسیدانی مطلوبی می‌باشد. در بررسی عوامل موثر بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی پکتین علاوه بر غلظت، برخی از محققین معتقدند که وجود گروه‌های هیدروکسیل فراوان در ساختار پکتین باعث فعالیت آنتی اکسیدانی این پلی‌ساکارید است [۳۹]. در این زمینه مشخص شده است که گروه‌های هیدروکسیل پلی‌ساکاریدها مانند پکتین زمانی که ویسکوزیته خیلی بالا نباشد می‌توانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی نشان دهند[۳۵]. همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی پلی‌ساکاریدها می‌تواند تحت تأثیر خواص ساختاری آن‌ها یا وجود اجزای غیرکربوهیدرات از جمله ترکیبات فنلی، محتوای کل قند (به ویژه گلوکز) در زنجیره‌های هموگالاکتورون و درجه استریفیکاسیون باشد[۴۰]. اسمیرناو و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که محتوای فنلی (٪۵/۷-۰/۰) پکتین استخراج شده نمونه‌های گیاهی مورد بررسی مسئول اثر آنتی اکسیدانی از طریق مهار رادیکال‌های هیدروکسیل و DPPH است [۳۷]. البته مواردی مانند نحوه قرار گرفتن کربوکسی متیل سلولز، هیدروکسی اتیل سلولز، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز و متیل سلولز پکتین[۴۱]، وزن مولکولی فیبرهای رژیمی[۴۲] و ویسکوزیته [۳۵] نیز در افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی پکتین موثر گزارش شده‌اند. رو و همکاران (۲۰۱۳) در مقایسه پکتین با پلی‌ساکاریدهای دیگر مانند آلژینات، زانتان، کیتوزان و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز، دلیل مهار رادیکال آزاد DPPH بالاتر پکتین را به گرانروی کم پکتین در مقایسه با پلی‌ساکاریدهای دیگر نسبت دادند بطوریکه بیان کردند ویسکوزیته بالاتر پلی‌ساکاریدهای نمونه ممکن است از برهمکنش مناسب بین گروه‌های هیدروکسیل موجود در پلی‌ساکاریدها و رادیکال‌های آزاد DPPH جلوگیری کرده باشد[۳۵]. عواملی دیگر مانند تفاوت در منشاء پکتین، روش‌های استخراج و حتی فن‌آوری‌هایی مانند خشک کردن می‌توانند بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، ساختار یا ترکیب پلی‌ساکاریدها تأثیر گذارد و منجر به تفاوت در فعالیت آنتی اکسیدانی پکتین شود[۴۳]. در این زمینه برخی از مطالعات فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج شده از گیاهان را نسبت به عصاره‌های خالص شده بالاتر گزارش کرده اند[۴۴].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.20.5]
[DOI: 10.52547/fsct.19.123.55]

٤-٣- خاصیت آنتی اکسیدانی شیرهای تخمیری و غیرتخمیری حاوی پکتین

در مطالعات متعددی خاصیت آنتی اکسیدانی محصولات غذایی حاوی لاکتوباسیل‌ها گزارش شده است، اما مقایسه نتایج بدلیل تنوع روش‌های سنجش مورد استفاده، روش‌های متعدد بیان نتایج، استفاده از میزان تلقیح متفاوت و دلایل مختلف دیگر دشوار است. برای دستیابی به نتایج درست و صحیح، ظرفیت آنتی اکسیدانی ترکیبات و عصاره‌های غذایی، باید از روش‌های مختلف استفاده نمود زیرا روش‌های مختلف اغلب نتایج متفاوتی را ارائه می‌دهند [٤٥]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرم شیرهای تخمیری و غیرتخمیری با پکتین و بدون آن با روش‌های مختلف ارزیابی گردید که نتایج آن در جدول٤ نشان داده شده است.

Table 4 Antioxidant properties of pectin in whey of fermented milk with LAB strains after 48h of fermentation comparasion with non-fermented milk (NFM) with and without pectin

Hydroxyl		ABTS		DPPH		
Without pectin	With pectin	Without pectin	With pectin	Without pectin	With pectin	Whey
23.97 ± 0.01^{bB}	31.61 ± 0.02^{bA}	79.88 ± 0.01^{aB}	82.21 ± 0.06^{aA}	41.00 ± 0.00^{aB}	82.26 ± 0.00^{aA}	*L.helveticus*
44.44 ± 0.01^{aB}	47.00 ± 0.04^{aA}	52.93 ± 0.02^{bB}	74.44 ± 0.06^{bA}	41.41 ± 0.05^{aB}	78.57 ± 0.05^{bA}	*L. para-casei*
24.00 ± 0.01^{bB}	27.00 ± 0.03^{cA}	16.00 ± 0.02^{cB}	39.16 ± 0.03^{cA}	20.00 ± 0.03^{bB}	55.00 ± 0.03^{cA}	NFM

Small letters, show a statisticaly significantdifferent between treatments in each column (P<0.05).
Captall letters, show a statisticaly significant different between treatmentswith and withowut pectin for each radical free (P<0.05).

خاصیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های سرم شیر تخمیری با نمونه غیرتخمیری در حضور و عدم حضور پکتین مطابق جدول٤ نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین میزان مهار رادیکال‌های آزاد با روش‌های مختلف در نمونه‌های مورد بررسی قبل و بعد از افزودن پکتین وجود دارد (P<۰/۰۵). میزان خاصیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های سرم شیر تخمیری قبل از افزودن پکتین بالاتر از نمونه کنترل می‌باشد که دلیل آن به فرایند تخمیر مرتبط است. زیرا در طی تخمیر پروتئین‌های شیر هیدرولیز شده و پپتیدهای آزاد شده نقش مهمی را در افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی بازی می‌کنند [٤٦]. عصاره‌های پپتیدی آزاد شده در طی تخمیر ممکن است توانایی خنثی کردن رادیکال‌های آزاد توسط اتم هیدروژن یا کاهش آن‌ها از طریق انتقال الکترون را داشته باشند[٤٧]. در این زمینه سلیمانزاده و همکاران (۲۰۱٦) افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی شیرهای تخمیر شده با باکتری‌های اسید لاکتیک را گزارش کرده اند [١٤]. واکنش‌های ایجاد شده حاصل از شرایط اسیدی در طی تخمیر تولید متابولیت‌هایی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌کند [٤٨]. اگرچه در طی تخمیر، متابولیت‌ها و پپتیدها عامل افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند، اما بسیاری این فعالیت‌ها به حضور پپتیدهای آنتی‌اکسیدان مرتبط دانسته شده است[٤٩]. مطابق نتایج بدست آمده مشاهده می‌شود که پس از افزودن پکتین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های سرم شیر تخمیری نسبت به نمونه بدون پکتین افزایش می‌یابد (P<۰/۰۵). دلیل آن ممکن است به تولید اسید لاکتیک یا اسیدهای آلی دیگر مربوط باشد [٥۰]. علاوه بر این، طبق نظر برخی از محققین وجود حفره‌ها و شکاف‌های آبگریز ایجاد شده در اثر برهمکنش پلی‌ساکارید-پروتئین ممکن است باعث افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی پکتین در نمونه‌های سرم شیرتخمیری و غیرتخمیری در مقایسه با نمونه‌های بدون پکتین شده باشد [٤۳]. از سوی دیگر در سنجش خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های سرم شیر تخمیری و غیرتخمیری مشاهده می‌شود که میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH بیشتر از رادیکال‌های ABTS و هیدروکسیل است. همچنین در نمونه محلول پکتین هم میزان مهار رادیکال DPPH بیشتر از رادیکال ABTS و هیدروکسیل بود (جدول ٤). دلیل این یافته می‌تواند به شرایط آزمون از قبیل تأثیرگذاری pH، حلالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، طبیعت آبدوست یا آبگریز رادیکال‌های آزاد بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده مرتبط باشد. زیرا رادیکالABTS محلول در آب و رادیکال DPPH محلول در حلال‌های آلی هستند[٥١]. لذا این مسئله می‌تواند تفاوت در میزان مهار رادیکال آزاد را در نمونه‌های مورد بررسی توجیه کند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.20.5]
[DOI: 10.52547/fsct.19.123.55]

در بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی میان سرم شیر تخمیری سویه *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* مشاهده می‌شود که این دو سویه باکتریایی بخصوص سویه *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* *قابلیت* خوبی در مهار رادیکال‌های آزاد دارند. در مطالعات دیگر نیز سویه *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* بعنوان یک سویه با خاصیت آنتی اکسیدانی بالا معرفی شده است [۵۲-۵۳]. برخی از یافته‌ها توانایی مهار رادیکال آزاد در سویه *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* را به قابلیت پروتئولیز این سویه در حضور کلسیم نسبت داده اند [۵٤]. از آنجایی که رادیکال هیدروکسیل در شرایط آزمایشگاهی با روش Fe^{2+}/H_2O_2 ارزیابی می‌شود لذا قابلیت خوب سویه *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* در مهار رادیکال هیدروکسیل احتمالاً به دلیل توانایی این سویه در اتصال به یون‌های فلزی مانند Fe^{2+} می‌باشد[۵۵]. همچنین در برخی از مطالعات فعالیت آنتی‌اکسیدانی سویه *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* با خاصیت پروتئولیتیکی بالای این سویه مرتبط داده شده است [٤۸ و٤۷].

٤-نتیجه گیری کلی

در پژوهش حاضر خاصیت ضد دیابتی و آنتی‌اکسیدانی پکتین بصورت محلول در بافر و اضافه شده به سرم شیر تخمیری و غیرتخمیری در مقایسه با نمونه فاقد پکتین مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که محلول پکتین پتانسیل ضد دیابتی (مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز) و خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد. همچنین مشاهده شد پکتین خاصیت ضد دیابتی و آنتی‌اکسیدانی سرم شیر تخمیری و غیرتخمیری را افزایش می‌دهد از این‌رو، استفاده از سویه‌های لاکتیکی به همراه پکتین عملکرد امیدوار کننده‌ای برای تولید و توسعه فرآورده‌های لبنی فراسودمند می‌باشد.

٥- منابع

[1] Jakobsdottir, G., Nyman, M., & Fåk, F. 2014. Designing future prebiotic fiber to target metabolic syndrome. Nutrition, 30(5), 497-502.

[2] Moodley, K., Joseph, K., Naidoo, Y., Islam, S., & Mackraj, I. 2015. Antioxidant, antidiabetic and hypolipidemic effectsof Tulbaghia violacea Harv.(wild garlic) rhizome methanolic extract in a diabetic rat model. BMC Complementary and Alternative Medicine, 15(1), 1-13.

[3] Mwakalukwa, R., Amen, Y., Nagata, M., &Shimizu, K.2020. Postprandial hyperglycemia lowering effect of the isolated compounds from olive mill Wastes–an inhibitory activity and kinetics studies on α-glucosidase and α-amylase enzymes. ACS Omega, 5(32), 20070-20079.

[4] Kaczmarczyk, M. M., Miller, M. J., & Freund, G. G. 2012. The health benefits of dietary fiber: beyond the usual suspects of type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease and colon cancer. Metabolism, 61(8), 1058-1066.

[5] Ciriminna, R., Fidalgo, A., Delisi, R., Ilharco, L. M., & Pagliaro, M. 2016. Pectin production and global market. Agro Food IndustryHi-Tech, 27(5), 17-20.

[6] Zhi, Z., Chen, J., Li, S., Wang, W., Huang, R., Liu, D.,Ding, T.,Linhardt, R.J., Chen, Sh& Ye, X. 2017. preparation of RG-I enriched ultra-low molecular weight pectin by an ultrasound accelerated fenton process. Scientific Reports, 7(1), 1-11.

[7] Naqash, F., Masoodi, F. A., Rather, S. A., Wani, S. M., & Gani, A. 2017. Emerging concepts in the nutraceutical and functional properties of pectin-A review. Carbohydrate Polymers, 168, 227-239.

[8] Wu, D., Ye, X., Linhardt, R. J., Liu, X., Zhu, K., Yu, C., Ding, T., Liu, D., He, Q. & Chen, S. 2021. Dietary pectic substances enhance gut health by its polycomponent: A review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 20(2), 2015-2039.

[9] Koksoy, A., &Kilic,M. 2004.Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, ayran. Food Hydrocolloids, 18(4), 593-600.

[10] Sun, L., Warren, F. J., & Gidley, M. J. 2018. Soluble polysaccharides reduce binding and inhibitory activity of tea polyphenols against porcine pancreatic α-amylase. Food Hydrocolloids, 79, 63-70.

[11] Ahmadi Gavlighi, H., Tabarsa, M., & Ghaderi Ghahfarokhi, M. 2021. Antioxidant, α-amylase and α-glucosidase inhibition properties of polysaccharide from pomegranate

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.20.5]
[DOI: 10.52547/fsct.19.123.55]

peel via enzymatic and acidic approach. Food Science and Technology, 18(117), 145-153.
[12] Lin, M. Y., & Yen, C. L. 1999. Antioxidative ability of lactic acid bacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47(4), 1460-1466.
[13] Li, Y., Wang, X., Meng, Y., Zhang, F., Shao, Z., & Hu, L. 2018. Effect of the modified high methoxyl pectin on the stability of the fermented milk beverage. International Journal of Food Properties, 21(1), 2075-2086.
[14] Ferdowsifard, M., Fazeli, M., Samadi, N., & Jamalifar, H. 2011. The stability of fermented and non-fermented probiotic milk produced by three species of autochthonous Lactobacillus.JournalofFood ScienceandNutrition, 8(4),13-20.
[15] Soleymanzadeh, N., Mirdamadi, S., & Kianirad, M. 2016. Antioxidant activity of camel and bovine milk fermented by lactic acid bacteria isolated from traditional fermented camel milk (Chal). Dairy Science & Technology, 96(4), 443-457.
[16] Demain, AL.,Solomon NA. 1986. Manualof industrial microbiology and biotechnology. United States of America,American Society for Microbiology, 59-60.
[17] Ayyash, M., Al-Nuaimi, A. K., Al-Mahadin, S., & Liu, S. Q. 2018. In vitro investigation of anticancer and ACE-inhibiting activity, α-amylase and α-glucosidase inhibition, and antioxidant activity of camel milk fermented with camel milk probiotic: A comparative study with fermented bovine milk. Food Chemistry, 239, 588-597.
[18] Son, S., & Lewis, B. A. 2002. Free radical scavenging and antioxidative activity of caffeic acid amide and ester analogues: Structure− activity relationship. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(3), 468-472.
[19] Mukherjee, S., Pawar, N., Kulkarni, O., Nagarkar, B., Thopte, S., Bhujbal, A., & Pawar, P. 2011. Evaluation of free-radical quenching properties of standard Ayurvedic formulation Vayasthapana Rasayana. BMC Complementary and Alternative Medicine, 11(1), 1-6.
[20] Chi, C. F., Hu, F. Y., Wang, B., Li, T., & Ding, G. F. 2015. Antioxidant and anticancer peptides from the protein hydrolysate of blood clam (Tegillarca granosa) muscle. Journal of Functional Foods, 15, 301-313.
[21] Malunga, L. N., & Izydorczyk, M. 2017.Antiglycemic effect of water extractable arabinoxylan from wheat aleurone and bran. Journal ofNutrition and Metabolism, 2017, 1-6.
[22] Brockman, D. A., Chen, X., & Gallaher, D. D. 2013. Consumption of a high β-glucan barley flour improves glucose control and fatty liver and increases muscle acylcarnitines in the Zucker diabetic fatty rat. European Journal of Nutrition, 52(7), 1743-1753.
[23] Ademosun, A. O., Oboh, G., Olasehinde, T. A., & Adeoyo, O. O. 2018. From folk medicine to functional food: a review on the bioactive components and pharmacological properties of citrus peels. Oriental Pharmacy and Experimental Medicine, 18(1), 9-20
[24] Ou, S., Kwok, K. C., Li, Y., & Fu, L. 2001. In vitro study of possible role of dietary fiber in lowering postprandial serum glucose. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(2), 1026-1029.
[25] Grundy, M. M. L., Edwards, C. H., Mackie, A. R., Gidley, M. J., Butterworth, P. J., & Ellis, P. R. 2016. Re-evaluation of the mechanisms of dietary fibre and implications for macronutrient bioaccessibility, digestion and postprandial metabolism. British Journal of Nutrition, 116(5), 816-833.
[26] Sasaki, T., & Kohyama, K. 2012. Influence of non-starch polysaccharides on the in vitro digestibility and viscosity of starch suspensions. Food Chemistry, 133(4), 1420-1426.
[27] Sasaki, T., Sotome, I., & Okadome, H. 2015. In vitro starch digestibility and in vivo glucose response of gelatinized potato starch in the presence of non‐starch polysaccharides. Starch-Stärke, 67(5-6), 415-423
[28] Dhital, S., Gidley, M. J., & Warren, F. J. 2015. Inhibition of α-amylase activity by cellulose: Kinetic analysis and nutritional implications. Carbohydrate Polymers, 123, 305-312.
[29] Hansen, W. E., & Schulz, G. 1982. The effect of dietary fiber on pancreatic amylase activity in vitro. Hepato-gastroenterology, 29(4), 157-160.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.20.5]
[DOI: 10.52547/fsct.19.123.55]

and Environmental Science, 185(1), 012028). IOP Publishing.
[39] Wathoni, N., Shan, C. Y., Shan, W. Y., Rostinawati, T., Indradi, R. B., Pratiwi, R., &Muchtaridi, M. 2019.Characterization and antioxidant activity of pectin from Indonesian mangosteen (Garcinia mangostana L.) rind. Heliyon, 5(8), e02299, 1-5.
[40] Torkova, A. A., Lisitskaya, K. V., Filimonov, I. S., Glazunova, O. A., Kachalova, G. S., Golubev, V. N., & Fedorova, T. V. 2018. Physicochemical and functional properties of Cucurbita maxima pumpkin pectin and commercial citrus and apple pectins: A comparative evaluation. PloS one, 13(9), e0204261,1-24.
[41] Avila, J. A. D., Ochoa, M. A. V., Parrilla, E. A., González, E. M., & Aguilar, G. A. G. 2018. Interactions between four common plant-derived phenolic acids and pectin, and its effect on antioxidant capacity. Journal of Food Measurement and Characterization, 12(2), 992-1004.
[42] Mercado-Mercado, G., Laura, A., & Alvarez-Parrilla, E.2020. Effect of pectin on the interactions among phenolic compounds determined by antioxidant capacity. Journal of Molecular Structure, 1199, 126967, 1-9.
[43] Wang, J., Hu, S., Nie, S., Yu, Q., & Xie, M. 2016. Reviews on mechanisms of in vitro antioxidant activity of polysaccharides. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016, 1-13.
[44] Rubio-Senent, F., Rodríguez-Gutiérrez, G., Lama-Muñoz, A., García, A., & Fernández-Bolaños, J. 2015. Novel pectin present in new olive mill wastewater with similar emulsifying and better biological properties than citrus pectin. Food Hydrocolloids, 50, 237-246.
[45] 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.
[46] Torki Baghbadorani, S., Ehsani, M. R., Mirlohi, M. EzzatPanah H. 2014. Comparison of 4 methods for measuring anti-oxidant capability in order to investigate the effect for fermentation of ultra heat treatment soy milk
[30] Chelpanova, T. I., Vitiazev, F. V., & Efimtseva, É. A. 2012. Effect of pectin substances on activity of human pancreatic alpha-amylase in vitro. Rossiiskii Fiziologicheskii Zhurnal Imeni IM Sechenova, 98(6), 734-743.
[31] Bai, Y., Atluri, S., Zhang, Z., Gidley, M. J., Li, E., & Gilbert, R. G. 2021. Structural reasons for inhibitory effects of pectin on α-amylase enzyme activity and in-vitro digestibility of starch. Food Hydrocolloids, 114, 106581, 1-10.
[32] Chevalier, L. M., Rioux, L. E., Angers, P., & Turgeon, S. L. 2019. Study of the interactions between pectin in a blueberry puree and whey proteins: Functionality and application. Food Hydrocolloids, 87, 61-70.
[33]Apostolidis, E., Kwon, Y. I., Ghaedian, R., & Shetty, K. 2007. Fermentation of milk and soymilk by Lactobacillus bulgaricus and Lactobacillus acidophilus enhances functionality for potential dietary management of hyperglycemia and hypertension. Food Biotechnology, 21(3), 217-236.
[34]Kumar, V., Sinha, A. K., Makkar, H. P., de Boeck, G., & Becker, K. 2012. Dietary roles of non-starch polysachharides in human nutrition: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 52(10), 899-935.
[35] Ro, J., Kim, Y., Kim, H., Jang, S. B., Lee, H. J., Chakma, S., ... & Lee, J. 2013. Anti-oxidative activity of pectin and its stabilizing effect on retinyl palmitate. The Korean Journal of Physiology & Pharmacology, 17(3), 197-201.
[36] Akbari-Adergani, B., Zivari Shayesteh, P., & Pourahmad, R. 2021. Evaluation of some functional properties of extracted pectin from pomegranate peel by microwave method. Journal of Food Technology and Nutrition, 18(3), 5-16.
[37] Smirnov, V. V., Golovchenko, V.V., Vityazev, F. V., Patova, O. A., Selivanov, N. Y., Selivanova, O. G., & Popov, S. V. 2017. The antioxidant properties of pectin fractions isolated from vegetables using a simulated gastric fluid. Journal of Chemistry, 2017, 1-10.
[38] Chen, K., Zhu, L. X., Zhan, X. F., & Zhang, S. A. 2018. Extraction and characterization of pectin from the peel powder of Aloe barbadensis. In IOP Conference Series: Earth

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.20.5]
[DOI: 10.52547/fsct.19.123.55]

by Lactobacillus plantarum,Journal of Food Science and Technology,12(46), 1-13.
[47] Elfahri, K. R., Vasiljevic, T., Yeager, T., & Donkor, O. N. 2016. Anti-colon cancer and antioxidant activities of bovine skim milk fermented by selected Lactobacillus helveticus strains. Journal of Dairy Science, 99(1), 31-40.
[48] Bagheri, F., Mirdamadi, S., Mirzaei, M., & Safavi, M. 2020. Production of functional fermented milk by Lactobacilli isolated from traditional iranian dairy products. Innovative Food Technologies, 7(2), 243-255.
[49] Soleymanzadeh, N., Mirdamadi, S., Mirzaei, M., & Kianirad, M. 2019. Novel β-casein derived antioxidant and ACE-inhibitory active peptide from camel milk fermented by Leuconostoc lactis PTCC1899: Identification and molecular docking. International Dairy Journal, 97, 201-208.
[50] Ramakrishna, R., Sarkar, D., Dogramaci, M., & Shetty, K. 2021. Kefir culture-mediated fermentation to improve Phenolic-linked antioxidant, anti-hyperglycemic and human gut health benefits in sprouted food barley. Applied Microbiology, 1(2), 377-407.
[51] Mirzaei, M., Mirdamadi, S., Ehsani, M. R., & Aminlari, M. 2018. Production of antioxidant and ACE-inhibitory peptides from Kluyveromyces marxianus protein hydrolysates: Purification and molecular docking. Journal of Food and Drug Analysis, 26(2), 696-705.
[52] Shu, G., Shi, X., Chen, L., Kou, J., Meng, J., & Chen, H. 2018. Antioxidant peptides from goat milk fermented by Lactobacillus casei L61:Preparation, optimization, and stability evaluation in simulated gastrointestinal fluid. Nutrients, 10(6), 797, 1-13.
[53] Abdel-Hamid, M., Romeih, E., Gamba, R. R., Nagai, E., Suzuki, T., Koyanagi, T., & Enomoto, T. 2019. The biological activity of fermented milk produced by Lactobacillus casei ATCC 393 during cold storage. International Dairy Journal, 91, 1-8.
[54] Shin, J. Y., Jeon, W. M., Kim, G. B., & Lee, B. H. 2004.Purification and characterization of intracellular proteinase from Lactobacillus casei ssp. casei LLG. Journal of Dairy Science, 87(12), 4097-4103.
[55] Duz, M., Dogan, Y. N., & Dogan, İ. 2020.Antioxidant activitiy of Lactobacillus plantarum, Lactobacillus sake and Lactobacillus curvatus strains isolated from fermented Turkish Sucuk. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 92(4), 1-13.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.20.5]
[DOI: 10.52547/fsct.19.123.55]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Effect of Pectin on Anti-diabetic and Anti-oxidant Properties of Fermented Milkby Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Iranian Dairy Products

Shirkhan, F. [1], Mirdamadi, S. [2 *], Mirzaei, M. [3], Akbari-adergani, B. [4], Nasoohi, N. [5]

1. Department of Food Science and Technology, Faculty of Pharmacy, Tehran Medical Sciences, Islamic AzadUniversity,Tehran, Iran.
2. Professor, Department of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science & Technology(IROST), Tehran, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic AzadUniversity, Tehran, Iran.
4.Professor of Food and Drug Laboratory Research Center, Food and Drug administration, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran.
5. Assistantof Professor, Department of Biochemistry and Biophysics, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

ABSTRACT

Nowadays, Polysaccharides are used to improve the nutritional and physicochemical properties of dairy products. The identification of natural compounds such as polysaccharides with antidiabetic and antioxidant properties has become important due to the relationship between diabetes and oxidative stress. Therefore, the present study aimed to evaluate the influence of pectin on the antidiabetic and antioxidant activity of milk fermented by lactic acid bacteria (LAB) isolated from traditional Iranian dairy products. Pectin (1%) was added to the samples following milk fermentation by *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus para-casei* strains, and antidiabetic activity was assessed by considering the inhibitory effects on α-amylase and α-glucosidase.The antioxidant activity was determinedby evaluating inhibition of 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and hydroxyl radicals. Samples included pectin solution (0.5-3.5 mg/mland 0.5-10 mg/ml for evaluation of anti-diabetic and antioxidant activity, respectively),whey of fermented and non-fermented milk with(1%) and without pectin. The results indicated the role of pectin on inhibition of α-glucosidase enzyme activity (IC_{50}=2.38 mg/ml), as well as scavenging the DPPH (44.57%), ABTS (28.7%), and Hydroxyl (38.85%) radicals (P<0.05) a concentration of 10 mg/ml. Pectinadded to the whey of non-fermented milk sample boosted antioxidant properties and the maximum rate of free radical scavenging activity (35%) was obtained for DPPH radical. Furthermore, adding pectin to the whey of milk fermented with *Lactobacillus helveticus* strain improved the activity oftheproduct on inhibition of α-glucosidase enzyme (29%), scavenging of DPPH (41.26%), ABTS (2.5%), and hydroxyl radicals (7.64%) (P<0.05). The results indicated the potential of pectin to be used in the formulation of beneficial foodproducts due to its ability to improve the antioxidant and anti-diabetic properties of fermented milk products.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 11/ 30
Accepted 2022/ 01/ 26

Keywords:

Type 2 diabetes,
Pectin,
Lactic Acid Bacteria,
polysaccaride,
Antioxidant activity,
Functional product

DOI: 10.52547/fsct.19.123.55
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.20.5

*Corresponding Author E-Mail:
Mirdamadi@irost.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.20.5]
[DOI: 10.52547/fsct.19.123.55]