مجله شیلات
سال چهارم، شماره اول، بهار 89

تولید پروتئین هیدرولیز شده از امعاء و احشاء فیل ماهی (*Huso huso*) با استفاده از آنزیم آلکالاز

*مجید تقی‌اف[1]، محمدرضا قمی[2] و محمودرضا اویسی‌پور[3]

[1]استادیار گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، [2]استادیار گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن،
[3] دانشجوی دوره دکتری تخصصی شیلات، دانشگاه تربیت مدرس نور

چکیده

در تحقیق حاضر، از روش پاسخ سطحی (Response Surface Method; RSM) به منظور بهینه‌سازی شرایط تولید پروتئین هیدرولیز شده از امعاء و احشاء فیل ماهی (*Huso huso*) از لحاظ دما، زمان و میزان آنزیم، استفاده شد. این روش، اثر سه فاکتور دما، زمان و میزان آنزیم (متغیر مستقل) را روی درجه هیدرولیزاسیون به عنوان پاسخ سطحی، مورد بررسی قرار می‌دهد. بر اساس نمودارهای سه بعدی، شرایط بهینه از لحاظ دما، زمان و میزان آنزیم، به‌ترتیب عبارت از دمای 50 درجه سانتی‌گراد، زمان 120 دقیقه و میزان آنزیم 1 درصد بودند. پروتئین هیدرولیز تولید شده با استفاده از آنزیم آلکالاز، دارای 66 درصد پروتئین و 1/34 درصد چربی بود. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان چربی در پروتئین هیدرولیز شده نسبت به مواد خام اولیه، به شدت کاهش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: امعاء و احشاء، آنزیم آلکالاز، پروتئین هیدرولیز شده، روش پاسخ سطحی، فیل‌ماهی

مقدمه

مقدار بسیار زیادی از مواد جانبی صنایع عمل‌آوری آبزیان، بدون هیچ تلاشی برای استفاده از آنها، دور ریخته می‌شوند. ولی بسیاری از تولیدکننده‌های فرآورده‌های دریایی، به‌دلایل زیست‌محیطی، قادر به دور ریختن ضایعات خود به‌صورت مستقیم به دریا نمی‌باشند و برای پالایش این مواد باید هزینه زیادی را متحمل شوند. بنابراین یافتن یک روش مناسب به‌عنوان جایگزینی برای دور ریختن این مواد، امری ضروری است (9). به‌طور کلی سالانه بیش از 100 میلیون تن ماهی در دنیا صید می‌شود که 29/5 درصد از آن به پودر ماهی تبدیل می‌شود (5). احتمالاً بیش از 50 درصد از بافت ماهیان، به‌صورت ضایعات غیر قابل مصرف در می‌آید و تنها 50 درصد توسط انسان مصرف می‌شود. با افزایش جمعیت بشر و افزایش میزان صید به بیش از 100 میلیون تن در سال، باید از منابع دریایی با دقت بیشتری استفاده نمود (9). با به کارگیری تکنولوژی آنزیم برای بازیافت پروتئین، تولید طیف وسیعی از مواد به‌عنوان افزودنی غذای دام، طیور و آبزیان و یا فرآورده‌هایی برای کاربردهای صنعتی و دارویی، فراهم می‌شود (13). امعاء و احشاء ماهیان که یکی از مهمترین ضایعات آنها می‌باشد، سرشار از اسیدهای چرب غیر اشباع و پروتئین می‌باشد، ولی به شدت فسادپذیر بوده و باید به‌صورت منجمد نگهداری شود (14).

اصلاح آنزیمی پروتئین‌ها با استفاده از آنزیم‌های پروتئاز که باعث شکسته شدن پروتئین‌ها از نقاط خاص می‌شوند، به‌صورت گسترده در صنایع غذایی کاربرد دارد (11). آنزیم‌های مورد استفاده به‌منظور هیدرولیز آنزیمی، مانند آنزیم پاپاین می‌توانند دارای منشاء گیاهی باشند (8، 15)، و یا مثل پپسین، کموتریپسین و تریپسین با منشاء جانوری باشند (17). آنزیم‌های با منشاء میکروبی نیز به‌صورت گسترده کاربرد دارند. در مقایسه با آنزیم‌های با

* مسئول مکاتبه: m.taghiof@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

منشاء گیاهی و جانوری، آنزیم‌های میکروبی دارای مزایای بیشتری هستند که از آن جمله می‌توان به تنوع خواص پروتئولتیکی و پایداری بیشتر در pH و دماهای مختلف اشاره نمود (4). به‌طور کلی آنزیم Alcalase® 2.4 L به‌دلیل عملکرد در pH قلیایی، تولید پروتئین هیدرولیز شده با درجه هیدرولیزاسیون بالاتر و طول زنجیره پپتیدی کوتاهتر، بیشترین توجه را به خود اختصاص داده است (2، 9، 13). هیدرولیز پروتئین‌ها می‌تواند باعث بهبود جذب رودوی پپتیدها گردد (9) و می‌تواند به‌صورت پپتون، به‌عنوان منبع ازت در محیط‌های کشت باکتری مورد استفاده قرار گیرد (6). تحقیقات انجام شده در زمینه تولید پروتئین‌های هیدرولیز شده تا امروز، با اهداف مختلفی انجام شده است. برخی از این تحقیقات با هدف تولید پروتئین هیدرولیز شده به‌منظور منبع پروتئینی برای جانوران بوده و برخی دیگر با هدف بهبود خواص کاربردی پروتئین‌ها در مواد غذایی برای انسان (13) می‌باشند.

فیل‌ماهی یکی از گونه‌های با ارزش تاسماهیان می‌باشد که به‌منظور تکثیر مصنوعی، تولید گوشت و خاویار، در سواحل جنوبی دریای خزر صید و پرورش داده می‌شود. ضایعات حاصل از عمل‌آوری تاسماهیان، به استثنای کیسه شنا و ستون مهره‌ها، دور ریخته می‌شود. امعاء و احشاء فیل ماهی، سرشار از پروتئین و اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشد.

با توجه به این‌که ویژگی‌های پروتئین هیدرولیز شده با توجه به نوع سوبسترا، نوع و میزان آنزیم و شرایط هیدرولیز متفاوت می‌باشد (9)، بهینه‌سازی شرایط تولید پروتئین هیدرولیز شده، می‌تواند باعث صرفه‌جویی در زمان، هزینه و میزان آنزیم مورد استفاده گردد. به‌همین منظور تحقیق حاضر با هدف بهینه‌سازی شرایط (دما، زمان و میزان فعالیت آنزیم) تولید پروتئین هیدرولیز شده از امعاء و احشاء فیل ماهی، به‌منظور به‌دست آوردن درجه هیدرولیزاسیون بهینه انجام شد.

مواد و روش‌ها

امعاء و احشاء فیل ماهی (*Huso huso*) از اداره کل شیلات مازندران تهیه شد و تا شروع آزمایش در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آنزیم مورد استفاده در این تحقیق Alcalase 2.4 L بود. این آنزیم یک آنزیم آلکالینی (با فعالیت آنزیمی Anson Unite/g 2/4) می‌باشد که از باکتری *Bacillus licheniformis* استخراج شده است. این آنزیم از نمایندگی شرکت Novozymes در تهران تهیه و تا شروع آزمایش در دمای یخچال (4 درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد.

در ابتدا، امعاء و احشاء فیل ماهی در دمای یخچال (4 درجه سانتی‌گراد) به‌مدت 24 ساعت انجماد زدایی شده و سپس در دستگاه چرخ گوشت، به‌صورت کاملاً هموژن در آمد. پس از آن به‌منظور غیرفعال‌سازی آنزیم‌های درونی امعاء و احشاء، مواد خام اولیه در دمای 85 درجه سانتی‌گراد برای مدت 20 دقیقه قرار داده شد (13). سپس امعاء و احشاء پخته شده، با محلول بافر فسفات، به نسبت 1:2(w:v) رقیق شدند و بعد از آنکه نمونه‌ها با استفاده از دستگاه مولینکس، به‌مدت 2 دقیقه در دمای محیط، کاملا هموژن گردیدند، با استفاده از محلول سود 0/2 نرمال، pH مخلوط به 8/5 که pH فعالیت بهینه آنزیم آلکالاز است، رسانیده شد. تمام واکنش‌های هیدرولیز آنزیمی، در ارلن‌های 250 میلی‌لیتری که حاوی 50 گرم نمونه امعاء و احشاء بود، در دستگاه انکوباتور متحرک (Ivymen System, Comecta, Spain)، با دور ثابت 200 دور در دقیقه انجام شد. در پایان هر آزمایش، به‌منظور قطع واکنش آنزیمی، نمونه‌ها برای مدت 15 دقیقه در دمای 95 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (13). سپس پروتئین هیدرولیز شده، روی یخ خشک و با استفاده از سانتریفوژ مدل Hermle Labrotechnich GmbH z206a (ساخت کشور آلمان) به‌مدت 20 دقیقه در دمای 10 درجه سانتی‌گراد در 8000g، سانتریفوژ شد و مایع رویی برای بررسی‌های بعدی جمع‌آوری شد.

Archive of SID

www.SID.ir

به‌منظور تعیین رطوبت، تقریبا 2 گرم از نمونه روی ظرف آلومینیومی از قبل وزن شد، قرار داده شد. سپس نمونه‌ها در آون در دمای 105 درجه سانتی‌گراد برای مدت 24 ساعت قرار داده شدند تا اینکه وزن ظروف، ثابت گردید (1). برای تعیین میزان پروتئین کل در مواد خام اولیه، از روش کلدال استفاده شد (1) و میزان خاکستر نیز با قرار دادن نمونه خام در کوره در دمای 600 درجه سانتی‌گراد، تعیین گردید (1). برای تعیین میزان چربی نیز از دستگاه سوکسله استفاده شد (1).

برای تعیین میزان پروتئین محلول در مواد هیدرولیز شده، از روش بیورت (10) استفاده و به‌همین منظور برای رسم نمودار استاندارد، پروتئین استاندارد سرم گاو مصرف و میزان جذب دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway, 6305, UV/vis) روی 540 نانومتر تنظیم گردید.

بهینه‌سازی شرایط تولید پروتئین هیدرولیز شده، با استفاده از روش پاسخ سطحی (Response Surface Method) با به کارگیری طرح فاکتوریل، انجام گردید. سه متغیر مستقل دما (X1)، زمان (X2) و نسبت آنزیمی (X3) در سه سطح (1+، 0، 1-) مورد آزمایش قرار گرفت. آزمایش مورد نظر شامل هشت نقطه فاکتوریل، شش نقطه محوری و چهار نقطه مرکزی می‌باشد. درجه هیدرولیزاسیون به عنوان سطح پاسخ به متغیرها، در نظر گرفته شد. پاسخ سیستم آزمایشی، بر اساس معادله زیر انجام گرفت:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{3} \beta_i X_i + \sum_{i=1}^{3} \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{3} \sum_{j=i+1}^{3} \beta_{ij} X_i X_j$$

y عبارت است از متغیر وابسته (درجه هیدرولیزاسیون محاسبه شده)، β_0 یک عدد ثابت، βi، βii و βij عبارتند از ضرایب محاسبه شده بر اساس مدل آزمایشی و اینکه X_i و X_j سطوح متغیرهای مستقل می‌باشند که به‌صورت خطی، مربع و ارتباط متقاطع، اثر سه فاکتور X1، X2 و X3 را روی متغیر وابسته (درجه هیدرولیزاسیون) ارایهٔ می‌دهند. این مدل، اثر هر متغیر مستقل را روی پاسخ، نشان می‌دهد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA) انجام گردید (12) و رسم نمودارهای بهینه‌سازی، با استفاده از نرم‌افزار MATLAB (Release 13.0) انجام گرفت.

درجه هیدرولیزاسیون بر اساس روش Hoyle و Merritt (8) که توسط Ovissipour و همکاران (13) به منظور تعیین درجه هیدرولیزاسیون پروتئین‌های تاسماهی ایرانی استفاده شد، محاسبه گردید. مطابق این روش، بعد از انجام هر آزمایش، محلول 20 درصد اسید تری‌کلرواستیک (TCA) به حجم برابری از محلول حاوی پروتئین هیدرولیز اضافه گردید تا محلول 10درصد اسید تری‌کلرواستیک (TCA) به‌دست آید. سپس ترکیب فوق تحت سانتریفوژ قرار گرفت و ماده رویی برداشته شد. درجه هیدرولیزاسیون بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\%DH = \frac{\text{میزان نیتروژن در } \%TCA10}{\text{کل نیتروژن در نمونه}} \times 100$$

آزمایشات بهینه سازی با استفاده از روش پاسخ سطحی (Response Surface Method; RSM) و طرح فاکتوریل انجام گرفته و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از نرم‌افزار آماری SAS (Cary Inc., NC, USA) استفاده گردید. به‌منظور رسم نمودارهای مربوط به بهینه‌سازی، از نرم‌افزار MATLAB استفاده و میزان معنی‌دار بودن تیمارها در سطح اعتماد 95 درصد سنجیده شد.

نتایج

ترکیب شیمیایی ماده خام اولیه و پروتئین هیدرولیز شده در جدول 1 ارایه شده است. میزان پروتئین و چربی در امعاء و احشاء فیل ماهی، به‌ترتیب 13/67و 14/34 درصد می‌باشد.

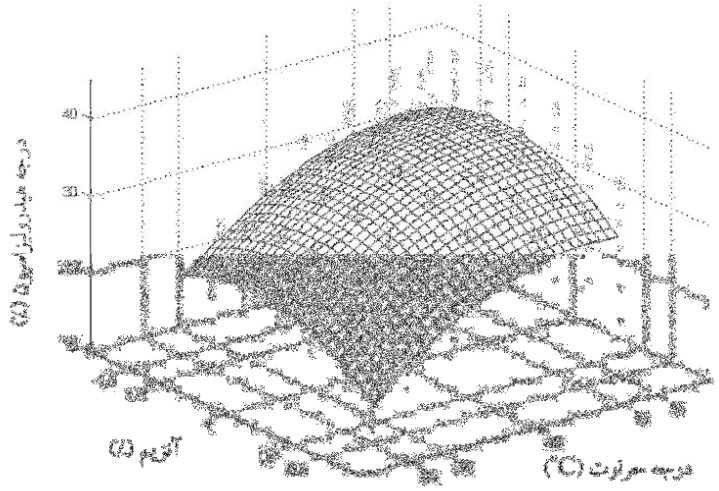
Archive of SID

www.SID.ir

جدول 1- ترکیب شیمیایی مواد خام و پروتئین هیدرولیز شده امعاء و احشاء فیل ماهی

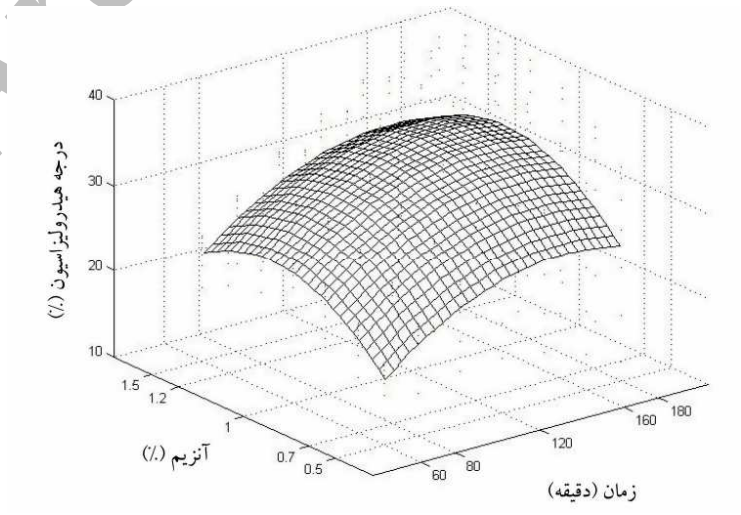
	پروتئین (٪)	چربی (٪)	رطوبت (٪)	خاکستر (٪)
امعاء و احشاء	13/67± 1/4	14/34 ± 0/43	63/51 ± 3/7	6/45 ± 3/21
پروتئین هیدرولیز شده	66/43 ± 3/62	1/34 ± 0/23	7/48 ± 2/7	25/31 ± 2/86

اثر متقابل میزان آنزیم و دمای هیدرولیزاسیون بر درجه هیدرولیزاسیون، در شکل 1 ارایهٔ شده است. همانطور که مشخص است، با افزایش میزان آنزیم، درجه هیدرولیزاسیون در حال افزایش می‌باشد. اما با افزایش میزان آنزیم از 1/3 درصد، اثر آنزیم روی درجه هیدرولیزاسیون کاهش را نشان می‌دهد. با افزایش میزان درجه حرارت نیز بر شدت هیدرولیزاسیون افزوده می‌گردد. ولی بعد از دمای 45 درجه سانتی‌گراد، نرخ رشد هیدرولیز کاهش یافته و تقریباً ثابت می‌شود.



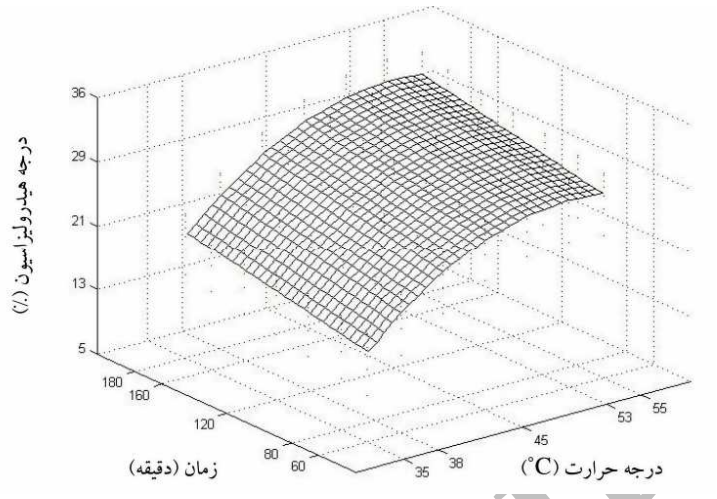
شکل 1- اثر متقابل میزان آنزیم و دمای هیدرولیزاسیون بر درجه هیدرولیزاسیون

اثر متقابل زمان هیدرولیزاسیون و میزان آنزیم در شکل 2 ارایه شده است. بر اساس این نمودار، با افزایش مدت زمان هیدرولیزاسیون، از شدت هیدرولیز کاسته شده و تقریبا ثابت می‌گردد.



شکل 2- اثر متقابل زمان هیدرولیزاسیون و میزان آنزیم بر درجه هیدرولیزاسیون

Archive
www.SID.ir



شکل 3- اثر متقابل دما و زمان هیدرولیزاسیون بر درجه هیدرولیزاسیون

اثر متقابل دما و زمان هیدرولیزاسیون در شکل 3 ارائه شده است. همانطوری در تصویر مشخص می‌باشد، با افزایش دما از 35 به 45 درجه سانتی‌گراد، شدت هیدرولیزاسیون افزایش می‌یابد.

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس جدول 1، میزان پروتئین در پروتئین هیدرولیز شده 66/43 درصد بود که مشابه نتایج سایر محققین می‌باشد که میزان مناسب پروتئین در پروتئین هیدرولیز شده آبزیان را بین 63 الی 90 درصد گزارش نمودند (3، 9،12، 13، 15، 16). میزان چربی در پروتئین هیدرولیز شده امعاء و احشاء فیل ماهی، 1/34 درصد بود (جدول 1) که با نتایج سایر محققین برابری می کرد (9، 13 و 15). میزان چربی در پروتئین هیدرولیز شده، به‌دلیل هیدرولیز آنزیمی و شکسته شدن باندها و به دنبال آن، سانتریفوژ با دور بالا، نسبت به مواد خام اولیه، به شدت کاهش می یابد (9 و 13). کاهش میزان چربی در پروتئین هیدرولیز شده، می‌تواند این فرآورده را از اکسید شدن و فساد چربی، مصون نگه دارد (9، 13 و 15).

با توجه به اینکه بالاترین درجه هیدرولیزاسیون (30 درصد) در دمای 50 درجه سانتی‌گراد و میزان آنزیم 1/5 درصد مشاهده می‌شود (شکل 1)، این دما، بهترین دمای هیدرولیزاسیون می‌باشد. Diniz و Martin (4) طی تحقیقی روی بهینه سازی شرایط هیدرولیز پروتئین‌های عضلات کوسه، دمای 53 درجه سانتی‌گراد را بهترین دما برای هیدرولیزاسیون اعلام کردند. Bhaskar و همکاران (3) اعلام نمودند که دمای بهینه برای هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌های امعاء و احشاء کپور هندی (*Catla catla*)، 50 درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

بر اساس شکل 2، بعد از حدود 120 دقیقه، شدت هیدرولیز کاهش می‌یابد. علت این کاهش را می‌توان در کاهش شدت فعالیت آنزیمی، کاهش میزان باندهای پپتیدی در دسترس برای هیدرولیز و شکل‌گیری فرآورده‌های ممانعت‌کننده از فعالیت آنزیم در درجات بالای هیدرولیزاسیون دانست (7 و 13).

با افزایش دما بیش از 45 درجه سانتی‌گراد (شکل 3)، شدت هیدرولیزاسیون کاهش یافته که به نظر می رسد با کنترل زمان و دمای هیدرولیز می‌توان درجه هیدرولیز را حداکثر تا 30 درصد افزایش داد که در شرایط 45-55 درجه سانتی‌گراد و طی مدت 120-160 دقیقه حاصل

Archive of SID

www.SID.ir

می‌شود. Bhaskar و همکاران (3) بهترین زمان برای دستیابی به حداکثر هیدرولیزاسیون را 135 دقیقه اعلام نمودند. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات محققینی مانند Kristinsson و Rasco (9)، Bhaskar و همکاران (3) و Ovissipour و همکاران (13) مطابقت دارد. به‌عنوان نتیجه‌گیری نهایی می‌توان بیان داشت که بر اساس نمودارهای سه بعدی، شرایط بهینه از لحاظ دما، زمان و میزان آنزیم، به‌ترتیب عبارت از دمای 50 درجه سانتی‌گراد، زمان 120 دقیقه و میزان آنزیم 1 درصد بودند.

تقدیر و تشکر

این پژوهش در قالب طرح پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن انجام گرفته است. از همکاری و مساعدت‌های آقایان دکتر جواد خلعتبری، دکتر خلیل پورشمسیان و خانم وکیلی تقدیر می‌گردد.

منابع

1.AOAC, 2000. Official methods of analysis (17th ed.). Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.

2.Aspmo, S.I., Horn, S.J. and Eijsink, V.G.H., 2005. Enzymatic hydrolysis of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera. Process Biochemistry 40, 1957–1966.

3.Bhaskar, N., Benila, T., Radha, C. and Lalitha, R.G., 2008. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. Bioresource Technology 99, 335–343.

4.Diniz, F.M. and Martin, A.M., 1997. Optimisation of nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) protein: composition of the hydrolysates. International Journal of Food Science and Nutrition 48, 191–200.

5.FAO, 2006. Year book of fishery statistics (Vol. 98/1&2). Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations.

6.Gildberg, A., Batista, I. and Strom, E., 1989. Preparation and characterization of peptones obtained by a two-step enzymatic hydrolysis of whole fish. Biotechnology Applied Biochemistry 11, 413- 423.

7. Guerard, F., Dufossé, L., De La Borise, D. and Binet, A., 2002. Enzymatic hydrolysis of proteins from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) wastes using alcalase. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 11, 1051-1059.

8.Hoyle, N.T. and Merritt, J.H., 1994. Quality of fish protein hydrolysate from Herring (*Clupea harengus*). Journal of Food Science 59, 76–79.

9.Kristinsson, H.G. and Rasco, B.A., 2000. Fish protein hydrolysates: Production, biochemical and functional properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 40, 43–81.

10.Layne, E., 1957. Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. Methods in enzymology 3, 450. NewYork: Academic press, Ind.

11.Mullally, M.M., O'Callaghan, D.M., FitzGerald, R.J., Donnelly, W.J. and Dalton, J.P., 1994. Proteolytic and peptidolytic activities in commercial pancreatin protease preparations and their relationship to some whey protein hydrolysate characteristics. Journal of Agricultural and Food Chemistry 42, 2973-2979.

12.Nilsang, S., Lertsiri, S., Suphantharika, M. and Assavanig, A., 2005. Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. Journal of Food Engineering 70, 571–578.

13.Ovissipour, M., Abedian, A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R. and Shahiri, H., 2009. The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. Journal of Food Chemistry 115, 238-242.

14.Raa, J., Gildberg, A., and Strom, T., 1983. Silage production–theory and practice. In: D. Ledward, A. Taylor, & R. Lawrie (eds.), Upgrading waste for feeds and food (pp: 117–132). London: Butterworths.

15.Shahidi, F., Han, X. Q. and Syniwiecki, J., 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). Food Chemistry 53, 285–293.

16.Souissi, N., Bougatef, A., Triki-Ellouz, Y. and Nasri, M., 2007. Biochemical and functional properties of Sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. Food Technology and Biotechnology 45, 187-194.

Archive of SID

www.SID.ir

17.Viera, G.H.F., Martin, A.M., Saker-Sampaiao, S., Omar, S. and Goncalves, R.C.F., 1995. Studies on the enzymatic hydrolysis of Brazilian lobster (*Panulirus* spp.) processing wastes. Journal of Science and Food Agriculture 69, 61-70.

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Fisheries
Vol. 4, No. 1, Spring 2010

Production of hydrolyzed protein from viscera of beluga *Huso hoso* by Alcalase enzyme

[*]M. Taghiof[1], M.R. Ghomi[2] and M.R. Ovissipor[3]
[1]Assistant Prof., Dept. of Chemistry, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, [2]Assistant Prof., Dept. of Fisheries, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, [3]Ph.D. Student in Fisheries, Tarbiat Modares University, Noor

Abstract

Response Surface Method (RSM) was employed for optimizing the temperature, enzyme quantity, and time in order to produce hydrolyzed protein from viscera of beluga *Huso hoso*. Then, the effects of three independent variables including temperature, time and enzyme quantity were investigated on hydrolization rate as a surface response. Based on the three-dimensional graphs, the optimum condition for temperature, time and enzyme quantity were determined to be 50 ˚C, 120 min and 1%, respectively. The hydrolyzed protein, produced by Alcalase, contained 66% protein and 1.34% lipid. The results of this study revealed that the amount of lipid content dramatically decreased in hydrolyzed protein than in initial row materials.

Keywords: Viscera; Alcalase enzyme; Hydrolyzed protein; Response Surface Method; *Huso hoso*

Archive of SID

[*] Corresponding Author; Email: m.taghiof@yahoo.com

www.SID.ir