

## Kesan Pencernaan Gastrosus terhadap Ciri Fizikokimia dan Kebiotersediaan Antioksidan Produk Chia

(The Effects of Gastrointestinal Digestion on the Physicochemical Characteristics and Antioxidants Bioavailability of Chia Products)

ETTY SYARMILA IBRAHIM KHUSHAIRAY<sup>1</sup>, CHANG YU IAN<sup>1</sup>, SALMA MOHAMAD YUSOP<sup>1,3,\*</sup>, MA'ARUF ABD GHANI<sup>2</sup>, MOHAMAD YUSOF MASKAT<sup>1,3</sup>, ABDUL SALAM BABJI<sup>1,3</sup> & NUR ALIAH DAUD<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jabatan Sains Makanan, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

<sup>2</sup>Fakulti Perikanan dan Sains Makanan, Universiti Malaysia Terengganu, 21030 Kuala Nerus, Terengganu, Malaysia

<sup>3</sup>Pusat Inovasi Teknologi Manisan, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

Diserahkan: 13 Oktober 2023/Diterima: 11 Januari 2024

### ABSTRAK

Chia (*Salvia hispanica* L.) adalah bijirin pseudo yang kaya dengan asid lemak tak tepu (PUFA) dan protein berfungsi. Kajian ini bertujuan untuk menentukan sifat fizikokimia dan kebiotersediaan antioksidan produk chia iaitu tepung chia ternyah lemak (TCT), pencilan protein chia (IPC), hidrolisat protein chia (HPC) dan nanokapsul hidrolisat protein chia (nHPC). Simulasi model pencernaan gastrosus secara *in-vitro* telah mengasingkan protein chia kepada empat pecahan berbeza iaitu sampel sebelum dicerna (ND), fraksi tercerna pasca-gastrik (PG), fraksi tercerna pasca-usus yang diserap oleh kolon (PUa) dan fraksi tercerna pasca-usus yang tertinggal dalam kolon (PUB). Sampel nHPC mencatatkan darjah hidrolisis (DH) paling rendah ( $p < 0.05$ ) (19.72%) selepas fasa pencernaan gastrik dan tiada perubahan signifikan ( $p < 0.05$ ) selepas pencernaan usus. Penyusutan ( $p < 0.05$ ) nilai asid amino hidrofobik (AAH) dan asid amino aromatik (AAR) bagi sampel nHPC direkodkan selepas pencernaan gastrosus (PUa), masing-masing sebanyak 4.81 dan 3.95%. Berbanding semua sampel, HPC dan nHPC mencatatkan nilai tertinggi ( $p < 0.05$ ) dalam ujian antioksidan DPPH (70.38 dan 68.10  $\mu\text{M TE}$ ), ABTS (166.19 dan 167.14  $\mu\text{M TE}$ ) dan FRAP (73.25 dan 77.81  $\mu\text{M TE FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ). Pencernaan gastrosus meningkatkan ( $p < 0.05$ ) potensi pemerangkapan radikal DPPH dan ABTS sampel TCT dan IPC, sebaliknya mengurangkan ( $p < 0.05$ ) potensi antioksidan bagi sampel HPC. Berdasarkan ujian FRAP, pencernaan gastrosus tidak memberi kesan ( $p < 0.05$ ) terhadap kapasiti antioksidan bagi sampel nHPC. Kesimpulannya, pencernaan gastrosus mempengaruhi sifat fizikokimia dan kebiotersediaan antioksidan produk chia yang dikaji, memberikan kefahaman penting tentang manfaat kesihatan dan aplikasi produk chia dalam diet pemakanan manusia.

Kata kunci: Kebiotersediaan antioksidan; produk chia; profil asid amino; simulasi model pencernaan gastrosus

### ABSTRACT

Chia (*Salvia hispanica* L.) is a pseudocereal rich in polyunsaturated fatty acids (PUFA) and functional proteins. This study aims to determine the physicochemical properties and antioxidative bioavailability of chia products, namely, defatted chia flour (TCT), chia protein isolate (IPC), chia protein hydrolysates (HPC), and nano encapsulated chia hydrolysates (nHPC). An *in-vitro* gastrointestinal digestion simulation model separated chia protein into four distinct fractions, namely, non-digested sample (ND), post-gastric digestion fraction (PG), post-intestinal digested fraction absorbed by colon (PUa), and post-intestinal digested fraction remains in colon (PUB). nHPC exhibited the lowest ( $p < 0.05$ ) degree of hydrolysis (DH) (19.72%) after gastric phase, and there were no significant changes ( $p < 0.05$ ) after intestinal digestion. A significant decrease ( $p < 0.05$ ) in the hydrophobic amino acid (AAH) and aromatic amino acid (AAR) values were recorded for the nHPC sample by 4.81 and 3.95%, respectively, after gastrointestinal digestion (PUa). Compared to all samples, HPC and nHPC recorded the highest ( $p < 0.05$ ) values in DPPH (70.38 and

68.10  $\mu\text{M TE}$ ), ABTS (166.19 and 167.14  $\mu\text{M TE}$ ), and FRAP (73.25 and 77.81  $\mu\text{M TE FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ). Gastrointestinal digestion increased ( $p < 0.05$ ) the DPPH and ABTS radical scavenging potential for TCT and IPC but reduced ( $p < 0.05$ ) the antioxidant potential for HPC. Based on FRAP findings, gastrointestinal digestion had no effect ( $p < 0.05$ ) on the antioxidant capacity of nHPC. In conclusion, gastrointestinal digestion affects the physicochemical properties and antioxidative bioavailability of the chia products studied, providing an essential insight into their health benefits and applications in human diet.

Keywords: Amino acids profiles; antioxidative bioavailability; chia products; simulated gastrointestinal digestion model

## PENDAHULUAN

Seiring dengan kesedaran masyarakat tentang hubungan antara diet pemakanan dan kesihatan, penyelidikan berkaitan komponen makanan berfungsi baharu dengan potensi terapeutik semakin menarik minat penyelidik sejak kebelakangan ini. Makanan merupakan sumber penting bahan bioaktif yang berperanan dalam fungsi fisiologi, membekalkan nutrisi asas serta memberikan kesan signifikan terhadap kualiti kesihatan manusia. Protein semula jadi, terutamanya daripada sumber tumbuhan dianggap sebagai sumber penting dalam pola pemakanan manusia, terutama dalam kalangan negara membangun (Cotabarren et al. 2019). Peptida bioaktif merupakan sebatian semula jadi dalam protein yang bukan sahaja sekadar membekalkan nutrisi, malah mampu memberi manfaat kesihatan tambahan seperti antioksidan, antihipertensi, antimikrob dan juga antikanser (Akbarian et al. 2022).

Chia (*Salvia hispanica* L.) merupakan tumbuhan herba tahunan dalam keluarga *Lamiaceae* yang berasal dari kawasan selatan Mexico dan utara Guatemala (Pelaez et al. 2019). Penanaman, pengeluaran, serta permintaan biji chia telah meningkat secara drastik sejak beberapa tahun kebelakangan ini kerana profil pemakanannya yang lengkap, hinggan digelar sebagai 'Golden Seed of 21st Century', 'superfood' dan juga makanan novel. Biji chia merupakan salah satu sumber protein vegetatif berkualiti tinggi, kaya dengan asid lemak tidak tepu, fitokimia lipofilik, serat makanan larut, mineral dan sebatian bioaktif (Rabail et al. 2021). Selain itu biji chia juga dikatakan sebagai antara sumber omega-3 dan omega-6 berasaskan tumbuhan yang terbaik (Marcinek & Krejpcio 2017).

Permintaan minyak chia yang semakin menggalakkan daripada kalangan pengguna untuk tujuan perindustrian telah menyebabkan penghasilan lambakan sisa industri, dikenali sebagai tepung chia ternyahlemak (TCT). Industri pemprosesan minyak chia menghasilkan sekitar

650 kg TCT/ton biji chia (Ozon et al. 2022) dan ini mendatangkan kegusaran dalam sektor agri makanan. Sehingga kini TCT masih dianggap sisa industri dan hanya digunakan secara konvensional sebagai bahan makanan haiwan ternakan serta baja (Vinayashree & Vasu 2021). Beberapa pendekatan boleh diambil untuk mengeksploitasi serta menambah nilai kepada TCT, seterusnya mengurangkan kos rawatan dan pengurusan sisa, serta menyumbang kepada ekonomi dan perlindungan alam sekitar. Antaranya adalah pemencilan protein berfungsi menggunakan pelbagai kaedah komersial seperti pengekstrakan alkali (Khushairay et al. 2023), pemendakan asid (de Figueiredo et al. 2018), pengekstrakan mekanikal (Tabtabaei et al. 2017) serta pengekstrakan akuas (Choudhry et al. 2023), juga penghasilan hidrolisat protein menggunakan kaedah hidrolisis berenzim (Ibrahim & Ghani 2020; Ibrahim, Ghani & Babji 2021). Proses nano pengkapsulan menggunakan pembawa yang ideal seperti liposom juga merupakan satu strategi baik yang mampu memberi perlindungan terhadap faktor persekitaran yang berisiko mengganggu sifat berfungsi peptida seperti tindakan enzim serta suhu dan pH yang ekstrim untuk mengekalkan bioaktiviti nutrasetikal serta meningkatkan kestabilan peptida berfungsi chia.

Walau bagaimanapun, untuk menunjukkan sifat biofungsi dalam tubuh badan manusia, peptida bioaktif perlu berupaya mengekalkan integriti strukturnya dan stabil sehingga proses penyerapan nutrisi berlaku (Sun et al. 2020). Kadar kebiotersediaan metabolit adalah berbeza, bergantung kepada tindakan mekanikal serta keupayaan pelepasan daripada matriks makanan serta kestabilan terhadap beberapa faktor biokimia seperti perubahan pH gastrousus, aktiviti enzim pencernaan, pergerakan usus, serta kapasiti penyerapan (Amigo & Hernandez-Ledesma 2020). Oleh yang demikian, model pencernaan gastrousus secara *in-vitro* dianggap pendekatan terbaik sebagai alternatif bagi mensimulasi faktor fizikokimia dan

biokimia sistem pencernaan gastrousus manusia (Daud et al. 2022), seterusnya mengangalkan kestabilan peptida bioaktif. Kajian ini telah dijalankan bagi menentukan ciri fizikokimia dan sifat kebiotersediaan antioksidan bagi beberapa produk chia iaitu tepung chia ternyahlemak (TCT), pencilan protein chia (IPC), hidrolisat protein chia (HPC) dan nanokapsul hidrolisat protein chia (nHPC) untuk menganggarkan potensi manfaat kesihatan sebatian bioaktif terhadap tubuh manusia.

## BAHAN DAN KAEDAH

### BAHAN

Produk chia dalam kajian ini adalah daripada genus *Salvia hispanica* L. yang telah menjalani empat rawatan berbeza. Tepung chia ternyahlemak (TCT) adalah hasil industri pemprosesan minyak chia melalui proses tekanan sejuk telah dibekalkan oleh The Chia Company (Melbourne, Australia). Pencilan protein chia (IPC) adalah protein chia yang telah diekstrak daripada TCT menggunakan kaedah pengekstrakan alkali berdasarkan kaedah yang telah dilaporkan oleh Khushairay et al. (2023). Hidrolisat protein chia (HPC) adalah IPC yang telah menjalani hidrolisis berenzim menggunakan enzim alkalase seperti laporan Ibrahim dan Ghani 2020, manakala nanokapsul hidrolisat chia (nHPC) adalah HPC yang telah menjalani proses nanopengkapsulan liposom melalui kaedah penghidratan filem berdasarkan kaedah yang dilaporkan oleh Xu et al. (2021). Kesemua bahan kimia dan enzim yang digunakan dalam kajian ini adalah daripada Sigma-Aldrich, Amerika Syarikat.

### PENENTUAN TABURAN SAIZ ZARAH PRODUK CHIA

Purata diameter taburan saiz zarah sampel produk chia ditentukan berdasarkan teknik penyerakan cahaya dinamik (DLS) menggunakan alat difraktometer laser (Zetasizer Model Nano-ZS, Malvern Instrument Ltd., Worcestershire, UK). Sampel produk chia dicairkan menggunakan air suling (1:10 v/v) dan diameter hidrodinamik (nm) diukur pada suhu 25 °C dan panjang gelombang 633 nm.

### SIMULASI MODEL PENCERNAAN GASTROUSUS MANUSIA

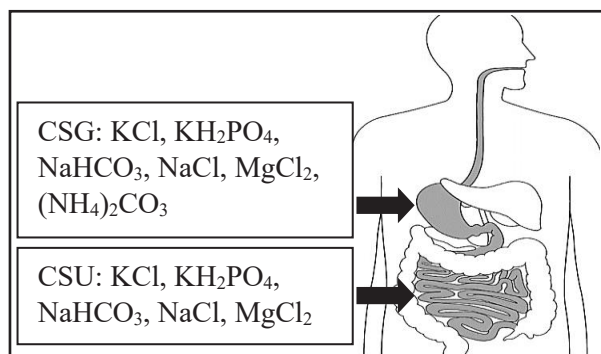
Simulasi model pencernaan gastrousus manusia dilaksanakan berdasarkan laporan Daud et al. (2022) dengan beberapa pengubahsuaian. Sampel stok disediakan dengan melarutkan sampel produk chia dengan air suling pada (1:5 w/v). Proses pencernaan

melibatkan dua fasa berturutan iaitu pencernaan gastrik dan pencernaan usus. Komposisi garam bagi cecair simulasi gastrik (CSG) dan cecair simulasi usus (CSU) disediakan seperti dalam Rajah 1. Kedua-dua campuran garam dilarutkan dalam air suling (1:12 w/v) dan pH masing-masing dilaraskan kepada pH 3 dan pH 7. Larutan CSG disediakan dengan mencampurkan sebanyak 75% larutan garam CSG dengan 16% pepsin, 0.05% 0.3 M CaCl<sub>2</sub>, 2% 1 M HCl dan 6.95% air suling. Seterusnya, sampel ditambahkan ke dalam larutan CSG (1:1 v/v), sebelum diinkubasi pada suhu 37 °C dalam alat penggongcang (100 rpm) (Innova 4200 Incubator Shaker, New Brunswick Scientific Co., Inc, Canada) selama 120 minit. Sebanyak 2 mL alikuot diambil bagi mewakili sampel PG dan segera disimpan pada suhu -20 °C, manakala bakinya digunakan untuk pencernaan usus. Larutan CSU pula disediakan dengan mencampurkan sebanyak 55% larutan garam CSU dengan 25% pankreatin, 12.5% garam hempedu, 0.2% 0.3 M CaCl<sub>2</sub>, 0.75% 1 M NaOH dan 6.55% air suling. Kemudian, sampel PG ditambahkan ke dalam larutan CSU (1:1 v/v) dan dimasukkan ke dalam tiub dialisis selulosa (berat molekul 12 kDa) sebelum diletakkan di dalam bikar kaca. Larutan diinkubasi pada suhu 37 °C dalam alat penggongcang (100 rpm) (Innova 4200 Incubator Shaker, New Brunswick Scientific Co., Inc, Canada). Selepas 60 minit inkubasi, pH larutan dilaraskan kepada pH 3 dengan 1 M HCl dan proses inkubasi diteruskan lagi selama 60 minit. Cecair yang masih tertinggal dalam tiub dialisis mewakili sampel yang tertinggal di dalam kolon (PUB), manakala sampel yang berada di luar tiub dianalisis mewakili sampel yang diserap oleh usus (PUa). Kesemua sampel segera disimpan pada suhu -20 °C sehingga analisis seterusnya.

### PENENTUAN DARJAH HIDROLISIS

Kesan pencernaan gastrousus terhadap darjah hidrolisis (DH) produk chia ditentukan melalui kaedah Bradford seperti yang dilaporkan oleh Shahi, Sayyed-Alangi dan Najafian (2020). Sampel dicampurkan dengan asid trikloroasetik (0.44 M) dalam nisbah 1:1 (v/v) dan diinkubasi pada suhu 4 °C selama 15 minit. Campuran tersebut kemudiannya diemparkan pada kelajuan 10 000 rpm selama 10 minit (Allegra 64R Centrifuge, Beckman Coulter Inc., Indiana, USA). DH ditentukan berdasarkan jumlah protein yang terkandung dalam supernatan yang mengandungi TCA dibandingkan dengan protein yang terdapat dalam sampel. Keputusan dilaporkan dalam unit peratus (%).

### PENENTUAN PROFIL ASID AMINO



RAJAH 1. Komposisi garam bagi cecair simulasi gastrik (CSG) dan cecair simulasi usus (CSU). Rajah hasil adaptasi daripada Daud et al. (2022)

Profil asid amino ditentukan berdasarkan kaedah yang dilaporkan oleh Abdul Manan et al. (2017). Sampel produk chia disimpan dalam 6 M asid hidroklorik (mengandungi 0.1% fenol) pada 110 °C selama 24 jam untuk hidrolisis protein. Asid amino sistina dan metionina dianggarkan selepas pra-hidrolisis dengan pengoksidaan asid performik sebelum analisis HPLC, manakala asid amino triptofan ditentukan menggunakan hidrolisis alkali. Asid amino telah diterbitkan dalam blok pemanasan pada suhu 55 °C selama 10 minit dan diasingkan menggunakan kolum C18 AccQ-Tag (3.9 × 150 mm, Waters, Massachusetts, Amerika Syarikat) dengan kadar aliran 1 mLmin<sup>-1</sup> dan kawalan suhu 37 °C. Panjang gelombang pengesanan UV untuk pengesanan puncak ialah 280 nm, manakala pengujaan pengesanan pendarfluor dan panjang gelombang pelepasan untuk kuantifikasi asid amino ialah masing-masing pada 250 dan 395 nm. Komposisi asid amino dihitung berdasarkan kawasan puncak berbanding piawai. Asid amino dinyatakan dalam unit peratusan (%) asid amino dalam sampel protein.

#### PEMERANGKAPAN RADIKAL 2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL (DPPH)

Kapasiti pemerangkapan radikal DPPH ditentukan menggunakan kaedah yang dilaporkan oleh Shao et al. (2017). Sebanyak 70 µL sampel ditambah kepada 70 µL larutan DPPH (150 µM dalam MeOH) dan dibiarkan pada suhu bilik dalam keadaan gelap selama 30 minit. Bacaan penyerapan diukur menggunakan pembaca mikroplat (Tecan GENios, Austria GmbH, Grodig, Austria) pada panjang gelombang 517 nm. Kapasiti antioksidan dinyatakan dalam nilai setara Trolok (TE) berdasarkan

lengkuk piawai Trolok (0-100 µM).

#### PEMERANGKAPAN RADIKAL 2,2-AZINOBIS (3-ETILBENZOTIAZOLINA)-6-ASID SULFONIK (ABTS)

Keupayaan pemerangkapan radikal ABTS ditentukan berdasarkan kaedah yang dijelaskan oleh Zielinska, BaRaniak dan Karas (2017). Larutan stok ABTS dan K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> dibiarkan bertindak balas dalam keadaan gelap selama 12 jam pada suhu 25 °C sebelum dicairkan dengan penimbal fosfat (0.7 ± 0.02) pada panjang gelombang 734 nm. Sebanyak 50 µL sampel ditambah kepada 150 µL larutan ABTS dan dibiarkan bertindak balas selama 5 minit. Bacaan penyerapan diambil menggunakan pembaca mikroplat (Tecan GENios, Austria GmbH, Grodig, Austria) pada panjang gelombang 734 nm. Kapasiti antioksidan dinyatakan dalam nilai setara Trolok (TE) berdasarkan lengkung piawai Trolok (0-100 µM).

#### KUASA PENURUNAN ION FERIK (FRAP)

Kuasa penurunan ion ferik ditentukan berdasarkan kaedah yang dilaporkan oleh Wootton-Beard, Moran dan Ryan (2011). Reagen FRAP mengandungi: 2.5 mL larutan 10 mM TPTZ dalam 40 mM HCl, 2.5 mL 20 mM FeCl<sub>3</sub> dan 25 mL 0.3 M penimbal asetat (pH 3.6). Sebanyak 40 µL aliquot sampel ditambahkan kepada 0.2 mL air suling dan 1.8 mL reagen FRAP. Campuran diinkubasi pada suhu 37 °C selama 10 minit. Bacaan penyerapan diukur pada panjang gelombang 539 nm (Tecan GENios, Austria GmbH, Grodig, Austria). Keputusan dinyatakan dalam nilai setara Ferum (II) sulfat (FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) berdasarkan lengkung piawai ferum sulfat heptahidrat (0-100 µM).

#### ANALISIS STATISTIK

Data yang diperoleh daripada kesemua analisis ( $n=3$ ) adalah dalam taburan normal dan tertakluk kepada analisis varian (ANOVA) sehalu. Perbezaan antara min dinilai menggunakan Ujian Julat Berganda Duncan. Data dianalisis menggunakan perisian Analisis Statistik (SAS) versi 9.4 dan dinyatakan sebagai  $\text{min} \pm \text{sisihan piawai}$  dengan  $p < 0.05$  mewakili perbezaan ketara antara setiap data pada aras keyakinan 95%.

#### HASIL DAN PERBINCANGAN

##### TABURAN SAIZ ZARAH

Saiz zarah merupakan faktor penting yang mempengaruhi sifat fizikokimia, kualiti kestabilan dan kebiotersediaan sesuatu sebatian (Xu et al. 2021). Jadual 1 menunjukkan taburan saiz zarah produk chia iaitu tepung chia ternyahlemak (TCT), pencilan protein chia (IPC), hidrolisat protein chia (HPC) dan nanokapsul hidrolisat protein chia (nHPC). Sampel TCT mempunyai purata saiz zarah paling besar antara semua sampel, iaitu  $634.15 \mu\text{m} \pm 152.05$ . Sisihan piawai yang besar dicatatkan bagi sampel TCT menandakan kebolehubahan yang tinggi dalam data, menunjukkan bahawa sampel ini mengandungi sebatian dengan pelbagai saiz yang tidak seragam. TCT merupakan tepung chia ternyahlemak mentah bersifat heterogen yang terdiri daripada kepelbagaian sebatian iaitu 37.89% protein, 20.17% serat kasar, dan 41.94% sebatian lain (Khushairay et al. 2023; Zain et al. 2021). Proses pengekstrakan protein menghasilkan IPC dengan taburan saiz zarah 4.4 kali ganda lebih kecil berbanding sampel TCT. Sampel HPC pula mencatatkan taburan saiz zarah yang jauh lebih rendah ( $24.30 \mu\text{m}$ ) iaitu 5.9 kali ganda lebih kecil berbanding IPC. Hal ini dapat dijangka kerana sampel HPC merupakan hidrolisat protein yang telah menjalani proteolisis menggunakan alkalase, sejenis endopeptidase yang berupaya menghidrolisis ikatan peptida protein kompleks (oligopeptida) dan membebaskan lebih banyak tri- dan dipeptida (Hou et al. 2022), seterusnya menghasilkan HPC dengan saiz zarah yang lebih kecil. Keputusan ini tekal dengan laporan oleh Ibrahim, Ghani dan Babji (2021) yang mencatatkan penurunan berat molekul hidrolisat protein chia yang signifikan dalam elektroforesis gel poliakrilamida selepas hidrolisis berenzim menggunakan alkalase. Sejajar dengan skala nano, sampel nHPC mencatatkan taburan saiz zarah yang paling kecil ( $93.04 \text{ nm}$ ). Dianggarkan tindakan

ultrasonikasi semasa proses nanopengkapsulan telah berjaya menghasilkan sampel nHPC dengan saiz nano yang lebih seragam. Saiz zarah memberikan kesan terhadap sifat fisiologi serta bioaktiviti sesuatu sebatian, yang mana peptida bioaktif dengan saiz molekul yang kecil lebih mudah untuk melepasi membran usus seterusnya memberikan kesan biologi (Wang, Xie & Li 2019). Oleh yang demikian, saiz zarah yang berbeza dalam setiap produk chia berpotensi mempengaruhi sifat bioaktif setiap produk tersebut.

##### DARJAH HIDROLISIS

Darjah hidrolisis (DH) merujuk kepada peratusan ikatan peptida yang terurai semasa proses hidrolisis/pencernaan. DH bagi produk chia selepas pencernaan gastrousus diringkaskan dalam Jadual 2. Fraksi PG mewakili hasil pencernaan pasca-gastrik manakala fraksi PUa mewakili hasil pencernaan pasca usus yang diserap kolon dan fraksi PUB adalah hasil pencernaan usus yang tertinggal dalam kolon. Berdasarkan kadar DH yang dicatatkan, protein/peptida bagi kesemua sampel produk chia didapati lebih cenderung mengalami hidrolisis dalam fasa pencernaan gastrik berbanding dalam usus. Sampel HPC dan IPC mencatatkan kadar DH tertinggi ( $p < 0.05$ ) (masing-masing 62.72 dan 60.15%) selepas fasa pencernaan gastrik dan semakin meningkat masing-masing kepada 85.41 dan 79.23%, selepas fasa pencernaan usus. Kerentanan protein/peptida terhadap protease dalam sistem pencernaan merupakan antara punca penting ketidakstabilan peptida bioaktif (Wang, Xie & Li 2019). Tindakan pepsin dan tripsin dalam sistem pencernaan gastrik dan usus telah secara signifikan ( $p < 0.05$ ) menguraikan ikatan peptida pada protein HPC dan IPC, lalu membebaskan lebih banyak amino asid ringkas. Berbeza dengan sampel nHPC, kadar DH yang direkodkan adalah jauh lebih rendah selepas fasa pencernaan gastrik (19.72%), menunjukkan bahawa hanya sedikit ikatan peptida terurai pada fasa ini dan nilai tersebut tidak berubah secara signifikan selepas fasa usus (PUa: 21.39%; PUB: 20.83%). Ini menandakan bahawa membran ampifilik liposom yang digunakan untuk proses nanopengkapsulan telah berjaya mengekalkan morfologi dan struktur nanovesikelnnya daripada kebocoran akibat penguraian enzim dan asid, melindungi sampel HPC daripada degradasi/denaturasi, seterusnya menghasilkan nanokapsul HPC yang lebih stabil.

JADUAL 1. Taburan saiz zarah sampel produk chia



Sampel	Taburan saiz zarah
TCT	634.15 $\mu\text{m} \pm 152.05^a$
IPC	143.4 $\mu\text{m} \pm 29.59^b$
HPC	24.30 $\mu\text{m} \pm 3.67^c$
nHPC	93.04 nm $\pm 0.15^d$

Nilai yang ditunjukkan adalah min  $\pm$  sisihan piawai (n=3). <sup>a-d</sup>Abjad berbeza menunjukkan perbezaan bererti (p<0.05) antara sampel

JADUAL 2. Darjah hidrolisis (DH) sampel produk chia selepas pencernaan gastrousus

Sampel	PG	PUa	PUb
TCT	49.45 $\pm 5.77^c$	75.50 $\pm 3.77^b$	61.41 $\pm 1.22^d$
IPC	60.15 $\pm 3.12^d$	79.23 $\pm 2.93^b$	70.44 $\pm 1.66^c$
HPC	62.72 $\pm 4.59^d$	85.41 $\pm 4.94^a$	81.41 $\pm 2.89^{ab}$
nHPC	19.72 $\pm 1.67^f$	21.39 $\pm 1.67^f$	20.83 $\pm 0.97^f$

Nilai yang ditunjukkan adalah dalam min (%)  $\pm$  sisihan piawai (n=3). <sup>a-f</sup>Abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan bererti (p<0.05) antara sampel. PG: Fraksi pasca-gastrik; PUa: Fraksi pasca-usus diserap oleh kolon; PUB: Fraksi pasca-usus tertinggal dalam kolon

#### PROFIL ASID AMINO

Komposisi, susunan dan sifat kehidrofobian asid amino dalam rantaian tertentu protein/peptida memainkan peranan penting dalam pelbagai aktiviti fisiologi dan bioaktiviti protein makanan. Profil asid amino sampel produk chia dilaporkan dalam Jadual 3. Fraksi ND mewakili sampel produk chia sebelum menjalani pencernaan gastrousus. Secara keseluruhannya, komposisi asid Glu mendominasi dalam semua sampel produk chia dengan nilai 12.06 hingga 18.46%. Penemuan ini sejajar dengan laporan oleh Ijarotimi, Akinola-Ige dan Oluwajuyitan (2023) yang menyatakan bahawa kandungan asid amino Glu sentiasa tinggi dalam makanan berasaskan tumbuhan. Walaupun terdapat perdebatan dalam kalangan penyelidik tentang ketidacukupan kandungan AAP dalam protein berasaskan tumbuhan yang mungkin kurang atau tidak lengkap berbanding protein

haiwan (Mariotti & Gardner 2019), namun hasil kajian ini membuktikan bahawa semua produk chia mengandungi kesemua sembilan AAP lengkap, dengan jumlah nilai dalam julat 34.47 hingga 44.79%, dianggap setanding, malah lebih tinggi berbanding nilai purata AAP dalam protein berasaskan haiwan (~37%) (Gorissen et al. 2018).

Fungsi dan bioaktiviti peptida dipengaruhi oleh jenis dan bilangan asid amino yang terkandung dalam rantaianya. Asid amino hidrofobik (AAH) seperti Leu, Tyr, Val, Ala dan Pro, serta asid amino aromatik (AAR) His, dikatakan memiliki potensi antioksidan yang tinggi (Liu et al. 2021). Sampel HPC dan nHPC menunjukkan komposisi AAH dan AAR paling tinggi, masing-masing sekitar 42 dan 20%, disumbangkan oleh kepekatan Met, Ile, Leu, Phe, Val, His, Trp dan Tyr, merupakan penanda positif bagi potensi antioksidan bagi kedua-dua sampel

ini. Kandungan AAH dalam sampel HPC (42.51%) dan nHPC (42.66%) adalah setanding, malah lebih tinggi berbanding beberapa sumber lain seperti biji bijan (40.06%) (Idowu et al. 2021) dan biji bendi (33-39%) (Nnamezie, Famuwagun & Gbadamosi 2021).

Tindakan pencernaan gastrousus didapati mengubah corak profil asid amino pada sampel TCT dengan kandungan AAH dan AAR masing-masing meningkat dengan peratusan peningkatan sekitar 14 dan 6%. Peningkatan ini dikaitkan dengan tindakan enzim pencernaan yang membuka struktur protein dan mendedahkan tapak hidrofobik, seterusnya meningkatkan kadar kehidrofobian dengan membebaskan lebih banyak AAH. Peningkatan kepekatan asid amino Phe, His, Trp dan Tyr menyumbang kepada peningkatan ketara komposisi AAR dalam sampel TCT selepas pencernaan gastrousus. Berbeza dengan sampel HPC, berlaku penurunan signifikan terhadap kandungan AAH dan AAR selepas pencernaan gastrik (37.86 dan 18.59%) dan semakin merosot (32.28 dan 14.50%) selepas pencernaan usus.

#### KEBIOTERSEDIAAN ANTIOKSIDAN

Potensi antioksidan dalam kajian ini ditentukan menggunakan kaedah melibatkan mekanisme yang berbeza. Keupayaan pemerangkapan radikal bebas atau spesies reaktif diukur menggunakan bahan reaktif DPPH dan ABTS, manakala kuasa penurunan logam ditentukan berdasarkan kaedah FRAP. Aktiviti pemerangkapan radikal DPPH produk chia hasil pencernaan gastrousus diringkaskan dalam Jadual 4. Kapasiti antioksidan sampel sebelum pencernaan gastrousus dalam urutan tinggi hingga rendah adalah seperti berikut: HPC (70.38  $\mu\text{M TE}$ ), nHPC (68.10  $\mu\text{M TE}$ ), IPC (42.49  $\mu\text{M TE}$ ) dan TCT (4.76  $\mu\text{M TE}$ ). Sampel TCT menunjukkan kapasiti antioksidan paling rendah, menandakan keupayaan terhad untuk menderma elektron/hidrogen bagi menghasilkan molekul yang stabil dan diamagnet. Menurut Khushairay et al. (2023), peptida dengan kapasiti antioksidan yang tinggi kebiasaannya mengandungi purata asid amino hidrofobik yang lebih banyak berbanding asid amino hidrofilik. Sampel TCT dilihat mengandungi AAH dan AAR yang paling rendah antara semua sampel (Jadual 3), mungkin mempunyai kaitan dengan kapasiti antioksidan yang rendah. Namun begitu, meskipun keupayaan antioksidan sampel TCT rendah, nilainya meningkat secara signifikan ( $p < 0.05$ )

selepas pencernaan gastrousus. Ini dapat dikaitkan dengan tindakan enzim pencernaan serta pH medium gastrousus yang menggalakkan pemotongan rantaian peptida, membebaskan lebih banyak asid amino hidrofobik yang diketahui umum mempunyai potensi antioksidan yang baik. Selain itu, proses pencernaan gastrousus juga dilihat meningkatkan potensi pemerangkapan DPPH bagi sampel IPC, bersesuaian dengan hasil kajian terhadap protein kacang kuda (Liang et al. 2022) dan protein dedak padi (Cho 2020). Walau bagaimanapun, trend yang berbeza dapat dilihat pada sampel HPC, keupayaan antioksidan berkurang selepas pencernaan gastrik dan dilihat semakin menurun selepas pencernaan usus. Protein bioterdedia dalam HPC mungkin telah terdegradasi menjadi peptida ringkas dengan pembebasan lebih banyak asid amino bebas akibat tindakan enzim dan pH ekstrim dalam jus pencernaan yang menyebabkan kemerosotan kapasiti antioksidan. Selain itu, proses pencernaan gastrik didapati tidak memberi kesan signifikan terhadap kemampuan pemerangkapan radikal DPPH bagi sampel nHPC (67.62  $\mu\text{M TE}$ ) (PG), selari dengan kajian Xu et al. (2021) pada sampel nanokapsul hidrolisat tiram yang juga melaporkan bahawa tindakan enkapsulasi dapat meningkatkan kestabilan dan integriti peptida bioaktif. Menurut Wang, Xie dan Li (2019), peptida bioaktif dengan kehidrofobian yang tinggi cenderung lebih stabil semasa pencernaan gastrousus. Oleh itu, komposisi AAH yang tinggi dalam sampel nHPC juga mungkin boleh dianggap sebagai faktor penggalak terhadap kestabilan antioksidannya. Terdapat penurunan signifikan pada bacaan antioksidan sampel PUA dan PUB selepas pencernaan usus, dengan perbezaan nilai masing-masing ialah 4.76  $\mu\text{M TE}$  dan 6.67  $\mu\text{M TE}$  yang mungkin disebabkan oleh tindakan garam hempedu yang menyebabkan emulsifikasi dan merosakkan struktur nanoliposom (Kut, Bartosz & Sadowska-Bartosz 2023). Secara umumnya, bacaan PUA menjadi petunjuk kebioterdediaan peptida berfungsi kerana ia mewakili fraksi peptida yang berjaya diserap dalam usus kecil. Namun potensi antioksidan peptida dalam sampel PUB juga tidak boleh diabaikan, kerana walaupun fraksi ini tertinggal dalam usus, ia berfungsi mengawal keseimbangan mikrobiota kolon, mengurangkan potensi keradangan dalam usus, serta memberi kesan positif terhadap keseimbangan relatif normobiosis (Markus et al. 2023).

JADUAL 3. Profil asid amino pecahan hasil pencernaan

## gastrostus produk chia

AA	TCT				IPC				HPC				nHPC			
	ND	PG	PUa	PUB	ND	PG	PUa	PUB	ND	PG	PUa	PUB	ND	PG	PUa	PUB
Asid amino perlu (AAP)																
Ile	1.69 <sup>g</sup>	2.28 <sup>f</sup>	2.66 <sup>e</sup>	3.67 <sup>b</sup>	3.29 <sup>c</sup>	3.01 <sup>cde</sup>	3.00 <sup>cde</sup>	2.85 <sup>e</sup>	4.17 <sup>a</sup>	3.57 <sup>b</sup>	3.23 <sup>c</sup>	2.50 <sup>df</sup>	4.01 <sup>a</sup>	3.74 <sup>b</sup>	2.95 <sup>de</sup>	3.99 <sup>a</sup>
Leu	4.01 <sup>f</sup>	4.39 <sup>ef</sup>	4.73 <sup>ef</sup>	5.62 <sup>d</sup>	6.21 <sup>c</sup>	6.05 <sup>c</sup>	6.17 <sup>c</sup>	6.01 <sup>c</sup>	6.92 <sup>b</sup>	6.20 <sup>c</sup>	5.18 <sup>e</sup>	4.89 <sup>e</sup>	7.07 <sup>b</sup>	7.10 <sup>b</sup>	7.68 <sup>a</sup>	7.32 <sup>b</sup>
Lys	4.64 <sup>a</sup>	4.47 <sup>b</sup>	4.33 <sup>c</sup>	4.73 <sup>a</sup>	3.69 <sup>f</sup>	4.12 <sup>d</sup>	3.87 <sup>e</sup>	3.75 <sup>f</sup>	2.87 <sup>h</sup>	3.23 <sup>g</sup>	4.37 <sup>bc</sup>	4.43 <sup>b</sup>	2.78 <sup>h</sup>	2.91 <sup>gh</sup>	3.08 <sup>g</sup>	2.73 <sup>h</sup>
Met	4.48 <sup>c</sup>	4.95 <sup>d</sup>	5.40 <sup>a</sup>	5.90 <sup>a</sup>	5.21 <sup>b</sup>	5.02 <sup>cd</sup>	5.10 <sup>c</sup>	4.95 <sup>d</sup>	5.32 <sup>a</sup>	4.87 <sup>d</sup>	4.14 <sup>f</sup>	3.64 <sup>g</sup>	5.37 <sup>a</sup>	5.06 <sup>cd</sup>	5.56 <sup>a</sup>	4.85 <sup>d</sup>
Phe	5.94 <sup>b</sup>	6.20 <sup>f</sup>	7.07 <sup>c</sup>	7.90 <sup>a</sup>	6.29 <sup>e</sup>	6.30 <sup>c</sup>	6.05 <sup>g</sup>	6.03 <sup>gh</sup>	7.20 <sup>bc</sup>	6.62 <sup>d</sup>	5.05 <sup>j</sup>	5.45 <sup>i</sup>	7.61 <sup>a</sup>	6.26 <sup>ef</sup>	5.34 <sup>i</sup>	5.79 <sup>h</sup>
Thr	5.43 <sup>b</sup>	4.79 <sup>d</sup>	4.67 <sup>e</sup>	4.50 <sup>g</sup>	4.90 <sup>c</sup>	4.87 <sup>c</sup>	4.69 <sup>c</sup>	4.80 <sup>d</sup>	4.68 <sup>c</sup>	4.26 <sup>h</sup>	5.49 <sup>b</sup>	5.68 <sup>a</sup>	4.60 <sup>fg</sup>	4.30 <sup>h</sup>	4.51 <sup>g</sup>	4.54 <sup>g</sup>
Val	4.00 <sup>fg</sup>	3.95 <sup>g</sup>	4.37 <sup>e</sup>	5.13 <sup>a</sup>	4.75 <sup>c</sup>	4.55 <sup>d</sup>	4.10 <sup>f</sup>	3.98 <sup>g</sup>	4.97 <sup>b</sup>	4.09 <sup>d</sup>	3.50 <sup>h</sup>	3.64 <sup>b</sup>	4.97 <sup>b</sup>	5.18 <sup>a</sup>	5.13 <sup>a</sup>	4.90 <sup>f</sup>
His	3.52 <sup>gh</sup>	3.61 <sup>g</sup>	4.55 <sup>d</sup>	5.25 <sup>a</sup>	4.80 <sup>bc</sup>	4.53 <sup>d</sup>	4.72 <sup>cd</sup>	4.25 <sup>e</sup>	4.93 <sup>b</sup>	3.79 <sup>f</sup>	3.37 <sup>h</sup>	2.34 <sup>i</sup>	4.84 <sup>b</sup>	5.22 <sup>a</sup>	5.00 <sup>b</sup>	4.93 <sup>b</sup>
Trp	1.05 <sup>g</sup>	1.17 <sup>f</sup>	1.36 <sup>f</sup>	2.10 <sup>de</sup>	2.53 <sup>a</sup>	2.12 <sup>d</sup>	2.35 <sup>b</sup>	2.23 <sup>c</sup>	2.78 <sup>a</sup>	3.08 <sup>a</sup>	2.34 <sup>bc</sup>	1.91 <sup>e</sup>	2.89 <sup>a</sup>	2.58 <sup>a</sup>	2.96 <sup>a</sup>	2.78 <sup>a</sup>
Asid amino tak perlu (AATP)																
Ala	3.33 <sup>g</sup>	5.14 <sup>c</sup>	6.00 <sup>b</sup>	6.54 <sup>a</sup>	4.00 <sup>df</sup>	4.11 <sup>e</sup>	4.05 <sup>ef</sup>	3.88 <sup>ef</sup>	4.08 <sup>e</sup>	3.74 <sup>f</sup>	3.96 <sup>ef</sup>	4.13 <sup>e</sup>	3.98 <sup>ef</sup>	5.13 <sup>c</sup>	4.63 <sup>d</sup>	3.68 <sup>f</sup>
Arg	12.69 <sup>b</sup>	10.97 <sup>g</sup>	8.11 <sup>j</sup>	5.28 <sup>k</sup>	11.30 <sup>f</sup>	10.24 <sup>h</sup>	11.13 <sup>fg</sup>	13.25 <sup>a</sup>	11.20 <sup>fg</sup>	11.85 <sup>d</sup>	12.77 <sup>b</sup>	12.18 <sup>c</sup>	11.27 <sup>fg</sup>	9.42 <sup>i</sup>	11.63 <sup>c</sup>	12.18 <sup>c</sup>
Asp	9.72 <sup>b</sup>	9.41 <sup>bc</sup>	8.94 <sup>c</sup>	9.38 <sup>bc</sup>	7.24 <sup>e</sup>	9.25 <sup>bc</sup>	10.01 <sup>ab</sup>	10.20 <sup>ab</sup>	6.35 <sup>f</sup>	9.20 <sup>bc</sup>	10.49 <sup>a</sup>	11.24 <sup>a</sup>	6.26 <sup>f</sup>	8.19 <sup>d</sup>	7.72 <sup>d</sup>	7.17 <sup>e</sup>
Cys	0.88 <sup>b</sup>	0.77 <sup>cd</sup>	0.75 <sup>de</sup>	0.53 <sup>f</sup>	0.99 <sup>b</sup>	0.85 <sup>bc</sup>	0.79 <sup>c</sup>	0.81 <sup>c</sup>	0.98 <sup>b</sup>	1.68 <sup>a</sup>	0.67 <sup>ef</sup>	1.04 <sup>b</sup>	0.93 <sup>b</sup>	0.67 <sup>ef</sup>	0.60 <sup>ef</sup>	1.67 <sup>a</sup>
Glut	18.46 <sup>a</sup>	17.08 <sup>a</sup>	15.39 <sup>b</sup>	13.10 <sup>efg</sup>	14.18 <sup>c</sup>	14.25 <sup>c</sup>	12.19 <sup>g</sup>	12.06 <sup>g</sup>	12.24 <sup>g</sup>	12.88 <sup>fg</sup>	13.38 <sup>def</sup>	13.05 <sup>efg</sup>	12.32 <sup>fg</sup>	13.26 <sup>ef</sup>	13.62 <sup>d</sup>	13.48 <sup>de</sup>
Ser	7.40 <sup>bc</sup>	7.13 <sup>c</sup>	6.44 <sup>e</sup>	5.21 <sup>f</sup>	6.65 <sup>de</sup>	6.98 <sup>c</sup>	7.33 <sup>bc</sup>	6.99 <sup>c</sup>	6.35 <sup>c</sup>	6.63 <sup>de</sup>	7.43 <sup>bc</sup>	8.71 <sup>a</sup>	6.29 <sup>c</sup>	7.15 <sup>c</sup>	7.66 <sup>b</sup>	7.13 <sup>c</sup>
Tyr	3.46 <sup>d</sup>	4.28 <sup>c</sup>	5.03 <sup>a</sup>	4.99 <sup>a</sup>	4.59 <sup>bc</sup>	4.23 <sup>c</sup>	4.20 <sup>c</sup>	4.14 <sup>c</sup>	5.20 <sup>a</sup>	5.10 <sup>a</sup>	4.55 <sup>bc</sup>	4.81 <sup>a</sup>	5.06 <sup>a</sup>	4.74 <sup>ab</sup>	3.15 <sup>c</sup>	3.48 <sup>d</sup>
Pro	3.72 <sup>h</sup>	4.20 <sup>e</sup>	4.84 <sup>b</sup>	5.06 <sup>a</sup>	4.09 <sup>c</sup>	3.99 <sup>ef</sup>	3.97 <sup>ef</sup>	3.90 <sup>ef</sup>	4.64 <sup>cd</sup>	3.66 <sup>h</sup>	3.80 <sup>gh</sup>	3.23 <sup>j</sup>	4.59 <sup>d</sup>	4.14 <sup>e</sup>	3.40 <sup>i</sup>	4.53 <sup>d</sup>
Gly	5.57 <sup>de</sup>	5.73 <sup>c</sup>	5.36 <sup>e</sup>	5.11 <sup>f</sup>	5.29 <sup>c</sup>	5.53 <sup>de</sup>	6.28 <sup>b</sup>	5.92 <sup>b</sup>	5.12 <sup>f</sup>	5.54 <sup>de</sup>	6.27 <sup>b</sup>	7.14 <sup>a</sup>	5.16 <sup>ef</sup>	4.95 <sup>g</sup>	5.38 <sup>e</sup>	4.85 <sup>g</sup>
AAP	34.76 <sup>f</sup>	35.80 <sup>e</sup>	39.14 <sup>cd</sup>	44.79 <sup>ab</sup>	41.67 <sup>b</sup>	40.57 <sup>bc</sup>	40.05 <sup>c</sup>	38.85 <sup>d</sup>	43.84 <sup>a</sup>	39.73 <sup>cd</sup>	36.68 <sup>e</sup>	34.47 <sup>f</sup>	44.15 <sup>a</sup>	42.34 <sup>b</sup>	42.20 <sup>b</sup>	41.83 <sup>b</sup>
AAH	30.63 <sup>f</sup>	35.37 <sup>e</sup>	40.10 <sup>c</sup>	44.80 <sup>ab</sup>	38.43 <sup>d</sup>	37.26 <sup>de</sup>	36.54 <sup>e</sup>	35.74 <sup>e</sup>	42.51 <sup>b</sup>	37.86 <sup>d</sup>	33.41 <sup>f</sup>	32.28 <sup>f</sup>	42.66 <sup>b</sup>	41.34 <sup>bc</sup>	37.85 <sup>d</sup>	38.54 <sup>cd</sup>
AAR	13.98 <sup>e</sup>	15.24 <sup>d</sup>	18.00 <sup>bc</sup>	20.24 <sup>ab</sup>	18.21 <sup>bc</sup>	17.18 <sup>c</sup>	17.32 <sup>c</sup>	16.65 <sup>c</sup>	20.10 <sup>a</sup>	18.59 <sup>bc</sup>	15.30 <sup>d</sup>	14.50 <sup>de</sup>	20.40 <sup>a</sup>	18.80 <sup>b</sup>	16.45 <sup>cd</sup>	16.98 <sup>c</sup>



Jadual 5 menunjukkan kapasiti pemerangkapan radikal ABTS produk chia sebelum dan selepas pencernaan gastrousus. Sampel TCT menunjukkan aktiviti antioksidan yang paling rendah ( $5.24 \mu\text{M TE}$ ), ini mungkin berkait rapat dengan kadar keterlarutan protein yang rendah seperti yang dilaporkan oleh Khushairay et al. (2023). Keterlarutan protein adalah prasyarat menentukan kualiti teknofungsi dan bioaktiviti kerana hanya protein yang larut dapat menyediakan proton/elektron bagi menstabilkan radikal bebas (Chitprasert, Dumrongchai & Rodklongtan 2023). Sampel IPC menunjukkan nilai antioksidan yang lebih tinggi secara signifikan ( $66.25 \mu\text{M TE}$ ) berbanding TCT, namun tidak setinggi yang dicatatkan oleh sampel HPC ( $166.19 \mu\text{M TE}$ ) dan nHPC ( $167.14 \mu\text{M TE}$ ). Kesan sinergi antara peptida dan sebatian antioksidan sampel HPC dan nHPC dapat dikaitkan dengan perubahan konformasi protein akibat tindakan hidrolisis enzim alkalase yang membolehkan spesies reaktif untuk mengakses pusat nukleofilik protein yang sebelum ini tidak tersedia disebabkan oleh halangan sterik (de Morais et al. 2020). Pencernaan gastrik dilihat meningkatkan aktiviti ABTS sampel TCT dan IPC, namun sebaliknya pada sampel HPC. Sampel HPC mengandungi peptida ringkas yang lebih mudah tercerna berbanding protein kompleks dalam TCT dan IPC. Semasa pencernaan protein, peptida diuraikan dan asid amino dibebaskan bagi memberi isyarat untuk pergerakan motiliti gastrik dan usus serta perembesan jus pankreas (Amigo & Hernandez-Ledesma 2020). Degradasi lanjut peptida antioksidan dalam sampel HPC menyebabkan kerosakan sebatian aktif tersebut, mengakibatkan pembebasan lebih banyak asid amino bebas yang tidak lagi bersifat antioksidan. Walaupun secara statistik, terdapat penurunan signifikan ( $p < 0.05$ ) pada bacaan aktiviti ABTS bagi sampel nHPC selepas pencernaan gastrik, namun nilai penurunannya tidak terlalu besar ( $5.71 \mu\text{M TE}$ ). Kemerosotan ini mungkin berlaku akibat tindakan pengadunan mekanikal dan hidrolisis enzim pada persekitaran berasid jus gastrik (Latrobdiba, Fulyani & Anjani 2023) yang sedikit mengganggu kestabilan struktur nanoliposom pada nHPC. Malahan, pencernaan usus tidak memberikan kesan negatif yang signifikan kepada fraksi PUa sampel nHPC, menunjukkan bahawa sebatian aktif antioksidan dalam sampel ini tidak terdegradasi dalam persekitaran pencernaan usus. Walaupun ABTS dan DPPH bertindak dalam mekanisme

yang hampir sama (pemerangkapan radikal bebas), namun radikal ABTS dan DPPH mempunyai stereoselektiviti dan kelarutan yang berbeza dalam sistem akuas (Cho 2020). Perbezaan nilai aktiviti ABTS dan DPPH sebelum dan selepas pencernaan gastrousus berkait rapat dengan sifat protein/peptida bagi setiap sampel chia. Nilai bacaan ABTS lebih tinggi berbanding DPPH dalam kajian ini, menunjukkan keupayaan yang tinggi produk chia untuk menyingkirkan radikal bebas yang larut dalam air.

Kuasa penurunan ion ferik (FRAP) bagi produk chia sebelum dan selepas pencernaan gastrousus ditunjukkan dalam Jadual 6. Sampel HPC dan nHPC sebelum pencernaan menunjukkan potensi penurunan yang lebih tinggi ( $73.25$  dan  $77.81 \mu\text{M FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) berbanding sampel IPC dan TCT ( $53.16$  dan  $5.00 \mu\text{M FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ). Rawatan hidrolisis berenzim menggunakan enzim protease menyebabkan pemotongan ikatan peptida, menghasilkan biopeptida dengan potensi pendermaan elektron dan proton yang tinggi untuk mengekalkan potensi redoks (Islam et al. 2022). Tindakan pencernaan gastrousus meningkatkan kuasa penurunan FRAP bagi sampel TCT, namun sebaliknya berlaku pada sampel HPC. Dalam keadaan ini, tindakan enzim pencernaan pepsin dan tripsin mungkin telah menyebabkan peptida biotersedia dalam HPC mengalami agregasi, menyebabkan bilangan atau luas permukaan kumpulan hidrofobik menjadi terhad, seterusnya merendahkan potensi antioksidan (Shuai et al. 2022). Walau bagaimanapun, tindakan pencernaan gastrousus dilihat tidak mempengaruhi potensi antioksidan bagi sampel nHPC, menunjukkan bahawa rawatan nanopengkapsulan berjaya memelihara peptida antioksidan dalam hidrolisat chia daripada terdegradasi. Merujuk kepada fraksi PUa, sampel nHPC mencatatkan nilai antioksidan tertinggi ( $76.93 \mu\text{M FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) antara kesemua sampel. Menurut Nwachukwu dan Aluko (2019), hanya peptida kecil pada kepekatan nanomolar dan pikomolar, terutamanya di- dan tripeptida yang berupaya menembusi membran usus dan mencapai peredaran sistemik. Keputusan ini mencadangkan bahawa sampel nHPC mempunyai kebiotersediaan antioksidan yang baik dalam sistem badan manusia dengan potensi antioksidan dari fraksi PUa dapat menghalang tekanan oksidatif, seterusnya menyumbang kepada pemeliharaan dan pertumbuhan sel dan tisu tubuh manusia.

JADUAL 4. Aktiviti pemerangkapan radikal DPPH fraksi pencernaan produk chia

Sampel	ND	PG	PUa	PUB
TCT	4.76 ± 1.65 <sup>m</sup>	19.05 ± 3.30 <sup>l</sup>	24.76 ± 0.29 <sup>j</sup>	20.95 ± 0.00 <sup>k</sup>
IPC	42.49 ± 0.46 <sup>h</sup>	47.51 ± 0.52 <sup>g</sup>	50.12 ± 0.21 <sup>c</sup>	49.70 ± 0.17 <sup>f</sup>
HPC	70.38 ± 0.44 <sup>a</sup>	53.33 ± 1.44 <sup>d</sup>	43.81 ± 1.32 <sup>h</sup>	38.48 ± 2.38 <sup>i</sup>
nHPC	68.10 ± 0.82 <sup>b</sup>	67.62 ± 1.65 <sup>b</sup>	62.86 ± 3.30 <sup>c</sup>	60.95 ± 3.30 <sup>c</sup>

Nilai yang ditunjukkan adalah dalam min (µM TE) ± sisihan piawai (n=3). <sup>a-k</sup>Abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan bererti (p<0.05) antara sampel

JADUAL 5. Aktiviti pemerangkapan radikal ABTS fraksi pencernaan produk chia

Sampel	ND	PG	PUa	PUB
TCT	5.24 ± 1.65 <sup>m</sup>	22.38 ± 3.30 <sup>j</sup>	18.57 ± 0.40 <sup>k</sup>	7.14 ± 0.50 <sup>l</sup>
IPC	66.25 ± 1.22 <sup>i</sup>	72.17 ± 0.91 <sup>h</sup>	73.69 ± 1.03 <sup>g</sup>	73.22 ± 0.59 <sup>g</sup>
HPC	166.19 ± 2.18 <sup>a</sup>	108.10 ± 1.65 <sup>d</sup>	90.95 ± 3.30 <sup>c</sup>	77.62 ± 3.30 <sup>f</sup>
nHPC	167.14 ± 1.43 <sup>a</sup>	161.43 ± 2.86 <sup>b</sup>	159.52 ± 3.30 <sup>b</sup>	119.52 ± 3.30 <sup>c</sup>

Nilai yang ditunjukkan adalah dalam min (µM TE) ± sisihan piawai (n=3). <sup>a-m</sup>Abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan bererti (p<0.05) antara sampel

JADUAL 6. Kuasa penurunan ion ferik (FRAP) fraksi pencernaan produk chia

Sampel	ND	PG	PUa	PUB
TCT	5.00 ± 0.30 <sup>g</sup>	24.30 ± 6.08 <sup>f</sup>	41.84 ± 0.00 <sup>d</sup>	20.79 ± 0.10 <sup>f</sup>
IPC	53.16 ± 0.92 <sup>b</sup>	51.67 ± 1.22 <sup>b</sup>	40.12 ± 0.68 <sup>d</sup>	38.56 ± 0.89 <sup>c</sup>
HPC	73.25 ± 1.32 <sup>a</sup>	59.04 ± 0.61 <sup>b</sup>	42.66 ± 0.79 <sup>c</sup>	41.14 ± 1.22 <sup>d</sup>
nHPC	77.81 ± 1.5 <sup>1a</sup>	75.18 ± 3.04 <sup>a</sup>	76.93 ± 6.08 <sup>a</sup>	55.88 ± 6.08 <sup>b</sup>

Nilai yang ditunjukkan adalah dalam min (µM FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) ± sisihan piawai (n=3). <sup>a-g</sup>Abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan bererti (p<0.05) antara sampel

#### KESIMPULAN

Hasil kajian menunjukkan bahawa pencernaan gastrousus mempengaruhi sifat fizikokimia dan bioketersediaan antioksidan produk chia yang dikaji. Tindakan enzim pepsin dan tripsin telah menyebabkan peningkatan DH bagi kesemua sampel produk chia, kecuali nHPC, meningkatkan kandungan AAH dan AAR sampel TCT, serta menambahbaik potensi pemerangkapan radikal

DPPH dan ABTS sampel TCT dan IPC. Sampel nHPC lebih stabil secara biologi dengan keupayaan mengekalkan potensi antioksidan dalam persekitaran gastrousus. Rawatan berbeza yang diberikan terhadap setiap sampel mempengaruhi kesan fizikokimia dan kebiotersediaan protein/peptida. Tindakan pengkapsulan menggunakan vesikel nanoliposom didapati merupakan satu strategi yang berkesan untuk meningkatkan kebiotersediaan dan kestabilan biologi peptida bioaktif.

## PENGHARGAAN

Kajian ini telah dibiayai oleh Fundamental Research Grant Scheme (FRGS), nombor geran FRGS/1/2020/STG01/UKM/02/5 daripada Kementerian Pendidikan Tinggi (KPT) Malaysia.

## RUJUKAN

- Abdul Manan, M., Samat, N., Kasran, M. & Hassan, H. 2017. Proximate and amino acids composition of *Monascus* fermented products with potential as functional feed ingredients. *Cogent Food and Agriculture* 3(1): 1295767.
- Akbarian, M., Khani, A., Eghbalpour, S. & Uversky, V.N. 2022. Bioactive peptides: Synthesis, sources, applications, and proposed mechanism of action. *International Journal of Molecular Science* 23(3): 1445.
- Amigo, L. & Hernandez-Ledesma, B. 2020. Current evidence on bioavailability of food bioactive peptides. *Molecules* 25(19): 4479.
- Chitprasert, P., Dumrongchai, T. & Rodklongtan, A. 2023. Effect of *in vitro* dynamic gastrointestinal digestion on antioxidant activity and bioaccessibility of vitexin nanoencapsulated in vaterite calcium carbonate. *LWT* 173: 114366.
- Cho, S-J. 2020. Changes in the antioxidant properties of rice bran protein isolate upon simulated gastrointestinal digestion. *LWT* 126: 109206.
- Choudhry, R., Yasmin, A., Aslan, M.A., Iran, A., Ahmad, R.S., Saeed, F., Islam, F., Zahoor, T., Shah, M.A. & Rasool, A. 2023. Extraction of protein from apricot kernel oil press cake (AKOPC) through innovative techniques and the formulation of supplemented yogurt. *Food Science & Nutrition* 11(10): 6085-6095.
- Cotabarren, J., Rosso, A.M., Tellechea, M., Garcia-Pardo, J., Rivera, J.L., Obregon, W.D. & Parisi, M.G. 2019. Adding value to the chia (*Salvia hispanica* L.) expeller: Production of bioactive peptides with antioxidant properties by enzymatic hydrolysis with papain. *Food Chemistry* 15: 848-856.
- Daud, N., Babji, A.S., Abidin, I.K.Z., Muslim, M. & Yusop, S.M. 2022. Kesan masa pendidihan dan simulasi pencernaan ke atas protein dan hidrolisat protein yang dihasilkan daripada sarang burung walit spesies *Aeodramus fuciphagus*. *Sains Malaysiana* 51(7): 2295-2304.
- de Figueiredo, V.R.G., Yamashita, F., Vanzela, A.L.L., Ida, E.I. & Kurozawa, L.E. 2018. Action of multi-enzyme complex on protein extraction to obtain a protein concentrate from okara. *Journal of Food Science and Technology* 55(4): 1508-1517.
- de Morais, F.P.R., Pessato, T.B., Rodrigues, E., Mallmann, L.P., Mariutti, L.R.B. & Netto, F.M. 2020. Whey protein and phenolic compound complexation: Effects on antioxidant capacity before and after *in vitro* digestion. *Food Research International* 133: 109104.
- Gorissen, S.H.M., Crombag, J.J.R., Senden, J.M.G., Waterval, W.A.H., Bierau, J., Verdijk, L.B. & van Loon, L.J.C. 2018. Protein content and amino acid composition of commercially available plant-based protein isolates. *Amino Acids* 50(12): 1685-1695.
- Hou, Y., Yoon, Y., Oh, E., Sung, B. & Kim, Y. 2022. Effects of soy protein hydrolysates on antioxidant activity and inhibition of muscle loss. *International Food Research Journal* 29(6): 1458-1467.
- Ibrahim, E.S.K. & Ghani, M.A. 2020. The effect of enzymatic hydrolysis on the antioxidant activities and amino acid profiles of defatted chia (*Salvia hispanica* L.) flour. *Food Research* 4(Suppl. 4): 38-50.
- Ibrahim, E.S.K., Ghani, M.A. & Babji, A.S. 2021. Assessment of total phenolic content, antioxidative activities and amino acids profiles of low molecular weight chia hydrolysates fractions and identification of the potential antioxidant peptides sequences. *Bioscience Research* 18(SI-2): 8-25.
- Idowu, A.O., Famuwagun, A.A., Fagbemi, T.N. & Aluko, R.E. 2021. Antioxidant and enzyme-inhibitory properties of sesame seed protein fractions and their isolate and hydrolysate. *International Journal of Food Properties* 24(1): 780-795.
- Ijarotimi, O.S., Akinola-Ige, A.O. & Oluwajuyitan, T.D. 2023. Okra seeds proteins: Amino acid profile, free radical scavenging activities and inhibition of diabetes and antihypertensive converting enzymes indices. *Measurement: Food* 11: 100101.
- Islam, M., Huang, Y., Islam, S., Fan, B., Tong, L. & Wang, F. 2022. Influence of the degree of hydrolysis on functional properties and antioxidant activity of enzymatic soybean protein hydrolysates. *Molecules* 27(18): 6110.
- Khushairay, E.S.I., Ghani, M.A., Babji, A.S. & Yusop, S.M. 2023. The nutritional and functional properties of protein isolates from defatted chia flour using different extraction pH. *Foods* 12(16): 3046.
- Kut, K., Bartosz, G. & Sadowska-Bartoszyk, I. 2023. Denaturation and digestion increase the antioxidant capacity of proteins. *Processes* 11(5): 1362.
- Latrobdiba, Z.M., Fulyani, F. & Anjani, G. 2023. Liposome optimization for oral delivery of nutraceuticals in food: A review. *Food Research* 7(3): 233-246.
- Liang, X.R., Mao, X.Y., Wu, Q.Z., Zhang, J. & Zhu, X.R. 2022. Effects of simulated gastrointestinal digestion on chickpea protein, and its hydrolysate physicochemical properties, erythrocyte hemolysis inhibition, and chemical antioxidant activity. *International Food Research Journal* 30(1): 96-108.
- Liu, W-Y., Zhang, J-T., Miyakawa, T., Li, G-M., Gu, R-Z. & Tanokura, M. 2021. Antioxidant properties and inhibition of angiotensin converting enzyme by highly active peptides from wheat gluten. *Scientific Reports* 11: 5206.
- Markus, V., Paul, A.A., Terali, K., Oser, K., Marks, R.S., Golberg, K. & Kushmaro, A. 2023. Conversation in the gut: The role of quorum sensing in normobiosis. *International Journal of Molecular Sciences* 24(4): 3722.

- Marcinek, P. & Krejpcio, Z. 2017. Chia seed (*Salvia hispanica*): Health promoting properties and the therapeutic applications - A review. *Annals of the National Institute of Hygiene* 68: 123-129.
- Mariotti, F. & Gardner, C.D. 2019. Dietary protein and amino acids in vegetarian diets - A review. *Nutrients* 11(11): 2661.
- Nnamezie, A.A., Famuwagun, A.A. & Gbadamosi, S.O. 2021. Characterization of okra seed flours, protein concentrated, protein isolate and enzymatic hydrolysates. *Food Production, Processing and Nutrition* 3: 14.
- Nwachukwu, I.D. & Aluko, R.E. 2019. Structural and functional properties of food protein-derived antioxidant peptides. *Journal of Food Biochemistry* 43: e12761.
- Ozon, B., Cotabarren, J., Valicenti, T., Parisi, M.G. & Obregon, W.D. 2022. Chia expeller: A promising source of antioxidant, antihypertensive and antithrombotic peptides produced by enzymatic hydrolysis with Alcalase and flavourzyme. *Food Chemistry* 380: 132185.
- Pelaez, P., Orona-Tamayo, D., Montes-Hernández, S., Valverde, M.E., Paredes-López, O. & Cibrián-Jaramillo, A. 2019. Comparative transcriptome analysis of cultivated and wild seeds of *Salvia hispanica* (chia). *Scientific Reports* 9(1): 9761.
- Rabail, R., Khan, M.R., Mehwish, H.M., Rajoka, M.S.R., Lorenzo, J.M., Kieliszek, M., Khalid, A.R., Shabbir, M.A. & Aadil, R.M. 2021. An overview of chia seed (*Salvia hispanica* L.) bioactive peptides' derivation and utilization as an emerging nutraceutical food. *Frontiers in Bioscience Landmark* 9: 643-654.
- Shahi, Z., Sayyed-Alangi, S.Z. & Najafian, L. 2020. Effects of enzyme type and process time on hydrolysis degree, electrophoresis bands and antioxidant properties of hydrolyzed protein derived from defatted *Bunium persicum* Bioss. press cake. *Heliyon* 6(2): e03365.
- Shao, L.L., Xu, J., Shi, M.J., Wang, X.L., Li, Y.T., Kong, L.M. & Zhou, T. 2017. Preparation, antioxidant and antimicrobial evaluation of hydroxamated degraded polysaccharides from *Enteromorpha prolifera*. *Food Chemistry* 237: 481-487.
- Shuai, X., Gao, L., Geng, Q., Li, T., He, X., Chen, J., Liu, C. & Dai, T. 2022. Effects on moderate enzymatic hydrolysis on structure and functional properties of pea protein. *Foods* 11(15): 2368.
- Sun, X., Acquah, C., Aluko, R.E. & Udenigwe, C.C. 2020. Considering food matrix and gastrointestinal effects in enhancing bioactive peptide absorption and bioavailability. *Journal of Functional Foods* 64: 103680.
- Tabatabaei, S., Vitelli, M., Rajabzadeh, A.R. & Legge, R.L. 2017. Analysis of protein enrichment during single- and multi-stage tribo-electrostatic bioseparation processes for dry fractionation of legume flour. *Separation and Purification Technology* 176: 48-58.
- Vinayashree, S. & Vasu, P. 2021. Biochemical, nutritional and functional properties of protein isolate and fractions from pumpkin (*Cucurbita moschata* var. Kashi Harit) seeds. *Food Chemistry* 340(2): 128177.
- Wang, B., Xie, N.N. & Li, B. 2019. Influence of peptide characteristics on their stability, intestinal transport, and *in vitro* bioavailability: A review. *Journal of Food Biochemistry* 43(1): e12571.
- Wootton-Beard, P.C., Moran, A. & Ryan, L. 2011. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after *in vitro* digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. *Food Research International* 44: 217-224.
- Xu, J., Jiang, S., Liu, L., Zhao, Y. & Zeng, M. 2021. Encapsulation of oyster protein hydrolysates in nanoliposomes: Vesicle characteristics, storage stability, *in vitro* release, and gastrointestinal digestion. *Journal of Food Science* 86(3): 960-968.
- Zain, N.M., Ghani, M.A., Kasim, Z.M. & Hashim, H. 2021. Effects of different drying methods on the functional properties and physicochemical characteristics of chia mucilage powder (*Salvia hispanica* L.). *Sains Malaysiana* 50(12): 3603-3615.
- Zielinska, E., BaRaniak, B. & Karas, M. 2017. Antioxidant and anti-inflammatory activities of hydrolysates and peptide fractions obtained by enzymatic hydrolysis of selected heat-treated edible insects. *Nutrients* 9: 970.

\*Pengarang untuk surat menyurat; email: salma\_my@ukm.edu.my