النشاط المضاد للأكسدة لبروتينات الشرش المعزولة من حليب الجمل المتحللة انزيميا واستعمالها في إطالة العمر الخزني للزيوت

Antioxidant Activity of Whey Proteins Isolated from Enzymatically Hydrolyzed Camel's Milk and Their Using in Extending the Shelf Life of Oils

Orass T. AL-Ibresam [1], Rawdah M. AL-Ali [2], Sawsan A. AL-Hilifi [3]

© 2023 The Author(s). This open access article is distributed under a Creative CommonsAttribution (CC-BY) 4.0 license.

Abstract: Camel milk is an important source of nutrients such as proteins and vitamins, including whey proteins, which make inhibition of oil oxidation and microbial growth. The proteolytic have high antioxidant activity due to their amino acid content. The antioxidant properties of camel milk are also attributed to the structural composition of whey proteins upon hydrolysis and their content of bioactive peptides that have antioxidant activities. According to the study, the decomposers showed a high activity in their ability to capture the DPPH radical and bind the ferric ion amounted to 53.19% and 62.88%, respectively, at a concentration of 20 mg/ml, in addition to having a high reducing capacity of 77.199% at the same concentration, and their amino acid content was estimated. The hydrolysates' contribution for enhancing the storage capacity of the oils was studied by decreasing the peroxide number values of sesame seed oil stored at laboratory temperature for 60 days.

Key Words: Camel whey; Proteolytic; Antioxidant; Sesam seeds oil.

الكلمات المفتاحية: شرش حليب الجمل; المتحللات البروتينية; الفعالية المضادة للأكسدة;زيت بذور السمسم.

Author details

1- 2 – 3 Department of Food Science, College of Agriculture, University of Basra, Basra, Iraq

Citation information

Cite this article as:

Al-Ibresam, O.T., Al-Ali, R.M., Al-Hilifi, S.A., (July 2023), *Antioxidant Activity of Whey Proteins Isolated from Enzymatically Hydrolyzed Camel's Milk and Their Using in Extending the Shelf Life of Oils*, Proceedings of the Minar Congress, Turkey, (9) pp 359-373, DOI: https://doi.org/10.47832/MinarCongress9-30

http://dx.doi.org/10.47832/MinarCongress9-30

1 orass.yasseen@uobasrah.edu.iq

2 rawdah.ali@uobasrah.edu.iq

3 sawsan.hameed@uobasrah.edu.iq

الخلاصة

حليب الجمل هو مصدر غني للفيتامينات والبروتينات ومنها بروتينات الشرش التي تلعب دوراً مهما في تعزيز العديد من الوظائف الفسيولوجية منها مضادات أكسدة ومضادات ميكروبية وغيرها، يهدف البحث إلى تحضير متحللات شرش حليب الجمل باستعمال أنزيم التربسين لمدة 4 ساعات واختبار فعاليتها المضادة للأكسدة، واظهرت المتحللات البروتينية نشاط مضادا للأكسدة عاليا بفعل محتواها من الأحماض الأمينية ، إذ تُعزى الخصائص المضادة للأكسدة في حليب الجمل أيضًا إلى التكوين الهيكلي لبروتينات الشرش عند التحلل المائي ومحتواها من الببتيدات النشطة بيولوجيًا التي لها أنشطة مضادة للأكسدة. أظهرت المتحللات وفقا للبحث نشاطا عاليا في قابليتها على اقتناص جذر DPPH وربط أيون الحديديوز بلغت 53.19% و69.17% على التوالي عند التركيز 20 ملغم\مل إضافة إلى امتلاكها سعة اختزالية عالية بلغت 77.19% عند التركيز ذاته، كما تم تقدير محتواها من الأحماض الأمينية ومساهمتها في تعزيز القابلية الخزنية للزيوت من خلال خفضها قيم رقم البيروكسيد وقيم حامض الثايوباربيوتريك TBA لزيت بذور السمسم المخزن على درجة حرارة المختبر لمدة 60 يوماً.

المقدمة

تحدث عملية الأكسدة نتيجة التمثيل الغذائي التأكسدي في الجسم وهي تساهم في التقليل من قبول المستهلك للأغذية إذ أنها تعمل على إنتاج مركبات منخفضة الوزن الجزيئي ذات نكهة غير مقبولة فضلا عن كونها سامة و مضرة لصحة الأنسان تتمثل بالجذور الحرة التي تتحرر كنواتج أيضية عرضية إذ تعمل الأكسدة على تحطيم العناصر الغذائية الأساسية كالبروتينات و الحامض النووي (DNA) والدهون، تحدث الأكسدة عن طريق إضافة الأوكسجين أو سحب الهيدروجين أو الكترون بوجود الأنزيمات وعوامل مساعدة أخرى كالحرارة والمعادن والأوكسجين، دعت الحاجة إلى التقليل من الأكسدة وتثبيطها عن طريق إزالة المؤكسدات وكبح الجذور الحرة وتقييد المعادن من خلال إضافة مركبات كيميائية فعالة بتراكيز منخفضة غير سامة ومستقرة و قليلة الكلفة تدعى بمضادات الأكسدة الصناعية (Choe and Min, 2009;Parkin and Damordaran, 2003).

من المعروف إن بيروكسيدات الدهون يمكن أن تسبب تدهورا في الصفات النوعية و التغذوية للغذاء وتقصير عمره الخزني من خلال توليد الجذور الحرة التي تؤدي إلى أكسدة وتحلل الأحماض الدهنية التي تسبب بدورها الضرر الصحي المتمثل بأمراض الكبد والسرطان والشيخوخة. استعملت مضادات الأكسدة الصناعية مثل BHT و BHA على نطاق واسع في الأغذية لفعاليتها العالية للحد من الأكسدة و تلف الأغذية و إطالة العمر الخزني للدهون إلا إن المخاوف بشأن الأثار الصحية التي تترتب على استعمال مضادات الأكسدة الصناعية لذلك كان الاتجاه نحو مضادات الأكسدة الطبيعية التي يتم تحضيرها من مصادر حيوانية أو نباتية لها القدرة على تثبيط تطور الاكسدة (Peng *et al.*, 2010). أثبتت الدراسات إن المتحللات البروتينية تعمل بشكل فعال كمضادات أكسدة طبيعية تعمل على كبح الجذور الحرة و تثبيط بيروكسيد الدهون لاحتوائها على الببتيدات الفعالة حيويا ذات الخصائص المضادة للأكسدة حيث تمتلك فعالية عالية على كبح جذور الأوكسجين التفاعلية ROS وتكبيل أيونات المعادن المؤكسدة وتدعيم النظام الانزيمي المضاد للأكسدة داخل الجسم (Manzanares *et al.*,2019 ;Al-Shamsi *et al.*, 2018).

يمتلك حليب الجمل خصائص مختلفة عن الحليب البقري من حيث تركيبه الكيميائي ومحتواه البروتيني، تمتاز بروتينات شرش حليب الجمل بجودتها من حيث النسب العالية لبروتينات الالفاالبومين واللاكتوفيرين والاكتوفورين والكلوبيولينات المناعية مقارنة بشرش حليب الأبقار. تعد بروتينات شرش حليب الجمل مصدرا مهما للحصول على المتحللات البروتينية التي تعد مدعمات غذائية مهمة في الأغذية الوظيفية (Al-Shamsi *et al.*, 2018).

شهد العقد الماضي اهتماما متزايدا بالأغذية الوظيفية التي تعمل على تعزيز الصحة والوقاية من الأمراض، وتعد الببتيدات الفعالة حيويا المحضرة من متحللات بروتينات شرش حليب الجمل محور اهتمام الباحثين لامتلاكها خصائص مضادة للأكسدة وللميكروبات والسرطان وارتفاع ضغط الدم والسكري وقدرتها على ربط المعادن وتدعيم المناعة (Kamal *et al.*, 2018). هدفت الدراسة إلى تحضير متحللات بروتينية ذات خصائص فعالة حيويا واستعمالها مضادات أكسدة طبيعية بديلة للصناعية لتثبيط بيروكسيد الدهون وإطالة المدى الخزني لها.

طرائق العمل

تم جمع حليب الجمل ذات السنام الواحد من مزرعة جمال محلية في محافظة الانبار غرب العراق تم استعمال إنزيم Trypsin E.C 3.4.21.4 المحضر من شركة Aldrich-Sigma بكفاءة محددة ≥ 250 وحدة / جم.

إنتاج شرش الحليب بالطريقة الحامضية

اتبعت الطريقة المذكورة من قبل Al-Hatim *et al.* (2020) مع بعض التحوير حيث تمت معاملة الحليب حراريا على درجة حرارة 63 م لمدة نصف ساعة بعدها خفضت درجة الحرارة الى 40م، فصل الدهن باستعمال جهاز الفراز، اضيف 10 مل من محلول حامض الستريك 65% لكل 1 لتر من الحليب مع التحريك لمدة 2 دقيقة و بعد مرور 45 دقيقة قطعت الخثرة وجمع الشرش الناضح ليتم تركيزه باستعمال الجهاز المبخر الدوار Rotary Evaporator من نوع Frankin electric, England على درجة 40م ثم تجفيده بجهاز التجفيد Freeze-drying من نوع (Germany, Christ).

تحضير المتحللات البروتينية

استعمل أنزيم Trypsin لتحضير المتحلل البروتيني باتباع الطريقة الموصوفة من قبل Wali *et al.* (2019) حضر المحلول البروتيني بنسبة 10:5 (وزن\ حجم) بالماء المقطر بعدها تم أجريت المعاملة الحرارية للمحلول على درجة حرارة 80م لمدة 2 دقيقة ثم تبريد المحلول إلى درجة حرارة 25م ، أضيف الأنزيم بنسبة 1% من وزن العينة بعد ضبط الظروف المثلى الخاصة بالأنزيم المتمثلة بالرقم الهيدروجيني باستعمال محلول حامض الهيدروكلوريك (1M) ومحلول هيدروكسيد الصوديوم (1M) و ضبط درجة الحرارة على 37م باستعمال حمام مائي هزاز من نوع (Germany GFL) استمر التحلل لمدة 4 ساعات و ثبط عمل الأنزيم بعد انتهاء مدة التحلل برفع درجة حرارة المتحلل إلى 90م لمدة 5 دقائق و بعدها إضافة محلول ثلاثي كلورو حامض الخليك Trichloroacetic acid (TCA) (12%) ثم اجري الطرد المركزي (5000 g) ليتم جمع الراشح وتجفيده.

تقدير درجـــة التحـــلل

اتبعت الطريقة حسب Hoyle and Merrit (1994) و الموصوفة في Da Silva *et al.* (2018) لتقدير درجة التحلل بواسطة حساب النسبة المئوية للنتروجين الذائب في12% من TCA والنسبة المئوية للنتروجين الكلي في عينة المركز البروتيني المجفد الخام وحسب المعادلة التالية:

$$\text{درجة التحلل\%} = \frac{\text{النتروجين الذائب في 12\% TCA}}{\text{النتروجين الكلي في العينة}} \times 100$$

تقدير الأحماض الأمينية

قدرت الأحماض الأمينية في المتحللات البروتينية لشرش حليب الجمل حسب الطريقة الموصوفة من قبل Al-Hilifi *et al.* (2023) باستعمال جهاز Amino acids analyzer حيث مزج 10-20 ملغم من المتحللات المجفدة مع محلول حامض الهيدروكلوريك(*6N*) في أنبوبة مفرغة من الهواء و على درجة حرارة 110°م لمدة 24 ساعة، وضع

المزيج في جهاز الطرد المركزي 4000 g لمدة 10 دقائق، بعدها حضر مزيج من 250 مايكروليتر من الراشح المفصول مع محلول بيكربونات الصوديوم الهيدروجينية ليوضع في حمام ثلجي لمدة 15 دقيقة ثم حضر مزيج مكون من 375 ميكروليتر من الراشح المفصول و محلول منظم سترات الليثيوم N 12.0 و رقم هيدروجيني 2.90 ، استعمل عمود S4300 و بطولين موجيين 570،440 نانوميتر. اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل شركة SW analyzer amino acids Clarity.

الفعالية المضادة للاكسدة

اقتناص جذر Diphenyl-2picrylhdrayzl 1,1 (DPPH) :

اجري اختبار اقتناص جذر Diphenyl-2picrylhdrazyl 1,1 (DPPH) للعينات المحضرة وفق طريقة (2015) Shah and Modi اضيف 0.5 مل من محلول DPPH (0.1 Mm) لكل 1مل من كل تركيز عينات المتحللات البروتينية المحضرة بتراكيز 5-25 ملغم\مل حضن المزيج في الظلام لمدة 30 دقيقة في حرارة المختبر، إضافة الى العينة الضابطة المحضرة بمزج ما ذكر أعلاه عدا العينة المستبدلة بالماء المقطر. قيست الامتصاصية على طول موجي 517 نانومتر. حسبت قابلية الاقتناص لعينة المقارنة Ascorbic acid بالطريقة نفسها، قدرت قابلية اقتناص جذر DPPH حسب المعادلة أدناه:

$$\text{قابلية اقتناص DPPH \%} = \frac{\text{امتصاصية العينة الضابطة} - \text{امتصاصية العينة}}{\text{امتصاصية العينة الضابطة}} \times 100$$

قابلية ربط الحديدوز:

قدرت القابلية على ربط أيون الحديدوز حسب الطريقة الواردة في Hussein *et al.* (2020) حضرت العينات بتراكيز 5-25ملغم /مل وأضيف 0.4 مل من محلول 8-hydroxy quinolone (5 Mm) لكل تركيز من العينات إضافة الى العينة الضابطة المحضرة بخلط كل ما مذكور أعلاه ماعدا العينة التي استبدلت بالماء المقطر، حضنت العينات في الظلام بدرجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق. قدرت قابلية الربط لعينة المقارنة

Ethylene diamine tetra acetic acid disodium (EDTA-Na_2) بالطريقة نفسها، قيست الامتصاصية على طول موجي 562نانومتر، حسبت قابلية الربط بالمعادلة التالية:

$$\text{قابلية ربط أيون الحديدوز \%} = \frac{\text{امتصاصية العينة الضابطة} - \text{امتصاصية العينة}}{\text{امتصاصية العينة الضابطة}} \times 100$$

القوة الاختزالية:

اجري اختبار تقدير القوة الاختزالية تبعا لطريقة Devi *et al.* (2017) استعملت التراكيز (5-25) ملغم/مل للعينات المدروسة و لعينة المقارنة BHT ، مزج 1مل لكل تركيز من العينات المدروسة مع 2.5 مل من محلول منظم الفوسفات المحضر 0.2M و رقم هيدروجيني 6.6 و2.5 مل من محلول Potassiom ferricyanide 1% حضن المزيج عند درجة حرارة 50°م لمدة 20 دقيقة، ثم اضيف محلول TCA 1% ثم اجري الطرد المركزي بسرعة 3000

g لمدة 10 دقائق لفصل الطبقة العلوية للمحلول ثم اضيف 1مل من محلول FeCl3 0.1% و5 مل من الماء المقطر. حضرت العينة الضابطة بإضافة جميع المواد المذكورة اعلاه عدا العينة المستبدلة بالماء المقطر. قيست الامتصاصية على طول موجـي 700 نانومتر ثم حسبت نسبة القوة الاختزالية من خلال المعادلة التالية حسب ما مذكور من قبل Hemalatha *el al.*(2010):

$$\text{القوة الاختزالية\%} = 100 - [\frac{\text{قراءة امتصاصية العينة}}{\text{قراءة امتصاصية العينة الضابطة}}] \times 100$$

اختبار قابلية المتحلل البروتيني في حفظ زيت السمسم

تم دراسة قابلية المتحلل البروتيني في حفظ زيت السمسم من الأكسدة وإطالة عمره الخزني وذلك بإضافته بثلاث تركيز هي (0.10, 0.15, 0.25%) ومقارنته مع مضاد الأكسدة الصناعي BHT 0.02% وعينة السيطرة . وحفظت المعاملات في عبوات شفافة بدرجة حرارة 40مْ ± 5 مْ ولمدة 60 يوم وتم متابعة تغيرات الأكسدة كل 15 يوم من خلال قياس قيمة البيروكسيد.

قيمة البيروكسيد Peroxide Value PV

تم تقدير قيمة رقم البيروكسيد حسب الطريقة الموصوفة AOAC(1980) للزيت المخزن على درجة حرارة 40 مْ ± 5مْ لمدة (0 ، 15 ،30، 45 ، 60) يوم.

اختبار حامض الثايوباربيوتريك Thiobarbituric Acid (TBA)

قدر حامض الثايوباربيوتريك حسب الطريقة الموصوفة في Mousavi et al.(2015) للزيت المخزن على درجة حرارة 40 مْ ± 5مْ لمدة (0 ، 15 ،30، 45 ، 60) يوم.

التحليل الاحصائي

تم استخدام التصميم العشوائي الكامل (C.R.D) ضمن البرنامج الإحصائي Genstat (2011) لإجراء التحليل الاحصائي واختبرت العوامل المدروسة بأقل استخدام فرق معنوي عند مستوى معنوي ≥ 0.05

النتائج والمناقشة

تقدير درجة التحلل

يظهر الجدول (1) تقدير درجة التحلل لمركز بروتينات شرش حليب الجمل المحضر باستعمال انزيم Trypsin حيث ازدادت درجة التحلل بزيادة زمن التحلل، اذ كانت درجة التحلل بعد مضي 30 دقيقة من زمن التحلل 13.65% ويلاحظ من النتائج ازدياد درجة التحلل تدريجيا لتصل اقصاها عند 240 دقيقة من زمن التحلل حيث سجلت 38.90 %. يمتاز أنزيم Trypsin بكسر الاصرة الببتيدية من النهاية الكاربوكسيلية الطرفية للاحماض الامينية اللايسين والارجنين ولهذا فهو يمتلك الية عمل تمكنه من تحرير سلاسل ببتيدية قصيرة ذات اوزان جزيئية منخفضة (lsen *et al.*, 2004).

جدول 1. درجة التحلل لمتحللات مركز بروتينات شرش حليب الجمل المحضرة بأنزيم Trypsin

درجة التحلل %	زمن التحلل (دقيقة)							
	30	60	90	120	150	180	220	240
	11.65	16.66	19.89	22.77	26.45	30.33	34.67	38.90

تقدير الأحماض الأمينية

يلاحظ من الجدول (1) محتوى متحللات الشرش من الأحماض الأمينية حيث بلغت نسبة الاحماض الامينية الأساسية 37.91% والاحماض الامينية الحلقية 9.11% والاحماض الامينية الكارهة للماء 41.10% وكان حامض البرولين هو السائد 10.21% قد يعود السبب في تباين نسب الاحماض الامينية الى ظروف التحلل ونوع الانزيم المستخدم في التحلل وخصوصية عمله التي تعد من اهم العوامل المؤثرة على التحلل، ان تأثير زمن التحلل قد يكون سبب الاختلاف في تركيزات الأحماض الأمينية يعتمد نوع الأحماض الأمينية وموضعها في سلسلة الببتيد على آلية عمل الانزيم. (Wali *et al.*, 2019; Neto et al., 2019; Al-Hilifi et al., 2023)

جدول (1): الاحماض الامينية لمتحللات شرش حليب الجمل.

Molar percentage%	Amino acids
8.67	Arginine
7.70	Lysine
6.77	Alanine
4.61	Phenylalanine
10.21	Proline
4.48	Threonine
5.04	Leucine
4.30	Methionine
4.12	Glutamic acid
6.32	Serine
8.91	Histidine
7.06	Glycine
4.50	Tyrosine
3.11	Valine

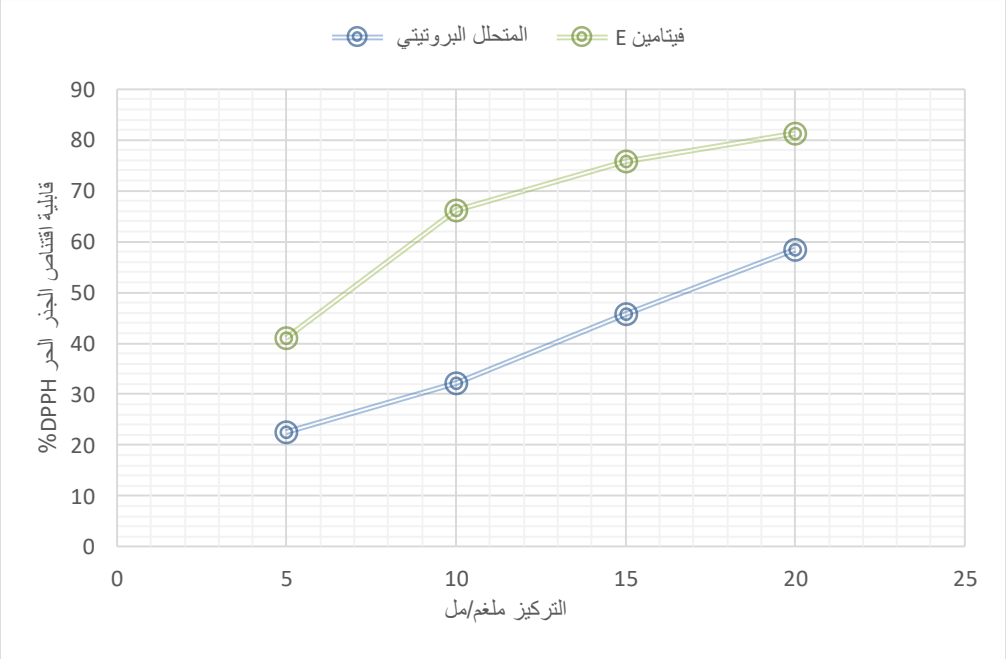
الفعالية المضادة للاكسدة

قابلية اقتناص جذر 1,1 Diphenyl-2picrylhdrayzl (DPPH)

يشير الشكل(1) إلى قابلية المتحللات البروتينية على اقتناص جذر DPPH مقارنة مع عينة المقارنة فيتامين E عند التراكيز 5-20 ملغم / مل، يتضح من النتائج ان زيادة التركيز اثرت معنويا ($P \geq 0.05$) على قابلية الاقتناص، حيث أبدت المتحللات اعلى قابلية اقتناص عند التركيز 20ملغم / مل بلغت 53.19% بينما سجل التركيز 5ملغم /مل اقل قابلية اقتناص بلغت 22.51% مقارنة بعينة المقارنة فيتامين E التي تفوقت في قابليتها على الاقتناص عند جميع التراكيز. ويعزى ذلك إلى النسبة العالية من الأحماض الأمينية الحلقية مثل الفنيل الالنين والتايروسين المانحة للإلكترون

بسبب وجود مجموعة الفينول ذات القدرة على التفاعل مع الاوكسجين وتكوين جذور phenoxyl -Hernández) (Ledesma *et al.*, 2005 فضلا عن وجود الاحماض الامينية الكلايسين والكلوتاميك والهستدين الذي يمتاز بامتلاكه مجموعة الاميدازول المانحة للهيدروجين كما يعمل الحامض الأميني الميثيونين على تكوين sulfoxides من خلال تأكسد مجموعة الكبريت بدلا من الجزيئات الحيوية مما يعزز من قابلية المتحللات على اقتناص الجذور الحرة و كبح الأكسدة (Chen and Li, 2012; Qian *et al.*,2008)

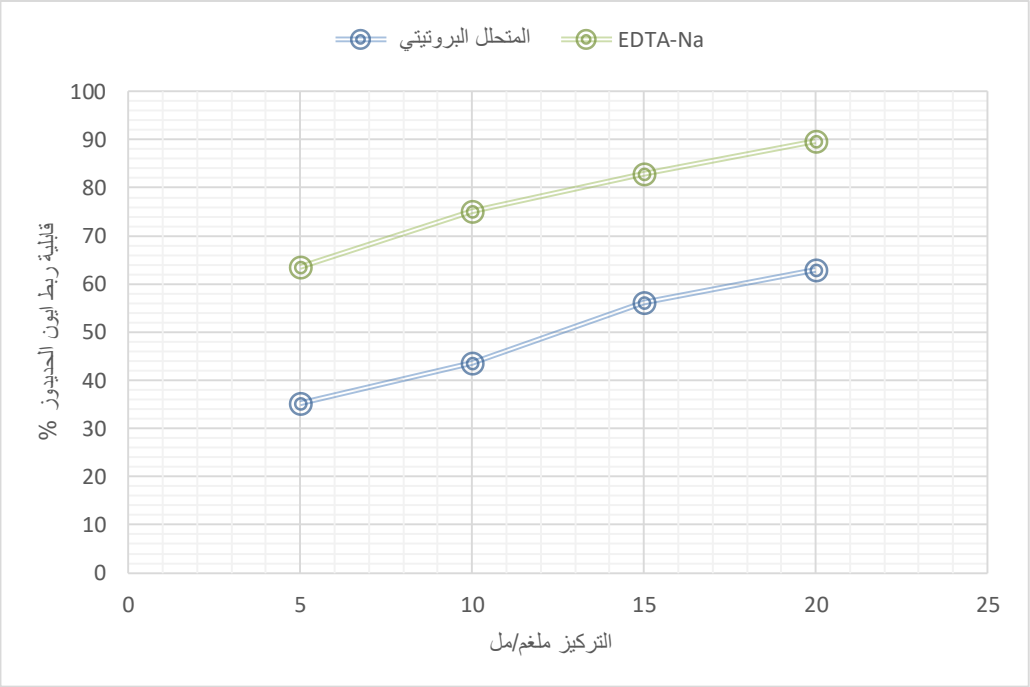
أشار (Lin *et al.*, 2012) الى ان نوع الانزيم يؤثر في تحديد النشاط المضاد للاكسدة للمتحللات البروتينية من حيث نوع الاحماض الامينية وموقعها في السلسلة الببتيدية ، ان موقع الاحماض الامينية الكارهة للماء في النهايات الطرفية للسلسلة الببتيدية يعمل على تعزيز الفعالية المضادة للأكسدة. (Nwachukwu and Aluko 2018)



شكل 1. قابلية اقتناص جذر DPPH لمتحللات بروتينات شرش حليب الجمل

قابلية ربط ايون الحديدوز

يوضح الشكل(2) ان قابلية متحللات بروتينات الشرش على ربط ايون الحديدوز قد تأثرت معنويا ($P \geq 0.05$) بزيادة تركيزها بالمقارنة مع $EDTA\text{-}Na_2$ ، تشير النتائج الى ان قابلية الربط عند التركيز 5 ملغم \ مل قد بلغت 37.21% و ازدادت تدريجيا لتصل أقصاها عند التركيز20 ملغم \ مل حيث كانت 69.17% مقارنة بعينة المقارنة $EDTA\text{-}Na_2$ إذ بلغت قابلية الربط 97.31% عند نفس التركيز. ممكن ان يعود السبب في ذلك الى وجود الاحماض الامينية الحلقية كالفنيل النين و التايروسين إضافة الى الارجنين والهستدين و الليوسين التي تعمل على تنظيم العناصر النزرة في الجسم كذلك وجود الاحماض الامينية الحامضية مثل الكلوتاميك التي تعزز من قابلية الربط بسبب وفرة مجاميع الكاربوكسيل فيها (O'Loughlin *et al.*,2015; Caetano-Silva *et al.*, 2015) .

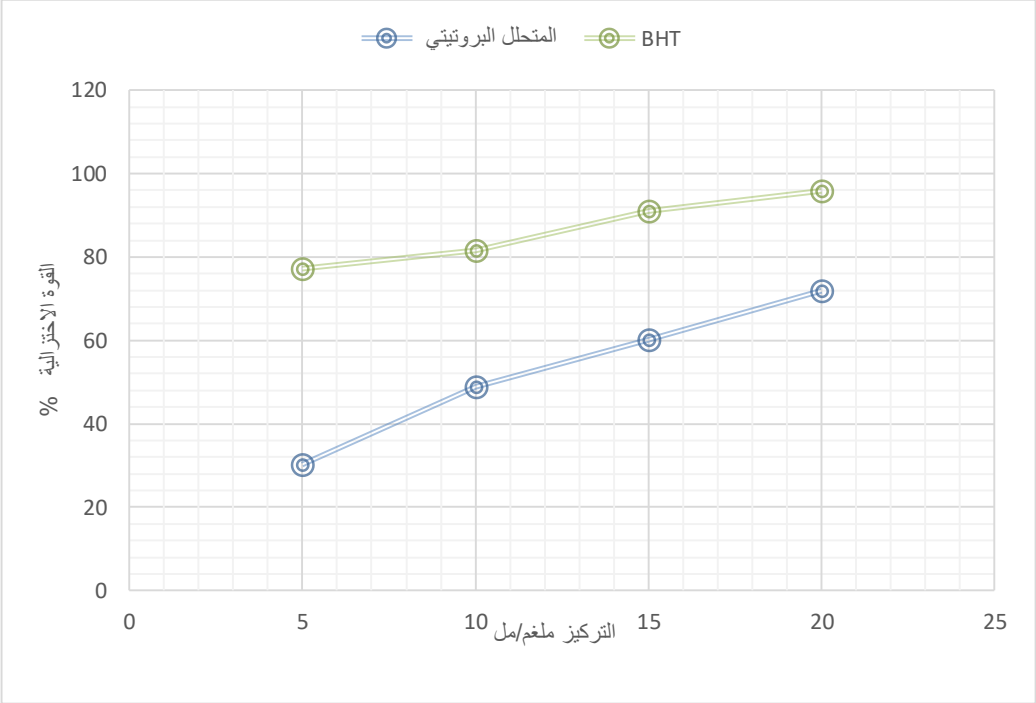


شكل 2. قابلية ربط ايون الحديدوز لمتحللات بروتينات شرش حليب الجمل

القوة الاختزالية

يوضح الشكل (3) القوة الاختزالية لعينات المتحللات المدروسة التي ازدادت بزيادة التركيز مقارنة مع عينة المقارنة BHT ، بينت النتائج ان قيم القوة الاختزالية قد تأثرت معنويا ($P \geq 0.05$) بزيادة التركيز اذ سجلت المتحللات اعلى قوة اختزالية عند اعلى تركيز 20 ملغم\مل اذ بلغت 77.19% بينما انخفضت بانخفاض التراكيز لتسجل اقل قيمة عند اقل تركيز 5 ملغم \ مل اذ بلغت 30.28%. في حين ان القوة الاختزالية لعينة المقارنة المضاف لها BHT عند التركيز 20 ملغم\ مل بلغت 96.72% ويعود سبب في ذلك الى امتلاك المتحللات نسب عالية من الاحماض الامينية ذات المقاومة العالية للاكسدة مثل الميثيونين والهستدين التي تمتلك مجاميع الاميدازول والكبريت المانحة للالكترون Da silva *et al.*, 2018; Kerasioti *et al.*, 2014).

وقد أكد Bassan *et al.* (2015) على ان وجود نسب من الاحماض الامينية الميثونين البرولين والهستدين يساهم في رفع مستوى السعة الاختزالية للمتحللات البروتينية.



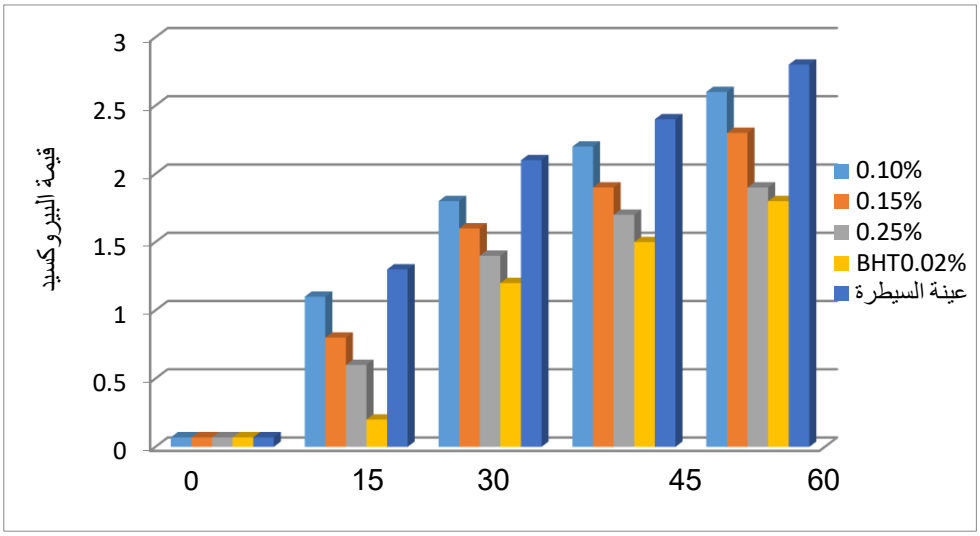
شكل 3. القوة الاختزالية لمتحللات بروتينات شرش حليب الجمل

اختبار قابلية المتحلل البروتيني في حفظ زيت السمسم

تبين الشكل (4) قيم البيروكسيد لعينات الزيت المضاف لها المتحلل البروتيني المحضر من مركز بروتين شرش المخزن على درجة حرارة 40 مْ ± 5مْ لفترة 0 و15 و30 و45 و60 يوم, تظهر نتائج التحليل الإحصائي وجود فروقات معنوية ($P \geq 0.05$) في قيم البيروكسيد لزيت السمسم مع زيادة تركيز المتحلل البروتيني ومدة الخزن اذا اظهر تركيز 0.25% اعلى قابلية لإعاقة أكسدة زيت السمسم بالمقارنة مع باقي المعاملات اذ بلغت قيمة رقم البيروكسيد 1.5 مليمكافىء\ كغم زيت بعد مضي 45 يوما من الخزن بينما عند التراكيز 0.10 و 0.15 بلغت 1.8 و 1.6 مليمكافىء\ كغم زيت على التوالي وهي اقل بالمقارنة مع عينة السيطرة التي سجلت 2.1 مليمكافىء\كغم زيت بعد 45 يوما من الخزن. وتشير النتائج الى حصول زيادة تدريجية في قيم البيروكسيد مع تقدم فترة الخزن واظهرت عينات الزيت المضاف لها المتحلل البروتيني تطور بطيء في معدلات الأكسدة خلال الخزن بالمقارنة مع عينة السيطرة , ارتفعت قيم البيروكسيد من 0.07 مليمكافىء\ كغم زيت عند بداية الخزن لتصل الى 1.8 مليمكافىء\ كغم زيت بعد مرور 60 يوم من الخزن في عينة الزيت المضاف لها المتحلل بتركيز 0.25% وهي مقاربة لعينة الزيت المضاف لها مضاد الاكسدة الصناعي BHT 0.02% والبالغة 1.8 مليمكافىء\ كغم زيت. في حين يلاحظ *ارتفاعا* ملحوظ في قيم البيروكسيد من 0.09 مليمكافىء\ كغم زيت في فترة قبل الخزن لتصل الى اعلى معدل لها 2.8 مليمكافىء\ كغم زيت عند نهاية فترة الخزن. قد يعود السبب في خفض معدلات الاكسدة الى الاحماض الامينية الكارهة للماء التي ممكن ان تعيق عملية الاكسدة وتكون البيروكسيدات, وقابلية الببتيدات على منح الالكترون واقتناص الجذور الحرة (Zhu *et al.*, 2022; Pan *et al.*,2020).

إن وجود الاحماض الامينية اللايسين والميثيونين والهستدين والتايروسين واللايسين يعزز من قدرة المتحللات البروتينية على تثبيط بيروكسيدات الدهون في الأغذية (Vasconcellos *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2014) وقد

يعود السبب في ارتفاع قيم االبيروكسيد مع تقدم فترات الخزن الى تأثير درجة الحرارة وتوفر الاوكسجين التي تؤدي الى زيادة معدلات الاكسدة (Wong *et al.*, 2020).



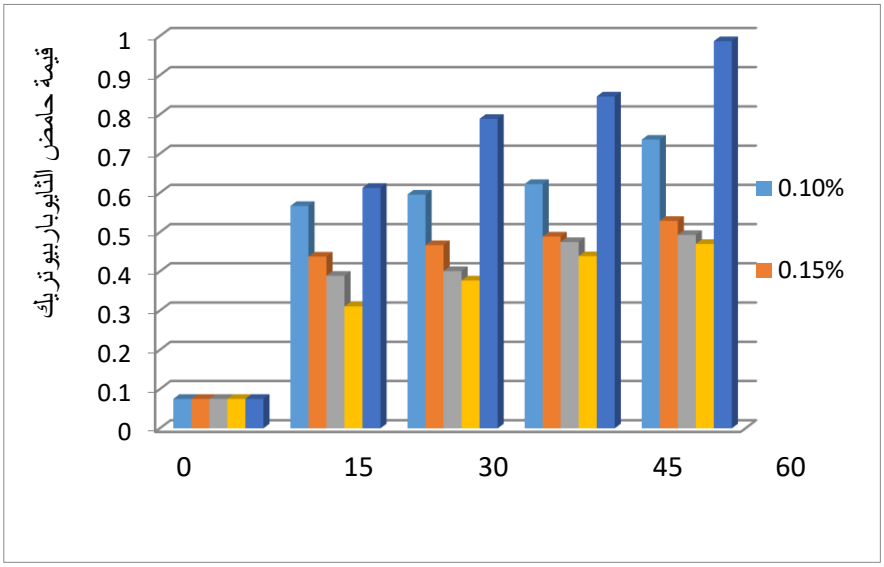
شكل 4. اختبار رقم البيروكسيد لزيت السمسم المعامل بمتحللات بروتينات شرش حليب الجمل

قيمة حامض الثايوباربيوتريك Thiobarbituric Acid (TBA)

تبين الشكل (5) قيم حامض الثايوباربيوتريك TBA ملغم مالنولديهايد\ كغم لعينات زيت السمسم المضاف لها المتحلل البروتيني المحضر من مركز بروتينات شرش حليب الجمل بتراكيز 0.10 % و 0.15 % و0.25% والمخزن في عبوات شفافة على درجة حرارة 40 مْ ± 5مْ لفترة 0 و15 و30 و45 و60 يوم ومقارنتها مع العينة القياسية المضاف لها BHT بتركيز 0.02% وعينة السيطرة بدون أي إضافة , ويلاحظ من نتائج التحليل الاحصائي لا يوجد أي فروقات معنوية ($P \geq 0.05$) في قيم حامض الثايوباربيوتريك TBA لزيت السمسم في الفترة صفر من الخزن التي بلغت 0.08 ملغم مالنولديهايد\ كغم زيت، بينما يلاحظ انخفاض قيم حامض الثايوباربيوتريك TBA لزيت السمسم بزيادة تركيز المتحلل البروتيني ومدة الخزن حيث اظهر تركيز 0.25% اقل قيمة لحامض الثايوباربيوتريك TBA اذ بلغت 0.48 ملغم مالنولديهايد\ كغم زيت بعد مضي 60 يوما من الخزن في حين بلغت قيمة حامض الثايوباربيوتريك TBA 0.73، 0.53 ملغم مالنولديهايد\ كغم زيت عند التراكيز 0.10 و 0.15% على التوالي وهي أقل بالمقارنة مع عينة السيطرة التي سجلت 0.98 ملغم مالنولديهايد\ كغم زيت ومقاربة لقيمة حامض الثايوباربيوتريك TBA لعينة BHT التي بلغت 0.46 ملغم مالنولديهايد\ كغم زيت بعد مضي 60 يوما على الخزن.

بينما كانت قيم حامض الثايوباربيوتريك TBA عند التراكيز 0.10% و 0.15% و0.25% لعينات زيت السمسم بعد مضي 15 يوما من الخزن 0.56، 0.45، 0.37 ملغم مالنولديهايد\ كغم زيت على التوالي مقارنة مع عينة BHT و عينة السيطرة التي بلغت0.30، 0.60 ملغم مالنولديهايد\ كغم زيت على التوالي. وتشير النتائج الى حصول تطور تدريجي في قيم حامض الثايوباربيوتريك TBA مع تقدم فترات الخزن بالمقارنة مع عينة السيطرة، ارتفعت قيم حامض الثايوباربيوتريك TBA بعد مضي 30 يوما من الخزن لتصل الى 0.58، 0.47، 0.38 ملغم مالنولديهايد\ كغم زيت في

عينة زيت السمسم المضاف لها المتحلل بالتراكيز0.10، 0.15، 0.25% على التوالي مقارنة بعينة الزيت المضاف لها مضاد الاكسدة الصناعي BHT 0.02% التي بلغت 0.36 ملغم مالنولديهايد\ كغم زيت، في حين شهد عينة السيطرة ارتفاعا ملحوظ في قيم حامض الثايوباربيوتريك TBA لتصل 0.79 ملغم مالنولديهايد\ كغم زيت بعد مضي 30 يوما من الخزن، وباستمرار فترة الخزن لتصل الى 45 يوما كانت قيم حامض الثايوباربيوتريك TBA 0.61، 0.49، 0.46 ملغم مالنولديهايد\ كغم ز زيت عند التراكيز 0.10، 0.15، 0.25% على التوالي مقارنة بعينة الزيت المضاف لها مضاد الاكسدة الصناعي BHT 0.02% التي بلغت 0.44 ملغم مالنولديهايد\ كغم زيت، في حين بلغت قيمة حامض الثايوباربيوتريك TBA في عينة السيطرة 0.85 ملغم مالنولديهايد\ كغم بعد مضي 45 يوما من الخزن. يعود السبب الى ان طريقة تقدير قيمة حامض الثايوباربيوتريك TBA تكشف عن اكسدة الاحماض الدهنية غير المشبعة التي تعتبر دليل على تزنخ الدهون والزيوت من خلال تفاعل 2 مول من حامض الثايوباربيوتريك TBA مع مول واحد من مالنولديهايد ليكون معقدا اصفر اللون ثم يتحول تدريجيا للون البرتقالي ثم الى اللون الأحمر الوردي نتيجة لتفاعل ثنائي الالديهايد مع ثلاث ذرات من الكاربون الناتجة من اكسدة الاحماض الدهنية غير المشبعة. Guillén-Sans and Guzmán-Chozas (1998).



شكل 5. قيمة حامض الثايوباربيوتريك TBA لزيت السمسم المعامل بمتحللات بروتينات شرش حليب الجمل

الاستنتاجات

هدفت الدراسة إلى تحضير شرش حليب الجمل المحضر بالطريقة الحامضية، وإنتاج متحللات بروتينية باستعمال إنزيم التربسين وتركيزها وتجفيفها، وتقدير نسبة الأحماض الأمينية فيها واختبار فعاليتها المضادة للأكسدة من حيث قابليتها على اقتناص جذر DPPH وربط أيون الحديدوز وقوتها الاختزالية واستعمالها كمضادات أكسدة طبيعية في حفظ زيت السمسم وقياس قيم رقم البيروكسيد خلال فترات التخزين. أظهرت نتائج البحث امتلاك المتحللات البروتينية المحضرة فعالية مضادة للأكسدة عالية لاحتوائها على أحماض أمينية ذات مجاميع فعالة تعزز من النشاط المضاد للأكسدة فضلا عن قدرتها في اقتناص الجذور الحرة ومنع أكسدة زيت السمسم مما أدى إلى انخفاض قيم البيروكسيد خلال فترات الخزن.

References

1. Al-Hatim, R.R.; Al-Rikabi, A.K.; Ghadban, A.K., (2020) The Physico-Chemical Properties of Bovine and Buffalo Whey Proteins Milk by Using Ultrafiltration Membrane Technology. Basrah J. Agric. Sci (33): 122–134.
2. Al-Hilifi, S. A., Al-Ibresam, O. T., Al-Hatim, R. R., Al-Ali, R. M., Maslekar, N., Yao, Y., & Agarwal, V. (2023). Development of Chitosan/Whey Protein Hydrolysate Composite Films for Food Packaging Application. Journal of Composites Science, 7(3), 94.
3. Al-Shamsi, K. A.; Mudgil, P.; Hassan, H. M. and Maqsood, S. (2018). Camel milk protein hydrolysates with improved technofunctional properties and enhanced antioxidant potential in vitro and in food model systems. Journal of Dairy Science, 101(1): 47-60.
4. AOAC: Association of Official Analytical Chemists (1980). Official Method of Analysis, 13th edn., Washington, DC, pp: 130–143.
5. Bassan, J. C.; Goulart, A. J.; Nasser, A. L.; Bezerra, T. M.; Garrido, S. S.; Rustiguel, C. B.; Gumiarães,L. H. S. and Monti, R. (2015). Buffalo cheese whey proteins, identification of a 24 kDa protein and characterization of their hydrolysates: In vitro gastrointestinal digestion. PloS One, 10(10): e0139550-0139568.
6. Caetano-Silva, M. E.; Bertoldo-Pacheco, M. T.; Paes-Leme, A. F. and Netto, F. M. (2015). Iron-binding peptides from whey protein hydrolysates: Evaluation, isolation and sequencing by LC–MS/MS. Food Research International,(71): 132-139.
7. Chen, Y. C.; Chang, H. S.; Wang, C. T. and Cheng, F. Y. (2009). Antioxidative activities of hydrolysates from duck egg white using enzymatic hydrolysis. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 22(11): 1587-1593.
8. Choe, E., & Min, D. B. (2009). Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. Comprehensive reviews in food science and food safety, 8(4): 345-358.
9. Da Silva, J. D. F.; Correa, A. P. F.; Kechinski, C. P. and Brandelli, A. (2018). Buffalo cheese whey hydrolyzed with Alcalase as an antibrowning agent in minimally processed apple. Journal of Food Science and Technology, 55(9): 3731-3738.
10. Devi, K.; Haripriya, S.; Kumar, J.K. N.; Dharini, V. and Kumar, V. (2017). Rational approach to sequential optimization of antioxidative whey protein hydrolysate production. International Journal on Nutraceuticals, Functional Foods and Novel Foods, 16:83-89.
11. El-Ibresam, O. T. Y., & AL-Rikabi, A. K. J. (2022). Effect of pH,temperature and NaCl on antioxidant peptides from Iraqi buffalo whey proteins hydrolysis Arab Journal of Agriculture Sciences (AJAS), 15 (5): 68 – 98.
12. Genstat Discovery Edition.(2011). Genstat Release 10.3DE. VSN International LTD. Rothamsted Experimental station.UK.

13. Hemalatha, S. ; Lalitha, P. and Arupriya, P. (2010). Antioxidant activities of the extracts of aerial roots of Pothos aurea (Linden ex Andrel). Der Pharma Chemica, 2 (6): 84 – 89.
14. Hernández-Ledesma,B.;Davalos,A., Bartolome,B. and Amigo, L. (2005). Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from α-lactoalbumin and β-lactoglobulin.Identification of active peptides by HPLC-MS/MS. J. Agric. Food Chem ., 53: 588-593.
15. Hussein, F. A.; Chay, S. Y.; Zarei, M.; Auwal, S. M.; Hamid, A. A.; Wan Ibadullah, W. Z. and Saari, N. (2020). Whey protein concentrate as a novel source of bifunctional peptides with angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant properties: RSM study.Foods,9(1):1-15.
16. Guillén-Sans, R. and Guzmán-Chozas, M. (1998). The thiobarbituric acid (TBA) reaction in foods: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 38(4):315–330.
17. Kamal, H., Jafar, S., Mudgil, P., Murali, C., Amin, A., & Maqsood, S. (2018). Inhibitory properties of camel whey protein hydrolysates toward liver cancer cells, dipeptidyl peptidase-IV, and inflammation. Journal of Dairy Science, 101(10), 8711-8720.
18. Kerasioti, E.; Stagos, D.; Priftis, A.; Aivazidis, S.; Tsatsakis, A. M.; Hayes, A. W. and Kouretas, D. (2014). Antioxidant effects of whey protein on muscle C2C12 cells. Food Chemistry, 155: 271-278.
19. Lin, S.; Tian, W.; Li, H.; Cao, J. and Jiang, W. (2012). Improving antioxidant activities of whey protein hydrolysates obtained by thermal preheat treatment of pepsin, trypsin, alcalase and flavourzyme. International Journal of Food Science and Technology, 47(10): 2045-2051.
20. Manzanares, P.; Gandía, M.; Garrigues, S. and Marcos, J. F. (2019). Improving health-promoting effects of food-derived bioactive peptides through rational design and oral delivery strategies. Nutrients, 11(10): 25-45.
21. Mousavi, J.S.R.; Niazmand, R. and Shahidi Noghabi, N.(2015). Antioxidant of purslane(Porulaca oleracea L.) seed hydro-alcoholic extraction on the stability of soybean oil. Journal of Agricultural Science and Trechnology.17(6):1473-1480.
22. Neto, Y. A. H.; Rosa, J. C. and Cabral, H. (2019). Peptides with antioxidant properties identified from casein, whey, and egg albumin hydrolysates generated by two novel fungal proteases. Preparative Biochemistry and Biotechnology, 49(7): 639-648.
23. Nwachukwu, I. D. and Aluko, R. E. (2018). Structural and functional properties of food protein-derived antioxidant peptides. Journal of Food Biochemistry, 43(1): 1-13.
24. O'Loughlin, I. B.; Kelly, P. M., Murray, B. A.; FitzGerald, R. J. and Brodkorb, A. (2015). Molecular characterization of whey protein hydrolysate fractions with ferrous chelating and enhanced iron solubility capabilities. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63(10): 2708-2714.

25. Olsen, J. V., Ong, S. E., & Mann, M. (2004). Trypsin cleaves exclusively C-terminal to arginine and lysine residues. Molecular & cellular proteomics, 3(6), 608-614.
26. Pan M, Liu K, Yang J, Liu S, Wang S, Wang S. Advances on Food-Derived Peptidic Antioxidants-A Review. Antioxidants (Basel). 2020 Aug 27;9(9):799. doi: 10.3390/antiox9090799
27. Parkin, K. L. and Damodaran, S. (2003). Oxidation of food components. In: Encyclopedia of food sciences and nutrition. Caballero, B.(ed.). 2st edn., (1-10): 4288-4294
28. Peng, X.; Xiong, Y. L. and Kong, B. (2009). Antioxidant activity of peptide fractions from whey protein hydrolysates as measured by electron spin resonance. Food Chemistry, 113(1): 196-201.
29. Qian, Z. L.; Jung, W. K. and Kim, S. K. (2008). Free radical scavenging activity of a novel antioxidative peptide purified from hydrolysate of bullfrog skin, Rana catesbeiana Shaw. Bioreso. Technol.,99:1690-1698.
30. Shah, P. and Modi, H. A. (2015). Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology 3(6): 636-641.
31. Singh , B.P. ; Vij,S . ; and Hati , S. (2014) . Funactional significance of bioactive peptides derived from soybean .Journal Homepage,54 : 171-179.
32. Vavrusova, M.; Pindstrup, H.; Johansen, L. B.; Andersen, M. L.; Andersen, H. J. and Skibsted, L. H. (2015). Characterisation of a whey protein hydrolysate as antioxidant. International Dairy Journal, 47: 86-93.
33. Wali, A.; Yanhua, G.; Ishimov, U.; Yili, A.; Aisa, H. A. and Salikhov, S. (2019). Isolation and identification of three novel antioxidant peptides from the Bactrian camel milk hydrolysates. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 26(2):1-10.
34. Wong, F.; Xiao, J.; Wang, S.; Ee, K.; Chai, T. Advances on the antioxidant peptides from edible plant sources. Trends Food Sci. Technol. 2020, 99, 44–57.
35. Zhu, Y.; Lao, F.; Pan, X.; Wu, J. Food Protein-Derived Antioxidant Peptides:MolecularMechanism,StabilityandBioavailability. Biomolecules 2022, 12, 1622. https://doi.org/10.3390/biom12111622.