

اثر درجه آبکافت بر خواص عملکردی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی تولیدشده از فریم^۱ و سر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

سهیل ریحانی پول^۱، سید علی جعفرپور^{۲*}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فراوری محصولات شیلاتی، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی

ساری

۲- دانشیار، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۹/۳۰)

چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر درجه آبکافت بر خواص عملکردی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی تولیدشده از فریم و سر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بود. به همین منظور، مخلوط هموزن شده‌ی فریم و سر ماهی کپور معمولی در سه زمان یک، دو و سه ساعت با استفاده از آنزیم نئوتراز (۰/۸ L) آبکافت و سه نوع پروتئین آبکافتی با درجه آبکافت‌های ۱۰/۴۳ ± ۲/۳۲٪ (پروتئین ۱)، ۱۷/۰۹ ± ۱/۷۱٪ (پروتئین ۲) و ۲۱/۴۵ ± ۱/۰۴٪ (پروتئین ۳) تولید شد. نتایج نشان داد، اغلب خواص مورد بررسی پروتئین آبکافتی، تحت تاثیر درجه آبکافت به طور معنی‌داری تغییر کردند. حلالیت با افزایش درجه آبکافت افزایش یافت و پروتئین ۳ در تمام pH های مورد بررسی (به غیر از pH=۲) به طور معناداری حلالیت بیشتری نسبت به دو پروتئین دیگر داشت (p<0.05). بیشترین ظرفیت نگهداری آب در پروتئین ۳ ثبت گردید (۰/۴۲ ± ۴/۲۹ میلی‌لیتر در گرم پروتئین) اما اختلاف معنی‌داری بین پروتئین‌های ۱ و ۲ مشاهده نشد (p>0.05). از سویی دیگر، سایر خواص کارکردی مورد بررسی از جمله شاخص فعالیت امولسیفایری، پایداری امولسیون، ظرفیت جذب روغن با افزایش درجه آبکافت کاهش یافتند. از بین شاخص‌های سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی، قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH با افزایش درجه آبکافت به طور معناداری کاهش یافت (p<0.05) و بالاترین مقدار شاخص مذکور برای پروتئین ۱ ثبت شد (۳/۱۷٪ ± ۸۷/۹۶). این درحالیست که، قدرت کاهندگی پروتئین آبکافتی تحت تاثیر درجه آبکافت تغییر نکرد و بین سه پروتئین از نظر این شاخص اختلاف معنی‌داری ثبت نگردید (p>0.05). فعالیت کلاته‌کردن فلزات پروتئین آبکافتی به طور معنی‌داری رابطه مستقیمی با درجه آبکافت نشان داد و بیشترین میزان این شاخص برای پروتئین ۳ (۲/۹۲٪ ± ۹۲/۰۶) اندازه‌گیری شد (p<0.05).

کلید واژگان: آبکافت آنزیمی، نئوتراز، ماهی کپور معمولی، درجه آبکافت، خواص پروتئین‌های آبکافتی

۱. اسکلت همراه با مقدار بسیار کم عضله‌ی متصل به آن (Frame)

* مسئول مکاتبات: a.jafarpour@sanru.ac.ir

۱- مقدمه

آبزیان منبع بسیار مهمی برای تامین پروتئین حیوانی بشر بوده و هستند. یکی از آبزیانی که مصرف آن نسبت به سایر آبزیان معمولتر است، ماهیست. فیله این جاندار سرشار از پروتئین، ویتامین و مواد معدنی است که مصرف آن می‌تواند تا حد بالایی نیاز بدن به ماکرو و میکرونوترینت‌ها را تامین کند. علاوه بر فیله ماهی، ضایعات ماهی (اندرونه، سر، فریم و پوست) نیز دارای مقادیر بالایی پروتئین و مواد معدنی هستند و در صورت فراوری می‌توانند به صورت مستقیم و غیر مستقیم مورد مصرف انسان، دام و آبزیان قرار گیرند. با این کار، از دورریز این ضایعات و متعاقب آن، آلودگی زیست محیطی نیز جلوگیری خواهد شد [۲۹]. یکی از راههای افزایش کارایی این ضایعات، استخراج و ایزوله کردن پروتئین آنها با استفاده از آنزیم‌های پروتئازی با تکنیکی تحت عنوان آبکافت آنزیمی است [۳۵،۳۰،۲۲،۲۱،۴۰]. این روش نه تنها موجب جداسازی پروتئین از ضایعات، بلکه موجب شکستن درصدی از باندهای پپتیدی (درجه آبکافت) و در نتیجه ایجاد خواص عملکردی (کارکردی) و فعالیت آنتی اکسیدانی [۱۰] ویژه‌ای در مولکول پروتئین می‌شود. معمولاً از ضایعات و یا آبزیانی که دارای ارزش اقتصادی و بازار پسندی کم هستند برای تولید پروتئین‌های آبکافتی استفاده می‌شود.

ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) از خانواده کپور ماهیان (*Cyprinidae*) و جزء گونه‌های پرورشی در کشور است. این ماهی به دلیل شرایط زندگی و تغذیه از موجودات کفزی مستقر در لجن استخر، بوی نامطبوعی دارد [۹]. این بو و طعم نامطبوع بازارپسندی این ماهی را کاهش داده است. برای جبران این نقص می‌توان از این ماهی برای تولید محصولات باارزشی مانند سوریمی^۲ [۱۷] استفاده کرد و مصرف سرانه آن را به نحوی افزایش داد. ساخت سوریمی با تولید یکسری ضایعات از جمله سر، فریم و اندرونه همراه است. در پژوهش حاضر فریم و سر این ماهی (ضایعات تولید سوریمی) با استفاده از پروتئاز (نئوتراز L ۰/۸) آبکافت و به پودر پروتئین آبکافتی تبدیل شدند. عوامل مختلفی خواص پروتئین تولیدشده را تحت تاثیر قرار می‌دهند که از آن جمله می‌توان به نوع پروتئاز مصرفی، شرایط آزمایش (pH، دما، زمان واکنش آبکافت و ...)، نوع سوپسترا، درجه آبکافت و ...

اشاره کرد. هدف پژوهش حاضر بررسی اثر درجه آبکافت بر خواص پروتئین آبکافتی تولیدشده از فریم و سر این ماهی است.

۲- مواد و روش‌ها

ماهی کپور معمولی

ماهی کپور معمولی (وزن تقریبی ۹۵۰ گرم، فصل پائیز) از بازار ماهی فروشان شهرستان بابل تهیه و در یونولیت محتوی یخ (برای جلوگیری از فساد)، به پایلوت فراوری محصولات شیلاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل شد. بعد از فیله کردن ماهی (برای تولید سوریمی)، فریم و سر آن ابتدا به کمک چرخ گوشت و سپس به کمک مولینکس هموژن و در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد ذخیره گردید. آنزیم نئوتراز (L ۰/۸) از نمایندگی شرکت نووزایم^۳ دانمارک تهیه شد.

تولید پروتئین آبکافتی

۳۰۰ گرم نمونه هموژن‌شده سر و فریم در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجمادزدایی^۴ و به سه ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری (هر کدام ۱۰۰ گرم) محتوی ۲۰۰ سی‌سی بافر فسفات با pH=۷/۴ انتقال داده شد. سپس ارلن‌ها، ۲۰ دقیقه درون حمام آبی (Memert wnb 29, Germany) با دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا آنزیم‌های داخلی بافت سر و فریم ماهی غیرفعال شوند. بعد از این مدت و خنک شدن ارلن‌ها، آنزیم نئوتراز به میزان ۱/۵ درصد (محتوی پروتئین) به محتویات ارلن‌ها اضافه گردید. بلافاصله ارلن‌ها در انکوباتور شیکردار (Cold shaker incubator, TM 65, Iran) با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از اتمام زمان‌های تعیین شده برای آبکافت (زمان‌های یک، دو و سه ساعت)، به منظور غیرفعال کردن آنزیم نئوتراز و در نتیجه پایان دادن به واکنش، ارلن‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آبی (Memert wnb 29, Germany) با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از این زمان، ارلن‌ها در دمای محیط خنک و سپس محتویات آنها، ۲۰ دقیقه با دور ۸۰۰۰g در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ (D-78532

3. Novozymes

4. Defrost

2. Surimi

در سیستم CIE با استفاده از شاخص‌های L^* ، a^* ، b^* و W^* به صورت دقیق بررسی شد [۱۹].

حلالیت

برای تعیین حلالیت، یک گرم پروتئین آبکافتی در ۱۰۰ میلی-لیتر آب مقطر حل شد. سپس با استفاده از سدیم هیدروکسید و هیدروکلریک اسید ۲ مولار، pH محلول به ۲.۴، ۶.۸ و ۱۰ تنظیم گردید. این محلول ۱۰ دقیقه در دمای اتاق (1 ± 25 درجه سانتی‌گراد) هم زده و بعد با دور ۸۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. بعد از رقیق سازی، نیتروژن محلول در سوپرناتانت از روش بیورت و حلالیت پروتئین از رابطه زیر به دست آمد [۳۸]:

$$\text{حلالیت (\%)} = \frac{\text{پروتئین محلول در سوپرناتانت}}{\text{پروتئین کل نمونه}} \times 100$$

شاخص فعالیت امولسیفایری (EAI^7) و پایداری امولسیون (ESI^8)

به منظور اندازه‌گیری این دو شاخص، ۳۰۰ میلی‌گرم پروتئین آبکافتی در ۳۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه حل شد. سپس ۱۰ میلی-لیتر روغن آفتابگردان به محلول حاضر اضافه و pH آن به ۸.۶، ۶.۴، ۲ و ۱۰ رسانده شد. سپس این مخلوط (با pH مشخص) به کمک هموژنایزر با دور ۱۴۰۰۰ g به مدت یک دقیقه هموژن شد. حاصل کار یک امولسیون بود. به کمک سمپلر حجم ۱۵ میکرولیتر از ته ظرف حاوی امولسیون در دو زمان صفر و ۱۰ دقیقه بعد از هموژن کردن برداشته و با ۵ میلی‌لیتر محلول سدیم پوسیل سولفات ۰/۱ درصد مخلوط شد. جذب این محلول‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-M51 UV/Vis Spectrophotometr, Italy) در طول موج ۵۰۰ نانومتر قرائت گردید. شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی با استفاده از روابط زیر محاسبه شد [۲۳]:

$$\text{شاخص فعالیت امولسیفایری (تر میج بر گرم)} = \frac{2 \times 2 \times 2 \times \text{جذب نمونه در زمان صفر (در طول موج ۵۰۰ نانومتر)}}{\text{گرم پروتئین} \times 0.125}$$

$$\text{شاخص پایداری امولسیونی (دقیقه)} = \frac{10 \times \text{جذب نمونه در زمان ۱۰ دقیقه (در طول موج ۵۰۰ نانومتر)}}{\text{اختلاف جذب نمونه در دو زمان صفر و ۱۰ دقیقه}}$$

ظرفیت جذب چربی (OAC^9)

سوپرناتانت‌ها (Tuttlingen, Germany) شدند. سوپرناتانت‌ها (مایعات رویی) با استفاده از خشک‌کن انجمادی (Vaco 2 Zirbus, Germany) خشک گردیدند و سه نوع پودر پروتئینی متفاوت از نظر درجه آبکافت مربوط به سه زمان آبکافت یک (پروتئین ۱)، دو (پروتئین ۲) و سه (پروتئین ۳) ساعت حاصل شد [۳۷، ۳۱، ۳۰، ۱۲]. تولید پروتئین آبکافتی برای هر زمان، در سه تکرار انجام شد.

آنالیز تقریبی

سوستر و پروتئین‌های ۲.۱ و ۳ از نظر پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت طبق روش استاندارد AOAC آنالیز شدند [۲].

درجه‌ی آبکافت (DH^5) فرایند

درجه آبکافت واکنش با افزودن حجم برابری از تری-کلرواستیک اسید (TCA) ۲۰ درصد به مایع رویی و سانتریفوژ محلول حاصل با دور ۶۷۰۰g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به منظور جمع آوری محلول ۱۰ درصد TCA به عنوان سوپرناتانت جدید و از طریق رابطه زیر محاسبه شد [۱۵]:

$$\text{درجه آبکافت (\%)} = \frac{\text{نیتروژن موجود در محلول ۱۰ درصد TCA}}{\text{نیتروژن کل نمونه}} \times 100$$

سنجش نیتروژن محلول از روش بیورت [۲۴] با استاندارد سرم آلبومین گاوی برای دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-M51 UV/Vis Spectrophotometr, Italy) انجام گرفت.

میانگین طول زنجیره پپتیدی (PCL^6) و بازیافت نیتروژنی

برای محاسبه میانگین طول زنجیره پپتیدی [۱] و میزان بازیابی نیتروژنی [۲۵] از روابط زیر استفاده شد.

$$\text{میانگین طول زنجیره پپتیدی} = \frac{100}{\text{درجه آبکافت}}$$

$$\text{بازیافت نیتروژنی (\%)} = \frac{\text{گرم پروتئین آبکافتی} \times \text{میزان نیتروژن در پروتئین آبکافتی}}{\text{گرم مخلوط هموژن شده سر و فریم} \times \text{نیتروژن موجود در مخلوط هموژن شده سر و فریم}}$$

ارزیابی رنگ

رنگ پروتئین آبکافتی تولیدشده از سر به کمک دستگاه رنگ‌سنج (IMG- pardazesh cam- system XI, Iran)

7. Emulsifying activity index
8. Emulsion stability index
9. Oil absorption capacity

5. Degree of Hydrolysis
6. Peptide Chain Length

قدرت کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی (یون فریک)

برای بررسی این خاصیت، ۰/۵ میلی لیتر پروتئین آبکافتی با غلظت ۴۰ میلی لیتر بر گرم با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار (با pH=۶/۶) و ۲/۵ میلی لیتر محلول پتاسیم فریسیانید ۱ درصد مخلوط شد. سپس ترکیب حاصل ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد انکوبه و متعاقب ۲/۵ میلی لیتر محلول تری-کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به آن اضافه گردید. سپس این محلول ۱۰ دقیقه با گردش ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و ۲/۵ میلی لیتر از سوپرناتانت آن با ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۲/۵ میلی لیتر محلول فریک کلرید ۰/۱ درصد ترکیب شد و جذب محلول حاصل در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید. هرچه جذب بیشتر باشد، قدرت کاهندگی پروتئین آبکافتی نیز بیشتر است [۲۸].

فعالیت کلاته‌کنندگی فلزات

برای اندازه‌گیری این شاخص ابتدا ۱ میلی لیتر محلول ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر پروتئین آبکافتی به ۳/۷ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید. در مرحله بعد محلول تهیه‌شده با ۰/۱ میلی لیتر محلول ۲ میلی مولار کلرید آهن و ۰/۲ میلی لیتر محلول ۵ میلی-مولار فروزین ترکیب شد. بعد از اینکه محلول حاضر ۲۰ دقیقه در دمای اتاق استراحت داده شد، جذب آن در طول موج ۵۶۲ نانومتر ثبت و فعالیت کلاته‌کنندگی فلزات پروتئین‌های آبکافتی از رابطه زیر محاسبه گردید [۵]:

$$\text{فعالیت کلاته‌کنندگی فلزات (\%)} = \frac{\text{جذب نمونه در طول موج ۵۶۲ نانومتر} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}} \times 100$$

آنالیز آماری

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های پژوهش حاضر، از آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست دانکن (در سطح اطمینان ۹۵ درصد) استفاده شد. از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۹) برای آنالیز داده‌ها و نرم‌افزار EXCEL (ورژن ۲۰۱۴) جهت رسم جداول و اشکال استفاده گردید.

برای تعیین این خاصیت، ۰/۵ گرم پروتئین آبکافتی را در فالکون ۵۰ میلی لیتری ریخته و ۱۰ میلی لیتر روغن ذرت به آن اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه و هر ۱۰ دقیقه، ۳۰ ثانیه هم زده شد. سپس ۲۵ دقیقه با دور ۲۰۰۰g سانتریفوژ و حجم سوپرناتانت وزن شد. جذب چربی به صورت میلی لیتر چربی در گرم پروتئین آبکافتی گزارش گردید. میلی لیتر چسبندگی روغن به لوله آزمایش از قبل لحاظ شد [۳۴].

ظرفیت نگهداری آب (WHC¹⁰)

برای اندازه‌گیری این شاخص، ۰/۵ گرم پودر پروتئینی در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر با ورتکس به مدت ۳۰ ثانیه به طور کامل حل گردید. دیسپرژن حاصل ۶ ساعت در دمای اتاق انکوبه و سپس ۳۰ دقیقه با دور ۲۸۰۰g سانتریفوژ شد. سپس سوپرناتانت با کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر و حجم مقدار بازیابی‌شده به صورت دقیق اندازه‌گیری گردید. اختلاف بین حجم اولیه آب مقطر به پودر پروتئینی اضافه و حجم مایع رویی یادداشت و نتیجه به صورت میلی لیتر آب جذب‌شده در گرم پروتئین گزارش شد [۸].

قدرت مهار رادیکال آزاد ۲و۲ دیفنیل -۱

پیکریل هیدرازیل (DPPH)

برای بررسی این شاخص، محلول ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر پروتئین آبکافتی در آب مقطر تهیه و ۴ میلی لیتر از آن به ۱ میلی لیتر محلول ۰/۲ میلی مولار DPPH در اتانول اضافه شد. این محلول به شدت هموزن و سپس ۳۰ دقیقه در مکان تاریک انکوبه گردید. بعد از این مدت جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (UV-Vis Spectrophotometer, Italy) در طول موج ۵۱۷ نانومتر ثبت گردید. به منظور محاسبه قدرت پروتئین آبکافتی برای مهار رادیکال آزاد DPPH از رابطه زیر استفاده شد [۴۲]:

$$\text{قدرت مهار رادیکال DPPH (\%)} = \frac{\text{جذب نمونه} - 1}{\text{جذب شاهد}} \times 100$$

در رابطه بالا منظور از شاهد، مخلوطی از محلول رادیکال DPPH و آب مقطر است.

۳- نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی

ترکیب شیمیایی مخلوط هموزن شده‌ی سر و فریم ماهی کپور معمولی و پروتئین های ۱، ۲ و ۳ در جدول ۱ آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش درجه آبکافت، میزان پروتئین در پودر آبکافتی افزایش یافته است، گرچه

اختلاف معنی‌داری از این نظر بین پروتئین‌های ۲ و ۳ وجود ندارد ($p>0.05$). افزایش درجه آبکافت همیشه با افزایش مقدار نیتروژن (پروتئین) در پودرهای آبکافتی همراه نبوده و یا به عبارتی یک رابطه خطی بین این دو پارامتر برقرار نیست [۳۵،۳۲،۳]. طبق جدول ۱، پروتئین‌های ۱، ۲ و ۳ از نظر چربی، رطوبت و خاکستر اختلاف معناداری ندارند ($p>0.05$).

Table 1 chemical composition in substrate and protein hydrolysates

Matter	Protein (%)	Fat (%)	Moisture (%)	Ash (%)
Substrate	11.49 ± 1.81	4.46 ± 0.66	66.09 ± 3.41	13.55 ± 1.26
Protein 1	68.01 ± 1.22 ^a	1.23 ± 0.51 ^a	4.13 ± 0.93 ^a	22.18 ± 2.86 ^a
Protein 2	73.61 ± 1.61 ^b	0.96 ± 0.25 ^a	3.73 ± 1.22 ^a	19.96 ± 1.47 ^a
Protein 3	76.3 ± 2.64 ^b	1.03 ± 0.32 ^a	4.21 ± 0.4 ^a	17.53 ± 2.41 ^a

Each value in the table represents the mean ± standard deviation of triplicate analysis. Different superscripts within each column represent significant difference at $P < 0.05$.

شاخص‌های رنگی پروتئین‌های آبکافتی

در جدول ۲ شاخص‌های رنگی هر سه پروتئین آبکافتی آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، پروتئین ۳ به طور معناداری شاخص روشنایی (L^*) کمتر و قرمزی (a^*) بیشتری نسبت به پروتئین‌های ۱ و ۲ ($p>0.05$) دارد ($p<0.05$). اما سه پروتئین تولیدشده از نظر شاخص‌های زردی (b^*) و سفیدی (w^*) اختلاف قابل ملاحظه‌ای ندارند ($p>0.05$).

پژوهشی که شاخص‌های رنگی پروتئین‌های آبکافتی تولیدشده از پوست ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) با استفاده از آنزیم آلکالاز (با درجه آبکافت‌های ۵/۰۲، ۱۰/۴ و ۱۴/۹ درصد) را مورد ارزیابی قرار داد، افزایش شاخص‌های a^* و b^* و کاهش شاخص L^* را با افزایش درجه آبکافت گزارش کرد [۴۱].

Table 2 Color indexes of protein hydrolysates

Proteins/ Color indexes	L^*	a^*	b^*	w^*
Protein 1	75.19 ± 1.84 ^a	1.28 ± 0.99 ^a	28.57 ± 3.46 ^a	62.1 ± 3.37 ^a
Protein 2	74.12 ± 1.66 ^a	0.94 ± 2.32 ^a	27.97 ± 4.75 ^a	61.79 ± 4.50 ^a
Protein 3	68.36 ± 1.39 ^b	5.15 ± 1.85 ^b	27.48 ± 1.63 ^a	57.74 ± 0.08 ^a

Each value in the table represents the mean ± standard deviation of triplicate analysis. Different superscripts within each column represent significant difference at $P < 0.05$.

درجه آبکافت، میانگین طول زنجیره پپتیدی و

بازیابی پروتئینی

مطابق جدول ۳ با افزایش زمان از یک به سه ساعت، درجه آبکافت روند افزایشی ($p<0.05$) اما شدت و نرخ آن، روند کاهشی داشته است، به گونه‌ای که بیشترین میزان آبکافت در دو ساعت اول رخ داده است. علت این امر را می‌توان اینگونه عنوان کرد که با افزایش زمان آبکافت، تعداد پیوندهای پپتیدی در دسترس آنزیم و همچنین فعالیت آنزیم کاهش می‌یابد [۲۲،۲۱،۱۲]. این امر با نتایج سایر پژوهش‌ها مطابقت دارد

[۳۱،۳۰]. پارامتر مهم بعدی در جدول ۳، میانگین طول زنجیره پپتیدی است که از عوامل مهم در خواص پروتئین‌های آبکافتی است و با درجه آبکافت رابطه عکس دارد. همانطور که مشاهده می‌شود پروتئین ۲ و ۳ ($p>0.05$) از نظر این پارامتر با پروتئین ۱ اختلاف معنی‌دار دارند ($p<0.05$). در پژوهش حاضر، بازیابی نیتروژنی (پروتئینی)، که پارامتری جهت نشان-دادن خلوص و گرم پروتئین آبکافتی نسبت به مقدار پروتئین سوبستراست، با افزایش درجه آبکافت به طور معناداری افزایش یافت و پروتئین ۳ بیشترین میزان این شاخص (۱/۴۶٪)

بازیابی پروتئین را گزارش کرد، به گونه‌ای که در پژوهش مذکور با افزایش درجه آبکافت از ۱۰ به ۱۵ و ۲۰ درصد، بازیابی نیتروژنی از $1/9 \pm 4/6$ به $4/1 \pm 5/6$ و $1/4 \pm 6/7$ درصد افزایش یافت [۳۲].

$77/22 \pm$ را به خود اختصاص داد ($p < 0.05$) (جدول ۳). پژوهشی که خواص کارکردی پروتئین آبکافتی مشتق شده از فیله ماهی (با نام علمی) *Merluccius productus* را مورد ارزیابی قرار داد، وجود رابطه مستقیم بین درجه آبکافت و

Table 3 Degree of hydrolysis, peptide chain length and protein recovery in protein hydrolysates

Protein hydrolysates	Degree of hydrolysis (%)	Peptide chain length	Protein recovery (%)
Protein 1	10.43 ± 2.32^a	9.89 ± 2.14^a	54.01 ± 1.63^a
Protein 2	17.09 ± 1.71^b	5.88 ± 0.62^b	65.02 ± 2.39^b
Protein 3	21.45 ± 1.04^c	4.66 ± 0.23^b	77.22 ± 1.46^c

Each value in the table represents the mean \pm standard deviation of triplicate analysis.

Different superscripts within each column represent significant difference at $P < 0.05$.

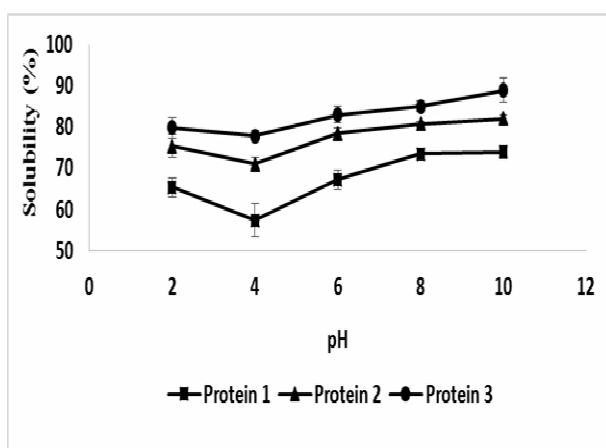


Fig 1 Solubility of fish protein hydrolysates by different pH values

شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون

یکی از خواص مهم پروتئین‌های آبکافتی، امولسیفایر بودن آنهاست. مکانیسم کلی تشکیل سیستم امولسیون بوسیله پروتئین آبکافتی به این صورت است که در اثر هم‌وزن‌باز کردن، قطرات بسیار ریز روغن تشکیل می‌شود. سپس پپتیدهای حاصل از آبکافت به سطح این قطره روغن جذب شده و یک غشای محافظ تشکیل می‌دهند که این غشاء از رسوب قطره روغن جلوگیری کرده و سیستم امولسیونی حفظ می‌شود [۶]. مطابق اشکال ۲ و ۳، در pH های قلیایی، به واسطه حلالیت بالاتر [۲۷]، شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون هر سه پروتئین آبکافتی بیشتر از pH های اسیدی است. همچنین کمینه حلالیت در نقطه ایزوالکتریک موجب کاهش این شاخص‌ها در pH=۴ شد [۲۳] و هر سه پروتئین در این

حلالیت پروتئین های آبکافتی

در این مطالعه اثر دو فاکتور pH و درجه آبکافت روی حلالیت پروتئین آبکافتی مورد بررسی قرار گرفته است (شکل ۱). نکته قابل توجه در مورد اثر pH بر روند حلالیت هر کدام از پروتئین‌های آبکافتی، کاهش معنی‌دار ($p < 0.05$) حلالیت در pH=۴ به دلیل قرار داشتن این pH در محدوده نقطه ایزوالکتریک است (البته حلالیت پروتئین ۳، در pH=۲ و pH=۴ اختلاف معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$)). ضمن اینکه هر سه پروتئین در pH=۱۰ حداکثر حلالیت را ارائه کردند. با این توضیح که، حلالیت پروتئین‌های ۱ و ۲ در این pH=۸ با اختلاف معناداری نشان نداد ($p > 0.05$). با آبکافت پروتئین‌ها و متعاقباً شکسته شدن آنها به پپتیدهای کوچک و آمینواسیدهای آزاد، به واسطه کاهش وزن مولکولی، حلالیت آنها افزایش می‌یابد [۲۶، ۱۱]. در واقع یک رابطه مستقیم بین درجه آبکافت (افزایش درجه آبکافت، با کاهش وزن مولکولی یا کاهش میانگین طول زنجیره پپتیدی همراه است) و حلالیت پروتئین وجود دارد. شکل ۱ نیز دقیقاً همین امر است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش درجه آبکافت، حلالیت پروتئین در تمام pH های مورد بررسی (به غیر از pH=۲) به طور معناداری افزایش یافته است ($p < 0.05$). در تحقیقی که اثر درجه آبکافت بر حلالیت پروتئین آبکافتی تولید شده از اندرونه و سر ماهی ساردین (*Sardinella aurita*) با استفاده از آنزیم آلکالاز مورد بررسی قرار گرفت، افزایش درجه آبکافت موجب افزایش حلالیت پروتئین آبکافتی شد [۳۵]. که این یافته با نتیجه مطالعه حاضر مطابقت دارد.

آبکافتی تهیه‌شده از ماهی تراولی نوار زرد (*Selaroides leptolepis*) مورد بررسی قرار گرفت، کاهش شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون با افزایش درجه آبکافت گزارش شد [۲۳] که مشابه نتیجه مطالعه حاضر است. یکی از مهمترین عوامل موثر در میزان شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون پروتئین‌های آبکافتی، وزن مولکولی (طول) پپتیدهای تولیدشده است. وزن مولکولی پپتیدها تحت تاثیر درجه آبکافت تغییر می‌کند و افزایش درجه آبکافت موجب تولید پپتیدهایی با وزن مولکولی کم می‌شود. پپتیدهایی با وزن مولکولی کم نمی‌توانند خواص امولسیفایری مطلوبی ارائه بکنند. اگرچه این پپتیدها سریعاً به طرف سطح مشترک دو فاز حرکت کرده و جذب این سطح می‌شوند اما اثر چندانی بر کاهش کشش سطحی میان این دو فاز ندارند زیرا فاقد توانایی تغییر جهت و بازآرایی در این سطح هستند [۳۳، ۱۳]. علاوه بر وزن مولکولی، خاصیت آمفیپاتیک پپتیدها نیز در میزان این دو شاخص موثر است. پپتیدهایی با وزن مولکولی کم، خواص آمفیپاتیک کافی برای ارائه ویژگی امولسیفایری مناسب را ندارند [۴].

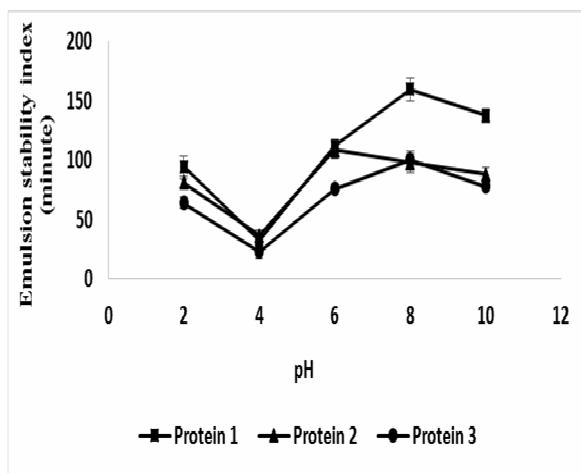


Fig 3 Emulsion stability index of protein hydrolysates by different pH values

ظرفیت جذب روغن

یکی دیگر از خواص کارکردی پروتئین‌های آبکافتی، ظرفیت جذب روغن آنهاست. از جمله عوامل موثر بر این شاخص، می‌توان به سطوح هیدروفوب (آبگریز) پروتئین‌های آبکافتی [۲۱]، چگالی توده‌ای پروتئین [۱۸]، درجه آبکافت [۳۵] و اختصاصات آنزیم-سوبسترا [۱۴] اشاره کرد. یکی دیگر از عوامل تاثیرگذار در ظرفیت جذب روغن پروتئین‌های آبکافتی،

pH نسبت به سایر pH ها، به طور معنی‌داری حداقل مقدار این دو شاخص را ارائه کردند ($p < 0.05$). نکته دیگر در مورد اثر pH بر این دو شاخص اینکه، هر سه پروتئین در $pH = 10$ نسبت به سایر pH ها به طور معناداری شاخص فعالیت امولسیفایری بالاتری داشتند ($p < 0.05$). این در حالیست که بیشینه مقدار شاخص پایداری امولسیون برای پروتئین‌های ۱ و ۳ به $pH = 8$ و برای پروتئین ۲ به $pH = 6$ اختصاص داشت. در پژوهشی که خواص عملکردی پروتئین آبکافتی تولیدشده از اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با آنزیم آلکالاز مورد بررسی قرار گرفت، حداکثر میزان شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون به ترتیب مربوط به $pH = 10$ و $pH = 8$ و همچنین کمینه مقدار دو شاخص مذکور به $pH = 4$ تعلق داشت [۴۰]. در تحقیق حاضر، به طور کلی با افزایش درجه آبکافت، (در pH های مورد بررسی) شاخص فعالیت امولسیفایری پروتئین آبکافتی کاهش یافته است (شکل ۲) با این توضیح که پروتئین‌های ۱ و ۲ در pH های ۴ و ۶ و همچنین پروتئین‌های ۲ و ۳ در $pH = 2$ از نظر این شاخص با هم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p > 0.05$).

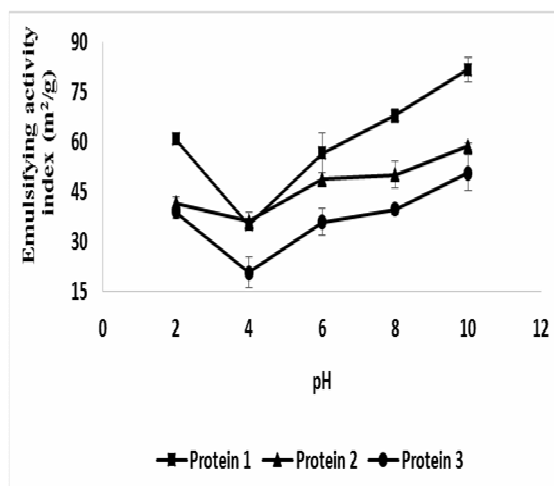


Fig 2 Emulsifying activity index of protein hydrolysates by different pH values

شاخص پایداری امولسیون نیز وضعیتی مشابه با شاخص فعالیت امولسیفایری داشت و با افزایش درجه آبکافت (در pH های مورد بررسی) روند کاهشی داشته است (شکل ۳). با این وجود که پروتئین‌های ۱ و ۲ در pH های ۴ و ۶، پروتئین‌های ۲ و ۳ در $pH = 8$ و پروتئین‌های ۱ و ۳ در $pH = 4$ از نظر این شاخص اختلاف قابل ملاحظه‌ای ارائه نکردند ($p > 0.05$). در پژوهشی که اثر درجه آبکافت بر خواص عملکردی پروتئین

پروتئین‌های ۱ و ۲ از این نظر معنی‌دار نبود ($p>0.05$). افزایش گروه‌های قطبی مانند COOH و NH_2 در طول فرایند آبکافت، اثر قابل توجهی بر میزان جذب آب پروتئین‌های آبکافتی دارند [۲۲]. پژوهشی که اثر درجه آبکافت بر ظرفیت نگهداری آب پروتئین آبکافتی تولیدشده از پوست ماهی علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) را مورد بررسی قرار داد، افزایش معنی‌دار ($p<0.05$) این ظرفیت را با افزایش درجه آبکافت گزارش کرد، به گونه‌ای که با افزایش درجه آبکافت از ۵/۰۲ به ۱۰/۴ و ۱۴/۹ درصد، ظرفیت نگهداری آب از $۰/۳ \pm ۰/۲$ به $۳/۸ \pm ۰/۲$ و $۴/۹ \pm ۰/۲$ میلی‌لیتر در گرم افزایش یافت [۴۱].

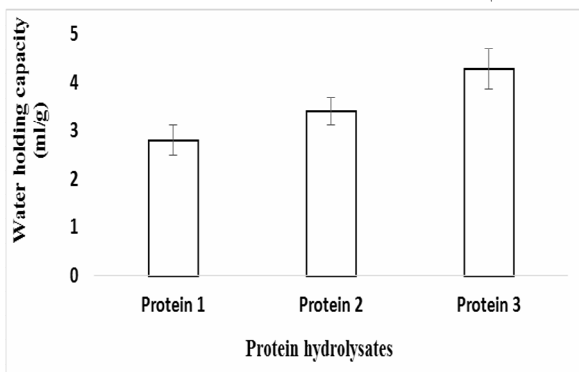


Fig 5 Water holding capacity of protein hydrolysates

قدرت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH

درجه آبکافت بر خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های آبکافتی نیز موثر است. به طور واضح‌تر می‌توان گفت که پروتئین‌های آبکافتی تولیدشده از یک سوپسترا با درجه آبکافت‌های متفاوت، خواص آنتی‌اکسیدانی مختلفی ارائه می‌کنند [۳۹،۲۳،۳]. در پژوهش حاضر نیز با تغییر درجه آبکافت، قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH پروتئین آبکافتی به طور معنی‌داری تغییر کرد و با افزایش درجه آبکافت کاهش یافت ($p<0.05$). به گونه‌ای که پروتئین ۱ بیشترین میزان این شاخص ($۳/۱۷ \pm ۸۷/۹۶$) را دارا بود (شکل ۶). این یافته با نتایج برخی از پژوهش‌های انجام‌شده [۱۶،۳،۲۳] مطابقت داشت. پژوهشی که رابطه بین درجه آبکافت و فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH پروتئین آبکافتی تهیه‌شده از احشای ماهی یال اسبی (*Trichiurus lepturus*) را مورد مطالعه قرار داد، روند افزایشی این قدرت را با افزایش درجه آبکافت گزارش کرد [۳۹]. نتایج پژوهش حاضر با یافته پژوهش مذکور مغایر بود.

ترکیب آمینواسیدی آنهاست. بدین ترتیب که هر چه غلظت (میزان) اسیدآمینوهای هیدروکسی‌پرولین^{۱۱}، آسپارتیک‌اسید^{۱۲}، گلوتامیک‌اسید^{۱۳}، لایزین^{۱۴} و آرژنین^{۱۵} در یک پروتئین آبکافتی بیشتر باشد، آن پروتئین میلی‌لیتر روغن بیشتری جذب خواهد کرد [۳۶]. در پژوهش حاضر اثر درجه آبکافت بر این ظرفیت بررسی شد و نتیجه اینکه با افزایش درجه آبکافت، این شاخص (در پروتئین آبکافتی) به طور معناداری ($p<0.05$) کاهش یافت (شکل ۴). این یافته، با نتایج سایر پژوهش‌ها [۲۰،۴۱] مطابقت داشت. کاهش ظرفیت جذب روغن با افزایش درجه آبکافت را می‌توان به دلیل کاهش اندازه پپتیدها، افزایش انعطاف‌پذیری و تجزیه هیدرولیتیکی پروتئین‌ها دانست [۳۵،۲۰]. در مطالعه‌ای که اثر درجه آبکافت بر ظرفیت جذب روغن پروتئین آبکافتی تهیه‌شده از ضایعات ماهی ساردین (*Sardinella aurita*) مورد ارزیابی قرار گرفت، رابطه‌ای (مستقیم یا معکوس) بین درجه آبکافت و این ظرفیت ثبت نشد و پروتئین‌ها با درجه آبکافت‌های ۶/۶۲، ۹/۳۱ و ۱۰/۱۶ درصد به ترتیب ظرفیت جذب روغنی معادل $۰/۳ \pm ۰/۹۱۱$ ، $۲/۱۹ \pm ۰/۵$ و $۱/۵۲ \pm ۰/۳$ میلی‌لیتر در گرم داشتند [۳۵].

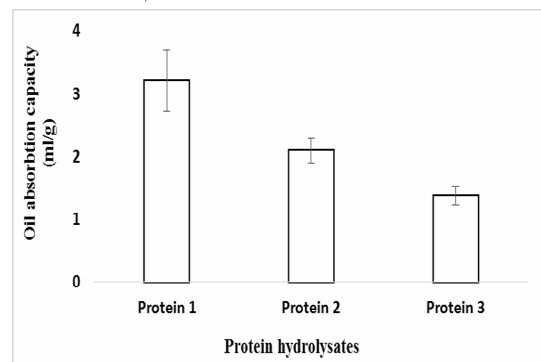


Fig 4 Oil absorption capacity of protein hydrolysates

ظرفیت نگهداری آب

ظرفیت نگهداری آب پروتئین، عبارت است از جذب آب و نگهداری آن در برابر نیروی گرانش در ماتریکس پروتئین [۷]. درجه آبکافت یکی از عوامل موثر در میزان این شاخص است. در پژوهش حاضر این امر به وضوح رویت شد (شکل ۵). بدین معنی که افزایش درجه آبکافت موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب پروتئین آبکافتی شد. گرچه، اختلاف بین

11. Hydroxyproline
12. Aspartic acid
13. Glutamic acid
14. Lysine
15. Arginine

فعالیت کلاته‌کنندگی فلزات

در پژوهش حاضر با افزایش درجه آبکافت، فعالیت کلاته‌کنندگی فلزات پروتئین آبکافتی به طور معنی‌داری افزایش یافت و پروتئین ۳ نسبت به دو پروتئین دیگر فعالیت کلاته‌کنندگی ($2/92\% \pm 92/06$) بالاتری داشت ($p < 0.05$). پروتئین‌های ۱ و ۲ ($p < 0.05$) به ترتیب در رده‌های بعدی قرار گرفتند (شکل ۸). این نتیجه با یافته‌های برخی از پژوهش‌ها [۲۳، ۳۹] مطابقت داشت. در پژوهشی که خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی تولیدشده از ضایعات ماهی آزاد (*Salmo salar*) با آنزیم تریپسین مورد بررسی قرار گرفت، افزایش درجه آبکافت موجب کاهش فعالیت کلاته‌کنندگی شد [۳]. نتیجه پژوهش حاضر معایر با این یافته است.

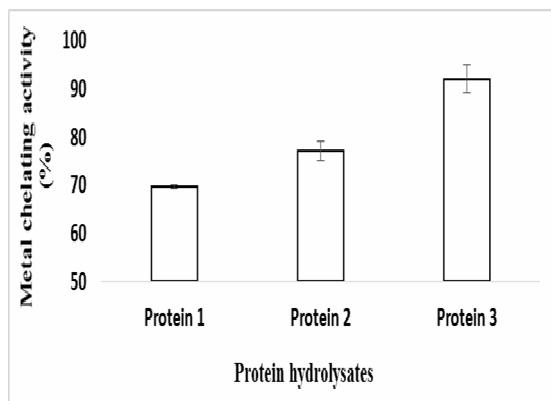


Fig 8 Metal chelating activity of fish protein hydrolysates

۴- نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که فریم و سر ماهی کپور معمولی یک منبع پروتئینی است و در صورت آبکافت آنزیمی، منجر به تولید پروتئینی با خواص عملکردی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مطلوب می‌گردد. همچنین مشخص شد که درجه آبکافت یکی از مهمترین فاکتورهای موثر بر خواص پروتئین‌های آبکافتی می‌باشد، به گونه‌ای که افزایش این پارامتر، به طور معنی‌داری بر خواص عملکردی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های تولیدشده موثر است.

۵- منابع

[1] Adler-Nissen, J. & Olsen, H. 1979. The influence of peptide chain length on taste and functional properties of enzymatically modified soy protein. In Food Chemistry

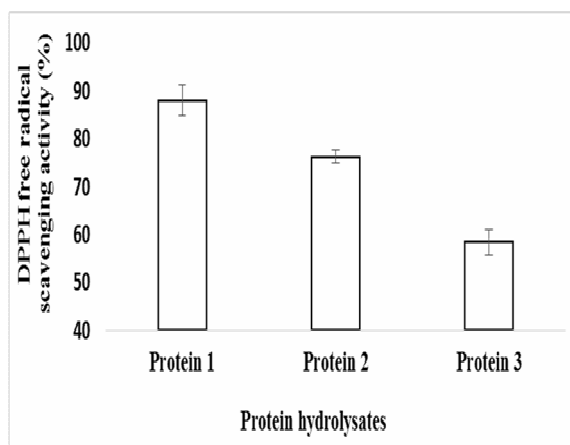


Fig 6 DPPH free radical scavenging activity of protein hydrolysates

قدرت کاهندگی یون فریک (Fe^{+3})

قدرت کاهندگی پروتئین‌های آبکافتی، شاخص آنتی‌اکسیدانی دیگریست که تحت تاثیر درجه آبکافت تغییر می‌کند [۲۳، ۳]. اما در پژوهش حاضر چنین وضعیتی وجود نداشت (شکل ۷) و سه پروتئین آبکافتی از نظر قدرت کاهندگی اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p > 0.05$). تحقیقی که اثر درجه آبکافت بر خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های آبکافتی تولیدشده از ماهی تراولی نوار زرد (*Selaroides leptolepis*) با استفاده از آلکالاز و فلاورزایم را مورد ارزیابی قرار داد، گزارش کرد که با افزایش درجه آبکافت، قدرت کاهندگی پروتئین آبکافتی تولیدشده با آلکالاز به طور معنی‌داری کاهش یافت اما این تغییر برای پروتئین آبکافتی تهیه‌شده با فلاورزایم ثبت نشد [۲۳]. در واقع قدرت کاهندگی پروتئین آبکافتی تولیدشده با فلاورزایم در درجه آبکافت‌های مختلف، اختلاف قابل ملاحظه‌ای نداشت و پژوهش حاضر از این جهت با تحقیق مذکور مطابقت دارد.

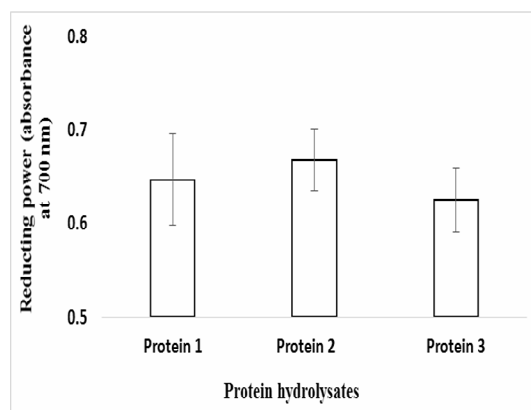


Fig 7 Reduction power of fish protein hydrolysates

- protease preparation. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 19, 489-498.
- [13] 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 science*, 69(8), C615-C622.
- [14] Haque, Z. U. (1993). Influence of milk peptides in determining the functionality of milk proteins: a review. *Journal of dairy science*, 76(1), 311-320.
- [15] Hoyle, N. T., & Merritt, J. O. H. N. (1994). Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*, 59(1), 76-79.
- [16] Jun, S. Y., Park, P. J., Jung, W. K., & Kim, S. K. (2004). Purification and characterization of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysate of yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein. *European Food Research and Technology*, 219(1), 20-26.
- [17] Jafarpuor, S., Hajidon, H., & Rezaei, M. (2013). Enhancement of quality Properties of common carp (*Cyprinus carpio*) surimi by addition of soy protein isolate.
- [18] Kinsella, J. E., & Melachouris, N. (1976). Functional properties of proteins in foods: a survey. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 7(3), 219-280.
- [19] Kunte, L. A., Gennadios, A., Cuppett, S. L., Hanna, M. A., & Weller, C. L. (1997). Cast films from soy protein isolates and fractions 1. *Cereal Chemistry*, 74(2), 115-118.
- Kristinsson, H. G. (1998). Reaction kinetics, biochemical and functional properties of salmon muscle proteins hydrolyzed by different alkaline proteases.
- [20] Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000a). Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. *Critical reviews in food science and nutrition*, 40(1), 43-81.
- [21] Kristinsson, H. G., & 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(3), 657-666.
- [22] Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., & Shahidi, F. (2007). Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the (A.Pour-El, ed.) American Chemical Society, Washington, DC.
- [2] AOAC International. (2005). Official methods of analysis of AOAC International. AOAC International.
- [3] Bakhshan, A., Alizade dughikalayi, A., & Taheri, A. (2014). Study of antioxidants properties of hydrolyzate from waste of Salmon (*Salmo salar*) in filleting process. *comparative pathobiology*, 11 (1), 1152-1143
- [4] Chobert, J. M., Bertrand-Harb, C., & Nicolas, M. G. (1988). Solubility and emulsifying properties of caseins and whey proteins modified enzymically by trypsin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(5), 883-892.
- [5] Decker, E. A., & Welch, B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(3), 674-677.
- [6] Dickison, E., & Lorient, D. (1994). Emulsions. In E. Dickinson & D.Lorient (Eds.), *Food macromolecules and colloids* (pp. 201-274). Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry.
- [7] Damodarn, S. (1996). Amino acids, peptides and proteins in food chemistry. 3rd ed., Fennema, O. R., Ed., Marcel Dekker Inc., New York.
- [8] Diniz, F. M., & Martin, A. M. (1997). Effects of the extent of enzymatic hydrolysis on functional properties of shark protein hydrolysate. *LWT-Food Science and Technology*, 30(3), 266-272.
- [9] Elyasi, A., Zakipour Rahim Abadi, E., Sahari, M. A., & Zare, P. (2010). Chemical and microbial changes of fish fingers made from mince and surimi of common Carp (*Cyprinus carpio* L., 1758). *International Food Research Journal*, 17(4).
- [10] Elavarasan, K., Naveen Kumar, V., & Shamasundar, B. A. (2014). Antioxidant and functional properties of fish protein hydrolysates from fresh water carp (*Catla catla*) as influenced by the nature of enzyme. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 1207-1214.
- [11] Gauthier, S. F., Paquin, P., Pouliot, Y., & Turgeon, S. (1993). Surface activity and related functional properties of peptides obtained from whey proteins. *Journal of Dairy Science*, 76(1), 321-328.
- [12] Guerard, F., Guimas, L., & Binet, A. (2002). Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral

- peptides adsorbed at the interface. *Food/Nahrung*, 44(2), 89-95.
- [33] Shahidi, F., Han, X. Q., & Synowiecki, J. (1995). Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food chemistry*, 53(3), 285-293.
- [34] 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.
- [35] Šližytė, R., Mozuraitytė, R., Martinez-Alvarez, O., Falch, E., Fouchereau-Peron, M., & Rustad, T. (2009). Functional, bioactive and antioxidative properties of hydrolysates obtained from cod (*Gadus morhua*) backbones. *Process Biochemistry*, 44(6), 668-677.
- [36] Safari, R., Motamedzadegan, A., Ovissipour, M., Regenstein, J. M., Gildberg, A., & Rasco, B. (2012). Use of hydrolysates from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) heads as a complex nitrogen source for lactic acid bacteria. *Food and Bioprocess Technology*, 5(1), 73-79.
- [37] Tsumura, K., Saito, T., Tsuge, K., Ashida, H., Kugimiya, W., & Inouye, K. (2005). Functional properties of soy protein hydrolysates obtained by selective proteolysis. *LWT-Food Science and Technology*, 38(3), 255-261.
- [38] Taheri, A., Bitar, S. (2010). Antioxidant properties of protein hydrolysates horse mane fish (*Trichiurus lepturus*) viscera by application protamex enzyme. Research projects maritime University of Chabahar No. 1632/48
- [39] Taheri, A., Anvar, S. A. A., Ahari, H., & Fogliano, V. (2012). Comparison the functional properties of protein Hydrolysates from poultry byproducts and rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) viscera. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(1), 154-169.
- [40] Wasswa, J., Tang, J., Gu, X. H., & Yuan, X. Q. (2007). Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chemistry*, 104(4), 1698-1704.
- [41] Yen, G. C., & Wu, J. Y. (1999). Antioxidant and radical scavenging properties of extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry*, 65(3), 375-37.
- degree of hydrolysis and enzyme type. *Food chemistry*, 102(4), 1317-1327.
- [23] Layne, E. (1957). Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. *Methods in enzymology*, 3, 447-454.
- [24] Liasset, B., Nortvedt, R., Lied, E., & Espe, M. (2002). Studies on the nitrogen recovery in enzymic hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) frames by Protamex™ protease. *Process Biochemistry*, 37(11), 1263-1269.
- [25] Mahmoud, M. I. (1994). Physicochemical and functional properties of protein hydrolysates in nutritional products. *Food Technology*, 48(10), 89-95.
- [26] Mutilangi, W. A. M., Panyam, D., & Kilara, A. (1996). Functional properties of hydrolysates from proteolysis of heat-denatured whey protein isolate. *Journal of Food Science*, 61(2), 270-275.
- [27] Oyaiza, M. (1986). Studies on products of browning reaction: Antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Journal of nutrition*. 44, 307-315.
- [28] Ovissipour, M., Ghomi, M., R. (2008). Marine biotechnology production, Publishers of Islamic Azad university- tonkabon unit, 37-104
- [29] Ovissipour, M., Abedian, A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R., & Shahidi, H. (2009). The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. *Food Chemistry*, 115(1), 238-242.
- [30] Ovissipour, M., Abedian, A., Motamedzadegan, A., Nazari, R. (2010). study of properties of hydrolysate from yellow fin tuna (*Thunnus albacares*) using commercial enzymes. *Journal of Food Science and Technology*. 6 (1), 68 - 76
- [31] Pacheco-Aguilar, R., Mazorra-Manzano, M. A., & Ramírez-Suárez, J. C. (2008). Functional properties of fish protein hydrolysates from Pacific whiting (*Merluccius productus*) muscle produced by a commercial protease. *Food Chemistry*, 109(4), 782-789.
- [32] Rahali, V., Chobert, J. M., Haertle, T., & Gueguen, J. (2000). Emulsification of chemical and enzymatic hydrolysates of β -lactoglobulin: characterization of the

Effects of degree of hydrolysis on functional properties and antioxidants activity of hydrolysate from head and frame of common carp (*Cyprinus carpio*) fish

Reyhani Poul, S.¹, Jafarpour, A.^{2*}

1. M.Sc of fisheries processing products, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

2. Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

(Received: 2016/02/16 Accepted: 2016/12/20)

The purpose of current study was to determine the effects of degree of hydrolysis (DH) on functional properties and antioxidants activity of hydrolysate from head and frame of common carp (*Cyprinus carpio*) fish. For this purpose, the head and frame of common carp was hydrolyzed by application of Neutrase Enzyme (0.8 L) during one, two and three hours. Accordingly, three types of hydrolysates with different degree of hydrolysis were obtained as $10.43 \pm 2.32\%$ (protein 1), $17.09 \pm 1.71\%$ (protein 2) and $21.45 \pm 1.04\%$ (protein 3). In this study, most of proteins properties were affected by the degree of hydrolysis, significantly. Apart from pH 2, as the DH was increased, the protein solubility was increased also, ($p < 0.05$). The highest water holding capacity was recorded at protein 3 (4.29 ± 0.42 ml/g protein) ($p < 0.05$), however no differences was observed between protein 1 and protein 2. Conversely, other functional properties such as emulsifying activity and emulsion stability index, oil absorption capacity were decreased as the DH was increased. In terms of antioxidants activity index, 1,1-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity decreased with DH increased ($p < 0.05$) and highest amount of this index recorded for protein 1 ($87.96 \pm 3.17\%$), whereas the degree of hydrolysis did not influenced the reducing power of three protein types, significantly ($p > 0.05$). Chelating activity showed a direct relationship with the degree of hydrolysis and the highest one as $92.06 \pm 2.92\%$ was recorded for protein 3 ($p < 0.05$).

Key words: Enzymatic hydrolysis, Neutrase, Common carp, Degree of hydrolysis, Properties of protein hydrolysates.

*Corresponding Author E-Mail Address: a.jafarpour@sanru.ac.ir