

TAHİL PROTEİN HİDROLİZATLARININ ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİ

Halise Gül Akıllıoğlu, Erkan Yalçın*

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Bölümü, Gölköy Kampüsü, Bolu

Geliş tarihi / Received: 26.01.2009

Kabul tarihi / Accepted: 24.01.2010

Özet

Gıdalarda meydana gelen otoksidasyon tepkimeleri sonucunda üründe istenmeyen kalite kusurları oluşmakta, ürünün raf ömrü kısalmakta ve ekonomik kayıplar meydana gelmektedir. Oksidasyon tepkimelerinin, pek çok kronik ve dejeneratif hastalığın gelişmesinde de etkili olduğu bilinmektedir. Gıda ürünlerinin raf ömrünün iyileştirilmesi ve sağlık üzerine olumlu etkilerinin artırılması amacıyla antioksidan bileşenler gıda sistemlerine eklenmektedir. Günümüzde sentetik antioksidanlar yerine doğal antioksidanların kullanımını tercih edilmektedir. Bitkisel gıdalar doğal antioksidan madde olarak tanımlanan bileşenlerce zengin gıda grupları olarak gösterilmiştir. Son zamanlarda, biyoaktif peptitler de antioksidan etkilerinden dolayı dikkati çekmektedir. Pek çok bitki ve hayvan kaynaklı protein hidrolizatlarının antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu derlemede, tahıl proteinlerinden antioksidan aktiviteye sahip hidrolizatların elde edilmesine yönelik olarak yapılmış çalışmalar incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Tahıl proteinleri, protein hidrolizatı, antioksidan aktivite, biyoaktif peptitler, otoksidasyon

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CEREAL PROTEIN HYDROLYSATES

Abstract

Auto-oxidation reactions in food products lead several quality defects, cause decrease in the shelf life of the product, and result in economic losses. It is known that oxidation reactions are involved in the generation of most of the chronic and degenerative diseases. Antioxidant compounds are incorporated into food products in order to extend shelf life and also to improve health benefits of the product. The use of natural antioxidants rather than synthetic ones are preferred nowadays. Plant materials are considered as good sources of natural antioxidant compounds. Nevertheless, bioactive peptides have taken attention due to the antioxidative action recently. It was found that several protein hydrolysates of animal and plant origin had antioxidant activity. In this review, researches undertaken to obtain antioxidant hydrolysates from cereal proteins were evaluated.

Keywords: Cereal proteins, protein hydrolysate, antioxidant activity, bioactive peptides, auto-oxidation

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ yalcin_e@ibu.edu.tr, ☎ (+90) 374 253 4640 / 4220, 📠 (+90) 374 253 4558

GİRİŞ

Otoksidasyon olayı gıda bileşenleri ile oksijen arasında kendiliğinden meydana gelen ve çoğunlukla gıdalarda kalite kaybına yol açan tepkimelerdir. Bu kalite kaybı renk değişimi, istenmeyen tat-koku oluşumu, besin öğelerinde değişiklikler şeklinde ortaya çıkmaktadır. Otoksidasyon tepkimeleri sonucunda gıdanın raf ömrü azalmakta ve ekonomik kayıplar meydana gelmektedir. İnsan fizyolojisi açısından ele alındığında, oksidasyon tepkimelerinin pek çok kronik ve dejeneratif hastalığın sebebi olduğu bilinmektedir.

Reaktif oksijen türleri (ROT) olarak adlandırılan hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit anyon (O_2^-), hidroksil radikal ($\cdot OH$), hidroperoksitler (ROOH), alkoksi (RO) ve peroksi radikalleri (ROO), organizmada genel olarak toksik etkili gibi gözükse de, bağışıklık sisteminin düzenli çalışmasında ve apoptosis gibi bazı hayati fonksiyonların yürütülmesinde rol oynadıkları belirtilmiştir. ROT oluşumu aerobik metabolizmanın doğal bir sonucu ve doku-oksijen dengesinin ayrılmaz bir parçasıdır. Oksijen dengesi, bir seri oksidasyon-redüksiyon tepkimesi yoluyla sağlanmaktadır. Bu oksijen dengesi sağlanmadığında, hücrel çevre oksidatif stresle karşı karşıya kalmaktadır (1). Oksidatif stres, başta kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere bir çok kronik ve dejeneratif hastalığın oluşmasında ve ilerlemesinde etkilidir. Ateroskleroz, çeşitli kanser türleri, hipertansiyon, iltihap oluşumu, Alzheimer hastalığı ve pek çok nörodejeneratif hastalık, DNA hasarı, oksidatif stres ile ilişkilendirilmiştir (2, 3).

Gıda bileşenlerinin oksidatif stresle mücadeleye katkıda bulunduğu bilinmektedir. Bunlar arasında fenolik bileşikler, C vitamini (askorbik asit), E vitamini (tokoferoller ve toketrienoller), başta β -karoten ve likopen olmak üzere karotenoidler ve biyoaktif peptitler sayılabilir. Epidemiyolojik çalışmalar, beslenme tarzının nörodejeneratif hastalıkların görülme sıklığını etkilediğini kanıtlar niteliktedir. Ortalama şarap tüketiminin Alzheimer hastalığının görülme sıklığını 4 kat azalttığını gösteren çalışmalar, bu olumlu sonuçları polifenollerin serumdaki antioksidan aktiviteyi arttırması özelliğine bağlamıştır. Ayrıca yüksek miktarda E vitamini içeren diyet ile Parkinson hastalığı arasında negatif ilişki olduğu da belirtilmiştir (2). C vitamini, E vitamini, flavonoidler ve β -karotenin düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu engellediği ve böylece kardiyovasküler sağlığı koruyucu etkisi

olduğu ifade edilmiştir (4). Antioksidanlarca zengin diyetin katarakt gibi maküler dejeneratif hastalıklara karşı savunmada da etkili olduğunu gösteren çok sayıda çalışma olduğu bilgisi literatürde mevcuttur (5).

Gıda endüstrisi için antioksidanların ayrı bir önemi vardır. Geçmişte en yaygın kullanılan antioksidanlar bütillendirilmiş hidroksi anizol (BHA), bütillendirilmiş hidroksi toluen (BHT), propil gallat (PG) gibi sentetik antioksidanlar günümüzde doğal antioksidanların kullanımı önem kazanmıştır. Özellikle, bu sentetik antioksidanların toksik etkilerinin saptanması ve maliyetlerinin yüksek olması, gıda endüstrisini yeni ve ucuz doğal antioksidan kaynakları arayışına itmiştir.

GIDA KAYNAKLI DOĞAL ANTİOKSİDANLAR

Bitkisel gıdalar antioksidan aktiviteye sahip pek çok bileşeni içermektedirler. Peptitlerin antioksidan aktiviteye sahip gıda kaynakları olarak tanımlanması ise oldukça yeni bir konudur. Antioksidan peptitler, "biyoaktif peptitler" içinde ele alınmaktadır. Gıda kaynaklı biyoaktif peptitler terimi, insanlarda yeterli ve dengeli beslenme sağlama özelliklerine ek olarak düzenleyici fonksiyonlara sahip bitkisel veya hayvansal kaynaklı peptitleri tanımlamaktadır (6). Biyoaktif peptitler gıdanın yapısında doğal bir bileşen olarak bulunabilirler ya da asıl protein sekansında inaktif haldeki peptitler enzimatik hidrolizle açığa çıkabilirler. Vücutta serbest kaldıktan sonra düzenleyici görevlerde rol oynarlar (6-9).

Özellikle süt ürünlerinden olmak üzere biyoaktif potansiyele sahip hayvan ve bitki kökenli pek çok peptit keşfedilmiştir. Süt ürünleri dışında yumurta, et, balık, soya fasulyesi, buğday gibi gıdalardan da biyoaktif peptitler izole edilmiştir (10). Bazı biyoaktif peptitler ve elde edildikleri kaynaklar Çizelge 1'de verilmiştir. Bu peptitler oldukça geniş bir alanda etki gösterirler (6).

Doğal antioksidan kaynağı olarak protein hidrolizatları

Pek çok gıda proteininin (süt proteinleri, soya proteini, yumurta proteini, mısır proteini vb) antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (11).

Çizelge 1. Bitkisel ve hayvansal kaynaklardan elde edilen biyoaktif peptitler ve fonksiyonları (10)

Kaynak	Elde ediliş yöntemi	Peptit	Fonksiyon
Kazein	Tripsin Tripsin & Kimotripsin Pepsin	Phe-Phe-Val-Ala-Pro Val-Glu-Pro-Ile-Pro-Tyr-Gly-Leu-Phe Tyr-Phe-Tyr-Pro-Glu-Leu	ADE-inhibitörü İmmünomodülasyon Antioksidan etki
β -laktoglobulin	Tripsin	Ile-Pro-Ala-Val-Phe-Lys Trp-Leu-Ala-His-Lys Ala-Leu-Pro-Met-His-Ile-Arg	Bakterisid ADE-inhibitörü ADE-inhibitörü
Soya fasulyesi	Proteinase S Alcalase	Leu-Leu-Pro-His-His Düşük molekül ağırlıklı peptitler	Antioksidan etki Antihipertansif
GM soya proteini	Tripsin & Kimotripsin	Arg-Pro-Leu-Lys-Pro-Trp	Antihipertansif
Buğday ruşeymi	Alkalin proteaz	Ile-Val-Tyr	ADE-inhibitörü Antihipertansif
Pirinç albumini	Tripsin	Gly-Tyr-Pro-Met-Tyr-Pro-Leu-Pro-Arg	İmmunostimulasyon
Tavuk eti	Termolisin	Ile-Lys-Trp Leu-Lys-Pro	ADE-inhibitörü Antihipertansif

GM: genetik modifiye

Proteinlerin sahip oldukları antioksidan aktiviteleri, yapıtaşları olan aminoasitlerden kaynaklanmaktadır. Örneğin tirozin, fenilalanin, triptofan ve sisteinin antioksidan aktiviteleri serbest radikaller için proton donörü olmalarına, lizin, arjinin gibi bazik aminoasitlerle, aspartik asit, glutamik asit gibi asidik aminoasitlerin antioksidan aktiviteleri ise metal iyonları ile şelat oluşturmalarına bağlanmaktadır. Ancak, proteinlerin yapısında bu aminoasitlerin bulunmasının antioksidan aktiviteyi belirleyen tek faktör olmadığı; sekans içindeki doğru sıralanmanın da antioksidan aktivite açısından önemli ve etkili olduğu belirtilmektedir. Örneğin N-terminalinde prolin içeren peptitlerin linoleik asidin oksidasyonunu engellemede daha etkin olduğu, N-terminalinde histidin olan peptitlerin daha fazla metal şelatlama yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir (11). Soya fasulyesi peptitleri için ise hidrofobik aminoasitlerin bulunmasının antioksidan aktivite için daha etkili olduğu ifade edilmiştir (12). Moleküler büyüklük, hidrolizat konsantrasyonu, hidroliz derecesi gibi faktörlerin de aminoasit kompozisyonu ile birlikte gıda protein hidrolizatlarının antioksidan aktivitesini etkilediği ifade edilmektedir (13). Antioksidan peptit kaynağı olarak üzerinde çalışılan gıdaların başında süt proteinleri, özellikle α-kazein, gelmektedir (14-18). Yumurta proteini (19-21), deniz ürünleri (22-24), soya (12, 25-27), nohut (11, 13, 28), patates (29), et ürünleri (30), ayçiçeği (31), kanola (32), alfalfa yaprağı (33), yer fıstığı da (34) antioksidan peptitlerin kaynağı olarak gösterilmiştir.

Tahılların sağlık üzerine etkilerini araştıran çalışmaların sayısı oldukça fazladır ve bu araştırmalara önemli bütçeler ayrılmaktadır. Örneğin Avrupa Birliği 6. Çerçeve Programı “Gıda Kalitesi ve Güvenliği” nin bir projesi olan HealthGrain Projesi, tam tane tahıllardaki biyoaktif bileşenlerin tüketiminin artırılarak bireylerin iyi olma halinin geliştirilmesini, metabolik hastalıkların riskinin azaltılmasını amaçlamaktadır. Antioksidan peptitler de tahıllardaki biyoaktif bileşenler içinde yer almaktadır. Son yıllarda tahıllardaki antioksidan peptitleri inceleyen çalışmaların arttığı görülmektedir.

Buğday Proteini Hidrolizatları

Buğday nişastası üretim prosesinin bir yan ürünü olarak yüksek miktarlarda buğday gluteni açığa çıkmaktadır. Gluten, hamur kalitesini iyileştirmek amacıyla katkı maddesi olarak kullanılabilen ya da yem endüstrisinde değerlendirilmektedir (35). Ancak, glutenin daha fonksiyonel değerlendirilmesini sağlamak amacıyla çeşitli teknikler geliştirilmesine yönelik çalışmalar artmaktadır. Enzimatik hidrolizin, glutenin daha verimli kullanımını sağlamak için iyi bir yaklaşım olduğu; glutenin bazı fonksiyonel özelliklerini (çözünürlük, emülsifikasyon, köpük oluşturma gibi) geliştirmede ya da hipoalerjenik bebek ürünlerinde kullanılacak hidrolize protein üretiminde kullanılabileceği ifade edilmektedir (36).

Buğday gluteninden antioksidan hidrolizat elde edilmesine yönelik yapılmış bir çalışmada (35) en-

zim olarak Papain seçilmiş ve elde edilen hidrolizat 5 kDa MWCO (molecular weight cut off) membran kullanılarak ultrafiltrasyon ile fraksiyonlarına ayrılmıştır. Antioksidan aktivite, DPPH radikali yakalama yöntemi ve TBA (tiobarbütirik asit) yöntemine göre test edilmiş ve molekül ağırlığı 5 kDa altında olan fraksiyonun antioksidan aktivitesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu fraksiyonun, E vitaminine eşdeğer aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ultrafiltrasyon fraksiyonlarının, hidrolizatın kendisine göre daha yüksek yüzey hidrofobitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Aminoasit analizi sonuçları hidrolizat ve fraksiyonlarının His, Leu, Val ve Ala içerdiğini göstermiş (Çizelge 2) ve antioksidan aktivitenin bu peptitlerin varlığından kaynaklanabileceği ifade edilmiştir.

Glutenin Pepsin ile hidrolize edildiği bir çalışmada (36) ise hidrolizat 10, 5 ve 3 kDa MWCO membran kullanılarak ultrafiltrasyon ile üç fraksiyona ayrılmıştır. En yüksek antioksidan aktiviteyi gösteren fraksiyonun 3 kDa altında molekül ağırlığına sahip

fraksiyon olduğu belirlenmiştir (1700-100 Da). Antioksidan aktivitenin α -tokoferolün aktivitesine çok yakın olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu fraksiyonun aynı zamanda toplam hidrofobik aminoasit içeriği en yüksek fraksiyon olduğu vurgulanmıştır (45.11g/100g). Protein hidrolizatları ve peptitler için hidrofobitesindeki artışın, lipitlerde çözünürlüğü artırdığı ve böylece antioksidan aktiviteyi yükselttiği belirtilmiştir. Aminoasit profili incelendiğinde 3 kDa altındaki fraksiyonun His, Ala, Met, Pro aminoasitlerince diğer fraksiyonlara göre zengin olduğu saptanmıştır (Çizelge 2).

Park et al. (26), süt ve bitkisel protein hidrolizatlarının (Proteaz ile) antioksidan aktivitelerini belirlediği çalışmada, soya fasulyesi ve gluten hidrolizatının kazein hidrolizatından daha yüksek DPPH radikali yakalama aktivitesine sahip olduğunu saptamıştır. Gluten hidrolizatının (%1 konsantrasyonda), BHT (%0.1 konsantrasyonda) ve askorbik aside (%0.01 konsantrasyonda) yakın aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir. Bazı aminoasitlerce zengin fraksiyonun

Çizelge 2. Protein hidrolizatlarının aminoasit kompozisyonları

Aminoasit	Gluten papain hid. (Wang ve ark. (35))		Gluten pepsin hid. (Kong ve ark. (36))			Buğday ruşeymi Alcalase hid. (Zhu ve ark. (37))		Mısır gluteni Alcalase hid. (Li ve ark. (13))	
	Papain hid.	< 3 kDa	5-10 kDa	3-5 kDa	< 3 kDa	BRPI	Alcalase hid.	Gluten	Alcalase hid.
Aspartik asit ^a	8.1	2.3	3.79	4.02	2.55	8.88	8.27	5.33	6.73
Glutamik asit ^b	41.2	34.2	33.65	32.47	32.41	15.32	14.71	20.31	23.06
Serin	4.9	5.2	4.77	4.38	4.39	4.86	4.45	4.17	4.71
Glisin ^c	3.7	3.9	4.18	4.22	4.23	6.18	8.67	2.42	2.97
Histidin	7.5	8.5	1.95	2.33	2.89	3.13	2.48	2.06	2.36
Arjinin	3.4	3.6	3.55	3.68	3.06	9.47	8.71	8.52	7.81
Treonin	2.7	2.9	2.60	2.66	2.71	4.12	4.17	2.91	3.11
Alanin ^c	2.1	2.1	2.70	3.09	3.51	5.80	6.98	8.16	8.78
Prolin ^c	10.0	10.2	13.77	13.95	14.70	4.63	5.96	1.59	1.74
Tirozin	4.8	3.6	2.80	2.85	2.99	3.24	3.08	4.58	4.53
Valin ^c	2.8	2.9	4.26	4.33	4.55	6.65	6.09	4.33	3.98
Metiyonin ^c	0.4	0.9	1.95	2.01	2.38	2.11	2.16	4.22	3.60
Sistein	0.2	0.2	2.31	2.29	2.02	0.56	0.53	2.88	2.66
İzolösin ^c	2.2	2.3	3.58	3.56	3.49	4.52	4.22	3.72	3.19
Lösin ^c	4.8	5.6	6.89	7.04	7.12	7.81	7.05	15.37	12.08
Fenilalanin ^c	5.0	4.4	5.49	5.05	5.13	5.08	4.53	5.59	4.08
Lisin	1.1	1.0	1.64	1.78	1.71	7.07	7.61	1.33	2.00

^aAspartik asit + asparajin

^bGlutamik asit + glutamin

^c hidrofobik aminoasitler

Değerler g/100 g konsantrasyonunda verilmiştir.

hid, hidrolizat; BRPI, buğday ruşeymi protein izolatu

ise, toplamın %7.1'ini oluşturduğu gözlemlenmiştir. Asidik fraksiyonların ($pI < 6.0$) bazik fraksiyonlara göre ($pI > 8.0$) daha yüksek DPPH radikali yakalama aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir.

Bir başka buğday öğütme prosesi yan ürünü olan ruşeymin Alcalase (Subtilisin Carlsberg) ile hidrolize edildiği çalışmada, hidrolizatın linoleik asit emülsiyon sistemde α -tokoferolün aktivitesine yakın; ancak BHT'den düşük antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ruşeym protein izolat ve hidrolizatında başlıca aminoasitlerin glutamik asit, arjinin ve aspartik asit olduğu saptanmıştır. Hidrolizatın glisin, lisin, alanin ve prolin aminoasitlerince izolata göre daha zengin olduğu ve daha fazla hidrofobik aminoasitlere sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2). DPPH radikali yakalama aktivitesi için EC_{50} değerinin (radikalin aktivitesini %50 oranında azaltmak için gerekli olan konsantrasyon) 1.30 mg/mL, süperoksit radikali yakalama aktivitesi ve hidroksil radikali yakalama aktivitesi için EC_{50} değerlerinin sırasıyla 0.40 ve 0.12 mg/mL olduğu tespit edilmiştir (37).

Mısır Proteini Hidrolizatları

Mısır gluteni, mısır yaş öğütme prosesinin yan ürünü olup, buğday gluteni gibi yüksek miktarlarda oluşmaktadır. Önceleri bu yan ürün daha çok gıda dışı endüstrilerde değerlendirilirken, günümüzde fonksiyonel bir protein kaynağı olarak değerlendirilmesine yönelik çalışmalar artmaktadır (38). Li ve ark. (13), mısır glutenini Alcalase ile hidrolize ederek mısır gluten hidrolizatının emülsiyon sistemde linoleik asit peroksidasyonu inhibisyonu, indirgeme gücü, hidroksil radikal ve DPPH radikali yakalama aktivitelerini araştırmıştır. Hidrolizatı Sephadex G-15 kolonu kullanarak jel filtrasyon kromatografisiyle moleküler ağırlığa göre 3 fraksiyona ayırmıştır: >1500 Da, 500-1500 Da, <500 Da. Hidrolizatın aminoasit kompozisyonunun yaklaşık %41'inin hidrofobik aminoasitler, %12'sinin ise aromatik aminoasitler olduğu belirtilmiştir (Çizelge 2). Tüm test sonuçlarının, molekül ağırlığı 500-1500 Da olan fraksiyonun en etkili antioksidan aktiviteye sahip fraksiyon olduğunu gösterdiği ifade edilmiştir. Bu fraksiyonun, 15 mg/mL konsantrasyonda, DPPH radikali üzerine askorbik asidin aktivitesine yakın aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Zein, mısır nişastası üretim prosesinin bir yan ürünü olarak açığa çıkan, mısırın alkolde çözünebilen prolamin tip proteinidir. Enzimatik hidrolizle

elde edilen zein peptitlerinin emülsiyon sistemde antioksidan aktivite, antihipertansif aktivite gibi biyoaktivite gösterdiği literatürde ifade edilmiştir (39). Zeinin Alcalase ile hidrolizinden elde edilen hidrolizatın antioksidan aktivitesinin, sindirim prosesinden nasıl etkilendiğinin araştırıldığı bir çalışmada (40), başlangıçtaki serbest aminoasit miktarının 4.86 mg/mL olduğu tespit edilmiştir. 1 saatlik pepsin sindiriminin bu oranı fazla değiştirmedeği; ancak ilk yarım saatlik pankreatin sindiriminden sonra serbest aminoasit miktarının yaklaşık 5 kat arttığı (30.61 mg/mL), aminoasit kompozisyonunun hidrofilik ve hidrofobik aminoasitlerce dengeli bir hal aldığı belirlenmiştir. Pankreatik sindirim süresince, arjinin ve histidin miktarı sabit kalırken izolösün miktarının oldukça arttığı ve 2 saatlik sindirim sonunda toplam serbest aminoasitlerin üçte birini oluşturduğu belirtilmiştir. En son hidrolizatın %80'inden fazlasının peptitlerden oluştuğu, bunun da üst sindirim yolundaki antioksidan aktiviteye yol açtığı ifade edilmiştir. Pepsin sindiriminin ABTS radikali üzerine antioksidan aktivitede azalmaya yol açtığı; ancak pankreatin sindiriminden sonra antioksidan aktivitede artış gözlemlendiği bildirilmiştir. DPPH radikali üzerindeki aktivite ise ABTS üzerindeki aktiviteye göre daha düşük bulunmuştur. İndirgeme gücü tüm sindirim boyunca artmış, pankreatin sindiriminin ilk yarım saatinden sonra fazla değişmemiştir. Pankreatin hidrolizatının indirgeme gücünün 0.1 mg/mL konsantrasyondaki askorbat ve 0.01 mg/mL konsantrasyondaki BHA'dan yüksek, 0.1 mg/mL konsantrasyondaki BHA'nın yaklaşık %50'si kadar olduğu belirlenmiştir. ABTS ve DPPH radikalleri üzerindeki inhibisyon etkisindeki farklılık, sindirimin farklı aşamalarında oluşan peptitlerin yapısına bağlanmıştır. DPPH yağda çözünen, bir elektron ya da hidrojen alarak stabil hale geçen bir radikaldir. Pepsin hidrolizi sonrasında daha fazla hidrofobik aminoasit içeren yan zincirlerin açığa çıktığı ve DPPH tarafından yakalandığı ifade edilmiştir. Pankreatin ile devam eden hidrolizin daha kısa peptitlerin ve aminoasitlerin oluşumuna, yani hidrofilikliğin artmasına neden olduğu; bu durumun da daha fazla polar karaktere sahip hidrolizatın suda çözünen ABTS ile reaksiyona girmeyi tercih ettiği belirtilmiştir. En yüksek antioksidan aktiviteye sahip hidrolizatın (2 saatlik pankreatin hidrolizinden elde edilen hidrolizat) %50'sinin 3 ya da daha fazla aminoasit içeren kısa peptitlerden (molekül ağırlığı 335-355 Da) oluştuğu belirlenmiştir.

Pirinç ve Arpa Proteini Hidrolizatları

Bir başka gıda endüstrisi yan ürünü olan pirinç endosperm proteini de pirinç nişastası üretimi sırasında yüksek oranlarda açığa çıkmaktadır. Pirinç endosperm proteininin Neutrased hidrolizinden elde edilen hidrolizatının antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. DPPH radikali yakalama aktivitesinin α -tokoferolden daha yüksek olduğu (EC_{50} değeri hidrolizat ve α -tokoferol için sırasıyla 0.05 mg/mL ve 0.09 mg/mL) saptanmıştır. Linoleik asidin otoksidasyonunu %82.1 oranında inhibe ettiği belirlenmiştir. Hidroksil radikaline, süperoksit radikali üzerine olan etkisinden daha fazla etki ettiği ifade edilmiştir. Demir iyonu şelatlama aktivitesine sahip olduğu da belirlenmiştir. Hidrolizatın antioksidan aktivitesinden sorumlu peptidin, MALDI-TOF/TOF MS/MS analizi sonucunda, Lys-His-Asn-Arg-Gly-Asp-Glu-Phe sekansına sahip olduğu saptanmıştır (41).

Bir başka çalışmada pirinç kepeği proteininin ve hidrolizatlarının antioksidan aktivitesi incelenmiştir (42). Pirinç kepeği proteinleri çözünürlüklerine göre fraksiyonlarına ayrılmış; globulin fraksiyonunun, en yüksek lipid peroksidasyonu inhibisyonu aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Albumin fraksiyonunun en yüksek indirgeme gücüne sahip olduğu (6964 mmol Fe^{2+}) saptanmıştır. Globulin, prolamin, glutelin fraksiyonlarının indirgeme güçlerinin sırasıyla 2904, 2017, 1809 mmol Fe^{2+} olduğu ifade edilmiştir. Aynı çalışmada, arpanın başlıca proteini olan hordein ise jel filtrasyonu ile fraksiyonlarına ayrılmış ve en yüksek indirgeme gücü gösteren fraksiyonun (50-75 kDa) indirgeme aktivitesinin 1333 mmol Fe^{2+} olduğu belirtilmiştir. Pirinç kepeği protein fraksiyonları ve arpa hordein fraksiyonlarının pepsin ve tripsin ile hidroliz edilmesinden sonra ise, hem lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitelerinin hem de indirgeme güçlerinin arttığı tespit edilmiştir.

SONUÇ

Tahıl proteinlerinin ve protein hidrolizatlarının antioksidan bileşenler olarak gıda sistemlerinde kullanımı pek çok bakımdan avantajlıdır. Hedef etkinin yanı sıra, proteinlerin bilinen karakteristiklerinden dolayı ürünün besleyici özelliğini artırma, ürüne istenilen fonksiyonel özellikleri kazandırma gibi katkılar da sağlayacağı açıktır. Ayrıca, tahıl işleme sırasında açığa çıkan yan ürünlerin de-

ğerlendirilmesi ekonomik faydayı da beraberinde getirecektir. Ancak, peptitlerin ve aminoasitlerin bazı tat kusurlarına yol açabileceği göz önünde bulundurulmalıdır; hidrofobik karakterde olan peptitlerin acılığa yol açtığı bilinmektedir. Ayrıca, bu peptitlerin alerjen etkilerinin olup olmadığı da değerlendirilmelidir. Gıda işleme prosesinde diğer gıda bileşenleriyle etkileşimlerinin, toksik, alerjik ve karsinojenik bileşen oluşumuna yol açıp açmadığı konusu araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Seifried HE, Anderson DE, Fisher EI, Milner JA. 2007. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *J Nutr Biochem*, 18: 567-579.
2. Esposito E, Rotilio D, Di Matteo V, Di Giulio C, Caccchio M, Algeri S. 2002. A review of specific dietary antioxidants and the effects on biochemical mechanisms related to neurodegenerative processes. *Neurobiol Aging*, 23: 719-735.
3. Limón-Pacheco J, Gonsabatt ME. 2009. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutat Res*, 674: 137-147.
4. Kaliora AC, Dedoussis GVZ, Schmidt H. 2006. Dietary antioxidants in preventing atherogenesis. *Atherosclerosis*, 187: 1-17.
5. Chiu C-J, Taylor A. 2007. Nutritional antioxidants and age-related cataract and maculopathy. *Exp Eye Res*, 84: 229-245.
6. Hartmann R, Meisel H. 2007. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Curr Opin Biotech*, 18: 163-169.
7. Meisel H. 1997. Biochemical properties of bioactive peptides derived from milk proteins: Potential nutraceuticals for food and pharmaceutical applications. *Livest Prod Sci*, 50: 125-138.
8. Yust MM, Pedroche J, Girón-Calle J, Alaiz M, Millán F, Vioque J. 2003. Production of ACE inhibitory peptides by digestion of chickpea legumin with alcalase. *Food Chem*, 81: 363-369.
9. Korhonen H, Pihlanto A. 2006. Bioactive peptides: Production and functionality. *Int Dairy J*, 16: 945-960.
10. Korhonen H, Pihlanto A. 2003. Food-derived Bioactive Peptides – Opportunities for Designing Future Foods. *Curr Pharm Design*, 9: 1297-1308.
11. Arcan İ, Yemencioğlu A. 2007. Antioxidant activity of protein extracts from heat-treated or thermally processed chickpeas and white beans. *Food Chem*, 103: 301-312.
12. Moure A, Domínguez H, Parajó JC. 2006. Antioxidant properties of ultrafiltration-recovered soy protein fractions from industrial effluents and their hydrolysates. *Process Biochem*, 41: 447-456.

13. Li X-x, Han L-j, Chen, L-j. 2008. *In vitro* antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from corn gluten meal. *J Sci Food Agric*, 88: 1660-1666.
14. Pihlanto A. 2006. Antioxidative peptides derived from milk proteins. *Int Dairy J*, 16: 1306-1314.
15. Chen J, Lindmark-Månsson H, Gorton L, Åkesson B. 2003. Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods. *Int Dairy J*, 13: 927-935.
16. Suetsuna K, Ukeda H, Ochi H. 2000. Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein. *J Nutr Biochem*, 11: 128-131.
17. Pena-Ramos EA, Xiong YL. 2001. Antioxidative activity of whey protein hydrolysates in a liposomal system. *J Dairy Sci*, 84: 2577-2583.
18. Hogan S, Zhang L, Li J, Wang H, Zhou K. 2009. Development of antioxidant rich peptides from milk protein by microbial proteases and analysis of their effects on lipid peroxidation in cooked beef. *Food Chem*, 117: 438-443.
19. Sakanaka S, Tachibana Y, Ishihara N, Juneja LR. 2004. Antioxidant activity of egg-yolk protein hydrolysates in a linoleic acid oxidation system. *Food Chem*, 86: 99-103.
20. Sakanaka S, Tachibana Y. 2006. Active oxygen scavenging activity of egg-yolk protein hydrolysates and their effects on lipid oxidation in beef and tuna homogenates. *Food Chem*, 95: 243-249.
21. Davalos A, Miguel M, Bartolome B, Lopez-Fandino R. 2004. Antioxidant activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis. *J Food Protect*, 67(9): 1939-1944.
22. Amarowicz R, Shahidi F. 1997. Antioxidant activity of peptide fractions of capelin protein hydrolysates. *Food Chem*, 58 (4): 355-359.
23. Theodore AE, Raghavan S, Kristinsson HG. 2008. Antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from alkaline-aided channel catfish protein isolates. *J Agric Food Chem*, 56(16): 7459-7466.
24. Bougatef A, Nedjar-Arroume N, Manni L, Ravallec R, Barkia A, Guillochon D, Nasri M. 2010. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. *Food Chem*, 118: 559-565.
25. Beer mann C, Euler M, Herzberg J, Stahl B. 2009. Anti-oxidative capacity of enzymatically released peptides from soybean protein isolate. *Eur Food Res Technol*, 229: 637-644.
26. Park EY, Morimae M, Matsumura Y, Nakamura Y, Sato K. 2008. Antioxidant activity of some protein hydrolysates and their fractions with different isoelectric points. *J Agric Food Chem*, 56: 9246-9251.
27. Pena-Ramos EA, Xiong YL. 2002. Antioxidant Activity of Soy Protein Hydrolysates in a Liposomal System. *J Food Sci*, 67(8): 2952-2956.
28. Arcan İ, Yemenicioğlu A. 2009. Effects of controlled pepsin hydrolysis on antioxidant potential and fractional changes of chickpea proteins. *Food Res Int*, (doi:10.1016/j.foodres.2009.09.012).
29. Nieto G, Castillo M, Xiong YL, Álvarez D, Payne FA, Garrido MD. 2009. Antioxidant and emulsifying properties of alcalase-hydrolyzed potato proteins in meat emulsions with different fat concentrations. *Meat Sci*, 83: 24-30.
30. Saiga A, Tanabe S, Nishimura T. 2003. Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. *J Agric Food Chem*, 51: 3661-3667.
31. Megías C, Pedroche J, Yust MM, Girón-Calle J, Alalaz M, Millán F, Vioque J. 2008. Production of copper-chelating peptides after hydrolysis of sunflower proteins with pepsin and pancreatin. *LWT-Food Sci Technol*, 41: 1973-1977.
32. Cumby N, Zhong Y, Naczki M, Shahidi F. 2008. Antioxidant activity and water-holding capacity of canola protein hydrolysates. *Food Chem*, 109: 144-148.
33. Xie Z, Huang J, Xu X, Jin Z. 2008. Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate. *Food Chem*, 111: 370-376.
34. Hwang J-Y, Shyu Y-S, Wang Y-T, Hsu C-K. 2010. Antioxidative properties of protein hydrolysate from defatted peanut kernels treated with esperase. *LWT-Food Sci Technol*, 43: 285-290.
35. Wang J-s, Zhao M-m, Zhao Q-z, Jiang Y-m. 2007. Antioxidant properties of papain hydrolysates of wheat gluten in different oxidation systems. *Food Chem*, 101: 1658-1663.
36. Kong X, Zhou H, Hua Y. 2008. Preparation and antioxidant activity of wheat gluten hydrolysates (WGHs) using ultrafiltration membranes. *J Sci Food Agric*, 88: 920-926.
37. Zhu K, Zhou H, Qian H. 2006. Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase. *Process Biochem*, 41: 1296-1302.
38. Shukla R, Cheryan M. 2001. Zein: the industrial protein from corn. *Ind Crop Prod*, 13: 171-192.
39. Kong B, Xiong YL. 2006. Antioxidant activity of zein hydrolysates in a liposome system and the possible mode of action. *J Agric Food Chem*, 54: 6059-6068.
40. Zhu L, Chen J, Tang X, Xiong YL. 2008. Reducing, radical scavenging, and chelation properties of *in vitro* digests of Alcalase-treated zein hydrolysate. *J Agric Food Chem*, 56: 2714-2721.
41. Zhang J, Zhang H, Wang L, Guo X, Wang X, Yao H. 2009. Antioxidant activities of the rice endosperm protein hydrolysate: identification of the active peptide. *Eur Food Res Technol*, 229: 709-719.
42. Chanput W, Theerakulkait C, Nakai S. 2009. Antioxidative properties of partially purified barley hordein, rice bran protein fractions and their hydrolysates. *J Cereal Sci*, 49: 422-428.