

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](https://doi.org/10.1001.1.27170632.1400.14.3.2.3)

سیده فاطمه صادقیان مطهر^۱، مریم سلامی^{۱*}، شهره آریائی نژاد^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 (چنوپدیوم 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 سکوپ 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، صمغیت و قابلیت جویدن را نسبت به نمونه‌ی کنترل کاهش داد. علاوه بر 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 تیمار شده 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.

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 تاج خروسیان است. این گیاه برای اولین بار 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 ویژگی‌های 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 پروتئین‌های کینوا طی فرآیند هیدرولیز آنزیمی بهبود یافته و ویژگی‌های عملکردی آن ارتقاء می‌یابد. گزارش‌های پیشین نشان داده است که خواص ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضد فشار خونی هیدرولیزات کینوا بیشتر از پروتئین‌های 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، زمان‌های مختلف و مقادیر مختلف آنزیم را روی میزان پپتید تولیدشده بررسی کردند. نتایج این گروه نشان داد که پپتیدهای به دست آمده 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 بیماری‌هایی از قبیل دیابت، سرطان، چاقی و سندروم‌های متابولیک می‌شوند.

"صادقیان مطهر و همکاران، بررسی اثر پروتئین و پپتیدهای کینوا بر کیفیت نان بدون گلوتن"

آنتی اکسیدان‌ها 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 آنتی اکسیدان‌ها 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 آنتی اکسیدانی 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 به عنوان شبه غله‌ای 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 آنتی اکسیدانی 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 سیب زمینی، آرد باک ویت (گندم سیاه)،

مخمر، نمک، روغن آفتاب گردان، دانه کلزا و صمغ زانتان از سوپرمارکت محلی (کرج) تهیه شد. آنزیم آلکالاز، هیدروکلریک اسید، سدیم هیدروکسید، آلبومین سرم گاوی، سدیم تتراهیدروبورات، کوماسی بریلیانت بلو، بتامرکاپتواتانول، آکریلامید، بیس-آکریل آمید، آمونیوم پرسولفات، ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-), DPPH (2,2-diphenyl-1-), (sulfonic acid picrylhydrazyl), پیتاسیم پرسولفات، OPA (O-phthalaldehyde), تری کلرواستیک اسید و فریک کلراید از Sigma-Aldrich تهیه شدند.

استخراج پروتئین کینوا

به منظور 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.

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 استیر (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 به مدت 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 ماکرولیتتر بتامرکاپتواتانول تهیه و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در مرحله بعد، ۵۰ ماکرولیتتر از نمونه هیدرولیزشده در زمان‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۲۴ ساعت با ۵۰۰ ماکرولیتتر از محلول OPA مخلوط شده و سپس جذب نمونه‌ها بلافاصله پس از ۲ دقیقه انکوباسیون در ۳۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الیزا 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

"صادقیان مطهر و همکاران، بررسی اثر پروتئین و پپتیدهای کینوا بر کیفیت نان بدون گلوتن"

انجام شد (Re et al. 1999). محلول تازه‌ی ABTS با رقیق‌سازی ABTS به جذب 0.7 ± 0.3 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 اندازه‌گیری شد. از آب مقطر به عنوان کنترل استفاده شد. درصد مهار رادیکال با استفاده از فرمول ۱ محاسبه شد:

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

شد. آب مقطر به عنوان کنترل انتخاب شد. پس از ۳۰ دقیقه آنکو باسیون در دمای محیط جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۰ نانومتر ثبت و میزان مهار رادیکال با استفاده از فرمول ۲ محاسبه شد:

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

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 آنکو باسیون به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب ۵۰

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

بررسی توانایی مهار رادیکال DPPH طبق روش گزارش شده انجام شد (Cuvelier and Berset, 1995). به منظور انجام این آزمایش مقدار ۱۰۰ ماکرولیتر از نمونه با یک میلی‌لیتر از محلول اتانولی DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط

قدرت کاهش یون فریک 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

کینوا و ۳٪ پروتئین کینوا و ۱٪ هیدرولیزات کینوا آماده شدند (Sadeghian Motahar et al. 2021). خمیر حاصله به منظور افزایش فعالیت مخمر به مدت یک ساعت در دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. نمونه فاقد پروتئین و پپتید کینوا به عنوان 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 پخته شده 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) به منظور جلوگیری از کاهش محتوای آب نمونه طی آزمایش استفاده شد. در ابتدا برای شناسایی

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 ۰/۲۵ میلی‌لیتر 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 به منظور تولید آرد کینوا، دانه‌های 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

"صادقیان مطهر و همکاران، بررسی اثر پروتئین و پپتیدهای کینوا بر کیفیت نان بدون گلوتن"

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).

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

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

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

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 نمونه‌ها، 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

به منظور 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

فرمول ۳

فرمول ۴

در فرمول ۴، BI: اندیس قهوه‌ای شدن، L^* :

میزان روشنایی، a^* : میزان قرمزی، b^* : میزان زردی را نشان می‌دهد.

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

الکتروسکویی با روش OPA و الکتروفورز ژل پلی آکریلامید

نتایج آزمون الکتروسکویی 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, 2019; Mahdavi-Yekta et al. 2003).

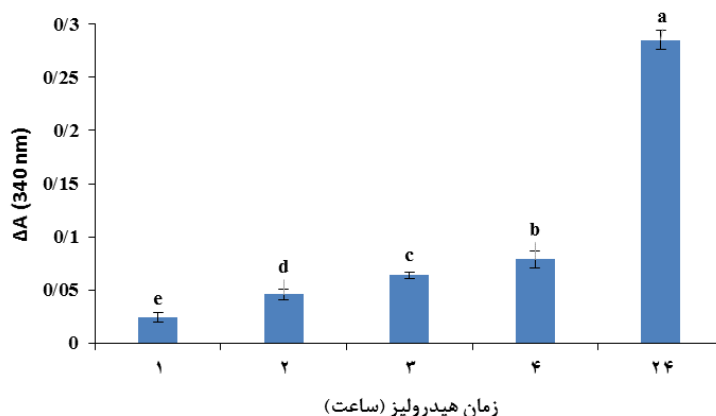
الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید پروتئین کینوا و هیدرولیزات آن نتایج حاصل از آزمون OPA را تایید کردند. همان‌طوری‌که در شکل ۱-ب دیده می‌شود، باندهای پررنگ‌تری در نمونه‌ی هیدرولیز نشده دیده شد و با افزایش زمان هیدرولیز الگوهای کم‌رنگ‌تری ایجاد کردند که نشان‌دهنده‌ی ایجاد پپتیدها با وزن مولکولی کمتر است. باندهای 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

"صادقیان مطهر و همکاران، بررسی اثر پروتئین و پپتیدهای کینوا بر کیفیت نان بدون گلوتن"

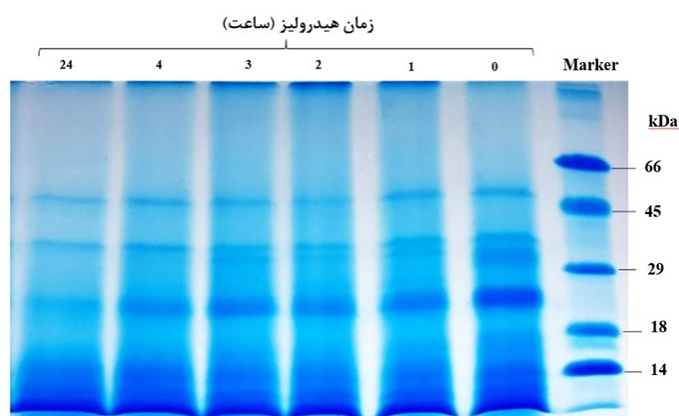
کیلودالتون برای پروتئین کینوا گزارش کردند (Ruiz et al. 2016). در یک مطالعه، باندها با وزن مولکولی شامل ۲۷-۳۰ و ۱۸-۲۰ و ۵۰ کیلودالتون طی تجزیه‌ی پروتئین کینوا دیده شد (Mäkinen et al. 2015).

در محدوده‌ی ۲۳، ۳۷ و ۵۰ کیلودالتون ایجاد شد که با افزایش زمان هیدرولیز کمرنگ‌تر شدند

الف



ب



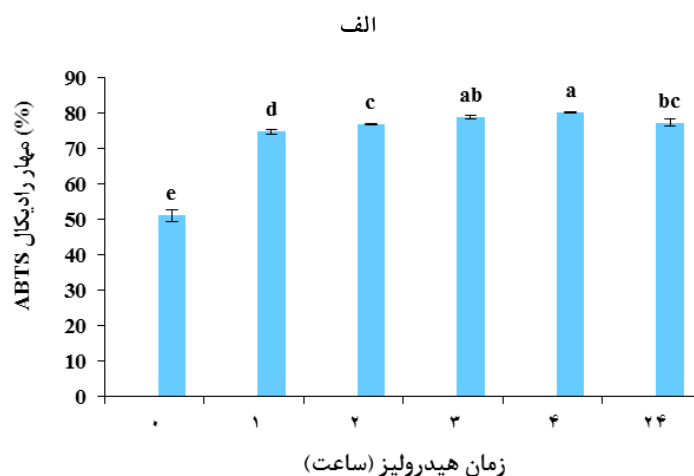
شکل ۱- آزمون الکتروسکوپی به روش OPA (الف) و الکتروفورز ژل پلی آکریلامید (ب) پروتئین کینوا پس از ۱، ۲، ۳، ۴ و ۲۴ ساعت هیدرولیز با آنزیم آلكالاز.

ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی پروتئین و پپتید کینوا

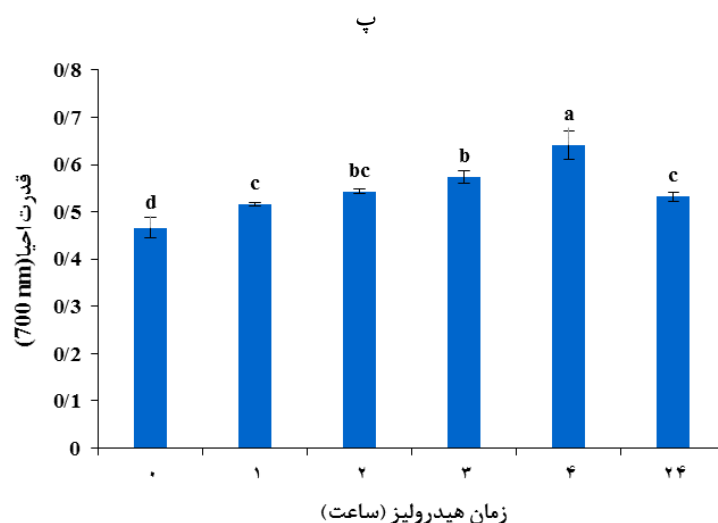
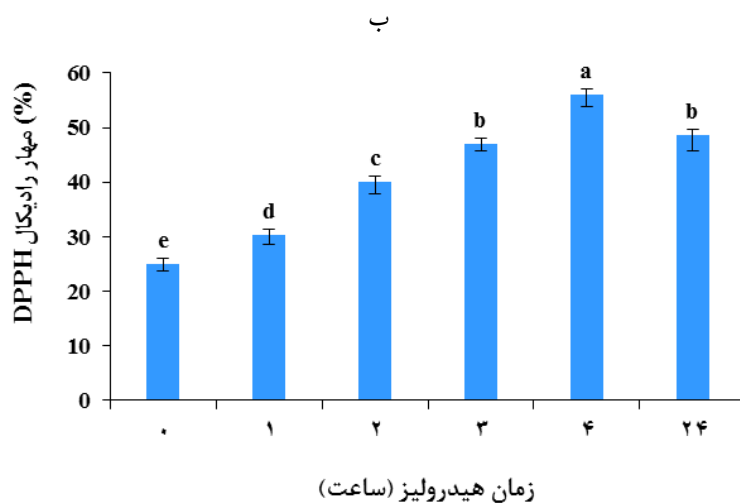
فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین کینوا و هیدرولیزات آن با استفاده از سه روش مهار رادیکال آزاد ABTS، مهار رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیا در طول موج ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (شکل ۲). کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی

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 آنتی اکسیدانی 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 می تواند به این موضوع برگردد که پپتیدهای تولید شده طی ۲۴ ساعت زمان هیدرولیز توانایی واکنش با رادیکال های آزاد را نداشته و نتوانسته اند این رادیکال ها را مهار کنند (Xu et al. 2019). بنابراین پپتیدهای تولید شده پس از ۴ ساعت هیدرولیز و دارای بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی جهت استفاده در مراحل بعدی انتخاب شد.

در پروتئین هیدرولیز نشده بود که به ترتیب 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 آنتی اکسیدانی به تدریج افزایش یافت و به بیشینه ی 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 آنتی اکسیدانی پروتئین های کینوا طی فرآیند هیدرولیز پیش از این در گزارش های مادگیل و همکاران و نیز گالانت و



"صادقیان مطهر و همکاران، بررسی اثر پروتئین و پپتیدهای کینوا بر کیفیت نان بدون گلوتن"



شکل ۲- فعالیت آنتی اکسیدانی 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 نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ است.

رنولوژی خمیر بدون گلوتن

ویسکوز نشان دهنده رفتار شبه جامد نمونه های

نان بود. با توجه به شکل ۳-الف و ۳-ب، تمامی نمونه ها میزان مدول ذخیره ی بالاتری نسبت به مدول افت داشتند و هردوی این شاخص ها با افزایش فرکانس افزایش یافتند. این حقیقت نشان دهنده ی رفتار جامد-الاستیک خمیر بدون

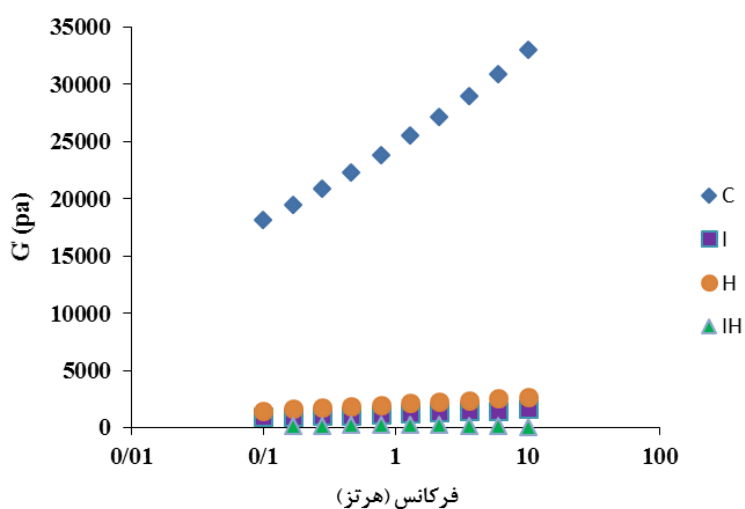
آنالیز رنولوژی یکی خمیر بدون گلوتن نشان دهنده ی رفتار ویسکوالاستیک در طیف گسترده ای از فرکانس برای نمونه ها بود. مدول ذخیره (G' , storage modulus) و افت (G'' , loss modulus) به عنوان پاسخ های الاستیک و

این دسته از نان‌ها در صنعت باشد (Liu et al. 2017). افزودن ایزوله‌ی پروتئین کینوا و هیدرولیزات فاکتور افت بیشتری را نشان دادند که مشخص‌کننده‌ی 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).

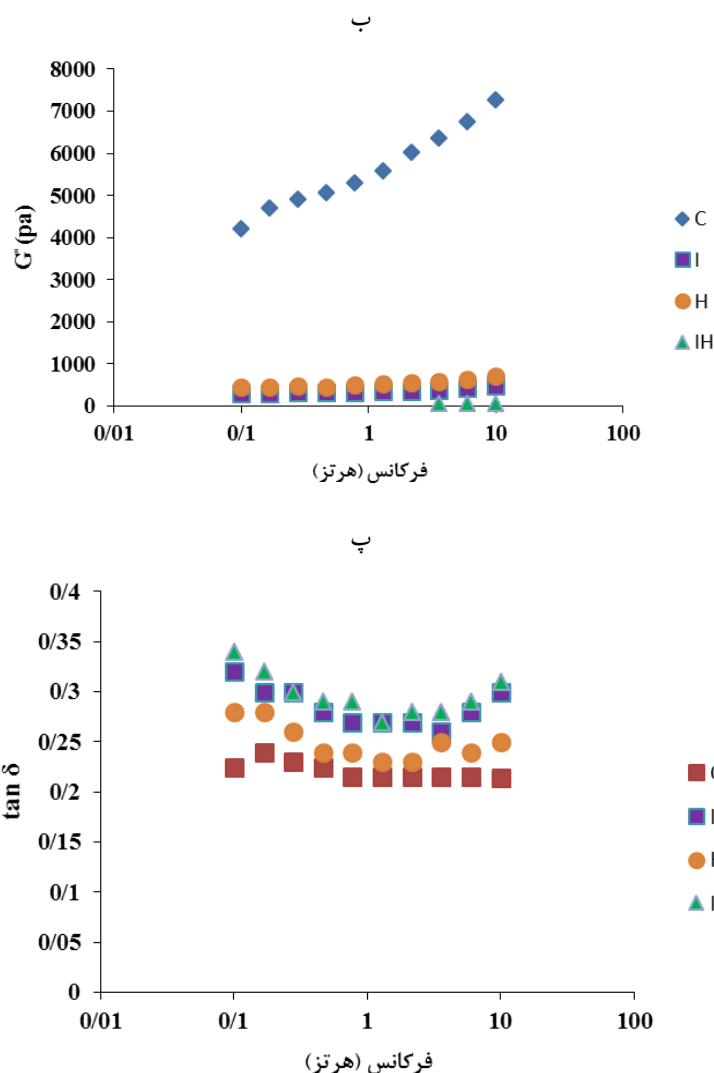
همچنین افزایش ویسکوالاستیسیته‌ی خمیر بدون گلوتن با افزودن پروتئین سیب‌زمینی در مطالعه‌ی پیشین گزارش شد (Witezak et al. 2017).

گلوتن است. از سوی دیگر مقادیر مدول ذخیره و مدول افت نمونه‌ی کنترل بیشتر از نمونه‌های حاوی پروتئین و هیدرولیزات کینوا بود که نشان می‌دهد افزودن این موارد موجب کاهش الاستیسیته‌ی خمیر شده است. از سوی دیگر فاکتور افت ($\delta \tan$) که روابط بین مدول ذخیره و مدول افت را توضیح می‌دهد، برای نمونه‌های 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

الف



"صادقیان مطهر و همکاران، بررسی اثر پروتئین و پپتیدهای کینوا بر کیفیت نان بدون گلوتن"



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

پروتئین زیره سبز و سیاه دریافتند که بافت و در نتیجه نشاسته‌ای 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 (Witezak 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).

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)	شکندگی (نیوتون)	صمغیت (نیوتون)	قابلیت جویدن (میلی ژول)
C	$7/97 \pm 0/13^{bc}$	$8/59 \pm 0/33^{bc}$	$4/37 \pm 0/66^b$	$19/85 \pm 3/82^b$
I	$6/61 \pm 0/68^{ab}$	$7/03 \pm 0/51^{ab}$	$3/19 \pm 0/56^{ab}$	$16/80 \pm 5/03^b$
H	$22/84 \pm 3/16^d$	$25/91 \pm 3/72^d$	$14/78 \pm 1/49^d$	$71/10 \pm 4/73^d$
IH	$10/91 \pm 1/74^c$	$10/64 \pm 1/09^c$	$8/51 \pm 0/69^c$	$31/93 \pm 2/83^c$
ب				
نمونه	L^*	a^*	b^*	اندیس قهوه‌ای شدن
C	$87/05 \pm 1/66^c$	$10/44 \pm 1/52^a$	$29/45 \pm 3/22^a$	$81/06 \pm 10/09^a$
I	$78/46 \pm 2/83^{ab}$	$14/29 \pm 1/80^b$	$51/68 \pm 8/86^b$	$117/13 \pm 33/31^b$
H	$80/42 \pm 2/38^b$	$13/86 \pm 1/19^b$	$48/99 \pm 6/77^b$	$103/79 \pm 24/56^b$
IH	$76/69 \pm 2/29^a$	$13/68 \pm 1/15^b$	$51/47 \pm 7/95^b$	$119/36 \pm 30/70^b$

"صادقیان مطهر و همکاران، بررسی اثر پروتئین و پپتیدهای کینوا بر کیفیت نان بدون گلوتن"

نمونه	طعم و بو	رنگ	بافت	تخلخل	محبوبیت کلی
C	$2/50 \pm 0/70^c$	$2/60 \pm 0/73^c$	$2/70 \pm 0/94^c$	$2/35 \pm 0/66^c$	$2/40 \pm 0/65^c$
I	$3/50 \pm 0/52^{ab}$	$3/45 \pm 0/49^b$	$3/15 \pm 0/81^b$	$2/90 \pm 0/73^b$	$3/45 \pm 0/49^b$
H	$3/20 \pm 0/53^b$	$3/40 \pm 0/56^b$	$3/20 \pm 0/78^b$	$3/05 \pm 0/76^b$	$3/30 \pm 0/78^b$
IH	$3/00 \pm 0/23^b$	$3/00 \pm 0/52^{bc}$	$2/85 \pm 0/47^{bc}$	$2/75 \pm 0/54^{bc}$	$3/10 \pm 0/61^{bc}$

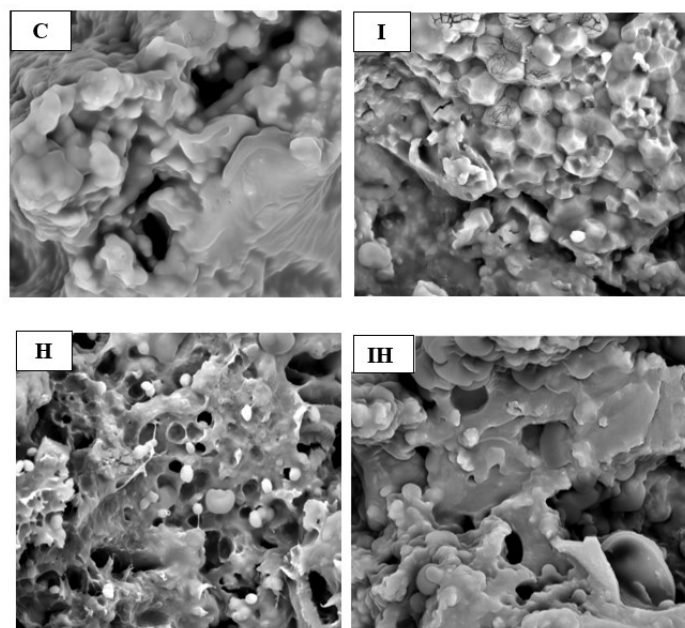
مقادیر مختلف با حروف متفاوت در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است. کنترل (C)، نمونه‌ی حاوی ایزوله‌ی پروتئین کینوا (I)، نمونه‌ی حاوی هیدرولیزات کینوا (H) و نمونه‌ی حاوی پروتئین و هیدرولیزات کینوا (IH).

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی

نان مورد استفاده قرار گرفت. تصاویر میکروسکوپ

الکترونی روبشی در شکل ۴ نمایش داده شده است.

افزایش میزان تخلخل نان و تولید حفرات بیشتر در بافت نان قابل توجه است. میکروسکوپ الکترونی روبشی برای بررسی ساختار نمونه‌های



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).

دیگر، افزودن پروتئین و پپتید کینوا موجب کاهش سختی بافت نشده و حضور پروتئین و پپتید کینوا

در نمونه‌ی کنترل بافت بدون تخلخل و بدون حفره و ساختارهای حباب‌مانند دیده شد. از سوی

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 بیایاتی 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.

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/10.1111/j.1365-2621.2003.tb09635.x>.

فهرست منابع

- Avila G, Xiao W, Boeckel 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-phthalaldehyde 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](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-alibadi S, Mirmoghhtadaie 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>.

- 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](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 Motahar¹, Maryam Salami^{*1}, Shohreh Ariaeenejad^{2*}, Zahra Emam-Djomeh¹

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.