ارزیابی خواص کاربردی و آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده تخم قزل‌آلای رنگین‌کمان (Oncorhynchus mykiss)

مهسا رجب زاده[1]، پرستو پورعاشوری[2]*، بهاره شعبانپور[2]، علیرضا عالیشاهی[2]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فرآوری محصولات شیلاتی ،دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،گرگان،ایران
۲- گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،گرگان،ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۴/۰۳

چکیده

در این تحقیق پروتئین تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Oncorhynchus mykiss) با استفاده از آنزیم‌های آلکالاز و پپسین هیدرولیز گردید. ترکیبات تقریبی، خواص آنتی‌اکسیدانی و کاربردی نمونه ها مورد آزمون قرار گرفتند. بهینه درصد آنزیم ۲درصد و زمان تیمار با آنزیم‌ها ۱۲۰ دقیقه تعیین گردید. درجه هیدرولیز نمونه‌ها به ترتیب ۴۴/۰۸ و ۲۷/۶۲ درصد برای آلکالاز و پپسین بودند. هر دو نمونه پودر هیدرولیزشده تخم قزل‌آلا حاوی مقدار بالای پروتئین (۶۸/۵۱ ٪ پپسین و ۷۱/۰۹ ٪ آلکالاز) بودند. پپسین پودری سفید با روشنایی بیشتر (L^*=۸۹/۵۰) و آلکالاز پودری متمایل به زرد- قهوه‌ای (L^*=۵۲/۸۵ ، a^*= ۳۰ /۱۰، b^*= ۲۶/۲۵) داشت. پودرهای تولیدی در غلظت‌های مختلف ویژگی آنتی‌اکسیدانی بسیار خوبی نشان دادند.پودرهای تولیدی در برخی غلظت‌ها دارای خواص تشکیل کف و امولسیون‌کنندگی خوبی بودند. نتایج حاصل پروتئین هیدولیز شده تخم قزل‌آلا را به عنوان منبع خوبی با خواص آنتی‌اکسیدانی مناسب و قابل استفاده در مواد غذایی و صنایع وابسته پیشنهاد می‌کند.

واژه‌های کلیدی: تخم ماهی قزل‌آلا، درجه هیدرولیز ، خواص آنتی‌اکسیدانی، هیدرولیز آنزیمی

مسؤول مکاتبات: pourashori.p@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir

۱- مقدمه

غذاهای دریایی منبع پروتئینی مهمی در رژیم غذایی انسانها هستند، که تقریبا ۲۰٪ از مصرف پروتئین جانوری را به خود اختصاص می‌دهند (۱). صنعت شیلات یکی از منابع اقتصادی مهم در بسیاری از کشورها است. پروتئین ماهی منبع مهم از مواد مغذی برای بسیاری از مردم، به ویژه در کشورهای در حال توسعه است. طبق تخمین در سراسر جهان، یک میلیارد نفر برای امرار معاش خود به تولید، فرآوری و تجارت ماهی وابسته‌اند (۲). حجم بزرگی از ضایعات حاصل از فرآوری گونه‌های دریایی و گونه‌های کم مصرف به عنوان دورریز محسوب می‌گردند و هیچ تلاشی برای بازیابی ترکیبات ضروری و پپتیدهای زیست فعال آنها صورت نمی‌گیرد. هیدرولیز آنزیمی روشی است که امروزه به طور گسترده برای استخراج پروتئین‌های هیدرولیزشده از دامنه وسیعی از پروتئین‌های غذایی استفاده می‌شود(۵-۳). در صنعت فرآوری ماهی بیش از ۶۰٪ محصولات جانبی و ضایعات شامل سر، پوست، باله، امعاء و احشاء، تخم و... تولید می‌شود و تنها۴۰ درصد محصولات تولیدی برای انسان قابل مصرف است (۳). این مقادیر زیاد ضایعات محصولات شیلات در برخی مناطق سبب آلودگی می‌شود و دفع این مواد باعث ایجاد مشکلات جدی در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته می‌گردد. این ضایعات حاوی مقادیر مطلوبی از مواد غنی از پروتئین است که به طور معمول برای تولید محصولات با ارزش افزوده قابل استفاده هستند و به دلیل کوتاه بودن زنجیره پپتیدی، دارای قابلیت هضم بالایی هستند و می‌توانند به عنوان مکمل پروتئینی در تغذیه انسان، دام و آبزیان مورد استفاده قرار گیرند (۶).تخم ماهی[1]محصولی بسیار با ارزش می‌باشد و در بسیاری از نقاط دنیا مصرف می گردد. خاویار استحصالی از ماهیان خاویاری شناخته شده‌ترین شکل از محصولات تولیدی از تخم ماهیان است. بخش بزرگی از تخم ماهیان در کشورهای آسیایی مورد مصرف قرار نمی گیرد و به عنوان دورریز می باشند. تخم ماهی با داشتن ۱۱درصد آلبومین، ۷۵ درصد اووگلوبولین و ۱۳ درصد کلاژن منبع خوبی برای تولید پپتیدهای زیست فعال از طریق هیدرولیز آنزیمی می‌باشد (۷). در سالهای اخیر پروتئین‌های هیدرولیزشده از منابع جانوری و گیاهی مختلف مانند کازئین شیر، سویا، پروتئین زرده تخم مرغ و پروتئین‌های میوفیبریل خوک شناسایی شده‌اند که دارای توانایی آنتی‌اکسیدانی می باشند(۵). علاوه بر این موارد، فرآورده‌ها و ضایعات دریایی نیز به عنوان منبع خوبی از پپتیدهای دارای فعالیت آنتی اکسیدانی به اثبات رسیده‌اند. ژلاتین استخراجی از پوست ماهی آلاسکا پولاک و کفشک ماهی زرد باله، هیدرولیز پوست اسکوئید از منابعی هستند که مطالعات روی آنها انجام شده است (۸،۹). فرآیند هیدرولیز آنزیمی روش موثری برای تعدیل منابع پروتئینی کم مصرف به فرآورده‌های با ارزش است و می‌تواند خواص کاربردی و فعالیت‌های زیستی پروتئین‌ها را بدون تاثیر بر ارزش غذایی بهبود بخشد (۱۰، ۱۱). هیدرولیز آنزیمی منابع پروتئینی راهی کارآمد برای بازیابی پپتیدهای زیست فعال بالقوه هستند. پروتئین‌های هیدرولیزشده منابع دریایی کاربردهای بالقوه تغذیه ای و دارویی از خود نشان داده اند(۱۲).طیف وسیعی از آنزیمهای تجاری برای هیدرولیز ماهی و سایر پروتئین‌های خوراکی با موفقیت مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. آنزیم‌های پروتئولتیک مانند پپسین، تریپسین و آلکالاز برای تولید پروتئین‌های هیدورلیز شده زیست فعال از منابع دریایی با موفقیت مورد آزمایش قرار گرفته‌اند (۷، ۱۴). آلکالاز پروتئاز میکروبی قلیایی است که از باکتری باسیلوس لیچنیفورمیس[2] تولید می شود (۷). با گسترش تکنولوژی‌های آنزیمی، بازیابی پروتئین‌ها و تولید ترکیبات غذایی ارزشمند و محصولات صنعتی امکان‌پذیر شده است (۱۳). قزل‌آلای رنگین کمان ماهی پرورشی تجاری است که به طور وسیع در داخل کشور تکثیر و پرورش داده می‌شود (۱۵). اغلب اجزای تشکیل‌دهنده این آبزی، به ویژه تخم آن به دلیل طعم و مزه مطلوب و فواید

[1] Fish roe

[2] Bacillus licheniformis

Archive of SID

www.SID.ir

تغذیه‌ای بالا مورد پسند مردم قرار می‌گیرد. اما پرورش‌دهندگان این گونه ماهی در زمان تکثیر، ماهیان پیش مولدی دارند که تخم‌های بدست آمده از آنها به دلیل پایین بودن بازده لقاح و باروری دورریخته می‌شوند و در مواردی با تخم‌های رسیده مازاد مواجه هستند (۱۶). تاکنون مطالعات محدودی بر روی هیدرولیز تخم ماهیان مختلف انجام شده است (۷، ۱۲، ۱۷، ۱۸). با توجه به مطالعات انجام شده تاکنون مطالعه‌ای بر روی هیدرولیز آنزیمی تخم ماهی قزل‌آلا صورت نگرفته و اطلاعاتی در این زمینه وجود ندارد. در این تحقیق خواص کاربردی و آنتی‌اکسیدانی هیدرولیز آنزیمی پروتئین تخم ماهی قزل‌آلارنگین‌کمان با تیمارهای آنزیمی مختلف مورد بررسی قرار گرفته است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱ آماده سازی نمونه‌های تخم ماهی

تخمدان‌های کامل از ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان از مرکز تکثیر و پرورش ساری تهیه گردیدند. تخم همگن شده ماهی قزل آلا در آون با دمای ۴۸ درجه سانتی‌گراد طی مدت زمان ۸ الی ۱۰ ساعت خشک شده و سپس توسط آسیاب پودر گردید (۱۷). پودر تخم خشک شده با ایزوپروپانول با نسبت ۱:۳ وزنی- حجمی در دمای محیط به مدت ۲ ساعت هموژن گردید تا چربی آن گرفته شود. ماده شناور از طریق کاغذ صافی جداسازی و رسوب آن برای جداسازی الکل با خشک-کن تحت خلاء در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت خشک گردید. سپس ماده خشک شده را با کمک آسیاب پودر کرده به این ترتیب کنسانتره پروتئینی تخم ماهی بدست می‌آید (۷).

۲-۲ بهینه‌سازی زمان و غلظت مورد نیاز برای هر آنزیم

بعد از آماده سازی کنسانتره پروتئینی تخم ماهی و تعیین پروتئین آن، ابتدا غلظت و زمان بهینه برای عمل هر آنزیم تعیین گردید. برای اضافه کردن آنزیم به کنسانتره پروتئین تخم ماهی و اعمال شرایط مورد نیاز برای عمل هریک از آنزیم‌ها (pH=۲ پپسین و pH=۸ آلکالاز) ، ابتدا غلظت بهینه مشخص شد. دو آنزیم آلکالاز و پپسین در سطوح ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد در زمان ۱۲۰ دقیقه در دمای بهینه ۳۷ درجه سانتی‌گراد به نمونه‌های کنسانتره تخم ماهی افزوده شدند. بعد از تعیین غلظت بهینه، هر یک از آنزیم‌ها در زمان‌های ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ دقیقه در دمای مشخص برای کنسانتره تخم ماهی مورد استفاده قرار گرفتند. درجه هیدرولیز در هر مرحله اندازه‌گیری گردید(۷).

۲-۳ تولید پروتئین هیدرولیز شده تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

پیش از هیدرولیز آنزیمی، مخلوط همگن در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه پیش انکوباسیون شده تا فعالیت آنزیم‌های درونی متوقف گردد. سپس ۵ گرم ماده خشک با ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید. فرآیند هیدرولیز با اضافه کردن آنزیم‌های آلکالاز و پپسین به طور جداگانه با غلظت ۲ درصد و زمان ۱۲۰ دقیقه برای هر آنزیم و دما (آلکالاز و پپسین به ترتیب ۵۵ و ۳۷درجه سانتی‌گراد) و PH (pH=۲ پپسین و pH=۸ آلکالاز) انجام گردید. بعد از انجام هیدرولیز آنزیمی ، برای غیرفعال‌سازی آنزیم‌ها محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۹۵- ۸۵ درجه سانتی‌گراد درون آون قرار داده شد. سپس محلول حاصل سانتریفوژ (۱۳۰۰۰دور، ۳۰ دقیقه، ۴ درجه سانتی‌گراد) گردید و سوپرناتانت بدست آمده توسط خشک کن تصعیدی، خشک گردید (۷).

۲-۴ اندازه‌گیری میزان درجه هیدرولیز (DH)

میزان هیدرولیز به کمک تری کلرواستیک اسید اندازه‌گیری شد (۲۱). مبنای این روش اندازه‌گیری درصد نسبت پروتئین‌های محلول در تری کلرواستیک اسید ۱۰٪ به کل پروتئین‌های موجود در نمونه می‌باشد. برای این منظور ۷۵۰

Archive of SID

www.SID.ir

میکرولیتر از نمونه با ۷۵۰ میکرولیتر از تری کلرواستیک اسید ٪۱۰ مخلوط گردید. در ادامه با دور ۶۷۰۰ در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مقدار پروتئین در فاز محلول با استفاده از روش استاندارد اندازه-گیری و درجه هیدرولیز از طریق رابطه (۱) محاسبه گردید:

رابطه (۱) درجه هیدرولیز٪=((پروتئین کل در نمونه) / (میزان پروتئین حل شده در محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰٪))×۱۰۰

۲-۵ تعیین درصد ترکیبات تقریبی

میزان چربی، پروتئین، خاکستر و pH طبق روش (۲۰) اندازه-گیری شد.

۲-۶ اندازه‌گیری رنگ

رنگ نمونه‌ها با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج Lovibond CAM-System 500 Imaging Colorimeter (Tintometer Ltd., Amesbury, UK). تعیین شد. شاخص‌های *L، *a و *b برای هر تکرار با میانگین پنج نقطه ثبت شدند. شاخص *L نشان دهنده سیاهی (۰) تا سفیدی (۱۰۰)، شاخص *a نشان دهنده قرمزی (+) یا سبزی (–) و شاخص *b نشان دهنده زردی (+) یا آبی (–) است (۱۷).

۲-۷ اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی

۲-۷-۱ آزمون قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

۱/۵ میلی لیتر از محلول هیدرولیز شده ۴۰٪ را با ۱/۵ میلی لیتر از معرف DPPH ۰/۱۵٪ (در اتانول ۹۵٪) مخلوط کرده، سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کرده و پس از آن با کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر (Biochrom, Libra s12, England) جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ nm خوانده می‌شود (۲۱).

رابطه (۱) $\text{قدرت مهارکنندگی Radical (\%)} = \left(1 - \frac{\text{A517 of sample}}{\text{A 517 of control}}\right) \times 100$

۲-۷-۲ آزمون قدرت کاهندگی

۲ میلی‌لیتر از محلول هیدرولیز شده با ۱ میلی‌لیتر بافرفسفات ۰/۲ مولار (pH =۶/۶) و ۱ میلی‌لیتر پتاسیم فری‌سیانید ۱٪ مخلوط کرده، سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای۵۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سپس به نمونه ۱ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۱۰٪ اضافه شد و در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید (Eppendorf centrifuge 2.5810 R, Germany) میلی‌لیتر از محلول فوق را با ۲ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۴ میلی‌لیتر $FeCl_2$ ۰/۱٪ مخلوط کرده، سپس جذب نمونه‌ها (Biochrom, Libras 12, England) در طول موج ۷۰۰ nmخوانده شد (۲۱).

۲-۸ ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون

۱۰ میلی لیتر روغن را با ۳۰ میلی لیتر محلول هیدرولیز شده با غلظت‌های مختلف ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۳ درصد مخلوط کرده، سپس در دور ۲۰۰۰۰ به مدت یک دقیقه هموژن گردید (ULTRA-TURRAX homogenizer (T25 Digital IKA-Werke Stuttgart Staufen, Germany). ۵۰ میکرولیتر از محلول هموژن شده را در دو زمان صفر و ۱۰ دقیقه با ۵ میلی‌لیتر SDS ۰/۱٪ مخلوط کرده، سپس میزان جذب نمونه در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانده می‌شود(۲۲).

۲-۹ ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف

۲۰ میلی‌لیتر از محلول هیدرولیز شده با غلظت‌های مختلف ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۳ درصد تهیه گردید. سپس در دور ۱۶۰۰۰ به مدت یک دقیقه هموژن گردید. حجم کل کف تولیدی در زمان‌های صفر، ۰,۵، ۵، ۱۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه اندازه‌گیری می-شود(۲۲).

۲-۱۰ تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این تحقیق از نرم افزار SPSS (SPSS version 16.0, Chicago IL. USA) برای آنالیز آماری استفاده گردید. آزمایشات در قالب طرح کاملا تصادفی مورد آزمون قرار گرفته و از آزمون توکی برای مقایسه میانگین و از سطح احتمال ($P<0.05$) استفاده گردید. تمامی آزمونها در سه تکرار انجام شد.

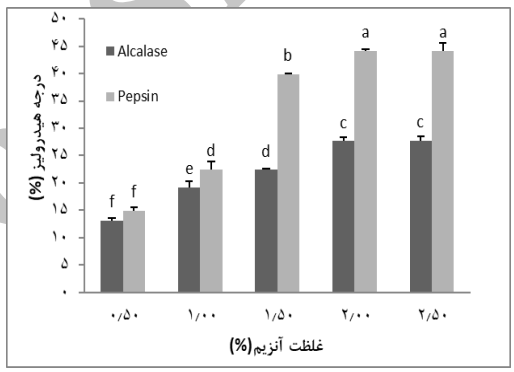
Archive of SID

www.SID.ir

۳- نتایج و بحث

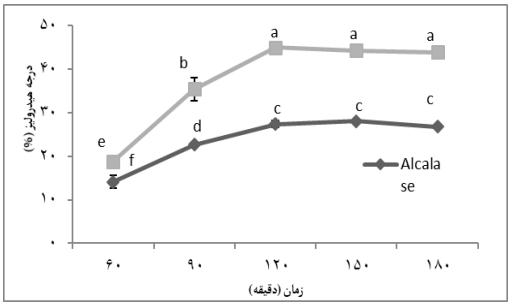
۳-۱ اثرنوع و نسبت آنزیم به سوبسترا و زمان بر درجه هیدرولیز

نسبت آنزیم به سوبسترا مورد استفاده در شکل۱ نشان داده شده است. آنزیم‌های آلکالاز و پپسین در غلظت‌های مختلف (۲/۵ ، ۲، ۱/۵، ۱، ۰/۵ درصد) برای انتخاب غلظت بهینه به سوبسترا استفاده شدند. غلظت بهینه هر دو آنزیم ۲٪ انتخاب شد و درجه هیدرولیز برای پپسین و آلکالاز به ترتیب ۲۷/۶۲٪ و ۴۴/۰۸ ٪ بود. در غلظت آنزیم بیشتر، هیدرولیز بیشتر مشاهده نگردید. درجه هیدرولیز با غلظت بهینه دو آنزیم در زمانهای مختلف (۶۰ ، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ دقیقه) مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۲).



شکل (۱) درجه هیدرولیز با نسبت‌های مختلف آنزیم به سوبسترا.

حروف متفاوت روی هر ستون در هر آنزیم نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد. انحراف معیار بر روی هر نمودار نشان داده شده است.



شکل (۲) منحنی درجه هیدرولیز در زمانهای مختلف با ۲ درصد آنزیم آلکالاز و پپسین.

حروف متفاوت در زمان‌های مختلف در هر آنزیم نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد. انحراف معیار بر روی هر نمودار نشان داده شده است.

درجه هیدرولیز پس از ۱۲۰ دقیقه، با افزایش زمان تفاوت معنی‌داری نداشت. این امر احتمالا به دلیل محدودیت سوبسترای در دسترس برای هیدرولیز بود و آنزیم پپسین توانایی بیشتری در شکستن پپتیدهای کوتاه زنجیره در مقایسه با آنزیم آلکالاز داشت (۱۸). درجه هیدورلیز بین دو آنزیم پروتئاز تفاوت معنی‌داری داشت و نمونه‌های تیمارشده با پپسین درجه هیدولیز بالاتری نسبت به آلکالاز داشتند. بالا بودن درجه هیدرولیز بالاتر با پپسین احتمالا نشانگر فعالیت پروتئولتیک بالاتر آن است. برخی از محققان پروتئازهای قلیایی را فعالتر از پروتئازهای اسیدی یا خنثی عنوان کرده‌اند (۷، ۱۳). غلظت و زمان بهینه برای هیدرولیز تخم ماهی کپور با آنزیم‌های پپسین وتریپسین و آلکالاز را ۱/۵ درصد و ۱۸۰ دقیقه گزارش کردند. افزایش غلظت آنزیم به سوبسترا از ۰/۵ به ۲ نشان داد که، با وجود غلظت بیشتر آنزیم احتمال شکست پیوندهای پپتیدی بیشتری وجود دارد و درجه هیدرولیز افزایش داشت. این نتایج مطابق سایر مطالعات روی هیدرولیز تخم ماهی کپور معمولی و گوشت ماهی بود (۷، ۲۱).

۳-۲ ترکیبات تقریبی پروتئین هیدرولیز شده

نتایج ترکیبات تقریبی تخم هیدرولیزشده ماهی قزل‌آلا با آنزیم‌های پپسین و آلکالاز در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان پروتئین و چربی تخم هیدرولیزشده قزل‌آلا تحت تاثیر آنزیم‌ها تفاوت معنی‌دار نشان داد ($P<۰/۰۵$). مقدار پروتئین در تخم هیدرولیزشده با آلکالاز بیشتر از نمونه‌های هیدرولیزشده با پپسین بود. میزان چربی تخم هیدرولیزشده با پپسین (۵/۵۵٪) بیشتر از نمونه‌های تیمار شده با آلکالاز بود (۳/۵۵ ٪). برخی محققان محتوای کم چربی نمونه‌های هیدرولیزشده پروتئین ماهی ناشی از حذف چربی از بخش پروتیئن نامحلول بیان کردند(۱۲). طبق این آزمایشات خاکستر و رطوبت تخم هیدرولیزشده با هردو آنزیم تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند ($P>۰/۰۵$).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول (۱) ترکیبات تقریبی پروتئین هیدرولیز شده تخم ماهی قزل‌آلا تولید شده با آلکالاز و پپسین

پارامتر (درصد)	پپسین	آلکالاز
پروتئین	۶۸/۵۱ ± ۰/۶۴[b]	۷۱/۰۹ ± ۰/۱۴[a]
چربی	۵/۵۵ ± ۰/۶۳[a]	۳/۵۵ ± ۰/۰۵[b]
خاکستر	۱۵/۸۰ ± ۰/۰۴[a]	۱۴/۴۷ ± ۰/۴۲[a]
رطوبت	۹/۹۷ ± ۰/۲۷[a]	۹/۶۵ ± ۱/۷۵[a]

[a,b] در هر ردیف میانگین‌های با حروف نامشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

بالابودن میزان پروتئین در نمونه‌های هیدرولیزشده بیان کننده کاربرد بالقوه این نمونه‌ها به عنوان مکمل‌های پروتئین برای تغذیه انسان است. مقدار پروتئین تخم هیدرولیزشده channa وlabeo به ترتیب ۲۴/۱۵ و ۱۲/۴۵ گزارش شده که کمتر از مقدار پروتئین در نمونه‌های این مطالعه بود (۱۷). تخم هیدرولیزشده کپور معمولی دارای محتوای بالایی از پروتئین بود (۷). مطالعات محدودی محتوای چربی بالاتر از سطح ۵٪ برای پروتئین هیدرولیز شده ماهی بیان کردند. مطالعات نشان داده‌اند که پروتئین هیدرولیزشده بخشهای مختلف ماهیان دارای رطوبت کمتر از ۱۰٪ داشتند. مقدار خاکستر تحت تاثیر نوع آنزیم مورد استفاده در طی هیدرولیزآنزیمی است(۱۳). در مطالعه چالامیاه و همکاران (۲۰۱۳) روی هیدورلیز تخم ماهی کپور مقدار خاکستر بیشتری را در مقایسه با تخم قزل‌آلا گزارش کردند. مقدار بالای خاکستر در نمونه‌ها به دلیل وجود غلظت بالای مواد معدنی در تخم ماهی گزارش شده است (۷، ۲۳).

۳-۳ ارزیابی رنگ پروتئین هیدرولیز شده

نتایج بررسی شاخص رنگ تخم هیدرولیزشده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با دو آنزیم آلکالاز و پپسین در جدول ۲ نشان داده شده است. رنگ پودرهای تولیدی از دیدگاه کاربردی به عنوان مکمل پروتئینی در تغذیه انسانی اهمیت دارد. رنگ‌های مختلف پروتئین هیدرولیزشده ماهیان به ترکیب مواد اولیه و شرایط هیدرولیز بستگی دارد (۲۲). از این رو ارزیابی رنگ نمونه‌ها نشان داد که پودرهای تولیدی با آنزیم پپسین پودرهایی سفید با روشنایی بالاتر، در مقایسه با آنزیم آلکالاز تولید نمود. شاخص‌های روشنایی، قرمزی و زردی باهم تفاوت معنی‌دار داشتند. روشنایی پودر تخم هیدرولیزشده با آنزیم پپسین بالاتر و شاخص قرمزی و زردی تخم هیدرولیزشده با آنزیم آلکالاز بیشتر بود (۲۴).

جدول (۲) مقادیر شاخص‌های رنگ پروتئین هیدرولیز شده تخم ماهی قزل‌آلا تولید شده با آلکالاز و پپسین

پارامتر	L*	a*	b*
پپسین	۸۹/۵۰ ± ۰/۵۰[a]	۲/۲۵ ± ۰/۲۵[b]	۱۱/۴۰ ± ۰/۰۲[b]
آلکالاز	۵۲/۸۵ ± ۰/۵۰[b]	۱۰/۳۰ ± ۰/۳[a]	۲۶/۲۵ ± ۰/۷۵[a]

[a,b] در هر ستون میانگین‌های با حروف نامشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

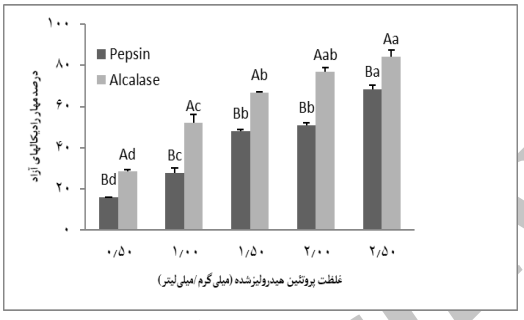
Archive of SID

www.SID.ir

پروتئین هیدرولیزشده گوشت اسکاد با آنزیم فلاورزایم رنگ زرد متمایل به قهوه‌ای داشت که مشابه نمونه‌های هیدورلیز شده با آنزیم آلکالاز در این تحقیق بود (۲۲). برخی از محققان زردی نمونه‌های هیدرولیزشده را به علت حفظ چربی و رنگدانه‌های محلول در چربی نسبت دادند(۲۴). طیف رنگی شاه‌ماهی و ضایعات هیدرولیزشده این ماهی با استفاده از آنزیم آلکالاز، متنوع بود(۲۵). هیدرولیز گناد شاه‌ماهی نسبت به سایر قسمت‌ها تیره‌تر (L*= ۷۴/۶) بود و بیشترین شاخص زردی (b*=۱۸) را نشان داد. در حالی که رنگ گوشت هیدرولیزشده این ماهی دارای روشنایی بیشتر (L*=۸۹/۴) و زردی کمتری بود (b*=۰/۸). مطالعه روی پروتئین هیدرولیزشده شاه‌ماهی نشان داد که در طی نگهداری شاخص L* کاهش و زردی افزایش یافت. این محققان این افزایش را به علت ایجاد رنگدانه‌های قهوه‌ای در نتیجه اکسید شدن رنگدانه طی واکنش میلارد دانستند که باعث افزایش زردی در نمونه‌های هیدرولیزشده گردید(۲۲). مقدار زردی بالایی تخم هیدرولیزشده مریگا با آنزیم آلکالاز گزارش شد. این محققان میزان زردی تخم هیدرولیزشده دو گونه ماهی دیگر را نیز تحت تاثیر آنزیم آلکالاز بالاتر مشاهده کردند (۱۳). به طور کلی، تغییرات رنگ محصولات هیدرولیز به ترکیب ماده خام و شرایط هیدرولیز بستگی دارد(۲۲).

۳-۴ ظرفیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده

اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های هیدرولیزشده با کمک روش قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH[3] مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که پروتئین‌های ماهی پس از هیدرولیز آنزیمی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (۷، ۲۶، ۲۷). اثر آنتی اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیزشده ماهی بر روی مهار رادیکال DPPH اساسا به دلیل ظرفیت الکترون‌دهندگی آنهاست (۲۸، ۲۹). رادیکال‌های DPPH در مواجه با ماده الکترون دهنده، مانند آنتی‌اکسیدان، مهارشده و میزان جذب با تغییر رنگ، کاهش می‌یابد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده به نوع پروتئاز بستگی دارد (۳۰، ۳۱). طبق نتایج پروتئین هیدرولیزشده تخم قزل‌آلا از ظرفیت مهار رادیکالی بالایی برخوردار بود (شکل ۳). میزان فعالیت این شاخص بین دو نمونه تولیدی با آنزیم آلکالاز و پپسین تفاوت معنی‌داری داشت، که احتمالا به دلیل تفاوت در توالی و ترکیب اسیدآمینه و اندازه پپتیدهای تولیدی در نتیجه درجه هیدرولیزهای مختلف می‌باشد (۷، ۳۲). این نتایج نشان می‌دهد که پروتئین هیدرولیزشده تخم قزل‌آلا احتمالا دارای اسیدهای آمینه یا پپتیدهایی با خاصیت الکترون‌دهندگی است و با رادیکال‌های آزاد واکنش می‌دهند و واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال را متوقف می‌کند (۲۱، ۳۳).



شکل (۳) ارزیابی فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH پروتئین هیدرولیز شده تخم ماهی قزل‌آلا تولید شده با آلکالاز و پپسین.

a-e حروف متفاوت روی هر ستون در هر آنزیم نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد. A-B حروف متفاوت در بین دو آنزیم نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد. انحراف معیار بر روی هر نمودار نشان داده شده است.

با افزایش درجه هیدرولیز، از قدرت مهارکنندگی DPPH کاسته شد ($p<0.05$). نمونه‌های آلکالاز در تمامی غلظت‌ها DPPH بیشتری را نسبت به نمونه‌های پپسین داشتند. این تفاوت می‌تواند به دلیل تفاوت در طول زنجیره، ترکیب اسید آمینه، زنجیره‌های جانبی اسیدهای آمینه و آبگریزی آنها باشد (۱۸، ۱۹، ۲۱). این یافته‌ها همسو با نتایج سایر محققان بود

[3] In-vitro 2,2 diphenyl-1-picrylhdrazyl (DPPH) radical scavenging activity

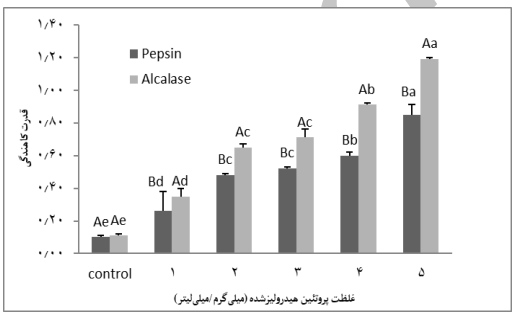
Archive of SID

www.SID.ir

(۱۸، ۲۱). در مطالعات روی تخم ماهی اسکیپ‌جک نیز نمونه‌های با درجه هیدرولیز پایین‌تر فعالیت DPPH بیشتری را نسبت به نمونه‌های با درجه هیدرولیز بالاتر نشان دادند. فعالیت آنزیمی بیشتر سبب تشکیل پپتیدهای کوتاه زنجیر می‌گردد که آبگریزی بیشتری دارند و این پپتیدها قدرت مهارکنندگی DPPH کمتری دارند. پپتیدهای حاصل از درجه هیدرولیز بالا نمی‌توانند بدرستی با رادیکال‌های پروکسیل آبگریز واکنش دهند. علاوه بر ویژگی‌های پپتیدها، نوع پروتئاز و شرایط هیدرولیز نیز بر خاصیت آنتی اکسیدانی تاثیر دارد (۲۹). با افزایش غلظت ماده مقدار قدرت مهارکنندگی DPPH افزایش یافت. این یافته ها همسو با نتایج سایر محققان بود. آنها نیز افزایش این مقدار را با افزایش غلظت نمونه گزارش کردند (۷، ۱۹، ۳۰). فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH (از ۱۶/۰۱ تا ۸۴/۰۵ ٪) در این مطالعه مشابه سایر گزارشات از پروتئین‌های هیدرولیزشده تخم ماهی کپور ، تخم ماهی channa striatus و Lates calcarifer و تخم اسکیپ جک می‌باشد (۱۸، ۱۷، ۷). فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد توسط پروتئین هیدرولیزشده تخم ماهی کپور معمولی را به دلیل توالی اسیدهای‌آمینه تشکیل‌دهنده و اندازه پپتیدهای ناشی از درجه هیدرولیز مختلف می‌تواند باشد. اسیدآمینه‌هایی مانند هیستیدین، متیونین، سیستئین و فنیل آلانین احتمالا در این فعالیت نقش دارند (۷،۳۱). پپتیدهای موجود در نمونه‌های هیدرولیزشده را مسئول واکنش با رادیکال‌های آزاد و اتمام واکنش‌های زنجیره رادیکالی دانستند. سایرین گزارش کردند که علاوه بر پروتئین هیدرولیزشده گوشت ماهی، پروتئین سایر بخشهای بدن ماهی مانند ستون فقرات ماهی تن دارای خاصیت آنتی اکسیدان می‌باشد. پروتئین هیدرولیزشده ماهی-های مختلف با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی آنها به عنوان ماده عملکردی برای کاربردهای تغذیه‌ای، دارویی، آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳۴). به منظور جلوگیری از اکسیداسیون چربی در محصولات غذایی و صنایع دارویی، بسیاری از آنتی‌اکسیدانهای مصنوعی مانند هیدروکسی تولوئن بوتیل، پروپیل گالات و ... استفاده می-شود، ولی می‌توان ترکیبات ارزش افزوده با خواص آنتی‌اکسیدانی تولید نمود و از این ترکیبات در سیستم‌های غذایی استفاده نمود (۳۵).

۵-۳ قدرت کاهندگی پروتئین هیدرولیزشده

قدرت کاهندگی پروتئین هیدرولیزشده تخم قزل‌آلا در شکل ۴ نشان داده شده است. افزایش میزان جذب نشان‌دهنده افزایش قدرت کاهندگی است (۱۹،۲۲). تشکیل کمپلکس Fe^{2+} را با تشکیل ترکیبات رنگی در ۷۰۰ nm اندازه‌گیری می‌شود (۱۸). با افزایش درجه هیدرولیز، قدرت کاهندگی پروتئین هیدرولیزشده با آنزیم‌های آلکالاز و پپسین کاهش یافت و نمونه‌های هیدرولیزشده با آلکالاز از ظرفیت کاهندگی بالاتری در مقایسه با پپسین برخوردار بودند ($p<0.05$). این نتایج مشابه یافته‌های سایر پژوهشگران بود (۲۱). در مطالعه آنها هیدرولیزشده آلکالاز با درجه هیدرولیز پایین‌تر در مقایسه با هیدرولیزشده فلاورزایم قدرت کاهندگی بیشتری داشتند. طبق نتایج قدرت کاهندگی نمونه‌های هیدرولیزشده احتمالا به درجه هیدرولیز و نوع آنزیم بستگی دارد (۷، ۲۱).



شکل (۴) قدرت کاهندگی پروتئین هیدرولیز شده تخم ماهی قزل‌آلا تولید شده با آلکالاز و پپسین در غلظت‌های مختلف.

a-e حروف متفاوت روی هر ستون در هر آنزیم نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد. A-B حروف متفاوت در بین دو آنزیم نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد. انحراف معیار بر روی هر نمودار نشان داده شده است.

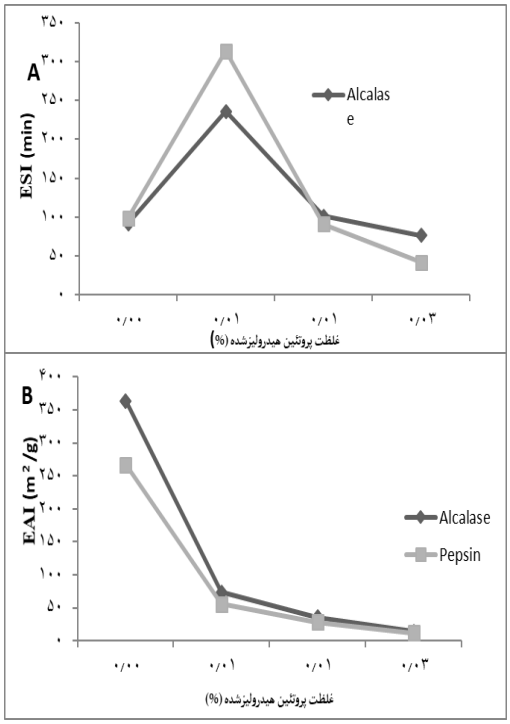
Archive of SID

www.SID.ir

بررسی اثر غلظت‌های مختلف نمونه‌ها نشان داد که قدرت کاهندگی تحت تاثیر غلظت می‌باشد. با افزایش غلظت قدرت کاهندگی افزایش یافت و در غلظت‌های ۴ و۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر هیدرولازهای پپسین قدرت کاهندگی کمتری نسبت به آلکالاز نشان دادند. مطالعات مختلف نشان دادند که قدرت کاهندگی تحت تاثیر وجود پپتیدها یا اسیدهای‌آمینه با توانایی الکترون دهندگی است که با رادیکال‌های آزاد واکنش می‌دهند. درجه هیدرولیز و نوع آنزیم نقش تعیین کننده‌ای در این شاخص دارد (۲۱، ۲۸، ۳۶). طبق نتایج این مطالعه قدرت کاهندگی تخم هیدرولیزشده ماهی به نوع پروتئاز بستگی دارد و در راستای سایر مطالعات انجام شده در این زمینه است (۳۷).

۶-۳ بررسی شاخصهای امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون پروتئین هیدرولیز شده

شاخص فعالیت امولسیون (EAI)[4] و شاخص پایداری امولسیون (ESI)[5] تخم هیدرولیزشده قزل‌آلا با آنزیم‌های مختلف در غلظت‌های مختلف در شکل ۵ نشان شده است. غلظت و نوع آنزیم در میزان هر دو شاخص تاثیر معنی‌دار داشتند($P<۰/۰۵$). با افزایش غلظت از ۰/۱ به ۳ ٪ میزان EAI کاهش یافت. EAI نشان‌دهنده توانایی پروتئین در تشکیل و پایداری امولسیون است(۲۲). نمونه‌های تولیدی با هر دو نوع آنزیم درغلظت‌های پایین توانایی بیشتری در تشکیل و پایداری امولسیون داشتند. در غلظت‌های بالاتر احتمالا به دلیل تجمع پروتئین‌ها و پپتیدها در سطح آب/روغن پایداری امولسیون‌ها مختل می‌گردد (۲۲، ۴). نتایج مشابهی برای پروتئین‌های هیدرولیز شده ماهی اسکاد گزارش شد (۲۲).



شکل (۵) فعالیت امولسیونی (A)(EAI) و شاخص پایداری امولسیون (B) (ESI) پروتئین هیدرولیز شده تخم ماهی قزل‌آلا تولید شده با آلکالاز و پپسین در غلظت‌های مختلف.

خواص امولسیون کنندگی تحت تاثیر نوع آنزیم است(۲۱). پپتیدهای با وزن مولکولی بالاتر یا پپتیدهای آبگریز در پایداری امولسیون بیشتر نقش دارند و به راحتی از سطح جدا نمی شوند و هیدرولیز بیشتر نمونه سبب کاهش خواص امولسیون کنندگی می‌گردد. از سوی دیگر مطالعات بیشتر بر روی توالی اسید آمینه در سطح مشترک حدواسط روغن و آب نشان داده که ویژگی آمفی‌فیلیک بیشتر از اندازه پپتیدها و انعطاف پذیری ساختار پروتئین بر ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی تاثیر دارند (۲۱). میزان شاخص ESI تحت تاثیر تغییر غلظت بود و با افزایش غلظت از۰/۵ درصد میزان پایداری امولسیون کاهش یافت. احتمالا لایه نازک پروتئینی سبب پایداری ذرات روغن می شود و افزایش غلظت پروتئین از حد مشخصی سبب تداخل در قرارگرفتن پروتئین در واحد سطح می‌گردد (۴).

[4] Emulsiying activity index
[5] Emulsion stability index

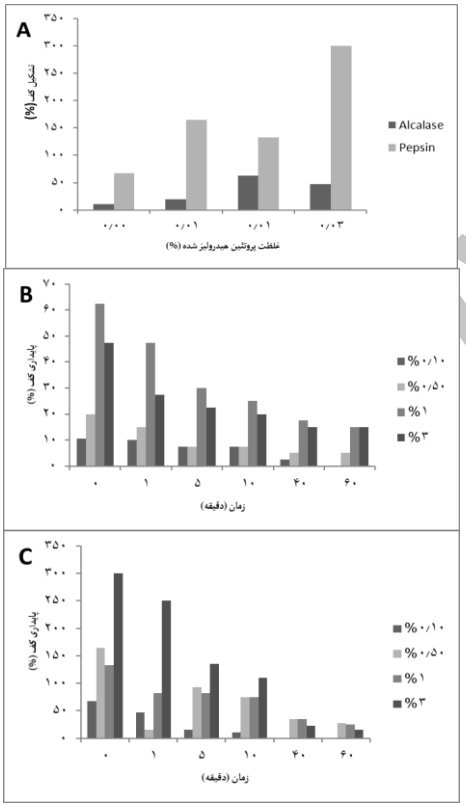
Archive of SID

www.SID.ir

در مطالعه بر روی پروتئین هیدرولیزشده تخم کپور، پپسین با درجه هیدرولیز بالا، در pHهای مختلف ظرفیت و پایداری امولسیون بالاتری نسبت به پروتئین هیدرولیزشده با آنزیم تریپسین و آلکالاز نشان داد (۷). طبق نتایج نمونه‌های تولیدی هر دو آنزیم آلکالاز وپپسین در غلظت ۰/۵ درصد بالاترین میزان امولسیون‌کنندگی را نشان دادند. هیدرولیز تخم ماهی اسکیپ جک با درجه هیدرولیز بالا در غلظت پایین، EAI بالاتری داشت (۱۸). برخی محققان رابطه مستقیمی بین طول پپتید و خواص امولسیون‌کنندگی پروتئین هیدرولیزشده بیان کردند (۱۰). بالا بودن پایداری امولسیون در غلظت‌های پایین (۰/۱ و ۰/۵٪) در نمونه‌های پپسین می‌تواند به دلیل ویژگی‌های پپتیدهای تولیدی باشد. احتمالا پپتیدهای با خواص آمفی‌فیلیک در غلظت‌های پایین برای مهاجرت در سطوح آب و روغن موفق‌تر بوده و در نتیجه ESI بیشتر بود. این نتیجه همسو با نتایج سایر محققان است که جدا از اندازه پپتید، ویژگی‌های آبگریزی یا آبدوستی را در سطوح بین ذرات در امولسیون موثر می‌دانند (۱۸). طبق برخی از مطالعات هرچه درجه هیدرولیز بیشتر باشد پایداری امولسیون بالاتر است (۷، ۳۸).

۳-۷ ویژگیهای تشکیل کف پروتئین هیدرولیز شده

توانایی تشکیل کف[6] و پایداری کف[7]پروتئین هیدرولیزشده تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با دو آنزیم آلکالاز و پپسین پس از ۶۰ دقیقه در شکل ۶ نشان داده شده است. طبق نتایج، نوع آنزیم و زمان بر روی ویژگی‌های تشکیل کف تأثیرگذار می‌باشد. پایداری کف با گذشت زمان در تمامی نمونه‌ها کاهش یافت. نمونه‌های آلکالاز در طی زمان پایداری کف بیشتری نسبت به نمونه‌های پپسین داشتند. نمونه‌های هیدرولیزشده با پپسین تشکیل کف بالاتری نسبت به آلکالاز داشتند (۳۰۰٪ و ۴۷/۵ ٪ به ترتیب)($P<0.05$). درجه هیدرولیز در نمونه‌های هیدرولیزشده با پپسین بالاتر بود. این مقدار می‌تواند در توانایی تولید کف اثر داشته باشد. نمونه‌های دارای درجه هیدرولیز بالاتر احتمالا دارای پپتیدهای با اندازه کوچکتری بوده و این پپتیدها با سرعت بیشتری می‌توانند در سطح بین هوا و آب مهاجرت نمایند (۱۸). در نمونه‌های آلکالاز و پپسین به ترتیب در غلظت‌های ۱٪ و ۳ ٪ ظرفیت تشکیل کف بیشتر بود. این تفاوت به دلیل تفاوت درجه هیدرولیز بین این دو دسته می‌باشد. در نمونه‌های هیدرولیز شده با آلکالاز با افزایش غلظت، ظرفیت تشکیل کف کاهش یافت. افزایش غلظت در پپتیدهای با اندازه بزرگتر سبب تجمع بیشتری می‌گردد و احتمال انتقال پپتیدها در سطح ذرات را کاهش داده و احتمال تولید کف نیز کاهش خواهد یافت؛ این یافته داده‌های مربوط به EAI را تائید می‌کند که با افزایش غلظت این شاخص کاهش یافت (۱۸).



شکل (۶) ویژگی‌های تشکیل کف پروتئین هیدرولیز شده تخم ماهی قزل‌آلا تولید شده با آلکالاز و پپسین در غلظت‌های مختلف.

A، توانایی تشکیل کف؛ پایداری کف نمونه‌های تولیدی با آلکالاز B ؛ پایداری کف نمونه‌های تولیدی با پپسینC.

[6] Foam ability
[7] Foam stability

Archive of SID

www.SID.ir

با افزایش غلظت در نمونه‌های پیسین پایداری کف بیشتری داشتند. این نتایج مشابه یافته های (۲۲، ۳۹) بود. این محققان اقزایش پایداری کف با افزایش غلظت را به علت تشکیل کف سخت‌تری عنوان کردند. نمونه‌های تولیدی با آلکالاز دارای درجه هیدرولیز پایین‌تری نسبت به پپسین و دارای پپتیدهای بزرگتر بود. طی ۶۰ دقیقه پایداری کف نمونه‌های آلکالاز (۶۲/۵ - ٪۱۵) بیشتر از پپسین (٪۳۰۰ - ٪۱۵) بود. این یافته‌ها همسو با نتایج اینتراسیریساوات و همکاران (۲۰۱۲) و چالامیاه و همکاران (۲۰۱۵) (۷، ۱۸) بود. پپتیدهای با زنجیره بلندتر در هیدرولیز می‌تواند فیلم‌های انعطاف‌پذیر، ضخیم‌تر و قوی‌تری در اطراف حباب‌های هوا را تشکیل داده و از پایداری کف بالاتری برخوردار باشد (۷). در مطالعه بر روی هیدرولیز پروتئین تخم ماهی کپور هیدرولیز با تریپسین کف پایدارتری (٪۱۴۱-۱۰۰) پس از ۳۰ دقیقه نسبت به پپسین و آلکالاز داشت(۷). مطالعه دیگری نشان داد که نمونه‌های با درجه هیدرولیز پایین‌تر ،زنجیره‌هایی با طول بیشتر داشت و در نتیجه کف پایداری بیشتری داشت. از دیدگاه آنها پروتئین در این سیستم باید بتواند به سرعت در سطح بین هوا- آب حرکت کرده و باز شده و مجددا در سطح چیده شود. به طور کلی، تشکیل کف و ویژگی‌های امولسیونی پروتئین هیدرولیزشده نسبت به پروتئین اولیه تغییر می‌کند (۱۸). از سوی دیگر پپتیدهای تولیدی در هیدرولیز ممکن است دارای اندازه مختلف و پپتیدهایی با بارهای مختلف باشند (۲۵، ۴۰). ظرفیت بالای کف می‌تواند در صنعت موادغذایی برای کاربردهای مختلف مفید باشد (۷).

۴- نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان دادند که تخم ماهی قزل‌آلا منبع پروتئینی خوبی جهت تولید پپتیدهای زیست‌فعال با کمک هیدرولیز آنزیمی است. بررسی ترکیب شیمیایی نمونه‌های هیدرولیزشده نشان‌دادند که تخم هیدرولیزشده ماهی به عنوان منبع خوبی از اسیدهای آمینه ضروری است. پودر هیدرولیزشده با آنزیم آلکالاز دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالا و پایداری کف بالایی طی زمان داشت و نمونه‌های پپسین از ظرفیت تولید کف بالایی برخوردار بود. هر دو نمونه پودر تولیدی در غلظت پایین دارای خواص امولسیون‌کنندگی مطلوبی بودند و می‌توانند به عنوان امولسیفایر در امولسیونهای غذایی مورد استفاده قرار گرفته و در عین حال خواص آنتی‌اکسیدانی مطلوبی نیز داشته باشند. بررسی‌های اولیه نشان‌دهنده مناسب بودن این منبع برای تولید پپتیدهای زیست‌فعال برای مصارف انسانی جهت استفاده در موادغذایی و غذاداروها در تولید غذاهای فراسودمند است و مطالعات بیشتر برای جداسازی و غنی‌سازی موادغذایی نیاز است.

۵-منابع

1) Raghavan, S. Kristinsson, H. G. Thorkelsson, G. and Johannsson, R. 2011. Antioxidative properties of fish protein hydrolysates. In: Hand book of seafood quality, safety and health application. (Editors: C. Alsavar, F. Shahidi, K. Miyashita, U. Wanasundara) Black well Publishing, PP. 494-507.

2) Oosterveer, P. 2008. Governing global fish provisioning, Ownership and management of marine resources. Ocean and Coastal Management , 51: 797–805.

3) Dekkers, E. Raghavan, S. Kristinsson, H. G. and Marshall, M.R. 2011. Oxidative stability of mahi mahi red muscle dipped in tilapia protein hydrolysates. Food Chemistry, 124: 640–645.

4) Mazorra-Manzano, M.A. Pacheco-Aguilar, R. and Ramírez-Suárez, J.C. 2012. Endogenous proteases in pacific whiting (Merluccius productus) muscle as a processing aid in functional fish protein hydrolysate production. Food and Bioprocess Technology, 5: 130 .

5) Soares de Castro, R.J. and Sato, H.H. 2014. Comparison and synergistic effects of intact proteins and their hydrolysates on the functional properties and antioxidant activities in a simultaneous process of enzymatic hydrolysis. Food Bioproduct and Process, 92: 80–88 .

6) Hsu, K. 2010. Purification of antioxidative peptides prepared from enzymatic hydrolysates

Archive of SID

www.SID.ir

cucumber (Actinopyga lecanora) hydrolysates. International Journal of Molecular Science, 16 (12): 28870–28885.
15) Adeli, A. and Baghaei F. 2013. Production and supply of rainbow trout in Iran and the world. Fish and Marine Science, 5(3): 335-341.
16) Mirsadghi, H. Alishahi, A. Shabanpuor, b. and Safari, R. 2015. Salt and water temperature curing effect on rainbow trout fish eggs qualitative changes (Oncorhyncus mykiss) during cold storage. Journal of Fisheries Science and Technology, 4:, 93-104.
17) Narsing Rao, G. Balaswamy, K. Satyanarayana, A.k. and Prabhakara Rao, P. 2012. Physico-chemical, amino acid composition, functional and antioxidant properties of roe protein concentrates obtained from (Channa striatus and Lates calcarifer). Food Chemistry, 132: 1171-1176.
18) Intarasirisawat, R., Benjakul, S., and Visessanguan, W. 2012. Antioxidative and functional properties of protein hydrolysate from defatted skipjack (Katsuwonous pelamis) roe. Food Chemistry, 135,: 3039–3048.
19) Chalamaiah, M. Jyothirmayi, T. Bhaskarachary, K. Vajreswari, A. Hemalatha, R. and Dinesh Kumar, B. 2013. Chemical composition, molecular mass distribution and antioxidant capacity of rohu (Labeo ohita) roe (egg) protein hydrolysates prepared by gastrointestinal proteases. Food Research International, 52: 221–229.
20) AOAC. 1995. Official methods of analysis. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
21) Klompong, V. Benjakul, S. Kantachota, D. and Shahidi, F. 2007. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (Selaroides leptolepis) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. Food Chemistry, 102: 1317–1327 .
22) Thiansilakul, Y. Benjakul, S. and Shahidi, F. 2007. Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (Decapterus maruadsi). Food Chemistry, 103: 1385–1394 .
23) Yin, H. Pu, J. Wan, Y. Xiang, B. Bechtel, P.J. and Sathivel, S. 2010. Rheological and functional properties of Catfish skin protein hydrolysates. Journal of Food Science, 75: E11-E17.

of tuna dark muscle by-product. Food Chemistry, 122: 42–48.
7) Chalamaiah, M. Hemalatha, R. Jyothirmayi, T. Diwan, P.V. Bhaskarachary, K. Vajreswari, A. Ramesh Kumar, R. and Dinesh Kumar, B. 2015. Chemical composition and immunomodulatory effects of enzymatic protein hydrolysates from common carp (Cyprinus carpio) egg (roe). Nutrition, doi,10.1016/j.nut.2014.08.006
8) Ktari, N. Fakhfakh, N. Balti, R. Ben Khaled, H. Nasri, M. and Bougatef, A. 2013. effect of degree of hydrolysis and protease type on the antioxidant activity of protein hydrolysates from cuttlefish (sepia officinalis) by-products. Journal of Aquatic Food Products and Technology, 22 (5): 436-448.
9) Neves, A.C. Harnedy, P.A. and FitzGerald, R.J. 2016. Angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase-IV inhibitory, and antioxidant activities of a blue mussel (Mytilus edulis) meat protein extract and its hydrolysates. Journal of Aquatic Food Product and Technology, 25 (8): 1221-1233.
10) Kristinsson, H.G. and Rasco, B.A. 2000. Fish protein hydrolysates, Production, biochemical and functional properties. Critical reviews. Food Science and Nutrition, 40(1): 43-81.
11) Klompong, V. Benjakul, S. Kantachote, D. Hayes, K.D. and Shahidi, F. 2008. Comparative study on antioxidative activity of yellow stripe trevally protein hydrolysate produced from Alcalase and Flavourzyme. International Journal of Food Science and Technology, 43:1019–1026 .
12) Chalamaiah, M. Dinesh kumar, B. Hemalatha, R. and Jyothirmayi, T. 2012. Fish protein hydrolysates, Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications, A review. Food Chemistry, 135: 3020-3038.
13) Chalamaiah, M. Narsing Rao, G. Rao, D. G. and Jyothirmayi, T. 2010. Protein hydrolysates from meriga (Cirrhinus mrigala) egg and evaluation of their functional properties. Food Chemistry, 120: 652–657.
14) Ghanbari, R. Zarei, M. Ebrahimpour, A. Abdul-Hamid, A. Ismail, A. and Saari, N. 2015. Angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory and anti-oxidant activities of sea

Archive of SID

www.SID.ir

24) Sathivel, S. Smiley, S. Prinyawiwatkul, W. and Bechtel, P.J. 2005. Functional and nutritional properties of red salmon (Oncorhynchus nerka) enzymatic hydrolysates. Journal of Food Science, 70: 401–406.
25) Sathivel, S. Bechtel, P.J. Babbitt, J. Smiley, S. Crapo, C. Reppond, K.D. and Prinyawiwatkul, W. 2003. Biochemical and functional properties of Herring (Clupea harengus) byproduct hydrolysates. Journal of Food Science, 68: 2196– 2200.
26) Lu, H. Luo, Y. and Feng, L. 2014. Effects of hydrolysates from silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) Scales on rancidity stability and gel properties of fish products. Food and Bioprocess Technology, 7: 2178-218.
27) Hur, S.J. Choi, J.S. and Jin, S.K. 2016. Effect of Freeze-Dried Mechanically Deboned Spent Laying Hen Hydrolysates on the Quality Characteristics of Boiled Fish Paste. Food and Bioprocess Technology, 9: 1169-1176.
28) Wu, H. Chen, H. and Shiau, C. 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (Scomber austriasicus). Food Research International, 36: 949–957.
29) Batista, I. Ramos, C. Coutinho, J. Bandarra, N.M. and Nunes, M.L. 2010. Characterization of protein hydrolysates and lipids obtained from black scabbard fish (Aphanopus carbo) by-products and antioxidative activity of the hydrolysates produced. Process Biochemistry, 45: 18–24.
30) Jun, S.Y. Park, P.J. Jung, W. K. and Kim, S.K. 2004. Purification and characterization of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysate of yellowfin sole (Limanda aspera) frame protein. European Food Research and Technology, 219: 20–26.
31) Lu, H. Luo, Y. and Feng, L. 2014. Effects of hydrolysates from silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) Scales on rancidity stability and gel properties of fish products. Food and Bioprocess Technology, 7: 2178-2188 .
32) Ketnawa, S. and Liceaga, A.M. 2016. Effect of microwave treatments on antioxidant activity and antigenicity of fish frame protein hydrolysates. Food Bioprocess and Technology, doi:10.1007/s11947-016-1841-8
33) Jemil, I. Jridi, M. Nasri, R. Ktari, N. Slama-Ben, R.B. Mehiri, M. Hajji, M. and Nasri, M. 2014. Functional, antioxidant and antibacterial properties of protein hydrolysates prepared from fish meat fermented by Bacillus subtilis A26. Process Biochemistry, 49: 963–972.
34) Nazeer, R.A. Deeptha, R. Jaiganesh, R. Sampathkumar, N.S. and Naqash, S.Y. 2011. Radical scavenging activity of Seela (Sphyraena barracuda) and Ribbon fish (Lepturacanthus savala) backbone protein hydrolysates. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 17:209–216.
35) Kim, S. and Wijesekara, I. 2010. Development and biological activities of marine derived bioactive peptides: A review. Journal of Functional Food, 2: 1–9.
36) Je, J.Y. Lee, K.H. Lee, M.H. and Ahn, C.B. 2009. Antioxidant and antihypertensive protein hydrolysates produced from tuna liver by enzymatic hydrolysis. Food Research International, 42: 1266–1272.
37) Wiriyaphan, C. Chitsomboon, B. and Yongsawadigul, J. 2012. Antioxidant activity of protein hydrolysates derived from threadfin bream surimi byproducts. Food Chemistry, 132: 104–111.
38) Zhao, Q. Xiong, H. Selomulya, C. Dong Chen, X. Zhong, H. Wang, S. Sun, W. and Zhou. Q. 2012. Enzymatic hydrolysis of rice dreg protein: effects of enzyme type on the functional properties and antioxidant activities of recovered proteins. Food Chemistry, 134: 1360–1367.
39) Lawal, O.S. 2004. Functionality of African locust bean (Parkia biglobossa) protein isolate: effects of pH, ionic strength and various protein concentrations. Food Chemistry, 86: 345–355.
40) Pacheco-Aguilar, R. Mazorra-Manzano, M.A. and Ramirez-Suarez, J.C. 2008. Functional properties of fish protein hydrolysates from Pacific whiting (Merluccius productus) muscle produced by a commercial protease. Food Chemistry, 109:782–789.

Archive of SID

www.SID.ir