مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بهینه سازی تولید پروتئین هیدرولیز شده با ویژگی آنتی اکسیدانی از سبوس برنج طارم توسط آنزیم آلکالاز

فاطمه رضانژاد امیردهی[۱]، علیرضا صادقی ماهونک[۲*]، محمد قربانی[۳]، محسن رشیدی[٤]، سیده نرگس مظلومی [٥]

۱-دانشجوی ارشد علوم و صنایع غذایی - دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲*-استاد علوم و صنایع غذایی-دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۳- استاد علوم و صنایع غذایی- دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

٤- استادیار گروه فارماکولوژی-دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

٥- استادیار صنایع غذایی-گروه تغذیه دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۱٤۰۲/۷/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱٤۰۲/۱۰/۷

کلمات کلیدی:

بهینه سازی،

پروتئین هیدرولیز شده،

ویژگی آنتی اکسیدانی،

پروتئین سبوس برنج،

هیدرولیز آنزیمی

DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112.

مسئول مکاتبات: *

sadeghiaz@gau.ac.ir

چکیده

پپتیدهای حاصل از هیدرولیز پروتئین دارای خواص زیست فعالی متعددی بوده و دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قوی در برابر رادیکال های آزاد هستند و از فرآیندهای اکسیداسیون که سبب آسیب به ماکرومولکول‌های بیولوژیکی و تخریب و افت کیفیت غذا میگردد، جلوگیری می‌کنند. با توجه به حجم زیاد تولید برنج در دنیا، مقدار زیادی سبوس برنج تولید و در دسترس می باشد. با توجه به عنوان منبع پروتئینی مناسب و ارزان، سبوس برنج میتواند برای تولید پپتید با منشاء گیاهی مورد استفاده قرار گیرد. بهینه سازی شرایط هیدرولیز آنزیمی پروتئین سبوس برنج توسط آنزیم آلکالاز با هدف دستیابی به حداکثر خاصیت آنتی اکسیدانی صورت گرفت. به منظور بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی پپتیدهای حاصله از آزمون های قدرت احیاکنندگی آهن۳ و سنجش فعالیت مهار کنندگی رادیکال های آزاد DPPH و فعالیت آنتی اکسیدانی کل استفاده شد. جهت بهینه سازی فرآیند از نرم افزار Design Expert و روش سطح پاسخ با سه متغیر مستقل : غلظت آنزیم به سوبسترا ۳ - ۱ درصد، دمای ۵۵ - ٤۰ درجه سلسیوس و زمان هیدرولیز ۲۱۰ - ۳۰ دقیقه انجام شد. تیمار بهینه در شرایط تعیین شده شامل دمای ۵۱.۵ درجه سلسیوس، زمان ۱۳۱.۵ دقیقه و غلظت آنزیم به سوبسترا ۳ درصد به دست آمد که دارای حداکثر مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH 37.172 درصد، فعالیت آنتی اکسیدانی کل ۱.۱۰۹ درصد و احیاکنندگی ۲.۰۸٤ درصد تعیین شده است. نتایج به دست آمده نشان داد است فرآیند هیدرولیز پروتئین سبوس برنج توسط آنزیم آلکالاز، منجر به تولید پپتیدهایی با ویژگی آنتی اکسیدانی بالا و قابل توجه شده که می تواند در تولید غذاهای فراسودمند و صنایع دارویی استفاده و همچنین جایگزین آنتی اکسیدان های سنتزی شود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-19]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112]

۱-مقدمه

پپتیدهای زیست فعال به عنوان محصولات حاصل از هیدرولیز پروتئین، اجزاء پروتئینی خاصی هستند که دارای اثرات بیولوژیکی قابل توجهی مانند فعالیت‌های آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد دیابت، ضد سرطان می‌باشند و تأثیر مثبتی بر عملکرد یا شرایط بدن دارند و ازنظر اقتصادی به دلیل کاربرد در تولید غذاهای فراسودمند و داروها مورد توجه بسیار قرارگرفته‌اند **[۱]**. پپتیدهای فعال زیستی عموماً کوتاه (حاوی ۳ - ۲۰ اسید آمینه) هستند. این پپتیدها اغلب از نظر عملکردی در پروتئین‌های اصلی غیرفعال هستند و باید به طریقی آزاد شوند تا به نقش‌های «زیست فعال» خاص خود دست یابند **[۲]**. رایج‌ترین روش تولید پپتیدهای زیست‌فعال، هیدرولیز پروتئین‌ها به کمک آنزیم‌ها می‌باشد که فرآیندی ملایم و قابل کنترل است **[۳]**. برنج یکی از مهم ترین محصول زراعی (غلات) در جهان است. تولید برنج از نظر جغرافیایی در جنوب و شرق آسیا متمرکز است **[٤]**. برنج متعلق به جنس **Oryza**، خانواده **Poaceae (Gramineae)**، تیره **Oryzeae** است **[٥]**. دانه برنج از دو قسمت اصلی پوسته و کاریوپسیس (مجموع سبوس، آندوسپرم و جنین) تشکیل شده است. سبوس برنج در طی آسیاب کردن از آندوسپرم نشاسته ای جدا شده و سرشار از ویتامین های گروه **B** و مواد معدنی است. بیش از نیمی از سبوس توسط سلولز و پنتوزان، پلیمرهای مبتنی بر زایلوز و آرابینوز که به طور محکم به پروتئین ها متصل هستند، ساخته شده است. پروتئین اصلی سبوس برنج آلبومین و گلوبولین ها بوده در حالی که پرولامین و گلوتلین اجزای فرعی هستند. پروتئین ها و کربوهیدرات ها هر کدام تقریباً ١٦ درصد از کل ماده خشک سبوس را تشکیل می دهند. ترکیب دانه برنج برای اکثر واریته ها تقریباً ۲۰ درصد پوسته، ۱۱ درصد سبوس و ٦٩ درصد آندوسپرم نشاسته ای است **[**٦ و ۷**]**. با توجه به حجم عظیم تولید برنج در سراسر جهان و محتوای پروتئین غنی سبوس برنج، هم نیاز و هم پتانسیل ارزش افزوده به این محصول فرعی عمده آسیاب برنج وجود دارد. استرس اکسیداتیو زمانی رخ می‌دهد که تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن/نیتروژن (**ROS/NOS**) و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی به هم بخورد و به طور بالقوه منجر به آسیب های بیولوژیکی به ماکرومولکول‌های مهم سلولی می‌شود **[۸]**. آنتی اکسیدان ها مولکول هایی هستند که با جلوگیری از تشکیل رادیکال های آزاد از طریق مکانیسم های شلاته کنندگی یون های فلزی، خاموش کردن اکسیژن یگانه، توقف مرحله انتشار واکنش زنجیره‌ای در فرآیندهای اتو اکسیداسیون و کاهش غلظت اکسیژن، اکسیداسیون خودبه خودی را به تاخیر می‌اندازند یا آن را مهار می‌کنند **[۹]**. در مطالعه هایتا و همکاران (۲۰۲۰)، استخراج پروتئین با ویژگی ضد فشار خون و آنتی‌اکسیدان با استفاده از هیدرولیز آنزیمی به منظور افزایش ارزش افزوده سبوس برنج، بهینه‌سازی شد و نتایج نشان داد که فعالیت زیستی و ظرفیت آنتی-اکسیدانی با تیمار آلکالاز افزایش می‌یابد[۱۰]. واتاناسیریتهام و همکاران (۲۰۱٦)، فراکسیون‌های پروتئین سبوس و هیدرولیزشده‌ها با پاپائین و تریپسین را از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ارزیابی و نشان دادند که آلبومین سبوس برنج هیدرولیز شده با تریپسین می-تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان غذایی طبیعی مورد استفاده قرار گیرد [۱۱]. اورایپونگ و ژائو (۲۰۱٦)، گزارش کردند که پروتئین هیدرولیز شده سبوس برنج توسط چهار آنزیم پروتئازی ویژگی‌های مهار فعالیت **α**- آمیلاز و **β**- گلوکوزیداز و آنزیم مبدل آنژیوتانسین را نشان داد [۱۲]. هدف از این پژوهش، بهینه سازی هیدرولیز آنزیمی پروتئین سبوس برنج طارم توسط آنزیم آلکالاز به روش سطح پاسخ با بررسی سه فاکتور زمان، دما و نسبت آنزیم به سوبسترا جهت دستیابی به

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-19]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112]

بیشترین قدرت احیا کنندگی آهن۳ و مهار رادیکال آزاد **DPPH**[1] و قدرت آنتی اکسیدانی کل بود.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

آنزیم آلکالاز، تری کلرواستیک اسید، آمونیوم مولیبدات، دی پتاسیم هیدروژن فسفات، سدیم تری پلی فسفات، پتاسیم فری سیانید، هیدروکلریک اسید، اتانول، هگزان، **DPPH**، کلرید آهن (**III**). کلیه این مواد از شرکت-های مرک و سیگما و با خلوص بالا درجه آزمایشگاهی تهیه شدند. این پژوهش در آزمایشگاه های گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گرفت. سبوس برنج طارم از کارخانه شالیکوبی بندپی شرقی شهرستان بابل تهیه شد.

۲-۲- آماده سازی و چربی گیری مواد اولیه

سبوس برنج ابتدا از الک با مش ۸۰ میکرون عبور داده شد و چربی‌زدایی سبوس با استفاده از هگزان به روش وانگ و همکاران (۱۹۹۹)، انجام شد [۱۳]. در مرحله بعد جهت خارج شدن حلال، سبوس در آون با دمای ٤٥ درجه سلسیوس قرار گرفت و پودر سبوس چربی-گیری شده در کیسه‌ی پلی‌اتیلن بسته‌بندی و در یخچال جهت آزمایش نگهداری شد.

۲-۳- استخراج پروتئین

استخراج پروتئین از سبوس برنج به روش یوم و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد [١٤]. سبوس برنج بدون چربی به نسبت ۵ به ۱ با آب مقطر مخلوط شده و سپس به مدت ۵ دقیقه روی همزن با سرعت ۲۵۰ دور در دقیقه هم زده شد. سپس **pH** مخلوط، با سدیم هیدروکسید ۱.۰ مولار بر روی ۹ تنظیم شده و به مدت ۲ ساعت هم زده شد و سپس سانتریفیوژ (**g** ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای ٤ درجه سلسیوس) شده تا مواد نامحلول حذف شدند. سپس پروتئین موجود در مایع رویی با تنظیم **pH** بر روی میزان ٤ به کمک هیدروکلریک اسید ۱.۰ مولار رسوب داده و مجددا سانتریفیوژ (**g** ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای ٤ درجه سلسیوس) گردید. رسوب حاصل دو بار با آب شستشو گردید تا مواد محلول حذف شدند. سپس رسوب مجدداً در آب مقطر پراکنده شد (۱:۱)، و با تنظیم **pH** روی ۷.۰ با استفاده از یک **pH** متر، خنثی و سپس با خشک کن انجمادی خشک شد. پروتئین حاصل تا مدت استفاده شدن در ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شد.

۲-٤- تولید پروتئین هیدرولیز شده

جهت انجام هیدرولیز از آنزیم آلکالازاستفاده شد. ۵۰گرم پروتئین سبوس برنج در بالن حجمی توزین و در ۱۰۰۰ میلی لیتر بافرفسفات (**pH**=۸) مخلوط شد. سپس به منظور بهینه سازی تولید پروتئین های هیدرولیز شده با حداکثر فعالیت آنتی اکسیدانی از روش سطح پاسخ استفاده شد. دماهای مورد استفاده در محدوده ی ۵۵-٤۰ درجه سلسیوس، زمان بین ۳۰ تا ۲۱۰ دقیقه و غلظت آنزیم به سوبسترا ۱ تا ۳ درصد بود که توسط روش سطح پاسخ بهینه‌سازی شد. گرمخانه گذاری تیمار ها انجام شد. به منظور غیرفعال کردن آنزیم، محلول پروتئینی تلقیح شده با آنزیم در دمای ۸۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب قرار گرفت. تیمارها در سانتریفیوژ با دور ۵۰۰۰ و زمان ۲۰ دقیقه دمای ٤ درجه سلسیوس قرار داده شده و سوپرناتانت حاصل با خشک کن خشک شده و پودر حاصله تا مدت زمان استفاده در ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شد [۱۵].

۲-۵- اندازه‌گیری میزان پروتئین

۱- ۲، ۲- دی فنیل -۱- پیکریل هیدرازیل

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-19]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112]

میزان پروتئین نمونه با روش کجلدال اندازه‌گیری شد. ۱ گرم از نمونه به درون لوله هضم کجلدال اضافه شد و یک قرص کاتالیزور کجلدال و ۲۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ به آن اضافه شد. جهت شاهد از یک لوله هضم بدون نمونه و همچنین حاوی اسید و کاتالیزور استفاده شد. هضم با توان ۸۰ دستگاه و به مدت ۱۲۰ دقیقه تا زمان شفاف شدن محتویات بالن هضم انجام شد. مرحله‌ی تقطیر با استفاده از سود ٤٠ درصد و اسیدبوریک ٤ درصد با استفاده از دستگاه تقطیر بعد از سردشدن و خروج بخارات اسیدی انجام شد. در اخر تیتراسیون نمونه با اسیدکلریدریک ۰.۱ نرمال و اضافه شدن متیل‌رد، تا رنگ لیمویی روشن نمونه انجام گرفت. درصد ازت نمونه با استفاده از معادله (۱) محاسبه شد [١٦].

$$\text{درصد ازت نمونه} = \frac{1.4 \times N \times (V1 - V2)}{m} \times 100 \quad (1)$$

در رابطه فوق **N** نرمالیته اسیدکلریدریک، $\mathbf{V}_1$ حجم اسید مصرفی برای نمونه، $\mathbf{V}_2$ حجم مصرفی برای شاهد و **m** وزن نمونه بر حسب گرم است. جهت محاسبه درصد پروتئین میزان ازت در فاکتور پروتئین (٦.٢٥) ضرب و میزان آن محاسبه گردید.

آنالیز ترکیبات شیمیایی

2-6- درصد رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر (برمبنای وزن مرطوب) به روش **AOAC(2005)** اندازه‌گیری شد [١٦].

۲-۷-اندازه‌گیری فعالیت مهار رادیکال DPPH

درصد مهار رادیکال آزاد **DPPH** با روش وو و همکاران (۲۰۰۳)، تعیین شد. پودرهای هیدرولیز شده ابتدا در آب مقطر (٤٠ **mg/ml**) حل شد. سپس، ۱/۵**ml** از هر نمونه با ۱/۵**ml** از محلول اتانولی **DPPH** (۰.۱۵ **mM**) مخلوط و به مدت ۲۰ ثانیه مخلوط شد. سپس، مخلوط حاصل در ۲۵۰۰**g** به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد و به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. سپس جذب محلول سوپرناتانت در طول موج ۵۱۷ نانومترخوانده شد. درصد مهار رادیکال **DPPH** با استفاده از فرمول (۲)محاسبه شد. در نمونه کنترل ۱۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر به جای نمونه پروتئین هیدرولیز شده استفاده شد [۱۷].

$$\text{درصد مهار فعالیت رادیکال } \boldsymbol{DPPH} = \frac{\text{بذج هنومن} - \text{بذج دهاش}}{\text{بذج دهاش}} \times 100 \quad (2)$$

۲-۸- آزمون قدرت احیاکنندگی

این آزمون براساس بررسی قدرت احیا اتم آهن (**III**) توسط پروتئین هیدرولیزشده انجام شد. پودرهای هیدرولیز شده در آب مقطر (٤٠ **mg/ml**) حل شدند و ۱ میلی‌لیتر از نمونه ها را با ۲.۵ میلی‌لیتر از بافرفسفات ۰.۲ مولار (**pH**=٦/٦) و ۲.۵ میلی‌لیتر از فری سیانیدپتاسیم ۱ درصد مخلوط شد. به‌مدت ۳۰ دقیقه گرمخانه گذاری مخلوط در ۵۰ درجه سلسیوس انجام شد و سپس ۲.۵ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد (وزنی–حجمی) اضافه شد. مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه و با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد و در آخر ۰.۵ میلی‌لیتر از محلول ۰.۱ درصدوزنی (وزنی–حجمی) کلریدآهن، ۲.۵ میلی‌لیتر محلول سوپرناتانت با ۲.۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید. پس از چند دقیقه واکنش، در ۷۰۰ نانومتر جذب محلول حاصل خوانده شد. جذب بیشتر، بیانگر افزایش قدرت احیاکنندگی آن می‌باشد [۱۸].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-19]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112]

۲-۹- آزمون اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

ابتدا ۰/۱ میلی لیتر از نمونه حل شده در آب مقطر با ۱ میلی لیتر (**٤٠mg/ml**) از معرف (اسید سولفوریک ۰/٦ مولار، فسفات سدیم ۲۸ میلی مولار، آمونیوم مولیبدات ٤ میلی مولار) در لوله اپندورف ریخته و به مدت ۹۰ دقیقه در حمام آب ۹۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از سرد شدن نمونه ها، جذب نمونه‌ها در ٦٥٩ نانومتر خوانده و نتیجه جذب به عنوان قدرت آنتی اکسیدانی کل گزارش شد. از آب مقطر دوبار تقطیر به عنوان نمونه شاهد استفاده شد. جذب بیشتر نشان دهنده‌ی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل بیشتری است [۱۹].

۳- طراحی آزمایش به منظور بهینه سازی شرایط هیدرولیز به روش سطح پاسخ

به منظور بهینه یابی فرایند از نرم افزار**Expert Design** و روش سطح پاسخ با طرح مرکب مرکزی بـرای سه متغیر مستقل: غلظت آنزیم به سوبسترا (**X1**)، دما (**X2**) و زمان هیدرولیز (**X3**) در سه سطح (۱، ۰+، ۱) و متغیر وابسته یعنی قدرت مهار رادیکال آزاد **DPPH**، و قدرت احیا کنندگی یون **Fe^{3+}** و خاصیت آنتی اکسیدانی کل استفاده گردید. به این منظور ۲۰ تیمار تصادفی، با اعمال طرح مرکب مرکزی و با تعداد ٦ نقطه مرکزی بدون بلوک انتخاب شد.

Table 1 - Levels of Independent variables used to optimize the antioxidant activity of the Rice bran protein hydrolysate

Independent variables	Levels variables		
	1-	0	1+
Enzyme to substrateratio (%)	1	2	3
Temperature (°C)	40	47.5	55
Time(h)	30	120	210

٤- نتایج و بحث

٤-۱- ترکیبات شیمیایی

در ابتدا میزان رطوبت، خاکستر و پروتئین در پودر سبوس چربی‌گیری شده، چربی‌گیری نشده و کنسانتره پروتئین و پروتئین هیدرولیز شده حاصل، اندازه گیری شد (جدول۲).

Table 2 - Chemical compounds of rice bran

Sample	Ash (%)	(%) Oil	(%) Moisture	(%) Protein
Bran powder with fat	7.78	13.66	8.9	12.54
Non defatted bran powder	9.0	4.8	6.5	16.4
Rice bran protein concentrate	3.96	1.76	9.1	52.5
Hydrolyzed rice bran protein (optimal	8.85	1.8	10.2	69.13

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-19]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112]

sample)

با توجه به نتایج، افزایش درصد پروتئین در پروتئین هیدرولیز شده به دلیل افزایش حلالیت پروتئین در طی هیدرولیز و حذف سایرترکیبات اضافی توسط سانتریفوژ می باشد. آلتور و همکاران (۲۰۰۲)، میزان پروتئین کنسانتره سبوس تولید شده را بسته به واریته‌های مختلف بین ۵۸- ۵۲ درصد گزارش کردند [۲۰]. آمیسا و همکاران (۲۰۰۳)، به ترتیب میزان پروتئین کنسانتره پروتئینی سبوس برنج را بین ۱۷ تا ۱٤ درصد بیان کردند [۲۱]. علت کاهش چربی پروتئین هیدرولیز شده در مقایسه سبوس اولیه و کنسانتره، فرآیند چربی‌گیری سبوس اولیه می‌باشد. در تحقیق نایب غلامی و همکاران (۱۳۹۸)، مقدار چربی نمونه سبوس چربی گیری نشده ۱٤.۹۷ درصد و مقدار خاکسترنمونه سبوس ۱۱.٤۳ درصد و خاکستر پروتئین هیدرولیز شده ٤.۹۹ درصد بیان شد [۲۲]. در تحقیق آمیسا و همکاران (۲۰۰۳)، مقدار خاکستر در محدوده ۱۱.۵۵ – ٦.٦۸ درصد گزارش شد [۲۱]. مقدار خاکسترنمونه پروتئین هیدرولیز شده در این تحقیق بیشتر از نمونه اولیه سبوس است که می- تواند به وجود املاح در بافر یا نمک تشکیل شده در تنظیم **pH** نمونه مرتبط باشد. علت تفاوت ترکیبات شیمیایی نمونه در این پژوهش با پژوهش‌های قبل را می توان به دلیل اختلاف در نوع واریته و نوع فرایندها نسبت داد.

٤-۲- بهینه سازی شرایط هیدرولیز پروتئین سبوس برنج

جهت دستیابی به بیشترین فعالیت مهار رادیکال آزاد **DPPH**، احیا کنندکی آهن (**lll**) و آنتی اکسیدانی کل، از روش سطح پاسخ استفاده شد. پس از انجام فرآیند هیدرولیز در نقاط مشخص شده توسط نرم افزار **Design expert**، هر یک از تیمارها از نظر پارامترهای مورد نظر ارزیابی شدند و مقادیر در جدول (۳) نمایش داده شده است.

Table 3 - Antioxidant tests of hydrolyzed rice bran protein

Treatment	Enzymeto substrate ratio **(%)**	Time (Hr)	Temperature **(C°)**	DPPH radical scavenging **(%)** activity	Iron reduction	total antioxidant activity
1	2	30	47.5	13.817	0.591	0.591
2	2	120	47.5	47.36	1.76	1.76
3	2	210	47.5	51.24	1.72	1.72
4	2	120	47.5	38.56	1.752	1.752
5	1	30	55	9.083	0.69	0.69
6	3	30	40	10.976	0.638	0.638
7	2	120	55	17.459	1.54	1.54
8	1	120	47.5	27.99	1.706	1.706
9	2	120	47.5	37.46	1.562	1.562

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-19]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112]

10	3	120	47.5	45.25	1.831	1.831
11	3	30	55	19.475	1.67	1.67
12	1	210	55	24.786	1.793	1.793
13	3	210	40	39.628	1.75	1.75
14	1	30	40	14.616	0.697	0.697
15	2	120	40	29.566	1.774	1.774
16	3	210	55	25.1	1.899	1.899
17	1	210	40	44.874	1.675	1.675
18	2	120	47.5	37.1	1.65	1.641
19	2	120	47.5	37.1	1.662	1.692
20	2	120	47.5	37.1	1.462	1.462

٤-٣- فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

استفاده از ۲،۲ – دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (**DPPH**) یک روش سریع، آسان و مقرون به صرفه برای اندازه گیری خواص آنتی اکسیدانی است. در جهت تعیین شرایط بهینه هر متغیر در هیدرولیز آنزیمی جهت حصول بالاترین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد **DPPH** نمودارهای سه بعدی برای متغیرها ترسیم شد. هر شکل اثرات دو متغیر بر روی پاسخ را زمانی که متغیر سوم در نقطه مرکزی قرار دارد را نشان می‌دهد. شکل (۱) اثر همزمان غلظت آنزیم به سوبسترا و زمان هیدرولیز بر فعالیت مهار رادیکال آزاد **DPPH** پروتئین هیدرولیز شده سبوس برنج را نشان می دهد. با افزایش غلظت آنزیم از ۱ تا ۳ درصد افزایش در فعالیت آنتی اکسیدانی مشاهده شد، همچنین با توجه به شکل ۱ با افزایش دما خواص آنتی اکسیدانی افزایش پیدا کرده است. با افزایش غلطت آنزیم و افزایش دما تخریب ساختمان طبیعی پروتئین ها توسط آنزیم منجربه در دسترس قرارگرفتن گونه فعال امینو اسید با قابلیت آنتی اکسیدانی می‌شود [۲۳]. با توجه به شکل (۱) می-توان دریافت که تاثیر زمان هیدرولیز برفعالیت مهار رادیکال آزاد **DPPH** بیشتر از تاثیر آنزیم بوده است. وزن مولکولی یکی از پارامترهایی است که در خواص آنتی اکسیدانی تاثیر گذار است به طوری که پپتید های حاوی ۲۰-۳ اسید آمینه و با وزن مولکولی کم‌تر از ٦۰۰۰ دالتون دارای خاصیت آنتی اکسیدانی قوی هستند. در غلظت ۳ درصد از آنزیم استفاده شده در این تحقیق می‌توان گفت که تولید این نوع از پپتیدها بیشتر بوده است. همانطور که در نمودار نشان داده می‌شود در زمان ۳۰ دقیقه خاصیت آنتی اکسیدانی کم بود که دلیل آن را می-توان زمان کم دسترسی آنزیم به سوبسترا جهت دستیابی به هیدرولیز پروتئین و تولید کم پپتیدهای آنتی اکسیدانی دانست. در شکل (۲) قدرت آنتی اکسیدانی با بالا رفتن دما تا یک حدی افزایش سپس کاهش می یابد و با افزایش زمان هیدرولیز ویژگی آنتی اکسیدانی افزایش یافته است. بنا بر نتایج بیشترین میزان آنتی اکسیدانی مربوط به پپتیدهای زیست فعال تولید شده تحت شرایط

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-19]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112]

دمایی ۵۱ درجه سلسیوس و زمان ۱۳۱ دقیقه بوده است. با توجه به نمودار (۲) قابل مشاهده است که با افزایش دما خواص آنتی اکسیدانی دچارکاهش شده است. گورارد و همکاران (۲۰۰۲) اعلام کردند با افزایش غلظت آنزیم، میزان تولید پروتئین های هیدرولیز شده با خاصیت آنتی اکسیدانی افزایش می یابد [۲٤]. بسته به وزن مولکولی، بار و ساختار فضایی زنجیره انتهایی پپتیدهای تولید شده، قدرت به دام انداختن رادیکال آزاد در آن‌ها نیز افزایش می یابد [۲۵]. پروتئین هیدرولیز شده با وزن مولکولی ۱-۳ کیلو دالتون دارای بیشترین قدرت مهار رادیکال آزاد و برای رادیکال‌ها در دسترس‌تر بوده و می‌تواند رادیکال‌ها را راحت‌تر به دام بیندازد [۲٦]. پپتیدهایی که حاوی اسید آمینه هیستیدین هستند با دادن هیدروژن و یا به دام انداختن رادیکال‌ها، باعث ایجاد فعالیت آنتی‌اکسیدانی شده و نیز حضور اسیدآمینه های محتوی گروه **SH** باعث ایجاد فعالیت آنتی اکسیدانی بسیار مناسب از طریق واکنش مستقیم با رادیکال های آزاد می شود [۲۷]. هی و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که اسیدهای آمینه با بار منفی به دلیل الکترون های اضافی خود دارای اثرات آنتی اکسیدانی قوی هستند و می توانند به عنوان دهنده هیدروژن عمل کنند [۲۸]. در تحقیق وانگ و همکاران (۲۰۲۰) فعالیت آنتی اکسیدانی درسوریمی ماهی ***Hairtail*** را به غنی بودن از اسید امینه **Asp**، **Glu**، **Leu** مرتبط دانستند [۲۹]. در نمودار (۳) می توان دریافت که اثر دما بر فعالیت مهار رادیکال آزاد نسبت به تاثیرغلظت آنزیم بیشتر بوده است. تاثیر دما بر خواص آنتی اکسیدانی نشان داد که از دمای ٤۰ درجه این ویژگی در حال افزایش بوده و در دمای ۵۱ درجه سلسیوس به حداکثر مقدار خود می رسد درحالی که افزایش بیشتر دما تاثیری منفی بر قابلیت آنتی کسیدانی داشت و این ویژگی دچار کاهش می‌شود. کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی در دمای پایین‌تر به دلیل هیدرولیز ناقص و همچنین در دمای زیاد هم می‌تواند ناشی از دناتوره شدن حرارتی پروتئین‌ها و از دست‌رفتن فعالیت مطلوب آنزیم باشد [۳۰]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-19]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112]

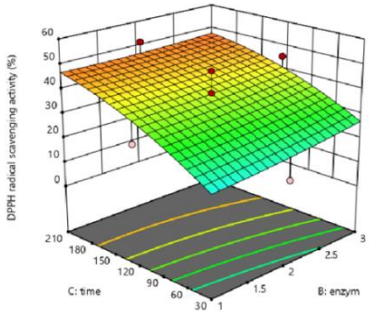


Figure 1. Diagram of the effect of enzyme concentration and hydrolysis time on DPPH free radical inhibition activity of hydrolyzed rice bran protein

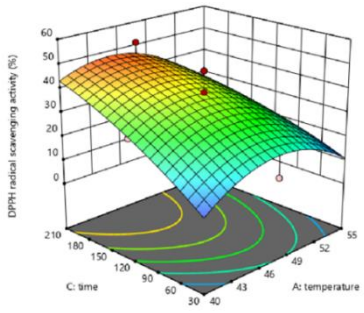


Figure 2. Diagram of the effect of hydrolysis time and temperature on DPPH free radical scavenging activity of hydrolyzed rice bran protein

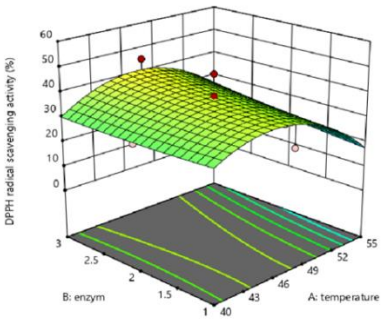


Figure 3. Effect diagram of alcalase enzyme concentration and hydrolysis temperature on DPPH free radical inhibition activity of hydrolyzed rice bran protein

٤-٤- بررسی قدرت احیاکنندگی Fe^{3+}

در این روش توانایی تیمارها برای احیاء آهن سه ظرفیتی و تبدیل شدن آن به آهن دو ظرفیتی سنجیده می‌شود. حضور عوامل احیاء کننده (آنتی اکسیدان‌ها) منجر به احیاء کمپلکس‌های فری سیانید و تبدیل آن‌ها به فرم فروس می‌شود [۳۱]. ارزیابی قدرت احیاکنندگی، توانایی الکترون دهندگی یک ترکیب را نشان می دهد. با توجه به شکل (٤) افزایش دما، و زمان هیدرولیز فعالیت احیا کنندگی هیدرولیز شده‌های تولیدی افزایش پیداکرده است. روند افزایشی قدرت احیا کنندگی

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-19]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112]

پروتئین های هیدرولیز شده را می توان به نوع آنزیم و شرایط انجام شدن واکنش، اسیدهای آمینه موجود در جایگاه فعال آنزیم نسبت داد که جهت احیا کردن یون آهن بسیار موثرند [۲۵]. شکل (۵) تاثیر زمان و غلظت آنزیم به سوبسترا بر روی قابلیت احیا کنندگی Fe^{3+} را نشان می دهد که افزایش غلظت آنزیم به سوبسترا از ۱ تا ۳ درصد و نیز افزایش زمان هیدرولیز از ۳۰ تا ۱۳۱ دقیقه سبب افزایش فعالیت احیاکنندگی می‌شود. پژوهش‌ها نشان داده شکسته شدن باند پپتیدی و رها شدن از ساختار اصلی پروتئین‌ها، وزن مولکولی کاهش یافته و سپس با افزایش زمان و پیشرفت فرآیند هیدرولیز و شکسته شدن بیشتر زنجیره‌ها، پپتیدهای احیاکننده افزایش می یابد [۳۲]. جی و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی فعالیت احیاکنندگی پروتئین هیدرولیز شده حاصله از ضایعات ماهی تن با آنزیم آلکالاز بیان کردند که با افزایش مقدار آنزیم فعالیت احیاکنندگی افزایش پیدا می‌کند [۳۲].

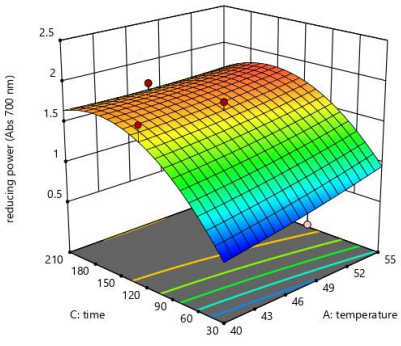


Figure 4. The graph of the effect of temperature and hydrolysis time on the Fe 3+ reductive activity of hydrolyzed rice bran protein

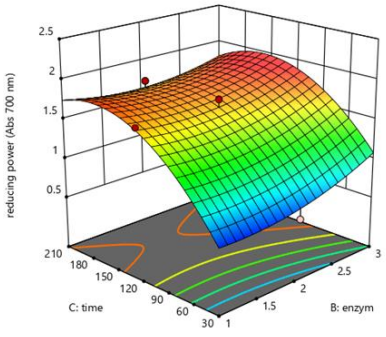


Figure 5. Effect diagram of substrate enzyme concentration and hydrolysis time on Fe $^{3+}$ reductive activity of rice bran hydrolyzed protein

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-19]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112]

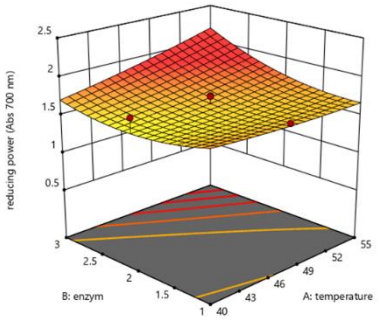
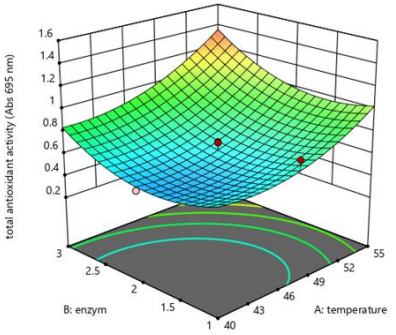


Figure 6. Effect diagram of substrate enzyme concentration and hydrolysis temperature on Fe 3+ reductive activity of hydrolyzed rice bran protein

٤-٥- ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

اساس کار در این روش احیاء مولیبدن ٦ ظرفیتی به مولیبدن ٥ ظرفیتی در محیط اسیدی و دمای بالا است. این واکنش با تشکیل کمپلکس‌های سبز رنگ فسفو مولیبدن همراه بوده که در طول موج ٦٩٥ نانومتر دارای حداکثر میزان جذب می‌باشند [٣٣]. در شکل (٧) با ن آنتی اکسیدانی کل افزایش یافته است و مشاهده می شود که با افزایش غلظت آنزیم نیز این ویژگی دچار افزایش شده است. نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که حضور اسیدهای آمینه آبگریز نظیر اسیدآمینه والین، فنیل آلانین، ایزولوسین و لوسین در پروتئین‌های هیدرولیز شده با آنزیم آلکالاز نقش بسیار مهمی در فعالیت آنتی اکسیدانی کل دارند. با توجه به شکل (٨) با افزایش زمان هیدرولیز خواص آنتی اکسیدانی ابتدا افزایش و سپس دچار کاهش می‌شود. کاهش خاصیت آنتی اکسیدانی پپتیدها در زمان بیشتر از ١٥٠ دقیقه هیدرولیز ممکن است در ارتباط با هیدرولیز بالاتر به دلیل تاثیربیشتر آنزیم بر سوبسترا باشد که باعث شکسته شدن بیش از حد پپتیدها و شکستن برخی از زنجیره‌های پپتیدی اولیه با فعالیت آنتی اکسیدانی بالا و از بین رفتن این پپتیدها می‌گردد [٣٤]. طاهری و همکاران (٢٠١١)، در بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی ماهی ساردین رنگین کمان بیان کردند فعالیت آنتی اکسیدانی تا نقطه‌ی اپتیمم خود افزایش داشته بعد از آن با افزایش زمان و غلظت آنزیم به سوبسترا،کاهش یافته که به دلیل تاثیر زمان و دما روی فعالیت های آنزیمی می باشد. با توجه به شکل (٩)، افزایش غلظت آنزیم منجر به افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی کل شد و همچنین افزایش زمان ابتدا سبب افزایش و سپس کاهش این خاصیت می شود [٣٥].



[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-19]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112]

Figure 7. Diagram of the effect of enzyme concentration on the substrate and hydrolysis temperature on the antioxidant activity of the total hydrolyzed rice bran protein.

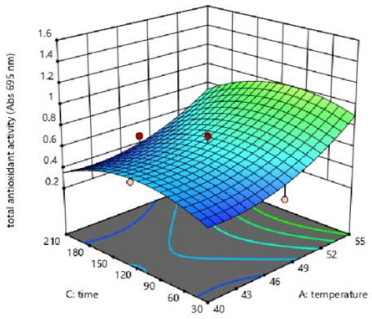


Figure 8. Diagram of the effect of hydrolysis time and temperature on the antioxidant activity of the total hydrolyzed protein of rice bran

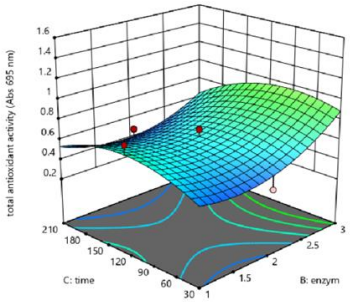


Figure 9. Effect diagram of enzyme concentration to substrate and hydrolysis time on antioxidant activity of hydrolyzed rice bran protein

۵- نتیجه گیری

شرایط بهینه با استفاده از نرم افزار **design Expert** به دست آمد است. شرایط هیدرولیز برای پروتئین هیدرولیز شده سبوس برنج با فعالیت بهینه (قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد **DPPH**، قدرت مهار کنندگی آهن Fe^{3+} و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل) توسط آنزیم آلکالاز بود که مقدار بهینه در دمای ۵۱.۵ درجه سلسیوس، زمان ۱۳۱.۵ دقیقه و غلظت آنزیم به سوبسترای ۳ درصد حاصل شده است. حداکثر فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد ۳۷.۱۷۲ درصد فعالیت آنتی اکسیدانی کل ۱.۱۰۹ و احیاکنندگی ۲.۰۸٤ به دست آمد. با توجه به نتایج و خواص آنتی اکسیدانی به دست آمده از پروتئین سبوس برنج و حجم بالای تولید این محصول فرعی، می تواند جهت تولید پپتیدهای زیست فعال مورد استفاده قرار گیرند و محصولی فراسودمند با قابلیت آنتی اکسیدانی تولید گردد که به عنوان آنتی اکسیدان ها طبیعی و همچنین ترکیب غذا-دارو راهکاری مناسب جهت پیشگیری و درمان بیماری های مرتبط مطرح شود.

٦- منابع

[1] Shahidi, F., Zhong, Y. Bioactive peptides. J. AOAC Int. 2008, 91, 914–931Franek, F.; Hohenwarter, O.; Katinger, H. Plant protein hydrolysates: Preparation of defined peptide fractions promoting growth and production in animal cells cultures. Biotechnol. Prog. 2000, 16, 688–692.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-19]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112]

[2] Kitts, D. D, Weiler K, Bioactive proteins and peptides from food sources Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. Current Pharmaceutical Design. vol. 9, no. 16.1309–1323, 2003.

[3] Sun, J., He, H., Xie, BJ. (2004). Novel antioxidant peptides from fermented mushroom Ganoderma lucidum. Food Chemistry, 52, 6646–52.

[4] Childs, N. W. 2004. Production and Utilization of Rice. In: CHAMPAGNE, E. T. (ed.) Rice: Chemistry and Techology. 3rd ed. St. Paul, Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists, Inc.

[5] Roy, B., Dunna, V. (Oryza sativa L.) 2014.Orthoefer, F. T. 2001. Rice bran oil: Composition, production, nutrition, and utilization. In: WILSON, R. F. Proceeding of The World Conference on Oilseed Processing Utilization. Champaign, IL: AOCS Press.

[6] Shih, F. F., Champagne, E. T., Daigle, K. & Zarins, Z. 1999. Use of enzymes in the processing of protein products from rice bran and rice flour. Nahrung, 43, 14-18

[7] Orthoefer, F. T. & Eastman, J. 2004. Rice Bran and Oil In: Champagne, E. T. (ed.) Rice: Chemistry and Technology. 3rd ed. St. Paul, Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists, Inc

[8] Dayem, A. A., Hossain, M. K., Lee, S. B., Kim, K., Saha, S. K., Yang, G., Choi, H. Y., Cho, S. G. 2017. The Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in the Biological Activities of Metallic Nanoparticles. Int J Mol Sci, 10;18(1):120.

[9] Namiki, M. 1990. Antioxidants/antimutagens in food. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 29 (4):273–300.

[10] Hayta, M., Benli, B., İşçimen, E. slı Kaya, A. 2020. Optimization of antihypertensive and antioxidant hydrolysate extraction from rice bran proteins using ultrasound assisted enzymatic hydrolysis. Journal of Food Measurement and Characterization, 14.(۳)

[11] Wattanasiritham, L. Theerakulkait, Ch., Wickramasekara, S., Maier, c. d., Stevens, J. F. 2016. Isolation and identification of antioxidant peptides from enzymatically hydrolyzed rice bran protein. Food Chemistry. 192: 156-162.

[12] Uraipong, C. h. and Zhao, J. 2016. Rice bran protein hydrolysates exhibit strong in vitro α-amylase, β-glucosidase and ACE-inhibition activities. Journal of Science Food and Agriculture, 15; 96, (4).

[13] Wang, M., Hettiarachchy, N. S., Qi, M., Burks, W., and Siebenmogen, T. 1999. Preparation and functional properties of rice bran protein concentrate. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47:411–416.

[14] Yeom, H. J., Lee, E. H., Ha, M. S., HAa, S. D., BAE, D. H. 2010. Production and Physicochemical Properties of Rice Bran Protein Isolates Prepared with Autoclaving and Enzymatic Hydrolysis. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry. 53, 62-70.

[15] He, R., Girgih, A. T., Malomo, S. A., Ju, X., & Aluko, R. E. 2013. Antioxidant activities of enzymatic rapeseed protein hydrolysates and the membrane ultrafiltration fractions. Journal of Functional Foods. 5(1), 219-227

[16] AOAC Method, 983.23 .2003. Fat in food, chloroform-methanol extraction. In Official methods of analysis (15th ed; pp. 101-111) Washington, DC, USA: Association of Official Analytical Chemists.

[17] Wu, H., Chen, H., Shiau C. 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel. Food Research International. 36 (9-10):949-957.

[18] Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y. and Nasri, M. 2009. Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. Food Chemistry.114 (4):1198-1205.

[19] Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry, 269(2), 337-341.

[20] Aletor, O., Oshodi AA and Ipinmoroti K, 2002. Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. Food Chemistry 78:63–68.

[21] Ammisah, J. G. N., Ellis, W.O. Oduro, I. & Manful, J. T. 2003. Nutrient composition of bran from new rice varieties under study in Ghana. Food Control. 14(1), 21-24.

[22] Gholami, N., Bardani Amiri, Z., Safari, R. 2018. Enzymatic extraction of tarem rice bran protein and

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-19]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112]

investigation of its functional properties and physicochemical characteristics of low-fat yogurt. Journal of New Food Technologies, Volume 7, Number 2, Pages 299-311 [in persian].

[23] Taha, S. F., Mohamed, S. S., Wagdy M. S., Mohamed, F. G. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of enzymatic hydrolysis products from sunflower protein isolate. World Applied Sciences Journal. 21, 651-658.

[24] Guerard, F., Guimas, L., Binet, A. 2002. Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 19–20, 489–498.

[25] Oveisi pour, M., Abedian, A. M., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R., Shahiri, H. 2009. The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties ofproteinhydrolysates from the Persian sturgeon (Acipenserpersicus) viscera. FoodChemistry,115, 238-242.

[26] Wang, B., Li, L., Chi, C., Ma, J., Luo, H., & Xu, Y. 2013. Purification and characterisation of a novel antioxidant peptide derived from blue mussel (Mytilus edulis) protein hydrolysate. Food Chemistry, 138(2), 1713-1719.

[27] Jin, D. X., Liu, X., Zheng, X., Wang, X., He, J. 2016. Preparation of antioxidative corn protein hydrolysates, purification and evaluation of three novel corn antioxidant peptides. Food Chemistry. 204, 427-436.

[28] He, R., Girgih, A. T., Malomo, S. A., Ju, X., & Aluko, R. E. 2013. Antioxidant activities of enzymatic rapeseed protein hydrolysates and the membrane ultrafiltration fractions. Journal of Functional Foods. 5(1), 219-227.

[29] Wang, P. Lin, Y. WU, H. lin, J. Chen, Y. Hamzah3, S, S. Zeng, H. Zhang, Y. HU, J. 2020. Preparation of antioxidant peptides from hairtail surimi using hydrolysis and evaluation of its antioxidant stabilityFood Sci. Technol, Campinas, 40(4): 945-955.

[30] Wang, D., Shahidi, F. 2018. Protein hydrolysate from turkey meat and optimization of its antioxidant potential by response surface methodology. Poult Sci, 97:1824–1831.

[31] Soares, M., Souza, C. G., Daniel, F. M., Ferrari, G. P., Costa, S. M. G. Peralta, R.M. 2009. Antioxidant activity and total phenolic content of Agaricus brasiliensis (Agaricus blazei Murri) in two stages of maturity. Food chemistry. 112:775-781.

[32] Je, J, Y,. Lee, K., H., Lee, M.H, and Ahm. C.B. 2009. Antioxidant and antihypertensive protein hydrlysates produced from tune liver by enzymatic hydrolysis. Food reserch international, 42:1266-127.

[33] Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry, 269(2), 337-341.

[34] Meshkinfar, N., Sadeghi mahoonak, A.R., Ziaiifar, A.M., ghorbani, M., Kashani Nejad, M. 2014. Optimization of the production of protein hydrolysates from meat industry by product by respons surface methodology. Journal of Food Researches, 24(2):215-225.

[35] Taheri, A., Anvar, S. A. A., Ahari H., Fogliano, V. 2013. Comparison the functional properties of protein Hydrolysates from poultry by-products and rainbow trout viscera. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 12(1) :154-169.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-19]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Optimizing the production of hydrolyzed protein with antioxidant properties from Tarem rice bran by alcalase enzyme

Fatemeh Rezanejad Amirdehi[1], Alireza Sadeghi Mahoonak*[2], Mohammad Ghorbani[3], Mohsen Rashidi[4], seyedeh Narges Mazlomi[5]

1- Senior student of food science and industry - Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.

2* - Professor- Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.

3- Professor -Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.

4- Assistant Professor of Pharmacology - Department of Nutrition, Faculty of Health, Medical Sciences, Mazandaran

5- Assistant professor of food industry -Department of Nutrition, Faculty of Health, Medical Sciences, Mazandaran

ARTICLE INFO

Article History:
Received:2023/10/3
Accepted: 2023/12/28

Keywords:

optimization,
hydrolyzed protein,
antioxidant property,
rice bran protein,
enzymatic hydrolysis.

DOI: **10.22034/FSCT.21.148.112.**

*Corresponding Author E-Mail:
sadeghiaz@gau.ac.ir

ABSTRACT

Peptides obtained from hydrolysis have many bioactive properties and have strong biological activities against free radicals and prevent antioxidant processes that cause damage to biological macromolecules and degradation and quality reduction. Due to the large amount of rice production in the world, a large number of rice bran is produced and available. As a suitable and cheap production source, rice bran can be used for the production of plant-derived peptides. Optimizing the conditions of enzymatic hydrolysis of rice by alcalase enzyme was done with the aim of achieving anti-allergenic properties. In order to investigate the antioxidant activities of peptides, iron 3 reduction power tests and DPPH free radical activities and total antioxidant activities were used. In order to optimize the time of the Expert design software and the response surface method with three different changes: this enzyme was applied to the substrate 1-3%, temperature 40-55 degrees Celsius and hydrolysis 30-210 minutes. In the set conditions of the treatment including temperature of 51.5 degrees Celsius, 131.5 minutes and enzyme substrate 3%, it was obtained that DPPH free radical is 37.172%, total antioxidant activity is 1.109% and reducing agent is 2.084%. The obtained results showed that the process of rice bran production by alcalase enzyme leads to the production of peptides with high anti-anxiety properties and it is noteworthy that they can be used in the production of super-beneficial foods and pharmaceutical industries and also replace them.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-19]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.112]