



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی ویژگی‌های عملکردی و آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌هایدرولیز شده از دانه چیا تحت تأثیر زمان هیدرولیز و نوع آنزیم

سحر عبدالهی^۱، پیمان آریایی^{۱*}، سید ابراهیم حسینی^۲، مهرو اسماعیلی^۱، رویا باقری^۱

۱-گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

۲-گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

دانه‌های چیا (*Salvia hispanica*) به عنوان منبعی غنی از پروتئین و ترکیبات زیست‌فعال، تأثیرات مثبتی بر سلامت انسان دارند. هیدرولیز آنزیمی این پروتئین‌ها می‌تواند ویژگی‌های عملکردی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها را بهبود بخشد. در این پژوهش، تأثیر نوع آنزیم‌ها بر تولید پروتئین‌های هیدرولیز شده از دانه چیا با خصوصیات عملکردی مطلوب و آنتی‌اکسیدانی بالا مورد بررسی قرار خواهد گرفت. پروتئین هیدرولیز شده از دانه چیا با استفاده از آنزیم‌های پروتامکس و بروملین در مدت زمان ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه، در دما و pH بهینه (۵۰ درجه سانتی‌گراد و pH ۷) تولید شد. سپس پارامترهای حلالیت، کف‌کنندگی و امولسیون، به همراه فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH و قدرت احیاکنندگی آهن پروتئین‌های هیدرولیز شده مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش زمان هیدرولیز و استفاده از آنزیم پروتامکس تأثیر قابل توجهی بر درجه هیدرولیز و مقادیر پروتئین‌های دانه چیا داشته است. در زمان ۹۰ دقیقه، بالاترین مقادیر درجه هیدرولیز (۴۰/۲۳٪) و پروتئین (۹۰/۷۰٪) مشاهده شد ($p < 0.05$)، که نشان‌دهنده کارایی بالای این آنزیم در فرآیند هیدرولیز است. این شرایط همچنین منجر به بهبود ویژگی‌های عملکردی، از جمله حلالیت، امولسیون و کف‌کنندگی پروتئین‌ها گردید، علاوه بر این، این هیدرولیز باعث افزایش قابل توجهی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی، از جمله مهارکنندگی رادیکال DPPH و شلاته‌کنندگی یون آهن گردید. نتایج نشان داد که آنزیم‌های مختلف روی یک سوبسترا اثرات متفاوتی اعمال می‌کنند و اصلاح آنزیمی پروتئین دانه چیا منجر به ایجاد یک منبع طبیعی آنتی‌اکسیدانی می‌شود که پتانسیل بالایی برای کاربرد در صنایع غذایی و دارویی، دارد.

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۱۱

کلمات کلیدی:

بروملین،

پروتامکس،

پروتئین گیاهی،

پپتید زیست‌فعال،

درجه هیدرولیز،

دانه چیا

DOI: 10.48311/fsct.2025.83917.0.

* مسئول مکاتبات:

p.aryaye@yahoo.com

۱- مقدمه

است و شامل تمامی اسیدهای آمینه ضروری، از جمله گلوتامیک اسید، آرژنین، آسپارتیک اسید، آلانین، فنیل آلانین، لوسین و سرین می‌شود. ترکیبات آمینواسیدی موجود در دانه‌های چیا، به ویژه آرژنین، آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید، نقش مهمی در بهبود عملکرد پروتئینی دارند و این دانه‌ها را قادر می‌سازند تا پپتیدهای بیواکتیو تولید کنند که اثرات مثبتی بر سلامت انسان دارند [۷، ۸، ۹]. علاوه بر این، پروتئین‌های هیدرولیز شده چیا به عنوان یک ماده مؤثر عملکردی در انواع محصولات غذایی شناخته می‌شوند و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی مورد توجه قرار گرفته‌اند [۷]. با توجه به غنی بودن دانه چیا از نظر ترکیب اسیدهای آمینه، این تحقیق به بررسی این گیاه به عنوان یک منبع پروتئینی مناسب برای هیدرولیز آنزیمی پرداخته است. هدف اصلی پژوهش، تحلیل ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکردی پروتئین‌های هیدرولیز شده از دانه چیا و جنبه‌های سلامت‌بخشی آنهاست، در حالی که اطلاعات جامع در رابطه با ویژگی‌های عملکردی و آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیز شده دانه چیا در دسترس نیست. این پژوهش همچنین به بررسی تأثیر آنزیم‌های مختلف و ترکیب آنها در تولید پروتئین‌های هیدرولیز شده با ویژگی‌های عملکردی و ضداکسایشی مناسب می‌پردازد.

۲- مواد و روش

۲-۱- مواد اولیه

دانه چیا با نام علمی (*Salvia hispanica* L.) از شرکت مواد غذایی کیان تهیه شد. آنزیم‌های پروتامکس (گرفته شده از باکتری *Bacillus subtilis*) و بروملین (گرفته شده از میوه آناناس) از نمایندگی شرکت شرکت نوواژیم (دانمارک) در ایران، استاندارد اسیدهای آمینه معرف فولین سیوکالتیو و رادیکال‌های آزاد ۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما آلدריך آمریکا تهیه گردید. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده با خلوص آزمایشگاهی و تولیدی شرکت‌های مرک آلمان و سیگما آلدריך آمریکا بودند.

در سال‌های اخیر، غذا نه تنها به عنوان منبعی از انرژی و ترکیبات اساسی برای رشد و سلامت بدن، بلکه به عنوان منبعی از ترکیبات زیست‌فعال با تأثیرات مثبت نیز شناخته می‌شود. پپتیدهای زیست‌فعال که به عنوان ترکیبات عملکردی در مواد غذایی، در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته‌اند. این ترکیبات، به ویژه قطعات کوچک پروتئینی، دارای اثرات بیولوژیکی قابل توجهی هستند و در طی فرایندهای هضم یا هیدرولیز پروتئین، تولید می‌شوند و می‌توانند به بهبود سلامت و عملکرد بدن کمک کنند [۱، ۲]. این پپتیدها به روش‌های مختلفی تولید می‌شوند، از جمله سنتز شیمیایی، تخمیر میکروبی و هیدرولیز آنزیمی [۳]. فرآیند هیدرولیز آنزیمی، یک فرایند پیچیده است و نیاز به مطالعات اولیه متعدد برای درک بهتر و توسعه یک فرایند آنزیمی مؤثر دارد. پارامترهای این فرایند شامل دما، pH، نسبت آنزیم به سوبستر و زمان پردازش باید به دقت انتخاب شوند، زیرا هر یک از این عوامل بر فعالیت پروتئاز و رفتار سوبسترا تأثیرگذار هستند [۴]. از آنزیم‌های مهم مورد استفاده در هیدرولیز پروتئین می‌توان به پروتامکس و بروملین اشاره کرد. پروتامکس، پروتئازی است که از باکتری *Bacillus subtilis* استخراج می‌شود و به دلیل توانایی‌اش در تولید پروتئین با درجه هیدرولیز بالا در زمان کوتاه و تلخی کمتر نسبت به سایر آنزیم‌ها، به طور گسترده‌ای کاربرد دارد. بروملین نیز عمدتاً از ساقه‌های آناناس و برخی میوه‌های خانواده بروملیاسه به دست می‌آید و شامل ترکیبی از آنزیم‌های پروتئولیتیک است که قابلیت هضم پروتئین‌های متابولیزه را دارند [۳، ۵، ۶].

چیا (*Salvia hispanica* L.) گیاهی یکساله از سرده مریم‌گلی و خانواده نعنائیان است که به عنوان یک منبع غذایی با ارزش شناخته می‌شود. دانه‌های چیا سرشار از پروتئین، آنتی‌اکسیدان‌ها، فیبر غذایی، ویتامین‌ها و مواد معدنی هستند [۷، ۸]. میزان پروتئین دانه‌های چیا بین ۱۵ تا ۲۴ درصد متغیر

۲-۴- درجه هیدرولیز

درجه هیدرولیز به کمک تری کلرواستیک اسید^۱ ۲۰ درصد (حجمی/حجمی) اندازه‌گیری شد. مبنای این روش اندازه‌گیری، درصد نسبت پروتئین‌های محلول در تری کلرواستیک اسید به کل پروتئین‌های موجود در نمونه حاصل از سانتریفیوژ پس از هیدرولیز است. بدین منظور حجم مساوی از محلول پروتئینی جدا شده با محلول تری کلرواستیک اسید مخلوط شده و پس از هم زدن در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه (۶۷۰۰×g) سانتریفیوژ شدند. در این روش ایجاد کمپلکس رنگی و شدت رنگ ایجاد شده بستگی به غلظت پروتئینی موجود در نمونه دارد. میزان درجه هیدرولیز از طریق معادله زیر محاسبه شد [۱۲].

معادله ۱:

$$\times 10^4 (\text{نیروژن کل در نمونه هیدرولیز شده}) / (\text{میزان نیروژن محلول در محلول تری کلرواستیک-اسید } 10 \text{ درصد}) = \text{درجه هیدرولیز (درصد)}$$

۲-۵- ترکیب اسید آمینه

به منظور ترکیب اسید آمینه پودر پروتئین هیدرولیز شده، نمونه پروتئینی ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و با استفاده از اسید هیدروکلریک ۶ مولار کاملاً هیدرولیز شد. سپس اسیدهای آمینه موجود با افزودن فنیل ایزوتیوسیانات (PITC) مشتق‌سازی شدند. میزان اسیدهای آمینه کل با استفاده از دستگاه HPLC مدل Smart line (ساخت آلمان) مجهز به ستون C18 و آشکارساز فلورسنت (RF-530) اندازه‌گیری گردید [۲].

۲-۶- فعالیت آنتی اکسیدانی

برای فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، ۱ میلی‌لیتر از تیمارهای مختلف پروتئین هیدرولیز شده به‌طور جداگانه با ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH

۲-۲- چربی‌گیری از دانه

۲۰۰ گرم دانه چیا خشک شد، آسیاب و سپس با حلال هگزان به نسبت ۱:۱۰ (حجمی-وزنی) مخلوط و به مدت ۴ ساعت توسط شیکر با سرعت ۴۴۰ دور در دقیقه هم‌زده شد. در ادامه حلال باقی مانده به وسیله آون تحت خلا و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت از آن جدا گردید. سپس پودر حاصل از الک با مش ۴۰ عبور داده شد [۱۰].

۲-۳- هیدرولیز پروتئین دانه چیا

بررسی محتوای پروتئینی نمونه‌های دانه چیا از طریق روش کلدال انجام شد. در این روش، ابتدا نمونه‌ها تحت هضم قرار گرفتند و سپس با استفاده از تیتراسیون، مقدار ازت کل در نمونه‌ها تعیین شد. در نهایت، با استفاده از ضریب تبدیل ۶/۲۵ مقدار کل پروتئین موجود در فاز آبی نمونه‌ها محاسبه گردید [۱۱]. برای هیدرولیز پروتئین دانه چیا، پروتئین با غلظت ۰/۴٪ (وزنی/حجمی) در بافر فسفات ۷ (pH بهینه) برای آنزیم‌های بروملین و پروتامکس تهیه شد. هیدرولیز در دمای بهینه ۵۰ درجه سانتی‌گراد، با غلظت آنزیم ۱٪ و محدوده زمانی ۱۰ دقیقه تا ۱ ساعت در انکوباتور شیکردار (V-8480، کره جنوبی) با ۲۰۰ دور بر دقیقه انجام شد. برای غیرفعال کردن فعالیت آنزیم‌ها، محلول پروتئین در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. سپس، محلول با نیروی گریز از مرکز ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. برای تولید پودر پروتئین هیدرولیز شده، سوپرناتانت حاصل در دستگاه خشک‌کن انجمادی (FDB Operon ۵۵۰۹، کره جنوبی) در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، فشار ۴۰ میلی‌بار و زمان ۴۸ ساعت خشک شد. پودر پروتئین هیدرولیز شده تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۶].

اضافه و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در اتاق تاریک قرار داده و سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ nm در مقابل شاهد خوانده شد [۱۳].

معادله ۱:

$$100 \times (\text{جذب شاهد} / \text{جذب شاهد-جذب نمونه}) =$$

درصد مهار رادیکال آزاد DPPH

در این پژوهش، قدرت احیا کنندگی فریک (FRAP) با استفاده از روش Gulcin (۲۰۲۰) اندازه‌گیری شد. ابتدا، ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه محلول با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار (pH 6.6) و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول فریک سیانید پتاسیم ۱ درصد ترکیب شد. این مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه در انکوباتور ۵۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس، ۲/۵ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک ۱۰ درصد به آن افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت، ۲/۵ میلی‌لیتر از لایه بالایی محلول با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول فریک کلرید ۰/۱ درصد ترکیب شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط قرار گرفت. جذب محلول در طول موج ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد تا قدرت احیا کنندگی فریک نمونه مشخص شود [۱۳].

۷-۲- اندازه‌گیری خصوصیات عملکردی پروتئین هیدرولیز شده دانه چیا

۲-۷-۱- حلالیت

حلالیت پروتئین هیدرولیز شده با استفاده از روش Bera و Mukherjee (۱۹۸۹) انجام شد. یک گرم نمونه را در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول آب مخلوط کرده و با استفاده از سود و اسید ۰/۱ نرمال pH آن را به ۲-۱۰ تنظیم کرده و سپس به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق مخلوط کرده و سپس به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰ سانتریفیوژ انجام شده و محتوای نیتروژن در سوپرناتانت نمونه با استفاده از روش کلدال تعیین شد و درصد پروتئین قابل حل با استفاده از معادله (۵) محاسبه شد [۱۴].

معادله ۳:

$$100 \times (\text{گرم وزن نمونه اولیه} / \text{گرم وزن آب ماده جامد محلول در سوپرناتانت}) = \text{اندیس حلالیت در آب}$$

۲-۷-۲- ظرفیت و پایداری امولسیون کنندگی

به ۳ گرم نمونه، ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۵۰ میلی‌لیتر روغن کلزا اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه با هموژنایزر (APU500b، دیلکوفنور، ایران) هموژنیزه شد سپس به مقدار مساوی در ۴ لوله آزمایش تقسیم گردید و با سانتریفیوژ با دور ۲۰۰۰g به مدت زمان ۵ دقیقه سانتریفیوژ (بهداد، ایران) شد EC طبق معادله (۶) زیر گزارش شد [۱۵].

معادله ۴:

حجم کل / حجم قسمت امولسیفیه شده = EC (%)
۱۰ میلی‌لیتر روغن گیاهی کلزا با ۳۰ میلی‌لیتر محلول پروتئینی ۱ درصد مخلوط شد و pH آنها در پنج pH متفاوت ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ تنظیم شد سپس با هموژنایزر با سرعت ۲۰۰۰rpm به مدت یک دقیقه هموژنیزه شد سپس با میکروسمپلر ۵۰ میکرولیتر از قسمت مایع ته لوله برداشته که این عمل در زمان‌های $t=0'$ و $t=10'$ انجام گرفت. سپس نمونه‌های به دست آمده در زمان‌های صفر و ده دقیقه با ۵ میلی‌لیتر سدیم دودسیل سولفات ۱٪ مخلوط شد و جذب محلول رقیق شده با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانده شد [۱۵].

معادله ۵:

$$ESI = A_0 \times \Delta t / \Delta A$$

$$\Delta A = A_0 - A_{10}, \quad \Delta t = 10 \text{ min}$$

۲-۷-۳- اندازه‌گیری ظرفیت و پایداری کف کنندگی

برای اندازه‌گیری ظرفیت کف کنندگی ۲۰ میلی‌لیتر محلول‌های پروتئینی با pH ۸-۵ تهیه شد و در استولنه مدرج ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد. سپس به مدت یک دقیقه با هموژنایزر با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه هم زده شد. حجم مخلوط نهایی قرائت شد. درصد افزایش حجم در زمان صفر نسبت به حجم اولیه به عنوان ظرفیت کف کنندگی در نظر گرفته شد (معادله ۶) [۱۶].

معادله ۶:

می‌کند و هیدرولیز آنزیمی به‌عنوان یک روش مؤثر برای بهبود کیفیت و افزایش محتوای پروتئین آن شناخته می‌شود، به‌طوری‌که نتایج نشان می‌دهد با استفاده از این فرآیند، پتانسیل دانه چیا به‌طرز چشمگیری افزایش می‌یابد [۴].

۳-۲-درجه هیدرولیز

نتایج مطالعه نشان می‌دهد که نوع آنزیم و مدت زمان هیدرولیز تأثیر معنی‌داری بر افزایش درجه هیدرولیز (جدول ۱) دارند ($P < 0.05$). این درجه به‌طور مداوم با استفاده از هر دو آنزیم افزایش می‌یابد و زمان فرآیند نیز تأثیر مهمی بر این روند دارد. افزایش درجه هیدرولیز منجر به کاهش طول زنجیره‌های پپتیدی و توزیع وزن مولکولی می‌شود، که به نوبه خود شکستن باندهای پپتیدی و افزایش میزان آمینو اسیدهای آزاد را به همراه دارد. این نتایج همچنین در مطالعات Shahosseini و همکاران (۲۰۲۲) و Rashidi و همکاران (۲۰۲۴) تأیید شده است [۱، ۶]. بر اساس یافته‌های پیشین، آنزیم‌های تجاری میکروبی، مانند پروتامکس، می‌توانند کارایی هیدرولیز را به شکل قابل توجهی افزایش دهند. برعکس، آنزیم‌های پروتئولیتیک گیاهی، نظیر بروملین، معمولاً کارایی کمتری در هیدرولیز نشان می‌دهند [۵]. آنزیم پروتامکس که از باکتری *Bacillus subtilis* به‌دست می‌آید، به‌عنوان یک آنزیم پروتئولیتیک پرکاربرد در صنایع غذایی شناخته می‌شود. این آنزیم به دلیل توانایی‌اش در تجزیه سریع پروتئین‌ها و تولید پپتیدهای کوچک با درجه هیدرولیز بالا، به‌ویژه در زمان‌های کوتاه و با حداقل تلخی، محبوبیت زیادی دارد. پروتامکس در فرآیندهای هیدرولیز پروتئین به‌کار می‌رود و می‌تواند به بهبود ویژگی‌های حسی و تغذیه‌ای محصولات غذایی کمک کند [۴، ۶]. Rashidi و همکاران (۲۰۲۴) نتایج مشابهی در مورد درجه هیدرولیزاسیون پروتئین هیدرولیز شده شبدر توسط آنزیم‌های پروتامکس و بروملین گزارش کردند. آنها دریافتند که با افزایش زمان

حجم نمونه قبل تشکیل کف / حجم نمونه در زمان‌های مختلف بعد از تشکیل کف - حجم نمونه قبل تشکیل کف = ظرفیت کف کنندگی (%)

برای محاسبه میزان پایداری کف، حجم کف در زمان‌های ۰/۵، ۱۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه بعد از تشکیل کف قرائت شد. سپس با استفاده از رابطه بالا، درصد حجم کف باقی‌مانده در هر یک از زمان‌های مذکور به عنوان شاخص پایداری کف گزارش شد [۱۶]. (معادله ۷)

۱۰۰ × (حجم کف بلافاصله پس از زده شدن / حجم کف پس از ۶۰ دقیقه) = پایداری کف

۲-۸-ارزیابی آماری

آزمایش‌ها در سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۸ انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن (One way Anova) با سطح احتمال خطای ۵٪ انجام شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 انجام پذیرفت.

۳-نتایج و بحث

۳-۱-میزان پروتئین

میزان پروتئین اولیه دانه چیا برابر با 18.29 ± 0.35 درصد و میزان پروتئین دانه چیا پس از چربی‌زدایی برابر با 35.1 ± 0.96 درصد بوده است که مشابه مقادیر پروتئین آرد سویا است در تغذیه دام و انسان به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱۷]. نتایج به‌دست‌آمده با یافته‌های Villanueva-Lazo و همکاران (۲۰۲۱) در خصوص مقادیر پروتئین چربی‌زدایی‌شده دانه چیا با استفاده از هگزان تقریباً هم‌خوانی دارد؛ به‌طوری‌که در مطالعه آن‌ها، مقدار پروتئین 34.95 ± 0.95 گزارش شده است [۷]. مقادیر پروتئین (جدول ۱) در تیمارهای مختلف بین $70.96 - 96.58$ ٪ متغیر بوده که نشان‌دهنده محتوای بالای پروتئین در هیدرولیزات دانه چیا است. محتوای بالای پروتئین در هیدرولیزات دانه چیا، این دانه را به یک منبع غذایی مفید در فرآورده‌های غذایی تبدیل

نگهداری، درجه هیدرولیز افزایش می‌یابد و درجه هیدرولیز بالاتر توسط آنزیم پروتامکس مشاهده شد [۶].

Table 1. Effect of enzyme hydrolysis type and time of protein hydrolyzed on protein content, degree of hydrolysis

Enzyme		Protein content (%)	Degree of hydrolysis (%)
Type	Time (min)		
Protamax	30	80.21±1.52 ^c	20.55±0.78 ^e
	60	90.17±0.32 ^b	30.63±0.81 ^e
	90	96.58±0.16 ^a	40.23±0.28 ^a
Bromelain	30	70.96±1.35 ^d	18.14±0.56 ^f
	60	82.88±2.08 ^c	25.59±0.50 ^d
	90	90.70±0.79 ^b	35.25±0.79 ^b

Averages with the different letters (in same columns) indicate that there is significant difference at the $P < 0.05$.

توسط آنزیم آلکالاز می‌باشد [۸]. در آن پژوهش نیز لوسین و گلوتامیک اسید به عنوان اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری غالب شناسایی شده بودند. طبق استانداردهای FAO/WHO (۱۹۹۰)، نسبت اسید آمینه‌های ضروری به کل اسید آمینه‌ها نباید کمتر از ۴۰ درصد باشد و نسبت اسید آمینه‌های ضروری به غیرضروری نباید از ۰/۶ کمتر باشد. نتایج نشان می‌دهد که پروتئین‌های هیدرولیز شده دارای ترکیب مناسبی از اسید آمینه‌ها هستند [۱۸]. نسبت اسید آمینه‌های ضروری به غیرضروری برای پروتامکس و بروملین به ترتیب ۰/۷۶ و ۰/۷۵ و نسبت اسید آمینه‌های ضروری به کل اسید آمینه‌ها به ترتیب ۴۳/۳۴ و ۴۲/۹۱ گزارش شده است. بررسی‌ها نشان داد که غلظت تمامی اسیدهای آمینه ضروری، بالاتر از مقادیر پیشنهادی FAO/WHO (۱۹۹۰)، برای نیازهای بزرگسالان است. این الگوی غنی از اسید آمینه‌های ضروری، نشان‌دهنده ارزش تغذیه‌ای بالای دانه چیا است که می‌تواند به‌طور مؤثری در تأمین نیازهای اساسی اسیدهای آمینه در رژیم غذایی بزرگسالان نقش‌آفرینی کند. مجموع اسیدهای آمینه آبریز در پروتئین‌های هیدرولیز شده توسط آنزیم پروتامکس و بروملین به ترتیب ۳۶/۶۵ و ۳۴/۶۵٪ بوده است. وجود این اسیدهای آمینه در مقادیر

۳-۳- ترکیب اسید آمینه

اسیدهای آمینه برای سنتز پروتئین، ضروری هستند و پروتئین‌های تولید شده نقش‌های فیزیولوژیکی حیاتی از جمله ساختاری، آنزیمی و انتقال اکسیژن را ایفا می‌کنند و به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم بر حفظ سلامت تأثیر می‌گذارند. علاوه بر اهمیت ترکیب اسیدهای آمینه در ارزش غذایی یک منبع پروتئینی، این ترکیب خواص کاربردی پروتئین‌ها را نیز تعیین می‌کند. به‌طور کلی، پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی دارای مقادیر بالایی از اسیدهای آمینه ضروری هستند و تغییرات پروفایل اسیدهای آمینه آن‌ها تحت تأثیر ماده اولیه، نوع آنزیم و شرایط هیدرولیز قرار می‌گیرد [۶، ۲]. در بررسی حاضر (جدول ۲)، مقادیر بالای اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری شناسایی شده، لوسین، بالاترین اسید آمینه‌های ضروری مربوط به آنزیم‌های پروتامکس و بروملین به ترتیب ۸/۹۹ و ۸/۵۵ درصد همچنین، بالاترین مقادیر اسید آمینه‌های غیرضروری برای همین آنزیم‌ها، گلوتامیک اسید، به ترتیب ۱۳/۵۵، ۱۳/۴۸ درصد بوده است. این یافته‌ها همسو با نتایج مطالعه Villanueva-Lazo و همکاران (۲۰۲۲) در زمینه پروفایل اسیدهای آمینه پروتئین هیدرولیز شده دانه چیا

مناسب، نشان‌دهنده ارزش تغذیه‌ای بالای این پروتئین‌ها است. علاوه بر این، این اسیدهای آمینه تأثیر قابل توجهی بر خواص کاربردی و بیولوژیکی پروتئین‌ها دارند و می‌توانند در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، و پیشگیری از سرطان نقش داشته باشند و همچنین به تنظیم قند و فشار خون کمک کنند [۱۹]. به‌طور کلی، اسیدهای آمینه آبگریز به تثبیت ساختار پروتئین‌ها و بهبود خواص فیزیکی آنها کمک می‌کنند، که این امر در فرایندهای صنعتی و غذایی اهمیت ویژه‌ای دارد.

Table 2: Effect of enzyme hydrolysis type (at 90 min) of protein hydrolyzed on amino acid composition

Amino acid (g 100 g ⁻¹)	Protamax	Bromelain	FAO/ WHO, 1990
Threonine ^a	4.20	4.40	3.4
Valine ^a	4.70	4.90	3.5
Methionine ^a	3.70	3.40	-
Isoleucine ^a	3.70	3.40	2.8
Leucine ^a	7.50	6.90	6.6
Phenyl alanine ^a	9.95	9.10	6.3
Histidine ^a	2.70	2.80	1.9
Lysine ^a	6.10	6.60	5.8
Arginine ^a	10.22	10.11	-
Tryptophan ^a	0.95	1.05	-
Glycine	4.11	4.21	-
Aspartic acid	9.22	9.88	-
Glutamic acid	17.55	18.22	-
Serine	5.10	4.99	-
Alanine	4.80	4.90	-
Tyrosine	1.90	1.95	1.1
Cystein	1.50	1.60	-
Total amino acid	98.30	98.11	-
Essential amino acids/ Total amino acid	55.05	53.39	-
Essential amino acids/ none essential amino acids	1.22	1.14	-
HAA ^b	36.65	34.65	-

^a Essential amino acids

^b Combined total of hydrophobic amino acids (HAA)= alanine, valine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, methionine and cysteine

هیدرولیز، فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH نیز افزایش یافت ($P < 0.05$). پروتئین هیدرولیز شده توسط آنزیم پروتامکس بعد از ۹۰ دقیقه هیدرولیز، بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی (۹۴٪/۵۵) را از خود نشان داد و فعالیت آنتی اکسیدانی آن نسبت به آنزیم بروملین بیشتر بود ($P < 0.05$). این موضوع نشان می دهد که ممکن است فعالیت آنتی اکسیدانی پپتیدها به پروتئازهای خاصی که برای تولید آن ها استفاده می شود، درجه هیدرولیز به دست آمده، ماهیت پپتیدهای آزاد شده (مانند وزن مولکولی، ترکیب و توالی اسیدهای آمینه) و همچنین تأثیرات ترکیبی خواص آن ها (مانند ظرفیت برای مکان یابی رادیکال های آزاد، کلاته کردن یون های فلزی و/یا اهدا کردن الکترون) وابسته باشد. اندازه پپتیدها نیز ممکن است نقش داشته باشد، زیرا پپتیدهای ضد فشار خون کوتاه هستند و تنها شامل دو تا نه اسید آمینه می باشند، در حالی که پپتیدهای آنتی اکسیدانی از سه تا شانزده باقی مانده اسید آمینه تشکیل شده اند [۲۰، ۱].

۳-۴- خاصیت آنتی اکسیدانی

فعالیت آنتی اکسیدانی در هیدرولیز پروتئین دانه چیا با استفاده از آزمون DPPH اندازه گیری شد که توانایی یک آنتی اکسیدان (یعنی اهداکننده هیدروژن یا الکترون) در سرکوب کاتیون رادیکال DPPH را بر اساس کاهش تک الکترونی رادیکال کاتیون نسبتاً پایدار DPPH که پیش تر توسط یک واکنش اکسیداسیون تشکیل شده، کمی سنجی می کند. نتایج فوق نشان می دهد (نمودار ۱) که هیدرولیز پروتئین دانه چیا در آزمون کاهش DPPH واکنش های انتقال تک الکترونی را تجربه می کند که به طور مؤثری فعالیت آنتی اکسیدانی کل آنتی اکسیدان های غذایی و مواد غذایی را اندازه گیری می کند. تحت شرایط تحلیل شده، هیدرولیز پروتئین دانه چیا ممکن است به عنوان اهداکننده های الکترون و مخزن های رادیکال های آزاد عمل کرده و بدین ترتیب حفاظت آنتی اکسیدانی فراهم کنند [۲۰]. با افزایش مدت زمان

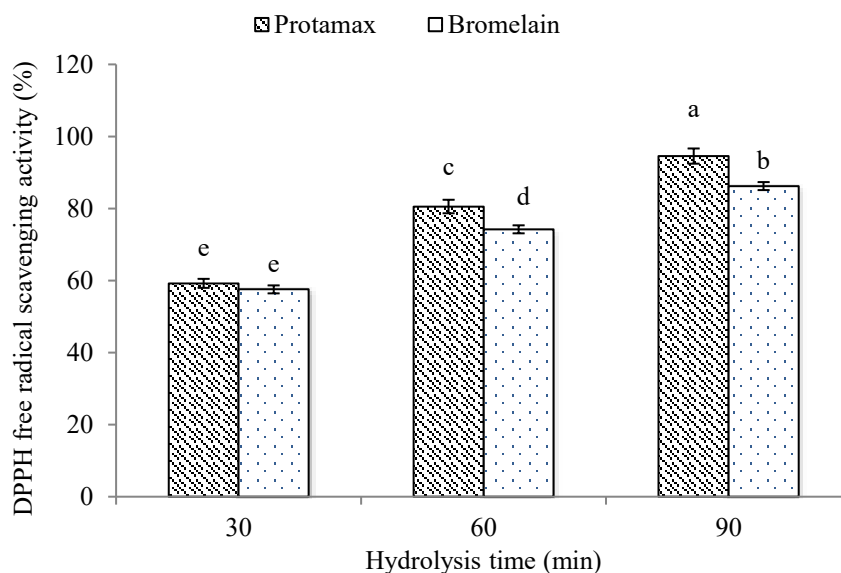


Figure 1: The DPPH free radical scavenging activity of chia seed protein hydrolysates

Different letters in the same times showed a significant difference at $p < 0.05$.

نانومتر بیشتر باشد، نشان دهنده فعالیت کاهندگی بالاتر است. نتایج نشان می دهد که قدرت احیای آهن با افزایش زمان هیدرولیز آنزیمی افزایش می یابد (نمودار ۲). بیشترین مقادیر مربوط به پروتئین هیدرولیز شده با پروتامکس در زمان ۹۰

زمانی که پروتئین هیدرولیز شده خاصیت کاهندگی یون آهن داشته باشد، رنگ سبز در محیط واکنش ظاهر می شود و هر چه این رنگ قوی تر و جذب نوری در طول موج ۷۰۰

سطوح پپتیدها و آمینواسیدهای آزاد است که قادر به اهدای الکترون به رادیکال‌های آزاد بوده و در نتیجه می‌توانند واکنش زنجیره‌ای اکسیداسیون را متوقف کنند [۲۳]. نتایج مشابهی توسط Silveira Coehlo و همکاران (۲۰۱۹) و Villanueva-Lazo و همکاران (۲۰۲۱) گزارش شده است که نشان می‌دهد غلظت‌های پروتئین دانه چیا هیدرولیز شده با آنزیم‌های پروتئاز دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالقوه می‌باشند [۷، ۲۴].

دقیقه بود (۰/۵۵ میکرومول فروس/گرم) ($P < 0/05$). افزایش قدرت احیای آهن به رهائش آمینواسیدهای آنتی‌اکسیدانی مانند تیروزین، تربیتوفان، هیستیدین، متیونین و لیزین پس از هیدرولیز آنزیمی مربوط می‌شود و غلظت این آمینواسیدها افزایش می‌یابد [۲۱]. ترکیباتی که دارای قدرت کاهشی بالاتر هستند، پتانسیل بهتری برای اهدای الکترون یا هیدروژن دارند و به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی ارزشمند شناخته می‌شوند [۲۲]. به‌ویژه، پروتئین هیدرولیز شده با آنزیم پروتامکس، با زمان هیدرولیز بالاتر، احتمالاً دارای بالاترین

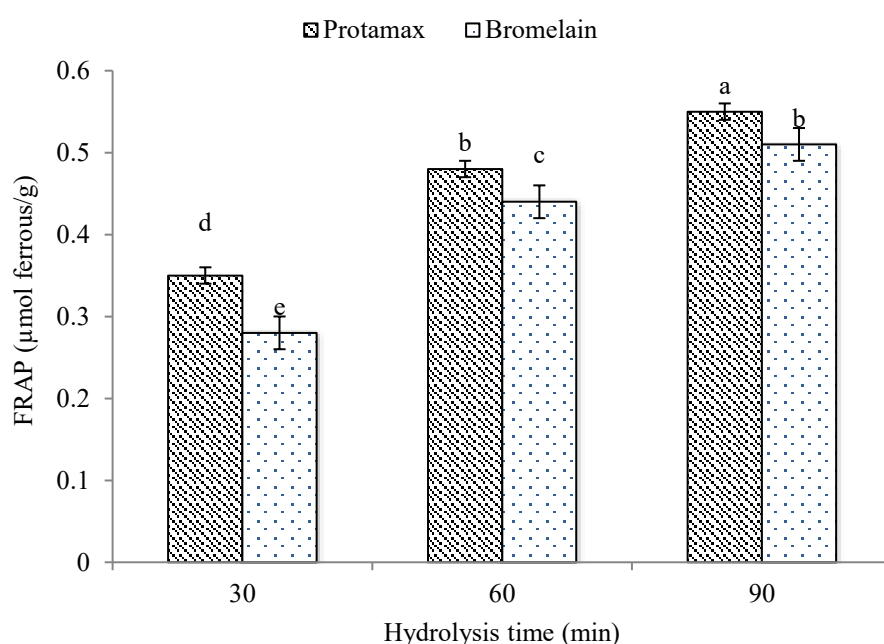


Figure 2: The FRAP of chia seed protein hydrolysates
Different letters in the same times showed a significant difference at $p < 0.05$.

هیدرولیز شده توسط هر دو آنزیم در اکثر زمان‌های هیدرولیز وجود نداشت ($P > 0/05$). اما میزان حلالیت در بین زمان‌های مختلف هیدرولیز تفاوت معنی‌داری داشت. هیدرولیز آنزیمی می‌تواند تعداد پپتیدهای هیدروفیلیک کوچکتر را افزایش دهد [۲۶]. با افزایش زمان هیدرولیز، مقادیر حلالیت به طور قابل توجهی افزایش یافت، به گونه‌ای که پروتئین هیدرولیز شده در ۹۰ دقیقه بالاترین حلالیت را داشت ($P < 0/05$). این افزایش حلالیت به دلیل تجزیه پروتئین‌ها به پپتیدهای کوچکتر است که معمولاً حلالیت بیشتری دارند. این پدیده به دلیل افزایش نسبت سطح به حجم و دسترسی بهتر به مولکول‌های آب اتفاق می‌افتد [۲۷]. این یافته‌ها همسو با

۳-۵- خواص عملکردی

حلالیت پروتئین یک ویژگی پیچیده و حیاتی است که می‌تواند بر سایر خواص عملکردی از جمله فعالیت امولسیون‌سازی، ظرفیت کف‌سازی و خاصیت ژل‌سازی تأثیر بگذارد [۲۵]. حلالیت پروتئین چیا نه تنها تحت تأثیر pH و دما قرار دارد، بلکه می‌تواند با افزودن نمک، استفاده از روش‌های خشک‌کردن مختلف و همچنین روش و زمان هیدرولیز نیز تغییر می‌کند. با توجه به نتایج، تمامی پروتئین‌های هیدرولیز شده حلالیت بالایی (نمودار ۳) را نشان دادند و تفاوت معنی‌داری در حلالیت پروتئین‌های

نتایج مطالعه Villanueva-Lazo و همکاران (۲۰۲۱) در زمینه حلالیت پروتئین هیدرولیز شده دانه چیا توسط آنزیم آلکالاز می باشد، آنها نیز اعلام نمودند با افزایش زمان هیدرولیز تاثیر مثبتی بر حلالیت پروتئین دارد [۷].

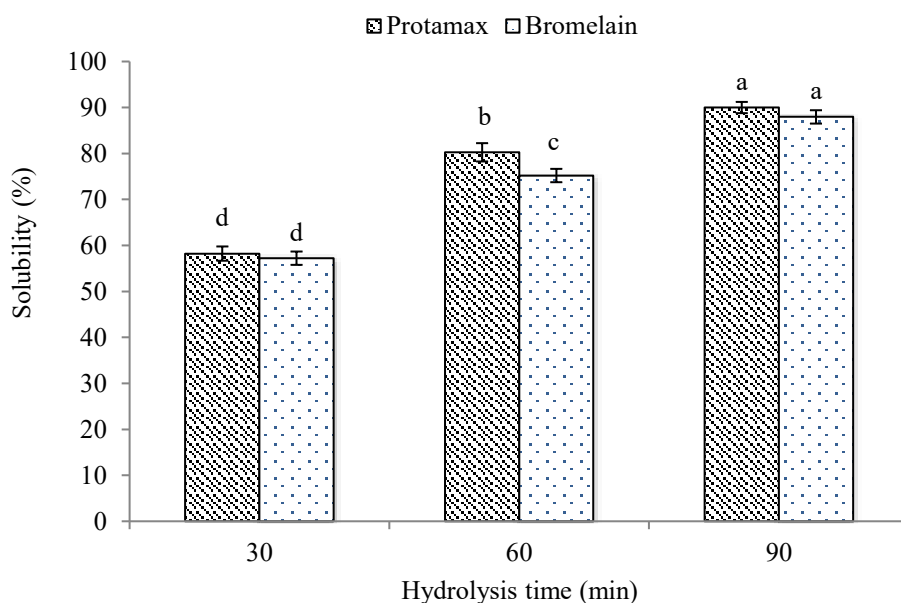


Figure 3: The solubility of chia seed protein hydrolysates
Different letters in the same times showed a significant difference at $p < 0.05$.

می تواند به شدت تحت تاثیر روش های مختلف، مانند تنظیم pH، جداسازی و هیدرولیز آنزیمی قرار گیرد [۲۷]. نتایج مربوط به پایداری امولسیون و ظرفیت امولسیون باهم، هم خوانی داشت با افزایش زمان هیدرولیز مقادیر ظرفیت امولسیون افزایش یافت و همچنین ویژگی های امولسیون بالاتر توسط آنزیم پروتامکس مشاهده شد ($P < 0.05$). به عنوان یک شاخص کلیدی در فرآیند هیدرولیز، خواص امولسیون کنندگی پروتئین ها تحت تاثیر طول زنجیره پپتیدی، ظرفیت امولسیون کنندگی افزایش می یابد. بر اساس مطالعه Villanueva-Lazo و همکاران (۲۰۲۱) و Urbizo-Reyes و همکاران، (۲۰۱۹) پروتئین هیدرولیز شده دانه چیا با آلکالاز دارای فعالیت امولسیون سازی ۵۰ برابر و پایداری امولسیونی ۱۰۰ برابر بالاتر از پروتئین سالم بود [۷، ۲۶].

خاصیت امولسیون سازی یکی از ویژگی های حیاتی پروتئین در تولید بستنی، مارگارین، سس ها و سایر مواد غذایی است که نیاز دارد پروتئین به عنوان یک امولسیفایر عمل کند تا دو مایع نامحلول را به طور کامل ترکیب کند. به طور کلی، خاصیت امولسیون سازی می تواند از طریق ویژگی های فیزیکی اندازه گیری شود، با استفاده از فعالیت امولسیون سازی، ظرفیت امولسیون سازی و پایداری امولسیون تعیین شود [۲۸]. برای اندازه گیری خواص امولسیون سازی پروتئین دانه چیا یا هیدرولیز پروتئینی، از روغن چیا [۲۹]، روغن ذرت [۷]، روغن آفتابگردان تصفیه شده [۲۵] و روغن کانولا [۲۶] استفاده شده است. ظرفیت امولسیون سازی و پایداری امولسیون (نمودارهای ۴ و ۵) پروتئین دانه چیا

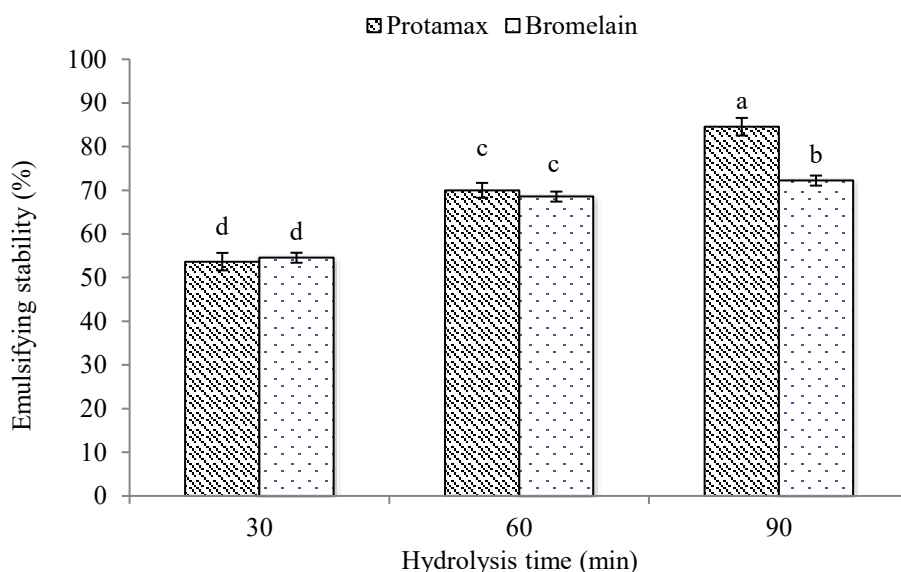


Figure 4: The emulsifying capacity of chia seed protein hydrolysates
Different letters in the same times showed a significant difference at $p < 0.05$

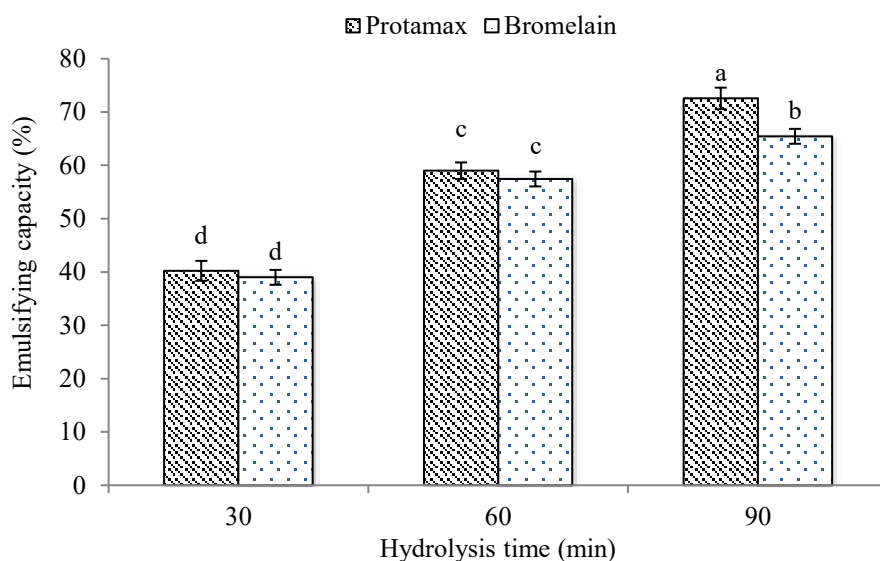


Figure 5: The emulsifying stability of chia seed protein hydrolysates
Different letters in the same times showed a significant difference at $p < 0.05$.

کف تشکیل شده را در طول یک دوره زمانی مشخص نشان می‌دهد [۲۷]. چندین عامل بر ظرفیت و پایداری کف‌سازی پروتئین‌ها تأثیر می‌گذارد، که شامل pH، روش هیدرولیز، غلظت پروتئین و روش‌های استخراج است. مقادیر ظرفیت کف و پایداری کف (نمودارهای ۶ و ۷) با یکدیگر همخوانی داشتند و کف‌کنندگی پروتئین هیدرولیز شده توسط آنزیم پروتامکس در تمامی زمان‌های هیدرولیز بالاتر بود. با افزایش زمان هیدرولیز، ظرفیت کف‌کنندگی افزایش یافت، به‌طوری‌که

خواص کف‌کنندگی در صنعت تولید غذا، مانند تولید آبجو، خامه زده شده و غیره، حیاتی هستند. تشکیل کف به فرآیند پراکندگی حباب‌های هوا در یک فاز مایع یا جامد پیوسته اشاره دارد که منجر به ایجاد یک فیلم بین‌فازی انعطاف‌پذیر می‌شود [۳۰]. ظرفیت کف‌سازی نشان‌دهنده توانایی پروتئین در تولید کف است که می‌تواند با افزایش حجم کف یا درصد افزایش حجم کف منعکس شود، و پایداری کف قابلیت دوام

تأثیرگذار هستند [۳۱، ۳۲]. به این ترتیب، اثر افزایش درجه هیدرولیز تحت تأثیر زمان فرآیند و نوع آنزیم بر کاهش طول زنجیره پپتیدها و عملکرد آن‌ها در ایجاد و پایداری کف مؤثر است. بر اساس مطالعه Villanueva-Lazo و همکاران (۲۰۲۱) و Urbizo-Reyes و همکاران (۲۰۱۹) پروتئین هیدرولیز شده دانه چیا دارای ویژگی‌های کف‌کنندگی بسیار مناسبی بودند.

پروتئین هیدرولیز شده با آنزیم پروتامکس در زمان هیدرولیز ۹۰ دقیقه بالاترین ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف را نشان داد ($P < 0.05$). تحقیقات متعددی اثر فرآیند هیدرولیز آنزیمی و زمان هیدرولیز را بر ظرفیت و پایداری کف‌کنندگی هیدرولیز پروتئینی بررسی کرده‌اند. عواملی مانند حلالیت پروتئین‌ها در شرایط مختلف pH، درجه هیدرولیز و نوع پپتیدها، بر قابلیت تشکیل فیلم و در نتیجه بر این شاخص‌ها

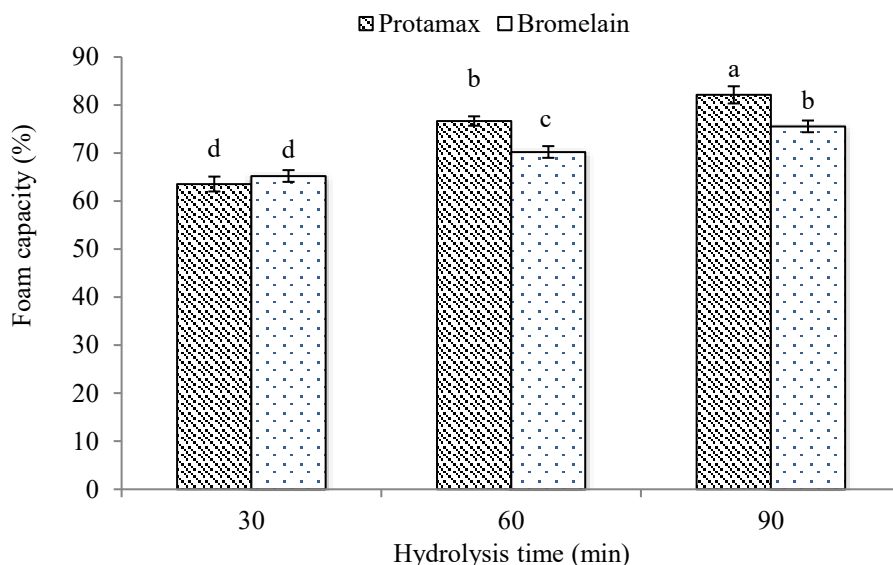


Figure 6: The foaming capacity of chia seed protein hydrolysates
Different letters in the same times showed a significant difference at $p < 0.05$.

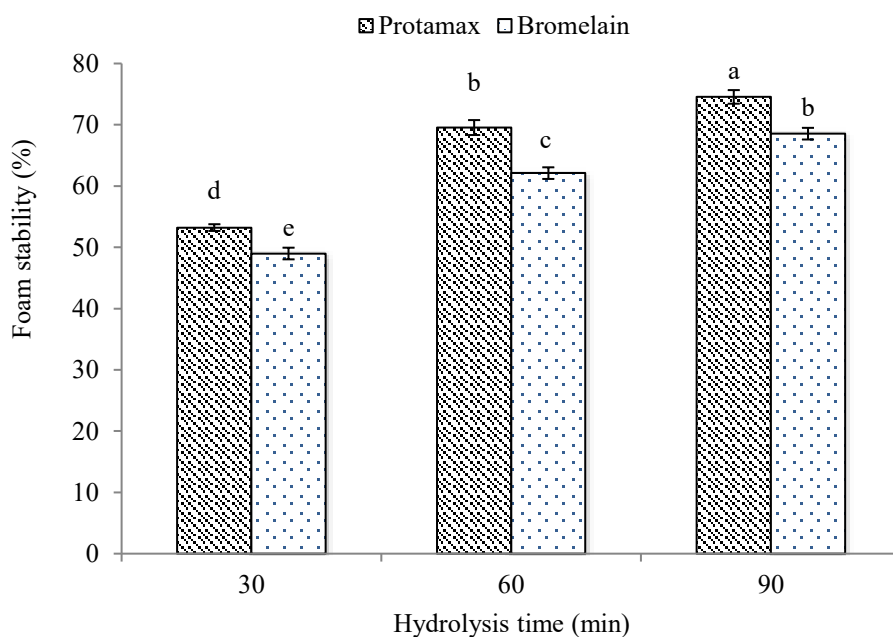


Figure 7: The foaming stability of chia seed protein hydrolysates
Different letters in the same times showed a significant difference at $p < 0.05$.

۴- نتیجه‌گیری

حلالیت، کف‌کنندگی و پایداری کف، مهارکنندگی DPPH و قدرت احیا کنندگی بهتری نشان دادند. در واقع، اصلاح آنزیمی پروتئین دانه چیا باعث ایجاد یک منبع طبیعی آنتی‌اکسیدانی می‌گردد که می‌تواند به عنوان یک منبع آنتی-اکسیدانی طبیعی در مدل‌های غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

بر اساس نتایج، هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌های دانه چیا ویژگی‌های عملکردی و آنتی‌اکسیدانی قابل قبولی دارند. نوع آنزیم بر ویژگی‌های عملکردی و آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیز شده تأثیرگذار بود. پروتئین‌های هیدرولیز شده دانه چیا توسط آنزیم پروتامکس، درجه هیدرولیز، پروتئین،

۵- منابع

- [1] Shahosseini, S.R., Javadian, S.R., Safari, R. 2022. Effects of Molecular Weights - Assisted Enzymatic Hydrolysis on Antioxidant and Anticancer Activities of Liza abu Muscle Protein Hydrolysates. International Journal for Peptide Research & Therapeutics. 28, 72.
- [2] Shahosseini S.R. Javadian S.R., Safari R. 2023. Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of Liza abu viscera protein hydrolysate. Journal of Innovation in Food Science and Technology, 15 (1), 143-155.
- [3] Nemati, M., Javadian, S. R., Ovissipour, M. Keshavarz, M. 2012. A study on the properties of alosa (*Alosa caspia*) by-products protein hydrolysates using commercial enzymes. World Applied Sciences Journal. 18 (7): 950-956.
- [4] Nemati, M., Shahoseini, S. R., Ariaii, P. 2024. Review of fish protein hydrolysates: production methods, antioxidant and antimicrobial activity and nanoencapsulation. Food Sci Biotechnol. 33, 1789-1803.
- [5] Dorvaj Z., Javadian S.R., Oveissipour M, Nemati. M. 2013.. Use of Protein Hydrolysates From Caspian Sea Sprat (*Clupeonella Cultiventris*) As A Nitrogen Source For Bacteria Growth Media (*Vibrio Anguillarum*, *Bacillus Licheniformis*, *Bacillus Subtilis*). Journal of Aquatic animals & Fisheries. 4(15): 11-18.
- [6] Rashidi, S., Ariaii, P., Esmacili, 2024. Evaluating the properties of the hydrolyzed clover sprout protein obtained by enzymatic hydrolysis and its effect in free and micro-encapsulated form on the properties of probiotic yogurt. Food Measure. 18, 2700-2714.
- [7] Villanueva-Lazo A., la Paz S.M., Rodriguez-Martin N.M., Millan F., Carrera C., Pedroche J.J., Millan-Linares M.C. 2021. Antihypertensive and Antioxidant Activity of Chia Protein Techno-Functional Extensive Hydrolysates. Foods. 10: 2297.
- [8] Villanueva-Lazo A, Montserrat-de la Paz S, Grao-Cruces E, Pedroche J, Toscano R, Millan F, Millan-Linares MC. 2022. Antioxidant and Immunomodulatory Properties of Chia Protein Hydrolysates in Primary Human Monocyte-Macrophage Plasticity. Foods. 11(5):623.
- [9] Karami Z., Akbari-adergani B. 2019. Bioactive food derived peptides: A review on correlation between structure of bioactive peptides and their functional properties. J. Food Sci. Technol. 56:535-547.
- [10] Feyzi, S., Varidi, M., Zareb, F. & Varidi, M.J. 2015. Extraction Optimization of Fenugreek Seed Protein. Science of Food and Agriculture. 15: 3165-3176.
- [11] AOAC. 2005. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, vol. II. Arlington, va: association of official analytical chemists.
- [12] Ovissipour, M. Rasco, B. Shiroodi, S.G.; Modanlow, M. Gholami, S. Nemati, M. 2013. Antioxidant activity of protein hydrolysates from whole anchovy sprat (*Clupeonella engrauliformis*) prepared using endogenous enzymes and commercial proteases. Journal of the Science of Food and Agriculture. 93: 1718-1726.
- [13] Gulcin, I. 2020. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. Archives of Toxicology. 94(3):651-715.
- [14] Bera, M.B. Mukherjee, R.K. 1989. Solubility, emulsifying, and foaming properties of rice bran protein concentrates. J. Food Sci., 54(1), 142-145.
- [15] Slizyte, R., Mozuraitytė, R., Martínez-Alvarez, O., Falch, E., Fouchereau-Peron, M., Rustad, T. 2009. Functional, bioactive and antioxidative properties of hydrolysates obtained from cod (*gadus morhua*) Backbones. Process Biochemistry. 44:668-677.

- [16] Shahidi, F. Onodenaloro, A. 1995. Water dispersions of Myofibrillar Proteins from Capelin (*Mallotus villosus*). Food Chemistry, 53: 51-54.
- [17] Tkaczewska, J., Borawska-Dziadkiewicz, J., Kulawik, P., Duda, I., Morawska, M., & Mickowska, B. 2020. The effects of hydrolysis condition on the antioxidant activity of protein hydrolysate from *Cyprinus carpio* skin gelatin. LWT, 117: 108616.
- [18] FAO/WHO. 1990. Energy and protein requirements. Report of joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation Technical Report. FAO/WHO and United Nations University, Geneva, Series No. 724.
- [19] Gao, D., Chang, T., Li, H., and Cao, Y. 2010. Angiotensin I-converting enzyme inhibitor derived from cottonseed protein hydrolysate. African Journal of biotechnology, 9: 8977-8983.
- [20] Segura-Campos, M. R., Salazar-Vega, I. M., Chel-Guerrero, L. A., & Betancur-Ancona, D. A. 2013. Biological potential of chia (*Salvia hispanica* L.) protein hydrolysates and their incorporation into functional foods. LWT - Food Science and Technology, 50(2), 723–731.
- [21] Akbarbaglu, Z., Jafari, S. M., Sarabandi, K., Mohammadi, M., Heshmati, M. K., & Pezeshki, A. 2019. Influence of spray drying encapsulation on the retention of antioxidant properties and microstructure of flaxseed protein hydrolysates. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 178, 421-429.
- [22] Chalamaiah, M., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. 2012. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. Food Chemistry, 135(4), 3020–3038.
- [23] Tkaczewska, J. (2020). Peptides and protein hydrolysates as food preservatives and bioactive components of edible films and coatings - A review. Trends in Food Science & Technology, 106, 298-311.
- [24] Silveira Coehlo, M., de Araujo Aquino, S., Machado Latorres, J., Salas-Mellado, M.M. 2019. In vitro and in vivo antioxidant capacity of chia protein hydrolysates and peptides. Food Hydrocoll. 91, 19–25.
- [25] Julio, L. M., Ruiz-Ruiz, J. C., Tom'as, M. C., & Segura-Campos, M. R. (2019). Chia (*Salvia hispanica*) protein fractions: Characterization and emulsifying properties. Journal of Food Measurement and Characterization, 13(4), 3318–3328.
- [26] Urbizo-Reyes, U., San Martin-Gonz'alez, M. F., Garcia-Bravo, J., L'opez Malo Vigil, A., & Liceaga, A. M 2019. Physicochemical characteristics of chia seed (*Salvia hispanica*) protein hydrolysates produced using ultrasonication followed by microwave-assisted hydrolysis. Food Hydrocolloids, 97, Article 105187.
- [27] Chen, S, Luo, X. 2024. Chia seed protein as a promising source for plant-based foods: Functional properties, processing methods and potential food applications. Applied Food Research 4: 100459.
- [28] Zhang, X., Wang, Q., Liu, Z., Zhi, L., Jiao, B., Hu, H., Ma, X., Agyei, D., & Shi, A. 2023. Plant protein-based emulsifiers: Mechanisms, techniques for emulsification enhancement and applications. Food Hydrocolloids, 144, Article 109008
- [29] Julio, L. M., Ixtaina, V. Y., Fern'andez, M., Torres S'anchez, R. M., Nolasco, S. M., & Tom'as, M. C. 2016. Development and characterization of functional O/W emulsions with chia seed (*Salvia hispanica* L.) by-products. Journal of Food Science and Technology, 53(8), 3206–3214.
- [30] Mauer, L. 2003. PROTEIN | Heat Treatment for Food Proteins. In B. Caballero (Ed.), Encyclopedia of food sciences and nutrition (Second edition) (pp. 4868–4872). Academic Press.
- [31] Chen, J., Chen, X., Zhu, Q., Chen, F., Zhao, X., & Ao, Q. 2013. Determination of the domain structure of the 7S and 11S globulins from soy proteins by XRD and FTIR. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(7), 1687–1691.
- [32] Ghelich, S., Ariaii, P., Ahmadi, M. (2022). Evaluation of Functional Properties of Wheat Germ Protein Hydrolysates and Its Effect on Physicochemical Properties of Frozen Yogurt. Int J Pept Res Ther 28, 69.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigation of Functional Properties and Antioxidant of Hydrolyzed Protein from Chia Seed Under the Influence of Hydrolysis Time and Enzyme Type

Sahar Abdoullahi¹, Peiman Ariaii^{1*}, Seyed Ebrahim Hosseini², Mahro Esmaeili¹, Roya Bagheri¹

1-Department of Food Science and Technology, Am.C., Islamic Azad University, Amol, Iran

2-Department of Food Science and Technology, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/11/02 Accepted:2025/08/02	Chia seeds (<i>Salvia hispanica</i>) are recognized as a rich source of protein and bioactive compounds, offering positive effects on human health. Enzymatic hydrolysis of these proteins can enhance their functional properties and antioxidant activity. This study aims to investigate the effect of different enzymes on the production of hydrolyzed protein from chia seed with desirable functional characteristics and high antioxidant. Hydrolyzed protein from chia seeds was produced using the enzymes Protamex and Bromelain over periods of 30, 60, and 90 minutes at optimal temperature and pH (50 °C and pH 7). Subsequently, parameters such as solubility, foaming, and emulsifying properties, along with DPPH radical scavenging activity and iron-reducing power of the hydrolyzed proteins, were evaluated. Results indicated that increasing hydrolysis time and the use of Protamex significantly affected the degree of hydrolysis and the quantities of chia seed proteins. At 90 min, the highest degree of hydrolysis (40.23%) and protein content (90.70%) were observed ($P < 0.05$), demonstrating the high efficiency of this enzyme in the hydrolysis process. These conditions also led to improvements in functional properties, including solubility, emulsification, and foaming capacity of the proteins. Furthermore, this hydrolysis resulted in a significant increase in antioxidant activity, including DPPH radical scavenging and iron chelation. The results revealed that different enzymes exert varying effects on a substrate, and enzymatic modification of chia seed proteins creates a natural source of antioxidants with considerable potential for applications in the food and pharmaceutical industries.
Keywords: <i>Salvia hispanica</i>, Bromelain, Protamex, plant protein, bioactive peptides, degree of hydrolysis	
DOI: 10.48311/fsct.2025.83917.0. *Corresponding Author E- p.aryaye@yahoo.com	