(DOI): 10.22092/ISFJ.2026.136058 35(3) 27-49 Iranian Fisheries Scientific Journal

Optimization of hydrolysis conditions for protein production from banana shrimp (*Fenneropenaeus merguiensis*) waste and its functional properties

Ghorbani Birgani K.[1]; Roomiani L.[2*]

[*]Laleh.roomiani@iau.ac.ir

1-Department of Food Science and Technology, Ahv. C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran
2-Department of Fisheries, Ahv. C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

Received: December 2025 Accepted: March 2026 Published: September 2026

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Introduction

Shrimp represent the most widely traded product among crustaceans and seafood, primarily due to their appealing flavor and high nutritional value. In 2022, global marine capture fisheries produced 80 million tonnes of aquatic animals, maintaining their position as the principal source of global aquatic animal production, accounting for 43% (FAO, 2024). A considerable amount of waste is produced, contributing to severe environmental problems; this is an issue that needs to be addressed, as these discards have no direct application (Liebana *et al*., 2025). The dual problem of environmental issues and the less profitable applications for byproducts and waste arising from fish processing industries emphasize the need to achieve valorization from fish processing waste while contributing to a more sustainable fish industry. Protein hydrolysates are produced by breaking peptide bonds in food proteins, generating peptides of varying molecular weights. These hydrolysates are widely used in animal feed, food products, pharmaceuticals, and cosmetics (Dayakar *et al*., 2025). Enzymatic hydrolysis is particularly advantageous, as it produces hydrolysates with distinct properties depending on the specific peptide bonds cleaved. Recycling of food processing waste is an important industrial method to obtain high-value-added protein sources (Shahidi and Saeid, 2025). During industrial processing, this species generates substantial waste, primarily consisting of cephalothoraxes, which represent 40–60% of the total biomass. The valorization of this underutilized waste is essential to mitigate its environmental impact and recover its rich nutrient content (Pereira *et al*., 2022). The aim of this study was to improve an efficient and environmentally friendly enzymatic process for protein extraction from banana shrimp waste.

Methodology

Head and skin sections of banana shrimp (*F. merguiensis*) were freshly obtained from Ahrar processing centers in Bushehr province. They were then transported to the laboratory on ice in a foam, cleaned, and

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

frozen at -20°C until use. Before preparing the hydrolyzed protein, the samples were transferred to a refrigerator at 4°C. Optimization of enzymatic hydrolysis conditions to maximize the degree of hydrolysis and amount of hydrolyzed protein from banana shrimp head and skin waste, separately, was carried out using response surface methodology (RSM) according to Box-Behnken design. The hydrolysis conditions were determined as follows: time (5, 10, 15 min), pH (6.5, 7.5, 8.5), cold plasma (50, 60, 70 V) and enzyme/substrate ratio (0.5, 1, 1.5%). Three experimental replicates of each case were performed, and mean values have been expressed for the experimental responses. The experimental studies were optimized to minimize unexpected variability effects in the observed responses. The 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate (DPPH) radicals scavenging, activity was assayed. The ability of fractions to reduce iron was measured. Inhibition zone of bacterial strains was measured according to disk diffusion test. The optimization tests were analyzed using experimental design modules BBD from the RSM. The same software was used to analyze data obtained through RSM to determine the optimized condition.

Results

The results showed that the maximum degree of hydrolysis of shrimp head and skin was 57.47 and 60.11%, respectively, in the treatment time of 15 min, cold plasma of 60 volts, enzyme concentration to substrate of 1.5% and pH = 8.5. The degree of hydrolysis and amount of hydrolyzed protein from shrimp skin waste were higher than from shrimp head part. The maximum amount of hydrolyzed protein of shrimp head and skin was 3.01 and 3.26%, respectively. The coefficient of determination R_{adj}^2 for the degree of hydrolysis of head, degree of hydrolysis of skin, hydrolyzed protein of head and hydrolyzed protein of skin were 0.9786, 0.9330, 0.9130 and 0.9482, respectively. The effect of the independent variable pH on the amount of hydrolyzed protein and degree of hydrolysis of shrimp head and skin was more effective than other factors. Both hydrolyzed proteins from shrimp head and skin showed good antioxidant and antimicrobial functional properties. From the examination of Table 3, it is clear that the linear effect of pH, enzyme to substrate, cold plasma, time and the interaction effect of pH-enzyme to substrate, pH-cold plasma, enzyme to substrate-cold plasma, cold plasma-time and also the quadratic effect of pH-enzyme had a significant effect ($p<0.05$) on the degree of hydrolysis of protein obtained from shrimp heads, and only the interaction effect of pH-time, enzyme to substrate-time and the quadratic effect of cold plasma had no significant effect ($p>0.05$). The study of the effect of variables on the degree of hydrolysis of banana shrimp skin showed that the analysis of variance of the linear effects of pH, enzyme to substrate, cold plasma, time and the interaction effects of pH-enzyme to substrate, cold plasma-time and the quadratic effect of pH on the degree of hydrolysis of protein obtained from shrimp skin were significant ($p<0.05$). However, the interaction effects of pH-cold plasma, pH-time, enzyme-to-substrate-cold plasma, enzyme-to-substrate-time, and the quadratic effects of enzyme-to-substrate, cold plasma, and time on the degree of protein hydrolysis from shrimp skin were not significant ($p>0.05$).

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

Discussion and conclusion

BBD design was used to determine the degree of hydrolysis using papain enzyme to produce hydrolyzed protein. Hydrolyzed protein production experiments were conducted to evaluate the effects of variables at 4 levels. The selection of independent variables including time, pH and enzyme to substrate ratio was because these variables significantly affect the peptide composition of hydrolyzed protein and their optimization is essential to achieve the desired degree of hydrolysis. BBD was chosen for the optimization of independent variables for two main reasons. First, to obtain extensive information while conducting a limited number of experiments and then to analyze the interactive effects between the independent variables and the response variable (Dayakar *et al*., 2024). On the other hand, BBD requires that all the values of the independent factors align with the three levels (-1, 0 and +1) and the distances between them are equal (Dayakar *et al*., 2025), a requirement that was met in our study. A three-level BBD was applied in the response surface methodology study by creating an equation to determine the effective conditions for the highest degree of hydrolysis. The results showed that this model can estimate the percentage of hydrolysis degree of proteins obtained from wastes in different combinations of experimental parameters affecting hydrolysis. The results showed that the highest degree of hydrolysis was achieved by the effect of pH-time at 54.91% for the head part and 55.01% for the skin part. In a study, it was shown that the optimal conditions for the highest degree of hydrolysis were achieved at 73.91% within 1 hour of hydrolysis time and 1% enzyme concentration. The findings of this study showed that temperature had a significant effect on the degree of hydrolysis, but the amount of enzyme did not have a significant effect *P* (Korkmaz and Tokur, 2022).

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment

The authors extend their gratitude to the Ahvaz Branch, Islamic Azad University, for providing the necessary facilities and support.

Keywords

Hydrolysis, Papain, Protein hydrolysate, Shrimp waste, *Fenneropenaeus merguiensis*

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

مجله علمی شیلات ایران

(DOI): 10.22092/ISFJ.2026.136058 ۳۵ (۳) ۲۷-۴۹ مجله علمی شیلات ایران

مقاله علمی – پژوهشی:

بهینه‌سازی شرایط هیدرولیز برای تولید پروتئین هیدرولیزشده از ضایعات میگوی موزی (*Fenneropenaeus merguiensis*) و خصوصیات عملکردی آن

کبری قربانی‌بیرگانی[۱]، لاله رومیانی[*۲]

*Laleh.roomiani@iau.ac.ir

۱-گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۲- گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: دی ۱۴۰۴ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۴۰۵ تاریخ چاپ: شهریور ۱۴۰۵

چکیده

بازیافت ضایعات حاصل از فراوری موادغذایی یک روش صنعتی مهم برای به‌دست آوردن منابع پروتئینی با ارزش افزوده بالاست. هدف از مطالعه حاضر، بهبود یک فرایند آنزیمی مؤثر و سازگار با محیط‌زیست برای تولید پروتئین هیدرولیزشده از ضایعات میگوی موزی بود. بهینه‌سازی شرایط هیدرولیز آنزیمی برای به حداکثر رساندن درجه هیدرولیز و میزان پروتئین هیدرولیزشده از ضایعات سر و پوست میگوی موزی، به طور جداگانه، با استفاده از روش تجزیه‌وتحلیل سطح پاسخ طبق طراحی باکس-بنکن انجام شد. شرایط هیدرولیز شامل: زمان (۵، ۱۰، ۱۵ دقیقه)، pH (۶/۵، ۷/۵، ۸/۵)، پلاسمای‌سرد (۵۰، ۶۰، ۷۰ ولت) و نسبت آنزیم به سوبسترا (۰/۵، ۱، ۱/۵ درصد)، بود. میزان درجه هیدرولیز و پروتئین هیدرولیزشده از ضایعات پوست میگو نسبت به بخش سر آن بیشتر بود. نتایج نشان داد که بیشینه درجه هیدرولیز سر و پوست میگو به‌ترتیب با مقدار ۵۷/۴۷ و ۶۰/۱۱ درصد، در تیمار مدت زمان ۱۵ دقیقه، پلاسمای‌سرد ۶۰ ولت، غلظت آنزیم به سوبسترا ۱/۵ درصد و pH= ۸/۵ حاصل گردید. بیشینه میزان پروتئین هیدرولیزشده سر و پوست میگو به‌ترتیب با مقدار ۳/۰۱ و ۳/۲۶ درصد حاصل شد. ضریب تعیین R2adj برای درجه هیدرولیز سر، درجه هیدرولیز پوست، پروتئین هیدرولیزشده سر و پروتئین هیدرولیزشده پوست به‌ترتیب ۰/۹۷۸۶، ۰/۹۳۳۰، ۰/۹۱۳۰ و ۰/۹۴۸۲ بود. تاثیر متغیر مستقل pH بر میزان پروتئین هیدرولیزشده و درجه هیدورلیز سر و پوست میگو موثرتر از سایر شاخص‌ها بود. پروتئین هیدرولیزشده از سر و پوست میگو خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی خوبی نشان داد. این یافته‌ها بر پتانسیل ضایعات میگوی موزی برای تولید هیدرولیزهای عملکردی و زیست‌فعال با کاربردهای متنوع تأکید دارند.

لغات‌کلیدی: هیدرولیز، پاپائین، پروتئین هیدرولیزشده، ضایعات، میگوی موزی

[*]**نویسنده مسئول**

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

مقدمه

پرورش میگو در بخش تولید غذاهای دریایی به طور قابل‌توجهی در حال رشد است و توانسته محصولی باکیفیت، تازه و با طعم مطلوب ارائه دهد. علاوه‌براین، میگو منبع خوبی از اسیدهای‌آمینه، پپتیدهای زیست‌فعال، پروتئین‌ها و سایر موادمغذی مفید است (Liebana *et al*., 2025). تولید جهانی میگو در سال ۲۰۲۳ به ۵/۶ میلیون تن رسید و پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۲۵ به ۷/۲۸ میلیون تن افزایش یابد و نرخ رشد سالانه ۶/۱ درصد را طی سال‌های ۲۰۲۵-۲۰۲۰ نشان دهد. بازار جهانی میگو در سال ۲۰۲۳، ۶۹ میلیارد دلار تخمین زده شد. با نگاهی به آینده، انتظار می‌رود که بازار از ۷۲/۷ میلیارد دلار در سال ۲۰۲۴ به ۱۰۰/۲ میلیارد دلار تا سال ۲۰۳۲ با نرخ رشد ۴/۱ درصد افزایش یابد (FAO, 2024). میزان صید و پرورش میگوهای آب شور در سال ۱۴۰۳ در ایران به‌ترتیب ۷۱۳۳ تن و ۴۵۴۷۳ تن گزارش شده است (Iranian Fisheries Organization, 2024). به‌علاوه، صنعت فراوری میگو سالانه حدود ۳/۸ میلیون تن ضایعات در سراسر جهان تولید می‌کند که تقریباً ۶۰-۵۰ درصد حجم صید را تشکیل می‌دهد (Dayakar *et al*., 2025) که قسمت پوست، سر و دم در مجموع ممکن است حدود ۶۰-۴۵ درصد از وزن کل را به‌خود اختصاص دهند (Rossi *et al*., 2024).

در سال‌های اخیر، محققان علوم غذایی به پپتیدهای زیست‌فعال استخراجی از هیدرولیز آنزیمی ضایعات غذایی علاقه قابل‌توجهی نشان داده‌اند. پپتیدهای زیست‌فعال علاوه بر استفاده به عنوان مواد مغذی، عملکردهای زیستی متعددی دارند که شامل فعالیت‌های ضدفشارخون، تعدیل‌کننده سیستم ایمنی، عدم ایجاد لخته، ضدالتهاب، آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی و ضد میکروبی می‌شود (Yao *et al*., 2025; Wang *et al*., 2020). عملکردهای زیستی بالقوه پپتیدها تحت‌تأثیر توالی اسیدآمینه قرار دارند، زیرا پپتیدهای کوچک با توالی‌های خاص ممکن است با سایر پروتئین‌های بدن تعامل داشته باشند و فرایندهای طبیعی را تنظیم کنند. رابطه ساختاری و عملکردی پپتیدهای زیست‌فعال قبلاً به‌خوبی شناخته نشده بود (Zhao *et al*., 2018). متعاقباً، علاقه علمی فزآینده‌ای به تحقیقاتی که منجر به بازیابی توالی‌های پپتیدهای زیست‌فعال می‌شود، صورت گرفت که می‌توانند به عنوان موادمغذی و غذاهای عملکردی به‌کار روند. شکستن پیوندهای پپتیدی در هیدرولیز آنزیمی پروتئین باعث آزادشدن پپتیدهای فعال می‌شود که ممکن است عملکردهای متعددی (جداسازی رادیکال‌های آزاد، خاصیت چلاته‌کنندگی فلزات و مهار پراکسیداسیون لیپید)، در ترکیبات غذایی داشته باشند (Liebana *et al*., 2025). هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌ها در مقایسه با روش‌های شیمیایی یا فیزیکی، موثرترین روش برای بازیابی پروتئین‌های هیدرولیزشده و پپتیدهای زیست‌فعال است (Gautam *et al*., 2025). با این‌حال، پروتئین‌های پوست میگو ممکن است با کیتین یا باقی‌مانده موادمعدنی همراه باشند که می‌تواند دسترسی آنزیم‌ها را به مکان‌های هیدرولیتیک کاهش دهد. بنابراین، برای تسهیل هیدرولیز، می‌توان از پیش‌تیمارها (اولتراسوند و پلاسمای سرد)، بهره جست (Esua *et al*., 2022).

در حال حاضر، مطالعاتی از جمله، خصوصیات کارکردی پپتیدها از هیدرولیز ضایعات میگو (*Pleoticus muelleri*) (Liebana *et al*., 2025)، تاثیر نوع آنزیم و درجه هیدرولیز بر ویژگی آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده میگو (*Acetes* spp.) (Dhanabalan *et al*., 2025)، خصوصیات آنتی‌اکسیدانی پپتیدها از پوست ماهی (*Katsuwonus pelamis*) (Zhang *et al*., 2022)، پپتیدهای مهارکننده آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین از هیدرولیز پروتئین *Mytilus edulis* (Suo *et al*., 2022)، فعالیت ضداکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده سر کپورسرگنده (Lorzani and Roomiani, 2022)، پپتیدهای آنتی‌اکسیدانی از هیدرولیز میگوی کریل قطب‌جنوب (*Euphausia superba*) (Wang *et al*., 2021)، پتیدهای مهارکننده آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین از کلاژن‌های کیسه‌شنای ماهی (*Lophius litulon*) (Hu *et al*., 2023)، پپتیدهای کلاژن آنتی‌اکسیدانی از غضروف ماهی خاویاری سیبری (*Acipenser baerii*) (Sheng *et al*., 2022)، ویژگی‌های پروتئین هیدرولیزشده از ضایعات میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) (Tohidi Nasab and Roomiani, 2023)، تولید کاروتنوپروتئین از ضایعات میگو

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

(*Penaeus semisulcatus*) (Faleh Ali *et al*., 2025) و تولید پپتیدهای زیست‌فعال از ضایعات میگو با استفاده از آنزیم پروتامکس (Yeganeh and Reyhani Poul, 2021)، در مورد پپتیدهای زیست‌فعال از موجودات دریایی وجود دارد.

دورریختن مواد زائد، خطر آلودگی محیط‌زیست را به‌همراه دارد و تهدیدی برای سلامت انسان محسوب می‌شود، زیرا در طول تجزیه، رشد باکتری‌ها را تقویت می‌کند. به جای دفع آنها، می‌توان از مواد زائد برای تولید ترکیبات زیست‌فعال ارزشمند استفاده کرد. ضایعات فراوری میگو سرشار از ترکیبات زیست‌فعال ضروری (کیتین، کاروتنوئیدها، اسیدهای‌آمینه، اسیدهای‌چرب و موادمعدنی)، هستند. بازیابی این ترکیبات از ضایعات میگو نه‌تنها ارزش اقتصادی صنایع فراوری میگو را افزایش داده بلکه اثرات زیست‌محیطی و پتانسیل آلودگی مرتبط با این ضایعات را نیز کاهش می‌دهد. مواد زیست‌فعال کاربردهای مختلفی در زمینه‌هایی مانند پزشکی، آرایشی- بهداشتی، کشاورزی، صنعت و خمیرکاغذ، نساجی، بیوتکنولوژی و صنایع‌غذایی دارند (Shahidi and Saeid, 2025). تکنولوژی به‌کارگیری آنزیم می‌تواند سبب بهبود ویژگی‌های پروتئین هیدرولیزشده شود، بدون این‌که ارزش غذایی آن را تغییر دهد و به بهبود شاخص‌های ضدتغذیه کمک کند (Yathisha *et al*., 2022)، به‌علاوه، برای کاهش آلرژیی‌زایی پروتئین هیدرولیزشده از تکنولوژی آنزیم استفاده شود. از آنزیم‌های پرکاربرد در هیدرولیز پروتئین‌های جانوری می‌توان به آلکالاز (یک اندوپپتیداز سرین) و پاپائین (یک پروتئاز سیستئین) اشاره کرد. آلکالاز ترجیحاً روی پیوندهای پپتیدی مجاور اسیدهای‌آمینه آبگریز عمل کرده و پپتیدهای کوچکتر و یکنواخت‌تری تولید می‌کند. در مقابل، پاپائین دارای ویژگی وسیع‌تری است و فعالیت اندوپپتیدازی، آمیدازی و استرازی دارد و بر باقیمانده‌های آبگریز و آروماتیک عمل می‌کند. علاوه‌براین، تلخی هیدرولیزات‌ها را نیز باید نتیجه الیگوپپتیدهای آبگریز یا باقیمانده‌های اسیدآمینه در معرض یا افزایش یافته، در نظر گرفت (Mendes *et al*., 2026). اخیراً، پلاسمای سرد به عنوان یک تکنیک فیزیکی غیرحرارتی جدید، مؤثر و قوی برای از بین‌بردن خاصیت آنتی‌ژنی آلرژن‌های پروتئینی، مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است (Ekezie *et al*., 2019; Liu *et al*., 2022).

هدف از انجام مطالعه حاضر، بهینه‌سازی پروتئین هیدرولیزشده از پوست و سر میگوی موزی (*F. merguiensis*) با استفاده از آنزیم پاپائین به همراه پلاسمای سرد و ارزیابی خصوصیات زیست‌فعال آن بود.

مواد و روش کار

تهیه ضایعات میگوی موزی

بخش‌های سر و پوست میگوی موزی (*F. merguiensis*) (با دامنه وزنی ۱۵-۱۲ گرم) به صورت تازه در کنار یخ (با نسبت ۱ به ۴) از مراکز فرآوری این گونه در استان هرمزگان، طی ۱۲ ساعت، تهیه گردید. سپس در کنار یخ در یونولیت به آزمایشگاه منتقل، تمیز شده و تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند. قبل از تولید پروتئین هیدرولیزشده، نمونه‌ها به یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

طراحی آزمایش

بهینه‌سازی پاسخ‌های درجه هیدرولیز و میزان پروتئین هیدرولیزشده از سر و پوست میگوی موزی در دو مرحله انجام شد. در ابتدا از طرح پلاکت-برمن (PDB) برای غربالگری شاخص‌های کلیدی که می‌توانستند بر فرایند هیدرولیز تأثیر بگذارند، استفاده شد و متغیرهای مهم از طریق طرح باکس-بنکن (BBD) بهینه شدند. با استفاده از PBD برای غربالگری عوامل مهم مؤثر بر پاسخ‌های درجه هیدرولیز و میزان پروتئین هیدرولیزشده سر و پوست میگوی موزی و انتخاب متغیرهای مستقل کلیدی برای بهینه‌سازی بیشتر بر اساس مدل چندجمله‌ای درجه اول ارائه شده ذیل استفاده شد:

$$Y_i = C_0 + \sum_i C_i X_i$$

Y_i: پاسخ تجربی، C_o و C_i: به‌ترتیب ضرایب رگرسیون برای عرض از مبدا و جملات خطی و X_i: متغیر مستقل

طبق PBD، اثرات اصلی چهار متغیر که می‌توانند بر فرایند هیدرولیز تأثیر بگذارند، در سه سطح بررسی شدند (۱-، ۰،

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

۱+) و متغیرهای مستقل بررسی شده برای طراحی آزمایش شامل pH، نسبت آنزیم به سوبسترا، زمان فراصوت (دامنه زمانی کم به علت استفاده از پیش‌تیمار) و پلاسمای سرد، بود. متغیرها در ۳۰ آزمایش بررسی شدند (جدول ۱) و میانگین‌های درجه هیدرولیز و میزان پروتئین هیدرولیزشده به عنوان پاسخ‌های وابسته درنظر گرفته شدند.

جدول ۱: شاخص‌های مستقل و سطوح مورد استفاده برای بهینه‌سازی شرایط هیدرولیز با آنزیم پاپایین

Table 1: Independent variables and levels used to optimize hydrolysis conditions with papain enzyme

Coded values	Experiments levels	Independent variables
-1, 0, +1	6.5, 7.5, 8.5	(K_1) pH
-1, 0, +1	0.5, 1, 1.5%	Enzyme/ substrate ratios (w/ w) (K_2)
-1, 0, +1	50, 60, 70 V	(K_3) Cold plasma
-1, 0, +1	5, 10, 15 min	(K_4) Time

چهار متغیر مستقل مهم که از طریق PBD غربالگری شدند، برای بهینه‌سازی پاسخ‌های درجه هیدرولیز و میزان پروتئین هیدرولیز شده بازیافتی با استفاده از روش BBD انتخاب شدند. متغیرهای مستقل غیرانتخابی در سطوح بالای خود (۱+) ثابت نگه داشته شده و متغیرهای انتخابی به صورت جداگانه تغییر داده شده و در سه سطح مختلف بررسی و طبق معادله ذیل کدگذاری شدند:

$$K_i = \frac{k - [k_a + k_b]/2}{[k_a - k_b]/2}$$

K_i، k، k_a و k_b: به‌ترتیب نشان‌دهنده متغیر کدگذاری‌شده، متغیر طبیعی، متغیر طبیعی حداکثر و متغیر طبیعی حداقل ماتریس BBD شامل ۳۰ اجرا بود که هر سنجش به صورت سه‌تایی انجام شد و داده‌های تجربی برای پاسخ‌های درجه هیدرولیز و میزان پروتئین هیدرولیز شده پوست و سر میگوی موزی بر اساس رگرسیون چندگانه برای برازش مدل چندجمله‌ای درجه دوم داده شده ذیل تجزیه‌وتحلیل شدند:

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^{n} b_i K_i + \sum_{i<j}^{n} b_{ij} K_i K_j + \sum_{i=1}^{n} b_{ii} K_i^2$$

Y: پاسخ یا متغیر وابسته، n تعداد متغیرها. b_o، b_i، b_{ij} و b_{ii} به‌ترتیب ضرایب ثابت اثرات عرض از مبدا، خطی، تعاملی و درجه دوم. K_i و K_j سطوح متغیرهای مستقل

بعد از مشخص‌شدن محدوده متغیرهای مورد بررسی و واردکردن آنها به نرم‌افزار دیزاین اکسپرت نسخه ۱۲، نقشه آزمایش‌ها به‌دست آمد. طرح کلی آزمایش‌ها شامل ۳۰ آزمون بود که با ۶ تکرار در نقاط مرکزی انجام گرفت. سپس تک‌تک آزمایش‌های پیشنهادی در نقشه آزمایش انجام گرفت و میانگین نتایج حاصله از آزمون‌ها به عنوان پاسخ در نظر گرفته شد تا در مرحله بعد این نتایج برای به‌دست آوردن شرایط بهینه، تجزیه‌وتحلیل گردند. تجزیه واریانس برای ارزیابی اثرات معنی‌داری متغیرهای فرایند بر پاسخ‌ها انجام شد. با انجام تجزیه‌وتحلیل رگرسیون چندمتغیره، مدل‌های چندجمله‌ای درجه‌دوم برای پیش‌بینی پاسخ در همه نمونه‌ها به دست آمد. سپس برازش داده‌های به دست آمده برای درجه هیدرولیز و میزان پروتئین هیدرولیز شده بر اساس مدل چند جمله‌ای درجه دوم صورت گرفت. برای تعیین شرایط بهینه نهایی، از رویکرد تابع مطلوبیت کلی (overall desirability function) در نرم‌افزار دیزاین اکسپرت بهره گرفته شد. در این زمینه، هدف برای هر متغیر پاسخ شامل درجه هیدرولیز سر، پوست و میزان پروتئین بازیافتی از سر، پوست، بود بر حالت حداکثر با ضریب اهمیت یکسان تنظیم گردید تا شرایطی حاصل شود که همزمان بیشترین بازدهی را برای تمامی شاخص‌ها تأمین نماید.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

سیستم پلاسمای‌سرد و پیش‌تیمار نمونه‌ها

سیستم پلاسمای تخلیه سددی‌الکتریک برای تولید PFW با قراردادن آب مقطر دوبار تقطیرشده در یک پتری‌دیش بین الکترودهای ولتاژ پایین و ولتاژ بالا و قراردادن در معرض پلاسمای سرد، به‌کار گرفته شد. پلاسمای سرد در ولتاژهای ورودی ۵۰، ۶۰ و ۷۰ ولت به مدت ۸ دقیقه و در فاصله ۵ میلی‌متر از ستون پلاسما تولید شده، به لوله‌های فالکون استریل منتقل و ۲ دقیقه زمان خنک‌شدن برای جلوگیری از اثر دما در طول تیمار نمونه‌ها در نظر گرفته شد. نمونه‌های آزمایشی به نسبت ۱:۲ وزن/ حجم در یک فلاسک مخروطی غوطه‌ور شدند و به مدت ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه در یک راکتور شیمیایی ۵۰۰ وات در دمای اتاق ۲۵ درجه سانتی‌گراد تحت امواج فراصوت با فرکانس ۴۰ کیلوهرتز، تحت تیمارهای طراحی شده به‌وسیله دیزاین اکسپرت، قرار گرفتند تا هیبریداسیون از دیواره‌های مخزن مستطیلی راکتور شیمیایی با ابعاد داخلی ۱۵۰ × ۳۰۰ × ۵۰۰ میلی‌متر (طول× عرض × ارتفاع) حاصل شود و با یک پایه و گیره نگه‌داشته شوند. عمق غوطه‌وری ۸۰ میلی‌متر از کف مخزن در نظر گرفته شد (Wu *et al.*, 2022). کلیه مراحل پیش‌تیمار پلاسمای سرد، با هدف تغییر کنفورماسیون (شکل فضایی) پروتئین‌ها و افزایش دسترسی آنزیم به مکان‌های هیدرولیتیک، در مرحله مجزا و پیش از آغاز فرایند هیدرولیز آنزیمی (پیش از تنظیم pH و افزودن آنزیم پاپائین) بر نمونه‌های همگن‌شده، انجام شد. این رویکرد به منظور افزایش کارایی پروتئولیز انجام شد (Yang *et al.*, 2025).

تهیه پروتئین هیدرولیزشده

تهیه پروتئین هیدرولیزشده پس از اتمام مراحل پیش‌تیمار پلاسمای سرد، نمونه‌های سر و پوست میگوی موزی تهیه‌شده در آب مقطر دوبار تقطیرشده، به منظور غیرفعال‌سازی آنزیم‌های درون‌زا به مدت ۶۰۰ ثانیه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد همگن شدند. pH محلول با بافر Tris-HCl 50 میلی‌مولار برای فعالیت آنزیم به تعادل رسید و هیدرولیز با افزودن آنزیم پاپائین (شرکت نوازیم ساخت کشور دانمارک) به مدت ۹۰ دقیقه آغاز شد. سطوح pH دوباره بررسی و در صورت لزوم با اسیدکلریدریک ۱ مولار یا هیدروکسیدسدیم ۱ مولار تنظیم شد. واکنش با گرم‌کردن سوسپانسیون در حمام آب با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه برای غیرفعال‌کردن آنزیم و سپس خنک‌کردن آن در آب تا دمای اتاق ۲۵ درجه سانتی‌گراد و متعاقباً سانتریفیوژکردن (JW-3024HR، ساخت کشور چین)، در g × ۸۹۶۰ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه خاتمه یافت و محلول‌های رویی حاصل در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Faleh Ali *et al.*, 2025).

اندازه‌گیری درجه هیدرولیز

برای اندازه‌گیری درجه هیدرولیز، ۱۰ میلی‌لیتر هیدرولیزات با ۱۰ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) ۲۰ درصد مخلوط شده و به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت g × ۸۹۶۰ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد تا ۱۰ درصد بخش‌های محلول در تری‌کلرواستیک و نامحلول در آن ایجاد شود (Altınelataman *et al.*, 2019). برای تعیین محتوی نیتروژن از روش کجلدال (AOAC, 2000) استفاده شد و درجه هیدرولیز با معادله ذیل تخمین زده شد:

$$degree\ of\ hydrolysis = \frac{10\%\ TCA-soluble\ N_2\ in\ the\ sample}{total\ N_2\ in\ the\ sample} \times 100$$

خصوصیات عملکردی پروتئین هیدرولیزشده

قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH[1]

فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH پروتئین هیدرولیزشده بهینه (پلاسمای سرد با ولتاژ ۶۰، نسبت آنزیم به سوبسترا ۱/۵، زمان ۱۵ دقیقه و pH=8.5) پوست و سر میگوی ببری موزی، در غلظت‌های ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر انجام گردید. برای این‌کار، حجم مساوی از نمونه موردنظر، با محلول DPPH ۰/۱۶ میلی‌مولار که در اتانول ۹۵ درصد حل شده، مخلوط گردید. مخلوط حاصله ۲ دقیقه تکان داده شده و به مدت ۴۰ دقیقه در شرایط

[1] 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity assay

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

نگهداری نگهداری شد. جذب همه نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد. در نمونه شاهد از آب مقطر استفاده گردید. برای مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده از BHA استفاده گردید (Li *et al*., 2020):

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \left(\frac{As-Ab}{As}\right)\times 100$$

A_s: جذب پروتئین هیدرولیزشده، A_b: جذب نمونه شاهد

قدرت کاهندگی یون آهن[2]

یک میلی‌لیتر پروتئین هیدرولیزشده با غلظت ۴۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۳ میلی‌لیتر با ۵/۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH=۶/۶ و ۲ میلی‌لیتر محلول یک درصد حجم به وزن پتاسیم‌فری‌سیانید مخلوط گردید. این محلول به مدت ۳۲ دقیقه در دمای ۵۲ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید و بعد از این مدت با اضافه‌کردن ۳ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر کلریدآهن ۰/۱ درصد ترکیب و سپس ۱۲ دقیقه در دمای محیط گرمخانه‌گذاری و بعد جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد (Zou *et al*., 2019).

فعالیت ضدمیکروبی

میکروارگانیسم‌های مورد استفاده برای فعالیت ضدمیکروبی شامل: *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Bacillus subtilis*، *Salmonella typhi*، *Staphylococcus aureus*، *Entrococcus faecalis* و *Candida albicans*، بودند که از کلکسیون باکتری و قارچ سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شدند. برای سنجش فعالیت ضدباکتری، پروتئین هیدرولیزشده سر و پوست با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در اسیداستیک ۰/۱ درصد حل شد. ۲۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون تلقیح میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش، حاوی 10^6 cfu/ mL از سلول‌های باکتری در محیط Muller–Hinton آگار پخش شد. برای فعالیت ضدمیکروبی پروتئین هیدرولیزشده بخش سر و پوست میگوی موزی از تست انتشار دیسک استفاده و با کمک سواپ پنبه‌ای استریل، سوسپانسیون میکروبی با غلظت فوق در محیط Muller–Hinton پخش شد. دیسک‌های کاغذی استریل با قطر ۶ میلی‌متر در نظر گرفته شدند و با ۵۰ میکرولیتر از هر نمونه پر شدند. اسیداستیک به عنوان کنترل منفی استفاده شد. پتری‌دیش‌ها ابتدا به مدت ۱ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. فعالیت ضدباکتریایی با اندازه‌گیری قطر نواحی بازدارنده رشد بر حسب میلی‌متر، برای ارگانیسم‌های مورد آزمایش و مقایسه با گروه شاهد ارزیابی شد. اندازه‌گیری مناطق بازدارنده برای سه تکرار انجام شد و میانگین سه تکرار به‌دست آمد (Pezeshk *et al*., 2019).

روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

طراحی آزمایش، رگرسیون و تحلیل آماری غربالگری، بهینه‌سازی و رسم نمودار با استفاده از نرم‌افزارهای Minitab 18.0 (Minitab LLC، انگلستان)، Design Expert 12.0.3 (مینیاپولیس، ایالات متحده آمریکا) و OriginLab 9.5.195 (OriginLab Corp، ایالات متحده آمریکا) انجام شد. نمودار پارتو استاندارد و تحلیل واریانس (ANOVA) برای ارزیابی اهمیت هر عامل در طول غربالگری استفاده شد و ضرایب رگرسیون و رابطه تعاملی بین متغیرهای مستقل با استفاده از آزمون F (فیشر) در فاصله اطمینان ۹۵ درصد بررسی شد. مناسب بودن مدل چندجمله‌ای با ضریب تعیین (R^2)، آزمون F و آزمون عدم برازش در سطوح معنی‌داری ۵، ۰/۱ و ۰/۰۱ درصد ارزیابی شد. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند درحالی‌که تفاوت بین میانگین‌ها با آزمون Holm-Sidak در سطح معنی‌داری $p<0/05$ از هم جدا شدند.

[2]Ferric Reducing Antioxidant Potential

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

نتایج

بهینه‌سازی شرایط هیدرولیز با استفاده از روش سطح پاسخ انجام گردید. بدین منظور، چهار شاخص زمان، pH، نسبت آنزیم به سوبسترا و پلاسمای سرد در ۳ سطح به‌کار گرفته شدند. در جدول ۲، تاثیر ۴ شاخص بر میزان پاسخ‌های درجه هیدرولیز و میزان پروتئین هیدرولیزشده به‌دست آمده از سر و پوست میگوی موزی، ارائه شده است.

جدول ۲: اثرات متقابل چهارگانه متغیرها بر درجه هیدرولیز و میزان پروتئین هیدرولیزشده حاصل از سر و پوست میگوی موزی

Table 2: Interaction effects of four variables on the degree of hydrolysis and amount of hydrolyzed protein from the head and skin of Banana shrimp

Hydrolysates protein from Skin (Predicted)	Hydrolysates protein from Skin (Actual)	Hydrolysates protein from head (Predicted)	Hydrolysates protein from head (Actual)	Skin Degree of hydrolysis (Predicted)	Skin Degree of hydrolysis (Actual)	Head Degree of hydrolysis (Predicted)	Head Degree of hydrolysis (Actual)	(X_4) Time	Cold plasma (X_3)	Enzyme/ Substrate (X_2)	pH (X_1)	
1.72	1.72	1.61	1.61	41.23	40.45	41.39	41.16	5	40	0.5	6.5	1
2.87	2.82	2.77	2.71	49.46	50.11	49.47	49.78	5	40	0.5	8.5	2
1.9	1.9	1.74	1.84	41.56	42.10	39.60	39.98	5	40	1.5	6.5	3
3.11	3.10	2.91	2.81	52.75	51.89	49.96	49.44	5	40	1.5	8.5	4
1.68	1.61	1.57	1.50	40.60	40.52	40.42	40.00	5	60	0.5	6.5	5
2.78	2.86	2.74	2.74	49.81	49.56	50.07	50.12	5	60	0.5	8.5	6
1.96	1.99	1.68	1.58	42.23	42.16	41.16	41.16	5	60	1.5	6.5	7
3.12	3.11	2.89	3.00	54.39	55.16	53.08	53.14	5	60	1.5	8.5	8
1.99	1.95	1.81	1.71	42.07	41.58	42.08	42.18	15	40	0.5	6.5	9
2.86	3.00	2.78	2.85	51.53	51.02	50.84	50.45	15	40	0.5	8.5	10
2.01	1.95	1.92	1.88	42.45	42.12	40.57	40.12	15	40	1.5	6.5	11
3.09	3.12	2.93	3.00	54.87	55.23	51.62	52.20	15	40	1.5	8.5	12
2.08	2.10	1.93	2.01	44.84	45.11	44.02	44.14	15	60	0.5	6.5	13
3.01	3.00	2.93	2.81	55.27	55.00	54.34	54.12	15	60	0.5	8.5	14
2.20	2.21	2.03	2.09	46.52	46.14	45.04	44.89	15	60	1.5	6.5	15
3.24	3.26	3.05	3.01	59.91	60.11	57.64	57.48	15	60	1.5	8.5	16
1.90	2.01	1.78	1.85	42.91	44.23	41.52	42.16	10	50	1	6.5	17
3.05	3.00	2.87	2.95	53.73	53.64	51.86	52.16	10	50	1	8.5	18
2.72	2.85	2.61	2.79	47.98	49.44	48.12	48.80	10	50	0.5	7.5	19
2.90	2.89	2.74	2.70	50.46	50.23	48.87	49.12	10	50	1.5	7.5	20
2.99	3.00	2.70	2.79	50.12	51.54	48.45	48.66	10	40	1	7.5	21
2.92	2.90	2.74	2.80	52.33	52.14	50.98	51.70	10	60	1	7.5	22
2.82	2.86	2.69	2.74	49.92	50.00	49.77	50.14	5	50	1	7.5	23
3.02	3.10	2.78	2.78	53.10	54.26	52.39	52.96	15	50	1	7.5	24
2.86	2.99	2.69	2.84	50.73	53.00	49.67	50.01	10	50	1	7.5	25
2.86	2.87	2.60	2.74	50.73	50.14	49.67	48.78	10	50	1	7.5	26
2.86	2.66	2.69	2.45	50.73	48.88	49.67	48.69	10	50	1	7.5	27
2.86	2.84	2.69	2.55	50.73	50.10	49.67	48.59	10	50	1	7.5	28
2.86	2.78	2.69	2.61	50.73	49.78	49.67	50.01	10	50	1	7.5	29
2.86	2.65	2.69	2.54	50.73	48.78	49.67	49.16	10	50	1	7.5	30

نتایج نشان داد که بیشینه درجه هیدرولیز سر و پوست میگو به‌ترتیب با مقدار ۵۷/۴۷ و ۶۰/۱۱ درصد، در تیمار با اثرات چهارگانه زمان ۱۵ دقیقه، پلاسمای سرد ۶۰ ولت، غلظت آنزیم به سوبسترا ۱/۵ درصد و pH=8.5 و بیشینه میزان پروتئین هیدرولیز شده سر و پوست میگو به‌ترتیب با مقدار ۳/۰۱ و ۳/۲۶ درصد در تیمار با اثرات چهارگانه زمان ۱۵ دقیقه، پلاسمای سرد ۶۰ ولت، غلظت آنزیم به سوبسترا ۱/۵ درصد و pH=8.5 به‌دست آمد.

با توجه به جدول ۳، مشخص می‌شود که اثر خطی pH، آنزیم به سوبسترا، پلاسمای سرد، زمان و اثر متقابل pH -

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

آنزیم به سوبسترا، pH - پلاسمای سرد، آنزیم به سوبسترا - پلاسمای سرد، پلاسمای سرد- زمان و اثر درجه دوم pH- آنزیم دارای تاثیر معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بر درجه هیدرولیز پروتئین حاصل از سر میگو بودند و فقط اثر متقابل pH – زمان، آنزیم به سوبسترا – زمان و اثر درجه دوم پلاسمای سرد دارای تاثیر معنی‌دار نبودند ($p>۰/۰۵$). بررسی اثر متغیرها بر درجه هیدرولیز پوست میگوی موزی نشان داد که تجزیه واریانس اثرات خطی pH، آنزیم به سوبسترا، پلاسمای سرد، زمان و اثرات متقابل pH - آنزیم به سوبسترا، پلاسمای سرد - زمان و اثر درجه دوم pH بر درجه هیدرولیز پروتئین حاصل از پوست میگو معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). اما اثر متقابل pH - پلاسمای سرد، pH – زمان، آنزیم به سوبسترا - پلاسمای سرد، آنزیم به سوبسترا - زمان و اثر درجه دوم آنزیم به سوبسترا، پلاسمای سرد و زمان بر درجه هیدرولیز پروتئین حاصل از پوست میگو معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$).

جدول ۳: تجزیه‌وتحلیل واریانس درجه هیدرولیز سر و پوست میگو تحت‌تاثیر چهار متغیر مستقل با روش سطح پاسخ

Table 3: Analysis of variance of the degree of hydrolysis of shrimp head and skin under the influence of four independent variables using the response surface method

p-value (skin)	*p*-value (head)	F-value (skin)	F-value (head)	Mean square (skin)	Mean square (head)	Degree of freedom	Source
<0.0001	<0.0001	29.84	95.54	49.98	44.98	14	model
0.0010	<0.0001	314.07	1022.55	526.07	481.43	1	(X1) pH
0.0025	0.0345	16.57	5.41	27.75	2.55	1	(X2) enzyme/ substrate
0.0001	<0.0001	13.08	61.18	21.91	28.80	1	(X3) Cold plasma
0.0371	<0.0001	27.17	65.78	45.51	30.97	1	(X4) time
0.4629	0.0047	5.23	11.02	8.76	5.19	1	X1X2
0.3570	0.0384	0.5675	5.15	0.9506	2.43	1	X1X3
0.3311	0.3357	0.9032	0.9894	1.51	0.4658	1	X1X4
0.9667	0.0022	1.01	13.57	1.69	6.39	1	X2X3
0.0193	0.6864	0.0018	0.1695	0.0030	0.0798	1	X2X4
0.0090	0.0007	6.86	17.89	11.49	8.42	1	X2X4
0.0802	<0.0001	8.98	48.94	15.03	23.04	1	$X1^2$
0.5465	0.0142	3.52	7.69	5.90	3.62	1	$X2^2$
0.3437	0.9307	0.3808	0.0078	0.6378	0.0037	1	$X3^2$
<0.0001	0.0048	0.9559	10.91	1.60	5.13	1	$X4^2$
0.7901		0.5697		1.34	0.4940	10	Lack of fit
				2.35	0.4244	5	Pure error
						29	Cor Total
						0.9889	R^2
						0.9653	R^2
						0.9786	Adjusted R^2
						0.9330	Adjusted R^2
						0.9600	Predicted R^2
						0.8939	Predicted R^2

بررسی اثر متغیرها بر میزان پروتئین هیدرولیز شده از پوست میگوی موزی (جدول ۴) نشان داد که فقط تجزیه واریانس اثر خطی pH، آنزیم به سوبسترا، زمان و اثر درجه دوم pH بر میزان پروتئین هیدرولیز شده حاصل از پوست میگو معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). اما اثر خطی پلاسمای سرد و اثر متقابل pH - آنزیم به سوبسترا، pH - پلاسمای سرد، pH – زمان، آنزیم به سوبسترا - پلاسمای سرد، آنزیم به سوبسترا – زمان، پلاسمای سرد - زمان و اثر درجه دوم آنزیم به سوبسترا، پلاسمای سرد و زمان بر میزان پروتئین هیدرولیز شده حاصل از پوست میگو معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). احتمال مدل‌ها *p-value* کمتر از ۰/۰۰۰۱ بود که نشان می‌دهد، مدل‌های رگرسیونی مناسب هستند.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

جدول ۴: تجزیه‌وتحلیل واریانس میزان پروتئین هیدرولیز شده سر و پوست میگوی موزی تحت‌تاثیر چهار متغیر مستقل در روش سطح پاسخ

Table 4: Analysis of variance of hydrolyzed protein content of Banana shrimp head and skin under the influence of four independent variables in response surface methodology

p-value (skin)	*p*-value (head)	F-value (skin)	F-value (head)	Mean square (skin)	Mean square (head)	Degree of freedom	Source
0.0001<	0.0001<	38.90	22.75	0.4879	0.4708	14	model
0.0001<	0.0001<	428.02	258/35	5.37	5.35	1	(X_1) pH
0.0039	0.0723	11.62	3.74	0.1458	0.0774	1	(X2) enzyme/ substrate
0.3284	0.5857	1.02	0.3103	0.0128	0.0064	1	(X3) Cold plasma
0.0025	0.0186	13.10	6.96	0.1644	0.1440	1	)X_4(
0.6000	0.7979	0.2870	0.0680	0.0036	0.0014	1	X_1X_2
0.6616	0.9319	0.1993	0.0076	0.0025	0.0002	1	X_1X_3
0.2819	0.2121	1.25	1.70	0.0156	0.0352	1	X_1X_4
0.3630	0.9591	0.8790	0.0027	0.0110	0.0001	1	X_2X_3
0.2004	0.9048	1.79	0.0148	0.0225	0.0003	1	X_2X_4
0.2639	0.2909	1.35	1.20	0.0169	0.0248	1	X_2X_4
0.0001<	0.0010	35.35	16.74	0.4434	0.3465	1	X_1^2
0.4948	0.8200	0.4896	0.0537	0.0061	0.0011	1	X_2^2
0.6591	0.7476	0.2026	0.1075	0.0025	0.0022	1	X_3^2
0.3921	0.9500	0.7767	0.0041	0.0097	0.0001	1	X_4^2
0.7665	0.5321	0.6056	1.01	0.0103	0.0207	10	Lack of fit
				0.0170	0.0206	5	Pure error
						29	Cor Total
						0.9550	R^2
						0.9732	R^2
						0.9130	Adjusted R^2
						0.9482	Adjusted R^2
						0.8100	Predicted R^2
						0.9209	Predicted R^2

مقادیر بالای ضرایب تعیین R^2 برای درجه هیدرولیز و پروتئین هیدرولیزشده سر و پوست میگو بالاتر از ۹۰ درصد بود که نشان می‌دهد مدل‌ها به‌خوبی با داده‌های تجربی برازش شدند.. مدل درجه دوم زیر وابستگی درجه هیدرولیز به متغیرهای مستقل را توضیح می‌دهد و شاخص‌های معادله با تحلیل رگرسیون چندگانه داده‌های تجربی به‌دست آمد. مدل درجه دوم برای درجه هیدرولیز سر و پوست میگو به شرح ذیل بود:

$$Y= - 125/163 + 46/479\ X_1 – 4/931\ X_2 – 0/474\ X_3 – 1/873\ X_4 + 1/138\ X_1X_2 + 0/038\ X_1X_3 + 0/034\ X_1X_4 + 0/126\ X_2X_3 + 0/028\ X_2X_4 + 0/014\ X_3X_4 – 2/982\ X_1^2 – 4/729\ X_2^2 + 0/0003\ X_3^2 + 0/056\ X_4^2$$

$$Y= - 90/349 + 38/225\ X_1 + 0/149\ X_2 – 0/803\ X_3 - 1/625\ X_4 + 1/480\ X_1X_2 + 0/024\ X_1X_3 + 0/061\ X_1X_4 + 0/65\ X_2X_3 + 0/005\ X_2X_4 + 0/016\ X_3X_4 – 2/408\ X_1^2 – 6/035\ X_2^2 + 0/004\ X_3^2 + 0/031\ X_4^2$$

فرمول درجه دوم برای میزان پروتئین هیدرولیز شده به‌دست آمده از سر و پوست به شرح ذیل است:

$$Y= - 21/829 + 6/089\ X_1 + 0/192\ X_2 – 0/037\ X_3 + 0/055\ X_4 + 0/018\ X_1X_2 + 0/0003\ X_1X_3 - 0/009\ X_1X_4 - 0/0003\ X_2X_3 - 0/001\ X_2X_4 + 0/0007\ X_3X_4 – 0/365\ X_1^2 – 0/082\ X_2^2 + 0/0002\ X_3^2 - 0/0002\ X_4^2$$

$$Y= - 24/453 + 6/846\ X_1 + 0/231\ X_2 – 0/031\ X_3 - 0/0005\ X_4 + 0/030\ X_1X_2 - 0/001\ X_1X_3 - 0/006\ X_1X_4 + 0/005\ X_2X_3 - 0/015\ X_2X_4 + 0/0006\ X_3X_4 – 0/413\ X_1^2 – 0/194\ X_2^2 + 0/0003\ X_3^2 + 0/002\ X_4^2$$

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

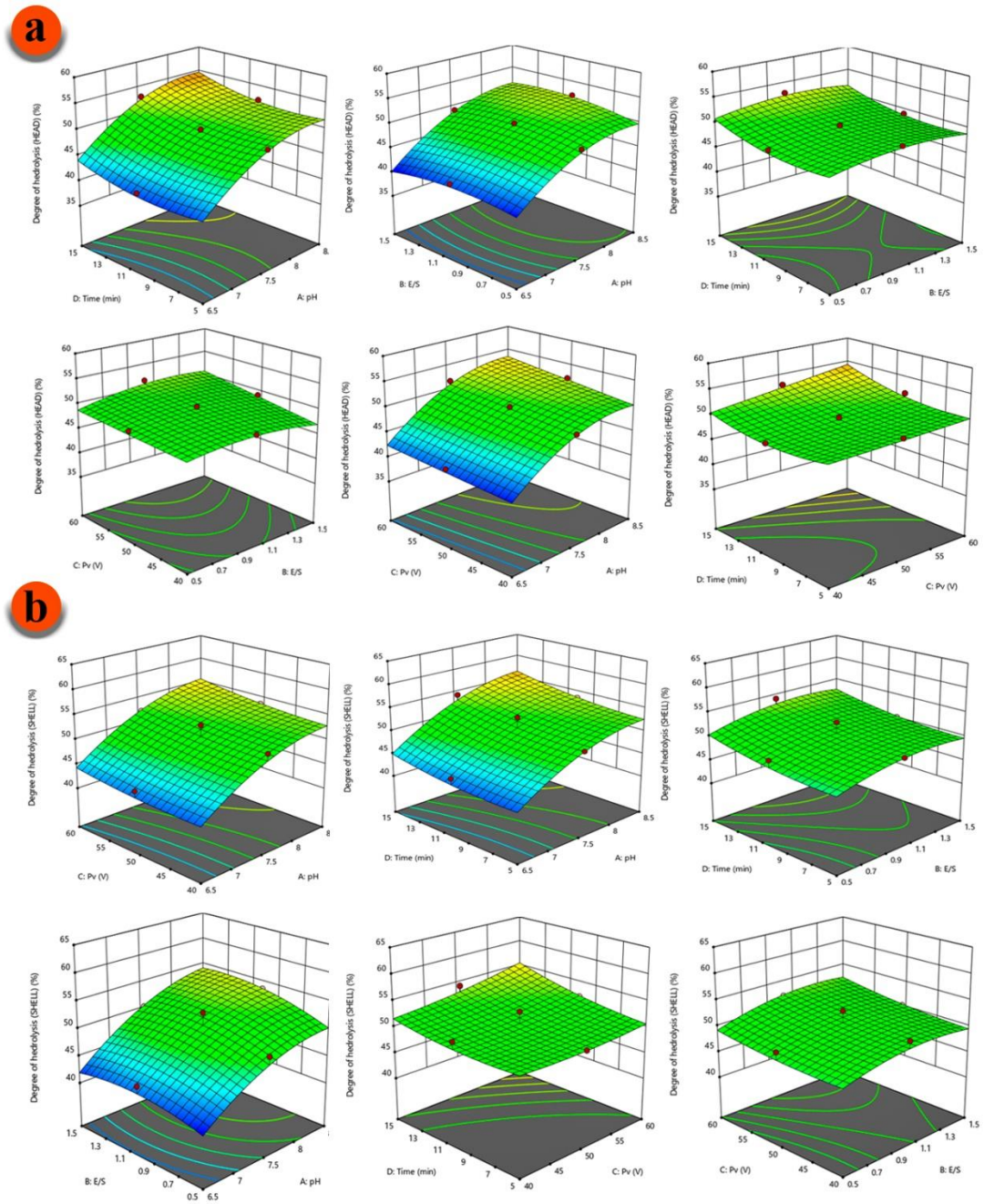
مدل تجربی تناسب خوبی با داده‌های تجربی نشان داد، زیرا ضریب تعیین Radj2 برای درجه هیدرولیز سر، درجه هیدرولیز پوست، پروتئین هیدرولیزشده سر و پروتئین هیدرولیز شده پوست به‌ترتیب ۰/۹۷۸۶، ۰/۹۳۳۰، ۰/۹۱۳۰ و ۰/۹۴۸۲ بود که نشانگر تغییرپذیری در محدوده مقادیر مورد مطالعه است که می تواند با مدل، توضیح داده شود. اثر متقابل متغیرهای مستقل شامل زمان، پلاسمای سرد، pH و نسبت آنزیم به سوبسترا بر درصد درجه هیدرولیز سر و پوست به‌دست آمده از میگوی موزی در شکل های ۱ و ۲ نشان داده شده است. افزایش نسبت آنزیم به سوبسترا و پلاسمای سرد، تاثیری در افزایش درجه هیدرولیز پروتئین حاصله از بخش سر میگوی موزی نداشت. با توجه به شکل ۱، اثر متقابل pH با میزان ولتاژ پلاسمای سرد و آنزیم به سوبسترا نسبت به درجه هیدرولیز مستقیم است و با افزایش آنها درجه هیدرولیز در بخش سر و پوست افزایش می‌یابد. بیشترین درجه هیدولیز بخش سر میگو به میزان حدود ۵۷/۴۷ درصد در شرایط پلاسمای سرد با ولتاژ ۶۰، نسبت آنزیم به سوبسترا ۱/۵، زمان ۱۵ دقیقه و pH=8.5 به‌دست آمد. شرایط درجه دوم X_1^2 وX_4^2 تأثیرات قابل‌توجهی ($p<0.0001$) بر میزان درجه هیدرولیز و پروتئین به‌دست آمده نشان داد درحالی‌که X_3^2 به طور قابل‌توجهی ($p<0.05$) فقط درجه هیدرولیز را تحت تأثیر قرار داد. با توجه به شکل ۱، pH بیشترین انحنا را در نمودارهای کانتور و یک تعامل مثبت قوی با سایر عوامل نیز ایجاد می‌کند. با توجه به شکل ۲، تاثیر متغیر مستقل pH بر میزان پروتئین هیدرولیزشده سر میگو موثرتر از سایر شاخص‌هاست. با افزایش pH نسبت به زمان، نسبت آنزیم به سوبسترا و میزان ولتاژ پلاسمای سرد بر میزان پروتئین هیدرولیزشده از بخش سر میگو افزوده گردید. زمان، عامل تاثیرگذار بعدی بود. بیشترین میزان پروتئین هیدرولیز شده از بخش سر میگو در زمان ۱۵ دقیقه مشاهده شد. اثر pH و زمان بر میزان پروتئین هیدرولیزشده از بخش سر میگوی موزی معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). حداکثر مقدار پیش‌بینی‌شده با سطح محدود شده در شکل ۲ نشان داده شده است که تعامل نسبتاً معنی‌داری بین pH و زمان مربوط به سطح پاسخ با نتایج ANOVA برای مدل درجه دوم مطابقت دارد. همچنین اثر متقابل pH با زمان، پلاسمای سرد و نسبت آنزیم به سوبسترا توانست بر افزایش میزان پروتئین هیدرولیزشده تاثیر بگذارد. میزان افزایش آنزیم به سوبسترا با میزان ولتاژ پلاسمای سرد و زمان نتوانست سبب افزایش میزان پروتئین هیدرولیزشده پوست و سر میگوی موزی شود.

نمودار پارتو استاندارد شده، به عنوان یک روش گرافیکی برای ارزیابی تأثیر متغیرهای مستقل مورد استفاده قرار گرفت که تأثیر آماری از مقدار t را نشان داد که می‌تواند اثر عوامل مهم را بیان کند. نتایج نشان داد که pH و زمان مهم‌ترین شاخص‌ها بر درجه هیدرولیز سر و پوست میگوی موزی بودند، زیرا اثرات آنها بالاتر از حد t-value، ۲/۱۳ بود و پس از آن میزان پلاسمای سرد قرار داشت (شکل ۳ a و b). pH بیشترین عامل موثر بر درجه هیدرولیز و میزان پروتئین هیدرولیز شده به دست آمده از ضایعات سر و پوست میگوی موزی بود (شکل ۳-c و d)، به این دلیل که اثر آن به مراتب بالاتر از حد t-value۲/۱۳ بود و اختلاف معنی‌دار با سایر شاخص‌ها داشت ($p<۰/۰۵$). اثر میزان پلاسمای سرد، کمتر از t-value ۲/۱۳ در مورد درجه هیدرولیز پوست و میزان پروتئین به‌دست‌آمده از سر و پوست داشت و کمترین تاثیر را در بین عوامل مستقل نشان داد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده

فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH پروتئین هیدرولیزشده پوست و سر میگوی ببری موزی (تیمارهای بهینه)، در شکل ۴-a نشان داده شده است. همان‌طوری‌که نتایج نشان می‌دهند، فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH با افزایش غلظت افزایش یافت ($p<$ ۰/۰۵). فعالیت DPPH پروتئین هیدرولیزشده بخش سر در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، با بیشترین مقدار، ۱/۱۱±۷۹/۱۱ درصد بود. در مورد پروتئین هیدرولیزشده پوست نیز بالاترین مقدار در ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر، ۱/۱۹ ± ۹۱/۲۳ درصد بود. مقادیر IC_{50} برای DPPH ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد. نتایج نشان داد که فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH پروتئین پوست و سر میگو ببری سبز وابسته به غلظت بود.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

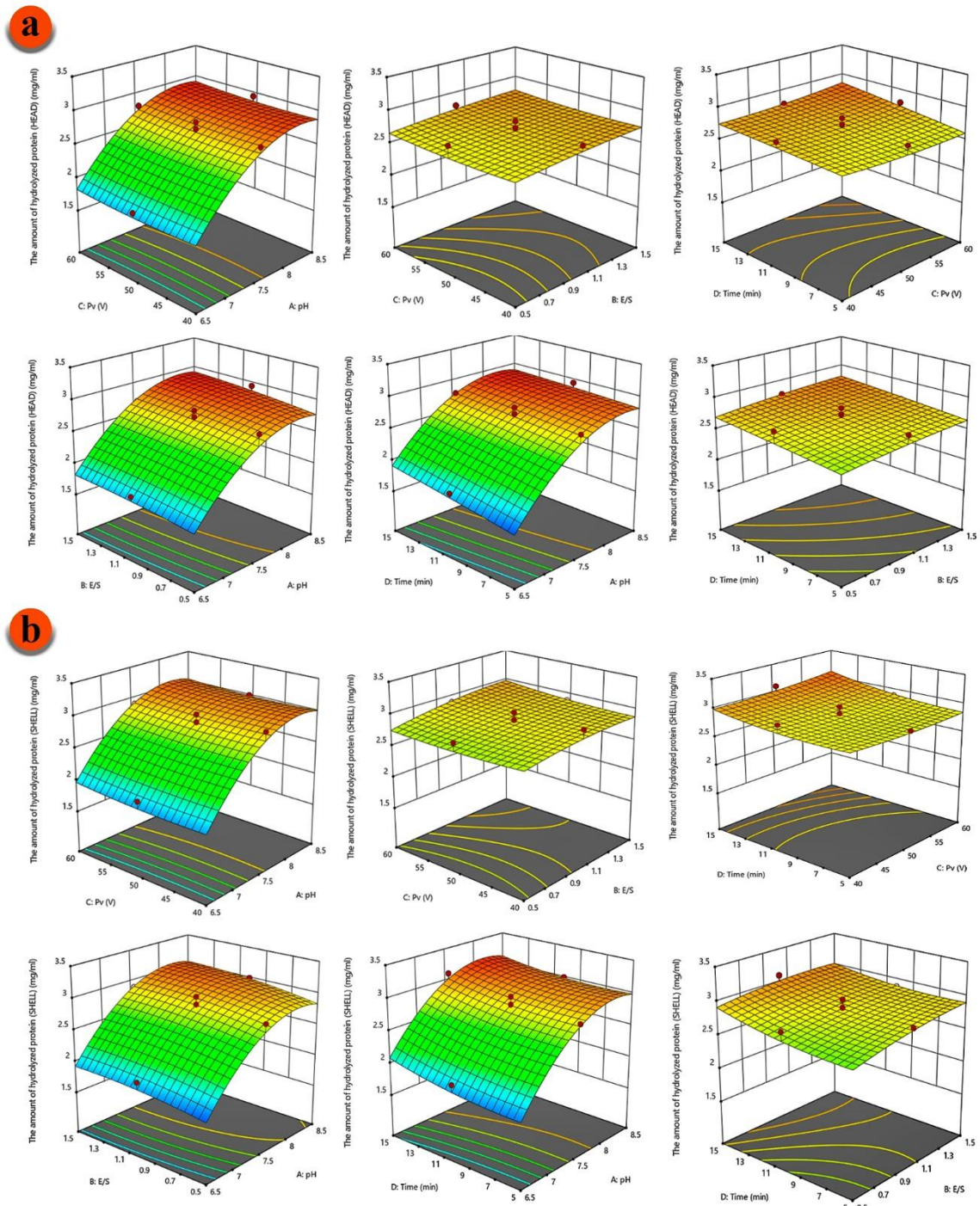


شکل ۱: نمودارهای سطح پاسخ اثرات متقابل زمان، pH، پلاسمای سرد و نسبت آنزیم به سوبسترا بر درصد درجه هیدرولیز سر (a) و پوست (b) میگو با استفاده از آنزیم پاپائین

Figure 1: Response surface plots of the interaction effects of time, pH, cold plasma, and enzyme-to-substrate ratio on the percentage degree of hydrolysis of shrimp head (a) and skin (b) using papain enzyme.

بالاترین فعالیت مهار رادیکال DPPH (۲/۲۱±۹۳/۱۳ درصد) به‌وسیله BHA و پس از آن پروتئین هیدرولیزشده پوست و سر قرار داشت. قدرت آنتی‌اکسیدانی کاهش یون فریک به‌وسیله پروتئین هیدرولیزشده سر و پوست میگوی موزی در غلظت‌های مختلف بر حسب µmol TE/mL در شکل ۴-b نشان داده شده است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت پروتئین هیدرولیزشده زیاد شد (p<۰/۰۵).

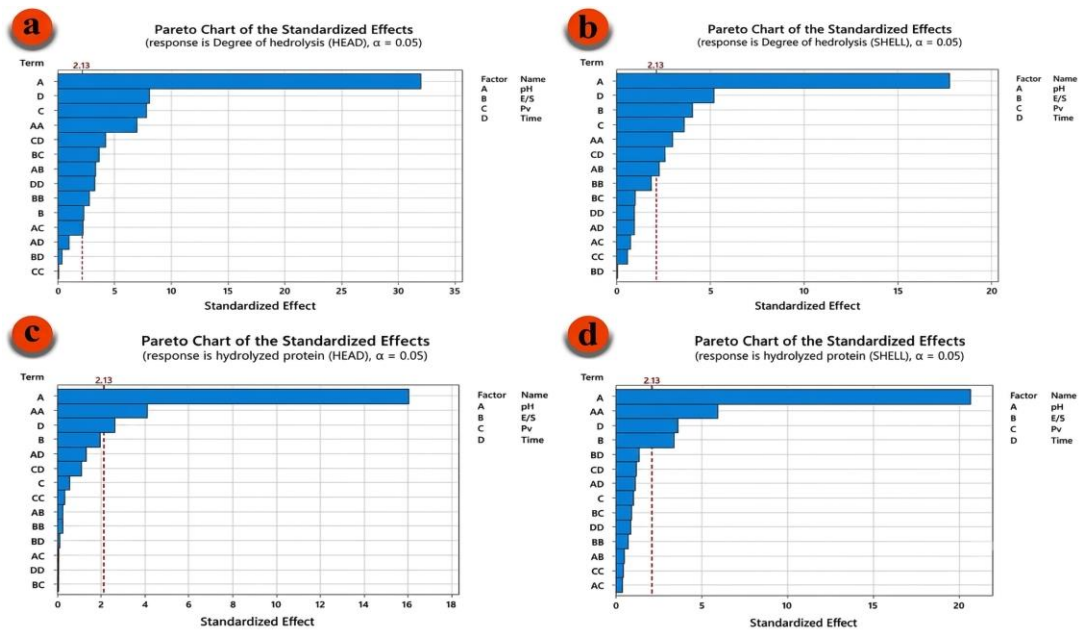
[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]



شکل ۲: نمودارهای سطح پاسخ اثرات متقابل زمان، pH، پلاسمای سرد و نسبت آنزیم به سوبسترا بر میزان پروتئین هیدرولیزشده سر (a) و پوست (b) میگو با استفاده از آنزیم پاپائین

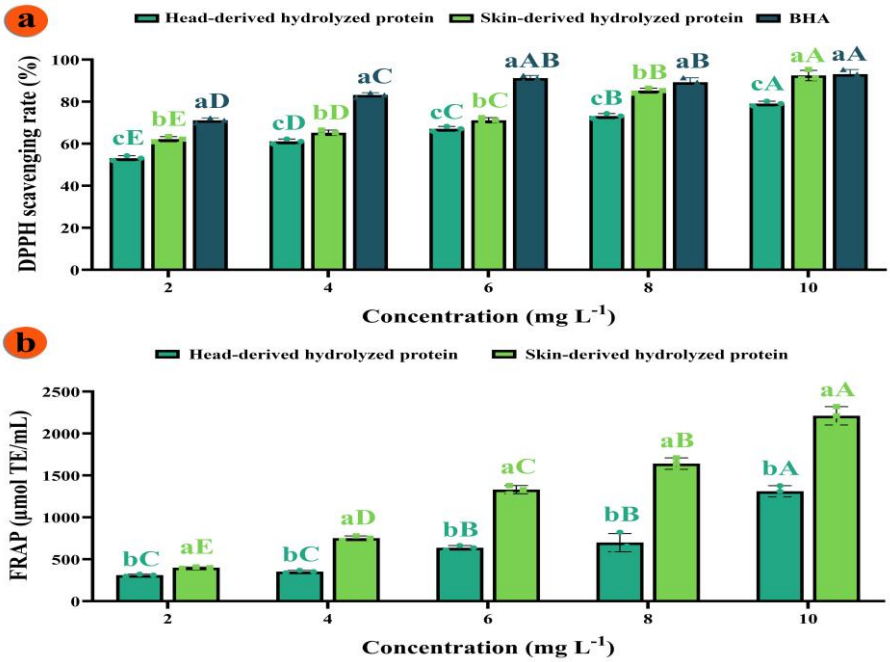
Figure 2: Response surface plots of the interaction effects of time, pH, cold plasma, and enzyme-to-substrate ratio on the amount of hydrolyzed protein in shrimp head (a) and skin (b) using papain enzyme.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]



شکل ۳: نمودار پارتو تأثیر استانداردشده متغیرهای مستقل بر درجه هیدرولیز (**a**: سر، **b**: پوست) و میزان پروتئین هیدرولیزشده (**c**: سر، **d**: پوست) میگوی موزی. حروف **A**، **B**، **C** و **D** به‌ترتیب نشان‌دهنده **pH**، نسبت آنزیم به سوبسترا، **Pv** و زمان و ترکیب حروف بیانگر اثرات متقابل یا درجه دوم است. خط‌چین قرمز حد بحرانی آزمون **t** در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ و طول میله‌ها قدر مطلق اثر استانداردشده را نشان می‌دهد.

Figure 3: Pareto diagram of the standardized effect of independent variables on the degree of hydrolysis (a: head, b: skin) and the amount of hydrolyzed protein (c: head, d: skin) of Banana shrimp. The letters A, B, C, and D represent pH, enzyme to substrate ratio, Pv, and time, respectively, while letter combinations denote interaction or quadratic effects. The red dashed line indicates the critical *t*-value at a significance level of 0.05, and the bar lengths represent the absolute standardized effects.



شکل ۴: فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده سر و پوست میگوی موزی. حروف کوچک متفاوت، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف در غلظت مشابه است. حروف بزرگ متفاوت، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف در یک تیمار است (p<۰/۰۵).

Figure 4: Antioxidant activity of hydrolyzed protein from Banana shrimp head and skin. Different lowercase letters indicate significant differences between samples at the same concentration (p<0.05). Different uppercase letters indicate significant differences between different concentrations within the same sample (p<0.05).

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

در غلظت‌های متفاوت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده پوست میگوی موزی بیشتر از قسمت سر بود ($p<۰/۰۵$).

در جدول ۵ فعالیت ضدمیکروبی پروتئین هیدرولیزشده ضایعات میگوی موزی مربوط به بخش‌های سر و پوست نشان داده شده است. میزان ناحیه بازدارندگی مربوط به سویه‌های مطالعه از ۱۱< الی ۲۰ میلی‌متر متفاوت بود. نتایج فعالیت ضدمیکروبی پروتئین هیدرولیزشده پوست و سر نشان داد که بیشترین فعالیت بازدارندگی مربوط غلظت ۴۰ میلی‌گرم پروتئین هیدرولیزشده پوست میگو بود که بر *Pseudomonas aeruginosa* تاثیر گذاشت. غلظت ۲۰ میلی‌گرم هیچ فعالیت ضدمیکروبی نداشت.

جدول ۵: فعالیت ضدمیکروبی پروتئین هیدرولیزشده بخش سر و پوست میگوی موزی

Table 5: Antimicrobial activity of hydrolyzed protein from the head and skin of Banana shrimp

Concentration (mg/ L)	A	B	C
head		**Inhibition zone (mm)**	
Escherichia coli			
Pseudomonas aeruginosa		+	++
Bacillus subtilis			+
Salmonella typhi			
Candida albicans			
skin			
Escherichia coli			
Pseudomonas aeruginosa		++	+++
Bacillus subtilis		+	++
Salmonella typhi			
Candida albicans			

A: ۲۰ میلی‌گرم؛ B: ۳۰ میلی‌گرم؛ C: ۴۰ میلی‌گرم. هاله‌های عدم رشد: +++: ۲۰ تا ۱۶ میلی‌متر؛ ++: ۱۵-۱۱ میلی‌متر؛ +: <۱۱ میلی‌متر و -: بدون فعالیت

بحث

طرح BBD برای تعیین درجه هیدرولیز با استفاده از آنزیم پاپائین برای تولید پروتئین هیدرولیز شده استفاده شد. آزمایش‌های تولید پروتئین هیدرولیز شده برای ارزیابی اثرات متغیرها در ۴ سطح انجام شد. انتخاب متغیرهای مستقل شامل زمان، pH و نسبت آنزیم به سوبسترا به این دلیل بود که این متغیرها به طور قابل‌توجهی بر ترکیب پپتید پروتئین هیدرولیز شده تأثیر می‌گذارند و بهینه‌سازی آنها برای دستیابی به درجه مطلوب هیدرولیز ضروری است. BBD به دو دلیل اصلی: ۱) به‌دست آوردن اطلاعات گسترده در حین انجام تعداد محدودی از آزمایش‌ها و ۲) تجزیه‌وتحلیل اثرات تعاملی بین متغیرهای مستقل و متغیر پاسخ، برای بهینه‌سازی متغیرهای مستقل انتخاب شد (Dayakar *et al*., 2024). به‌علاوه، BBD ایجاب می‌کند که تمام مقادیر عوامل مستقل با سه سطح (۱-، ۰ و ۱+) همسو باشند و فواصل بین آنها مساوی باشد (Dayakar *et al*., 2025)، الزامی که در مطالعه حاضر رعایت شد. یک BBD سه سطحی در مطالعه روش‌شناسی سطح پاسخ با ایجاد یک معادله برای تعیین شرایط موثر برای بالاترین درجه هیدرولیز اعمال شد. نتایج نشان داد این مدل می‌تواند درصد درجه هیدرولیز پروتئین‌های حاصله از ضایعات در ترکیب‌های مختلف شاخص‌های تجربی مؤثر بر هیدرولیز را تخمین بزند. نتایج نشان داد که بیشترین میزان درجه هیدرولیز از تاثیر pH- زمان به میزان ۵۴/۹۱ درصد از بخش سر و برای بخش پوست نیز ۵۵/۰۱ درصد حاصل گردید. در مطالعه‌ای نشان داده شد که شرایط بهینه برای بالاترین درجه هیدرولیز به میزان ۷۳/۹۱ درصد طی ۱ ساعت از زمان هیدرولیز و غلظت آنزیم ۱ درصد به‌دست آمد. یافته‌های این مطالعه نشان داد که دما تأثیر معنی‌داری بر مقدار درجه هیدرولیز دارد، اما مقدار آنزیم تأثیر معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$) (Korkmaz and Tokur, 2022). شاخص pH به طور معنی‌داری توانست میزان پروتئین

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

هیدرولیزشده را تحت تاثیر قرار دهد ($p<۰/۰۵$) به‌طوری‌که بیشترین میزان پروتئین هیدرولیزشده تحت تاثیر شاخص‌های pH – زمان (۲/۹۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، pH – پلاسمای سرد (۲/۹۶ میلی‌گرم بر میلی لیتر) و pH- آنزیم (۲/۹۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) قرار گرفت ($p<۰/۰۵$). مقادیر R^2 به‌دست‌آمده برای درجه هیدرولیز سر و پوست به‌ترتیب ۰/۹۶ و ۰/۸۹ و برای پروتئین هیدرولیزشده به‌ترتیب ۰/۸۱ و ۰/۹۲ بود. بر اساس این مقادیر، واضح است که مدل انتخابی به طور مؤثر روابط بین متغیرهای انتخابی را نشان می‌دهد. در طول هیدرولیز پروتئین، پیوندهای کووالانسی بین کمپلکس‌های کیتین به زنجیره‌های پپتیدی و اسیدآمینه تجزیه می‌شوند (Dhanabalan *et al*., 2017). اثربخشی حذف پروتئین با استفاده از آنزیم‌ها در تحقیقات قبلی تایید شده است (Nguyen *et al*., 2021; Nikoo *et al*., 2022). در مطالعه حاضر، بهترین شرایط برای به دست آمدن بیشترین پروتئین هیدرولیزشده از ضایعات میگوی موزی در زمان ۱۵ دقیقه، پلاسمای سرد ۶۰ ولت، غلظت آنزیم به سوبسترا ۱/۵ درصد و pH=۸/۵ حاصل گردید. بهینه شرایط برای بیشترین درجه پروتئین‌زدایی از ضایعات میگوی وانامی pH=۷/۱۳، نسبت آنزیم به سوبسترا ۲ گرم بر ۱۰۰ گرم و دمای ۵۳/۱۳ درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد (Dayakar *et al*., 2024). در مطالعه‌ای دیگر، با استفاده از آنزیم پروتئاز برای به‌دست‌آوردن درجه پروتئین‌زدایی از ضایعات میگوی *Metapenaeus monoceros*، ۹۴ درصد پروتئین‌زدایی پیش‌بینی‌شده و ۸۸ درصد پروتئین‌زدایی تجربی را مشاهده کردند (Nikoo *et al*., 2022). تولید پپتیدهای زیست‌فعال با بهینه‌سازی فرایند هیدرولیز آنزیمی، از ضایعات فلس تیلاپیای قرمز با استفاده از آلکالاز بررسی شد. بیشترین درجه هیدرولیز در دمای ۵۸/۵ درجه سانتی‌گراد، میزان سوبسترا ۴۵ گرم بر لیتر، میزان آنزیم ۴/۴۲ گرم بر لیتر و pH=۸/۱ به‌دست آمد (Sierra-Lopera and Zapata-Montoya, 2021). خواص عملکردی و زیست‌فعال پروتئین هیدرولیزشده ماهی *Larimichthys polyactis* تحت تأثیر آب فعال شده با پلاسما و انواع آنزیم‌ها بررسی شد (Esua *et al*., 2022). نتایج آنها نشان داد که نوع آنزیم و روش هیدرولیز بر میزان پروتئین هیدرولیز شده و خصوصیات عملکردی آن تاثیر دارد. بهینه‌سازی فرایند پروتئین هیدرولیزشده از ضایعات میگوی سفید سرتیز (*Metapenaeus affinis*) انجام شد. بیشینه درجه هیدرولیز پروتئین سر میگو به میزان ۷۴/۴۴ درصد، در زمان ۹۵ دقیقه، دمای ۶۱/۵۱ درجه سانتی‌گراد و غلظت آنزیم ۲/۲۳ به‌دست آمد (Tohidi Nasab and Roomiani, 2023). هیدرولیز پروتئینی ضایعات سر میگو (*Marsupenaeus japonicus*) نشان داد که شرایط هیدرولیز بر محصول نهایی بسیار موثر است. آنزیم پاپائین می‌تواند پیوندهای پپتیدی را کاتالیز و اسیدآمینه لوسین و گلیسین را آزاد کند (Nikoo *et al*., 2022; Walter and Frieden, 1963). در مطالعه حاضر، میزان درجه هیدرولیز با افزایش آنزیم به سوبسترا تا ۱/۵ درصد افزایش یافت ($p<۰/۰۵$) (بدون در نظر گرفتن پیش‌تیمار پلاسمای‌سرد)، ولی بعد از آن زیاد نشد که در مطالعه Gautam و همکاران (۲۰۲۵) نیز دیده شد و مطالعه فعلی با مطالعه قبلی همخوانی داشت. در مطالعه آنها با افزایش غلظت دو آنزیم پاپائین و آلکالاز بدون پیش‌تیمار اولتراسونیک افزایش یافت به‌جز آلکالاز که درجه هیدرولیز یکسانی را در سطوح ۲ و ۳ درصد نشان داد ($p>۰/۰۵$) (Gautam *et al*., 2025). این موضوع می‌تواند با کاهش سوبسترا یا مهار آنزیم توسط محصول مرتبط باشد (Nikoo *et al*., 2021). در واقع، پیوندهای پپتیدی در حضور غلظت‌های بالاتر آنزیم‌ها، احتمال بیشتری برای شکسته‌شدن دارند. یادآور می‌شود، فناوری‌های نوآورانه می‌توانند برای عملیات تکمیلی هیدرولیز به منظور به‌دست‌آوردن پپتیدهای زیست‌فعال به‌کار گرفته شوند. این موضوع می‌تواند دلیل احتمالی معنی‌دار نبودن فعالیت‌های پیش‌تیمار هیدرولیز آنزیمی باشد. به‌علاوه، در تکنولوژی فراصوت، امواج بسیار کم و بسیار زیاد، نمی‌توانند به پایداری برسند و همین امر در مورد زمان‌های عملیات بسیار کم یا طولانی نیز صدق می‌کند که ممکن است به دلیل تأثیر ناکافی انرژی در شرایط عملیات باشد. مزیت صرفه‌جویی در مصرف انرژی عمدتاً از این واقعیت ناشی می‌شود که پیش‌تیمار اولتراسونیک، تحت قدرت متوسط، نه‌تنها می‌تواند از طریق اثر کاویتاسیون، ساختارهای سلولی را به طور مؤثر از بین ببرد بلکه از افزایش شدید مصرف

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

انرژی در طول مرحله پیش‌تیمار نیز جلوگیری می‌کند و در عین حال می‌تواند انرژی بیشتری نسبت به فرایند تخلیه ولتاژ بالای پلاسمای سرد صرفه‌جویی کند (Mousavi *et al*., 2023).

هنگامی که میزان درجه هیدرولیز ضایعات میگو بین دو آنزیم آلکالاز و پاپائین مقایسه شد، آلکالاز درجه هیدرولیز بالاتری در مقایسه با پاپائین به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر نشان داد ($p<۰/۰۵$) (Gautam *et al*., 2025). به‌علاوه، پاپائین در انتهای C شکسته می‌شود و اسیدهای‌آمینه بیشتری نسبت به پپتیدها تولید می‌کند (Ozuna and León-Galván, 2017). نتیجه مشابهی مشاهده شد که در آن استفاده از آلکالاز در مقایسه با فلاورزایم، هنگام هیدرولیز پروتئین‌های عضله ماهی *Selaroides leptolepis*، به درجه هیدرولیز بالاتری منجر شد (Klompong *et al*., 2007). علاوه‌براین، وزن مولکولی پپتیدها و توزیع آنها تحت تأثیر ویژگی آنزیم و منبع پروتئین قرار می‌گیرد (Dhanabalan *et al*., 2025). در مطالعه حاضر و مطالعات مشابه، میزان آنزیم‌ها در تیمارها افزایش داده نشد تا از استفاده بیش از حد آنزیم‌ها که ممکن است هزینه تولید را افزایش دهند، جلوگیری شود. علاوه‌براین، رنگ و میزان آنزیم‌ها ممکن است بر خواص نهایی پودر پروتئین هیدرولیزشده تأثیر بگذارد (Ahmad Nadzri *et al*., 2021). مطالعات بسیارکمی بر تاثیر پلاسمای سرد به عنوان پیش‌تیمار بر فرایند هیدرولیز گزارش شده است. پلاسمای سرد به افزایش جایگاه‌های فعال پاپائین، با افزایش حلالیت و آشکارسازی گروه‌های عامل کمک می‌کند (Esua *et al*., 2022).

آنزیم‌های اختصاص‌یافته برای هیدرولیز پروتئین‌ها می‌توانند پپتیدهای زنجیره کوتاه تولید کنند که ممکن است رادیکال‌های تولیدی را از بین ببرند. در نتیجه، پپتیدهای موجود در پروتئین‌های هیدرولیزشده با درجه متفاوت ممکن است، رادیکال‌های ABTS و DPPH را به روش‌های متفاوتی از بین ببرند. پپتیدهای موجود در پروتئین‌های هیدرولیزشده معمولاً می‌توانند به عنوان دهنده H عمل کنند که رادیکال‌ها را به محصولات پایدارتر تبدیل کرده و در نهایت واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال را مهار می‌کنند (Singh *et al*., 2021). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان فعالیت مهار رادیکال DPPH بخش پوست، بیشتر از سر میگو بود. در مطالعه Gautam و همکاران (۲۰۲۵) استفاده از هیدرولیز آنزیمی پوست میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) به کمک آلکالاز و پاپائین با پیش‌تیمار اولتراسوند نشان داد که فعالیت مهار رادیکال DPPH با استفاده از پاپائین بیشتر از آلکالاز بوده، ولی میزان چلاته‌کنندگی فلزات و میزان فعالیت ABTS با استفاده از آلکالاز بیشتر از پاپائین بود که می‌تواند با کاهش سوبسترا یا مهار آنزیم به‌وسیله محصول مرتبط باشد. در سال‌های اخیر، روش‌های جدید هیدرولیز پروتئین آبزیان (هیدرولیز آنزیمی به کمک اولتراسوند، مایکروویو و هیدرولیز با فشار بالا)، ظهور کرده‌اند. این فناوری‌های جدید، استخراج سریع و کارآمد پروتئین را امکان‌پذیر می‌سازند. روش‌های فراصوت و پلاسمای سرد که روش‌های غیرحرارتی هستند، می‌توانند گروه‌های عاملی پنهان در پپتیدها را آشکار کنند و خواص بیولوژیک آنها را افزایش دهند. در فراصوت، امواج فراصوت (۱۰۰-۲۰ کیلوهرتز)، با قدرت بالا اعمال می‌شوند. هر زمان که امواج صوتی از طریق مایع منتشر می‌شوند، کاویتاسیون صوتی رخ می‌دهد و در نتیجه تغییرات فشار ایجاد می‌کند و باعث رشد، ترکیدن و دوباره رشدکردن حباب‌های بخار می‌شود. انفجار کاویتاسیون نیروی برشی موضعی بالا، فشار و دمایی ایجاد می‌کند که می‌تواند خواص شیمیایی و فیزیکی مواد غذایی را به طور چشمگیری تغییر دهد. در طول روش فراصوت، پیوندهای پپتیدی در مولکول‌های پروتئین شکسته می‌شوند و در نتیجه پپتیدهای فعال بیولوژیک آزاد می‌شوند. پس از تیمار پلاسمای سرد، محل‌های هضم پروتئین‌ها با اندازه ذرات کوچکتر تا حدی با آنزیم، راحت‌تر تشخیص داده می‌شوند و درجه هیدرولیز آنها افزایش می‌یابد (Mousavi *et al*., 2023).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده *Larimichthys polyactis* با استفاده از پیش‌تیمار اولتراسوند بیشتر از هیدرولیز آنزیمی بدون اولتراسوند بود و به ۸۸/۲۰ درصد رسید (Esua *et al*., 2022). به‌علاوه، اولتراسوند می‌تواند مولکول‌های پروتئین را از هم باز کرده و برهمکنش آنها را با سایر مولکول‌های زیستی مختل کند که

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

می‌تواند در دسترس بودن مولکول‌های پروتئین را برای آنزیم‌ها افزایش دهد و هیدرولیز آنها را تسهیل کند (Hong *et al*., 2019).

نتایج مطالعه فعلی نشان داد که برای FRAP، پروتئین هیدرولیزشده از ضایعات پوست میگوی موزی توانایی بالاتری در کاهش کمپلکس $TPTZ\text{-}Fe^{+3}$ به کمپلکس $TPTZ\text{-}Fe^{+2}$ از طریق انتقال الکترون نسبت به بخش سر داشت که ممکن است به دلیل در دسترس بودن پپتیدهای آزاد در مقادیر بالاتر در بخش پوست نسبت به سر باشد که به طور مؤثر Fe^{+3} را به همتای Fe^{+2} خود کاهش می‌دهد. در مطالعه‌ای نشان داده شد که هیدرولیز پروتئین ضایعات میگوی وانامی با آلکالاز و پاپائین دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی کاهش یون آهن به‌ترتیب به میزان ۱۸/۷ mM TE/g و ۱۲۲/۴۵ نمونه بودند (Gautam *et al*., 2025). Bah و همکاران (۲۰۱۶) و O'Sullivan و همکاران (۲۰۱۷) نیز متوجه توانایی پاپائین در کاهش Fe^{+3} به Fe^{+2} به‌وسیله پروتئین‌های هیدرولیزشده تولیدی شدند. مدت‌زمان هیدرولیز طولانی‌تر، فعالیت FRAP پروتئین‌های هیدرولیزشده را تشدید می‌کند که عمدتاً به دلیل افزایش درجه هیدرولیز است (Borrajo *et al*., 2020).

به طور کلی، فعالیت ضدباکتریایی و نحوه عملکرد پپتیدها به عوامل مختلفی مانند اندازه، توالی اسیدآمینه، بار و آبگریزی آنها، بستگی دارد (Rashidian *et al*., 2021). پپتیدهای با اندازه کوچکتر در برابر باکتری‌های گرم‌مثبت و منفی آزمایش‌شده مؤثرتر هستند (Pezeshk *et al*., 2019). پروتئین هیدرولیزشده از پوست میگو *Marsupenaeus japonicus*، با وزن مولکولی ۷۵ کیلودالتون خواص ضدباکتریایی قابل‌توجهی نشان داد (Pan *et al*., 2020). در مطالعه‌ای دیگر، فرکشن‌های با وزن مولکولی کمتر از ۳ کیلودالتون اثرات مهار بیشتری بر رشد *S. iniae* و *Y. ruckeri* داشتند. بیشترین قطر هاله عدم رشد زمانی یافت شد که غلظت بالایی ازپروتئین هیدرولیزشده استفاده شد (Rashidian *et al*., 2021) که با مطالعه حاضر مطابقت داشت. Huang و همکاران (۲۰۱۱) پپتیدهای متصل‌شونده به آهن را از پروتئین هیدرولیزشده میگو جدا کردند که ممکن است با جلوگیری از فراهمی زیستی آهن برای باکتری‌ها، رشد باکتری‌ها را مهار کنند. آهن به عنوان یک یون مهم برای رشد باکتری‌ها شناخته می‌شود (Ratledge and Dover, 2000). هیچ فعالیت مهاری برای پروتئین هیدرولیزشده میگو *Pleoticus muelleri* در برابر *E. coli*، *S. aureus* یا *P. larva* مشاهده نشد (Pereira *et al*., 2021). در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که پروتئین هیدرولیزشده میگو فعالیت ضدمیکروبی نداشت، اگرچه گلیکاسیون برخی از هیدرولیزها منجر به تشکیل مولکول‌های مختلف با ترکیبات ضدباکتریایی مختلف شد (Djellouli *et al*., 2020). در مطالعه Zhou و همکاران (۲۰۲۳) فعالیت ضدباکتریایی پروتئین هیدرولیزشده سر میگو (*Marsupenaeus japonicus*) با استفاده از چهار سویه باکتریایی بررسی شد. نتایج نشان داد که غلظت‌های بیشتر پروتئین توانست هاله عدم رشد آشکار در برابر *Staphylococcus aureus* و *Micrococcus luteus* را نشان دهد، اما هیچ فعالیت مهاری در برابر *Escherichia coli* و *Shewanella putrefaciens* نشان نداد.

در مطالعه حاضر، پروتئین هیدرولیزشده از ضایعات سر و پوست میگوی موزی تحت شرایط هیدرولیز آنزیمی با استفاده از پلاسمای سرد تولید شد. غربالگری چهار عامل مرتبط از PBD نشان داد که ولتاژ تولید پلاسما، زمان، pH و غلظت آنزیم به سوبسترا، متغیرهای مهم برای دو پاسخ درجه هیدرولیز و میزان پروتئین فرایند هیدرولیتیک بودند. بهینه‌سازی BBD نشان داد که داده‌های تجربی با موفقیت با مدل‌های نظری، برازش داده شدند و برای پیش‌بینی پاسخ‌های مذکور، ضرایب رگرسیون معنی‌دار و عدم برازش غیرمعنی‌دار، رضایت‌بخش و دقیق بودند. pH به عنوان متغیر اصلی برای همه پاسخ‌ها شناخته شد و شرایط بهینه در تیمار زمان ۱۵ دقیقه، پلاسمای سرد ۶۰ ولت، غلظت آنزیم به سوبسترا ۱/۵ درصد و pH=۸/۵ بیشترین درجه هیدرولیز و بیشترین میزان پروتئین را به‌دست آورد.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز که زمینه علمی و آزمایشگاهی این تحقیق را فراهم کردند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

منابع

Ahmad Nadzri, F.N., Tawalbeh, D. and Sarbon, N.M., 2021. Physicochemical properties and antioxidant activity of enzymatic hydrolysed chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein as influence by alcalase and papain enzyme. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 36:102131. DOI:10.1016/j.bcab.2021.102131

Altınelataman, C., Koroleva, O., Fedorova, T., Torkova, A., Lisitskaya, K., Tsentalovich, M., Kononikhin, A., Popov, I., Vasina, D., Kovalyov, L. and Celik, U., 2019. An in vitro and in silico study on the antioxidant and cell culture-based study on the chemoprotective activities of fish muscle protein hydrolysates obtained from European seabass and gilthead seabream. *Food Chemistry*, 271:724–732. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.08.004

AOAC, 2000. Official methods of analysis, 17th ed., Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA.

Bah, C.S., Carne, A., McConnell, M.A., Mros, S. and Bekhit, AE-DA., 2016. Production of bioactive peptide hydrolysates from deer, sheep, pig and cattle red blood cell fractions using plant and fungal protease preparations. *Food Chemistry*, 202:458–466. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.02.020

Borrajo, P., Pateiro, M., Gagaoua, M., Franco, D., Zhang, W. and Lorenzo, J.M., 2020. Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of porcine liver protein hydrolysates obtained using alcalase, bromelain, and papain. *Applied Sciences*, 10:7, 2290. DOI:10.3390/app10072290

Dayakar, B., Xavier, M., Ngasotter, S., Dhanabalan, V., Porayil, L., Balange, A.K. and Nayak, B.B., 2024. Extraction, optimization, and functional quality evaluation of carotenoproteins from shrimp processing side streams through enzymatic process. *Environmental Science and Pollution Research*, 31:62315-62328. DOI:10.1007/s11356-023-30232-1

Dayakar, B., Ngasotter, S., Layana, P., Balange, A.K., Nayak , B.B. and Xavier, K., 2025. Eco-friendly extraction, optimization, and characterization of carotenoprotein from shrimp waste biomass using a novel alkaline protease, Ecoenzyme (ECOENZYME–ALKP). *Biomass Conversion and Biorefinery*, 15:12655-12671. DOI:10.1007/s13399-024-06087-y

Dhanabalan, V., Xavier, M., Kannuchamy, N., Asha, K.K., Singh, C.B. and Balange, A., 2017. Effect of processing conditions on degree of hydrolysis, ACE inhibition, and antioxidant activities of protein hydrolysate from *Acetes indicus*. *Environment Science Pollution Research International*, 24 (26):21222−21232. DOI:10.1007/s11356-017-9671-4

Djellouli, M., López-Caballero, M.E., Arancibia, M.Y., Karam, N. and Martínez-Alvarez, O., 2020. Antioxidant and antimicrobial enhancement by reaction of protein hydrolysates derived from shrimp byproducts with glucosamine. *Waste and Biomass Valorization*, 11(6):2491–2505. DOI:10.1007/s12649-019-00607-y

Dhanabalan, V., Xavier, K., Chattopadhyay, K., Asha, K.K., Balange, A.K., Murthy, L.N. and Nayak, BB., 2025. Effect of the

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

Conversion and Biorefinery, 15:27607-27620. DOI:10.1007/s13399-024-05637-8

Hong, G.P., Min, S.G. and Jo, Y.J., 2019. Anti-oxidative and anti-aging activities of porcine by-product collagen hydrolysates produced by commercial proteases: effect of hydrolysis and ultrafiltration. *Molecules*, 24(6):1104.DOI:10.3390/molecules24061104

Huang, G., Ren, Z. and Jiang, J., 2011. Separation of iron-binding peptides from shrimp processing by-products hydrolysates. *Food and Bioprocess Technology*, 4(8):1527–1532. DOI:10.1007/s11947-010-0416-3

Hu, Y.D., Xi, Q.H., Kong, J., Zhao, Y.Q., Chi, C.F. and Wang, B., 2023. Angiotensin-I-converting enzyme (ACE)-inhibitory peptides from the collagens of monkfish (*Lophius litulon*) swim bladders: Isolation, characterization, molecular docking analysis and activity evaluation. *Marine Drugs*, 21(10):516. DOI:10.3390/md21100516.

Iranian Fisheries Organization, 2024. Statistical Yearbook of Fisheries 2024. Iranian Fisheries Organization, Iran. 64 P. (In Persian)

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*, 102:1317–1327. DOI:10.1016/j.foodchem.2006.07.016

Korkmaz, K. and Tokur, B., 2022. Optimization of hydrolysis conditions for the type of enzyme and degree of hydrolysis on the antioxidant properties of paste shrimp protein hydrolysates prepared by varying in vitro enzymatic process. *ACS Food Science & Technology*, 5:1124-1131. DOI:10.1021/acsfoodscitech.4c00922

Ekezie, F.G.C., Sun, D.W. and Cheng, J.H., 2019. Altering the IgE binding capacity of king prawn (*Litopenaeus vannamei*) tropomyosin through conformational changes induced by cold argon-plasma jet. *Food Chemistry*, 300:125143. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.125143

Esua, O.J., Sun, D.W., Cheng, J.H., Wang, H. and Lv, M., 2022. Functional and bioactive properties of *Larimichthys polyactis* protein hydrolysates as influenced by plasma functionalized water-ultrasound hybrid treatments and enzyme types. *Ultrasonics Sonochemistry*, 86:106023. DOI:10.1016/j.ultsonch.2022.106023

Faleh Ali, A., Roomiani, L. and Tadayoni, M., 2025. Bioactive molecules carotenoprotein: generated from *Penaeus semisulcatus* shrimp waste. *Research and Innovation Food Science and Technology*, 14:105-112. DOI:10.22101/JRIFST.2025.452100.1559

FAO, 2024. The state of world fisheries and aquaculture, La Transformacion ´ Azul En Accion. FAO, Rome, Italy. 278 P.

Gautam, AR., Benjakul, S., Mittal, A., Singh, P. and Singh, A., 2025. Ultrasonication-assisted enzymatic hydrolysis of shrimp shell protein isolate: characterization, antioxidant, and functional properties. *Biomass*

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

Fante, V.F., Brenag, J.N.N., Bona, E., Casarin, P. and Arcain, A.A.D., 2026. Enzymatic hydrolysis and characterization of protein concentrate obtained from mechanically separated meat of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Food Science*, 91: e70799. DOI:10.1111/1750-3841.70799.

Mousavi, B., Benjakul, S., Hassani, G., Pashangeh, S. and Ghaderi, S., 2023. Enhancement of in vitro cholesterol-lowering and anti-diabetic activities of gluten hydrolysate prepared using kiwifruit protease as affected by ultrasound and atmospheric cold plasma post-treatments. *Food Measurement and Characterization*, 17:6268–6280. DOI:10.1007/s11694-023-02118-w.

Nguyen, N.V., Hai, P.D., My, V.T.M., Men, D.T., Trung, L.D. and Bavor, H.J., 2021. Improving product added-value from shrimp (*Litopenaeus vannamei*) waste by using enzymatic hydrolysis and response surface methodology. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 30:880-892. DOI:10.1080/10498850.2021.1949770

Nikoo, M., Xu, X., Regenstein, J.M. and Noori, F., 2021. Autolysis of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing by-products: enzymatic activities, lipid and protein oxidation, and antioxidant activity of hydrolysates. *Food Biosciences*, 39:100844. DOI:10.1016/j.fbio.2020.100844

Nikoo, M., Benjakul, S. and Ahmadi Gavlighi, H., 2022. Protein hydrolysates derived from aquaculture and marine byproducts through autolytic hydrolysis. *Comprehensive Reviews* production of protein hydrolysates from fish wastes using response surface methodology. *Food Bioscience*, 45:101312. DOI:10.1016/j.fbio.2021.101312

Li, Z., Wang, J., Zheng, B. and Guo, Z., 2020. Impact of combined ultrasound-microwave treatment on structural and functional properties of golden threadfin bream (*Nemipterus virgatus*) myofibrillar proteins and hydrolysates. *Ultrasonics Sonochemistry*, 65:105063. DOI:10.1016/j.ultsonch.2020.105063

Liebana, C., Pereira, N.A., Fernandez-Gimenez, A.V., Granone, L.I. and Fangio, M.F., 2025. Antioxidant and functional properties of bioactive peptide fractions derived from shrimp (*Pleoticus muelleri*) waste hydrolysates. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 67:103639. DOI:10.1016/j.bcab.2025.103639

Liu, Z.W., Zhang, L.L., Zhou, Y.X., Tang, P.P., Tan, Y.C., Cheng, J.H., Mousavi Khaneghah, A. and Aadil, R.M., 2022. Characteristics of cold plasma treatment and enzymatic hydrolysis on IgG/ IgE-binding ability of β-lactoglobulin. *Food Bioscience*, 50:102161. DOI:10.1016/j.fbio.2022.102161

Lorzani, A. and Roomiani, L., 2022. Effects of condition enzymatic hydrolysis on degrees of hydrolysis and antioxidant activity of head protein of bighead (*Aristichthys nobilis*). *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 17:1. DOI:10.52547/nsft.17.1.123 (In Persian)

Mendes, P.S., Cardoso, F.A.R., Giugiolli, M.F., Wolhmuth, G., Oliveira, M.I.C.,

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

Probiotics and Antimicrobial Proteins, 11(3):1015–1022. DOI:10.1007/s12602-018-9483-y

Rashidian, G., Abedian Kenari, A. and Nikkhah, M., 2021. Evaluation of antioxidative and antibacterial activities of fractionated hydrolysate from shrimp *Litopenaeus vannamei* head wastes against aquatic pathogenic bacteria. *Aquaculture Research*, 52:3696-3704. DOI:10.1111/are.15214

Ratledge, C. and Dover, L.G., 2000. Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 54:881-941. DOI:10.1146/annurev.micro.54.1.881

Rossi, N., Grosso, C. and Delerue-Matos, C., 2024. Shrimp waste upcycling: unveiling the potential of polysaccharides, proteins, carotenoids, and fatty acids with emphasis on extraction techniques and bioactive properties. *Marine Drugs*, 22:153. DOI:10.3390/md22040153

Shahidi, F. and Saeid, A., 2025. Bioactivity of marine-derived peptides and proteins: a review. *Marine Drugs*, 23:157. DOI:10.3390/md23040157

Sheng, Y., Qiu, Y.T., Wang, Y.M., Chi, C.F. and Wang, B., 2022. Novel antioxidant collagen peptides of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) cartilages: The preparation, characterization, and cytoprotection of H_2O_2-damaged human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). *Marine Drugs*, 20 (5), 325. DOI:10.3390/md20050325.

in Food Science and Food Safety, 21(6):4872–4899. DOI:10.1111/1541-4337.13060

O'Sullivan, S.M., Lafarga, T., Hayes, M. and O'Brien, N.M., 2017. Bioactivity of bovine lung hydrolysates prepared using papain, pepsin, and alcalase. *Journal of Food Biochemistry*, 41:e12406 47. DOI:10.1111/jfbc.12406

Ozuna, C. and León-Galván, M.F., 2017. Cucurbitaceae seed protein hydrolysates as a potential source of bioactive peptides with functional properties. *BioMed Research International*, 2121878:1-16. DOI:10.1155/2017/2121878

Pan, C., Ishizaki, S., Chen, S., Hao, S., Zhou, J. and Yang, X., 2020. Purification, characterization and antibacterial activities of red color-related protein found in the shell of kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Food Chemistry*, 310:125819. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.125819

Pereira, N.A.L., Fangio, M.F., Rodriguez, Y.E., Bonadero, M.C., Harán, N.S. and Fernández-Gimenez, A.V., 2021. Characterization of liquid protein hydrolysates shrimp industry waste: Analysis of antioxidant and microbiological activity, and shelf life of final product. *Journal of Food Processing and Preservation*, 00:e15526. DOI:10.1111/jfpp.15526

Pezeshk, S., Ojagh, S.M., Rezaei, M. and Shabanpour, B., 2019. Fractionation of protein hydrolysates of fish waste using membrane ultrafiltration: Investigation of antibacterial and antioxidant activities.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

Sierra-Lopera, L.M. and Zapata-Montoya, J.E., 2021. Optimization of enzymatic hydrolysis of red tilapia scales (*Oreochromis* sp.) to obtain bioactive peptides. *Biotechnology Reports*, 30:e00611. DOI:10.1016/j.btre.2021.e00611

Singh, A., Putri, G.A.U., Mittal, A., Hong, H., Yesilsu, A.F. and Benjakul, S., 2021. Protein hydrolysate from splendid squid (*Loligo formosana*) fins: antioxidant, functional properties, and flavoring profile. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 22:6:1-11 TRJFAS21005. DOI:10.4194/TRJFAS21005

Suo, S.K., Zhao, Y.Q., Wang, Y.M., Pan, X.Y., Chi, C.F. and Wang, B., 2022. Seventeen novel angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from the protein hydrolysate of *Mytilus edulis*: Isolation, identification, molecular docking study, and protective function on HUVECs. *Journal of Food & Function*, 13 (14):7831−7846. DOI:10.1039/d2fo00275b

Tohidi Nasab, M. and Roomiani, L., 2023. Optimizing the hydrolyzed protein process from *Metapenaeus affinis* shrimp wastes. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 18(3):93-104. (In Persian)

Walter, C. and Frieden, E., 1963. The prevalence and significance of the product inhibition of enzymes. *Advances Enzymology and Related Subjects of Biochemistry*, 25:167–274. DOI:10.1002/9780470122709.ch4

Wang, W.Y., Zhao, Y.Q., Zhao, G.X., Chi, C.F. and Wang, B., 2020. Antioxidant peptides from collagen hydrolysate of red lip croaker (*Pseudosciaena polyactis*) scales: Preparation, characterization, and cytoprotective effects on H_2O_2-damaged HepG2 cells. *Marine Drugs*. 2020; 18(3):156. DOI:10.3390/md18030156.

Wang, Y.Z., Zhao, Y.Q., Wang, Y.M., Zhao, W.H., Wang, P., Chi, C.F. and Wang, B., 2021. Antioxidant peptides from Antarctic Krill (*Euphausia superba*) hydrolysate: Preparation, identification and cytoprotection on H_2O_2-induced oxidative stress. *Journal of Food & Function*, 86:104701. DOI:10.1016/j.jff.2021.104701

Wu, Y., Cheng, J.H. and Sun, D.W., 2022. Subcellular damages of *Colletotrichum asianum* and inhibition of mango anthracnose by dielectric barrier discharge plasma. *Food Chemistry*, 381:132197. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.132197

Yang, C., Zhang, T., Zhang, H., Yang, T., Qu, Z., Zhang, Y., Chen, G., Chen, Y. and Li, S., 2025. Improving the efficiency of proteolysis in soybean isolate: cold plasma treatment. *Food and Bioprocess Technology*, 18:1893–1904. DOI:10.1007/s11947-024-03576-w

Yao, H., Liu, S., Chang, R., Liu, T., Zhou, Z. and Mao, J., 2025. Changes of shrimp myofibrillar proteins hydrolyzed by Virgibacillus proteases: Structural characterization, mechanism visualization, and flavor compound formation. *Food Research International*, 200, 115470. DOI:10.1016/j.foodres.2024.115470

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]

Yathisha, U.G., Vaidya, S. and Sheshappa, M.B., 2022. Functional properties of protein hydrolyzate from ribbon fish (*Lepturacanthus savala*) as prepared by enzymatic hydrolysis. *International Journal of Food Properties*, 25:187-203. DOI:10.1080/10942912.2022.2027964

Yeganeh, S. and Reyhani Poul, S., 2021. Evaluation of functional properties of bioactive peptides produced from shrimp wastes in processing centers using protamex enzyme in different degrees of hydrolysis. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 30(5):83-97. [In Persian] DOI: 10.22092/isfj.2021.125494

Zhang, S.Y., Zhao, Y.Q., Wang, Y.M., Yang, X.R., Chi, C.F. and Wang, B., 2022. Gelatins and antioxidant peptides from Skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) skins: Purification, characterization, and cytoprotection on ultraviolet-A injured human skin fibroblasts. *Food Bioscience*, 50:102138. DOI:10.1016/j.fbio.2022.102138

Zhao, W.H., Luo, Q.B., Pan, X., Chi, C.F., Sun, K.L. and Wang, B., 2018. Preparation, identification, and activity evaluation of ten antioxidant peptides from protein hydrolysate of swim bladders of miiuy croaker (*Miichthys miiuy*). *Journal of Functional Foods*, 47:503−511. DOI:10.1016/j.jff.2018.06.014

Zou, Y., Yang, H., Li, P.P., Zhang, M.H., Zhang, X.X., Xu, W.M. and Wang, D.Y., 2019. Effect of different time of ultrasound treatment on physicochemical, thermal, and antioxidant properties of chicken plasma protein. *Poultry Science*, 98:1925–1933. DOI:10.3382/ps/pey502

Zhou, J., Han, Q., Koyama, T., and Ishizaki, S., 2023. Preparation, purification and characterization of antibacterial and ACE inhibitory peptides from head protein hydrolysate of Kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Molecules*, 28:894. DOI:10.3390/molecules28020894

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-26]