مجله علوم و فنون شیلات
دوره ۱۳ شماره ۲، زمستان ۱۴۰۲، صفحات ۵۲۲ تا ۵۳۴

سنجش خواص ضداکسیدانی و ضدفشار خون پپتیدهای حاصل از هیدرولیز آنزیمی ضایعات میگوی ببری سبز (*Penaeus Semisulcatus*)

سارا طوافی[۱]، سید فخرالدین حسینی[۲*]، رضا حسن ساجدی[۳]

۱- گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.
۲- گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.
۳- گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

چکیده

در مطالعه حاضر، ابتدا ضایعات میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) توسط آنزیم آلکالاز با نسبت آنزیم به سوبسترای ۱:۱۰۰، تحت شرایط بهینه دمایی (۵۵ درجه سانتی‌گراد) و pH (۷,۵) به مدت ۱۶ساعت تهیه شد و شاخص درجه هیدرولیز مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین نمونه هیدرولیز شده در زمان ۳۰۰ دقیقه هیدرولیز توسط غشاهای الترافیلتراسیون با وزن‌های ۳، ۱۰ و ۳۰ کیلودالتون جداسازی شد و ۴ جزء پپتیدی به‌دست آمد. در ادامه، خاصیت ضداکسیدانی (مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS) و خاصیت ضد فشار خون پروتئین هیدرولیز شده و فراکسیون‌های پپتیدی در غلظت‌های مختلف اندازه‌گیری شد. درجه هیدرولیز طی ۶۰ دقیقه اول پس از هیدرولیز بالاترین میزان را به خود اختصاص داد (۳۱/۸۶±۰/۹۵٪). نتایج مهار رادیکال DPPH نیز نشان داد که بالاترین میزان مهارکنندگی برای نمونه‌ی زیر ۳۰ کیلودالتون در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در حدود (۶۹٪/۶۱ ±۰/۱۵) بود. بالاترین میزان تخریب‌کنندگی رادیکال ABTS نیز برای نمونه‌ی زیر ۳۰ کیلودالتون در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (۹۹/۳۸ ±۰/۱۵٪) مشاهده گردید. سنجش فعالیت مهارکنندگی آنزیم مبدل آنژیوتنسین I (ACE-I) نیز آشکار ساخت اگرچه همه نمونه‌ها توانایی مهارکنندگی ACE را دارا بودند (فعالیت بازدارندگی بین ۵۳-۱۲٪)، بیش‌ترین میزان مهارکنندگی متعلق به جزء پپتیدی زیر۳۰ کیلودالتون بود (۵۳,۲۳٪). بطور کلی نتایج این بررسی نشان داد که پپتیدهای حاصل از هیدرولیز ضایعات میگوی ببری سبز می‌تواند به عنوان یک ضداکسیدان طبیعی در فرمولاسیون غذاداروها مورد استفاده واقع گردد.

کلید واژه‌ها: میگوی ببری سبز، ضایعات عمل‌آوری، هیدرولیز آنزیمی، پپتید زیست‌فعال، خاصیت ضداکسیدانی، فعالیت ضدفشار خون

نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۰
تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۲/۱۲/۲۰

***نویسنده مسئول:**
hosseinisf@modares.ac.ir

مقدمه

در سال‌های اخیر، بروز چاقی و بیماری‌های مرتبط با آن، مانند هیپرگلیسمی و بیماری‌های قلبی‌عروقی مانند فشار خون بالا، به طور چشمگیری افزایش یافته است که بواسطه تغییرات در عادات غذایی می‌باشد [۱]. امروزه، جوامع علمی و نیز مصرف‌کنندگان از سودمندی ترکیبات زیست‌فعال دریایی آگاه می‌باشند. به‌علاوه، صنعت غذای دریایی منبع مهمی از مواد زائد و باقی‌مانده‌های مواد خام است که می‌تواند به مواد غذایی کاربردی با ارزش افزوده تبدیل شود؛ در این میان، صنایع عمل‌آوری میگو تولید ۶۰-۵۰٪ مواد زائد شامل سر، امعا و احشا، پوسته و دم می‌نماید [۲]. پوسته میگو که حاوی ۴۰-۱۸٪ پروتئین، ۳۵٪ مواد معدنی و ۳۰-۱۴٪ کیتین می‌باشد می‌تواند به عنوان منبع بالقوه‌ای از اجزای کارکردی جهت تهیه فرآورده‌های با ارزش افزوده به کار رود [۳]. اگر بخش پوسته تحت تیمار آنزیم‌های تجاری قرار گیرد، حدود ۷۰٪ پروتئین می‌تواند به عنوان پروتئین هیدرولیزشده محلول در آب بازیابی شود، در حالی‌که بخش پروتئین‌زدایی‌شده برای تولید کیتین یا کیتوزان مناسب می‌باشد. پروتئین هیدرولیزشده به‌ویژه پپتیدهای زیست‌فعال (حاوی ۲۰-۲ اسیدآمینه) مشتق‌شده از آن علاقه‌مندی فزآینده‌ای را به واسطه دارابودن فعالیت‌های زیستی متعدد از قبیل ضدتومور، ضدفشارخون (ACE)، ضدچاقی و سیری، ضددیابت، تنظیم‌کننده سیستم ایمنی[۱]، ضدلخته شدن و ضداکسیدان (از طریق جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد و یا ایجاد رقابت برای رادیکال‌های موجود) به دست آورده است [۳، ۴].

[1] Immunomodulatory

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-20]

از سویی دیگر، امروزه بیماری‌های مرتبط با رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال (ROSs[۲]) باعث آسیب‌های جدی به بدن می‌شوند که می‌تواند منجر به پیری، سرطان و یا طیف گسترده‌ای از بیماری‌های دیگر گردد؛ مغز به آسیب ناشی از ROS بواسطه مصرف بالای اکسیژنی آن نسبت به سایر اندام‌ها حساس می‌باشد [۵]. مغز دارای مقادیر بالایی از غشاهای غنی از اسیدهای چرب چندغیراشباع (PUFAs) قابل اکسید و دفاع آنتی‌اکسیدانی نسبتا پایین می‌باشد؛ ROSs مانند آنیون‌های سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به آسانی طی شرایط استرس اکسیداتیو تولید می‌شوند که منجر به مرگ نورونی سلول می‌گردد [۵]. محققین بیان نمودند ROS نه تنها به عنوان فرآورده‌های جانبی ناشی از فرآیندهای متابولیک طبیعی سلولی در نظر گرفته می‌شود، بلکه به عنوان مولکول‌های علامت‌دهنده[۳] در فرآیندهای فیزیولوژیکی در موجودات عمل می‌نماید. تحت شرایط فیزیولوژیکی نرمال، ROS به ناچار و به طور مداوم تولید و بطور موثری بوسیله سیستم‌های دفاع ضداکسیدانی درونی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SODs)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، گلوتاتیون ترانسفراز (GSTs) و کاتالاز (CATs) تخریب می‌گردد [۶]. به‌هرحال، تولید مقادیر بالای ROS توازن سیستم ضداکسیدانی سلولی را برهم زده و منجر به استرس اکسیداتیو گردیده که به عنوان یک عامل بیماری‌زای مهم در توسعه انواع اختلالات شامل سرطان، دیابت، بیماری آلزایمر و تصلب شرایین (atherosclerosis) پدیدار می‌گردد [۷]. امروزه بسیاری از ضداکسیدان‌های سنتزی می‌توانند جهت مقابله با استرس اکسیداتیو به‌کار روند، اما مسائل سلامت و نگرانی مصرف‌کنندگان از مصرف محصولات سنتزی مصنوعی محدودیت‌هایی را برای استفاده از این مواد بوجود آورده است. بنابراین توجه ویژه‌ای به استفاده از ضداکسیدان‌های طبیعی به ویژه با منشاء آبزیان به منظور کاهش آسیب اکسیداتیو از طریق تنظیم مسیرهای علامت‌دهنده مرتبط با استرس معطوف شده است [۶].

در سال‌های اخیر، مطالعات ارزشمندی درمورد استفاده از گونه‌هایی با ارزش اقتصادی پایین، جهت بازیابی پپتیدهای زیست‌فعال و هم‌چنین بررسی خاصیت ضداکسیدانی آن‌ها انجام شده است. برای مثال، ویژگی‌های کارکردی و خواص ضداکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده میگوی پاسفید غربی توسط Latorres و همکاران [۸] مورد ارزیابی قرار گرفت. پروتئین هیدرولیز شده با درجات مختلف هیدرولیز (۱۰ و ۲۰٪) با استفاده از آنزیم آلکالاز و پروتامکس تهیه گردید. هیدرولیزات به دست آمده جهت تعیین ترکیب اسید آمینه، حلالیت، ویژگی‌های تشکیل کف، فعالیت امولسیفایری و ضداکسیدانی مورد بررسی قرار گرفت. تمامی هیدرولیزات حاوی غلظت بالایی از اسیدهای آمینه گلوتامیک، آرژینین، گلایسین، لیزین و پرولین بودند. همچنین، هیدرولیزات به دست آمده با آنزیم آلکالاز (۱۰٪ درجه هیدرولیز) و پروتامکس (۲۰٪ درجه هیدرولیز) حاوی مقادیر بالاتر اسیدهای آمینه آبگریز بودند. فعالیت ضداکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده نیز متاثر از ترکیب و اندازه پپتید بود به نحوی که هیدرولیزات با زنجیره پپتیدی بالاتر، قدرت تخریب‌کنندگی قوی‌تری در مقابل رادیکال آزاد DPPH نشان داد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد ضایعات میگو می تواند به عنوان یک جزء زیست‌فعال در فرمولاسیون غذاهای کارکردی مورد استفاده قرار گیرد. لذا پژوهش حاضر بر استخراج و تخلیص پپتیدهای زیست‌فعال از ضایعات میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) و بررسی خواص مختلف زیست‌فعالی اعم از ضداکسیدانی و ضدفشارخون به منظور کاربردهای غذا دارویی تمرکز نمود.

مواد و روش‌ها

دریافت نمونه‌های میگو و مواد اولیه

ضایعات میگوی ببری سبز صیدشده از آب‌های خلیج فارس در استان هرمزگان با طول حدودی ۵ سانتی‌متر خریداری و سپس تحت فشار و سرما منجمد شد و در یونولیت‌های حاوی یخ با نسبت ماهی به یخ ۲:۱ به آزمایشگاه دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شد. سپس نمونه‌ها با آب سرد شستشو شده و در بسته‌بندی‌های پلی‌اتیلنی تقسیم بندی شد و جهت بررسی‌های بعدی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد

[2] Reactive oxygen species
[3] Signaling molecules

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-20]

ذخیره‌سازی شدند. جهت هیدرولیز آنزیمی، از آنزیم آلکالاز استخراج شده از باکتری *Bacillus licheniformis* تهیه شده از شرکت Sigma-Aldrich آمریکا (فعالیت آنزیمی ۲/۴ واحد آنسون به ازای ۱ میلی‌لیتر آنزیم) استفاده گردید. سایر ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق نیز از شرکت‌های Merck، Sigma-aldrich و Applichem تهیه شدند.

تولید پروتئین هیدرولیزشده میگو

تهیه پروتئین هیدرولیزشده از پوسته میگوی خام طبق روش پیشنهاد شده Ambigaipalan و Shahidi [۹] با اندکی تغییرات انجام شد. جهت آماده‌سازی نمونه‌ها، نمونه‌های منجمد شده میگو به مدت ۲۴ ساعت داخل یخچال قرار داده شد تا انجمادزدائی صورت گیرد. سپس ۵ گرم نمونه پودرشده با نسبت ۲:۱ (نمونه: آب‌مقطر) ترکیب شده و با استفاده از NaOH، pH مخلوط به ۸/۵ که فعالیت بهینه آنزیم آلکالاز می‌باشد، رسانده شد. بعد از آن، ظروف حاوی نمونه‌ها در انکوباتور (دمای ۵۵ درجه) قرار داده شد. آنزیم آلکالاز به نسبت ۱٪ وزن مخلوط به نمونه اضافه شده و نمونه‌ها به مدت ۴ ساعت هم‌زده شدند؛ به منظور توقف واکنش آنزیمی، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه قرار داده شدند. نمونه‌ها بعد از خنک شدن، سانتریفیوژ شده و مایع روماند جمع‌آوری و با استفاده از دستگاه خشک‌کن انجمادی خشک گردید.

سنجش پروتئین محلول و اندازه‌گیری درجه هیدرولیز

مقدار پروتئین محلول در نمونه بر اساس روش بیورت تعیین شد. هم‌چنین از آلبومین سرم گاوی (BSA) به عنوان پروتئین استاندارد برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد (غلظت‌های بین ۰ تا ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر). درجه هیدرولیز (DH) با استفاده از تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۱۰٪ (حجمی/حجمی) اندازه‌گیری شد. مبنای این روش، اندازه‌گیری درصد نسبت پروتئین‌های محلول در TCA به کل پروتئین‌های موجود در نمونه می‌باشد. ۵۰۰ میکرولیتر از محلول پروتئینی جدا شده با ۵۰۰ میکرولیتر محلول TCA مخلوط شده و سپس در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ (۸۰۰۰× g) شد. مقدار پروتئین در فاز محلول به روش Lowry و همکاران [۱۰] اندازه‌گیری و میزان درجه هیدرولیز از طریق معادله زیر محاسبه گردید:

رابطه (۱)

$$\mathbf{DH} = \frac{\mathbf{10\%\ TCA-soluble\ N\ in\ sample}}{\mathbf{Total\ N\ in\ in\ sample}} \times \mathbf{100}$$

جزءگیری پپتید زیست‌فعال (Fractionation)

به منظور جداسازی محدوده‌های مختلف وزن مولکولی ترکیب هیدرولیزشده، از لوله‌های اولترافیلتراسیون[4] ۳، ۱۰ و ۳۰ کیلودالتون استفاده شد. ابتدا الترافیلترها با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر، به مدت ۵ دقیقه و با استفاده از سانتریفیوژ (۵۰۰۰× g) شستشو و سپس ۱۲ میلی‌لیتر از محلول هیدرولیزشده در فیلترهای ۳، ۱۰ و ۳۰ کیلودالتونی ریخته و توسط سانتریفیوژ یخچال‌دار (۵۰۰۰× g، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴۰ دقیقه) سانتریفیوژ شد. غلظت پروتئین محلول در نمونه‌های الترافیلترشده نیز به روش بیوره تعیین گردید. وزن‌های مولکولی مختلف جداشده، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. کلیه‌ی تکرارها برای هر نمونه حداقل ۳ بار و ۲ شست‌وشو بوده است.

آنالیز SDS-PAGE

آنالیز SDS-PAGE (الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید دودسیل سولفات سدیم) یک روش الکتروفورز ژل است که برای جداسازی پروتئین معمولاً در بیوشیمی مولکولی استفاده می‌شود. به دلیل استفاده از ماده سدیم دودسیل سولفات (SDS) و همچنین ویژگی‌های عالی ژل پلی‌اکریل‌آمید در

[4] Ultrafiltration tube

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-20]

تکنیک SDS-PAGE قدرت تفکیک پروتئین‌ها بسیار عالی می‌باشد. در تکنیک SDS-PAGE پروتئین‌هایی که الکتروفورز شده‌اند براساس اندازه در ژل پلی‌اکریل‌آمید مرتب می‌شوند. در مطالعه حاضر، SDS-PAGE با استفاده از ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۲٪ در شرایط احیایی انجام شد.

قدرت حذف‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH

ظرفیت ضداکسیدانی پپتیدهای زیست‌فعال به وسیله آزمون قدرت حذف‌کنندگی رادیکال DPPH (1,10-diphenyl-2-picrylhydrazyl) بر طبق روش You و همکاران [۱۱] انجام شد. قدرت مهارکنندگی با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{Free radical scavenging (\%)} = (A_{blank} - A_{sample}) \times 100 / A_{blank}$$ رابطه (۲)

A_{sample} = جذب نمونه به همراه محلول DPPH

A_{blank} = جذب متانول همراه با محلول DPPH

ظرفیت مهار رادیکال آزاد ABTS

ظرفیت مهار رادیکال آزاد ABTS با روش Alemán و همکاران [۱۲] انجام شد. در ابتدا محلول اولیه رادیکال آزاد ABTS (ABTS ۷ میلی مولار در محلول پتاسیم پر سولفات ۲/۴۵ میلی‌مولار) تهیه و به مدت ۱۶ ساعت در دمای اتاق در مکان تاریک نگهداری شد. حجمی از محلول تهیه شده با آب مقطر رقیق شد تا محلول مورد نظر برای انجام آزمایش به میزان جذب ۰/۷ ±۰/۰۲ در ۷۳۴ نانومتر رسید. سپس ۲۰ میکرولیتر نمونه ژلاتین هیدرولیز شده با ۹۸۰ میکرولیتر از محلول ABTS مخلوط شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در مکان تاریک نگهداری شد. سپس جذب آن در طول موج ۷۳۴ نانومتر خوانده شد. داده‌ها به شکل درصد بازدارندگی بر اساس غلظت بیان شدند. قدرت حذف کنندگی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{Free radical scavenging (\%)} = (A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank} \times 100$$ رابطه (۳)

A_{sample} = جذب نمونه به همراه محلول ABTS

سنجش فعالیت مهارکنندگی آنزیم تبدیل کننده آنژیوتنسین I (ACE-I)

فشار خون بالا اغلب با داروهای تجاری که از فعالیت ACE جلوگیری می‌نمایند مانند کاپتوپریل و انالاپریل درمان می‌شود، اما پپتیدهای مهارکننده ACE ممکن است یک درمان جایگزین را فراهم نمایند. فعالیت ضدفشار خون نمونه‌ها با استفاده از کیت سنجش فعالیت ACE ارزیابی شد (سیگما آلدریچ، CS0002، آمریکا). در ابتدا همه معرف‌ها طبق دستورالعمل سازنده در بافر سنجش رقیق شدند. به طور خلاصه، ۱۰ میکرولیتر نمونه رقیق شده در بافر در غلظت‌های مختلف و کنترل منفی (بافر سنجش) به یک میکروپلیت ۹۶ خانه تیره اضافه شده و سپس ۴۰ میکرولیتر ACE به نمونه ها افزوده شد و جهت امکان ارتباط بین آنزیم و مهارکننده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انکوبه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر سوبسترا (ACE fluorogenic) اضافه شد و جذب فلورسانس هر دقیقه به مدت ۵ دقیقه توسط دستگاه میکروپلیت ریدر خوانده شد. میزان جذب تحریک و انتشار به ترتیب در ۳۲۰ نانومتر و ۴۰۵ نانومتر تعیین شد. منحنی استاندارد (تهیه شده در ۱۰۰ میکرولیتر لیتر بافر به ازای هر چاهک) (۰/۱ تا ۰/۸ نانومول) برای تعیین مقدار محصول فلورسنت تشکیل شده استفاده شد و درصد مهار طبق روش سازنده کیت محاسبه شد [۱۳].

تجزیه و تحلیل آماری

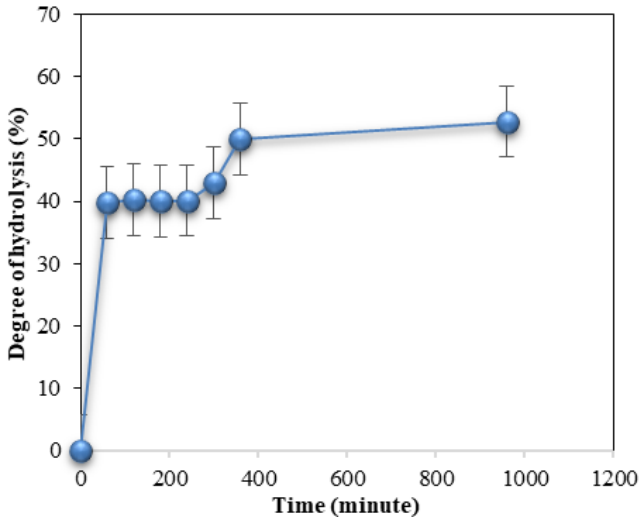
[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-20]

با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و هم‌چنین آزمون دانکن درسطح معنی‌داری$p\leq05$ ، تفاوت معنی‌دار بین متغیرها تعیین شد. آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام شده و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد. هم‌چنین به منظور رسم نمودارها، از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج

نتایج مربوط به اندازه‌گیری درجه هیدرولیز

روند تغییرات درجه هیدرولیز پروتئین هیدرولیز شده میگو در زمان‌های مختلف هیدرولیز (۱ الی۶ ساعت و ۱۶ ساعت) مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج آن در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داده است که با افزایش زمان هیدرولیز درجه هیدرولیز افزایش پیدا میکند اما از شدت و نرخ هیدرولیز کاسته میشود، به طوری که بیشترین میزان هیدرولیز در نمونه‌ی تیمارشده با آنزیم آلکالاز طی ۶۰ دقیقه اول رخ داده است (۰/۹۵±۳۱/۸۶٪). به علاوه بالاترین درجه هیدرولیز در دقیقه‌ی ۹۶۰ و معادل ۰/۰۵±۴۵/۷۷٪ بود و تفاوت معنی‌داری بین ۶۰ دقیقه اول و۳۶۰ دقیقه مشاهده گردید ($p<0/05$).

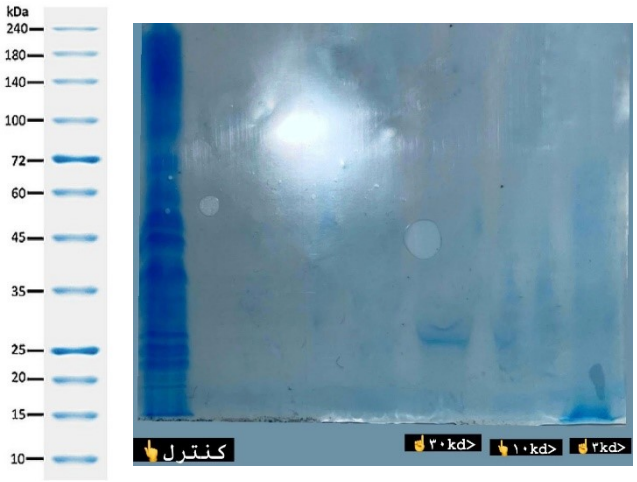


شکل ۱. روند تغییرات درجه هیدرولیز پروتئین هیدرولیز شده در زمان‌های مختلف (میانگین ± SD).

آنالیز SDS-PAGE

جهت تایید نهایی فرآیند جزءگیری وزنی (الترافیلتراسیون) و تعیین پروفایل اندازه مولکولی پروتئین‌های هیدرولیز شده با آنزیم آلکالاز و اجزای پپتیدی، الکتروفورز ژل (SDS- PAGE) انجام گردید. نتایج مربوط به SDS-PAGE در شکل ۲ آورده شده است. همانطور که در شکل ۲ مشخص است آلکالاز کارایی بالایی در تجزیه پروتئین‌ها نشان داد بطوری که پس از هیدرولیز و فیلتراسیون پروتئین هیدرولیز شده و جزء پپتیدی با وزن مولکولی بالای ۳۰ کیلودالتون، یک باند قابل توجه با وزن ~۴۰ کیلودالتون نشان داده شده است که ممکن است نتیجه پروتئین‌های بزرگ‌تر موجود در مواد خام باشد که به طور کامل توسط آنزیم آلکالاز هیدرولیز نشده‌اند. در نمونه‌های با وزن کم‌تر از ۳۰ کیلودالتون نیز باند قابل توجهی مشاهده نشد و باندهای پپتیدی به صورت کمرنگ ظاهر شدند (شکل ۲).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-20]

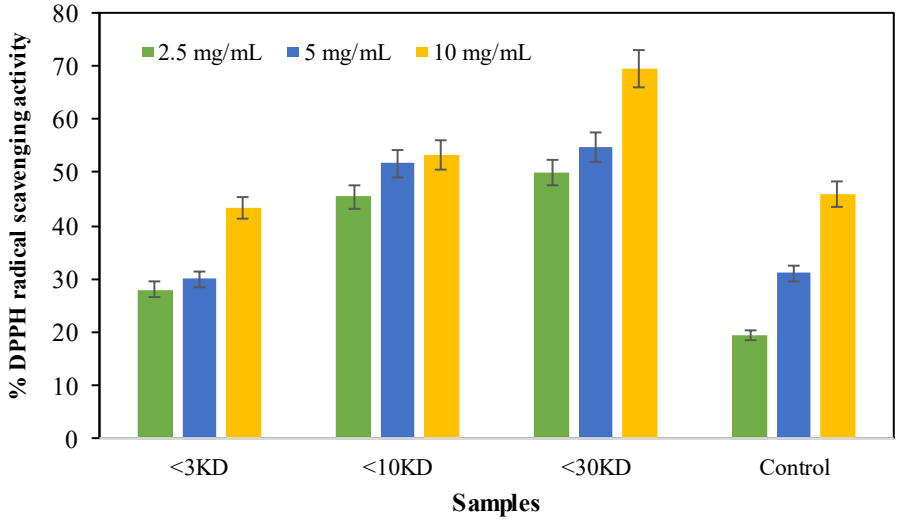


شکل ۲. آنالیز SDS-PAGE نمونه شاهد و اجزای پپتیدی با وزن های مولکولی مختلف (۳، ۱۰ و ۳۰ کیلودالتون).

ارزیابی خاصیت ضداکسیدانی

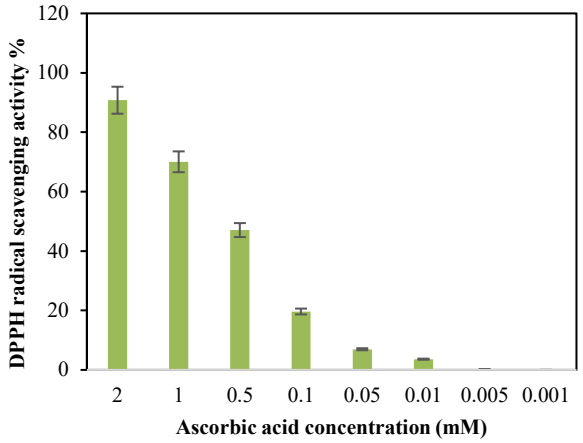
قدرت حذف‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH

نتایج حاصل از بررسی خاصیت ضداکسیدانی ترکیب هیدرولیز شده در غلظت‌های مختلف نشان داد که ترکیب هیدرولیز شده دارای خاصیت ضداکسیدانی بالایی در تمامی غلظت‌ها بوده و با افزایش غلظت تا ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر خاصیت مهارکنندگی افزایش می‌یابد ($p<0/05$) (شکل ۳). بالاترین میزان مهارکنندگی نیز برای نمونه‌ی زیر ۳۰ کیلودالتون در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در حدود (۰/۱۵ ± ۶۹/۶۱) بود. در مقایسه با نمونه کنترل (هیدرولیز نشده)، نمونه‌های هیدرولیز شده دارای خاصیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH بالاتری بودند ($p\leq0/05$). از آسکوربیک اسید (ویتامین c) در غلظت‌های ۲-۰/۰۰۲ میلی‌مولار نیز به عنوان کنترل‌مثبت استفاده شد و فعالیت ضداکسیدانی آن در غلظت ۲ میلی‌مولار ۹۰/۷۷٪ محاسبه شد (شکل ۴).



شکل ۳. فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH اجزای مختلف پپتیدی در غلظت‌های مختلف (میانگین ± SD).

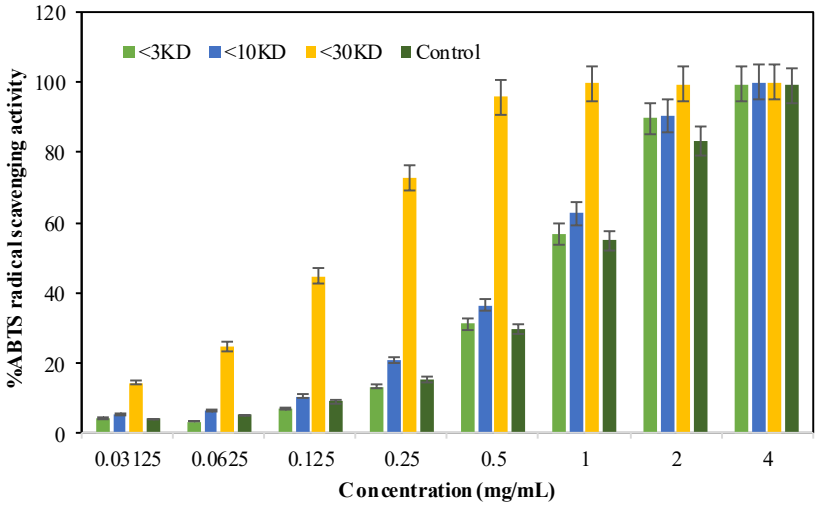
[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-20]



شکل ۴. فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH آسکوربیک اسید.

ظرفیت مهار رادیکال آزاد ABTS

نتایج حاصل از بررسی خاصیت ضداکسیدانی اجزای مختلف پپتیدی نشان داد که اجزاء پپتیدی و پروتئین هیدرولیز شده توانایی مهار رادیکال آزاد ABTS را دارا بودند (شکل ۵). همچنین نمونه‌های هیدرولیز شده در وزن‌های مختلف، دارای خاصیت مهارکنندگی رادیکال آزاد ABTS بالاتری نسبت به نمونه کنترل (هیدرولیز نشده) بودند ($p\leq$۰/۰۵). همانند آزمون DPPH، بالاترین میزان مهارکنندگی برای نمونه‌ی زیر ۳۰ کیلودالتون در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در حدود (۰/۱۵± ۹۹/۳۸) بود. هم‌چنین جهت مقایسه، از آسکوربیک اسید به عنوان یک ضداکسیدان متداول استفاده شد (غلظت‌های ۰/۵–۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر). فعالیت ضداکسیدانی آن در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ۹۱/۴۳٪ به‌دست آمد.

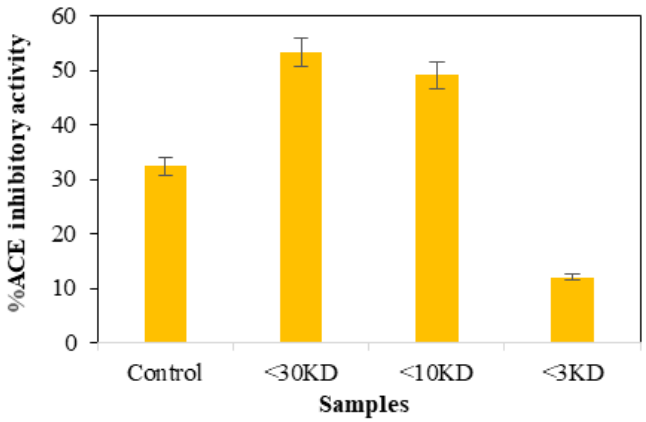


شکل ۵. فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS اجزای مختلف پپتیدی در غلظت‌های مختلف (میانگین ± SD).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-20]

سنجش فعالیت مهارکنندگی آنزیم مبدل آنژیوتنسین I (ACE-I)

فعالیت مهارکنندگی ACE پروتئین هیدرولیز شده و اجزای پپتیدی حاصل از الترافیلتراسیون در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در شکل ۶ نشان داده شده است. بر طبق نتایج، همه نمونه‌ها توانایی مهارکنندگی ACE را دارا بودند (فعالیت بازدارندگی بین ۱۲-۵۳٪). بیش‌ترین میزان مهارکنندگی نیز متعلق به جزء پپتیدی زیر۳۰ کیلودالتون بود (۵۳,۲۳٪) و اختلاف معنی‌داری نسبت به نمونه‌های زیر۱۰ کیلودالتون نداشتند (P>۰/۰۵). همچنین طبق نتایج به دست آمده، نمونه‌های پپتیدی کمتر از ۳ کیلودالتون کمترین خاصیت زیست‌فعالی را نشان دادند.



شکل ۶. نمودار مقایسه‌ی درصد مهارکنندگی آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۱ (ACE-I) اجزای مختلف پپتیدی در غلظت ۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر (میانگین ± SD).

بحث

امروزه تقاضای فزآینده‌ای از جانب مصرف‌کنندگان برای مواد غذایی طبیعی‌تر که دارای مزایای سلامتی بالقوه می‌باشند، وجود دارد. موجودات دریایی ذخیره‌گاه‌های متعددی از اجزای کارکردی زیست‌فعال مانند پروتئین‌ها، پپتیدها، اسیدهای چرب امگا-۳، رنگدانه‌های فوتوسینتتیک، ترکیبات فنولیک، ضداکسیدان‌ها و ضدمیکروب‌ها می‌باشند. به‌ویژه در سال‌های اخیر مطالعات متعددی در زمینه تولید پپتیدهای زیست‌فعال مشتق‌شده از ماهی و میگو جهت به حداکثر رساندن کارایی منابع دریایی کم‌تر بهره‌برداری شده متمرکز شده‌اند، از آنجایی‌که این پپتیدها دارای پتانسیل قابل توجهی به منظور توسعه فرآورده‌های غذایی فراسودمند و یا غذاداروها می‌باشند. پیش‌بینی می‌شود تجارت اجزای غذایی ویژه تا سال ۲۰۲۰ به ۹۱/۲ میلیارد دلار با نرخ رشد سالانه ۵/۵٪ برسد، که در این میان مواد غذایی کارکردی دارای بزرگ‌ترین سهم تجارت می‌باشند [۱۴].

درجه هیدرولیز تغییر محتوای پپتید را در یک واکنش هیدرولیتیک تخمین می‌زند. این شاخص در واقع میزان تجزیه پروتئین توسط آنزیم مربوطه را در نسبت‌های مختلف با پروتئین هیدرولیزشده بازیافت شده اندازه‌گیری می‌کند و هرچه بالاتر باشد، تعداد بیش‌تری از پپتید در محلول تولید می‌شود. افزایش تولید پپتیدها طی واکنش هیدرولیتیک منجر به افزایش حلالیت پروتئین می‌شود و امکان استفاده از پروتئین بازیافتی را به عنوان افزودنی دارای درجه غذایی افزایش می‌دهد [۱۵]. بر اساس نتایج، درجه هیدرولیز در ساعات اولیه میزان بالایی داشت که این نشان می‌دهد که حداکثر شکافت پیوندهای پپتیدی در ساعت اول هیدرولیز رخ داده است و در ادامه سرعت واکنش کاهش یافت، تا اینکه تقریبا ثابت شد که نشان‌دهنده این بود که هیدرولیز به فاز پایدار رسیده است. این نتیجه مطابق با نتایج محققان از جمله Pagán و همکاران [۱۶] و Noman و همکاران [۱۷] بود. به طور کلی، آنزیم به سرعت ذرات نامحلول در پروتئین را جذب می‌کند و سپس زنجیره های پلی‌پپتیدی متصل به سطح تجزیه می‌شوند و توده پروتئین داخلی کندتر هیدرولیز می‌شود. سرعت هیدرولیز آنزیمی پیوندهای پپتیدی، سرعت هیدرولیز عمومی را کنترل

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-20]

می‌کند. با این وجود، با افزایش زمان واکنش، در دسترس بودن بستر کاهش می‌یابد [۱۶]. نتایج این تحقیق نشان دهنده درجه هیدرولیز بالای پروتئین هیدرولیز شده در پایان ۶ ساعت فرآیند هیدرولیز است که نشان دهنده کارایی بالای آنزیم آلکالاز جهت هیدرولیز می‌باشد. انتخاب آنزیم نقش بسیار مهمی در تولید پروتئین هیدرولیز شده از ماهی و ضایعات آن دارد، زیرا هر آنزیم دارای الگوی متفاوتی در شکستن باندهای پپتیدی می‌باشد که بر ترکیب اسید آمینه‌ها، وزن ملکولی و فعالیت زیستی پپتیدهای تولید شده اثر خواهد گذاشت [۱۸].

اولترافیلتراسیون یکی از بهترین روش‌ها برای بازیابی و خالص‌سازی ترکیبات زیست‌فعال از منابع زیستی می باشد [۱۹]. جهت تایید نهایی فرآیند الترافیلتراسیون و تعیین پروفایل وزن مولکولی پروتئین‌های هیدرولیز شده با آنزیم آلکالاز و اجزای پپتیدی، الکتروفورز ژل (SDS-PAGE) انجام گردید. همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است آلکالاز کارایی بالایی در تجزیه پروتئین‌ها نشان داد. هرچند، جزء پپتیدی با وزن مولکولی بالای ۳۰ کیلودالتون، یک باند قابل توجه با وزن ~۴۰ کیلودالتون نشان داد در نمونه‌های با وزن کم‌تر از ۳۰ کیلودالتون، باند قابل توجهی مشاهده نشد و باندهای پپتیدی به صورت کمرنگ ظاهر شدند که مطابق با نتایج Bordbar و همکاران [۲۰] بود. وجود باندهای با وزن مولکولی کم در اجزای پپتیدی در این مطالعه ممکن است منجر به تولید پپتیدهایی با خواص زیست‌فعالی قوی‌تر شود [۱۹].

DPPH یک رادیکال نسبتا پایدار از نیتروژن آلی است که دارای رنگ بنفش تیره بوده و زمانی که در اتانول یا متانول حل می‌شود دارای جذب در محدوده ۵۲۸–۵۱۵ نانومتر می‌باشد و با ترکیبات اهداکننده هیدروژن واکنش نشان می‌دهد. هنگامی که رادیکال‌های DPPH با یک سوبسترای اهداکننده پروتون، مانند یک ضداکسیدان مواجه می‌شوند، رادیکال‌ها از بین می‌روند [۲۱]. پروتئین‌های هیدرولیز شده حاوی پپتیدهایی هستند که الکترون‌دهنده بوده و می‌توانند با رادیکال‌های آزاد واکنش دهند و آن‌ها را به ترکیبات پایدارتر تبدیل کنند. نتیجه این عملکرد متوقف کردن واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون خواهد بود [۲۲]. نتایج این بررسی نشان داد که با افزایش غلظت پروتئین هیدرولیزشده تا ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر خاصیت مهارکنندگی افزایش می‌یابد اما در غلظت بالاتر (یعنی ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اندکی کاهش یافت که در تطابق با نتایج Zhong و همکاران [۲۳] می‌باشد. پپتیدهای با زنجیره کوتاه ظرفیت ضداکسیدانی بالاتری نسبت به پپتیدهای با زنجیره بلند دارند [۲۰]. نتایج حاصل نشان دهنده حضور پپتیدهای ضداکسیدانی دارای اسید آمینه‌های آب‌گریز در همه اجزای پپتیدی می‌باشد. اعتقاد بر این است که تعداد اسیدهای آمینه آب‌گریز بر شدت فعالیت مهار پپتید تأثیر می‌گذارد. گزارش شده است که بسیاری از پپتیدهای طبیعی آب‌گریز مشتق شده از منابع پروتئینی دارای اثرات ضداکسیدانی قوی هستند؛ اسیدهای آمینه آب‌گریز با ضداکسیدان‌های غیر پپتیدی واکنش نشان می‌دهند و به عنوان جاذب‌های موثر گونه‌های مختلف رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند [۲۴].

آزمون ABTS یک روش رنگ‌سنجی است که توانایی یک ضداکسیدان برای مهار تشکیل یک رادیکال رنگی ABTS، یک کروموفور سبز–آبی با جذب مشخص در طول موج ۷۳۴ نانومتر را ارزیابی می‌کند [۲۵]. مونوکاسیون رادیکال از پیش ساخته شده $ABTS^{+}$ توسط اکسیداسیون ABTSبا پتاسیم پرسولفات تولید می‌شود و در حضور ضد اکسیدان‌های اهداکننده هیدروژن و ضداکسیدان‌های شکننده زنجیره کاهش می‌یابد [۲۵]. نتایج حاصل از بررسی خاصیت ضداکسیدانی در غلظت‌های مختلف نشان داد که با افزایش غلظت خاصیت مهارکنندگی افزایش می‌یابد (شکل ۵). هم‌چنین نتایج حاصل از بررسی خاصیت مهارکنندگی اجزای پپتیدی نشان داد که هر ۴ جزء پپتیدی توانایی مهار رادیکال آزاد ABTS را دارا بودند و در بین همه اجزا، جزء پپتیدی با وزن مولکولی کمتر از ۳۰ کیلودالتون به طور معنی‌داری دارای قدرت مهارکنندگی بالاتری نسبت به سایر اجزای پپتیدی بود. توانایی پپتیدها برای مهار رادیکال ABTS منعکس‌کننده ظرفیت آن‌ها برای اهدای الکترون یا اتم هیدروژن برای غیرفعال کردن این گونه رادیکال است [۴]. وجود باقی مانده‌های آب‌گریز و آروماتیک خاص می‌توانند فعالیت ضداکسیدانی پپتیدها را افزایش دهند [۲۶]. گزارش شده است که پپتیدهای حاوی بقایای اسیدهای آمینه مانند Asp، Pro، Trp، Tyr، Met، Cys، Leu، Arg، Ala و His فعالیت ضداکسیدانی بالاتری نشان می‌دهند [۲۷].

ACE آنزیمی است که شکل غیرفعال آنژیوتانسین (دکاپپتیدی به نام آنژیوتانسینI) را به یک عامل انقباض عروق فعال (اکتاپپتیدی به نام آنژیوتانسین II) تبدیل می‌کند. مکانیسم دیگر این آنزیم، غیرفعال‌کردن یک گشادکننده عروق به نام برادی کینین در سیستم کالیکرئین–کینین

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-20]

است؛ بنابراین، مسدود کردن یا مهار این آنزیم به کاهش فشار خون کمک می‌کند [۲۸]. بر طبق نتایج، همه نمونه‌ها توانایی مهارکنندگی ACE را دارا بودند (فعالیت بازدارندگی بین ۱۲-۵۳٪) که با نتایج Ambigaipalan و Shahidi [۹] در خصوص خاصیت ضدفشار خون پپتید حاصل از هیدرولیز پوسته میگو مطابقت داشت. اولترافیلتراسیون یکی از بهترین روش‌ها برای بازیابی و خالص‌سازی ترکیبات زیست‌فعال از منابع زیستی بوده [۱۹] و برای جداسازی پپتیدهای مهارکننده ACE از پروتئین‌های غذایی استفاده می‌شود [۲۹]. همان طور که در شکل ۶ نشان داده شده است، بیش‌ترین میزان مهارکنندگی متعلق به جزء پپتیدی زیر۳۰ کیلودالتون بود (۵۳,۲۳٪). مطالعات قبلی در مورد پپتیدهای بازدارنده ACE نشان دادند پپتیدهای با وزن مولکولی پایین‌تر، فعالیت مهاری قوی‌تری نسبت به پپتیدهای با وزن مولکولی بالا داشتند [۳۰] که برخلاف نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر می‌باشد. این می تواند تا حدی به منبع پروتئین و یا پپتید استخراج شده و نحوه فیلتراسیون با غشاهای اولترافیلتر نسبت داده شود. Ngo و همکاران [۳۰] گزارش کردند که پپتیدهایی با وزن مولکولی ۱۰-۵ کیلودالتون حاصل از ژلاتین پوست ماهی کاد اقیاتوس اطلس دارای مهارکنندگی حدوداً ۶۰٪ می‌باشند که بانتایج حاصله مطابقت داشت. بر طبق مطالعه Ishak و همکاران [۱۹]، اجزای پپتیدی حاصل از الترافیلتراسیون پروتئین هیدرولیز شده به شدت تحت تاثیر توالی پپتیدها و همچنین حضور اسید آمینه‌های خاص در C ترمینال توالی پپتیدها مانند Trp، Tyr، Phe، Pro و یک اسید آمینه آب‌گریز که تمایل به تعامل با محل فعال ACE دارد، قرار دارد [۳۰]. از آن‌جایی که فعالیت اولیه ACEبریدن دی‌پپتید C ترمینال سوبستراهای الیگوپپتیدی با ویژگی گسترده است، فعالیت بازدارنده پپتیدهای بازدارنده ACE به شدت تحت تأثیر توالی تری‌پپتیدی C ترمینال آن‌ها قرار دارد و پپتیدهایی که شامل اسید آمینه‌های آب‌گریز در این موقعیت هستند مهارکننده‌های قوی ACEمی‌باشند [۲۹].

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که ضایعات میگوی ببری سبز، منبع غنی‌ای از پپتیدهای زیست‌فعال می‌باشد که توانایی مهار رادیکال‌های آزاد را دارا می‌باشند. فعالیت نسبتاً بالا در ارائه خاصیت ضداکسیدانی امکان جایگزینی این ترکیب را با ضداکسیدان‌های مصنوعی می‌دهد، زیرا علاوه بر خاصیت ضداکسیدانی بالا، سمیت کمتری را نشان می‌دهند. همچنین، مهارکنندگی مطلوب ACE توسط جزء پپتیدی با وزن کمتر از ۳۰ کیلودالتون نویدبخش استفاده از پپتیدها در صنایع دارویی می‌باشد. در این راستا لازم است مطالعات بیشتری در زمینه بررسی انواع خواص زیست‌فعالی و هم‌چنین استفاده از پپتیدها در بستر مواد غذایی یا به شکل مکمل‌های تغذیه‌ای انجام شود.

تشکر و قدردانی

این اثر تحت حمایت مادی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) برگرفته شده از طرح شماره "۴۰۰۵۰۰۷"و نیز ستاد توسعه زیست‌فناوری تحت قرارداد پژوهشی شماره ۰۱/۱۷۰۱۵ انجام پذیرفته است.

تأییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

سهم نویسندگان: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-20]

منابع

1- Hosseini SF, Rezaei M, McClements DJ. Bioactive functional ingredients from aquatic origin: A review of recent progress in marine-derived nutraceuticals. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2022 Feb 10;62(5):1242-69.
2- Gulzar S, Benjakul S. Fortification of skim milk with nanoliposomes loaded with shrimp oil: Properties and storage stability. Journal of the American Oil Chemists' Society. 2020 Aug;97(8):929-40.
3- Nirmal NP, Santivarangkna C, Rajput MS, Benjakul S. Trends in shrimp processing waste utilization: An industrial prospective. Trends in Food Science & Technology. 2020 Sep 1; 103:20-35.
4- Ramezanzade L, Hosseini SF, Nikkhah M, Arab-Tehrany E. Recovery of bioactive peptide fractions from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processing waste hydrolysate. Ecopersia. 2018 Apr 10; 6(1): 31-40.
5- Rakotoarisoa M, Angelov B, Garamus VM, Angelova A. Curcumin-and fish oil-loaded spongosome and cubosome nanoparticles with neuroprotective potential against H_2O_2-induced oxidative stress in differentiated human SH-SY5Y cells. ACS omega. 2019 Feb 12;4(2):3061-73.
6- Zhao S, Cheng Q, Peng Q, Yu X, Yin X, Liang M, Ma CW, Huang Z, Jia W. Antioxidant peptides derived from the hydrolyzate of purple sea urchin (*Strongylocentrotus nudus*) gonad alleviate oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*. Journal of Functional Foods. 2018 Sep 1; 48:594-604.
7- Si H, Liu D. Dietary antiaging phytochemicals and mechanisms associated with prolonged survival. The Journal of nutritional biochemistry. 2014 Jun 1;25(6):581-91.
8- Latorres JM, Rios DG, Saggiomo G, Wasielesky W, Prentice-Hernandez C. Functional and antioxidant properties of protein hydrolysates obtained from white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Journal of Food Science and Technology. 2018 Feb; 55:721-9.
9- Ambigaipalan P, Shahidi F. Bioactive peptides from shrimp shell processing discards: Antioxidant and biological activities. Journal of Functional Foods. 2017 Jul 1; 34:7-17.
10- Lowry O, Rosebrough N, Farr AL, Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of biological chemistry. 1951 Nov 1; 193(1): 265-75.
11- You L, Zhao M, Regenstein JM, Ren J. Changes in the antioxidant activity of loach (Misgurnus anguillicaudatus) protein hydrolysates during a simulated gastrointestinal digestion. Food Chemistry. 2010 Jun 1; 120(3): 810-6.
12- Alemán A, Pérez-Santín E, Bordenave-Juchereau S, Arnaudin I, Gómez-Guillén MC, Montero P. Squid gelatin hydrolysates with antihypertensive, anticancer and antioxidant activity. Food Research International. 2011 May 1; 44(4): 1044-51.
13- Coronado-Cáceres LJ, Hernández-Ledesma B, Mojica L, Quevedo-Corona L, Rabadán-Chávez G, Castillo-Herrera GA, Lugo Cervantes E. Cocoa (Theobroma cacao L.) seed-derived peptides reduce blood pressure by interacting with the catalytic site of the angiotensin-converting enzyme. Foods. 2021 Sep 30;10(10):2340.
14- Temelli F. Perspectives on the use of supercritical particle formation technologies for food ingredients. The Journal of Supercritical Fluids. 2018 Apr 1; 134: 244-51.
15- Sheriff SA, Sundaram B, Ramamoorthy B, Ponnusamy P. Synthesis and in vitro antioxidant functions of protein hydrolysate from backbones of Rastrelliger kanagurta by proteolytic enzymes. Saudi Journal of Biological Sciences. 2014 Jan 1; 21(1): 19-26.
16- Pagán J, Ibarz A, Falguera V, Benítez R. Enzymatic hydrolysis kinetics and nitrogen recovery in the protein hydrolysate production from pig bones. Journal of Food Engineering. 2013 Dec 1; 119(3): 655-9.
17- Noman A, Qixing J, Xu Y, Ali AH, Al-Bukhaiti WQ, Abed SM, Xia W. Influence of degree of hydrolysis on chemical composition, functional properties, and antioxidant activities of chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) hydrolysates obtained by using alcalase 2.4 L. Journal of Aquatic Food Product Technology. 2019 Jul 3; 28(6): 583-97.
18- Ko JY, Lee JH, Samarakoon K, Kim JS, Jeon YJ. Purification and determination of two novel antioxidant peptides from flounder fish (Paralichthys olivaceus) using digestive proteases. Food and Chemical Toxicology. 2013 Feb 1; 52: 113-20.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-20]

19- Ishak NH, Shaik MI, Yellapu NK, Howell NK, Sarbon NM. Purification, characterization and molecular docking study of angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory peptide from shortfin scad (*Decapterus macrosoma*) protein hydrolysate. Journal of food science and technology. 2021 Dec 1:1-1.
20- Bordbar S, Ebrahimpour A, Zarei M, Abdul Hamid A, Saari N. Alcalase-generated proteolysates of stone fish (Actinopyga lecanora) flesh as a new source of antioxidant peptides. International Journal of Food Properties. 2018 Jan 1; 21(1): 1541-59.
21- Jiang H, Tong T, Sun J, Xu Y, Zhao Z, Liao D. Purification and characterization of antioxidative peptides from round scad (*Decapterus maruadsi*) muscle protein hydrolysate. Food Chemistry. 2014 Jul 1; 154: 158-63.
22- Khantaphant S, Benjakul S. Comparative study on the proteases from fish pyloric caeca and the use for production of gelatin hydrolysate with antioxidative activity. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. 2008 Dec 1; 151(4): 410-9.
23- Zhong S, Ma C, Lin YC, Luo Y. Antioxidant properties of peptide fractions from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) processing by-product protein hydrolysates evaluated by electron spin resonance spectrometry. Food chemistry. 2011 Jun 15; 126(4): 1636-42.
24- Bashir KM, Sohn JH, Kim JS, Choi JS. Identification and characterization of novel antioxidant peptides from mackerel (*Scomber japonicus*) muscle protein hydrolysates. Food Chemistry. 2020 Sep 1; 323: 126809.
25- Yarnpakdee S, Benjakul S, Kristinsson HG, Kishimura H. Antioxidant and sensory properties of protein hydrolysate derived from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by one-and two-step hydrolysis. Journal of Food Science and Technology. 2015 Jun; 52(6): 3336-49.
26- Gao R, Shu W, Shen Y, Sun Q, Jin W, Li D, Li Y, Yuan L. Peptide fraction from Sturgeon muscle by pepsin hydrolysis exerts anti-inflammatory effects in LPS-stimulated RAW264. 7 macrophages via MAPK and NF-κB pathways. Food Science and Human Wellness. 2021 Jan 1; 10(1): 103-11.
27- Yan QJ, Huang LH, Sun Q, Jiang ZQ, Wu X. Isolation, identification and synthesis of four novel antioxidant peptides from rice residue protein hydrolyzed by multiple proteases. Food Chemistry. 2015 Jul 15; 179: 290-5.
28- Ayati S, Eun JB, Atoub N, Mirzapour-Kouhdasht A. Functional yogurt fortified with fish collagen-derived bioactive peptides: Antioxidant capacity, ACE and DPP-IV inhibitory. Journal of Food Processing and Preservation. 2022 Jan;46(1): e16208.
29- Betancur-Ancona D, Dávila-Ortiz G, Chel-Guerrero LA, Torruco-Uco JG. ACE-I inhibitory activity from Phaseolus lunatus and Phaseolus vulgaris peptide fractions obtained by ultrafiltration. Journal of medicinal food. 2015 Nov 1;18(11):1247-54.
30- Ngo DH, Kang KH, Ryu B, Vo TS, Jung WK, Byun HG, Kim SK. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides from antihypertensive skate (*Okamejei kenojei*) skin gelatin hydrolysate in spontaneously hypertensive rats. Food Chemistry. 2015 May 1; 174: 37-43.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-20]

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume13, Issue 2, Winter 2024
Pages: 522-534

Evaluation of antioxidant and antihypertensive properties of peptides from enzymatic hydrolysis of green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) processing wastes

Sara Tavvafi [1], Seyed Fakhreddin Hosseini [2]*, Reza H. Sajedi[3]

1- Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
2- Department of Seafood Processing, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
3- Department of Biochemistry, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

A B S T R A C T

In the present study, the green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) processing wastes were hydrolyzed by alcalase in an enzyme-to-substrate ratio of 1: 100 under optimal conditions of temperature (55°C) and pH (7.5) for 16 hours, and the degree of hydrolysis was investigated. Also, the hydrolyzed sample during 300 minutes of hydrolysis, was fractionated by ultracentrifugal members having molecular mass cutoffs of 3, 10, and 30 kDa, and four peptide fractions were obtained. Then, the antioxidant activity (DPPH and ABTS free radicals scavenging activity) and the antihypertensive properties of hydrolysate and peptide fractions were measured at different hydrolysate concentrations. The degree of hydrolysis was the highest (31.86 ± 0.95%) at a hydrolysis time of 60 minutes. The results of DPPH radical scavenging activity showed that the peptidic fraction <30 kDa exhibited the highest scavenging activity compared to the other fractions (69.61 ± 0.15% at a concentration of 10 mg/mL). The highest rate of ABTS radical scavenging activity was also observed for the sample <30 kDa at a concentration of 2 mg/mL (99.38 ± 0.15%). Measuring the inhibitory activity of angiotensin-converting enzyme I (ACE-I) also revealed that although all samples could inhibit ACE (inhibitory activity between 12-53%), the highest inhibitory rate belonged to the peptide fraction <30 kDa (53.23%). In general, the results of this study showed that the peptides obtained from the hydrolysis of green tiger shrimp waste can be used as a natural antioxidant in the formulation of nutraceuticals.

KEYWORDS: Green tiger shrimp, Processing wastes, Enzymatic hydrolysis, Bioactive peptide, Antioxidant property, Antihypertensive activity

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 29 Jan 2024
Accepted: 29 Feb 2024
ePublished: 10 March 2024

* Corresponding Author:
Email address: hosseinisf@modares.ac.ir
Tel: +98 1144998162
© Published by Tarbiat Modares University
ISSN: 2322-5513

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-20]