مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی تاثیر پیش تیمار مایکرویو بر ویژگی‌های آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده بذر کتان

نادر سندگل[۱]، سید حسین حسینی قابوس[۲*]، علیرضا صادقی ماهونک[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

۲- استادیار مرکز تحقیقات صنایع غذایی شرق گلستان، واحد آزاد شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

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

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۴

کلمات کلیدی:

آنتی‌اکسیدان،

بذر کتان،

پانکراتین،

پروتئین هیدرولیز شده،

مایکروویو

DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190.

مسئول مکاتبات: *

Hosseinighaboos@yahoo.com

چکیده

در این پژوهش تاثیر پیش‌تیمار مایکروویو در توان‌های ۵۰۰ و ۹۰۰ وات بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال DPPH و آنتی اکسیدانی کل) پروتئین هیدرولیز شده بذر کتان در بازه زمانی ۲۱۰۰-۳۰ دقیقه بررسی گردید. در مرحله بعد تاثیر غلظت‌های متفاوت (۲۰-۱۰۰ mg/ml) تیمار بهینه بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی (ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، فعالیت احیاء کنندگی یون آهن، مهار رادیکال DPPH و شلاته کنندگی یون آهن) بررسی و با خاصیت آنتی اکسیدانی ویتامین ث به‌عنوان یک آنتی اکسیدان سنتزی و پروتئین هیدرولیز نشده بذر کتان مقایسه شد. نتایج نشان داد که پیش‌تیمار مایکروویو در توان ۵۰۰ وات به‌طور معنی‌داری باعث افزایش خواص آنتی اکسیدانی (مهار رادیکال DPPH و آنتی اکسیدانی کل) پروتئین هیدرولیز شده بذر کتان شد اما توان بیشتر مایکروویو (۹۰۰ وات) باعث کاهش خاصیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده تولیدی نسبت به نمونه بدون اعمال پیش تیمار و یا نمونه با اعمال پیش تیمار مایکروویو با توان ۵۰۰ وات شد. نمونه با اعمال پیش تیمار مایکروویو با توان ۵۰۰ وات و زمان هیدرولیز ۱۸۰ دقیقه به‌نوان تیمار بهینه با بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH به‌عنوان تیمار بهینه انتخاب شد. بررسی تاثیر غلظت بر خواص آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده نشان داد که بیشترین مهار رادیکال آزاد DPPH (۵۲/۷ درصد)، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (۱/۳۵ جذب در ۶۹۵ نانومتر)، فعالیت احیاء کنندگی یون آهن (۰/۸۵۹ جذب در ۷۰۰ نانومتر) در غلظت (mg/ml) ۶۰ و بیشترین فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن (۵۰/۸۳ درصد) در غلظت (mg/ml) ۸۰ حاصل شد. در نتیجه پروتئین هیدرولیز شده بذر کتان با دارا بودن قابلیت آنتی اکسیدانی مناسب قابلیت کاربرد در تولید محصولات غذایی فراسودمند، مکمل‌های غذایی ورزشکاران و سالمندان را دارد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]

۱-مقدمه

رادیکال‌های آزاد در بروز بیماری‌های خطرناک مانند سرطان، زخم معده و آلزایمر نقش مهمی دارند. تشکیل رادیکال‌های آزاد در اندام‌های هوازی در طول تنفس امری غیرممکن است. این رادیکال‌ها ناپایدار بوده و به سرعت با سایر ترکیبات موجود در بدن واکنش می دهند و باعث آسیب سلول‌ها می‌شوند (۱). اکسیداسیون لیپیدها از مهم‌ترین چالش‌های صنعت موادغذایی نیز می‌باشد چرا که علاوه بر اثرات خطرناک بر سلامت انسان، باعث تشکیل ترکیبات خطرناک و هم چنین مواد بد بو و بدطعم می گردد که خسارات اقتصادی جبران ناپذیری به تولیدکنندگان وارد می‌کند (۲). آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مثل BHA[1]، BHT[2]، PG[3] و TBHQ[4] خاصیت آنتی اکسیدانی بسیار قابل قبولی دارند و قیمت مناسبی دارند اما عوارض نامطلوب آنها بر سلامتی انسان باعث ایجاد نگرانی در بین پژوهشگران شده در نتیجه در بسیاری از کشورها کاربرد آنها در فرمولاسیون مواد غذایی محدود و یا متوقف گردیده است (۳). از این رو در سال‌های اخیر شناسایی و استخراج ترکیبات آنتی اکسیدان طبیعی از موضوعات بسیار مورد توجه پژوهشگران تبدیل شده است. در میان ترکیبات طبیعی با قابلیت آنتی‌اکسیدانی، پپتیدهای زیست‌فعال حاوی ۲۰-۲ آمینو اسید بوده و دارای وزن مولکولی کمتر از ۶۰۰۰ دالتون هستند و به وسیله هیدرولیز آنزیمی، سنتز شیمیایی و یا تخمیر میکروبی تولید می‌شوند (٤). در سالهای اخیر پپتیدها و پروتئین هیدرولیز شده با خاصیت آنتی اکسیدانی از منابع گیاهی مختلفی استخراج شده است از جمله بادام زمینی (۵)، هسته انگور (٦)، جوانه گندم (۷)، کدو (۸) و شنبلیله (۹). در میان منابع گیاهی مناسب جهت استخراج پپتیدهای زیست فعال بذر کتان گزینه مناسبی است. دانه‌های کتان قرن‌هاست که به‌عنوان ماده غذایی مصرف می شود. بیشتر پروفایل اسیدهای چرب آن را آلفالینولنیک اسید تشکیل می‌دهد و دارای امگا۳ فراوان می‌باشد که باعث کاهش بیماریهای قلبی و عروقی، فشارخون، افسردگی، پوکی استخوان، روماتیسم مفاصل، کاهش وزن، دیابت و بیماری های دستگاه گوارش می‌شود. دارای ۲۵ ٪فیبر و ۱۹تا ۲۹ ٪ پروتئین و ۸ ٪ ترکیبات موسیلاژی و ۳/٦۷ ٪ خاکستر است و به‌عنوان غنی کننده در ایالات متحده و کشورهای اروپایی استفاده می‌گردد (۱۰). کارایی فرایند هیدرولیز آنزیمی در بهبود خواص عملکردی و زیست‌فعالی پروتئین‌های غذایی در بسیاری از مطالعات اثبات شده است؛ با این وجود کاربرد پیش‌تیمارهایی که منجر به عملکرد بهتر آنزیم‌ها و تولید پروتئین هیدرولیز شده با خواص آنتی اکسیدانی بیشتر شود از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. در میان پیش تیمارهای مناسب همچون مایکروویو، اولتراسوند، اهمیک و گرما، مایکروویو تکنولوژی مناسبی است که در سال‌های اخیر کاربرد آن در بهبود ویژگی‌های سلامتی بخشی پروتئین‌های هیدرولیز شده گسترش یافته است (۱۱). مایکروویو یک روش سریع، راحت و مقرون به صرفه برای گرم کردن می‌باشد که با پلاریزه کردن درشت مولکول ها اثر حرارتی خود را ایجاد می‌کند، این امر منجر به همسویی قطب های میدان الکترومغناطیسی می شود که در نتیجه ممکن است باعث شکستن پیوندهای هیدروژنی و قرارگیری بهتر پروتئین‌ها در معرض آنزیم شود (۱۲). بنابراین با توجه به موارد گفته شده هدف از این پژوهش بررسی تاثیر پیش‌تیمار مایکروویو در توان‌های مختلف (۹۰۰ و ۵۰۰ وات) بر خواص آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال DPPH[5] و آنتی اکسیدانی کل) پروتئین هیدرولیز شده بذر کتان با استفاده از آنزیم پانکراتین در بازه زمانی ۲۱۰-۲۰ دقیقه بود. در مرحله بعد تاثیر غلظت‌های متفاوت (mg/ml ۲۰-۱۰۰) بر خواص آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال DPPH، آنتی اکسیدانی کل، احیاء کنندگی یون آهن و شلاته کنندگی یون آهن) پروتئین هیدرولیز شده بهینه بررسی شد.

1 -butylated hydroxyanisole
2 -butylatedhydroxytoluene
3 -propyl gallate
4 -Tertiary butylhydroquinone
5 -2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]
[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

آمونیوم مولیبدات، پانکراتین، دی کلرید آهن، فریک کلرید، فروزین، آسکوربیک اسید و DPPH از شرکت مرک و اتانول، سدیم تری فسفات، اسید سولفوریک، سود، اسیدکلریدریک، پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات، دی پتاسیم هیدروژن فسفات از شرکت سیگما و بذر کتان از عطاری در مرکز شهر تهران خریداری شدند.

۲-۲- استخراج پروتئین

در ابتدا کنجاله بذر کتان با آسیاب الکتریکی پودر و به منظور چربی زدایی، آرد حاصل به نسبت ۱:٤ (وزنی/ حجمی) با هگزان مخلوط و به مدت ۳ ساعت در دمای اتاق همزده شد. سپس با استفاده از قیف بوخنر هگزان جدا و پودر چربی گیری شده در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد خشک گردید و سپس از الک با مش ٤۰ عبور داده شد. عملیات استخراج پروتئین از پودر چربی زدایی شده به اینصورت بود که پودر حاصل به نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر با pH=۱۰ مخلوط و به مدت ۲ ساعت همزده شد، سپس محلول حاصل در ٤۵۰۰×g به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ شد. در مرحله بعد pH سوپرناتانت در pH =٤ (pH ایزوالکتریک) تنظیم شد. سپس برای رسوب پروتئین‌ها، محلول حاصل در ٤۵۰۰×g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد و رسوب پروتئین با آب مقطر دو بار شسته شده و در ٤۵۰۰×g، به مدت ۵ دقیقه مجددا سانتریفوژ شد. سپس ایزوله پروتئین حاصل با خشک کن انجمادی خشک و تا انجام ازمون‌های بعدی در دمای ٤°C نگهداری گردید (٦).

۲-۳- پیش تیمار مایکرویو

ابتدا محلول ۵ درصد پروتئین کتان در بافر فسفات (M ۰/۲، pH =۷) تهیه شد. محلول حاصل در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد بمدت ۲٤ ساعت حل گردید. پیش تیمار مایکرویو در توان‌های ۷۰۰ و ۵۰۰ وات به‌مدت ۱ دقیقه اعمال شد (۱۳).

٤-۲- تولید پروتئین هیدرولیز شده‌ی بذر کتان

ایزوله‌ی پروتئین بذر کتان (نمونه‌ی بدون اعمال مایکرویو، نمونه‌های تیمار شده با مایکرویو) در غلظت ۵٪ در بافر فسفات مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه برای هیدراته شدن کامل در دمای محیط همزده شد. سپس نمونه‌ها درون انکوباتور (دمای ٤۰ درجه سانتی گراد) قرار داده شده و پانکراتین به نسبت ۱/۵ درصد اضافه شد. واکنش در زمان ۲۱۰-۳۰ دقیقه انجام شد. در هر مرحله پس از سپری شدن زمان‌های لازم، جهت غیرفعال‌سازی آنزیم، نمونه‌ها درون حمام آب با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد منتقل و پس از ۱۰ دقیقه برای رسیدن به دمای محیط در ظرف یخ قرار داده شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها سانتریفوژ (دور g× ۸۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه) و سوپرناتانت حاصل با استفاده از ه خشک‌کن انجمادی خشک و تا زمان انجام آزمون‌ها در ظروف تیره به دور از نور و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (١٤).

٤-۲- ویژگی‌های آنتی اکسیدانی

۱-٤-۲- فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

جهت ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH نمونه‌های پروتئین هیدرولیز شده بذر کتان در غلظت ٤۰mg/ml در آب مقطر تهیه شدند. سپس به نسبت ۱:۱، ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول اتانولی DPPH در غلظت ۰/۱۵mM به ۱/۵ میلی‌لیتر از هر نمونه اضافه و برای اختلاط کامل ۲۰ ثانیه ورتکس شدند. سپس مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شدو در نهایت در ۲۵۰۰rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. جذب سوپرناتانت جدا شده در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد (۱۵). درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از فرمول شماره ۱ محاسبه گردید:

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]

$$I\ (\%) = [\frac{Ablank - Asample}{Ablank}] \times 100 \quad (۱)$$

A_{blank} جذب شاهد و A_{sample} جذب نمونه می‌باشند.

۲-٤-۲- ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

جهت اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی کل نمونه‌ها، ml ۰/۱ از نمونه حل شده در آب مقطر (غلظت ٤۰mg/ml) با ۱ml از معرف (اسیدسولفوریک M ۰/٦، فسفات سدیم ۲۸ Mm و آمونیوم مولیبدات ٤ mM) مخلوط و به مدت ۹۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۹۰ºC قرار داده شد. در نهایت پس از سرد شدن نمونه ها و رسیدن به دمای محیط جذب نمونه‌ها در ٦۹۵ nm قرائت شد. جذب بیشتر نشان دهنده‌ی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل بیشتر است (۱٦).

۲-۵- بررسی تاثیر غلظت بر خصوصیات آنتی اکسیدانی تیمار بهینه پروتئین هیدرولیز شده بذر کتان

برای ارزیابی تاثیر غلظت (۲۰mg/ml-۱۰۰) بر مهار رادیکال آزاد DPPH و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل تیمار بهینه به ترتیب از روش Kaveh و همکاران (۲۰۲٤) و Prieto و همکاران (۱۹۹۹) که در قسمت قبل ذکر گردید استفاده شد (۱۵ و ۱٦).

۲-۵-۱- فعالیت شلاته کنندگی یون آهن

جهت اندازه گیری توانایی نمونه ها در شلاته‌کنندگی یون آهن، ابتدا ۱ میلی لیتر پروتئین هیدرولیز شده حل شده در آب مقطر در غلظت (۲۰mg/ml-۱۰۰) با ۰/۰۵ml محلول دی کلرید آهن (۲mM) و ۱/۸۵ml آب دوبار تقطیر مخلوط شد. سپس ۰/۱ml محلول فروزین (۵mM) اضافه و مخلوط هم‌زده شد. در مرحله آخر به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد و سپس جذب آن در ۵٦۲nm خوانده شد (۵). فعالیت شلاته‌کنندگی نمونه‌ها با استفاده از معادله (۲) محاسبه گردید:

$$\text{Chelating effect}\ (\%) = [(A_{control} - A_{sample}/A_{control})] \times 100 \quad (۲)$$

A_{blank} (جذب نمونه شاهد فاقد ترکیب فعال) و A_{sample} (جذب نمونه هیدرولیز شده) هستند.

۲-۵-۲- قدرت احیاء کنندگی یون آهن

برای بررسی قدرت احیاءکنندگی یون آهن پروتئین هیدرولیز شده حاصل، ۰/۵ml نمونه حل شده در آب مقطر در غلظت (۲۰-۱۰۰mg/ml) با ۰/۵ml بافرفسفات ۰/۲M (pH=٦/٦) و ۰/۵ml پتاسیم فری‌سیانید (W/V) ٪۱ مخلوط و در ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شد. سپس در مرحله بعد، ۰/۵ml محلول تری‌کلرو استیک اسید ٪۱۰ به مخلوط افزوده شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰۰rpm سانتریفوژ گردید. در نهایت، ۱ml از سوپرناتانت حاصل با ۱ml آب مقطر و ۰/۲ml فریک کلراید (W/V) ٪۰/۱ مخلوط گردید و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. جذب نمونه‌ها در ۷۰۰nm خوانده شد. افزایش جذب مخلوط حاکی از افزایش قدرت احیاءکنندگی است (۱۷).

۲-٦- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی با کاربرد آنالیز واریانس یک طرفه و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱٦ ارزیابی شد. آزمون‌ها در ۳ تکرار و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن برای بررسی معنی‌دار بودن متغیر در سطح $p<۰/۰۵$ انجام شد. با استفاده از نرم‌افزار Excel 2013 نمودارها رسم گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱ فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

DPPH، رادیکالی آزاد و محلول در چربی است که در طول موج ۵۱۷ نانومتر دارای بیشترین جذب است و با دریافت هیدروژن از ترکیبی آنتی‌اکسیدان، پایدار گشته و جذب آن

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]

کاهش می‌یابد (۱۸). نتایج حاصل از بررسی زمان هیدرولیز نشان داد (شکل ۳۱) که در نمونه‌های بدون پیش تیمار مایکروویو و نمونه با پیش تیمار مایکروویو با توان ۵۰۰ وات، افزایش زمان هیدرولیز تا ۱۸۰ دقیقه باعث افزایش فعالیت مهار مهار رادیکال DPPH به‌ترتیب به‌میزان ۴۳/۷۵ و ۵۱/۴۳ درصد شد و با افزایش بیشتر زمان هیدرولیز تاثیر معنی‌داری در پی نداشت ($p>0/05$). از طرف دیگر در تیمار با اعمال پیش تیمار مایکروویو با توان ۹۰۰ وات افزایش زمان هیدرولیز تا ۹۰ دقیقه باعث افزایش معنی‌دار فعالیت مهار رادیکال DPPH شد، هیدرولیز به میزان ۱۲۰ دقیقه تفاوت معنی داری با نمونه هیدرولیز شده در ۹۰ دقیقه نداشت و افزایش بیشتر زمان هیدرولیز باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده گشت. پیشرفت فرآیند هیدرولیز طی افزایش زمان منجر به تولید پپتیدهای دهنده‌ی پروتون می‌گرددکه می‌توانند با رادیکال آزاد DPPH، واکنش دهند و ترکیباتی پایدار تولید کنند و باعث اتمام واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکالی گردند. تاثیر نامطلوب افزایش بیش از اندازه زمان هیدرولیز آنزیمی ممکن است به‌دلیل تاثیر بیشتر آنزیم باشد که منجر به شکسته شدن و تجزیه تعدادی از پپتیدهای آنتی‌اکسیدان می‌گردد که در مراحل اولیه هیدرولیز تولیده شده‌اند، که این فرآیند باعث کاهش قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH می‌شود (۱۹). در تطابق با این نتایج Batista و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که افزایش درجه هیدرولیز و زمان باعث افزایش فعالیت مهار رادیکال DPPH پروتئین هیدرولیز شده ماهی خرچنگ سیاه[6] گشت. آنها افزایش میزان پپتیدهای دهنده‌ی هیدروژن که توانایی واکنش با رادیکال‌های ازاد را دارند، علت این نتایج دانستند (۲۰). مشابه با این نتایج Kaveh و همکاران (۲۰۲۳)، Jamdar و همکاران (۲۰۱۰) و You و همکاران (۲۰۰۹) به‌ترتیب با هیدرولیز پروتئین‌های امعاء و احشاء هوور مسقطی و بادام زمینی تاثیر مثبت زمان هیدرولیز را بر قابلیت مهار رادیکال DPPH گزارش کردند (۳ و ۵). همچنین کاوه و همکاران (۱۳۹۸) نیز با هیدرولیز پروتئین دانه شنبلیله بیان کردند که افزایش زمان هیدرولیز تا ۱۶۰ دقیقه باعث افزایش فعالیت پروتیئن هیدرولیز شده در مهار رادیکال DPPH تا حدود ٤٨ درصد شد و افزایش بیشتر زمان تاثیر معنی داری نداشت (۱۸). از طرف دیگر اعمال پیش تیمار مایکروویو با توان ۵۰۰ وات باعث افزایش فعالیت مهار رادیکال DPPH نسبت به نمونه بدون اعمال پیش تیمار مایکروویو شد اما تنها تیمار هیدرولیز شده در زمان ۳۰ دقیقه فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به نمونه با پیش تیمار ۵۰۰ وات داشت و در زمان‌های هیدرولیز تا ۱۲۰ دقیقه تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های با پیش تیمار ۵۰۰ و ۹۰۰ وات مشاهده نشد و در زمان‌های هیدرولیز بیشتر تا ۲۱۰ دقیقه نمونه‌های با پیش‌تیمار ۹۰۰ وات دارای فعالیت مهار رادیکال DPPH کمتری نسبت به نمونه‌های با پیش تیمار ۵۰۰ وات داشتند. بهبود توانایی پروتئین هیدرولیز شده در مهار رادیکال DPPH با استفاده از پیش تیمار مایکروویو با توان ۵۰۰ وات می‌تواند به‌این دلیل باشد که امواج مایکروویو باعث تبخیر آب در سلول‌ها و افزایش فشار در محیط داخلی می شود که این امر منجر به تجزیه ترکیبات درون سلولی، از هم گسیختگی غشاء و در نتیجه تجزیه آن شده که باعث تسهیل در فرآیند آنزیمولیز پروتئین ها می‌شود (۲۱)، قابل ذکر است که مایکروویو می تواند تاثیرات بیولوژیکی و شیمیایی مختلفی برحسب قدرت و زمان اعمال پیش تیمار مایکروویو ایجاد کند. اثر منفی پیش تیمار مایکروویو در توان ۹۰۰ وات بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی هیدرولیز شده‌های تولیدی می‌تواند به‌دلیل تغییرات نامطلوب در ساختار دوم پروتئین و کاهش میزان ساختار مارپیچ آلفا[7] و ورقه‌ی بتا[8] باشد (۲۲). به‌طور کلی می‌توان گفت تغییر در اندازه، میزان و ترکیب آمینواسیدهای ازاد و پپتیدها به‌ویژه پپتیدهایی با وزن مولکولی کم تاثیر به‌سزایی بر خاصیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده تولیدی دارند (۲۳). در تطابق با این یافته‌ها Uluko و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی تاثیر پیش تیمار مایکروویو بر فعالیت مهار رادیکال DPPH پروتئین هیدرولیز شده کنسانتره شیر، افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی

6- black scabbardfish
7-α -helix
8-β -sheet

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]
[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]

هیدرولیز شده‌های حاصل را گزارش کردند (۲۴). در حالیکه Noman و همکاران (۲۰۲۰) اثر منفی پیش تیمار مایکروویو را بر فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده ماهی خاویار چینی[9] گزارش کردند (۲۵).

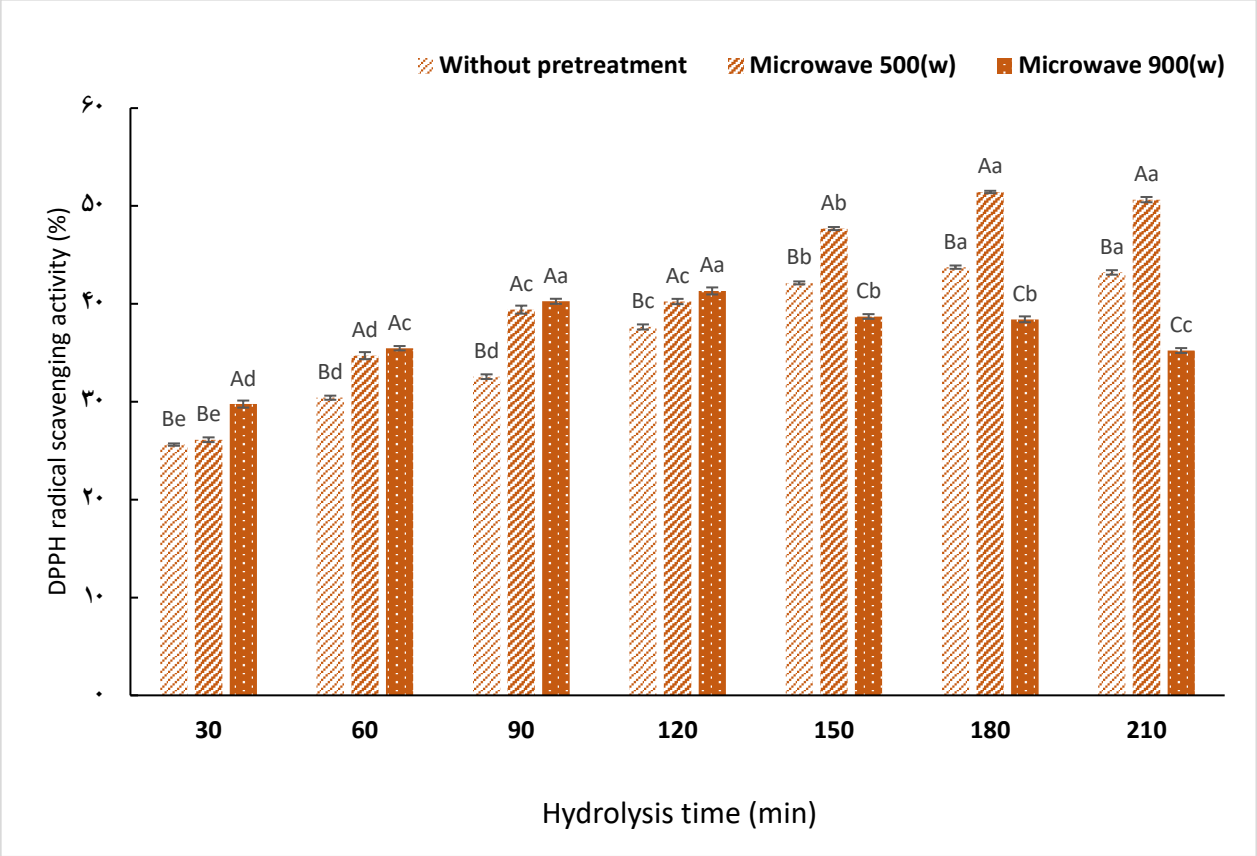

Figure 1- DPPH radical scavenging activity of flax seed protein hydrolysate

۲-۳- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

آزمون ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل روشی کمی برای بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی محلول در آب و محلول در چربی (قدرت آنتی‌اکسیدانی کل) ترکیبات آنتی اکسیدان است. این روش بر مبنای احیای یون مولیبدن ٦ ظرفیتی به یون مولیبدن ٥ ظرفیتی می‌باشد که همراه با تشکیل کمپلکس سبز رنگ فسفومولیبدن در محیط اسیدی همراه است (۱۸). همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است، در نمونه‌های بدون اعمال پیش تیمار مایکروویو افزایش زمان هیدرولیز تا ۱۸۰ دقیقه باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی کل تا ۰/۹٦۳ (جذب در ٦۹٥ نانومتر) شد و افزایش بیشتر زمان هیدرولیز در نمونه کنترل تاثیر معنی‌داری بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل نمونه‌ها نداشت ($p>0.05$). از سوی دیگر در نمونه با پیش-تیمار مایکروویو با توان ۵۰۰ وات افزایش زمان هیدرولیز تا ۱۵۰ دقیقه باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی کل به میزان ۱/۲٤٥ (جذب در ٦۹٥ نانومتر) شد، افزایش زمان تا ۱۸۰ دقیقه تاثیر معنی داری ایجاد نکرد، اما افزایش بیشتر زمان تا ۲۱۰ دقیقه باعث کاهش معنی دار ظرفیت آنتی اکسیدانی کل تا ۱/۰٤۱ شد ($p<0.05$). در نمونه‌های با اعمال پیش تیمار مایکروویو با توان ۹۰۰ وات با افزایش زمان هیدرولیز تا ۱۵۰ دقیقه، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل افزایش یافت اما افزایش بیشتر زمان هیدرولیز تاثیری منفی داشت. به‌طور کلی در زمان هیدرولیز بیشتر از ۱۸۰ دقیقه ظرفیت آنتی اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیز شده به ترتیب عبارت بودند از نمونه با اعمال پیش تیمار مایکروویو ۵۰۰وات > نمونه بدون اعمال پیش تیمار > نمونه با اعمال پیش تیمار مایکروویو ۹۰۰ وات.

9 -Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]

در زمان‌های هیدرولیز ۱۲۰ و ٦۰، ۳۰ دقیقه نیز بیشتر ظرفیت آنتی اکسیدانی مربوط به نمونه با اعمال پیش تیمار مایکروویو به میزان ۵۰۰ وات بود و بین نمونه با پیش تیمار مایکروویو ۹۰۰ وات و نمونه بدون اعمال پیش تیمار تفاوت معنی داری وجود نداشت (p>۰/۰۵). تاثیر مثبت پیش تیمار مایکروویو بر فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده می‌تواند به‌دلیل توانایی آن بر تجزیه تجمعات مولکولی پروتئین بذر کتان باشد که این امر باعث افزایش حساسیت باندهای پپتیدی پروتئین به هیدرولیز توسط آنزیم پروتئازی (پانکراتین) گشته است. قابل ذکر است که پیامد این فرآیند به‌میزان زیادی به توان و طول در معرض قرار گرفتن امواج مایکروویو دارد (۲۲)، که همانطور که مشاهده شد توان ۹۰۰ وات مایکروویو نسبت به توان ۵۰۰ وات تاثیر منفی بر فعالیت آنتی اکسیدانی داشت. تاثیر منفی پیش تیمار مایکروویو در توان ۹۰۰ وات می‌تواند به‌دلیل تغییرات نامطلوب در ساختار پروتئین باشد که از رهایش پپتیدهای آنتی اکسیدانی جلوگیری کرده است (۲٤). از سوی دیگر تاثیر مثبت فزایش زمان هیدرولیز ممکن است ناشی از رهایش پپتیدهایی با توانایی الکترون‌دهندگی باشد که منجر به تبدیل رادیکال‌های آزاد به ترکیباتی پایدارتر می‌شوند که این امر افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیز شده را در پی دارد (۲٦). مشابه این نتایج مظلومی و همکاران (۱۳۹۸) با هیدرولیز پروتئین هسته پرتقال با آلکالاز بیان کردند که افزایش زمان هیدرولیز باعث افزایش ظرفیت آنتی-اکسیدانی کل پروتئین‌های هیدرولیز شده داشت و بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل پس از هیدرولیز به مدت ٤/۸ ساعت حاصل شد (۲۷). در این راستا، کاوه و همکاران (۱۳۹۸) نتایج مشابهی را در فرایند هیدرولیز پروتئین شنبلیله گزارش کردند. آنها بیان کردند که افزایش زمان هیدرولیز تا ۱٦۰ دقیقه توسط آنزیم پانکراتین منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیز شده‌ی تولیدی شد اما افزایش بیشتر هیدرولیز تاثیری معنی‌دار بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل هیدرولیز شده‌های تولیدی نداشت (۱۷). همچنین مشابه با این یافته‌ها Yang و همکاران (۲۰۱۳) تاثیر مثبت پیش تیمار مایکروویو را بر فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده سفیده تخم مرغ گزارش کردند (۲۸). Zhang و همکاران (۲۰۱۹) نیز تاثیر مثبت پیش تیمار مایکروویو را بر فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده سیب زمینی شیرین گزارش کردند (۲۹).

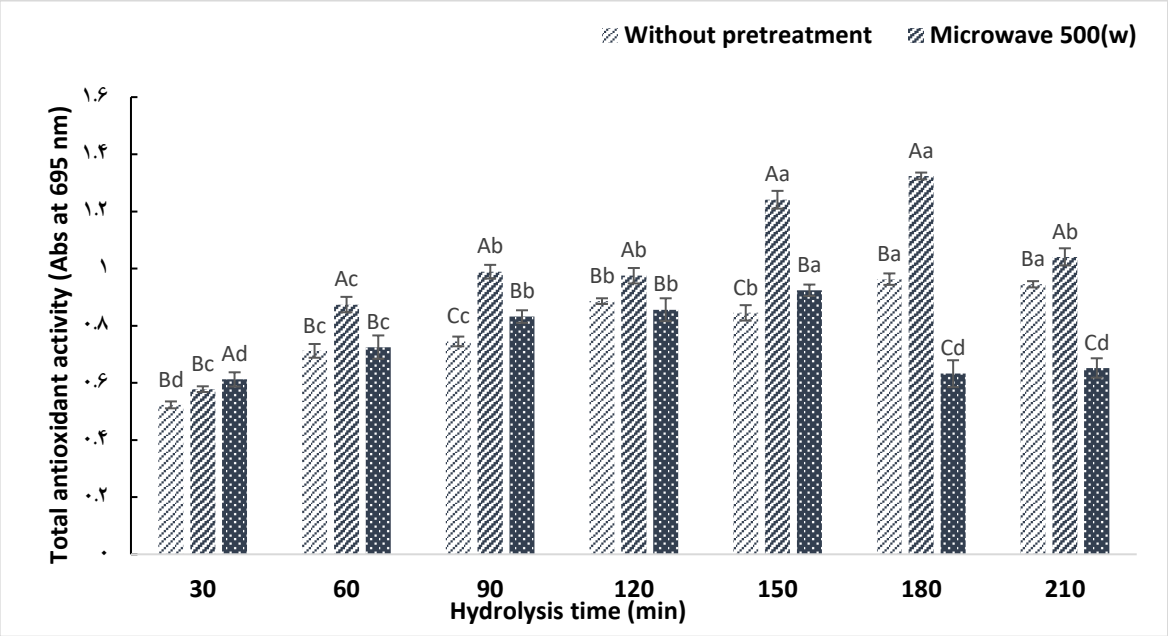

Figure 2- Total antioxidant activity of flax seed protein hydrolysate

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]

۳-۳- انتخاب تیمار بهینه

پس از بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال DPPH و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل) نمونه‌های پروتئین هیدرولیز شده‌ی تولیدی، تیمار با اعمال پیش تیمار مایکروویو ۵۰۰ وات و زمان هیدرولیز ۱۸۰ دقیقه دارای بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی بود. بنابراین برای بررسی تاثیر غلظت بر فعالیت آنتی اکسیدانی آن (فعالیت مهار رادیکال DPPH، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، فعالیت احیاء کنندگی یون آهن و فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن) در مرحله بعد انتخاب گردید.

٤-۳- بررسی تاثیر غلظت بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه بهینه

۱-٤-۳- فعالیت مهار رادیکال DPPH

شکل ۳، تاثیر غلظت را بر فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH تیمار بهینه پروتئین هیدرولیز شده بذر کتان و مقایسه آن با پروتئین هیدرولیز نشده و ویتامین ث در غلظت (mg/mL) ۱۰۰ نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده حاصل وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت از (mg/mL) ۲۰ تا (mg/mL) ٦۰ به‌طور معنی‌داری باعث افزایش فعالیت مهار رادیکال DPPH از ۳۵/٦۸ درصد به ۵۲/۷۰ درصد شد. افزایش غلظت تا (mg/mL) ۸۰ تاثیر معنی‌داری نداشت اما غلظت (mg/mL) ۱۰۰ باعث کاهش توانایی هیدرولیز شده حاصل در مهار رادیکال DPPH شد (p<۰/۰۵). تیمار هیدرولیز شده در تمامی غلظت‌ها فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به پروتئین هیدرولیز نشده بذر کتان داشت. که نشان از موفقیت آمیز بودن فرآیند هیدرولیز در رهایش پپتیدهای آنتی اکسیدان است (p<۰/۰۵). با وجود فعالیت آنتی-اکسیدانی مناسب پروتئین هیدرولیز شده بذر کتان اما توانایی آن در مهار رادیکال آزاد DPPH، در تمامی غلظت‌ها به‌طور معنی‌داری از فعالیت آنتی اکسیدانی ویتامین ث کمتر بود (p<۰/۰۵). فعالیت قابل توجه پروتئین هیدرولیز شده بذر کتان درمهار رادیکال آزاد DPPH می‌تواند به دلیل وجود آمینواسیدهای آروماتیک باشد که دارای گروه‌های هیدروکسیل با خاصیت پروتون دهندگی می‌باشند، از طرف دیگر تاثیر منفی افزایش بیش از اندازه غلظت بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ممکن است به اشباع شدن نقاط فعال مربوط باشد (۳۰). مشابه با این نتایج Zhao و همکاران (۲۰۱۲) با هیدرولیز آنزیمی پروتئین برنج با آنزیم‌های پروتئازی تریپسین، آلکالاز، پروتامکس، فلاورزیم و نوترئاز بیان کردند که فعالیت مهار رادیکال DPPH هیدرولیز شده‌های حاصل وابسته به غلظت بود و هیدرولیز شده‌های تولیدی با آنزیم پروتامکس دارای بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی بود (۳۱). در تطابق با این نتایج Umayaparvathi و همکاران (۲۰۱٤)، Chi و همکاران (۲۰۱۵) و Batista و همکاران (۲۰۱۰)، به‌ترتیب فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH پروتئین‌های هیدرولیز شده صدف، نوعی ماهی[10] و ماهی خرچنگی سیاه را وابسته به غلظت گزارش کردند (۳۲، ۳۳ و ۲۰).

10 -*Tegillarca granosa*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]

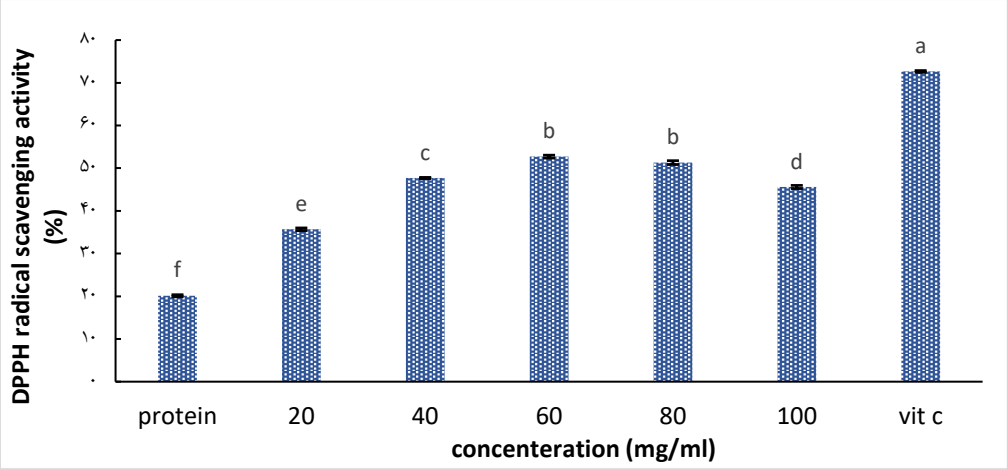

Figure 3- The effect of concentration on DPPH radical scavenging activity of flax seed protein hydrolysate

۲-٤-۳- ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

با توجه به شکل ٤، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیز شده بذر کتان وابسته به غلظت بود و افزایش غلظت هیدرولیز شده از (mg/ml) ۲۰ تا (mg/ml) ٦۰ به‌طور معنی‌داری باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از ۰/۷۵۲ به ۱/۳۵ (جذب در ٦۹۵ نانومتر) شد ($p<۰/۰۵$) اما افزایش بیشتر غلظت تا (mg/ml) ۱۰۰ به‌طور معنی‌داری باعث کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده‌ی تولیدی گشت. کمترین و بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی کل مربوط به پروتئین هیدرولیز شده با غلظت (mg/ml) ۲۰ و (mg/ml) ٦۰ به میزان ۰/۷۵۲ و ۱/۳۵ (جذب در ٦۹۵ نانومتر) بود. از سوی دیگر در تمامی غلظت‌های مورد بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیز شده به‌طور معنی‌داری بیشتر از پروتئین هیدرولیز نشده بذر کتان بود که نشان از توانایی مناسب آنزیم پانکراتین در رهایش پپتیدهای آنتی اکسیدان دارد. از سوی دیگر در تمامی غلظت‌های مورد بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل کمتر از ویتامین ث در غلظت (mg/ml) ۱۰۰ بود ($p<۰/۰۵$). به طور کلی پروتئین هیدرولیز شده‌ی بذر کتان از ظرفیت آنتی-اکسیدانی کل قابل توجهی برخوردار بود که نشان از موفقیت آمیز بودن فرآیند هیدرولیز با آنزیم پانکراتین در رهایش پپتیدهایی با توانایی الکترون دهندگی بوده که قادرند به‌عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان طبیعی باعث مهار رادیکال‌های آزاد گردند (۲٦). در تطابق با این نتایج Bougatef و همکاران (۲۰۰۹) تاثیر مثبت غلظت را بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیز شدهٔ حاصل از نوعی کوسه (کوسه صیقلی[11]) بیان کردند و گزارش کردند که علی رغم قابل توجه بودن ظرفیت آنتی اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیز شده اما خاصیت آنتی اکسیدانی آن از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA کمتر بود (۳٤). همچنین کاوه و همکاران (۱۳۹۸) با هیدرولیز پروتئین دانه شنبلیله بیان کردند که ظرفیت آنتی-اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیز شده شنبلیله به غلظت وابسته بود و افزایش غلظت آن از (mg/ml) ۱۰ به (mg/ml) ٤۰ باعث افزایش معنی‌دار ظرفیت آنتی اکسیدانی کل گشت، اما افزایش بیشتر غلظت تاثیر معنی‌داری در پی نداشت؛ همچنین گزارش کردند که در تمامی غلظت‌ها ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیز شده دانه شنبلیله کمتر از ظرفیت آنتی اکسیدانی کل ویتامین ث با غلظت (mg/ml) ۵۰ بود (۱۹).

11- smooth hound

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]
[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]

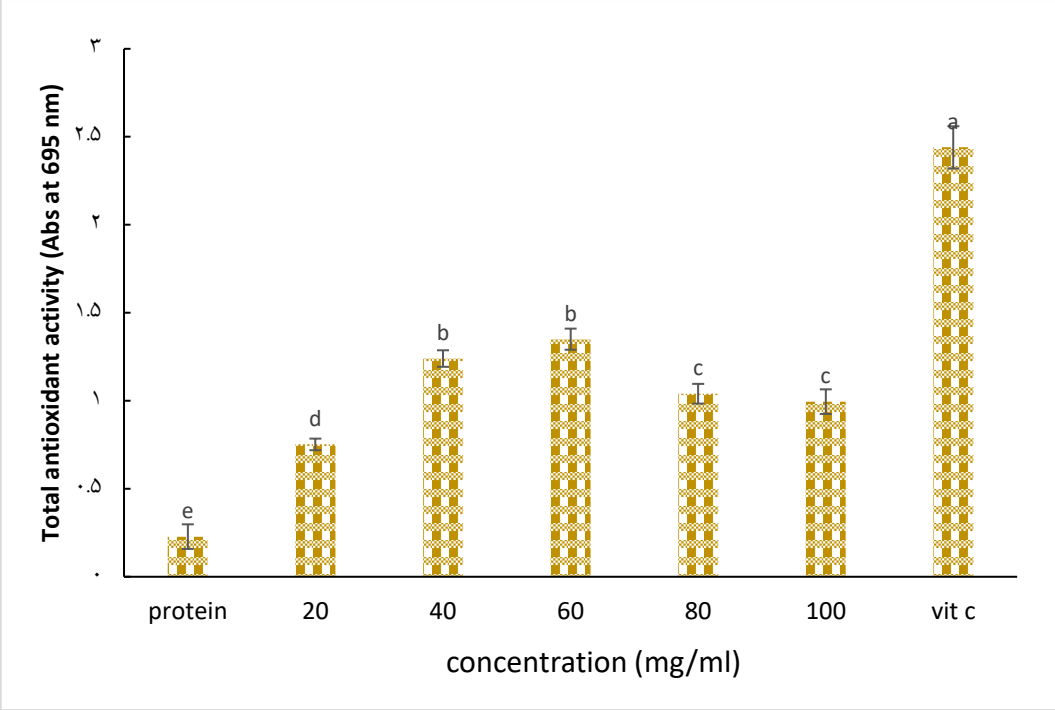

Figure 4- The effect of concentration on total antioxidant activity of flax seed protein hydrolysate

۳-٤-۳- فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن

در واکنش‌های اکسیداسیون، یون‌های فلزی مانند یون Fe^{2+}، نقش مهمی به‌عنوان کاتالیزور بر عهده دارند که تولید رادیکال‌های خطرناک هیدروکسیل را از سوپراکسید هیدروژن در پی دارد. این ترکیبات رادیکالی به سرعت با مولکول‌های زیستی مجاور واکنش داده و باعث آسیب سلول‌ها و بافت‌های بدن می‌شوند (۳۵). بنابراین مهار و به‌دام اندازی یون‌های فلزی نقش بسیار مهمی در ممانعت از اکسیداسیون دارد. همانطور که در شکل۵ نشان داده شده است، افزایش غلظت باعث افزایش فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن پروتئین هیدرولیز شده‌ی بذر کتان شد؛ افزایش غلظت از (mg/ml) ۲۰ تا (mg/ml) ۸۰ به‌طور معنی‌داری باعث افزایش فعالیت شلاته‌کنندگی پروتئین هیدرولیز شده از ۳٤/٦۸ درصد به ٥٤/۸۳ درصد شد ($p<۰/۰۵$) و افزایش بیشتر غلظت تاثیر معنی‌داری در پی نداشت. مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی هیدرولیز شده‌های تولیدی با پروتئین هیدرولیز نشده نشان داد که هیدرولیز به‌طور معنی‌داری باعث افزایش فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن پروتئین بذر کتان شده اما در تمامی غلظت‌ها از توانایی شلاته‌کنندگی کمتری نسبت به ویتامین ث برخوردار بود. به‌طور کلی مطالعات نشان داده است که عوامل مختلفی بر توانایی شلاته‌کنندگی یون آهن پروتئین‌های هیدرولیز شده بستگی دارد از جمله: نوع پروتئین اولیه، ترکیب آمینواسیدی، نوع پروتئاز مورد استفاده و همچنین میزان درجه هیدرولیز (۳٦). در تطابق با این یافته‌ها Xie و همکاران (۲۰۰۸) و Klompong (۲۰۰۷) به‌ترتیب فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن پروتئین هیدرولیز شدهیونجه و ماهی خط زرد[۱۲] را وابسته به غلظت گزارش کردند (۳۷ و ۳۸).

12 -yellow stripetrevally

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]

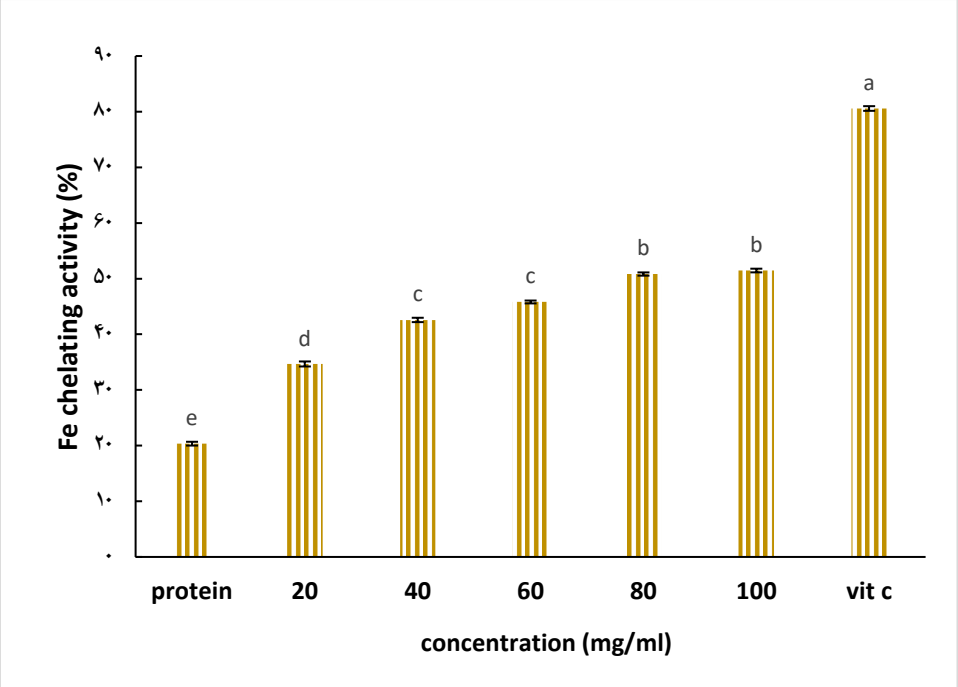

Figure 5- The effect of concentration on Fe chelating activity of flax seed protein hydrolysate

٤-٤-٣-قدرت احیاء کنندگی یون آهن

آزمون قدرت احیاءکنندگی توانایی آنتی اکسیدانی یک ترکیب را بر اساس پتانسیل آن در تبدیل یون Fe^{3+} به Fe^{2+} با اهدای الکترون، بررسی می‌کند. با توجه به شکل ٦، قدرت احیاکنندگی پروتئین‌های هیدرولیز شده بذر کتان به‌طور معنی‌داری بیشتر از قدرت پروتئین هیدرولیز نشده است که این نتیجه نشان از موفقیت آمیز بودن و تاثیر مثبت فرآیند هیدرولیز با آنزیم پانکراتین در رهایش پپتیدهای احیاء کننده و آمینواسیدهایی با قابلیت آنتی‌اکسیدانی مانند تریپتوفان و لیزین دانست (٥). از سوی دیگر افزایش غلظت از (mg/ml) ٢٠ تا (mg/ml) ٦٠، باعث افزایش قدرت احیاء کنندگی هیدرولیز شده‌های تولیدی از ٠/٤٥٧ به ٠/٨٥٩ (جذب در ٧٠٠ نانومتر) شد؛ افزایش غلظت به (mg/ml) ٨٠ تاثیر معنی‌داری نداشت و افزایش بیشتر غلظت تا (mg/ml) ١٠٠، باعث کاهش معنی‌دار قدرت احیاء کنندگی شد ($p<0/05$). مقایسه قدرت احیاکنندگی نمونه‌ها با قدرت آنتی‌اکسیدانی ویتامین ث نشان داد که در تمامی غلظت‌ها پروتئین هیدرولیز شده بذر کتان قدرت احیاء کنندگی کمتری داشت. به‌طور کلی علت احیاءکنندگی پروتئین‌های هیدرولیز شده بذر کتان را می‌توان به رهایش آمینواسیدهایی با قابلیت احیاء کنندگی مانند تریپتوفان، لیزین و متیونین دانست (٥). این نتایج در تطابق با یافته‌های Xie و همکاران (٢٠٠٨)، Cumby و همکاران (٢٠٠٨)، Zhao و همکاران (٢٠١٢) و Umayaparvathi و همکاران (٢٠١٤) بود که به ترتیب تاثیر غلظت را بر قدرت احیاءکنندگی پروتئین هیدرولیز شده یونجه، کانولا، برنج و صدف بررسی کردند می‌باشد (٣٧، ٣٩، ٣١ و ٣٢).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]
[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]

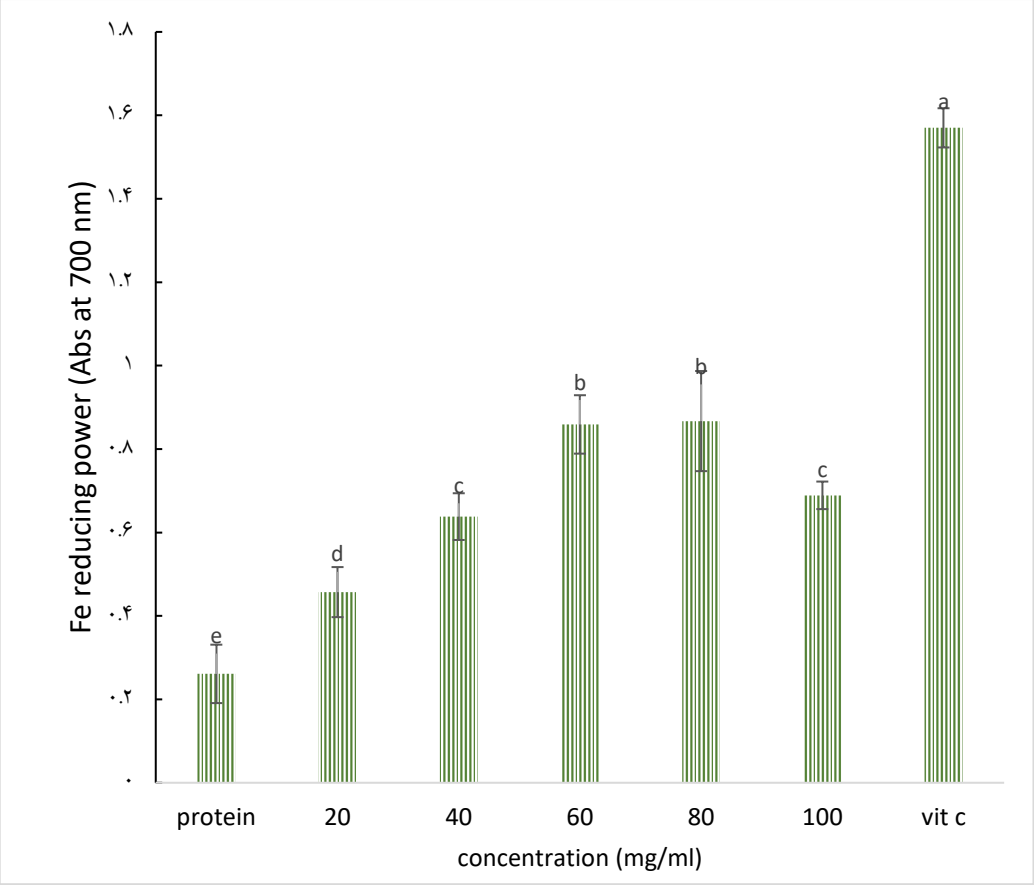

Figure 5- The effect of concentration on Fe reducing power of flax seed protein hydrolysate

۵-۳- نتیجه گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که پیش‌تیمار مایکروویو با توان ۵۰۰ وات تاثیر مثبت و معنی‌داری بر فعالیت مهار رادیکال DPPH و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل پروتئین هیدرولیز شده بذر کتان داشت. به‌طور کلی خاصیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده حاصل از هیدرولیز آنزیمی به فاکتورهای مختلفی از جمله: نوع و شدت پیش-تیمار اعمال شده، شرایط فرایند هیدرولیز (نوع آنزیم، دما، زمان هیدرولیز و درصد آنزیم)، نوع پروتئین اولیه و ترکیب آمینواسیدی پپتیدهای تولیدی بستگی دارد. در این پژوهش فعالیت آنتی اکسیدانی (مهار رادیکال DPPH، شلاته‌کنندگی یون آهن، احیاء کنندگی یون آهن وظرفیت انتی اکسیدانی کل) پروتئین هیدرولیز شده‌ی بذر کتان وابسته به غلظت بود. به‌طوریکه با افزایش غلظت از (mg/mL) ۲۰ تا (mg/mL) ۶۰ فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و قدرت احیاء کنندگی یون آهن و با افزایش غلظت تا (mg/mL) ۸۰ فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طور کلی با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، می‌توان بیان نمود که پیش تیمار مایکروویو با توان ۵۰۰ وات راهکار بسیار مناسبی برای افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده‌ی بذر کتان است. پروتئین‌های هیدرولیز شده‌ی حاصل با توجه به قابلیت مناسب آنتی اکسیدانی پتانسیل کاربرد در فرمولاسیون‌های مواد غذایی در جهت تولید محصولات فراسودمند و رقابت با آنتی اکسیدان‌های سنتزی را دارند.

٤- منابع

[1] Di Meo, S., & Venditti, P. (2020). Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2020*.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]

[2] Villeneuve, P., Bourlieu-Lacanal, C., Durand, E., Lecomte, J., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2023). Lipid oxidation in emulsions and bulk oils: A review of the importance of micelles. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *63*(20), 4687-4727.

[3] Kaveh, S., Sadeghi Mahoonak, A., Erfani Moghadam, V., Ghorbani, M., Gholamhosseinpour, A., Raeisi, 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. Journal of Food Science and Technology, 20 (141):200-222.

[4] 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.

[5] Jamdar, S. N., Rajalakshmi, V., Pednekar, M. D., Juan, F., Yardi, V., & Sharma, A. (2010). Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. *Food chemistry*, *121*(1), 178-184.

[6] Ding, Q., Zhang, T., Niu, S., Cao, F., Wu-Chen, R. A., Luo, L., & Ma, H. (2018). Impact of ultrasound pretreatment on hydrolysate and digestion products of grape seed protein. *Ultrasonics Sonochemistry*, *42*, 704-713.

[7] Karami, Z., Peighambardoust, S. H., Hesari, J., Akbari-Adergani, B., & Andreu, D. (2019). Antioxidant, anticancer and ACE-inhibitory activities of bioactive peptides from wheat germ protein hydrolysates. *Food Bioscience*, *32*, 100450.

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

[9] Kaveh, S., Sadeghi, M.A., Ghorbani, M., Jafari, M. and Sarabandi, K. (2019 a). 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).

[10] Manafi, D.Y.M. and Mazaheri, T.M. (2014). Production of analogue UF white cheese by replacement of milk fat with margarine. *Journal of food research*. 23(4), 545-552.

[11] 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 bioactive properties. *International Journal of Food Science & Technology*.

[12] Saha, M., Eskicioglu, C., & 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.

[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] Fadimu, G. J., Gill, H., Farahnaky, A., & Truong, T. (2021). Investigating the impact of ultrasound pretreatment on the physicochemical, structural, and antioxidant properties of lupin protein hydrolysates. *Food and Bioprocess Technology*, *14*(11), 2004-2019.

[15] Kaveh, S., Sadeghi Mahoonak, A., Erfanimoghaddam, V., Ghorbani, M., Gholamhossein pour, A A, Raeisi, M. (2024). Optimization of the effect of hydrolysis conditions and type of protease on the degree of hydrolysis and antioxidant properties of the protein hydrolysate from the skipjack fish (Katsuwonus pelamis) viscera by the response surface methodology. *Journal of Food Science and Technolog*y. 20 (144): 131-152.

[16] 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.

[17] Kaveh, S., Sadeghi, M.A., Ghorbani, M., Jafari, M. and Sarabandi, K. (2019 b). Optimization of production of antioxidant peptides using enzymatic hydrolysis of fenugreek seed. *Journal of Food Science and Technolog*y. 15 (84): 75-88.

[18] Kaveh, S., Sadeghi Mahoonak, A. and Sarabandi, K. (2020). The Effect of Solvent Type, Time and Extraction Method on the

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]

Chemical Compositions and Antioxidant Activity of Eggplant Peel Extract. Karafan Quarterly Scientific Journal. 17(2): 129-141

[19] Kaveh, S., Sadeghi, M.A., Ghorbani, M., Jafari, M. and Sarabandi, K. (2019 c). Antioxidant properties of fenugreek bioactive peptides prepared with pancreatin enzyme. Food Engineering Research. 18(67): 103-122.

[20] Batista, I., Ramos, C., Coutinho, J., Bandarra, N. M., & Nunes, M. L. (2010). Characterization of protein hydrolysates and lipids obtained from black scabbardfish (Aphanopus carbo) by-products and antioxidative activity of the hydrolysates produced. *Process Biochemistry*, *45*(1), 18-24.

[21] 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.

[22] 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.

[23] Guo, Y., Zhang, T., Jiang, B., Miao, M., & Mu, W. (2014). The effects of an antioxidative pentapeptide derived from chickpea protein hydrolysates on oxidative stress in Caco-2 and HT-29 cell lines. *Journal of Functional Foods*, *7*, 719-726.

[24] 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.

[25] Noman, A., Qixing, J., Xu, Y., Abed, S. M., Obadi, M., Ali, A. H., ... & Xia, W. (2020). Effects of ultrasonic, microwave, and combined ultrasonic-microwave pretreatments on the enzymatic hydrolysis process and protein hydrolysate properties obtained from Chinese sturgeon (Acipenser sinensis). *Journal of Food Biochemistry*, *44*(8), e13292.

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

[27] Mazloomi, N., Sadeghi-mahonak, A.R., Ghorbani, M. and Hoshmand, Gh.R. (2019). Determination of optimal production conditions of antioxidant peptides resulting from hydrolysis of orange kernel protein with alkalase enzyme. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 16(88): 343-356.

[28] Yang, T., Sun, S., Lin, Q., Ma, M., Luo, F., & Liu, J. (2013). Effects of Microwave Irradiation Pre-Treatment of Egg White Proteins on Ant Oxidative Activity of Their Hydrolysates Prepared with Pepsin. *Advance Journal of Food Science and Technology*, *5*(7), 936-940.

[29] Zhang, M., Huang, T. S., & Mu, T. H. (2019). Improvement of thermal, microwave and ultrasonication pretreatment on the production of antioxidant peptides from sweet potato protein via in vitro gastrointestinal digestion. *International Journal of Food Science & Technology*, *54*(7), 2338-2345.

[30] Saito, K., Jin, D. H., Ogawa, T., Muramoto, K., Hatakeyama, E., Yasuhara, T., & Nokihara, K. (2003). Antioxidative properties of tripeptide libraries prepared by the combinatorial chemistry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(12), 3668-3674.

[31] Zhao, Q., Xiong, H., Selomulya, C., Chen, X. D., Zhong, H., Wang, S., ... & Zhou, Q. (2012). Enzymatic hydrolysis of rice dreg protein: effects of enzyme type on the functional properties and antioxidant activities of recovered proteins. *Food chemistry*, *134*(3), 1360-1367.

[32] Umayaparvathi, S., Meenakshi, S., Vimalraj, V., Arumugam, M., Sivagami, G., & Balasubramanian, T. (2014). Antioxidant activity and anticancer effect of bioactive peptide from enzymatic hydrolysate of oyster (Saccostrea cucullata). *Biomedicine & Preventive Nutrition*, *4*(3), 343-353.

[33] Chi, C. F., Hu, F. Y., Wang, B., Li, T., & 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.

[34] Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., & Nasri, M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (Mustelus mustelus) muscle protein hydrolysates

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]

obtained by gastrointestinal proteases. *Food chemistry*, *114*(4), 1198-1205.

[35] Afanas' ev, I. B., Dcrozhko, A. I., Brodskii, A. V., Kostyuk, V. A., & Potapovitch, A. I. (1989). Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. *Biochemical pharmacology*, *38*(11), 1763-1769.

[36] Pihlanto, A. (2006). Antioxidative peptides derived from milk proteins. *International dairy journal*, *16*(11), 1306-1314.

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

[38] Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., & 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), 1317-1327.

[39] Cumby, N., Zhong, Y., Naczk, M., & Shahidi, F. (2008). Antioxidant activity and water-holding capacity of canola protein hydrolysates. *Food chemistry*, *109*(1), 144-148.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation the effect of microwave pretreatment on the antioxidant properties of flaxseed protein hydrolysate

Nader sanadgol[1], Seyed Hossein Hosseini Qaboos[2]*, Alireza Sadeghi Mahoonak[3]

1- M.Sc student, Department of Food Science and Engineering, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

2- Assistant Professor, Food Science and Technology Research Center of east Golestan, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

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

ARTICLE INFO

Article History:
Received:2024/1/1
Accepted: 2024/2/3

Keywords:
antioxidant,
Flax seed protein,
pancreatin,
protein hydrolysate,
microwave.

DOI: **10.22034/FSCT.21.148.190.**

*Corresponding Author E-Mail:
Hosseinighaboos@yahoo.com

ABSTRACT

In this study, the effect of microwave pretreatment at the power of 500 and 900 (W) on the antioxidant properties (DPPH radical scavenging activity and total antioxidant capacity) of flaxseed protein hydrolysate was investigated in the period of 30-210 minutes. In the next step, the effect of different concentrations (20-100 mg/ml) of the optimum treatment on the antioxidant properties (total antioxidant capacity, Fe reducing power, DPPH radical scavenging activity and Fe chelating activity) was investigated and was compared with the antioxidant capacity of vitamin C as a synthetic antioxidant and unhydrolyzed flaxseed protein. The results showed that microwave pretreatment at a power of 500 W significantly increased the antioxidant properties (DPPH radical scavenging activity and total antioxidant capacity) of flaxseed protein hydrolysate, but higher microwave power (900 W) led to reduction of antioxidant activity in comparison to the sample without pretreatment or the sample with microwave pretreatment with a power of 500 W. The sample with microwave pretreatment with a power of 500 W and hydrolysis time of 180 minutes was selected as the optimum treatment with the highest total antioxidant capacity and DPPH radical scavenging activity. Investigating the effect of concentration on the antioxidant properties of hydrolyzed protein showed that the highest DPPH radical scavenging activity (52.7 %), total antioxidant capacity (1.35 absorbance at 695 nm), Fe reducing power (0.859 absorbance at 700 nm) were achieved at the concentration of 60 (mg/ml) and the highest Fe chelating activity (50.83%) was obtained at the concentration of 80 (mg/ml). As a result, the flaxseed protein hydrolysate with considerable antioxidant capacity, can be used in the production of functional food products, nutritional supplements for athletes and the elderly.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.148.190]