Archive of SID

نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد دهم، شماره دوم، ۹۷
۱۳۷-۱۵۰
http://ejfpp.gau.ac.ir
DOI:10.22069/EJFPP.2019.12119.1382

اثر شدت هیدرولیز بر خواص کاربردی پروتئین هیدرولیز شده ماهی پنجزاری باله نارنجی (*Leiognathus bindus*)

زینب رمضانی[۱]، ابراهیم رجب‌زاده قطرمی[۲*]، سیدفخرالدین حسینی[۳]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

[۲]استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریای خرمشهر، خرمشهر، ایران

[۳]استادیار گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۰۵

چکیده

سابقه و هدف: ماهی پنجزاری باله نارنجی ۵۴/۷۷ درصد از صید ضمنی خوریات ماهشهر را شامل می‌شود که به دلیل اندازه کوچک فاقد ارزش تجاری است. بنابراین تولید محصولات با ارزش افزوده، مانند پروتئین هیدرولیز دارای ارزش غذایی می‌تواند راه را برای استفاده کامل از این گونه هموار سازد. استفاده از تکنولوژی آنزیمی برای بازیابی پروتئین در فراوری ماهی، تولید طیف وسیعی از مواد غذایی یا محصولات صنعتی برای طیف گسترده‌ای از برنامه‌های کاربردی را امکان پذیر می‌سازد. استفاده از آنزیم‌های پروتئولیتیک یک تکنیک جالب برای بهبود خواص کاربردی پروتئین مواد غذایی، بدون از دست رفتن ارزش تغذیه‌ای آن‌ها است. خواص کاربردی پروتئین هیدرولیز شده ماهی اهمیت دارد، به خصوص اگر به عنوان یکی از اجزای مواد غذایی برای انسان مورد استفاده قرار گیرد. از میان خواص کاربردی پروتئین و پروتئین‌های هیدرولیز شده، حلالیت مهم‌ترین خصوصیت می‌باشد که بر سایر خصوصیات کاربردی مانند امولسیون‌کنندگی و تشکیل کف تاثیر می‌گذارد. هیدرولیز آنزیمی پروتئین ماهی ترکیبی از آمینو اسیدهای آزاد، و الیگو پپتید تولید می‌کند، که تعداد گروه‌های قطبی و حلالیت محصولات هیدرولیز شده را افزایش می‌دهد، و بنابراین ویژگی‌های کاربردی پروتئین را اصلاح می‌بخشد، باعث بهبود کیفیت کاربردی و دسترسی زیستی آن‌ها می‌شود. هدف از این تحقیق بررسی خواص کاربردی پروتئین هیدرولیز شده ماهی پنجزاری باله نارنجی (*Leiognathus bindus*) است.

مواد و روش‌ها: ماهی پنجزاری باله نارنجی با استفاده از ۱ درصد آنزیم آلکالاز طی ۱، ۲، ۳ و ۴ ساعت هیدرولیز شده و خواص کارکردی آن ارزیابی شد. میزان حلالیت پروتئین هیدرولیز شده در محدوده pH ۹-۳ و خواص امولسیونی کنندگی و کف کنندگی در غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان هیدرولیز ۲۸/۰۷ درصد بود که پس از ساعت چهارم بدست آمد. میزان حلالیت در محدوده‌ی pH ۹-۳ بالای ۹۰ درصد بود. در همه زمان‌های هیدرولیز با تغییر pH از اسیدی به قلیایی روند حلالیت نیز افزایش نشان داد ($P<0/05$). شاخص فعالیت امولسیون و همچنین شاخص پایداری امولسیون با افزایش زمان هیدرولیز و همچنین افزایش غلظت پروتئین کاهش یافت ($p<0/05$). در یک غلظت ثابت پروتئین با افزایش زمان هیدرولیز کاهش اندکی در گسترش

*مسئول مکاتبه: rajabzadeh48@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

و پایداری کف مشاهده شد (P<۰/۰۵). در صورتی که در یک ساعت هیدرولیز با افزایش غلظت پروتئین گسترش کف و پایداری آن افزایش چشمگیری نشان داد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که پروتئین هیدرولیز ماهی پنجزاری باله نارنجی می‌تواند به عنوان یک ماده غذایی یا افزودنی جهت افزایش تمایل مصرف کننده به مصرف مواد غذایی یا افزایش مدت زمان نگه‌داری مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین کاربرد آن به عنوان عوامل امولسیون‌کننده، یا کف‌کننده در سوسیس، سس مایونز، چاشنی سالاد، نوشابه و خامه و غیره در محدوده‌ی وسیع pH مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین هیدرولیز شده، ماهی پنجزاری باله نارنجی، آلکالاز.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

دورریزهای[1] دریایی بخشی از کل صید ماهی است که اغلب بدون استفاده باقی می‌ماند (نه به فروش می‌رسد و نه به دریا بازگردانده می‌شوند) که شامل گونه‌های صید غیر هدف با ارزش تجاری کم، ماهی ریزتر از اندازه تجاری، ماهی‌هایی که بیش از اندازه مورد نیاز صید شدند و ماهی‌های آسیب دیده‌ای که از نظر صیادان مناسب نیستند، می‌باشند (۱۳). نظر به اینکه دورریزهای مرده یا در حال مرگ که به دریا بازگردانده می‌شوند، باعث مشکلات عمده زیست‌محیطی از قبیل تغییر در زنجیره تغذیه‌ای دریایی می‌شوند (۳). لذا، اعمال اقدامات فنی به‌منظور ممنوعیت از صید دورریزها ضروری است. می‌توان صید دورریز را بوسیله بهبود ادوات صید انتخابی کاهش داد اما امکان حذف کامل آن‌ها وجود ندارد. پس ضروری است فرآیندهایی که محصولات با ارزش افزوده از این مواد اولیه به دست می‌آید توسعه یابد. یکی از این روش‌ها، هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌ها به منظور تولید پروتئین هیدرولیز شده ماهی[2] می‌باشد. تکنولوژی آنزیمی برای بازیابی و اصلاح پروتئین در حال توسعه می‌باشد، بنابراین تولید مواد غذایی با ارزش و محصولات صنعتی از این قبیل فرآورده‌ها امکان‌پذیر خواهد بود (۴). تولید هیدرولیزشده‌های حاوی پپتید بوسیله آنزیم به خوبی انجام شده و بررسی‌های گسترده‌ای بر روی استفاده از پروتئین هیدرولیز شده در تغذیه انسان صورت گرفته‌است (۶). استفاده از آنزیم‌های پروتئولیتیک اغلب یک شیوه جالب برای بهبود خواص کاربردی پروتئین مواد غذایی، بدون از دست رفتن ارزش تغذیه‌ای آن‌ها است. خواص کاربردی پروتئین‌ها، رفتار و عملکرد آن‌ها را در سیستم‌های غذایی در حین آماده‌سازی، فرآورش، نگهداری و مصرف کنترل می‌کند. روند انجام هیدرولیز و شرایط مورد نیاز واکنش برای سوبسترا و آنزیم‌های مختلف متفاوت است، همچنین شرایط مذکور به خواص مورد نظر محصولات هیدرولیز شده بستگی دارد.

هیدرولیز آنزیمی بر اندازه مولکولی، گروه‌های آب‌گریز و قطبی تاثیر می‌گذارد که به‌طور مستقیم بر خواص کاربردی آن‌ها در ترکیب مواد غذایی موثر است (۱۶). هیدرولیز آنزیمی پروتئین مواد غذایی یک روش کارآمد برای بازیابی پپتیدهای زیست فعال[3] است. پروتئین هیدرولیز ماهی نشان داده که پتانسیل لازم را برای کاربردهای تغذیه‌ای و یا دارویی را دارا می‌باشد (۳۲).

انواع آنزیم‌های تجاری مختلف برای هیدرولیز ماهی و دیگر پروتئین‌های مواد غذایی مورد آزمایش قرار گرفته است. آنزیم‌های پروتئولیتیک که منشاء میکروبی و گیاهی دارند جهت تولید پروتئین هیدرولیز ماهی مناسب هستند. آنزیم‌های میکروبی به‌ویژه آلکالاز (پروتئاز تهیه شده از باکتری *Bacillus licheniformis*) به‌دلیل تولید پروتئین با درجه بالای هیدرولیز درکوتاه‌ترین زمان و در شرایط متعادل نسبت به آنزیم‌های خنثی یا اسیدی به طورگسترده استفاده می‌شود (۲ و ۳۰ و ۳۱).

ماهی پنجزاری بالهنارنجی[4] (*Leiognathus bindus*) از ماهیان آب‌شور و از خانواده پنجزاری ماهیان است. این گونه در سراسر خلیج فارس و بخش غربی دریای عمان پراکنده‌است بیشینه در ازای آن ۱۱ سانتی‌متر می‌باشد (۲۸). بر اساس برآوردها این گونه ۵۴/۷۷ درصد صید ضمنی خوریات ماهشهر را به خود اختصاص می‌دهد که به‌دلیل اندازه کوچک فاقد ارزش تجاری است و به‌عنوان صید دورریز از آن

1. Discarded
2. Fish pretein hydrolysate (FPH)
3. Bioactive
4. Ponyfish

www.SID.ir

Archive of SID

یاد می‌شود (۲۳). بنابراین تولید محصولات با ارزش افزوده، مانند پروتئین هیدرولیز شده دارای ارزش غذایی تحت عنوان خواص کاربردی خوب، می‌تواند راه را برای استفاده کامل از این گونه هموار سازد. پژوهش‌های زیادی بر روی پروتئین هیدرولیز ماهی و خواص کاربردی آن صورت گرفته است (۳۱ و ۳۲).

از این رو با توجه ریز بودن این ماهی و عدم تقاضای آن در بازار به صورت منجمد یا تازه، نیاز کشور به تولید منابع پروتئینی با ارزش و جلوگیری از برگرداندن این قبیل گونه‌ها به صورت مرده به دریا، تحقیق حاضر به منظور تولید پروتئین هیدرولیز شده از ماهی پنجزاری باله نارنجی و تعیین میزان خواص کاربردی آن صورت گرفته‌است.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده: ماهی پنجزاری باله نارنجی با وزن تقریبی ۹/۸ گرم از آب‌های خوزستان صید بلافاصله در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد منجمد و تحت همین دما به دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس منتقل گردید و تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه نگه‌داری شد.

آنزیم آلکالاز با فعالیت ۲/۴ واحد آنسون بر گرم با کد P4860 از شرکت سیگما، تری کلرو استیک اسید[1]، هیدروکلریک اسید، سدیم هیدروکسید از شرکت سامچون، آلبومین سرم گاوی[2] از شرکت مرک و سدیم دودسیل سولفات[3] از سیگما تهیه شد.

تولید پروتئین هیدرولیز شده: جهت انجام هیدرولیز نمونه‌های منجمد به مدت ۲۴ ساعت در یخچال (۴ درجه سانتی گراد) نگه‌داری شدند تا انجمادزدایی صورت گیرد. نمونه‌ها با استفاده از چرخ گوشت با منافذی به قطر ۰/۵ میلی‌لیتر چرخ گردید. ۵۰ گرم از نمونه‌های چرخ‌شده در ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتر ریخته و جهت غیرفعال‌سازی آنزیم‌های درونی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد در بن ماری (ممرت، آلمان) قرار داده شد (۲۴). سپس با نسبت ۱ به ۲ با محلول بافر فسفات ۰/۲ مولار (pH ۸/۵) رقیق شدند. به‌مدت ۲ دقیقه با استفاده از هموژنایزر (Wiggen، مدل D500، ساخت آلمان) به‌طور کامل هموژن شدند. سپس محلول همگن با استفاده از سود ۱ نرمال pH محلول را به ۸/۵ که pH بهینه آنزیم آلکالاز است رسانیده‌شد. آنزیم الکالاز را با نسبت ۱ درصد گوشت چرخ شده به نمونه‌ها اضافه کرده و به انکوباتور شیکردار (ایومن کمکتا، System اسپانیا) با دمای ۵۵ درجه سانتی گراد با دور ثابت ۲۰۰ دور بر دقیقه انتقال داده شدند. عمل هیدرولیز در مدت زمان‌های ۱ ، ۲ ، ۳ و ۴ ساعت انجام شد. پس از طی مدت زمان‌های مذکور به منظور توقف واکنش آنزیمی، نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه در بن‌ماری قرار گرفت. نمونه‌ها پس از خنک شدن تا دمای معمولی اتاق، در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد، به مدت ۲۰ دقیقه و با سرعت (g × 8000) سانتریفیوژ (مدل universal 320 R، شرکت Hertich آلمان) شدند و مایع رویی برای بررسی‌های بعدی جمع‌آوری شدند.

اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی: برای تعیین میزان رطوبت، چربی، پروتئین و خاکستر گوشت خام ماهی پنجزاری از روش‌های استاندارد اتحادیه‌ی رسمی شیمی محصولات کشاورزی[4] استفاده گردید (۱). در محاسبه میزان پروتئین از ضریب ۶/۲۵ برای تبدیل نیتروژن به پروتئین استفاده شد. مقدار پروتئین در مایع رویی به روش لوری و همکاران (۱۹۵۱)، با اندازه‌گیری شدت جذب در طول موج ۷۵۰ نانومتر

1. Trichloroacetic acid
2. Bovine serum albumin
3. sodium dodecyl sulphate
4. AOAC

www.SID.ir

Archive of SID

انجام شد و برای رسم منحنی استاندارد از سرم آلبومین گاوی استفاده گردید (۱۹).

اندازه‌گیری درجه هیدرولیز[1]: درجه هیدرولیز به روش فونک و سینگ (۱۹۹۶)، اندازه‌گیری شد (۹). حجم مساوی از محلول پروتئینی جدا شده به محلول تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد اضافه شد و پس از سانتریفیوژ در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۸۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه غلظت پروتئین محلول در تری کلرو استیک اسید ۱۰ درصد به روش لوری و همکاران (۱۹۵۱)، در طول موج ۷۵۰ نانومتر تعیین شد (۱۹). درجه هیدرولیز طبق معادله زیر محاسبه گردید.

معادله ۱:

$$\text{درجه هیدرولیز (\%)} = \frac{\text{پروتئین حل شده در محلول 10 درصد از } TCA}{\text{کل پروتئین‌های نمونه‌ها}} \times \frac{}{100}$$

خواص کاربردی پروتئین هیدرولیز شده

حلالیت: برای اندازه‌گیری حلالیت، pH محلول پروتئینی (با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با کمک اسید کلردریک و سدیم هیدروکسید ۱ مولار در ۳،۵،۷،۹ تنظیم شد. سپس نمونه‌ها پس از ۳۰ دقیقه استراحت، به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شدند و غلظت پروتئین در مایع رویی به روش لوری و همکاران (۱۹۵۱)، محاسبه شد (۱۹). درصد حلالیت مطابق رابطه زیر بدست آمد.

معادله ۲:

درصد حلالیت = (مقدار پروتئین نمونه/مقدار پروتئین مایع روماند) ×۱۰۰

خواص امولسیون کنندگی: شاخص فعالیت امولسیون کنندگی و پایداری امولسیون طبق روش پیرس و کینسلا (۱۹۷۸)، با اندکی تغییر تعیین شد (۲۶). روغن آفتابگردان (۲ میلی‌لیتر) و محلول پروتئین هیدرولیز شده (در غلظت‌های ۵، ۲/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه همگن شدند. ۵۰ میکرولیتر از امولسیون تشکیل شده در زمان‌های ۰ و ۱۰ دقیقه پس از همگن شدن از ته ظرف برداشته و با ۱۰۰ برابر محلول سدیم دو دسیل سولفات ۰/۱٪ رقیق شد. سپس محلول حاصل به مدت ۱۰ ثانیه با استفاده از ورتکس به طور کامل مخلوط و در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. شاخص فعالیت امولسیون کنندگی و پایداری آن مطابق معادله‌های زیر محاسبه شد.

معادله ۳:

$$\text{شاخص فعالیت امولسیون کنندگی} = (m^2/g) = \frac{2\times 2.303\times 100\times A}{C\times 0.25\times 10000}$$

A = شدت جذب در ۵۰۰ نانومتر

C = غلظت پروتئین (گرم بر میلی‌لیتر)

معادله ۴: $\text{شاخص پایداری امولسیون} = \frac{A0\times 10}{A0-A10}$

A0 = شدت جذب در زمان صفر

A10 = شدت جذب بعد از گذشت ۱۰ دقیقه

خواص کف‌کنندگی: گسترش کف و پایداری آن طبق روش شهیدی و همکاران (۱۹۹۵) تعیین شد (۲۹). ۲۰ میلی‌لیتر از محلول پروتئین هیدرولیز شده (در غلظت‌های ۵ ، ۲/۵ و ۱۰ بر میلی‌لیتر) با استفاده از دستگاه هموژنایزر به مدت یک دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور بر دقیقه در دمای اتاق همگن شد. نمونه‌های همگن شده به استوانه‌های مدرج ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل شدند و حجم کلی آن‌ها پس از ۶۰ دقیقه قرائت شد. گسترش کف و پایداری آن طبق روابط زیر محاسبه شد.

معادله ۵:

گسترش کف کنندگی (٪) = {(A-B)/B} × ۱۰۰

معادله ۶: پایداری کف (٪) = {(C-B)/B} × ۱۰۰

1. Degree of hydrolysis (DH)

www.SID.ir

Archive of SID

A = حجم کل بعد از هموژن (ml)

B = حجم قبل از هموژن

C = حجم بعد از زمان ۶۰ دقیقه

تجزیه و تحلیل آماری

همه آزمایشات در سه تکرار انجام شد. تجزیه وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار $SPSS_{.20}$ و روش تجزیه واریانس یک طرفه برای مقایسه میانگین‌ها و در صورت معنی‌دار بودن اختلاف میان نمونه‌ها در سطح اطمینان ۹۵ از آزمون دانکن استفاده گردید. برای ترسیم نمودارها، نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۲ بکار گرفته‌شد.

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی: ترکیبات شیمیایی ماهی پنجزاری باله نارنجی در جدول (۱) آورده شده‌است. مقادیر مربوط به پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر بر اساس وزن خشک محاسبه گردیده‌است. مقدار پروتئین موجود در این گونه ۱۵,۴۴٪ می‌باشد.

جدول ۱: ترکیب شیمیایی ماهی پنجزاری باله نارنجی.

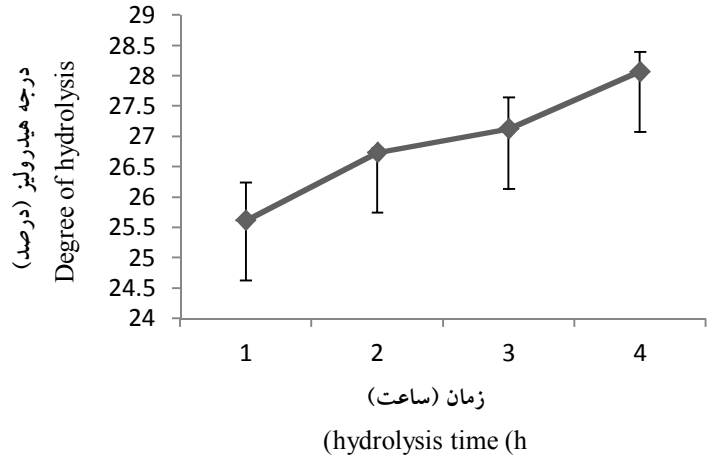
Table 1. Proximate composition of Ponyfish

ترکیب	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	رطوبت (درصد)	خاکستر (درصد)
Composition	Protein (%)	Fat (%)	Moisture (%)	Ash (%)
میزان content	15.44±0.22	10±0.18	70.91±0.95	3.50±0.04

میانگین ± انحراف از معیار

Means ± Std. deviation

درجه هیدرولیز: نتایج مربوط به میزان هیدرولیز ماهی پنجزاری باله نارنجی در شکل (۱) نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود کمترین مقدار هیدرولیز ۰/۶۱±۲۵/۶۱ درصد و بیش‌ترین آن ۰/۳۱± ۲۸/۰۷ درصد که به ترتیب مربوط به ساعت-های اول و چهام می‌باشد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که با افزایش زمان هیدرولیز از یک به چهار ساعت، درجه هیدرولیز نیز افزایش پیدا می‌کند نتیجه حاصل مشابه نتایج سایر محققین بوده و توسط آن‌ها تایید می‌شود (۸، ۱۱، ۱۴، ۱۵، ۲۴ و ۲۵).



شکل ۱: روند هیدرولیز پروتئین ماهی پنجزاری باله نارنجی با آنزیم آلکالاز

Figure 2. Hydrolysis changes of Ponyfish protein treated with Alcalase

www.SID.ir

Archive of SID

حلالیت: میزان حلالیت پروتئین هیدرولیز شده ماهی پنجزاری باله نارنجی در جدول (۲) نشان داده شده است. میزان حلالیت پروتئین هیدرولیز شده ماهی پنجزاری در همه‌ی pHها بالاتر از ۹۰ درصد است. میزان حلالیت پروتئین‌ها در pH قلیایی بیش‌تر از pH اسیدی بود. در همه‌ی زمان‌های هیدرولیز با تغییر pH از اسیدی به قلیایی روند حلالیت نیز افزایش نشان داد (P<۰/۰۵). میزان حلالیت پروتئین هیدرولیز شده گوشت گیش ماهی بوسیله آنزیم آلکالاز و فلاووزیم با درجه هیدرولیز (۲۵-۵٪) و در محدوده pH ۱۲-۲ بالاتر از ۸۵ درصد گزارش شده‌است (۱۶). پایین‌ترین میزان حلالیت در تمام زمان‌ها در pH ۵ مشاهده شد. می‌توان چنین نتیجه گرفت که باقی مانده‌های پروتئین‌ها یا پپتیدهای با وزن ملکولی بالا پس از هیدرولیز در این pH رسوب داده شده‌اند پس این pH به عنوان نقطه ایزوالکتریک پروتئین هیدرولیز شده ماهی پنجزاری در نظر گرفته می‌شود. به‌طور کلی تبدیل پروتئین‌ها به پپتیدهای کوچکتر منجر به تولید محصولات با درجه حل پذیری بالاتر می‌شود (۱۰ و ۱۶). تعادل نیروهای آب‌گریز و آب‌دوست پپتیدها نیز یکی دیگر از عوامل تاثیر گذار بر حلالیت پروتئین‌های هیدرولیز می‌باشد (۱۰ و ۱۶). بنابراین تفاوت در حلالیت هیدرولیزشده‌ها در درجات مختلف هیدرولیز به اندازه پپتید، تعادل آب‌گریزی-آب‌دوستی و همچنین بار پپتیدهای تولید شده در طول هیدرولیز بستگی دارد (۲۲).

جدول ۲: حلالیت (درصد) هیدرولیز شده‌های پروتئینی به‌دست آمده از ماهی پنجزاری باله نارنجی در pHهای مختلف

Table 2. Solubility (%) of protein hydrolysates obtained from ponyfish at different pH levels

pH	زمان هیدرولیز (ساعت) Hydrolysis time (hour)				
	1	2	3	4
3	$93.71\pm0.07^{c*C**}$	97.00 ± 0.08^{bB}	97.77 ± 0.08^{bA}	97.91 ± 0.11^{cA}
5	92.04 ± 0.14^{dB}	94.83 ± 0.18^{cA}	95.00 ± 0.07^{cA}	95.18 ± 0.10^{dA}
7	94.11 ± 0.13^{bC}	97.78 ± 0.21^{aB}	98.23 ± 0.06^{aAB}	98.33 ± 0.11^{bA}
9	95.76 ± 0.10^{aD}	97.94 ± 0.16^{aC}	98.43 ± 0.04^{aB}	99.56 ± 0.13^{aA}

میانگین ± انحراف از معیار Means ± Std. deviation

*حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (p < ۰/۰۵).

**حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (p < ۰/۰۵).

*Different small letters in the same column indicate significant differences (p < 0.05).
**Different capital letters in the same column indicate significant differences (p < 0.05).

خواص امولسیون کنندگی: شاخص فعالیت امولسیون کنندگی و همچنین شاخص مربوط به پایداری آن در جدول ۳ ارائه شده‌است. نتایج حاصل نشان داد که در فعالیت امولسیون کنندگی بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار بدست‌آمده به ترتیب مربوط به غلظت پروتئین ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و زمان هیدرولیز ۱ ساعت (۱/۷۶ ±۸۶/۷۰ متر مربع بر گرم) و غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و زمان‌های هیدرولیز ۳ و ۴ ساعت (۰/۲۲±۱۴/۷۰ و ۰/±۱۴/۵۶ متر مربع بر گرم) که اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار وجود ندارد (P>۰/۰۵). همچنین در شاخص پایداری امولسیون نیز بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار به ترتیب مربوط به غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و زمان هیدرولیز ۱ ساعت (دقیقه ۰/۳۹ ±۲۱/۵۷) و غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و زمان هیدرولیز ۴ ساعت (دقیقه ۰/۱۲± ۱۲/۹۸) است. با توجه به مشاهدات صورت گرفته در این تحقیق شاخص فعالیت امولسیون کنندگی و همچنین شاخص پایداری آن با افزایش زمان هیدرولیز و همچنین افزایش غلظت پروتئین کاهش می‌یابد

www.SID.ir

Archive of SID

(p<۰/۰۵). موتیلانگی و همکاران (۱۹۹۶)، گزارش دادند که پپتیدهای با وزن مولکولی بالاتر یا پپتیدهای آب‌گریز کمک زیادی به پایداری امولسیون می‌کند (۲۰). از سوی دیگر هیدرولیز بیش از حد موجب کاهش خواص امولسیون کنندگی می‌شود (۵ و ۱۵ و ۱۶). کلومپونگ و همکاران (۲۰۰۷)، گزارش دادند که شاخص فعالیت و پایداری امولسیون در پروتئین هیدرولیز شده‌ی گیش ماهی با افزایش درجه هیدرولیز کاهش می‌یابد (۱۶). پپتیدهای با وزن مولکولی پایین به اندازه کافی آمفیفیلیک نیستند و خواص امولسیون کنندگی خوبی را ارائه نمی‌دهند (۵). لین و چن (۲۰۰۶)، به این نتیجه رسیدند که فرایند امولسیون کنندگی دو مرحله‌ای می‌باشد: الف) تغییر شکل و شکستن قطرات که موجب افزایش سطح امولسیون کنندگی می‌شود و ب) تثبیت پیوندهای تازه شکل گرفته بوسیله امولسیفایر یا سورفاکتانت (۱۸). پروتئین‌های هیدرولیز شده حاصل از زمان ۱ ساعت می‌توانند در پیوندها به صورت منظم آرایش یابند و موجب پایداری قطرات روغن شوند. درحالی که با افزایش غلظت پروتئین حاصل از همین زمان هیدرولیز، شاخص فعالیت امولسیون کنندگی کاهش یافت. در غلظت‌های پایین پروتئین، جذب پروتئین در روابط آب- روغن سبب کنترل گسترش آن‌ها می‌شود. در غلظت بالای پروتئین یک سد فعال انرژی مانع مهاجرت و نفوذ پروتئین در روابط می‌شود، پس منجر به تجمع پروتئین در فاز آبی می‌شود (۱۷ و ۳۱). افزایش تعامل پروتئین-پروتئین منجر به غلظت پایین پروتئین در روابط آب-روغن شده، که موجب تشکیل یک فیلم نازک اطراف قطرات روغن می‌شود. بنابراین خواص امولسیون کنندگی محصولات هیدرولیز به خواص مولکولی، به ویژه اندازه پپتید و غلظت مورد استفاده هیدرولیز شده‌ها بستگی دارد.

جدول ۳: خاصیت امولسیون کنندگی غلظت‌های مختلف هیدرولیزشده‌های پروتئینی به‌دست آمده از ماهی پنجزاری باله نارنجی

Table 3. Emulsifying properties of different concentrations of protein hydrolysates from ponyfish

غلظت پروتئین (میلی‌گرم /میلی‌لیتر) Protein concentration (mg/ml)	زمان هیدرولیز (ساعت) Hydrolysis time (hour)	شاخص فعالیت امولسیون کنندگی (m^2/g) Emulsifying activity index (m^2/g)	شاخص پایداری امولسیون (دقیقه) Emulsion stability Index (min)
2.5	1	$86.70\pm1.76^{a*A**}$	21.57 ± 0.39^{aA}
	2	80.32 ± 0.06^{bA}	19.70 ± 0.30^{bA}
	3	77.22 ± 0.18^{cA}	18.81 ± 0.22^{bcA}
	4	72.01 ± 0.15^{dA}	17.85 ± 0.20^{cA}
5	1	34.37 ± 0.26^{bB}	19.30 ± 0.38^{aB}
	2	37.14 ± 0.61^{aB}	19.40 ± 0.09^{aA}
	3	27.74 ± 0.35^{cB}	18.29 ± 0.47^{aA}
	4	24.59 ± 0.36^{dB}	16.47 ± 0.23^{bB}
10	1	18.44 ± 0.34^{aC}	15.87 ± 0.25^{aC}
	2	17.22 ± 0.17^{bC}	14.01 ± 0.13^{bB}
	3	14.70 ± 0.22^{cC}	13.57 ± 0.40^{bcB}
	4	14.56 ± 0.29^{cC}	12.98 ± 0.12^{cC}

میانگین ± انحراف از معیار Means ± Std. deviation

*حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار است (p < ۰/۰۵).

**حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار است (p < ۰/۰۵).

*Different small letters in the same column indicate significant differences (p < 0.05).

**Different capital letters in the same column indicate significant differences (p < 0.05).

www.SID.ir

Archive of SID

خواص کف کنندگی: با توجه به نتایج بدست آمده (جدول ۴) در مورد گسترش کف بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار بدست‌آمده به ترتیب مربوط به غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در زمان‌های هیدرولیز ۱ و ۲ ساعت (۱/۱۸±۷۵/۰۰ درصد) که اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار مشاهده نشد (P>۰/۰۵) و غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و زمان هیدرولیز ۴ ساعت (۰/۲۵±۱۵/۰۰ درصد) است. در پایداری کف بیش‌ترین مقدار حاصل مربوط به غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر زمان‌های هیدرولیز ۱ و ۲ ساعت (۰/۱۴±۵۰/۰۰ و ۰/۲۵±۵۰/۰۰ درصد) که اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار وجود ندارد (P>۰/۰۵) و کم‌ترین مقدار نیز مربوط به غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و زمان هیدرولیز ۴ ساعت (۰/۲۵±۲/۵۰ درصد) می‌باشد. با توجه به مشاهدات صورت گرفته در یک غلظت پروتئین با افزایش درجه هیدرولیز، کاهش به نسبت اندکی در اکثر تیمارها در گسترش کف مشاهده شد (p<۰/۰۵). فرض بر این است که این امر ناشی از کاهش توازن پپتیدهای کوچک در حد فاصل آب–هوا است (۲۲). در صورتی که در یک زمان هیدرولیز با افزایش غلظت پروتئین هیدرولیز شده افزایش چشمگیری در گسترش کف مشاهده گردید (p<۰/۰۵). این امر ناشی از افزایش ضخامت فیلم‌های سطحی می‌باشد (۱۲). تشکیل کف بوسیله سه عامل انتقال، نفوذ و آرایش ملکول‌های پروتئین در حد فاصل آب و هوا کنترل می‌شود (۱۶). به طور کلی پروتئین‌هایی که به سرعت در حد فاصل مایع و هوا جذب، ساختمان آن‌ها از هم باز شده و در سطح مشترک آب و هوا آرایش مجدد می‌یابند نسبت به پروتئین‌هایی که به آرامی جذب سطح مشترک و در برابر باز شدن ساختمانشان از خود مقاومت نشان می‌دهند کف مطلوب‌تری تشکیل می‌دهند (۷).

جدول ٤: قدرت کف کنندگی غلظت‌های مختلف هیدرولیزشده‌های پروتئینی به‌دست آمده از ماهی پنجزاری باله نارنجی

Table 4. Foaming properties of different concentrations of protein hydrolysates from ponyfish

غلظت پروتئین (میلی‌گرم/میلی‌لیتر) Protein concentration (mg/ml)	زمان هیدرولیز (ساعت) Hydrolysis time (h)	گسترش کف (٪) Foam Expansion (%)	پایداری کف (٪) Foam stability (%)
2.5	1	$28.75\pm0.20^{a*C**}$	18.00 ± 0.38^{aC}
	2	25.00 ± 0.57^{bC}	12.50 ± 0.43^{bC}
	3	25.00 ± 0.57^{bA}	12.50 ± 0.38^{bC}
	4	15.00 ± 0.25^{cC}	2.50 ± 0.25^{cC}
5	1	43.75 ± 1.04^{aB}	31.25 ± 0.28^{aB}
	2	37.50 ± 1.45^{bB}	25.00 ± 0.25^{bB}
	3	37.50 ± 1.45^{bA}	21.25 ± 0.52^{cB}
	4	34.00 ± 0.50^{cB}	18.00 ± 0.34^{dB}
10	1	75.00 ± 1.18^{aA}	50.00 ± 0.25^{aA}
	2	75.00 ± 1.18^{aA}	50.00 ± 0.14^{aA}
	3	62.50 ± 0.43^{bA}	40.00 ± 0.43^{bA}
	4	60.00 ± 0.52^{bA}	37.50 ± 0.38^{cA}

میانگین ± انحراف از معیار

*حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار است (p < ۰/۰۵).

**حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار است (p < ۰/۰۵).

Means ± Std. deviation

*Different small letters in the same column indicate significant differences (p < 0.05).

**Different capital letters in the same column indicate significant differences (p < 0.05).

www.SID.ir

Archive of SID

پایداری کف نیز با افزایش درجه هیدرولیز اندکی کاهش نشان داد. کلومپونگ و همکاران (۲۰۰۷) پروتئین هیدرولیز شده‌ی ماهی شانک زرد باله را بوسیله آنزیم آلکالاز و فلاورزیم در درجه هیدرولیز ۲۵-۵ درصد تهیه کردند و گزارش مشابهی را ارائه دادند. احتمال داده می‌شود که پپتیدهای با وزن ملکولی کم قادر نیستند جهت‌گیری منظم خود را در سطح مشترک حفظ کنند (۲۱). در یک زمان هیدرولیز پایداری کف پروتئین هیدرولیز شده با افزایش غلظت آن افزایش یافت ($p<0/05$). لاول (۲۰۰۴) پیشنهاد داد که افزایش پایداری کف ناشی از افزایش غلظت پروتئین هیدرولیز شده در نتیجه تشکیل کف مقاوم می‌باشد (۱۷). پایداری کف بواسطه پروتئین‌های انعطاف‌پذیر، افزایش ویسکوزیته فاز آبی، افزایش غلظت پروتئین وضخامت فیلم افزایش می‌یابد (۲۷).

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق خواص کاربردی پروتئین هیدرولیز شده‌ی ماهی پنجزاری باله نارنجی در ساعت‌های مختلف هیدرولیز و همچنین غلظت‌های متفاوت محصولات هیدرولیز شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که پروتئین هیدرولیز شده در محدوده‌ی pH ۹-۳ دارای حلالیت بالای ۹۰٪ بود. از طرفی شاخص فعالیت و پایداری امولسیون با افزایش زمان هیدرولیز (از ۴-۱ ساعت) و افزایش غلظت پروتئین (۵، ۲/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) کاهش نشان داد و در خواص کف‌کنندگی گسترش کف و پایداری آن در یک غلظت مورد بررسی با افزایش ساعت‌های هیدرولیز کاهش و در یک ساعت هیدرولیز با افزایش غلظت افزایش یافت. بنابراین قابلیت استفاده از آن را در سیستم‌های مواد غذایی ممکن می‌سازد. از این رو استفاده از آنزیم‌های تجاری جهت تولید محصولات هیدرولیز شده با خواص کاربردی بالا از دور ریزهای دریایی فن‌آوری مطلوبی است که امکان استفاده از آن‌ها را به عنوان افزودنی‌های غذایی برای مصارف مستقیم انسانی بوجود می‌آورد.

سپاسگزاری

از دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس جهت همکاری‌های صورت گرفته و همچنین از خانم لیلا رمضان‌زاده و آقای محمدرضا سلیمانی به پاس راهنمایی‌ها و مساعدت‌های بی دریغشان کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

1.AOAC, 2000. Official methods of analysis (17th ed.). Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.
2.Benjakul, S., and Morrissey, M. 1997. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 45: 3423-3430.
3.Bozzano, A., and Sardà, F. 2002. Fishery discards consumption rate and scavenging activity in the northwestern Mediterranean Sea. ICES Journal of Marine Science. 59: 15–28.
4.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.
5.Chobert, J.M., Bertrand-Harb, C., and Nicolas, M.G. 1988. Solubility and emulsifying properties of caseins and whey proteins modified enzymatically by trypsin. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 36(5): 883–892.
6.Clemente, A. 2000. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. Trends in Food Science and Technology. 11: 254-262.
7.Damodaran, S. 1997. Protein-stabilized foams and emulsions. In S. Damodaran

www.SID.ir

Archive of SID

& A. Paraf (Eds.), Food proteins and their applications. 53: 57–110.

8. Diniz, A.M., and Martin, A.M. 1997. Optimization 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.

9. Fonkwe, LG., and Singh, RK. 1996. Protein recovery from enzymatically deboned turkey residue by enzymic hydrolysis. Process Biochemistry. 31: 605-614.

10. Gbogouri, G.A., Linder, M., Fanni, J., and Parmentier, M. 2004. Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon byproducts hydrolysates. Journal of Food Science. 69(8): 615–622.

11. Guerard, F., Guimas, L., and Binet, A. 2002. Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 19–20: 489–498.

12. Halling, P. J. 1981. Protein-stabilized foams and emulsion. Critical Review in Food Science and Nutrition.13: 155–203.

13. Kelleher, K. 2005. Discards in the world's marine fisheries. Rome: FAO Fisheries Department.

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

15. Kristinsson, H.G., and Rasco, B.A. 2000b. Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48:657–666.

16. Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, 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(4): 1317–1327.

17. 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(3): 345–355.

18. Lin, L.H., and Chen, K.M. 2006. Preparation and surface activity of gelatin derivative surfactants. Colloids and Surfaces A. 272(1–2): 8–14.

19. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. Journal of Biological Chemistry. 193: 65-275.

20. Mutilangi, W.A.M., Panyam, D., and Kilara, A. 1996. Functional properties of hydrolysates from proteolysis of heat-denatured whey protein isolate. Journal of Food Science. 61(2): 270–303.

21. Nalinanon, S., Benjakul, S., Visessanguan, W., and Kishimura, H. 2008. Improvement of gelatin extraction from bigeye snapper skin using pepsin-aided process in combination with protease inhibitor. Food Hydrocolloids. 22(4): 615-622.

22. Nalinanon, S., Benjakul, S., Kishimura, H., and Shahidi, F. 2011. Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from the muscle of ornate threadfin bream treated with pepsin from skipjack tuna. Food Chemistry. 124: 1354-1362.

23. Nikoo, S., Savari, A., Cochnian, P., Dehghan Medise, S. and Saki, S. 1389. Non-commercial fish species in by-catch composition of shrimp trawl landing from Mahshahr creeks. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 2: 149-154. (In Persian)

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

25. Ovissipour, M., Safari, R., Motamedzadegan, A., and Shabanpour, B. 2009b. Chemical and biochemical hydrolysis of Persian sturgeon

www.SID.ir

Archive of SID

(*Acipenser persicus*) visceral protein. Food and Bioprocess Technology. DOI 10.1007/ s11947-009-0284-x. (In Persian).
26. Pearce, K.N., and Kinsella, J.E. 1978. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 26(3):716–723.
27. Phillips, L.G., Whitehead, D.M., and Kinsella, J.E. 1994. Protein stabilized foams. In L.G. Phillips, D.M. Whitehead, & J.E. Kinsella (Eds.), Structure–function of food proteins (pp. 131–152). New York: Academic Press.
28. Satari, M., Shahsavani, D., and shafiee, Sh. 1345. Ichthyology2. Haghshenas. Rasht, 503p. (In Persian).
29. Shahidi, F., Han, X.Q., and Synowiecki, J. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). Food Chemistry. 53: 285-293.
30. Sugiyama, K., Mukoto, E., Onzuku, H., and Oba, K. 1991. Characteristics of sardine muscle hydrolysates prepared by various enzymic treatments. Nippon Suisan Gakkaishi. 57: 475-479.
31. 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.
32. Wasswa, J., Tang, J., Gu, X., and Yuan, X. 2007. Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp *(Ctenopharyngodon idella)* skin. Food Chemistry. 104: 1698-1704.
33. Wergedahl, H., Liaset, B., Gudbrandsen, O.A., Lied, E., Espe, M., and Muna, Z. 2004. Fish protein hydrolysate reduces plasma total cholesterol, increases the proportion of HDL cholesterol and lowers acyl-CoA: Cholesterol acyltransferase activity in liver of Zucker rats. Journal of Nutrition. 134: 1320–1327.

www.SID.ir

Archive of SID

EJFPP, Vol. 10 (2): 137-150
http://ejfpp.gau.ac.ir

Effect of Hydrolysis Intensity on Functional Properties of Protein Hydrolysate from ponyfish *(Leiognathus bindus)*

Z. Ramezani[1], E. Rajabzadeh Ghatarmi[2*], S.F. Hosseini[3]
[1]M.Sc. graduate, Department of Fisheries, University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Fisheries, University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Seafood processing, Faculty of Marin Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
Received: 2016/11/06; Accepted: 2017/08/27

Abstract

Background and objectives: Ponyfish *(Leiognathus bindus)* includes 54.77% of by-catch in the Mahshahr creeks that has no commercial value due to its small size. So, the production of value-added products, such as protein hydrolysates with high nutritional value could pave the way for full use of this species. By applying enzyme technology for protein recovery in the fish processing, it may be possible to produce a broad spectrum of food ingredients or industrial products for a wide range of applications. Use of proteolytic enzymes is an interesting technique for improving the functional properties of food proteins without losing their nutritional value. The functional properties of fish protein hydrolysate are important, particularly if they are used as ingredients in human food. Among the functional properties of proteins and hydrolyzed proteins, solubility is the most important characteristic that affects other functional properties such as foaming and emulsion formation. Enzymatic hydrolysis of fish proteins generates a mixture of free amino acids and oligopeptides, increases the number of polar groups and the solubility of the hydrolysate, and therefore modifies functional characteristics of the proteins resulted in improving their functional quality and bioavailability. The aim of this study was to evaluate the functional properties of fish protein hydrolysate from Ponyfish.

Materials and methods: Ponyfish was hydrolyzed using 1% Alcalase for 1, 2, 3, 4 hours and their functional properties were evaluated. The hydrolysates solubility in pH range of 3-9 and emulsifying and foaming properties in concentrations 2.5, 5, and 10 mg/ml were studied.

Results: The Result indicated that the highest rate of hydrolysis was 28.06%, which was obtained after 4 h. The Solubility values were above 90% in the pH range 3-9. The solubility of different obtained hydrolysates was increased when pH changed from acidic to the alkaline ($P<0.05$). Emulsifying activity index (EAI) and emulsifying stability index (ESI) was decreased by increasing hydrolysis time and protein concentration ($P<0.05$). At the same concentration, slight decreases in foam expansion and foam stability were observed when DH of hydrolysate increased ($P<0.05$). However, at the same DH, foam expansion and foam stability showed a significant increase by increasing hydrolysate concentration ($P<0.05$).

Conclusion: The results of the present study showed that the hydrolysates produced from ponyfish can be used as food ingredients or additives to deliver consumer desired characteristic to food products or increasing product shelf life. Also, it is useful as emulsifying and foaming agent in sausages, mayonnaise, salad dressings, beverages, creams, and in a broad pH range.

Keywords: Alcalase, Protein hydrolysate, Ponyfish *(Leiognathus bindus)*.

* Corresponding author: rajabzadeh48@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir