

تأثیر پیش تیمار فراصوت بر زمان هیدرولیز پروتئین قارچ خوراکی دکمه‌ای توسط آنزیم پانکراتین جهت تولید پپتیدهای آنتی‌اکسیدانی

آیسان ایزانلو^۱، علیرضا صادقی ماهونک^{۱*}

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
* نویسنده مسئول (sadeghiaz@gau.ac.ir)

چکیده

فراصوت به‌عنوان یک فناوری ارزان، می‌تواند پیش‌تیمار جهت کوتاه‌کردن زمان در هیدرولیز پروتئین‌ها مورد استفاده قرار گیرد. هدف از این پژوهش بررسی اثر زمان هیدرولیز و پیش‌تیمار فراصوت بر هیدرولیز آنزیمی پروتئین قارچ دکمه‌ای به‌وسیله آنزیم پانکراتین جهت تولید هیدرولیزهای با قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالا بود. جهت انجام پژوهش ابتدا قارچ دکمه‌ای به پودر تبدیل و سپس عمل هیدرولیز در زمان‌های ۳۰ تا ۲۱۰ دقیقه با نسبت آنزیم به سوبسترای ۱ درصد و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در سه وضعیت بدون پیش‌تیمار و با پیش‌تیمار فراصوت با توان ۴۰ و ۸۰ درصد صورت گرفت. افزایش توان تیمار فراصوت باعث افزایش قابلیت مهار رادیکال آزاد ۲و۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل‌هیدرازیل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در زمان‌های هیدرولیز کوتاه‌تر گردید. بالاترین میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در نمونه‌های تیمارنشده و تیمار شده توسط فراصوت با توان ۴۰ و ۸۰ درصد به‌ترتیب ۳۹/۹۶، ۴۲/۹۱ و ۴۷/۷۶ درصد مشاهده شد. بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در نمونه‌های تیمارنشده و تیمار شده توسط فراصوت با توان ۴۰ و ۸۰ به‌ترتیب ۱/۶۴، ۱/۷۳ و ۱/۹۸ (جذب در ۶۹۵ نانومتر) بود. همچنین بالاترین میزان قدرت احیاکنندگی یون آهن در نمونه‌های تیمارنشده و تیمار شده توسط فراصوت ۴۰ و ۸۰ درصد به‌ترتیب ۲/۶۱، ۲/۸۴ و ۲/۹۰ (جذب در ۷۰۰ نانومتر) مشاهده شد. این نتایج نشان داد که نمونه‌های پیش‌تیمار شده با فراصوت با توان ۸۰ درصد نسبت به نمونه‌های بدون پیش‌تیمار و پیش‌تیمار شده با فراصوت با توان ۴۰ درصد بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را دارا می‌باشند. بنابراین استفاده از پیش‌تیمار فراصوت با توان بالا موجب کوتاه‌نمودن زمان هیدرولیز جهت دستیابی به پپتیدهای با قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر و افزایش کارایی هیدرولیز می‌گردد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۲۱
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۰/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۰۱
تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۲/۰۱/۱۱

واژه‌های کلیدی

پیش‌تیمار فراصوت
قارچ خوراکی دکمه‌ای
هیدرولیز آنزیمی
ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی



مقدمه

مطالعه‌های اخیر حاکی از آن است که یک رژیم غذایی مناسب، فراتر از نیازهای تغذیه‌ای، بر تنظیم و تعدیل فعالیت‌های فیزیولوژیکی بدن اثرگذار است و در پیشگیری از بروز بیماری‌ها نقش مؤثری را ایفا می‌کند. پپتیدهای زیست‌فعال، توالی‌های پروتئینی کمتر از ۲۰ اسید آمینه با وزن مولکولی کمتر از ۶۰۰۰ دالتون می‌باشند (Parhizkari *et al.*, 2019)، این پپتیدها درون پروتئین اولیه غیرفعال

تحقیق‌های مختلف طی سال‌های گذشته نشان داده است که ارتباط مستقیمی بین تغذیه و سلامت وجود دارد (Parhizkari *et al.*, 2019). در حال حاضر رژیم غذایی، ضمن تأمین رضایت مصرف‌کنندگان، موجب تأمین مواد غذایی مورد نیاز بدن و همچنین برطرف ساختن نیازهای متابولیکی گردیده و همچنین دارای اثرات سلامت‌بخش است.

گسترده‌ای برای استخراج پروتئین و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌شود (Wen *et al.*, 2018). علاوه بر این، فراصوت همراه با تکنیک‌های دیگر برای کمک به استخراج توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده است. گزارش شده است که فراصوت می‌تواند به‌طور قابل توجهی هیدرولیز آنزیمی و خواص پروتئین‌ها را بهبود بخشد (Wang *et al.*, 2016). فرایند فراصوت تأثیری روی ساختار اولیه پروتئین ندارد، با این حال موجب تغییر در ساختار ۳ام و ۴ام پروتئین می‌گردد که این امر در ویژگی‌های عملکردی و زیست‌فعالی آن تأثیرگذار است (Walters, 2019).

در زمینه تولید پروتئین‌های هیدرولیز شده تحقیق‌های زیادی انجام شده است. به‌عنوان نمونه Wang و همکاران (۲۰۲۱)، در بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی با هیدرولیز آنزیمی پروتئین گوش ماهی با آنزیم‌های آلکالاز، پپسین و دیپاز گزارش کردند که پروتئین هیدرولیز شده حاصل از فعالیت آنزیم آلکالاز در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی براساس مهار رادیکال ۲و۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل‌هیدرازیل (DPPH^۵) و ۲و۲-آزینوبیس (۳-تیل‌بنزوتیازولین-۶-سولفونیک اسید (ABTS^۶)) بیشتری بود. تحقیق‌ها نشان داده است که استفاده از پیش‌ تیمار فراصوت روی پروتئین جوانه گندم بدون چربی قبل از هیدرولیز آنزیمی، غلظت پپتید بالاتری را در پروتئین هیدرولیز شده نسبت به نمونه بدون پیش‌ تیمار فراصوت نشان داد (Qu *et al.*, 2013).

مکانیسم فراصوت به تأثیر حرارتی، کاویتاسیون و کارایی مکانیکی آن نسبت داده می‌شود به‌طوری‌که می‌تواند باعث افزایش انتقال جرم و افزایش تماس بین سوبسترا و آنزیم یا تغییر در ساختار فضایی سوبسترا گردد (Chandrapala *et al.*, 2012). پیش‌ تیمار فراصوت قبل از هیدرولیز آنزیمی می‌تواند باعث باز شدن ساختار پروتئین و افزایش شدت پروتولیز از طریق افزایش در معرض قرارگیری باندهای پپتیدی مستعد به هیدرولیز آنزیمی گردد؛ این امر باعث افزایش کارایی در تولید پپتیدهای زیست‌فعال می‌گردد (Kadam *et al.*, 2015). مطالعه‌های اخیر نشان داده است که پیش‌ تیمار فراصوت می‌تواند آزادسازی پپتیدهای مهارکننده آنزیم مبدل آنژیوتانسین را از پروتئین ذرت (Ren *et al.*, 2014)، گلوتن گندم (Jia

هستند و به‌وسیله هیدرولیز آنزیمی در دستگاه گوارش، فراوری مواد غذایی و هیدرولیز توسط آنزیم‌های تجاری یا میکروارگانیسم‌های پروتئولیتیک طی فرایند تخمیر از توالی پروتئینی اولیه تولید می‌گردند. در میان روش‌های ذکر شده، هیدرولیز آنزیمی، مرسوم‌ترین شیوه تولید این ترکیبات ارزشمند می‌باشد (Piri *et al.*, 2015). در صنعت مواد غذایی، از آنتی‌اکسیدان‌ها برای افزایش پایداری مواد غذایی مستعد اکسیداسیون استفاده می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند هیدروکسی آنیزول بوتیل (BHA^۱)، هیدروکسی تولوات بوتیل (BHT^۲)، پروپیل گالات (PG^۳) و ترت‌بوتیل هیدروکینون (TBHQ^۴) به‌دلیل نگرانی‌های مرتبط با عوارض نامطلوب آنها بر سلامت انسان، تحت کنترل و نظارت شدید هستند. در سال‌های اخیر، افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان در ارتباط بین سلامت و رژیم غذایی موجب شده است تقاضا برای غذاهای فراسودمند افزایش یابد (FitzGerald & Meisel, 2000). پپتیدهای زیست‌فعال مشتق شده از غذا می‌توانند نقش مهمی در سیستم‌های اکسیداتیو داشته باشند و همچنین از بدن انسان در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت کرده و باعث به‌تأخیر افتادن پیشرفت بسیاری از بیماری‌های مزمن مانند اختلالات مغزی، سرطان، چاقی و بیماری‌های قلبی-عروقی می‌شوند (Fiaschi & Chiarugi, 2012). خصوصیات پروتئین هیدرولیز شده به عوامل زیادی از جمله نوع سوبسترا، شرایط هیدرولیز (دما، زمان و pH) نوع آنزیم و نوع فرایند پیش‌ تیمار پروتئین بستگی دارد. فرایندهای هیدرولیز آنزیمی دارای معایبی از جمله کارایی پایین آنزیم، زمان طولانی فرایند آنزیمی و نرخ پایین تبدیل سوبسترا به محصول می‌باشند (Zhou *et al.*, 2017). در نتیجه امروزه از روش‌های مختلف نظیر امواج فراصوت، مایکروویو، انجماد، فرایند فشار بالا و غیره برای پیش‌ تیمار پروتئین و رفع مشکلات فوق استفاده می‌شود (Li *et al.*, 2017). علاوه بر این، کاربرد پیش‌ تیمار باعث بهبود دسترسی آنزیم به نقاط شکست سوبسترا و افزایش درجه هیدرولیز می‌گردد (Pan *et al.*, 2016). استفاده ترکیبی از پیش‌ تیمار و هیدرولیز آنزیمی باعث ایجاد تغییراتی در خصوصیات فیزیکی و شیمیایی پروتئین‌های هیدرولیز شده می‌شود (Chen *et al.*, 2011). فراصوت، به‌عنوان یک فناوری سبز و ارزان، به‌طور

⁵ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

⁶ 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

¹ Butylated hydroxyanisole

² Butylated hydroxytoluene

³ Propyl gallate

⁴ Tertiary butylhydroquinone

از اجزای تغذیه‌ای مهم قارچ پروتئین است، در نتیجه می‌تواند منبع خوبی جهت تولید پپتیدهای زیست‌فعال باشد (Lavi et al., 2012).

هدف از این پژوهش بررسی اثر زمان هیدرولیز و تأثیر پیش تیمار فراصوت بر هیدرولیز آنزیمی پروتئین قارچ دکمه‌ای^۱ به وسیله آنزیم پانکراتین در جهت تولید پپتیدهای آنتی‌اکسیدان بود.

مواد و روش‌ها

مواد

آنزیم پانکراتین، DPPH، پتاسیم فری سیانید، فریک کلراید، اسید تری کلرواستیک، اسید آسکوربیک از شرکت سیگما (ساخت آمریکا)، اتانول ۹۶ درصد، سود، اسید کلریدریک، پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات، $FeCl_2$ ، اسید فسفریک (شرکت مرک، ساخت آلمان) و قارچ خوراکی دکمه‌ای از بازار محلی (میدان تره‌بار استان تهران) تهیه شدند.

آماده‌سازی قارچ خوراکی

قارچ‌های خریداری شده ابتدا شسته و قطعه‌قطعه، سپس توسط آب داغ (دکای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) آنزیم‌بری (فروربردن در آب جوش به مدت ۳ دقیقه و سپس فروربردن در آب یخ) شدند. سپس در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در آون (ممرت، ساخت آلمان) تا زمانی که رطوبت آنها به زیر ۱۰ درصد برسد، خشک شدند. در نهایت قارچ‌های خشک‌شده به کمک آسیاب آزمایشگاهی تبدیل به پودر شدند و پس از عبور از الک با مش ۸۰ در کیسه‌های پلی‌پروپیلنی بسته‌بندی و تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شدند (He et al., 2012).

اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی

اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی با استفاده از روش AOAC (۱۹۷۰) انجام شد. برای تعیین میزان پروتئین کل در پودر قارچ، از دستگاه کلدال (S3، بهر، ساخت آلمان)، میزان خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی (FX118-30، نابترم، ساخت آلمان) و میزان رطوبت با قراردادن در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت، تعیین شد.

(et al., 2010) و همچنین پپتیدهای آنتی‌اکسیدانی از پروتئین بادام‌زمینی (Yu et al., 2012) و گلوتن گندم (Zhu et al., 2011) را تسهیل کند. کاربرد فراصوت بازده استخراج پلی‌فنول‌ها و درجه هیدرولیز را در کنسانتره‌ها و ایزوله‌های پروتئینی افزایش داده و به بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها کمک می‌کند (Wang et al., 2015)، که این عمل از طریق اثرات شیمیایی، مکانیکی و فیزیکی کاویتاسیون صوتی انجام می‌گیرد (Li et al., 2018). تیمار با فراصوت باعث تغییر ساختار سه‌بعدی پروتئین‌ها می‌شود. در نتیجه، ترکیبی از پیش تیمار با فراصوت و هیدرولیز آنزیمی متوالی می‌تواند راهی امیدوارکننده برای اصلاح عملکرد پروتئین‌های کروی باشد (Chen et al., 2011).

Janakat و همکاران (۲۰۰۴) با استفاده از پیش تیمار فراصوت توزیع وزن مولکولی و آنالیز پروفایل اسیدآمینه پروتئین هیدرولیز شده ذرت را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که تشکیل پپتیدهای زنجیر کوتاه با وزن مولکولی ۲۰۰ تا ۳۰۰۰ دالتون و همچنین پپتیدهای حاوی اسیدهای آمینه آب‌گریز پس از پیش تیمار فراصوت افزایش یافت.

قارچ‌ها به‌عنوان یکی از قدیمی‌ترین مواد غذایی با ارزش غذایی مناسب در نظر گرفته می‌شود، و ارزش غذایی آنها قابل مقایسه با ماهی و گوشت، می‌باشد (Obob & Shodehinde, 2009). قارچ منبع مناسبی از اسیدهای آمینه ضروری متعدد، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی و غیره است و به‌همین دلیل مصرف آن روبه‌افزایش است. از نظر ارزش غذایی کلاهی قارچ به‌طور متوسط دارای رطوبت $90/76 \pm 0/34$ درصد می‌باشد و میزان سایر اجزا بر مبنای وزن خشک شامل پروتئین $33/65 \pm 0/15$ ، چربی $2/48 \pm 0/20$ ، کربوهیدرات $20/59 \pm 0/27$ ، فیبر $33/0 \pm 11/11$ و خاکستر $10/17 \pm 0/20$ درصد می‌باشد. ساقه قارچ به‌طور متوسط شامل رطوبت $90/01 \pm 0/27$ درصد می‌باشد و میزان سایر اجزا بر مبنای وزن خشک شامل پروتئین $19/01 \pm 0/24$ ، چربی $2/0 \pm 0/24$ ، کربوهیدرات $31/41 \pm 0/42$ ، فیبر $38/08 \pm 0/18$ و خاکستر $9/5 \pm 0/22$ درصد می‌باشد. باتوجه‌به ویژگی‌های ذکر شده، قارچ می‌تواند به‌عنوان منبع مناسبی از مواد مغذی و ترکیبات سلامتی‌زا در صنایع غذایی گوناگون کاربرد داشته باشد (Obob & Shodehinde, 2009). یکی

¹ *Agaricus bisporus*

تولید پروتئین هیدرولیز شده

جهت انجام هیدرولیز با پانکراتین از روش Paisansak و همکاران (۲۰۲۱)، استفاده شد. ۵۰ گرم پودر قارچ را در بالن حجمی توزین و در ۱۰۰۰ میلی لیتر بافر فسفات (pH=۸) مخلوط گردید. سپس به منظور بهینه سازی تولید پروتئین های هیدرولیز شده با حداکثر فعالیت آنتی اکسیدانی، عمل هیدرولیز طی زمان های ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰، ۱۸۰ و ۲۱۰ دقیقه با نسبت آنزیم به سوبسترای ۱ درصد (بر مبنای پژوهش های قبلی) و در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد در سه وضعیت صورت گرفت. حالت اول نمونه بدون پیش تیمار فراصوت، حالت دوم همراه با پیش تیمار فراصوت با توان ۴۰ درصد و حالت سوم همراه با پیش تیمار فراصوت با توان ۸۰ درصد توسط پروب فراصوت (توان ۲۰۰ وات و فرکانس ۲۴ کیلوهرتز (مدل UP 200H Ultraschallprozessor، ساخت آلمان)) در زمان ۵ دقیقه قبل از افزودن آنزیم انجام گرفت (لازم به ذکر است که انتخاب توان فراصوت بر مبنای آزمون های اولیه صورت گرفت). پس از اتمام زمان هیدرولیز به منظور غیرفعال کردن آنزیم، محلول پروتئینی تلفیح شده با آنزیم در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب قرار داده شد تا آنزیم غیرفعال شود. هر تیمار به طور جداگانه در سانتریفیوژ یخچال دار (هانیل، ساخت کره جنوبی) با ۵۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی گراد برای مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد و سوپرناتانت حاصل با خشک کن انجمادی (وپرون، ساخت کره جنوبی) برای به دست آوردن پودر پروتئین هیدرولیز شده خشک گردید. سپس پودر حاصل تا زمان استفاده در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد در فریزر آزمایشگاهی به مدت حداکثر ۶ ماه نگهداری شد. در مرحله بعد قابلیت آنتی اکسیدانی پروتئین های هیدرولیز شده در زمان های مختلف توسط روش های فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH، قدرت احیای یون آهن و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل اندازه گیری گردید.

فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

ابتدا پودرهای هیدرولیز شده در آب مقطر با نسبت ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر حل شدند. سپس، ۱/۵ میلی لیتر از هر نمونه با ۱/۵ میلی لیتر از محلول اتانول (۰/۱۵ میکرومول) DPPH مخلوط و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شد. سپس، مخلوط حاصل در ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت

۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. جذب محلول سوپرناتانت در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد (Chi et al., 2015). درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از رابطه (۱) محاسبه گردید:

$$\text{درصد مهار رادیکال DPPH} = \left[\frac{A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{blank}}} \right] \times 100$$

در رابطه (۱)، A_{blank} : جذب نمونه کنترل (حجم یکسانی از آب مقطر به جای نمونه با محلول DPPH مخلوط می شود) و A_{sample} : جذب نمونه می باشد.

قدرت احیاکنندگی یون آهن

ابتدا پودرهای هیدرولیز شده در آب مقطر با نسبت ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر حل شدند. سپس ۱ میلی لیتر از هر نمونه با ۲/۵ میلی لیتر از بافر فسفات ۰/۲ مولار (pH=۶/۶) و ۲/۵ میلی لیتر از فری سیانید پتاسیم ۱ درصد مخلوط گردید و در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شد. پس از آن، ۰/۵ میلی لیتر محلول اسید تری کلرواستیک ۱۰ درصد به مخلوط اضافه و ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۱ میلی لیتر سوپرناتانت با ۱ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۲ میلی لیتر فریک کلراید ۰/۱ درصد (حجمی/وزنی) مخلوط گردید. در نهایت جذب نمونه در ۷۰۰ نانومتر پس از ۱۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط خوانده شد. حجم یکسانی از آب مقطر به جای نمونه، برای تهیه نمونه کنترل استفاده شد. افزایش جذب مخلوط واکنش نشان دهنده افزایش قدرت احیاکنندگی است (Bougatef et al., 2009).

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

ابتدا ۰/۱ میلی لیتر از نمونه حل شده در آب مقطر با نسبت ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر با ۱ میلی لیتر از معرف (اسید سولفوریک ۰/۶ مولار، فسفات سدیم ۲۸ میلی مولار و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی مولار) در لوله اپندورف ریخته و به مدت ۹۰ دقیقه در حمام آب در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن، جذب نمونه ها در ۶۹۵ نانومتر خوانده شد. از آب مقطر دوبار تقطیر به عنوان نمونه شاهد استفاده شد. جذب بیشتر نشان دهنده ظرفیت آنتی اکسیدانی کل بیشتر است (Prieto et al., 1999).

تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش اثر زمان‌های مختلف هیدرولیز (۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰، ۱۸۰ و ۲۱۰ دقیقه) بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده قارچ خوراکی و همچنین تأثیر پیش تیمار فراصوت و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی با کاربرد آنالیز واریانس یک‌طرفه و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ مورد ارزیابی قرار گرفت. تمام آزمون‌ها در ۳ تکرار و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن جهت بررسی معنی‌دار بودن متغیر در $P < 0/05$ و رسم نمودارها نیز با نرم‌افزار Microsoft Excel نسخه ۲۰۱۳ انجام گرفت.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی

ترکیبات شیمیایی پودر قارچ در جدول (۱) نشان داده شده است.

تأثیر زمان هیدرولیز و پیش تیمار فراصوت روی مهار رادیکال آزاد DPPH

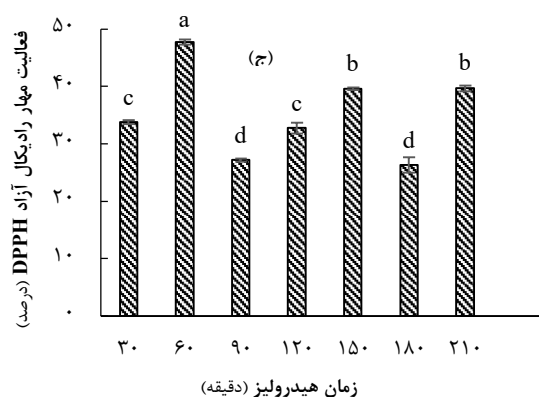
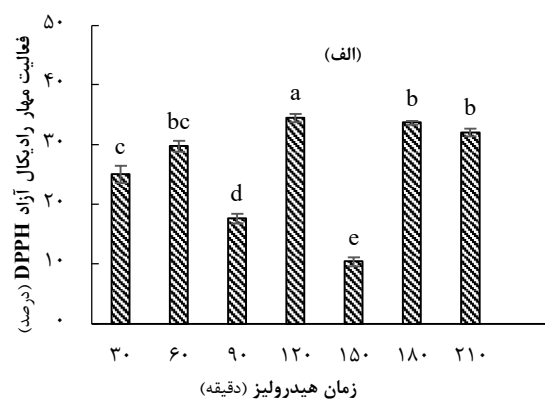
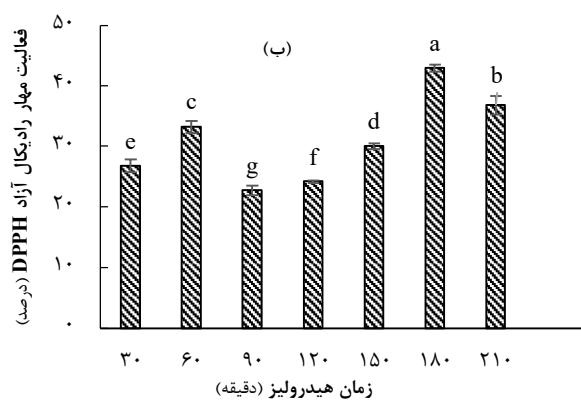
آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند با رادیکال‌های آزاد تعامل داشته

باشند و گونه‌های پایداری را تشکیل دهند که به اکسیداسیون پایان می‌دهند (You et al., 2009). رادیکال آزاد DPPH، به‌طور گسترده‌ای برای ارزیابی ترکیبات احیاکننده مورد استفاده قرار گرفته است. شکل (۱) قابلیت مهار رادیکال آزاد DPPH نمونه‌های پروتئین هیدرولیز شده بدون پیش تیمار فراصوت، پروتئین هیدرولیز شده با تیمار فراصوت با توان ۴۰ درصد و پروتئین هیدرولیز شده با تیمار فراصوت با توان ۸۰ درصد تحت تأثیر زمان هیدرولیز نشان داده شده است.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی پودر قارچ و پروتئین هیدرولیز شده قارچ خوراکی

پودر قارچ	نوع ترکیب
۲۶/۰ ± ۰/۱۷	پروتئین (N×۶/۲۵)
۳/۸۰ ± ۰/۱۵	چربی
۶/۰۲ ± ۰/۵۲	رطوبت
۷/۶۶ ± ۰/۱۲	خاکستر
۵۵/۹۲ ± ۰/۱۵	کربوهیدرات (اختلاف از سایر ترکیبات)

* داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار در سه تکرار بیان شده است. اعداد بر مبنای وزن خشک گزارش شدند.



شکل ۱- قابلیت مهار رادیکال آزاد DPPH نمونه‌های (الف) پروتئین هیدرولیز شده بدون پیش تیمار فراصوت، (ب) پروتئین هیدرولیز شده با تیمار فراصوت با توان ۴۰ درصد و (ج) پروتئین هیدرولیز شده با تیمار فراصوت با توان ۸۰ درصد در زمان‌های مختلف هیدرولیز. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار در سه تکرار بیان شده است. حروف متفاوت روی تیرک‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری آماری می‌باشد ($P < 0/05$).

شکل (۱-ج) بالاترین میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در نمونه‌های تیمار شده با فراصوت با توان ۸۰ درصد در زمان هیدرولیز ۶۰ دقیقه به میزان ۴۷/۷۶ درصد مشاهده شد. باتوجه به نتایج و مقایسه با تیمارهای قبلی، افزایش توان تیمار فراصوت باعث افزایش قابلیت مهار رادیکال آزاد DPPH در زمان‌های هیدرولیز کوتاه‌تر گردید. در اغلب زمان‌های هیدرولیز، قابلیت مهار رادیکال آزاد DPPH در تیمار فراصوت با توان ۸۰ درصد بالاتر از نمونه‌های تیمار نشده و تیمار شده با فراصوت با توان ۴۰ درصد بود.

پیش تیمار فراصوت موجب شد که در طول هیدرولیز، بخش‌های پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا به بخش‌هایی با وزن مولکولی نسبتاً کوچک با ظرفیت اهدای الکترون تجزیه شوند و بنابراین می‌توانند با رادیکال‌های آزاد واکنش داده و آنها را به محصولاتی با ثبات‌تر تبدیل کنند، بنابراین موجب توقف واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون می‌گردند (Aderinola et al., 2019). فراصوت موجب بهبود فعالیت به‌دام‌انداختن رادیکال‌های آزاد می‌گردد، که این امر توسط محققین مختلف گزارش شده است (Nadeem et al., 2018).

مطالعه Guerra-Almonacid و همکاران (۲۰۱۹)، در مورد تأثیر پیش تیمار فراصوت روی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش فشارخون (بازدارندگی آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین^۱ (ACE)) پروتئین‌های هیدرولیز شده اریترینا / ادولیس^۲ نشان داد که در نمونه‌های تیمار شده با فراصوت درصد بازدارندگی ACE در نمونه‌های تیمار شده با فراصوت بالاتر از نمونه‌های تیمار نشده بود (۵۷/۳ درصد در مقایسه با ۵۰/۷ درصد). همچنین آنها بیان کردند این تفاوت‌ها ناشی از نیروهایی است که می‌توانند منجر به شکست زنجیره‌های مولکول‌های پروتئین و همچنین باعث بهبود پروتئولیز و آزادسازی پپتیدها می‌شوند. Guerra-Almonacid و همکاران (۲۰۱۹) گزارش دادند که پیش تیمار فراصوت با فرکانس ثابت ۴۰ کیلوهرتز فعالیت مهاری ACE هیدرولیز شده‌ها را تا ۹۷ درصد نسبت به نمونه شاهد افزایش داد. فرایند فراصوت طی هیدرولیز موجب کاهش وزن مولکولی همراه با در معرض قرارگیری مقادیر بالاتر اسیدهای آمینه آب‌گریز و همچنین موجب تقویت برهم‌کنش پپتید با مولکول DPPH می‌گردد. مطالعه Guerra-Almonacid و همکاران (۲۰۱۹)، نشان داد که پروتئین‌های هیدرولیز شده اریترینا / ادولیس تیمار شده با فراصوت نسبت به نمونه‌های تیمار نشده دارای بالاترین فعالیت‌های مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS

باتوجه به شکل (۱-الف) بالاترین میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در نمونه‌های تیمار نشده در زمان هیدرولیز ۱۲۰ دقیقه به میزان ۳۹/۹۱ درصد مشاهده گردید. با افزایش زمان هیدرولیز ابتدا قابلیت مهار رادیکال DPPH افزایش و سپس کاهش و مجدد افزایش یافت که دلیل این افزایش، پیشرفت هیدرولیز و تولید پپتیدهای آنتی‌اکسیدان می‌باشد. به‌طور کلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیز شده به‌منع پروتئین، نوع پروتئاز، شرایط آماده‌سازی نمونه و نوع پیش تیمار در فرایند تولید پپتیدها بستگی دارد (Mine et al., 2010).

Meshginfar و همکاران (۲۰۱۴)، گزارش کردند که فرایند هیدرولیز باعث رها شدن پپتیدهای آنتی‌اکسیدان از پروتئین می‌شود اما افزایش زمان هیدرولیز و اثر بیشتر آنزیم منجر به شکستن تعدادی از پپتیدهای آنتی‌اکسیدان تولید شده در مراحل اولیه هیدرولیز می‌گردد در نتیجه از فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH کاسته می‌شود. ممکن است پیشرفت هیدرولیز و تأثیر آنزیم بر پپتیدهای تولید شده در مراحل اولیه منجر به تخریب پپتیدهایی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا شده است، در نتیجه قابلیت آنتی‌اکسیدانی تولیدی در مراحل بعدی کاهش یافته است. در شکل (۱-ب و ج) به ترتیب قابلیت مهار رادیکال آزاد DPPH در نمونه‌های تیمار شده با فراصوت با توان‌های ۴۰ و ۸۰ درصد تحت تأثیر زمان هیدرولیز نشان داده شده است.

بالاترین میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در نمونه‌های تیمار شده با فراصوت با توان ۴۰ درصد در زمان ۱۸۰ دقیقه به میزان ۴۲/۹۲ درصد مشاهده شد. با مقایسه نتایج این بخش با نمونه‌های تیمار نشده مشخص می‌شود که میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در زمان‌های ابتدایی هیدرولیز در نمونه‌های تیمار شده با فراصوت با توان ۴۰ درصد بالاتر از نمونه‌های تیمار نشده است. به‌طوری که مقادیر آن برای نمونه‌های بدون پیش تیمار فراصوت و نمونه‌های تیمار شده با فراصوت ۴۰ درصد در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه به ترتیب (۲۵/۰۴ و ۲۹/۷۴ درصد) و (۲۶/۸۰ و ۳۲/۲۰ درصد) بود. این امر نشان از افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های تیمار شده توسط فراصوت در زمان‌های ابتدایی هیدرولیز بود. همچنین بالاترین میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در نمونه‌های تیمار نشده و تیمار شده توسط فراصوت به ترتیب ۳۹/۹۶ و ۴۲/۹۱ مشاهده شد که نشان از افزایش قابلیت مهار رادیکال آزاد DPPH تحت تأثیر تیمار فراصوت بود. باتوجه به

¹ Angiotensin-Converting Enzyme

² Erythrina edulis

پپتیدهای تولیدشده در مراحل اولیه منجر به تخریب پپتیدهایی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا باشد، در نتیجه قابلیت آنتی‌اکسیدانی تولیدی در مراحل بعدی کاهش می‌یابد. این یافته‌ها حاکی از تأثیر مثبت هیدرولیز با آنزیم پانکراتین بر افزایش قدرت احیاکنندگی یون آهن پروتئین اولیه می‌باشد. به‌طور کلی افزایش زمان و درجه هیدرولیز منجر به افزایش قابل توجه قدرت احیاکنندگی یون آهن شد، این امر می‌تواند به دلایل مختلفی باشد از جمله اینکه، افزایش میزان هیدرولیز منجر به آزاد شدن اسیدهای آمینه آزاد می‌گردد که به‌عنوان منبع اضافی از الکترون‌ها و پروتون‌ها عمل می‌کنند (Zhu et al., 2008). از طرف دیگر افزایش درجه هیدرولیز منجر به دسترس قرار گرفتن بیشتر اسیدآمینه‌های الکترون‌دهنده مانند لیزین، تریپتوفان و هیستیدین می‌گردد در نتیجه قدرت احیاکنندگی افزایش می‌یابد. افزایش قدرت احیاکنندگی پروتئین هیدرولیز شده را به رها شدن اسیدهای آمینه با قابلیت آنتی‌اکسیدانی مانند لیزین و تریپتوفان نسبت داده‌اند (Jamdar et al., 2010).

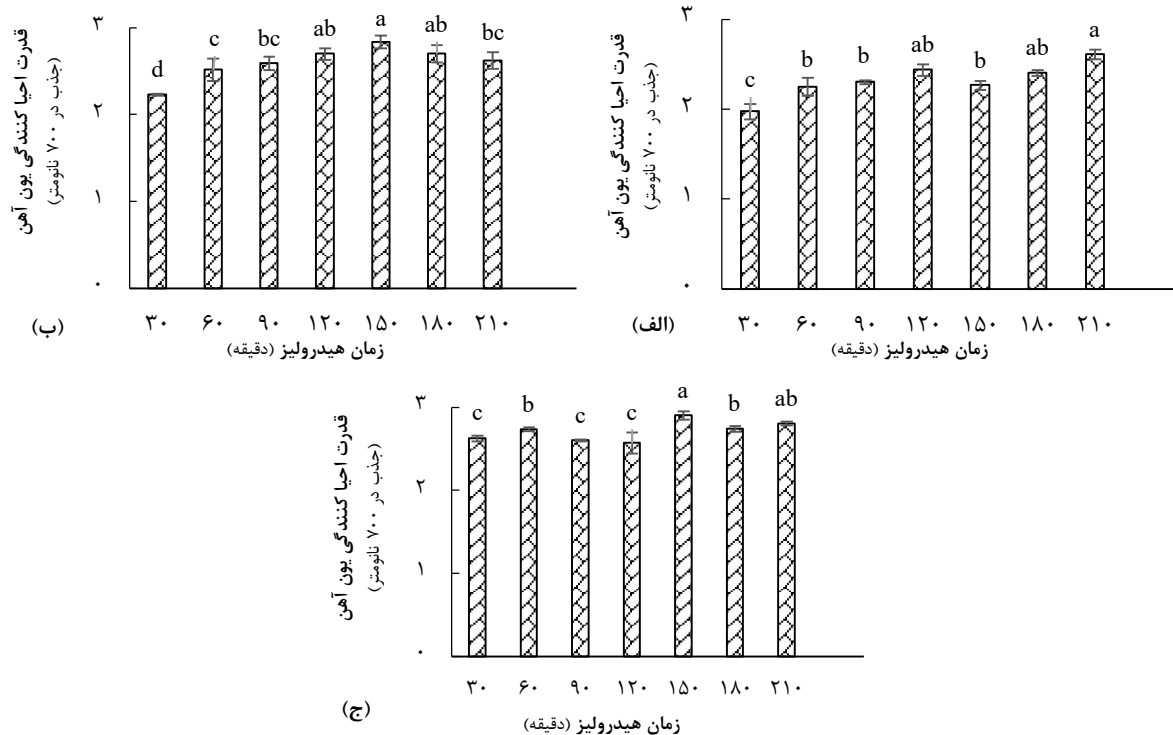
Je و همکاران (۲۰۰۹)، نشان دادند که هیدرولیز آنزیمی، سبب شکستن اتصالات مجاور اسیدهای آمینه فنیل آلانین، تیروزین و تریپتوفان شده و به دنبال شکسته شدن این باندهای پپتیدی و رها شدن از ساختار اصلی پروتئین‌ها، وزن مولکولی پروتئین‌های هیدرولیز شده و پپتیدها کاهش یافته و سپس با افزایش زمان و پیشرفت فرایند هیدرولیز و شکسته شدن بیشتر زنجیره‌های پپتیدی، پپتیدهای با قابلیت دادن الکترون جهت احیای یون آهن سه‌ظرفیتی به یون آهن دو ظرفیتی افزایش می‌یابند. در شکل (۲-ب و ج) به ترتیب قدرت احیاکنندگی یون آهن در نمونه‌های تیمار شده با فراصوت با توان‌های ۴۰ و ۸۰ درصد طی زمان هیدرولیز آورده شده است. بالاترین میزان قدرت احیاکنندگی یون آهن در نمونه‌های تیمار شده با فراصوت با توان‌های ۴۰ درصد در زمان ۱۵۰ دقیقه به میزان ۲/۸۴ با طول جذب ۷۰۰ نانومتر مشاهده شد که البته تفاوت معنی‌داری با زمان‌های ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه نشان نداد. با مقایسه نتایج این بخش با نمونه‌های تیمار نشده مشخص می‌شود که میزان قدرت احیاکنندگی یون آهن در تمام زمان‌های هیدرولیز در نمونه‌های تیمار شده با فراصوت با توان ۴۰ درصد بالاتر از نمونه‌های تیمار نشده بود. همچنین بالاترین میزان قدرت احیاکنندگی یون آهن در نمونه‌های تیمار نشده و تیمار شده توسط فراصوت با توان ۴۰ درصد به ترتیب ۲/۶۱ و ۲/۸۴ با طول جذب ۷۰۰ نانومتر مشاهده شد که نشان از افزایش قدرت احیاکنندگی یون آهن تحت تأثیر تیمار فراصوت بود.

به ترتیب با مقادیر IC_{50} در محدوده ۱۵۱/۱۳ تا ۱۷۳/۲۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۶۴/۵۲ تا ۷۷/۶۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند.

همچنین Matmaroh و همکاران (۲۰۱۱) گزارش نمودند، فعالیت مهار رادیکال DPPH پروتئین‌های هیدرولیز شده گردو با تیمار فراصوت با توان ۸۰۰ وات (به مدت ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه)، ۱۲۰۰ وات (به مدت ۵، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ دقیقه)، ۱۴۰۰ وات (به مدت ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه)، و ۱۸۰۰ وات (به مدت ۲۰ دقیقه) بالاتر از نمونه شاهد بود. همچنین آنها گزارش کردند که این نتایج ممکن است به دلیل تغییرات ساختاری در فراکسیون‌های ایزوله پروتئینی گردو پس از پیش تیمار فراصوت باشد که باعث می‌شود فعالیت آنتی‌اکسیدانی هیدرولیز شده‌های آن متفاوت باشد. پیش تیمار فراصوت با شدت بالا می‌تواند محیط اطراف گروه‌های پروتئینی را تغییر داده، در نتیجه مکان‌های آب‌گریز ایزوله پروتئین گردو در معرض قرار می‌گیرند؛ که در نهایت این امر موجب افزایش سطح تماس بین آنزیم و سوبسترا شده و منجر به بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده گردو می‌شود (Matmaroh et al., 2011).

تأثیر زمان هیدرولیز و پیش تیمار فراصوت روی قدرت احیاءکنندگی یون آهن

آزمون قدرت احیاءکنندگی یون آهن برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات براساس توانایی آنها در اهدای الکترون و در نتیجه احیای یون Fe^{3+} به Fe^{2+} به کار می‌رود. مطالعه‌های مختلفی نشان داده است که ارتباط مستقیمی بین قدرت احیاکنندگی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات زیست‌فعال وجود دارد (Yildirim et al., 2000). شکل (۲) قدرت احیاکنندگی یون آهن نمونه‌های پروتئین هیدرولیز شده بدون پیش تیمار فراصوت، پروتئین هیدرولیز شده با تیمار فراصوت با توان ۴۰ درصد و پروتئین هیدرولیز شده با تیمار فراصوت با توان ۸۰ درصد طی زمان هیدرولیز نشان داده شده است. با توجه به شکل (۲-الف) بالاترین میزان قدرت احیاکنندگی یون آهن در نمونه‌های تیمار نشده در زمان هیدرولیز ۲۱۰ دقیقه به میزان ۲/۶۱ با طول جذب ۷۰۰ نانومتر مشاهده گردید. با افزایش زمان هیدرولیز ابتدا قدرت احیاکنندگی یون آهن افزایش و سپس کاهش و مجدد افزایش یافت، که دلیل این افزایش پیشرفت هیدرولیز و تولید پپتیدهای آنتی‌اکسیدان می‌باشد. همچنین دلیل کاهش، ممکن است پیشرفت هیدرولیز و تأثیر آنزیم بر



شکل ۲- قدرت احیاکنندگی یون آهن نمونه‌های الف) پروتئین هیدرولیز شده بدون پیش تیمار فراصوت، ب) پروتئین هیدرولیز شده با تیمار فراصوت با توان ۴۰ درصد و ج) پروتئین هیدرولیز شده با تیمار فراصوت با توان ۸۰ درصد در زمان‌های مختلف هیدرولیز. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار در سه تکرار بیان شده است. حروف متفاوت روی تیرک‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری آماری می‌باشد ($P < 0.05$).

زنجریر کوتاه حاوی اسیدآمین‌های آب‌گریز با وزن مولکولی بین ۲۰۰ تا ۳۰۰۰ دالتون، فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده ذرت را افزایش می‌دهد. گزارش شده است که پیش تیمار فراصوت در تهیه پروتئین هیدرولیز شده ذرت موجب افزایش پپتیدهای زنجریر کوتاه با وزن مولکولی ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ دالتون (۱۱/۸۴ درصد) و ۱۰۰۰ تا ۳۰۰۰ دالتون (۲۱/۲۹ درصد) می‌گردد (Télliez-Morales et al., 2020). پپتیدهایی با وزن مولکولی پایین‌تر دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری بوده و نسبت به هضم گوارشی مقاوم‌تر هستند، در نتیجه به راحتی از مجرای روده عبور کرده و فعالیت بیولوژیکی خود را اعمال می‌کنند (Télliez-Morales et al., 2020).

Zou و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که پروتئین هیدرولیز شده مغز خوک تهیه شده با پیش تیمار فراصوت قدرت احیاکنندگی بالاتری نسبت به نمونه‌های تیمار نشده نشان می‌دهد. آنها بیان کردند که نمونه‌های تیمار شده با فراصوت دارای توانایی اهدای الکترون بالاتری می‌باشند و در نتیجه از قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری برخوردار هستند.

باتوجه به شکل ۲-ج) بالاترین میزان قدرت احیاکنندگی یون آهن در نمونه‌های تیمار شده با فراصوت با توان ۸۰ درصد در زمان هیدرولیز ۱۵۰ دقیقه به میزان ۲/۹۰ با طول جذب ۷۰۰ نانومتر مشاهده شد که البته از این نظر تفاوت معنی‌داری با زمان ۲۱۰ دقیقه نشان نداد. باتوجه به این نتایج و مقایسه با تیمارهای قبلی، مشخص می‌شود که با افزایش توان فراصوت در اغلب زمان‌های هیدرولیز (به جز زمان‌های هیدرولیز ۱۲۰ دقیقه)، قدرت احیاکنندگی یون آهن در تیمار فراصوت با توان ۸۰ درصد بالاتر از نمونه‌های تیمار نشده و تیمار شده با فراصوت ۴۰ درصد بود. Liang و همکاران (۲۰۱۷)، گزارش کردند که پیش تیمار فراصوت پروتئین‌های بتا-کانگلاسینین^۱ و گلاسینین^۲ به طور قابل توجهی درجه هیدرولیز، گروه‌های SH آزاد و ظرفیت شلاته‌کنندگی یون آهن را در پروتئین‌های هیدرولیز شده افزایش داد، که دلیل آن افزایش نسبت‌های ماریپیچ آلفا و چرخش بتا، و کاهش در صفحه بتا و نسبت ماریپیچ تصادفی دو بخش پروتئین پس از پیش تیمار فراصوت می‌باشد. علاوه بر این، هضم آلکالاز به کمک پیش تیمار فراصوت به دلیل تشکیل پپتیدهای

² Glycinin

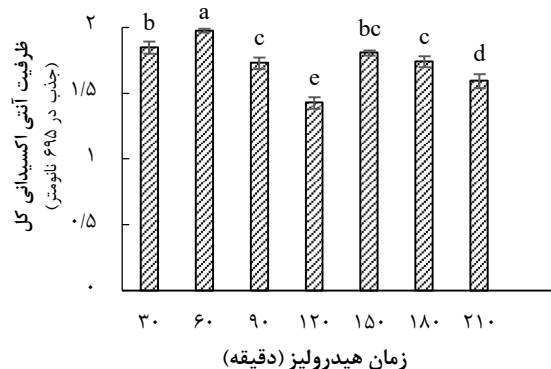
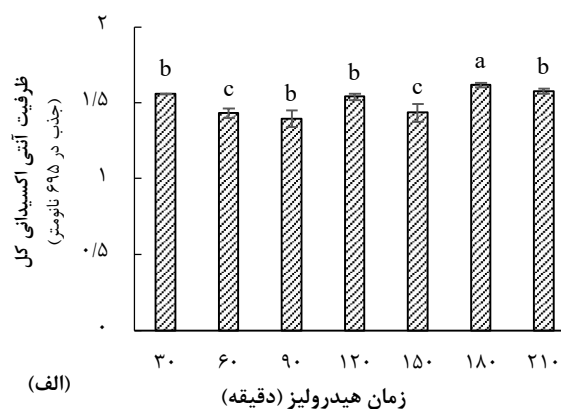
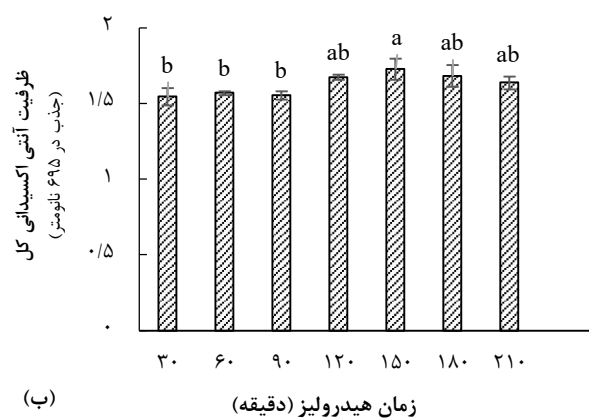
¹ β-Conglycinin

که دلیل این افزایش پیشرفت هیدرولیز و تولید پپتیدهای آنتی‌اکسیدان می‌باشد. Pan و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که افزایش مدت زمان فعالیت آنزیم، منجر به افزایش رهاسازی پپتیدهایی با خاصیت الکترون‌دهندگی می‌شود، که این پپتیدها می‌توانند رادیکال‌های آزاد را به ترکیباتی پایدار تبدیل کنند و در نتیجه با افزایش مدت زمان هیدرولیز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل نمونه‌ها افزایش یافت. با این حال با ادامه فرایند هیدرولیز طی زمان این پپتیدها می‌توانند تجزیه شده و بنابراین کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده می‌شود. در شکل (۳-ب و ج) به ترتیب ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در نمونه‌های تیمار شده با فراصوت با توان‌های ۴۰ و ۸۰ درصد تحت تأثیر زمان هیدرولیز آورده شده است. بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در نمونه‌های تیمار شده با فراصوت ۴۰ درصد در زمان ۱۵۰ دقیقه به میزان ۱/۷۲ با طول موج جذب ۶۹۵ نانومتر مشاهده شد که البته تفاوت معنی‌داری در زمان‌های ۱۲۰، ۱۸۰ و ۲۱۰ دقیقه نشان نداد.

تأثیر زمان هیدرولیز و پیش تیمار فراصوت روی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بر مبنای احیای مولیبدن ۶ ظرفیتی به مولیبدن ۵ ظرفیتی است و روشی کمی برای بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی محلول در آب و محلول در چربی (قدرت آنتی‌اکسیدانی کل) است که با تشکیل کمپلکس سبز رنگ فسفومولیبدن در محیط اسیدی همراه است (Arabshahi-Delouee & Urooj, 2007). شکل (۳) نتایج ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نمونه‌های پروتئین هیدرولیز شده بدون پیش تیمار فراصوت، پروتئین هیدرولیز شده با تیمار فراصوت با توان ۴۰ درصد و پروتئین هیدرولیز شده با تیمار فراصوت با توان ۸۰ درصد طی زمان هیدرولیز را نشان داده شده است.

باتوجه به شکل (۳-الف) بالاترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در نمونه‌های تیمار نشده در زمان هیدرولیز ۱۸۰ دقیقه به میزان ۱/۶۲ با طول موج جذب ۶۹۵ نانومتر مشاهده گردید. با افزایش زمان هیدرولیز ابتدا ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل کاهش و سپس افزایش یافت،



شکل ۳- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در نمونه‌های الف) پروتئین هیدرولیز شده بدون پیش تیمار فراصوت، ب) پروتئین هیدرولیز شده با تیمار فراصوت با توان ۴۰ درصد و ج) پروتئین هیدرولیز شده با تیمار فراصوت با توان ۸۰ درصد در زمان‌های مختلف هیدرولیز. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار در سه تکرار بیان شده است. حروف متفاوت روی تیرکها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری آماری می‌باشد ($P < 0.05$).

تیمار شده با فراصوت نسبت به تیمار نشده نشان داده شد که مقادیر DPPH، ABTS، فعالیت مهار رادیکال هیدروکسیل (HRSA) Fe^{2+} -CA و قدرت احیا به ترتیب ۷۲، ۷۳، ۵۶، ۶۰ و ۰/۶۵ درصد بود. دلیل این امر آن است که پیش تیمار فراصوت باعث تشکیل پپتیدها/اسیدهای آمینه زنجیر کوتاه با وزن مولکولی کم و پپتیدهای با خاصیت آبدوستی و آب‌گریزی بالا (آسپارتیک اسید، گلوتامیک اسید، آرژینین، هیستیدین، متیونین، لوسین، آلانین، تیروزین، والین) می‌شود، که این ترکیبات دارای خواص آنتی‌اکسیدانی مناسبی هستند و بنابراین باعث بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیستم می‌شوند. فراصوت موجب کاهش زمان هیدرولیز و افزایش آزادسازی پپتیدهای زیست‌فعال می‌شود و همچنین باعث افزایش فعالیت بازدارندگی ACE و قابلیت آنتی‌اکسیدانی می‌گردد، پیش تیمار فراصوت، اسید آمینه‌های فعال را منتقل و در معرض قرار داده در نتیجه در واکنش‌های اکسیداسیون دخالت می‌کند (Wali et al., 2017).

نتیجه‌گیری

امروزه باتوجه به خاصیت آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در جلوگیری از عمل پاتوژن‌ها و رادیکال‌های آزاد، کاربرد آنها در پزشکی و صنایع غذایی بیش‌ازپیش مورد توجه قرار گرفته است و منجر به تحقیق‌هایی در زمینه بررسی قابلیت آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای زیست‌فعال حاصل از هیدرولیز پروتئین‌های غذایی مختلف نظیر پروتئین سویا، گندم، کازئین شیر، آب‌پنیر، پروتئین ماهی و غیره شده است. روش معمول تولید این ترکیبات استفاده از هیدرولیز آنزیمی است اما فرایندهای هیدرولیز آنزیمی دارای معایبی از جمله کارایی پایین آنزیم، زمان طولانی فرایند آنزیمی و نرخ پایین تبدیل سوبسترا به محصول می‌باشند. امروزه از روش‌های مختلف نظیر امواج فراصوت، مایکروویو، انجماد، فرایند فشار بالا و غیره برای پیش تیمار پروتئین و رفع معایب فوق استفاده می‌شود. فرایند فراصوت تأثیری روی ساختار اولیه پروتئین ندارد با این حال موجب تغییر در ساختار ۳م و ۴م پروتئین می‌گردد. قارچ خوراکی به‌عنوان منبعی غنی از مواد مغذی و ترکیبات سلامتی‌زا در صنایع غذایی گوناگون کاربرد دارد و از نظر پروتئین نیز غنی می‌باشد. در این پژوهش تولید پروتئین هیدرولیز شده قارچ دکمه‌ای با استفاده از آنزیم پانکراتین با و بدون پیش تیمار فراصوت صورت گرفت. نتایج نشان داد که نمونه‌های پیش تیمار شده با فراصوت با توان ۸۰

با مقایسه بررسی نتایج شکل (۳) با نمونه‌های تیمار نشده، مشخص نمود که میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در زمان‌های انتهایی هیدرولیز در نمونه‌های تیمار شده با فراصوت ۴۰ درصد بالاتر از نمونه‌های تیمار نشده است. به طوری که مقادیر آن برای نمونه‌های بدون پیش تیمار فراصوت و نمونه‌های تیمار شده با فراصوت با توان ۴۰ درصد در زمان‌های ۱۸۰ و ۲۱۰ دقیقه به ترتیب (۱/۶۲ و ۱/۵۸) و (۱/۶۸ و ۱/۶۴) با طول موج جذب ۶۹۵ نانومتر بود. این نتایج نشان از افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های تیمار شده توسط فراصوت در زمان‌های انتهایی هیدرولیز بود. همچنین بالاترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در نمونه‌های تیمار نشده و تیمار شده توسط فراصوت با توان ۴۰ درصد به ترتیب ۱/۶۴ و ۱/۷۳ با طول موج جذب ۶۹۵ نانومتر و در شکل (۳-ج) بالاترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در نمونه‌های تیمار شده با فراصوت ۸۰ درصد (جذب در ۶۹۵ نانومتر) در زمان هیدرولیز ۶۰ دقیقه به میزان ۱/۹۸ (جذب در ۶۹۵ نانومتر) مشاهده شد. باتوجه به این نتایج و مقایسه با تیمارهای قبلی، افزایش توان تیمار فراصوت باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در زمان‌های هیدرولیز کوتاه‌تر گردید. در اغلب زمان‌های هیدرولیز (به جز زمان‌های هیدرولیز ۱۲۰ و ۲۱۰ دقیقه)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در نمونه تیمار شده با فراصوت با توان ۸۰ درصد بالاتر از نمونه‌های تیمار نشده و تیمار شده با فراصوت با توان ۴۰ درصد بود. گزارش شده است که فراصوت باعث ایجاد یک سری تغییرات شیمیایی و فیزیکی در محلول پروتئین، مانند اثرات مکانیکی، حفرگی، اثرات گرمایی، هم‌زدن دینامیکی، تنش برشی و اغتشاش می‌گردد (Zhang et al., 2017). این اثرات شامل شکستن پیوندهای کووالانسی، تغییر ساختار پروتئین و تسریع فرایند هیدرولیز آنزیمی و در نتیجه افزایش ترکیب آنزیم و پروتئین‌ها می‌گردد (Ding et al., 2018). نتایج تحقیق‌ها نشان می‌دهد که پیش تیمار فراصوت باعث شکستن برهمکنش‌های قوی بین مولکولی بین ماتریس-ماده حل شده، از جمله نیروهای واندروالسی و پیوندهای هیدروژنی می‌گردد (Ding et al., 2018). حفرگی صوتی موجب بهبود کیفیت انتقال بین آنزیم و سوبسترا می‌شود در نتیجه فراصوت می‌تواند باعث باز شدن ساختار پروتئین، کاهش اندازه پپتید و افزایش دسترسی آنزیم به پیوندهای پپتیدی گردد (Yang et al., 2017). در بررسی Zou و همکاران (۲۰۱۹)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر پروتئین هیدرولیز شده مغز خوک

کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به‌خاطر حمایت مالی از این تحقیق در قالب طرح پژوهشی کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایند.

مشارکت نویسندگان

آیسان ایزائلو: جمع‌آوری داده، تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها، نوشتن پیش‌نویس مقاله، آنالیز داده‌ها؛ **علیرضا صادقی ماهونک:** ارائه ایده پژوهشی و طراحی مطالعه، تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها، بازبینی و اصلاح مقاله، نظارت بر مطالعه، تأیید نسخه نهایی.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

درصد نسبت به نمونه‌های پیش‌تیمارنشده و پیش‌تیمار شده با فراصوت با توان ۴۰ درصد بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را دارا می‌باشند. براساس نتایج تیمار فراصوت با توان ۸۰ درصد و طی زمان هیدرولیز ۶۰ دقیقه موجب دستیابی محصولی با قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالا می‌گردد و به‌عنوان تیمار مناسب انتخاب گردید. در نتیجه براساس این نتایج می‌توان بیان نمود که استفاده از پیش‌تیمار فراصوت با توان بالا موجب کوتاه‌نمودن زمان هیدرولیز جهت دستیابی به پپتیدهای با قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر می‌گردد و همچنین کارایی هیدرولیز آنزیمی را افزایش می‌دهد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم

منابع

- Aderinola, T. A., Fagbemi, T. N., Enujiugha, V. N., Alashi, A. M., & Aluko, R. E. (2019). In vitro antihypertensive and antioxidative properties of alcalase-derived *Moringa oleifera* seed globulin hydrolysate and its membrane fractions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(2), e13862. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13862>
- AOAC. (1970). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. <https://search.library.wisc.edu/catalog/999488096402121>
- Arabshahi-Delouee, S., & Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chemistry*, 102(4), 1233-1240. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.013>
- Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., & Nasri, M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chemistry*, 114(4), 1198-1205. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.075>
- Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2012). Ultrasonics in food processing – Food quality assurance and food safety. *Trends in Food Science & Technology*, 26(2), 88-98. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.01.010>
- Chen, L., Chen, J., Ren, J., & Zhao, M. (2011). Effects of ultrasound pretreatment on the enzymatic hydrolysis of soy protein isolates and on the emulsifying properties of hydrolysates. *J Agric Food Chem*, 59(6), 2600-2609. <https://doi.org/10.1021/jf103771x>
- Chi, C.-F., Hu, F.-Y., Wang, B., Li, T., & Ding, G.-F. (2015). Antioxidant and anticancer peptides from the protein hydrolysate of blood clam (*Tegillarca granosa*) muscle. *Journal of Functional Foods*, 15, 301-313. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.045>
- Ding, Q., Zhang, T., Niu, S., Cao, F., Wu-Chen, R. A., Luo, L., & Ma, H. (2018). Impact of ultrasound pretreatment on hydrolysate and digestion products of grape seed protein. *Ultrasonics Sonochemistry*, 42, 704-713. <https://doi.org/10.1016/j.ulsonch.2017.11.027>
- Fiaschi, T., & Chiarugi, P. (2012). Oxidative stress, tumor microenvironment, and metabolic reprogramming: a diabolic liaison. *Int J Cell Biol*, 2012, 762825. <https://doi.org/10.1155/2012/762825>
- FitzGerald, R. J., & Meisel, H. (2000). Milk protein-derived peptide inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme. *Br J Nutr*, 84 Suppl 1, S33-37. <https://doi.org/10.1017/s0007114500002221>
- Guerra-Almonacid, C. M., Torruco-Uco, J. G., Jonh Jairo Méndez-Arteaga, W. M.-A., & Rodríguez-Miranda, J. (2019). Effect of ultrasound pretreatment on the antioxidant capacity and antihypertensive activity of bioactive peptides obtained from the protein hydrolysates of *Erythrina edulis*. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 31(4), 288-296. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2019.v31.i4.1938>
- He, J. Z., Ru, Q. M., Dong, D. D., & Sun, P. L. (2012). Chemical characteristics and antioxidant properties of crude water soluble polysaccharides from four common edible mushrooms. *Molecules*, 17(4), 4373-4387. <https://doi.org/10.3390/molecules17044373>

- Jamdar, S. N., Rajalakshmi, V., Pednekar, M. D., Juan, F., Yardi, V., & Sharma, A. (2010). Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 121(1), 178-184. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.027>
- Janakat, S., Al-Fakhiri, S., & Sallal, A. K. (2004). A promising peptide antibiotic from *Terfezia clavaryi* aqueous extract against *Staphylococcus aureus* in vitro. *Phytother Res*, 18(10), 810-813. <https://doi.org/10.1002/ptr.1563>
- Je, J.-Y., Lee, K.-H., Lee, M. H., & Ahn, C.-B. (2009). Antioxidant and antihypertensive protein hydrolysates produced from tuna liver by enzymatic hydrolysis. *Food Research International*, 42(9), 1266-1272. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.06.013>
- Jia, J., Ma, H., Zhao, W., Wang, Z., Tian, W., Luo, L., & He, R. (2010). The use of ultrasound for enzymatic preparation of ACE-inhibitory peptides from wheat germ protein. *Food Chemistry*, 119(1), 336-342. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.036>
- Kadam, S. U., Tiwari, B. K., Álvarez, C., & O'Donnell, C. P. (2015). Ultrasound applications for the extraction, identification and delivery of food proteins and bioactive peptides. *Trends in Food Science & Technology*, 46(1), 60-67. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.07.012>
- Lavi, I., Nimri, L., Levinson, D., Peri, I., Hadar, Y., & Schwartz, B. (2012). Glucans from the edible mushroom *Pleurotus pulmonarius* inhibit colitis-associated colon carcinogenesis in mice. *J Gastroenterol*, 47(5), 504-518. <https://doi.org/10.1007/s00535-011-0514-7>
- Li, X., Da, S., Li, C., Xue, F., & Zang, T. (2018). Effects of high-intensity ultrasound pretreatment with different levels of power output on the antioxidant properties of alcalase hydrolyzates from Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) protein isolate. *Cereal Chemistry*, 95(4), 518-526. <https://doi.org/10.1002/cche.10055>
- Li, X. R., Chi, C. F., Li, L., & Wang, B. (2017). Purification and Identification of Antioxidant Peptides from Protein Hydrolysate of Scalloped Hammerhead (*Sphyrna lewini*) Cartilage. *Mar Drugs*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/md15030061>
- Liang, Q., Ren, X., Ma, H., Li, S., Xu, K., & Oladejo, A. O. (2017). Effect of Low-Frequency Ultrasonic-Assisted Enzymolysis on the Physicochemical and Antioxidant Properties of Corn Protein Hydrolysates. *Journal of Food Quality*, 2017, 2784146. <https://doi.org/10.1155/2017/2784146>
- Matmaroh, K., Benjakul, S., Prodpran, T., Encarnacion, A. B., & Kishimura, H. (2011). Characteristics of acid soluble collagen and pepsin soluble collagen from scale of spotted golden goatfish (*Parupeneus heptacanthus*). *Food Chemistry*, 129(3), 1179-1186. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.099>
- Meshginfar, N., Sadeghi, M. A., Ziaifar, A. M., Ghorbani, M., & Kashaninejad, M. (2014). Optimization of the production of protein hydrolysates from meat industry by products by response surface methodology. *Journal of Food Research*, 24(2), 215-225. https://foodresearch.tabrizu.ac.ir/article_1815_58050bcd8482dba877ad2986115e9b3.pdf
- Mine, Y., Li-Chan, E., & Jiang, B. (2010). *Bioactive proteins and peptides as functional foods and nutraceuticals* (Vol. 29). John Wiley & Sons.
- Nadeem, M., Ubaid, N., Qureshi, T. M., Munir, M., & Mehmood, A. (2018). Effect of ultrasound and chemical treatment on total phenol, flavonoids and antioxidant properties on carrot-grape juice blend during storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 45, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.02.034>
- Oboh, G., & Shodehinde, S. (2009). Distribution of nutrients, polyphenols and antioxidant activities in the pilei and stipes of some commonly consumed edible mushrooms in Nigeria. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 23(3).
- Paisansak, S., Sangtanoo, P., Srimongkol, P., Saisavoey, T., Reamtong, O., Choowongkamon, K., & Karnchanatat, A. (2021). Angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptide derived from the shiitake mushroom (*Lentinula edodes*). *J Food Sci Technol*, 58(1), 85-97. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04517-z>
- Pan, A. D., Zeng, H. Y., Alain, G. B., & Feng, B. (2016). Heat-pretreatment and enzymolysis behavior of the lotus seed protein. *Food Chem*, 201, 230-236. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.069>
- Pan, X., Zhao, Y.-Q., Hu, F.-Y., & Wang, B. (2016). Preparation and identification of antioxidant peptides from protein hydrolysate of skate (*Raja porosa*) cartilage. *Journal of Functional Foods*, 25, 220-230. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.06.008>
- Parhizkari, K., Hosseini, E., & Sharifi, A. (2019). Investigation of Properties of Bioactive Peptides Derived from Enzymatic Hydrolysis of Chicken Slaughter Waste. *Iranian Journal of Biosystems Engineering*, 49(4), 589-596. <https://doi.org/10.22059/ijbse.2018.243764.664999>
- Piri, S., sadeghimahoonak, a., ghorbani, m., & Alami, M. (2015). Production and study on antioxidant activity of protein hydrolysate from whey protein. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 4(3), 271-282. <https://doi.org/10.22101/jrifst.2015.11.22.437>
- Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2), 337-341. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4019>

- Qu, W., Ma, H., Liu, B., He, R., Pan, Z., & Abano, E. E. (2013). Enzymolysis reaction kinetics and thermodynamics of defatted wheat germ protein with ultrasonic pretreatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(6), 1408-1413. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.04.012>
- Ren, X., Ma, H., Mao, S., & Zhou, H. (2014). Effects of sweeping frequency ultrasound treatment on enzymatic preparations of ACE-inhibitory peptides from zein. *European Food Research and Technology*, 238(3), 435-442. <https://doi.org/10.1007/s00217-013-2118-3>
- Télez-Morales, J. A., Hernández-Santo, B., & Rodríguez-Miranda, J. (2020). Effect of ultrasound on the techno-functional properties of food components/ingredients: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 61, 104787. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104787>
- Wali, A., Ma, H., Shah Nawaz, M., Hayat, K., Xiaong, J., & Jing, L. (2017). Impact of Power Ultrasound on Antihypertensive Activity, Functional Properties, and Thermal Stability of Rapeseed Protein Hydrolysates. *Journal of Chemistry*, 2017, 4373859. <https://doi.org/10.1155/2017/4373859>
- Walters, M. E. (2019). *Effects of Ultrasonication on the Antioxidant and Anti-diabetic Properties of Hydrolyzed Oat Proteins* [Thesis]. Carleton University. <https://repository.library.carleton.ca/files/cr56n209d>
- Wang, B., Atungulu, G. G., Khir, R., Geng, J., Ma, H., Li, Y., & Wu, B. (2015). Ultrasonic Treatment Effect on Enzymolysis Kinetics and Activities of ACE-Inhibitory Peptides from Oat-Isolated Protein. *Food Biophysics*, 10(3), 244-252. <https://doi.org/10.1007/s11483-014-9375-y>
- Wang, B., Meng, T., Ma, H., Zhang, Y., Li, Y., Jin, J., & Ye, X. (2016). Mechanism study of dual-frequency ultrasound assisted enzymolysis on rapeseed protein by immobilized Alcalase. *Ultrasonics Sonochemistry*, 32, 307-313. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.03.023>
- Wang, Z., Liu, X., Xie, H., Liu, Z., Rakariyatham, K., Yu, C., . . . Zhou, D. (2021). Antioxidant activity and functional properties of Alcalase-hydrolyzed scallop protein hydrolysate and its role in the inhibition of cytotoxicity in vitro. *Food Chemistry*, 344, 128566. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128566>
- Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Dzah, C. S., Zandile, M., Duan, Y., . . . Luo, X. (2018). Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48, 538-549. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.07.018>
- Yang, X., Li, Y., Li, S., Oladejo, A. O., Wang, Y., Huang, S., . . . Ye, X. (2017). Effects of multi-frequency ultrasound pretreatment under low power density on the enzymolysis and the structure characterization of defatted wheat germ protein. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 410-420. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.03.001>
- Yildirim, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A. A., Algur, O. F., & Bilaloglu, V. (2000). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of tilia (*Tilia argentea* Desf ex DC), sage (*Salvia triloba* L.), and black tea (*Camellia sinensis*) extracts. *J Agric Food Chem*, 48(10), 5030-5034. <https://doi.org/10.1021/jf000590k>
- You, L., Zhao, M., Cui, C., Zhao, H., & Yang, B. (2009). Effect of degree of hydrolysis on the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(2), 235-240. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.08.007>
- Yu, L., Sun, J., Liu, S., Bi, J., Zhang, C., & Yang, Q. (2012). Ultrasonic-assisted enzymolysis to improve the antioxidant activities of peanut (*Arachin conarachin* L.) antioxidant hydrolysate. *Int J Mol Sci*, 13(7), 9051-9068. <https://doi.org/10.3390/ijms13079051>
- Zhang, Y., Ma, L., Cai, L., Liu, Y., & Li, J. (2017). Effect of combined ultrasonic and alkali pretreatment on enzymatic preparation of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from native collagenous materials. *Ultrasonics Sonochemistry*, 36, 88-94. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.11.008>
- Zhou, C., Hu, J., Yu, X., Yagoub, A. E. A., Zhang, Y., Ma, H., . . . Otu, P. N. Y. (2017). Heat and/or ultrasound pretreatments motivated enzymolysis of corn gluten meal: Hydrolysis kinetics and protein structure. *LWT*, 77, 488-496. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.048>
- Zhu, K.-X., Su, C.-Y., Guo, X.-N., Peng, W., & Zhou, H.-M. (2011). Influence of ultrasound during wheat gluten hydrolysis on the antioxidant activities of the resulting hydrolysate. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(5), 1053-1059. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02585.x>
- Zhu, L., Chen, J., Tang, X., & Xiong, Y. L. (2008). Reducing, Radical Scavenging, and Chelation Properties of in Vitro Digests of Alcalase-Treated Zein Hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(8), 2714-2721. <https://doi.org/10.1021/jf703697e>
- Zou, Y., Wang, W., Li, Q., Chen, Y., Zheng, D., Zou, Y., . . . Yang, L. (2016). Physicochemical, functional properties and antioxidant activities of porcine cerebral hydrolysate peptides produced by ultrasound processing. *Process Biochemistry*, 51(3), 431-443. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.12.011>
- Zou, Y., Yang, H., Li, P. P., Zhang, M. H., Zhang, X. X., Xu, W. M., & Wang, D. Y. (2019). Effect of different time of ultrasound treatment on physicochemical, thermal, and antioxidant properties of chicken plasma protein. *Poultry Science*, 98(4), 1925-1933. <https://doi.org/10.3382/ps/pey502>

The Effect of Ultrasound Pretreatment on Hydrolysis Time of Edible Mushroom (*Agaricus bisporus*) Proteins by Pancreatin to Produce of Antioxidant Peptides

Isan Izanloo¹, Alireza Sadeghi Mahoonak^{1*}

1- Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

* Corresponding authors (sadeghiaz@gau.ac.ir)

Abstract

Due to the length of the time required for protein hydrolysis, ultrasound, as a cheap technology, can be used as a pre-treatment in protein hydrolysis to shorten the time. The aim of this study was to investigate the effect of hydrolysis time and ultrasonic pretreatment on enzymatic hydrolysis of edible mushroom proteins by pancreatin enzyme to produce short chain peptides with high antioxidant capacity. In this research first edible mushrooms were turned into powder then hydrolysed during 30-210 min with enzyme to substrate ratio of 1% and at temperature of 40 °C without pretreatment, and with pretreatment by 80 and 40% ultrasound power. Increasing the power of ultrasonic treatment increased the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity and total antioxidant capacity at shorter hydrolysis time. The highest DPPH free radical scavenging activity in untreated and treated samples with 40 and 80% ultrasound power were 39.96, 42.91 and 47.76, respectively. The highest total antioxidant capacity for untreated and treated samples with 40 and 80% ultrasound power was 1.64, 1.73 and 1.98 (absorption at 695 nm), respectively. The results showed that the highest reducing power of Fe³⁺ in untreated and treated samples with 40 and 80% ultrasound power were 2.61, 2.84 and 2.90 (absorption at 700 nm), respectively. These results showed that pre-treated samples with 80% ultrasound compared to samples without pretreatment and pre-treated with 40% ultrasound had the highest antioxidant properties. Therefore, the use of high power ultrasonic pretreatment shortens the hydrolysis time to achieve peptides with higher antioxidant capacity.

Keywords: Antioxidant properties, Edible Mushroom, Enzymatic hydrolysis, Ultrasound pretreatment

