مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی مقایسه ای ویژگی های فیزیکوشیمیایی هیدرولیزهای پروتئینی سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار گربه ماهی (*Pangasius sutchi*) توسط هیدرولیز آنزیمی

لیلا نجفیان[1*]

۱- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۷

کلمات کلیدی:

پروتئین های سارکوپلاسمی و میوفیبریلار،

ترکیبات اسید آمینه،

حلالیت،

وزن مولکولی،

هیدرولیز آنزیمی.

DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7

* مسئول مکاتبات:

najafian_5828@yahoo.com

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌های سارکوپلاستیک و میوفیبریلار گربه ماهی patin (*Pangasius sutchi*) بر ترکیبات شیمیایی، حلالیت، درجه هیدرولیز (DH)، محتوای پپتید و ترکیبات اسید آمینه مورد ارزیابی قرار گرفت و وزن مولکولی آنها انجام شد. هیدرولیزهای پروتئین سارکوپلاسمیک ماهی (SPHs) و هیدرولیز پروتئین‌های میوفیبریلار (MPHs) با استفاده از سه نوع پروتئاز: پاپائین، آلکالاز و فلاورزایم تولید شدند و خواص فیزیکوشیمیایی پروتئین ها و وزن مولکولی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نوع پروتئاز بر درجه هیدرولیز (DH) تأثیر می‌گذارد که در آن تمام آنزیم‌ها در ساعت اول سرعت هیدرولیز بالایی را نشان می‌دهند و سپس به تدریج کاهش می‌یابند. نوع آنزیم و میزان DH تا حد زیادی بر ترکیب باقی مانده اسید آمینه و وزن مولکولی هیدرولیزهای پروتئین تأثیر گذاشت. ترکیب اسیدهای آمینه مختلف پروتئین‌ها و هیدرولیزهای آنها مشاهده شد. محتوای پپتید و پروتئین محلول هیدرولیزها با افزایش زمان انکوباسیون به طور قابل توجهی افزایش یافت. میزان بالای اسیدهای آمینه آبگریز و آروماتیک در SPH و MPH می تواند فعالیت‌های بیولوژیکی پپتیدها را افزایش دهد. نتایج نشان می دهد که هر دو هیدرولیزهای پروتئینی سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار مشتق شده از ماهی patin به دلیل وزن مولکولی پایین و اسیدهای آبگریز و آروماتیک بالا ممکن است در مواد غذایی عملکردی و مکمل‌ها استفاده شوند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-11]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213]

۱- مقدمه

فراتر از ارزش غذایی شناخته شده ماهی، پروتئین های رژیم غذایی نقش مهمی در بهبود سلامت انسان دارند [۱]. هیدرولیز آنزیمی برای اصلاح خواص فیزیکوشیمیایی و حسی مناسب پروتئین‌ها بدون ایجاد اثرات منفی بر کیفیت تغذیه‌ای یا عملکردی مفید است [۲]. هیدرولیز آنزیمی جزئی یا گسترده، بسته به آنزیم مورد استفاده و درجه هیدرولیز (DH) به دست آمد، می‌تواند تغییرات مهمی مانند کاهش اندازه مولکولی و افزایش سطح آبگریز را ایجاد کند [۳]. هیدرولیز پروتئین خواص عملکردی را با افزایش حلالیت و خواص سطحی، که خواص مهم در کاربردهای محصولات غذایی هستند، بهبود می‌بخشد [٤ و ٥]. آبگریزی و بار اسیدهای آمینه که ساختار پروتئین اولیه را تشکیل می‌دهند تأثیر زیادی بر حلالیت دارند، اما ترکیب پروتئین و خواص سطحی به همان اندازه مهم هستند [٦ و ٧]. علاوه بر این، پروتئین‌های بزرگ‌تر معمولاً حلالیت کمتری نسبت به پروتئین‌های کوچک‌تر دارند، زیرا کاهش آنتروپی در هنگام ته‌نشینی برای اولی کمتر است [۸]. شرایط فیزیکوشیمیایی محیط واکنش، مانند زمان، دما، pH و نسبت آنزیم به سوبسترا باید برای فعالیت آنزیم تنظیم شود. در کنترل واکنش هیدرولیز، لازم است درجه هیدرولیز (DH) در طول واکنش کنترل شود. نوع آنزیم مورد استفاده در هیدرولیز پروتئین آنزیمی بسیار مهم است زیرا الگوهای برش پیوندهای پپتیدی را دیکته می‌کند [۹]. علاوه بر این، ویژگی آنزیم مورد استفاده و درجه هیدرولیز تا حد زیادی بر ترکیب اسید آمینه هیدرولیزهای پروتئین، وزن مولکولی و در نتیجه فعالیت‌های بیولوژیکی تأثیر می‌گذارد [۱۰]. در هیدرولیز پروتئین ماهی، از آنزیم‌های پروتئولیتیک گیاهان، میکروب‌ها و حیوانات می‌توان برای تولید پپتیدهای زیست فعال استفاده کرد. دو زیر گروه تشکیل شده عبارتند از: پپتیدازها (اگزوپپتیدازها) که اسیدهای آمینه یا دی پپتیدها را به تدریج از انتهای بخش پایانی پروتئین‌ها جدا می کنند، و پروتئینازها (اندوپپتیدازها) که پیوندهای درون زنجیره پپتیدی را هیدرولیز می‌کنند و به پیوندهای پپتیدی پایانی حمله نمی‌کنند [۱۱]. نمونه‌ای از پروتئیناز با منشاء گیاهی پاپائین (از لاتکس پاپایا) است. پاپائین یک سیستئین اندوپپتیداز با pH بهینه ۹-۵ است [۱۲]. ویژگی ترجیحی پاپائین -Lys-Arg و Phe-X-COOH در اسید آمینه پایانی است [۱۳]. پاپائین دارای ویژگی گسترده‌ای است و پیوندهای پپتیدی اسیدهای آمینه اساسی، لوسین یا گلیسین را می‌شکنند. همچنین استرها و آمیدها را هیدرولیز می‌کند. Flavourzyme®نام تجاری مخلوطی از آنزیم‌های قارچی (*Aspergillus oryzae*) است. طبق گفته Adler- Nissen [١٤]، *Aspergillus oryzae* مخلوطی از آسپارتیک پروتئاز، متالو پروتئاز، سرین پروتئاز و کربوکسی پپتیداز با محدوده pH بهینه ۸-٤ تولید می‌کند و ویژگی بسیار وسیعی را نشان می دهد. Flavourzyme® (از Novozymes) یک اندوپپتیداز و اگزوپپتیداز پیچیده است که در صنایع غذایی برای هیدرولیز گسترده پروتئین و فرآیند تلخ‌زدایی استفاده می‌شود. آلکالاز یک اندوپپتیداز سرین است که توسط *Basillus licheniformis* با محدوده ۱۱-۷ pH تولید می‌شود که به عنوان یک پروتئیناز قلیایی می‌باشد. این آنزیم به طور مشترک حضور باقیمانده سرین و هیستیدین در محل‌های فعالشان دارد.

Pangasius sutchi یک ماهی آب شیرین محبوب است که به عنوان غذا در مالزی استفاده می‌شود [۱۵]. گربه ماهی پانگاسیوس با پروتئین بالا ارزش زیادی در فرآوری موادغذایی دارد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌های سارکوپلاسمی و میوفیبریلار از ماهی *P. sutchi* بر حلالیت،DH ، محتوای پپتید و ترکیب اسید آمینه و وزن مولکولی آنها بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

Alcalase® 2.4 L (یک اندوپپتیداز از *Bacillus licheniformis*)، پاپائین از لاتکس پاپایا و Flavourzyme® 500L(پروتئاز از*Aspergillus oryzae* ، 500 LAPU/g، محصول Novozymes®) از سیگما آلدریچ (آمریکا) خریداری شد. استانداردهای اسید آمینه از Pierce (Rockford, II, USA) و استانداردهای پروتئین از Bio-Rad خریداری شد. سایر مواد شیمیایی درجه آنالیتیکی نیز از سیگما آلدریچ خریداری شده است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-11]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213]

۲-۲- نمونه برداری

patin *(Pangasius sutchi)*، به اندازه ۱/۵-۱ کیلوگرم، از یک فارم مجاور در شهر کجنگ، مالزی خریداری شد. فیله‌های تازه همانطور که توسط Mat Jais و همکارانش توضیح دادند، تهیه شدند [۱۶]. فیله‌های ماهی با برش طولی ماهی در امتداد ستون فقرات به دست آمد. فیله کردن به صورت دستی انجام شد وفیله‌ها در جعبه یخ نگهداری شدند. سپس فیله‌ها چندین بار در زیر آب شسته شدند تا خون، کثیفی و لجن از بین برود. فیله‌ها چرخ شده و تا استفاده بعدی در کیسه پلی‌اتیلن در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

۲-۳- استخراج پروتئین های سارکوپلاسمی و میوفیبرلار

پروتئین های سارکوپلاسمی بر اساس روش Molina و Toldrá[۱۷] با رقیق کردن گوشت چرخ کرده به نسبت ۱:۱۰(w/v) با بافر فسفات ۲۰ میلی مولار(PH ۶/۵) استخراج شدند، سپس به مدت ۳ دقیقه همگن و سپس در سرعت 13000 g ×به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ، مایع رویی از طریق صافی غشایی با اندازه منافذ۰/۲۲ میکرومتر فیلتر شد. سپس این ایزوله پروتئین برای هیدرولیز آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت.

ایزوله‌های پروتئین میوفیبریلار با روش حلالیت قلیایی گزارش شده توسط Hultin و Kelleher [۱۸] به دست آمد. بر اساس این روش، عضله خرد شده با نه قسمت آب سرد (٦ درجه سانتیگراد) دیبونیزه شده برای هر قسمت عضله، با استفاده از Biohomogenizer با سرعت بالا به مدت ۱ دقیقه، مخلوط و همگن می‌شود .در مرحله انحلال قلیایی، pH نمونه همگن شده با استفاده از ۲ مولار NaOH روی ۱۱ تنظیم شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس مخلوط در 10000 x g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. مایع رویی حاوی پروتئین‌های محلول، جدا شده و از طریق یک پارچه دولایه فیلتر شد و pH این مایع رویی با استفاده از ۲ مولار هیدروکلراید روی ۵/۵ تنظیم شد تا یک رسوب پروتئینی تشکیل شود. سپس مخلوط تنظیم شده با pH در 10000 x g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد تا پروتئین‌های میوفیبریلار بازیابی شود. سپس این ایزوله پروتئین برای هیدرولیز آنزیم مورد استفاده قرار گرفت.

۲-٤- تهیه هیدرولیز پروتئین ماهی (FPH)

پروتئین‌های سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار لیوفیلیزه شده *P. sutchi* و به پودر تبدیل شدند، با نسبت ۱:۱۰۰ (وزنی/حجمی) در آب دیونیزه به حالت تعلیق درآمدند و با ۰/۱ مولار هیدروکلراید و دمای هر آنزیم به pH بهینه تنظیم شدند. پاپائین (pH 7؛ ٦۰ درجه سانتی گراد)، آلکالاز (pH 8؛ ٦۰ درجه سانتی گراد) و فلوورزیم (pH 7؛ ۵۰ درجه سانتی گراد) به مدت ۳۰، ٦۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه. در قدرت یونی کمتر از ۱۲ میلی‌مولار و pH خنثی، بیش از ۸۰ درصد پروتئین‌های میوفیبریلار حل شدند. حرارت دادن در دمای بیش از ۷۰ درجه سانتیگراد برای حفظ حلالیت پروتئین‌ها مورد نیاز بود. زمان انتخاب شده بر اساس اجرای آزمایشی برای دستیابی به حداکثر درجه هیدرولیز بود. طبق تحقیقات دیگر، دما و pH برای هر آنزیم انتخاب شد [۱۹]. نسبت هر آنزیم به بخش‌های پروتئینی سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار ۱:۱۰۰ (وزنی/وزنی) بود. هیدرولیز آنزیمی پس از جوشاندن به مدت ۵ دقیقه متوقف شد. هیدرولیز در سرعت 3000 × g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مواد رویی لیوفیلیز شدند و در دمای زیر ۱۸- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

۲-۵- آنالیز ترکیبات شیمیایی

اندازگیری ویژگی‌های شیمیایی ماهی و عصاره هیدرولیز پروتئینی آن مانند رطوبت، خاکستر، چربی و پروتئین توسط استانداردAOAC، [۲۰] اندازگیری شد.

۲-٦- ترکیبات اسید آمینه

هیدرولیز اسیدی، هیدرولیز پرفرمیک اسید و قلیایی هیدرولیز پروتئینی ماهی با استفاده از تحلیلگر اسید آمینه Waters AccQ.Tag (Waters Corporation, Irland) انجام شد.

۲-٦-۱-هیدرولیز اسیدی

هیدرولیز اسیدی بر اساس روش Alaiz و همکاران [۲۱] اندازه گیری شد. ۰/۱ گرم از نمونه‌های خشک شده در معرض ۵ میلی لیتر اسید هیدروکلریک ٦ مولار در°C ۱ ± ۱۱۰ به مدت ۲٤

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-11]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213]

ساعت برای هیدرولیز پروتئین قرار گرفت. پس از خنک کردن، ۱۰ میلی لیتر اسید α-آمینوبوتیریک اسید (AABA) به نمونه‌های هیدرولیز اضافه شد. محلول ها از طریق یک فیلتر غشائی استات سلولز ۰/۲ میکرومتر فیلتر شدند. یک میلی لیتر محلول فیلتر شده در یک لوله میکرو سانتریفیوژ جمع آوری شد.

۲-۶-۲-اکسیداسیون اسید پرفرمیک و هیدرولیز اسیدی

سیستئین و متیونین در حین هیدرولیز اسیدی، بخصوص در حضور کربوهیدرات، بی‌ثبات هستند. محتوای کل سیستئین و متیونین را می‌توان با اکسیداسیون پروتئین با اسید پرفرمیک تعیین کرد که هر دو فرم را به اسید سیستئیک و متیونین به متیونین سولفون تبدیل می‌کند [۲۲]. از هر نمونه، ۰/۱ گرم درون ویال‌ها وزن شدند. بطری ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام یخ قرار گرفتند و به ٤ میلی لیتر محلول محلول سرد اسید پرفرمیک (مخلوط ۱ و ۳۰ درصد پراکسید هیدروژن و ۹ حجم از اسید فرمیک ۸۰ درصد) به هر ویال اضافه شد و در دمای ۱۵ - درجه سانتی گراد برای ۱٦ ساعت نگهداری شد تا منجمد شود. پس از برداشتن از فریزر، ۵ میلی لیتر اسید برمیک (HBr) اضافه شد. این مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در حمام یخ قرار داده شد و سپس با استفاده از یک روتاری اواپراتور (R-200 سوئیس) در خلاء، در دمای ٦۵ درجه سانتیگراد خشک شد. نمونه های خشک شده با محلول های ٦ میلی لیتر HCl هیدرولیز شدند، همانطور که در بخش هیدرولیز اسیدی توضیح داده شد.

۲-٦-۳-هیدرولیز بازی

تریپتوفان در هیدرولیز اسیدی تخریب می‌شود. هیدرولیز قلیایی با هیدروکسیدسدیم (NaOH) یا هیدروکسیدلیتیوم (LiOH) بخصوص در هیدرولیز مواد غذایی و خوراکی مورد استفاده قرار گرفته است. برای تعیین مقدار تریپتوفان با استفاده از HPLC با روش توصیف شده توسط Thiansilakul و همکاران [۲۳] هیدرولیز قلیایی انجام شد. برای هر نمونه ۰/۲ گرم با ۱۵ میلی لیتر هیدروکسید لیتیوم ٤/۳ نرمال یک آبه برای هیدرولیز، در یک لوله آزمایش بسته با گاز نیتروژن به مدت ۱ دقیقه قبل از قرار دادن در آون در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱٦ ساعت جریان داده شد. هر هیدرولیز به یک بطری حجمی منتقل شد و سپس ۹ میلی لیتر اسید هیدروکلریک ٦ مولار اضافه شد. pH مخلوط با استفاده از اسید هیدروکلریک تا ٤/۵ تنظیم شد و باآب دیونیزه شده به حجم نهایی ۱۰۰ میلی لیتر رسید. هیدرولیزها از طریق کاغذ (Whatman No.1) فیلتر شده و سپس با استفاده از فیلتر غشایی سلولز استات ۰/۲ میکرومتر فیلتر شد.

۲-۷- اندازه گیری درجه هیدرولیز

درجه هیدرولیز (DH) با توجه به روش Hoyle وMerritt [۲٤] ارزیابی شد. مقدار ۲۰ میلی‌لیتری هیدرولیز پروتئینی (با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به ۲۰ میلی‌لیتر TCA 20 درصد (وزنی/حجمی) اضافه شد تا یک ماده محلول متشکل از ۱۰ درصد TCA تولید شود. به هر مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق اجازه واکنش داده شد و سپس سانتریفیوژ شد (7800 g × به مدت ۱۵ دقیقه). درجه هیدرولیز (DH) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$DH\ (\%) = \left(\frac{\text{soluble nitrogen in the 10\% TCA sample}}{\text{Total nitrogen in the sample}}\right) \times 100$$

۲-۸- بازده

بازده با نسبت وزن پروتئین سارکوپلاسمیک یا میوفیبریلار و وزن کل ماهی تازه تعیین شد [۲٤]. بازده به دست آمده به صورت زیر محاسبه شد:

$$Yield\ (\%) = \left(\frac{\text{Weight of sarcoplasmic or myofibrillar protein (g)}}{\text{Wet weight of fresh fish meat (g)}}\right) \times 100$$

۲-۹- حلالیت

محتویات محلول پروتئین‌های سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار با روش Folin-Lowry [۲۵] تعیین شد. جذب در ۷۵۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (Model UV-160A, Shimadzu, Japan) اندازه گیری شد. محتوای پروتئین محلول با استفاده از آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد.

۲-۱۰- محتوای پپتید

محتوای پپتیدی هیدرولیزها با روش Church و همکاران با برخی تغییرات با استفاده از روش اسپکتروفتومتری o-phthaldialdehyde (OPA) اندازه‌گیری شد [۲٦]. جذب در طول موج ۳٤۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. تریپتون کازئین در بافر فسفات (pH =۷/٤) به عنوان استاندارد برای

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-11]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213]

تعیین کمیت محتوای پپتید استفاده شد.

۲-۱۱- تهیه فراکسیون‌های پروتئینی سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار برای SDS-PAGE

فراکسیون‌های پروتئینی سارکوپلاسمی و میوفیبریلار جدا شده و هیدرولیزهای آنها برای آنالیز الکتروفورز پلی آکریل آمید ژل دودسیل سولفات سدیم (SDS-PAGE) طبق روشی که توسط Huang و همکارانش توضیح داده شده است، آماده شدند [۲۷]. نمونه‌ها با ۳۰ میلی‌لیتر بافر (۱۲۵ میلی مولار Tris، ٤٪ SDS، ۲۰٪ گلیسرول) مخلوط شدند و در حمام آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شدند و سپس با سرعت 16000 x g به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شدند. غلظت پروتئین با روش Lowry [۲۵] تعیین و با استفاده از بافر تیمار حاوی ۱۰ درصد MCE و ۰/۰۰۱ درصد برموفنل بلو به ٤ میلی‌گرم در میلی لیتر رقیق شد. نمونه‌ها به خوبی مخلوط شده و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده شدند و سپس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای SDS-PAGE بعدی نگهداری شدند.

۲-۱۱-۱- تجزیه و تحلیل SDS-PAGE

تجزیه و تحلیل SDS-PAGE با توجه به تکنیک توسعه یافته توسط Schagger و Von Jagow [۲۸] انجام شد. ٤۰ و ۸۰ میکروگرم در هر چاه از نمونه‌های هیدرولیز پروتئین سارکوپلاسمی و میوفیبریلار روی ژل ۱۰ و ۲۰ درصد بارگذاری و با استفاده از بافر ناپیوسته تریس-تریسین، حاوی بافر آند 1 X (2 Mtris, pH 8.9) و بافر کاتد (1 M Tris, 1 M 1 X Tricine, 1% SDS, pH 8.2) با تنظیم جریان ثابت ۲۵ میلی آمپر/ژل و یک بافر ثابت ولتاژ ۱۵۰ و ۹۰ به ترتیب برای ۲ و ٤ ساعت اجرا شد. پروتئین با رنگ‌آمیزی ۰/۰۲ ٪ (وزنی/حجمی) Coomassie blue G250 و رنگ‌زدایی با چندین بار خیساندن در متانول ٤۰٪ حجمی/حجمی- اسید استیک۱۰٪ حجمی/حجمی تا زمانی که یک پس‌زمینه شفاف ایجاد شود، مشاهده شد. استاندارد پروتئین مورد استفاده برای به دست آوردن منحنی استاندارد عبارتند از: میوزین (۲۰۰/۰ کیلو دالتون)، β-گالاکتوزیداز (۱۱٦/۳ کیلو دالتون)، فسفوریلاز b (۹۷/٤ کیلو دالتون)، آلبومین سرم گاوی (٦٦/۲ کیلو دالتون)، اووالبومین (٤۵/۰ کیلو دالتون)، کربنیک انیدراز (۳۱/۰) . بازدارنده تریپسین (۲۱/۵ کیلو دالتون) و لیزوزیم (۱٤/٤ کیلو دالتون).

۲-۱۲- آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها، با توجه به نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس، با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) استفاده شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت میانگین گزارش شد و ارزیابی‌ها در ۳ تکرار صورت پذیرفت. از نرم افزار (SPSS version 18) برای آنالیز داده ها و Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ترکیب شیمیایی

ترکیبات شیمیایی گوشت ماهی تازه، هیدرولیزهای پروتئین سارکولاسمیک (SPHs) و هیدرولیزهای پروتئین میوفیبریلار (MPHs) و پروتئین‌های ماهی هیدرولیز نشده که همگی لیوفیلیزه شده‌اند در جدول ۱ نشان داده شده است. ترکیبات تقریبی نشان می‌دهد که محتوای رطوبت (۱/۱۵ ± ۷۸/٤۲ درصد) و چربی (۰/۹۸ ± ۵/۰۱ درصد) گوشت پاتین بالا است در حالی که محتوای خاکستر (۰/۱٦ ± ۱/۱ درصد) و پروتئین (۱/۲۲ ± ۱۵/۲۳ درصد) کم است. علاوه بر این، خاکستر، رطوبت، چربی و محتوای پروتئین پروتئین‌های سارکوپلاسمی و میوفیبریلار به ترتیب، ۰/۰۸ ± ۱/۱۰، ۰/۳۳ ± ۳/۵۳، ۰/۰۸ ± ۰/۲۹، ۰/۸۹ ± ۹۳/٤٦ و ۰/۰۸ ± ۰/۱۰ ± ۲/۸۰ و ۰/۸ ± ۰/۸۹ ± ۹۳/٤۷ و ۰/۱ ± ۲/۸۰. ± ۱/٦٦٪ می‌باشد.

همه MPH ها حاوی محتوای پروتئین بالا از ۸۷/۳۹٪ تا ۸۲/٦۰ ٪ ($p < 0.05$)، در حالی که SPH ها دارای مقدار قابل توجهی پایین تر از ۸۳/۲۰٪ تا ۷۹/٤۰٪ ($p < 0.05$) بودند. این نتایج مشابه گزارش‌های قبلی است که مقادیر پروتئین را از ٦۲٪ تا ۹۰/۲٪ در بازه زمانی ارائه می‌دهد [۲۹]. همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، محتوای پروتئین‌های سارکوپلاسمیک و

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-11]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213]

میوفیبریلار بیشتر از SPH ها و MPH ها بود. به طور کلی، محتوای پروتئین پس از هیدرولیز کاهش یافت که تفاوت در محتوای پروتئین به دلیل تفاوت متناظر در نیتروژن غیر پروتئینی (NPN) بود. پپتیدهای تولید شده می‌توانند با پروتئین هیدرولیز نشده از طریق فعل و انفعالات آبگریز برهمکنش داشته باشند که منجر به افزایش فراکشن پروتئین نامحلول می‌شود. علاوه بر این، برخی از پروتئین‌ها در طول سانتریفیوژ قبل از خشک کردن انجمادی با کاهش آشکار محتوای پروتئین هیدرولیزهای لیوفیلیزه شده نیز از بین رفتند که به سطوح خاکستر بالاتر در نمونه‌ها مربوط می‌شود [۳۰].

Table 1 Chemical compositions of fresh patin fish meat, sarcoplasmic and myofibrillar proteins and their hydrolysates as affected by papain, alcalase and flavourzyme (%)

Sample	Moisture	Protein	Ash	Lipid
Fresh Patin Fish Meat	78.42 ± 1.15	15.23 ± 1.22	1.10 ± 0.16	5.01 ± 0.98
Sarcoplasmic protein	3.24 ± 0.11[c]	86.20 ± 1.66[a]	2.80 ± 0.98[c]	0.93 ± 0.14
Papain-SPH*	4.46 ± 0.13[b]	83.20 ± 1.72[b]	3.83 ± 1.28[b]	N/S
Alcalase-SPH	4.62 ± 0.10[ab]	81.60 ± 1.23[bc]	3.90 ± 1.47[b]	N/S
Flavourzyme-SPH	4.83 ± 0.12[a]	79.40 ± 1.02[c]	4.30 ± 1.39[a]	N/S
Myofibrillar protein	3.53 ± 0.33[a]	93.46 ± 0.89[a]	1.10 ± 0.08[c]	0.29 ± 0.08
Papain-MPH*	2.14 ± 0.10[c]	87.39 ± 1.15[b]	2.40 ± 0.16[b]	N/S
Alcalase-MPH	2.45 ± 0.08[b]	84.75 ± 1.03[bc]	2.80 ± 0.08[b]	N/S
Flavourzyme-MPH	2.75 ± 0.12[b]	82.60 ± 1.23[c]	3.40 ± 0.24[a]	N/S

[a-c] Mean of % in the same column without a common superscript letter differ significantly ($p<0.05$)
- Values shown are the mean ± standard deviation of three replicates
*SPH: Sarcoplasmic protein hydrolyzed with papain, Alcalase and flavourzyme
*MPH: Myofibrillar protein hydrolyzed with papain, Alcalase and flavourzy

تمام هیدرولیزها دارای محتوای رطوبت و چربی کم بودند که به طور قابل توجهی به پایداری آنها در طول ذخیره سازی کمک می‌کند. پروتئین‌های سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار به‌ترتیب دارای مقدار چربی کم ۰/۰۸ ± ۹۳/٤٦ درصد و ۰/۰۸ ± ۰/۲۹ درصد بودند و نتایج نشان داد که در هر دو SPH و MPH هیچ محتوای چربی قابل تشخیصی مشاهده نشدند. سطح چربی پایین ممکن است به دلیل فرآیند استخراج باشد، زیرا لیپیدها به احتمال زیاد از بخش پروتئین نامحلول جدا شده از مایع رویی در فرآیند سانتریفیوژ حذف می‌شوند. علاوه بر این، محتوای چربی در سایر گونه های ماهی بسیار کم گزارش شده است [۳۱ و ۳۲]. نتیجه مشابهی از محتوای کم لیپید در محدوده ۰/۰٦ –۰/۸٪ در FPH از عضله ماهی وایتینگ اقیانوس آرام گزارش شد [۳۳]. این نتایج مشابه نتایج سایر مطالعات منتشر شده در مورد هیدرولیز پروتئین ماهی است [۳٤].

محتوای خاکستر در پروتئین میوفیبریلار و MPH ها (از ۰/۰۸ ± ۱/۱۰٪ تا ۰/۲٤ ± ۳/٤۰) کمتر از مقادیر تعیین شده برای پروتئین سارکوپلاسمیک و SPH ها (از ۰/۹۸ ± ۲/۸۰ تا ٤/۳۰ ± ۱/۳۹) بود (۰/۰ ± ٤/۳۰). محتوای خاکستر پاپایین-SPH و پاپایین-MPH تفاوت قابل توجهی با آلکالاز-SPH و آلکالاز-MPH ندارد اما به طور قابل توجهی کمتر از فلاورزایم-SPH و فلاورزایم-MPH است. خاکستر بالاتر SPH ها ممکن است به افزودن بافر فسفات برای استخراج پروتئین های سارکوپلاسمیک نسبت داده شود. Choi و همکاران [۳۵] روند مشابهی از محتویات خاکستر را گزارش کرده‌اند که بین ۳/۷ تا ٤/۷ درصد برای هیدرولیزهای پروتئین کروآکر کوچک بود. با این حال، محتوای خاکستر بالاتر در هیدرولیز عضله وایتینگ اقیانوس آرام (۱۱/۷ – ۱۱/۹٪) و ساردینلا (۱۲/۱ – ۱٤/۸٪) گزارش شد [۳٦].

۳-۲- بازده

بازده به دست آمده برای پروتئین های سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار از ماهیچه ماهی پاتین به ترتیب ٦/۲۲ و ۱۲/٤۷ درصد بود. بین عملکرد پروتئین‌های سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p <0.05$). بازده پروتئین میوفیبریلار ۲ برابر بیشتر از پروتئین سارکوپلاسمیک بود. Rebeca و همکاران [۳۷] روند مشابهی از عملکرد را گزارش کرده اند که برای پروتئین ماهی بین ۱۳ تا ۱۵ درصد بود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-11]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-11]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213]

۳-۳- ترکیب اسید آمینه پروتئین های سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار و هیدرولیزهای آنها

ترکیب اسیدهای آمینه پروتئین‌های سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار و هیدرولیزهای آنها با استفاده از پروتئازها در جدول ۲ خلاصه شده است. اسیدهای آمینه اصلی گلوتامیک اسید (۱۸/۵۲٪ از کل اسیدهای آمینه) در بخش فلاورزایم-MPH و بعد از آن، اسید آسپارتیک (۱۱/۱۹درصد) در پروتئین سارکوپلاسمیک بدون تیمار آنزیمی و لیزین (۱۰/۸۹ درصد) در آلکالاز-SPH بودند. ترکیب اسیدهای آمینه مختلف در پروتئین سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار و هیدرولیزهای آنها مشاهده شد. پروتئین سارکوپلاسمیک محتوای بالاتری از اسیدهای آمینه ضروری (His، Val، Lys، و Phe) نسبت به پروتئین میوفیبریلار ($P<0.05$) در صورت عدم تیمار آنزیمی نشان داد (جدول ۲).

همانطور که نتیجه نشان داد، پاپایین-MPH محتوای اسیدهای آمینه ضروری (۴۹/۰۱٪) بیشتری نسبت به آلکالاز-MPH (۴۸/۳۰٪) و فلاورزایم-MPH (۴۸/۰۶٪) داشت، در حالی که آلکالاز-SPH (۵۰/۳۱٪) مقدار بیشتری از آمینو اسیدهای ضروری نسبت به پاپایین-SPH (۴۹/۶۸٪) و فلاورزایم-SPH (۴۹/۱۳٪) را نشان داد. همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، برای SPH ها، آلکالاز-SPH بالاترین اسیدهای آمینه آروماتیک و آبگریز Val، Ile، Leu، His، Trp، Phe، Pro و Tyr را نشان داد ($p < 0.05$). در حالی که برای MPH ها، پاپائین MPH دارای بالاترین اسیدهای آمینه آروماتیک و آبگریز (His، Trp، Tyr، Val، Phe و Pro) بود ($p < 0.05$). اگرچه، برای SPH ها، محتوای اسید آمینه آبگریز Met از پاپایین-SPH و برای MPHs، Ala و Lue و Ilu از آلکالاز-MPH بالاترین بود

Table 2 Amino acid composition of sarcoplasmic and myofibrillar proteins of *p.sutchi* and their hydrolysates using proteases

Amino Acides %	Sarcoplamic Protein	Papain-SPH	Alcalase-SPH	Flavourzyme-SPH	Myofibrillar Protein	Papain-MPH	Alcalase-MPH	Flavourzyme-MPH
Aspartic Acid	11.19±0.07^{a}	11.15±0.12^{a}	11.13±0.09^{a}	11.13±0.10^{a}	10.17±0.16^{b}	10.22±0.17^{b}	10.32±0.14^{b}	10.15±0.12^{b}
Serine	4.04±0.11^{a}	4.21±0.08^{a}	4.11±0.03^{a}	4.20±0.11^{a}	4.18±0.11^{a}	4.24±0.18^{a}	4.20±0.09^{a}	4.14±0.15^{a}
Glutamic Acid	10.16±0.16^{d}	10.57±0.07^{d}	10.23±0.09^{d}	10.50±0.13^{d}	15.99±0.22^{c}	16.12±0.30^{c}	17.21±0.29^{b}	18.02±0.24^{a}
Glycine	6.98±0.03^{b}	6.99±0.11^{b}	7.06±0.06^{b}	7.54±0.10^{a}	3.56±0.14^{c}	3.57±0.17^{c}	3.43±0.24^{c}	3.30±0.12^{c}
Histidine*	2.92±0.21^{b}	3.41±0.14^{a}	3.57±0.04^{a}	3.35±0.09^{a}	2.37±0.16^{c}	2.61±0.20^{bc}	2.48±0.19^{c}	2.26±0.12^{c}
Arginine	4.03±0.11^{d}	4.04±0.06^{d}	4.15±0.11^{cd}	4.10±0.07^{d}	4.88±0.26^{a}	4.80±0.18^{ab}	4.46±0.23^{bc}	4.49±0.25^{bc}
Threonine*	5.42±0.11^{c}	5.52±0.07^{bc}	5.81±0.11^{abc}	5.71±0.13^{bc}	6.26±0.82^{ab}	6.49±0.18^{a}	6.18±0.25^{ab}	6.26±0.15^{ab}
Alanine	5.72±0.15^{a}	5.75±0.05^{a}	5.50±0.26^{a}	6.29±0.03^{a}	5.36±0.88^{a}	5.48±0.26^{a}	6.00±0.10^{a}	5.52±0.23^{a}
Proline	3.99±0.19^{a}	3.20±0.09^{b}	3.14±0.07^{bc}	3.04±0.10^{bcd}	2.99±0.64^{bcd}	3.05±0.12^{bcd}	2.54±0.22^{cd}	2.49±0.17^{d}
Tyrosine	2.51±0.12^{b}	2.52±0.20^{b}	2.54±0.36^{b}	2.42±0.08^{b}	3.49±0.28^{a}	2.79±0.13^{b}	2.46±0.13^{b}	2.44±0.17^{b}
Valine*	5.27±0.08^{a}	5.48±0.07^{a}	5.50±0.08^{a}	5.36±0.13^{a}	4.77±0.02^{b}	4.73±0.14^{b}	4.68±0.15^{b}	4.68±0.19^{b}
Methionine*	4.98±0.11^{bc}	4.60±0.15^{c}	4.01±0.12^{d}	4.52±0.09^{cd}	5.43±0.57^{a}	5.40±0.23^{ab}	5.45±0.31^{ab}	5.68±0.11^{a}
Lysine*	10.68±0.06^{ab}	10.73±0.06^{ab}	10.89±0.05^{a}	10.47±0.15^{abc}	9.34±0.66^{d}	9.9±0.11^{c}	10.25±0.17^{bc}	10.37±0.13^{abc}
Isoleucine*	4.64±0.13^{abc}	4.69±0.04^{ab}	4.73±0.02^{a}	4.22±0.08^{c}	4.32±0.42^{abc}	4.33±0.11^{abc}	4.35±0.10^{bc}	4.26±0.19^{c}
Leucine*	7.38±0.06^{cd}	7.44±0.04^{cd}	7.48±0.06^{bcd}	7.33±0.11^{d}	7.86±0.27^{bcd}	7.88±0.18^{bd}	8.06±0.12^{d}	7.84±0.11^{bd}
Phenylalanine*	5.12±0.08^{a}	5.14±0.06^{a}	5.27±0.05^{a}	5.13±0.08^{a}	3.63±0.29^{b}	3.26±0.11^{c}	2.87±0.13^{d}	2.87±0.12^{d}
Cysteine	2.29±0.09^{a}	1.92±0.07^{b}	1.81±0.14^{bc}	1.98±0.13^{b}	1.56±0.15^{cde}	1.60±0.17^{cd}	1.30±0.07^{e}	1.49±0.12^{de}
Tryptophan*	2.65±0.11^{d}	2.67±0.03^{d}	3.05±0.07^{c}	3.04±0.015^{c}	3.84±0.17^{b}	4.41±0.10^{a}	3.98±0.12^{b}	3.84±0.18^{b}
TEAA[1]	49.06	49.68	50.31	49.13	47.82	49.01	48.30	48.04

- Values shown are the mean ± standard deviation of three replicates

* Essential amino acid

[1]Total essential amino acid

بنابراین، با توجه به آنالیز اسید آمینه می توان دریافت که هیدرولیز پروتئین سارکوپلاسمیک با استفاده از آلکالاز باعث تولید هیدرولیز با محتوای اسید آمینه آبگریز بالا می‌شود. آلکالاز پیوند پپتیدی اسید آمینه آبگریز یا آروماتیک مانند Leu، Trp،

Val و Pro را تجزیه می کند [۳۸ و ۳۹]. علاوه بر این، پاپائین یک پروتئاز است، که عمدتاً باقیمانده‌های آبگریز یا آروماتیک را در سوبسترا نشان می‌دهد [٤٠]. مقادیر بالای آمینو اسیدهای آبگریز و آروماتیک مانند Val، Leu، Phe و Tyr در پاپایین-MPH می‌تواند فعالیت‌های بیولوژیکی پپتیدها را افزایش دهد.

۳-٤- درجه هیدرولیز، پروتئین محلول و محتوای پپتید

اثر زمان بر درجه هیدرولیز (DH)، پروتئین محلول و محتوای پپتید پروتئین سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار استخراج شده از *P. sutchi* هیدرولیز شده با پاپائین، آلکالاز و فلاورزایم در جدول ۳ و ٤ نشان داده شده است. درجه هیدرولیز به نوع آنزیم (پاپائین، آلکالاز و فلاورزایم) و زمان واکنش بستگی دارد. نتایج هیدرولیز سریعتر پروتئین سارکوپلاسمیک نسبت به پروتئین میوفیبریلار با پاپائین، آلکالاز و فلاورزایم را نشان داد. به دلیل هیدرولیز سریعتر، هیدرولیز آنزیمی پروتئین سارکوپلاسمی با پروتئازها در طول ٦٠ دقیقه انجام شد، در حالی که هیدرولیز پروتئین میوفیبریلار با همان پروتئازها ۱۲۰ دقیقه طول کشید. هیدرولیز پروتئین‌های سارکوپلاسمیک patin، با استفاده از پاپائین، آلکالاز و فلاورزایم، با سرعت بالایی از هیدرولیز در طول ساعت اول انجام شد و پس از آن نرخ هیدرولیز به تدریج کاهش یافت (جدول ۳).

Table 3 The effect of time on degree of hydrolysate (DH), soluble protein and peptide content of sarcoplasmic protein

Samples	Times of incubation (min)	DH (%)	Protein solubility (mg/g)	Peptide content (mg/g)
Sarcoplamic Protein		-	38.4 ± 2.13^{m}	18.8± 1.31^{l}
Papain-SPH	30	62.60 ± 2.75^{ef}	123.7 ± 4.49^{j}	179.0 ± 1.47^{f}
	60	82.40 ± 1.82^{a}	363.0± 3.74^{a}	188.0± 1.22^{d}
	90	75.23 ± 2.17^{c}	336.0± 1.63^{b}	194.4 ± 1.23^{c}
	120	73.53 ± 2.01^{c}	312.3± 2.05^{d}	197.7 ± 1.39^{b}
Alcalase-SPH	30	60.63 ± 2.71^{f}	114.7± 1.69^{k}	194.4 ± 1.55^{c}
	60	79.80 ± 0.89^{b}	319.0± 1.63^{c}	198.1 ± 1.06^{b}
	90	74.50 ± 1.28^{c}	305.3± 2.49^{e}	200.0 ± 1.64^{b}
	120	73.16 ± 1.06^{c}	276.3± 2.49^{g}	204.4 ± 1.31^{a}
Flavourzyme-SPH	30	59.70 ± 2.59^{f}	108.0± 2.16^{l}	163.6 ± 1.71^{h}
	60	77.30 ± 1.18^{b}	285.0 ± 0.81^{f}	171.2 ± 0.98^{g}
	90	73.20 ± 1.74^{c}	259.3± 2.62^{h}	179.8 ± 0.98^{f}
	120	71.83 ± 1.82^{d}	231.0± 1.63^{i}	184.1 ± 1.39^{e}

$^{a-m}$ Mean of % in the same column without a common superscript letter differ significantly ($p<0.05$).
- Values shown are the mean ± standard deviation of three replicates

Table 4 The effect of time on degree of hydrolysis (DH), soluble protein and peptide content of myofibrillar protein

Samples	Times of incubation (min)	DH (%)	Protein solubility (mg/g)	Peptide content (mg/g)
Myofibrillar Protein		-	82.83 ± 2.16^{l}	85.4 ± 1.47^{k}
Papain-MPH	30	46.16 ± 1.41^{g}	342.3 ± 1.47^{i}	245.2 ± 0.98^{d}
	60	65.83 ± 1.28^{d}	455.8 ± 1.69^{f}	261.4 ± 1.14^{c}
	90	88.53 ± 0.25^{a}	496.4 ± 1.47^{d}	279.2±1.47^{b}
	120	89.17 ± 0.31^{a}	559.8 ± 2.33^{a}	299.1 ± 1.71^{a}
Alcalase-MPH	30	40.60 ± 0.43^{h}	325.4 ± 1.96^{j}	206.0 ± 1.22^{h}
	60	60.33 ± 0.50^{e}	441.1 ± 1.71^{g}	224.0 ± 1.55^{f}
	90	82.18 ± 1.37^{b}	482.3 ± 1.10^{e}	240.0 ± 1.55^{e}
	120	83.60 ± 0.50^{b}	536.0 ± 2.04^{b}	263.8 ± 1.47^{c}
Flavourzyme-MPH	30	36.53 ± 0.70^{i}	310.5 ± 1.31^{k}	188.0 ± 1.02^{j}
	60	52.80 ± 1.36^{f}	424.4 ± 1.18^{h}	196.8 ± 1.22^{i}
	90	72.80 ± 0.86^{c}	456.6 ± 1.75^{f}	210.2 ± 0.98^{g}
	120	74.16 ± 0.53^{c}	502.1 ± 1.22^{c}	224.2 ± 1.47^{f}

$^{a-c}$ Mean of % in the same column without a common superscript letter differ significantly ($p<0.05$).
- Values shown are the mean ± standard deviation of three replicates

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-11]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213]

در یک زمان هیدرولیز معین، مقادیر DH مشاهده شده برای هیدرولیزهای پاپائین به طور قابل توجهی بالاتر از مقادیر مشاهده شده برای تیمارهای آلکالاز و فلاورزایم بود ($p < 0.05$) (جدول ۳). بالاترین درصد DH (۸۲/٤ درصد) در میان SPH ها ناشی از ٦۰ دقیقه انکوباسیون با پاپائین بود. برای همه آنزیم‌ها، مقادیر DH مشاهده شده پس از ٦۰ دقیقه انکوباسیون کاهش یافت.

برای پروتئین میوفیبریلار در تمام آنزیم‌ها، مقادیر DH با افزایش زمان هیدرولیز افزایش یافت (جدول ٤). در یک زمان هیدرولیز داده شده، مقادیر DH در هیدورلیز پاپائین به طور قابل توجهی بالاتر از تیمارهای آلکالاز و فلاورزایم بود ($p < 0.05$). بالاترین درصد DH (۸۹/۱۷ درصد) برای هیدرولیز پروتئین میوفیبریلار با تیمار پاپائین به مدت ۱۲۰ دقیقه تولید شد.

با توجه به نتایج، هیدرولیز پروتئین زمانی ادامه می‌یابد که پیوندهای پپتیدی حساس در سوبسترا به داخل محل فعال آنزیم جایگزین شوند. هیدرولیز پروتئین زمانی حاصل می‌شود که پیوندهای پپتیدی که مستعد برش پروتئولیتیک هستند در محل فعال آنزیم جابجا شوند [٤۱]. برای همه آنزیم‌ها، مقادیر DH مشاهده شده پس از ٦۰ دقیقه انکوباسیون کاهش یافت. روند هیدرولیزها مشابه آنهایی است که برای هیدرولیزهای پروتئینی از دانه های *P. lunatus* و *P.vulgaris* تیمار شده با آلکالاز مشاهده شد [٤۲]. کاهش سرعت واکنش را می توان با کاهش غلظت پیوندهای پپتیدی موجود برای هیدرولیز، غیرفعال شدن آنزیم و/یا مهار آنزیم توسط محصولات تشکیل شده در درجه بالایی از هیدرولیز توضیح داد. این محصولات به عنوان رقبای سوبسترای موثر برای پروتئین های ماهی هیدرولیز نشده یا نیمه هیدرولیز شده عمل می‌کنند. این داده‌ها نشان داد که سوبسترای پروتئین‌ها، آنزیم‌های مورد استفاده برای پروتئولیز، شرایط مورد استفاده در طول هیدرولیز و درجه هیدرولیز همگی می‌توانند بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نهایی تأثیر بگذارند [٤۳]. برای پروتئین میوفیبریلار در همه آنزیم‌ها، مقادیر DH با افزایش زمان هیدرولیز افزایش یافت. بالاترین DH برای MPH با یک پاپائین تولید شد. سطوح بالاتر DH توسط تیمار پاپائین ممکن است به این دلیل باشد که آنزیم پاپائین آنزیم موثرتری نسبت به آلکالاز و فلاورزایم برای تهیه هیدرولیزهای پروتئین پاتین است.

حلالیت هیدرولیزهای پروتئین سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار به طور معنی‌داری متفاوت بود ($p < 0.05$). حلالیت هیدرولیزهای پروتئین سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار با پروتئازها با افزایش زمان هیدرولیز از ۳۸/٤ به ۳٦۳ میلی گرم بر گرم و از ۸۲/۸۳ به ۵۵۹/۸ میلی گرم بر گرم، به ترتیب افزایش یافت (جدول ۳ و ٤). حلالیت بالای SPH ها و MPH ها احتمالاً به دلیل کاهش ساختار ثانویه و تولید پپتیدهای با وزن مولکولی کم با هیدرولیز است که انتظار می‌رود باقیمانده های قطبی بیشتری نسبت به پروتئین های دست نخورده داشته باشند و توانایی تشکیل پیوندهای هیدروژنی بیشتر با آب و افزایش را داشته باشند. [۲٦]. علاوه بر این، حلالیت فراکسیون های پروتئینی نامحلول موجود به شکل هیدرولیز مایع با سانتریفیوژ پس از هیدرولیز حذف شدند و بنابراین در پودر هیدرولیز لیوفیلیزه وجود ندارند. حلالیت پروتئین سارکوپلاسمیک پس از ٦۰ دقیقه انکوباسیون با پاپائین، آلکالاز و فلاورزایم کاهش می‌یابد در حالی که حلالیت پروتئین میوفیبریلار پس از ۱۲۰ دقیقه انکوباسیون با پروتئازها همچنان افزایش یافت. نتایج نشان داد که وقتی DH هر دو تیمار SPH و MPH افزایش یافت، حلالیت پروتئین افزایش یافت. با این حال، حلالیت ۱۰۰ درصد هرگز به دست نمی‌آید که تا حدی به برهمکنش پپتیدها و همچنین به وجود ساختارهای فشرده در پروتئین مربوط می‌شود که نمی‌توانند هیدرولیز شوند. حلالیت یکی از مهمترین خواص پروتئین‌ها و هیدرولیزهای پروتئینی است. حلالیت در درجه اول به توزیع اسیدهای آمینه آبگریز و آبدوست در سطح پروتئین و ترمودینامیک برهمکنش‌های پروتئین-آب بستگی دارد [٤٤]. هیدرولیز جزئی پروتئین‌ها اغلب برای بهبود حلالیت پروتئین استفاده می‌شود. افزایش حلالیت پروتئین میوفیبریلار دست نخورده ماهی با هیدرولیز آنزیمی، به دلیل اندازه کوچکتر پپتیدها و گروه‌های آمینو و کربوکسیل تازه در معرض قرار گرفته است که امکان تعامل بیشتر با آب و افزایش آب دوستی هیدرولیزها را فراهم می‌کند [٤۵ و ٤٦].

محتوای پپتید پروتئین سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار و هیدرولیزهای آنها در جدول ۳ و ٤ نشان داده شده است. محتوای پپتید SPHs و MPHs با افزایش زمان انکوباسیون به طور قابل توجهی افزایش یافت ($p < 0.05$). محتوای پپتید پروتئین سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار و هیدرولیزات آنها به ترتیب از

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-11]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213]

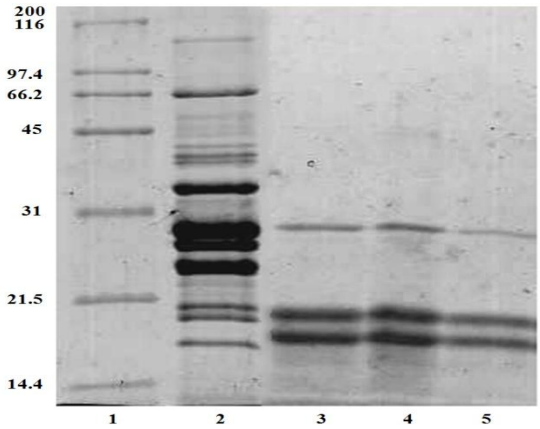
۱۸/۸ به ۲۰٤/٤ و از ۸۵/٤ به ۲۹۹/۱ میلی گرم در گرم افزایش یافت. پروتئین‌های سارکوپلاسمیک پاپائین و میوفیبریلار به ترتیب دارای بیشترین میزان پپتید (۱۹۷/۷ میلی گرم بر گرم) با DH ۷۳/۵۳ درصد و (۲۹۹/۱ میلی گرم بر گرم) با DH ۸۹/۱۷ درصد بودند. نتایج نشان داد که با افزایش زمان انکوباسیون، میزان پپتید هیدرولیزهای پروتئینی افزایش یافت. یک نتیجه مشابه از محتوای پپتید در یک بازه زمانی، ۸٤/۲ تا ۲۷۲/۳ میلی گرم در گرم در هیدرولیزهای پروتئین ماهیچه‌ای صدف آب شیرین (*Corbicula fluminea*, Muller) گزارش شد [٤۷]. روش سنجش پیشنهادی در این مطالعه برای اندازه‌گیری محتوای پپتید بر اساس واکنش op-o-phthaldialdehyde (OPA) و β–مرکاپتواتانول با آمین‌ها و پپتیدهای اولیه بود. با اجرای روش‌های اسپکتروفتومتری، سنجش OPA قادر به اندازه‌گیری اسیدهای آمینه و هیدرولیز پپتیدهای N-acyl و تعیین دقیق تعداد پیوندهای پپتیدی آزاد شده در طول هیدرولیز یک سوبسترای پروتئینی است.

۳-۵- تجزیه و تحلیل SDS-PAGE

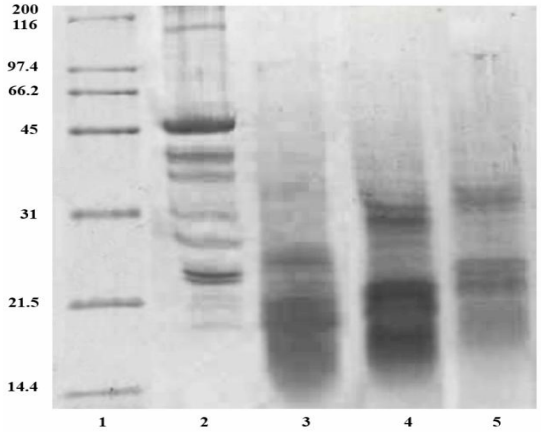
SDS-PAGE یک تکنیک قدرتمند برای جداسازی پلی‌پپتیدها در مقیاس کوچک و برای تعیین وزن مولکولی به این مولکول‌ها است. روش توصیف شده توسط Laemmli [٤۸] نمی تواند پلی‌پپتیدهایی با جرم کمتر از ۱۵ کیلو دالتون را جدا کند. متداول‌ترین تکنیک استفاده شده یک روش توسعه یافته توسط Schagger و Von Jagow [۲۸] با استفاده از ژل های با غلظت بالا و ترکیب مواد برای جداسازی پلیمرهای با وزن مولکولی پایین است.

الکتروفورگرام‌های نماینده SDS-PAGE هیدرولیزهای پروتئین سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار *P.sutchi* در یک سیستم ژل تریس–تریسین حاوی SDS در شکل ۱ (A,B) نشان داده شده است.

همانطور که در خط ۲ نشان داده شده است، فراکشن سارکوپلاسمیک هیدرولیز نشده پروتئین های با وزن مولکولی بالا و پایین را نشان می دهد، در حالی که الگوی هیدرولیز نمونه های تیمار شده با آنزیم سارکوپلاسمیک (خط ۳، ٤ و ۵) متفاوت بود (شکل A۱). پس از ٦۰ دقیقه انکوباسیون با پروتئازها، هیچ فراکشن پروتئین مولکولی بالایی در پروفایل SDS-PAGE مشاهده نشد. همه هیدرولیزهای پروتئین سارکوپلاسمیک با باندهای مولکولی عمدتاً پایین به نمایش گذاشته شده از ۱۷/٤ تا ۲۹/۱ کیلو دالتون متغیر بودند و تفاوت زیادی در الگوی SDS-PAGE مشاهده نشد.



(A)



(B)

Fig 1 SDS-PAGE pattern of sarcoplasmic (A) and myofibrillar (B) proteins and of their hydrolysates obtained after 60 min and 120 min incubation, respectively.
In both SDS-PAGE profiles, lane 1 represents protein marker; lane 2, control (unhydrolyzed samples); lane 3, papain treated samples; lane 4, Alcalase treated samples and lane 5 shows sampes treated with flavourzyme.

الکتروگرام SDS-PAGE نمونه های تیمار شده با آنزیم میوفیبریلار مانند هیدرولیزهای سارکوپلاسمیک بود (شکل B۱).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-11]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213]

الگوهای هیدرولیز نمونه‌های میوفیبرلار پاپائین تقریباً مشابه الگوی آلکالاز و فلاورزایم با حضور پروتئین‌هایی با وزن‌های مولکولی از ۲۷/۱ تا ۱۶/۵ کیلو دالتون برای پاپائین، ۳۲/۷-۱۷/۲ کیلو دالتون برای آلکالاز و ۳۴/۴-۱۸/۲ بعد از تیمار فلاورزایم بود (خط۳، ٤ و ٥، شکل B۱). در حالی که، فراکشن میوفیبریلار هیدرولیز نشده پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا و پایین را نشان داد. الگوی هیدرولیز نمونه پروتئین میوفیبریلار *P. sutchi* نشان دهنده هیدرولیز بیش از حد با پاپائین، آلکالاز و فلاورزایم پس از ۱۲۰ دقیقه توسط DH بیش از ۸۰ درصد است (جدول ٤). نتایج به وضوح نشان می‌دهد که آنزیم‌های پاپائین، آلکالاز و فلاورزایم قادر به هیدرولیز پروتئین‌ها و به ویژه پروتئین‌های سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار حتی با وزن مولکولی بالا هستند.

٤- نتیجه گیری

در این مطالعه پروتئین‌های سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار استخراج و هیدرولیزات از *P. sutchi* با استفاده از آنزیم‌های پاپائین، آلکالاز و فلاورزایم تهیه شد. نتایج به وضوح نشان می دهد که نوع آنزیم و میزان DH بر ترکیب باقی مانده اسید آمینه و وزن مولکولی هیدرولیزهای پروتئین سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار تأثیر زیادی دارد. محتوای پپتید و پروتئین محلول هیدرولیزهای پروتئین های سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار به طور قابل توجهی با افزایش زمان انکوباسیون افزایش یافت. ترکیب اسید آمینه متفاوت در پروتئین‌های سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار و هیدرولیزهای آنها مشاهده شد. برای SPH ها، آلکالاز-SPH بالاترین اسیدهای آمینه آروماتیک و آبگریز را نشان داد در حالی که برای MPH ها، پاپایین-MPH بالاترین اسیدهای آمینه آروماتیک و آبگریز را داشت. با توجه به الکتروگرام SDS-PAGE ، آنزیم‌های پاپائین، آلکالاز و فلاورزایم قادر به هیدرولیز پروتئین‌ها و کاهش وزن مولکولی پروتئین‌های سارکوپلاسمیک و میوفیبریلار شدند.

٥- منابع

[1] Hartmann, R. & Meisel, H. 2007. Food-derived peptides with biological activity: From research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology* 18: 1-7.

[2] Chabanon, G., Chevalot, I., Framboisier, X., Chenu, S. & Marc, I. 2007. Hydrolysis of rapeseed protein isolates: kinetics, Characterization and Functional Properties of Hydrolysates. *Process Biochemistry* 42: 1419-1428.

[3] Pazinatto, C., Malta, L.G., Pastore, G.M. & Maria Netto, F. 2013. Antioxidant capacity of amaranth products: effects of thermal and enzymatic treatments. *Food Science and Technology* 33: 485- 493.

[4] Polanco-Lugo, E., Dávila-Ortiz, G., Betancur-Ancona, D. A. & Chel-Guerrero, L. A. 2014. Effects of sequential enzymatic hydrolysis on structural, bioactive and functional properties of Phaseolus lunatus protein isolate. *Food Science and Technolology* 34: 441-448.

[5] Yathisha, U. G., Vaidya, S., & Sheshappa, M. B. 2022. Functional Properties of Protein Hydrolyzate from Ribbon Fish (*Lepturacanthus Savala*) as Prepared by Enzymatic hydrolysis, *International Journal of Food Properties*, 25 (1): 187-203.

[6] Ucak, I.; Afreen, M., Montesano, D., Carrillo, C.; Tomasevic, I., Simal-Gandara, J. & Barba, F. J. 2021. Functional and Bioactive Properties of Peptides Derived from Marine Side Streams. *Marine Drugs* 19: 71.

[7] Hemker, A. K., Nguyen, L. T., Karwe, M. & Salvi, D. 2020. Effects of Pressure-assisted Enzymatic Hydrolysis on Functional and Bioactive Properties of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) By-product Protein Hydrolysates. *LWT-Food Science and Technology* 122: 109003.

[8] Wouters, A. G. B., Rombouts, I., Fierens, E., Brijs, K. & Delcour, J. A. 2016. Relevance of the Functional Properties of Enzymatic Plant Protein Hydrolysates in Food Systems. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 15: 786-800.

[9] Shahidi, F. & Zhong, Y. 2008. Bioactive Peptides. *Journal of AOAC International* 9: 914-931.

[10] Leni, G., Soetemans, L., Caligiani, A., Sforza, S. & Bastiaens, L. 2020. Degree of Hydrolysis Affects the Techno-functional Properties of Lesser Mealworm Protein Hydrolysates. *Foods* 9: 381.

[11] Xu, Y., Galanopoulos, M., Sismour, E., Ren,

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-11]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-11]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213]

Corp., Milford, MA.

[23] Thiansilakul, Y, Benjakul, S. & Shahidi, F. 2007a. Antioxidative activity of protein hydrolysate from round scad muscle using alcalase and flavourzyme. *Journal of Food Biochemistry*31: 266-287.

[24] Hoyle, N. T. & Merritt, J. H. 1994. Quality of fish protein hydrolysate from herring (Clupea harengus). *Food Science* 59: 76-79.

[25] Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biology and Chemistry* 193: 265-75.

[26] Church, F. C., Swaisgood, H. E., Porter, D. H., & Catignani, G. L. 1983. Spectrophotometric assay using o-phthaldialdehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. *Journal of Dairy Science* 66: 1219-1227.

[27] Huang, P H, Chen, J. Y. & Kuo, C. M. 2007. Three different hepcidins from tilapia, Oreochromis mossambicus: Analysis of their expressions and biological functions. *Molecular Immunology* 44:1922-1934.

[28] Schagger, H. & Von Jagow, G. 1987. Tricine-sodium dodecyl sulfatepolyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Analytical Biochemistry* 166: 368–379.

[29] Srikanya, A., Dhanapal, K., Sravani, K. & Madhavi, K. 2017. Praveen kumar GA. Study on Optimization of Fish Protein Hydrolysate Preparation by Enzymatic Hydrolysis from Tilapia Fish Waste Mince. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6 (12): 3220-3229.

[30] Amiza, M, A., Ow, Y. W. & Faazaz, A. L. 2013. Physicochemical Properties of silver catfish (*Pangasius sp*) Frame Hydrolysate. International Food Research Journal 20(3): 1255-1262.

[31] Kristinsson, H. G. & Rasco, B. A. 2000. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40: 43-81

[32] Alemán, A., Giménez, B., Monter, O. P. & Gómez-Guillén, M. C. 2012. Antioxidant activity of several marine skin gelatine. *LWT-Food Science and Technology* 44: 407-413.

[33] Pacheco-Aguilar, R., Mazorra-Manzano, M. A. & Ramirez-Suarez, J. C. 2008. Functional

S., Mersha, Z., Lynch, P. & Almutaimi, A. 2020. Effect of Enzymatic Hydrolysis Using Endo- and Exo-proteases on Secondary Structure, Functional, and Antioxidant Properties of Chickpea Protein Hydrolysates. *Journal of Food Measurment and Characterization* 14: 343–352.

[12] Whitaker, J. R. 2003. Protelytic Enzymes. In: Handbook of Food Enzymology, JR Whitaker, AGJ Voragen, DWS Wong, Eds., Marcel Dekker, Inc., New York.

[13] Adler-Nissen, J. 1986. Enzymatic Hydrolysis of Food Proteins, Elsevier Applied Science Publisher Ltd., England.

[14] Greco Lorenzo, V. & Bronu Marco, N. 2008. Food Science and Technology: New Research. New York: Nova Science Publishers, Inc.

[15] Fisheries Dept, Malaysian Fisheries Department, Official Homepage 2010.

[16] Mat Jais, A. M., Dambisya, Y. M. & Lee, T. L. 1997. Antinociceptive Activity of Channa striatus (Haruan), Extracts in Mice. *Journal of Ethnopharmacol* 57: 125- 130.

[17] MolinA I, Toldra´ F. Detection of proteolytic activity in microorganisms isolated from dry cured ham. J Food Sci 1992; 61: 1308-1310.

[18] Hultin HO, Kelleher SD, High efficiency alkaline protein extraction. US Patent 2000 6136,959.

[19] You, L., Zhao, M., Cui, C., Zhao, H. & Yang, B. 2009. Effect of degree of hydrolysis on the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguilicaudatus*) protein hydrolysates. *Innovative Food and Emerging Technologies*10: 235-240.

[20] AOAC. 2005. Official methods of analysis. In: Methods 950.46 (39.1.02), 900.02A (38.1.04), 992.15 (39.1.16) and 960.39 (39.1.05), 18th edn (edited by W. Horwitz). Gaithersburg MD: Aoac Intl.

[21] Alaiz, M., Navarro, J. L., Girón, J. & Vioque, E. 1992. Amino acid analysis by high performance liquid chromatography after derivatization with diethyl ethoxymethylenemalonate. *Journal of Chromatography* 591: 181-186.

[22] Cohen, S. A., Meys, M. & Tarvin, T. L. 1988. The PicoTag Method. A Manual of Advanced Techniques for Amino Acid Analysis. Waters Chromatography Division, Millipore

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-11]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213]

Martı́nez-Ayala, A., Da´ vila-Ortı´z, G. & Betancur-Anconab, D. 2009. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activities of protein hydrolysates from Phaseolus lunatus and Phaseolus vulgaris seeds. *LWT-Food Science and Technology* 42: 1597-1604.

[43] Balti, R., Bougatef, A., Hadj Ali, N. E., Ktari, N., Jellouli, K., Nedjar-Arroume, N., Dhulster, P. & Nasri, M. 2011. Comparative Study on Biochemical Properties and Antioxidative Activity of Cuttlefish (*Sepia officinalis*) Protein Hydrolysate Produced by Alcalase and Bacillus licheniformis NH1 Proteases. *Journal of Amino Acids* Article ID 107179, 11 pages.

[44] Gbogouri, G. A., Linder, M., Fanni, J. & Parmentier, M. 2004. Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon byproducts hydrolysates. *Journal of Food Chemistry and Toxicolology* 69: 615-622.

[45] Tang, S., Zhou, X., Gouda, M., Cai, Z. & Jin, Y. 2019. Effect of Enzymatic Hydrolysis on the Solubility of Egg Yolk Powder from the Changes in Structure and Functional Properties. *LWT-Food Science and Technology* 110: 214–222.

[46] Alahmad, K., Xia, W., Jiang, Q., & Xu, Y. 2022. Effect of the Degree of Hydrolysis on Nutritional, Functional, and Morphological Characteristics of Protein Hydrolysate Produced from Bighead Carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) Using Ficin Enzyme. *Foods* 11: 1-17.

[47] Tsai, J. S., Lin, T. C., Chen, J. L. & Pan, B. S. 2006. The inhibitory effects of freshwater clam (*Corbicula fluminea, Muller*) muscle protein hydrolysates on angiotensin I converting enzyme. *Process Biochemistry* 41(11): 2276-2281.

[48] Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Journal of Nature* 227: 680-685.

properties of fish protein hydrolysates from Pacific whiting (*Merluccius productus*) muscle produced by a commercial protease. *Food Chemistry*109: 782-789.

[34] Suthasinee, N., Sittiwat, L., Manop, S. & Apinya, A. 2005. Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. *Journal of Food Engineering* 70(4): 571-578.

[35] Choi, Y. J., Hur, S., Choi, B. D., Konno, K. & Park, J. W. 2007. Enzymatic hydrolysis of recovered protein from frozen small croaker and functional properties of its hydrolysates. *Journal of Food Science* 74 (1): C17-C24.

[36] Souissi, N., Bougatef, A., Triki-Ellouz, Y. & Nasri, M. 2007. Biochemical and functional properties of sardinella (Sardinella aurita) by-product hydrolysates. *Food Technology and Biotechnology* 45(2): 187-194.

[37] Rebeca, B. D., Pena-Vera, M. T. & Diaz-Castaneda, M. 1991. Production of fish protein hydrolysates with bacterial proteases; yield and nutritional value. *Journal of Food Science* 56: 309-314.

[38] Rao, M. B., Tanksale, A. M., Gathe, M. S. & Deshpande, V. V. 1998. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Micrbiology Molecular Biology Reviews* 62(3):597-635.

[39] Najafian, L.& Babji, A. S. 2018. Fractionation and identification of novel antioxidant peptides from fermented fish (Pekasam). *Journal of Food Measurment and Charactrization* 12 (3): 2174-2183.

[40] Kimmel JR, Smith E. L. Crystalline papain. I. Preparation, specificity, and activation. J Biol Chem 1954; 207: 515-30.

[41] Aluko, R. E. 2018. Food protein-derived peptides: Production, isolation, and purification. *Proteins in Food Processing* 389-412.

[42] Torruco-Uco, J., Chel-Guerrero, L.,

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-11]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213]

Comparative Study on Physicochemical Properties of Catfish Sarcoplasmic and Myofibrillar Protein Hydrolysates Produced by Enzymatic Hydrolysis Enzymatic Hydrolysis of Catfish Proteins

Najafian, L. [1*]

1. Department of Food Science and Technology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

ABSTRACT

The present work aimed to study the effect of enzymatic hydrolysis of sarcoplastic and myofibrillar proteins from *pangasius sutchi* fish on the chemical compositions, the solubility, degree of hydrolysis (DH), peptide content and amino acid compositions was evaluated and their molecular weight recorded. The fish sarcoplasmic protein hydrolysates (SPHs) and myofibrillar protein hydrolysates (MPHs) were produced using three types of proteases: papain, alcalase and flavourzyme. Physicochemical properties of proteins and molecular weight were investigated. Results indicated that type of protease affected the degree of hydrolysis (DH), where all of the enzymes showed high rate of hydrolysis during the first hour, and then gradually decreased. The type of enzyme and the extent of the DH greatly influenced the amino acid residue composition and the molecular weight of the protein hydrolysates. Different amino acid composition of proteins and their hydrolysates was observed. The soluble protein and peptide content of hydrolysates significantly increased by the increase in time of incubation. The high amount of hydrophobic and aromatic amino acids in the SPH and MPH can enhance the biological activities of the peptides. Results suggest that the protein hydrolysates derived from patin may be used in functional food and supplements.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 08/ 05
Accepted 2022/ 10/ 09

Keywords:

Amino acid compositions,
Enzymatic hydrolysis,
Molecular weight,
Sarcoplasmic and myfibrillar proteins,
Solubility.

DOI: 10.22034/FSCT.19.130.213
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.18.7

*Corresponding Author E-Mail:
najafian_5828@yahoo.com