مجله ایمنی زیستی
دوره ۱۴، شماره ۳، پائیز ۱۴۰۰
ISSN ۲۷۱۶-۹۸۰۴ الکترونیکی، ISSN ۲۷۱۷-۰۶۳۲ چاپی

بررسی اثر پروتئین و پپتیدهای کینوا بر کیفیت نان بدون گلوتن

20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3

سیده فاطمه صادقیان مطهر[۱]، مریم سلامی*[۱]، شهره آریائی‌نژاد*[۲]، زهرا امام جمعه[۱]

۱- پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
۲- بخش زیست شناسی سامانه‌ها، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
sh.ariaee@abrii.ac.ir
msalami@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۰۴، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۱۰
صفحه ۳۶-۱۹

چکیده

تولید محصولات بدون گلوتن به علت نقش آن‌ها در بیماری‌های مرتبط با گلوتن و سلامت دارای اهمیت است. در این پژوهش اثر پروتئین و پپتیدهای زیست‌فعال کینوا (*چنوپودیوم کینوا*) در افزایش کیفیت نان بدون گلوتن مورد ارزیابی قرار گرفت. پپتیدهای زیست‌فعال طی هیدرولیز آنزیمی با آلکالاز تولید و حضور آن‌ها با آزمون‌های الکترو سکوپی OPA و الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید تایید شد. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای زیست‌فعال تولیدشده ۸۰/۴۲٪ قدرت مهار رادیکال ABTS و ۵۶/۰۲٪ مهار رادیکال DPPH را نشان داد و بیشترین قدرت احیا پس از ۴ ساعت هیدرولیز مشاهده شد. پروتئین و پپتیدهای زیست‌فعال کینوا با بیشینه‌ی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به فرمولاسیون نان بدون گلوتن افزوده شدند. حضور ایزوله‌ی پروتئین کینوا فاکتورهای سفتی، صمغیّت و قابلیت جویدن را نسبت به نمونه‌ی کنترل کاهش داد. علاوه‌بر این، افزودن پروتئین و پپتید کینوا و مخلوط آن‌ها کاهش فاکتور روشنایی و افزایش اندیس قهوه‌ای شدن نان را به دنبال داشت. هم‌چنین، نتایج رئولوژی خمیر بدون گلوتن تاییدکننده‌ی رفتار جامد-مایع نمونه‌های تیمارشده با پروتئین و پپتید کینوا بود. بر اساس نتایج حاصل، افزودن پروتئین و پپتید زیست‌فعال کینوا بر ویژگی‌های فیزیکی و حسی نان بدون گلوتن اثر منفی داشته ولی می‌تواند موجب تولید محصولی با خواص آنتی‌اکسیدانی بالاتر شود.

واژه‌های کلیدی: هیدرولیز آنزیمی، خواص آنتی‌اکسیدانی، نان بدون گلوتن، کینوا.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]
[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]

مقدمه

گلوتن، پروتئین اصلی بعضی از غلات، مانند گندم، جو و چاودار است که نقش مهمی در صنعت نان دارد. ویژگی‌های منحصربه‌فرد آرد گندم به گلوتن برمی‌گردد که از دو پروتئین اصلی گلیادین (پروتئین پرولامینی تامین‌کننده‌ی ویسکوزیته خمیر) و گلوتنین (پروتئین گلوتلینی موثر در کشسانی خمیر) تشکیل شده و خود در بروز بیماری سلیاک نقش بسیار مهمی دارد (Capriles et al. 2016).

بیماری سلیاک، یک بیماری خود ایمنی است و شخص بیمار در تمام طول زندگی خود با آن مواجه است. این بیماری به سبب عدم تحمل مصرف گلوتن موجود در گندم، جو و چاودار ایجاد می‌شود. در این بیماری در طی هضم گلوتن در روده فعالیت سیستم ایمنی موجب آسیب سلول‌های روده می‌شود. این بیماری منشا ژنتیکی دارد (Norouzbeigi et al. 2020).

کینوا با نام علمی *Chenopodium quinoa* willd که به خاویار گیاهی هم شهرت دارد متعلق به خانواده تاج‌خروسیان است. این گیاه برای اولین‌بار چهار هزار سال پیش توسط مردم آند در شمال غربی و جنوب آمریکا کشت شد (Pereira et al. 2019).

کینوا از جمله شبه‌غلاتی است که به دلیل درصد بالای مواد مغذی، قابلیت دسترسی زیستی بالا، طبیعت بدون گلوتن و ویژگی های شیمیایی مناسب، یک ماده‌ی غذایی سودمند برای انسان است. پروتئین کینوا حاوی آمینواسیدهای ضروری است که برای رشد و بهبود عملکرد سلول‌ها در بدن ضروری‌اند (Dakhili et al. 2019).

کیفیت پروتئین های کینوا طی فرآیند هیدرولیز آنزیمی بهبود یافته و ویژگی های عملکردی آن ارتقاء می‌یابد. گزارش‌های پیشین نشان داده است که خواص ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضد فشار خونی هیدرولیزات کینوا بیشتر از پروتئین های هیدرولیز نشده آن است (Shi et al. 2019). مهدوی یکتا و همکاران (۲۰۱۹) با استفاده از آنزیم آلکالاز و پپسین پروتئین کینوا را هیدرولیز کرده و اثر دماهای مختلف، زمان های مختلف و مقادیر مختلف آنزیم را روی میزان پپتید تولیدشده بررسی کردند. نتایج این گروه نشان داد که پپتیدهای به دست‌آمده از کینوا در شرایط بهینه فعالیت آنتی اکسیدانی کافی برای استفاده در مواد غذایی را دارا بود (Mahdavi-Yekta et al. 2019). تنش‌های اکسیداتیو موجب تولید رادیکال‌های آزاد شده و در نهایت منجر به بیماری هایی از قبیل دیابت، سرطان، چاقی و سندروم‌های متابولیک می شوند.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]

آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند با جلوگیری از ایجاد این رادیکال‌ها، افزایش تقویت سیستم ایمنی و افزایش سلامت بدن به جلوگیری از این بیماری‌ها کمک کنند (Tan et al. 2018). بنابراین تولید نان‌های بدون گلوتن با خاصیت آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند روشی بسیار موثر در بهبود ویژگی‌های نان و ارتقای سلامت باشد. مطالعات پیشین نشان دادند که نان گندم غنی‌شده با آرد کینوا موجب بهبود ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی نان شده است (Xu et al. 2019). با توجه به اهمیت روز افزون نان‌های بدون گلوتن در سراسر دنیا، مطالعه‌ی پیش رو در نظر دارد تا از کینوا به‌عنوان شبه‌غله‌ای سرشار از پروتئین استفاده کرده و اثر پروتئین و پپتید کینوا را بر کیفیت نان بدون گلوتن بررسی کند. به این منظور، پس از استخراج پروتئین و تولید پپتید کینوا طی هیدرولیز، خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها بررسی شد و اثر آن‌ها بر ویژگی‌های فیزیکی، خواص رئولوژی و حسی نان بدون گلوتن مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده

دانه‌ی کینوا سفید از شرکت OAB تهیه شد. نشاسته سیب‌زمینی، آرد باک ویت (گندم سیاه)، مخمر، نمک، روغن آفتاب‌گردان، دانه کلزا و صمغ زانتان از سوپرمارکت محلی (کرج) تهیه شد. آنزیم آلکالاز، هیدروکلریک اسید، سدیم هیدروکسید، آلبومین سرم گاوی، سدیم تترا هیدروبورات، کوما سی بریلیانت بلو، بتامرکاپتواتانول، آکریلآمید، بیس-آکریل‌آمید، آمونیوم پرسولفات، ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)، DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)، پتاسیم پرسولفات، OPA (O-phthaldialdehyde)، تری کلرواستیک اسید و فرّیک کلراید از Sigma-Aldrich تهیه شدند.

استخراج پروتیئن کینوا

به‌منظور تولید ایزوله پروتئین کینوا، روش موجود در گزارش‌های پیشین مورد استفاده قرار گرفت (Abugoch et al. 2008).

دانه‌های کینوا آسیاب و از الک با مش ۵۰ عبور داده شدند. نمونه‌های آرد کینوا در آب دیونیزه به نسبت ۱:۱۰ (وزنی/حجمی) محلول شده و پس از تثبیت pH سوسپانسیون روی ۹ با استفاده از NaOH دو نرمال، به مدت یک ساعت در دمای اتاق مخلوط شدند. در مرحله‌ی بعد، سوسپانسیون مورد نظر در دمای ۱۰ درجه سلسیوس با دور ۸۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]

سوپرناتانت حاصله جمع‌آوری شد و پس از رساندن pH به ۴/۵ با استفاده از HCl دو نرمال، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. رسوب به دست آمده از سانتریفیوژ، جمع‌آوری و پس از لیوفیلیزه شدن، به مدت ۲۴ ساعت جهت انجام سایر آزمایش‌ها در یخچال نگهداری شد.

هیدرولیز پروتئین کینوا

پروتئین استخراج‌شده تحت اثر هضم آنزیمی توسط آنزیم آلکالاز قرار گرفت. ابتدا محلول اولیه پروتئین کینوا با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در آب مقطر تهیه و pH آن با استفاده از NaOH دو نرمال روی ۱۰ تنظیم شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت روی استیرر (همزن مغناطیسی) قرار گرفت. آنزیم آلکالاز با نسبت ۱:۱۰۰ (سوبسترا:آنزیم) به محلول در حال چرخش افزوده شد و تحت شرایط بهینه‌ی آنزیم (دمای ۵۰ درجه سلسیوس و pH=۸/۵) به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. هیدرولیز طی بازه‌های زمانی ۱، ۲، ۳، ۴ و ۲۴ ساعت انجام و از محلول‌های موردنظر نمونه‌برداری انجام شد. پس از هضم و به‌منظور غیرفعال کردن آنزیم، نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند. سپس نمونه‌های پروتئین هیدرولیز شده در دمای اتاق سرد شده و به‌منظور آزمایشات بعدی در یخچال نگهداری شدند. آزمایش در سه تکرار انجام شد.

اسپکتروسکوپی با روش OPA

جهت بررسی هیدرولیز نمونه‌ها روش OPA مورد استفاده قرار گرفت (Church et al. 1983). محلول تازه‌ی OPA با مخلوط کردن ۲۵ میلی‌لیتر سدیم تترابورات (۱۰۰ میلی‌مولار، pH=۹/۳)، ۵/۲ میلی‌لیتر SDS (۲۰٪ وزنی/وزنی)، ۴۰ میلی‌گرم OPA (حل شده در یک میلی‌لیتر متانول) و ۱۰۰ ماکرولیتر بتامرکاپتواتانول تهیه و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در مرحله بعد، ۵۰ ماکرولیتر از نمونه هیدرولیزشده در زمان‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۲۴ ساعت با ۵۰۰ ماکرولیتر از محلول OPA مخلوط شده و سپس جذب نمونه‌ها بلافاصله پس از ۲ دقیقه انکوباسیون در ۳۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا اندازه‌گیری شد. پروتئین هیدرولیزنشده به‌عنوان نمونه‌ی کنترل مورد استفاده قرار گرفت و میزان پروتئین هیدرولیزشده با استفاده از تغییرات میزان جذب نسبت به نمونه‌ی کنترل محاسبه شد (Moghadam et al. 2020).

محاسبه‌ی توزیع وزن مولکولی

الکتروفورز ژل سدیم دودسیل سولفات پلی آکریل‌آمید (SDS-PAGE) برای محاسبه‌ی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]

توزیع وزن مولکولی هیدرولیزات پروتئین کینوا استفاده شد (Laemmli. 1970). پس از آماده‌سازی ژل، نمونه‌ها (یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به درون چاهک‌ها لود شده و پس از برقراری جریان، پپتیدها بر اساس وزن مولکولی جدا شدند. سپس، ژل با رنگ کوماسی‌بلو رنگ‌آمیزی شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

بررسی توانایی نمونه‌های هیدرولیز شده و نشده جهت حذف رادیکال ABTS مطابق روش پیشین انجام شد (Re et al. 1999). محلول تازه‌ی ABTS با رقیق‌سازی ABTS با استفاده از آب مقطر به‌منظور رسیدن به جذب ۰/۷±۰/۰۳ در طول موج ۷۳۴ نانومتر تهیه شد. مقدار ۱۰۰ ماکرولیتر از نمونه‌ی رقیق‌شده با ۱ میلی‌لیتر از ABTS مخلوط و پس از ۶ دقیقه جذب آن در ۷۳۴ نانومتر اندازه گیری شد. از آب مقطر به‌عنوان کنترل استفاده شد. درصد مهار رادیکال با استفاده از فرمول ۱ محاسبه شد:

$$\text{مهار رادیکال ABTS}(\%) = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times 100$$ فرمول ۱

بررسی توانایی مهار رادیکال DPPH طبق روش گزارش شده انجام شد (Cuvelier and Berset, 1995). به‌منظور انجام این آزمایش مقدار ۱۰۰ ماکرولیتر از نمونه با یک میلی‌لیتر از محلول اتانولی DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط شد. آب مقطر به‌عنوان کنترل انتخاب شد. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای محیط جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۰ نانومتر ثبت و میزان مهار رادیکال با استفاده از فرمول ۲ محاسبه شد:

$$\text{مهار رادیکال DPPH}(\%) = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times 100$$ فرمول ۲

قدرت کاهش یون فرّیک به وسیله‌ی نمونه‌ها با استفاده از روش پیشین انجام شد (Sherikar and Mahanthesh, 2015). به این ترتیب که: ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه با غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۱/۲۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۶/۶) و ۱/۲۵ میلی‌لیتر پتاسیم فروسیانید (۱٪ وزنی/حجمی) مخلوط شد. پس از انکوباسیون به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب ۵۰

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]

درجه سلسیوس مقدار ۱/۲۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (۱۰٪ وزنی/حجمی) به مخلوط افزوده شد. محلول نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس ۱/۲۵ میلی‌لیتر از سوپرناتانت با ۱/۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۲۵میلی‌لیتر فریک کلراید (۰/۱٪) مخلوط شد. جذب نمونه‌ها پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای محیط در طول موج ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

آماده‌سازی نان بدون گلوتن

ابتدا به‌منظور تولید آرد کینوا، دانه های کینوا آسیاب شدند و آرد به دست آمده از الک با مش ۵۰ عبور داده شد.

نان‌های بدون گلوتن طبق مقادیر زیر و بر اساس ۱۰۰ گرم آرد و نشاسته آماده شدند: آرد برنج ۳۰٪، نشاسته سیب‌زمینی ۳۰٪، آرد باک ویت ۲۰٪، مخمر ۳٪، صمغ زانتان ۰/۵٪، روغن آفتابگردان ۶٪، نمک ۲٪، شکر ۳٪ و آب ۸۵٪، در تمام نمونه‌ها یکسان و نمونه‌ی کنترل (C) دارای ۲۰٪ آرد کینوا، نمونه‌ی حاوی ایزوله‌ی پروتئین کینوا (I) دارای ۱۷٪ آرد کینوا و ۳٪ پروتئین کینوا، نمونه‌ی حاوی هیدرولیزات کینوا (H) دارای ۱۹٪ آرد کینوا و ۱٪ هیدرولیزات کینوا و نمونه‌ی حاوی پروتئین و هیدرولیزات کینوا (IH) دارای ۱۶٪ آرد کینوا و ۳٪ پروتئین کینوا و ۱٪ هیدرولیزات کینوا آماده شدند (Sadeghian Motahar et al. 2021).

خمیر حاصله به‌منظور افزایش فعالیت مخمر به مدت یک ساعت در دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. نمونه فاقد پروتئین و پپتید کینوا به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شد. پس از تخمیر، فرآیند پخت نان در فر با دمای ۱۵۰ درجه سلسیوس و به مدت ۴۵ دقیقه انجام شد. نان‌های پخته‌شده پس از سرد شدن در دمای اتاق تا انجام آنالیزهای بعدی در پوشش پلی اتیلنی قرار گرفتند.

محاسبات رئولوژیکی خمیر

آزمون خواص رئولوژیکی خمیر بدون گلوتن با استفاده از دستگاه رئومتر انجام شد. نمونه‌های خمیر مطابق روش ذکر شده آماده شدند با این تفاوت که، برای جلوگیری از رخداد تغییرات بافتی حین آزمایش، از افزودن مخمر به نمونه‌ها اجتناب شد. پروب با ویژگی‌های مخصوص قطر ۲۵ میلی‌متر و گپ ۱ میلی‌متر جهت آزمون استفاده شد. پس از انکوباسیون نمونه‌ها به مدت یک ساعت، بارگذاری روی دستگاه انجام شد.

از محفظه رطوبت (humidity chamber) به‌منظور جلوگیری از کاهش محتوای آب نمونه طی آزمایش استفاده شد. در ابتدا برای شناسایی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]

محدوده ویسکوالاستیک خطی، آزمون روبش کرنش (amplitude sweep) درمقدار ثابت ۵ هرتز و محدوده کشش ۱۰۰-۰/۰۱٪ انجام شد. پس از تعیین مقدار کرنش ۰/۰۵٪ برای نمونه ها، آزمون روبش فرکانس (frequency sweep) در محدوده ۱۰-۰/۱ هرتز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انجام گرفت و ده نقطه ضبط شدند.

آنالیز بافت

به‌منظور تعیین ویژگی‌های بافتی نمونه‌های نان از دستگاه آنالیزکننده‌ی بافت CT3 (Brookfield، آمریکا) با قابلیت بارگذاری نمونه ۱۰ کیلوگرم و پروب آلومینیومی با قطر ۱۲/۷ میلی‌متر استفاده شد.

میزان سرعت پروب، ۲ متر بر ثانیه و فشردگی ۴۰ ٪ انتخاب شد. ویژگی‌های مختلف نان از قبیل سختی، قابلیت جویدن و صمغیت در سه تکرار برای نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

آنالیز رنگ

رنگ نمونه‌های نان یک روز بعد از پخت و با استفاده از آنالیز تصاویر دیجیتالی انجام شد. به این منظور، سه بخش به صورت تصادفی از پوسته‌ی نان جدا شده و با استفاده از جستجوگر (HP Scanjet) تصویربرداری شدند. تصاویر به دست آمده از نمونه‌ها با نرم‌افزار Image J پردازش شد . تعداد ۱۰ نقطه از هر تصویر تحت شناسایی فاکتورهای رنگ شامل a^* (محدوده قرمز و سبز)، b^* (محدوده زرد و آبی) و L^* (تیرگی و روشنایی) قرار گرفتند. اندیس قهوه‌ای شدن برای نمونه‌ها از محاسبات زیر حاصل شد (فرمول ۳ و ۴) (Bal et al. 2011).

فرمول ۳

$$X = \frac{(a^* + 1.75\,L^*)}{(5.645\,L^* + a^* - 3.012b^*)}$$

فرمول ۴

$$BI = \frac{(100(X - 0.31))}{(0.17)}$$

در فرمول ۴، BI: اندیس قهوه‌ای شدن، L^*: میزان روشنایی، a^*: میزان قرمزی، b^*: میزان زردی را نشان می‌دهد.

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی

قطعات کوچکی به حجم تقریبی یک سانتی‌متر مکعب از مرکز نان جدا شده و به مدت ۲۴ ساعت لیوفیلیز شدند. سپس ساختار نان با استفاده از

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]

دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (FEI ESEM QUANTA 200، آمریکا) بررسی شد.

آزمون حسی

بررسی ویژگی‌های حسی نمونه‌های نان با روش هدونیک (hedonic) (Laureati et al. 2012) و به وسیله‌ی یک گروه ۱۰ نفره از دانشجویان گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه تهران انجام گرفت. شاخص‌های مورد بررسی شامل بو و طعم، بافت، تخلخل، رنگ و محبوبیت کلی نمونه‌ی نان بود که از شماره‌ی یک (پایین‌ترین) تا پنج (بالاترین) نمره داده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیزهای آماری با نرم افزار SPSS (نسخه ۲۲) انجام شد. میانگین داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه از نظر معنی‌دار بودن، بررسی شد و تفاوت بین آن‌ها در سطح ۹۵٪ با استفاده از آزمون دانکن در سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

الکتروسکوپی با روش OPA و الکتروفورز ژل پلی آکریلامید

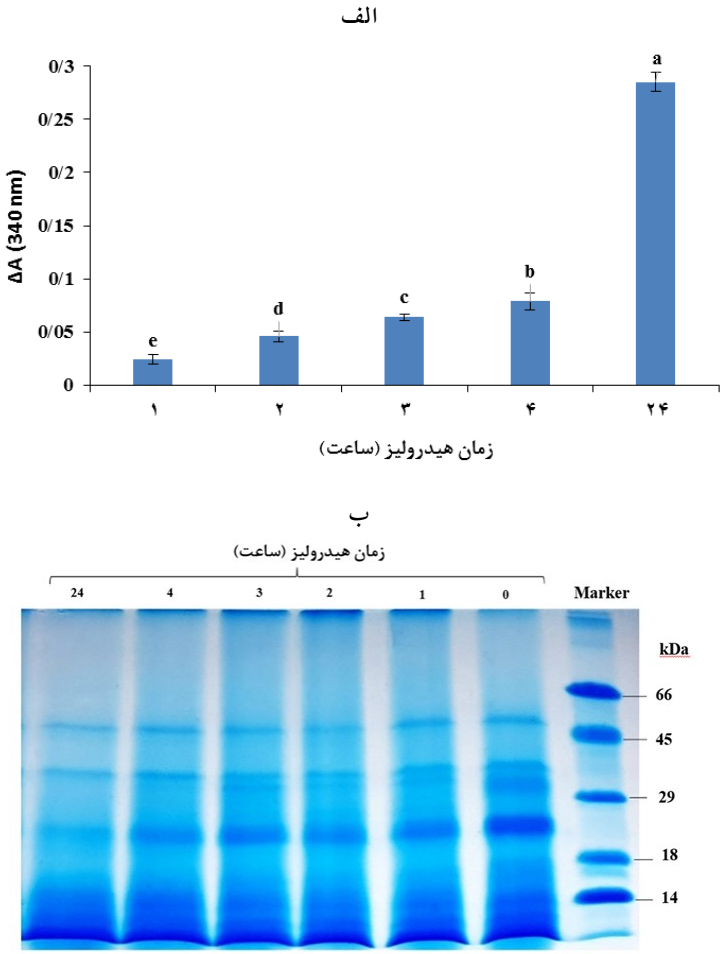
نتایج آزمون الکترو سکوپی با روش OPA جهت بررسی هیدرولیز پروتئین‌های کینوا با استفاده از آنزیم آلکالاز در شکل ۱-الف نشان داده شده است. با افزایش زمان، میزان هیدرولیز افزایش یافته به نحوی که در نمونه‌ی هیدرولیز نشده میزان اختلاف جذب (ΔA) از ۰/۰۲۳ به ۰/۰۷۱ در نمونه‌ی ۴ ساعت هیدرولیز شده و در نهایت به ۰/۲۸۰ پس از ۲۴ ساعت فعالیت آنزیم رسیده است. طبق مطالعات پیشین هیدرولیز پروتئین کینوا با استفاده از آنزیم آلکالاز به مدت ۴ ساعت به منظور افزایش خواص عملکردی آن، نشان‌دهنده‌ی میزان بهینه‌ی هیدرولیز پس از ۳/۵ ساعت فعالیت آنزیم بود (Aluko and Monu, 2003; Mahdavi-Yekta et al. 2019).

الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید پروتئین کینوا و هیدرولیزات آن نتایج حاصل از آزمون OPA را تایید کردند. همان‌طوری‌که در شکل ۱-ب دیده می‌شود، باندهای پررنگ‌تری در نمونه‌ی هیدرولیزنشده دیده شد و با افزایش زمان هیدرولیز الگوهای کمرنگ‌تری ایجاد کردند که نشان‌دهنده‌ی ایجاد پپتیدها با وزن مولکولی کمتر است. باندهای ایجاد شده وزن مولکولی نزدیک به ۲۲، ۳۳، ۳۸ و ۵۰ کیلودالتون داشتند که نشان‌دهنده‌ی حضور پلی‌پپتید s۱۱-گلوبولین است (Dakhili et al. 2019). این نتایج در توافق با نتایج مطالعه‌ی پیشین است که باندهایی در محدوده‌ی ۳۳، ۳۸ و ۵۰

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]

کیلودالتون برای پروتئین کینوا گزارش کردند (Avila et al. 2016). در مطالعه‌ی دیگری، در اثر هیدرولیز پروتئین کینوا با آنزیم پپسین باندهایی در محدوده‌ی ۲۳، ۳۷ و ۵۰ کیلودالتون ایجاد شد که با افزایش زمان هیدرولیز کمرنگ‌تر شدند (Ruiz et al. 2016). در یک مطالعه، باندها با وزن مولکولی شامل ۳۰-۲۷ و ۲۰-۱۸ و ۵۰ کیلودالتون طی تجزیه‌ی پروتئین کینوا دیده شد (Mäkinen et al. 2015).



شکل ۱- آزمون الکتروسکوپی به روش OPA (الف) و الکتروفورز ژل پلی آکریلامید (ب) پروتئین کینوا پس از ۱، ۲، ۳، ۴ و ۲۴ ساعت هیدرولیز با آنزیم آلکالاز.

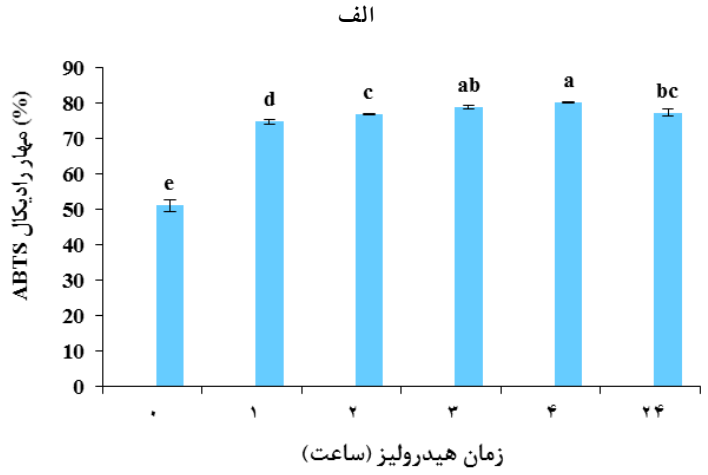
ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی پروتئین و پپتید کینوا

فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین کینوا و هیدرولیزات آن با استفاده از سه روش مهار رادیکال آزاد ABTS، مهار رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیا در طول موج ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (شکل ۲). کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

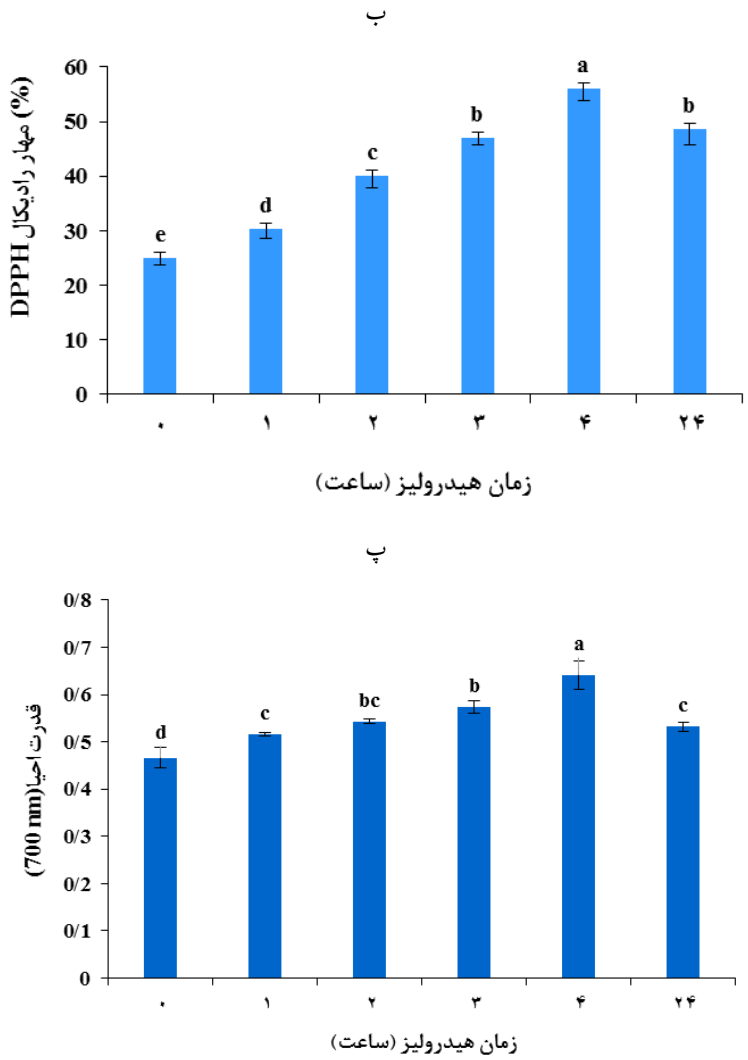
[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]

در پروتئین هیدرولیز نشده بود که به‌ترتیب مقادیر ۵۱/۱۵٪ و ۲۴/۹۹٪ را برای قدرت مهار رادیکال های ABTS و DPPH و کمترین جذب (۰/۴۶۶) را در طول موج ۷۰۰ نانومتر به خود اختصاص داد. با افزایش زمان هیدرولیز، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به تدریج افزایش یافت و به بیشینه‌ی مقدار خود پس از ۴ ساعت هیدرولیز رسید که نشانگر افزایش توانایی پپتیدها جهت واکنش با رادیکال های آزاد ABTS و DPPH و همچنین توانایی بیشتر در قدرت احیا و تبدیل یون Fe^{+3} به Fe^{+2} است. این نمونه مقادیر ۸۰/۴۲٪ قدرت مهار ABTS، ۵۶/۰۲٪ قدرت مهار DPPH و بیشترین جذب را با مقدار ۰/۶۴۲ در طول موج ۷۰۰ نانومتر نشان داد. افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های کینوا طی فرآیند هیدرولیز پیش از این در گزارش های مادگیل و همکاران و نیز گالانت و همکاران نشان داده شده است که از آنزیم پروتئاز جهت انجام این فرآیند استفاده کردند (Galante et al. 2020; Mudgil et al. 2019). پس از ۲۴ ساعت از زمان هیدرولیز پروتئین، میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاهش پیدا کرد به نحوی که این نمونه میزان ۷۷/۴۵٪ قدرت مهار ABTS، ۴۸/۶۳٪ قدرت مهار DPPH و جذب ۰/۵۳۲ را در طول موج ۷۰۰ نانومتر نشان داد. دلیل این امر می‌تواند به این موضوع برگردد که پپتیدهای تولید شده طی ۲۴ ساعت زمان هیدرولیز توانایی واکنش با رادیکال‌های آزاد را نداشته و نتوانسته‌اند این رادیکال‌ها را مهار کنند (Xu et al. 2019). بنابراین پپتیدهای تولیدشده پس از ۴ ساعت هیدرولیز و دارای بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی جهت استفاده در مراحل بعدی انتخاب شد.



[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]



شکل ۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین کینوا پس از ۱، ۲، ۳، ۴ و ۲۴ ساعت هیدرولیز با آنزیم آلکالاز. الف) مهار رادیکال ABTS ب) مهار رادیکال DPPH و پ) قدرت احیا. حروف متفاوت در هر نمودار نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است.

رئولوژی خمیر بدون گلوتن

آنالیز رئولوژیکی خمیر بدون گلوتن نشان‌دهنده‌ی رفتار ویسکوالاستیک در طیف گسترده‌ای از فرکانس برای نمونه‌ها بود. مدول ذخیره (storage modulus، $\dot{G}$) و افت (loss modulus، $\ddot{G}$) به‌عنوان پاسخ‌های الاستیک و ویسکوز نشان‌دهنده‌ی رفتار شبه‌جامد نمونه‌های نان بود. با توجه به شکل ۳-الف و ۳-ب، تمامی نمونه‌ها میزان مدول ذخیره‌ی بالاتری نسبت به مدول افت داشتند و هردوی این شاخص‌ها با افزایش فرکانس افزایش یافتند. این حقیقت نشان‌دهنده‌ی رفتار جامد-الاستیک خمیر بدون

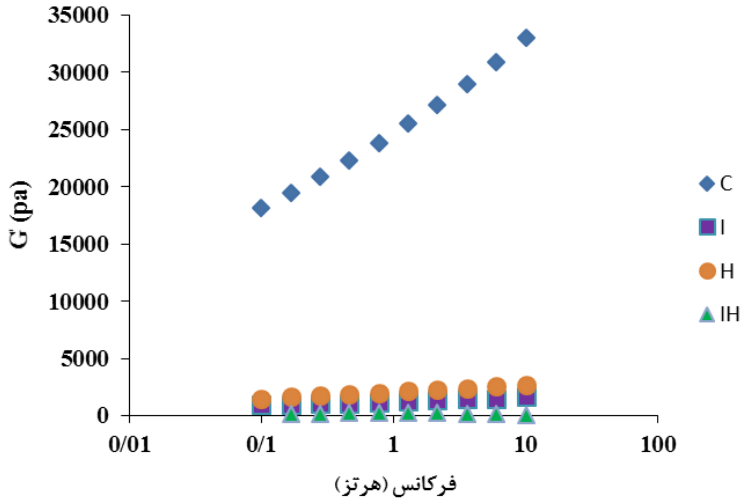
[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]

گلوتن است. از سوی دیگر مقادیر مدول ذخیره و مدول افت نمونه‌ی کنترل بیشتر از نمونه های حاوی پروتئین و هیدرولیزات کینوا بود که نشان می‌دهد افزودن این موارد موجب کاهش الاستیسیته‌ی خمیر شده است. از سوی دیگر فاکتور افت (δ tan) که روابط بین مدول ذخیره و مدول افت را توضیح می‌دهد، برای نمونه های خمیر بدون گلوتن محاسبه شد (شکل ۳-پ). حضور پروتئین کینوا و هیدرولیزات آن فاکتور افت را نسبت به کنترل افزایش داده که نشان‌دهنده‌ی ویسکوزیته بیشتر، افزایش تمایل خمیر به حالت مایع و کاهش سفتی در ساختار آن است و ساختار ویسکوز و افزایش نرمی بافت را تایید می‌کند. پدیدار شدن این خواص در ساختار نان می‌تواند کمک شایان توجهی در بهبود تولید این دسته از نان‌ها در صنعت باشد (Liu et al. 2017). افزودن ایزوله‌ی پروتئین کینوا و هیدرولیزات فاکتور افت بیشتری را نشان دادند که مشخص کننده‌ی افزایش رفتار شبه مایع در این نمونه‌ها است و نمونه‌ی حاوی هردو پروتئین و هیدرولیزات نیز سفتی کمتری را نشان داد. در واقع افزایش الاستیسیته در این نان‌ها می‌تواند به این علت باشد که ساختار پلیمری پروتئین‌ها ظرفیت نگهداری آب را افزایش داده است. مشابه این نتایج با افزودن ایزوله‌ی پروتئین سویا در تولید کراکر بدون گلوتن دیده شد (Nammakuna et al. 2016).

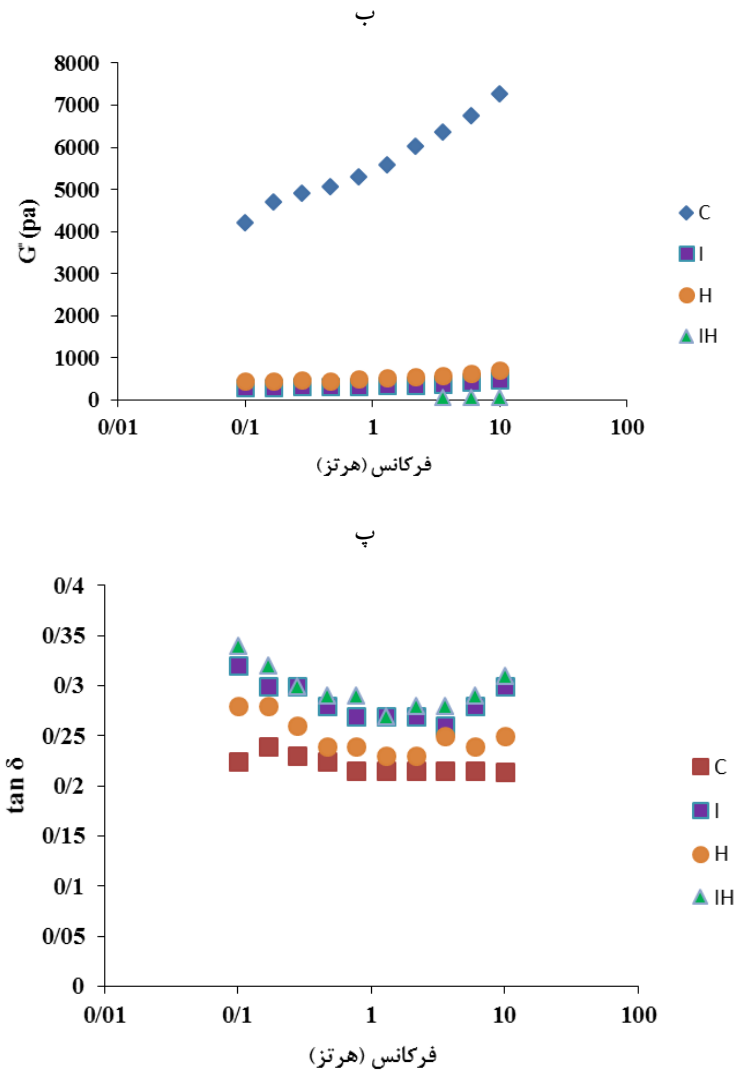
همچنین افزایش ویسکوالاستیسیته‌ی خمیر بدون گلوتن با افزودن پروتئین سیب‌زمینی در مطالعه‌ی پیشین گزارش شد (Witczak et al. 2017).

الف



[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]



شکل ۳- فرکانس روبشی خمیرهای بدون گلوتن. الف) مدول ذخیره. ب) مدول افت. پ) فاکتور افت. کنترل (C)، نمونه‌ی حاوی ایزوله‌ی پروتئین کینوا(I)، نمونه‌ی حاوی هیدرولیزات کینوا (H) و نمونه‌ی حاوی پروتئین و هیدرولیزات کینوا(IH).

خواص فیزیکی و حسی نان بدون گلوتن

نتایج حاصل از بررسی بافت نان بدون گلوتن در جدول ۱-الف مشهود است. افزودن ایزوله‌ی پروتئین کینوا موجب شد که فاکتورهای سختی، شکنندگی، صمغیت و قابلیت جویدن نسبت به نمونه‌ی کنترل کاهش یابد. همچنین، افزودن هیدرولیزات کینوا و هردو پروتئین و هیدرولیزات کینوا مقادیر سختی، شکنندگی، صمغیت و قابلیت جویدن را نسبت به نمونه‌ی کنترل افزایش داد. حضور پروتئین در نان موجب می‌شود که بین

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]

پروتئین و نشاسته برای ژل شدن رقابت ایجاد شود و در نتیجه نشاسته‌ی کمتری ژل شده و سختی نان افزایش می‌یابد (Hoehnel et al. 2019).

نان بدون گلوتن دارای مقادیر بیشتری نشاسته نسبت به نان گندم است در نتیجه برهمکنش بین پروتئین و ساختار نشاسته‌ای در ایجاد بافت نان بدون گلوتن بسیار موثر است (Witczak et al. 2017). برهمکنش بین پروتئین و ماتریکس نشاسته-پروتئین فرآیندی پیچیده است که به نوع پروتئین و خاصیت امولسی‌فایری آن بستگی دارد (Ziobro et al. 2016). از سوی دیگر پروتئین‌های گیاهی نامحلول می‌توانند وارد واکنش با فیبرهای نامحلول شده و باعث افزایش سختی نان بدون گلوتن شوند (Lian et al. 2020). این نتایج در تطابق با مطالعات پیشین است که با استفاده از پروتئین زیره سبز و سیاه دریافتند که بافت سخت‌تری در نان مشاهده می‌شود. در مطالعه‌ی دیگری، افزودن پروتئین‌های عدس، نخود و نخودفرنگی نیز موجب افزایش سختی بافت در نان گندم شد (Aider et al. 2012). هم‌چنین، حضور پروتئین و پپتید کینوا باعث ایجاد اختلاف معنی‌داری در فاکتورهای L*، a* و b* بین نمونه‌ی حاوی پروتئین و پپتید کینوا نشد (جدول ۱-ب).

مطابق نتایج جدول ۱-پ آنالیز حسی نمونه‌های نان بدون گلوتن نشان داد که بیشترین امتیاز محبوبیت نان از نظر مصرف‌کنندگان به نمونه‌ی حاوی پروتئین کینوا (I) و هیدرولیزات به تنهایی (H) اختصاص دارد و مخلوط آن‌ها به علت ایجاد طعم و بافت نامطبوع امتیاز کمتری کسب کرد.

جدول ۱- ویژگی‌های بافتی نان بدون گلوتن (الف)، آنالیز رنگ نان بدون گلوتن (ب) و آنالیز حسی نان بدون گلوتن.

الف

نمونه	سختی (نیوتون)	شکنندگی (نیوتون)	صمغیت (نیوتون)	قابلیت جویدن (میلی‌ژول)
C	۷/۹۷ ± ۰/۱۳^{bc}	۸/۵۹ ± ۰/۳۳^{bc}	۴/۳۷ ± ۰/۶۶^{b}	۱۹/۸۵ ± ۳/۸۲^{b}
I	۶/۶۱ ±۰/۶۸^{ab}	۷/۰۳ ±۰/۵۱^{ab}	۳/۱۹ ±۰/۵۶^{ab}	۱۶/۸۰± ۵/۰۳^{b}
H	۲۲/۸۴ ± ۳/۱۶^{d}	۲۵/۹۱ ± ۳/۷۲^{d}	۱۴/۷۸ ± ۱/۴۹^{d}	۷۱/۱۰ ± ۴/۷۳^{d}
IH	۱۰/۹۱ ± ۱/۷۴^{c}	۱۰/۶۴ ± ۱/۰۹^{c}	۸/۵۱ ± ۰/۶۹^{c}	۳۱/۹۳ ± ۲/۸۳^{c}

ب

نمونه	L*	a*	b*	اندیس قهوه‌ای شدن
C	۸۷/۰۵ ± ۱/۶۶^{c}	۱۰/۴۴ ± ۱/۵۲^{a}	۲۹/۴۵ ± ۳/۲۲^{a}	۸۱/۰۶ ± ۱۰/۰۹^{a}
I	۷۸/۴۶ ±۲/۸۳^{ab}	۱۴/۲۹ ±۱/۸۰^{b}	۵۱/۶۸ ±۸/۸۶^{b}	۱۱۷/۱۳ ±۳۳/۳۱^{b}
H	۸۰/۴۲ ± ۲/۳۸^{b}	۱۳/۸۶ ± ۱/۱۹^{b}	۴۸/۹۹ ± ۶/۷۷^{b}	۱۰۳/۷۹ ± ۲۴/۵۶^{b}
IH	۷۶/۶۹ ± ۲/۲۹^{a}	۱۳/۶۸ ± ۱/۱۵^{b}	۵۱/۴۷ ± ۷/۹۵^{b}	۱۱۹/۳۶ ± ۳۰/۷۰^{b}

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

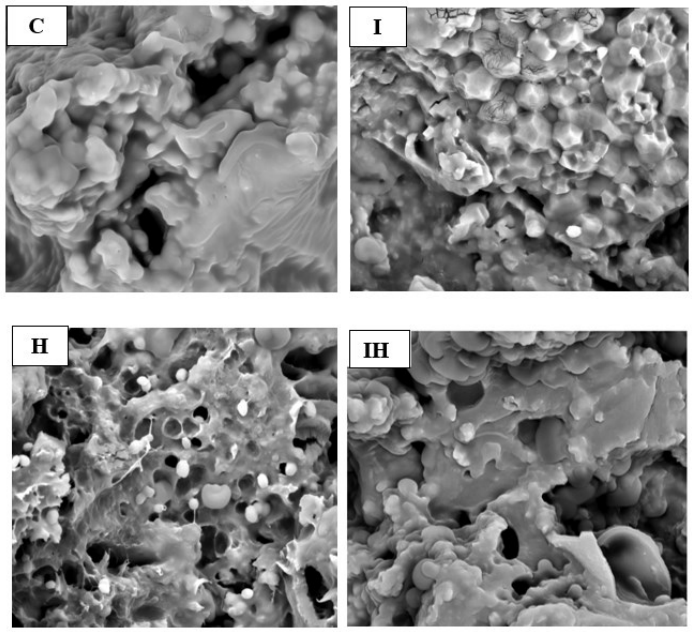
[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]

	پ				
نمونه	طعم و بو	رنگ	بافت	تخلخل	محبوبیت کلی
C	۲/۵۰ ± ۰/۷۰^{c}	۲/۶۰ ± ۰/۷۳^{c}	۲/۷۰ ± ۰/۹۴^{c}	۲/۳۵ ± ۰/۶۶^{c}	۲/۴۰ ± ۰/۶۵^{c}
I	۳/۵۰ ±۰/۵۲^{ab}	۳/۴۵ ±۰/۴۹^{b}	۳/۱۵ ±۰/۸۱^{b}	۲/۹۰ ±۰/۷۳^{b}	۳/۴۵ ±۰/۴۹^{b}
H	۳/۲۰ ± ۰/۵۳^{b}	۳/۴۰ ± ۰/۵۶^{b}	۳/۲۰ ± ۰/۷۸^{b}	۳/۰۵ ± ۰/۷۶^{b}	۳/۳۰ ± ۰/۷۸^{b}
IH	۳/۰۰ ± ۰/۲۳^{b}	۳/۰۰ ± ۰/۵۲^{bc}	۲/۸۵ ± ۰/۴۷^{bc}	۲/۷۵ ± ۰/۵۴^{bc}	۳/۱۰ ± ۰/۶۱^{bc}

مقادیر مختلف با حروف متفاوت در یک ستون نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است. کنترل(C)، نمونه‌ی حاوی ایزوله‌ی پروتئین کینوا(I)، نمونه‌ی حاوی هیدرولیزات کینوا(H) و نمونه‌ی حاوی پروتئین و هیدرولیزات کینوا(IH).

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی

افزایش میزان تخلخل نان و تولید حفرات بیشتر در بافت نان قابل توجه است. میکروسکوپ الکترونی روبشی برای بررسی ساختار نمونه‌های نان مورد استفاده قرار گرفت. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی در شکل ۴ نمایش داده شده است.



شکل ۴- ساختار میکروسکوپی نان‌های بدون گلوتن. کنترل (C)، نمونه‌ی حاوی ایزوله‌ی پروتئین کینوا (I)، نمونه‌ی حاوی هیدرولیزات کینوا (H) و نمونه‌ی حاوی پروتئین و هیدرولیزات کینوا (IH).

در نمونه‌ی کنترل بافت بدون تخلخل و بدون حفره و ساختارهای حباب‌مانند دیده شد. از سوی دیگر، افزودن پروتئین و پپتید کینوا موجب کاهش سختی بافت نشده و حضور پروتئین و پپتید کینوا

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]

به علت برهمکنش بین پروتئین، پپتید و نشاسته‌ی موجود در نان ایجاد ساختار سخت‌تری در نان بدون گلوتن در مقایسه با کنترل به همراه داشت. مشابه این نتایج و تشکیل ساختار سفت‌تر در نان در حضور پروتئین و پپتید در مطالعات پیشین دیده شده است (Hoehnel et al. 2019; Witczak et al. 2017).

نتیجه‌گیری

نان، مهم‌ترین غذای بشر بوده و جزو مواد غذایی است که استفاده‌ی بسیار گسترده‌ای در سراسر دنیا دارد. کیفیت این ماده‌ی غذایی با نگهداری در دمای اتاق، به راحتی افول کرده و دچار بیاتی می‌شود. از طرفی برخی افراد به علت بیماری سلیاک و حساسیت به گلوتن در مصرف این ماده‌ی غذایی دچار مشکل هستند. بنابراین تلاش برای تولید نان بدون گلوتنی که غنی از مواد مغذی باشد و بافت و کیفیت مناسبی داشته باشد، بسیار قابل توجه است. در این مطالعه، افزودن پروتئین و پپتیدهای کینوا با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی خواص تغذیه‌ای نان را بهبود داد اما به علت برهمکنش‌های میان پروتئین و پپتید با نشاسته‌ی موجود در نان افزایش سختی بافت را به دنبال داشت. افزودن پروتئین و پپتید کینوا رنگ نان‌ها را نیز تحت تاثیر قرار داده و با کاهش فاکتور روشنایی و افزایش تمایل به زردی و قرمزی میزان اندیس قهوه‌ای شدن را افزایش داد. بر اساس نتایج رئولوژی رفتار جامد-مایع نمونه‌های تیمار شده با پروتئین و پپتید کینوا نشان‌دهنده‌ی کاهش سفتی خمیر بود. نتایج این مطالعه، افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی نان بدون گلوتن را در حضور پروتئین و پپتید زیست‌فعال کینوا تایید کرد و نشان داد که با وجود افزایش میزان آنتی‌اکسیدان در پروتئین‌های هیدرولیز شده استفاده از هیدرولیزات موجب کاهش مطلوبیت نان بدون گلوتن شده است.

فهرست منابع

References

Abugoch LE, Romero N, Tapia CA, Silva J, Rivera M. 2008. Study of some physicochemical and functional properties of quinoa (*chenopodium quinoa* willd) protein isolates. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56(12): 4745–4750. https://doi.org/10.1021/jf703689u.

Aider M, Sirois-Gosselin M, Boye JI. 2012. Pea, lentil and chickpea protein application in bread making. Journal of Food Research. https://doi.org/10.5539/jfr.v1n4p160.

Aluko RE, Monu E. 2003. Functional and bioactive properties of quinoa seed protein hydrolysates. Journal of Food Science. 68: 1254--1258. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb09635.x.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]

Avila G, Xiao W, Boekel VM, Minor M, Stieger M. 2016. Effect of extraction pH on heat-induced aggregation, gelation and microstructure of protein isolate from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). 209: 203–210.

Bal LM, Kar A, Satya S, Naik SN. 2011. Kinetics of colour change of bamboo shoot slices during microwave drying. International Journal of Food Science and Technology. 46(4): 827–833. **Capriles VD, dos Santos FG, Arêas JAG. 2016.** Gluten-free breadmaking: Improving nutritional and bioactive compounds. Journal of Cereal Science. 67: 83–91. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.08.005.

Church FC, Swaisgood HE, Porter DH, Catignani GL. 1983. Spectrophotometric assay using o-phthaldialdehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. Journal of Dairy Science. 66(6): 1219–1227. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302 (83)81926-2.

Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. 30: 25–30.

Dakhili S, Abdolalizadeh L, Hosseini SM, Shojaee-aliabadi S, Mirmoghtadaie L. 2019. Quinoa protein : Composition, structure and functional properties. Food Chemistry. 299(January): 125161. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125161.

Galante M, De Flaviis R, Boeris V, Spelzini D. 2020. Effects of the enzymatic hydrolysis treatment on functional and antioxidant properties of quinoa protein acid-induced gels. Lwt. 118: 108845. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108845.

Hoehnel A, Axel C, Bez J, Arendt EK, Zannini E. 2019. Comparative analysis of plant-based high-protein ingredients and their impact on quality of high-protein bread. Journal of Cereal Science. 89: 102816. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102816.

Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage *T4*. Nature. 227: 680–685. https://doi.org/https://doi.org/10.1038/227680a0.

Laureati M, Giussani B, Pagliarini E. 2012. Sensory and hedonic perception of gluten-free bread: Comparison between celiac and non-celiac subjects. Food Research International. 46(1): 326–333. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.12.020.

Lian H, Luo K, Gong Y, Zhang S, Serventi L. 2020. Okara flours from chickpea and soy are thickeners: increased dough viscosity and moisture content in gluten-free bread. International Journal of Food Science and Technology. https://doi.org/10.1111/ijfs.14332

Liu W, Brennan MA, Serventi L, Brennan CS. 2017. Effect of cellulase, xylanase and α-amylase combinations on the rheological properties of Chinese steamed bread dough enriched in wheat bran. Food Chemistry. 234: 93–102. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.160.

Mahdavi-Yekta M, Nouri L, Azizi MH. 2019. The effects of hydrolysis condition on antioxidant activity of protein hydrolyzate from quinoa. Food Science and Nutrition. https://doi.org/10.1002/fsn3.871.

Mäkinen OE, Zannini E, Arendt EK. 2015. Modifying the cold gelation properties of quinoa protein isolate: influence of heat-denaturation ph in the alkaline range. Plant Foods for Human Nutrition. 70(3): 250–256. https://doi.org/10.1007/s11130-015-0487-4.

Moghadam M, Salami M, Mohammadian M, Emam-djomeh Z. 2020. Food Bioscience Physicochemical and bio-functional properties of walnut proteins as affected by trypsin-mediated hydrolysis. Food Bioscience. 36(April): 100611. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100611.

Mudgil P, Omar LS, Kamal H, Kilari BP, Maqsood S. 2019. Multi-functional bioactive properties of intact and enzymatically hydrolysed quinoa and amaranth proteins. Lwt. 110(January): 207–213. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.084.

Nammakuna N, Barringer SA, Ratanatriwong P. 2016. The effects of protein isolates and hydrocolloids complexes on dough rheology, physicochemical properties and qualities of gluten-free crackers. Food Science and Nutrition. https://doi.org/10.1002/fsn3.266.

Norouzbeigi S, Vahid-Dastjerdi L, Yekta R, Sohrabvandi S, Zendeboodi F, Mortazavian AM. 2020. Celiac therapy by administration of probiotics in food products: a review. Current Opinion in Food Science. 32: 58–66. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.01.005.

Pereira E, Encina-Zelada C, Barros L, Gonzales-Barron U, Cadavez V, Ferreira CFRI. 2019. Chemical and nutritional characterization of *Chenopodium quinoa* Willd (quinoa) grains: A good alternative to nutritious food. Food Chemistry. 280(December 2018): 110–114. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.068.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]

Re R, Pellegrini N, Proteggente Anna, Pannala Ananth, Yang Min, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine. 26: 1231--1237. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3.

Ruiz GA, Opazo-navarrete M, Meurs M, Minor M, Sala G, Boekel VM, Stieger M, Janssen AEM. 2016. Denaturation and in Vitro Gastric Digestion of Heat-Treated Quinoa Protein Isolates Obtained at Various Extraction pH. 184–197. https://doi.org/10.1007/s11483-016-9429-4

Sadeghian Motahar SF, Ariaeenejad S, Salami M, Emam-Djomeh Z, Sheykh Abdollahzadeh Mamaghani A. 2021. Improving the quality of gluten-free bread by a novel acidic thermostable α-amylase from metagenomics data. Food Chemistry. 352(February): 129307. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129307.

Sherikar A, Mahanthesh MC. 2015. Evaluation of aqueous and methanolic extract of leaves of *Epipremnum aureum* for radical scavenging activity by DPPH Method, total phenolic content, reducing capacity assay and FRAP assay. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 4(4): 36-40.

Shi Z, Hao Y, Teng C, Yao Y, Ren G. 2019. Functional properties and adipogenesis inhibitory activity of protein hydrolysates from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Food Science and Nutrition. 7(6): 2103–2112. https://doi.org/10.1002/fsn3.1052.

Tan BL, Norhaizan ME, Liew W. 2018. Antioxidant and oxidative stress: A Mutual interplay in age-related diseases. Front Pharmacol. 9: 1162. https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01162.

Witczak T, Juszczak L, Ziobro R, Korus J. 2017. Rheology of gluten-free dough and physical characteristics of bread with potato protein. Journal of Food Process Engineering. https://doi.org/10.1111/jfpe.12491.

Xu X, Luo Z, Yang Q, Xiao Z, Lu X. 2019. Effect of quinoa flour on baking performance, antioxidant properties and digestibility of wheat bread. Food Chemistry. 294(December 2018): 87–95.

Ziobro R, Juszczak L, Witczak M, Korus J. 2016. Non-gluten proteins as structure forming agents in gluten free bread. Journal of Food Science and Technology. 53(1): 571-80. https://doi.org/10.1007/s13197-015-2043-5.

Investigating the Effect of Quinoa Protein and Peptides on the Quality of Gluten-Free Bread

Seyedeh Fatemeh Sadeghian Motahar[1], Maryam Salami[*1], Shohreh Ariaeenejad[2*], Zahra Emam-Djomeh[1]

1- Department of Food Science and Engineering, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

2- Department of Systems and Synthetic Biology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREO), Karaj, Iran.

sh.ariaee@abrii.ac.ir

msalami@ut.ac.ir

Abstract

Development of the gluten-free products is important due to their role in gluten related disorders and health improvement. This study aimed to investigate the effect of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) protein isolates and bioactive peptides on the quality of gluten-free bread. For production of the bioactive peptides, the quinoa protein isolate was hydrolyzed with alcalase for 1, 2, 3, 4 and 24 h. Production of the bioactive peptides were confirmed by OPA analysis and SDS-PAGE. The maximum antioxidant activity of the hydrolysates was found after 4 h of hydrolysis which possessed 80.42% and 56.02% ABTS and DPPH radical scavenging, respectively. Presence of the quinoa protein isolate reduced the hardness, chewiness and gumminess of the bread and bioactive peptides and its combination with quinoa protein increased these factors. The rheological measurement showed solid-elastic behavior in batters. Based on the results of this study, addition of the quinoa protein and bioactive peptides resulted in a production of antioxidant gluten-free bread and reduced the quality of bread.

Keywords: Enzyme Hydrolysis, Antioxidant Activity, Gluten-Free Bread, Quinoa.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-05-06]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3]