مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

تولید پپتیدهای آنتی‌اکسیدانی از کنجاله بذر کتان: تاثیر نوع و غلظت پروتئاز، زمان هیدرولیز و پیش‌تیمار مایکروویو

فائزه فرزان‌فر[۱]، علیرضا صادقی ماهونک[۲*]، محمد قربانی[۳]، سید حسین حسینی قابوس[۴]، شیما کاوه[۵]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد شیمی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

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

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

۴-استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر

۵-دانش‌آموخته دکتری شیمی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۴/۶

کلمات کلیدی:

آنتی‌اکسیدان،

پیش‌تیمار مایکروویو،

تریپسین،

کتان،

هیدرولیز آنزیمی

DOI:10.22034/FSCT.21.157.191.

* مسئول مکاتبات:

Sadeghiaz@yahoo.com

چکیده

هر ساله در طی فرآوری محصولات کشاورزی و تولید مواد غذایی، مواد زائد و فرآورده‌های جانبی زیادی تولید می‌شوند. اکثر این محصولات فرعی دارای خواص زیست‌فعالی مانند آنتی‌اکسیدان هستند که می‌توان آن‌ها را استخراج و در تولید محصولات سلامتی بخش به کار برد. در پژوهش حاضر، کنجاله بذر کتان که به عنوان محصول فرعی فرایند روغن‌گیری از بذر کتان حاصل می‌شود با استفاده از دو آنزیم تریپسین و پانکراتین با دو متغیر زمان (۲۱۰-۱۵ دقیقه) و نسبت آنزیم به سوبسترا (۱-۳ ٪) هیدرولیز شد. تاثیر پیش‌تیمار مایکروویو بر خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده توسط روش سطح‌پاسخ بررسی شد. تیمار پروتئین هیدرولیزشده تولیدی با تریپسین و پیش‌تیمار مایکروویو در شرایط زمان هیدرولیز ۸۴/۰۲ دقیقه و نسبت آنزیم به سوبسترا ۱/۷۷ ٪ به عنوان تیمار بهینه با بیشترین خواص آنتی‌اکسیدانی (فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل ۰/۷۴۵ (جذب در ۶۹۵ نانومتر)، فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH ۷۱/۳۵ ٪ و فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن ۷۶/۱۲ ٪) انتخاب شد. پروتئین هیدرولیزشده بذر کتان به عنوان یک محصول زیست‌فعال با خواص آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند به‌عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی در تولید محصولات سلامتی‌بخش و مکمل غذایی ورزشکاران مورد استفاده قرار گیرد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.157.191]

۱-مقدمه

در سال‌های اخیر سمیت احتمالی و اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مورد استفاده در تولید محصولات غذایی مورد توجه محققین قرار گرفته است. از سوی دیگر به دلیل افزایش آگاهی و در نتیجه تقاضای مصرف‌کنندگان برای مواد غذایی بدون نگهدارنده‌های سنتزی باعث افزایش توجه دانشمندان به پتانسیل محصولات گیاهی برای به کارگیری به عنوان آنتی‌اکسیدان برای محافظت در برابر ROS[1] و بیماری‌های مختلف ناشی از رادیکال‌های آزاد شده است [۱].

هر ساله در طی فرآوری محصولات کشاورزی و تولید مواد غذایی، مواد زائد و فرآورده‌های جانبی زیادی تولید می‌شوند. بیشتر این ضایعات فرعی به عنوان خوراک دام مصرف شده و یا دور ریخته می‌شوند. اکثر این محصولات فرعی دارای ترکیبات زیست‌فعال مانند آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی نظیر ترکیبات فنولی و... هستند که می‌توان آن‌ها را استخراج و محصولاتی با خواص سلامتی بخش تولید کرد [۳-۲].

بذر کتان به دلیل مقادیر زیاد آمینو اسیدهای گوگردی مانند متیونین و سیستئین منبع مهمی از پروتئین است. همچنین این دانه دارای آمینواسیدهای شاخه‌دار مانند ایزولوسین، لوسین و اسیدهای آمینه ضروری مانند لیزین، ترئونین، تیروزین، آسپاراژین، گلوتامین و آرژنین است که باعث افزایش میزان آمید دانه کتان می‌شود. گزارش شده است که بذر کتان حاوی پروتئین‌های حلقوی و پپتیدهایی است که دارای خواص ضد فشار خون، ضد دیابت، آنتی‌اکسیدان و ضد التهاب هستند [٤]. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در دانه‌های کتان (به ویژه پپتیدهای آنتی‌اکسیدانی) گروهی از ترکیبات هستند که فرآیندهای اکسیداسیون ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن یا اکسیژن اتمسفر را غیرفعال یا به تاخیر می‌اندازند [٥-٦]. این ترکیبات فعالیت‌های مختلفی از جمله تولید آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زا را با تحریک بیان ژن، مسدود کردن تولید رادیکال‌های فلزی، ترمیم مولکول‌های آسیب‌دیده و جلوگیری از انواع بیماری‌ها انجام می‌دهند [۷].

پپتیدهای زیست فعال بخش‌های پروتئینی خاصی هستند که جرم مولکولی آنها کمتر از ٦۰۰۰ دالتون و دارای ۲۰-۲ آمینواسید می‌باشند. این پپتیدها درساختار پروتئینی اصلی غیرفعال بوده و بعد از آزاد شدن بر حسب نوع و توالی آمینواسیدی خود، تاثیر مثبتی بر عملکرد و شرایط بدن و در نتیجه سلامت فرد دارند. پپتیدهای زیست‌فعال حاصل از پروتئین‌های گیاهی به دلیل خواص و کاربردهای متعدد اخیراً محبوب شده‌اند [۸-۷]. پپتیدهای موجود در ترکیبات جانبی بذر کتان از با کمک واکنش‌های شیمیایی و آنزیمی به صورت ترکیبات زیست‌فعال با خواص بهینه رهاسازی می‌شوند [۹]. در بین روش‌های مناسب جهت تولید پپتیدهای زیست فعال، هیدرولیز آنزیمی، فرآیندی که معمولاً تحت شرایط کنترل‌شده (pH، دما، غلظت سوبسترا و فعالیت آنزیم) انجام می‌شود، رایج‌ترین روش برای تولید پپتیدهای فعال زیستی است [۱۰]. فرآیند پروتئولیز پیوندهای پپتیدی حساس را می‌شکند و پپتیدهای فعال زیستی را آزاد می‌کند [۱۱].

پیش‌تیمار با امواج مایکروویو، تکنیک جدیدی است که برای تسریع هیدرولیز پروتئین و بهبود خواص عملکردی آن‌ها به دلیل تأثیرگذاری بر پروتئین‌ها در زمان کوتاه استفاده می‌شود. تغییرات بیولوژیکی که می‌تواند بر روی پروتئین‌ها پس از پیش‌تیمار با مایکروویو ایجاد شود، تابعی از شدت میدان است. تابش امواج مایکروویو می‌تواند مسئول این تغییرات ساختاری پروتئین‌ها باشد که منجر به تغییر در ساختار دوم و سوم پروتئین‌ها پس از جذب انرژی مایکروویو می‌شود [۱۲]. در این راستا، Ketnawa و Liceaga (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای که بر روی پروتئین ماهی قزل‌آلا انجام دادند، گزارش کردند که استفاده از پیش تیمار مایکروویو به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد و به دنبال آن هیدرولیز آنزیمی با آلکالاز سبب بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده گردید [۱۳]. همچنین در پژوهش Wang و

1-Reactive Oxygen Species

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.157.191]

همکاران (۲۰۲۲)، اثرات تعدیل‌کننده پیش‌تیمار مایکروویو در قدرت‌ها و زمان‌های مختلف بر ساختار پروتئین گندم سیاه تارتاری (TBP) مورد بررسی قرار گرفت. در مقایسه با TBP جوانه‌زده بدون پیش تیمار، پس از پیش‌تیمار مایکروویو، محتوای گروه‌های سولفیدریل آزاد در TBP جوانه‌زده افزایش یافت و تغییرات ساختار ثانویه کاهش قابل توجهی در مارپیچ α و افزایش محتویات مارپیچ تصادفی با افزایش شدت اشعه ماوراء بنفش را نشان داد [۱۴].

بنابراین هدف از این پژوهش، بررسی تاثیر نوع (پانکراتین و تریپسین) و غلظت (۱-۳٪) آنزیم پروتئازی زمان هیدرولیز (۲۱۰-۱۵ دقیقه) و پیش‌تیمار مایکروویو بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی (فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH و فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن) پروتئین هیدرولیزشده کنجاله بذر کتان بود.

۲-مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی: تریپسین، پانکراتین، تری‌کلرواستیک‌اسید، برلیانت آبی (G250)، DPPH، فریسیانید پتاسیم، کلرید آهن، سولفات آهن، پراکسید هیدروژن، دی‌کلرید آهن، کلرید سدیم، آهن، اسیدکلریدریک، دی‌هیدروژن‌فسفات پتاسیم و اسیدفسفریک از شرکت مرک و بذر کتان از فروشگاهی معتبر در گرگان خریداری شد.

۲-۱-تهیه کنسانتره پروتئین کنجاله بذر کتان

ابتدا کنجاله بدست آمده از بذر کتان به کمک آسیاب الکتریکی پودر شد؛ سپس به جهت چربی‌زدایی بیشتر از پودر کنجاله، پودر حاصل به تناسب ۱:٤ (وزنی/ حجمی) و به مدت زمان ٤ ساعت به وسیله شیکر با دور ۲۰۰ rpm با هگزان مخلوط شد. پس از جداسازی هگزان، پودر کنجاله به مدت ۳ ساعت در آون ٤۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. به جهت استخراج پروتئین کنجاله بذر کتان، پودر حاصل به تناسب ۱:۱۰ با محلول کلریدسدیم ۰/۳ M، مخلوط شد و با افزودن سود ۱ نرمال، PH را به ۹/۲ رساندیم و به مدت ۱ ساعت بر روی همزن مغناطیسی قرار دادیم، تا مخلوط شود؛ محلول تولیدی در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و در ۸۰۰۰ rpm به فاصله زمانی ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. در مرحله بعد، pH سوپرناتانت به ٤/٥ (pH ایزوالکتریک) رسانده شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۸۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. پس ازشستشو رسوب پروتئین با آب مقطر، کنسانتره پروتئینی کنجاله بذر کتان تولید شده با استفاده از خشک‌کن انجمادی خشک شد [۱۵].

۲-۲- اعمال پیش‌تیمار مایکروویو

ابتدا محلول ۵ درصد پروتئین بذر کتان در بافر فسفات (M ۰/۲، pH =۷) تهیه گردید. به جهت اعمال پیش‌تیمار مایکروویو از توان ۳۰۰، ٦۰۰، ۷۵۰ و ۹۰۰ وات در مدت زمان ۳۰، ٦۰ و ۹۰ ثانیه استفاده شد. پس از انجام آزمون آنتی‌اکسیدانی کل بر روی تیمارها، تیمار با توان ۳۰۰ وات و مدت زمان ۹۰ ثانیه به عنوان تیمار بهینه حاوی بالاترین میزان آنتی‌اکسیدانی کل انتخاب شد [۱۲].

۲-۳-تهیه پروتئین هیدرولیزشده کنجاله بذر کتان

پروتئین کنجاله بذر کتان را در نقاط تعیین‌شده توسط نرم‌افزار Design expert 11 (جدول ۱) با دو متغیر زمان و نسبت آنزیم به سوبسترا، توسط دو آنزیم پانکراتین و تریپسین در دو حالت بدون پیش‌تیمار و با پیش‌تیمار مایکروویو هیدرولیز شد. برای انجام هیدرولیز آنزیمی، کنسانتره پروتئین در غلظت ۵ درصد (وزنی/حجمی) در بافر فسفات ۰/۲M مولار حل شد. پس از اعمال پیش‌تیمار، و با افزودن آنزیم در مقادیر تعیین‌شده (جدول ۱) به محلول پروتئینی، نمونه‌ها درون انکوباتور قرار داده شد. پس از طی فاصله‌های زمانی مورد نظر (۲۱۰-۱۵ دقیقه)، ارلن‌ها به جهت غیرفعال‌سازی آنزیم، به مدت ۱۰ دقیقه درون حمام آب ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۸۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردیدند. پس از جداسازی مایع رویی، پروتئین هیدرولیزشده با استفاده از

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.157.191]

دستگاه خشک‌کن انجمادی خشک گردید [۱۶].

Table 1- Different treatment condition used for protein hydrolysis of flaxseed meal (pretreated and non-pretreated using trypsin and Pancreatin)

Hydrolysis points	time (minutes)	Enzyme concentration (%)
1	15	2
2	43.56	2.7
3	43.56	1.29
4	112.5	2
5	112.5	3
6	112.5	2
7	112.5	2
8	112.5	1
9	112.5	2
10	112.5	2
11	181.45	1.29
12	181.45	2.70
13	210	2

پس از بررسی پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی تیمارهای جدول ۱، برای هیدرولیز با پانکراتین بدون پیش‌تیمار (تیمار ۱)، هیدرولیز با پانکراتین با پیش‌تیمار مایکروویو (تیمار ۲)، هیدرولیز با تریپسین بدون پیش‌تیمار (تیمار ۳) و هیدرولیز با تریپسین با پیش‌تیمار مایکروویو (تیمار ٤)، یک نقطه بهینه توسط نرم‌افزار Design expert 11 انتخاب شد. آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی مهار رادیکال آزاد DPPH، فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل بر روی این چهار تیمار مورد بررسی قرار گرفت.

۱-۳-۲-فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

ابتدا پروتئین هیدرولیزشده در آب مقطر با غلظت ۲۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر حل شد. سپس، ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه تهیه شده با ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول اتانولی DPPH (۰/۱۵ mM) مخلوط شد و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس گردید. محلول به دست آمده به فاصله زمانی ۳۰ دقیقه در مکان تاریک نگهداری شد و در ادامه به مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد و جذب محلول سوپرناتانت در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH با استفاده از معادله ۱ محاسبه گردید [۱۸]:

$$\text{DPPH free radical scavenging activity (\%)} = \frac{\text{Acontrol}-\text{Asample}}{\text{Acontrol}} \times 100 \qquad \text{(معادله ۱)}$$

A_{sample} جذب نمونه و $A_{control}$ جذب شاهد می‌باشد.

۲-۳-۲-فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن

۱ میلی‌لیتر پروتئین هیدرولیزشده کنجاله کتان حل‌شده در آب مقطر (غلظت ۲۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) با ۱/۸۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۰۵ میلی‌لیتر محلول دی‌کلریدآهن (۲Mm) مخلوط شد. در ادامه به محلول حاصل، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول فروزین (۵ Mm) افزوده شد. جذب محلول پس از نگهداری در دمای محیط (۲٤ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۱۰ دقیقه در طول موج ٥٦٢ نانومتر خوانده شد. فعالیت شلاته‌کنندگی نمونه‌ها با استفاده از معادله ۲ محاسبه گردید [۱۹].

$$Fe \text{ chelating activity (\%)} = \frac{\text{Acontrol}-\text{Asample}}{\text{Acontrol}} \times 100 \qquad \text{(معادله ۲)}$$

$A_{control}$ جذب شاهد و A_{sample} جذب نمونه می‌باشد.

۳-۳-۲-فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل

برای بدست آوردن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، ابتدا ۰/۱ میلی‌لیتر از پروتئین هیدرولیزشده حل‌شده در آب مقطر

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.157.191]

(غلظت ۲۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) با ۱ میلی‌لیتر از معرف (اسیدسولفوریک ۰/٦ مولار، آمونیوم‌مولیبدات ٤ میلی‌مولار و فسفات‌سدیم ۲۸ میلی‌مولار) مخلوط شد و در حمام آب ۹۰ درجه سانتی‌گراد به فاصله زمانی ۹۰ دقیقه قرارگرفت. سپس، جذب نمونه‌ها در ٦۹۵ نانومتر خوانده شد [۲۰].

٤-۲-انتخاب تیمار بهینه پروتئین هیدرولیزشده به جهت بالاتر بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی

پاسخ آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی (شلاته‌کنندگی یون آهن، مهار رادیکال DPPH و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل) برای هر ۱۳ نقطه هیدرولیز تعیین‌شده توسط نرم‌افزار Design Expert 11 در هر دو حالت هیدرولیز با پیش‌تیمار و بدون پیش‌تیمار مایکروویو مورد بررسی قرار گرفت؛ نقاط بهینه توسط نرم‌افزار Design Expert 11 برای هر چهار تیمار بدست آمد و توسط نرم افزار SPSS مورد ارزیابی و بهینه سازی قرار گرفت. برای مقایسه تیمارهای بهینه حاصل از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد.

۳-نتایج و بحث

۱-۳-فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

با توجه به شکل ۱، در تیمار ۱ با افزایش زمان، بیشترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در نسبت‌های پایین آنزیم به سوبسترا مشاهده شد. احتمالا افزایش نسبت آنزیم به سوبسترا سبب هیدرولیز بیش از حد پروتئین کنجاله بذر کتان توسط آنزیم می‌شود که این پدیده سبب رهایش آمینواسیدهای آبدوست شده و برهمکنش آمینواسیدهای فعال رهاشده را با رادیکال DPPH مشکل می‌سازد [۲۱]. نتایج بدست آمده مشابه با یافته‌های Maqsoodlou و همکاران (۲۰۱٦) در هیدرولیز پروتئین گرده‌ی گل بود؛ آن‌ها کاهش فعالیت مهار رادیکال DPPH پروتئین هیدرولیزشده را با افزایش نسبت آنزیم به سوبسترا گزارش کردند [۲۲]. در تیمار ۲، با افزایش زمان و افزایش نسبت آنزیم به سوبسترا تا ۲ درصد، افزایش درصد مهار رادیکال آزاد DPPH مشاهده شد و پس از آن با افزایش زمان و افزایش نسبت آنزیم به سوبسترا درصد مهار رادیکال آزاد DPPH کاهش یافت. Xue و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش کردند که افزایش فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH با افزایش نسبت آنزیم به سوبسترا تا ۲ درصد مشاهده شد و پس از آن کاهش یافت. آن‌ها بیان کردند که علت این امر میتواند هیدرولیز بیش از حد پروتئین و رهایش کامل اسیدهای آمینه آبدوست و مختل‌سازی اتصال اسیدهای آمینه فعال با رادیکال آزاد DPPH باشد [۲۳]. استفاده از پیش‌تیمار مایکروویو در هیدرولیز با آنزیم پانکراتین (تیمارهای ۱ و ۲) تاثیر بهبوددهنده‌ای بر فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH داشت. Gui و همکاران (۲۰۲۲) در مطالعه‌ای که بر روی هیدرولیز پروتئین شیر داشتند، تاثیر مثبت پیش‌تیمار مایکروویو با توان ۳۰۰ وات بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH را گزارش کردند [٢٤]. Ketnawa و Liceaga (۲۰۱۷) استفاده از پیش‌تیمار مایکروویو به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ تا ۱۰ دقیقه را بهترین شرایط برای تولید پپتیدهای ماهی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا، گزارش کردند [۱۳]. Esmaeili و Hoseyni (۲۰۲۳) بیان کردند که ۱۰ دقیقه پیش‌تیمار مایکروویو در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد تأثیر مطلوبی بر خواص مهار رادیکال DPPH هیدرولیز پروتئین بلوگا احشایی دارد که میتواند نشان‌دهنده کاربرد این فناوری در فرآیند تولید هیدرولیز پروتئین ماهی باشد [۲۵].

با توجه به شکل ۱، در تیمار ۳ با افزایش زمان و افزایش متغیر نسبت آنزیم به سوبسترا، فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH افزایش یافت. این روند در تیمار ٤ به شکلی بود که با افزایش زمان، بیشترین فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH در نسبت‌های پایین آنزیم به سوبسترا مشاهد شد. پژوهش‌ها نشان داده اند که احتمالاً با پیشرفت فرآیند هیدرولیز پپتیدهای با خواص آنتی‌اکسیدانی بالا از بین می‌روند [۲٦]. در هیدرولیز با آنزیم تریپسین، استفاده از پیش‌تیمار تاثیر بهبوددهنده‌ای بر فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH نداشت. تاثیر منفی اعمال پیش‌تیمار در هیدرولیز با آنزیم تریپسین، میتواند به دلیل تغییر ساختار پروتئین هیدرولیزشده و

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.157.191]

قرارگیری گروه‌های هیدروفوبیک به سمت داخل مولکول پروتئین باشد که باعث کاهش برهمکنش بین آنزیم مورد استفاده و گروه‌های هیدروفوبیک شده و کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی باشد [۲۷].

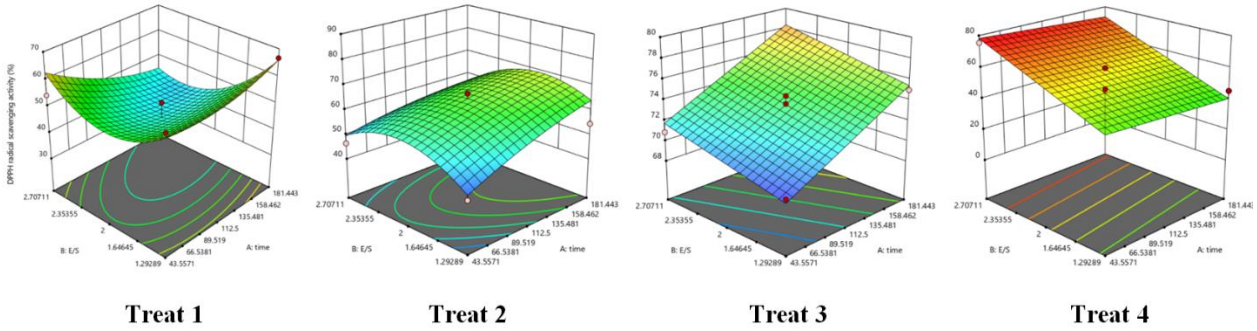

Figure 1- The effect of hydrolysis time, enzyme to substrate ratio and proteases type on DPPH radical scavenging activity of protein hydrolysate

۲-۳-فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن

فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن تیمار ۱ با توجه به شکل ۲، با افزایش زمان و افزایش نسبت آنزیم به سوبسترا تا ۲/۱ درصد افزایش و پس از آن با افزایش نسبت آنزیم به سوبسترا کاهش یافت. در تیمار ۲ بیشترین درصد شلاته‌کنندگی یون آهن در زمان‌های اولیه فرایند و در نسبت‌های آنزیم به سوبسترا بالا مشاهده شد. مشابه با این نتایج، Xie و همکاران (۲۰۰۸)، Klompong و همکاران (۲۰۰۷) و Maqsoodlou و همکاران (۲۰۱۶) به‌ترتیب تاثیر مثبت و بهبوددهنده نسبت آنزیم به سوبسترا را بر فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن پروتئین‌های هیدرولیزشده یونجه، ماهی خط زرد[2] و گرده گل گزارش کردند [۲۹-۲۸-۲۲]. تاثیر پیش‌تیمار مایکروویو برهیدرولیز پروتئین کنجاله بذر کتان با آنزیم پانکراتین بهبوددهنده بود. Gazikalović و همکاران (۲۰۲۳) بیان کردند که پیش‌تیمار مایکروویو به همراه هیدرولیز آنزیمی گلوتن، سبب افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی آن می‌شود [۳۰]. zheng و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که مایکروویو میتواند اثر هیدرولیز آنزیمی بر پروتئین پودر استخوان گاو را بهبود بخشد، و سبب بهبود عملکرد آنتی‌اکسیدانی و طعم پروتئین هیدرولیزشده شود [۳۱].

با توجه به شکل ۲، فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن در تیمار ۳ با افزایش زمان و کاهش نسبت آنزیم به سوبسترا مشاهده شد . در تیمار ٤، با افزایش زمان تا ۱۱۷ دقیقه و افزایش نسبت آنزیم به سوبسترا تا ۲/۲ درصد، فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن افزایش یافت و پس از آن با افزایش زمان و نسبت آنزیم به سوبسترا فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن کاهش یافت. کاهش فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن در اثر افزایش بیش از حد زمان هیدرولیز پروتئین می‌تواند به سبب کاهش بازده وکارایی آنزیم در تولید پپتیدهایی با قابلیت آنتی‌اکسیدانی مناسب به علت آزادسازی ترکیبات بازدارندهٔ آنزیم در مدت زمان هیدرولیز طولانی باشد [۳۲]. Kaveh و همکاران (۲۰۲۲) در هیدرولیز پروتئین دانه‌های شنبلیله مشاهده کردند که، افزایش زمان هیدرولیز تا ۱۵۰ دقیقه ابتدایی باعث افزایش فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن پروتئین هیدرولیزشده شد؛ اما افزایش بیشتر آن تاثیر معنی‌داری بر فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن نداشت [۳۳]. استفاده از پیش‌تیمار مایکروویو در هیدرولیز با آنزیم تریپسین اثر بهبوددهنده ای بر درصد فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن پروتئین هیدرولیزشده داشت. استفاده از پیش‌تیمار مایکروویو قبل از هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌ها سبب بهبود آزادسازی پپتیدهای زیست‌فعال از پروتئین‌ها و بازشدن ساختار سه بعدی پروتئین شده و به افزایش دسترسی آنزیم‌ها

2- Yellowband Wrasse

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.157.191]

به پیوندهای پپتیدی کمک میکند [۳٤].

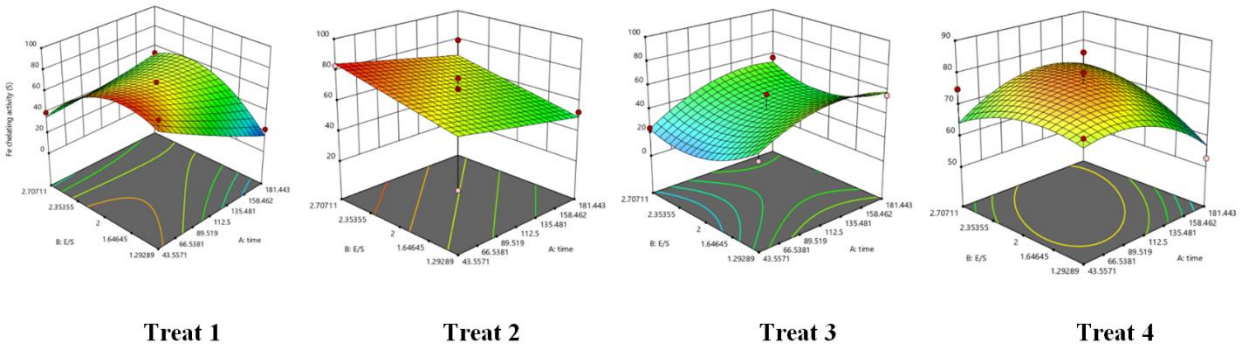

Figure 2- The effect of hydrolysis time, enzyme to substrate ratio and proteases type on Fe^{2+} chelating activity activity of protein hydrolysate

۳-۳-فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل

با توجه به شکل ۳، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل تیمار ۱ با افزایش دو متغیر زمان و نسبت آنزیم به سوبسترا، افزایش یافت. مشابه با این یافته‌ها Mazloumi و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که در هیدرولیز پروتئین دانه پرتقال افزایش زمان هیدرولیز تاثیر مثبتی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل پروتئین‌های هیدرولیز شده داشت و بالاترین ظرفیت آنتی-اکسیدانی کل پس از گذشت ٤/۸ ساعت از هیدرولیز به‌دست آمد [۳۵]. در تیمار ۲، با افزایش زمان تا ۹۰ دقیقه و افزایش نسبت آنزیم به سوبسترا تا ۲/۲ درصد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل افزایش یافت. و پس از آن با افزایش هر دو متغیر، کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل مشاهده شد. پیش‌تیمار مایکروویو تاثیر بهبوددهنده‌ای بر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیزشده با آنزیم پانکراتین داشت. da Rosa و همکاران ۲۰۱۹ بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با پیش‌تیمار مایکروویو در دمای ۸٦ درجه سانتی‌گراد و زمان ۳ دقیقه در هیدرولیز پروتئین برگ زیتون را گزارش کردند [۳٦]. Lin و همکاران (۲۰۱۰) با انجام مطالعه‌ای بر روی روش تهیه پپتیدهای آنتی‌اکسیدانی با هیدرولیز آنزیمی کلاژن استخوان پس از پیش تیمار مایکروویو، افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی را گزارش کردند [۳۷].

در تیمار ۳ بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل با افزایش زمان در نسبت‌های پایین آنزیم به سوبسترا مشاهده شد. افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیزشده به دنبال افزایش زمان هیدرولیز می‌تواند به دلیل تولید پپتیدهای حاوی خواص الکترون‌دهندگی باشد که سبب تبدیل رادیکال‌های آزاد به ترکیباتی پایدارتر می‌شوند که در نتیجه آن باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل می‌شوند [۳۸]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل تیمار ٤ با افزایش زمان تا ۱۰۳ دقیقه و افزایش نسبت آنزیم به سوبسترا تا ۲/۵ درصد افزایش یافت و پس از آن با افزایش زمان کاهش یافت. Kaveh و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی که بر روی هیدرولیز پروتئین شنبلیله انجام دادند، گزارش کردند که افزایش زمان هیدرولیز تا ۱٦۰ دقیقه باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیزشده شد و هیدرولیز بیشتر پروتئین شنبلیله بر روی آنتی‌اکسیدانی کل این نمونه‌ها تاثیر معنی‌دار نداشت [۲۰]. پیش‌تیمار مایکروویو در هیدرولیز پروتئین کنجاله بذر کتان با آنزیم تریپسین اثر بهبوددهنده‌ای بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل داشت. Nguyen و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که استفاده از پیش‌تیمار مایکروویو در هیدرولیز آنزیمی پروتئین ماهی سبب تولید پروتئین هیدرولیزشده با خواص آنتی‌اکسیدانی مناسب میگردد [۳۹].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.157.191]

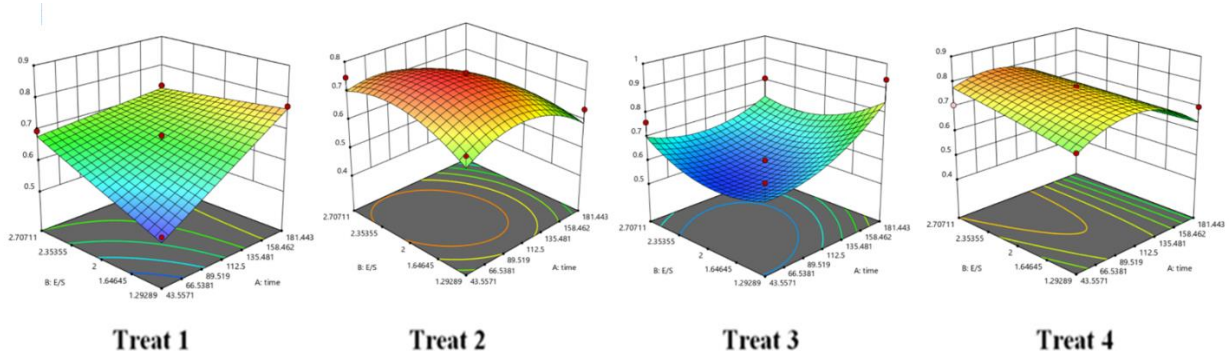

Figure 3- The effect of hydrolysis time, enzyme to substrate ratio and proteases type on total antioxidant capacity of protein hydrolysate

٤-٣-بهینه‌سازی فرآیند هیدرولیز

چهار نقطه بهینه هیدرولیز پروتئین کنجاله بذر کتان (هیدرولیز با پانکراتین بدون پیش‌تیمار (تیمار ۱)، با پانکراتین و پیش‌تیمار (تیمار ۲)، با تریپسین بدون پیش‌تیمار (تیمار ۳) و با تریپسین همراه پیش‌تیمار (تیمار ٤)) توسط نرم‌افزار Design Expert 11 بدست آمد.

Table 2- Examining the variables of time and ratio of enzyme to substrate of optimal treatments of hydrolyzed protein of flax seed meal. Treatment 1 (protein hydrolyzed with pancreatin without pretreatment), treatment 2 (protein hydrolyzed with pancreatin and microwave pretreatment), treatment 3 (protein hydrolyzed with trypsin without pretreatment) and treatment 4 (protein hydrolyzed with trypsin and microwave pretreatment)

Treatment	Hydrolysis time (min)	Enzyme to substrate ratio (%)
1	112.01	2.46
2	44.09	2.19
3	59.26	1.92
4	84.02	1.77

۱-٥-۳- فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

با توجه به شکل ٤، در بین تیمارهای هیدرولیزشده با پانکراتین و تریپسین (با پیش‌تیمار و بدون پیش‌تیمار)، تیمار ۳ (پروتئین هیدرولیزشده با تریپسین) دارای بیشترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH (۷۲/۲۲ ٪) بود. پیش‌تیمار مایکروویو تاثیر معناداری بر افزایش درصد مهار رادیکال آزاد DPPH تیمار هیدرولیزشده با پانکراتین داشت ($p<۰/۰٥$). اما تاثیر پیش‌تیمار بر مهار رادیکال آزاد DPPH در هیدرولیز با آنزیم تریپسین بهبود دهنده نبود. در این راستا مطالعات نشان داده است که مایکروویو می تواند تاثیرات بیولوژیکی و شیمیایی مختلفی برحسب قدرت و زمان اعمال آن بر مولکول‌های زیستی از جمله پروتئین ایجاد کند. اثر منفی پیش تیمار مایکروویو بر فعالیت مهار رادیکال DPPH پروتئین هیدرولیز شده کنجاله بذر کتان می‌تواند به‌دلیل تغییرات نامطلوب در ساختار دوم پروتئین و کاهش میزان ساختار مارپیچ آلفا[3] و ورقه‌ی بتا[4] باشد [٤٠].

3 -α-helix

4 -β-sheet

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.157.191]

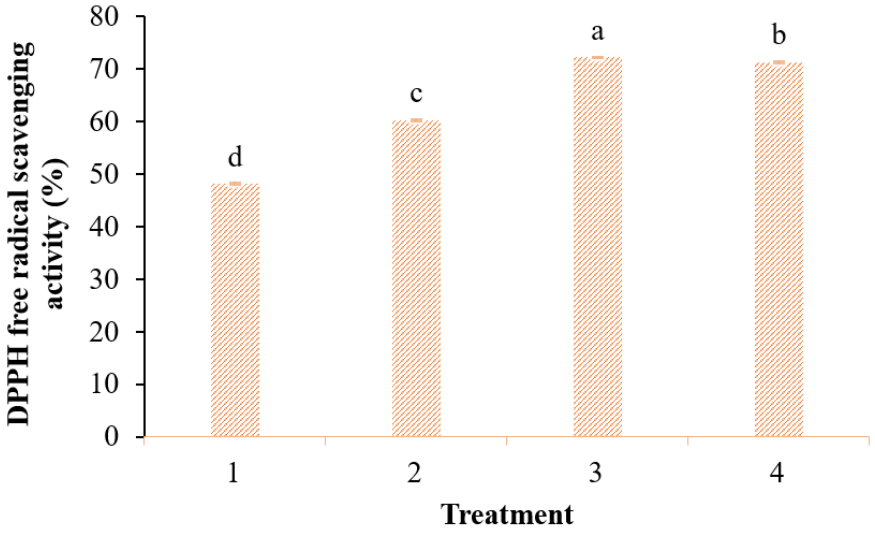

Figure 4- DPPH radical scavenging activity of optimized treatments; Means with the same letters in each column show no significant difference at the 0.05 level. Treatment 1 (protein hydrolyzed with pancreatin without pretreatment), treatment 2 (protein hydrolyzed with pancreatin and microwave pretreatment), treatment 3 (protein hydrolyzed with trypsin without pretreatment) and treatment 4 (protein hydrolyzed with trypsin and microwave pretreatment)

۲-۵-۳-فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن

با توجه به نمودار حاصل از نتایج (شکل ۵)، در بین تیمارهای این پژوهش، بیشترین درصد شلاته‌کنندگی یون آهن (۷۶/۱۲ ٪) مربوط به تیمار ٤ (پروتئین هیدرولیزشده با تریپسین و پیش‌تیمار مایکروویو) بود. تاثیر پیش‌تیمار مایکروویو بر افزایش درصد شلاته‌کنندگی یون آهن در هیدرولیز با هر دو آنزیم معنادار بود ($p<۰/۰۵$). افزایش پتانسیل شلاته‌کنندگی یون آهن پروتئین هیدرولیز شده کنجاله بذر کتان پس از پیش تیمار مایکروویو می‌تواند به‌این دلیل تبخیر آب در سلول‌ها و افزایش فشار در محیط داخلی با اعمال امواج مایکروویو باشد که باعث تجزیه ترکیبات درون سلولی، از هم گسیختگی غشاء و در نتیجه تجزیه آن شده که در نهایت منجر به آسان شدن فرآیند آنزیمولیز پروتئین ها می‌گردد [٤١].

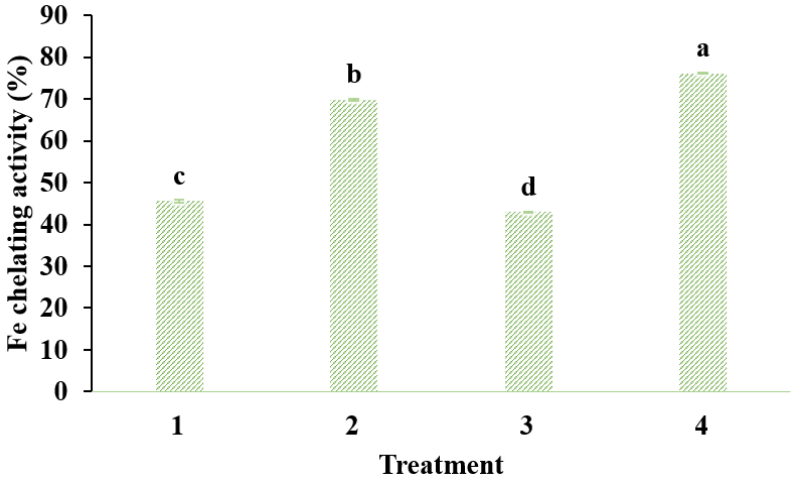

Figure 5. Fe chelating activity of optimized treatments.; Means with the same letters in each column show no significant difference at the 0.05 level. Treatment 1 (protein hydrolyzed with pancreatin without pretreatment), treatment 2 (protein hydrolyzed with pancreatin and microwave pretreatment),

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.157.191]

treatment 3 (protein hydrolyzed with trypsin without pretreatment) and treatment 4 (protein hydrolyzed with trypsin and microwave pretreatment)

۳-۵-۳-فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل

با توجه به شکل ٦، بیشترین جذب آنتی‌اکسیدانی کل (۰/۷٤٥ (جذب در ٦۹٥ نانومتر)) بدست آمده در بین تیمارهای این پژوهش، مربوط به تیمار ٤ (پروتئین هیدرولیزشده با آنزیم پانکراتین و پیش‌تیمار مایکروویو) بود. پیش‌تیمار مایکروویو تاثیر معناداری بر افزایش جذب در اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل تیمارهای هیدرولیز شده با پانکراتین و تریپسین را داشت ($p<۰/۰٥$). افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیز شده تحت تاثیر پیش تیمار مایکروویو احتمالا به‌دلیل تجزیه تجمعات مولکولی پروتئین است که منجر به افزایش حساسیت پیوندهای پپتیدی پروتئین بذر کتان به تجزیه تحت تاثیر پروتئازها گشته است. به‌طور کلی مطالعات نشان داده است که تاثیر مثبت یا منفی پیش تیمر مایکروویو به فاکتورهای زیادی از جمله زمان و توان آن بستگی دارد [٤٠].

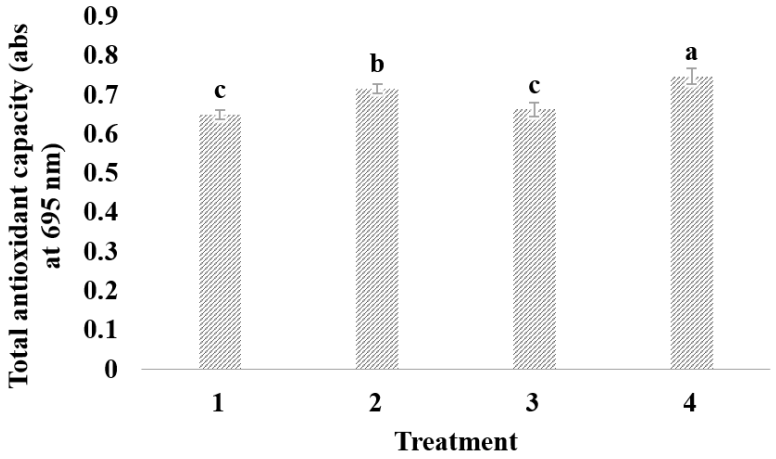

Figure 6. Total antioxidant capacity of optimized treatments: Means with the same letters in each column show no significant difference at the 0.05 level. Treatment 1 (protein hydrolyzed with pancreatin without pretreatment), treatment 2 (protein hydrolyzed with pancreatin and microwave pretreatment), treatment 3 (protein hydrolyzed with trypsin without pretreatment) and treatment 4 (protein hydrolyzed with trypsin and microwave pretreatment)

٤-نتیجه‌گیری

در این پژوهش، پروتئین کنجاله بذر کتان با استفاده از دو آنزیم پروتئازی تریپسین و پانکراتین و هر آنزیم با دو تیمار "با پیش‌تیمار" و "بدون پیش‌تیمار"، با دو متغیر زمان (۱٥-۲۱۰ دقیقه) و نسبت آنزیم به سوبسترا (۱-۳ ٪) هیدرولیز شد. و تاثیر پیش‌تیمار مایکروویو بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی (شلاته‌کنندگی یون آهن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل و مهار رادیکال آزاد DPPH) هر چهار تیمار این پژوهش، بررسی شد. طبق نتایج بدست آمده از آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی تیمارها و بررسی آن با روش سطح پاسخ به کمک نرم افزار Design Expert 11، تیمار پروتئین هیدرولیزشده با آنزیم تریپسین و پیش‌تیمار مایکروویو، با بالاترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل ۰/۷٤٥ (جذب در ٦۹٥ نانومتر)، فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH ۷۱/۳٥ ٪ و فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن ۷٦/۱۲ ٪، به عنوان تیمار بهینه انتخاب شد. نرم افزار شرایط بهینه جهت تولید تیمار با بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی زمان هیدرولیز ۸٤/۰۲ دقیقه و نسبت آنزیم به سوبسترا ۱/۷۷ ٪ تعیین شد. بنابراین با توجه به قابلیت آنتی اکسیدانی قابل توجه پروتئین هیدرولیزشده کنجاله بذر کتان به‌عنوان یک محصول با ارزش افزوده قابلیت

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.157.191]

کاربرد به عنوان یک ترکیب سلامتی بخش برای غنی‌سازی فرمولاسیون‌های غذایی و مکمل‌های ورزشکاران را دارد.

۵- منابع

[1] Kaveh, S., Gholamhosseinpour, A., Hashemi, S. M. B., Jafarpour, D., Castagnini, J. M., Phimolsiripol, Y., & Barba, F. J. (2023). Recent advances in ultrasound application in fermented and non-fermented dairy products: antibacterial and bi

[2] Sadeghi Mahoonak, A. R., & Kaveh, S. (2022). Assessment of ACE-inhibitory and Antioxidant Activities of the Peptide Fragments from Pumpkin Seeds. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, *17*(3), 45-56.

[3] Kaveh, S., Sadeghi Mahoonak, A., Ghorbani, M. Jafari, M & Sarabandi, K. (2019). Optimization of Production of antioxidant peptides using enzymatic hydrolysis of fenugreek seed. *Journal of food science and technology (Iran)*, *15*(84), 75-88.

[4] Mueed, A., Shibli, S., Korma, S. A., Madjirebaye, P., Esatbeyoglu, T., & Deng, Z. (2022). Flaxseed bioactive compounds: Chemical composition, functional properties, food applications and health benefits-related gut microbes. *Foods*, *11*(20), 3307.

[5] Rezazadeh-Bari, M., Najafi-Darmian, Y., Alizadeh, M., & Amiri, S. (2019). Numerical optimization of probiotic Ayran production based on whey containing transglutaminase and Aloe vera gel. *Journal of food science and technology*, *56*, 3502-3512.

[6] Pisoschi, A. M., & Negulescu, G. P. (2011). Methods for total antioxidant activity determination: a review. *Biochem Anal Biochem*, *1*(1), 106.

[7] Kaveh, S., Mahoonak, A. S., Erfanimoghadam, V., Ghorbani, M., Gholamhosseinpour, A., & Reisi, M. (2023). Evaluation the antioxidant properties of purified bioactive peptides from the wastes of skipjack fish (Katsuwonus pelamis) processing, by pepsin and trypsin digestive enzymes.

[8] Chalamaiah, M., Yu, W., & Wu, J. (2018). Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: A review. *Food chemistry*, *245*, 205-222.

[9] Accardo, A., & Morelli, G. (2015). Review peptide-targeted liposomes for selective drug delivery: Advantages and problematic issues. *Peptide Science*, *104*(5), 462-479.

[10] Zambrowicz, A., Timmer, M., Polanowski, A., Lubec, G., & Trziszka, T. (2013). Manufacturing of peptides exhibiting biological activity. *Amino acids*, *44*, 315-320.

[11] Adebiyi, A. P., Adebiyi, A. O., Ogawa, T., & Muramoto, K. (2008). Purification and characterisation of antioxidative peptides from unfractionated rice bran protein hydrolysates. *International journal of food science & technology*, *43*(1), 35-43.

[12] Gohi, B. F. C. A., Du, J., Zeng, H. Y., Cao, X. J., & Zou, K. M. (2019). Microwave pretreatment and enzymolysis optimization of the Lotus seed protein. *Bioengineering*, *6*(2), 28.

[13] Ketnawa, S., & Liceaga, A. M. (2017). Effect of microwave treatments on antioxidant activity and antigenicity of fish frame protein hydrolysates. *Food and bioprocess technology*, *10*, 582-591.

[14] Wang, S., Xu, X., Wang, S., Wang, J., & Peng, W. (2022). Effects of microwave treatment on structure, functional properties and antioxidant activities of germinated tartary buckwheat protein. *Foods*, *11*(10), 1373.

[15] Feyzi, S., Varidi, M., Zare, F. and Varidi, M.J., 2018. Effect of drying methods on the structure, thermo and functional properties of fenugreek (Trigonella foenum graecum) protein isolate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *98*(5), pp.1880-1888.

[16] Adjonu, R., Doran, G., Torley, P. and Agboola, S., 2014. Whey protein peptides as components of nanoemulsions: A review of emulsifying and biological functionalities. *Journal of Food Engineering*, *122*, pp.15-27.

[17] Kruger, N.J., 2009. The Bradford method for protein quantitation. *The protein protocols handbook*, pp.17-24.

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

[19] Jamdar, S.N., Rajalakshmi, V., Pednekar, M.D., Juan, F., Yardi, V. and Sharma, A. (2010). Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.157.191]

ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 121: 178–184.

[20] Kaveh, S., Sadeghi Mahoonak, A., Ghorbani, M., Jafari, M. and Sarabandi, K. (2019). Optimization of factors affecting the antioxidant activity of fenugreek seed's protein hydrolysate by response surface methodology. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, *14*(1).

[21] Alvand, M., Sadeghi Mahoonak, A., Ghorbani, M., Shahiri Tabarestani, H. and Kaveh, S., 2022. Comparison of the Antioxidant Properties of Hydrolyzed Turkmen Melon Seed Protein by Pancreatin and Alcalase. Food Engineering Research, 21(2), pp.75-90.

[22] Maqsoodlou, A. Sadeghi Mahonek, A. Mohebuddini, H. 2016. Investigating the antioxidant properties of bee pollen hydrolyzed protein. Iran Journal of Food Sciences and Industries, 14(73), 240-227.

[23] Xue, W., Xing, Y., Weng, X., Zhao, Y., Tang, W., Wang, L., ... & Zhang, Q. (2008). Natural variation in Ghd7 is an important regulator of heading date and yield potential in rice. Nature genetics, 40(6), 761-767.

[24] Cui, L., Yang, G., Lu, S., Zeng, X., He, J., Guo, Y., ... & Wu, Z. (2022). Antioxidant peptides derived from hydrolyzed milk proteins by Lactobacillus strains: A BIOPEP-UWM database-based analysis. *Food Research International*, *156*, 111339.

[25] Esmaeili Kharyeki, M., & Hoseyni, S. M. (2023). The effect of microwave pretreatment on degree of hydrolysis and antioxidant activity of Beluga (Huso huso) viscera protein hydrolysate. *Journal of food science and technology (Iran)*, *19*(133), 155-165.

[26] Meshginfar, N., Sadeghi Mahonak, A., Ghorbani, M., Ziaiefar, A., Kashaninejad, K. 2014. Optimizing the production of hydrolyzed protein from by-products of the meat industry using the response surface method. Food Industry Research, 24(2), 225-215.

[27] Jiang, L., Wang, J., Li, Y., Wang, Z., Liang, J., Wang, R., Chen, Y., Ma, W., Qi, B. and Zhang, M., 2014. Effects of ultrasound on the structure and physical properties of black bean protein isolates. Food Research International, 62, pp.595-601.

[28] Xie, Z., Huang, J., Xu, X. and Jin, Z., 2008. Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate. Food chemistry, 111(2), pp.370-376.

[29] Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D. and Shahidi, F., 2007. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (Selaroides leptolepis) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. Food chemistry, 102(4), pp.1317-1327.

[30] Gazikalović, I., Mijalković, J., Šekuljica, N., Jakovetić Tanasković, S., Đukić Vuković, A., Mojović, L., & Knežević-Jugović, Z. (2021). Synergistic effect of enzyme hydrolysis and microwave reactor pretreatment as an efficient procedure for gluten content reduction. *Foods*, *10*(9), 2214.

[31] Zheng, B., Teng, L., Xing, G., Bi, Y., Yang, S., Hao, F., ... & Xie, J. (2015). Proliposomes containing a bile salt for oral delivery of Ginkgo biloba extract: formulation optimization, characterization, oral bioavailability and tissue distribution in rats. European journal of pharmaceutical sciences, 77, 254-264.

[32] Ovissipour, M., Abedian, A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R. and Shahiri, H., 2009. The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (Acipenser persicus) viscera. Food Chemistry, 115(1), pp.238-242.

[33] Kaveh, S., Mahoonak, A. S., Ghorbani, M., & Jafari, S. M. (2022). Fenugreek seed (Trigonella foenum graecum) protein hydrolysate loaded in nanosized liposomes: Characteristic, storage stability, controlled release and retention of antioxidant activity. Industrial Crops and Products, 182, 114908.

[34] Uluko, H., Zhang, S., Liu, L., Tsakama, M., Lu, J., & Lv, J. (2015). Effects of thermal, microwave, and ultrasound pretreatments on antioxidative capacity of enzymatic milk protein concentrate hydrolysates. *Journal of Functional Foods*, *18*, 1138-1146.

[35] Mazloumi, S. N., Sa Sadeghi Mahonek, A., Ghorbani, M., Houshmand, G. 2018. Determining the optimal conditions for the production of antioxidant peptides obtained from the hydrolysis of orange core protein with alcalase enzyme. Iranian journal of food science and industry. 16(88), 343-356.

[36] da Rosa, G. S., Vanga, S. K., Gariepy, Y., & Raghavan, V. (2019). Comparison of microwave, ultrasonic and conventional techniques for extraction of bioactive compounds from olive leaves (Olea europaea L.). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *58*, 102234.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.157.191]

[37] Lin, Y. J., Le, G. W., Wang, J. Y., Li, Y. X., Shi, Y. H., & Sun, J. (2010). Antioxidative peptides derived from enzyme hydrolysis of bone collagen after microwave assisted acid pre-treatment and nitrogen protection. *International Journal of Molecular Sciences*, *11*(11), 4297-4308.

[38] Arabshahi-Delouee, S., & Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (Morus indica L.) leaves. *Food chemistry*, *102*(4), 1233-1240.

[39] Nguyen, E., Jones, O., Kim, Y. H. B., San Martin-Gonzalez, F., & Liceaga, A. M. (2017). Impact of microwave-assisted enzymatic hydrolysis on functional and antioxidant properties of rainbow trout Oncorhynchus mykiss by-products. *Fisheries science*, *83*, 317-331.

[40] Gohi, B. F. C. A., Du, J., Zeng, H. Y., Cao, X. J., & Zou, K. M. (2019). Microwave pretreatment and enzymolysis optimization of the Lotus seed protein. *Bioengineering*, *6*(2), 28.

[41] Bakhshabadi, H., Mirzaei, H., Ghodsvali, A., Jafari, S. M., Ziaiifar, A. M., & Farzaneh, V. (2017). The effect of microwave pretreatment on some physico-chemical properties and bioactivity of Black cumin seeds' oil. *Industrial crops and products*, *97*, 1-9.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.157.191]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Production of bioactive peptides from flaxseed meal: the effect of protease type and concentration, hydrolysis time, and microwave pretreatment

Faezeh Farzanfar[1], Alireza Sadeghi Mahoonak[2*], Mohammad Ghorbani[3], Seyed Hossein Hosseini Qaboos[4], Shima Kaveh[5]

1- Master's student in food chemistry, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

2-Professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

3- Professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

4-Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Azadshahr branch

5-Ph.D. of Food Chemistry, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

ARTICLE INFO

Article History:
Received:2024/5/20
Accepted:2024/6/26

Keywords:

antioxidant,

microwave pretreatment,

trypsin,

flax,

enzymatic hydrolysis

DOI: 10.22034/FSCT.21.157.191.

*Corresponding Author E-Sadeghiaz@yahoo.com

ABSTRACT

Every year, during the processing of agricultural products and food production, many waste materials and by-products are produced. Most of these by-products have bioactive properties, such as antioxidants, which can be extracted to produce products with bioactive properties. In the present study, flaxseed meal, which is obtained as a byproduct of the oil extraction process from flaxseed, was hydrolyzed using two enzymes, trypsin, and pancreatin, with time (15-210 minutes) and enzyme-to-substrate ratio (1-3%) variables. The effect of microwave pretreatment on the antioxidant properties of hydrolyzed protein was investigated by the response surface methodology. Treatment of hydrolyzed protein with trypsin and microwave pretreatment in optimal hydrolysis conditions of 84.02 minutes and enzyme to substrate ratio1.77%, as the optimal treatment with the most antioxidant properties (total antioxidant activity 0.745 (absorbance at 695 nm), DPPH radical scavenging activity of 71.35% and 76.12% Fe chelating activity) were selected. As a result, flaxseed protein hydrolysate, a bioactive product with antioxidant properties, can be used as a natural antioxidant in producing health products and nutritional supplements for athletes.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-05]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.157.191]