Archive of SID

فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال چهارم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۵

مقاله مروری

پپتیدهای ضداکسایشی استخراج شده از آبزیان: شناسایی، خالص‌سازی و مکانیسم اثرگذاری

مهدی نیکو[۱]، ثنا ربیعی[۲]، مسعود رضائی[۳]*، محمد خضری[۲]

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۹۵ تاریخ پذیرش: تیر ۹۵

چکیده

تولید غیرقابل کنترل رادیکال‌های آزاد سبب تخریب اکسیداتیو مواد غذایی و مشکلات سلامتی انسان می‌شود. از ترکیبات ضداکساینده (Antioxidant) سنتزی در صنایع غذایی و دارویی به منظور پیشگری و ممانعت از اکسیداسیون استفاده می‌شود ولی به دلیل اثرات احتمالی سمیت و سرطان‌زایی، میزان استفاده آن‌ها به شدت کنترل می‌شود. موجودات دریایی که تقریبا نصف تنوع زیستی جهان را شامل می‌شوند، منبع ارزشمندی از ترکیبات زیست‌فعال از جمله پپتیدها هستند که می‌توانند در تولید فرآورده‌های غذایی فراسودمند مورد استفاده قرار گیرند. مطالعه حاضر مروری بر مطالعات صورت گرفته در رابطه با پپتیدهای ضداکسایشی از منابع دریایی، روش‌های مورد استفاده برای خالص‌سازی و شناسایی آن‌ها، ساختار و مکانیسم اثرگذاری آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی و در موجود زنده داشته است. این مطالعه نشان داد که پپتیدهای استخراج شده از منابع دریایی خاصیت ضداکسایشی بالقوه‌ای را در محیط آزمایشگاهی، سامانه‌های غذایی و همچنین موجود زنده نشان می‌دهند. اندازه پپتیدها، نوع اسیدهای آمینه، قرارگیری اسیدهای آمینه در موقعیت‌های مختلف زنجیره و قابلیت آبگریزی مهمترین عواملی هستند که بر مکانیسم ضداکسایشی پپتیدها تأثیر می‌گذارند. پپتیدهای ضداکسایشی می‌توانند به عنوان ترکیبات فراسودمند برای ممانعت از اکسیداسیون چربی و پروتئین محصولات غذایی استفاده شوند. این پپتیدها فرآیندهای اکسایشی را کنترل می‌کنند و اهمیت بالقوه‌ای در درمان و کنترل بیماری‌ها دارند.

واژگان کلیدی: *پپتیدهای دریایی، ویژگی ضداکسایشی، غذای فراسودمند.*

۱- استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
۲- دانشجوی دکتری فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.
۳- استاد گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.
* نویسنده مسئول: rezai_ma@modares.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در طی سال‌های اخیر توجه مصرف‌کنندگان نسبت به رابطه غذای مصرفی با سلامتی جلب شده است (Kim and Mendis, 2006; Giri and Ohshima, 2012; Harnedy and FitzGerald, 2012). افزایش نگرانی مصرف‌کنندگان در رابطه با سلامتی‌شان و سبک زندگی جدید که مردم را از رژیم غذایی سالم دور کرده است سبب شده تا صنایع غذایی به دنبال تولید فرآورده‌هایی باشد که از بیماری‌ها نیز پیشگیری کند (Venugopal, 2008). در این رابطه، تقاضای زیادی از طرف مصرف‌کنندگان به افزودن ترکیبات فراسودمند و سلامت‌بخش به مواد غذایی وجود دارد. غذاهای فراسودمند (Functional Foods) علاوه بر تامین نیازهای اولیه غذایی سبب ارتقا سلامتی در مصرف‌کننده نیز می‌شوند (Shahidi and Alasalvar, 2011). تجارت جهانی غذاهای فراسودمند در ۵ سال گذشته سالانه ۶ درصد رشد داشته است و پیش‌بینی می‌شود در سال ۲۰۱۷ به ۵۴ میلیارد دلار برسد (Khairallah et al., 2016).

اقیانوس‌ها و دریاها علاوه بر تاثیر بر آب و هوای جهانی، حمل و نقل و ارتباطات، مخزن غنی از موجودات زنده و غیرزنده به شمار می‌روند. این منابع آبی به دلیل سطح بیشتر و در نتیجه جذب بخش عظیمی از تشعشعات خورشیدی، از نظر منابع غذایی نسبت به خشکی غنی‌تر هستند. فتوسنتز میکروجلبک‌ها منابع غذایی را برای ماهی‌ها، نرمتنان، سخت‌پوستان و همچنین موجودات رده‌های بالاتر از جمله انسان فراهم می‌کند. موجودات دریایی علاوه بر تامین نیاز غذایی انسان، منبع ارزشمندی از ترکیبات زیست‌فعال را فراهم می‌کنند. در بیوتکنولوژی دریا علاوه بر مطالعه ذخایر زیستی دریا، سعی بر آن است تا با استفاده از روش‌های جدید استفاده‌های تکنولوژیکی بهتری از این ذخایر به عمل آید (Venugopal, 2008). برخی از ترکیبات زیست‌فعال آبزیان دارای ماهیت پروتئینی بوده، شامل پروتئین‌ها، پپتیدها و اسیدهای آمینه هستند. آبزیان علاوه بر این که منبع غنی از پروتئین‌ها و پپتیدهای زیست‌فعال هستند، به عنوان ماده اولیه برای تولید پپتیدهای با اهمیت فیزیولوژیکی در انسان نیز به کار برده می‌شوند (Raghavan et al., 2008). پپتیدهای زیست‌فعال توالی‌های خاصی از اسیدهای آمینه (Motifs) هستند و تا زمانی که با دیگر اسیدهای آمینه موجود در ساختار

www.SID.ir

Archive of SID

اولیه پروتئین متصل باشند به صورت غیرفعال می‌مانند (Harnedy and FitzGerald, 2012). پپتیدهای زیست‌فعال علاوه بر ارزش غذایی از حیث در اختیار گذاشتن اسیدهای آمینه، تاثیر فیزیولوژیکی در بدن انسان می‌گذارند، از این رو به عنوان ترکیبات فراسودمند معرفی شده‌اند (Sampath Kumar et al., 2011). این پپتیدها که معمولا از ۲ تا ۲۰ اسید آمینه تشکیل شده‌اند تا زمانی که توسط آنزیم و یا طی فرآیند تخمیر آزاد نشوند، به صورت غیرفعال هستند. شکل آزاد شده این پپتیدها به دلیل داشتن ویژگی‌های زیست‌فعالی دارای عملکردهای فیزیولوژیکی متعددی همانند تحریک ایمنی (Agyei and Danquah, 2012)، اثر ضدمیکروبی (Tang et al., 2015)، ضداکسایشی (Athmani et al., 2015)، کاهندگی فشار خون (Erdmann et al., 2006; Murray and FitzGerald, 2007) و کاهندگی کلسترول خون (Athmani et al., 2015) هستند. ویژگی‌های زیست‌شناختی پپتیدها در مقایسه با پروتئین سبب شده تا به عنوان ترکیبات فراسودمند مطرح شوند و تلاش برای استخراج و استفاده از آن‌ها در صنایع غذایی برای تولید محصولات فراسودمند صورت گیرد (Agyei and Danquah, 2011). ویژگی‌های زیست‌فعالی پپتیدها به طول زنجیره پپتید، نوع اسیدهای آمینه، توالی اسیدهای آمینه و قرارگیری در موقعیت‌های C و N انتهایی زنجیره یا نزدیک به این موقعیت‌ها بستگی دارد (Giri and Ohshima, 2012). عواملی چون نوع بستر پروتئینی، تیمار ماده اولیه، نوع و غلظت آنزیم، درجه حرارت، مدت واکنش و تراکم پروتئین بر روی ساختار پپتید و در نتیجه عملکرد آن تاثیر می‌گذارند (Mills et al., 2011). اگرچه پپتیدهای متعددی از گونه‌های مختلف ماهی (Andersen and Jorgensen, 2004; Hoyle and Merritt, 2006; Kim et al., 2007; Eymard et al., 2009; Cheung et al., 2012; Intarasirisawat et al., 2012; Chi et al., 2014; Nikoo et al., 2014; Chi et al., 2015; Girgih et al., 2015; Karnjanapratum and Benjakul, 2015) گزارش شده است، ولی از سایر موجودات دریایی همانند نرمتنان و سخت‌پوستان نیز تعدادی پپتید استخراج شده و ساختار آن‌ها شناسایی شده است (Mendis et al., 2005; Sudhakar and Nazeer, 2015). آبزیان صید ضمنی و ضایعات حاصل از فرآوری آبزیان نیز می‌توانند به عنوان منبعی فراوان و ارزان قیمت برای تولید پپتیدهای زیست‌فعال، به کار روند.

www.SID.ir

Archive of SID

سالانه حجم عظیمی از ضایعات شامل گوشت غیراستاندارد، سر، امعا و احشا، پوست، باله و اسکلت در کارخانه‌های فرآوری آبزیان تولید می‌شوند. مجموع ضایعات حاصل از فرآوری آبزیان به ۶۴ میلیون تن در سال می‌رسد. این ضایعات اغلب دور ریخته شده یا به عنوان غذای دام و کود مورد استفاده قرار می‌گیرند (Pfeiffer, 2003). تبدیل ضایعات شیلاتی به ترکیباتی با ارزش افزوده، راه حلی را برای مقابله با محدودیت‌های قانونی، هزینه بالا و مسائل زیست‌محیطی مرتبط با دفع آن‌ها فراهم می‌کند (Guerard et al., 2010). مطالعه حاضر مروری بر پپتیدهای ضداکسایشی گزارش شده از آبزیان به ویژه نرمتنان، سخت‌پوستان، ماهی‌ها و ضایعات حاصل از فرآوری آن‌ها دارد. علاوه بر این مکانیسم اثرگذاری پپتیدها و روش‌های مورد استفاده برای خالص‌سازی و شناسایی آن‌ها نیز مورد بحث قرار می‌گیرد.

تولید پپتیدهای ضداکسایشی

موجودات دریایی غنی از ترکیبات زیست‌فعال با ساختار و فعالیت زیستی متفاوت هستند و به عنوان یکی از منابع اصلی پپتیدهای ضداکسایشی به شمار می‌روند (Kim and Wijesekara, 2010). شواهد علمی روزافزونی وجود دارد که بسیاری از پپتیدها و پروتئین‌های هیدرولیز شده مشتق شده از منابع دریایی شامل ماهیان، نرمتنان، سخت‌پوستان و ضایعات شیلاتی قادر هستند سلامتی انسان را ارتقا داده و از بروز بیماری‌های مزمن جلوگیری کنند (Aneiros and Garateix, 2004). پپتیدهای ضداکسایشی در توالی پروتئین مادری خود غیرفعال هستند و باید توسط روش‌های مختلف آزاد شوند. به طور کلی می‌توان پپتیدهای ضداکسایشی را از پروتئین پیش‌ساز توسط روش‌های تخمیر میکروبی و هیدرولیز آنزیمی جدا کرد (Agyei and Danquah, 2011).

تخمیر میکروبی

تخمیر یکی از قدیمی‌ترین روش‌هایی است که برای نگهداری مواد غذایی به کار می‌رود. در کشورهای شرق آسیا همانند چین، ژاپن و کره محصولات تخمیر شده ماهی، سخت‌پوستان و نرمتنان به عنوان اقلام خوراکی اصلی یا چاشنی غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. محصولات تخمیر شده حاوی اسیدهای آمینه و پپتیدهایی هستند که طعم و بوی خاصی به محصول می‌دهند. طی فرآیند تخمیر تجزیه

www.SID.ir

Archive of SID

پروتئین‌ها به وسیله میکروب‌ها و آنزیم‌های پروتئولیتیک آن‌ها سبب افزایش ارزش غذایی- دارویی و ماندگاری محصول می‌شود (Rajapakse et al., 2005a; Faithong et al., 2010). مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است که برخی فرآورده‌های تخمیری همانند سس تخمیر شده ماسل (Rajapakse et al., 2005b) و خمیر میگو و کریل (Faithong et al., 2010) حاوی مقادیر بالایی از پپتیدهای ضداکسایشی هستند.

هیدرولیز آنزیمی

هیدرولیز آنزیمی متداول‌ترین روش مورد استفاده برای تولید پپتیدهای ضداکسایشی از منابع آبزیان است. فرآیند هیدرولیز باعث تولید پپتیدهای زیست‌فعال با عملکرد و ویژگی‌های زیستی مطلوب می‌شود. این فرآیند ویژگی‌های عملکردی پروتئین همانند حلالیت، ظرفیت امولسیون کنندگی، ظرفیت نگهداری آب و تشکیل ژل را نیز بهبود می‌بخشد. علاوه بر این گزارش شده که خاصیت آلرژی‌زایی برخی پروتئین‌ها همانند بتاگلوبولین و اوالبومین در اثر هیدرولیز آنزیمی کاهش می‌یابد (Kim, 2013). هیدرولیز آنزیمی توسط پروتئازهای تجاری و همچنین فرآیند اتولیز صورت می‌گیرد. در حال حاضر از پروتئازهای تجاری مختلفی با منشا گیاهی، جانوری و میکروبی شامل تریپسین، کموتریپسین، پپسین، آلکالاز، پاپائین، پروناز، کلاژناز و بروملئین، برای تولید پپتیدهای ضداکسایشی از منابع آبزی استفاده می‌شود. نوع آنزیم مورد استفاده در فرآیند هیدرولیز بسیار مهم است. زیرا آن‌ها الگوی شکستن باندهای پپتیدی را تعیین می‌کنند (Shahidi and Alasalvar, 2011). عملکرد اختصاصی پروتئاز اندازه، نوع و ترکیب اسید آمینه‌ای پپتیدها و در نتیجه فعالیت زیستی آن‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد. شرایط هیدرولیز همانند زمان واکنش، دما، pH و نسبت آنزیم به سوبسترا نیز تعیین کننده بازده و خواص ضداکسایشی پپتیدها است (Najafian and Babji, 2014; Najafian and Babji, 2015). علاوه بر پروتئازهای تجاری، فرآیند اتولیز توسط آنزیم‌های اتولیتیک یا گوارشی نیز برای تولید پپتیدهای ضداکسایشی مورد استفاده قرار می‌گیرد. بسته به ماده خام اولیه، پروتئازهای درون‌زا همانند تریپسین، کموتریپسین و پپسین از سیستم گوارشی یا آنزیم‌های لیزوزومی و کاتپتیک از سلول‌های عضلانی با تجزیه پروتئین طی فرآیند اتولیز سبب تولید پپتیدهایی با خواص

www.SID.ir

Archive of SID

منحصر به فرد می‌شوند. در مطالعه Nalinanon و همکاران (۲۰۱۱) که از پپسین ماهی هور مسقطی برای تولید پپتیدهای ضداکسایشی از عضله ماهی گوازیم استفاده شد، پپتیدهای تولیدی خواص ضداکسایشی قابل ملاحضه‌ای را در محیط برون‌سلولی (in vitro) نشان دادند.

مکانیسم ضداکسایشی پپتیدهای زیست‌فعال

پپتیدهای زیست‌فعال فعالیت ضداکسایشی قوی در برابر رادیکال‌های آزاد و سایر گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)[1] دارند. مکانیسمی که پپتیدها از طریق آن اثرات ضداکسایشی خود را ایفا می‌کنند به طور کامل آشکار نشده است، هرچند پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند که پپتیدها و پروتئین‌های هیدرولیز شده با حذف‌کردن رادیکال‌های آزاد و شلاته‌کردن یون‌های فلزی از اکسیداسیون آنزیمی و غیرآنزیمی ممانعت می‌کنند (Sarmadi and Ismail, 2010). پپتیدهای ضداکسایشی همانند گلوتاتیون (γ-Glu-Cys-Gly) و کارنوزین (β-alanyl-L-histidine) که به طور طبیعی در بافت عضله وجود دارند با دادن الکترون، شلاته‌کردن یون‌های فلزی و محدود ساختن اکسیداسیون لیپیدها عمل می‌کنند (De Castro and Sato, 2015). به علاوه گزارش شده است که دی‌پپتید Met-Tyr جداسازی شده از عضله ماهی ساردین، بیان ژن‌های مرتبط با ضداکساینده‌های درون‌زای غیرآنزیمی همانند هموآکسیژناز و فریتین را افزایش داد (Erdmann et al., 2006). تاثیر وزن مولکولی پپتیدها بر فعالیت ضداکسایشی آن‌ها در تعدادی از مطالعات مورد تاکید قرار گرفته است (Mendis et al., 2005; Kim et al., 2007; Nalinanon et al., 2011). در حالی که برخی دیگر، به تاثیر ترکیب آمینواسیدی پپتید و پروتئین هیدرولیز شده بر میزان خواص ضداکسایشی آن‌ها اشاره دارند (Raghavan et al., 2008; Tang et al., 2009). Cheung و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که وزن مولکولی پروتئین هیدرولیز شده ماهی هیک اقیانوس آرام و فراکشن‌های آن بر فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال‌های ABTS اثرگذار بود ولی توالی آمینواسیدی آن‌ها (وابسته به نوع پروتئاز مورد استفاده) تا حد زیادی بر ممانعت از اکسیداسیون لیپید در سیستم اسید لینولئیک موثر بود (Cheung et al., 2012). هرچند ارتباط ساختار پپتید با خواص ضداکسایشی آن به طور دقیق تعیین

1- Reactive Oxygen Species

www.SID.ir

Archive of SID

نشده ولی نوع، موقعیت و آبگریزی اسیدهای آمینه نقش مهمی را ایفا می‌کنند (Harnedy and FitzGerald, 2012). Najafian و Babji (۲۰۱۴) عنوان کردند که پپتیدهای ضداکسایشی جدا شده از پروتئین میوفیبریل ماهی پاتین دارای اسیدهای آمینه آبگریز همانند والین و لوسین در موقعیت N زنجیره و اسیدهای آمینه پرولین، هیستدین، تیروزین، تریپتوفان، متیونین و سیستئین در داخل زنجیره بودند (Najafian and Babji, 2014). آن‌ها در مطالعه دیگر خود بیان کردند که پپتیدهای ضداکسایشی جداسازی شده پروتئین سارکوپلاسمی عضله ماهی پاتین دارای مقادیر بالایی از اسیدهای آمینه آبگریز (لوسین، والین و فنیل آلانین)، آب‌دوست (هیستیدین و پرولین) و آروماتیک (تیروزین و فنیل آلانین) هستند (Najafian and Babji, 2015). به طور کلی رادیکال‌های آزاد محلول در چربی (رادیکال‌های پروکسیل) که طی روند اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع تولید می‌شوند توسط اسیدهای آمینه آبگریز همانند لوسین، والین، آلانین و پرولین خنثی می‌شوند (Kim and Mendis, 2006). اسیدهای آمینه‌ای مثل هیستیدین، لوسین، تیروزین، متیونین و سیستئین از طریق دادن پروتون به رادیکال‌های آزاد، آن‌ها را غیرفعال می‌کنند (Mendis et al., 2005). اسیدهای آمینه آروماتیک (فنیل آلانین، تریپتوفان و تیروزین) با دادن الکترون، رادیکال‌های آزاد را به مولکول‌های پایدار تبدیل می‌کنند (Sarmadi and Ismail, 2010). گزارش شده است که پپتیدهایی با وزن مولکولی کوچک قادر هستند مولکول‌های اکسیژن یگانه را با به دام انداختن یا برقراری اتصال غیرفعال کنند (Intarasirisawat et al., 2013). اکسیژن یگانه، مولکول غیررادیکالی الکترون‌دوست است که در حضور نور تشکیل شده و واکنش‌پذیری بسیار بالایی با اسیدهای چرب غیراشباع دارد (Choe and Min, 2005). نه تنها حضور برخی اسیدهای آمینه بلکه توالی و ترکیب آن‌ها نیز بر خاصیت ضداکسایشی پپتیدها اثرگذار است (De Castro and Sato, 2015).

مطالعات انجام شده بر اثرات ضداکسایشی پپتیدهای زیست‌فعال

تولید گونه‌های فعال اکسیژنی (ROS) همانند رادیکال‌های هیدروکسیل (OH°)، سوپراکسید (O_2^{-})، هیدروژن پروکسید (H_2O_2)، هیدروپروکسیل (HO_2^{-})، لیپید پروکسیل (LOO°)، آلوکسیل (LO°) و

www.SID.ir

Archive of SID

اکسیژن یگانه ($O_2^{\cdot}$) از پیآمدهای اجتناب‌ناپذیر تنفس در موجودات هوازی است (Nikoo et al., 2014). رادیکال هیدروکسیل (OH°) ناپایدارترین گونه اکسیژنی فعال است که به محض تولید در نزدیکی محل تولید با همه مولکول‌های سلول زنده شامل DNA، فسفولیپیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه و قندها وارد واکنش می‌شود (Min and Ahn, 2005). به منظور مقابله با رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن، مکانیسم‌های دفاع ضداکسایشی طراحی شده است تا اثرات زیانبار این عوامل مهاجم را خنثی کند یا به حداقل برساند. برخی از اجزای این سیستم دفاعی مانند آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز، درون‌زا هستند و برخی نیز از طریق مواد غذایی مختلف تامین می‌شود (Harnedy and FitzGerald, 2012). استرس اکسیداتیو زمانی ایجاد می‌شود که بین تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن از یک سو و سیستم دفاع ضداکسایشی از سوی دیگر تعادل وجود نداشته باشد. استرس اکسیداتیو نقش اساسی در بروز تعدادی از بیماری‌های انسان شامل آترواسکلروزیس، دیابت، التهاب مزمن، بیماری‌های تخریب کننده سیستم اعصاب و سرطان دارد (Nasri et al., 2015). اکسیداسیون لیپیدها، همچنین، از دلایل اصلی کاهش کیفیت مواد غذایی پرچرب (بافت، رنگ و طعم) در طی نگهداری است. واکنش زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد به عنوان مکانیسم اکسیداسیون لیپیدها پیشنهاد شده است و گونه‌های اکسیژنی فعال همانند رادیکال‌های هیدروکسیل و هیدروپراکسیل از مهم‌ترین آغازگرهای واکنش زنجیره‌ای به شمار می‌روند (Min and Ahn, 2005). رادیکال‌های آزاد و هیدروپراکسیدهای تولید شده در اثر اکسیداسیون لیپیدها غیرپایدار هستند و سبب اکسیداسیون بعدی رنگدانه‌ها، ترکیبات طعم دهنده و ویتامین‌ها می‌شوند (Thanonkaew et al., 2006). تجزیه محصولات اکسیداسیون لیپیدها به الکل‌ها، آلدهیدها و کتون‌ها سبب ایجاد بوی نامطبوع، طعم تند و تغییر رنگ محصول می‌شود. به علاوه این ترکیبات از طریق ایجاد اتصالات عرضی با پروتئین‌ها سبب کاهش ویژگی‌های عملکردی و ارزش غذایی محصول می‌شوند (Benjakul and Visessanguan, 2010). پروتئین‌ها در اثر فعل و انفعالات با گونه‌های رادیکالی همانند ROS و گونه‌های غیررادیکالی همانند هیدروژن پراکسید و هیدروپراکسید دناتوره می‌شوند (Karnjanapratum and Benjakul, 2015).

www.SID.ir

Archive of SID

ضداکسایندههای سنتزی همانند بوتیلیتید هیدروکسی تولوئن (BHT)، بوتیلیتید هیدروکسی آنیزول (BHA)، ترشیاری بوتیل هیدروکینون (TBHQ) سالیان متمادی در صنایع غذایی و دارویی به منظور پیشگیری و ممانعت از فرآیند اکسیداسیون استفاده میشدهاند ولی به دلیل مسائل ایمنی میزان استفاده از آنها محدود است و باید به دقت کنترل شود. از طرفی گرایش عمومی نسبت به کاهش و محدود ساختن نگهدارندههای سنتزی سبب شده تولیدکنندگان، مراجع قانونی و مصرفکنندگان فرآوردههای غذایی حاوی ترکیبات طبیعی را ترجیح دهند (Rabiei et al., 2013a,b, 2014a,b). پپتیدهای زیستفعال که در طول هضم گوارشی یا فرآوری ماده غذایی تولید میشوند نقش مهمی در تنظیم و مدولاسیون واکنشهای متابولیکی دارند و میتوانند به عنوان ترکیبات فراسودمند به منظور جلوگیری از فرآیند اکسیداسیون و ارتقای سلامتی مصرفکننده به مواد غذایی اضافه شوند. در جدولهای ۱ تا ۳ تعدادی از مطالعات انجام شده بر روی اثرات ضداکسایشی پپتیدهای زیستفعال در محیط آزمایشگاهی، سامانه غذایی و موجود زنده آورده شده است.

تاکنون اثر ضداکسایشی پپتیدهای زیستفعال به دست آمده از فیله ماهی هیک (Cheung et al., 2012)، عضله ماهی کروکر (Chi et al., 2015)، امعا و احشای ماهی ماکرل (Sampath Kumar et al., 2011)، پروتئین میوفیبریلی ماهی پاتین (Najafian and Babji, 2015)، تخم ماهی هوور (Intarasirisawat et al., 2013)، عضله ماهی *Lophius litulon* (Chi et al., 2014)، عضله ماهی *Mustelus griseus* (Wang et al., 2014)، ژلاتین پوست کوسه (Kittiphattanabawon et al., 2012)، عضله ماهی هوکی (Kim et al., 2007)، ژلاتین اسکوئید (Mendis et al., 2005) و عضله ماهی کاد (Girgih et al., 2015) در حذف رادیکالهای DPPH، ABTS، هیدروکسل و سوپراکسید، کاهندگی و شلاته کنندگی یونهای فلزی و ممانعت از پراکسیداسیون لیپید در مدل اسید لینولئیک مشخص شده است. علاوه بر این، اثرات ضداکسایشی پپتیدهای اسکلت ماهی هوکی در ممانعت از آسیب اکسیداتیو DNA توسط رادیکالهای هیدروکسیل (Kim et al., 2007) و پپتیدهای ضایعات ماهی فیتوفاگ در ممانعت از آسیب اکسیداتیو سلولهای اپیتلیال روده انسان در اثر

www.SID.ir

Archive of SID

پراکسیدهیدروژن نیز مشخص شده است (Dong et al., 2008). علاوه بر این گزارش شده است که پپتیدهای ضداکسایشی استخراج شده از منابع دریایی یا ضایعات فرآوری آبزیان قادر هستند پراکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها را در سامانه فیله ماهی تن (Qiu et al., 2014)، گوشت چرخ شده ماهی شانک (Nikoo et al., 2014; Nikoo et al., 2015a; Nikoo et al., 2015b)، سوریمی ماهی کاد (Kittiphattanabawon et al., 2012)، پروتئین‌های میوفیبریل ماهی لیزارد (Zhang et al., 2002) و گوشت چرخ شده خوک (Kittiphattanabawon et al., 2012) در طول انجماد یا سیکل‌های انجماد- انجمادزدایی به تعویق اندازند. هرچند مطالعات بسیاری در رابطه با اثرات ضداکسایشی پپتیدهای آبزیان در محیط برون سلولی (in vitro) و سامانه‌های غذایی انجام شده ولی اثرات ضداکسایشی آن‌ها در موجود زنده کمتر بررسی شده است. با توجه به این که ممکن است پپتیدهای زیست‌فعال تحت فرآیندهای آنزیمی بدن و کبد متابولیزه شوند و در نتیجه ساختار و اثرگذاری آن‌ها تغییر یابد، از این رو توصیه می‌شود فعالیت ضداکسایشی پپتیدهای استخراج شده پیش از معرفی به عنوان ترکیبات فراسودمند، در موجود زنده (in vivo) نیز بررسی شود (Harnedy and FitzGerald, 2012). به منظور نشان دادن ویژگی‌های عملکردی، پپتیدهای زیست‌فعال باید به صورت دست نخورده از لوله گوارشی عبور کنند و در دسترس بافت‌ها، مایعات زیستی و سلول‌ها قرار گیرند (De Castro and Sato, 2015). گزارش شده است پپتیدهایی که حاوی مقادیر بالایی از اسیدهای آمینه پرولین و هیدروکسی پرولین باشند مقاومت بالایی نسبت به آنزیم‌های هضمی نشان می‌دهند و شانس بیشتری برای عبور از لوله گوارش به صورت دست نخورده دارند (Ismail, 2010 Sarmadi and). Kittiphattanabawon و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که دامنه pH (۹-۱)، دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲۰-۳ دقیقه و مدل هضم گوارشی، اثر معنی‌داری بر فعالیت ضداکسایشی ژلاتین هیدرولیز شده پوست کوسه نداشت. این امر می‌تواند به دلیل حضور مقادیر بالایی از اسیدهای آمینه پرولین و هیدروکسی پرولین در پپتیدهای آن باشد (Kittiphattanabawon et al., 2012). تا کنون فعالیت ضداکسایشی تعدادی از پروتئین‌های هیدرولیز و پپتیدهای زیست‌فعال در مدل‌های حیوانی تایید شده است (Kim et

www.SID.ir

Archive of SID

al., 2013; Ktari et al., 2014; Athmani et al., 2015) و نیاز است میزان استفاده، دفعات استفاده و فواصل زمانی آن با آنالیز مایعات زیستی و بافت‌ها پس از بلع تعیین شود (Agyei and Danquah, 2011). پس از تایید فعالیت ضداکسایشی در مطالعات انسانی و اخذ مجوزهای لازم، می‌توان پپتیدهای زیست‌فعال را به صورت تجاری تولید و در غذاهای فراسودمند استفاده کرد.

جدول ۱: مطالعات انجام شده بر اثرات ضداکسایشی پپتیدهای زیست‌فعال در محیط برون‌سلولی (in vitro)

گونه	نام علمی	منشا	توالی پپتید	عملکرد	منبع
ماهی هیک	*Merluccius productus*	فیله ماهی	-	حذف کنندگی رادیکال‌های DPPH، ABTS، کاهندگی یون آهن و ممانعت از اکسیداسیون لیپید در سیستم لینولئیک اسید	(Cheung et al., 2012)
اسکوئید	*Loligo duvauceli*	بخش‌خوراکی	Trp-Cys-Thr-Ser-Val-Ser	حذف‌کنندگی رادیکال‌های آزاد، شلاته کنندگی و کاهندگی یون‌های فلزی، ممانعت از آسیب DNA، ممانعت از استرس اکسیداتیو القا شده توسط H_2O_2 در سطح سلولی	(Sudhakar and Nazeer, 2015)
ماهی کروکر	*Pseudosciaena crocea*	عضله	Met-Ile-Leu-Met-Arg Tyr-Leu-Met-Ser-Arg Leu-Tyr-Glu-Glu	حذف کنندگی رادیکال‌های DPPH، ABTS و هیدروکسیل، کاهندگی یون آهن و ممانعت از اکسیداسیون لیپید در سیستم لینولئیک اسید	(Chi et al., 2015)
ماهی ماکرل	*Magalaspis cordyla*	امعا و احشا	Ala-Cys-Phe-Leu	حذف‌کنندگی رادیکال‌های DPPH، هیدروکسیل و ممانعت از پراکسیداسیون لیپید در سیستم اسید لینولئیک	(Sampath Kumar et al., 2011)
ماهی پاتین	*Pangasius sutchi*	پروتئین میوفیبریلی	VPKNYFHDIV FVNQPYLLYSVHMK LVMFLDNQHRVIRH	حذف کنندگی رادیکال‌های DPPH، ABTS و کاهندگی یون آهن	(Najafian and Babji, 2015)

www.SID.ir

Archive of SID

گونه	نام علمی	منشا	توالی پپتید	عملکرد	منبع
هوور مسقطی	*Katsuwonus pelamis*	تخم ماهی	DLDLRKDLYAN	حذف کنندگی رادیکال‌های ABTS، اکسیژن یگانه و شلاته کنندگی یون آهن	(Intarasirisawat et al., 2013)
قورباغه ماهی	*Lophius litulon*	عضله ماهی	Glu-Trp-Pro-Ala-Gln Phe-Leu-His-Arg-Pro Leu-Met-Gly-Gln-Trp	حذف کنندگی رادیکال‌های DPPH، سوپراکسید، هیدروکسیل و ممانعت از اکسیداسیون لیپید در سیستم لینولئیک اسید	(Chi et al., 2014)
کوسه پوزه پخ	*Mustelus griseus*	عضله	Gly-Ala-Ala Gly- Phe-Val- Gly Gly-Ile-Ile-Ser-His-Arg Glu-Leu-Leu-Ile Lys-Phe-Pro-Glu	حذف کنندگی رادیکال‌های ABTS، هیدروکسیل، سوپراکسید و ممانعت از اکسیداسیون لیپید در سیستم لینولئیک اسید	(Wang et al., 2014)
ماهی خاویاری	*Acipenser schrenckii*	پوست	Pro-Ala-Gly-Tyr	حذف کنندگی رادیکال‌های DPPH، ABTS، هیدروکسیل	(Nikoo et al., 2014)
کریل	*Mesopodopsis orientalis*	عضله تخمیر شده	-	حذف کنندگی رادیکال‌های DPPH و ABTS، شلاته کنندگی و کاهندگی یون‌های فلزی	(Faithong et al., 2010)
ماهی کاد	*Gadus morhua*	عضله	-	حذف کنندگی رادیکال‌های DPPH و سوپراکسید. شلاته کنندگی و کاهندگی یون‌های فلزی	(Girgih et al., 2015)
ماسل	*Mytilus edulis*	عضله	HFGBPFH	حذف کنندگی رادیکال‌های DPPH و سوپراکسید و هیدروکسل	(Rajapakse et al., 2005b)
ماسل	*Mytilus edulis*	عضله	PIIVYWK FSVVPSPK	اثرات حفاظتی در برابر سمیت کبدی و آسیب اکسیداتیو القا شده توسط H_2O_2 در سلول‌های هپاتومای انسانی	(Park et al., 2016)

www.SID.ir

Archive of SID

گونه	نام علمی	منشا	توالی پپتید	عملکرد	منبع
اسکوئید	*Dosidicus gigas*	پوست	FDSGPAGVL NGPLQAGQPGER	حذف کنندگی رادیکال‌های DPPH و ABTS، شلاته کنندگی وکاهندگی یون‌های فلزی	(Mendis et al., 2005)
اسکوئید	*Dosidicus gigas*	عضله	NADFGLNGLEGLA NGLEGLK	حذف کنندگی رادیکال‌های DPPH و ABTS، شلاته کنندگی و کاهندگی یون‌های فلزی	(Rajapakse et al., 2005a)

جدول ۲: مطالعات انجام شده بر اثرات ضداکسایشی پپتیدهای زیست‌فعال در مدل غذایی

گونه	نام علمی	منشا	توالی پپتید	عملکرد	منبع
ماهی خاویاری	*Acipenser schrenckii*	پوست	Pro-Ala-Gly-Tyr	کاهش اکسیداسیون لیپیدها و دناتوراسیون پروتئین‌ها در مینس ماهی	(Nikoo et al., 2014)
ماهی خاویاری	*Acipenser schrenckii*	پوست	ژلاتین هیدرولیز شده	کاهش اکسیداسیون لیپیدها، جلوگیری از دناتوراسیون پروتئین‌ها با ممانعت از کاهش گروه‌های تیول و افزایش گروه‌های کربونیل در مینس ماهی	(Nikoo et al., 2015b)
Unicorn leatherjacket	*Aluterus monoceros*	پوست	ژلاتین هیدرولیز شده	کاهش اکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها در مینس شسته شده ماهی	(Karnjanapratum and Benjakul, 2015)
کوسه	*Carcharhinus limbatus*	پوست	ژلاتین هیدرولیز شده	جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها در مدل گوشت چرخ شده خوک	(Kittiphattanabawon et al., 2012)
ماهی هیک اقیانوس آرام	*Merluccius Productus*	عضله	پروتئین هیدرولیز شده	جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها و دناتوراسیون پروتئین‌ها در مینس ماهی کاد	(Cheung et al., 2012)

www.SID.ir

Archive of SID

گونه	نام علمی	منشا	توالی پپتید	عملکرد	منبع
ماهی کپور	*Hypophthalmichthys molitrix*	عضله	پروتئین هیدرولیز شده	جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها در فیله ماهی	(Qiu et al., 2014)
پوست کوسه آبی	-	پوست	ژلاتین هیدرولیز شده	جلوگیری از اکسیداسیون و دناتوراسیون پروتئین‌ها در سوریمی ماهی	(Limpisophon et al., 2014)
مار ماهی	*Prionace glauca*	سر	پروتئین هیدرولیز شده	جلوگیری از اکسیداسیون و دناتوراسیون پروتئین‌ها در سوریمی ماهی کپور	(Yanan et al., 2012)

جدول ۳: مطالعات انجام شده بر اثرات ضداکسایشی پپتیدهای زیست‌فعال در موجود زنده

گونه	نام علمی	منشأ	توالی پپتید	عملکرد	منبع
گاو ماهی	*Zosterisessor ophiocephalus*	عضله	پروتئین هیدرولیز شده	کاهش پارامترهای استرس اکسیداتیو، هیپرگلایسمی و اختلال عملکرد کلیه ایجاد شده در اثر جیره غذایی غنی از فروکتوز و چربی در موش صحرایی نر	(Nasri et al., 2015)
ماهی ساردین	*Sardinella aurita*	عضله	پروتئین هیدرولیز شده	کاهش پارامترهای استرس اکسیداتیو و هیپرکلسترولمی ایجاد شده در اثر جیره غذایی غنی از چربی در موش صحرایی	(Athmani et al., 2015)
ماسل	*Mytilus coruscus*	عضله	Ser-Leu-Pro-Ile-Gly-Leu-Met-Ile-Ala-Met	کاهش MDA سرم، افزایش آنزیم‌های ضداکسایشی در رت‌های آلبینو	(Kim et al., 2013)
ماهی زبرا	*Salaria basilisca*	عضله	پروتئین هیدرولیز شده	کاهش MDA سرم و افزایش آنزیم‌های ضداکسایشی در رت‌های دیابتی	(Ktari et al., 2014)

روش‌های جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی پپتیدهای زیست‌فعال

ویژگی‌های مختلف برخی تکنیک‌های مورد استفاده برای جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی پپتیدهای زیست فعال شامل مکانیسم عملکرد، مزایا و محدودیت‌های آن‌ها در جدول ۴ خلاصه شده است (De Castro and Sato, 2015).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴: برخی از تکنیک‌های جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی پپتیدهای زیست‌فعال

تکنیک	مکانیسم	مزایا	محدودیت‌ها
کروماتوگرافی مایع فاز معکوس با کارایی بالا (RP-HPLC)	بر اساس آبگریزی پروتئین یا پپتیدهای زیست‌فعال که تمایل جذب شدن به فاز ثابت آبگریز را دارند	مفید برای جداسازی مخلوط پیچیده‌ای از پپتیدها	عدم بازداری مولکول‌های قطبی، انتشار آهسته نمونه بین ذرات، فعل و انفعالات ثانویه ماده حل شونده با فاز ساکن
کروماتوگرافی تبادل یونی (IEC)	بر اساس توانایی پپتید زیست‌فعال باردار برای ایجاد جاذبه یونی با ماده جاذب باردار با بار مخالف	جداسازی مخلوط پپتیدی حاوی پپتیدهایی آنیونی و کاتیونی	جداسازی انتخابی کم، نیازمند مراحل تکمیلی برای جداسازی
کروماتوگرافی تعامل هیدروفیل (HILIC)	بر اساس قطبیت و آب‌دوستی پپتیدهای زیست‌فعال، توسط فاز ثابت قطبی و فاز متحرک آلی (۷۰ درصد حلال آلی و مقدار کمی حلال آبی یا قطبی)	پتانسیل بالا برای شناسایی پپتیدهای کوچک (کمتر از ۵ اسید آمینه) و بهبود شناسایی آن‌ها توسط طیف‌سنجی جرمی	انعطاف‌پذیری و کاربرد کمتر در مقایسه با کروماتوگرافی فاز معکوس، مشکل حلالیت نمونه، مکانیسم بازداری به خوبی مشخص نشده
کروماتوگرافی میل ترکیبی (Affinity Chromatography)	جداسازی پپتیدهای زیست‌فعال بر اساس برهم‌کنش برگشت‌پذیر آن‌ها با لیگاند باند شده با ماتریکس کروماتوگرافی	استفاده از انواع مختلفی از لیگاند برای جداسازی پپتیدهای مختلف	محدودیت در جداسازی مخلوط پیچیده‌ای از پپتیدهای ناشناخته
کروماتوگرافی مایع با کارایی فوق بالا (UHPLC)	بر اساس عبور آنالیت از ستون حاوی ذرات بسیار ریز غیرمتخلخل تحت فشار خیلی بالا	افزایش حساسیت، وضوح و خروجی در جداسازی مخلوط پپتیدی پیچیده	پهن شدن باند و کاهش کارایی به سبب حرارت تولیدی در اثر استفاده از ذرات بسیار ریز و فشار بالا
ایزوالکتریک فوکوسینگ (IEF)	بر اساس جداسازی پپتید/پروتئین بر اساس نقطه ایزوالکتریک	جداسازی مخلوط پیچیده‌ای از پپتیدها بر اساس نقطه ایزوالکتریک	فقدان پپتیدهای بسیار آبگریز در نمونه، رسوب پروتئین‌های خنثی در نقطه ایزوالکتریک و همپوشانی پپتیدهای مختلف
کروماتوگرافی اندازه‌ای (Size Exclusion Chromatography)	جداسازی پپتیدهای زیست‌فعال بر اساس زمان بازداری در فاز ثابت حاوی ذرات با اندازه معین که امکان جداسازی پپتیدها بر اساس وزن مولکولی را فراهم می‌کند	کمترین تاثیر بر ساختار و خواص پروتئین	نیازمند ستون طویل برای جداسازی ترکیب پپتیدی پیچیده

www.SID.ir

Archive of SID

تکنیک	مکانیسم	مزایا	محدودیت‌ها
یونیزاسیون افشانه الکترونی/ طیف‌سنجی جرمی (ESI/MS)	بر اساس تبدیل محلول آبی با چگالی الکتریکی یکنواخت به یون‌های فاز گازی با اعمال تحریک الکتریکی و سپس انتقال به طیف‌سنج جرمی برای تعیین نسبت جرم به بار	تعیین دقیق وزن مولکولی با تولید یون‌های تک‌بار یا بار چندگانه	کارایی شناسایی، ارتباط مستقیمی با روش کروماتوگرافی مورد استفاده برای جداسازی پپتیدها دارد و باید روش‌های جداسازی مختلفی برای شناسایی دقیق استفاده شود
طیف‌سنجی جرمی MALDI-TOF	تبدیل آنالیت در شبکه‌ی بلوری ماتریکس به یون‌های گازی باردار تحت تابش اشعه لیزر و تعیین زمان پرواز (TOF) نسبت m/z توسط تجزیه‌گر جرمی	هیچ محدودیتی برای نسبت m/z وجود ندارد که سبب شناسایی مخلوط پپتیدی با وزن‌های مولکولی مختلف می‌شود	-

در تعدادی از مطالعات غشاهای فراپالایش با وزن مولکولی مختلف از کروماتوگرافی فیلتراسیون ژلی، کروماتوگرافی مایع فاز معکوس با کارایی بالا (RP-HPLC) و طیف‌سنجی جرمی به منظور جداسازی و شناسایی توالی پپتیدهای ضداکسایشی از منابع آبزی استفاده شده است (Wang et al., 2012, 2014; Intarasirisawat et al., 2012; Intarasirisawat et al., 2013; Najafian and Babji, 2014; Chi et al., 2015). برای این منظور، در برخی از مطالعات، کروماتوگرافی سریع پروتئین (FPLC)، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و طیف‌سنجی جرمی MALDI-TOF به کار برده شده است (Nikoo et al., 2014; Nikoo et al., 2015a). Sampath Kumar و همکاران (۲۰۱۱) فراکشن‌هایی با بیشترین خاصیت ضداکسایشی را از امعا و احشای ماهی ماکرل (*Magalaspis cordyla*) توسط کروماتوگرافی سریع پروتیئن (FPLC) و کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون جداسازی کرده، توالی آن‌ها را توسط طیف‌سنجی ESI/MS تعیین کردند. برخی پژوهشگران از غشاهای فراپالایش، کرماتوگرافی تبادیل یونی، کروماتوگرافی مایع فاز معکوس با کارایی بالا (RP-HPLC) و طیف‌سنجی ESI/MS به منظور خالص‌سازی و شناسایی توالی پپتیدهای ضداکسایشی آبزیان استفاده کردند (Intarasirisawat et al., 2012; Intarasirisawat et al., 2013; Najafian and Babji, 2014). به طور کلی در رابطه با مخلوط پیچیده‌ای از پروتئین‌ها و پپتیدها، مشکل اصلی جداسازی پپتیدهایی با اندازه و

www.SID.ir

Archive of SID

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی متفاوت است که روند شناسایی توالی آن‌ها را دچار مشکل می‌سازد که با استفاده از چندین تکنیک جداسازی پیش از تزریق نمونه به طیف‌سنج جرمی این مشکل حل می‌شود (De Castro and Sato, 2015)

نتیجه‌گیری

پپتیدهای ضداکسایشی از منابع آبزی توسط روش‌های هیدرولیز آنزیمی و میکروبی جداسازی می‌شوند. به منظور جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی پپتیدهایی با بیشترین خاصیت ضداکسایشی از غشاهای اولترا- فیلتراسیون، کروماتوگرافی (فیلتراسیون ژل، تبادل یونی، فاز معکوس، UHPLC، FPLC) و طیف‌سنجی جرمی استفاده می‌شود. اندازه پپتیدها، نوع اسیدهای آمینه، قرارگیری اسیدهای آمینه در موقعیت‌های مختلف زنجیره و قابلیت آبگریزی مهمترین عواملی هستند که بر مکانیسم ضداکسایشی پپتیدها تاثیر می‌گذارند. اثرات ضداکسایشی پپتیدهای آبزیان در محیط برون سلولی (in vitro) را می‌توان با چندین روش تعیین کرد که هر کدام فعالیت و مکانیسم جداگانه‌ای را اندازه می‌گیرند. علاوه بر مطالعات برون سلولی، فعالیت ضداکسایشی پپتیدهای آبزیان در بدن موجود زنده (in vivo) با استفاده از فاکتورهای مختلفی همانند سطح مالون‌دی‌آلدهید و فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی سرم و بافت‌ها تعیین می‌شود. برای نشان دادن خواص ضداکسایشی در بدن موجود زنده، پپتیدها باید از دستگاه گوارش جذب شده، توسط گردش خون به بخش‌های مختلف حمل شوند و در بافت‌ها، مایعات زیستی و سلول‌ها توزیع و حفظ شوند. به منظور تعیین غلظت و مدت مصرف پپتیدها نیز می‌توان دسترسی زیستی آن‌ها را با آنالیز مایعات زیستی و بافت‌ها پس از بلع تعیین کرد. پپتیدهایی با بیشترین خاصیت ضداکسایشی در بدن موجود زنده و همچنین سامانه‌های غذایی می‌توانند پس از تعیین توالی سنتز شده، در محصولات غذایی به عنوان ترکیبات نگهدارنده و فراسودمند استفاده شوند. پیش از استفاده از این ترکیبات در مواد غذایی، نیاز است خاصیت ضداکسایشی پپتیدها در مطالعات انسانی تایید شده، مجوزهای قانونی از مراجع مرتبط (FDA، EFSA و FOSHU) اخذ شود. در ایران نیز اخیرا ثبت شرکت‌های ایرانی و محصولات تولیدی در سازمان FDA مجاز گردیده است.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

Agyei D. and Danquah M.K. 2011. Industrial-scale manufacturing of pharmaceutical-grade bioactive peptides. Biotechnology Advances, 29(3): 272–277.

Agyei D. and Danquah M.K. 2012. Rethinking food-derived bioactive peptides for antimicrobial and immunomodulatory activities. Trends in Food Science and Technology, 23(2): 62–69.

Andersen C.M. and Jorgensen B. 2004. On the relation between water pools and water holding capacity in cod muscle. Journal of Aquatic Food Products Technology, 13: 13–23.

Aneiros A. and Garateix A. 2004. Bioactive peptides from marine sources: Pharmacological properties and isolation procedures. Journal of Chromatography, 803: 41–53.

Athmani N., Dehiba F., Allaoui A., Barkia A., Bougatef A. and Lamri-Senhadji M.Y. 2015. *Sardina pilchardus* and *Sardinella aurita* protein hydrolysates reduce cholesterolemia and oxidative stress in rat fed high cholesterol diet. Journal of Experimental and Integrative Medicine, 5(1): 47–54.

Benjakul S. and Visessanguan W. 2010. Impacts of freezing and frozen storage on quality changes of seafoods. P: 283–306. In: Devahastin S. (Ed.). Physicochemical Aspects of Food Engineering and Processing. CRC Press, USA.

Cheung I.W.Y., Cheung L.K.Y., Tan N.Y. and Li-Chan E.C.Y. 2012. The role of molecular size in antioxidant activity of peptide fractions from Pacific hake (*Merluccius productus*) hydrolysates. Food Chemistry, 1297–1306.

Chi C.F., Hu F.Y., Bin W., Ren X.J., Deng S.G., Wu C.W. 2015. Purification and characterization of three antioxidant peptides from protein hydrolyzate of croceine croaker (*Pseudosciaena crocea*) muscle. Food Chemistry, 168: 62–67.

Chi C.F., Wang B., Deng Y.Y., Wang Y.M., Deng S.G. and Ma J.Y. 2014. Isolation and characterization of three antioxidant pentapeptides from protein hydrolysate of monkfish (*Lophius litulon*) muscle. Food Research International, 55: 222–228.

Choe E. and Min D.B. 2005. Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. Journal of Food Science, 70(9): 142–159.

De Castro R.J.S. and Sato H.H. 2015. Biologically active peptides: Processes for their generation, purification and identification and applications as natural additives in the food and pharmaceutical

www.SID.ir

Archive of SID

industries. Food Research International, 74: 185–198.

Dong S., Zeng M., Wang D., Liu Z., Zhao Y. and Yang H. 2008. Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). Food Chemistry, 107(4): 1485–1493.

Erdmann K., Grosser N, Schipporeit K. and Schro der H. 2006. The ACE inhibitory dipeptide Met-Tyr diminishes free radical formation in human endothelial cells via induction of heme oxygenase-1 and ferritin. The Journal of Nutrition, 136: 2148–2152.

Eymard S., Baron C.P. and Jacobsen C. 2009. Oxidation of lipid and protein in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) mince and washed minces during processing and storage. Food Chemistry, 114(1): 57–65.

Faithong N., Benjakul S., Phatcharat S. and Binsan W. 2010. Chemical composition and antioxidative activity of Thai traditional fermented shrimp and krill products. Food Chemistry, 119(1): 133–140.

Girgih A.T., He R., Hasan F.M., Udenigwe C.C., Gill T.A. and Aluko R.E. 2015. Evaluation of the in vitro antioxidant properties of a cod (*Gadus morhua*) protein hydrolysate and peptide fractions. Food Chemistry, 173: 652–659.

Giri A. and Ohshima T. 2012. Bioactive marine peptides: Nutraceutical value and novel approaches. Advances in Food and Nutrition Research, 65: 73–105.

Guerard F., Decourcelle N., Sabourin C., Floch-Laizet C., Le Grel L. and Le Floch P. 2010. Recent developments of marine ingredients for food and nutraceutical applications: A review. Journal des Sciences Halieutiques et Aquatiques, 2: 21–27.

Harnedy P.A. and FitzGerald R.J. 2012. Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: A review. Journal of Functional Foods, 4(1): 6–24.

Hoyle N. and Merritt J. 2006. Quality of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). Journal of Food Science, 19: 59–76.

Intarasirisawat R., Benjakul S., Visessanguan W. and Wu J. 2012. Antioxidative and functional properties of protein hydrolysate from defatted skipjack (*Katsuwonous pelamis*) roe. Food Chemistry, 135(4): 3039–3048.

Intarasirisawat R., Benjakul S., Wu J. and Visessanguan W. 2013. Isolation of antioxidative and ACE inhibitory peptides from protein hydrolysate of skipjack (*Katsuwana pelamis*) roe. Journal of Functional Foods, 5(4): 1854–1862.

www.SID.ir

Archive of SID

Karnjanapratum S. and Benjakul S. 2015. Cryoprotective and anti-oxidantive effects of gelatin hydrolysate from unicorn leatherjacket skin. International Journal of Refrigeration, 49: 69–78.

Khairallah M.G., Hettiarachchy N.S. and Rayaprolu S.J. 2016. Stability and quality of a bioactive peptide fraction incorporated orange juice. LWT- Food Science and Technology, 66: 523–529.

Kim E.K., Oh H.J., Kim Y.S., Hwang J.W., Ahn C.B. and Lee J.S. 2013. Purification of a novel peptide derived from *Mytilus coruscus* and in vitro/in vivo evaluation of its bioactive properties. Fish and Shellfish Immunology, 34(5): 1078–1084.

Kim S.K. 2013. Marine Proteins and Peptides: Biological Activities and Applications. Wiley-Blackwell, USA. 816P.

Kim S.K. and Mendis E. 2006. Bioactive compounds from marine processing byproducts- A review. Food Research International, 39(4): 383–393.

Kim S.K. and Wijesekara I. 2010. Development and biological activities of marine-derived bio-active peptides: A review. Journal of Functional Foods, 2(1): 1–9.

Kim S.Y., Je J. and Kim S.K. 2007. Purification and characterization of antioxidant peptide from hoki (*Johnius belengerii*) frame protein by gastrointestinal digestion. The Journal of Nutritional Biochemistry, 18(1): 31–38.

Kittiphattanabawon P., Benjakul S., Visessanguan W. and Shahidi F. 2012. Cryoprotective effect of gelatin hydrolysate from blacktip shark skin on surimi subjected to different freeze-thaw cycles. LWT- Food Science and Technology, 47(2): 437–442.

Ktari N., Nasri R., Mnafgui K., Hamden K., Belguith O. and Boudaouara T. 2014. Anti-oxidative and ACE inhibitory activities of protein hydrolysates from zebra blenny (*Salaria basilisca*) in alloxan-induced diabetic rats. Process Biochemistry, 49(5): 890–897.

Limpisophon K., Iguchi H., Tanaka M., Suzuki T., Okazaki E. and Saito T. 2014. Cryoprotective effect of gelatin hydrolysate from shark skin on denaturation of frozen surimi compared with that from bovine skin. Fisheries Science, 81(2): 383–392.

Mendis E., Rajapakse N., Byun H.G. and Kim S.K. 2005. Investigation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) skin gelatin peptides for their in vitro antioxidant effects. Life Sciences, 77: 2166–2178.

Mills S., Stanton C., Hill C. and Ross R. 2011. New developments and applications of bacteriocins and peptides in foods. Annual Review

www.SID.ir

Archive of SID

of Food Science and Technology, 2: 299–329.

Min B. and Ahn D. 2005. Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products, A review. Food Science and Biotechnology Advances, 14: 152–163.

Murray B. and FitzGerald R. 2007. Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins: Biochemistry, bio-activity and production. Current Pharmaceutical Design, 13: 773–791.

Najafian L. and Babji A.S. 2014. Production of bioactive peptides using enzymatic hydrolysis and identification antioxidative peptides from patin (*Pangasius sutchi*) sarcoplasmic protein hydolysate. Journal of Functional Foods, 9(1): 280–289.

Najafian L. and Babji A.S. 2015. Isolation, purification and identification of three novel anti-oxidative peptides from patin (*Pangasius sutchi*) myofibrillar protein hydrolysates. LWT- Food Science and Technology, 60(1): 452–461.

Nalinanon S., Benjakul S., Kishimura H. and Shahidi F. 2011. Functionalities and anti-oxidant properties of protein hydrolysates from the muscle of ornate threadfin bream treated with pepsin from skipjack tuna. Food Chemistry, 124(4): 1354–1362.

Nasri R., Abdelhedi O., Jemil I., Daoued I., Hamden K. and Kallel C. 2015. Ameliorating effects of goby fish protein hydrolysates on high-fat-high-fructose diet-induced hyperglycemia, oxidative stress and deterioration of kidney function in rats. Chemico-Biological Interactions, 242: 71–80.

Nikoo M., Benjakul S. and Xu X. 2015b. Antioxidant and cryo-protective effects of Amur sturgeon skin gelatin hydrolysate in unwashed fish mince. Food Chemistry, 181: 295–303.

Nikoo M., Benjakulc S., Ehsanid A., Jing Lib F.W., Yangb N. and Xue B. 2014. Antioxidant and cryoprotective effects of a tetrapeptide isolated from Amur sturgeon skin gelatin. Journal of Functional Foods, 7: 609–620.

Nikoo M., Regenstein J.M., Ghomi M.R., Benjakul S., Yang N. and Xu X. 2015. Study of the combined effects of a gelatin-derived cryoprotective peptide and a non-peptide antioxidant in a fish mince model system. LWT- Food Science and Technology, 60(1): 358–364.

Park S.Y., Kim Y.S., Ahn C.B. and Je J.Y. 2016. Partial purification and identification of three antioxidant peptides with hepatoprotective effects from blue mussel (*Mytilus edulis*) hydrolysate by peptic hydrolysis.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Functional Foods, 20: 88–95.

Pfeiffer N. 2003. Disposal and Re-utilisation of Fish and Fish Processing Waste (including Aquaculture Waste). NDP Marine RTDI Desk Study Series, Marine Institute, Ireland. 135P.

Qiu X., Chen S. and Dong S. 2014. Effects of silver carp antioxidant peptide on the lipid oxidation of sierra fish fillets (*Scomberomorus niphonius*) during frozen storage. Journal of Food Biochemistry, 38(2): 167–174.

Rabiei S., Hosseini H. and Rezae M. 2014a. The inhibitory effect of Black zira essential oil on *Listeria monocytogenes* growth in simulated broth culture models and fillet of Kutum (*Rutilus frisii kutum*). Iranian Food Science and Technology Research Journal, 10(2): 122–128.

Rabiei S., Hosseini H. and Rezaei M. 2013b. The hurdle effect of *Bunium persicum* essential oil, smoke and NaCl for controlling the *Listeria monocytogenes* growth in fish model systems. Journal of Food Safety, 33: 137–144.

Rabiei S., Hosseini H. and Rezaei M. 2014b. Use *Carum copticum* essential oil for controlling the *Listeria monocytogenes* growth in fish model system. Brazilian Journal of Microbiology, 45(1): 89–96.

Rabiei S., Hosseini H., Rezaei M. and Mousavi T. 2013a. Inhibitory effects of Ajowan essential oil on growth of *Listeria monocytogenes* in *Rutilus frissi kutum* broth medium and fillet. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 8(2): 69–80.

Raghavan S., Kristinsson H.G. and Leeuwenburgh C. 2008. Radical scavenging and reducing ability of tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein hydrolysates. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56: 10359–10367.

Rajapakse N., Mendis E., Byun H. and Kim S.K. 2005a. Purification and in vitro antioxidative effects of giant squid muscle peptides on free radical-mediated oxidative systems. The Journal of Nutritional Biochemistry, 16(9): 562–569.

Rajapakse N., Mendis E., Jung W.K., Je J.Y. and Kim S.K. 2005b. Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties. Food Research International, 38(2): 175–182.

Sampath Kumar N., Nazeer R.A. and Jaiganesh R. 2011. Purification and biochemical characterization of antioxidant peptide from horse mackerel (*Magalaspis cordyla*) viscera protein. Peptides, 32: 1496–1501.

Sarmadi B.H. and Ismail A. 2010. Antioxidative peptides from food

www.SID.ir

Archive of SID

proteins: A review. Peptides, 31: 1949–1956.

Shahidi F. and Alasalvar C. 2011. Marine oils and other marine nutraceuticals. P: 444–454. In: Alasalvar C., Shahidi F., Miyashita K. and Wanasundara U. (Eds.). Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications. Wiley-Blackwell, Oxford, UK.

Sudhakar S. and Nazeer R.A. 2015. Structural characterization of an Indian squid antioxidant peptide and its protective effect against cellular reactive oxygen species. Journal of Functional Foods, 14: 502–512.

Tang C., Wang X. and Yang X. 2009. Enzymatic hydrolysis of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate by various proteases and antioxidant properties of the resulting hydrolysates. Food Chemistry, 114: 16–22.

Tang W., Zhang H., Wang L., Qian H. and Qi X. 2015. Targeted separation of antibacterial peptide from protein hydrolysate of anchovy cooking wastewater by equilibrium dialysis. Food Chemistry, 168: 115–123.

Thanonkaew A., Benjakul S., Visessanguan W. and Decker E.A. 2006. The effect of metal ions on lipid oxidation, colour and physicochemical properties of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) subjected to multiple freeze-thaw cycles. Food Chemistry, 591–599.

Venugopal V. 2008. Marine Products for Healthcare: Functional and Bioactive Nutraceutical Compounds from the Ocean. CRC Press, USA. 528P.

Wang B., Gong Y.D., Li Z.R., Yu D., Chi C.F. and Ma J.Y. 2014. Isolation and characterization of five novel antioxidant peptides from ethanol-soluble proteins hydrolysate of spotless smoothhound (*Mustelus griseus*) muscle. Journal of Functional Foods, 6: 176–185.

Wang B., Li Z.R., Chi C.F., Zhang Q.H. and Luo H.Y. 2012. Preparation and evaluation of antioxidant peptides from ethanol-soluble proteins hydrolysate of *Sphyrna lewini* muscle. Peptides, 36(2): 240–250.

Yanan Z., Li Z., Hua L., Wei S. and Meilan Y. 2012. Effect of eel head protein hydrolysates on the denaturation of grass carp surimi during frozen storage. Procedia Engineering, 37: 223–228.

Zhang N., Yamashit Y. and Nozakio Y. 2002. Effect of protein hydrolysate from antarctic krill on the state of water and denaturation of lizard fish myofibrils during frozen storage. Food Science and Technology Research, 8(3): 200–206.

www.SID.ir

Archive of SID

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 4, No. 3, Autumn 2016

Review Article

Antioxidant peptides from marine sources: Identification, purification and mechanism of their action

Mehdi Nikoo[1], Sana Rabiei[2], Masoud Rezaei[3]*, Mohammad Khezri[2]

Received: April 2016 Accepted: July 2016

Abstract

Uncontrolled generation of free radicals can lead to oxidative damage of food and human health problems. Synthetic antioxidants are commonly used in the food and pharmaceutical industries to retard lipid oxidation but their application is strictly controlled due to toxicity and carcinogenicity. Marine organisms that comprise half of the world's diversity are rich sources of bioactive compounds such as peptides, which can be used in the production of functional food. This study reviewed the studies conducted on the antioxidant peptides from marine sources, methods used for their purification and identification and their structures and mechanisms of antioxidant activity, both *in vitro* and *in vivo* .Review of studies showed that peptides derived from marine sources show potential antioxidant activity in vitro, in animal models and in food systems. Peptides size, type of amino acids, position of amino acids within peptides and hydrophobicity can influence antioxidant activity of peptides. Antioxidant peptides can be used as functional ingredients to control oxidation of fat and protein in food products. These peptides control the oxidation processes and have potential impact in the treatment and control of human diseases.

Key words: *Marine Peptide, Antioxidant Properties, Functional Foods.*

1-Assistant Professor in Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran.
2-PhD Student in Seafood Science and Technology, Faculty of Marin Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
3-Professor in Department of Seafood Science and Technology, Faculty of Marin Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
*Corresponding Author: rezai_ma@modares.ac.ir

www.SID.ir