مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی برهم کنش صمغ فیبر ذرت با آنزیم α-آمیلاز و α-گلوکوزیداز و تاثیر آن بر فعالیت ممانعت کنندگی آنزیم‌ها

روح الله اجتماعی[۱]، حسن احمدی گاولیقی[۲و۳*]، مریم جلیلی صفریان[٤]، مهدی طبرسا[٥]

۱- کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۲- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۳- مرکز تحقیقات موادطبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

٤- دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

٥- دانشیار، گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشکده تربیت مدرس، نور، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱٦

کلمات کلیدی:

سبوس ذرت،

استخراج،

صمغ فیبر ذرت،

ضد دیابتی،

ترکیبات فنلی.

DOI: 10.22034/FSCT.19.132.51

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.132.4.7

* مسئول مکاتبات:

Ahmadi_ha@modares.ac.ir

چکیده

بیشترین ترکیب جانبی حاصل از فراوری ذرت در صنعت تولید نشاسته از ذرت، سبوس می‌باشد که فقط به صورت غذای دام از آن استفاده می‌شود. در این مطالعه خواص ضد اکسایشی و ضد دیابتی صمغ فیبر ذرت دارای فنل (FAX) و بدون فنل (Y) از سبوس ذرت مورد بررسی قرار گرفت. همچنین جهت بررسی سازوکار ممانعت کنندگی دو آنزیم α-آمیلاز و α-گلوکوزیداز، میزان شدت فلوئورسانس ذاتی و خارجی اندازه گیری شد. نتایج نشان داد بیشترین خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH مربوط به فیبرFAX µmolTE/g ± ۰/۳۹۹ ۳۹/۷٤، و کمترین مربوط به فیبر استخراج شده Y µmolTE/g ± ۰/۲۵۷ ۳/۷۳ می‌باشد. همچنین نتایج فعالیت مهارکنندگی رادیکال کاتیونی ABTS مربوط به نمونه FAX برابر با µ molTE/g ۲/۹۹ ± ۱۳۷/۱۰ بوده و نمونه Y µ molTE/g ۱/۱۷± ۲۹/٦۸ بود. میزان مهار کنندگی فعالیت آنزیم α-آمیلاز خوکی نمونه FAX بیشتر از Y بوده و اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند (p < ۰/۰۵). نمونه فیبرFAX بیش‌ترین تاثیر را بر مهار فعالیت آنزیم گلوکوزیداز موشی داشت (۲٦/۱۵درصد) در حالیکه نمونه Yدر غلظت‌های استفاده شده فاقد خاصیت مهار آنزیم بود. همچنین کاهش شدت فلوئورسانس در اثر افزودن غلظت‌های مختلف هردو فیبر به آنزیم α-آمیلاز و α-گلوکوزیداز مشاهده شد ولی این شدت برای نمونه FAX بیشتر بود. فیبرهای تولیدی توانایی مهار کنندگی هر دو آنزیم را از طریق ایجاد تغییر در ساختمان سوم آنزیم به وسیله پیوندهای غیرکوالانسی را داشتند. بطور کلی نتایج نشان داد که فیبر با میزان فنل بالا از سبوس ذرت می‌تواند به عنوان یک منبع طبیعی دارای فعالیت ضد اکسایشی ومهار فعالیت آنزیم های α-آمیلاز و α-گلوکوزیداز محسوب شده و در تولید مواد غذایی فراسودمند مورد استفاده قرار گیرد.

۱- مقدمه

با افزایش سن انسان، احتمال ابتلا به بیماری‌های مزمن مانند بیماری‌های قلبی عروقی، بیماری‌های عصبی، دیابت نوع ۲ و انواع مختلف سرطان، افزایش می‌یابد [۱]. رژیم غذایی تا حد زیادی به بهبود طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها کمک می‌کند [۲]. غذاهای فراسودمند و غذاداروها به سبب حضور ترکیبات فعال زیستی با مزایای سلامت بخش، کلید حفظ سلامت و پیشگیری از بیماری‌های مزمن مرتبط با رژیم غذایی و کاهش هزینه مراقبت‌های بهداشتی هستند. از طرفی توسعه ترکیبات طبیعی و زیست فعال ایمن از منابع مختلف با پتانسیل خطر کمتر نسبت به مواد سنتزی که می‌تواند برای جلوگیری یا درمان چندین بیماری استفاده شود، توجه بیشتری به خود جلب کرده است. بنابراین علاقه فراوانی به پژوهش در مورد ترکیباتی که بتوانند به عنوان مواد غذایی فراسودمند، غذادارو یا دارو مورد استفاده قرار گیرند، وجود دارد [۳].

کربوهیدرات‌ها مهم‌ترین منبع انرژی غذایی است که بخش قابل توجهی از کل غذای مصرفی را تشکیل می‌دهند. هم‌اکنون، تمرکز پژوهش‌ها، بر نقش مصرف کربوهیدرات‌های رژیم غذایی و ارتباط آن با چاقی، مقاومت به انسولین، سندرم متابولیک، عملکرد قلب و گردش خون است. در واقع مصرف رژیم‌های غذایی دارای شاخص گلایسمی پایین با کاهش خطر بیماریهای مزمن مانند دیابت و بیماریهای قلبی-عروقی و حفظ وزن مطلوب بدن در ارتباط است. بنابراین یافتن غذاهایی با شاخص گلایسمی پایین و همچنین یافتن عواملی که بتواند شاخص گلایسمی غذا را کاهش دهد، مورد توجه قرار گرفته است [٤]. دیابت، مجموعه‌ای از بیماری‌های متابولیکی است که توسط قند خون بالا (هیپرگلایسمی)، اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین، نقص در ترشح انسولین، تأثیر انسولین یا هر دو مشخص می‌شود [٥]. یکی از رویکردهای مهم برای کاهش قند خون پس از مصرف غذا، کاهش یا کند کردن هضم و جذب کربوهیدرات رژیم غذایی است [٦]. نقش آنزیم α-آمیلاز بعد از مصرف غذا پر رنگ می‌شود به صورتیکه پلی‌ساکاریدهای موجود در غذا مثل گلیکوژن، نشاسته و... را به وسیله شکستن از پیوند بتا (۱و٤) تبدیل به گلوکز کرده و سبب افزایش قند خون بدن می‌شود. امروزه بازدارندگی از فعالیت این آنزیم یکی از چالش‌های موجود در مقابله با بیماری دیابت می‌باشد [۷]. در مطالعه‌ای اثر بازدارندگی پلی فنل‌های چای النگ، اپی گالوکاتکین گالات (EGCG) و۳-O اپی گالوکاتکین گالات (EGCG3Me) روی آنزیم α-آمیلاز پانکراس توسط جذب طیف فرابنفش و فلورسنس بررسی گردید. بر اساس نتایج به دست آمده ترکیبات پلی فنلی چای النگ، EGCG و EGCG3Me همگی دارای خاصیت بازدارندگی نسبت به آنزیم α-آمیلاز بوده و مقدار نیمه غلظت بازدارندگی (IC_{50}) آنها به ترتیب برابر ۰/۳۷۵ ، ۰/۳۵۰ و۰/۵۷۲ میلی‌گرم بر میلی لیتر بود. بررسی نمودار فلورسنس نشان داد الگوی بازدارندگی پلی فنل‌های چای النگ و EGCG از نوع رقابتی بوده ولی بازدارندگی EGCG3Me از نوع غیر رقابتی است. تفاوت در نوع بازدارندگی EGCG و EGCG3Me را می‌توان به تفاوت ساختاری این دو ترکیب نسبت داد [۸]. بر اساس مطالعه زهرالدین و همکاران (۲۰۱۸) عصاره‌های به دست آمده از انواع جلبک‌های دریایی خوراکی، آلژینات به دست آمده از جلبک قهوه‌ای و ترکیبات فنلی، دارای پتانسیل بازدارندگی از آنزیم α-آمیلاز می‌باشند. در این مطالعه سینتیک بازدارندگی آنزیم با آکاربوز مقایسه گردید. عصاره به دست آمده از جلبک *لامیناریا دیجیتا* و *آنداریا پیناتیفیدا* دارای اثر بازدارندگی بوده و به ترتیب با IC_{50} ۰/۷٤ و ۰/۸۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هر دو عصاره دارای اثر بازدارندگی ترکیبی بودند. ترکیب فنلی ۲و٥ دی هیدروکسی بنزوئیک اسید نیز قدرت بازدارندگی از آنزیم α-آمیلاز را داشته و دارای IC_{50} ۰/۰٤٦ می‌باشد. آلژینات به دست آمده از جلبک قهوه‌ای نیز دارای IC_{50} ۰/۰۷٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده و سازوکار بازدارندگی آن ترکیبی بود. بر اساس نتایج به دست آمده ازاین تحقیق، عصاره‌های خام جلبک‌های دریایی، ترکیبات فنلی و آلژینات‌ها مهار کننده‌های قوی α-آمیلاز هستند. در نتیجه به طور بالقوه آزاد سازی گلوکز از نشاسته را به تاخیر انداخته و باعث کاهش لحظه ای قند خون بعد ازصرف غذا شدند [۹].

فیبرها از نظر تغذیه‌ای دارای خواص بسیاری بوده و اتصال آنها به آنزیم‌های گوارشی مثل آنزیم α-آمیلاز شاید یکی از مهم‌ترین ویژگی آنها باشد. در مطالعه انجام شده اثر بازدارندگی فیبرهای محلول(SDF) و نامحلول(IDF) استخراج شده از میوه رسیده

کیوی روی آنزیم α-آمیلاز بررسی گردید. در غلظت‌های مساوی از هر دونوع فیبر، فیبرهای نامحلول دارای بازدارندگی بیشتری بودند. بررسی سینتیک میکاییل-منتن نشان داد که نحوه بازدارندگی فیبرهای نامحلول ترکیبی بوده، به صورتیکه ثابت تعادل بازدارندگی رقابتی بوده و بازدارندگی آنزیم برابر ٤ میلی گرم بر میلی لیتر بود. بازدارندگی آنزیمی فیبرهای محلول از نوع غیر رقابتی بوده و میزان بازدارندگی آنزیم۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود [۱۰]. در مطالعه دیتال و همکاران (۲۰۱۵) اثر بازدارندگی سلولز از آنزیم α-آمیلاز بررسی شد. حضور سلولز سبب کاهش سرعت هضم نشاسته گردید. بررسی سینتیک آنزیم α-آمیلاز در هضم نشاسته ذرت در حضور سلولز نشان داد که نوع بازدارندگی فیبر سلولز از نوع ترکیبی بوده ومیزان بازدارندگی آنزیم سلولز برابر ۳ میلی گرم در میلی لیتر بود. تمامی نتایج نشان دهنده پتانسیل سلولز به عنوان ترکیب بازدارنده از هضم نشاسته بود [۱۱].

بر اساس مطالعه رز و همکاران (2008) سالانه حدود ۲۵/٦ میلیون تن ذرت به وسیله آسیاب مرطوب و ٦ میلیون تن به وسیله آسیاب خشک تولید شده که از این مقدار در حدود ۲/٤۳ میلیون تن فیبر ذرت و ۰/۳٤۱ میلیون تن سبوس است. تنها استفاده این مواد جانبی تولید شده به صورت غذای دام می‌باشد. عمده‌ترین ترکیب موجود در فیبر و سبوس ذرت، فیبر رژیمی می‌باشد. فیبر ذرت خود از ۲۸۰ گرم در کیلوگرم سلولز، ۷۰۰ گرم در کیلوگرم از همی سلولز و تنها بخش کوچکی حدود ۱۰ گرم در کیلوگرم از لیگنین تشکیل شده است [۱۲]. به همی‌سلولز استخراج شده از سبوس ذرت به وسیله استخراج قلیایی اصطلاحا صمغ فیبر ذرت(MFG) نیز می‌گویند. صمغ فیبر ذرت تولیدی دارای گروه‌های فرولیک اسیدی به صورت استری شده (حتی بعد از تیمار قلیایی) می‌باشند. امروزه فرولیک اسید به دلیل داشتن خواص ضد اکسایشی مورد توجه بوده و پیوندهای فرولیک اسید موجود در MFG استخراج شده می‌تواند جهت مقابله با بیماری‌های گوارشی استفاده شود. در حقیقت زمانی که فیبر بدون فرولیک اسید باشد به سرعت در قسمت بالایی دستگاه گوارشی جذب می‌شود. در حالی‌که پیوندهای فنلیکی در قسمت پایینی دستگاه گوارشی به وسیله استرازهای میکروبی آزاد شده و به همین سبب توانایی جذب رادیکال‌های آزاد را در این قسمت از روده به دست می‌آورند [۱۳]. خاصیت ضد اکسندگی صمغ فیبر ذرت را می‌توان به هیدروسینامیک اسیدهای موجود در فیبر مرتبط دانست [۱٤].

طبق مطالعات انجام شده قبلی، تاکنون تحقیقی در زمینه بررسی اثر صمغ فیبر ذرت دارای ترکیبات فنلی بر مهار فعالیت آنزیم‌های α-آمیلاز و α-گلوکوزیداز صورت نگرفته است. لذا هدف از انجام این پژوهش بررسی میزان ممانعت کنندگی آنزیم α-آمیلاز و α-گلوکوزیداز توسط صمغ فیبر ذرت و بررسی برهم کنش مابین این فیبر با دو آنزیم می‌باشد.

۲- مواد و روشها

۲-۱- مواد

ماده اولیه مورد نیاز جهت انجام این تحقیق، سبوس ذرت می‌باشد که از کارخانه زر فروکتوز (کرج، ایران) تهیه شد. سبوس ذرت خریداری شده با روش آسیاب مرطوب به دست آمده بود. پس از نمونه برداری انجام شده سبوس‌ها به وسیله الک مش ۲۰ جداسازی شده و در دمای محیط نگهداری شدند. هیدروکسید سدیم، پراکسید هیدروژن ، هیدروکلریک اسید از شرکت مجللی، ایران تهیه شد. اتانول (غیر سمی) از شرکت الکل سازی بیدستان ایران، DPPH (Diphenyl-1-picrylhydrazyl-2-2) و ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) از شرکت سیگما، ترولوکس، متانول، معرف فولین-سیوکالتو، گالیک اسید و پتاسیم پر سولفات از شرکت مرک آلمان و آنزیم α-آمیلاز تجاری از شرکت نووزایم دانمارک، PAHBAH (4-Hydroxybenzhydrazide)، PNPG (4-Nitrophenyl α-D-glucopyranoside)، آنزیم α-آمیلاز خوکی و پودر روده موش از شرکت سیگما تهیه شد.

۲-۲- استخراج صمغ فیبر ذرت

سبوس ذرت اولیه به وسیله آسیاب خرد شد و سپس از الک مش شماره ٤۰ عبور داده شد. سبوس خرد شده، جهت حذف نشاسته ابتدا با آب مقطر مخلوط شد سپس به وسیله آنزیم ترمامیل (α-آمیلاز) تیمار گردید. نشاسته سبوس به وسیله صاف کردن و شستشو با آب مقطر از سبوس جدا شد و مواد باقی مانده برای خشک شدن به مدت یک شبانه روز در آون ۵۰ درجه قرار

گرفت. پس از نشاسته گیری ، صمغ فیبر ذرت با استفاده از دو روش زیر استخراج شد:

۱- استخراج فیبر به روش قلیایی + هیدروژن پراکسید (برای سهولت تشخیص، فیبر تولید شده با این روش Y نامگذاری شد) [۱۳].

۲- استخراج فیبر به روش قلیایی بدون هیدروژن پراکسید (برای سهولت تشخیص، فیبر تولید شده با این روش FAX نامگذاری شد) [۱۵].

۲-۳- فنل کل و خواص ضد اکسایشی صمغ فیبر ذرت

۲-۳-۱-بررسی میزان فنل کل

برای اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنلی از روش فولین-سیوکالتو استفاده شد. مطابق این روش میزان ۲۰ میکرولیتر از نمونه با ۱۰۰ میکرولیتر از محلول فولین و ۱/۱٦ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شده و بعد از گذشت حدود ۳-۸ دقیقه حدود ۳۰۰ میکرولیتر از محلول سدیم کربنات ۲۰ درصد (W/V) به محلول درست شده اضافه گردید. محلول حاصل را به لوله‌های آزمایش درب دار منتقل و لوله‌ها درون حمام آب گرم ٤۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از گذشت ۳۰ دقیقه میزان جذب نمونه‌ها در برابر نمونه شاهد (نمونه اصلی با آب مقطر جایگزین شد) به وسیله دستگاه طیف سنج در طول موج ۷٦٥nm خوانده شد.

منحنی استاندارد گالیک اسید در غلظت‌های (۸۰-٥۰۰ppm) رسم شده و میزان ترکیبات کل فنلی موجود در نمونه با واحد میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک محاسبه شد [۱٦].

۲-۳-۲- قدرت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH

برای انجام آزمون DPPH ابتدا محلول این ترکیب با غلظت ۰/۱میلی مولار تهیه شد (۱/۹۷ میلی‌گرم از پودر DPPH در۵۰ میلی‌لیتر متانول به دقت حل شد). سپس نمونه‌ها با غلظت‌های مختلف ساخته شد و به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌ها با ۹۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH در ظرف مناسب به خوبی همزده شده و به مدت نیم‌ساعت در دمای اتاق در محیط تاریک قرار گرفت. بعد از نیم ساعت جذب محلول مورد نظر در ٥۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد بازدارندگی ماده مورد نظر طبق معادله زیر محاسبه گردید:

$$\text{بازدارندگی}(\%) = \frac{\text{جذب محلول} - \text{جذب شاهد}^*}{\text{جذب شاهد}} \times ۱۰۰$$

*جذب شاهد: در نمونه شاهد به جای استفاده از نمونه از همان مقدار آب استفاده شده است [۱۷].

توانایی مهار رادیکال‌های ایجاد شده با استفاده از معادله منحنی استاندارد ترولوکس در غلظت‌های مختلف (۰-۳٥۰) به صورت میلی‌مولار ترولوکس در هر گرم ماده خشک بیان شد.

۲-۳-۳- آزمون رادیکال کاتیون ABTS

اساس کار این آزمون بر بی‌رنگ شدن رادیکال کاتیون‌های ABTS که توسط یون‌های پرسولفات تولید شده با ماده ضد اکسایشده مورد نظر می‌باشد. بیشترین جذب رادیکال‌های ABTS تولیدی توسط یون‌های پرسولفات در ۷۳٤ نانومتر می‌باشد که هر چقدر قدرت ترکیب ضد اکسایشده بیشتر باشد محلول رادیکالی تولید شده بی‌رنگ‌تر خواهد بود. میزان ۲۰ میکرولیتر از نمونه با غلظت‌های مختلف با ۹۸۰ میکرولیتر از محلول ABTS به خوبی مخلوط و به مدت۳-۱۰ دقیقه در محیط تاریک در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و سپس جذب محلول در ۷۳٤ نانومتر خواند شد. نمونه شاهد نیز به وسیله افزودن ۹۸۰ میکرولیتر از ABTS با ۲۰ میکرولیتر از آب مقطر ساخته شد و درصد مهارکنندگی نمونه مورد نظر با معادله زیرمحاسبه شد:

$$\text{بازدارندگی}(\%) = \frac{\text{جذب محلول} - \text{جذب شاهد}^*}{\text{جذب شاهد}} \times ۱۰۰$$

قدرت مهارکنندگی رادیکال کاتیون‌های ABTS با استفاده از معادله منحنی استاندارد ترولوکس در غلظت‌های مختلف (٥۰-۱۱۰۰) به صورت میلی‌مولار ترولوکس در هر گرم ماده خشک بیان شد [۱۸].

۲-٤- آزمون‌های ضد دیابتی

۲-٤-۱- آزمون بازدارندگی α-آمیلاز خوکی

اساس کار انجام این واکنش بر پایه تولید قند احیا در محیط قلیایی می‌باشد. رنگ قند احیا تولید شده در ترکیب با ماده رنگی به نام ٤-هیدروکسی بنزوئیک اسید هیدرازین در محیط قلیایی به

رنگ زرد تبدیل شده و با افزایش رنگ محلول حاصله در طول موج ٤١٠ نانومتر می‌توان فعالیت آنزیم را محاسبه نمود. برای محاسبه فعالیت بازدارندگی صمغ فیبر ذرت ابتدا غلظت‌های مختلف (۱۰-۳۰) میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از فیبر تهیه و نسبت‌های مساوی از آنزیم و فیبر(۱۰۰ میکرولیتر) با هم مخلوط شده و سپس محلول نشاسته در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مخلوط حاصله اضافه شد و ۲۰ دقیقه گرمخانه گذاری شد. محلول حاصله تحت دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا آنزیم غیر فعال گردد. سپس محلول مورد نظر به منظور جدا شدن نشاسته هضم شده تحت سانتریفوژ ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲ دقیقه قرار داده شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از محلول مورد نظر با ۳ میلی‌لیتر از محلول رنگی مخلوط شده و مدت ۱۰ دقیقه تحت دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. جذب ترکیب حاصله در طول موج ٤١٠ نانومتر خوانده شد [۷]. بازدارندگی از معادله زیر محاسبه گردید:

$$\text{بازدارندگی}(\%) = \frac{\text{جذب محلول} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times ۱۰۰$$

۲-٤-۲- آزمون بازدارندگی α-گلوکوزیداز روده‌ی موش

ابتدا آنزیم مربوطه از روده‌ی موش استخراج گردید. عصاره استخراج شده به میزان ۹۸Mu بر میلی‌لیتر رقیق شد. دویست میکرولیتر از آنزیم α-گلوکوزیداز با صد میکرولیتر از نمونه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از پیش ماده (پی-نیتروفنل α-دی گلوکوپیرانوزید) به مخلوط واکنش اضافه گردید. میزان بازدارندگی از آنزیم در طول موج٤٠٥ نانومتر برای هر نمونه از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{بازدارندگی}(\%) = \frac{\text{جذب محلول} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times ۱۰۰$$

*در نمونه کنترل مثبت به جای ترکیب از آکاربوز استفاده شده است [۱۹].

۲-۵-آزمون فلوئورسانس ذاتی و خارجی

مقادیر مشخص از آنزیم α-آمیلاز (۳ میلی‌لیتر، ۰/۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و آنزیم α-گلوکوزیداز (۳ میلی‌لیتر، ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۰/۳ میلی‌لیتر از صمغ فیبر استخراج شده با هر دو روش با غلظت‌های مختلف (۰/۲۵، ۰/۵۰، ۱، ۲ و ٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) ترکیب شده و برای ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. شدت فلورسانس آنزیم‌ها با طول موج تحریک ۲۹۰ نانومتر و طول موج انتشار ۳۱۰ تا ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۲۰]. میزان اثر فرونشاندن در اثر برخورد مولکولی با استفاده از معادله استرن-ولمر ارزیابی شد:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV}[Q]$$

که در آن F_0 حداکثر مقدار پیک شدت فلوئورسانس آنزیم و F حداکثر مقدار پیک شدت فلوئورسانس آنزیم در حضور یکی از فیبرهای استخراج شده از سبوس ذرت بود. شیب نمودار (KSV) در معادله استرن- ولمر به عنوان شاخصی از اثر فرونشان کننده برخورد روی فلوئورسانس ذاتی آنزیم α-آمیلاز و α-گلوکوزیداز در نظر گرفته شد [۲۱].

۲-٦-تجزیه تحلیل داده‌ها

برای تجزیه تحلیل داده‌ها از روش تجزیه واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار آماری MiniTab در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. به منظور بررسی اختلاف میانگین‌ها در صورت معنی‌دار بودن اثر فاکتورها ($P<0.05$)، از آزمون Tukey استفاده شد. تمامی نتایج به صورت میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار بیان شده است. برای رسم شکل‌ها از نرم افزار Microsoft Excel استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- راندمان استخراج

راندمان استخراج فیبر تولیدی به وسیله هردو روش استفاده شده یعنی FAX (بدون حضور هیدروژن پراکسید) و Y (با استفاده از هیدروژن پراکسید)، در شکل ۱ نشان داده شده است.

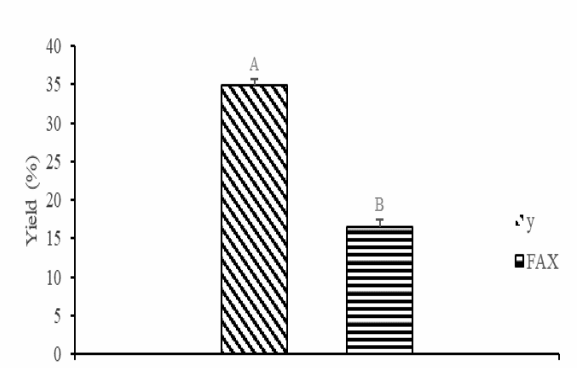

Fig 1 Yield of MFGs (FAX and Y) recovered from destarched maize bran
Different letters denote significant difference between treatments ($p < 0.05$).

بالاترین راندمان مربوط به فیبر Y با ۳٤/۸٦ درصد و سپس FAX با ۱٦/٥٤ درصد بود. نتایج راندمان فیبر به دست آمده از سبوس ذرت حاصل از ذرت تخمیر شده و سبوس ذرت به دست آمده از آسیاب مرطوب با فیبر به ترتیب برابر با ۱۳/۰۱ و ۱۹/۰۲ درصد (وزنی/وزنی) گزارش شده است [۱۳]. در مطالعه دیگری نیز، راندمان فیبر استخراج شده از سبوس ذرت حاصل از آسیاب مرطوب برابر با ۱۹/۵ درصد (وزنی/وزنی) بود [۱۵]. بنابراین نتایج مطالعه حاضر با مطالعات مذکور مطابقت داشت.

۳-۲- ترکیب شیمیایی فیبر

ترکیبات موجود در ساختار فیبرهای استخراج شده مورد بررسی قرار گرفت که نتایج در جدول ۱ بیان شده است. بر اساس مطالعه یاداو و همکاران (۲۰۱۰) میزان پروتئین، رطوبت و خاکستر موجود در فیبر استخراج شده (با هیدروژن پراکسید) به ترتیب ۱/۹۷، ٦/۳۲ و ٦/۰٥ می‌باشد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت [۱۳].

Table 1 Proximate composition of maize fiber gums

Ash(%)	Protein(%)	Moisture (%)	sample
6.71 ± 0.56^{a}	1.40 ± 0.08^{b}	6.52 ± 0.54^{a}	**Y**
6.92 ± 0.21^{a}	4.73 ± 0.03^{a}	6.78 ± 0.70^{a}	**FAX**

Different letters in each column denote significant difference between samples ($p < 0.05$).

۳-۳-فنل کل و فعالیت ضداکسایشی فیبر ذرت

۳-۳-۱- اندازه‌گیری میزان فنل کل فیبرهای استخراج شده

مقدار کل ترکیبات فنلی فیبر استخراج شده Y و FAX به ترتیب برابر با ۰/٦٦ ± ۲۷/۷۳ و ۰/۹٤۷ ± ۱٦/۲۸ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم فیبر می‌باشد. ظرفیت ضداکسایشی صمغ فیبر ذرت به میزان فرولیک اسید متصل به ساختمان آرابینوزایلانی موجود در ساختار فیبر وابسته است که فرولیک اسید ممکن است در اثر روش به کارگیری استخراج دچار تغییراتی شود [۱۳]. آیلا-سوتو و همکاران (۲۰۱۷) میزان فنل کل صمغ فیبر ذرت استخراج شده از سبوس ذرت حاصل از ذرت تخمیر یافته را بین ۱/۹٥ تا ۳/٥٥ میلی گرم بر گرم گالیک اسید بیان کردند [۱٤].

۳-۳-۲ -فعالیت مهار کنندگی رادیکال کاتیون ABTS

در جدول ۲ خاصیت مهارکنندگی رادیکال کاتیونی ABTS نشان داده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده فیبر استخراجی با هر دو روش دارای خاصیت ضد اکسایشی می‌باشد. فعالیت مهارکنندگی مربوط به نمونه FAX (استخراج شده بدون استفاده از هیدروژن پراکسید) برابر با ۲/۹۹ ± µmolTE/g ۱۳۷/۱۰ بوده و نمونه Y (استخراج شده با استفاده از هیدروژن پراکسید) ۱/۱۷± ۲۹/٦۸ µmolTE/g می‌باشند. به طور کلی نتایج به دست آمده نشان می‌دهد با افزودن هیدروژن پراکسید، میزان فعالیت بازدارندگی رادیکال کاتیونی ABTS در فیبرکاهش یافت. هیدروژن پراکسید به تنهایی ترکیب خیلی واکنش پذیری نیست ، اما ممکن است در بعضی مواقع به دلیل افزایش دادن رادیکال‌های هیدروکسیل در سلول‌ها برای آنها مضر واقع شود. هیدروژن پراکسید با چسبیدن به یک طرف غشای سلولی و

واکنش با Fe^{2+} و Cu^{2+} و تبدیل کردن این فلزها به شکل رادیکال‌های هیدروکسیل سبب بروز واکنش‌های تخریبی در سلول می‌شود [۲۲].

۳-۳-۳- فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH

فعالیت مهار کنندگی رادیکال DPPH بر حسب میکرومول ترولوکس بر میلی‌گرم فیبر در جدول ۲ ذکر شده است. براساس نتایج به دست آمده هر دو نمونه فیبر دارای خاصیت مهارکنندگی می‌باشند. بیشترین خاصیت مهارکنندگی مربوط به فیبرFAX (بدون استفاده از هیدروژن پراکسید) با ۰/۳۹۹ µmolTE/g ± ۳۹/۷٤، و سپس فیبر استخراج شده Y با ۰/۲۵۷ µmolTE/g ± ۳/۷۳ می‌باشد. با افزودن هیدروژن پراکسید در روش استخراج میزان خاصیت مهارکنندگی فیبر کاهش پیدا کرد به طوریکه Y کمترین میزان بازدارندگی را در مقایسه با روش استخراج دیگر داشت که دلیل این امر را می‌توان به خاصیت اکسیدکنندگی هیدروژن پراکسید نسبت داد. در مطالعه وانگ و همکاران (۲۰۱۰) IC_{50} فیبر ذرت با حضور هیدروژن پراکسید از ۰/۱ تا ۱ افزایش پیدا کرد که این امر به خوبی نشان دهنده خاصیت اکسیدکنندگی هیدروژن پراکسید می‌باشد [۲۳]. هرچه میزان IC_{50} یک ترکیب بیشتر شود نشان‌دهنده کمتر بودن قدرت ضداکسایشی آن ترکیب می‌باشد. IC_{50} مربوط به صمغ فیبر ذرت حدود ۰/۱ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر می‌باشد که در مقایسه با آسکوربیک اسید که دارای IC_{50}، ۰/۰٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد کمتر است. در صورتی که خاصیت ضداکسایشی (IC_{50}) صمغ گوار، سولفات‌های مشتق شده از صمغ گوار، الیگوساکاریدهای استحصالی از همی‌سلولز بخش‌های چوبی گیاه و پوسته برنج در حدود ٤تا ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد، که در مقایسه با صمغ فیبر ذرت دارای خاصیت ضداکسایشی ضعیف‌تری می‌باشند. پس این صمغ نسبت به ترکیبات صمغی و فیبری طبیعی دارای قدرت ضداکسایشی بالاتری می‌باشد [۲٤]. بر اساس مطالعه هررا و همکاران (۲۰۲۰) فعالیت بازدارندگی رادیکال DPPH در FAX (بدون استفاده از هیدروژن پراکسید) ۰/۷۵µmolTE/g ± ۳۱/٦۹ گزارش شده است [۱۵]. فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH صمغ فیبر ذرت استخراج شده با آب بین ۵۹/۹ تا ۷۱/۱ میکرومول ترولکس بر گرم فیبر گزارش شده است [۲۵]. در مطالعه‌ای ظرفیت ضداکسایشی فیبر ذرت استخراج شده از سبوس ذرت به دست آمده از ضایعات تخمیری ۳۹/۱٦ میکرومول ترولوکس بر گرم فیبر گزارش شده است [۲٦]. روش استخراج، نوع خشک کردن و واریته گیاه ذرت به کار برده شده همگی از عوامل تاثیرگذار روی خاصیت ضد اکسایشی صمغ فیبر ذرت تولیدی می‌باشند [۱۳].

Table 2 Antioxidant activity of maize fiber gums

(µmolTE/g) ABTS	(µmolTE/g)DPPH	Sample
29.68 ± 1.71^{b}	4.73 ± 1.60^{b}	**Y**
137.10 ± 2.99^{a}	39.74 ± 0.39^{a}	**FAX**

Different letters in each column denote significant difference between samples ($p < 0.05$).

۳-٤-آزمون تعیین بازدارندگی α-آمیلاز خوکی

در این پژوهش، توانایی فیبرهای استخراج شده از سبوس ذرت برای مهار فعالیت آنزیم α-آمیلاز به منظور تاخیر در آبکافت نشاسته مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان دهنده‌ی توانایی هر دو فیبر استخراج شده در بازدارندگی آنزیم بود. IC_{50} مهارکنندگی فیبر FAX و Y به ترتیب برابر با ۳۳ mg/mL و ٤۸/۸ می‌باشد.

بر اساس نتایج به دست آمده، خاصیت مهارکنندگی با افزایش میزان فنل کل فیبرها افزایش یافته و فیبر استخراجی دارای سازوکارهای متفاوتی در بازدارندگی از فعالیت این آنزیم می باشد. به عنوان مثال مهار کننده‌هایی مانند آکاربوز با تشکیل کمپلکس بین آنزیم و ممانعت کننده سبب بازدارندگی از فعالیت آنزیم می‌شوند. فیبرهای غذایی با ویسکوز کردن محیط وکاهش سرعت انتشار گلوکز سبب کاهش فعالیت آنزیم می‌گردند [۲۷]. براساس مطالعه یان و همکاران (۲۰۱۹) که روی اثر بازدارندگی از آنزیم α-آمیلاز فیبرهای رژیمی محلول در آب استخراج شده با روش‌های مختلف از سبوس گندم انجام شد، تمامی فیبرهای به دست آمده دارای خاصیت ممانعت کنندگی بودند. بازدارندگی

آنزیم α-آمیلاز توسط ترکیبات پلی ساکاریدی و فیبرها بیشتر به واحدهای ترکیب سازنده فیبر و گروه‌های عاملی پیوند یافته به ساختار مربوط می‌باشد [۲۸]. بر اساس مطالعه سان و همکاران (۲۰۱٦) خاصیت بازدارندگی ترکیبات فنلی موجود درسیب در برابر آنزیم α-آمیلاز مورد بررسی قرار گرفت. تانیک اسید، کلروژنیک اسید و کافئیک اسید موجود در سیب سبب بازدارندگی از آنزیم α-آمیلاز شد. نتایج برهمکنش بین آنزیم و ترکیبات فنلی نشان دهنده کاهش شدت فلوئورسنس (توانایی تشکیل کمپلکس بین جایگاه فعال آنزیم و ترکیب فنلی) و همگی این نتایج نشان دهنده ممانعت کنندگی خوب ترکیبات موجود در سیب در برابر آنزیم گوارشی است [۲۹]. ترکیبات پلی فنلی موجود در چای(کاتکین، گالوتانین‌ها، الاژیتانین‌ها و سایر ترکیبات پلی‌مری فنلی) سبب بازدارندگی از فعالیت آنزیم α-آمیلاز خوراکی می‌شوند [۳۰ ، ۳۱]. تانن‌ها به وسیله قدرت اتصال به پروتئین از طریق ایجاد پیوندهای هیدروفوبی از فعالیت آنزیم‌های گوارشی به خصوص α-آمیلاز ممانعت کرده و مناسب افراد دارای دیابت نوع ۲ می‌باشند [۳۲].

۳-۵- آزمون تعیین بازدارندگی α-گلوکوزیـداز روده موش

بر طبق نتایج به دست آمده از این آزمون فیبر به دست آمده از روش Y در غلظت به کار گرفته شده دارای اثر مهارکنندگی نبوده و همچنین بازدارندگی فیبر FAX در غلظت به کار گرفته شده (۲۰ mg/mL) ۲٦/۱۵ درصد می‌باشد.

آنزیم α-گلوکوزیداز از مهم‌ترین آنزیم‌های موجود در روده می‌باشد که مسئول شکستن الیگوساکاریدها و تبدیل آنها به مونوساکاریدها از طریق جدا کردن ترکیبات هیدروژنی آنها و شکستن پیوند α(۱-٤) می‌باشد. ترکیبات فنلی از مهمترین ترکیبات مهار کننده‌های این آنزیم می‌باشند. فنل‌ها از طریق جدا کردن یون هیدروژن آزاد شده از محل فعال آنزیم α-گلوکوزیداز باعث مهار آنزیم می‌شوند [۲۷]. بر این اساس عملکرد بهتر فیبر ذرت استخراج شده FAX را می‌توان به داشتن فنل کل بیشتر از فیبر Y نسبت داد. ترکیبات پلی فنلی توانایی تشکیل پیوندهای مختلفی با پروتئین‌ها را دارا می‌باشند. رابطه بین تشکیل کمپلکس و بازدارندگی آنزیم مستقیم می‌باشد به این صورت که ترکیبات هیدروکسیل موجود در ترکیبات پلی فنلی با جایگاه فعال آنزیم تشکیل پیوند داده و سبب ممانعت از فعالیت آنزیم می‌گردد [۳۳]. ترکیبات فنلی استخراج شده از منابع گیاهی دارای فعالیت بازدارندگی و (K_i) مشابه با ترکیباتی مثل آکاربوز در برابر آنزیم‌های α-گلوکوزیداز/مالتاز از خود نشان دادند [۳٤]. ترکیبات فنلیک استخراج شده از میوه بلوبری به وسیله اشغال جایگاه فعال آنزیم α-گلوکوزیداز، توسط روش غیررقابتی سبب بازدارندگی از فعالیت آنزیم شده بود [۳۵].

۳-٦- فلورسانس ذاتی و خارجی

در مطالعه حاضر، شدت فلورسانس آنزیم‌های α-گلوکوزیداز و α-آمیلاز قبل و بعد از ترکیب شدن با صمغ فیبر ذرت به منظور بررسی پیوندها و برهم‌کنش‌های انجام شده بین آنها اندازه‌گیری شد (شکل۲). اسید آمینه تریپتوفان مهم‌ترین عامل ساطع کننده فلوئوروسانس در پروتئین‌ها می‌باشد. در اثر پیوند پروتئین با سایر ترکیبات اسید آمینه تریپتوفان درگیر واکنش شده و شدت فلوئورسنس با توجه به میزان و نوع پیوند ایجاد شده کمتر می‌شود. طیف انتشار فلوئورسانس برای α-گلوکوزیداز و α-آمیلاز در λ_{em} = ۲۹۰ نانومتر با افزودن فیبرهای استخراج شده به دست آمد. هر دو نوع فیبر در مقایسه با نمونه کنترل (نمونه فاقد فیبر) در تمامی غلظت‌های استفاده شده سبب کاهش شدت فلوئورسانس ساطع شده، که ناشی از درگیر شدن اسید آمینه تریپتوفان است، شدند. بر اساس مطالعه سان و همکاران (۲۰۱٦) ترکیبات فنلی به وسیله گروه‌های هیدروکسیل خود و بخش‌های ابگریز باقی مانده اسید آمینه در محل فعال آنزیم‌ها توانایی تشکیل پیوندهای هیدروژنی و ایجاد کمپلکس با پروتئین‌ها را دارند، و از این طریق سبب کاهش شدت فلوئورسانس در پروتئین می‌گردند. بر همین اساس می‌توان گفت با افزایش غلظت ترکیبات فنلی موجود در ترکیبی ، شدت فلوئورسنس نیز کاهش بیشتری خواهد داشت [۲۹]. برهمکنش بین فیبرها و پروتئین‌ها معمولا از طریق پیوندهای غیر کووالانسی و تغییر در ساختار سوم پروتئین رخ می‌دهد. بر اساس نتایج حاصل از شکل(۲) شدت فلوئورسنس

بین دو آنزیم به وسیله هر دو نوع فیبر استخراج شده در مقایسه با نمونه کنترل (فاقد فیبر) کاهش یافته است. پس هر دو نوع فیبر توانایی مهار کنندگی هر دو نوع آنزیم را از طریق ایجاد تغییر در ساختمان سوم آنزیم و به وسیله پیوندهای غیرکوالانسی را دارند [۳۶].

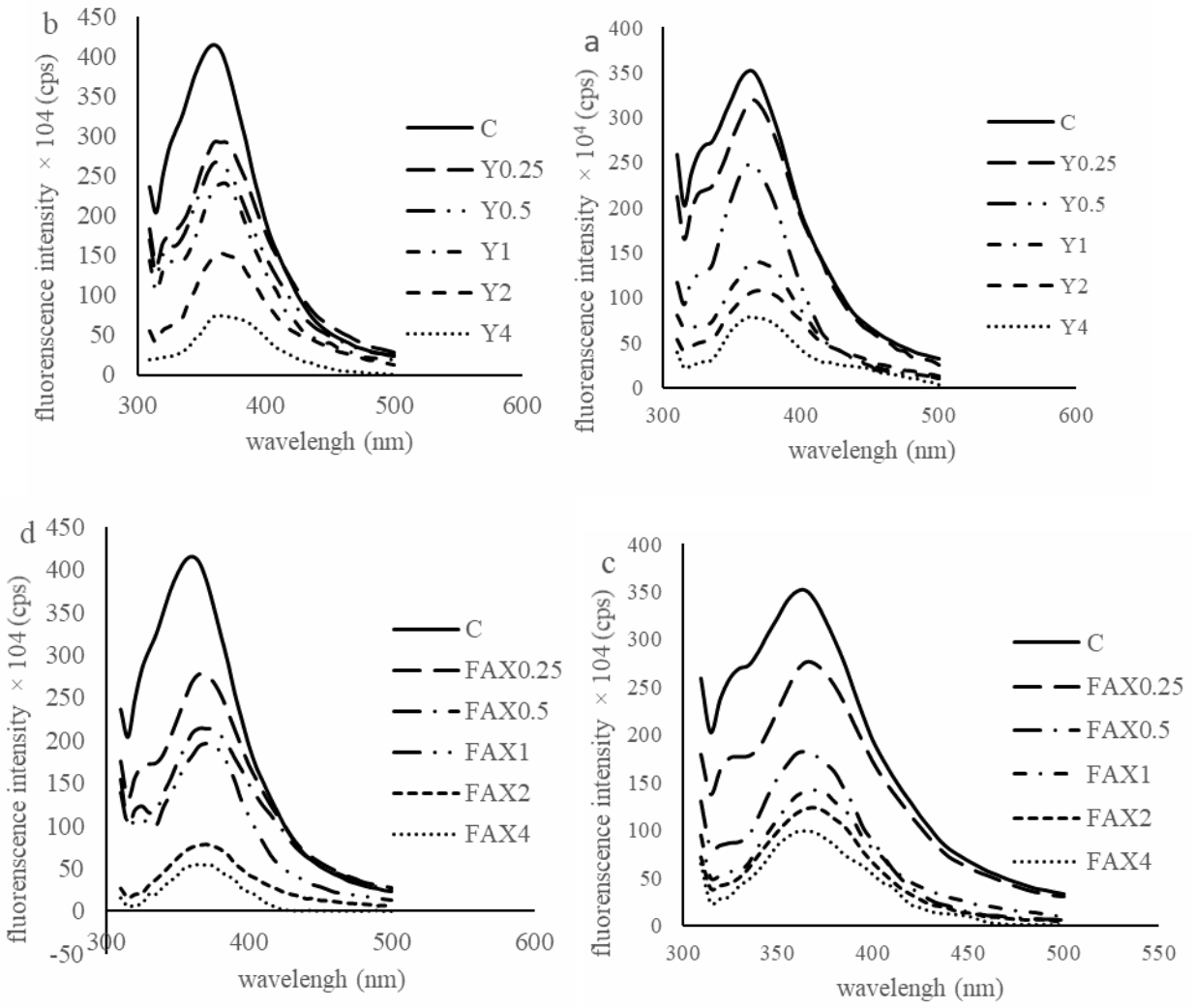

Fig 2 Intrinsic tryptophan fluorescence of α-amylase and α-glucosidase suspensions with different concentration of FAX (c-d: 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/mL) and Y (a-b: 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/mL). (a): α-glucosidase-Y; (b) α-amylase-Y; (c): α-glucosidase -FAX; (d): α-amylase. FAX

با استفاده از معادله استرن–ولمر می‌توان اثر فرونشاندن برخورد را ارزیابی کرد. نمودارهای موجود در شکل ۳ کاربرد این معادله در انتشار فلوئورسنس سیستم مخلوط α–گلوکوزیداز و α–آمیلاز با هر دو نوع فیبر استخراج شده از سبوس ذرت را نشان داده است. بر اساس شکل ۳ هر دو نوع فیبر با هر دو آنزیم تشکیل کمپلکس می‌دهد. تاثیر بازدارندگی هر دو نوع فیبر روی آنزیم α–آمیلاز بیشتر از آنزیم α–گلوکوزیداز می‌باشد. فیبر FAX در مقایسه با فیبر Y برهمکنش بیشتری با هر دو نوع آنزیم داشته، که نتیجه به دست آمده از این بخش با نتایج بازدارندگی فیبرها در بخش فلورسنس کاملا مطابقت دارد.

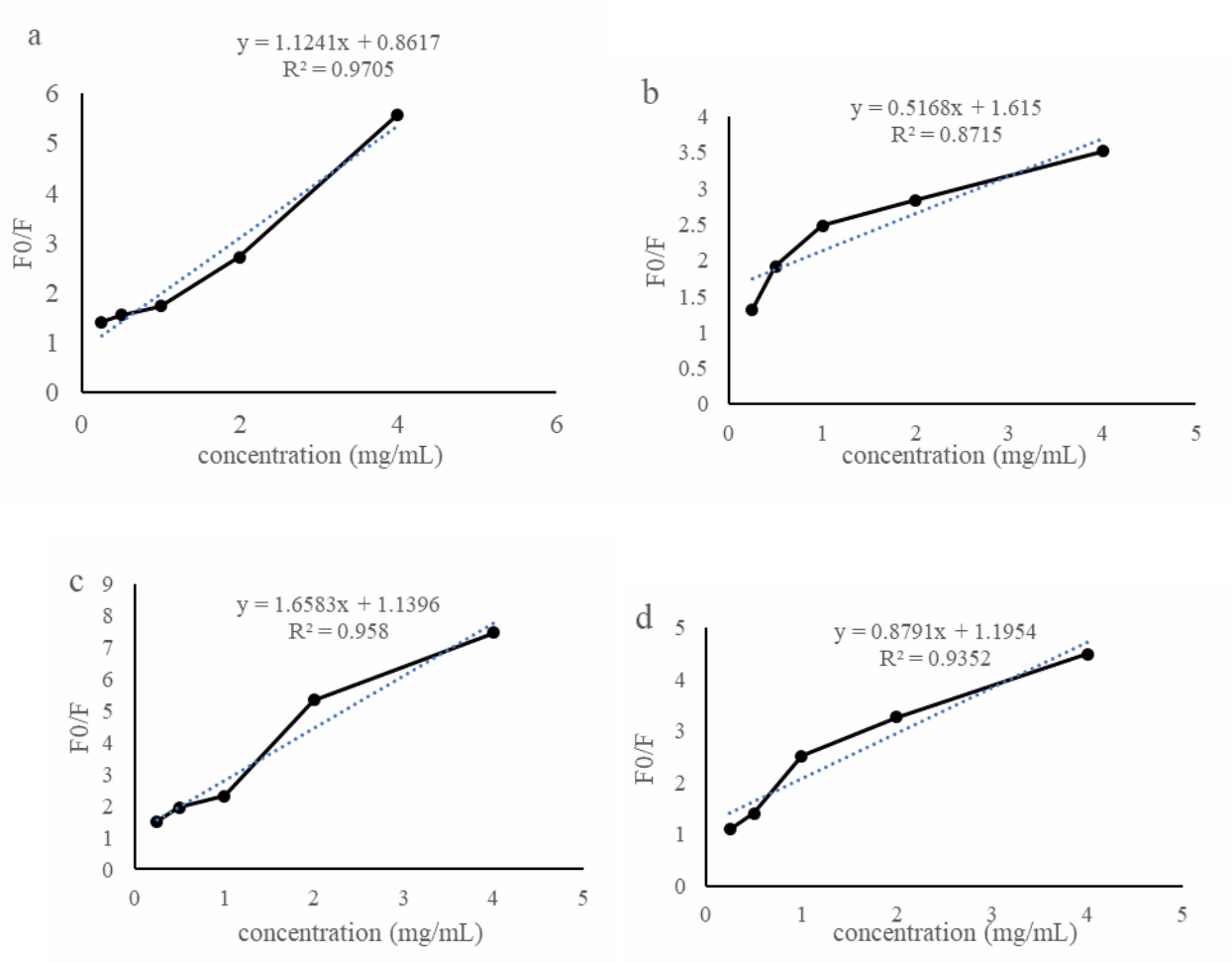

Fig 3 The quenching constant of the interaction between (a): α-amylase-Y; (b): α-glucosidase-Y; (c): α-amylase-FAX and (d): α-glucosidase-FAX.

٤- نتیجه‌گیری

در این مطالعه فیبر ذرت با دو روش با و بدون حضور پراکسید هیدروژن از سبوس ذرت استخراج و فعالیت ضد اکسایشی و ضددیابتی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده فیبرFAX فعالیت ضد اکسایشی و ممانعت کنندگی بیشتری نسبت به فیبر Y در برابر آنزیم‌های α-آمیلاز خوکی و α-گلوکوزیداز موشی داشت. همچنین نتایج فرونشاندن فلوئورسانس نشان داد که فیبرها فعالیت هر دو آنزیم α-آمیلاز و α-گلوکوزیداز را از طریق ایجاد تغییرات در ساختار سوم این آنزیم‌ها با برهم‌کنش غیرکووالانسی مهار کرد. به طور کلی صمغ فیبر استخراج شده FAX به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلیک بالا و پتانسیل ضد دیابتی و ضد اکسندگی می‌تواند در فرمولاسیون‌های غذایی برای سلامت افراد جامعه مفید واقع گردد.

٥- سپاسگزاری

تحقیق حاضر مستخرج از طرح " استخراج ترکیبات زیست فعال از گونه های گیاهی خشکی و دریایی واجد هتروگلیکان ها به منظور تولید فرآورده های غذایی سلامتی بخش" می باشد. از ستاد توسعه زیست فناوری بابت حمایت مادی تشکر و قدردانی می نماییم.

٦- منابع

[1] Kumar, D., Chatli, M.K., Singh, R., and Mehta, N. 2016. Antioxidant and antimicrobial activity of camel milk casein hydrolysates and its fractions. Small Ruminant Research. 139: 20–25.
[2] Burton, P.M., Monro, J.A., Alvarez, L., and Gallagher, E. 2011 Glycemic impact

and health: new horizons in white bread formulations. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 51(10): 965-982.

[3] Nasri, M. 2017. Protein hydrolysates and biopeptides: production, biological activities, and applications in foods and health benefits. A Review. In: *Advances in Food and Nutrition Research*. Elsevier. 81: 109-159.

[4] Shishehbor, F., kazem assareh, E., veisi, M., and Saki Malehi, A. 2017. Roasted chickpea flour decreases glycemic index and glycemic load of white bread. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. 19(1): 10-17.

[5] Association, A.D. 2014. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 37(1): 81-90.

[6] Adisakwattana, S., Lerdsuwankij, O., Poputtachai, U., Minipun, A., and Suparpprom, C. 2011. Inhibitory activity of cinnamon bark species and their combination effect with acarbose against intestinal α-glucosidase and pancreatic α-amylase. Plant Foods for Human Nutrition. 66(2): 143-148.

[7] Ngoh, Y.Y., and Gan, C.Y. 2016. Enzyme-assisted extraction and identification of antioxidative and α-amylase inhibitory peptides from Pinto beans (*Phaseolus vulgaris* cv. Pinto). Food Chemistry. 190: 331-337.

[8] Fei, Q., Gao, Y., Zhang, X., Sun, Y., Hu, B., Zhou, L., ... and Zeng, X. 2014. Effects of Oolong tea polyphenols, EGCG, and EGCG3 ″Me on pancreatic α-amylase activity *in vitro*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 62(39): 9507-9514.

[9] Zaharudin, N., Salmeán, A. A., and Dragsted, L. O. 2018. Inhibitory effects of edible seaweeds, polyphenolics and alginates on the activities of porcine pancreatic α-amylase. Food Chemistry. 245: 1196-1203.

[10] Wang, K., Li, M., Han, Q., Fu, R., and Ni, Y. 2021. Inhibition of α-amylase activity by insoluble and soluble dietary fibers from kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). Food Bioscience. 42: 101057.

[11] Dhital, S., Gidley, M. J., and Warren, F. J. 2015. Inhibition of α-amylase activity by cellulose: Kinetic analysis and nutritional implications. Carbohydrate Polymers. 123: 305–312 .

[12] Rose, D. J., Inglett, G. E., and Liu, S. X. 2010. Utilisation of corn (*Zea mays*) bran and corn fiber in the production of food components. Journal of the Science of Food and Agriculture. 90(6): 915-924.

[13] Yadav, M. P., Cooke, P., Johnston, D. B., and Hicks, K. B. 2010. Effect of protein rich components on the emulsifying properties of corn fiber gum. Cereal Chemistry. 87(2): 8994.

[14] Ayala-Soto, F. E., Serna-Saldívar, S. O., García-Lara, S., and Pérez-Carrillo, E. 2014. Hydroxycinnamic acids, sugar composition and antioxidant capacity of arabinoxylans extracted from different maize fiber sources, Food Hydrocolloids. 35: 471-475.

[15] Herrera-Balandrano, D. D., Báez-González, J. G., Carvajal-Millán, E., Muy-Rangel, D., Urías-Orona, V., Martínez-López, A. L., ... and Niño-Medina, G. 2020. Alkali-extracted feruloylated arabinoxylans from nixtamalized maize bran byproduct: A synonymous with soluble antioxidant dietary fiber. Waste and Biomass Valorization. 11(2): 403-409.

[16] Jalili Safaryan, M., Ahmadi, H., Barzegar, M., Tabarsa, M., & Udenigwe, C. 2022. Evaluation of inhibitory effect of alpha-amylase and alpha-glucosidase by interaction phenolic compounds, soluble fiber, and protein extracted from green lentils. Journal of Food Science and Technology (Iran), 19(122), 35-45.

[17] Rajaei, A., Barzegar, M., Mobarez, A. M., Sahari, M. A., and Esfahani, Z. H. 2010. Antioxidant, anti-microbial and antimutagenicity activities of pistachio (*Pistachia vera*) green hull extract. Food and Chemical Toxicology. 48: 107-112.

[18] Thetsrimuang, C., Khammuang, S., Chiablaem, K., Srisomsap, C., and Sarnthima, R. 2011. Antioxidant properties and cytotoxicity of crude polysaccharides from *Lentinus polychrous Lév*. Food Chemistry. 128(3): 634-639.

[19] Connolly, A., Piggott, C.O., and FitzGerald, R.J. 2014. *In vitro* α-glucosidase, angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase-IV inhibitory properties of brewers' spent grain protein hydrolysates. Food Research International. 56: 100-107.

physicochemical and functional properties of soluble dietary fibers from wheat bran. Food Chemistry. 298: 124987.

[29] Sun, L., Chen, W., Meng, Y., Yang, X., Yuan, L., and Guo, Y. 2016. Interactions between polyphenols in thinned young apples and porcine pancreatic α-amylase: Inhibition, detailed kinetics and fluorescence quenching. Food Chemistry. 208: 51-60.

[30] Kusano, R., Andou, H., Fujieda, M., Tanaka, T., Matsuo, Y., and Kouno, I. 2008. Polymer-like polyphenols of black tea and their lipase and amylase inhibitory activities. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 56(3): 266-272.

[31] Li, H., Tanaka, T., Zhang, Y. J., Yang, C. R., and Kouno, I. 2007. Rubusuaviins A—F, monomeric and oligomeric ellagitannins from Chinese sweet tea and their α-amylase inhibitory activity. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 55(9): 1325-1331.

[32] Santos□Buelga, C., and Scalbert, A. 2000. Proanthocyanidins and tannin-like compounds–nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80(7): 1094-1117.

[33] Lo Piparo, E., Scheib, H., Frei, N., Williamson, G., Grigorov, M., and Chou, C. J. 2008.
Flavonoids for controlling starch digestion: Structural requirements for inhibiting human alpha-amylase. Journal of Medicinal Chemistry. 51: 3555–3561.

[34] Toeller, M. 1994. α□Glucosidase inhibitors in diabetes: efficacy in NIDDM subjects. European Journal of Clinical Investigation. 24(S3): 31-35.

[35] McDougall, G. J., Shpiro, F., Dobson, P., Smith, P., Blake, A., and Stewart, D. 2005. Different polyphenolic components of soft fruits inhibit α-amylase and α-glucosidase. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53(7): 2760-2766.

[36] Hua, M., Sun, Y., Shao, Z., Lu, J., Lu, Y., and Li, Z. 2020. Functional soluble dietary fiber from ginseng residue: Polysaccharide characterization, structure, antioxidant, and enzyme inhibitory activity. Food Biochemistry. 44(12), e13524.

[20] Zheng, Y., Tian, J., Yang, W., Chen, S., Liu, D., Fang, H., Zhang, H., and Ye, X. 2020. Inhibition mechanism of ferulic acid against α-amylase and α-glucosidase. Food Chemistry. 317:126346.

[21] Perez, A. A., Carrara, C. R., Sánchez, C. C., Patino, J. M., and Santiago, L. G. 2009. Interactions between milk whey protein and polysaccharide in solution. Food Chemistry, 116: 104–113.

[22] Xiong, X., Li, M., Xie, J., Jin, Q., Xue, B, and Sun, T. 2013. Antioxidant activity of xanthan oligosaccharides prepared by different degradation methods. Carbohydrate Polymers. 92(2): 1166-1171.

[23] Wang, X., Wang, J., Zhang, J., Zhao, B., Yao, J., and Wang, Y. 2010. Structure–antioxidant relationships of sulfated galactomannan from guar gum. International Journal of Biological Macromolecules. 46(1): 59-66.

[24] Rivas, S., Conde, E., Moure, A., Domínguez, H., and Parajó, J. C. 2013. Characterization, refining and antioxidant activity of saccharides derived from hemicelluloses of wood and rice husks. Food Chemistry. 141(1): 495-502.

[25] Malunga, L.N., Beta, T. 2015. Antioxidant capacity of water-extractable arabinoxylan from commercial barley, wheat, and wheat fractions. Cereal Chemistry. 92: 29–36.

[26] Paz-Samaniego, R., Méndez-Encinas, M., Fierro-Islas, J.M., Marquez-Escalante, J., Rascón-Chu, A., Martinez-Lopez, A.L., Carvajal-Millan, E. 2015: Chapter 7 ferulated arabinoxylans recovered from low-value maize by-products: gelation and antioxidant capacity. In: Warren, B. (ed.) Ferulic Acid: Antioxidant Properties, Uses and Potential Health Benefits, pp. 151–164. Nova Science Publishers, New York.

[27] Kim, K. T., Rioux, L. E, and Turgeon, S. L. 2014. Alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibition is differentially modulated by fucoidan obtained from *Fucus vesiculosus* and *Ascophyllum nodosum*. Phytochemistry. 98: 27–33.

[28] Yan, J. K., Wu, L. X., Cai, W. D., Xiao, G. S., Duan, Y., and Zhang, H. 2019. Subcritical water extraction-based methods affect the

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of the interaction of maize fiber gum with α-amylase and α-glucosidase enzymes and its effect on enzymes inhibition activity

Ejtemaei, R. [1], Ahmadi Gavlighi, H. [2,3*], Jalili Safaryan, M. [4], Tabarsa, M. [5]

1. MSc, Department of Food Science and Technology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
3. Institute for Natural Products and Medicinal Plants, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
4. PhD student, Department of Food Science and Technology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
5. Associate Professor, Department of Seafood Processing, Tarbiat Modares University, Nur, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 08/ 16
Accepted 2022/ 10/ 08

Keywords:

Extraction,
Maize fiber gum,
Anti-diabetic,
Phenolic compounds.

DOI: 10.22034/FSCT.19.132.51
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.132.4.7

*Corresponding Author E-Mail:
Ahmadi_ha@modares.ac.ir

ABSTRACT

Maize bran is the most common by-product of maize milling process and it is mainly used as animal feed. In this study, antioxidant and anti-diabetic activities of two types of maize fiber gum, FAX (fiber with phenolic compounds) and Y (fiber without phenolic compounds), were examined. In addition, intrinsic and extrinsic fluorescence intensity was assessed to explore the inhibitory mechanism of two enzymes, α-amylase and α-glucosidase. The results revealed that FAX had the highest DPPH radical scavenging property at 39.74 ± 0.399 µmolTE/g, whereas Y had 3.73 ± 0.257 µmolTE/g. Furthermore, the ABTS cationic radical scavenging activity in FAX was 137.10 ± 2.99 µmolTE/g, whereas Y was 29.68 ± 1.17 µmolTE/g. FAX had a higher inhibition rate of porcine α-amylase enzyme activity than Y, and the difference was significant ($p < 0.05$). FAX inhibited rat intestinal α-glucosidase activity the highest (26.15%), whereas Y had no enzyme inhibition property at the concentration used. In addition, applying different concentrations of both fibers to α-amylase and α-glucosidase enzymes resulted in a decrease in fluorescence intensity; however, this intensity was higher for FAX. Both fibers were able of inhibiting both enzymes by changing the third structure of the enzyme via non-covalent bonds. Overall, the results showed that high phenolic fiber from maize bran can be consider as a natural source of antioxidant activity and inhibition of α-amylase and α-glucosidase enzymes, and that it can be used in the production of functional foods.