Journal of Fisheries Science and Technology. 2018;7(1):57-64

Antioxidant Activity of Protein Hydrolysate in *Skipjack tuna* Head

ARTICLE INFO

Article Type
Original Research

Authors
Esmaeili Kharyeki M.[1] *PhD*,
Rezaei M.* *PhD*,
Khodabandeh S.[2] *PhD*,
Motamedzadegan A.[3] *PhD*

How to cite this article
Esmaeili Kharyeki M, Rezaei M, Khodabandeh S, otamedzadegan A. Antioxidant Activity of Protein Hydrolysate in *Skipjack tuna* Head. Journal of Fisheries Science and Technology. 2018;7(1):57-64.

*Seafood Processing Department, Marine Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
[1]Seafood Processing Department, Marine Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
[2]Marine Biology Department, Marine Sciences Faculty, Tarbiat Modares University University, Noor, Iran
[3]Food Sciences and Technology Department, Agriculture Sciences Faculty, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Correspondence
Address: Seafood Processing Department, Marine Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
Phone: -
Fax: -
rezaei_ma@modares.ac.ir

Article History
Received: April 19, 2016
Accepted: December 19, 2016
ePublished: March 20, 2018

ABSTRACT

Aims *Skipjack tuna* has the highest level of catch rate among tuna all over the world. Its head contains about 64% protein. Many Protein Hydrolysates and peptides obtained from various marine sources have a high antioxidant power. The aim of this study was to investigate the antioxidant activity of Protein Hydrolysate in *Skipjack tuna* head.

Materials & Methods In this experimental study, 30 *Skipjack tunas* were investigated. At first, the amount of different compounds (protein, fat, ash, and moisture) was evaluated in the raw material; then, the hydrolysis process was performed by Alcalase enzyme and the hydrolysis degree of the protein hydrolysate was evaluated at different times. The antioxidant activity of the protein hydrolysate mixture was measured by DPPH radical scavenging activity, iron revival power, and ABTS radical inhibitory activity. For data analysis, the analytical tests were used.

Findings The main part of the fish head was protein and it had high levels of ash. The degree of hydrolysis increased with increasing time and was it significant at 15, 60, and 120 minutes ($p<0.05$), but not significant at 120 and 240 minutes ($p<0.05$). DPPH radical scavenging activity increased with increasing hydrolysis time and there was a significant difference in all samples obtained from different times ($p<0.05$). The iron reduction capacity of the protein hydrolysate samples increased with increasing the hydrolysis time, and the highest amount was at 240 minute. The samples obtained from different times had a significant difference in iron reduction capacity ($p<0.05$). Increasing the concentration of protein hydrolysate increased inhibitory activity ($p<0.05$).

Conclusion Protein hydrolysate in *Skipjack tuna* head has a high antioxidant activity and can be used in food products to increase oxidation stability.

Keywords Protein Hydrolysate; Fish Head; *Skipjack tuna*; Degree of Hydrolysis; Antioxidant Activity

CITATION LINKS

[1] Physiological properties of tuna ... [2] Antioxidant and anti-inflammatory peptide ... [3] Evaluation of the biomethane potential ... [4] Functions, applications and production of protein ... [5] Antioxidant activity of bigeye ... [6] Marin proteins and peptides ... [7] Rethinking food-derived bioactive ... [8] The effect of organic acids on gelation ... [9] Fish protein hydrolysates production ... [10] A novel anticoagulant purified from ... [11] Antioxidant and antihypertensive ... [12] Angiotensin I-converting enzyme ... [13] Applications of antimicrobial ... [14] Antioxidant properties of ... [15] Purification, characterization and ... [16] Purification and determination of ... [17] Antioxidant activity of Cod ... [18] Purification and characterization ... [19] Antioxidant properties of Salmon ... [20] Food protein-derived bioactive ... [21] Official Methods of ... [22] Quality of fish protein ... [23] Protein measurement with ... [24] Antioxidative properties of ... [25] Studies on products of browning ... [26] Squid gelatin hydrolysates ... [27] Nutritional evaluation in five ... [28] Characterization of protein ... [29] Chemical characterization and ... [30] Influence of hydrolysis degree on the ... [31] Biochemical and functional ... [32] Protein hydrolysates from meriga ... [33] Fish protein hydrolysates: Production ... [34] Compositions, functional properties ... [35] Chemical and physicochemical properties ... [36] Influence of the extent of enzymatic ... [37] Optimization of enzymatic ... [38] Improvement of color and physiological ... [39] Enzymatic hydrolysis of proteins ... [40] Extraction of oil from mackerel ... [41] Antioxidant and biochemical ... [42] Production and characteristics ... [43] Production of tuna waste ... [44] Enzymic processing of marine ... [45] Enzymatic hydrolysis of by-products ... [46] Comparative study on the proteases ... [47] Functionalities and antioxidant ... [48] Antioxidative properties of peptides ... [49] Fish protein hydrolysates: Proximate ... [50] Purification of antioxidative peptides ... [51] Free amino acids and ... [52] Purification and identification ... [53] Antioxidative activity and ... [54] Antioxidant and free ... [55] Antioxidant activity ...

Copyright© 2018, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-05]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.7.1.3.8]

فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده سر ماهی هوور مسقطی

مینا اسمعیلی‌خاریکی PhD
گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
مسعود رضایی* PhD
گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
صابر خدابنده PhD
گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
علی معتمدزادگان PhD
گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

چکیده
اهداف: ماهی هوور مسقطی بالاترین صید جهانی تون‌ماهیان را دارد. سر ماهی حاوی حدود ۶۴% پروتئین است. بسیاری از پروتئین‌های هیدرولیزشده و پپتیدهای حاصل از منابع مختلف دریایی قدرت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند. هدف پژوهش حاضر بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده سر ماهی هوور مسقطی بود.
مواد و روش‌ها: در پژوهش تجربی حاضر، ۳۰ قطعه سر ماهی *هوور مسقطی* تهیه شد. ابتدا درصد ترکیبات مختلف (پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت) در ماده اولیه ارزیابی شد و سپس توسط آنزیم آلکالاز، فرآیند هیدرولیز انجام گرفت و درجه هیدرولیز پروتئین هیدرولیزشده در زمان‌های مختلف ارزیابی شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی مخلوط پروتئین هیدرولیزشده با روش‌های فعالیت حذف رادیکال DPPH، قدرت احیای آهن و فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS مورد سنجش قرار گرفت. برای تحلیل داده‌ها از آزمون‌های آماری استنباطی استفاده شد.
یافته‌ها: بخش عمده سر ماهی حاوی پروتئین بود و خاکستر بالایی داشت. درجه هیدرولیز با افزایش زمان افزایش یافت و بین زمان‌های ۱۵، ۶۰ و ۱۲۰دقیقه معنی‌دار بود ($p<0.05$)، اما در ۱۲۰ و ۲۴۰دقیقه معنی‌دار نبود ($p>0.05$). فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH با افزایش زمان هیدرولیز افزایش یافت و در تمامی نمونه‌های حاصل از زمان‌های مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p<0.05$). با افزایش مدت‌زمان هیدرولیز، قدرت کاهندگی آهن نمونه‌های پروتئین هیدرولیزشده افزایش یافت که بالاترین مقدار در ۲۴۰دقیقه بود. نمونه‌های حاصل از زمان‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری در قدرت کاهندگی آهن داشتند ($p<0.05$). با افزایش غلظت پروتئین هیدرولیزشده، فعالیت مهارکنندگی افزایش یافت ($p<0.05$).
نتیجه‌گیری: پروتئین هیدرولیزشده سر ماهی هوور مسقطی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد و می‌تواند در فرآورده‌های غذایی به‌منظور افزایش پایداری اکسیداسیونی به کار رود.
کلیدواژه‌ها: پروتئین هیدرولیزشده، سر ماهی، هوور مسقطی، درجه هیدرولیز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۲۸
*نویسنده مسئول: rezaei_ma@modares.ac.ir

مقدمه

سالیانه حدود ۴میلیون تن، ماهی تون در جهان صید می‌شود[1] و ماهی هوور مسقطی (*Katsuwonus pelamis*) که عمدتاً برای تولید کنسرو استفاده می‌شود، بالاترین میزان صید جهانی تون‌ماهیان را به خود اختصاص داده است. طبق گزارش سازمان خوار و بار جهانی میزان صید این گونه در سال ۲۰۱۴ بیش از ۲/۷میلیون تن رسید که بیش از نیمی از صید این سازمان را شامل می‌شود. طی فرآیند کنسروسازی ماهیان در حدود ۴۵ تا ۵۰% از وزن ماده اولیه به ضایعات تبدیل می‌گردد[2-4]. سر ماهی یکی از عمده‌ترین آنها است و حدود ۶۴% پروتئین (بر مبنای وزن خشک) دارد[5]. پروتئین‌ها ترکیبات ضروری بافت موجودات زنده هستند که در فرآیندهای فیزیولوژیک متعددی در سلول‌ها نقش دارند. در مواد غذایی نیز پروتئین‌ها یک درشت‌مغذی مهم به‌عنوان منبع انرژی و اسیدهای‌آمینه مطرح هستند. بسیاری از خواص فیزیولوژیک و کارکردی پروتئین‌ها با پپتیدهای زیست‌فعال موجود در ساختارشان مرتبط است. این پپتیدها معمولاً ۳ تا ۲۰ آمینواسید دارند، اما در برخی از موارد این محدوده گسترش می‌یابد. تحقیقات نشان داده‌اند که بیشتر پپتیدهای زیست‌فعال در توالی پروتئین اصلی خود غیرفعال هستند[6]، اما پس از آزادشدن طی فرآیند هضم گوارشی یا با استفاده از روش‌های مختلف فرآوری، فعالیت فیزیولوژیک نشان می‌دهند[2]. الگوهای مختلف پروتئولیز و هضم می‌توانند موجب تولید ترکیبات پپتیدی مختلف و تغییر در فعالیت زیستی و حتی کاهش کارآیی آنها شوند[6-8].

هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌ها شرایط واکنش ملایم‌تری را فراهم می‌کند، خواص کارکردی و تغذیه‌ای را بهبود بخشیده و محصول نهایی نیز قابلیت پیش‌بینی بیشتری دارد[9]. این روش به‌عنوان کارآمدترین روش بازیافت پروتئین‌هایی با ارزش افزوده بالا از ضایعات ماهی، بدون از دست‌دادن ارزش غذایی‌شان، شناخته شده است[2].

پروتئین هیدرولیزشده مخلوطی از قسمت‌های مختلف پپتیدی با محدوده متنوعی از وزن‌های مولکولی و خواص زیست‌فعال است[6]. پپتیدهای زیست‌فعال ویژگی‌های کارکردی متفاوتی دارند و عملکردهای ضدمیکروبی، تقویت سیستم ایمنی، مهارکنندگی آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتنسین I، بازدارندگی رنین، عملکرد ضدانعقادی، خواص ضدسرطان، ضدتومور، ضددیابت و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها در مطالعات متعدد بررسی شده است [7, 10-18].

پراکسیداسیون لیپیدها یکی از نگرانی‌های اصلی در صنایع غذایی است، زیرا ترکیبات اکسیدشده‌ای که طی این فرآیند تولید می‌شوند، دلیل اصلی کاهش کیفیت مواد غذایی حاوی چربی در فرآوری و نگهداری هستند که نتیجه آن ایجاد بوی فساد، طعم نامطلوب، تغییر رنگ و بافت، تولید ترکیبات سمّی و از دست‌رفتن ارزش غذایی آنها است[6]. به‌علاوه، فرآیندهای اکسیداتیو در بدن با بیماری‌های متعددی مرتبط است. واکنش‌های وابسته به اکسیژن و تنفس‌های هوازی با توجه به نقش فیزیولوژیک‌شان طی تنفس، مطلوب هستند، اما افزایش این واکنش‌ها در بدن می‌تواند موجب تولید بیش از حد شکل‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد شود. مقادیر بالای این ترکیبات باعث تخریب DNA، غشاهای سلولی، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و سایر ترکیبات سلولی می‌شود که در نهایت بیماری‌های مزمن متعددی را ایجاد می‌کند. بنابراین به‌منظور جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها در مواد غذایی و با توجه به نیاز به مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها برای تقویت عملکرد آنتی‌اکسیدانی بدن، تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی خوراکی رو به گسترش است[19]. آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مانند BHA (بوتیل هیدروکسی‌آنیزول)، BHT (بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن)، TBHQ (تری‌بوتیل‌هیدروکینون) و پروپیل‌گالات، برای به‌تاخیرانداختن اکسیداسیون لیپیدها و افزایش عمر ماندگاری محصولات غذایی استفاده می‌شوند اما به‌تازگی استفاده از برخی از این آنتی‌اکسیدان‌ها به‌عنوان افزودنی غذایی، به‌دلیل داشتن خطرهایی برای سلامت مصرف‌کننده، بسیار محدود شده است[6, 19]. بنابراین استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با منشا غذایی و ایمن، به‌عنوان جایگزین ضروری است[20]. مطالعات علمی متعددی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.7.1.3.8]

نشان می‌دهند که بسیاری از پروتئین‌های هیدرولیزشده و پپتیدهای حاصل از منابع مختلف دریایی شامل ماهی‌ها، نرم‌تنان، سخت‌پوستان و ضایعات حاصل از فرآوری آبزیان یا محصولات جنبی آنها نیز توانایی آنتی‌اکسیدانی بالایی داشته و می‌توانند در غذاهای کارکردی، صنایع دارویی و غذاداروها استفاده شوند[6]. پروتئین‌های هیدرولیزشده با توجه به ساختار، اندازه و توالی آمینواسیدی پپتیدهای‌شان، فعالیت آنتی‌اکسیدانی مختلفی دارند که این ویژگی‌ها تحت تاثیر منبع پروتئین و شرایط فرآیند هیدرولیز قرار دارند[7]. بنابراین به‌منظور استفاده بهینه از این مواد اولیه و تولید محصولاتی با ارزش برای مصرف انسانی، می‌توان از فرآیند هیدرولیز آنزیمی برای تولید پروتئین هیدرولیزشده و پپتیدهای زیست‌فعال استفاده کرد.

پژوهش حاضر با هدف بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده سر ماهی هوور مسقطی انجام شد.

مواد و روش‌ها

در پژوهش تجربی حاضر، ۳۰ قطعه سر ماهی هوور مسقطی از کارخانه تولید کنسرو ماهی (آذین‌مهر خزر؛ بابلسر؛ ایران) تهیه و به‌وسیله اره‌برقی صنعتی قطعه‌قطعه و سپس به‌صورت منجمد به آزمایشگاه فرآوری محصولات شیلاتی منتقل شدند. سرهای ماهی پس از شست‌وشو با چرخ گوشت کاملاً چرخ شده و تا زمان استفاده در بسته‌های پلاستیکی در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند. آنالیز درصد رطوبت، خاکستر، پروتئین و چربی به‌صورت زیر محاسبه شد.

درصد رطوبت: مقدار رطوبت از طریق رابطه زیر و براساس اختلاف وزن حاصل از قرارگیری نمونه به‌مدت ۲۴ ساعت در آون U30 (Memmert؛ آلمان) با دمای ۱۰۵ °C به دست آمد[21]:

$$\text{درصد رطوبت} = \frac{\text{وزن اولیه} - \text{وزن نهایی}}{\text{وزن اولیه}} \times 100$$

درصد خاکستر: برای تعیین میزان خاکستر، ۰/۵گرم از نمونه (که از قبل در آون با دمای ۶۵°C به‌مدت ۴۸ساعت قرار گرفته بود)، در کوره L5/11/B170 (Nabertherm؛ آلمان) با دمای ۵۵۰°C به‌مدت ۵ ساعت سوزانده شد و مقدار خاکستر از طریق رابطه زیر به دست آمد[21]:

$$\text{درصد خاکستر} = \frac{\text{وزن بوته چینی} - \text{وزن بوته همراه با نمونه نهایی}}{\text{وزن نمونه}} \times 100$$

درصد پروتئین: میزان پروتئین نمونه با استفاده از دستگاه کلدال Kjeltec 2300 (Foss؛ سوئیس) و ضریب تبدیل ۶/۲۵ محاسبه شد[21].

درصد چربی: میزان چربی نمونه با استفاده از دستگاه سوکسله Soxtec 2050 (Foss؛ سوئیس) سنجش شد[21].

هیدرولیز آنزیمی: فرآیند هیدرولیز آنزیمی سر ماهی تون به روش *اویسی‌پور* و همکاران[9] با تغییرات اندک انجام شد. مقدار ۵۰گرم از نمونه‌های چرخ‌شده، در ظروف شیشه‌ای دربدار ۵۰۰میلی‌لیتری ریخته شدند. ظروف حاوی نمونه به‌منظور غیرفعال‌سازی آنزیم‌های داخلی به‌مدت ۱۰دقیقه در حمام آبی (Memmert؛ آلمان) ۹۰°C قرار گرفتند. پس از خنک‌شدن در دمای محیط، ۵۰میلی‌لیتر آب‌مقطر به نمونه‌ها اضافه و با استفاده از همزن مغناطیسی RHD (IKA؛ آلمان) مخلوط شدند. سپس pH مخلوط با استفاده از pHمتر 3510 (GENWAY؛ UK) سنجش و به‌وسیله سود (NaOH یک‌نرمال) به ۷/۵ رسانده شد. ظروف شیشه‌ای حاوی نمونه در یک دستگاه انکوباتور متحرک (Comecta؛ اسپانیا) با سرعت حرکت ۲۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۵۵±۱°C قرار گرفتند. دمای مخلوط با استفاده از دماسنج اندازه‌گیری شد و هنگامی‌که به ۵۵°C رسید، آنزیم آلکالاز به نسبت ۱/۵% (بر مبنای وزن ماده اولیه) به نمونه‌ها اضافه و هیدرولیز آغاز شد. پس از گذشت ۴ ساعت، برای قطع واکنش آنزیمی، ظروف حاوی نمونه به‌مدت ۱۰دقیقه در حمام آبی ۹۰°C قرار داده شدند. نمونه‌ها پس از خنک‌شدن تا دمای معمولی اتاق، به‌مدت ۳۰دقیقه و با ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ Universal 320R (Hettich؛ آلمان) شدند. فاز مایع جدا شد و با استفاده از فیلترهای کاغذی و پمپ خلا جداسازی کامل‌تر ذرات جامد از فاز محلول صورت گرفت. نمونه‌ها در دو مرحله فیلتر شدند.

تعیین درجه هیدرولیز: درجه هیدرولیز براساس روش *هیل* و *مریت*[22] با استفاده از تری‌کلرواستیک‌اسید اندازه‌گیری شد. ۵۰۰میکرولیتر پروتئین هیدرولیزشده با ۵۰۰میکرولیتر تری‌کلرواستیک‌اسید ۲۰% مخلوط و سپس با دور ۸۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴°C به‌مدت ۱۰دقیقه سانتریفیوژ شد. مقدار پروتئین در فاز محلول به روش *لوری*[23] و با استفاده از آلبومین سرم گاوی به‌عنوان پروتئین استاندارد و خواندن جذب نمونه‌ها با اسپکتروفتومتر میکروپلیت Epoch (بیوتک؛ ایالات متحده) تعیین و درجه هیدرولیز با معادله زیر محاسبه شد:

$$\text{درجه هیدرولیز} = \frac{\text{میزان نیتروژن در محلول تری‌کلرواستیک‌اسید 10\%}}{\text{میزان نیتروژن در نمونه}} \times 100$$

درجه هیدرولیز پروتئین هیدرولیزشده در زمان‌های مختلف (۱۵، ۶۰، ۱۲۰ و ۲۴۰دقیقه) ارزیابی شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی مخلوط پروتئین هیدرولیزشده با روش‌های مختلف زیر ارزیابی شد.

فعالیت حذف رادیکال DPPH (دیفنیل‌پیکریل‌هیدرازیل): برای بررسی فعالیت حذف رادیکال آزاد دیفنیل‌پیکریل‌هیدرازیل از روش *شیمادا* و همکاران[24] با تغییرات اندک استفاده شد. براساس این روش ۵۰۰میکرولیتر محلول DPPH (۰/۱۶میلی‌مولار در اتانول ۹۶%) با ۵۰۰میکرولیتر نمونه مخلوط و سپس به‌خوبی ورتکس شده و به‌مدت ۳۰دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی انکوبه شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷نانومتر خوانده شد. برای مقایسه، آسکوربیک‌اسید در غلظت ۱۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر مورد استفاده قرار گرفت. ظرفیت حذف رادیکال DPPH با فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد مهارکنندگی} = \frac{\text{جذب نمونه شاهد} - \text{جذب نمونه}}{\text{جذب نمونه شاهد}} \times 100$$

قدرت احیای آهن ($Fe^{+3} \rightarrow Fe^{+2}$): براساس روش *اویایزی*[25] ۱۰۰میکرولیتر نمونه رقیق‌شده با ۲۵۰میکرولیتر محلول بافر فسفات (۰/۲مول؛ pH=۶/۶) و ۲۵۰میکرولیتر فری‌سیانیدپتاسیم ۱% مخلوط شد. سپس محلول تهیه‌شده به‌مدت ۳۰دقیقه در تاریکی و در دمای ۵۰°C انکوباسیون شد. در مرحله بعد ۲۵۰میکرولیتر تری‌کلرواستیک‌اسید ۱۰% به نمونه‌ها اضافه و به‌مدت ۱۰دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از آن ۲۵۰میکرولیتر از فاز بالایی با

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-05]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.7.1.3.8]

۲۵۰میکرولیتر آب‌مقطر و ۵۰میکرولیتر کلریدفریک آبدار ۰/۱% به‌خوبی مخلوط و پس از گذشت ۱۰دقیقه جذب نمونه‌ها در ۷۰۰نانومتر خوانده شد. قدرت کاهندگی آهن در پروتئین هیدرولیزشده سر ماهی تون در زمان‌های مختلف بررسی شد. در این روش در صورتی که پروتئین هیدرولیزشده دارای قدرت کاهندگی یون آهن باشد، رنگ سبز در محیط واکنش ایجاد می‌گردد و هرچه رنگ سبز قوی‌تر باشد، نشان‌دهنده فعالیت کاهندگی بالاتر است.

سنجش فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS (۲و'۲- آزینو- بیس- ۳- اتیل‌بنزوتیازولین- ۶- سولفونیک‌اسید): برای سنجش فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS از روش *آلمن* و همکاران[26] استفاده شد. محلول ۷میلی‌مولار ABTS در پتاسیم‌پرسولفات ۲/۴۵میلی‌مولار تهیه و به‌مدت ۱۶ساعت در دمای محیط و در جای تاریک نگهداری شد. پس از طی زمان مورد نظر، رقیق‌سازی با آب‌مقطر تا رسیدن به میزان جذب ۰/۷±۰/۰۲ در طول موج ۷۳۴نانومتر انجام شد. سپس ۲۰میکرولیتر نمونه با ۹۸۰میکرولیتر محلول رقیق‌سازی‌شده ABTS مخلوط و به‌مدت ۱۰دقیقه در مکان تاریک و دمای ۳۰°C انکوبه شد. پس از طی زمان مورد نظر جذب نمونه‌ها در ۷۳۴نانومتر خوانده شد. به‌منظور مقایسه نیز از غلظت‌های مختلف آسکوربیک‌اسید استفاده و درصد مهارکنندگی رادیکال ABTS با فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد مهارکنندگی} = \frac{\text{جذب نمونه شاهد} - \text{جذب نمونه}}{\text{جذب نمونه شاهد}} \times 100$$

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون‌های آماری استنباطی استفاده شد.

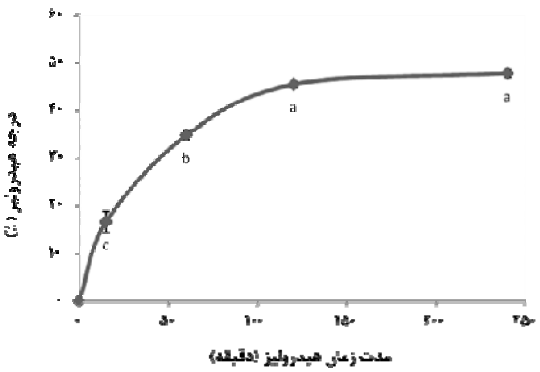
یافته‌ها

بخش عمده سر ماهی حاوی پروتئین بود و همچنین مقدار خاکستر بالایی نیز داشت. پروتئین هیدرولیزشده تولیدی، دارای خلوص بالا بود و بخش عمده آن را پروتئین تشکیل می‌داد؛ اگر چه به‌دلیل بالابودن مقدار خاکستر در ماده اولیه، محصول تولیدی نیز دارای درصد قابل توجهی خاکستر بود. میزان چربی در بافت سر ماهی قابل توجه بود ولی در پروتئین هیدرولیزشده تا حدود زیادی طی فرآیند تولید، حذف و جداسازی شد (جدول ۱).

جدول ۱) میانگین آماری ترکیبات مختلف ماده اولیه سر ماهی هوور مسقطی

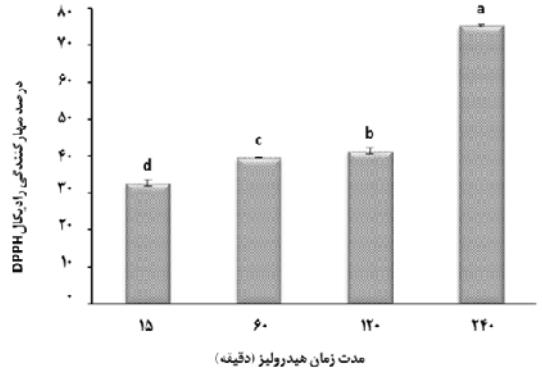
درصد تقریبی	سر ماهی هوور مسقطی	پروتئین هیدرولیز شده
رطوبت	۶۶/۸۰±۱/۶۵	۷/۲۲±۰/۲۱
پروتئین	۱۹/۸۶±۰/۴۶	۸۱/۲۶±۱/۴۴
چربی	۷/۸۳±۰/۴۰	۱/۸۸±۰/۱۷
خاکستر	۶/۲۲±۰/۹۰	۸/۸۴±۰/۹۵

درجه هیدرولیز با افزایش مدت‌زمان هیدرولیز افزایش یافت، به‌گونه‌ای که پس از ۱۵دقیقه ۱/۳۲±۱۶/۵۵% و در پایان فرآیند هیدرولیز ۰/۸۱±۴۷/۷۸% بود. اختلاف درجه هیدرولیز بین زمان‌های ۱۵، ۶۰ و ۱۲۰دقیقه معنی‌دار بود (p<۰/۰۵) اما بین زمان‌های ۱۲۰ و ۲۴۰دقیقه با وجود روند افزایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵؛ نمودار ۱).



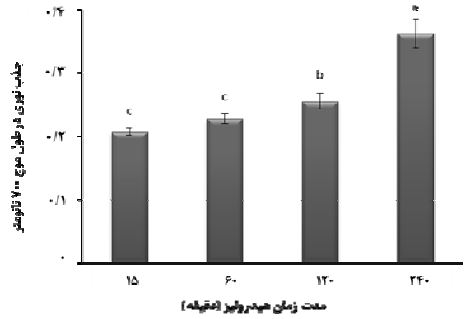
نمودار ۱) روند تغییرات درجه هیدرولیز پروتئین هیدرولیزشده سر ماهی هوور مسقطی در زمان‌های مختلف

پروتئین‌های هیدرولیزشده حاصل از زمان‌های مختلف، فعالیت مهارکنندگی متفاوتی نشان دادند. فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH با افزایش مدت‌زمان هیدرولیز افزایش یافت و بین تمامی نمونه‌های حاصل از زمان‌های مختلف اختلاف معنی‌داری در مهارکردن رادیکال DPPH مشاهده شد (p<۰/۰۵؛ نمودار ۲).



نمودار ۲) اثر مدت‌زمان هیدرولیز بر توانایی پروتئین هیدرولیزشده سر ماهی هوور مسقطی در حذف رادیکال DPPH

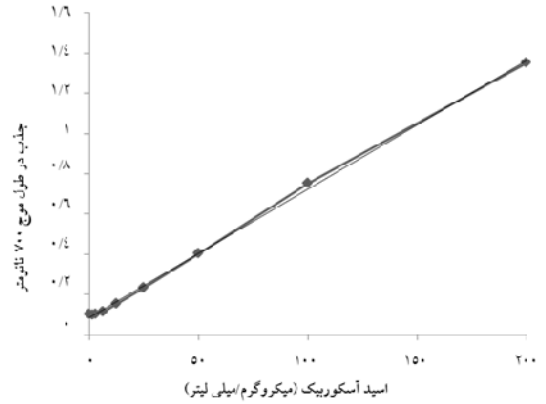
با افزایش مدت‌زمان هیدرولیز، قدرت کاهندگی آهن نمونه‌های پروتئین هیدرولیزشده افزایش یافت و بالاترین مقدار در زمان ۲۴۰دقیقه مشاهده شد. نمونه‌های حاصل از زمان‌های مختلف اختلاف معنی‌داری در قدرت کاهندگی آهن نشان دادند (p<۰/۰۵؛ نمودار ۳). با افزایش غلظت آسکوربیک‌اسید قدرت کاهندگی آهن آن افزایش یافت (نمودار ۴).



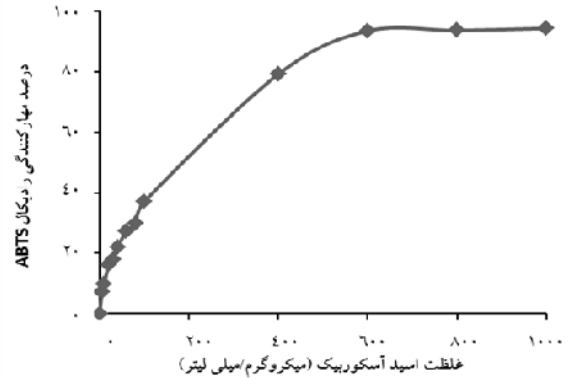
نمودار ۳) اثر مدت‌زمان هیدرولیز بر فعالیت کاهندگی یون آهن پروتئین هیدرولیزشده سر ماهی هوور مسقطی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.7.1.3.8]

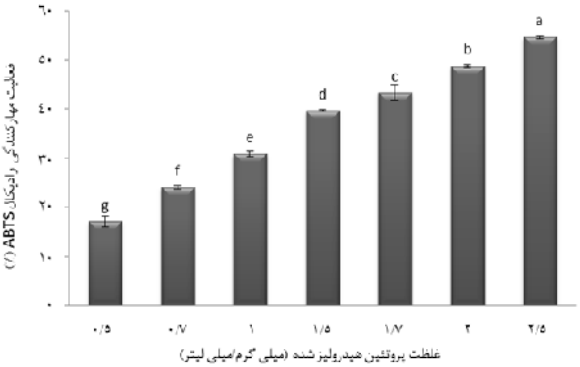
با افزایش غلظت پروتئین هیدرولیزشده و آسکوربیک‌اسید فعالیت مهارکنندگی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<0/05$؛ نمودارهای ۵ و ۶).



نمودار ۴) فعالیت کاهندگی یون آهن در غلظت‌های مختلف آسکوربیک‌اسید



نمودار ۵) فعالیت غلظت‌های مختلف آسکوربیک‌اسید در حذف رادیکال ABTS



نمودار ۶) توانایی غلظت‌های مختلف پروتئین هیدرولیزشده سر ماهی هوور مسقطی در حذف رادیکال ABTS

بحث

پژوهش حاضر با هدف بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده سر ماهی هوور مسقطی انجام شد. ترکیب شیمیایی یک ماده غذایی با توجه به میزان تامین مواد مغذی ضروری برای بدن، نقش مهمی در سلامت مصرف‌کننده دارد.

آنالیز تقریبی سر ماهی هوور مسقطی نشان داد سر این ماهی میزان بالایی پروتئین داشت و می‌تواند به‌عنوان منبع پروتئینی ارزشمندی به‌منظور تولید پروتئین هیدرولیزشده استفاده شود. در مطالعه‌ای که از سوی *کارونا راتنا* و همکاران[27] انجام شد، درصد پروتئین سر ماهی هوور مسقطی ۲۰/۴۸ برآورد شده است که تقریباً مشابه با پژوهش حاضر است.

باتیسینا و همکاران[28] مطالعه‌ای کردند که میزان پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت سر ماهی اسکابارد سیاه به ترتیب ۱۴/۹۲، ۱۰/۱۳، ۳/۵۳ و ۷۰/۳۹% است و بیان داشتند بالابودن درصد خاکستر نسبت به بخش‌های خوراکی همین ماهی (۱/۲-۰/۹) می‌تواند به‌دلیل وجود مقادیر بالای استخوان در ماده اولیه باشد. بالابودن مقدار خاکستر در سر ماهی تون در پژوهش حاضر نیز ممکن است به همین دلیل باشد.

در مطالعات متعددی ترکیب شیمیایی پروتئین هیدرولیزشده حاصل از منابع مختلف آبزی بررسی شد. بسیاری از محققان میزان پروتئین در پروتئین هیدرولیزشده را بین ۶۰ تا ۹۰% کل ترکیبات گزارش داده‌اند[29-31]. میزان بالای پروتئین، در پروتئین هیدرولیزشده سر ماهی هوور مسقطی (۱/۴۴±۸۱/۲۶) می‌تواند نشان‌دهنده توانایی بالقوه این محصول برای استفاده به‌عنوان یک مکمل غذایی برای مصارف انسانی باشد. بالابودن مقدار پروتئین در انواع مختلف پروتئین هیدرولیزشده ماهی در نتیجه انحلال پروتئین‌ها طی فرآیند هیدرولیز و حذف ترکیبات غیرمحلول جامد به‌وسیله سانتریفیوژ است[32].

میزان چربی در پروتئین هیدرولیز سر ماهی تون نسبت به ماده اولیه کاهش قابل توجهی نشان داد که دلیل آن می‌توانست اتصال چربی به پروتئین‌های نامحلول پس از شکسته‌شدن پیوندهای پپتیدی طی فرآیند هیدرولیز و رسوب آنها هنگام سانتریفیوژ باشد[33]. در پژوهش‌های سایر محققان نیز میزان چربی در پروتئین‌های هیدرولیزشده کمتر از ۵% گزارش شده است[29-31].

مقدار رطوبت در پروتئین هیدرولیزشده به نوع ماده و روش انتخاب‌شده برای خشک‌کردن بستگی دارد. بسیاری از پژوهش‌ها مقدار رطوبت در پروتئین هیدرولیزشده ماهی را کمتر از ۱۰% گزارش داده‌اند[29, 32, 34, 35]. مقدار به‌دست آمده در پژوهش حاضر نیز با این نتایج هم‌خوانی دارد.

مقدار خاکستر در پروتئین هیدرولیزشده سر ماهی هوور مسقطی ۰/۹۵±۸/۸۴% به‌دست آمد. میزان خاکستر در پروتئین‌های هیدرولیزشده حاصل از گونه‌های مختلف آبزیان نیز بین ۰/۴۵ تا ۲۷% گزارش شده است[32, 36, 37]. تفاوت در میزان خاکستر محصول می‌تواند به تفاوت در نوع ماده اولیه و فرآیند هیدرولیز مرتبط باشد. همچنین ممکن است استفاده از اسید و باز طی فرآیند هیدرولیز به‌منظور تنظیم pH، یکی از دلایل بالابودن میزان خاکستر در برخی از نمونه‌های پروتئین هیدرولیزشده ماهی باشد[29, 30, 38].

انتخاب آنزیم نقش بسیار مهمی در تولید پروتئین هیدرولیزشده از ماهی و ضایعات آن دارد. طبق پژوهش‌های متعدد، آنزیم آلکالاز بهترین آنزیم برای استخراج پروتئین از ماهی و ضایعات آن است[30, 33, 39]. آلکالاز به‌طور عمده به‌دلیل تولید پروتئین هیدرولیزشده با درجه هیدرولیز بالا در مدت‌زمان کم، به‌طور مکرر از سوی محققان مختلف استفاده شده است[40]. در پژوهش *دونگ* و همکاران[41] فیله‌ماهی کپور نقره‌ای با استفاده از آنزیم آلکالاز هیدرولیز و درجه هیدرولیز در زمان‌های مختلف بررسی شد. با توجه به نتایج درجه هیدرولیز در زمان ۱۸۰ و ۳۶۰دقیقه به ترتیب ۲۰ و ۲۳% گزارش شد که کمتر از میزان مشاهده شده در پژوهش حاضر بود. این اختلاف می‌تواند به‌دلیل تفاوت در نوع ماده اولیه، فرآیند

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-05]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.7.1.3.8]

هیدرولیز و شرایط واکنش برای عملکرد بهینه آنزیم باشد. طبق گزارش بسیاری از محققان دمای ۵۵°C دمای بهینه برای فعالیت آنزیم آلکالاز است و در این پژوهش نیز همین دما استفاده شد [42, 43].

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، افزایش درجه هیدرولیز طی ۱ساعت اول سرعت بالایی داشته و سپس این افزایش تا پایان ۴ ساعت هیدرولیز به‌کندی صورت گرفت. در مطالعه *راماکریشنان* و همکاران[40] نیز روند مشابهی مشاهده شد. همچنین *شهیدی* و همکاران[42]، *جرارد* و همکاران[43] و *گبوگوری* و همکاران[30]، فرآیند هیدرولیز را در زمان‌های ۱ تا ۵ ساعت بررسی کردند، نتایج حاصله مشابه بود. بافت ماهی ترکیب بسیار پیچیده و حاوی مقادیر بالایی بازدارنده‌های پروتئیناز است که تفسیر فرآیند هیدرولیز و روند تغییرات آن را سخت و پیچیده می‌کند[44].

لیاست و همکاران[45] بیان کردند طی هیدرولیز ماهی‌کاد با آنزیم‌های پپسین، آلکالاز و نئوتراز، سازوکار واکنش از دو فرآیند سینتتیک پیروی می‌کند. در فرآیند اول یک واکنش سریع اولیه که در آن زنجیره‌های پلی‌پپتیدی با باندهای سست‌تر گسسته می‌شوند و قطعات پروتئینی محلول به‌وجود می‌آیند و در فرآیند دوم پروتئین‌های متراکم و فشرده هضم می‌شوند، همچنین بیان کردند سازوکار واکنش آهسته در مراحل پایانی ممکن است به‌دلیل کاهش در فعالیت آنزیم، اشباع‌شدن سوبسترا یا بازدارندگی محصول باشد. کاهش در سرعت افزایش درجه هیدرولیز می‌تواند به‌دلیل کاهش در غلظت ماده اولیه نیز باشد[40].

پروتئین‌های هیدرولیزشده پپتیدهایی دارند که الکترون‌دهنده بوده و می‌توانند با رادیکال‌های آزاد واکنش داده و آنها را به ترکیبات پایدارتر تبدیل کنند. نتیجه این عملکرد متوقف‌کردن واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون خواهد بود[46]. پپتیدهای مختلف با اندازه و توالی‌های آمینواسیدی متفاوت، ممکن است فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوتی نشان دهند[47]. سازوکار عمل پپتیدها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان به‌طور واضح مشخص نیست، اما آمینواسیدهایی مانند هیستیدین، سیستئین، والین، پرولین، فنیل‌آلانین، تیروزین و تریپتوفان نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی پپتیدها و پروتئین هیدرولیزشده ماهی دارند[48]. پپتیدها نسبت به آمینواسیدهای آزاد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری دارند که به‌دلیل ساختار فیزیکی و شیمیایی آنها است[49].

انتخاب آنزیم پروتئولتیک مناسب عامل بسیار مهمی برای رهاسازی پپتیدهای آنتی‌اکسیدانی از پروتئین ماهی است. آنزیم‌هایی مانند آلکالاز، آلفاکیموتریپسین، پروتامکس و تریپسین به‌طور موفقیت‌آمیزی برای تولید پپتیدهای آنتی‌اکسیدان از منابع پروتئینی ماهی بررسی شده‌اند[28, 50, 51].

در کنار انتخاب آنزیم مناسب، شرایط فیزیکی و شیمیایی فرآیند هیدرولیز مانند دما و pH بهینه برای عملکرد مناسب آنزیم و همچنین مدت‌زمان هیدرولیز عوامل موثر در تولید پروتئین هیدرولیزشده با فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند[49]. در پژوهش حاضر افزایش مدت‌زمان هیدرولیز منجر به افزایش معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۵$) فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد شد و بالاترین میزان مهارکنندگی رادیکال DPPH در غلظت ۲میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در زمان ۴ ساعت و بیش از ۷۰% به دست آمد. در پژوهش *جی* و همکاران[11] فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH در پروتئین هیدرولیزشده ستون فقرات ماهی تون در غلظت‌های مختلف بررسی و بالاترین میزان مهارکنندگی در غلظت ۱/۶میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۶۵% گزارش شد.

روش سنجش قدرت کاهندگی نیز اغلب برای ارزیابی توانایی یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی در دادن الکترون یا هیدروژن استفاده می‌شود. در مطالعات متعددی بیان شده که ارتباط مستقیمی بین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت کاهندگی یک ترکیب زیست‌فعال وجود دارد. در این روش توانایی پروتئین هیدرولیزشده در کاهش‌دادن یون Fe^{+3} به یون Fe^{+2} ارزیابی می‌شود[52]. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزایش مدت‌زمان هیدرولیز به افزایش معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۵$) قدرت کاهندگی پروتئین هیدرولیزشده منجر شد که مشابه نتایج به‌دست‌آمده مطالعات *بوگاتف* و همکاران[52] و *آلمن* و همکاران[26] است. تغییر در اندازه، ساختار و مقدار آمینواسیدها و پپتیدها در اثر گذشت زمان هیدرولیز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی را تحت تاثیر قرار می‌دهد[51].

طبق نتایج پژوهش حاضر، پروتئین‌های هیدرولیزشده با درجه‌های هیدرولیز متفاوت فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال DPPH و کاهندگی یون آهن) متفاوتی نشان دادند و با افزایش درجه هیدرولیز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. این نتایج مشابه نتایج گزارش شده در پژوهش *نالینانون* و همکاران[47] است. در مقابل *کلومپونگ* و همکاران[53] اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده با درجه‌های هیدرولیز ۵ تا ۲۵% مشاهده نکردند. اختلاف در گزارش‌ها می‌تواند به‌دلیل تفاوت در ماده اولیه، نوع آنزیم پروتئاز و شرایط هیدرولیز باشد که موجب تولید پپتیدهایی با ساختار و عملکرد متفاوت می‌شود[54].

یکی دیگر از روش‌های سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ارزیابی قدرت مهار رادیکال ABTS است که یکی از روش‌های بسیار خوب برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات الکترون‌دهنده و ترکیباتی است که واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیونی را با مهار رادیکال‌های پروکسیل‌لیپید متوقف می‌کنند[47]. نتایج این پژوهش نشان داد که پروتئین هیدرولیزشده سر ماهی تون توانایی بالایی در مهار این رادیکال داشت. همچنین افزایش غلظت منجر به افزایش معنی‌دار درصد بازدارندگی شد ($p\leq ۰/۰۵$)، به‌گونه‌ای که بالاترین میزان فعالیت در غلظت ۲/۵میلی‌گرم مشاهده شد که با مطالعه *جیویتا* و همکاران[55] هم‌خوانی دارد.

توانایی یک پپتید در مهار رادیکال آزاد نه‌تنها به اندازه پپتید بلکه بیشتر به توالی آمینواسیدی پپتیدها بستگی دارد که در ارتباط با نوع آنزیم پروتئاز مورد استفاده است[26]. وجود آمینواسیدهای آب‌گریز در پپتیدها و پروتئین هیدرولیزشده، انحلال آنها در چربی را افزایش داده و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها را افزایش خواهد داد[41].

مطالعه حاضر به‌روشنی نشان داد که سر ماهی هوور مسقطی می‌تواند به‌طور مطلوبی به‌منظور تولید پروتئین هیدرولیزشده استفاده شود. همچنین مشاهده شد آنزیم آلکالاز، کارآیی بالایی در هیدرولیز داشته و به تولید پروتئین با درجه هیدرولیز بالا منجر می‌شود. علاوه بر این می‌توان گفت پروتئین هیدرولیزشده سر ماهی هوور مسقطی فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS و کاهندگی یون آهن) بالایی دارد و می‌تواند در فرآورده‌های غذایی به‌منظور افزایش پایداری اکسیداسیونی به کار رود. پیشنهاد می‌شود مطالعات گسترده‌تری در الگوهای غذایی، حیوانی و انسانی صورت گیرد تا عملکرد این پپتیدهای آنتی‌اکسیدان در افزایش سلامت بدن و همچنین خواص حسی ماده غذایی که به آن افزوده می‌شوند، بررسی گردد.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-05]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.7.1.3.8]

نتیجه‌گیری

پروتئین هیدرولیزشده سر ماهی هوور مسقطی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد و می‌تواند در فرآورده‌های غذایی به‌منظور افزایش پایداری اکسیداسیونی به کار رود.

تشکر و قدردانی: از جناب آقای مهندس *جمشیدی* و کارکنان محترم شرکت آذین‌مهر خزر به‌دلیل همکاری برای در اختیار قراردادن ماده اولیه استفاده‌شده در پژوهش حاضر (ماهی هوور مسقطی) کمال تشکر و قدردانی را داریم.

تاییدیه‌اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

سهم نویسندگان: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع

1- Choi JI, Kim JH, Lee JW. Physiological properties of tuna cooking drip hydrolysates prepared with gamma irradiation. Process Biochem. 2011;46(9):1875-8.

2-. Ahn ChB, Je JY, Cho YS. Antioxidant and anti-inflammatory peptide fraction from salmon byproduct protein hydrolysates by peptic hydrolysis. Food Res Int. 2012;49(1):92-8.

3- Eiroa M, Costa JC, Alves MM, Kennes C, Veiga MC. Evaluation of the biomethane potential of solid fish waste. Waste Manag. 2012;32(7):1347-52.

4- He Sh, Franco Ch, Zhang W. Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). Food Res Int. 2013;50(1):289-97.

5- Yang P, Ke H, Hong P, Zeng Sh, Cao W. Antioxidant activity of bigeye tuna (Thunnus obesus) head protein hydrolysate prepared with Alcalase. Int J Food Sci Technol. 2011;46(12):2460–6.
2621.2011.02768.x/abstract;jsessionid=F0E68409B010CB2EC5698B67EFD65A55.d04t01

6- Kim SK. Marin proteins and peptides: Biological activities and applications. New York: John Wiley & Sons; 2013. p. 385-435.

7- Shahidi F, Zhong Y. Bioactive peptides. J AOAC Int. 2008;91(4):914-31.

8- Agyei D, Danquah MK. Rethinking food-derived bioactive peptides for antimicrobial and immunomodulatory activities. Trends Food Sci Technol. 2012;23(2):62-9.

9- Ovissipour M, Benjakul S, Safari R, Motamedzadegan A. Fish protein hydrolysates production from yellowfin tuna Thunnus albacares head using Alcalase and Protamex. Int Aquat Res. 2010;2(2):87-95.

10- Rajapakse N, Jung WK, Mendis E, Moon SH, Kim SK. A novel anticoagulant purified from fish protein hydrolysates inhibits factor XIIa and platelet aggregation. Life Sci. 2005;76(22):2607-19.

11- Je JY, Lee KH, Lee MH, Ahn ChB. Antioxidant and antihypertensive protein hydrolysates produced from tuna liver by enzymatic hydrolysis. Food Res Int. 2009;42(9):1266-72.

12- Gu RZ, Li CY, Liu WY, Yi WX, Cai MY. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of low-molecular-weight peptides from Atlantic salmon (Salmo salar L.) skin. Food Res Int. 2011;44(5):1536-40.

13- Rajanbabu V, Chen JY. Applications of antimicrobial peptides from fish and perspectives for the future. Peptides. 2011;32(2):415-20.

14- Zhong S, Ma Ch, Lin YC, Luo Y. Antioxidant properties of peptide fractions from silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) processing by-product protein hydrolysates evaluated by electron spin resonance spectrometry. Food Chem. 2011;126(4):1636-42.

15- Wang M, Nie Y, Peng Y, He F, Yang J, Wu Ch, et al. Purification, characterization and antitumor activities of a new protein from Syngnathus acus, an official marine fish. Mar Drugs. 2012;10(1):35-50.

16- Ko JY, Lee JH, Samarakoon K, Kim JS, Jeon YJ. Purification and determination of two novel antioxidant peptides from flounder fish (Paralichthys olivaceus) using digestive proteases. Food Chem Toxicol. 2013;52(1):113-20.

17- Farvin KHS, Andersen LL, Nielsen HH, Jacobsen Ch, Jakobsen G, Johansson I, et al. Antioxidant activity of Cod (Gadus morhua) protein hydrolysates: In vitro assays and evaluation in 5% fish oil-in-water emulsion. Food Chem. 2014;149:326-34.

18- Jiang H, Tong T, Sun J, Xu Y, Zhao Zh, Liao D. Purification and characterization of antioxidative peptides from round scad (Decapterus maruadsi) muscle protein hydrolysates. Food Chem. 2014;154(1):158-63.

19- Girgih AT, Udenigwe ChC, Hasan FM, Gill TA, Aluko RE. Antioxidant properties of Salmon (Salmo Salar) protein hydrolysate and peptide fractions isolated by reverse-phase HPLC. Food Res Int. 2013;52(1):315-22.

20- Udenigwe CC, Aluko RE. Food protein-derived bioactive peptides: Production, processing, and potential health benefits. J Food Sci. 2012;77(1):11-24.

21- Association of official analytical chemists. Official Methods of Analysis. 15th Edition. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists; 1990.

22- Hoyle NT, Merritt JH. Quality of fish protein hydrolysate from Herring (Clupea harengus). J Food Sci. 1994;59(1):76-9.

23- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951;193(1):265-75.

24- Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, Nakamura T. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. J Agric Food Chem. 1992;40(6):945-8.

25- Oyaizu M. Studies on products of browning reaction--antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Jpn J Nutr. 1986;44(6):307-15.

26- Alemán A, Pérez-Santín E, Bordenave-Juchereau S, Arnaudin I, Gómez-Guillén MC, Montero P. Squid gelatin hydrolysates with antihypertensive, anticancer and antioxidant activity. Food Res Int. 2011;44:1044-51.

27- Karunarathna KAAU, Attygalle MVE. Nutritional evaluation in five species of tuna. Vidyodaya J Sci. 2012;15(1):7-16.

28- Batista I, Ramos C, Coutinho J, Bandarra NM, Nunes ML. Characterization of protein hydrolysates and lipids obtained from black scabbardfish (Aphanopus carbo) by-products and antioxidative activity of the hydrolysates produced. Process Biochem. 2010;45(1):18-24.

29- Dong Y, Sheng G, Fu J, Wen K. Chemical characterization and antianaemia activity of fish protein hydrolysate from Saurida elongate. J Sci Food Agric. 2005;85:2033-9.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-05]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.7.1.3.8]

30- Gbogouri GA, Linder M, Fanni J, Parmentier M. Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon byproduct hydrolysates. J Food Sci. 2004;69:615-22.
31- Sathivel S, Bechtel PJ, Babbitt J, Smiley S, Crapo C, Reppond KD, et al. Biochemical and functional properties of Herring (Clupea harengus) byproduct hydrolysates. J Food Sci. 2003;68(7):2196-200.
32- Chalamaiah M, Narsing Rao DG, Rao DG, Jyothirmayi T. Protein hydrolysates from meriga (Cirrhinus mrigala) egg and evaluation of their functional properties. Food Chem. 2010;120(1):652-7.
33- Kristinsson HG, Rasco BA. Fish protein hydrolysates: Production, biochemical and functional properties. Crit Rev Food Sci Nutr. 2000;40(1):43-81.
34- Thiansilakul Y, Benjakul S, Shahidi F. Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (Decapterus maruadsi). Food Chem. 2007;103(4):1385-94.
35- Foh MBK, Kamara MT, Amadou I, Foh BM, Wenshui X. Chemical and physicochemical properties of Tilapia (Oreochromis niloticus) fish protein hydrolysates and concentrate. Int J Biol Chem. 2011;5(1):21-36.
36- Wasswa J, Tang J, Gu X, Yuan X. Influence of the extent of enzymatic hydrolysison the functional properties of protein hydrolysate from grass carp (Ctenopharyngodon idella) skin. Food Chem. 2007;104(4):1698-704.
37- Bhaskar N, Benila T, Radha C, Lalitha RG. Optimization of enzymatic Hydrolysis of visceral waste proteins of catla (Catla catla) for preparing protein hydrolysates using a commercial protease. Bioresour Technol. 2008;99(2):335-43.
38- Choi JI, Kim HJ, Kim JH, Song BS, Chun BS, Ahn DH, et al. Improvement of color and physiological properties of tuna-processing by product, by gamma irradiation. Radiation Phys Chem. 2009;78(7-8):601-3.
39- Guérard F, Dufossé L, De La Broise D, Binet A. Enzymatic hydrolysis of proteins from yellowfin tuna (Thunnus albacares) wastes using Alcalase. J Mol Catal B: Enzym. 2001;11(4-6):1051-9.
40- Ramakrishnan VV, Ghaly AE, Brooks MS, Budge SM. Extraction of oil from mackerel fish processing waste using Alcalase Enzyme. Enzym Eng. 2013;2(2):1000115.
41- Dong S, Zeng M, Wang DF, Liu Z, Zhao Y, Yang H. Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from Silver carp (Hypophthalmichthys molitrix). Food Chem. 2008;107(4):1485-93.
42- Shahidi F, Han XQ, Synowiecki J. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (Mallotus villosus). Food Chem. 1995;53(3):285-93.
43- Guerard F, Guimas L, Binet A. Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. J Mol Catal B: Enzym. 2002;19-20:489-98.
44- Gildberg A. Enzymic processing of marine raw materials. Process Biochem. 1993;28(1):1-15.
45- Liaset B, Lied E, Espe M. Enzymatic hydrolysis of by-products from the fish-filleting industry; chemical characterization and nutritional evaluation. J Sci Food Agric. 2000;80(5):581-9.
46- Khantaphant S, Benjakul S. Comparative study on the proteases from fish pyloric caeca and the use for production of gelatin hydrolysate with antioxidative activity. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 2008;151(4):410-9.
47- Nalinanon S, Benjakul S, Kishimura H, Shahidi F. Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from the muscle of ornate threadfin bream treated with pepsin from skipjack tuna. Food Chem. 2011;124(4):1354-62.
48- Hsu KCh, Lu GH, Jao ChL. Antioxidative properties of peptides prepared from tuna cooking juice hydrolysates with orientase (Bacillus subtilis). Food Res Int. 2009;42(5-6):647-52.
49- Chalamaiah M, Dinesh kumar B, Hemalatha R, Jyothirmayi T. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. Food Chem. 2012;135(4):3020-38.
50- Hsu KCh. Purification of antioxidative peptides prepared from enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle by-product. Food Chem. 2010;122(1):42-8.
51- Wu HCh, Chen HM, Shiau ChY. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of Mackerel (Scomber austriasicus). Food Res Int. 2003;36(9-10):949-57.
52- Bougatef A, Nedjar-Arroume N, Manni L, Ravallec R, Barkia A, Guillochon D, et al. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (Sardinella aurita) by-product proteins. Food Chem. 2010;118(3):559-65.
53- Klompong V, Benjakul S, Kantachote D, Shahidi F. 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 Chem. 2007;102:1317-27.
54- Bougatef A, Hajji M, Balti R, Lassoued I, Triki-Ellouz Y, Nasri M. Antioxidant and free radical scavenging activities of smooth hound (Mustelus mustelus) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. Food Chem. 2009;114:1198-205.
55- Jeevitha K, Mohana PK, Khora SS. Antioxidant activity of fish protein Hydrolysates from Sardinella longiceps. Int J Drug Dev Res. 2014;6(4):137-45.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-05]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.7.1.3.8]