مقایسه راندمان بازیافت و درجه هیدرولیز پروتئین های موجود در امعاء و احشای ماهی کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*) با استفاده از آنزیم

مهران یاسمی[۱]* ؛ محمد رضا قمی مرزدشتی[۲]؛ طاهره دارنهال[۳] ؛ بهروز محمدزاده[٤] و هومن امینی[٥]

yasemi_m@yahoo.com

۱- موسسه آموزش عالی علمی –کاربردی جهاد کشاورزی، تهران صندوق پستی: ۱۷۸۳-۱۳۱٤٥

۲،۳و٥-گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، صندوق پستی:١٦١٦ تنکابن

۴- دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ٣٥٦

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۲

چکیده

در تحقیق حاضر امعاء و احشاء ماهی کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*) تحت تاثیر آنزیم‌های تجاری آلکالاز، پاپائین و پروتامکس بطور جداگانه هیدرولیز گردیدند. در ادامه دو شاخص راندمان بازیافت و درجه هیدرولیز پروتئین‌های حاصله در شرایط مختلف فرآیند هیدرولیز (زمان و دماهای مختلف) محاسبه و بین آنزیم‌های مورد بررسی مقایسه گردید. برای تمام آنزیم‌های مورد استفاده در این تحقیق با افزایش زمان و دمای هیدرولیز میزان بازیافت پروتئینی و درجه هیدرولیزاسیون افزایش یافت و بیشینه این دو شاخص برای هر ۳ آنزیم در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد و در زمان ٦٠ دقیقه و کمینه آنها نیز در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد و در زمان ۱۵ دقیقه مشاهده گردید. همچنین نتایج نشان داد که در بین ۳ آنزیم مورد بررسی آلکالاز در شرایط دمایی یکسان و در زمانهای مختلف نسبت به آنزیم های پاپائین و پروتامکس دارای بازیافت پروتئینی و درجه هیدرولیزاسیون بیشتری است، بطوریکه بیشترین بازیافت پروتئینی بدست آمده در این تحقیق مربوط به آنزیم آلکالاز و در دمای ۵۵ دقیقه و زمان ٦٠ دقیقه بود (۲/۳۹±۵۱/۳۸ درصد) همچنین بالاترین درجه هیدرولیزاسیون نیز مربوط به آنزیم آلکالاز و در ۵۵ درجه سانتیگراد و زمان ٦٠ دقیقه بود (>۲۰ درصد). پیشنهاد می‌شود که استفاده از آنزیم آلکالاز جهت تولید پروتئین هیدرولیز شده از ضایعات ماهی کپور سرگنده از حیث راندمان بازیافت و درجه هیدرولیز بهتر می باشد.

کلمات کلیدی: آلکاز، پروتامکس، پاپائین، فرآوری

*نویسنده مسئول

مقدمه

عمده‌ترین مواد جانبی صنایع عمل‌آوری آبزیان شامل: امعاء و احشاء، پوست، فلس، ستون مهره و استخوانهای تنه می‌باشد (Benjakul & Morrissey , 1997). این ضایعات صنایع شیلاتی غنی از پروتئین و چربی بوده که باعث تسریع فساد در آنها می‌گردد (Bhaskar *et al.,* 2008). اگر این ترکیبات بیولوژیکی به نحو ویژه‌ای مورد استفاده قرار بگیرند، از یک سمت باعث کاهش آلودگی زیست محیطی ناشی از دور ریختن آنها شده و از سوی دیگر تولید محصولاتی با ارزش افزوده بالا را به دنبال خواهند داشت (کوچکیان و یاسمی، ۱۳۸۹؛ اویسی‌پور و قمی، ۱۳۸۷). یکی از راههای تولید محصولاتی با ارزش افزوده بالا از این مواد خام کم ارزش، کاربرد آنزیم‌های پروتئاز به منظور تولید پروتئین هیدرولیز شده می‌باشد (Kristinsson & Rasco, 2000a).پروتئین‌های هیدرولیز شده ماهیان، دارای کاربردهای وسیعی هستند، این مواد بدلیل داشتن پپتیدهای زیست فعال، کندروتین سولفات و خواص ضد اکسایشی، از جمله مواد مناسب برای درمان سرطان محسوب می‌شوند. از طرف دیگر به دلیل کوتاه بودن زنجیره پپتیدی، دارای قابلیت هضم بالایی هستند و می توانند به عنوان مکمل پروتئینی در تغذیه انسان، دام و آبزیان مورد استفاده قرار گیرند (اویسی پور و قمی، ۱۳۸۷). همچنین نقش موثر پروتئین‌های هیدرولیز شده به عنوان منبع نیتروژن در محیطهای کشت باکتری، به اثبات رسیده است (Gildber *et al.,* 1989; Ovissipour *et al.,* 2009c; Safari *et al.,* 2009). تحقیقات زیادی روی هیدرولیز آنزیمی قسمتهای مختلف ماهی با استفاده از آنزیم‌های تجاری انجام شده است. بسیاری از این تحقیقات، اثر آنزیم‌های مختلف را مورد بررسی قرار داده‌اند که از آن جمله می‌توان به آنزیم پاپاین با منشاء گیاهی (Hoyle & Merritt, 1994 ; Shahidi *et al.,* 1995) و آنزیم تریپسین و کموتریپسین با منشاء جانوری (Ovissipour *et al.,* 2009c; Simpson *et al.,* 1998) و آنزیم‌های آلکالاز، پروتامکس، فلاورزایم و نئوتراز با منشاء میکروبی (Aspmo *et al.*,; Benjakul & Morrissey , 1997 2005; Bhaskar *et al.,* 2008; Ovissipour *et al.,* 2009a; Ovissipour *et al.,* 2009c; Safari *et al.,* 2009) اشاره نمود. کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*) یکی از گونه‌های پرورشی آب شیرین محسوب می‌شود؛ با توجه به افزایش حجم تولید ماهیان پرورشی آب شیرین و لزوم چاره اندیشی جهت حل مشکلات زیست محیطی ضایعات این گونه‌ها و استفاده بهینه از آنها و با توجه به مطالب بیان شده، تحقیق حاضر با هدف مقایسه اثر سه آنزیم با منشاء میکروبی وگیاهی (آلکالاز، پروتامکس و پاپائین) روی راندمان بازیافت و درجه هیدرولیز پروتئین‌های موجود در امعاء و احشای ماهی کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*) انجام شده است.

مواد وروش کار

ماهی کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*) با میانگین وزنی ۲ کیلوگرم در آبان ماه از بازار ماهی فروشان شهرستان ساری (استان مازندران) تهیه با ظروف یونولیتی به آزمایشگاه مرکز رشد واحدهای فناور واقع در شهرستان ساری منتقل گردید. به محض رسیدن نمونه‌ها امعا و احشا ماهی جدا شده و با دستگاه چرخ گوشت کاملاً چرخ شد و سپس مقداری از نمونه‌های چرخ شده به منظور تعیین ترکیب شیمیایی (جهت تعیین میزان پروتئین اولیه) برداشته شد و مابقی در بسته‌های پلاستیکی بصورت ۵۰ گرمی که با ترازوی دیجیتالی توزین شده بسته‌بندی گردید و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد منجمد شده و تا شروع آزمایش در همین حالت نگه‌داری شدند. به منظور هیدرولیز آنزیمی امعاء و احشاء ماهی کپور سرگنده، از دو آنزیم پروتئاز با منشاء میکروبی و یک آنزیم با منشاء گیاهی استفاده شد. همه آنزیم‌ها از شرکت نووزایم دانمارک تهیه و تا زمان آزمایش در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگه‌داری شدند. میزان مصرف آنزیم ۱درصد پروتئین اولیه است. میزان فعالیت آنزیمی به صورت واحد آنسون به ازای هر کیلوگرم پروتئین به سوبسترا (Au/kg protein) برای آلکالاز و پروتامکس و TU/mg ۱۰۰برای پاپاین ارائه شده است. جهت تولید پروتئین هیدرولیز شده به شرح ذیل عمل شد؛ پس از خروج نمونه از یخچال و انجمادزدایی ۵۰ گرم از نمونه‌ها درون ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و سپس میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به نسبت (۲:۱) به ارلن مایر اضافه گردید و با همزن دیجیتالی به مدت ۲ دقیقه هموژنیزه شد سپس به مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری با درجه حرارت ۸۵ درجه سانتیگراد به منظور غیرفعال سازی آنزیم‌های داخلی قرار داده شد (Guerard *et al.,* 2002; Ovissipour *et al.,* 2009a). pH نمونه‌ها با pH سنج اندازه گیری شد و با اضافه کردن هیدروکسید سدیم ۰/۲ نرمال به pHآلکالاز، (پروتامکس و پاپاین) رسانیده شد. نمونه‌ها در

دستگاه انکوباتور متحرک در دماهای ۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتیگراد برای آزمایش مقایسه بین آنزیم‌ها در دماهای ارائه شده، برای تولید پروتئین هیدرولیز شده با دور ثابت ۲۰۰۰ rpm در دقیقه قرار داده شد و پس از ۱۰ دقیقه که دمای نمونه‌ها به دمای مورد نظر رسید آنزیم‌ها (۱درصد میزان پروتئین) با میکروسمپلر و ترازوی دیجیتالی اضافه شدند و پس از هر نمونه‌گیری (زمان ۱۵ و ۳۰ دقیقه) و در پایان آزمایش(زمان ۶۰ دقیقه) به منظور قطع واکنش آنزیمی در حمام آبی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند (Guerard *et al.* 2002; Ovissipour *et al.*, 2009a). پروتئین‌های هیدرولیز شده با استفاده از یخ سرد شد و با استفاده از سانتریفوژ با دور ۸۰۰۰ ×g در ۱۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. سوپرناتنت نمونه‌ها با استفاده از سرنگ جمع‌آوری شد و پروتئین هیدرولیز شده در فریزر نگهداری شد و سپس با استفاده از دستگاه خشک کن انجمادی دردمای ۶۰- درجه سانتیگراد تا ۷۰- درجه سانتیگراد قرار داده شد تا بصورت پودر درآیند (Krisstinson & Rasco, 2000a).

میزان کل پروتئین در مواد خام (N×6/25) به روش کلدال بدست آمد (AOAC, 2002). میزان پروتئین سوپرناتانت به روش بیورت (layne, 1957) تعیین شد.

میزان هیدرولیز براساس روش Fonkwe و Singh (۱۹۹۶) به کمک تری کلرواستیک اسید (TCA) اندازه‌گیری شد. مبنای این روش اندازه‌گیری درصد نسبت پروتئین‌های محلول در تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به کل پروتئین‌های موجود در نمونه می‌باشد. برای این منظور ۵ میلی‌لیتر از نمونه با ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد مخلوط گردید و پس از به هم زدن به مدت ۵ دقیقه، با ۵۰۰۰ rpm و زمان ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس مقدار پروتئین در فاز محلول اندازه‌گیری و میزان هیدرولیز از طریق رابطه ۱ زیر محاسبه گردید (Krisstinson & Rasco, 2000b).

رابطه۱

$$\%DH = (\text{TCA 10\% soluble pr in the supernatant/total pr in the sample}) \times 100$$

میزان بازیافت پروتئینی نشان‌دهنده توانایی یک آنزیم در جداسازی پروتئین‌های یک ماده می‌باشد، که به خصوصیات ماده مورد نظر، شرایط هیدرولیز و فعالیت آنزیم بستگی دارد در تحقیق حاضر میزان بازیافت پروتئینی از رابطه ۲ محاسبه گردید (Shahidi *et al.*, 1995).

رابطه ۲

$$PR(\%) = \left[\frac{\text{Total Protein in supernatant (\%)}}{\text{Total Protein in Sample (\%)}}\right] \times 100$$

به منظور مقایسه درجه هیدرولیز و راندمان بازیافت پروتئین‌های حاصله از امعاء و احشا تحت تاثیر آنزیم‌های آلکالاز، پروتامکس و پاپائین از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون آماری دانکن در سطح اعتماد ۹۵ درصد و نرم افزار آماری SPSS برای آنالیز آماری استفاده شد.

نتایج

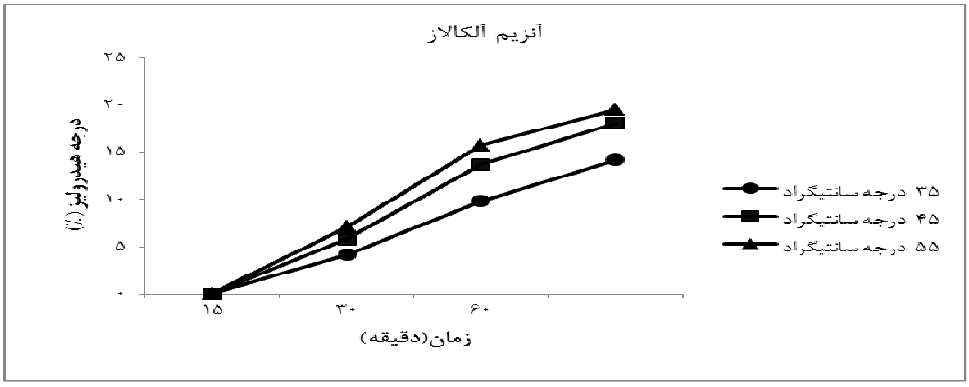
نتایج راندمان بازیافت پروتئینی پروتئین هیدرولیز شده تولیدی توسط ۳ آنزیم تجاری (آلکالاز، پاپائین و پروتامکس) در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج حاکی از آن است که در هر سه آنزیم مورد بررسی راندمان بازیافت پروتئینی تحت تاثیر درجه حرارت و زمان هیدرولیز است، بطوریکه با افزایش زمان هیدرولیز و درجه حرارت فرایند هیدرولیز؛ راندمان بازیافت پروتئینی در تمامی آنزیم‌های افزایش می‌یابد نتایج مقایسه عملکرد آنزیم‌ها از لحاظ راندمان بازیافت پروتئینی حاکی از آن است که در هر کدام از دماهای مورد بررسی (۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتیگراد) راندمان بازیافت پروتئینی مربوط به پروتئین هیدرولیز شده توسط آنزیم آلکالاز در زمانهای مختلف بطور معنی‌داری ($P<0/05$) بیشتر از دو آنزیم پاپائین و پروتامکس می‌باشد.

جدول ۱ :تغییرات بازیافت پروتئینی، پروتئین هیدرولیز شده تولیدی توسط ۳ آنزیم تجاری (آلکالاز ، پاپائین و پروتامکس) در شرایط دمایی یکسان و در زمانهای مختلف

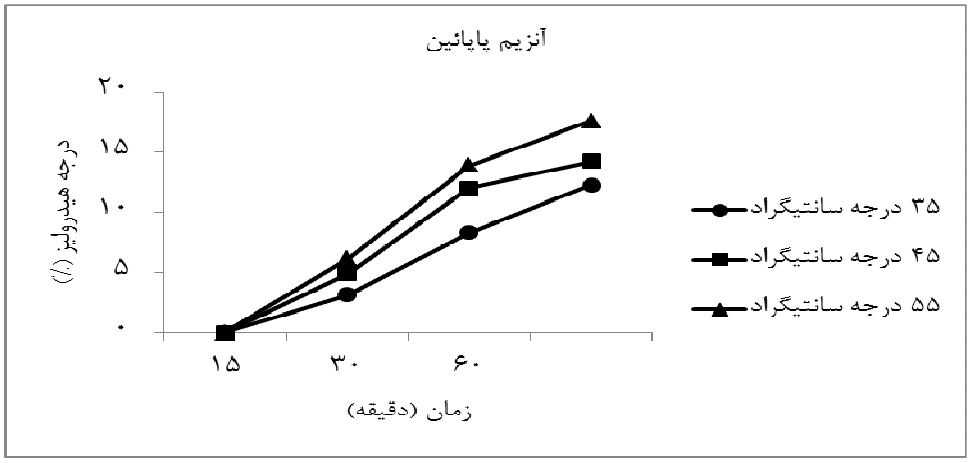
دمای هیدرولیز (درجه سانتیگراد)	نوع آنزیم	زمانهای هیدرولیز		
		۱۵	۳۰	۶۰
۳۵	آلکالاز	۲۲/۵٤ ±۲/۰۹^{A}*	۳۰/٦۸ ±۱/٤۲^{A}	۳۸/۹۸ ±۱/٤۹^{A}
	پاپائین	۱۹/۵۷ ±۱/۰۵^{B}	۲۸/٦۳ ± ۱/٦۵^{B}	۳۵/۸۹ ±۱/۵۰^{B}
	پروتامکس	۱۸/۹٦ ±۱/٤۳^{C}	۲٦/۵٤ ± ۰/۹۱^{C}	۳۳/٤۷ ±۰/۷٤^{C}
٤۵	آلکالاز	۲۷/۹۹ ±۰/٤٤^{A}*	۳٦/۷٤ ± ۱/۲۰^{A}	٤٦/۷۵ ±۱/۷۱^{A}
	پاپائین	۲٤/۵۷ ±۰/۹۷^{B}	۳۲/۲۲ ± ۱/۳۳^{B}	٤۰/٦۹ ±۱/٤۱^{B}
	پروتامکس	۲۳/۸۸ ±۰/٦۲^{C}	۳۰/۲۸ ± ۱/۵۲^{C}	۳۹/۳٤ ±۰/۷٦^{C}
۵۵	آلکالاز	۳۲/۵۲ ±۱/۵۷^{A}*	۳۹/۱۱ ± ۲/۱۰^{A}	۵۱/۳۸ ±۲/۳۹^{A}
	پاپائین	۲۸/۱۷ ±۰/۷۵^{B}	۳٦/۵۷ ± ۰/۹^{B}	٤۵/۸٤ ±۰/٤۳^{B}
	پروتامکس	۲۷/۱۳ ±۰/٦۱^{C}	۳۵/۱٤ ± ۰/٦٤^{C}	٤۳/۸۷ ±۱/۲۱^{C}

*** تغییرات راندمان بازیافت پروتئینی بر حسب درصد در دماهای گوناگون بر حسب سانتیگراد و زمانهای مختلف بر حسب دقیقه (میانگین ± انحراف از معیار)، حروف مشترک نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار و حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار بین آنزیم های مختلف در زمانهای مختلف هیدرولیز می باشد.**

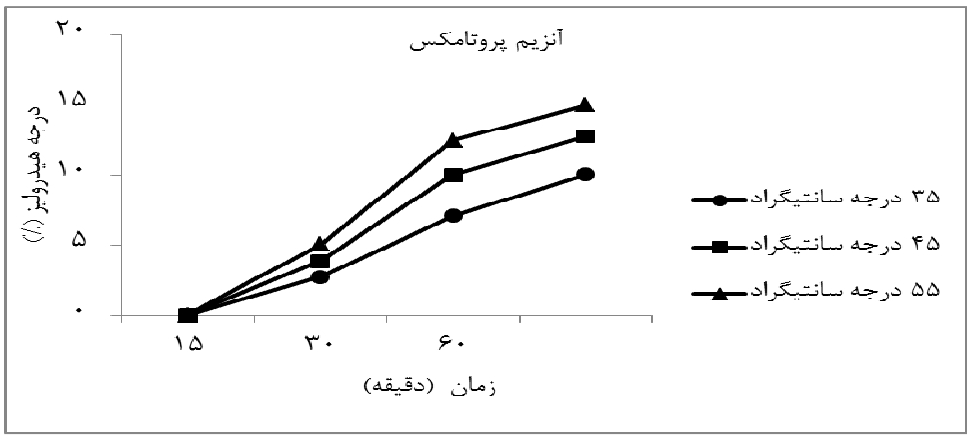
نتایج درجه هیدرولیزاسیون آنزیم‌های مورد بررسی در این مطالعه شامل آلکالاز، پاپائین و پروتامکس جهت تولید پروتئین هیدرولیز شده در اشکال ۱-۳ الی ۳-۳ نشان داده شده است، نتایج نشان دهنده این مطلب است که درجه هیدرولیزاسیون به طور معنی داری تحت تاثیر درجه حرارت و زمان هیدرولیز است، بطوریکه با افزایش زمان هیدرولیز و درجه حرارت فرایند هیدرولیز در تمامی آنزیم افزایش یافت ($P<0/05$) و بیشینه درجه هیدرولیزاسیون برای هر ۳ آنزیم در درجه حرارت ۵۵ درجه سانتیگراد و در زمان ۶۰ دقیقه بدست آمد و کمینه آن نیز در درجه حرارت ۳۵ درجه سانتیگراد و در زمان ۱۵ دقیقه حاصل گردید.



نمودار ۱: تغییرات درجه هیدرولیزاسیون آنزیم آلکالاز در زمانها و درجه حرارت های مختلف



نمودار ۲: تغییرات درجه هیدرولیزاسیون آنزیم پاپائین در زمانها و درجه حرارتهای مختلف



نمودار ۳: تغییرات درجه هیدرولیزاسیون آنزیم پروتامکس در زمانها و درجه حرارتهای مختلف

بحث

راندمان بازیافت پروتئینی نشان‌دهنده توانایی یک آنزیم در جداسازی پروتئین‌های یک ماده می‌باشد، که به خصوصیات ماده مورد نظر، شرایط هیدرولیز و فعالیت آنزیم بستگی دارد. راندمان بازیافت پروتئینی در هر ۳ آنزیم مورد بررسی در این مطالعه با افزایش زمان و دمای هیدرولیز افزایش یافت بطوریکه کمترین راندمان بازیافت پروتئینی برای هر ۳ آنزیم در زمان ۱۵ دقیقه و بیشترین راندمان بازیافت پروتئینی در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد ثبت گردید. مقایسه آنزیم‌های بکار رفته در واکنش هیدرولیزاسیون جهت تولید پروتئین هیدرولیز شده از لحاظ راندمان بازیافت پروتئین نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) بین آنزیم‌ها از لحاظ این شاخص است، بطوریکه مطابق نتایج بدست آمده (جدول ۱) در شرایط یکسان دمایی و در زمانهای مختلف بیشترین میزان بازیافت پروتئین مربوط به آنزیم آلکالاز و کمترین آن مربوط به آنزیم پروتامکس بود بطوریکه در مجموع بیشترین راندمان بازیافت پروتئینی مربوط به آنزیم آلکالاز در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد و زمان ۶۰ دقیقه و معادل ۲/۳۹±۵۱/۳۸ درصد ثبت گردید؛ کمترین میزان راندمان بازیافت پروتئینی نیز مربوط به آنزیم پروتامکس در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد و زمان ۱۵ دقیقه و معادل ۱/۴۳±۱۸/۹۶ بدست آمد؛ این نتایج نشان‌دهنده تاثیرگذاری بیشتر آنزیم آلکالاز نسبت به دو آنزیم دیگر در فرآیند هیدرولیز می‌باشد، بالا بودن فعالیت پروتئولتیکی آنزیم آلکالاز در فرآیند هیدرولیز نسبت به سایر آنزیم‌ها در سایر مطالعات نیز اثبات گردیده است، بطوریکه Ovissipour و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی اثر پنج آنزیم پروتئاز روی خواص پروتئین هیدرولیز شده امعاء و احشاء تاسماهی ایرانی نتیجه گرفتند که بیشترین میزان پروتئین

مربوط به فرآورده تولید شده توسط آلکالاز می‌باشد و از این لحاظ آنزیم‌های پروتامکس و فلاورزایم بترتیب در مرتبه بعدی قرار داشتند. یکی از مهمترین پارامترهای بررسی خواص پروتئین‌های هیدرولیز شده، درجه هیدرولیزاسیون می‌باشد که میزان شکسته شدن باندهای پپتیدی را بیان می‌کند. کنترل میزان این بسیار مهم است، زیرا که بسیاری از خواص پروتئین هیدرولیز شده از جمله میزان اسیدهای آمینه آزاد، میزان انحلال پذیری و وزن مولکولی پروتئین تولید شده، وابسته به شدت و درجه هیدرولیزاسیون می‌باشد (Slizyte *et al.,* 2005). از طرف دیگر هیدرولیز شدید آنزیمی که باعث از بین رفتن خواص حساسیت‌زای پروتیئن‌ها شده و کاربرد آنها را در تغذیه کودکان دچار حساسیت، ممکن می‌سازد، با بررسی درجه هیدرولیزاسیون، تخمین زده می‌شود (Mahmoud, 1994). نتایج مربوط به درجه هیدرولیزاسیون آنزیم‌های تجاری مورد استفاده در این مطالعه (نمودارهای ۱، ۲ و ۳) نشان می‌دهد که با افزایش زمان فرآیند هیدرولیزاسیون، درجه هیدرولیزاسیون در تمامی آنزیم‌ها افزایش پیدا می‌کند، این درحالی است که از شدت و نرخ هیدرولیز کاسته می‌شود. بطوریکه بیشترین میزان هیدرولیزاسیون در ۱۵ دقیقه دوم در تمامی دماها رخ داده است که این حالت در سه آنزیم مشابه می‌باشد. این نتایج مشابه نتایج سایر محققین می‌باشد (Guerard *et al.,* 2002; Diniz & Martin,1997; Kristinsson & Kristinsson & Rasco 2000b; Rasco 2000a; Ovissipour *et al.,* 2009a; Ovissipour *et al.,* 2009b). علت این وضعیت را می‌توان چنین توجیه نمود که با افزایش زمان هیدرولیزاسیون، تعداد باندهای پپتیدی در دسترس آنزیم کاهش پیدا می‌کند، همچنین از میزان فعالیت پروتئولتیکی آنزیم کاسته می‌شود که در مجموع موجب می‌شود که شدت هیدرولیز کاهش یابد. از طرف دیگر شکل گیری ترکیباتی که ممانعت کننده فعالیت آنزیمی هستند نیز می‌تواند در این امر دخیل باشد (Ovissipour *et al.,* 2009b; Ovissipour *et al.,* 2009a; Guerard *et al.,* 2002). افزایش درجه هیدرولیز همزمان با افزایش زمان واکنش هیدرولیز و دمای هیدرولیز در سایر مطالعات نیز مشاهده شده است از جمله در مطالعه Kristinsson و Rasco (۲۰۰۰) بر روی ویژگی‌های بیوشیمیایی و کاربردی پروتئین هیدرولیز شده عضله ماهی آزاد آتلانتیک (*Salmo salar*) توسط پروتئازهای قلیایی مختلف؛ در مطالعه هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌های ضایعات ماهی تن زرد باله (*Thunnus albacores*) با استفاده از آلکالاز توسط Guerard و همکاران (۲۰۰۱)؛ همچنین مطالعه Ovissipour و همکاران (۲۰۰۹) روی پروتئین هیدرولیز تولید شده از ضایعات سر ماهی تن زرد باله با استفاده از آنزیم آلکالاز و پروتامکس. در مطالعه حاضر نیز بیشترین درجه هیدرولیزاسیون برای هر یک از آنزیم‌ها در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد و در زمان ۶۰ دقیقه مشاهده گردید و کمترین آن نیز برای هر ۳ آنزیم در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد و زمان ۱۵ دقیقه مشاهده شد. مقایسه بین درجه هیدرولیزاسیون آنزیم‌های مختلف در پایان واکنش نشان می‌دهد که درجه هیدرولیزاسیون توسط آنزیم آلکالاز به صورت معنی‌داری از دو آنزیم دیگر بالاتر می‌باشد ($P<0/05$). با توجه به توسعه آبزی پروری و تولید روزافزون ماهیان پرورشی موضوع افزایش ضایعات حاصل از این بخش صنعت شیلات در آینده‌ای نه چندان دور شبیه ضایعات حاصل از صید از دریاها مشکل ساز خواهد شد و قاعدتا تبعات زیست محیطی را نیز به دنبال خواهد داشت. استفاده از فرآیند هیدرولیزاسیون توسط آنزیم‌های تجاری به منظور حذف این ضایعات و تبدیل آنها به موادی دارای ارزش افزوده می‌تواند به عنوان راهکاری مناسب مطرح باشد. با توجه به نتایج بدست آمده از این مطالعه استفاده از آنزیم آلکالاز می‌تواند موجب تولید پروتئین هیدرولیز شده با خواص کیفی مطلوبی چون راندمان بازیافت پروتئینی و درجه هیدرولیزاسیون بالا گردد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد انجام گرفته است. از همکاری و مساعدت های آقایان دکتر محمود رضا اویسی پور و خانم ماهرخ نعمتی تقدیر می گردد.

منابع

اویسی‌پور، م. و قمی، م.ر.، ۱۳۸۷. بیوتکنولوژی در تولید فرآورده‌های دریایی. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن صفحات ۱۰۴ تا ۱۳۷..

کوچکیان، ا. و یاسمی، م.، ۱۳۸۹. فناوری تولید فرآورده‌های شیلاتی. انتشارات مؤسسه آموزش عالی علمی-کاربردی. ۱۲۶ صفحه.

AOAC, 2002. Official Methods of Analysis (16th Ed.). Washington: Association of Official Analytical Chemists.

Aspmo S.I., Horn S.J. and Eijsink V.G.H., 2005. Enzymatic hydrolysis of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera. Process Biochemistry, 40:1957–66.

Benjakul B. and Morrissey M.T., 1997. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45:3423–3430.

Bhaskar N., Benila T., Radha C. and Lalitha R.G., 2008. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. Bioresource Technology, 99(2):335-343.

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

Fonkwe L.G. and Singh R.K., 1996. Protein recovery from enzymatically deboned turkey residue by enzymic hydrolysis. Process Biochemistry, 31(6):605-616.

Gildberg A., Batista I. and Strøm E., 1989. Preparation and characterization of peptones obtained by a two-step enzymatic hydrolysis of whole fish. Biotechnology and Applied Biochemistry, 11:413–423.

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

Hoyle N.T. and Merritt J.H., 1994. Quality of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). Journal of Food Science, 59:76–79.

Kristinsson H.G. and Rasco B.A., 2000a. Fish protein hydrolysates: Production, biochemical and functional properties. Critical review in FoodScience ndNutrition, 40:43-81.

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. Academic Press, New York, USA. 450P.

Mahmoud M.I., 1994. Physicochemical and functional properties of protein hydrolysates in nutritional products. Food Technology, 59:89– 94.

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 the Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. Food Chemistry, 115:238–242.

Ovissipour M., Safari R., Motamedzadegan A., Rasco B., Pourgholam R., Mohagheghi E., Esmaeili Mulla A., 2009b. Use of hydrolysates from Yellowfin tuna *Thunnus albacares* fisheries by-products as a nitrogen source for bacteria growth media. International Aquatic Research, 1:73–77.

Ovissipour M., Safari R., Motamedzadegan A., and Shabanpour B. 2009c. Chemical and biochemical hydrolysis of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) visceral protein. Food and Bioprocess Technology, 1:460-465.

Safari R., Motamedzadegan A., Ovissipour M., Regenstein J.M., Gildberg A. and Rasco B., 2009. Use of hydrolysates from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) heads as a complex nitrogen source for lactic acid bacteria. Food and Bioprocess Technology, 5(3):71-79.

Shahidi F., Han X.Q. and Synowiecki J., 1995. Production and characteristics of protein hydrolysis from capelin (*Mallotus villosus),* Food chemistry. 53:285-292.

Simpson B.K., Nayeri G., Yaylayan V. and Ashie N.A., 1998. Enzymatic hydrolysis of shrimp meat. Food Chemistry, 61(1/2):131–138.

Šližyte R., Daukšas E., Falch E., Storr ̋ I. and Rustad T., 2005. Characteristics of protein fractions generated from cod (*Gadus morhua*) by-products. Process Biochemistry, 40:2021–2033.

Yelid of protein recovery and degree of hydrolysis associated protein hydrolysates from Bighead Carp (*Aristichthys nobilis*) by using enzymes

Yasemi M.[(1)*]; Ghomi Marzdashti M.R.[(2)]; Darnahal T.[(3)]; Mohammadzadeh B.[(4)] and Amini H.[(5)]

yasemi_m@yahoo.com

1- Institute of Applied Scientific Higher Education of Jahad-e-Agriculture, Fisheries & Aquatic Dep., P.O.Box: 13145-1783, Tehran, Iran

2,3,5- Fisheries Dep., Islamic Azad University Branch P.O.Box:1616 Tonekabon, Iran

4-Tarbiat Modares University, P.O.Box: 356 Noor, Iran

Received: Febuarary 2012 Accepted: June 2013

Keywords: Alkalase, Papain, Protamex, Processing

Abstract

The present study compared the properties of Bighead carp (*Aristichthys nobilis*) visceral, viscera use of commercial enzymes (Alcalase, Papain, and Protamex), recovery protein and degree of hydrolysis in the various temperatures and times of hydrolysis process. According to results, increase in time and temperature in hydrolysis process, led to increase in both recovery protein and degree of hydrolysis. Maximum of these parameters were observed at 55°C and 60min. minimum of parameters were observed at 35°C and 15min. In addition, among enzymes being investigated, Alcalase had high rate of recovery protein and degree of hydrolysis in equal temperature and times different from others enzymes (Papain and Protamex). Maximum mean of recovery protein for Alcalase was %51.38±2.39 in 55°C and 60 min of hydrolysis process. Also, maximum degree of hydrolysis for Alcalaqse was more than 20% at 55°C and 60 min of hydrolysis process. In conclusion, use of Alcalase enzyme induces product protein hydrolysates from Bighead Carp *(Aristichthys nobilis)* viscera that have suitable quality than others enzymes (Papain, and Protamex).

*Corresponding author