



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بهینه‌سازی شرایط پیش تیمار حرارتی ماکروویو بر بهبود ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده

گلوتن ذرت

امیر طاهریان^{۱*}، علیرضا صادقی ماهونک^۲ حبیب اله میرزائی^۲، محمد قربانی^۲

۱- دانشجوی دکتری 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

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۵

تاریخ داوری: ۱۴۰۴/۰۳/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۹

کلمات کلیدی:

هیدرولیز آنزیمی،

گلوتن ذرت،

ماکروویو،

آنزیم آلکالاز.

DOI: 10.48311/fsct.2026.83632.0

* مسئول مکاتبات:

A.Taherian2014@gmail.com

هدف از این پژوهش بررسی اثر زمان هیدرولیز و پیش تیمار ماکروویو بر هیدرولیز آنزیمی پروتئین گلوتن ذرت به وسیله آنزیم آلکالاز جهت تولید پروتئین هیدرولیز شده با قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالا بود. ابتدا گلوتن ذرت به پودر تبدیل و سپس عمل هیدرولیز در توان ۹۰ وات با نسبت آنزیم به سوبسترا ۱ درصد و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در قالب طرح بهینه‌سازی با اعمال متغیرهای زمان پیش تیمار (۲ - ۱ دقیقه) و زمان هیدرولیز آنزیمی (۳۶۰ - ۳۰ دقیقه) در مقایسه با نمونه شاهد صورت گرفت. نتایج نشان داد که افزایش زمان تیمار ماکروویو باعث افزایش قابلیت مهار رادیکال آزاد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در زمان‌های هیدرولیز کوتاه‌تر گردید. اعمال پیش تیمار ماکروویو سبب افزایش خطی درجه هیدرولیز نسبت به نمونه شاهد شد. بالاترین میزان مهار رادیکال آزاد در نمونه‌های تیمار شده توسط ماکروویو با ۲ دقیقه در مدت زمان ۱۹۵ دقیقه هیدرولیز به ترتیب ۵۹/۶۳ مشاهده شد. حداکثر مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل برابر ۱/۰۱ درصد برای تیمار ماکروویو ۲ دقیقه و ۳۶۰ دقیقه هیدرولیز آنزیمی بدست آمد. با تحلیل نتایج بهترین شرایط پیش تیمار برای رسیدن به بالاترین ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی زمان ۲ دقیقه و مدت زمان ۲۰۵ دقیقه هیدرولیز آنزیمی بود. بنابراین استفاده از پیش تیمار ماکروویو با توان بالا موجب کوتاه نمودن زمان هیدرولیز جهت دستیابی به پپتیدهای با قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر و افزایش کارایی هیدرولیز آنزیمی می‌گردد.

۱-مقدمه

در سالیان اخیر، پپتیدهای زیست فعال حاصل از منابع حیوانی و گیاهی مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند. این ترکیبات به روش‌های میکروبی، آنزیمی و شیمیایی تولید شده و در بین آن‌ها هیدرولیز آنزیمی، به دلایل زیر ملائم‌تر بوده و عدم نابودی اسیدهای آمینه متداول‌تر است [۱]. پپتیدهای زیست فعال از منابع گوناگون پروتئینی حیوانی (شیر، گوشت، تخم‌مرغ)، منابع دریایی (ماهی، میگو و صدف) و گیاهی (غلات، حبوبات و دانه‌های روغنی) می‌توان به دست آورد که امروزه منابع گیاهی به دلیل قیمت مناسب‌تر بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند [۲]. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای زیست فعال حاصل از منابع پروتئینی مختلف مانند سفیده تخم‌مرغ و بادام‌زمینی مورد بررسی قرار گرفته است [۳ و ۴]. ذرت بعد از گندم و برنج، سومین غله پر مصرف در جهان است. گلوتن ذرت با محتوی ۷۱-۶۲٪ پروتئین (وزنی/وزنی) محصول اصلی فرآیند آسیاب مرطوب ذرت است [۵]. در شرایط pH و اسیدیته‌ای که در اکثر محصولات غذایی وجود دارد، گلوتن ذرت به واسطه داشتن اسیدهای آمینه آب‌گریز و پیوندهای دی سولفید در دو جزء پروتئینی خود یعنی زئین و گلوتلین دارای حلالیت پایین در سامانه‌های آبی بوده و از این رو به ندرت در صنایع غذایی استفاده می‌شود [۶]. مایکروویو یک روش سریع، راحت و مقرون به صرفه برای گرم کردن می‌باشد. امواج مایکروویو سبب افزایش درجه هیدرولیز و حلالیت پروتئین هیدرولیز شده می‌شود [۷]. هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌ها پس از تیمار اشعه مایکروویو روش جدیدی برای تسریع هیدرولیز پروتئین و بهبود خواص عملکردی آن‌ها به دلیل تأثیر بر ساختار فضایی پروتئین‌ها در مدت زمان کوتاه می‌باشد [۸]. تغییرات بیولوژیکی که می‌توانند بر روی پروتئین‌ها پس از تیمار مایکروویو ایجاد شوند، تابعی از شدت مایکروویو بوده و در نتیجه جذب انرژی مایکروویو تغییراتی در پیوندهای شیمیایی در ساختار دوم و سوم پروتئین ایجاد می‌گردد [۹]. Alain Gohi و

همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تأثیر پیش تیمار مایکروویو و بهینه‌سازی هیدرولیز پروتئین دانه نیلوفر پرداختند. در این پژوهش ابتدا پروتئین دانه نیلوفر تحت تیمار مایکروویو با شرایط ۹۰۰ - ۵۰۰ وات به مدت ۲۱۰ - ۱۵ ثانیه قرار گرفت و سپس به وسیله آنزیم پاپاین در غلظت‌های ۰/۸ - ۰/۲ گرم بر لیتر هیدرولیز شد [۱۰]. نتایج نشان داد که در اثر تیمار مایکروویو، ساختار پیوندهای پروتئین تضعیف شد و منجر به افزایش هیدرولیز پروتئین گردید. تیمار مایکروویو با شرایط ۸۰۰ وات و مدت زمان ۱۲۰ ثانیه دارای بیشترین تأثیر بر پروتئین دانه نیلوفر بود همچنین غلظت ۰/۵ گرم بر لیتر آنزیم پاپاین غلظت بهینه آنزیم به منظور هیدرولیز پروتئین دانه نیلوفر بود. در این پژوهش تأثیر پیش تیمار مایکروویو بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت به منظور دستیابی به بالاترین قابلیت آنتی‌اکسیدانی مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲-روش تحقیق

گلوتن ذرت از کارخانه فروکنوز ناب تهیه و توسط آسیاب مکانیکی آسیاب و سپس با الک مش ۵۰ الک گردید در ادامه پودر گلوتن ذرت در بسته‌های غیر قابل نفوذ به هوا در دمای یخچال تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شد. همچنین کلیه مواد شیمیایی و آنزیم آلکالاز از شرکت‌های معتبر تهیه شدند.

اندازه گیری ترکیبات شیمیایی

اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی با استفاده از روش AOAC انجام شد. برای تعیین میزان پروتئین کل در مواد خام اولیه، با استفاده از دستگاه کلدال، میزان چربی با استفاده از دستگاه سوکسله، میزان خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی و میزان رطوبت با قرار دادن در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، تعیین شد [۱۱].

تولید پروتئین هیدرولیز شده

به منظور انجام هیدرولیز آنزیم با استفاده از آنزیم آلکالاز از

$$DH = \frac{N2 \text{ liquid in TCA } 10\%}{\text{Total N2 in Sample}} \times 100$$

ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده گلوتن

ذرت

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

ابتدا ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه حل شده در آب مقطر (۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۱ میلی‌لیتر از معرف (اسیدسولفوریک ۰/۶ مولار، فسفات سدیم ۲۸ میلی‌مولار و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی‌مولار) در لوله پلاستیکی کوچک (اپندورف) ریخته و به مدت ۹۰ دقیقه در حمام آب ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن، جذب نمونه‌ها در ۶۹۵ نانومتر خوانده شد. از آب مقطر دوبار تقطیر به عنوان نمونه شاهد استفاده شد. جذب بیشتر نشان دهنده‌ی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بیشتر است [۱۴].

قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH

ابتدا پودرهای هیدرولیز شده در آب مقطر (۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) حل شدند. سپس، ۱/۵ میلی‌لیتر از هر نمونه با ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول اتانول (۰/۱۵ میکرومول) DPPH مخلوط و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شد. سپس، مخلوط حاصل در ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. جذب محلول سوپرناتانت در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد [۱۵]. درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد مهار} = \left[\frac{A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{blank}}} \right] \times 100 (\%)$$

Ablank جذب نمونه کنترل (حجم یکسانی از آب مقطر

به جای نمونه با محلول DPPH مخلوط می‌شود) و Asample جذب نمونه می‌باشد.

قدرت احیاء کنندگی آهن

ابتدا پودرهای هیدرولیز شده در آب مقطر (۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) حل شدند. سپس ۱ میلی‌لیتر از هر نمونه با ۲/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات ۰/۲ مولار (pH=۶/۶) و ۲/۵ میلی‌لیتر

روش Zhou و همکاران، ۲۰۱۵ استفاده شد [۱۲]. محلول ۱/۸ درصد وزنی/حجمی پودر گلوتن ذرت در بافر فسفات پتاسیم (pH=۸) تهیه گردید. سپس به منظور بهینه‌سازی تولید پروتئین‌های هیدرولیز شده با حداکثر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محلول تهیه شده در ماکروویو تحت پیش‌تیمار با توان ۹۰ وات توسط ماکروویو براساس تیمارهای تعریف شده قبل از افزودن آنزیم تیمار (انتخاب توان و زمان مایکروویو بر مبنای آزمون‌های اولیه و بر مبنای رسیدن به دمای ثابت ۷۰ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت) و آنزیم در نسبت آنزیم به سوبسترا ۱ درصد (بر اساس آزمون‌های اولیه) و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد افزودن و عمل هیدرولیز براساس جدول شماره ۱ صورت گرفت. پس از اتمام زمان هیدرولیز به منظور غیرفعال کردن آنزیم، محلول فوق در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب قرار داده شد تا آنزیم غیرفعال شود. هر تیمار به طور جداگانه در سانتریفیوژ یخچال دار با ۵۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد و محلول رویی حاصل با خشک‌کن انجمادی برای به دست آوردن پودر پروتئین هیدرولیز شده خشک گردید. سپس پودر حاصل تا زمان استفاده در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در مرحله بعد درجه هیدرولیز و قابلیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیز شده توسط روش‌های فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH، قدرت احیاء یون آهن، شلاته کنندگی یون آهن و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل اندازه‌گیری گردید.

اندازه‌گیری درجه هیدرولیز

برای اندازه‌گیری درجه هیدرولیز، ۵ میلی‌لیتر از نمونه با ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد مخلوط و پس از هم زدن به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۷۵۰ دور بر دقیقه طی ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مقدار پروتئین در فاز محلول به روش برد فورد اندازه‌گیری و میزان درجه هیدرولیز (DH) توسط رابطه زیر محاسبه شد [۱۳].

رابطه زیر محاسبه شد:

فعالیت شلاته کنندگی یون آهن $(\%) =$

$$\frac{A_{blank} - A_{sample}}{A_{blank}} \times 100$$

Ablank جذب نمونه کنترل (حجم یکسانی از آب مقطر

به جای نمونه با محلول مخلوط می‌شود) و A sample

جذب نمونه می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش اثر زمان‌های مختلف هیدرولیز (۳۰ تا ۳۶۰ دقیقه) بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت و تحت تاثیر پیش تیمار بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش بهینه‌سازی در قالب طرح مرکب مرکزی با استفاده از نرم افزار Design Expert نسخه ۹ براساس جدول ۱ انجام گرفت.

از فری سیانید پتاسیم ۱ درصد مخلوط گردید و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شد. پس از آن، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به مخلوط اضافه و ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتی‌فیوژ شد. سپس ۱ میلی‌لیتر سوپرناتانت با ۱ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۲ میلی‌لیتر فریک کلراید ۰/۱ درصد (حجمی/وزنی) مخلوط گردید. در نهایت جذب نمونه در ۷۰۰ نانومتر پس از ۱۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط خوانده شد. حجم یکسانی از آب مقطر به جای نمونه برای تهیه‌ی نمونه کنترل استفاده شد. افزایش جذب مخلوط واکنش نشان دهنده افزایش قدرت احیا کنندگی است [۱۶].

فعالیت شلاته کنندگی یون آهن

ابتدا، ۱ میلی‌لیتر نمونه حل شده در آب مقطر در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۰/۰۵ میلی‌لیتر محلول دی کلرید آهن (۲ میلی‌مولار) و ۱/۸۵ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر مخلوط شد. سپس، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول فروزین (۵ میلی‌مولار) افزوده و مخلوط به شدت هم‌زده شد. جذب پس از ۱۰ دقیقه نگهداری مخلوط در دمای محیط در ۵۶۲ نانومتر خوانده شد. از آب دوبار تقطیر به عنوان نمونه شاهد استفاده شد [۴]. فعالیت شلاته کنندگی نمونه‌ها با استفاده از

Table 1: Designing treatment hydrolysis corn gluten by microwave

Treatment	Microwave time (min)	Hydrolysis time (min)
1	0	30
2	2	30
3	0	360
4	2	360
5	0	195
6	2	195
7	1	30
8	1	360
9	1	195
10	1	195
11	1	195

۳- نتایج و بحث

بررسی ویژگی‌های شیمیایی پودر گلوتن ذرت

Table 1- Chemical composition of Corn gluten powder

Chemical Composition	Amount
Protein (N× 6.25)	81.23 ± 0.17
Fat	2.2 ± 0.10
Moisture	7.14 ± 0.30
Ash	2.20 ± 0.10
Carbohydrate (by Difference)	7.23 ± 0.11

Data reported as dry basis

three replications ± Mena

آمین‌های پپتیدها، فعالیت بیولوژیکی و همچنین طعم پروتئین‌های هیدرولیز شده را تعیین می‌کند. تاثیر پیش تیمار ماکروویو بر درجه هیدرولیز پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت در شکل ۱ مورد بررسی قرار گرفته است.

تاثیر پیش تیمار ماکروویو بر درجه هیدرولیز پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت

درجه هیدرولیز، اندازه و ترکیب اسیدهای

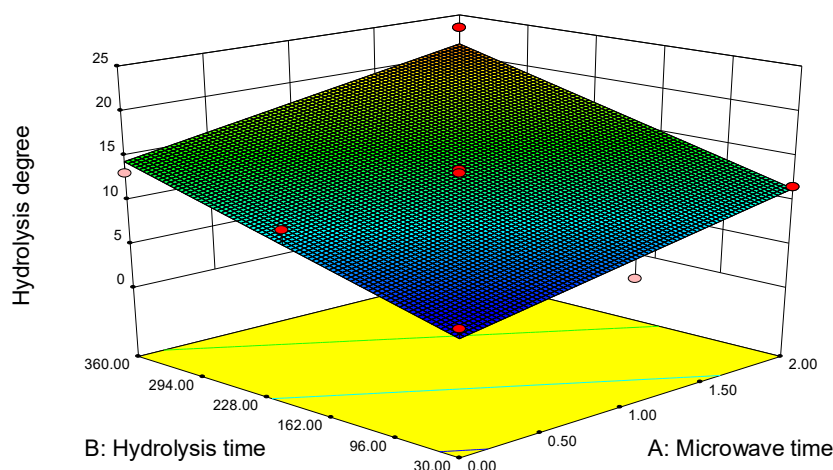


Figure 1: The effect of microwave time and hydrolysis time on the degree of hydrolysis of hydrolyzed corn gluten protein

به نمونه شاهد در مدت زمان هیدرولیز ۳۰ دقیقه به مقدار ۵/۴۵ درصد بود. احتمالاً تحت تاثیر پیش تیمار ماکروویو تضعیف پیوند در ساختار شیمیایی و فضایی پروتئین گلوتن ذرت بوجود آمده که این امر باعث افزایش دسترسی آنزیم آلکالاز به پیوندهای پپتیدی افزایش درجه هیدرولیز گردیده است. افزایش دسترسی و زمان واکنش آنزیمی سبب افزایش درجه هیدرولیز و شکست بیشتر باندهای پپتیدی، کوتاه

با توجه به شکل ۱، با افزایش زمان هیدرولیز، میزان درجه هیدرولیز پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت تحت تاثیر پیش تیمار ماکروویو به صورت معنی‌داری روندی افزایشی داشت. براساس نتایج، بیشترین میزان درجه هیدرولیز مربوط به نمونه پیش تیمار تحت ماکروویو ۲ دقیقه و زمان ۳۶۰ دقیقه هیدرولیز شده به مقدار ۲۳/۴۵ درصد بود در حالیکه کمترین میزان درجه هیدرولیز مربوط

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل روشی برای ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی ترکیبات محلول در آب و محلول در چربی است. ترکیبات با فعالیت الکترون دهی می توانند زنجیره رادیکالی را پایان داده و رادیکال آزاد فعال را به محصولات پایدارتر تبدیل کنند [۱۸]. تاثیر پیش تیمار ماکروویو بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت در شکل ۲ مورد بررسی قرار گرفته است.

شدن طول زنجیره پپتیدها، کاهش توزیع وزن مولکولی و افزایش مقدار اسیدهای آمینه آزاد می یابد [۱۷]. افزایش زمان و غلظت غلظت آلکالاز درجه ی هیدرولیز پروتئین هیدرولیز شده بادام از ۱۰ تا ۴۰ درصد افزایش یافت [۴].

تاثیر پیش تیمار ماکروویو بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت

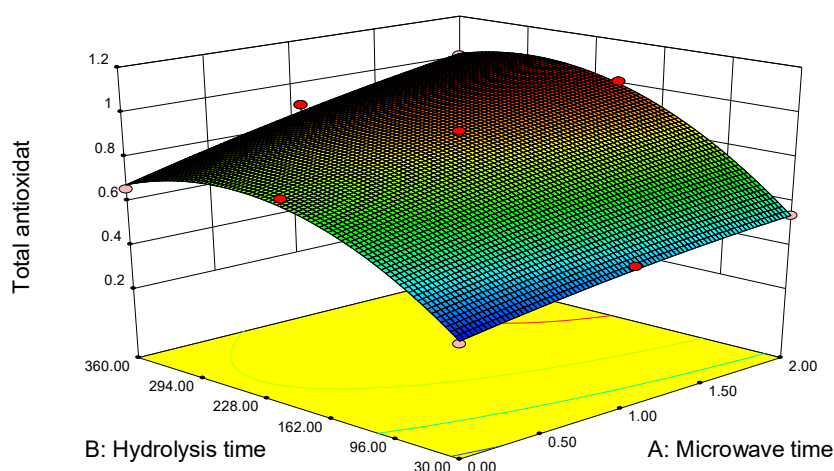


Figure 2: Effect of microwave time and hydrolysis time on total antioxidant activity of hydrolyzed corn gluten protein

همچنین نتایج شکل ۲ گویای این مطلب می باشد که با افزایش زمان هیدرولیز از ۲۰۰ دقیقه تا ۳۶۰ دقیقه میزان افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی نمونه های پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت روندی بسیار کندی داشت. فرایند حرارتی ماکروویو با تضعیف پیوندهای شیمیایی (اضافه کردن رفرنس). افزایش زمان هیدرولیز آنزیمی سبب افزایش آزادسازی پپتیدهایی با خاصیت الکترون دهی شده و این ترکیبات قادر به پایدارسازی رادیکال های آزاد بوده و این امر سبب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی کل می گردد در نتیجه می توان بیان کرد که همبستگی قابل توجهی بین درجه هیدرولیز و خاصیت آنتی اکسیدانی کل تا حد زیادی وجود دارد. که این پپتیدها می توانند رادیکال های آزاد را به ترکیباتی پایدار تبدیل کنند، در نتیجه با افزایش مدت زمان

با توجه به شکل ۲، با افزایش زمان پیش تیمار ماکروویو، میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی نمونه های پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت تحت تاثیر پیش تیمار ماکروویو به صورت معنی داری نسبت به نمونه شاهد روندی افزایشی داشت. بیشترین و کمترین میزان میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی کل مربوط به نمونه پیش تیمار تحت ماکروویو ۲ دقیقه و زمان ۳۶۰ دقیقه هیدرولیز شده و نمونه شاهد با مقادیر $0.36/1$ و $0.36/0$ (جذب در ۶۹۵ نانومتر) بود. براساس به نتایج می توان این گونه بیان کرد که با افزایش زمان پیش تیمار ماکروویو از ۱ به ۲ دقیقه در توان حرارتی ثابت ۹۰ وات و افزایش درجه هیدرولیز، میزان پپتیدها با وزن مولکولی پایین روندی افزایشی داشته، و این پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی بالاتری می باشند.

DPPH پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت

اندازه‌گیری فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH یکی از روش‌های معتبر، دقیق، آسان و مقرون‌به‌صرفه با قابلیت تکرارپذیری بالا می‌باشد که در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات گیاهی در شرایط آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. تاثیر پیش تیمار ماکروویو بر قدرت مهار رادیکال آزاد پروتئین هیدرولیز شده ذرت در شکل ۳ مورد بررسی قرار گرفته است.

هیدرولیز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل نمونه‌ها افزایش یافته است [۱۸]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیز شده به منبع پروتئین، نوع روش هیدرولیز، نوع پیش تیمار و برخی عوامل دیگر وابسته است [۱۹]. پپتیدها در مقایسه با پروتئین‌های اصلی خود به دلیل پیوندهای پپتیدی غنی از الکترون تولید شده توسط هیدرولیز آنزیمی و افزایش دسترسی زنجیره عملکردی جانبی به گونه‌های فعال دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی مناسب‌تری می‌باشند [۲۰].

تاثیر پیش تیمار ماکروویو بر قدرت مهار رادیکال آزاد

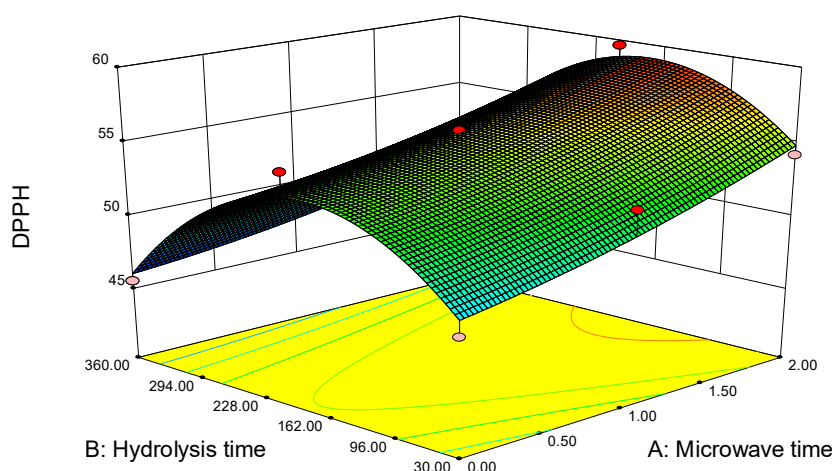


Figure 3: Effect of microwave time and hydrolysis time on DPPH radical scavenging (%) activity of hydrolyzed corn gluten protein

شد. یکی از فاکتورهای بسیار مهم در قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد، موقعیت و تعداد گروه‌های هیدروکسیل که بطور مستقیم در واکنش‌های اکسیداسیون احیاء شرکت می‌کنند، می‌باشد. در ترکیباتی که دارای وزن مولکولی پایین‌تری می‌باشند، قابلیت بیشتری جهت شرکت در واکنش‌های اکسیداسیون احیاء را دارند بنابراین این ترکیبات توانایی بیشتری برای نقل و انتقال گروه‌های هیدروکسیل دارند و دارای قدرت مهار رادیکال آزاد بیشتری هستند [۲۱]. سرابندی و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی اثر شرایط هیدرولیز آنزیمی کازئین با پانکراتین بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکردی کازئین هیدرولیز بیان کردند که هیدرولیز کازئین با ۲/۵ درصد پانکراتین منجر به افزایش مهار رادیکال DPPH (از ۱۱/۱۳ به ۴۲/۱۷ درصد) شد [۲۲]. فرایند هیدرولیز باعث رها شدن پپتیدهای

با توجه به شکل ۳، با افزایش زمان پیش تیمار ماکروویو از ۱ دقیقه به ۲ دقیقه، درصد مهار رادیکال آزاد نمونه‌های پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت تحت تاثیر پیش تیمار ماکروویو در توان ثابت ۹۰ وات به صورت معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد روندی افزایشی داشت. براساس نتایج، بیشترین و کمترین میزان درصد مهار رادیکال آزاد به ترتیب مربوط به نمونه‌های پیش تیمار تحت ماکروویو ۲ دقیقه و زمان ۱۹۵ دقیقه هیدرولیز شده و نمونه شاهد با مقادیر ۵۶/۶۳ و ۴۵/۵ درصد بود. نتایج شکل ۳ گویای این مطلب می‌باشد که با افزایش زمان هیدرولیز از ۱۹۵ دقیقه تا ۳۶۰ دقیقه میزان افزایش قدرت مهار رادیکال آزاد نمونه‌های پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت روندی بسیار کندی داشت. فرایند حرارتی ماکروویو با تضعیف پیوندهای شیمیایی سبب بهبود قدرت مهار رادیکال آزاد

بعدی کاهش یافته است.

تاثیر پیش تیمار ماکروویو بر قدرت شلاته‌کنندگی یون آهن پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت

تاثیر پیش تیمار ماکروویو بر قدرت شلاته‌کنندگی یون آهن پروتئین هیدرولیز شده ذرت در شکل ۴ مورد بررسی قرار گرفته است.

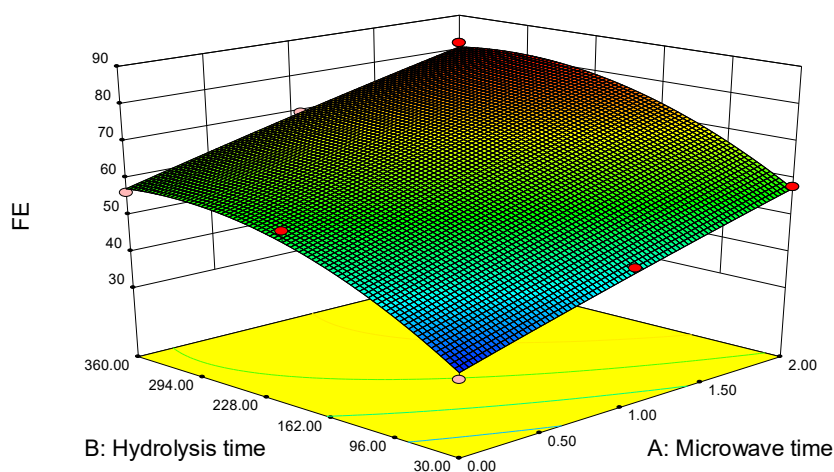


Figure 4: Effect of microwave time and hydrolysis time Iron chelating activity of hydrolyzed corn gluten protein

با توجه به شکل ۴، با افزایش زمان پیش تیمار ماکروویو از ۱ دقیقه به ۲ دقیقه، شلاته‌کنندگی یون آهن نمونه‌های پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت تحت تاثیر پیش تیمار ماکروویو در توان ثابت ۹۰ وات به صورت معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد روندی افزایشی داشت. براساس نتایج، بیشترین و کمترین میزان شلاته‌کنندگی یون آهن مربوط به نمونه پیش تیمار تحت ماکروویو ۲ دقیقه و زمان ۳۶۰ دقیقه هیدرولیز شده و نمونه شاهد به ترتیب با مقادیر ۸۱/۹۶ و ۳۰/۳۵ درصد بود. براساس به نتایج می‌توان این‌گونه بیان کرد که با افزایش زمان پیش تیمار ماکروویو از ۱ به ۲ دقیقه در توان حرارتی ثابت ۹۰ وات و افزایش درجه هیدرولیز همبستگی معنی‌داری بین درجه هیدرولیز و قدرت

آنتی‌اکسیدان از پروتئین می‌شود اما افزایش زمان هیدرولیز و اثر بیشتر آنزیم منجر به شکستن تعدادی از پپتیدهای آنتی‌اکسیدان تولید شده در مراحل اولیه هیدرولیز می‌گردد در نتیجه از فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH کاسته می‌شود [۲۳]. پس از تیمار مایکروویو، ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH دانه چیا در مقایسه با شاهد به ترتیب ۳۵/۱۳ درصد افزایش یافته است [۲۴]. احتمالاً پیشرفت هیدرولیز و تاثیر آنزیم بر پپتیدهای تولید شده در مراحل اولیه منجر به تخریب پپتیدهایی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا شده است در نتیجه قابلیت آنتی‌اکسیدانی تولیدی در مراحل

شلاته‌کنندگی یون آهن وجود دارد. نتایج شکل ۲ گویای این مطلب می‌باشد که با افزایش زمان هیدرولیز از ۱۹۵ دقیقه تا ۳۶۰ دقیقه میزان افزایش شلاته‌کنندگی یون آهن نمونه‌های پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت روندی بسیار کندی داشت. استفاده از پیش تیمار بهبود تاثیر آنزیم بر سوبسترا شده و در این حالت، بخش‌های با وزن مولکولی بالای پروتئین به بخش‌هایی با وزن مولکولی نسبتاً کوچک با ظرفیت اهدای الکترون تجزیه شوند که سبب بهبود ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد اما با پیشرفت بیش از حد درجه هیدرولیز و تشکیل قطعات پپتیدی با وزن مولکولی بسیار پایین از شدت فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات پروتئین کاسته می‌گردد [۲۵]. آنزیم‌های پروتئازی منجر به هضم شدن

باند‌های پپتیدی از طریق شکستن پیوند میان اسیدهای آمینه آبگریز سایر اسیدهای آمینه می‌گردد [۲۶]. ویژگی پروتئاز بر اندازه، مقدار، ترکیب اسید آمینه آزاد و پپتیدها و توالی اسید آمینه آن‌ها تأثیر می‌گذارد که به نوبه خود بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی هیدرولیز شده‌ها تأثیر می‌گذارد. قابلیت شلاته‌کنندگی پروتئین‌های هیدرولیز شده تحت تأثیر نوع آنزیم، میزان هیدرولیز و ساختار آمینواسیدی پروتئین اولیه قرار دارد [۲۷]. بنابراین، آنزیم آلکالاز احتمالاً سبب تولید پپتیدهایی با ترکیب آمینواسیدی مناسب و با قابلیت به‌دام اندازی یون آهن تولید شود.

تأثیر پیش تیمار ماکروویو بر قدرت احیاءکنندگی آهن پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت

از مهمترین ویژگی‌های ترکیبات آنتی‌اکسیدان‌ها در نمونه‌های غذایی، می‌توان قدرت احیاءکنندگی یون آهن اشاره کرد. تأثیر پیش تیمار ماکروویو بر قدرت احیاءکنندگی یون آهن پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت در شکل ۵ مورد بررسی قرار گرفته است.

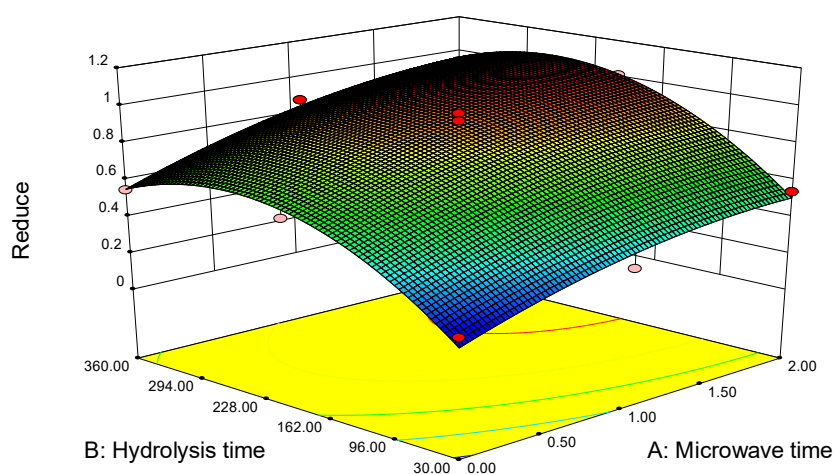


Figure 5: Effect of microwave time and hydrolysis time on Fe^{3+} reducing power of hydrolyzed corn gluten protein

افزایشی شده که این اتفاق سبب بالا رفتن قدرت احیاء-کنندگی شد. افزایش قدرت احیاءکنندگی پروتئین‌های هیدرولیز شده را می‌توان به شکست زنجیره پپتیدی، افزایش رهایش آمینواسیدهای با فعالیت ضد اکسایشی (مانند تریپتوفان، متیونین، لیزین، هیستیدین و تیروزین) و قابلیت مهار رادیکال آزاد نسبت داد [۲۲]. هیدرولیز آنزیمی، سبب شکستن اتصالات مجاور اسیدهای آمینه فنیل آلانین، تیروزین و تریپتوفان شده و به با شکسته شدن این پیوندهای پپتیدی و رها شدن آن‌ها از ساختار اصلی پروتئین‌ها، وزن مولکولی پروتئین‌های هیدرولیز شده و پپتیدها کاهش می‌یابد [۱۶]. در ادامه افزایش زمان و پیشرفت فرآیند هیدرولیز منجر به شکسته شدن بیشتر زنجیره‌های پپتیدی شده و در نتیجه

با توجه به شکل ۵، با افزایش زمان پیش تیمار ماکروویو از ۱ دقیقه به ۲ دقیقه، قدرت احیاءکنندگی نمونه‌های پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت تحت تأثیر پیش تیمار ماکروویو در توان ثابت ۹۰ وات به صورت معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد روندی افزایشی داشت. براساس نتایج، به ترتیب بیشترین و کمترین میزان قدرت احیاءکنندگی یون آهن پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت مربوط به نمونه پیش تیمار تحت ماکروویو ۲ دقیقه و زمان ۱۹۵ دقیقه هیدرولیز شده و نمونه شاهد با مقادیر ۱/۰۱ و ۰/۲۲ درصد بود. افزایش زمان هیدرولیز آنزیمی پروتئین گلوتن ذرت سبب افزایش میزان پپتیدها با وزن مولکولی پایین روندی

بر اساس تحلیل نتایج و به منظور رسیدن به بالاترین سطح ویژگی آنتی اکسیدانی در نمونه پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت، بالاترین ویژگی های آنتی-اکسیدانی تحت تاثیر ۲ دقیقه پیش تیمار ماکروویو با توان ۹۰ وات و در مدت زمان ۲۰۵ دقیقه هیدرولیز پروتئین گلوتن ذرت تحت آنزیم آلکالاز مشاهده گردید (شکل ۶) و تکرار آزمایشات برای صحت سنجی داده های خروجی نرم افزار با واقعیت، تأیید کننده این نتایج بود.

پپتیدهای با قابلیت الکترون دهی جهت احیاء یون آهن سه به یون آهن دو افزایش می یابند [۲۸]. افزایش مدت زمان فعالیت آنزیم، منجر به افزایش رهاسازی پپتیدهایی با خاصیت الکترون دهندگی می شود، که این پپتیدها می توانند رادیکال های آزاد را به ترکیباتی پایدار تبدیل کنند، در نتیجه با افزایش مدت زمان هیدرولیز، فعالیت آنتی اکسیدانی کل نمونه ها افزایش یافته است [۱۸].

بررسی تیمار بهینه پروتئین هیدرولیز شده گلوتن ذرت

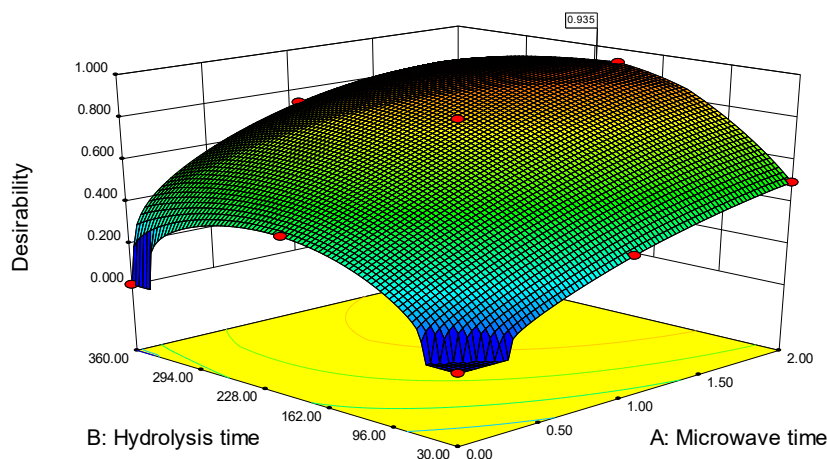


Figure 6: The selection of the proposed optimal treatment with the highest antioxidant activity for hydrolyzed corn gluten protein derived from the enzymatic hydrolysis using alcalase enzyme

تیمار ماکروویو سبب افزایش خطی روند درجه هیدرولیز گردید بالاترین ویژگی های آنتی اکسیدانی تحت تاثیر ۲ دقیقه پیش تیمار ماکروویو با توان ۹۰ وات و در مدت زمان ۲۰۵ دقیقه هیدرولیز پروتئین گلوتن ذرت تحت آنزیم آلکالاز مشاهده گردید. بنابراین استفاده از ماکروویو به عنوان پیش-تیمار روش مناسبی جهت افزایش ویژگی های آنتی اکسیدانی می باشد.

تضاد منافع

هیچ موردی برای اعلام وجود ندارد.

بیانیه تامین مالی

۴- نتیجه گیری

با توجه به افزایش بیماری های حاصل از استفاده از ترکیبات طبیعی نظیر پروتئین های گیاهی نظیر پروتئین گلوتن ذرت روایح بیشتری یافته است. استفاده از روش آنزیمی سبب بهبود ویژگی های آنتی اکسیدانی پروتئین های هیدرولیز شده اما به دلیل قیمت بالای آنزیم ها پژوهشگرا در پی استفاده از پیش تیمار برای کاهش مصرف و زمان فعالیت آنزیمی در جهت رسیدن به بالاترین ویژگی های آنزیمی هستند. نتایج این پژوهش حاکی از آن است که استفاده از فرایند حرارتی ماکروویو سبب بهبود ویژگی های آنتی اکسیدانی پروتئین گلوتن ذرت در مقایسه با نمونه شاهد شد افزایش زمان پیش

این پژوهش هیچ‌گونه حمایت مالی خاصی از نهادهای دولتی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرده‌است.

همه نویسندگان در طراحی، تحلیل، نگارش و تایید نسخه نهایی به این ترتیب مشارکت داشته‌اند.

منابع

مشارکت نویسندگان

- [1] Taha, F. S., Mohamed, S. S., Wagdy, S. M and Mohamed, G. F. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of enzymatic hydrolysis products from sunflower protein isolate. *World Applied Science Journal*, 21: 5.651-658.
- [2] Chakrabarti, S., S. and Guha Majumder, K. 2018. Food-derived bioactive peptides in human health: Challenges and opportunities. *Nutrients*, 10 (11): 1738.
- [3] Nimalaratne, C., Bandara, N and Wu, J. 2015. Purification and characterization of antioxidant peptides from enzymatically hydrolyzed chicken egg white. *Food chemistry*, 188: 467-472.
- [4] Jamdar, SN., Rajalakshmi, V., Pednekar, MD., Juan, F., Yardi, V., and Sharma, A. 2010. Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 121: 178-84.
- [5] Sun, S., and Canning, C. 2012. Production and functional characterisation of antioxidative hydrolysates from corn protein via enzymatic hydrolysis and ultrafiltration. *Food Chemistry*, 135, 1192-1197.
- [6] Zheng. X, Wang. J, Liu. X, Sun. Y, Zheng. X, Wang. X, and Liu. Y. 2015. Effect of hydrolysis time on the physicochemical and functional properties of corn glutelin by Protamex hydrolysis. *Food Chemistry* 172. 407-415.
- [7] Farzaneh, V. 2017. Carvalho, S.I. Modelling of Microwave Assisted Extraction (MAE) of Anthocyanins (TMA). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 6, 92-100.
- [8] Barbosa, J.T.P. Santos, C.M.M. Peralva, V.N. Flores, E.M.M. Korn, M. Nóbrega, J.A. and Korn, M.G.A. 2015. Microwave-assisted diluted acid digestion for trace elements analysis of edible soybean products. *Food Chemistry*. 175, 212-217.
- [9] Chen, Z., Li, Y., Lin, S., Wei, M., Du, F., and Ruan, G. 2014. Development of continuous microwave-assisted protein digestion with immobilized enzyme. *Biochemistry Biophysical Research Communication*. 445, 491-496.
- [10] Alain Gohi. B., Du. J., Zeng. H., Cao. X., and Zou. K. 2019. Microwave pretreatment and enzymolysis optimization of the Lotus Seed Protein. *Bioengineering*. 6.28. 1 -13.
- [11] Association of official analytical chemists (AOAC). 2000. Official methods of analysis of AOAC international Methods 934.01, 988.05, 920.39, 942.05. Arlington, VA, USA: AOAC International.
- [12] Zhou. C., Hu. J., Ma. H., El Gasim A., Yagoub. A., Yu. X, Owusu. J., Ma. H., and Qin. X. 2015. Antioxidant peptides from corn gluten meal: Orthogonal design evaluation. *Food Chemistry*. 187. 270-278.
- [13] Kim, S.Y., Park, P.S., and Rhee, K.C. 2015. Functional properties of proteolytic enzyme modified soy protein isolate. 14 - 21.
- [14] Prieto, P., Pineda, M., and Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2), 337-341.
- [15] Chi, C. F., Hu, F. Y., Wang, B., Li, T., and Ding, G. F. 2015. Antioxidant and anticancer peptides from the protein hydrolysate of blood clam (*Tegillarca granosa*) muscle. *Journal of Functional Foods*, 15, 301-313.
- [16] Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., and Nasri, M. 2009. Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chemistry*, 114(4), 1198-1205.
- [17] Ahmadi, F., Kadivar, M., and Shahedi, M. 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff. In model and food systems. *Food Chemistry*, 105: 57-64
- [18] Pan, X., Zhao, Y. Q., Hu, F. Y., and Wang,

- B. 2016. Preparation and identification of antioxidant peptides from protein hydrolysate of skate (*Raja porosa*) cartilage. *Journal of Functional Foods*, 25, 220-230.
- [19] Mine, Y., Li-Chan, E., and Jiang, B. 2010. Bioactive proteins and peptides as functional foods and nutraceuticals. (pp. 1-40). USA: John Wiley & Sons Publication, Inc. and IFT Press.
- [20] Udenigwe, C. C., and Aluko, R. E. 2011. Chemometric analysis of the amino acid requirements of antioxidant food protein hydrolysates. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(5), 3148-3161.
- [21] Zhou, C., Hu, J., Yu, X., ElGasim A. E., Zhang, Y., Ma, H., Gao, X., and Yarley Ou, P. 2016. Heat and/or ultrasound pretreatments motivated enzymolysis of corn gluten meal: Hydrolysis kinetics and protein structure. *LWT Food Science and Technology*. 1 – 42.
- [22] Sarabandi, Kh., Sadeghi Mahoonak, A. R., Hamishehkar, H., Ghorbani, M. and Jafari, S. M. 2018. Effect of casein enzymatic hydrolysis by pancreatin conditions on functional and antioxidant properties of casein hydrolysate. *Journal Food Science and Technology*. 303 – 318. (Iranian Journal).
- [23] Meshginfar, N., Sadeghi, M. A., Ziaiiifar, A. M., Ghorbani, M., and Kashaninejad, M. 2014. Optimization of the production of protein hydrolysates from meat industry by products by response surface methodology. *Journal of Food Research*. 24 (2): 215-225. (In Persian)
- [24] Urbizo-Reyes, U., San Martin-González, M. F., García-Bravo, J., Vigil, A. L. M., and Liceaga, A. M. 2019. Physicochemical characteristics of chia seed (*Salvia hispanica*) protein hydrolysates produced using ultrasonication followed by microwave-assisted hydrolysis. *Food Hydrocolloids*, 97, 105187.
- [25] Aderinola, T. A., Fagbemi, T. N., Enujiugha, V. N., Alashi, A. M., and Aluko, R. E. 2019. In vitro antihypertensive and antioxidative properties of alcalase-derived *Moringa oleifera* seed globulin hydrolysate and its membrane fractions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(2), e13862.
- [26] Udenigwe, C. C., and Aluko, R. E. 2011. Chemometric analysis of the amino acid requirements of antioxidant food protein hydrolysates. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(5), 3148-3161.
- [27] Saha, M., Eskicioglu, C., and Marin, J. 2011. Microwave, ultrasonic and chemo-mechanical pretreatments for enhancing methane potential of pulp mill wastewater treatment sludge. *Bioresource Technology*, 102(17), 7815-7826.
- [28] J. Y., Lee, K. H., Lee, M. H., and Ahn, C. B. 2009. Antioxidant and antihypertensive protein hydrolysates produced from tuna liver by enzymatic hydrolysis. *Food Research International*, 42(9), 1266-1272. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.06.013>



Scientific Research

Optimization Microwave treatment on improving antioxidant properties corn gluten hydrolyzed

Taherian, A. ^{1*}, SadeghiMahoonak, A. ², Ghorbani, M. ³, Mirzaii, H. ³

- 1- PhD Student of food chemistry., Department of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran.
- 2- Professor, Department of Food Science & Technology Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources Gorgan, I.R. Iran.
- 3- Associate Professor, Department of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan, I.R. Iran.

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2023/10/27

Review: 2025/05/27

Accepted: 2025/12/30

Keywords:

enzymatic hydrolysis,

corn gluten,

microwave,

alcalase enzyme

DOI: 10.48311/fsct.2026.83632.0

*Corresponding Author E-

A.Taherian2014@gmail.com

The purpose of this research was to investigate the effect of hydrolysis time and microwave pretreatment on the enzymatic hydrolysis of corn gluten with alcalase enzyme for producing corn hydrolyzed with the highest antioxidant capacity. First, corn gluten powder was hydrolyzed at 90 watts with a ratio of enzyme to substrate of 1% and at the temperature of 50 °C in optimization design by applying changes in the pretreatment time (1-2 minutes) and enzymatic hydrolysis time (30-360 minutes) compared with the control sample. The results show that increasing the microwave time increased the ability of free radicals and total oxidative composition in shorter hydrolysis times. Applying microwave pretreatment increased the degree of hydrolysis linearly compared to the sample. The highest level of free radical ability was observed in the samples treated and treated by microwave with 2 minutes in 195 minutes of hydrolysis, 55.40 and 59.63, respectively. The amount of total oxidative value equal to 1.01% was obtained for 2 minutes of microwave treatment and 360 minutes of enzymatic hydrolysis. The best pretreatment conditions to achieve the highest antioxidant properties were 2 minutes and 205 minutes of enzymatic hydrolysis. Therefore, microwave pretreatment with high power shortens the hydrolysis time to obtain peptides with higher oxidative resistance and increases the efficiency of enzymatic hydrolysis.