

## مقایسه پروتئین هیدرولیز شده از امعاء و احشاء و سر ماهی فیتوفاک (*Hypophthalmichthys molitrix*) با استفاده از آنزیم آلکالاز و

### آنزیم‌های داخلی بافت

شادی حسینی<sup>(۱)\*</sup>؛ احمد غرقی<sup>(۲)</sup>؛ حمیدرضا جمالزاده<sup>(۳)</sup>؛ رضا صفری<sup>(۴)</sup> و شیرین حسینی<sup>(۵)</sup>

hoseini\_shady@yahoo.com

۱ و ۳-دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، صندوق پستی: ۴۶۸۴۱۶۱۱۶۷

۲- موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۱۶

۴- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری صندوق پستی: ۹۶۱

۵- مرکز توسعه پژوهش بیمارستان قلب شهید رجایی، تهران، صندوق پستی: ۱۹۹۶۹۱۱۱۵۱

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۱

### چکیده

در تحقیق حاضر پروتئین هیدرولیز شده امعاء و احشاء و سر ماهی فیتوفاک در حضور با آنزیم الکاالاز و آنزیم‌های داخلی که بعد از زمانهای ۲ و ۴ ساعت تولید شد، مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان دادند که محصول تولید شده توسط الکاالاز (تیمار ۱) بطور معنی داری از لحاظ میزان پروتئین و درجه هیدرولیزاسیون بالاتر از تیمار ۲ (آنزیم‌های داخلی) بود بطوریکه بالاترین میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) میزان پروتئین  $68/10 \pm 1/33$  (میلی گرم بر کیلوگرم) و مربوط به تیمار ۱-سر (با آنزیم الکاالاز) بعد از ۴ ساعت بوده است و بالاترین درجه (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) هیدرولیز  $29/36 \pm 1/35$  درصد و مربوط به تیمار ۱-سر (با آنزیم الکاالاز) بعد از ۴ ساعت بود. نتایج نشان دادند که با افزایش زمان هیدرولیزاسیون، درجه هیدرولیزاسیون افزایش پیدا می‌کند. این در حالی است که از شدت و نرخ هیدرولیز کاسته می‌شود. بطوریکه بیشترین میزان هیدرولیزاسیون در ۱۲۰ دقیقه اول رخ داده است. این حالت در ۲ تیمار مشابه می‌باشد. با توجه به نتایج می‌توان آنزیم الکاالاز را نسبت به آنزیم‌های داخلی ارجح دانست.

**لغات کلیدی:** بیوتکنولوژی، فرآوری آبزیان، ضایعات ماهیان

## مقدمه

از آن جمله می‌توان به تنوع فعالیت کاتالیتیکی و پایداری بیشتر در pH و دما اشاره نمود (Diniz & Martin, 1997). انجام تحقیق به منظور بهینه‌سازی شرایط تولید پروتئین هیدرولیز شده بدلیل کاربردهای فراوان آن در صنایع غذایی، پزشکی و بهداشتی و غیره حائز اهمیت است. یکی از موارد استفاده پروتئین تولید شده از ضایعات آبزیان، استفاده از آنها بعنوان منبع نیتروژن در فرمولاسیون محیط‌های کشت باکتری‌ها می‌باشد. در تحقیق حاضر پروتئین هیدرولیز شده امعاء و احشاء و سر ماهی فیتوفاگ با استفاده از آنزیم الکالاز و آنزیم‌های داخلی بافت در مدت زمانهای ۲ و ۴ ساعت تولید شد، علت استفاده از ماهی فیتوفاگ این است که بدلیل مرغوبیت گوشت، زندگی گله‌پذیری، امکان تکثیر طبیعی و غیره از کل تولید ماهیان پرورشی جهان که ۸,۳۳۸,۰۰۰ تن است، ۲,۶۲۵,۱۵۱ تن را در سال ۱۹۹۰ میلادی بخود اختصاص داده است (اتحادیه شرکت‌های تعاونی تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی سراسر کشور)، بنابراین با توجه به تولید بالا دور ریز این ماهی زیاد است. آنزیم مورد استفاده در این تحقیق الکالاز بود به این دلیل که آنزیم الکالاز دارای قدرت هیدرولیز مطلوبی می‌باشد.

## مواد و روش کار

امعاء و احشاء و سر ماهی فیتوفاگ بعنوان ماده خام اولیه، از بازار ماهی فروشان شهرستان ساری تهیه شد و در مجاورت یخ به آزمایشگاه پژوهشکده‌ی اکولوژی دریای خزر منتقل گردید. به منظور جلوگیری از فرآیند اتولیز آنزیمی، نمونه‌های اخذ شده در ظرف پلاستیکی و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد، تا شروع آزمایش، نگهداری شدند. برای انجام آزمایش نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتیگراد انجماد زدایی گردیدند. دو تیمار در این تحقیق در نظر گرفته شد:

۱- نمونه حرارت داده شد و به آن آنزیم الکالاز که یک آنزیم خارجی است، اضافه شد؛

۲- نمونه حرارت داده شد و به آنزیم اضافه نشد، تا با آنزیم‌های داخلی خود واکنش نشان دهد.

آنزیم مورد استفاده شامل آنزیم Alcalase 2.4 L استخراج شده از باکتری *Bacillus licheniformis* با فعالیت آنزیمی ۴/۲ (AU/Kg) فعالیت آنزیمی بر کیلوگرم و چگالی ۱۸/۱ گرم

براساس آمار رسمی سازمان خواروبار جهانی، میزان تولید سالانه آبزیان بالغ بر ۱۳۲ میلیون تن می‌باشد (FAO, 2006). این میزان نسبتاً بالای صید جهانی و بدنبال آن صنایع عمل‌آوری، منجر به تولید حجم بالایی از مواد جانبی و غیرقابل استفاده گردیده که اکثراً بدون هیچ توجه زیست محیطی، دور ریخته می‌شود. عمده‌ترین مواد جانبی صنایع عمل‌آوری آبزیان شامل امعاء و احشاء، پوست، فلس، ستون مهره و استخوانهای تنه می‌باشد (Bhaskar et al., 2008). اگر این ترکیبات بیولوژیک به نحو احسن مورد استفاده قرار بگیرند، از یک سو باعث کاهش آلودگی زیست‌محیطی ناشی از دور ریختن آنها شده و از طرف دیگر به لحاظ داشتن پروتئین‌های با ارزش قابل بازیافت می‌باشند (Bhaskar et al., 2008). در دهه ۱۹۶۰ تحقیقات زیادی برای دستیابی به منابع پروتئینی ارزانی‌قیمت مغذی جهت تغذیه جمعیت انسانی در حال رشد و نیز حیوانات صورت گرفت و در این راستا توجه زیادی به ضایعات معطوف شد (Bhaskar et al., 2008). از طرفی، شیوع جنون گاوی در سال‌های اخیر، محققین را بر آن داشته که پروتئین‌های دریایی هیدرولیز شده را جایگزین پروتئین‌های حیوانی کرده و به مردم معرفی نمایند (Liaset et al., 2003).

هیدرولیز پروتئین‌های غذایی تاریخچه طولانی دارد که اساساً در مورد پروتئین‌های گیاهی و شیر بوده است. اولین پروتئین هیدرولیز شده تجاری در سالهای حدود ۱۹۴۰ به بازار آمد (Kristinsson & Rasco, 2000a). ولی بیشترین پژوهش‌ها برای تولید پروتئین هیدرولیز شده ماهی در دهه ۱۹۶۰ انجام گرفته‌اند و برخی از تولیدات پروتئین هیدرولیز شده ماهی در آن زمان کاملاً موفقیت‌آمیز بود. هدف اصلی هیدرولیز ضایعات ماهی بدست آوردن حداکثر بازیافت اجزای قابل دسترس با حفظ کیفیت بالا (درجه هیدرولیز و میزان پروتئین بالا) در آنهاست (Bhaskar et al., 2008).

آنزیم‌های مورد استفاده به منظور هیدرولیز آنزیمی، از منابع مختلف: گیاهی مانند آنزیم پاپائین (Shahidi et al., 1995) یا جانوری مانند تریپسین و پپسین (Diniz & Martin, 1997) و یا میکروبی مانند آلكالاز (Alcalase)، پروتامکس، نوتراز (Diniz & Martin, 1997) بود که بطور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این میان آنزیم‌های میکروبی در مقایسه با آنزیم‌های گیاهی و جانوری، دارای مزایای بیشتری هستند،

سپس جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر و در طول موج ۵۴۰ نانومتر، قرائت و غلظت پروتئین در مقایسه با منحنی استاندارد محاسبه شد، منحنی استاندارد با رقیق‌سازی محصول استوک آلبومین سرم گاوی با غلظت ۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، ترسیم شد.

میزان هیدرولیز به روش تری کلرواستیک اسید (TCA) محاسبه گردید (Fonkwe & Singh, 1996; KIRSTINSSON & RASCO, 2000a). مبنای این روش اندازه‌گیری درصد نسبت پروتئین‌های محلول در تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به کل پروتئین‌های موجود در نمونه می‌باشد. برای این منظور ۷۵۰ میکرولیتر از نمونه با ۷۵۰ میکرولیتر از تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد با سمپلر برداشته شد و در ماکروتیوپ ریخته و پس از هم زدن به مدت ۵ دقیقه، با دور ۵۰۰۰ rpm و زمان ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. برای هر تیمار سه تکرار انجام شد. سپس مقدار پروتئین در فاز محلول به روش بیورت اندازه‌گیری و میزان درجه هیدرولیز از طریق فرمول زیر محاسبه گردید (Ovissipour et al., 2009a):

(پروتئین حل شده در TCA ۱۰٪)

$DH = \frac{\text{پروتئین‌های حل شده در نمونه}}{\text{میزان کل پروتئین}} \times 100$  درصد (درجه هیدرولیز)

× ۱۰۰

تجزیه تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. از روش آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون T-Test و Pair T-test به منظور مقایسه تیمارها استفاده شد و ارزش P با ضریب اطمینان ۹۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت و صفات مورد بررسی در این تحقیق درجه هیدرولیز و غلظت پروتئین بوده است.

## نتایج

نتایج این تحقیق نشان دادند که میزان تولید پروتئین و درجه هیدرولیز امعاء و احشاء و سر ماهی فیتوفاگ در تیمار ۱ - سر (در این تیمار از آنزیم آلکالاز استفاده شده است) از تیمار ۲ بیشتر بوده است. نتایج مربوط به میزان پروتئین و درجه هیدرولیز تیمار ۱ (سر) در جدول ۱ آورده شده است.

در میلی‌لیتر تهیه شد و تا زمان شروع آزمایش در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری گردید (Wasswa et al., 2007).

به منظور آماده‌سازی نمونه، ابتدا، نمونه در دمای ۴ درجه سانتیگراد، انجمادزایی شد و سپس نمونه امعاء و احشاء و سر، با استفاده از دستگاه مولینکس (Muolinex) کاملاً یکنواخت (هموژن) شده و مواد چربی‌زدایی شد (Amiza et al., 2011).

پس از اضافه نمودن آب مقطر به نسبت ۲ به ۱ (آب به سوپسترا)، که در اینجا ما از ۵۰ گرم از نمونه‌های هموژن امعاء و احشاء (برای هر تیمار) در ارلن‌مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و برای مدت ۲۰ دقیقه درون حمام آبی (W-614-B) در دمای ۸۵ درجه سانتیگراد به منظور غیرفعال شدن آنزیم‌های داخلی (در تیمار ۱ که نیاز به حرارت داشت) قرار داده شد (Wasswa et al., 2007). بعد از خنک شدن، تنظیم pH معادل با ۸/۵ برای آنزیم الکلایز با استفاده از سود ۰/۲ انجام شد (آنزیم الکلایز در این محدوده‌ی pH قادر به فعالیت است) و دمای ۵۵ درجه برای آلکالایز صورت گرفت و تنظیم دمای ۵۵ برای تیمار ۲ صورت گرفت (به دلیل اینکه در تیمار ۲ آنزیم اضافه نشده بود تنظیم pH صورت نگرفت) و به مدت ۱۲۰ و ۲۴۰ دقیقه در بن ماری شیکر (اختران، ایران) قرار داده شدند. مقدار آنزیم مورد استفاده ۱/۵ درصد میزان پروتئین امعاء و احشاء و سر بود (Ovissipour et al., 2009a).

در پایان آزمایش، به منظور غیرفعال نمودن فعالیت آنزیم، نمونه‌ها مجدداً در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد برای مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند، سپس نمونه‌ها به منظور جداسازی مواد غیرمحلول از پروتئین‌های محلول، تحت عمل سانتریفوژ در دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار، در دمای ۴ درجه سانتیگراد با دور  $8000 \times g$  برای مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند (Nilsang et al., 2005; Souissi et al., 2007; Wasswa et al., 2007). میزان کل پروتئین در مواد خام ( $N \times 6.25$ ) به روش کلدال بدست آمد (AOAC, 2005).

برای تعیین غلظت پروتئین محلول و میزان پروتئین خارج شده از امعاء و احشاء و سر بصورت درصد هیدرولیز محلول به روش بیورت (Layne, 1957) تعیین شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر سوپرناتانت در لوله آزمایش ۴/۵ میلی‌لیتر معرف بیورت اضافه و بلافاصله با ورتکس مخلوط شدند، مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شده و

این نتایج نشان می‌دهد میزان میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) تولید پروتئین (میلی گرم در میلی لیتر) سر در تیمار ۱ بعد از ۲ ساعت  $52/25 \pm 1/25$  (میلی گرم در میلی لیتر) و بعد از ۴ ساعت  $68/11 \pm 1/33$  (میلی گرم در میلی لیتر) است که نشان‌دهنده این است که در طی مدت ۲ ساعت میزان پروتئین  $15/85$  (میلی گرم در میلی لیتر) افزایش داشته است.

میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) درجه هیدرولیز در تیمار ۱ بعد از ۲ ساعت  $29/36 \pm 1/35$  درصد و بعد از ۴ ساعت  $21/28 \pm 1/45$  درصد است که نشان‌دهنده این است که در طی مدت ۲ ساعت  $5/87$  درصد افزایش داشته است.

نتایج مربوط به میزان تولید پروتئین و درجه هیدرولیز تیمار ۲ (امعاء) در جدول ۲ آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) میزان تولید پروتئین (میلی گرم در میلی لیتر) امعاء در تیمار ۲ بعد از ۲ ساعت  $42/36 \pm 1/16$  (میلی گرم در میلی لیتر) و بعد از ۴ ساعت  $58/32 \pm 2/51$  (میلی گرم در میلی لیتر) است که نشان‌دهنده این است که در طی مدت ۲ ساعت  $15/96$  (میلی گرم در میلی لیتر) افزایش داشته است.

میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) درجه هیدرولیز در تیمار ۲ بعد از ۲ ساعت  $34/20 \pm 1/52$  درصد و بعد از ۴ ساعت  $23/13 \pm 1/45$  درصد است که نشان‌دهنده این است که در طی مدت ۲ ساعت  $7/11$  درصد افزایش داشته است.

بین پروتئین سر و امعاء و احشاء در تیمار ۲ در زمانهای ۲ و ۴ ساعت اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0/05$ ) و همچنین بین درجه هیدرولیز سر و امعاء و احشاء در تیمار ۲ در زمانهای ۲ و ۴ ساعت اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0/05$ ).

با توجه به نتایج می‌بینیم که میزان پروتئین و درجه‌ی هیدرولیز در تیمار مواجهه شده با آنزیم آلکالاز نسبت به تیماری که هیدرولیز در آنها تنها متکی به آنزیم‌های داخلی بافت بود، بیشتر بوده است.

میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) درجه هیدرولیز در تیمار ۱ بعد از ۲ ساعت  $29/36 \pm 1/35$  درصد و بعد از ۴ ساعت  $21/28 \pm 1/45$  درصد است که نشان‌دهنده این است که در طی مدت ۲ ساعت  $5/87$  درصد افزایش داشته است.

نتایج مربوط به میزان تولید پروتئین و درجه هیدرولیز تیمار ۱ (امعاء و احشاء) در جدول ۱ آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد میزان تولید میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) پروتئین (میلی گرم در میلی لیتر) امعاء و احشاء در تیمار ۱ بعد از ۲ ساعت  $36/29 \pm 1/65$  (میلی گرم در میلی لیتر) و بعد از ۴ ساعت  $46/41 \pm 1/72$  (میلی گرم در میلی لیتر) است که نشان‌دهنده این است که طی ۲ ساعت  $10/12$  (میلی گرم در میلی لیتر) افزایش داشته است.

میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) درجه هیدرولیز در تیمار ۱ بعد از ۲ ساعت  $17/33 \pm 1/88$  درصد و بعد از ۴ ساعت  $29/14 \pm 1/64$  درصد است که نشان‌دهنده این است که در طی ۲ ساعت  $11/81$  درصد افزایش داشته است.

بین پروتئین سر و امعاء و احشاء در تیمار ۱ در زمانهای ۲ و ۴ ساعت اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0/05$ ) و همچنین بین درجه هیدرولیز سر و امعاء و احشاء در تیمار ۱ در زمانهای ۲ و ۴ ساعت اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0/05$ ).

نتایج مربوط به میزان تولید پروتئین و درجه هیدرولیز تیمار ۲ (امعاء) در جدول ۲ آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) میزان تولید پروتئین (میلی گرم در میلی لیتر) امعاء در تیمار ۲ بعد از ۲ ساعت  $42/36 \pm 1/16$  (میلی گرم در میلی لیتر) و بعد از ۴ ساعت  $58/32 \pm 2/51$  (میلی گرم در میلی لیتر) است که نشان‌دهنده این است که در طی مدت ۲ ساعت  $15/96$  (میلی گرم در میلی لیتر) افزایش داشته است.

با توجه به نتایج می‌بینیم که میزان پروتئین و درجه‌ی هیدرولیز در تیمار مواجهه شده با آنزیم آلکالاز نسبت به تیماری که هیدرولیز در آنها تنها متکی به آنزیم‌های داخلی بافت بود، بیشتر بوده است.

جدول ۱: میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) تولید پروتئین و درجه هیدرولیز سر و امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ در حضور غلظت ۱/۵ درصد آنزیم آلكالاز در زمانهای ۲ و ۴ ساعت

آنزیم		آلكالاز (سر)		آلكالاز (امعاء و احشاء)	
زمان (ساعت)	درجه هیدرولیز (درصد)	پروتئین (میلی گرم در میلی لیتر)	درجه هیدرولیز (درصد)	پروتئین (میلی گرم در میلی لیتر)	درجه هیدرولیز (درصد)
۲	۲۲/۳۶ $\pm$ ۱/۱۷	۵۲/۲۵ $\pm$ ۱/۲۵	۳۳/۱۷ $\pm$ ۱/۸۸	۳۶/۲۹ $\pm$ ۱/۶۵	
۴	۲۹/۳۶ $\pm$ ۱/۳۵	۶۸/۱۰ $\pm$ ۱/۳۳	۲۹/۱۴ $\pm$ ۱/۶۴	۴۷/۴۱ $\pm$ ۱/۷۲	

جدول ۲: میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) تولید پروتئین و درجه هیدرولیز سر و امعاء و احشاء ماهی فیتوفاگ مواجهه شده با آنزیمهای داخلی بافت در زمانهای ۲ و ۴ ساعت

آنزیم		آنزیمهای داخلی (سر)		آنزیمهای داخلی (امعاء و احشاء)	
زمان (ساعت)	درجه هیدرولیز (درصد)	پروتئین (میلی گرم در میلی لیتر)	درجه هیدرولیز (درصد)	پروتئین (میلی گرم در میلی لیتر)	درجه هیدرولیز (درصد)
۲	۱۵/۴۱ $\pm$ ۱/۱۲	۳۵/۱۱ $\pm$ ۱/۱۲	۲۳/۱۳ $\pm$ ۱/۴۵	۴۲/۳۶ $\pm$ ۱/۱۶	
۴	۲۱/۲۸ $\pm$ ۱/۴۵	۴۶/۳۲ $\pm$ ۱/۱۷	۳۴/۲۰ $\pm$ ۱/۵۲	۵۸/۳۲ $\pm$ ۱/۲۵	

## بحث

نتایج سایر محققین نیز حاکی از میزان بالای پروتئین در روشهای هیدرولیز شده می باشد که نتایج تحقیق حاضر را تایید می کند (Kiritinsson & Rasco, ;Diniz & Martin., 1997) Ovisipour *et al.*, ;Bhaskar *et al.*, 2008; 2000a,b; 2009a,c). Ovisipour و همکاران (۲۰۰۹a) طی تحقیقی نشان دادند که میزان پروتئین در هیدرولیز امعاء و احشاء تاسماهی ایرانی با استفاده از آنزیم آلكالاز، در حدود ۶۶ درصد می باشد.

نتایج مربوط به هیدرولیزاسیون در جداول ۱ و ۲ ارائه شده است. نتایج نشان دادند که با افزایش زمان هیدرولیزاسیون، درجه آن نیز افزایش پیدا می کند. این در حالی است که از شدت و نرخ هیدرولیز کاسته می شود. بطوریکه بیشترین میزان هیدرولیزاسیون در ۱۲۰ دقیقه اول رخ داده است. این حالت در ۲ تیمار مشابه می باشد. علت این حالت را می توان چنین توجیه نمود که با افزایش زمان هیدرولیزاسیون، مقدار سوبسترا (امعاء و سر) برای تولید باندهای پپتیدی در دسترس آنزیم کاهش پیدا می کند و همچنین مقدار آنزیم به واسطه تجزیه امعاء و احشاء

و سر و حرارت ایجاد شده این واکنش کاسته می شود (Guerard *et al.*, 2002; Kritinsson & Rasco, 2000a,b). همچنین نتایج مطالعات Rasco و Kritinsson (۲۰۰۰b) در خصوص هیدرولیز ماهی آزاد نشان می دهند که روند هیدرولیز با افزایش طولانی تر زمان کاهش یافته و ثابت باقی می ماند. آنها علت این امر را کاهش غلظت پیوندهای پپتیدی قابل دسترس برای آنزیم، مهار آنزیم و غیر فعال شدن آن بیان کردند. بدلیل نبود سوبسترای لازم جهت هیدرولیز فراتر، بالطبع فعالیت آنزیمی کاهش و روند هیدرولیز ثابت می ماند.

در تحقیقی که توسط اویسی پور و همکاران (۱۳۸۹) اثر سه آنزیم تجاری پروتئاز روی خواص پروتئینهای هیدرولیز شده امعاء و احشاء ماهی تن زرد باله مورد بررسی قرار دادند، نتایج در تحقیق آنها نشان داد آنزیم آلكالاز می تواند پروتئین هیدرولیزی با درجه هیدرولیزاسیون مطلوبی تولید کند که نتایج تحقیق حاضر را تایید می کند.

در تحقیق حاضر مقایسه میزان پروتئین و درجه هیدرولیز امعاء و احشاء و سر ماهی فیتوفاگ با استفاده از آنزیم آلكالاز و

hydrolysis of visceral waste protein of catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresource Technology*, 99:335-343.

**Diniz A.M. and Martin A.M., 1997.** Optimization of nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthisas*) porotein: Composition of the hydrolysates. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 48:191-200.

**FAO, 2006.** Yearbook of fishery statistics. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, Italy. Vol. 98, No. 1&2.

**Fonkwe L.G. and Singh R.K., 1996.** Protein recovery from enzymatically deboned turkey residue by enzymic hydrolysis. *Process Biochemistry*, 31(6):605.

**Guerard F., Guimas L. and Binet A., 2002.** Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 19-20:489-498.

**Kristinsson H.G. and Rasco B.A., 2000a.** Fish protein hydrolysates: Production, biochemical, and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(1):43-81.

**Kristinsson, H.G. and Rasco, B.A., 2000b.** Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48:657-666.

**Layne E., 1957.** Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. *Methods in Enzymology*, 3:450-451.

آنزیم‌های داخلی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که از میان آنزیم‌های الکالاز و آنزیم‌های داخلی، آنزیم الکالاز می‌تواند پروتئین هیدرولیزی با درجه هیدرولیزاسیون و میزان پروتئین بالاتری تولید کند.

نتایج حاضر نشان دادند که پروتئین‌های هیدرولیز شده باقیمانده ماهی دارای میزان پروتئین و درجه هیدرولیز مطلوبی است، بنابراین مطلوب است تحقیقات بیشتری در این زمینه، بخصوص استفاده آن بعنوان محیط کشت پپتون و غیره صورت گیرد.

بنابراین پیشنهاد می‌شود که باقیمانده ماهی بعنوان یک منبع با ارزش در نظر گرفته شود که در این صورت نه تنها می‌توان از این باقیمانده محصولات مفید و با ارزش تولید کرد بلکه می‌توان از ایجاد آلودگی که این ضایعات می‌توانند به همراه داشته باشند نیز جلوگیری نمود و امید داشت که مدیران و کارشناسان و سرمایه‌گذاران بتوانند از باقیمانده آبزیان که بعنوان ضایعات نام می‌برند، مواد با ارزش افزوده بالا تولید نمایند.

## منابع

اتحادیه شرکتهای تعاونی تکثیر و پرورش ماهیان گرم آبی سراسر کشور. [WWW.garmabi.com](http://WWW.garmabi.com)

اویسی‌پور، م.ر.؛ عابدیان کناری ع.م.؛ معتمدزادگان ع. و نظری ر.م.، ۱۳۸۹. بررسی خواص پروتئین‌های هیدرولیز شده امعاء و احشاء ماهی تون (*Thunnus albacares*) زرد باله با استفاده از آنزیم‌های تجاری. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، سال ششم، شماره ۱، صفحات ۶۷ تا ۷۶.

**Amiza M.A., Nurul Ashikin S. and Faazaz A.L., 2011.** Optimization of enzymatic protein hydrolysis from silver catfish (*Pangasius sp.*) frame. *International Food Research Journal*, 18:775-781.

**AOAC, 2005.** Official methods of analysis. (Sixteenth Ed.) Association of Official Analytical Chemists, Washington DC. USA.

**Bhaskar N., Benila T., Radha C. and Lalitha R.G., 2008.** Optimization of enzymatic

- Liaset B., Kare Julshamn and Espe M., 2003.** Chemical composition and theoretical nutritional evaluation of the produced fractions from enzymic hydrolysis of salmon frames with protamex. *Process Biochemistry*, 38:1747-1759.
- 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*, 70:571-578.
- Ovissipour M., Abedian A.M., Motamedzadegan A., Rasco B., Safari R. and Shahiri H., 2009a.** The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. *Food Chemistry*, 115:238-242.
- Ovissipour M., Safari R., Motamedzadegan A. and Shabanpour B., 2009b.** Chemical and biochemical hydrolysis of Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) visceral protein. *Food Bioprocess Technology*,
- Ovissipour M., Taghiof M., Motamedzadegan A. and Rasco B., 2009c.** Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste protein of beluga (*Huso huso*) using alcalase. *International Aquatic Research*, 1:31-38.
- Shahidi F., Han X.Q. and Synowiecki J., 1995.** Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemistry*, 53:285-293.
- Souissi N., Bougatef A., Triki-Ellouz Y. and Nasri M., 2007.** Biochemical and functional properties of Sardinella by-product hydrolysate. *Food Technology Biotechnology*, 45(2):187-194.
- 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. *Food Chemistry*, 104:1698-1704.

**Comparison of produced fish protein hydrolysete from viscera  
and head of Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) using  
Alcalase enzyme and internal tissue enzymes**

**Hosseini Sh.\*<sup>(1)</sup>; Ghoroghi A.<sup>(2)</sup>; Jamalzadeh H.R.<sup>(3)</sup>; Safari R.<sup>(4)</sup> and  
Hosseini Sh.<sup>(5)</sup>**

Hoseini\_shady@yahoo.com

1,3-Islamic Azad University, Tonekabon Branch, P.O.Box: 468416-1167 Tonekabon, Iran

2-Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

4-Caspian Sea Ecology Center, P.O.Box: 961 Sari, Iran

5-Rajaie Cardiovascular and Medical Research Center, Tehran University of Medical Sciences,  
P.O.Box: 1996911151 Tehran, Iran

Received: June 2012

Accepted: September 2012

**Keywords:** Biotechnology, Fish processing, Fish wast

### *Abstract*

In the present study, hydrolysed protein of viscera and head of Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) was compared using Alcalase enzyme and internal tissue enzymes at 2 and 4 hours. The result indicated that product by Alcalase (Treatment 1) had significantly higher protein and rate of hydrolysates than that produced by internal tissue enzymes (Treatment 2). So, the highest mean ( $\pm$ SD) protein ( $68.10 \pm 1.33$ ) was related to treatment 1-head (with Alcalase enzyme) after 4 hours and the highest rate of hydrolysates ( $29.36 \pm 1.35$ ) was related to treatment 1-head (with Alcalase enzyme) after 4 hours. The result indicated that rate of hydrolysates raised as time of hydrolysates increased. However the intensity and rate of hydrolysates is reduced. The highest rate of hydrolysates occurred at 120 minutes in the first. This mode was similar for two treatments. The result can be considered as the Alcalase was preferred to internal enzyme.

---

\*Corresponding author