

## Effect of amino acid fertilizer derived from common carp (*Cyprinus carpio*) waste on growth indices and quality attributes of tomato (*Solanum lycopersicum*) under greenhouse conditions

Safari R.<sup>1</sup>; Yaghoubzadeh Z.<sup>1\*</sup>; Turk-Pahnabi F.<sup>1</sup>

\*za\_yaghoub@yahoo.com

1-Caspian Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran

Received: October 2025

Accepted: December 2025

Published: May 2026



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

### Introduction

Amino acid fertilizers are recognized as effective bio-stimulants that contain both free and bound amino acids, playing vital roles in enhancing plant growth, development, and stress resilience (Rouphael and Colla, 2020). These compounds serve as fundamental components of proteins, supplying essential nitrogen and carbon, while also boosting metabolic processes and improving crop quality (Garcia and Perez, 2021). Common sources of amino acid fertilizers include plant, microbial, and animal proteins, which undergo hydrolysis to release peptides and amino acids that plants can readily absorb (Chen *et al.*, 2019). Tomato, a major greenhouse crop, has shown significant improvements in chlorophyll content, vegetative growth, yield, and quality when treated with amino acid fertilizers (Gasana and Kim, 2020). Specific amino acids such as lysine, arginine, and proline are known to help plants withstand environmental stresses like drought, salinity, and temperature variations (Garcia and Perez, 2021). A sustainable and innovative source for these fertilizers is fish processing waste, particularly from common carp, which is rich in proteins. Repurposing these by-products not only reduces environmental impact but also creates valuable agricultural inputs. Previous research confirms that fish waste-derived amino acid fertilizers can enhance plant growth, increase fruit yield, and improve biochemical traits such as protein and chlorophyll levels (Chen *et al.*, 2019). Given the rising demand for sustainable agriculture, this study explores the potential of amino acid fertilizers made from carp waste to support eco-friendly tomato production (Rouphael and Colla, 2020).

### Methodology

The research was carried out at the Caspian Sea Ecology Research Center in Sari, Iran. Common carp waste including skin, viscera, heads, and fins was collected from local markets, frozen, and processed via enzymatic hydrolysis using Alcalase and Flavourzyme (Safari *et al.*, 2016; Safari *et al.*, 2018; Safari *et al.*, 2020). The process included pasteurization, enzyme treatment under controlled pH and temperature, and heat inactivation. The resulting hydrolysate was then centrifuged, filtered, and stored for further analysis.

Chemical and physicochemical properties such as total protein, soluble protein, peptide size, degree of hydrolysis, ash, fat, moisture, nitrogen, phosphorus, potassium, pH, salinity, and amino acid composition were evaluated using standard methods (Hesse, 1971; Adler-Nissen and Olsen, 1979; James, 1995; Moore, 2004; AOAC, 2005; ISIRI, 2008a, b, c; APHA, 2017).

Microbiological safety was verified through tests for aerobic bacteria, yeast, mold, coliforms, *E. coli*, and *Salmonella* (Sallam, 2007; ISIRI 8923-1, 2007; ISO 21527-1, 2008; Hernández *et al.*, 2009; ISIRI 11166, 2010; ISIRI 10889-3, 2013; ISO 4833-1, 2013; ISIRI 13321-2, 2014). A greenhouse trial using a completely randomized design tested five treatments: control, enzyme hydrolysate, enzyme hydrolysate enriched with phosphorus and potassium, a domestic commercial fertilizer, and an imported commercial fertilizer. Tomato seedlings in pots received weekly foliar applications, and parameters related to growth and quality such as plant height, leaf count, leaf area, fruit yield, chlorophyll, TSS, lycopene, and vitamin C were measured (Abbasi *et al.*, 2003; Boras *et al.*, 2011). Data were analyzed using ANOVA and Duncan's test.

## Results

The hydrolysis process significantly increased total protein content from 15.17% in raw waste to 76.61% in the final product. Fat and moisture decreased, while ash and organic nitrogen levels rose. The hydrolysate had a hydrolysis degree of 21.11%, soluble protein of 26.87 mg/mL, and contained 13.87% total amino acids and 7.67% free amino acids, including essential types like lysine and leucine. It exhibited desirable physical traits, was water-soluble, and met safety standards with no pathogenic contamination. Storage studies confirmed the product's stability over three months. In the greenhouse, the enriched hydrolysate treatment led to the best results in plant height, leaf number, leaf area, fruit count, and fruit weight. It also outperformed other treatments in chlorophyll levels, TSS, lycopene, and vitamin C content.

## Discussion and conclusion

Enzymatic hydrolysis successfully transformed carp waste into a plant-friendly fertilizer rich in bioavailable peptides and amino acids (He *et al.*, 2013; Safari *et al.*, 2016; Safari *et al.*, 2018; Safari *et al.*, 2020). The resulting product was safe, stable, and effective as a foliar spray (FAO, 2010; López-Caballero *et al.*, 2010; Ortizo *et al.*, 2020). Key amino acids supported chlorophyll formation and nitrogen metabolism, leading to better growth and fruit quality (Colla *et al.*, 2015; Rouphael *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018). The enriched hydrolysate treatment demonstrated synergistic benefits, enhancing both yield and nutritional quality of tomatoes (Colla *et al.*, 2014; Bulgari *et al.*, 2015; Guo *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018). This method offers a sustainable way to upcycle fish waste into a high-value agricultural input (Kumar and Singh, 2019; Martinez and Smith, 2020; Ciepiela and Kamińska, 2021).

Further optimization and testing on other crops could broaden the application of this biofertilizer (Zhou *et al.*, 2019; He *et al.*, 2020). In summary, common carp waste-derived amino acid fertilizer presents an eco-friendly and efficient alternative to synthetic fertilizers in greenhouse tomato cultivation.

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## Acknowledgment

The authors extend their gratitude to the Caspian Sea Ecology Research Center for providing the necessary facilities and support.

## مقاله علمی - پژوهشی:

# تأثیر کود آمینو اسید تهیه شده از ضایعات کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بر شاخص‌های رشد و ترکیبات گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) در شرایط گلخانه‌ای

رضا صفری<sup>۱</sup>، زهرا یعقوب‌زاده<sup>۱\*</sup>، فائزه ترک‌پهنابی<sup>۱</sup>

\*za\_yaghoub@yahoo.com

۱- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

تاریخ چاپ: اردیبهشت ۱۴۰۵

تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: مهر ۱۴۰۴

## چکیده

پژوهش حاضر، با هدف استفاده بهینه از ضایعات ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تبدیل آن به محصولی ارزشمند در کشاورزی، به بررسی اثر کود آمینواسید حاصل از هیدرولیز آنزیمی بر شاخص‌های رشد و کیفیت گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) در شرایط گلخانه‌ای پرداخته است. ضایعات ماهی پس از فرآیند هیدرولیز آنزیمی با آنزیم‌های آلکالاز و فلاورزایم به پپتیدها و اسیدهای آمینه کوچکتر تبدیل شدند. محصول حاصله از نظر تجزیه و تحلیل کیفی شامل پپتیدهای محلول، الگوی وزن مولکولی، درجه هیدرولیز، محتوای اسیدهای آمینه کل و آزاد، ترکیبات معدنی اصلی و ریزمغذی‌ها، ویژگی‌های فیزیکی و شاخص‌های میکروبی عمومی و اندیکاتور بررسی شد. سپس کود تولیدی بر پایه هیدرولیز ضایعات کپور معمولی فرموله گردید و پایداری آن طی سه ماه نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار شامل تیمار شاهد، کود آمینواسید پایه (E)، کود غنی‌شده با پتاسیم و فسفر (EKP)، کود تجاری داخلی (I) و کود وارداتی (Ex)، هر کدام با پنج تکرار انجام شد. شاخص‌های مورفوفیزیولوژیک (ارتفاع بوته، تعداد برگ و وزن خشک اندام‌ها) و شاخص‌های کیفی میوه شامل کلروفیل برگ، ماده جامد محلول (TSS)، لیکوپن و ویتامین C اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد، کود آمینواسید کپور معمولی دارای محتوای اسیدهای آمینه کل ۱۳/۸۷ درصد و آزاد ۷/۶۷ درصد بود و پایداری مناسبی در دوره نگهداری داشت. تیمار EKP بیشترین اثر مثبت را بر رشد گیاه، افزایش وزن و تعداد میوه و بهبود ویژگی‌های کیفی محصول نشان داد و از نظر آماری بر سایر تیمارها برتری داشت. همچنین مقایسه با کودهای تجاری بیانگر کارایی بالاتر کود تولیدی بود. استفاده از کود آمینواسید تولیدی از ضایعات ماهی کپور معمولی، علاوه بر بهبود چشمگیر شاخص‌های رشد و کیفیت گوجه‌فرنگی، با توجه به هزینه تولید پایین و بازگشت سریع سرمایه، می‌تواند به عنوان یک راهکار دانش‌بنیان و پایدار در صنعت کشاورزی معرفی گردد. پژوهش حاضر، گامی مؤثر در عرصه اقتصاد چرخشی و ارزش‌آفرینی از پسماندهای صنایع شیلاتی محسوب می‌شود.

**لغات کلیدی:** کود آمینواسید، ضایعات کپور معمولی، گوجه‌فرنگی، هیدرولیز آنزیمی

\*نویسنده مسئول



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

## مقدمه

کودهای آمینو اسید نوعی کود زیستی هستند که حاوی اسیدهای آمینه هستند و به دلیل نقش کلیدی در رشد و توسعه گیاهان، به طور گسترده‌ای در کشاورزی مدرن استفاده می‌شوند (Rouphael and Colla, 2020). اسیدهای آمینه واحدهای سازنده پروتئین‌ها هستند و حضور آنها در گیاه، علاوه بر تأمین منابع نیتروژن و کربن، باعث بهبود فرآیندهای متابولیک، افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی و ارتقاء کیفیت محصول می‌شود (Garcia and Perez, 2021). این کودها معمولاً از منابع مختلف حیوانی، گیاهی یا میکروبی تولید می‌شوند و با روش‌هایی همچون هیدرولیز پروتئین‌های گیاهی یا جانوری به آمینواسیدهای آزاد و پپتیدهای کوتاه تبدیل می‌شوند که جذب آنها به‌وسیله گیاه سریع و مؤثر است (Chen et al., 2019). استفاده از کودهای آمینو اسید در محصولات گلخانه‌ای (گوجه‌فرنگی)، موجب تقویت سیستم ایمنی گیاه، افزایش سبزی‌نگی، ارتقاء تولید کلروفیل و بهبود رشد ریشه و ساقه می‌شود (Gasana and Kim, 2020). این کودها با تحریک تولید هورمون‌های گیاهی (اکسین و متیونین)، فرآیند گرده‌افشانی را تسریع می‌کنند و باعث افزایش سرعت رسیدگی و کیفیت میوه می‌گردند (Rouphael and Colla, 2020). اسیدهای آمینه‌ای مانند لیزین، آرژنین و پرولین در این فرآیند نقش مهمی ایفاء می‌کنند به‌طوری‌که توانایی گیاه را در تحمل تنش‌های ناشی از خشکی، شوری و تغییرات دما افزایش می‌دهند (Garcia and Perez, 2021).

ضایعات آبزیان به‌ویژه ضایعات ماهیان کپور، به عنوان منبع غنی پروتئین، امکان تولید کودهای آمینو اسید با ارزش زیستی بالا را فراهم می‌آورند. استفاده از این منابع نه تنها موجب کاهش آلودگی محیط‌زیست می‌شود بلکه به عنوان رویکردی پایدار و اقتصادی در کشاورزی مطرح است. مطالعات نشان داده‌اند که کودهای آمینو اسید استخراجی از ضایعات ماهی، موجب بهبود شاخص‌های رشد، افزایش وزن و اندازه میوه و ارتقاء ترکیبات شیمیایی مفید در گیاهان مانند پروتئین و کلروفیل می‌گردند (Chen et al., 2019).

علاوه بر تأثیرات مستقیم بر رشد گیاه، این کودها باعث افزایش جذب عناصر غذایی ریزمغذی و ماکرو می‌شوند و فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید خاک را تحریک می‌کنند که این امر به بهبود سلامت و عملکرد گیاه کمک می‌کند (Rouphael and Colla, 2020). کاربرد محلول‌پاشی کودهای آمینو اسید در شرایط گلخانه‌ای، به دلیل قابلیت جذب سریع و مستقیم از طریق برگ‌ها، اثرات سریع و قابل توجهی بر رشد و کیفیت محصول دارد (Gasana and Kim, 2020).

با توجه به اهمیت روزافزون تولید محصولات با کیفیت و پایدار، استفاده از کودهای آمینو اسید استخراجی از ضایعات کپور در تولید گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای، رویکردی مؤثر و سازگار با محیط زیست است. این کودها ضمن ارتقاء رشد و تولید کمی و کیفی محصول، به بهبود متابولیسم گیاه و مقاومت آن در برابر تنش‌های محیطی کمک می‌کنند و می‌توانند جایگزین یا مکمل مناسبی برای کودهای شیمیایی مرسوم باشند (Rouphael and Colla, 2020). هدف از تحقیق حاضر، تولید کود ارگانیک از زائدات ماهی کپور معمولی و قزل‌آلا با استفاده از هیدرولیز تلفیقی آنزیمی است.

## مواد و روش کار

## محل اجرای آزمایش

این مطالعه در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر واقع در شهرستان ساری، استان مازندران انجام شد.

## آماده‌سازی و هیدرولیز ضایعات ماهی

ضایعات ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) شامل پوست، امعاء و احشاء، سر، دم و باله‌ها از بازار ماهی فروشان ساری جمع‌آوری شده و در زنجیره سرد به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌ها تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از تجزیه و تحلیل کیفی اولیه، نمونه‌ها چرخ شدند و تحت روش تلفیقی هیدرولیز آنزیمی قرار گرفتند (Safari et al., 2016; Safari et al., 2018; Safari et al., 2020). برای هیدرولیز، ۱۰ کیلوگرم ضایعات چرخ شده به گالن‌های استیل ۵۰ لیتری منتقل شد و ۳۰

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)<sup>۱</sup> مدل Cecil (ساخت کشور انگلستان) قرائت شدند (Moore, 2004).

### ارزیابی میکروبی

شمارش کل باکتری‌ها با محیط کشت تریپتیک سوی آگار (TSA<sup>۲</sup>) (Sallam, 2007; ISIRI 8923-1, 2007; ) و مخمر با محیط پوتیتو دکستروز آگار (PDA<sup>۳</sup>) (ISIRI 11166, 2010; ECC کروم آگار (ISO 21527-1, 2008; 10889-3, 2013; ) و کلی‌فرم‌ها و اشرشیا کلی با محیط ECC (Sallam, 2007; ) انجام شد. برای جداسازی سالمونلا از محیط‌های LB<sup>۴</sup>، TT<sup>۵</sup>، SF<sup>۶</sup>، BSA<sup>۷</sup> و SS<sup>۸</sup> استفاده شد و با تست‌های TSI<sup>۹</sup>، SC<sup>۱۰</sup>، SIM<sup>۱۱</sup> و MRVP<sup>۱۲</sup> تایید شد (ISIRI 13321-2, 2014).

### آزمایش گلخانه‌ای

تأثیر هیدرولیز ضایعات ماهی بر گیاه گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum*) در طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۵ تکرار مورد بررسی قرار گرفت: تیمارها شامل تیمار شاهد (حاوی آب مقطر و بدون هیچگونه افزودنی) (C)، تیمار حاوی هیدرولیز آنزیمی (غلظت ۰/۵ درصد) (E)، تیمار حاوی هیدرولیزات آنزیمی به همراه پتاسیم (K<sub>2</sub>O) به میزان ۴ درصد و فسفر (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) به مقدار ۵ درصد (5P-4K) (غلظت ۰/۵ درصد) (EKP) و دو نمونه تجاری داخلی (I) و وارداتی (EX) (غلظت ۰/۵ درصد) بود (جدول ۱).

لیتر آب فاقد کلر به آن اضافه گردید. به منظور جلوگیری از اثر آنزیم‌های درونی موجود در بافت ماهی بر ترکیب و فعالیت زیستی پروتئین‌ها، ابتدا آنزیم‌های داخلی غیرفعال شدند. برای این منظور، مخلوط ضایعات و آب در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد تا تمامی آنزیم‌های پروتئولیتیک بومی دناتوره گردند. پس از خنک شدن، سوسپانسیون تهیه شده در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه پاستوریزه شده و پس از کاهش دما به ۵۸ درجه، آنزیم آلکالاز به میزان ۱ درصد پروتئین اضافه شد. هیدرولیز به مدت ۱ ساعت در pH=۸/۵ انجام گرفت. سپس pH و دما به ترتیب ۷/۵ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم و آنزیم فلورزایم به همان نسبت اضافه شد و فرآیند به مدت ۱ ساعت ادامه یافت. برای توقف واکنش، نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه حرارت داده شدند. پس از خنک‌سازی در دمای ۴ درجه و فیلتراسیون، سوسپانسیون سانتریفیوژ شد (g=۸۰۰۰، ۲۰ دقیقه، دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد) و مایع رویی جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد. هر نمونه پنج تکرار داشت.

### تجزیه و تحلیل شیمیایی و فیزیکوشیمیایی

درصد پروتئین کل با روش کج‌لدال و ضریب ۶/۲۵ تعیین شد (AOAC, 2005)، پروتئین محلول با روش بیورت و سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد (James, 1995) و میانگین طول زنجیره پپتیدی از طریق نسبت ۱۰۰ به درجه هیدرولیز محاسبه شد (Adler-Nissen and Olsen, 1979). همچنین میزان چربی، رطوبت، خاکستر با روش‌های ISIRI (2008a, b, c) و AOAC (۲۰۰۵) و ازت کل و فسفر کل با روش رنگ‌سنجی پس از هیدرولیز و تیمار شیمیایی نمونه اندازه‌گیری شد. pH و شوری با دستگاه pH متر و شوری‌سنج و سدیم و پتاسیم با فلیم فوتومتر تعیین شد (Hesse, 1971; APHA, 2017).

### تجزیه و تحلیل اسیدهای آمینه

نمونه‌ها پس از هیدرولیز با اسید هیدروکلریک و مشتق‌سازی باتری اتیل آمین و فنیل ایزوتیوسیانات آماده و با دستگاه

<sup>۱</sup> High Performance Liquid Chromatography

<sup>۲</sup> Tryptic Soy Agar

<sup>۳</sup> Potato Dextrose agar

<sup>۴</sup> Lactose broth

<sup>۵</sup> Tetrathionate broth

<sup>۶</sup> Selenite F broth

<sup>۷</sup> Bismuth sulfite agar

<sup>۸</sup> Salmonella Shigella agar

<sup>۹</sup> Triple Sugar Iron agar

<sup>۱۰</sup> Simmons Citrate

<sup>۱۱</sup> SH2 Indole Medium

<sup>۱۲</sup> Methyl Red- Voges-Proskauer

جدول ۱: مشخصات تیمارهای مورد استفاده و دو نوع کود آمینو اسید تجاری داخلی و وارداتی

Table 1: Characteristics of the treatments used and two types of domestic and imported commercial amino acid fertilizers

| Factor                                          | Enzyme Hydrolyzed (E) | Enzyme Hydrolyzed Enhanced (EKP) | Domestic Sample (I) | Imported Sample (EX) |
|-------------------------------------------------|-----------------------|----------------------------------|---------------------|----------------------|
| Total Amino Acids (%)                           | 13.87                 | 13.87                            | 40                  | 13                   |
| Free Amino Acids (%)                            | 7.67                  | 7.67                             | 6                   | 2.5                  |
| Total Nitrogen (%)                              | 2.21                  | 2.21                             | 3                   | 3.5                  |
| Phosphorus (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) (%) | 0.11                  | 5.11                             | 2.5                 | 2                    |
| Potassium (K <sub>2</sub> O) (%)                | 0.12                  | 4.12                             | 2                   | 2                    |
| Organic Carbon (%)                              | 6.79                  | 6.79                             | 11                  | 6.5                  |
| Organic Matter (%)                              | 11.69                 | 11.69                            | 30                  | 14.3                 |
| pH                                              | 4.5                   | 4.5                              | 3.5                 | 4.2                  |

تیمارهای اولیه از نظر وجود فسفر، ازت معدنی و پتاسیم و pH مورد بررسی قرار گرفت. با در نظر گرفتن ۵ تیمار و ۵ تکرار برای هر تیمار، در مجموع ۲۵ نمونه مورد ارزیابی قرار گرفت.

#### مراحل انجام کشت

نشاءها در گلدان‌های ۴ کیلوگرمی کاشته شد و محلول پاشی هفتگی انجام گرفت. شاخص‌های رشد شامل ارتفاع بوته، تعداد و سطح برگ، تعداد و وزن میوه، درصد مواد جامد محلول (Brix)، کلروفیل، ویتامین C و لیکوپن اندازه‌گیری شد (Abbasi et al., 2003; Boras et al., 2011).

#### روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

طرح آماری مورد نظر در این مطالعه از نوع طرح کاملاً تصادفی متعادل با تکرار و زمان‌های یکسان بود. برای تجزیه و تحلیل نتایج حاصله از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ و برای بررسی ارتباط معنی‌دار مابین گروه‌های مختلف از آزمون F و جدول آنالیز واریانس یک طرفه و در صورت معنی‌دار بودن، برای مقایسه میانگین داده‌ها، از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد استفاده گردید. تمام داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار (۵ تکرار برای تیمار) گزارش شد.

#### نتایج

##### تجزیه و تحلیل کمی و کیفی پروتئین هیدرولیز شده از ضایعات ماهی کپور

نتایج تجزیه و تحلیل کیفی ضایعات و پروتئین هیدرولیز شده ماهی کپور در جدول ۲ ارائه شده است. میزان پروتئین در

ضایعات خام کپور ۱۵/۱۷ درصد و در نمونه‌های هیدرولیز شده ۷۶/۶۱ درصد بود که افزایش معنی‌داری نسبت به نمونه خام نشان داد ( $p < 0.05$ ). میزان چربی در نمونه‌های هیدرولیز شده کاهش یافت و رطوبت به‌طور قابل توجهی کمتر از نمونه‌های خام بود ( $p < 0.05$ ). درصد خاکستر و ازت آلی در نمونه‌های هیدرولیز شده افزایش داشت درحالی‌که ازت معدنی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. فسفر و پتاسیم نمونه‌های هیدرولیز شده بیشتر از نمونه‌های خام بود ( $p < 0.05$ ). درجه هیدرولیز و pH نمونه‌های هیدرولیز شده به ترتیب ۲۱/۱ درصد و ۶/۷۶ بود و نشان‌دهنده کوتاه شدن زنجیره پپتیدی و ثبات اسیدیته نمونه بود. میزان پروتئین محلول در نمونه‌های هیدرولیز شده ۲۶/۸۷ میلی گرم بر لیتر گزارش شد (جدول ۲).

##### ویژگی‌های فیزیکی و میکروبی پروتئین هیدرولیز شده

نمونه‌های هیدرولیز شده کپور به رنگ زرد، فاقد چسبندگی و اجسام خارجی و دارای بوی ماهی بودند. سوسپانسیون ۵ درصد پروتئین هیدرولیز شده شفاف و محلول در آب بود، اما در الکل نامحلول. تعداد باکتری‌های هوازی و کپک و مخمر در نمونه‌های کپور  $10^4 \times 6/11$  بود، ولی کلی فرم، کلی فرم مدفوعی، اشیریشیاکلی و سالمونلا در همه نمونه‌ها منفی بودند (جدول ۳).

جدول ۲: مقایسه نتایج تجزیه و تحلیل شاخص‌های کیفی، ماکرو و میکروالمنت‌ها در ضایعات و نمونه‌های پودر هیدرولیز شده ماهیان کپور معمولی

**Table 2: Comparison of the results of chemical analysis of quality parameters, macro- and micro-elements in wastes and hydrolyzed powders of common carp**

| Factor                   | Raw Waste   | Hydrolyzed Powder |
|--------------------------|-------------|-------------------|
| Protein (%)              | 15.17±0.21  | 76.61±1.21b       |
| Fat (%)                  | 5.13±0.19b  | 1.07±0.13c        |
| Moisture (%)             | 73.45±1.69a | 6.17±0.36c        |
| Ash (%)                  | 5.71±0.64c  | 15.67±0.86a       |
| Organic Nitrogen (%)     | 2.42±0.17b  | 12.25±0.53a       |
| Inorganic Nitrogen (%)   | 0.11±0.06bc | 0.14±0.03a        |
| Phosphorus (%)           | 0.13±0.15c  | 0.65±0.14a        |
| Potassium (%)            | 0.14±0.2c   | 0.68±0.43a        |
| Calcium (%)              | 0.82±0.23b  | 1.05±0.26a        |
| Degree of Hydrolysis (%) | -           | 21.11±1.17b       |
| Peptide Molecular Weight | -           | 4.73±0.26a        |
| pH                       | 6/23±0.17ab | 6.76±0.23a        |
| Salinity (%)             | 2.67±0.11b  | 4.03±0.26a        |
| Soluble Protein (mg/mL)  | -           | 26.87±2.09b       |

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده ارتباط معنی دار ما بین داده ها می باشد

Different letters in each row indicate a significant relationship between the data.

جدول ۳: مقایسه خواص فیزیکی و میکروبی نمونه‌های هیدرولیز شده ماهیان کپور معمولی

**Table 2: Comparative analysis of the physical and microbial characteristics of hydrolyzed fish samples from common**

| Parameter type                        | Common carp                                                             |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| Appearance                            | Yellow, non-sticky, free from foreign matter, characteristic fishy odor |
| Solution color                        | Clear and acceptable                                                    |
| Transparency                          | Clear and acceptable                                                    |
| Solubility in water (5% suspension)   | 100%                                                                    |
| Solubility in alcohol (5% suspension) | Negative                                                                |
| Total aerobic bacteria                | $6.11 \times 10^4$ CFU/g                                                |
| Yeast and mold count                  | $3.2 \times 10^2$ CFU/g                                                 |

### پروفایل اسیدهای آمینه

تجزیه و تحلیل اسیدهای آمینه نشان داد که درصد اسیدهای آمینه آزاد به کل اسیدهای آمینه در نمونه هیدرولیز شده کپور ۵۵/۲۷ درصد بود، که بیانگر کارایی مناسب هیدرولیز در تولید اسیدهای آمینه آزاد است (جدول ۴). مقادیر اسیدهای آمینه اساسی مانند لیزین، لوسین، متیونین و والین در نمونه‌های هیدرولیز شده، قابل توجه بود.

### ارزیابی زمان ماندگاری کود آمینو اسید

کود آمینو اسید تهیه شده از هیدرولیزات کپور در مدت ۳ ماه نگهداری در دمای محیط تغییرات اندکی در pH، پروتئین و ماکروالمنت‌ها نشان داد (جدول ۵). محلول‌ها به رنگ قهوه‌ای تیره و با ویسکوزیته بالا بودند. شمارش باکتری‌های هوازی و کپک و مخمر در نمونه‌های کپور

به ترتیب  $1.04 \times 10^4$  و  $6/2 \times 10^3$  را نشان داد، اما کلی فرم، کلی فرم مدفوعی، اشریشیاکلی و سالمونلا منفی باقی ماندند.

### تأثیر کود آمینو اسید بر رشد و عملکرد گیاه گوجه‌فرنگی

نتایج آزمایش گلخانه‌ای نشان داد که کود آمینو اسید تهیه شده از هیدرولیزات کپور معمولی باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد، عملکرد و کیفیت میوه گوجه‌فرنگی شد. در تیمار غنی شده با فسفر و پتاسیم (EKP)، تعداد برگ‌ها  $2 \pm 33$  عدد، سطح برگ‌ها  $300$  سانتی متر مربع، ارتفاع بوته  $1/2 \pm 69$  سانتی متر، تعداد محصول  $3/4 \pm 0/2$  عدد و وزن متوسط میوه  $192 \pm 7$  گرم بود (جدول ۶). شاخص کلروفیل برگ، میزان ماده جامد محلول (TSS)، رنگدانه لیکوپن و ویتامین C در میوه نیز بالاترین مقادیر را در تیمار EKP نشان دادند ( $p < 0/05$ ).

جدول ۴: نتایج اسیدهای آمینه کل و آزاد (میلی گرم اسید آمینه در گرم نمونه) در ضایعات هیدرولیز شده ماهی کپور معمولی (واحدهای درج شده در جدول بر حسب میلی گرم اسید آمینه به ازای هر گرم نمونه میلی گرم آمینو اسید بر گرم نمونه هستند، به جز

مقدار کل اسیدهای آمینه که بر حسب درصد (وزنی/وزنی) گزارش شده است)

Table 4: Total and free amino acid contents (mg amino acid per g sample) in hydrolyzed common carp fish waste (Units in the table are expressed as mg amino acid/g sample, except for Total amino acids, which are reported as Percent (w/w)).

| Type of Amino Acid | Free Amino Acids (mg/g sample) | Total Amino Acids (mg/g sample) |
|--------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Aspartic acid      | 5.11                           | 11.52                           |
| Glutamic acid      | 13.53                          | 29.65                           |
| Serine             | 4.67                           | 5.45                            |
| Histidine          | 1.45                           | 2.45                            |
| Arginine           | 1.30                           | 4.91                            |
| Glycine            | 1.45                           | 6.75                            |
| Tyrosine           | 3.17                           | 3.60                            |
| Alanine            | 3.05                           | 7.45                            |
| Methionine         | 3.40                           | 3.85                            |
| Valine             | 5.35                           | 9.45                            |
| Phenylalanine      | 4.35                           | 5.75                            |
| Isoleucine         | 4.77                           | 6.40                            |
| Cystine            | 0.10                           | 0.10                            |
| Lysine             | 8.91                           | 12.25                           |
| Proline            | 4.25                           | 9.11                            |
| Leucine            | 10.51                          | 15.25                           |
| Threonine          | 1.35                           | 4.85                            |
| Total amino acids  | 7.67                           | 13.87                           |

جدول ۵: مقایسه نتایج تجزیه و تحلیل پروتئین، pH و ماکروالمنتها در کودهای آمینواسید تهیه شده از هیدرولیزات ماهیان کپور معمولی بعد از ۳ ماه نگهداری در دمای محیط

Table 5: Comparison of protein content, pH, and macronutrients in amino acid fertilizers prepared from hydrolyzed common carp after 3 months of storage at room temperature

| Hydrolysis type                     | Total amino acids (%) | Free amino acids (%) | Total nitrogen (%) | Phosphorus (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , %) | Potassium (K <sub>2</sub> O, %) | Organic carbon (%) | Organic matter (%) | pH    |
|-------------------------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------|-------|
| Enzymatic hydrolysis enriched (EKP) | 13.73 b               | 7.29 b               | 2.18 b             | 5.11 a                                         | 4.12 a                          | 6.65 b             | 11.33 b            | 4.3 a |
| Enzymatic hydrolysis (E)            | 13.73 b               | 7.29 b               | 2.18 b             | 0.11 b                                         | 0.12 b                          | 6.65 b             | 11.33 b            | 4.3 a |

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین داده ها است

Different letters in each row indicate significant differences between the data

جدول ۶: تأثیر تیمارهای مرتبط با کود تهیه شده از هیدرولیزات ماهی کپور، بر شاخص های رشد، عملکرد و خواص کیفی گیاه گوجه فرنگی و مقایسه آنها با نمونه های تجاری

Table 6: Effect of treatments with amino acid fertilizers prepared from hydrolyzed common carp on growth, yield, and quality parameters of tomato plants and comparison with commercial samples

| Treatment (foliar application) | Leaf number | Leaf area (cm <sup>2</sup> /plant) | Plant height (cm) | Fruit number | Fruit weight (g) | Leaf chlorophyll index (SPAD) | Fruit TSS (Brix) | Fruit lycopene (mg/100g fresh mass) | Fruit vitamin C (mg/100g fresh mass) |
|--------------------------------|-------------|------------------------------------|-------------------|--------------|------------------|-------------------------------|------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| C                              | 30±1 c      | 250±10 e                           | 62.4±3.2 d        | 2.5±0.1 cd   | 155±4 e          | 25.3±1.2 d                    | 4.1±0.1 b        | 6.50±0.5 d                          | 20.11±1.5 de                         |
| E                              | 31.5±1 b    | 263±15 d                           | 65.5±2.5 c        | 3±0.1 b      | 168±5 d          | 25.5±1.5 bc                   | 3.8±0.2 c        | 7.04±0.45 c                         | 21.18±2.11 cd                        |
| EKP                            | 33±2 a      | 300±10 a                           | 69.1±2.2 a        | 4.3±0.2 a    | 192±7 a          | 29.5±2.1 a                    | 4.3±0.1 a        | 9.17±0.75 a                         | 24.45±2.15 a                         |
| I                              | 31±1 b      | 275±15 c                           | 69.5±3.1 a        | 2.3±0.2 d    | 175±10 bc        | 26.15±1.6 b                   | 4.1±0.1 b        | 7.11±0.6 c                          | 22.14±1.6 bc                         |
| EX                             | 31±2 b      | 280±10 b                           | 67.11±2.6 b       | 2.7±0.2 c    | 177±10 b         | 27.20±1.5 b                   | 4.1±0.1 b        | 8.25±0.24 b                         | 23.11±1.14 b                         |

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار بین داده ها است

C = کود اسید آمینه صنعتی/تجاری (نمونه بازار); E = هیدرولیز آنزیمی + پتاسیم (تیمار ترکیبی); EKP = هیدرولیز آنزیمی (کود اسید آمینه از کپور معمولی); E = شاهد (بدون کاربرد کود); EX = هیدرولیز آنزیمی + مکمل اضافی (فرمولاسیون آزمایشی)

Note: Different letters in each column indicate significant differences among the data.

C = Control (no fertilizer application); E = Enzymatic hydrolysate (amino acid fertilizer from common carp); EKP = Enzymatic hydrolysate + Potassium (combined treatment); I = Industrial/commercial amino acid fertilizer (market sample); EX = Enzymatic hydrolysate + Extra supplement (experimental formulation)



تیمار کنترل (C) کمترین اثر را بر تمامی شاخص‌ها داشت. مقایسه با نمونه‌های تجاری داخلی و وارداتی نشان داد که در برخی شاخص‌ها، کود آمینو اسید تولیدی عملکرد بهتری داشت.

## بحث

استفاده از ضایعات آبزیان برای تولید کودهای زیستی، رویکردی نوین در مدیریت پسماند و افزایش بهره‌وری کشاورزی است. فرآیند هیدرولیز آنزیمی می‌تواند پروتئین‌های پیچیده موجود در ضایعات ماهی را به پپتیدهای کوتاه و اسیدهای آمینه آزاد تبدیل کند؛ ترکیباتی که به سرعت جذب گیاه شده و در مسیرهای متابولیکی نقش‌آفرینی می‌کنند (He *et al.*, 2013; Araujo *et al.*, 2021). نتایج تجزیه و تحلیل کیفی هیدرولیزات ضایعات کپور معمولی نشان داد که فرآیند هیدرولیز آنزیمی به طور مؤثری پروتئین‌ها را به پپتیدهای کوتاه و اسیدهای آمینه آزاد قابل جذب برای گیاه تبدیل کرده است. درصد پروتئین کل پس از هیدرولیز از ۱۷/۱۵ درصد به ۲۱/۷۶ درصد افزایش یافت که نشان‌دهنده افزایش قابلیت جذب کود به وسیله گیاه و تطابق با نتایج He و همکاران (۲۰۱۳) است. کاهش چشمگیر چربی از ۱۲ درصد به ۱/۴۵ درصد و کاهش رطوبت به حدود ۵-۶ درصد، همراه با افزایش خاکستر به ۱۳/۴۵ درصد، نشان‌دهنده تمرکز مواد مغذی و ثبات فیزیکی نمونه‌هاست که با یافته‌های Kumar و Singh (۲۰۱۹) و Boran و Karaçal (۲۰۲۱) همخوانی دارد. درجه هیدرولیز بالای ۲۱ درصد و وزن مولکولی پپتیدها در محدوده ۳-۴ کیلو دالتون نیز بیانگر عملکرد موفق هیدرولیز و تولید کود با قابلیت جذب بالاست (He *et al.*, 2013). تحلیل عناصر مغذی هیدرولیزات نشان داد که ازت آلی پس از هیدرولیز به ۱۲/۲۵ درصد افزایش یافته و عناصر فسفر و پتاسیم نیز به طور چشمگیری بالاتر از نمونه خام هستند. این عناصر کلیدی ظرفیت تغذیه‌ای کود را بهبود بخشیده و رشد و توسعه گیاهان را تسهیل می‌کنند (Kumar and Singh, 2019; Ciepiela and Kamińska, 2021). pH مناسب (۶/۲-۶/۰) و شوری پایین، شرایط مطلوب برای استفاده در کشاورزی گلخانه‌ای فراهم کرده و اثرات منفی

شوری را کاهش می‌دهد که با یافته‌های Martinez و Smith (۲۰۲۰) همخوانی دارد.

خصوصیات فیزیکی و میکروبی هیدرولیزات کپور نیز مطلوب بود. شفافیت بالا، حلالیت کامل در آب و نبود ذرات معلق نشان‌دهنده کیفیت مناسب فرایند هیدرولیز است (Kim and Mendis, 2006). بار میکروبی پایین، شامل باکتری‌های هوازی، کپک و مخمر و منفی بودن اشرشیاکلی و سالمونلا، ایمنی زیستی و رعایت استانداردهای تولید را تأیید می‌کند (FAO, 2010; López-Caballero *et al.*, 2010; Ortizo *et al.*, 2020). پروفایل اسیدهای آمینه نشان داد که مجموع اسیدهای آمینه کل حدود ۱۳/۸۷ درصد و اسیدهای آمینه آزاد ۷/۶۷ درصد بود. نسبت اسیدهای آمینه آزاد به کل ۵۵/۳ درصد، نشان‌دهنده بازده مناسب هیدرولیز آنزیمی و آزادسازی ترکیبات قابل جذب برای گیاه است. گلوتامیک اسید و آسپارتیک اسید دارای بیشترین سهم بودند و اسیدهای آمینه ضروری مانند لیزین، لوسین و والین نیز مقادیر قابل توجهی داشتند که ارزش تغذیه‌ای بالای کود را برای رشد و توسعه گیاهان تأیید می‌کند (Zhou *et al.*, 2019). نتایج پس از سه ماه نگهداری نشان داد که مقادیر اسیدهای آمینه کل و آزاد و عناصر ماکرو پایدار ماندند. pH ثابت حدود ۴/۳ و ویسکوزیته بالا همراه با رنگ قهوه‌ای تیره، نشان‌دهنده ثبات فیزیکی و شیمیایی محصول است (Zhou *et al.*, 2019; He *et al.*, 2020). این پایداری طولانی مدت امکان استفاده از کود در محلول‌پاشی و سیستم‌های آبیاری گلخانه‌ای را فراهم می‌کند.

استفاده از کود آمینو اسید هیدرولیز شده کپور بر رشد گوجه‌فرنگی اثر قابل توجهی داشت. تیمار EKP افزایش معنی‌داری در تعداد برگ (۳۳ عدد)، سطح برگ (۳۰۰ سانتی‌متر مربع) و ارتفاع بوته (۶۹/۱ سانتی‌متر) نشان داد که ناشی از فراوانی اسیدهای آمینه آزاد و کل و تسهیل جذب گیاه از عناصر غذایی است. اسیدهای آمینه گلوتامات و گلايسین در سنتز کلروفیل و متابولیسم نیتروژن نقش اساسی دارند و موجب تحریک تقسیم سلولی و توسعه بافت‌ها می‌شوند (Colla *et al.*, 2015; Rouphael *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018). کود هیدرولیز شده عملکرد

- Adler-Nissen, J. and Olsen, H.S., 1979.** The influence of peptide chain length on taste and functional properties of enzymatically modified soy protein. *Journal of Food Science*, 44(2):456–462. DOI:10.1021/bk-1979-0092.ch007
- AOAC, 2005.** Official method of analysis. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC. 771 P.
- APHA, 2017.** Standard methods for the examination of water and wastewater. 17th ed. American Public Health Association Washington DC. 1545 P.
- Araujo, J., Sica, P., Costa, C. and Márquez, M.C., 2021.** Enzymatic hydrolysis of fish waste as an alternative to produce high value-added products. *Waste and Biomass Valorization*, 12(2):847-855.  
DOI: 10.1007/s12649-020-01029-x
- Boran, M. and Karaçal, S., 2021.** Fish protein hydrolysates as a source of bioactive peptides for food and agriculture. *Food Chemistry*, 357:129805.  
DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129805
- Boras, M., Zidan, R. and Halloum, W., 2011.** Effect of amino acids on growth, production and quality of tomato in plastic greenhouse. *Biological Science Series*, 33(5):229–238.
- Bulgari, R., Cocetta, G., Trivellini, P., Vernieri, P. and Ferrante, A., 2015.** Biostimulants and crop responses: A review. *Biological Agriculture and Horticulture*, 31(1):1–17.
- Chen, Z., Wang, Y. and Wang, X., 2019.** Effects of fish waste-derived amino acid میوه را بهبود داد، تعداد میوه و وزن کل میوه‌ها افزایش یافت، شاخص کلروفیل به بالاترین مقدار ۳۰/۱۱ (SPAD) رسید و ترکیبات تغذیه‌ای میوه (TSS، لیکوپن و ویتامین C) بهبود یافت که نشان‌دهنده افزایش سلامت و کیفیت میوه‌هاست (Colla et al., 2014; Guo et al., 2018; Zhang et al., 2018). یافته‌های مذکور با نتایج Bulgari و همکاران (۲۰۱۵) همخوانی دارد که کاربرد کودهای هیدرولیز شده را به عنوان منبع مؤثر افزایش عملکرد محصول تأیید می‌کند. مقایسه کودهای EKP با سایر تیمارها نشان داد که فرآیند غنی‌سازی و هیدرولیز آنزیمی اهمیت بالایی در بهبود کیفیت و کارایی کود دارد. حلالیت بالا، پایداری شیمیایی و میکروبی، محتوای غنی اسیدهای آمینه و عناصر ماکرو و اثر مثبت بر رشد و کیفیت گوجه‌فرنگی، نشان می‌دهد که کودهای آمینو اسید تهیه شده از ضایعات کپور منبعی پایدار، طبیعی و مؤثر برای کشاورزی گلخانه‌ای هستند.
- بهینه‌سازی شرایط هیدرولیز آنزیمی و بررسی اثر کودها بر گونه‌های گیاهی مختلف می‌تواند کاربرد صنعتی و کشاورزی پایدار این کودها را توسعه دهد. همچنین با توجه به بازده اقتصادی بالای تولید کود از ضایعات کپور، این محصول می‌تواند به عنوان یک محصول دانش‌بنیان با ارزش افزوده بالا در کشاورزی گلخانه‌ای معرفی شود.
- تشکر و قدردانی**
- بدین‌وسیله از پژوهشکده اکولوژی دریای خزر که زمینه علمی و آزمایشگاهی این تحقیق را فراهم کردند، صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایم.
- منابع**
- Abbasi, P.A., Cuppels, D.A. and Lazarovits, G., 2003.** Effect of foliar applications of neem oil and fish emulsion on bacterial spot and yield of tomatoes and peppers. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 25(1):41–48. DOI:10.1080/07060660309507048

- fertilizers on tomato growth. *Journal of Agricultural Science*, 45(3):123–130.
- Ciepiela, G.A. and Kamińska, I., 2021.** Efficiency of organic and mineral fertilizers in sustainable agriculture. *Sustainability*, 13(2):806. DOI:10.3390/su13020806
- Colla, G., Rouphael, Y., Canaguier, R., Svecova, E. and Cardarelli, M., 2014.** Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. *Frontiers in Plant Science*, 5: 448. DOI:10.3389/fpls.2014.00448.
- Colla, G., Cardarelli, M., Bonini, P., Rouphael, Y. and Rea, E., 2015.** Biostimulant action of protein hydrolysates: Unraveling their effects on plant physiology and microbiome. *Frontiers in Plant Science*, 6:1065. DOI:10.3389/fpls.2015.01065
- FAO, 2010.** Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. FAO Water Reports 35. 222P. <http://www.fao.org/3/i1954e/i1954e>
- Garcia, M. and Perez, L., 2021.** The role of fish waste-derived amino acids in mitigating abiotic stress in crops. *Environmental Agriculture*, 7(4):200–208.
- Gasana, Q.G. and Kim, D.H., 2020.** Effect of foliar spraying mixed with fish amino acids (FAA) and oriental herbal nutrient (OHN) extract on growth, yield and quality of watermelon (*Citrullus lanatus*). *Rwanda Journal of Agricultural Sciences*, 2(1):127–136.
- Guo, W., Zhang, H., Sun, C. and Xie, C., 2018.** Impact of fish protein hydrolysates on plant growth and antioxidant activity in tomato. *Journal of Plant Nutrition*, 41(3):346–355. DOI:10.1080/01904167.2017.1357894
- He, S., Zhang, X. and Xu, X., 2013.** Degree of hydrolysis and molecular weight distribution of fish protein hydrolysate and its effects on plant growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(18):4531–4538.
- He, S., Zhang, Y., Liu, H., Wang, L. and Liu, Z., 2020.** Optimization of enzymatic hydrolysis of fish processing by-products and characterization of protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 312:126033. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.126033
- Hernández, F., Sgorbati, S. and Chiesa, L.M., 2019.** Effect of fish hydrolysate and amino acid fertilizer on tomato yield and quality. *Scientia Horticulturae*, 246:99–105
- Hesse, P.R., 1971.** A text book of soil chemical analysis. John Nurray Williams Clowes and sons Ltd, London. 324P.
- ISIRI, 2007.** Iranian national standard no. 8923-1: Food products – General guidelines for sampling. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), Iran. 12P. (In Persian)
- ISIRI., 2008a.** Iranian national standard No. 926: Foodstuffs – Determination of fat content – Gravimetric and extraction methods. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), Iran, 12 P. (In Persian)
- ISIRI, 2008b.** Iranian national standard no. 10535: Foodstuffs – Determination of moisture – Oven drying method. Tehran:

- Institute of Standards & Industrial Research of Iran. 12 P. (In Persian)
- ISIRI, 2008c.** Iranian national standard no. 928: Foodstuffs – Determination of ash – Direct and indirect methods. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), Iran, 12 P. (In Persian)
- ISIRI, 2010.** Iranian national standard no. 11166: Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coliforms and *Escherichia coli*. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), Iran. 18P. (In Persian)
- ISIRI, 2013.** Iranian national standard no. 10889-3: Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Part 3: MPN technique. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), Iran. 16P. (In Persian)
- ISIRI, 2014.** Iranian national standard no. 13321-2: Microbiology of food and animal feeding stuffs — Part 2: Characteristics and test methods — *Salmonella*. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), Iran. 15P. (In Persian)
- ISO, 2008.** International Organization for Standardization No. 21527-1: Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95. Geneva: ISO.
- ISO, 2013.** International Organization for Standardization No. 4833-1: Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of microorganisms — Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique. Geneva: ISO.
- James, C.S., 1995.** Analytical chemistry of foods. Springer Science+Business Media, London and New York, 178 P.
- Kim, S.-K. and Mendis, E., 2006.** Bioactive compounds from marine processing byproducts – A review. *Food Research International*, 39(4):383–393. DOI:10.1016/j.foodres.2005.10.010
- Kumar, A. and Singh, P., 2019.** Use of fish protein hydrolysate in organic tomato cultivation. *Journal of Organic Agriculture*, 9(1):15–22.
- López-Caballero, M.E., Gómez-Guillén, M.C. and Montero, P., 2010.** Antioxidant activity of fish protein hydrolysates: Application to tomato growth. *Food Chemistry*, 123(1):33–40.
- Martinez, L. and Smith, D., 2020.** Sustainable agriculture using fish waste amino acids. *Journal of Organic Agriculture*, 12(2):98–105.
- Moore, J., 2004.** Amino acid analysis of hydrolysates (feed, fxal, etc). Department of Animal Science, Nathalie Trottier's Laboratory, Michigan State University, East Lansing, MI, USA, Michigan State University Press, 17 P.
- Ortizo, R.G.G., Nunal, S.N., Nillos, M.G. and Yap, E.E., 2020.** Antioxidative activities and lactic acid bacteria composition of fermented Frigate tuna *Auxis thazard* (Lacepède, 1800)

at Different Salt-fish Ratios. *Asian Fisheries Science*, 33(1).

**Rouphael, Y., Colla, G., Giordano, M., El-Nakhel, C., Kyriacou, M.C. and De Pascale, S., 2017.** Foliar applications of a legume-derived protein hydrolysate elicit dose-dependent increases of growth, leaf mineral composition, yield and fruit quality in two greenhouse tomato cultivars. *Scientia Horticulturae*, 226:353-360.  
DOI:10.1016/j.scienta.2017.09.007

**Rouphael, Y. and Colla, G., 2020.** Toward a sustainable agriculture through plant biostimulants: From experimental data to practical applications. *Agriculture*, 10(10):146. DOI:10.3390/agriculture1010146

**Safari, S., Ghorbani, R., Motamedzadegan, A. and Hosseini, S.V., 2016.** Optimization of enzymatic hydrolysis conditions for rainbow trout waste. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 25(5):667-678. (In Persian)

**Safari, S., Motamedzadegan, A., Ghorbani, R. and Hosseini, S.V., 2018.** Production of amino acid fertilizer from rainbow trout waste using Alcalase and Flavourzyme. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 17(2):345-358. (In Persian)

**Safari, S., Motamedzadegan, A. and Hosseini, S.V., 2020.** Shelf-life and nutrient stability of fish-based amino acid fertilizers. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(3):e14321. (In Persian)

**Sallam, K. I., 2007.** Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18(5): 566-575.

**Zhang, X., Zhang, C., Duan, W. and Wang, J., 2018.** Effects of amino acid-based biostimulants on tomato fruit quality and yield. *Scientia Horticulturae*, 230:22-30.  
DOI:10.1016/j.scienta.2017.10.022

**Zhou, P., Wang, H., Wang, H., Liu, Q. and Jin, Y., 2019.** Production and characterization of fish protein hydrolysates from marine fish by enzymatic hydrolysis. *Food Chemistry*, 283:125-132.  
DOI:10.1016/j.foodchem.2019.01.019