Archive of SID

نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد هفتم، شماره اول، ۹۴
۳۱-۴۶
http://ejfpp.gau.ac.ir

اثر آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده آب پنیربر پیشرفت اکسایش روغن سویا

شیما پیری قشلاقی[1*]، علیرضا صادقی ماهونک[2]، مهران اعلمی[2] و محمد قربانی[2]

[1] دانشجوی کارشناسی‌ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[2] دانشیار دانشکده علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۷/۳۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۱۴

چکیده

سابقه و هدف: پراکسیداسیون چربی به‌عنوان اصلی‌ترین مسیر تغییرات کیفیت که عطر، طعم، بافت و ظاهر غذاها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، شناخته شده است. علاوه بر این مشخص گردیده که استرس اکسیداتیو نقش مهمی در تعدادی از بیماری‌های خاص دارد. عامل این بیماری‌ها پراکسیدهای چربی و ترکیبات مولکولی با وزن کم تولید شده در مرحله‌ی نهایی واکنش اکسیداسیون است. از این رو به‌منظور پیشگیری از فساد غذاها و محافظت در مقابل بسیاری از بیماری‌ها ضروری است که از پراکسیداسیون چربی‌ها و تشکیل رادیکال‌های آزاد در سلول‌های زنده و محصولات غذایی جلوگیری شود. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، به‌دلیل وجود نگرانی‌هایی در ارتباط با ایمنی و جنبه‌های وابسته به سلامتی آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مورد توجه محققین می‌باشند. پروتئین‌های هیدرولیز شده یک منبع آنتی‌اکسیدانی طبیعی است. نیاز به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در صنایع غذایی و دارویی منجر به تحقیقات گسترده علمی در دهه‌های اخیر شده است

مواد وروش‌ها: فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده آب پنیر برپایداری روغن سویا با اندازه‌گیری اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید تحت شرایط تسریع شده ارزیابی و با آنتی‌اکسیدان سنتزی مقایسه شد. برای این منظور پروتئین هیدرولیز شده و آنتی‌اکسیدان سنتزی در چهار سطح غلظت (۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۷۰۰ پی‌پی‌ام) به روغن سویا افزوده شدند.

یافته‌ها: پروتئین هیدرولیز شده و آنتی‌اکسیدان BHT اکسیداسیون روغن را در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به تاخیر انداختند. مقادیر اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک نمونه‌شاهد در روز پانزدهم به ترتیب به ۸۵/۰۸ میلی‌اکی-والان پراکسید و ۰/۲۲ میلی‌گرم مالون آلدهید در هر کیلوگرم روغن رسید. در حالی‌که برای نمونه روغن حاوی ۷۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان BHT و نمونه روغن حاوی ۷۰۰ پی‌پی‌ام پروتئین هیدرولیز شده به‌ترتیب ۴۵/۰۵ و ۰/۰۸۲، ۴۹/۷۵ و ۰/۰۹۴ به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: پپتیدهای آنتی‌اکسیدانی حاصل می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در فرمولاسیون غذایی به‌کار گرفته شوند.

واژهای کلیدی: پروتئین هیدرولیز شده، روغن سویا، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

[*] نویسنده مسئول: shima_piri1366@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

اکسایش چربی به‌عنوان مهم‌ترین مسیر تغییرات کیفیت غذاها شناخته شده‌است. علاوه بر این مشخص گردیده است که استرس اکسایشی نقش مهمی در ایجاد برخی از بیماری‌های خاص دارد. از این‌رو به‌منظور پیش‌گیری از فساد غذاها و محافظت در مقابل بسیاری از بیماری‌ها ضروریست که جلوی پراکسیداسیون چربی‌ها و تشکیل رادیکال‌های آزاد در سلول‌های زنده و محصولات غذایی گرفته شود (۱۳). بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی نظیر BHA[1] و BHT[2] به‌عنوان افزودنی غذایی جهت جلوگیری از کاهش کیفیت غذا استفاده می‌شوند. اگرچه این آنتی‌اکسیدان‌ها در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی نظیر آلفاتوکوفرول و اسید آسکوربیک قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری از خود نشان می‌دهند ولی در ارتباط با ایمنی و جنبه‌های وابسته به سلامتی آن‌ها نگرانی‌هایی وجود دارد. از این رو استفاده گسترده‌تری از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌منظور جایگزینی با آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مورد توجه محققین است (۳). پروتئین‌های هیدرولیز شده ماهی نظیر ژلاتین پوست از اسنپر قرمز[3] (۹)، یا پروتئین هیدرولیز شده گوشتازتراولی زرد[4] (۱۰)، پروتئین هیدرولیز شده سویا (٤)، پروتئین-های هیدرولیزشده شیر نظیر آلفا لاکتوآلبومین و بتالاکتوگلوبولین (۷)، پروتئین هیدرولیز شده سفیده تخم‌مرغ (۵)، پروتئین هیدرولیز شده گلوتن (۱۵) وآب پنیر(۱۸) فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند. قابلیت آنتی‌اکسیدانی این پروتئین هیدرولیز شده به اثرات گوناگونی نسبت داده شده است. برخی از این ویژگی‌ها شامل توانایی زدودن رادیکال‌های آزاد، به دام انداختن فلزات، خاموش کننده اکسیژن یا دهنده هیدروژن و امکان جلوگیری از نفوذ آغازگرهای اکسیداسیون چربی با تشکیل لایه‌ای در اطراف قطرات روغن می‌باشد (۱۳). آب پنیر یکی از محصولات جانبی کارخانجات لبنی است که به مقدار فراوان و با هزینه پایین تولید می‌شود و دارای خواص تغذیه‌ای، عملکردی و بیولوژیکی بالا است. پروتئین آب پنیر غنی از آمینواسیدهای حاوی سولفور یعنی سیستئین و متیونین است که عملکرد ایمنی بدن با تبدیل درون سلولی به گلوتاتیون افزایش می‌دهند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ناشی از شرکت اسید آمینه سیستئین در سنتز گلوتاتیون است (۲۱). هدف از این تحقیق بررسی و مقایسه

1. Butylated hydroxyl anisole1
2. Butylatedhydroxytoluene
3. Red snapper
4. Yellow travelly

www.SID.ir

Archive of SID

عملکردغلظت‌های مختلف پروتئین هیدرولیز شده به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی و BHT به‌عنوان آنتی‌اکسیدان مصنوعی طی زمان نگهداری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد: آنزیم آلکالاز (با فعالیت مشخص ۲/٤ واحد آنسون بر گرم[1] و دانسیته‌ی ۱/۱۸ گرم بر میلی‌لیتر) که یک اندوپروتئیناز[2] حاصل از باکتری *باسیلوس لیکنی‌فورمیس* برای هیدرولیز آنزیمی استفاده شد. این آنزیم از شرکت سیگما (اسپانیا) تهیه و تا زمان آزمایش در ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. ایزوله پروتئین آب پنیر در آبان ۱۳۹۲ از کارخانه پگاه مشهد و روغن سویا از کارخانه روغن‌کشی گرگان تهیه گردید.

تهیه پروتئین هیدرولیز شده‌آب پنیر: ابتدا نمونه ایزوله پروتئین آب پنیر به نسبت ۱ به ۲۰ با آب مقطر رقیق شد و سپس با بافر تریس- اسیدکلریدریک به نسبت وزنی- حجمی ۱ به ۵ مخلوط شد و به حالت سوسپانسیون یکنواخت در آمد، pH مناسب برای فعالیت آنزیم آلکالاز (pH=۸) تنظیم شد و سپس در دمای معین آزمایش (٤۰، ٤۵، ۵۰، ۵۵ درجه سانتی‌گراد)، آنزیم براساس فعالیت مشخص (۳۰، ٦۰ و ۹۰ واحد آنسون/ کیلوگرم پروتئین) به سوسپانسیون اضافه شد. تمامی واکنش‌ها در فلاسک‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری درون انکوباتور شیکردار(ساخت کره جنوبی، شرکت ویژن[3] مدل VS-8480))، با دور ثابت ۲۰۰ دور در دقیقه و دمای معین برای هر تیمار انجام شد. بعد از اتمام واکنش آنزیمی، با قرار دادن سوسپانسیون در حمام آب گرم (ساخت آلمان، شرکت ممرت[4]، مدل WNB22) با دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه واکنش متوقف شد و ترکیب هیدرولیز شده خاص در حمام یخ به‌سرعت سرد شد. جمع‌آوری سوپرناتانت با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار (ساخت کره جنوبی، شرکت هانیل[5]، مدل Combi - 514R)با دور ٦۷۰۰×g در دمای ۱۰درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه انجام شد (۲۰). هیدرولیز آنزیمی برای هر تیمار در دو تکرار انجام شد.

۱- یک واحد آنسون (Anson unit) عبارت است از میزان آنزیم مورد نیاز برای آزاد شدن یک میلی‌اکی‌والان اسیدآمینه تیروزین از سوبسترای هموگلوبین در دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و pH ۷/۵ (۱۳).

2. Endoproteinase
3. Vision Scientific Co., Ld.
4. Memmert
5. Hanil science industrial

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی: به‌منظور تعیین رطوبت، ۵ گرم از نمونه در ظرف آلومینیومی با وزن معین قرار گرفت. سپس، تا رسیدن به وزن ثابت، نمونه‌ها در آون با دمای ۱۰۳ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٢٤ ساعت قرار گرفت (۱). تعیین میزان پروتئین کل در مواد خام اولیه، از روش کلدال و با استفاده از ضریب تبدیل نیتروژن به پروتئین ٦/٢٥ صورت گرفت (ساخت آلمان، شرکت بهر، مدلS3)، (۱) و میزان خاکستر نیز با قرار دادن نمونه خام در کوره الکتریکی (ساخت آلمان، شرکت نابرترم[1]، مدل FX118-30) در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد، تعیین گردید (۱).

تعیین اثر آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده برروغن سویا: به این منظور، محلول پروتئین هیدرولیز شده حاصل از نظر داشتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسب (با بهینه‌سازی شرایط دمایی، زمان و فعالیت آنزیمی، اعداد مربوط به آن گزارش نشده است) انتخاب شد و سپس توسط دستگاه خشک کن انجمادی (ساخت کره جنوبی، شرکت اوپرون، مدل اف دی بی ۵۵۰۳[2]) به پودر پروتئین هیدرولیز شده تبدیل گردید. جهت انجام این آزمایش، نمونه‌های روغن شامل مخلوط روغن و پروتئین هیدرولیز شده با غلظت‌های (۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ پی پی ام) و نمونه روغن تصفیه شده بدون هیچ‌گونه افزودنی به‌عنوان شاهد، استفاده شدند، عمل اختلاط پودر پروتئین و روغن توسط همزن مغناطیسی و به‌مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. پس از آن نمونه‌ها به مدت پانزده روز در دمای ثابت ٦٣ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. کلیه آزمون‌ها در روزهای سوم، ششم، نهم، دوازدهم و پانزدهم، زمان گرم‌خانه‌گذاری روی نمونه‌ها انجام شد (١٦).

اندازه‌گیری پراکسید: عدد پراکسید بر حسب میلی‌اکی‌والان پراکسید در کیلوگرم روغن، با رابطه زیر محاسبه گردید (۱۱).

معادله (۱) $$\text{عدد پراکسید (میلی‌اکی‌والان چربی در هر گرم)} = \frac{(V2 - V1) \times N \times 1000}{m}$$

که در این رابطه V_2 ،V_1 به‌ترتیب عدد تیتراسیون نمونه و شاهد، N نرمالیته تیوسولفات سدیم و m وزن نمونه بر حسب گرم می‌باشند.

1. Nabertherm
2. Operun- FDB5503

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید: میزان TBA با دستگاه اسپکتروفتومتر (ساخت انگلستان، پی‌جی اینسترومنت[1] مدل T80) و با روش شان و چین (۲۰۰۸)تعیین گردید (۱۹).

تجزیه و تحلیل آماری

این مطالعه با استفاده از طرح کاملا تصادفی در قالب آزمایش فاکتوریل و در سه تکرار انجام شد. مقایسه‌ی میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد صورت گرفت. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام گردید.

جدول ۱. عبارات اختصاری مورد استفاده در تحقیق

Table 1.Shorttermsused inresearch

BHT-100	روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام BHT Soybean oil containing 100 ppm of BHT
BHT-300	روغن سویا حاوی ۳۰۰ پی‌پی‌ام BHT Soybean oil containing 300 ppm of BHT
BHT-500	روغن سویا حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام BHT Soybean oil containing 500 ppm of BHT
BHT-700	روغن سویا حاوی ۷۰۰ پی‌پی‌ام BHT Soybean oil containing 700 ppm of BHT
Pro-100	روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام پروتئین هیدرولیز شده آب پنیر Soybean oil containing 100 ppm of whey protein hydrolysate
Pro-300	روغن سویا حاوی ۳۰۰ پی‌پی‌ام پروتئین هیدرولیز شده آب پنیر Soybean oil containing 300 ppm of whey protein hydrolysate
Pro-500	روغن سویا حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام پروتئین هیدرولیز شده آب پنیر Soybean oil containing 500 ppm of whey protein hydrolysate
Pro-700	روغن سویا حاوی ۷۰۰ پی‌پی‌ام پروتئین هیدرولیز شده آب پنیر Soybean oil containing 700 ppm of whey protein hydrolysate

نتایج و بحث

نتایج تعیین درصد رطوبت، خاکستر و پروتئین در ایزوله پروتئین آب پنیر در جدول ۲ آورده شده است.

1. PG instruments

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. ترکیبات شیمیایی ایزوله پروتئین آب پنیر (براساس وزن مرطوب)

Table 2. Chemical composition of whey protein isolate (wet weight basis).

	پروتئین (درصد) Protein (%)	رطوبت (درصد) Moisture (%)	خاکستر (درصد) Ash (%)
ایزوله پروتئین آب پنیر whey protein isolate	82 ± 39.0	13± 0.33	2.6 ± 0.18

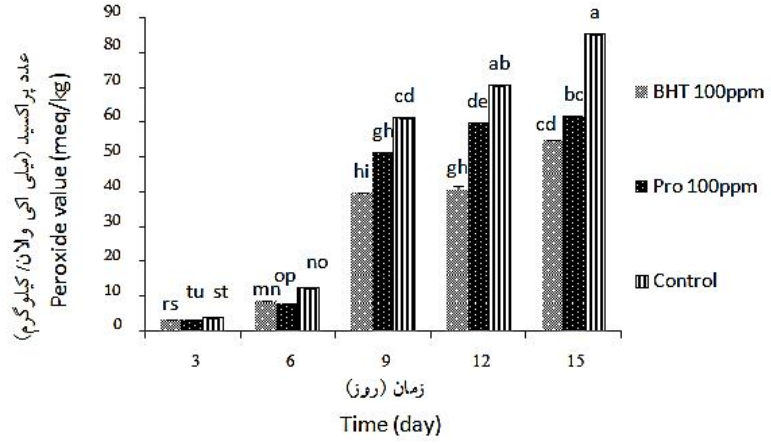
عدد پراکسید: شکل‌های ۱، ۲، ۳ و ٤ مقادیر عدد پراکسید را در تمام روزهای آزمون برای هر یک از نمونه‌های مختلف روغن به‌ترتیب در غلظت‌های ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ پی‌پی‌ام و در مقایسه با یکدیگر نشان می‌دهند.

در روزهای ابتدایی تفاوت چندانی بین نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی و طبیعی مشاهده نشد اما در روزهای پایانی با بالارفتن واکنش‌های اکسیداسیون، تفاوت بین نمونه‌ها مشهود است. روند نمودارها نشان می‌دهد که در تمامی تیمارهای مورد بررسی با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون، مقادیر عدد پراکسید سیر صعودی داشت. افزایش عدد پراکسید به‌دلیل تشکیل محصولات اولیه اکسیداسیون یعنی هیدروپراکسیدها است. در روزهای ابتدایی آزمایش سرعت تشکیل این محصولات پایین بود اما از روز ششم به بعد با سرعت بیشتری ادامه یافت (شکل‌های ۱، ۲، ۳ و ٤). میزان عدد پراکسید نمونه شاهد از ۱/۳ پس از ۳، ٦، ۹، ۱۲ و ۱۵ روز به‌ترتیب به ۳/۹۵، ۱۲/٤٦، ٦۱/۰۹، ۷۰/۳٤ و ۸۵/۰۸ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم روغن رسید که نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار این پارامتر است ($P<0/05$). همان‌طور که ملاحظه می‌شود در روزهای پایانی آزمایش میزان تشکیل محصولات اولیه‌ی اکسیداسیون کاهش یافته است. احتمالاً بخشی از هیدرو پراکسیدهای تشکیل شده در مرحله‌ی انتشار شروع به تجزیه شدن نموده و به محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون نظیر آلدهیدها و کتون‌ها تبدیل می‌شوند. نتایج نشان داد که در همه‌ی روزهای آزمایش بالاترین عدد پراکسید مربوط به نمونه‌ی شاهد بود که هیچ آنتی اکسیدانی نداشت ($P<0/05$). نمونه روغن به همراه آنتی اکسیدان سنتزی BHT با غلظت ۷۰۰ پی‌پی‌ام کمترین میزان عدد پراکسید را بین اکثر تیمارها داشت. هم‌چنین نمونه‌ی روغن به همراه پروتئین هیدرولیز شده با غلظت ۷۰۰ پی‌پی‌ام، در مقایسه با نمونه‌های حاوی آنتی اکسیدان سنتزی با غلظت ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام میزان عدد پراکسید کمتری را نشان داد ($P<0/05$). اگرچه در روزهای نخست اختلاف بین غلظت‌های مختلف هر عصاره چندان محسوس نبود اما با گذشت زمان نمونه‌های روغن حاوی مقادیر بیشتری از عصاره یا آنتی‌اکسیدانی سنتزی ثبات

www.SID.ir

Archive of SID

اکسایشی بیشتری نشان دادند. به‌صورت کلی با افزایش غلظت پروتئین هیدرولیز شده (آنتی‌اکسیدان طبیعی) میزان عدد پراکسید کاهش و عمل اکسایش به تعویق افتاد (جدول ۳). مشکین‌فر و همکاران (۲۰۱٤) نیز به روندی مشابه با این تغییرات دست یافتند. آن‌ها نیز تحقیقی در رابطه با اثر بازدارندگی پروتئین هیدرولیز شده حاصل از امعاء و احشاء گوسفند (معده و روده) بر روی اکسایش لیپید در روغن سویا انجام دادند. مخلوط روغن و پروتئین هیدرولیز شده و مخلوط روغن و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT را با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام تهیه نمودند و به این نتیجه رسیدند که در تمام روزهای مورد آزمایش بالاترین عدد پراکسید مربوط به نمونه شاهد و کمترین مقدار آن مربوط به نمونه روغن به همراه آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌اممی‌باشد ($P<0/05$). همچنین نمونه روغن به همراه پروتئین هیدرولیز شده با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام در مقایسه با نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی با غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام میزان عدد پراکسید کمتری را از خود نشان داد (۱٦).

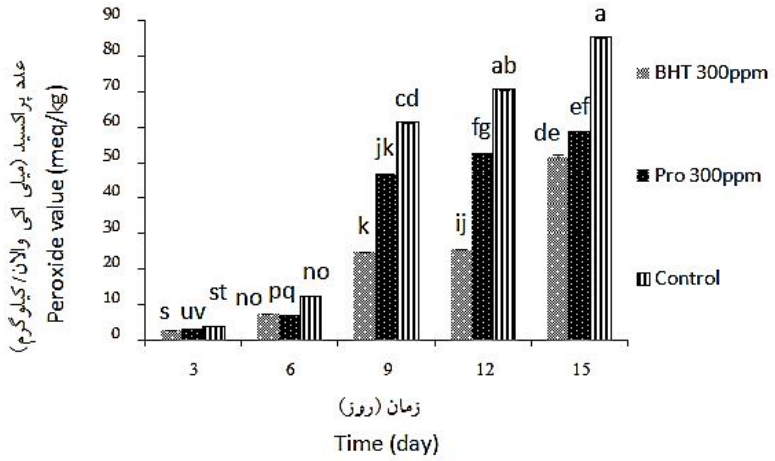


شکل ۱. مقایسه تیمارهای حاوی پروتئین هیدرولیز شده و آنتی‌اکسیدانی سنتزی (در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام) از نظر میزان عدد پراکسید. اعداد مربوط به هر تیمار نشان‌دهنده میانگین‌سه بار تکرار هستند.

Figure 1. Comparison between peroxide value of treatment contains protein hydrolysate and synthetic antioxidant (concentration of 100 ppm). Values belong to each treatments are average of three replications.

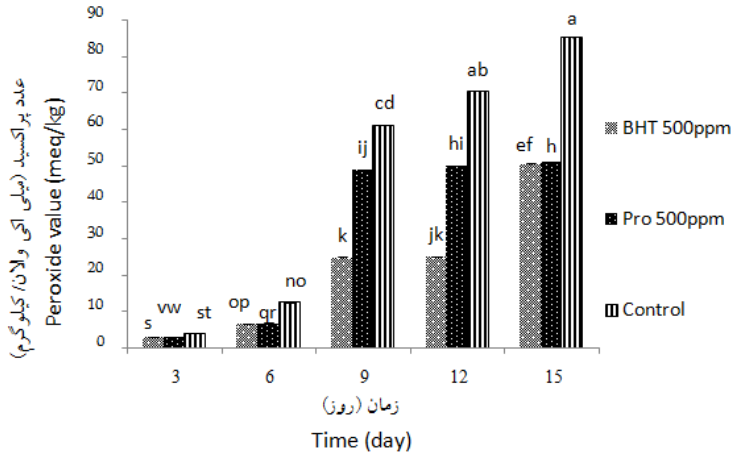
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲. مقایسه تیمارهای حاوی پروتئین هیدرولیز شده و آنتی‌اکسیدانی سنتزی (در غلظت ۳۰۰ پی‌پی‌ام) از نظر میزان عدد پراکسید. اعداد مربوط به هر تیمار نشان‌دهنده میانگین سه بار تکرار هستند.

Figure 2. Comparison between peroxide value of treatment contains protein hydrolysate and synthetic antioxidant (concentration of 300 ppm). Values belong to each treatments are average of three replications.

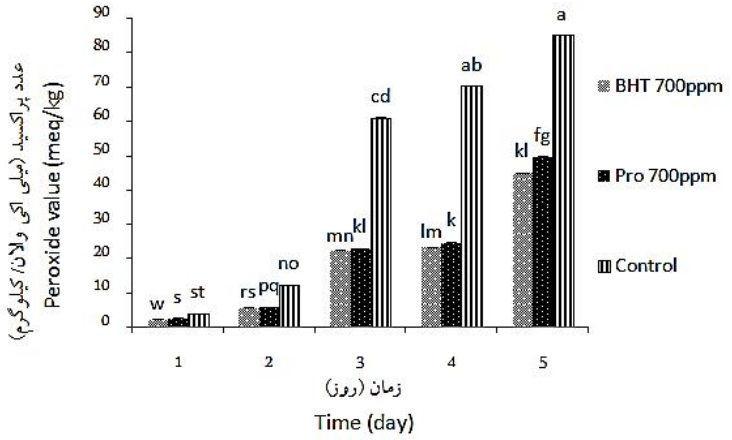


شکل۳. مقایسه تیمارهای حاوی پروتئین هیدرولیز شده و آنتی‌اکسیدانی سنتزی (در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام) از نظر میزان عدد پراکسید. اعداد مربوط به هر تیمار نشان دهنده میانگین سه بار تکرار هستند.

Figure 3. Comparison between peroxide values of treatment contains protein hydrolysate and synthetic antioxidant (concentration of 500 ppm). Values belong to each treatments are average of three replications.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل٤. مقایسه تیمارهای حاوی پروتئین هیدرولیز شده و آنتی‌اکسیدانی سنتزی (در غلظت ۷۰۰ پی‌پی‌ام) از نظر میزان عدد پراکسید. اعداد مربوط به هر تیمار نشان‌دهنده میانگین سه بار تکرار هستند.

Figure 4. Comparison between peroxide value of treatment contains protein hydrolysate and synthetic antioxidant (concentration of 100 ppm). Values belong to each treatments are average of three replications.

جدول ۳. مقایسه میانگین اندیس پراکسید و اسید تیوباربیتوریک تیمارهای مختلف

Table 3.Comparison of mean Peroxide value and thiobarbituric acid for different treatments

عدد تیوباربیتوریک اسید Thiobarbituric acid value	عدد پراکسید Peroxide value	تیمارها Treatments
0.146a	46.58a	شاهد Control
0.086b	29.48b	BHT-100
0.081c	22.51c	BHT-300
0.0726c	21.98d	BHT-500
0.067d	19.77e	BHT-700
0.092e	36.78f	Pro-100
0.086f	33.71g	Pro-300
0.077g	31.95h	Pro-500
0.072h	21.24i	Pro-700

عدد تیوباربیتوریک اسید: نتایج آنالیز واریانس نشان داد اثر تیمار و زمان بر میزان عدد **تیوباربیتوریک اسید** نمونه‌ها معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$). افزایش چشمگیر عدد تیوباربیتوریک اسید در روزهای پایانی آزمایش، کاهش مشاهده شده در سرعت تشکیل هیدروپراکسیدها را تصدیق می‌نماید. مقدار مالون آلدهید موجود در نمونه‌های روغن از روز آغاز گرم‌خانه‌گذاری شروع به افزایش کرد اما این افزایش

www.SID.ir

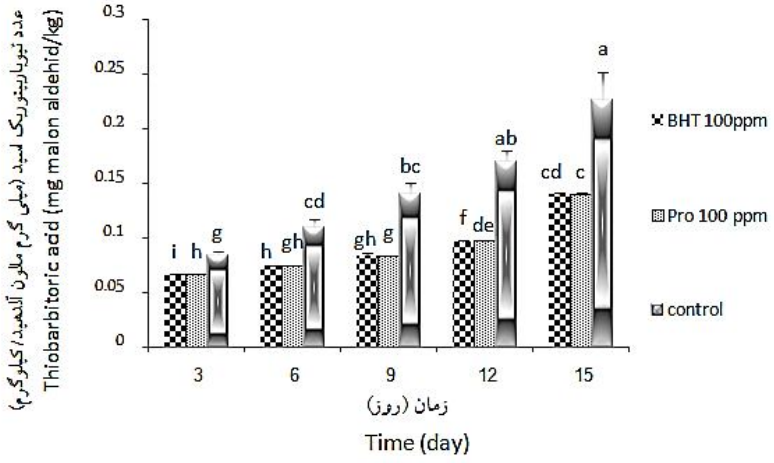
Archive of SID

به‌ویژه در نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان تا روز دوازدهم آزمایش با سرعت بسیار کمی انجام شد. میزان عدد تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌ی شاهد در روز دوازدهم آزمایش از ۰/۱۸ به ۰/۲ افزایش یافت (شکل‌های ۵، ٦، ۷، ۸). بیشترین عدد تیوباربیتوریک اسید در تمامی روزها مربوط به نمونه شاهد و کمترین مقدار مربوط به نمونه‌ی حاوی ۷۰۰پی‌پی‌ام از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بود (جدول ۳). نمونه‌ی روغن به همراه پروتئین هیدرولیز شده با غلظت ۷۰۰ پی‌پی‌ام، در مقایسه با نمونه‌های حاوی آنتی اکسیدان سنتزی با غلظت۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام میزان عدد تیوباربیتوریک اسید کمتری را نشان داد ($P<۰/۰۵$). در نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان سرعت تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون کمتر از نمونه شاهد بود و این به‌دلیل اثر آنتی‌اکسیدان‌ها در جلوگیری از تجزیه‌ی هیدروپراکسیدها می‌باشد. هیدروپراکسیدها در دماهای بالا شروع به تجزیه شدن نموده، رادیکال‌های آزاد بیشتری تولید می‌کنند و به واکنش‌های زنجیری ادامه می‌دهند. در برخی موارد نیز محصولات غیررادیکالی پایدار نظیر آلدهید، کتون، الکل و اسید از تجزیه‌ی این ترکیبات حاصل می‌گردد. آنتی‌اکسیدان‌ها در این مرحله از یک طرف با اهدای الکترون به رادیکال‌های آزاد باعث شکسته شدن واکنش‌های زنجیری اکسیداسیون می‌شوند و از طرف دیگر از طریق واکنش با رادیکال‌های آلکوکسیل از تجزیه پراکسیدها به محصولات پایدار و مضر جلوگیری می‌نماید (١٤). آنتی‌اکسیدان‌ها در دوره زمانی مشخصی کارائی و تأثیر خوبی در جلوگیری و تاخیر در اکسیداسیون روغن دارند و به تدریجدر طی زمان از میزان کارائی و تاثیر آن‌ها کاسته می‌شود تا زمانی که به‌طور کامل بی‌اثر شوند (۸). بنابراین آنتی‌اکسیدان‌هایی که در دوره‌های زمانی طولانی‌تر و شرایط نامناسب می‌توانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود را به نحو مطلوبی حفظ کنند، جهت محافظت از روغن‌ها، چربی‌ها و مواد غذایی حاوی این ترکیبات ترجیح داده می‌شوند (٦). تمام غلظت‌ها قدرت آنتی‌اکسیدانی خود را تا آخرین روز آزمایش حفظ کردند، بنابراین می‌توان گفت این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از مقاومت مطلوبی طی دوره نگهداری به‌ویژه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد که محدوده دمائی پخت اکثر مواد غذایی است، برخوردار بودند. بنابراین می‌توان استفاده از آن‌ها را در جلوگیری از اکسیداسیون روغن و مواد غذایی توصیه نمود. راکیک و همکاران (۲۰۰۷) به نتایج مشابهی با این پژوهش دست یافتند. آن‌ها تاثیر عصاره‌ی آبی میوه بلوط گونه کوئرکوس روبور را در به تاخیر انداختن اکسیداسیون چربی خوک طی ۱۰ روز در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار دادند. غلظت‌های ۰/۰۲ و ۰/۰٤ درصد این عصاره قادر بهتاخیر تشکیل مالون آلدهید در مقایسه با نمونه شاهد بودند. قابل ذکر است که در غلظت‌های یاد شاهد، این

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره قابل رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در غلظت ۰/۰۲ درصد نبود (۱۷). در پژوهش دیگری تاثیر عصاره اتانولی پوست انار در پایداری روغن آفتابگردان بررسی شد. برای این منظور نمونه‌های روغن محتوی ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره متانولی در ظروف تیره به‌مدت ۲٤ روز در دمای ٦٥ °C قرار گرفتند. عدد پراکسید تمامی نمونه‌های حاوی عصاره از روز ٤ تا ۲٤ به‌تدریج افزایش یافت، درحالی که عدد پراکسید نمونه شاهد از روز ۲۰ تا ۲٤ با کاهش همراه بود که به تجزیه هیدروپراکسیدها در زمان‌های طولانی حرارت دهی نسبت داده شد. عصاره‌ی انار در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام اثر محافظت کنندگی بیشتری نسبت به BHT اعمال کرد اما سایر غلظت‌های عصاره با BHT قابل رقابت نبودند (۱۲).

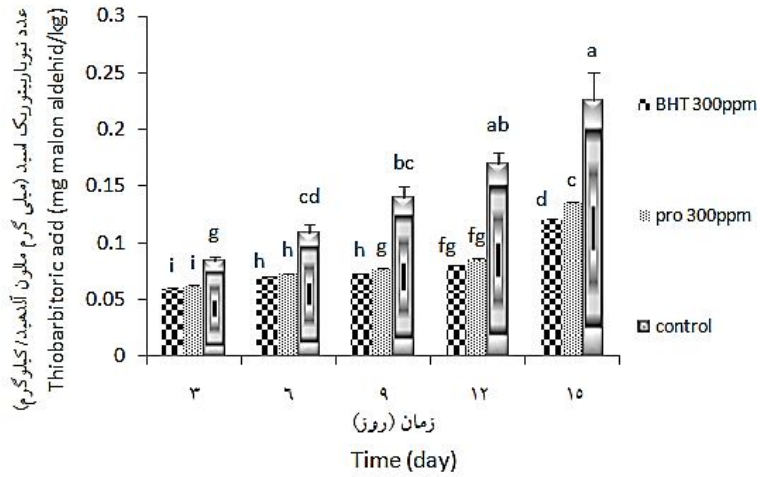


شکل ۵. مقایسه تیمارهای حاوی پروتئین هیدرولیز شده و آنتی اکسیدانی سنتزی (در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام) از نظر میزان عدد تیوباربیتوریک اسید. اعداد مربوط به هر تیمار نشان‌دهنده میانگین سه بار تکرار هستند.

Figure 5. Comparison between thiobarbitoric acid value of treatment contains protein hydrolysate and synthetic antioxidant (concentration of 100 ppm). Values belong to each treatments are average of three replications.

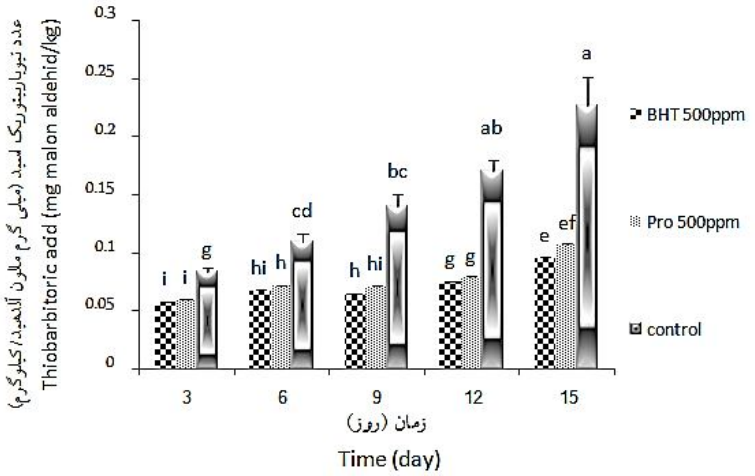
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ٦. مقایسه تیمارهای حاوی پروتئین هیدرولیز شده و آنتی‌اکسیدانی سنتزی (در غلظت ۳۰۰ پی‌پی‌ام) از نظر میزان عدد تیوباربیتوریک اسید. اعداد مربوط به هر تیمار نشان‌دهنده میانگین سه بار تکرار هستند.

Figure 6. Comparison between thiobarbituric acid value of treatment contains protein hydrolysate and synthetic antioxidant (concentration of 300 ppm). Values belong to each treatments are average of three replications.

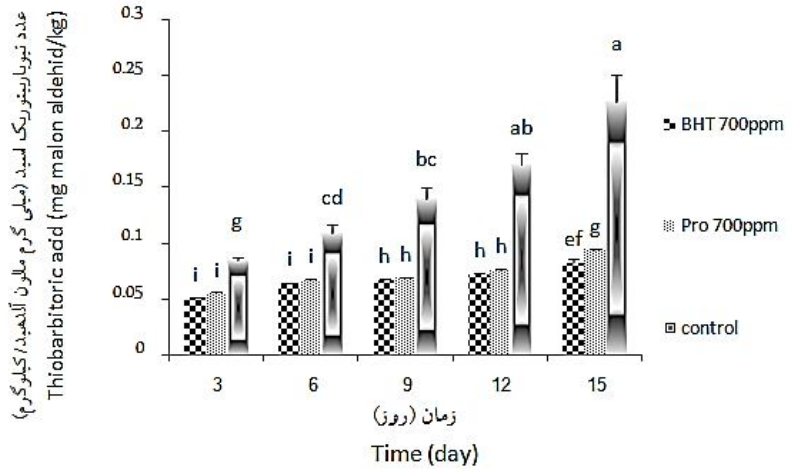


شکل ۷. مقایسه تیمارهای حاوی پروتئین هیدرولیز شده و آنتی‌اکسیدانی سنتزی (در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام) از نظر میزان عدد تیوباربیتوریک اسید. اعداد مربوط به هر تیمار نشان دهنده میانگین سه بار تکرار هستند.

Figure 7. Comparison between thiobarbituric acid value of treatment contains protein hydrolysate and synthetic antioxidant (concentration of 500 ppm). Values belong to each treatments are average of three replications.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۸. مقایسه تیمارهای حاوی پروتئین هیدرولیز شده و آنتی‌اکسیدانی سنتزی (در غلظت ۷۰۰ پی‌پی‌ام) از نظر میزان عدد تیوباربیتوریک اسید. اعداد مربوط به هر تیمار نشان‌دهنده میانگین سه بار تکرار هستند.

Figure 8. Comparison between thiobarbitoric acid values of treatment contains protein hydrolysate and synthetic antioxidant (concentration of 700 ppm). Values belong to each treatments are average of three replications.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش اثرات آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده آب پنیر با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه شد. پروتئین هیدرولیز شده آب پنیر حتی در غلظت‌های پایین نسبت به نمونه شاهد توانست به‌طور قابل ملاحظه‌ای اکسیداسیون را به تعویق بیاندازند. خاصیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده وابسته به غلظت بود، به‌طوری‌که در غلظت ۷۰۰ پی‌پی‌ام توانست به‌خوبی روند اکسیداسیون روغن سویا را کند نماید و از این نظر قابل رقابت با BHT در غلظت‌های ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام بود. با توجه به ارزان و غنی بودن ونیز اثرات قوی آنتی‌اکسیدانی آن می‌توان این پروتئین هیدرولیز شده را به‌عنوان منبع بالقوه‌ای از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد پژوهش بیشتر قرار داد و در صنعت غذا و دارو از آن استفاده کرد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1.AOAC. Official methods of analysis (18th ed.). 2000. Association of Official Analytical Chemists.Washington, DC.

2.Aspmo, S.I., Horn, S.J., and Eijsink, V.G.H. 2005. Enzymatic hydrolysis of Atlantic cod (*Gadusmorhua*L.) viscera. Process Biochemistry. 40: 1957-1966.

3.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: 1198–1205.

4.Chen, H.M., Muramoto, K., and Yamauchi, F. 1995. Structural analysis of antioxidative peptides from soybean b-conglycinin. Agricultural and Food Chemistry. 43: 574-578.

5.Davalos, A., Miguel, M., Bartolome, B., and Lopez-Fandino, R. 2004. Antioxidant activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis. Food Protection. 67: 1939-1944.

6.Frankel, E.N. 1996. Antioxidant in foodand their impact on food quality. FoodChemistry. 57: 51-55.

7.Hernandez-Ledesma, B., Davalos, A., Bartolome, B., and Amigo, L. 2005. Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from a-lactalbumin and b-actoglobulin, Identification of active peptides by HPLC–MS/MS. Agricultural and Food Chemistry. 53: 588–593.

8.Iqbal, S., and Bhanger, M.I. 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extractduring accelerated storage. Food Chemistry. 100: 246-254.

9.Khantaphant, S., and Benjakul, S. 2008. Comparative study on the proteases from fish pyloric caeca and the use for production of gelatin hydrolysate with antioxidative activity. Comparative Biochemistry and Physiology. 151: 410-419.

10.Klompong, V., Benjakul, S., Yachai, M., Visessanguan, W., Shahidi, F., and Hayes, K.D. 2009. Amino acid composition and antioxidative peptides from protein hydrolysates of yellow stripe trevally (*Selaroidesleptolepis*). Food Science. 74: 126-133.

11.Kowalski, R. 2009. *Silphium* L. extracts composition and protective effect on fatty acids content in sunflower oil subjected to heating and storage. Food Chemistry. 112:820-830.

12.Laandrault, N., Pouchert, P., Ravel, P., Gase, F., Cros, G., and Teissedro, P.L. 2001. Antioxidant activities and phenolic level of French wines from different varieties and vintages. Agricultural and Food Chemistry. 49: 3341-3343.

13.Li, Y., Jiang, B., Zhang, T., Mu, W., and Liu, J. 2008. Antioxidant and free radical-scavenging activities of chickpea protein hydrolysate (CPH). Food Chemistry. 106: 444-450.

14.Liu, Q., and Yao, H. 2007. Antioxidantactivities of barley seeds extracts. Foodchemistry. 102: 732-737.

www.SID.ir

Archive of SID

15. Marıa, D.C., Antonella, F., Iolanda, A., Rosa, C.B., Agustin, O., and Adolfo, M.R. 2007. In vitrorelease of angiotensinconverting enzyme inhibitors, peroxyl-radical scavengers and antibacterial compounds by enzymatic hydrolysis of glycated gluten.Cereal Science. 45:327-334.
16. Meshginfar, N., Sadeghimahoonak, A.R., Ziaiifar, A.M., Kashaninejad, M. and Ghorbani, M. 2014. Evaluation of antioxidant activity of bioactivepeptides prepared from meat industry by-products. Journal of Food Science and Technology. 46(12).(In Persian)
17. Rakic, S., Petrovic, S., Kukic, J., Jadranin, M., Tesevic, V., Povrenovic, D., and SilerMarinkovic, S. 2007. Influence of thermatreatment on phenolic compounds andantioxidant properties of oak acorns from Serbia. Food Chemistry. 104: 830-834.
18. Recio, I., and Visser, S. 1999. Identification of two distinct antibacterial domains within the sequence of bovine alpha(s2)-casein. Journalof Biochimica et BiophysicaActa. 1428: 314-326.
19. Shon, J., and Chin, K.B. 2008. Effect of whey protein coating on quality attributes of low-fat,aerobically packaged sausage during refrigerated storage. Journal of Food Science. 73: C469–47313.
20. Taheri, A. 2011a. Antioxidative properties of rainbow sardine (*Dussumieriaacuta*) protein hydrolysate: optimization using response surface methodology. International Food Congress-Novel Approaches in Food Industry. MAY 26-29. Pp: 39-43. (In Persian)
21. Walzem, R.L., DiUard, C.J., and German, J.B. 2002.Whey components: millennia of evolution createfunctionalities formammaliannutrition: what we know and what we may be overlookins. Journalof Crif Rev. Food Sci. Nwir. 42: 353-375.

www.SID.ir

Archive of SID

EJFPP, Vol. 7 (1): 31-46
http://ejfpp.gau.ac.ir

Antioxidanteffect ofwheyproteinhydrolysateondevelopment ofoxidationsoybean oil

Sh. Piri Gheshlaghi[1*], A.R. Sadeghi Mahoonak[2], M. Alami[2] and M. Ghorbani[2]
[1]MSc. Graduate, Dept. of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Gorgan, Iran,[2]Associate Prof., Dept. of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Gorgan, Iran.

Received: 22/10/2014; Accepted: 3/03/2015

Abstract

Background and objectives: It is well known that lipid peroxidation is a major course of quality changes which affect the flavor, texture and appearance in foods. In addition, it has been recognized that oxidative stress plays a significant role in a number of age specific diseases. The factors involved in these diseases are the lipid peroxides and low molecular weight compounds produced during the late stage of the oxidative reaction. Hence, to prevent foods from undergoing deterioration and to provide protection against various diseases, it is important to inhibit the peroxidation of lipids and formation of free radicals occurring in the living body and foodstuffs. Due to safety concerns and health aspects over the use of synthetic antioxidants, the natural antioxidant compounds are considered by researchers.Protein hydrolysates are thesource of natural antioxidant.The need for natural antioxidants in food and pharmaceutical resulted in extensive scientific research,in recent decades.

Materials and methods: antioxidant activity of whey protein hydrolysates on oxidative stability of soybean oil were studied and compared with synthetic antioxidants, by measuring their peroxide and thiobarbituric acid values during accelerated storage. Protein hydrolysate and synthetic antioxidant at four different concentrations (100, 300, 500 and 700 ppm) were added to soybean oil.

Results: Proteinhydrolysateand antioxidant BHTwere retarded oiloxidationat 70°c. The peroxide and thiobarbitoric acid values of control samples were 85.08 (meq peroxide/ kg oil) and 0.22 (mg malon aldehyde/kg oil) after fifteen days storage while this values were 45.05 and 0.082 for oil sample contain 700 ppm BHTand for oil sample contain 700 ppm protein hydrolysate were 49.75 and 0.094, respectively.

Conclusion: That the antioxidant peptides can be used as anatural antioxidant in food formulations.

***Keywords*:** Protein hydrolysate, Soybean oil, Antioxidant activity.

[*]Corresponding author; shima_piri1366@yahoo.com

www.SID.ir