مقاله علمی – پژوهشی:

سنجش خواص عملکردی پپتیدهای زیست‌فعال تولیدی از ضایعات میگو در مراکز فراوری با استفاده از آنزیم پروتامکس در درجات آبکافت مختلف

سکینه یگانه*[۱]، سهیل ریحانی پول[۲]

*s.yeganeh@sanru.ac.ir, skyeganeh@gmail.com

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۲- گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۰

چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی خواص عملکردی پپتیدهای زیست‌فعال تولیدی از ضایعات میگو در مراکز فراوری در سه درجه آبکافت است. بدین منظور، ضایعات مراکز فراوری میگو طی سه زمان یک، دو و سه ساعت با استفاده از آنزیم پروتامکس آبکافت و خواص عملکردی پپتیدهای حاصل (SPH_1، SPH_2 و SPH_3) ارزیابی شد. نتایج نشان داد، با افزایش زمان آبکافت از یک به دو و سه ساعت، درجه آبکافت و بازیافت نیتروژنی فرایند به صورت معنی‌داری افزایش یافتند ($p<۰/۰۵$). مطابق یافته‌ها، میزان حلالیت SPH_3 به صورت معنی‌داری از SPH_2 و SPH_1 بیشتر بود و حداکثر میزان آن در pH=۱۰ معادل ۱/۵۴±۹۷/۸۲ گزارش گردید ($p<۰/۰۵$). SPH_1 نسبت به SPH_2 و SPH_3 شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی بیشتری داشت. در این پپتید بالاترین مقدار شاخص فعالیت امولسیفایری ۲/۸۴±۶۸/۱۵ متر مربع بر گرم ثبت شد که مربوط به pH=۱۰ بود. اما حداکثر شاخص پایداری امولسیونی در pH=۶ گزارش شد (۵/۰۸±۱۶۶/۸۴ دقیقه). بیشترین میزان فعالیت کف‌زایی اندازه‌گیری شده ۵/۹۱±۱۶۵/۵۲ درصد بود که در SPH_1 و pH=۱۰ ثبت شد. همچنین حداکثر پایداری کف در بین پپتیدها، معادل ۳/۲۳±۱۱۸/۳۲ اندازه‌گیری شد که مربوط به SPH_1 در pH=۶ بود. SPH_1 ظرفیت جذب روغن بیشتری (۰/۳۳±۵/۹۲ میلی‌لیتر در گرم) نسبت به SPH_2 و SPH_3 داشت ($p<۰/۰۵$). بیشترین ظرفیت نگهداری آب هم مربوط به SPH_3 (۰/۷۱±۵/۱۸ میلی‌لیتر در گرم) بود ($p<۰/۰۵$). بنابر یافته‌ها، خواص عملکردی پپتیدهای تولیدی از ضایعات مراکز فراوری میگو با استفاده از آنزیم پروتامکس در سطح قابل قبولی جهت استفاده در مواد غذایی مختلف قرار دارند.

لغات کلیدی: ضایعات میگو، پروتامکس، پپتیدهای زیست‌فعال، خواص عملکردی پپتیدها

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]

مقدمه

با افزایش گرایش جامعه به سمت آبزیان بسته‌بندی و فراوری آنها به اشکال مختلف، حجم زیادی از ضایعات تولید می‌شود. این ضایعات در صنعت فراوری آبزیان در صورت استفاده بهینه می‌توانند به محصولات با ارزش افزوده بالایی تبدیل شوند. اگر این ضایعات دورریز شوند، نه تنها هیچ سودی برای آن واحد تولیدی ندارند بلکه محیط زیست را دچار آلودگی خواهند کرد. یکی از راه‌هایی که می‌توان از این ضایعات به صورت بهینه استفاده کرد، تولید پودر ماهی از ضایعات است. این پودر به صورت مستقیم و غیرمستقیم در صنعت غذای دام، طیور و آبزیان قابل استفاده می‌باشد. محصولی دیگری که می‌توان از این ضایعات تولید کرد، سیلاژ (بیولوژیک و اسیدی) است. این محصول هم به‌واسطه دارا بودن پروتئین و چربی قابل توجه می‌تواند در تغذیه آبزیان جایگزین مناسبی برای پودر ماهی باشد (صفری و همکاران، ۱۳۹۹). محصولی دیگری که می‌توان از ضایعات حاصل از فراوری آبزیان تولید کرد، پروتئین آبکافتی (پپتیدهای زیست‌فعال) است. این محصول حاصل آبکافت (شیمیایی یا بیوشیمیایی) ضایعات است و در صنایع غذایی به عنوان امولسیفایر، ماده کف‌زا، آنتی‌اکسیدان (ریحانی‌پول و همکاران، ۱۳۹۵) و در ساخت محیط کشت باکتری به عنوان منبع نیتروژن (Safari *et al*., 2012) و در غذای انسان، دام، طیور و آبزیان به عنوان مکمل پروتئینی با قابلیت هضم‌پذیری بالا (به دلیل کوتاه بودن زنجیره‌های پپتیدی) کاربرد دارد (اویسی‌پور و قمی، ۱۳۸۷). ضمن اینکه پودرهای پروتئینی حاصل از آبکافت، دارای پپتیدهای زیست فعالند. پپتیدهای زیست فعال شامل توالی‌های کوتاه آمینواسید هستند که وقتی انسان آنها را مصرف می‌کند، اثرات فیزیولوژیک مفیدی بر بدن اعمال می‌کنند (درجانی، ۱۳۹۲). این پپتیدها دارای خواص بیولوژیک از جمله تعدیل‌کننده فشار خون، تقویت‌کننده سیستم ایمنی، ضد انعقاد خون، ضد سرطان و ضد میکروب می‌باشند (Kim and Wijesekara, 2010). در تولید پروتئین‌های آبکافتی به روش بیوشیمیایی از آنزیم‌های میکروبی (آلکالاز، فلاورزایم، نئوتراز، پروتامکس و ...)، گیاهی (پاپائین، بروملین) و حیوانی (پپسین، تریپسین، کیموتریپسین و ...) استفاده می‌شود. مطلوبیت خواص عملکردی (حلالیت، شاخص فعالیت امولسیفایری، شاخص پایداری امولسیونی، شاخص فعالیت کف‌زایی، شاخص پایداری کف، ظرفیت جذب روغن و ظرفیت نگهداری آب) و آنتی‌اکسیدانی این پروتئین‌ها پس از تولید کارائی و نوع کاربرد آنها را مشخص می‌کند. عوامل مختلفی بر این خواص مؤثرند که شامل نوع سوبسترا، نوع آنزیم مصرفی (ریحانی‌پول و همکاران، ۱۳۹۵)، نسبت آنزیم به سوبسترا، زمان، دمای واکنش (شعبانپور و همکاران، ۱۳۹۴؛ یگانه و همکاران، ۱۳۹۹)، درجه آبکافت (Klompong *et al*., 2007; Souissi *et al*., 2007; Wasswa *et al*., 2007) و... می‌باشند.

میگو یکی از آبزیانی است که در حال حاضر، با وجود سرانه مصرف بسیار پائین (ریحانی‌پول و همکاران، ۱۳۹۸)، در کشور فراوری و بسته‌بندی می‌شود. استان گلستان در شمال کشور و نیز شهرهای جنوبی مناطقی هستند که دارای مراکز فراوری میگو می‌باشند. طی فراوری حدود ۳۵ درصد از وزن جاندار شامل بخش‌های مختلف از جمله سر، پوسته و ... دورریز می‌شوند. بر اساس نتایج پیش‌تست، این ضایعات ۱۴-۱۲ درصد پروتئین دارند که این پروتئین قابل بازیابی و تبدیل به پپتیدهای زیست‌فعال می‌باشد. از آنجایی‌که تاکنون خواص عملکردی پپتیدهای زیست‌فعال حاصل از ضایعات مراکز فراوری میگو در کشور بررسی نشده است، کارائی یا عدم کارائی این پپتیدها در صنایع غذایی امری مبهم است. تحقیق حاضر که بخشی از طرح تولید پپتیدهای زیست‌فعال از ضایعات مراکز فراوری میگوست، قصد دارد خواص عملکردی پپتیدهای زیست‌فعال تولیدی از سوبسترای مذکور را در سه زمان (درجه آبکافت) بررسی و مقایسه کند.

مواد و روش کار

سوبسترا و آنزیم

ضایعات میگو از یکی از مراکز فراوری در استان گلستان (گمیشان) تهیه و در مجاورت زنجیره سرد به آزمایشگاه

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]

فراوری محصولات شیلاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل شدند. آنزیم مورد استفاده در این پژوهش، آنزیم میکروبی پروتامکس است که از نمایندگی شرکت Novozyme (دانمارک) تهیه و تا زمان شروع آزمایش در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید.

تولید پپتیدهای زیست‌فعال

تولید پپتیدهای زیست‌فعال در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ ساعت به منظور تولید محصولی با سه درجه آبکافت متفاوت انجام شد. به منظور تولید این پپتیدها، ابتدا در ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری ۱۰۰ گرم نمونه ضایعات قرار داده شد. سپس ۲۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات با pH=۷/۴ به ارلن اضافه گردید. در مرحله بعد ارلن به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آبی (Memert wnb 29, Iran) با دمای ۸۵ درجه سلسیوس قرار گرفت تا آنزیم‌های داخلی بافت ضایعات غیرفعال شوند. پس از سپری‌شدن این زمان به ارلن اجازه داده شد تا در دمای محیط خنک شود. در مرحله بعد آنزیم پروتامکس به میزان ۳۰ واحد آنسون به ارلن مربوطه اضافه شد. بلافاصله ارلن به انکوباتور شیکردار (Cold shaker incubator, TM 65, Iran) با دمای ۵۰ درجه سلسیوس منتقل و یک (دو و سه) ساعت در این شرایط انکوبه شد. بعد از این زمان‌ها، به منظور قطع واکنش آبکافت، ارلن به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از این مدت و خنک‌شدن ارلن، محتویات ارلن در دمای ۱۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه با دور g ۸۰۰۰ سانتریفوژ (D-78532 Tuttlingen, Germany) و سوپرناتانت با استفاده از دستگاه خشک‌کن انجمادی (Vaco 2 Zirbus, Germany) خشک شد (Ovissipour *et al*., 2010). نتیجه کار تولید سه نوع پپتید مربوط به سه زمان و با سه درجه آبکافت‌های متفاوت (SPH_1، SPH_2 و SPH_3) بود.

بررسی فرایند آبکافت

درجه آبکافت فرایند: برای محاسبه این شاخص، بعد از پایان فرایند آبکافت (زمان یک، دو و سه ساعت)، محلول تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) ۲۰ درصد با نسبت برابر به مایع رویی (سوپرناتانت) افزوده شد و محلول حاصل با دور g۶۷۰۰ در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس نیتروژن موجود در سوپرناتانت جدید به روش بیورت (Layne, 1957) سنجیده شد. درجه آبکافت فرایند از رابطه ذیل محاسبه گردید (Hoyle and Merritt, 1994):

۱۰۰ × (نیتروژن کل نمونه/ نیتروژن موجود در محلول ۱۰ درصد تری کلرواستیک‌اسید) = درجه آبکافت (٪)

به منظور رسم منحنی استاندارد و به دست آوردن معادله دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-M51UV/VisSpectrophotometr, Italy) از سرم آلبومین گاوی به عنوان پروتئین استاندارد استفاده شد.

بازیابی پروتئین

برای محاسبه بازیافت پروتئین از رابطه ذیل استفاده شد:

۱۰۰ × [(گرم سوبسترا×نیتروژن سوبسترا) / (گرم پروتئین×نیتروژن پروتئین)] = بازیافت نیتروژنی (٪)

بررسی خواص عملکردی پپتیدهای زیست‌فعال

حلالیت: برای تعیین حلالیت، ۲۰۰ میلی‌گرم پودر آبکافتی با ۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه مخلوط شد. با استفاده از اسید و سود ۰/۲ نرمال، pH محلول به ۲،۴،۶،۸،۱۰،۱۲ رسانده شد. این مخلوط ۳۰ دقیقه در دمای اتاق هم زده شد و سپس ۱۵ دقیقه با دور g ۷۵۰۰ سانتریفوژ گردید. پروتئین محلول در سوپرناتانت از روش بیورت و پروتئین موجود در نمونه بعد از حل‌شدن آن در سود ۰/۵ نرمال

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]

تعیین شد (Robinson and Hogden, 1940). حلالیت پپتیدها از رابطه ذیل به‌دست آمد:

حلالیت(٪)= [پروتئین محلول در سوپرناتانت /میزان پروتئین کل نمونه] ×۱۰۰

شاخص فعالیت امولسیفایری (Emulsion Activity Index) و پایداری امولسیونی (Emulsion Stability Index): برای محاسبه این شاخص‌ها، ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر روغن گیاهی به ۳۰ میلی‌لیتر محلول ۱ درصد پودر آبکافتی اضافه و مخلوط حاصل با هموژنایزر به مدت یک دقیقه با چرخش ۲۰۵۰۰ دور در دقیقه به صورت کامل هموژن شد و یک امولسیون به‌دست آمد. سپس به کمک سمپلر حجم ۵۰ میکرولیتر از ته ظرف حاوی امولسیون در دو زمان صفر و ۱۰ دقیقه بعد از هموژن‌کردن برداشته و با ۵ میلی‌لیتر محلول سدیم دوسیل سولفات ۰/۱ درصد مخلوط شد. جذب این محلول‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۰ نانومتر قرائت گردید. شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی با استفاده از روابط ذیل محاسبه شدند (Pearce and Kinsella, 1978):

$$EAI\ (m^2/g) = 2 \times 2.303 \times A_{500} / 0.25 \times \text{Protein weight}\ (g)$$

$$ESI\ (min) = A_{10} \times \Delta t / \Delta A$$

A_{500}: جذب نمونه در زمان صفر، A_{10}: جذب نمونه در زمان ۱۰ دقیقه، Δt: برابر ۱۰ دقیقه، ΔA: برابر اختلاف بین A_{500} و A_{10} می‌باشد.

شاخص فعالیت کف‌کنندگی (Foam Activity Index) و پایداری کف (Foam Stability Index): برای بررسی شاخص فعالیت کف‌کنندگی، ۲۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ درصد پودر آبکافتی با استفاده از هموژنایزر با سرعت ۱۳۵۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق به مدت دو دقیقه هموژن شد (هموژن همراه با ترکیب شدن با هوا). نمونه هم‌زده شده به‌سرعت به سیلندرهای مدرج ۳۰۰ میلی‌لیتری منتقل و حجم مخلوط پس از ۳۰ ثانیه قرائت شد (Sathe and Salunkhe, 1981). ظرفیت کف‌کنندگی به صورت درصد بیان و از طریق رابطه ذیل محاسبه شد:

شاخص فعالیت کف(٪)= [حجم نمونه بعد از هم‌زدن - حجم نمونه قبل از هم‌زدن) / (حجم نمونه قبل از هم‌زدن] ×۱۰۰

نمونه هم‌زده شده، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سلسیوس قرار داده و حجم نمونه یادداشت شد. شاخص پایداری کف به صورت درصد بیان و از فرمول ذیل محاسبه گردید:

شاخص پایداری کف(٪)= [حجم نمونه بعد از قرارگیری در دمای ۲۰ درجه) / (حجم نمونه قبل از هم‌زدن - حجم نمونه قبل از هم‌زدن] ×۱۰۰

ظرفیت جذب چربی (Oil Absorbtion Capacity): به منظور تعیین ظرفیت جذب چربی، ۰/۵ گرم پودر آبکافتی در فالکون ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و ۱۰ میلی‌لیتر روغن ذرت به آن اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید و هر ۱۰ دقیقه، ۳۰ ثانیه هم‌زده شد و بعد از این مدت، ۲۵ دقیقه با دور ۲۰۰۰g سانتریفوژ و حجم سوپرناتانت وزن شد. جذب چربی به صورت میلی‌لیتر چربی در گرم پودر آبکافتی گزارش گردید. چسبندگی روغن به لوله آزمایش از قبل حساب شد (Shahidi *et al*., 1995).

ظرفیت نگهداری آب (Water Holding Capacity): برای اندازه‌گیری این شاخص، ۰/۲ گرم نمونه پروتئینی با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و در دمای ۲۲ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۸۰۰g سانتریفوژ و سوپرناتانت با خم‌کردن لوله آزمایش (زاویه ۴۵ درجه) به مدت ۱۰ دقیقه تخلیه شد. اختلاف حجم سوپرناتانت و حجم اولیه آب برابر است با ظرفیت

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]

نگهداری آب پپتیدها. ظرفیت نگهداری آب به صورت میلی‌لیتر آب نگهداری شده در گرم پودر پروتئینی بیان گردید (Rodríguez-Ambriz *et al*., 2005).

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تحقیق حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا و به منظور آنالیز آماری داده‌ها و رسم اشکال به‌ترتیب از نرم‌افزارهای $SPSS_{22}$ و EXEL (نسخه ۲۰۱۳) استفاده گردید. داده‌ها از طریق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) آنالیز شدند و معنی‌داری تفاوت بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

ترکیب شیمیایی سوبسترا و پودرهای آبکافتی

در جدول ۱ ترکیب شیمیایی سوبسترا و سه نوع پودر آبکافتی (پپتیدهای زیست‌فعال) متفاوت از نظر درجه آبکافت ارائه شده است. مطابق جدول ۱، سوبسترای مورد مطالعه (ضایعات میگو) بیش از ۱۴ درصد پروتئین دارد که این رقم در پودرهای آبکافتی به بیش از ۷۹ درصد افزایش یافت. در بین سه نوع پودر، بیشترین مقدار پروتئین مربوط به SPH_3 (۸۵/۵۱±۱/۵۳ ٪) بود ($p<۰/۰۵$). همان‌طوری‌که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، با افزایش درجه آبکافت، مقدار پروتئین در پودرهای آبکافتی افزایش یافت، اما اختلاف بین SPH_1 و SPH_2 معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). سه نوع پودر تولیدی از نظر مقادیر چربی و رطوبت اختلاف معنی‌داری نداشتند ($p>۰/۰۵$). اما مقدار خاکستر در SPH_3 به طور معنی‌داری کمتر از SPH_1 و SPH_2 بود ($p<۰/۰۵$). با افزایش زمان فرایند آبکافت از یک به دو و سه ساعت، درجه آبکافت و بازیابی نیتروژنی به طور معنی‌داری افزایش یافتند و بیشترین میزان این دو شاخص در SPH_3 ثبت شد (۱۸/۱۱±۱/۴۶ و ۷۹/۵۱±۰/۲۶ درصد).

جدول ۱: ترکیب شیمیایی سوبسترا و پودرهای آبکافتی حاوی پپتیدهای زیست‌فعال، درجه آبکافت و بازیافت نیتروژنی فرایند
Table 1: Chemical composition of substrate and hydrolyzed powders containing bioactive peptides, degree of hydrolysis and process nitrogen recovery

پپتیدها و سوبسترا	پروتئین (٪)	چربی (٪)	رطوبت (٪)	خاکستر (٪)	درجه آبکافت (٪)	بازیابی نیتروژنی (٪)
سوبسترا	۱۴/۹۳±۰/۱۲	۸/۳۴±۱/۳۷	۵۸/۳۱±۰/۹۶	۱۷/۱۴±۱/۴۵		
SPH_1	۷۹/۳۴±۱/۰۲^{b}	۰/۹۸±۰/۲۶^{a}	۳/۱۲±۰/۶۱^{a}	۱۵/۶۶±۲/۱۱^{a}	۸/۹۲±۰/۶۵^{c}	۶۱/۳۴±۰/۱۲^{c}
SPH_2	۷۹/۸۶±۱/۲۴^{b}	۱/۰۳±۰/۳۱^{a}	۳/۱۸±۰/۸۳^{a}	۱۵/۲۳±۱/۱۹^{a}	۱۴/۵۱±۰/۹۳^{b}	۷۲/۴۴±۰/۱۵^{b}
SPH_3	۸۵/۵۱±۱/۵۳^{a}	۰/۹۹±۰/۴۵^{a}	۳/۱۵±۰/۲۸^{a}	۹/۴۱±۰/۵۹^{b}	۱۸/۱۱±۱/۴۶^{a}	۷۹/۵۱±۰/۲۶^{a}

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌هاست ($p<۰/۰۵$).

خواص عملکردی پپتیدهای زیست‌فعال

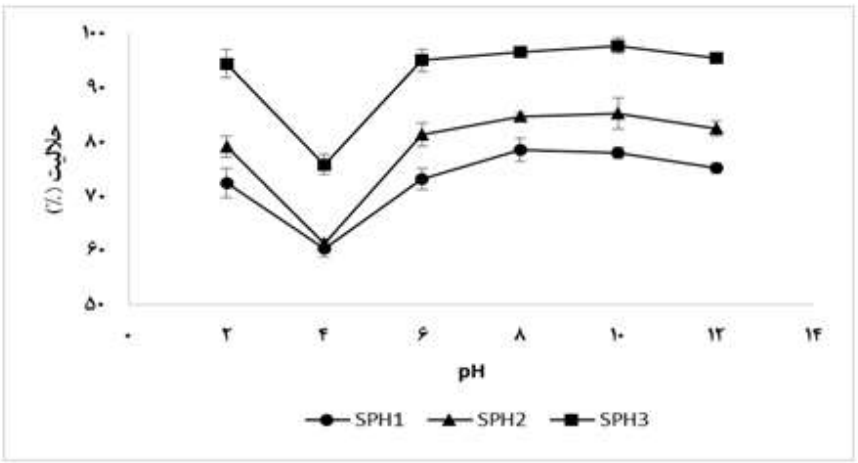
حلالیت: در شکل ۱ حلالیت سه نوع پپتید حاصل از ضایعات مراکز فراوری میگو با درجه آبکافت‌های متفاوت نشان داده شده است. به طور کلی، در تمامی pH ها به‌جز ۴، هر سه نوع پپتید از نظر حلالیت با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ارائه کردند و بیشترین حلالیت مربوط به پپتیدهایی با بیشترین درجه آبکافت (SPH_3) بود ($p<۰/۰۵$). در pH=۴، SPH_1 و SPH_2 از نظر حلالیت اختلاف قابل ملاحظه‌ای ارائه نکردند ($p>۰/۰۵$). بیشترین میزان حلالیت ثبت شده ۹۷/۸۲±۱/۵۴ درصد بود که در SPH_3 و pH=۱۰ ثبت شد. دامنه تغییرات شاخص حلالیت سه نوع پپتید در pH های مختلف ۹۸-۶۰ درصد گزارش گردید.

شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی: در شکل ۲ شاخص فعالیت امولسیفایری سه نوع پپتید متفاوت از نظر درجه آبکافت نشان داده شده است. به‌جز pH های ۲ و ۴، این شاخص در هر سه پپتید به صورت معنی‌داری متفاوت و بالاترین مقدار آن مربوط به SPH_1

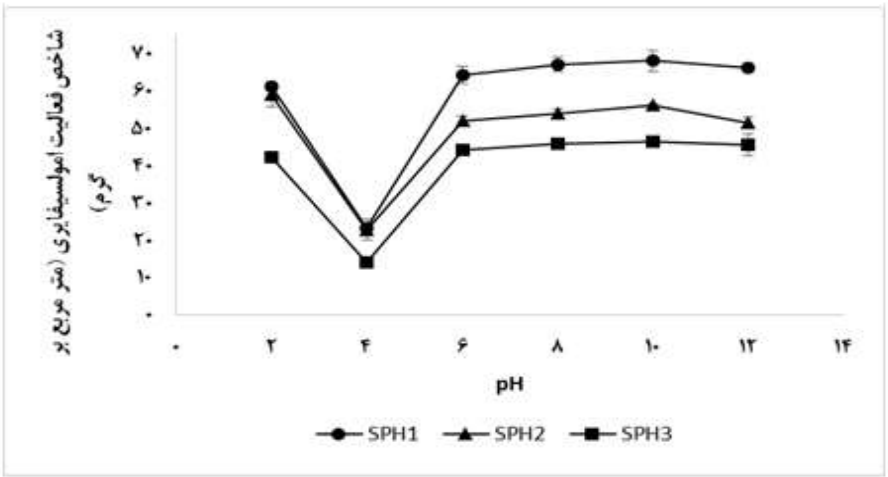
[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]

بود ($p<0/05$). در pH های ۲ و ۴ شاخص فعالیت امولسیفایری بین SPH_1 و SPH_2 اختلاف قابل ملاحظه‌ای ارائه نکرد. دامنه تغییرات شاخص مذکور در سه نوع پپتید (متفاوت از نظر درجه آبکافت) ۶۹-۱۴ متر مربع بر گرم بود (در pH های مختلف) که بیشترین میزان در SPH_1 و pH=۱۰ معادل ۲/۸۴±۶۸/۱۵ متر مربع بر گرم اندازه‌گیری شد.



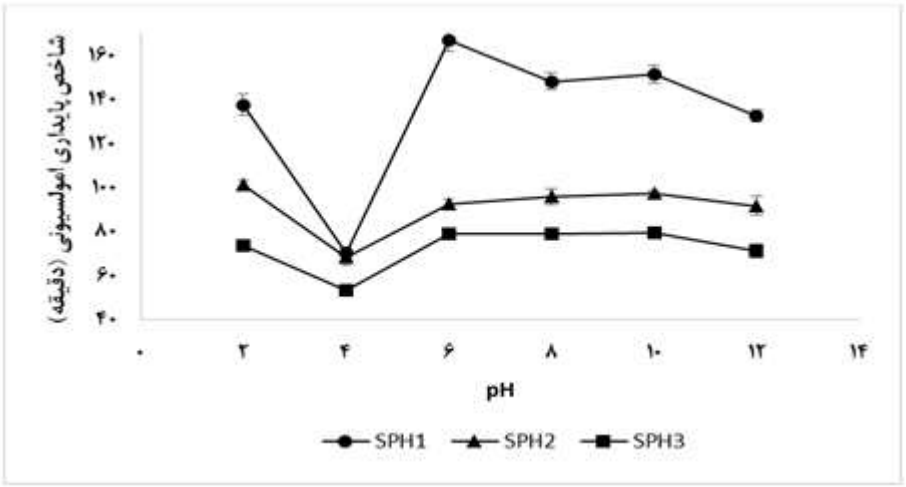
شکل ۱: حلالیت پپتیدهای زیست‌فعال در pH های مختلف
Figure 1: Solubility of bioactive peptides at different pH



شکل ۲: شاخص فعالیت امولسیفایری پپتیدهای زیست‌فعال در pH های مختلف
Figure 2: Emulsion activity index of bioactive peptides at different pH

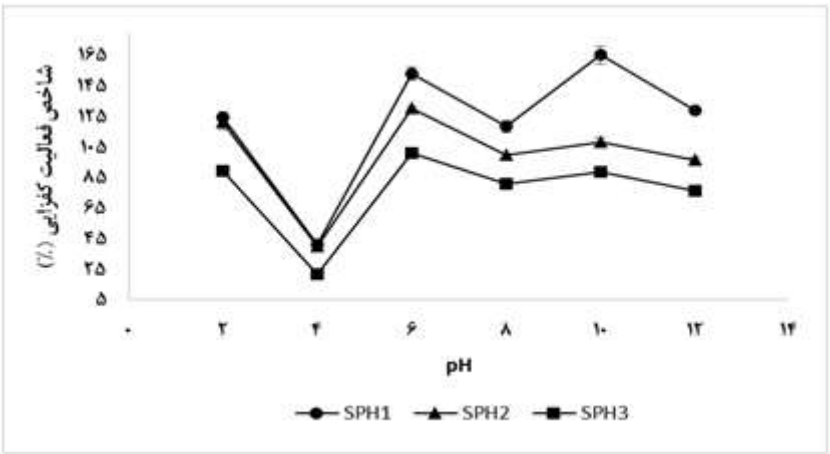
شاخص پایداری امولسیونی (شکل ۳) نیز با افزایش درجه آبکافت روند نزولی به‌خود گرفت و به‌جز pH=۴ هر سه پپتید از نظر این شاخص اختلاف معنی‌داری داشتند ($p<0/05$). در این pH اختلاف شاخص مذکور بین SPH_1 و SPH_2 معنی‌دار نبود ($p>0/05$). بیشترین حد شاخص پایداری امولسیونی در SPH_1 و pH=۶ ثبت شد (۵/۰۸±۱۶۶/۸۴ دقیقه). با توجه به درجه آبکافت پپتیدهای تولیدی و pH، شاخص پایداری امولسیونی در دامنه ۱۶۷-۵۳ دقیقه متفاوت بود.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]



شکل ۳: شاخص پایداری امولسیونی پپتیدهای زیست‌فعال در pH های مختلف
Figure 3: Emulsion stability index of bioactive peptides at different pH

شاخص فعالیت کف‌کنندگی و پایداری کف: در شکل ۴ شاخص فعالیت کف‌زایی را در سه نوع پپتید با درجه آبکافت‌های متفاوت نشان داده شده است. طبق این شکل، به‌جز pH های ۲ و ۴ هر سه پپتید از نظر خاصیت کف‌زایی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند و بیشترین مقادیر مربوط به SPH_1 می‌باشد ($p<۰/۰۵$). در pH های ۲ و ۴، SPH_1 و SPH_2 از نظر این شاخص اختلاف معنی‌داری ارائه نکردند ($p>۰/۰۵$). با توجه به یافته‌ها، افزایش درجه آبکافت در پپتیدهای تولیدی، موجب کاهش خاصیت کف‌زایی شده است. بیشترین میزان فعالیت کف‌زایی اندازه‌گیری‌شده ۵/۹۱±۱۶۵/۵۲ درصد بود که در SPH_1 و pH=۱۰ ثبت شد. پپتیدهای تولیدی در تحقیق حاضر (در pH های مختلف) توانستند ۱۶۶-۲۱ درصد کف تولید کنند.

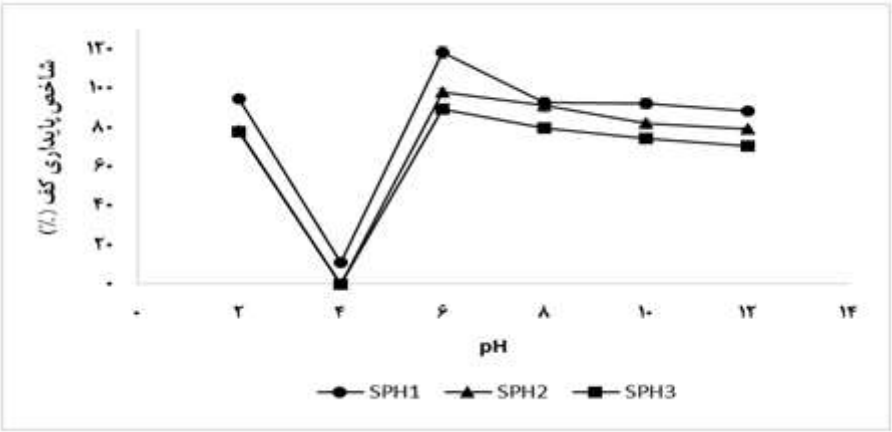


شکل ۴: شاخص فعالیت کف‌زایی پپتیدهای زیست‌فعال در pH های مختلف
Figure 4: Foaming activity index of bioactive peptides at different pH

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]

شاخص پایداری کف نیز روندی مشابه ظرفیت کف‌زایی داشت. مطابق شکل ۵، به‌جز pH های ۴،۲ و ۸، هر سه نوع پپتید از نظر شاخص پایداری کف اختلاف قابل ملاحظه‌ای ارائه کردند و بیشترین مقدار این شاخص مربوط به SPH_1 بود ($p<۰/۰۵$). در pH های ۲ و ۴، SPH_2 و SPH_3 تقریباً پایداری کف برابری داشتند ($p>۰/۰۵$). این وضعیت برای SPH_1 و SPH_2 در pH=۸ نیز مشاهده شد. حداکثر پایداری کف در بین پپتیدها، معادل ۳/۲۳±۱۱۸/۳۲ اندازه‌گیری شد که مربوط به SPH_1 در pH=۶ بود. میزان شاخص پایداری کف در دامنه ۱۱۹-۰ درصد در پپتیدهای تولیدی (با توجه به pH) متغیر بود.



شکل ۵: شاخص پایداری کف پپتیدهای زیست‌فعال در pH های مختلف
Figure 5: Foam stability index of bioactive peptides at different pH

ظرفیت جذب روغن: در جدول ۲ ظرفیت جذب روغن سه نوع پپتید متفاوت از نظر درجه آبکافت ارائه شده است. بیشترین ظرفیت جذب روغن مربوط به SPH_1 (۰/۳۳±۵/۹۲ میلی‌لیتر در گرم) بود ($p<۰/۰۵$). SPH_2 و SPH_3 از این نظر اختلاف معنی‌داری ارائه نکردند ($p>۰/۰۵$).

ظرفیت نگهداری آب: در جدول ۳ ظرفیت نگهداری آب در پپتیدهای متفاوت از نظر درجه آبکافت ارائه شده است. مطابق جدول، روند این ظرفیت در پپتیدها با افزایش درجه آبکافت، افزایشی می‌باشد. بیشترین ظرفیت نگهداری آب نیز مربوط به SPH_3 (۰/۷۱±۵/۱۸ میلی‌لیتر در گرم) بود ($p<۰/۰۵$).

جدول ۲: ظرفیت جذب روغن پپتیدهای زیست‌فعال
Table 2: Oil absorption capacity of bioactive peptides

پپتیدهای زیست‌فعال	ظرفیت جذب روغن (میلی‌لیتر در گرم)
SPH_1	۰/۳۳±۵/۹۲[a]
SPH_2	۰/۱۲±۴/۱۸[b]
SPH_3	۰/۶۹±۴/۳۶[b]

حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌هاست ($p<۰/۰۵$).

جدول ۳: ظرفیت نگهداری آب پپتیدهای زیست‌فعال
Table 3: Water holding capacity of bioactive peptides

پپتیدهای زیست‌فعال	ظرفیت نگهداری آب (میلی‌لیتر در گرم)
SPH_1	۰/۱۴±۲/۸۶[a]
SPH_2	۰/۴۳±۳/۹۱[b]
SPH_3	۰/۷۱±۵/۱۸[c]

حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌هاست ($p<۰/۰۵$).

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]

بحث

به طور کلی، پودرهای تولیدی در پژوهش حاضر نسبت به سایر مطالعات مشابه حاوی مقادیر برابر یا بیشتری از پروتئین بودند. پودرهای پروتئینی تولیدی در تحقیق ریحانی پول و همکاران (۱۳۹۵) با استفاد از سه آنزیم (فلاورزایم، پاپائین و پپسین) ۸۳-۷۱ درصد پروتئین داشتند. اویسی‌پور و همکاران (۲۰۰۹) طی پژوهشی ضایعات ماهی خاویاری[1] (قره برون) را با استفاده از پنج آنزیم آلکالاز، پروتامکس، فلاورزایم، نئوتراز و تریپسین آبکافت کردند. همه پودرهای پروتئینی تولیدشده بالای ۶۹ درصد پروتئین داشتند. Taheri و همکاران (۲۰۱۳) از آبکافت ضایعات ماهی قزل‌آلا با آنزیم آلکالاز به پودری با ۰/۰۷±۸۸/۳۲ درصد پروتئین دست یافتند که مقدار قابل توجهی است و هیچ‌یک از پودرهای تولیدی در تحقیق حاضر تا این حد حاوی پروتئین نبودند. پروتئین‌هایی که طی ۹۰ دقیقه آبکافت اندرونه ماهی تون زرد باله[2] با استفاده از آلکالاز، پروتامکس و فلاورزایم تولید شدند، به‌ترتیب دارای ۳/۲±۷۲/۳۴، ۲/۲±۶۷/۳۶، ۱/۵۶±۶۳/۶۸ درصد پروتئین بودند (اویسی‌پور و همکاران، ۱۳۸۹). پروتئین آبکافتی تولیدی از فریم و سر ماهی کپور معمولی با استفاده از آنزیم نئوتراز ۷۶-۶۸ درصد پروتئین داشت (ریحانی‌پول و جعفرپور، ۱۳۹۶). در پژوهش حاضر، پودری که دارای بیشترین درجه آبکافت بود، دارای بالاترین میزان پروتئین نیز بود. اما این یک نتیجه مطلق و ثابت نیست. برای مثال، در مطالعه Pacheco-Aguilar و همکاران (۲۰۰۸) از بین سه نوع پروتئین تولیدی با درجه آبکافت‌های ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد، بیشترین مقدار پروتئین مربوط به پودر با درجه آبکافت ۱۰ درصد بود. در مطالعه Souissi و همکاران (۲۰۰۷) نیز چنین نتیجه‌ای ثبت شد. البته در برخی از تحقیقات نیز مانند پژوهش حاضر بیشترین مقدار پروتئین در پودری با بالاترین درجه آبکافت ثبت شد (ریحانی‌پول و جعفرپور، ۱۳۹۶). احتمالاً با افزایش زمان آبکافت و متعاقباً افزایش درجه آبکافت، پپتیدهای بیشتری از ناخالصی‌های سوبسترا جدا می‌شوند که در نتیجه پودری با بالاترین درجه آبکافت، محتوی بیشترین مقدار پروتئین است. یکی از شاخص‌های مهم برای ارزیابی فرایند آبکافت، شاخص بازیابی نیتروژنی است. این شاخص که نشان‌دهنده خلوص و گرم پروتئین آبکافتی نسبت به مقدار پروتئین سوبستراست، با افزایش درجه آبکافت به طور معناداری افزایش یافت. این رابطه مستقیم بین درجه آبکافت و بازیابی نیتروژنی در مطالعه Pacheco-Aguilar (۲۰۰۸) و ریحانی‌پول و همکاران (۱۳۹۶) نیز مشاهده شد. همچنین در مطالعه‌ای که ضایعات ماهی قزل‌آلا با استفاده از آنزیم‌های مختلف آبکافت و سه نوع پروتئین با درجه آبکافت‌های مختلف تولید شد، بیشترین درصد بازیافت نیتروژنی در پودری با بالاترین درجه آبکافت گزارش شد (ریحانی‌پول و همکاران، ۱۳۹۵).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پپتیدهای تولیدی از ضایعات مراکز فراوری میگو، حلالیت مطلوبی دارند. به‌طوری‌که این شاخص در SPH_3 حدود ۹۸-۷۵ درصد متغیر بود که این مقدار برای حلالیت پپتیدها، رقم قابل توجهی است. در سایر مطالعاتی که خواص عملکردی پروتئین‌های آبکافتی (پپتیدهای زیست‌فعال) حاصل از آبزیان بررسی شد نیز حلالیت این پپتیدها معمولاً بالای ۷۰ درصد گزارش شده است (Klompong *et al*., 2007; Souissi *et al*., 2007; Pacheco-Aguilar *et al*., 2008; Taheri *et al*., 2013). علت اصلی افزایش حلالیت پپتیدهای زیست‌فعال با افزایش درجه آبکافت این است که با افزایش درجه آبکافت، اندازه پپتیدها و شمار اسیدهای آمینه آزاد افزایش می‌یابد. لذا، با کاهش وزن مولکولی پروتئین، بر حلالیت این پروتئین‌ها افزوده می‌شود (Gauthier *et al*., 1993; Mahmoud, 1994). در سایر مطالعات نیز مانند تحقیق حاضر رابطه مستقیمی بین درجه آبکافت و حلالیت پروتئین‌ها گزارش شده است (ریحانی‌پول و جعفرپور، ۱۳۹۶؛ Souissi *et al*., 2007). در تحقیق حاضر، شاخص فعالیت امولسیفایری برای SPH_1 حدود ۶۸-۲۳ متر مربع بر گرم و شاخص پایداری امولسیونی برای این پپتید حدود ۱۵۰-۷۰ دقیقه متغیر بود (pH های مختلف). این اعداد و ارقام نشان می‌دهد که

[1] *Acipenser persicus*
[2] *Thunnus albacares*

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]

پپتیدهای تولیدی از قابلیت استفاده به عنوان امولسیفایر برخوردارند. شاخص فعالیت امولسیفایری پروتئین آبکافتی تولیدی از اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان حدود ۸۰-۲۰ مترمربع برگرم در pH های مختلف متفاوت گزارش شد (Taheri *et al*., 2013). در تحقیقی که خواص پروتئین آبکافتی تولیدی از بافت ماهی کپور کاتلا با استفاده از آنزیم‌های مختلف مورد مقایسه قرار گرفت، بیشترین رقمی که برای شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی پروتئین‌ها ثبت شد، به‌ترتیب۱/۲۷±۵۲/۷۶ متر مربع برگرم و ۲۱/۳۴ ± ۸۵/۴۶ دقیقه بود (Elavarasan *et al*., 2014). پروتئین آبکافتی مطلوب از نظر امولسیفایری، پروتئینی است که بتواند یک لایه کاملاً متراکم به‌هم پیوسته در سطح مشترک به‌وجود آورد به‌طوری‌که گروه‌های قطبی (اسیدهای آمینه) با فاز آبی و زنجیره‌های هیدروکربن (گروه غیر قطبی) با فاز روغن برهمکنش نمایند (رضوی شیرازی، ۱۳۸۰). عوامل مختلفی از جمله ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی مولکول پروتئین، توالی و ترکیب اسیدهای آمینه و ویژگی آمفیفیلیک[1] در مولکول پروتئین، سرعت هموژن‌کردن مخلوط، منبع پروتئین، دما، نوع روغن مصرفی برای آزمایش و محتوی آب مخلوط، ویژگی‌های امولسیونی پپتیدهای زیست‌فعال را تحت تاثیر قرار می‌دهند. pH از طریق تاثیری که بر حلالیت و سطوح هیدروفوبی مولکول پروتئین دارد، می‌تواند در این زمینه موثر باشد (Linder *et al*., 1996; Kristinsson and Rasco, 2000; Rahali *et al*., 2000). درجه آبکافت به‌واسطه اثری که بر وزن مولکولی دارد، می‌تواند شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی را تحت تاثیر قرار دهد. با افزایش درجه آبکافت، وزن مولکولی پروتئین‌ها کاهش می‌یابد و این عامل موجب می‌شود از خاصیت امولسیفایری پروتئین کاسته شود. با این توضیح که پپتیدهایی با وزن کم به‌سرعت به طرف سطح مشترک دو فاز حرکت می کنند و جذب این سطح می‌شوند، اما اثر چندانی بر کاهش کشش سطحی میان این دو فاز ندارند، زیرا فاقد توانایی تغییر جهت و بازآرایی در این سطح هستند (Rahali *et al*., 2000). دلیل دیگری که موجب کاهش شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی با افزایش درجه آبکافت می‌گردد، مربوط به خواص آمفیفیلیک پپتیدهاست. پپتیدهایی با وزن مولکولی کم فاقد خواص آمفیفیلیک کافی برای ارائه ویژگی امولسیفایری ایده‌آل هستند (Chobert *et al*., 1988). در مطالعات ریحانی‌پول و جعفرپور (۱۳۹۶) و Klompong و همکاران (۲۰۰۷) نیز مانند تحقیق حاضر، روند کاهشی شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی با افزایش درجه آبکافت گزارش گردید. ویژگی‌های امولسیفایری پروتئین آبکافتی با کنترل دقیق حد آبکافت، بهبود می‌یابد. زیرا آبکافت گسترده به‌شدت ویژگی امولسیفایری را کاهش می‌دهد (Mahmoud, 1994).

با توجه به ارقامی که برای ظرفیت کف‌زایی و پایداری کف پپتیدهای حاصل از آبکافت ضایعات میگو گزارش شد، می‌توان نتیجه گرفت که این پپتیدها قابلیت کف‌زایی بالایی دارند و می‌توانند کف تولیدی را برای زمان‌های قابل توجهی حفظ کنند. SPH_1 توانست حدود ۱۵۳-۴۰ درصد در pH های مختلف کف تولید کرده و پس از سی دقیقه حدود ۹۵-۱۱ درصد آن را حفظ کند. شاخص کف‌زایی و پایداری کف پروتئین آبکافتی حاصل از اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با آنزیم آلکالاز در pH های ۱۰-۲ به‌ترتیب حدود ۲۵۰-۸۰ و ۱۰۰-۳۰ درصد متفاوت بود (Taheri *et al*., 2013). تحقیقی که ظرفیت کف‌زایی و پایداری کف سه پروتئین تولیدی متفاوت از نظر درجه آبکافت (۵، ۱۰ و ۲۵ درصد) از ماهی تراولی نوار زرد[2] با استفاده از فلاورزایم را مورد بررسی قرار داد، گزارش کرد دامنه تغییر این دو شاخص در سه پروتئین (در pH های مختلف) به‌ترتیب (حدود) ۱۶۰-۵۰ و ۱۴۰-۲۰ درصد است. همچنین در این مطالعه هم مانند پژوهش حاضر، کاهش این دو شاخص با افزایش درجه آبکافت تائید شد (Klompong *et al*., 2007). این نتیجه در مطالعه ریحانی‌پول و جعفرپور (۱۳۹۶) نیز گزارش شده است. پروتئینی دارای قدرت کف‌زایی بالاست که بتواند سریع‌تر به سطح مشترک آب و هوا مهاجرت کند و در نتیجه

[1] Amphiphilic

[2] *Selaroides leptolepis*

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]

کاهش کشش سطحی، ساختارش از حالت پیچ و تاب خارج (باز) شود و مجدداً بازآرایی شود. در روند جذب (مهاجرت) پروتئین به سطح مشترک آب – هوا، عواملی مانند اندازه، ساختار و گروه‌های آبگریز مولکول پروتئینی، منبع پروتئین و روش آبکافت دخیل هستند (Taheri *et al*., 2013). یکی از مواردی که در پایداری کف موثر است، پروفیل اسیدهای آمینه پپتیدهای زیست‌فعال است. وجود دو اسیدآمینه هیدروکسی‌پرولین[1] و هیدروکسی‌لایزین[2] در پپتیدهای زیست‌فعال موجب افزایش شمار پیوندهای هیدروژنی و متعاقب تراکم بار پروتئین می‌شود. به این طریق این دو اسیدآمینه کف را پایدار می‌کنند (Giménez *et al*., 2009). به طور کلی، ویژگی‌های کف‌زایی و پایداری کف غالباً تحت تاثیر ساختار پپتید، ترکیب اسیدهای آمینه، بار شبکه و مولکول پروتئین و نیز پراکنش این بار هستند (Adler-Nissen, 1986). همان‌طوری‌که در جداول مربوطه مشاهده می‌شود، در pH=۴ شاخص فعالیت کف‌زایی و پایداری کف به‌شدت کاهش داشته است به‌خصوص که شاخص پایداری کف برای SPH_2 و SPH_3 به صفر رسیده است. علت این امر کاهش حلالیت پروتئین‌ها در این pH است (Pearson, 1983). زیرا این pH در محدوده pH ایزوالکتریک پروتئین آبزیان قرار دارد و پروتئین‌ها در این حالت رسوب می‌کنند و کارائی چندانی ندارند. علت رسوب پروتئین‌های آبزیان در این pH این است که در این نقطه مجموع بار مثبت و منفی رشته‌های پپتیدی با هم برابر است و پپتید از توانایی نگهداری آب برخوردار نمی‌باشد (Chobert *et al*., 1988; Linder *et al*., 1996). علت کاهش شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی در محدوده این pH نیز همین امر است. با کاهش حلالیت در pH=۴ از توانایی رشته‌های پپتید برای حرکت سریع به سمت سطح مشترک دو فاز کاسته می‌شود. ضمن اینکه بار شبکه پپتید در این pH به حداقل خود رسیده است و خاصیت امولسیفایری پپتیدهای زیست‌فعال کمینه می‌شود (Mutilangi *et al*., 1996; Klompong *et al*., 2007).

عوامل مختلفی در میزان ظرفیت جذب روغن پپتیدهای زیست‌فعال موثرند که از جمله این عوامل می‌توان به سطوح هیدروفوب (آبگریز) پپتیدهای زیست فعال (Kristinsson and Rasco, 2000)، چگالی توده‌ای پروتئین (Kinsella, 1976)، درجه آبکافت (Souissi *et al*., 2007) و اختصاصات آنزیم- سوبسترا (Haque, 1993) اشاره کرد. یکی دیگر از عوامل تاثیرگذار در ظرفیت جذب روغن پپتیدهای زیست‌فعال، ترکیب اسیدهای آمینه آنهاست. بدین‌ترتیب، هر چه غلظت (میزان) اسیدآمینه‌های هیدروکسی‌پرولین، آسپارتیک‌اسید[3]، گلوتامیک‌اسید[4]، لایزین[5] و آرژنین[6] در یک نوع پپتید بیشتر باشد، آن پپتید میلی‌لیتر روغن بیشتری جذب خواهد کرد (Šližytė *et al*., 2009). به طور کلی، در تحقیق حاضر روند ظرفیت جذب روغن با افزایش درجه آبکافت، کاهشی بود. اگرچه اختلاف بین SPH_2 و SPH_3 از این نظر معنی‌دار نبود. افزایش درجه آبکافت موجب کاهش اندازه پپتیدها، افزایش انعطاف‌پذیری و تجزیه هیدرولیتیک پروتئین‌ها می‌شود که مجموع این عوامل ظرفیت جذب روغن در پروتئین را کاهش می‌دهند (Kristinsson, 1998; Souissi *et al*., 2007). در سایر مطالعات مشابه انجام شده نیز این روند کاهشی ظرفیت جذب روغن با افزایش درجه آبکافت مشاهده شد (Wasswa *et al*., 2007). در مطالعه‌ای که اثر درجه آبکافت بر ظرفیت جذب روغن پروتئین تولیدی از فریم و سر ماهی کپور معمولی ارزیابی شد، روند کاهشی این ظرفیت با افزایش درجه آبکافت گزارش گردید (ریحانی‌پول و جعفرپور، ۱۳۹۶). تحقیقاتی هم وجود رابطه مستقیم یا عکس بین درجه آبکافت و ظرفیت جذب روغن را رد کرده‌اند (Souissi *et al*., 2007).

مقایسه ظرفیت نگهداری آب پپتیدهای تولیدی در تحقیق حاضر (به‌ویژه SPH_3) با سایر مطالعات نشان داد که این

[1] Hydroxyproline
[2] Hydroxylysine
[3] Aspartic acid
[4] Glutamic acid
[5] Lysine
[6] Arginine

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]

پپتیدها ظرفیت نسبتاً بالاتری برای نگهداری آب دارند. دو پروتئین آبکافتی که از سوبسترای فیله ماهی[1] با استفاده از آنزیم‌های آلکالاز و فلاورزایم تولید شدند، به‌ترتیب ظرفیت نگهداری آب ۲/۴ و ۳/۷ گرم آب بر گرم پروتئین را ارائه کردند (Dos Santos *et al.*, 2011). ظرفیت نگهداری آب در پروتئین‌های آبکافتی که از اندرونه ماهی قزل آلای رنگین‌کمان با استفاده از آنزیم‌های پپسین و پاپائین تولید شدند، به‌ترتیب ۲/۰۱ و ۳/۸۴ میلی‌لیتر بر گرم گزارش گردید (ریحانی‌پول و همکاران، ۱۳۹۵). عوامل مختلفی از جمله تعداد و نسبت گروه‌های قطبی و غیرقطبی (اسیدهای آمینه آبدوست و آبگریز) و ترکیب اسیدهای آمینه بر ظرفیت نگهداری آب پپتیدها موثرند. به‌طوری‌که هرچه تعداد (غلظت) گروه‌های قطبی مانند COOH (کربوکسیل) و NH_2 (آمین) در یک پپتید بیشتر باشد، آن پپتید از قابلیت نگهداری مقادیر بیشتری از آب برخوردار است (Kristinsson and Rasco, 2000). وجود دو اسیدآمینه گلوتامیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید در یک پپتید نیز به جذب و نگهداری آب بیشتری کمک می‌کند (Deeslie and Cheryan, 1988). مطابق نتایج، روند ظرفیت نگهداری آب در پپتیدها با افزایش درجه آبکافت، افزایشی می‌باشد. مطالعات Wasswa و همکاران (۲۰۰۷) و ریحانی‌پول و جعفرپور (۱۳۹۶) روند افزایشی ظرفیت نگهداری آب پروتئین‌ها را با افزایش درجه آبکافت گزارش کردند.

مطابق نتایج تحقیق حاضر، پپتیدهای زیست‌فعال حاصل از آبکافت ضایعات مراکز فراوری میگو در مقایسه با پپتیدهای تولیدی از سایر منابع، از نظر خواص عملکردی در سطح بسیار مطلوبی قرار دارند. لذا، کاربرد آنها در صنایع غذایی به عنوان امولسیفایر، کف‌زا، نگهدارنده آب فراورده و ... مورد تائید است. اگرچه استفاده از این پپتیدها در هر ماده غذایی و به هر جهتی، با توجه به نوع محصول و شرایط نگهداری آن، نیازمند انجام آزمایش‌های دقیق‌تر است.

[1] *Prionotus punctatus*

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تحت قرارداد با شماره ۰۲-۱۴۰۰-۰۳ انجام شد که بدین‌وسیله سپاسگزاری می‌شود.

منابع

اویسی پور، م. و قمی م. ر.، ۱۳۸۷. بیوتکنولوژی در تولید فراورده‌های دریایی. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن. ۱۰۴- ۳۷.

اویسی پور، م.، عابدیان کناری، ع.، معتمدزادگان، ع. و نظری، ر.، ۱۳۸۹. بررسی خواص پروتئین‌های هیدرولیز شده امعاء و احشاء ماهی تون زردباله (*Thunnus albacares*) با استفاده از آنزیم های تجاری. پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، ۶ (۱): ۷۶-۶۸.

درجانی، پ.،۱۳۹۲. پپتیدهای زیست‌فعال حاصل از گوشت و فراورده‌های جانبی گوشت. بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران، دانشگاه شیراز.

رضوی شیرازی، ح.، ۱۳۸۰. تکنولوژی فراورده‌های دریایی، علم فراوری (۲). انتشارات نقش مهر.چاپ دوم، ۹۱-۱۴.

ریحانی‌پول، س.، جعفرپور، ع. و صفری، ر.، ۱۳۹۵. خواص کارکردی و آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی تولیدشده از اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده از روش آنزیمی. علوم و فنون شیلات، ۵ (۴): ۲۸-۱۳

ریحانی‌پول، س. و جعفرپور. ع.، ۱۳۹۶. اثر درجه آبکافت بر خواص عملکردی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی تولیدشده از فریم و سر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). علوم و صنایع غذایی ایران، ۶۸ (۱۴): ۱۲۴-۱۱۳.

ریحانی‌پول، س.، عالیشاهی، ع.، عادلی، ا.، نرگسیان، ع. و اجاق، م.، ۱۳۹۸. مطالعه رفتار، اولویت‌ها و موانع مصرف میگو در کشور. مجله علمی شیلات ایران، ۲۸(۶): ۴۶-۳۵. DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119783.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]

شعبانپور، ب.، کردجزی، م. و نظری، خ.، ۱۳۹۴. بهینه‌سازی شرایط هیدرولیز آنزیمی پروتئین ضایعات سر سینه میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) با استفاده از روش پاسخ سطح. بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۴ (۳): ۵۰-۲۹.

صفری، ر.، نصرالله‌زاده، ح.، فارابی، و.، جعفری، ع.، قیاسی، م.، بینایی، م. و افرایی ، م.، ۱۳۹۹. تولید سیلاژ بیولوژیک از ضایعات طیور و تاثیر آن بر شاخص‌های رشد و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، گزارش نهایی، ۱۱۲ص.

یگانه، س.، اسماعیلی، م. و احمدی، ح.، ۱۳۹۹. تاثیر زمان آبکافت بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی حاصل از سر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۹ (۶): ۴۲-۲۹. DOI: 10.22092/ISFJ.2021.123536

Adler-Nissen, J., 1986. Enzymatic hydrolysis of food proteins. London: Elsevier Applied Science. pp. 57–109.

Chobert, J.M., Bertrand-Harb, C. and Nicolas, M.G., 1988. Solubility and emulsifying properties of caseins and whey proteins modified enzymically by trypsin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(5): 883-892. DOI: 10.1021/jf00083a002

Deeslie, W.D. and Cheryan, M., 1988. Functional properties of soy protein hydrolyzates from a continuous ultrafiltration reactor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(1): 26-31.

Dos Santos, S.D.A., Martins, V.G., Salas-Mellado, M. and Prentice, C., 2011. Evaluation of functional properties in protein hydrolysates from bluewing searobin (*Prionotus punctatus*) obtained with different microbial enzymes. *Food and Bioprocess Technology*, 4(8): 1399-1406. DOI:10.1007/s11947-009-0301-0

Elavarasan, K., Naveen Kumar, V. and Shamasundar, B.A., 2014. Antioxidant and functional properties of fish protein hydrolysates from fresh water carp (*Catla catla*) as influenced by the nature of enzyme. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3): 1207-1214. DOI:10.1111/jfpp.12081

Gauthier, S.F., Paquin, P., Pouliot, Y. and Turgeon, S., 1993. Surface activity and related functional properties of peptides obtained from whey proteins. *Journal of Dairy Science*, 76(1): 321-328. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(93)77353-1

Giménez, B., Gómez-Estaca, J., Alemán, A., Gómez-Guillén, M.C. and Montero, M.P., 2009. Physico-chemical and film forming properties of giant squid (*Dosidicus gigas*) gelatin. *Food Hydrocolloids*, 23(3): 585-592. DOI:10.1016/j.foodhyd.2008.07.003

Haque, Z.U., 1993. Influence of milk peptides in determining the functionality of milk proteins: a review. *Journal of Dairy science*, 76(1): 311-320. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(93)77352-X

Hoyle, N.T. and Merritt, J.O.H.N., 1994. Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*, 59(1): 76-79. DOI:10.1111/j.1365-2621.1994.tb06901.x

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]

Kim, S.K. and Wijesekara, I., 2010. Development and biological activities of marine-derived bioactive peptides: A review. *Journal of Functional Foods*, 2(1): 1-9. DOI:10.1016/j.jff.2010.01.003

Kinsella, J.E., 1976 . Functional properties of proteins in food: A survey,Crit. Rev. *Food Science & Nutrition*, 8: 219–280. DOI:10.1080/10408397609527208.

Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D. and Shahidi, F., 2007. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry*, 102(4): 1317-1327. DOI:10.1016/j.foodchem.2006.07.016

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

Layne, E., 1957. Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. *Methods in Enzymology*, 3: 447-454. DOI:10.1016/S0076-6879(57)03413-8

Linder, M., Fanni, J. and Parmentier, M., 1996. Functional properties of veal bone hydrolysates. *Journal of Food Science*, 61(4): 712-716. DOI:10.1111/j.1365-2621.1996.tb12187.x

Mahmoud, M.I., 1994. Physicochemical and functional properties of protein hydrosylates in nutritional products. *Food Technology*, 48(10): 89-95.

Mutilangi, W.A. M., Panyam, D. and Kilara, A., 1996. Functional properties of hydrolysates from proteolysis of heat-denatured whey protein isolate. *Journal of Food Science*, 61(2): 270-275. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1996.tb14174.x

Ovissipour, M., Benjakul, S., Safari, R. and Motamedzadegan, A., 2010. Fish protein hydrolysates production from yellowfin tuna *Thunnus albacares* head using alcalase and protamex. *International Aquatic Research*, 2: 87-95.

Ovissipour, M., Safari, R., Motamedzadegan, A. and Shabanpour, B., 2012. Chemical and biochemical hydrolysis of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) visceral protein. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2): 460-465. DOI: 10.1007/s11947-009-0284-x

Pacheco-Aguilar, R., Mazorra-Manzano, M.A. and Ramírez-Suárez, 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

Pearce, K.N. and Kinsella, J.E., 1978. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(3): 716-723. DOI:10.1021/jf60217a041

Pearson, A.M., 1983. Soy proteins. In B. J. F. Hudson (Ed.), Developments in food

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]

proteins-2. Essex, England: Applied Science Publishers. pp. 67–108

Rahali, V., Chobert, J.M., Haertle, T. and Gueguen, J., 2000. Emulsification of chemical and enzymatic hydrolysates of β-lactoglobulin: characterization of the peptides adsorbed at the interface. *Food/Nahrung*, 44(2): 89-95. DOI: 10.1002/(SICI)1521-3803(20000301)44:2%3C89::AID-FOOD89%3E3.0.CO;2-U

Robinson, H.W. and Hogden, C.G., 1940. The biuret reaction in the determination of serum proteins. 1. A study of the conditions necessary for the production of a stable color which bears a quantitative relationship to the protein concentration. *Journal of Biological Chemistry*, 135: 707-725.

Rodríguez-Ambriz, S.L., Martinez-Ayala, A.L., Millán, F. and Davila-Ortiz, G., 2005. Composition and functional properties of Lupinus campestris protein isolates. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60(3): 99-107.

Sathe, S. K. and Salunkhe, D. K., 1981. Functional properties of the Great Northern bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins: Emulsion, foaming, viscosity, and gelation properties. *Journal of Food Science*, 46(1): 71-81. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1981.tb14533.x

Safari, R., Motamedzadegan, A., Ovissipour, M., Regenstein, J. M., Gildberg, A. and Rasco, B., 2012. Use of hydrolysates from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) heads as a complex nitrogen source for lactic acid bacteria. *Food and Bioprocess Technology*, 5(1): 73-79. DOI:10.1007/s11947-009-0225-8

Shahidi, F., Han, X.Q. and Synowiecki, J., 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemistry*, 53(3): 285-293. DOI:10.1016/0308-8146(95)93934-J

Šližytė, R., Mozuraitytė, R., Martínez-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

Souissi, N., Bougatef, A., Triki-Ellouz, Y. and Nasri, M., 2007. Biochemical and functional properties of sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. *Food Technology and Biotechnology*, 45(2): 187.

Taheri, A., Anvar, S.A.A., Ahari, H. and Fogliano, V., 2013. Comparison the functional properties of protein Hydrolysates from poultry byproducts and rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) viscera. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(1): 154-169.

Wasswa, J., Tang, J., Gu, X. H. and Yuan, X.Q., 2007. Influence of the extent of enzymatic 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.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]

Evaluation of functional properties of bioactive peptides produced from shrimp wastes in processing centers using protamex enzyme in different degrees of hydrolysis

Yeganeh S.[1]*; Reyhani Poul S.[2]

*s.yeganeh@sanru.ac.ir, skyeganeh@gmail.com

1- Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
2- Department of Processing of Fishery Products, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Abstract

The aim of this study was to investigate the functional properties of bioactive peptides produced from shrimp wastes in processing centers in three degrees of hydrolysis. For this purpose, the wastes of shrimp processing centers were hydrolyzed in three times of one, two and three hours using protamex enzyme and the functional properties of the resulting peptides (SPH_1, SPH_2 and SPH_3) were evaluated. The results showed that with increasing the hydrolysis time from one to two and three hours, the degree of hydrolysis and nitrogen recovery of the process increased significantly ($p<0.05$). According to the findings, the solubility of SPH_3 was significantly higher than SPH_1 and SPH_2 and its maximum was reported at pH=10, equal to 97.82±1.54% ($p<0.05$). SPH_1 had higher emulsifying activity and emulsion stability index than SPH_2 and SPH_3. In this peptide, the highest value of emulsifying activity index was reported 68.15±2.84 m^2/g, which was related to pH=10. But the maximum emulsion stability index was reported at pH=6 (166.84±5.08 minute). The highest measured foaming activity was 165.52±5.91% which was recorded at SPH_1 and pH=10. Also, the maximum foam stability among the peptides was measured 118.32±3.23%, which was related to SPH_1 at pH=6. SPH_1 had a higher oil absorption capacity (5.92±0.33 ml/g) than SPH_2 and SPH_3 ($p<0.05$). The highest water holding capacity (5.18±0.71 ml/g) was related to SPH_3 ($p<0.05$). According to the findings, the functional properties of peptides produced from wastes of shrimp processing centers using protamax enzyme are at an acceptable level for use in various foods.

Keywords: Shrimp wastes, Protamex, Bioactive peptides, functional properties of peptides

*Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1400.30.5.7.0]