

مقاله علمی - پژوهشی:

مقایسه ترکیب تقریبی و پروفایل اسیدهای آمینه پروتئین‌های هیدرولیز شده گوشت، آرد و پساب کارخانه آرد ماهی (استیک واتر) ماهی کیلکای آنچووی

مهرداد مهدابی^۱، مهدی شمسایی مهرجان*^۱، هومن رجبی اسلامی^۱

*m.shamsaie@srbiau.ac.ir

۱- گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: مهر ۱۴۰۰

چکیده

در این مطالعه سه نوع پروتئین هیدرولیز شده حاصل از گوشت، آرد ماهی و پساب کارخانه آرد ماهی (استیک واتر) ماهی کیلکای آنچووی (*Clupeonella engrauliformis*) با استفاده از آنزیم آلکالاز (دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد، pH ۸/۵ و مدت دو ساعت) تهیه و ترکیبات تقریبی و پروفایل اسیدهای آمینه مورد ارزیابی قرار گرفت. باتوجه به نتایج، بالاترین پروتئین (۸۱/۹۷ درصد) در KMH و کمترین چربی (۰/۵۱ درصد)، پروتئین (۷۰/۳۱ درصد) و بیشترین خاکستر (۲۲/۶۴ درصد) نیز در SWH به دست آمد. تیمار SWH با ۱۷/۲۳ درصد از بالاترین درجه هیدرولیز برخوردار بود ($p < 0/05$). آسپارتیک اسید، گلوتامیک اسید و لیزین بیشترین اسیدهای آمینه دو تیمار KMH و FMH را تشکیل دادند درحالی‌که SWH غنی از گلوتامیک اسید، گلیسین و آلانین بود. بالاترین اسیدهای آمینه آب‌گریز و آروماتیک نیز در تیمار KMH مشاهده گردید ($p < 0/05$). اسید آمینه اورنیتین (۱/۴۴ درصد) فقط در SWH مشاهده شد. پروفایل اسیدهای آمینه و امتیاز شیمیایی محاسبه شده نشان داد که KMH و FMH غنی از اسیدهای آمینه ضروری بودند و نیازهای انسان، کپور، قزل‌آلا، تیلاپیا و میگوی ببری را پوشش می‌دهند درحالی‌که SWH تنها نیازهای قزل‌آلا را به طور کامل برآورده ساخته و برای اسیدهای آمینه متیونین، ترئونین، آرژینین و ایزولوسین برای گونه‌های آبی پرورشی محدود کننده رشد خواهد بود. با توجه به ارزش غذایی بالا و محتوای اسیدهای آمینه در KMH و FMH، می‌توان از آنها به عنوان مکمل‌های پروتئینی بهبود دهنده سلامت استفاده نمود. همچنین ترکیبات SWH نشان داد که از این پساب می‌توان محصولات با ارزش افزوده بالا تولید نمود.

لغات کلیدی: پروتئین هیدرولیز شده، کیلکای آنچووی استیک واتر، اسیدهای آمینه، آلکالاز، امتیاز شیمیایی

*نویسنده مسئول

مقدمه

ماهی کیلکا از خانواده شگ ماهیان (Clupeidae) یکی از مهم‌ترین ماهیان اقتصادی دریای خزر می‌باشد (Nelson *et al.*, 1998) که از مجموع ۳۵۵۰۹ تن صید در آبهای شمال در سال ۱۳۹۸، ۲۴۵۸۶ تن آن را کیلکا ماهیان (۶۹/۲ درصد کل صید در آبهای شمال کشور) تشکیل می‌دهد (سالنامه آماری شلات ایران، ۱۳۹۸). این ماهی به رغم ارزش غذایی بالا همانند سایر شگ ماهیان به واسطه جثه ریز، وجود تیغ‌های استخوانی ریز و متعدد، بازارپسندی پایینی نسبت به سایر ماهیان استخوانی دارد و عمدتاً صرف تولید آرد ماهی می‌گردد (Janbaksh *et al.*, 2018) در حالی که حدود ۱۰ درصد پروتئین موجود در مواد اولیه تولید آرد ماهی، در قالب استیک واتر (مایع حاصل از فرآیند پرس در تولید آرد ماهی متشکل از ذرات کوچک معلق در آب و غنی از پپتیدهای محلول، اسیدهای آمینه آزاد و تورین) عملاً به سبب تبدیل شده و با ایجاد مشکلات زیست محیطی به دور ریخته می‌شود (Bechtel, 2005; Shi *et al.*, 2019). با توجه به مطالب مذکور، بهبود کیفیت آرد ماهی و بازیابی مواد مغذی موجود در استیک واتر از دو منظر علمی و صنعتی نیز مورد توجه قرار می‌گیرد (Stone and Hardy, 1986; Wu *et al.*, 2018). از سوی دیگر، امروزه با افزایش نیاز به پروتئین‌های با منشأ آبزیان، روش هیدرولیز آنزیمی یک بیوتکنیک انتخابی برای جداسازی اجزاء مغذی و ترکیبات زیست فعال از مواد اولیه‌ای بوده که غنی از پروتئین هستند و این روش در خصوص تولید پروتئین‌های هیدرولیز شده از مواد دورریز می‌تواند با ایجاد ارزش افزوده به عنوان خوراک دام، آبزیان و حتی کود نیز به مصرف برسند (Siddik *et al.*, 2019; Gao *et al.*, 2021).

پروتئین‌های هیدرولیز شده نتیجه تجزیه آنزیمی پروتئین‌ها به اسیدهای آمینه آزاد و قطعات کوچک پپتیدی با ۲۰-۲ اسید آمینه می‌باشند و در دسترس‌ترین منبع اسیدهای آمینه برای فعالیت‌های فیزیولوژیک هستند و به واسطه خواص کاربردی به عنوان منابع پروتئینی فوق‌العاده برای حیوانات و انسان به کار می‌روند

(Guo *et al.*, 2020). از جمله خواص سودمندی که از هیدرولیزهای شیر، گندم، دانه سویا، تخم مرغ و نیز ماهیان دیده شده است، می‌توان به فاکتورهای رشد، تحریک‌کننده ایمنی، ضد میکروبی، کاهش‌دهنده فشار خون و ترکیبات ضد سرطان و ضد التهابی اشاره نمود (Yathisha *et al.*, 2018; Zamora-Sillero *et al.*, 2019; Drotningvik *et al.*, 2018). در این راستا، آنزیم‌های متعددی همچون آلکالاز، پاپائین، پیپسین، تریپسین، کیموتریپسین، پانکراتین و انواع دیگر پروتئازها برای تولید پروتئین هیدرولیز شده استفاده می‌گردد که بهترین نتایج با استفاده از آنزیم آلکالاز حاصل شده است (Mahdabi and Hosseini Shekarabi, 2018; Rivero-Pino *et al.*, 2020).

اسیدهای آمینه برای سنتز پروتئین‌ها ضروری می‌باشند و پروتئین‌های حاصله نقش‌های فیزیولوژیک حیاتی متعددی همچون پروتئین‌های ساختاری، آنزیم‌ها و ناقلین اکسیژن، ویتامین‌ها و دی‌اکسید کربن ایفاء می‌کنند و به طور مستقیم یا غیر مستقیم بر حفظ سلامت تأثیر می‌گذارند. علاوه بر اهمیت ترکیب اسیدهای آمینه در ارزش غذایی یک منبع پروتئینی، ترکیب آنها تعیین‌کننده خواص کاربردی یک ماده پروتئینی است به طوری که الیگوپپتیدهایی با خواص بیولوژیک همچون خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی و ضد میکروبی از پروتئین‌های هیدرولیزه شناسایی و بیان شده‌اند (Gao *et al.*, 2021). به طور کلی، پروتئین‌های هیدرولیز شده حاصل از ماهیان مقادیر فراوانی از اسیدهای آمینه ضروری دارند و تغییرات پروفایل اسیدهای آمینه پروتئین‌های هیدرولیز شده تحت تأثیر ماده اولیه، نوع آنزیم و شرایط هیدرولیز متغیر می‌باشد (Kleber Lorenz *et al.*, 2017; Yathisha *et al.*, 2018). از میان انبوه پژوهش‌های انجام شده بر تولید پروتئین‌های هیدرولیز شده از محصولات شیلاتی، می‌توان به مطالعه استفاده از آنزیم آلکالاز برای تولید پروتئین هیدرولیز شده عضله کوسه چانه سفید با خاصیت حذف رادیکال آزاد DPPH و خواص کاربردی مطلوب (علی‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۵)، ارزیابی شرایط بهینه شامل، زمان، درجه حرارت و میزان آنزیم برای هیدرولیز عضله ماهی

فرآورده (آرد ماهی) و ضایعات (استیک واتر) حاصله از آن در پژوهش حاضر انجام گرفت.

مواد و روش کار

تهیه مواد اولیه

در این مطالعه، سه نوع ماده اولیه برای تهیه پروتئین‌های هیدرولیز شده شامل ماهی کیلکای آنچووی (*Clupeonella engrauliformis*) تازه صیده شده از بندر انزلی (استان گیلان)، آرد ماهی و استیک واتر نیز از تعاونی گیل پودر (گیلان)، تهیه گردید. ماهیان و استیک واتر تازه (بیست لیتر استیک واتر از شیر دکانتور کارخانه در بطری‌های یک لیتری جمع آوری گردید)، با نسبت وزنی ۱:۲ (وزنی/وزنی) روی یخ به آزمایشگاه واحد علوم و تحقیقات (تهران) منتقل و تا انجام آزمایش‌ها و تهیه پروتئین هیدرولیز شده، در یخچال (۱±۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. آرد ماهی نیز در جای خشک و خنک نگهداری شد.

تهیه پروتئین هیدرولیز شده

قبل از شروع آزمایش، ماهی و استیک واتر در آون (Binder، آلمان) با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید (Mahdabi and Hosseini, 2018; Rivero-Pino et al., 2020). فرآیند تولید پروتئین هیدرولیز شده از گوشت ماهی کیلکا (KMH)، آرد ماهی کیلکا (KFH) و استیک واتر (SWH) براساس روش کار Mahdabi و Hosseini (Shekarabi, 2018) بود و به طور خلاصه بدین شرح بود که ۵۰ گرم (وزن خشک) از هر نمونه با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر در ارلن ۲۵۰ میلی لیتری هموژن گردید. سپس برای غیر فعال سازی آنزیم‌های دورنی به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب (Memmert، آلمان) با دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از خنک سازی آنزیم آلکالاز با فعالیت آنزیمی ۲/۴ واحد آنسون بر گرم (Novozyme، دانمارک) با نسبت آنزیم به سوبسترا معادل ۳۴ واحد آنسون بر کیلوگرم پروتئین به مخلوط اضافه گردید و هیدرولیز بر اساس گزارش‌های قبلی در

کیلکا با آنزیم پاپائین (معتدزادگان و همکاران، ۱۳۸۸)، بررسی راندمان بازیافت و درجه هیدرولیز پروتئین هیدرولیز شده امعاء و احشاء ماهی کپور سرگنده با استفاده از آنزیم‌های آلکالاز، پاپائین و پروتامکس (یاسمی و همکاران، ۱۳۹۲)، مقایسه میزان محصول، خواص فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیز شده امعاء و احشاء ماهی آزاد اقیانوس اطلس تولیدی به دو روش هیدرولیز آنزیمی با آنزیم فلاورزایم و تخمیر باکتریایی (Rajendran et al., 2018)، مقایسه هیدرولیز شیمیایی و آنزیمی امعاء و احشاء تاس ماهی ایرانی (Ovissipour et al., 2009) و بررسی خواص کاربردی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیز شده حاصل از گوشت، آرد و استیک واتر ماهی کیلکا (Mahdabi and Hosseini, 2018) اشاره نمود. همچنین Alinejad و همکاران (۲۰۱۷) اثر خشک کردن انجمادی و پاششی را بر خصوصیات فیزیکی و مکانیکی فیلم ژلاتینی تهیه شده از پروتئین هیدرولیز شده گوشت کوسه چانه سفید را مورد مطالعه قرار دادند و گزارش کردند که افزودن پروتئین‌های هیدرولیز شده صرف نظر از روش خشک کردن آنها موجب افزایش حلالیت در آب و نفوذپذیری فیلم‌های ژلاتینی در مقابل بخار آب می‌گردد. Camargo و همکاران (۲۰۲۰) فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیز شده از پوست و عضله دو گونه غالب در صید ضمنی (*Micropogonias furnieri*) و *Paralanchurus brasiliensis* را با استفاده از آنزیم‌های آلکالاز و پروتامکس گزارش کردند. -Garcia Santiago و همکاران (۲۰۲۱) نیز با موفقیت از پروتئین هیدرولیز شده ضایعات ماهی را به عنوان جزئی از کود ارگانیک برای تولید گوجه گیلاسی (*Solanum lycopersicum*) استفاده کردند.

به دنبال تکمیل مطالعات قبلی، ارزیابی ترکیبات تقریبی، پروفایل اسیدهای آمینه و امتیاز شیمیایی آنها برای انسان و آبزیان برای پروتئین‌های هیدرولیز شده ماهی کیلکا، آرد ماهی و استیک واتر، به عنوان راهکاری برای بهبود بهره‌برداری از منبع استراتژیک کیلکا ماهیان و عمده‌ترین

پپتیدی می‌باشد. مقدار متوسط pK در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد برای پپتیدها و پروتئین‌ها معادل ۷/۱ می‌باشد (Adler-Nissen, 1986).

آنالیز ترکیبات تقریبی

میزان رطوبت نمونه‌های مواد اولیه و پروتئین‌های هیدرولیز شده با قرار دادن ۲ گرم نمونه در پلیت آلومینیومی با وزن مشخص و سپس حرارت‌دهی در آن در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت به‌دست آمد. میزان پروتئین خام نیز بر اساس روش کج‌جدال و با ضریب $N=6/25$ و مقدار چربی به روش سوکسله تعیین گردید. برای به‌دست آوردن میزان خاکستر، نمونه‌های فاقد رطوبت در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد تا حصول خاکستر سفید رنگ حرارت داده شدند (AOAC, 2005).

تعیین مقدار اسیدهای آمینه

به منظور تعیین پروفایل اسیدهای آمینه، ابتدا هر نمونه به مدت ۲۴ ساعت با اسید کلریدریک ۶ نرمال در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد هیدرولیز گردید و پس از سانتریفیوژ در $12000 \times g$ در دمای محیط به مدت ۳ دقیقه (Sigma، آلمان) مشتق‌سازی با افتادی آلدئید (OPA) (سیگما) بر اساس آنالیز اسیدهای آمینه به روش فلورومتري انجام شد (Jones and Gilligan, 1983). پس از مشتق‌سازی اسیدهای آمینه با دستگاه HPLC (Young Lin، کره جنوبی) با ستون RP-C18 با ابعاد ۴۶ میلی متر \times ۱۵ سانتی متر به قطر ۵ میکرومتر (Teknokroma، اسپانیا) با جریان ۱/۳ میلی لیتر بر دقیقه و دیتکتور فلئورسانس (Lab Alliance LC305، کانادا) (ex.:۳۳۰/em.:۴۸۰) آنالیز گردید. مقدار هر اسید آمینه در مقایسه با استاندارد اسیدهای آمینه (Sigma Aldrich، آمریکا) تعیین گردید. آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام گرفت و به علت از بین رفتن اسید آمینه تریپتوفان در فرآیند هیدرولیز اسیدی، مقدار آن تعیین نگردید.

مورد شرایط مناسب برای اپتیمم فعالیت آنزیم آلکالاز در $pH=8/5$ (با افزودن سود ۰/۲ نرمال) و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت انجام پذیرفت (Ovissipour et al., 2009; Yathisha et al., 2018). سپس با قرار دادن ارلن‌ها در حمام آب با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه واکنش آنزیمی خاتمه داده شد و پس از خنک‌سازی محلول و رسیدن به دمای محیط، محلول در $8000 \times g$ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ (Sigma، آلمان) شد و بخش محلول میانی توسط خشک کن انجمادی (Christ freeze-dryer، آلمان) خشک شد و در بسته بندی‌های وکیوم شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری گردید.

محاسبه درجه هیدرولیز

هنگام هیدرولیز پروتئین در شرایط قلیایی یا خنثی، آزادسازی پروتئین‌های گروه‌های آمین آزاد منجر به کاهش pH می‌گردد و بر اساس مقدار باز مصرفی برای ثابت نگه داشتن pH، می‌توان مقدار پیوندهای پپتیدی شکسته شده را محاسبه نمود. برای این منظور از معادلات ذیل استفاده گردید (Adler-Nissen, 1986; Spellman et al., 2003; Greyling, 2017; Vazquez et al., 2020; Rivero-Pino et al., 2020):

درجه هیدرولیز $100Bn_b(1/\alpha)(1/MP)(1/h_{tot})=(\%)$
 B = مقدار باز مصرفی به میلی لیتر، N_b = نرمالیتته باز، α = متوسط درجه گسستگی گروه‌های $\alpha-NH_2$ ، MP = جرم پروتئینی که هیدرولیز شده به گرم، h_{tot} = تعداد کل پیوندهای پپتیدی در سوبسترا پروتئینی (میلی اکی والان بر گرم پروتئین) که برای پروتئین ماهی معادل meq/g است (Adler-Nissen, 1986). درجه گسستگی گروه‌های آلفا آمینو نیتروژن ($\alpha-NH_2$) با استفاده از معادله ذیل محاسبه گردید:

$$\alpha = (10^{(pH-pK)}) / (1 + 10^{(pH-pK)})$$

pK = مقدار گسستگی گروه‌های آلفا آمینو نیتروژن آزاد شده در فرآیند هیدرولیز بوده و وابسته به درجه حرارت، طول زنجیره پپتیدی و نوع اسید آمینه انتهای زنجیره

امتیاز شیمیایی

همچون کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، تیلپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) و میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) (NRC, 2011) با استفاده از فرمول ذیل محاسبه گردید (Pyz-Łukasik and Paszkiewicz, 2018):

امتیاز شیمیایی پروتئین‌های هیدرولیزه به منظور امکان‌پذیر ساختن ارزیابی ارزش غذایی آنها در مقایسه با پروفایل اسیدهای آمینه ضروری (EAA) مورد نیاز انسان (پروتئین استاندارد یا تخم مرغ) (FAO/WHO/UNU, 2007) و اسیدهای آمینه مورد نیاز آبزبان شاخصی

مقدار اسید آمینه ضروری در نمونه (gr/100gr)

$$\text{امتیاز شیمیایی} = \frac{\text{مقدار اسید آمینه ضروری در پروتئین استاندارد (gr/100gr)}}{\text{مقدار اسید آمینه ضروری در نمونه (gr/100gr)}}$$

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

و ۶۹/۷۰ درصد مشاهده گردید ($p > 0/05$) که با استیک و اثر (۶۷/۷۴ درصد) اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0/05$). بالاترین و پایین‌ترین مقدار چربی با اختلاف معنی‌دار به ترتیب در ماهی کیلکا (۲۲/۸۳ درصد) و استیک و اثر (۳/۴۵ درصد) به دست آمد ($p < 0/05$). بر خلاف میزان چربی و پروتئین، استیک و اثر بالاترین میزان خاکستر (۲۴/۴۷ درصد) را به خود اختصاص داد ($p < 0/05$). بالاترین مقدار رطوبت (بر حسب وزن تر) در استیک و اثر با ۹۵/۳۷ درصد، سپس ماهی کیلکا با ۷۴/۹۷ درصد و کمترین مقدار آن در آرد ماهی با ۵/۶۵ درصد مشاهده گردید و اختلاف معنی‌دار بین محتوای رطوبت سه ماده اولیه وجود داشت ($p < 0/05$).

کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام گرفت. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف سنجیده و پس از آن تجزیه واریانس یک طرفه داده‌ها انجام شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد تعیین گردید ($p < 0.05$). از نرم افزار SPSS ورژن ۲۴ به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

نتایج

نتایج ترکیبات تقریبی مواد اولیه مورد استفاده برای هیدرولیز بر حسب وزن خشک در جدول ۱ ارائه شده است. بیشترین مقدار پروتئین خام در ماهی کیلکا و آرد ماهی بدون اختلاف معنی‌دار به ترتیب به میزان ۷۰/۴۶

جدول ۱: ترکیبات تقریبی مواد اولیه مورد استفاده در این مطالعه.

Table 1: The proximate compositions of raw materials used for hydrolyzing studies.

تیمارها	پروتئین (%) ^۱	چربی (%) ^۱	خاکستر (%) ^۱	رطوبت (%) ^۲
ماهی کیلکا	۷۰/۴۶±۰/۴	۲۲/۸۳±۰/۰۸	۴/۴۰±۰/۰۲	۷۴/۹۷±۰/۶۴
آرد ماهی	۶۹/۷۰±۰/۲۶	۱۴/۴۲±۰/۲۵	۱۰/۱۱±۰/۲۳	۵/۶۵±۰/۳۷
استیک و اثر	۶۷/۷۴±۰/۳۱	۳/۴۵±۰/۱۰	۲۴/۴۷±۰/۳۷	۹۵/۳۷±۰/۸۵

* حروف غیر همسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد می‌باشد ($p < 0/05$).

^۱ مقادیر پروتئین، چربی و خاکستر بر حسب وزن خشک گزارش شده‌اند.

^۲ مقدار رطوبت بر حسب وزن تر گزارش شده است.

(۸۱/۹۷ درصد) و پس از آن پروتئین هیدرولیز شده آرد ماهی (FMH) و پروتئین هیدرولیز شده استیک و اثر ۴۷

با توجه به جدول ۲، پروتئین هیدرولیز شده گوشت ماهی کیلکا (KMH) دارای بالاترین محتوای پروتئین خام

معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$). بر اساس نتایج ارائه شده در شکل ۱، بالاترین درجه هیدرولیز با مقدار ۱۷/۲۳ درصد متعلق به تیمار SWH بود که با دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$) درحالی‌که بین درجه هیدرولیز تیمارهای FMH و KMH اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$).

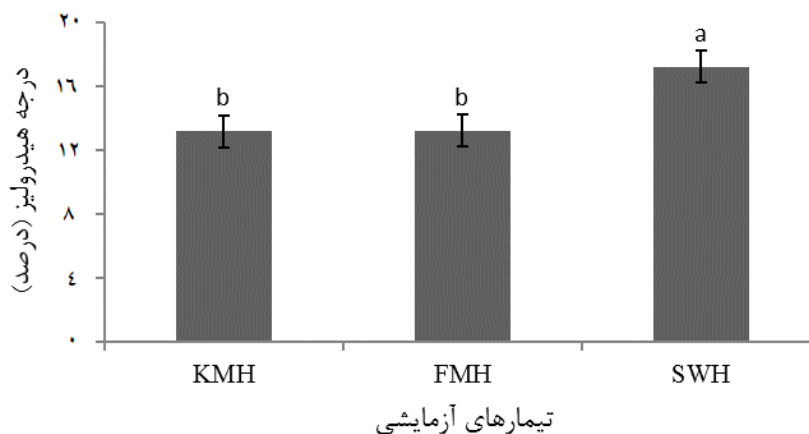
(SWH) با اختلاف معنی‌داری قرار می‌گیرند ($p < 0.05$). بالاترین میزان چربی در تیمار FMH به مقدار ۶/۱۰ درصد به‌دست آمد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). کمترین مقدار چربی و بالاترین میزان خاکستر در تیمار SWH به‌ترتیب با مقدار ۰/۵۱ و ۲۲/۶۴ درصد مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($p < 0.05$). میزان رطوبت تیمارها اختلاف

جدول ۲: ترکیبات تقریبی پروتئین‌های هیدرولیز شده گوشت (KMH)، آرد (FMH) و استیک واتر (SWH) ماهی کیلکا.

Table 2: The proximate compositions of Kilka's meat (KMH), fishmeal (FMH) and stickwater (SWH) protein hydrolysates

تیمارها	پروتئین (%)	چربی (%)	خاکستر (%)	رطوبت (%)
KMH	^a ۸۱/۹۷±۰/۱۶	^b ۴/۹۹±۰/۰۳	^c ۶/۲۶±۰/۱۴	^a ۶/۲۷±۰/۱۷
FMH	^b ۷۷/۶۴±۰/۰۸	^a ۶/۱۰±۰/۰۲	^b ۹/۸۹±۰/۲۶	^a ۶/۱۱±۰/۲۶
SWH	^c ۷۰/۳۱±۰/۲۱	^c ۰/۵۱±۰/۰۱	^a ۲۲/۶۴±۰/۲۸	^a ۵/۹۴±۰/۱۴

* حروف غیر همسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد می‌باشد ($p < 0.05$). با توجه به اینکه پروتئین‌های هیدرولیز شده با استفاده از خشک کن انجمادی خشک شده‌اند، ترکیبات تقریبی پودر حاصله ارائه شده است.



شکل ۱: درجه هیدرولیز پروتئین‌های هیدرولیز شده گوشت (KMH)، آرد (FMH) و استیک واتر (SWH) ماهی کیلکا.
Figure 1: Degree of Hydrolysis of Kilka's meat (KMH), fishmeal (FMH) and stickwater (SWH) protein hydrolysates

تیمار FMH و SWH مشاهده شد ($p < 0.05$). بالاترین مقدار اسیدهای آمینه گلوتامیک اسید، سرین و آرژینین در تیمار FMH با اختلافی معنی‌دار با سایر تیمارها مشاهده گردید ($p < 0.05$) درحالی‌که تیمار SWH به طور معنی‌داری در محتوای اسیدهای آمینه گلیسین، آلانین و اورنیتین از دو تیمار دیگر غنی‌تر بوده است ($p < 0.05$). کمترین مقادیر گلوتامیک اسید، گلیسین آلانین در تیمار

بر اساس نتایج آنالیز پروفایل اسیدهای آمینه پروتئین‌های هیدرولیزه تولیدی در جدول ۳، بالاترین مقادیر اسیدهای آمینه آسپارتیک اسید، هیستیدین، ترئونین، تیروزین، والین، فنیل آلانین، ایزولوسین، لوسین و لیزین در تیمار KMH به‌دست آمد که به‌جز مقادیر اسیدهای آمینه آسپارتیک اسید و ترئونین که فاقد اختلاف معنی‌دار با تیمار FMH بودند ($p > 0.05$), اختلاف‌های معنی‌دار با دو

مشاهده شد ($p < 0.05$). شایان ذکر است، مقدار اسید آمینه اورنیتین فقط در تیمار SWH به میزان ۱/۴۴ گرم در صد گرم پروتئین ثبت شد.

KMH و کمترین مقادیر هیستیدین، سرین، آرژینین، تیروزین، متیونین، والین، ایزولوسین، لوسین و لیزین با اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها در تیمار SWH

جدول ۳: پروفایل اسیدهای آمینه پروتئین‌های هیدرولیز شده گوشت (KMH)، آرد (FMH) و استیک واتر (SWH) ماهی کیلکا.

Table 3: The amino acid profiles of Kilka's meat (KMH), fishmeal (FMH) and stickwater (SWH) protein hydrolysates

SWH	FMH	KMH	اسید آمینه
۸/۳۳±۰/۲۰ ^b	۱۰/۴۰±۰/۱۸ ^a	۱۰/۷۶±۰/۲۱ ^a	آسپارتیک اسید (/.)
۱۸/۰۰±۰/۱۰ ^b	۱۸/۸۰±۰/۳۵ ^a	۱۶/۸۱±۰/۲۱ ^c	گلوتامیک اسید (/.)
۴/۶۸±۰/۰۴ ^c	۴/۲۱±۰/۰۷ ^b	۴/۳۳±۰/۰۱ ^a	هیستیدین (/.)
۳/۸۹±۰/۰۱ ^c	۵/۱۰±۰/۰۴ ^a	۵/۰۱±۰/۰۱ ^b	سرین (/.)
۴/۰۳±۰/۰۵ ^c	۶/۴۳±۰/۰۴ ^a	۵/۶۷±۰/۰۳ ^b	آرژینین (/.)
۱۹/۲۰±۰/۳۳ ^a	۸/۱۹±۰/۱۰ ^b	۷/۲۹±۰/۱۲ ^c	گلیسین (/.)
۳/۳۲±۰/۰۳ ^b	۴/۷۹±۰/۰۷ ^a	۴/۸۲±۰/۰۵ ^a	ترئونین (/.)
۱۲/۱۸±۰/۲۳ ^a	۸/۷۶±۰/۱۲ ^b	۷/۶۵±۰/۰۸ ^c	آلانین (/.)
۰/۹۶±۰/۰۴ ^c	۲/۵۲±۰/۰۷ ^b	۲/۹۵±۰/۰۶ ^a	تیروزین (/.)
۱/۹۰±۰/۰۵ ^c	۲/۷۸±۰/۰۵ ^b	۳/۱۳±۰/۰۶ ^a	متیونین (/.)
۲/۸۷±۰/۱۳ ^c	۴/۱۱±۰/۰۸ ^b	۴/۶۷±۰/۰۶ ^a	والین (/.)
۲/۸۳±۰/۱۰ ^b	۲/۸۴±۰/۰۴ ^b	۳/۸۲±۰/۰۷ ^a	فنیل آلانین (/.)
۲/۲۷±۰/۰۵ ^c	۳/۱۴±۰/۰۶ ^b	۳/۹۶±۰/۰۸ ^a	ایزولوسین (/.)
۴/۵۷±۰/۰۷ ^c	۷/۴۶±۰/۰۱ ^b	۸/۱۸±۰/۱۲ ^a	لوسین (/.)
۱/۴۴±۰/۰۴ ^a	. ^b	. ^b	اورنیتین (/.)
۸/۷۸±۰/۰۴ ^c	۹/۷۳±۰/۰۰ ^b	۱۰/۲۱±۰/۰۸ ^a	لیزین (/.)
۳۶/۲۱	۴۸/۰۱	۵۱/۷۴	اسیدهای آمینه ضروری ^۱
۱/۹۰	۲/۷۸	۳/۱۳	اسیدهای آمینه گوگرددار ^۲
۸/۴۷	۹/۵۷	۱۱/۱	اسیدهای آمینه آروماتیک ^۳
۲۷/۵۸	۳۱/۶۱	۳۴/۳۶	اسیدهای آمینه آبگریز ^۴
۷/۲۱	۹/۸۹	۹/۸۳	اسیدهای آمینه آبدوست ^۵

^۱ مجموع مقادیر اسیدهای آمینه ضروری (فنیل آلانین، متیونین، هیستیدین، لیزین، ایزولوسین، لوسین، ترئونین، تریپتوفان، تیروزین، آرژینین و والین)

^۲ مجموع مقادیر اسیدهای آمینه گوگرد دار (متیونین و سیستئین)

^۳ مجموع مقادیر اسیدهای آمینه آروماتیک (فنیل آلانین، هیستیدین، تریپتوفان و تیروزین)

^۴ مجموع مقادیر اسیدهای آمینه آبگریز (فنیل آلانین، پرولین، متیونین، آلانین، لوسین، ایزولوسین، تیروزین و والین)

^۵ مجموع مقادیر اسیدهای آمینه آبدوست (سرین، سیستئین، ترئونین و پرولین)

* حروف غیر همسان در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد می‌باشد ($p < 0.05$).

* مقداری برای آسپارژین، سیترولین و گلوتامین به‌دست نیامد.

FMH و در این تیمار بیشتر از تیمار SWH بود و روند یکسانی مشاهده گردید.

نتایج امتیاز شیمیایی سه نوع پروتئین هیدرولیز شده برای انسان و برخی آبزیان پرورشی رایج در دنیا شامل ماهی

در مجموع، مقادیر گروه‌های تفکیک شده اسیدهای آمینه ضروری، اسیدهای آمینه گوگرددار، اسیدهای آمینه آروماتیک، اسیدهای آمینه آبگریز و اسیدهای آمینه آبدوست به‌ترتیب در تیمار KMH، بیشتر از تیمار

کمتر از مقدار مورد نیاز است. همچنین در مورد کپور معمولی در مورد اسیدهای آمینه ایزولوسین، متیونین+ سیستئین، ترئونین، والین و آرژینین میزان پوشش مقدار مورد نیاز به ترتیب معادل ۹۰، ۹۵، ۸۵، ۷۹ و ۹۳ درصد می‌باشد. همچنین این تیمار فاقد توانایی پوشش کامل نیازهای ماهی تیلاپیا نیل به اسیدهای آمینه ایزولوسین (۷۳ درصد)، متیونین+ سیستئین (۷۶ درصد)، فنیل آلانین+ تیروزین (۹۹ درصد)، ترئونین (۸۷ درصد) و آرژینین (۹۵ درصد) می‌باشد. در مورد میگوی سیاه ببری نیز تیمار SWH به ترتیب دارای توانایی تأمین ۸۴، ۷۰، ۹۴ و ۷۶ درصد از نیاز به اسیدهای آمینه ایزولوسین، متیونین+ سیستئین، ترئونین و آرژینین می‌باشد.

کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) و میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*)، به تفکیک اسیدهای آمینه ضروری در جدول ۴ ارائه شده است. بر این اساس، تیمارهای FMH و KMH در کلیه اسیدهای آمینه بیش از ۱۰۰ درصد نیاز انسان و آبزیان شاخص را تأمین می‌کنند در حالی که تیمار SWH بیش از ۱۰۰ درصد نیاز ماهی قزل آلا به اسیدهای آمینه ضروری را پوشش می‌دهد. این پوشش برای انسان در مورد اسیدهای آمینه لوسین (۷۷ درصد)، ایزولوسین (۷۵ درصد)، متیونین+ سیستئین (۸۶ درصد)، فنیل آلانین+ تیروزین (۹۹ درصد)

جدول ۴: مقدار اسیدهای آمینه ضروری مورد نیاز انسان و آبزیان شاخص (mg/g protein) و امتیاز پروتئین‌های هیدرولیز شده.

Table 4: The essential amino acid requirements of human and key aquatic species (mg/g protein) and the chemical scores of the protein hydrolysates

اسید آمینه	نیاز کپور معمولی ^۲	نیاز قزل آلا ^۳	نیاز تیلاپیا نیل ^۴	نیاز میگو ببری سیاه ^۵	امتیاز KMH ^۶	امتیاز FMH ^۷	امتیاز SWH ^۸
هیستیدین	۱/۵	۳/۰	۲/۷	۲/۲	۱/۳۲	۱/۳۲	۲/۸۸
ایزولوسین	۲/۱	۲/۵	۳/۱	۲/۷	۱/۴۶	۱/۴۶	۲/۵۴
لوسین	۲/۱	۲/۵	۳/۱	۲/۷	۱/۴۶	۱/۴۶	۲/۵۴
لیزین	۲/۱	۲/۵	۳/۱	۲/۷	۱/۴۶	۱/۴۶	۲/۵۴
متیونین + سیستئین	۲/۲	۲/۲	۲/۵	۲/۷	۱/۴۲	۱/۴۲	۲/۵۸
فنیل آلانین + تیروزین	۳/۸	۳/۸	۳/۸	۳/۷	۱/۷۸	۱/۷۸	۳/۲۸
ترئونین	۲/۳	۳/۱	۳/۱	۳/۲	۱/۸۲	۱/۸۲	۲/۰۸
والین	۳/۱	۲/۵	۳/۱	۲/۷	۱/۴۶	۱/۴۶	۲/۵۴
آرژینین	۲/۱	۲/۵	۳/۱	۲/۷	۱/۴۶	۱/۴۶	۲/۵۴
سریوسین	۲/۱	۲/۵	۳/۱	۲/۷	۱/۴۶	۱/۴۶	۲/۵۴
تیرئوسین	۲/۱	۲/۵	۳/۱	۲/۷	۱/۴۶	۱/۴۶	۲/۵۴
پروлін	۲/۱	۲/۵	۳/۱	۲/۷	۱/۴۶	۱/۴۶	۲/۵۴
اسید آمینه	۱/۵	۳/۰	۲/۷	۲/۲	۱/۳۲	۱/۳۲	۲/۸۸
نیاز کپور معمولی ^۲	۲/۱	۲/۵	۳/۱	۲/۷	۱/۴۶	۱/۴۶	۲/۵۴
نیاز قزل آلا ^۳	۲/۱	۲/۵	۳/۱	۲/۷	۱/۴۶	۱/۴۶	۲/۵۴
نیاز تیلاپیا نیل ^۴	۲/۱	۲/۵	۳/۱	۲/۷	۱/۴۶	۱/۴۶	۲/۵۴
نیاز میگو ببری سیاه ^۵	۲/۱	۲/۵	۳/۱	۲/۷	۱/۴۶	۱/۴۶	۲/۵۴
امتیاز KMH ^۶	۲/۱	۲/۵	۳/۱	۲/۷	۱/۴۶	۱/۴۶	۲/۵۴
امتیاز FMH ^۷	۲/۱	۲/۵	۳/۱	۲/۷	۱/۴۶	۱/۴۶	۲/۵۴
امتیاز SWH ^۸	۲/۱	۲/۵	۳/۱	۲/۷	۱/۴۶	۱/۴۶	۲/۵۴

امتیاز SWH ^۱		امتیاز FMH ^۲		امتیاز KMH ^۳		نیاز میگو ببری سیاه ^۵	نیاز تیلاپیا نیل ^۲	نیاز قزل آلا ^۲	نیاز کیپور معمولی ^۲	نیاز انسان ^۱ (mg/g protein)	اسید آمینه
مونودون	تیلاپیا	قزل آلا	کیپور	انسان	مونودون						
-	-	-	-	-	-	۰/۵	۱	۰/۶	۰/۸	۰/۶	ترپتوفان
-	۱/۱۴	۱/۰۲	۰/۷۹	۱/۱۰	-	-	۲/۵	۲/۸	۳/۶	۲/۶	والین
۰/۷۶	۰/۹۵	۱/۰۰	۰/۹۳	-	۱/۲۱	۱/۵۳	۱/۶۰	۱/۴۶	۱/۴۴	۱/۵۸	آرژینین

^۱ پروفایل نیاز انسان به اسیدهای آمینه ضروری بر اساس پیشنهادهای سازمان بهداشت جهانی (WHO/FAO/UNU, 2007)

^۲ میزان نیاز ماهی کیپور معمولی به اسیدهای آمینه ضروری (NRC, 2011)

^۳ میزان نیاز ماهی قزل آلا رنگین کمان به اسیدهای آمینه ضروری (NRC, 2011)

^۴ میزان نیاز ماهی تیلاپیا نیل به اسیدهای آمینه ضروری (NRC, 2011)

^۵ میزان نیاز میگو ببری سیاه به اسیدهای آمینه ضروری (NRC, 2011)

^۶ امتیاز شیمیایی اسیدهای آمینه گوشت ماهی کیلکای هیدرولیز شده محاسبه شده بر اساس تقسیم مقدار اسید آمینه ضروری آن بر مقدار مورد نیاز هر گونه

^۷ امتیاز شیمیایی اسیدهای آمینه آرد ماهی هیدرولیز شده محاسبه شده بر اساس تقسیم مقدار اسید آمینه ضروری آن بر مقدار مورد نیاز هر گونه

^۸ امتیاز شیمیایی اسیدهای آمینه استیک واتر هیدرولیز شده محاسبه شده بر اساس تقسیم مقدار اسید آمینه ضروری آن بر مقدار مورد نیاز هر گونه

بحث

تکنولوژی هیدرولیز آنزیمی برای بازیافت پروتئین می‌تواند طیف وسیعی از فرآورده‌هایی پروتئینی با کاربری‌های گسترده در صنایع غذایی تولید نمود. بدین ترتیب، ضایعات شیلاتی که در واقع مواد خام ثانویه می‌باشند و نیز گونه‌های کمتر استفاده شده به طور بهینه به مصرف می‌رسند (Mahdabi and Hosseini Shekarabi, 2018). بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، گوشت ماهی کیلکا، آرد ماهی و استیک واتر خشک شده مواد اولیه بسیار مناسبی برای هیدرولیز آنزیمی می‌باشند. بر اساس نتایج آنالیز ترکیبات تقریبی پروتئین‌های هیدرولیز شده تولیدی در این پژوهش، میزان پروتئین به نسبت بالایی در تمام تیمارها حتی تیمار پساب (SWH) دارند. غنی بودن SWH از پروتئین به علت وجود مقادیر بالایی از پروتئین‌های محلول طی فرآیند تولید آرد ماهی پس از جداسازی بخش جامد و نامحلول (پروتئین‌های مایوفیبریل و استروما) به وسیله سانتریفیوژ می‌باشد

سالانه بیش از ۹۰ میلیون تن ماهی از صیادی حاصل می‌شود که قریب به ۳۰٪ آن صرف تولید آرد ماهی می‌شود و بیش از نیمی از بیومس باقیمانده که برای مصرف مستقیم انسانی مورد استفاده قرار نمی‌گیرد نیز به عنوان ضایعات هدر می‌رود (Krintinsson and Rasco, 2000). علاوه بر آن، با توجه به گونه، ۹۰-۱۰ درصد محصولات حاصل از پرورش آبزیان (به جز گیاهان آبی) که در سال ۲۰۱۷ بیش از ۸۰ میلیون تن بوده است، پس از فرآوری به ضایعات تبدیل می‌شود و عملاً به طور متوسط ۵۰ درصد از آن نیز به هدر می‌رود (FAO, 2019; Shahidi et al., 2019). با جمعیت رو به افزایش جهان و میزان ثابت آبی قابل صید به صورت پایدار که حداکثر ۱۰۰ میلیون تن در سال است، بهره‌برداری هوشمندانه‌تر از این منابع دریایی توأم با دوراندیشی ضروری به نظر می‌رسد. در این میان، با استفاده از

فرآیند خشک کردن خارج می‌گردد (Chalamaiah *et al.*, 2012).

میزان خاکستر تیمارهای آزمایشی ۶/۲۶-۲۲/۶۴ درصد معین شد و در تحقیقات متعدد انجام شده در این زمینه میزان خاکستر ۰/۴۵-۲۷ درصد گزارش شده است که با نتایج این مطالعه همخوانی دارد. به طور معمول، میزان بالای خاکستر پروتئین‌های هیدرولیز شده به علت استفاده از اسید و قلیا به منظور تنظیم pH در فرآیند هیدرولیز می‌باشد (Chalamaiah *et al.*, 2012). اما عامل دیگری که می‌تواند در بالا بودن میزان خاکستر SWH مشارکت داشته باشد، بالا بودن مواد معدنی محلول در استیک و اتر است (Bechtel, 2005) که ممکن است امکان استفاده از آن را در برخی صنایع محدود سازد.

بالاترین درجه هیدرولیز به میزان ۱۷/۲۳ درصد در SWH به دست آمده است که اختلاف معنی‌داری با دو تیمار دیگر داشت ($p < 0.05$) اما درجه هیدرولیز تیمارهای KMH و FMH فاقد اختلاف معنی‌دار بودند ($p > 0.05$). فرآیند چربی‌گیری پیش از فرآیند هیدرولیز یکی از راه‌کارهای اثبات شده برای افزایش گستردگی هیدرولیز و در نتیجه، دستیابی به درجه هیدرولیز بالاتر می‌باشد (Thiansilakul *et al.*, 2007; Slizyte *et al.*, 2009). بنابراین، میزان چربی پایین‌تر استیک و اتر (۳/۴۵ درصد) نسبت به گوشت ماهی کیلکا (۲۲/۸۳ درصد) و آرد ماهی کیلکا (۱۴/۴۲ درصد) می‌تواند بالاتر بودن درجه هیدرولیز SWH را توجیه کند. به طور معمول بهترین خواص کاربردی در محدوده درجه هیدرولیز ۱۰-۲۵ درصد مشاهده می‌شود و آنزیم آلکالاز برای هیدرولیز کمتر از ۲۵ درصد ایده‌آل است (Kristinsson and Rasco, 2000). لذا، انتظار می‌رود سه نوع هیدرولیز تولیدی در این تحقیق دارای خواص کاربردی مطلوبی باشند.

پروتئین‌های هیدرولیز شده تولیدی در این مطالعه غنی از اسیدهای آمینه گلوتامیک اسید، آسپارتیک اسید، لیزین، لوسین، آلانین، گلیسین و آرژینین بودند به طوری که در دو تیمار KMH و FMH مجموع دو اسید آمینه گلوتامیک اسید و آسپارتیک اسید دارای بالاترین میزان بود، ولی در تیمار SWH مجموع دو اسید آمینه گلیسین و گلوتامیک

(Leceaga-Gesualdo and Li-Chan, 1999). میزان پروتئین خام هیدرولیزه‌های مختلف ماهی در محدوده ۶۰-۹۰ درصد گزارش شده است که همسو با نتایج تحقیق حاضر می‌باشد (Shahidi *et al.*, 1995; Sathivel *et al.*, 2005; Khantaphant, 2010; Foh *et al.*, 2010; Alvares *et al.*, 2018; Cordeiro *et al.*, 2019; Prabha *et al.*, 2019; Vazquez *et al.*, 2020). بنابراین، محتوای بالای پروتئین خام در پروتئین‌های هیدرولیز شده مورد مطالعه آنها را تبدیل به مکمل‌های پروتئینی ارزنده می‌کند (Chalamaiah *et al.*, 2012). محتوای چربی KMH و SWH در محدوده کمتر از ۵ درصد بوده که مطابق با اکثریت گزارش‌های ارائه شده از سایر محققین می‌باشد (Benjakul and Morrissey, 1997; Abdul-Hamid *et al.*, 2002; Dong *et al.*, 2005; Alvares *et al.*, 2018; Prabha *et al.*, 2019). در حالی که محتوای پروتئین FMH با مقدار ۶/۱۰ درصد با اختلاف معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود ($p < 0.05$) که می‌تواند به علت ایجاد لیپوپروتئین‌های محلول در فرآیند تولید آرد ماهی باشد و با تحقیقاتی همچون تخم هیدرولیز شده کپور مریگال با بیش از ۶ درصد چربی همسو می‌باشد (Chalamaiah *et al.*, 2012). اگرچه مقادیر چربی پروتئین‌های هیدرولیز شده ماهی در دامنه وسیع ۰/۱-۵۲/۲۸ درصد گزارش شده است (Sathivel *et al.*, 2003; Pacheco-Aguilar *et al.*, 2008; Yin *et al.*, 2010).

به طور کلی، میزان چربی پروتئین‌های هیدرولیز شده نسبت به مواد اولیه به دلیل جداسازی چربی نمونه‌ها طی فرآیند سانتریفیوژ دچار کاهش شدید می‌شود که همین روند در این مطالعه نیز مشاهده شد. میزان رطوبت پروتئین‌های هیدرولیز شده نیز بدون اختلاف معنی‌دار در بین سه تیمار ۶/۲۷-۵/۹۴ درصد به دست آمده است ($p > 0.05$) و در هماهنگی با میزان رطوبت اعلام شده در اغلب گزارش‌های مربوط به پروتئین هیدرولیز شده ماهی (کمتر از ۱۰ درصد) قرار دارد (Nilsang *et al.*, 2005; Wasswa *et al.*, 2007; Ovissipour *et al.*, 2009). بخش اعظم رطوبت پروتئین‌های هیدرولیز شده طی

هیدرولیز شده ماهی تون زردباله (*Thunnus albacares*) نیز مقدار اسیدهای آمینه متیونین، لیزین و فنیل آلانین کمتری از مقدار مورد نیاز انسان و کپور معمولی دارد (داورنیا و همکاران، ۱۳۹۱) و اسید آمینه متیونین در پروتئین‌های هیدرولیز شده حاصل از عضله و امعاء و احشاء ماهی یال اسبی (*Trichiurus lepturus*) محدود کننده گزارش شد (طاهری، ۱۳۹۲).

اسیدهای آمینه آبریز (فنیل آلانین، پرولین، متیونین، آلانین، لوسین، ایزولوسین، تیروزین، والین) و اسیدهای آمینه آروماتیک (فنیل آلانین، هیستیدین، تریپتوفان، تیروزین)، مسئول اغلب خواص کاربردی و زیستی پروتئین‌های هیدرولیز شده همچون فعالیت آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد سرطان و کاهش قند و فشار خون می‌باشند (Yathisha et al., 2018; Gao et al., 2021) که با توجه با مقادیر بالای آنها در سه نوع هیدرولیز تولیدی می‌توان انتظار اثرات زیست فعال بودن آنان را در میزبان داشت که همسو با نتایج گزارش شده در مورد خواص کاربردی و فعالیت آنتی اکسیدانی این پروتئین‌های هیدرولیز شده می‌باشد (Mahdabi and Hosseini Shekarabi, 2018). اما در عین حال، اسیدهای آمینه آبریز سبب طعم تلخی در پروتئین‌های هیدرولیز شده هستند و باعث محدود شدن امکان غنی‌سازی فرآورده‌های خوراکی با این ترکیبات ارزنده می‌شوند (Idowu and Benjakul, 2019). بر اساس محتوای اسیدهای آمینه آبریز پروتئین‌های هیدرولیز شده می‌توان پیش‌بینی نمود که KMH بیشترین تلخی و SWH کمترین تلخی را داشته باشد که البته نیازمند ارزیابی‌های حسی در تحقیقات آینده می‌باشد. همچنین اسیدهای آمینه شاخه‌دار^۱ (لوسین، ایزولوسین و والین)، دارای نقش‌های بیولوژیک منحصر به فرد هستند و در سنتز پروتئین‌ها، سیگنال‌دهی سلولی و متابولیسم گلوکز نقش دارند و علاوه بر آن، بر سیستم ایمنی و عملکرد مغز نیز اثرگذارند. بدین صورت که اسیدهای آمینه شاخه‌دار برای رشد و تکثیر لنفوسیت‌های T ضروری هستند و از این

اسید از بالاترین مقدار برخوردار بوده و مقدار آسپارتیک اسید به نسبت دو تیمار دیگر کمتر بود. در مجموع، پروتئین‌های هیدرولیز شده حاصل از گوشت ماهی غنی از گلوتامیک اسید و آسپارتیک اسید گزارش شده‌اند که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد (Shahidi et al., 1995; Benjakul and Morrissey, 1997; Liceaga-Gesualdo and Li-Chan, 1999; Chalamaiah et al., 2012). همچنین این یافته‌ها در تطابق با پروفایل اسیدهای آمینه ضایعات هیدرولیز شده ماهی تیلاپپای نیل (Alvares et al., 2018; Cordeiro et al., 2019) و پروتئین‌های هیدرولیز شده حاصل از سر، امعاء و احشاء و استخوان و باله‌های سپر ماهی (*Scophthalmus maximus*) (Vazquez et al., 2020) نیز می‌باشد درحالی‌که در پروفایل اسیدهای آمینه پروتئین هیدرولیز شده حاصل از اتولیز اسیدی ماهی کوچک جثه *Leiognathus splendens* مقدار آسپارتیک اسید اندک گزارش شد (Prabha et al., 2019) و مقادیر بالاتری از اسیدهای آمینه دیگری همچون متیونین+ سیستئین، والین، فنیل آلانین و ترئونین بیان شد که مطابقتی با پروفایل اسیدهای آمینه پروتئین‌های هیدرولیزه تولیدی شده در مطالعه حاضر ندارد که با توجه به تعیین‌کننده بودن نوع آنزیم، ماده اولیه، شرایط هیدرولیز شامل دما، pH، زمان، نسبت آنزیم به سوبسترا و مایع به جامد (آب به ماده اولیه) در ترکیبات پروتئین‌های هیدرولیز شده تولیدی (Shahidi et al., 2019)، علت این تفاوت را می‌توان توجیه کرد.

با توجه به نتایج مشخص شد که KMH و FMH غنی از اسیدهای آمینه ضروری هستند و از توانایی تأمین مقادیری بیش از مقادیر مورد نیاز انسان، ماهی کپور معمولی، قزل آلی رنگین کمان، تیلاپپای نیل و میگوی ببری سیاه برخوردارند. اما اسیدهای آمینه متیونین، ایزولوسین، لوسین، ترئونین و آرژینین در تیمار SWH در مقایسه با نیاز انسان، کپور معمولی، تیلاپپا و میگوی ببری سیاه محدودکننده خواهد بود اما برای ماهی قزل آلی رنگین کمان می‌تواند منبع کاملاً مناسب و متوازی باشد (WHO/FAO/UNU, 2007; NRC, 2011). پروتئین

¹ Branched-Chain amino acids

SWH در مقدار اندک مشاهده شد. اما با توجه به فقدان گزارشی در این زمینه، در پروتئین‌های هیدرولیز شده ماهی امکان مقایسه وجود ندارد و تاثیرات آن و نیز علت فقدان آن در ماهی کیلکا ولی وجود آن در استیک واتر نیازمند تحقیقات بیشتر در آینده است. اما با توجه به اینکه آرژنین در بدن جانوران درون سلول‌های ماکروفاژ M2 به اورنیتین تبدیل می‌شود (Clark *et al.*, 2020)، احتمالاً وجود آنزیم‌های متعلق به این سلول‌ها که بر اثر فرآیند پرس به استیک واتر منتقل شده‌اند، منجر به تبدیل آرژنین به اورنیتین شده است.

در نهایت به منظور بررسی توجیه اقتصادی تولید پروتئین هیدرولیز شده، هزینه تولید هر گرم پروتئین هیدرولیز شده تولیدی از گوشت، آرد و استیک واتر ماهی کیلکا با احتساب هزینه مواد اولیه، هزینه استفاده از تجهیزات (شامل حمام آب، سانتریفیوژ، آون، خشک کن انجمادی، پی اچ متر و شیکر انکوباتور)، آنزیم و مواد شیمیایی به ترتیب معادل ۱۹,۵۶۸، ۲۱,۵۵۲ و ۴۹,۷۱۲ تومان در سال ۱۴۰۰ بوده است که بیشترین هزینه مربوط به عملیات خشک کردن به‌وسیله خشک کن انجمادی و آون (به‌خصوص در مورد خشک کردن استیک واتر مایع قبل از هیدرولیز با کمتر از ۵ درصد وزن خشک)، بوده است. بر خلاف تصور رایج در خصوص قیمت بالای آنزیم آلکالاز، هزینه آنزیم برای تولید ۱ گرم از پروتئین‌های هیدرولیز شده گوشت، آرد و استیک واتر بر اساس نرخ دلار مطابق ارز ترجیحی (هر دلار آمریکا ۴,۲۰۰ تومان) برابر ۱۰۸/۸، ۳۹۹/۹۷ و ۱۹۹/۶ می‌باشد که بر اساس قیمت واقعی آنزیم به دلار معادل ۲/۵۹ سنت برای SWH، ۹/۵۲ سنت برای FMH و ۴/۷۵ سنت برای KMH خواهد بود. همچنین بازدهی تولید پروتئین هیدرولیز شده نسبت به ماده اولیه برای گوشت، آرد و استیک واتر (بر اساس وزن استیک واتر خشک شده) ماهی کیلکا به ترتیب ۸/۱۴، ۷/۴۳ و ۳۷٪ به‌دست آمد که استیک واتر خشک شده دارای بالاترین بازدهی و کمترین مصرف آنزیم خواهد بود. اما با توجه به هزینه بالای خشک کردن آن، در نهایت قیمت تمام شده هر گرم آن بالاتر از دو منبع دیگر می‌باشد. شایان ذکر است، قیمت‌های استفاده از تجهیزات

مسیر بر سیستم ایمنی اثر می‌گذارند و از آنجایی‌که همچون اسیدهای آمینه آروماتیک (تریپتوفان، تیروزین و فنیل آلانین)، از طریق ناقل‌های پروتئینی می‌توانند به مغز وارد شوند، از این مسیر نیز بر سنتز پروتئین، نوروترانسمیترها و تولید انرژی در مغز تأثیر می‌گذارند (Monirojjaman, 2014).

براساس نتایج امتیاز شیمیایی محتوای آرژنین در تیمارهای KMH، FMH و SWH نیز به نسبت بالا و کافی برای انسان و آبزیان پرورشی شاخص می‌باشد. این اسید آمینه نیز دارای نقش‌های فیزیولوژیک متعددی همچون تنظیم متابولیسم سلولی به‌وسیله تولید پلی‌آمین‌های آلیفاتیک و بهبود رشد و تمایز سلولی از طریق تولید اورنیتین می‌باشد (Clark *et al.*, 2020). اسید آمینه آرژنین همچنین در تسریع ترمیم جراحات، تولید اکسید نیتریک (مفید برای عملکرد سیستم ایمنی در برابر پاتوژن‌ها و نیز ترکیبی ضد میکروبی و ضد انگل)، نقش دارد (Fauzi *et al.*, 2020). در دسترس بودن آرژنین نقش مهمی در فعالیت ماکروفاژها دارد و به همین دلیل تحقیقات متعددی در باره افزودن ال-آرژنین به غذای خوک، طیور و ماهی انجام شده است (Clark *et al.*, 2019). اما به‌واسطه تولید ترکیبات متابولیک مختلف از آرژنین و تنظیم مقدار آن از مسیرهای متابولیک گوناگون، افزودن آرژنین به رغم افزایش غلظت آن در پلاسما، لزوماً باعث افزایش مقدار در دسترس آن برای سیستم ایمنی نمی‌شود (Clark *et al.*, 2020). علاوه‌برآن، افزودن آرژنین سبب افزایش دفع اوره به‌واسطه تبدیل آن به‌وسیله آنزیم آرژیناز نیز می‌شود که این امر به‌خصوص در مورد آبزیان موجب آلودگی آب می‌شود و مطلوب نخواهد بود (Fauzi *et al.*, 2020). اسید آمینه اورنیتین نقش مهمی در سنتز پلی‌آمین‌ها و پرولین دارد و افزودن آن به جیره پستانداران خشکی زی سبب تسریع بهبود جراحات نیز می‌گردد و مطالعات محدودی در باره افزودن آن به جیره آبزیان به منظور بهبود ایمنی در مواجهه با باکتری انجام شده است (Clark *et al.*, 2020; Fauzi *et al.*, 2020; Clark *et al.*, 2019). جالب توجه است که اسید آمینه اورنیتین فقط در

سالنامه آماری سازمان شیلات ایران (۱۳۹۸-۱۳۹۳).، ۱۳۹۸. واحد آمار معاونت برنامه ریزی و مدیریت منابع دفتر برنامه ریزی و بودجه. سازمان شیلات ایران. تهران. ایران. ۶۴ صفحه.

طاهری، ع.، ۱۳۹۲. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین آبکافت حاصل از ماهیچه و احشای ماهی یال اسبی (*Trichiurus lepturus*) صید شده از دریای عمان. نشریه شیلات. مجله منابع طبیعی ایران ۶۷(۲): ۲۹۷-۳۱۷. DOI: 10.22059/JFISHERIES.2014.51655

علی نژاد، م.، معتمدزادگان، ع. و رضائی، م.، ۱۳۹۵. خواص کاربردی و فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده کوسه چانه سفید (*Carcharhinus dussumieri*). فصلنامه علوم و صنایع غذایی ۵۰(۱۳): ۱۶۹-۱۵۹.

معتمد زادگان، ع.، شهیدی، ف.، مرتضوی، س.ع.، پور آذرننگ، ه.، حمزه، ش.، شهیدی یاساقی، س.ا.، قربانی حسن سرایی، آ. و خانی پور، ا.، ۱۳۸۸. اثر آنزیم پاپایین بر درجه هیدرولیز و طول زنجیره پپتیدی پروتئین‌های میوفیبریلار ماهی کیلکا. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی ۱۶(۳): ۵۲-۶۷.

یاسمی، م.، قمی مرز دشتی، م.ر.، دارنهال، ط.، محمدزاده، ب. و امینی، ه.، ۱۳۹۲. مقایسه راندمان بازیافت و درجه هیدرولیز پروتئین‌های موجود در امعاء و احشای ماهی کپور سر گنده (*Aristichthys nobilis*) با استفاده از آنزیم. مجله علمی شیلات ایران ۲۲(۱): ۱۴۹-۱۵۶. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110110

Abdul-hamid. A., Bakar, J. and Bee, G.H., 2002. Nutritional quality of spray dried protein hydrolysates from black Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Food Chemistry*, 78: 69-74. DOI: 10.1016/S0308-8146(01)00380-6.

مذکور به علت دقت و کیفیت بسیار بالای دستگاه‌های آزمایشگاهی گران بوده و در صورت استفاده از تجهیزات صنعتی در مقیاس بالاتر، قطعاً هزینه تمام شده کاهش خواهد یافت که نیازمند مطالعات بیشتر در آینده می‌باشد. در مجموع، با استفاده از روش هیدرولیز آنزیمی می‌توان از منابع ارزشمند کیلکا ماهیان دریای خزر و آرد ماهی حاصل از آن که اصلی‌ترین فرآورده تولیدی از این آبزیان می‌باشد، محصولات با ارزش غذایی بسیار بالایی تولید نمود که با توجه به پروفایل اسیدهای آمینه آنها خواص کاربردی و زیست فعالی بالایی نیز قابل پیش‌بینی می‌باشد. همچنین استیک واتر به عنوان یک پساب در مقیاس صنعتی باعث مشکلات زیست‌محیطی و هدر رفت منابع می‌شود که می‌توان با استفاده از هیدرولیز آنزیمی این ضایعات را به محصول پروتئینی با پتانسیل بالا به منظور استفاده در جیره غذایی آبزیان تبدیل نمود. پروتئین‌های هیدرولیز شده دارای پتانسیل بالقوه بسیاری جهت استفاده به عنوان مکمل‌های پروتئینی و بهبود دهنده سلامت می‌باشند که در راستای بالفعل نمودن این پتانسیل، گام بعدی تحقیقات بر انسان، دام و آبزیان خواهد بود. همچنین رسیدن به تکنولوژی تولید در سطح صنعتی و با قیمت رقابتی، چالش بعدی خواهد بود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از آقای دکتر سید پژمان حسینی شکرایی و آقای مهندس حمید فتحعلیان تشکر و سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

داورنیا، ب.، معتمدزادگان، ع. اسدی، غ.، عابدیان، ع. م. و اویسی پور، م. ر. ۱۳۹۱. تعیین طول زنجیره پروتئین هیدرولیز شده امعاء و احشاء ماهی تون زرد باله با آنزیم نیوتراز. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران. ۸(۲): ۱۴۹-۱۳۷. DOI: 10.22067/IFSTRJ.V8I2.17272

- Adler-Nissen, J., 1986.** Enzymatic hydrolysis of food proteins. Elsevier, UK. 91 P.
- Alinejad, M., Motamedzadegan, A., Rezaei, M. and Regenstein, J.M., 2017.** Gelatin films containing hydrolysates from whitecheek shark (*Carcharhinus dussumieri*) meat. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(4): 420-430. DOI: 10.1080/10498850.2016.1201713.
- Alvares, T.S., Conte-Junior, C.A., Pierucci, A.P., de Oliveira, G.V. and Cordeiro, E.M., 2018.** Acute effects of fish protein hydrolysate supplementation on vascular function in healthy individuals. *Journal of Functional Foods*, 46: 250-255. DOI: 10.1016/j.jff.2018.04.066
- AOAC, 2005.** Official methods of analysis (18th edition). Association of Official Analytical Chemists. Washington DC, USA. 702 P.
- Bechtel, P.J., 2005.** Properties of Stickwater from fish processing byproducts. *Journal of Aquatic Product Technology*, 14(2): 25-38. DOI: 10.1300/J030v14n02_03.
- Benjakul, S. and Morrissey, M.T., 1997.** Protein hydrolysates from pacific whiting solid wastes. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 45: 3423-3430. DOI: 10.1021/jf970294g.
- Camargo, T.R., Ramos, P., Monserrat, J.M., Prentice, C., Fernandes, C.J.C., Zambuzzi, W.F. and Valenti, W.C., 2020.** Biological activities of the protein hydrolysate obtained from two fishes common in the fisheries bycatch. *Food Chemistry*, 342: 128361. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.128361.
- Chalamaiah, M., Dinesh Kumar, B., Hemalatha, R. and Jyothirmayi, T., 2012.** Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*, 135: 3020-3038. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.06.100.
- Clark, T.C., Tinsley, J., Sigholt, T., Macqueen, D.J. and Martin, S.A.M., 2019.** Supplementation of arginine, ornithine, citrulline in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects on growth, amino acid levels in plasma and gene expression responses in liver tissue. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 241: 110632. DOI:10.1016/j.cbpa.2019.110632.
- Clark, T.C., Tinsley, J., Sigholt, T., Macqueen, D.J. and Martin, S.A.M., 2020.** Arginine, Ornithine, citrulline supplementation in rainbow trout: free amino acid dynamics and gene expression responses to bacterial infection. *Fish and Shellfish Immunology*, 98: 374-390. DOI: 10.1016/j.fsi.2020.01.026.
- Cordeiro, E.M., de Oliveira, G.V., Volino-Souza, M., Couto Velozo, O. and Alvares, T.S., 2019.** Effects of fish protein hydrolysate ingestion on postexercise aminoacidemia compared with whey protein hydrolysate in young individuals. *Journal of Food Science*, 85(1): 21-27. DOI:10.1111/1750-3841.14970.

- Dong, Y.L., Sheng, G.Y., Fu, J.M. and Wen, K.W., 2005.** Chemical characterization and anti-anaemia activity of fish protein hydrolysate from *Saurida elongate*. *Journal of Food Science and Agriculture*, 85(12): 2033-2039. DOI: 10.1002/jsfa.2219.
- Drotningsvik, A., Pampanin, D.M., Slizyte, R., Carvajal, A., Hogoy, I. and Remman, T., 2019.** Hydrolyzed protein from herring and salmon rest raw material contain peptide motifs with angiotensin-I converting enzyme inhibitors and resulted in lower urine concentration of protein, cystatin C and glucose when fed to obese Zucker fa/fa rats. *Nutrition Research*, 52: 14-21. DOI: 10.1016/j.nutres.2018.01.001.
- FAO/WHO/UNU, 2007.** Amino acid requirements of adults. Protein and amino acids requirements in human nutrition. FAO/WHO/UNU: Geneva, Switzerland. 265 P.
- FAO, 2019.** FAO yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics 2017. Rome, Italy. 80 P.
- Fauzi, I.A., Haga, Y., Kondo, H., Hirono, I. and Satoh, S., 2020.** Dietary citrulline improves survival of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* juveniles challenged with *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture*, 528: 735491. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735491.
- Foh, M.B.K., Amadou, I., Foh, B.M., Kamara, M.T. and Xia, W., 2010.** Functionality and antioxidant properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) as influenced by the degree of hydrolysis. *International Journal of Molecular Science*, 11: 1851-1869. DOI: 10.3390/ijms11041851.
- Gao, R., Yu, Q., Shen, Y., Chu, Q., Chen, G., Fen, S., Yang, M., Yuan, L., McClements, D.J. and Sun, Q., 2021.** Production, bioactive properties and potential application of fish protein hydrolysates: Developments and challenges. *Trends in Food Science and Technology*, 110: 687-699. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.02.031.
- Garcia-Santiago, J.C., Cavazos, C.J.L., Gonzalez-Fuentes, J.A., Zermeno-Gonzalez, A., Alvarado, E.R., Duarte, A.R., Preciado-Rangel, P., Troyo-Dieguez, E., Pena Ramos, F.M., Valdez-Aguilar, L.A., Alvarado-Camarillo, D. and Maruri, J.A.H., 2021.** Effects of fish-derived protein hydrolysate, animal-based organic fertilizers and irrigation method on the growth and quality of grape tomatoes. *Biological Agriculture and Horticulture*, 37(2): 107-124. DOI: 10.1080/01448765.2021.1891458.
- Greyling, N., 2017.** Optimisation of enzymatic hydrolysis of monkfish heads for preparing protein hydrolysates as animal feed ingredients. Dissertation, University of Stellenbosch, Stellenbosch, Western Cape Province, South Africa. 86 P.
- Guo, J., Swanepoel, A., Joao, R., Salze, G., Rhodes, M. and Davis, D.A., 2020.** Hydrolysed salmon meal as a replacement for salmon meal in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus*

- vannamei). *Aquaculture Nutrition*, 26(2): 368-381. DOI: 10.1111/anu.12999.
- Idowu, A.T. and Benjakul, S., 2019.** Bitterness of fish protein hydrolysate and its debittering prospects. *Food Biochemistry*, 43(9): e12978. DOI: 10.1111/jfbc.12978.
- Janbakhsh, S., Hosseini Shekarabi, S.P. and Shamsaie Mergan, M., 2018.** Nutritional value and heavy metal content of fishmeal from the Southwest Caspian Sea. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 16(4): 307-317. DOI: 10.22124/CJES.2018.3200.
- Jones, B.N. and Gilligan, J.P., 1983.** O-phthalaldehyde precolumn derivatization and reverse-phased high-performance liquid chromatography of polypeptide hydrolysates and physiological fluids. *Journal of Chromatography*, 266: 471-482. DOI: 10.1016/S0021-9673(01)90918-5.
- Khantaphant, S., 2010.** Proteases from pyloric caeca of brownstripe red snapper (*Lutjanus vita*): purification, characterization and the use for production of hydrolysate with antioxidative activity. Dissertation. Prince Songkrala University of Thailand, Songkhram Thailand. 238P.
- Kleber-Lorenz, E., Barone, R.S.C., Franca, W.G., Sabioni, R.E., Koch, J.F.A. and Cyrino, J.E.P., 2017.** Performance, hematology and immunology of *Salminus brasiliensis* fed diets containing swine liver hydrolysate. *Aquaculture*, 483: 46-52. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.09.040.
- Kristinsson, H.G. and Rasco, B.A., 2000.** Fish protein hydrolysates: production, biochemical and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(1): 43-81. DOI: 10.1080/10408690091189266.
- Liceaga-Gesualdo, A M. and Li-Chan, E.C.Y., 1999.** Functional properties of fish protein hydrolysate from Herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*, 64(6): 1000-1004. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1999.tb12268.x.
- Mahdabi, M. and Hosseini Shekarabi, S.P., 2018.** A comparative study on some functional and antioxidant properties of kilka meat, fishmeal, and stickwater protein hydrolysates, *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 27(7): 844-858. DOI: 10.1080/10498850.2018.1500503.
- Monirujamman, M., 2014.** Metabolic and physiological roles of branched chain amino acids. *Advances in Molecular Biology*, 2014: 364976 . DOI: 10.1155/2014/364976.
- Nelson, G., Paxton, J.R. and Eschmeyer, W.N., 1998.** Encyclopedia of fishes. Academic Press. San Diego. USA, pp. 91-95.
- Nilsang, S., Lertsiri, S., Suphantharika, M. and Assavanig, A., 2005.** Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. *Journal of Food Engineering*, 70(4): 571-578. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2004.10.011
- NRC, 2011.** Nutrient requirements of fish and shrimp. National Research Council. National Academy Press. Washington DC. USA. 376 P.

- Ovissipour, M., Safari, R., Motamedzadegan, A. and Shabanpour, B., 2009.** Chemical and biochemical hydrolysis of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) visceral protein. *Food Bioprocess Technology*, 5: 460–465. DOI: 10.1007/s11947-009-0284-x.
- Pacheco-Aguilar, R., Mazorra-Manzano, M.A. and Ramioirez-Suarez, J.C., 2008.** Functional properties of fish protein hydrolysates from Pacific whiting (*Merluccius productus*) muscle produced by a commercial protease. *Food Chemistry*, 109(4): 782-789. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.01.047.
- Prabha, J., Nithin, A., Mariarose, L. and Vincent, S., 2019.** Processing of nutritive fish protein hydrolysate from *Leiognathus splendens*. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 26: 861–871. DOI: 10.1007/s10989-019-09892-6.
- Pyz-Łukasik, R. and Paszkiewicz, W., 2018.** Species variations in the proximate composition, amino acid profile, and protein quality of the muscle tissue of grass carp, bighead carp, siberian sturgeon, and wels catfish. *Journal of Food Quality*, 2018: 2625401. DOI: 10.1155/2018/2625401.
- Rajendran, S.R.C.K., Mohan, A., Khiari, Z., Udenigwe, C.C. and Mason, B., 2018.** Yield, physiochemical, and antioxidant properties of Atlantic salmon visceral hydrolysate: comparison of lactic acid bacterial fermentation with Flavourzyme proteolysis and formic acid treatment. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(6): e13620. DOI: 10.1111/jfpp.13620.
- Rivero-Pino, F., Espejo-Carpio, F.J. and Guadix, E.M., 2020.** Evaluation of the bioactive potential of foods fortified with fish protein hydrolysates. *Food Research International*, 137: 109572. DOI: 10.1016/j.ffodres.2020.109572.
- Sathivel, S., Bechtel, P.J., Babbit, J., Smiley, S., Crapo, C., Reppond, K.D. and Prinyawiwatkul, W., 2003.** Biochemical and functional properties of Herring (*Clupea harengus*) byproduct hydrolysates. *Journal of Food Science*, 68(7): 2196-2200. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2003.tb05746.x.
- Sathivel, S., Smiley, S., Prinyawiwatkul, W. and Bechtel, P.J., 2005.** Functional and nutritional properties of red salmon (*Oncorhynchus nerka*) enzymatic hydrolysates. *Journal of Food Science*, 70(6): C401-C406. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb11437.x.
- Shahidi, F., Han, X.Q. and Synowiecki, J., 1995.** Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemistry*, 53: 285-293. DOI: 10.1016/0308-8146(95)93934-J.
- Shahidi, F., Varatharajan, V., Peng, H. and Senadheera, R., 2019.** Utilization of marine by-products for the recovery of value-added products. *Journal of Food Bioactives*, 6: 10-61. DOI: 10.31665/JFB.2019.6184.
- Shi, Y., Zhong, L., Ma, X., Liu, Y., Tang, T. and Hu, Y., 2019.** Effect of replacing

- fishmeal with stickwater Hydrolysate on the growth, serum biochemical indexes, immune indexes, intestinal histology and microbiota of rice field eel (*Monopterus albus*). *Aquaculture Reports*, 15(100223): 1-9. DOI: 10.1016/j.aqrep.2019.100223.
- Siddik, M.A.B., Howieson, J. and Fotedar, R., 2019.** Beneficial effects of tuna hydrolysate in poultry by-product meal diets on growth, immune response, intestinal health and disease resistance to *Vibrio harveyi* in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. *Fish and Shellfish Immunology*, 89: 61-70. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.03.042.
- Sizyite, R., Mozuraityte, R., Martinez-Alvarez, O., Falch, E., Fouchereau-Peron, M. and Rustad, T., 2009.** Functional, bioactive and antioxidative properties of hydrolysates obtained from cod (*Gadus morhua*) backbones. *Process Biochemistry*, 44(6): 668-677. DOI: 10.1016/j.procbio.2009.02.010.
- Spellman, D., McEvoy, E., O’Cuinn, G. and FitzGerald, R., 2003.** Proteinase and exopeptidase hydrolysis of whey protein: Comparison of the TNBS, OPA and pH stat methods for quantification of degree of hydrolysis. *International Dairy Journal*, 13(6): 447 - 453. DOI: 10.1016/S0958-6946(03)00053-0.
- Stone, F.E. and Hardy, R.W., 1986.** Nutritional value of acid stabilized silage and liquefied fish protein. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37(8): 797-803. DOI: 10.1002/jsfa.2740370813.
- Thiansilakul, Y., Benjakul, S. and Shahidi, F., 2007.** Compositions, functional properties and antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decapterus maruadsi*). *Food Chemistry*, 103(4): 1358-1394. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.10.055.
- Vazquez, J.A., Rodriguez-Amado, I., Sotelo, C.G., Sanz, N., Perez-Martin, R. and Valcarcel, J., 2020.** Production, characterization and bioactivity of fish protein hydrolysate from aquaculture turbot (*Schophthalmus maximus*) wastes. *Biomolecules*, 10(2-310): 1-13. DOI: 10.3390/biom10020310.
- Wasswa, J., Tang, J., Gu, X. and Yuan, X., 2007.** Influence of the extent of hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chemistry*, 104(4): 1698-1704. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.03.044.
- Wu, D., Zhou, L., Gao, M., Wang, M., He, J., Lou, Q., Ye, Y., Chai, C., Wu, P., Zhang, Y. and Pu, Q., 2018.** Effects of stickwater hydrolysates on growth performance for yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquaculture*, 488: 161-173. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.01.031
- Yathisha, U.G., Bhat, I., Karunasagar, I. and Mamatha, B.S., 2018.** Antihypertensive activity of fish protein hydrolysates and its peptides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*,

59(15): 2363-2374. DOI:
10.1080/10408398.2018.1452182.

**Yin, S. W., Tang, C.H., Cao, J.S., Hu, E.K.,
Wen, Q.B. and Yang, X.Q., 2010.** Effects
of limited hydrolysis with trypsin on the
functional properties of hemp (*Cannabis
sativa* L.) protein isolate. *Food Chemistry*,
106(3): 1004-1013. DOI:
10.1016/j.foodchem.2007.07.030.

**Zamora-Sillero, J., Ramos, P., Monserrat,
J.M. and Prentice, C., 2018.** Evaluation of
the antioxidant activity in vitro and in
hippocampal HT-22 cells system of protein
hydrolysates of common carp (*Cyprinus
carpio*) by-product. *Journal of Aquatic
Food Product Technology*, 27(1): 21-34.
DOI: 10.1080/10498850.2017.1390027.

A comparison of the proximate compositions and amino acids profiles of protein hydrolysates produced from fishmeal effluents (stickwater), fishmeal and muscle of Anchovy sprat

Mahdabi M.¹; Shamsaie Mehrgan M.^{1*}; Rajabi Islami H.¹

*m.shamsaie@srbiau.ac.ir

1- Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

In this study, three protein hydrolysates were produced from muscle, fishmeal and fishmeal effluents (stickwater) of Anchovy Kilka fish (*Clupeonella engrauliformis*) using Alcalase (temperature=50°C, pH=8.5, time=2 h) and their proximate compositions and amino acids profiles were analyzed. Based on the results, the highest protein content (81.97%) was in KMH and the lowest lipid (0.51%) and protein (70.31%) contents and the maximum ash (22.64%) were in SWH. The highest degree of hydrolysis was observed in SWH (17.23). KMH and FMH were rich in aspartic acid, glutamic acid and lysine while SWH was rich in glutamic acid, glycine and alanine. KMH had the highest content of hydrophobic and aromatic amino acids ($p < 0.05$). SWH was the only treatment containing ornithine (1.44%). The results of amino acid profiles of hydrolysates and their calculated chemical scores showed that KMH and FMH were rich in the essential amino acids and met the nutritional needs to support optimal growth of human, common carp, rainbow trout, Nile tilapia and monodon shrimp. However, SWH could only meet the amino acid requirements of rainbow trout and the limiting amino acids for other species were methionine, threonine, arginine and isoleucine. Due to The high nutritional values and amino acid composition of KMH and FMH, they could be used as health promoting protein supplements. Also, the SWH composition showed that this effluent could be used for developing value-added products.

Keywords: Protein hydrolysate, Anchovy Kilka, Stickwater, Amino acids, Alcalase, Chemical score

*Corresponding author