



مروری بر پروتئین هیدرولیز شده‌ی حاصل از ضایعات آبزیان: روش‌های تولید، کاربردها و خواص زیستی آن

کبری ضیایی^۱، سید ولی حسینی^{۲*}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، گروه شیلات، دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ایران، کرج
۲- دانشیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ایران، کرج

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله:

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۲/۲۱

تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۲/۲۸

کلمات کلیدی:

ضایعات،

زیست فعال،

پروتئین هیدرولیز شده،

خواص عملکردی.

DOI: 10.52547/fsct.18.02.30

*مسئول مکاتبات:

hosseini.seyedvali@gmail.com

محصولات صید شده از دریا هم جهت مصارف انسانی و هم غیر انسانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. هر ساله میزان زیادی از این محصولات بعد از صید به طرق مختلف عمل‌آوری می‌شوند که بعد از آن بیش از ۵۰ درصد از آنها به عنوان ضایعات محسوب می‌شوند و غیر قابل مصرف هستند. ضایعات حاصل از غذاهای دریایی مانند سر، دم، پوست، استخوان و امعا و احشا، را می‌توان با ارزش افزودن به آنها و تولید محصولاتی مانند پودر ماهی، سس ماهی، سیلاژ ماهی و پروتئین هیدرولیز شده هم برای مصارف انسانی و هم حیوانی مورد استفاده قرار داد. ضایعات منابع ارزشمندی از مواد زیست فعال هستند و فرآورده‌های حاصل از آنها قابلیت استفاده در زمینه‌های مختلف دارویی، صنایع غذایی و آرایشی-بهداشتی را دارند. پروتئین هیدرولیز شده‌ی ماهی (FPH) نیز فرآورده‌ی حاصل از هیدرولیز پروتئین ماهی می‌باشد که امروزه تولید آن از ضایعات ماهی، از سویی جهت کاهش ضایعات و کمک به حفظ محیط زیست و از سویی دیگر به جهت برخوردار بودن از خواص عملکردی و زیست فعالی فوق‌العاده، مورد توجه قرار گرفته است. بنابراین هدف از مطالعه‌ی حاضر معرفی این محصول، انواع کاربردها و چالش‌های پیش‌روی آن می‌باشد.

۱- مقدمه

حاصل از محصولات دریایی را مورد استفاده قرار داد: (۱) بهینه‌سازی مصرف پروتئین با استفاده از فراوری سنتی ماهیان (۲) تولید موادی شبه سوریمی از ماهیان و محصولات جانبی (۳) تولید پروتئین و پپتیدهای خاص از ماهیان و محصولات جانبی آنها [۱۱]. در سال‌های اخیر مطالعات زیادی درباره‌ی تولید پپتیدهای پروتئینی (هیدرولایزها) از منابع دریایی، به دلیل پتانسیل قابل توجه آنها برای محصولات غذایی تجاری، صورت گرفته است [۹]. بنابراین هیدرولیز پروتئین ماهی یک استراتژی مناسب و اقتصادی جهت دستیابی به محصولات با ارزش و ارتقا یافته هم از نظر کیفیت و هم از نظر کمیت می‌باشد [۴].

ارزش غذایی بالای محصولات دریایی و همچنین نیاز روز افزون جهان به تامین غذا از منابع مختلف به دلیل افزایش جمعیت، موجب توجه هر چه بیشتر به منابع دریایی شده است. مصرف این منابع به دلیل فساد پذیری بالا و بازده کم با تولید ضایعات وسیعی همراه است که به دلیل دارا بودن ترکیبات ارزشمندی از قبیل پروتئین مورد توجه قرار گرفته‌اند و پژوهشگران در تلاشند تا آن‌ها را بازیابی و مورد استفاده قرار دهند. یکی از مفیدترین و مهم‌ترین محصول فرآوری شده از ضایعات پروتئین هیدرولیز شده می‌باشد. با توجه به کاربردهای پروتئین هیدرولیز شده در زمینه‌های مختلف، پژوهش حاضر به معرفی این محصول و انواع کاربردهای آن پرداخته است.

۲- پروتئین هیدرولیز شده

به طور کلی هیدرولیز پروتئین‌ها را می‌توان شکسته شدن پروتئین‌ها به اندازه‌های متفاوت از طریق دو روش شیمیایی یا آنزیمی دانست. هیدرولیز پروتئین‌ها بویژه پروتئین‌های گیاهی و شیر از زمان‌های گذشته مورد مطالعه قرار می‌گرفت لذا هیدرولیز پروتئین‌های محصولات غذایی تاریخچه‌ی طولانی دارد. در اواخر سال ۱۹۴۰ اولین پروتئین هیدرولیز شده تجاری، تولید شد [۳] و بیشترین تحقیقات انجام شده روی پروتئین هیدرولیز شده ماهی در دهه‌ی ۱۹۶۰ صورت گرفت [۱۲]. بافت عضله‌ای ماهی غنی از پروتئین و اسید آمینه‌هایی با قابلیت هضم بالا می‌باشد که علاوه بر این دارای مواد مغذی بیشتر و توالی اسید آمینه‌ای متعادل‌تری نسبت به سایر منابع از

امروزه منابع غذایی، مانند محصولات غذایی دریایی از ارزش غذایی بالایی برخوردارند و به جهت تامین نیازهای مورد نیاز انسان و دارا بودن پروتئین‌های قابل هضم و چربی‌های مفید، حائز اهمیت می‌باشند [۱]. سازمان غذا و کشاورزی (FAO) در تعریفی، غذاهای دریایی را یک گروه از حیوانات خوراکی می‌داند که متنوع‌اند و در سراسر جهان به عنوان غذا شناخته و مصرف می‌شوند و شامل ماهیان آب شیرین، نرم‌تنان، سخت‌پوستان، ماهیان آب شور، جانوران دریایی دیگر (قورباغه و لاک‌پشت) و جلبک‌های خوراکی می‌باشند. مصرف سرانه جهانی آبزیان از میزان ۹/۹ کیلوگرم در سال ۱۹۶۰ به ۱۹/۷ کیلوگرم در سال ۲۰۱۳ افزایش یافته است [۲]. با توجه به افزایش تقاضا برای غذاهای دریایی در سالهای اخیر، میزان استفاده غذایی از آبزیان بسیار زیاد شده است. هر ساله محصولاتتی که از دریا صید می‌شوند به فرآورده‌های مختلفی عمل‌آوری می‌شوند [۳] که با فراوری غذاهای دریایی تنها ۲۰ تا ۵۰ درصد از آنها به عنوان بخش خوراکی بازیابی می‌شود و حدود ۵۰ تا ۸۰ درصد آن به صورت مواد دورریز و غیر خوراکی است [۵،۴]. این ضایعات مختلف فراوری حدود ۲۵ درصد از تولیدات، و تقریباً ۲۱/۷۲ میلیون تن تخمین زده می‌شود [۶] و شامل قسمت‌های غیر خوراکی از جمله سر، پوست، امعا و احشا و ماهیان غیر قابل مصرف می‌باشند [۷،۵]. این حجم از ضایعات منجر به ایجاد آلودگی‌ها و مشکلات جدی هم در کشورهای توسعه یافته و هم در کشورهای در حال توسعه می‌گردد [۸] و در صورت باقی ماندن در محیط زیست می‌توانند مشکلاتی زیست محیطی فراوانی را ایجاد کنند بنابراین دفع آنها یکی از مهمترین مشکلات اساسی صنعت فراوری می‌باشد [۹]. در برخی از کشورها مانند استرالیا دفع ضایعات غذاهای دریایی یک فرآیند پرهزینه است ولی در بسیاری از نقاط جهان این مواد مورد استفاده قرار می‌گیرند و از آنها در تولید محصولاتتی با ارزش افزوده بالا استفاده می‌کنند [۵،۹]. این ضایعات غنی از مواد ارزشمندی مانند پروتئین و آمینواسیدهای ضروری می‌باشند که برای تهیه‌ی محصولاتتی با ارزش افزوده بالا مانند پروتئین، مواد خام مناسبی محسوب می‌شوند [۱۰،۴]. به طور کلی از سه روش می‌توان پروتئین

و سریع بودن اشاره کرد که منجر به قابل اجرا بودن آن در سطح صنعتی می‌گردد [۱۷] و از معایب آن می‌توان، تولید محصولات مضر را نام برد زیرا هیدرولیز اسیدی پروتئین روی ماتریکس غذا و در نتیجه سایر ترکیبات آن اثر منفی دارد و منجر به تولید محصولات مضر می‌گردد [۱۸]. در این روش بعضی از اسیدهای آمینه از جمله تریپتوفان [۱۹]، متیونین و سیستئین تخریب می‌گردد و همچنین آسپاراژین و گلوتامین به اسیدآسپارتیک و گلوتامیک اسید تبدیل می‌شود و محصول تولیدی، به دلیل اینکه بعد از خنثی سازی نمک تشکیل می‌دهد دارای خواص کاربردی ضعیفی می‌باشد بنابراین برای تولید کود، مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۷]. Scheffler و Tsugita (۱۹۸۲) جهت تولید هیدرولیز پروتئین به روش اسیدی، مخلوطی از اسیدهای هیدروکلریک اسید و تری‌فلورو استیک اسید با نسبت ۲:۱ را در دمای ۱۶۶ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۵ دقیقه مورد استفاده قرار دادند و طبق نتایج آنها در این روش، مقداری از اسید آمینه‌ی تریپتوفان از بین می‌رود [۲۰].

در هیدرولیز به روش قلیایی موادی مانند سدیم هیدروکسید (NaOH) مورد استفاده قرار می‌گیرد که منجر به کاهش کاربردها و قابلیت‌های محصول نهایی می‌شود و همچنین بر ارزش غذایی آن نیز تاثیر سوئی دارد. در فرآیند هیدرولیز قلیایی پروتئین به پلی‌پپتیدهای بزرگ و محلول در آب تبدیل می‌شود که ابتدا سرعت شکستن پروتئین زیاد می‌باشد ولی با ادامه واکنش سرعت روند هیدرولیز کاهش می‌یابد. این روش همانند هیدرولیز اسیدی دارای معایبی می‌باشد که از این جمله می‌توان به واکنش‌های مضر که در طول هیدرولیز رخ می‌دهد اشاره کرد [۳]. هیدرولیز قلیایی نیز مانند هیدرولیز اسیدی بر روی اسیدهای آمینه مانند سیستئین، آرژنین، ترئونین، سرین [۱۷]، ایزولوسین و لیزین تاثیر گذاشته و محتوای این اسیدهای آمینه را کاهش می‌دهد و همچنین آمینواسیدهایی مانند لیزینوآلانین یا لانتیونین به صورت غیر معمولی باقی می‌مانند [۱۸].

۳-۲- روش‌های بیوشیمیایی

در روش بیوشیمیایی، هیدرولیز به وسیله‌ی آنزیم‌هایی که پیوندهای پپتیدی را می‌شکنند انجام می‌گیرد. این هیدرولیز با اضافه کردن آنزیم‌های مختلفی از جمله، آنزیم‌های پروتئولیتیک

جمله منابع گیاهی می‌باشد [۳]. پروتئین هیدرولیز شده‌ی ماهی یک محصول هیدرولیزی می‌باشد که در آن پیوندهای پپتیدی شکسته و پپتیدها و آمینواسیدهای آزاد تولید می‌شود که جذب آن‌ها نیز آسان‌تر می‌باشد [۱۳]. یکی از مهم‌ترین منابع مورد استفاده جهت تولید پروتئین هیدرولیز شده از آبزیان از جمله ماهی، استفاده از عضلات (گوشت) آن می‌باشد [۹]، البته استفاده از عضلات تیره ماهی جهت استخراج پروتئین به دلیل اکسیداسیون چربی موجود در آن باعث کاهش بازار پسنندی و عدم پذیرش آن می‌شود [۱۴]. بهترین بازده تولید پروتئین هیدرولیز شده از گوشت ماهی در مقادیر بالا، زمانی است که ضایعات (سر، باله، امعا و احشاء، اسکلت، تخم ماهی و...) و پوست ماهی که جز مواد دوریز اما غنی از پروتئین هستند نیز، مورد استفاده قرار داد [۱۵]. در بازیابی و هیدرولیز پروتئین از محصولات دریایی و ضایعات حاصل از آنها از فرآیندهای مختلفی استفاده می‌کنند [۱۶]. به طور کلی برای استخراج پروتئین از دو روش شیمیایی و بیوشیمیایی استفاده می‌شود که روش‌های شیمیایی، بیشتر در صنعت مورد استفاده قرار می‌دهند [۳].

۳- روش‌های تولید پروتئین هیدرولیز

شده

۳-۱- روش‌های شیمیایی

هیدرولیز پروتئین‌ها را می‌توان به روش‌های مختلف اسیدی (هیدرولیز اسیدی) و قلیایی (هیدرولیز قلیایی) در درجه حرارت‌های بالا انجام داد. هیدرولیز پروتئین در pHهای بسیار بالا و پایین منجر به کاهش کیفیت و بازده محصول می‌شود که در این صورت تنها به عنوان طعم‌دهنده مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۶].

هیدرولیز اسیدی ماهی شامل واکنش پروتئین ماهی با هیدروکلریک اسید (HCl) و یا سولفوریک اسید (H_2SO_4) تحت دما و فشار بالا می‌باشد که با وجود سخت‌تر بودن فرآیند و کنترل آن، بیشتر از هیدرولیز قلیایی و همچنین بیشتر برای هیدرولیز پروتئین‌های گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳]. از مزایای این هیدرولیز می‌توان به کم هزینه، ساده

کاتپسین: کاتپسین B (EC 3. 4.22.1) و کاتپسین L (EC 3.4.22.15) از سیستمین پروتئازهای لیزوزمی اسیدی هستند که ترکیبات تیولی، منجر به فعال شدن آنها می‌گردد و نقش مهمی در کاتابولیسم و اتولیز عضله ماهی دارند [۲۳].

سرین پروتئازها: سرین پروتئازها (EC 3.4.21) پروتئازهای فلیایی مقاوم به حرارت هستند که جزء پروتئین‌های سارکوپلاسمی محسوب می‌شوند.

کلاژناز: کلاژنازها (EC 3.4.24.7) متالو پروتئازهایی هستند که در عضلات اسکلتی وجود دارند و کلاژن مارپیچ سه‌گانه را مورد حمله قرار می‌دهد [۲۲].

کالپینس‌ها: این آنزیم‌ها (EC 3.4.22.17) سیستمین اندوژناز فعال‌کننده‌ی Ca^{2+} در سارکوپلاسم ماهیچه‌ای هستند که پروتئین‌ها را در مکان‌هایی خاص می‌شکند و در نتیجه دارای پروتئولیز محدودی می‌باشند [۲۴].

۳-۲-۲- هیدرولیز اتولیتیک

تولید بیوشیمیایی پروتئین هیدرولیز شده از طریق هیدرولیز اتولیتیک امکان‌پذیر، و وابسته به فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌باشد [۳]. یکی از مهمترین موارد در تولید پروتئین هیدرولیز شده انتخاب نوع آنزیم می‌باشد. یکی از منابعی که به این منظور مورد استفاده قرار می‌گیرد، آنزیم‌های پروتئولیتیک موجود در خود ماهی می‌باشند که محصولات حاصل از این فرآیند اتولیتیک برای غذای حیوانی و کود مورد استفاده قرار می‌گیرند البته بعضی از این محصولات از جمله سس ماهی [۱۶]، سیلاژ ماهی [۲۵] و کارتنوپروتئین‌های استخراجی، دارای مصارف انسانی نیز می‌باشند [۲۶]. از گذشته تا کنون برای تهیه‌ی هیدرولیزهای ماهی مانند سیلاژ و سس ماهی از آنزیم‌های اندوژناز استفاده می‌کنند [۲۵] این روش برای تکمیل، نیاز به زمان طولانی دارد و بسته به درجه حرارت، درجه هیدرولیز آن بین ۲۰ تا ۷۰ درصد متغیر است [۲۷].

اتولیز با استفاده از آنزیم‌های درونی موجود در عضله و یا امعاء و احشا ماهی باعث شکسته شدن ملکول‌های زیستی مانند پروتئین به پپتیدهای کوچکتر و تولید بخش‌های محلول و نامحلول می‌شود [۹]. فعالیت این آنزیم‌ها به عوامل مختلفی مانند شرایط فیزیولوژیکی ماهی و نوع روش عمل‌آوری بستگی دارد. از مزیت‌های این روش می‌توان کم هزینه بودن آنزیم‌های

موجود در در امعاء و احشاء و عضله ماهی (پروتئازهای اندوژناز) و آنزیم‌های استخراج شده از منابع مختلف گیاهی، جانوری و میکروبی، انجام می‌گیرد [۳]. در این مورد قبل از معرفی روش‌های بیوشیمیایی لازم است که ابتدا به معرفی آنزیم‌ها و ماهیت آنها بپردازیم.

۳-۲-۱- آنزیم‌های پروتئولیتیک

آنزیم‌ها کاتالیزورهای آلی هستند که باعث آغاز و یا تسریع واکنش‌های شیمیایی می‌شوند و یک یا چند نوع ترکیب آلی را به تولیدات آلی تبدیل می‌نمایند که در غیر این صورت این واکنش‌ها به کندی ادامه می‌یابند [۲۱]. به طور کلی آنزیم‌ها به ۶ دسته تقسیم‌بندی می‌شوند که عبارتند از:

۱) اکسیدوردواکتازها: آنزیم‌هایی هستند که واکنش‌های اکسیداسیون و احیا را کاتالیز می‌کند. ۲) ترانسفرازها: آنزیم‌هایی که انتقال گروه‌های عاملی را کاتالیز می‌کنند. ۳) هیدرولازها: این آنزیم‌ها هیدرولیز مواد اولیه‌ی مختلف را انجام می‌دهند. ۴) لیازها: آنزیم‌هایی که علاوه بر ازبین بردن و حذف آب، آمونیاک و دی‌اکسید کربن را نیز کاتالیز می‌کند. ۵) ایزومراز: آنزیم‌هایی که باعث کاتالیز واکنش‌های ایزومریزاسیون می‌شوند. ۶) لیگازها: آنزیم‌هایی که واکنش‌هایی را که در آن دو ملکول به هم پیوسته‌اند و ATP استفاده کرده‌اند، را کاتالیز می‌کند [۱۳].

هیدرولازها از عمده آنزیم‌هایی می‌باشند که در صنعت غذا مورد استفاده قرار می‌گیرند و کربوهیدرازها، پروتئازها و لیپازها را شامل می‌شوند. پروتئازها از جمله آنزیم‌هایی می‌باشند که علاوه بر استفاده در زمینه‌ی صنایع غذایی، از نظر اقتصادی نیز حائز اهمیت می‌باشند و در صنایع مختلفی مورد استفاده قرار می‌گیرند. پروتئازها با توجه به مکانیسم عمل و هیدرولیز پیوندهای پپتیدی، به دو دسته اندوپروتئیناز^۱ و اگزو پروتئیناز^۲ تقسیم می‌شوند [۳]. بافت ماهی دارای آنزیم‌های پروتئولیتیک اندوژناز است که باعث تغییراتی در بافت و نرم شدن آن می‌شود و ۴ گروه کاتپسین^۳، سرین پروتئازها^۴، کلاژنازها^۵ و کالپینس‌ها^۶ را شامل می‌شود [۲۲].

1. Endoproteinase
2. Exoproteinase
3. Cathepsins
4. Serine protease
5. Collagenase
6. Calpains

می‌شوند و هر کدام فعالیت‌های مختلفی دارند [۳۲] و در نهایت محصولات مختلفی نیز از آنها تولید می‌شود [۱۶]. ها و همکاران (۲۰۱۳) از دو آنزیم گیاهی حاصل از کیوی و مارچوبه را برای هیدرولیز سوبسترای تجاری در دسترس و پروتئین موجود در بافت همبند گوشت استفاده کردند که طبق نتایج آنها پروتئاز استخراجی از کیوی تاثیر بیشتری در مقایسه با مارچوبه در هیدرولیز میوفیبریل و پروتئین‌های کلاژن داشت این دو عصاره پروتئین کلاژن و میوفیبریل گوشت را هدف قرار می‌دهد و اثر هم‌افزایی دارند و بر اساس ترکیب پروتئین تردی گوشت را نیز بهبود می‌بخشند [۳۳].

آنزیم‌ها با منشا میکروبی به دلیل فعالیت‌های کاتالیتیکی متنوع و پایداری بیشتر در دما و pH [۳۲] و آنزیم‌های گیاهی، مزایای بیشتری نسبت به آنزیم‌های جانوری دارند. پروتئازهای میکروبی بالاترین فعالیت پروتئولیتیکی را دارند لذا بیشتر برای هیدرولیز ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳۴]. در آنزیم‌ها با منشا میکروبی باید به این نکته توجه داشت که ارگانسیم مورد استفاده غیر بیماری‌زا باشد و همچنین کارایی اقتصادی آن نیز باید مورد توجه قرار گیرد [۳].

pH بهینه‌ی فعالیت پروتئازها نیز بر محصول نهایی موثر می‌باشد. پروتئازهای اسیدی بازده تولید کمی دارند [۱۷] و همچنین کیفیت محصول نهایی نیز کاهش می‌یابد [۱۶] بنابراین آنزیم‌های خنثی و قلیایی کیفیت بهتری از پروتئین‌های هیدرولیز شده را ارائه می‌دهند [۳].

بعد از انتخاب آنزیم و اضافه کردن آن به سوبسترای مورد نظر، سوبسترا خیلی سریع با پروتئین واکنش می‌دهد. واکنش بین آنزیم و سوبسترا به دلیل شکستن پیوندهای پپتیدی و شکل‌گیری گروه‌های کربوکسیلی و آمینی جدید باعث تغییراتی در pH می‌شود. در برخی از موارد برای تعدیل pH، از محلول بافری استفاده می‌کنند در حالی که وجود نمک در محلول بافری بر برخی از خواص عملکردی مانند امولسیون و کف‌زایی موثر می‌باشد [۱۷]. بعد از مدتی از اضافه کردن آنزیم،

مورد استفاده جهت هیدرولیز، فعالیت بهینه‌ی این آنزیم‌ها در درجه حرارت‌های پایین، و در نتیجه، کاهش رشد میکروبی را نام برد. از مشکلات اساسی استفاده از آنزیم‌های درونی ماهی می‌توان کنترل خیلی کم آن، به دلیل حضور آنزیم‌ها با سطوح فعالیتی متفاوت و همچنین بازیابی کمتر پروتئین نسبت به آنزیم‌های تجاری [۱۶] و عدم تکرارپذیری [۲۵] اشاره کرد.

۳-۲-۳- هیدرولیز آنزیمی با اضافه کردن آنزیم

جهت هیدرولیز و بازیابی پروتئین و ترکیبات زیست فعال از ماهی و ضایعات آن روش‌هایی مانند اتولیز، هیدرولیز حرارتی و هیدرولیز آنزیمی مورد استفاده قرار می‌گیرند و رایج‌ترین روش، هیدرولیز آنزیمی می‌باشد [۹] که به منظور بهبود خواص عملکردی پروتئین به طور گسترده مورد توجه قرار گرفته است [۲۹]. در پروتئین هیدرولیز شده با آنزیم، پروتئین به پپتیدهای کوچکتر تبدیل می‌شود. به طور کلی پروتئین هیدرولیز شده، به قطعات کوچک پپتیدی حاوی ۲ تا ۲۰ آمینواسید گفته می‌شود که توسط آنزیم تجزیه و به پروتئین‌هایی سالم با اندازه‌ی کوچک تبدیل می‌شوند [۱۴] و این خواص عملکردی به پپتیدهایی که در طول هیدرولیز تولید می‌شوند، نسبت داده می‌شود [۳۰].

کیفیت محصول نهایی تولید شده به عوامل مختلفی بستگی دارد که یکی از این عوامل ماده‌ی خام مورد استفاده می‌باشد. به طور کلی ماده‌ی خامی که دارای چربی و پراکسیدان‌های بالایی (مثل پروتئین‌های هم) باشد تمایل به اکسید شدن دارد و منجر به ایجاد مشکلاتی در رنگ و طعم محصول می‌شود. همچنین ماده‌ی خام باید عاری از هرگونه مواد زائدی مثل استخوان باشد [۱۶]. علاوه بر ماده‌ی اولیه، نوع آنزیم نیز حائز اهمیت می‌باشد در این روش از آنزیم‌های متعددی مانند آلکالاز، برومیلین، نوتراز، پیسین، تریپسین، پاپائین [۳۱]، فلاورزیم [۲۹]، کیموتریپسین، پروناز، پروتامکس، سریوتین F، پروتئاز N، پروتئاز A، ترمولیزین و والیداز استفاده می‌گردد [۹] که از منابع مختلف گیاهی، جانوری و میکروارگانسیم‌ها استخراج

سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه انجام می‌شود [۳۰] که بسته به نوع آنزیم مصرفی، دما و pH انجام واکنش نیز متفاوت می‌باشد چون هر آنزیم دارای دما و pH بهینه‌ای است و در مقادیر بالاتر از آن دناتوره شده و غیر فعال می‌گردد به طور مثال Shahidi و همکاران برای این مرحله دمای ۸۵ درجه و مدت زمان ۱۰ دقیقه را ارائه دادند [۱۶].

شکل زیر شمایی کلی از فرآیند هیدرولیز آنزیمی را نشان می‌دهد:

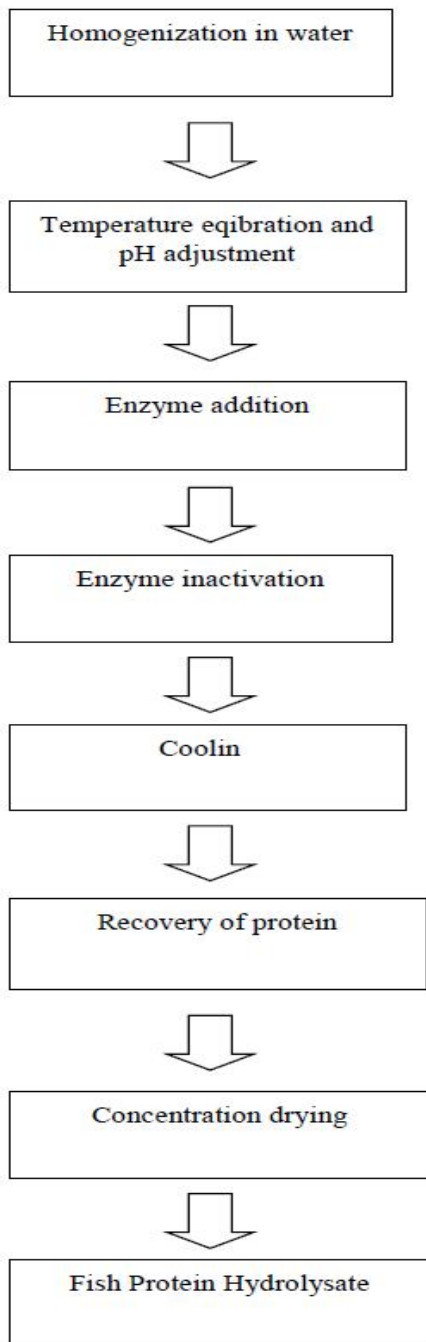


Fig 1 Standard process to produce fish protein hydrolysate[30]

هیدرولیز با سرعت کندتری رخ می‌دهد و در نهایت واکنش به حداکثر سطح هیدرولیز می‌رسد. میزان هیدرولیز را با روش‌های مختلفی محاسبه می‌کنند که یکی از این روش‌ها، اندازه‌گیری درجه هیدرولیز (DH%) است که از طریق حجم و مولاریته‌ی اسید و باز مورد استفاده جهت تنظیم pH، محاسبه می‌گردد [۱۶] و برابر است با تعداد پیوندهای پپتیدی شکسته شده (h) به تعداد کل پیوندها در واحد وزن (h_{tot}) و هرچه مقدار درجه هیدرولیز بیشتر باشد بازایی پروتئین هم بیشتر می‌شود [۳].

لی یو و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی خواص ساختاری و عملکردی پروتئین هیدرولیز شده‌ی حاصل از ضایعات سوریمی، با آنزیم‌های پروتامکس و آلکالاز و درجه هیدرولیزهای مختلف نتیجه گرفتند که با افزایش DH پتانسیل زتا هم افزایش می‌یابد. هیدرولایزها با DH ۱۰ درصد که به وسیله‌ی آنزیم پروتامکس بدست آمده‌اند حاوی ملکول‌های بزرگ پروتئین هستند و بهترین خواص سطحی را در بین تمامی نمونه‌ها داشتند به طور کلی طبق نتایج آنها ساختار و عملکرد پروتئین‌های تولید شده توسط DH و نوع آنزیم بکار برده شده تعیین می‌شود [۳۵].

جهت محاسبه‌ی درجه هیدرولیز روش‌های مختلفی ارائه گردید:

$$\%DH = (h/h_{tot}) \times 100$$

و یا از طریق فرمول زیر محاسبه می‌شود

$$DH\% = \frac{B \cdot N_B}{a \cdot h_{tot} \cdot MP}$$

که در آن B: اسید یا باز مصرفی (ml)، N_B: نرمالیه اسید یا باز است، α: درجه تفکیک، MP: جرم پروتئین در گرم است [۳]. این معادله برای pH های قلیایی و خنثی به کار می‌رود [۱۶].

درجه تفکیک را با استفاده از روابط زیر می‌توان محاسبه کرد [۳]:

$$\alpha = \frac{10^{pH-pK}}{1 + 10^{pH-pK}}$$

$$pK = 7.8 + \frac{2.98 - T + 24.00}{2.98 \cdot T}$$

به طور کلی مرحله‌ی انجام واکنش در فرآیند هیدرولیز، در شرایط دمایی یکسان انجام می‌گیرد پایان این مرحله از طریق غیر فعالسازی آنزیم مورد استفاده، صورت می‌گیرد. مرحله‌ی غیر فعالسازی آنزیم در دماهای مختلف از ۷۵ تا ۱۰۰ درجه

۳-۳-۳ ترکیبات پروتئین هیدرولیز شده

ترکیبات شیمیایی موجود در مواد غذایی در تامین مواد ضروری مورد نیاز جهت سلامتی نقش مهمی دارند که پروتئین هیدرولیز شده نیز از این قاعده مستثنی نیست. برخی از این ترکیبات شامل پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر است.

۳-۳-۳-۱ پروتئین: بسیاری از مطالعات بیانگر محتوی پروتئینی حدود ۶۰ تا ۹۰ درصد در FPH^۷ می‌باشند و دلیل آن را شکسته شدن پروتئین به آمینواسیدها و انحلال پروتئین و در نهایت حذف ماده‌ی جامد نامحلول به وسیله‌ی سانتریفیوژ گزارش کردند [۳۶].

۳-۳-۳-۲ چربی: اکثر مطالعات انجام شده در این زمینه میزان چربی موجود در FPH را زیر ۵ درصد گزارش کردند و تعداد اندکی نیز میزان آن را بالای ۵ درصد گزارش کردند. در این مطالعات دلیل کم بودن محتوای چربی در FPH را حذف لیپید (چربی) از طریق سانتریفیوژ بیان کردند [۳۶، ۳۷].

۳-۳-۳-۳ رطوبت: محتوای رطوبتی FPH زیر ۱۰ درصد گزارش شده است در واقع محتوای کم رطوبتی FPH به دلیل نوع نمونه و درجه حرارت بالای بکاربرده شده در طول فرآیند تبخیر و خشک کردن می‌باشد زیرا در طول این فرآیند رطوبت موجود در نمونه تبخیر می‌شود [۳۶، ۳۸].

۳-۳-۳-۴ خاکستر: محتوای خاکستر FPH نسبتاً بالاست و بین ۰/۴۵ تا ۲۷ درصد گزارش شده که اسید و باز مصرفی جهت تنظیم pH از دلایل این میزان خاکستر می‌باشد [۱۴، ۳۶].

۳-۴-۳ خواص کاربردی پروتئین هیدرولیز شده

خواص کاربردی، پروتئین‌های موجود در سیستم‌های غذایی در حال فراوری، ذخیره‌سازی و یا مصرف شده می‌باشد و به تغییر در پپتیدها و اسیدآمینه‌های تولید شده در هیدرولیز آنزیمی مربوط می‌شود [۹] این خواص عبارت‌اند از:

۳-۴-۳-۱ آنتی‌اکسیدانی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیز شده برای اولین بار در سال ۱۹۹۵ توسط Shahidi و همکاران گزارش شده است. خواص آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای جدا شده از پروتئین هیدرولیز شده ماهی مربوط به توالی، ترکیب و آگریز بودن آنهاست به طور کلی پپتیدهای فعال آزاد

شده باعث مهار رادیکال‌های آزاد و کلات^۸ یون‌های فلزی پراکسیدان و مهار پراکسیداسیون لیپیدی در سیستم‌های غذایی می‌شود [۱۴].

۳-۴-۳-۲ امولسیون: پروتئین‌ها به طور معمول به دلیل خاصیت آمفیلک بودنشان که به آنها اجازه‌ی شرکت در اتصالات و پایداری قطرات روغن را از طریق دافعه‌ی الکترواستاتیک می‌دهد، به عنوان امولسیفایر مورد استفاده قرار می‌گیرند [۳۹]. خواص امولسیون ترکیبات هیدرولیز شده از ۰/۱۴۴ تا ۱۳۰ درصد است که به عوامل مختلفی مانند اندازه ملکولی، توالی اسیدآمینه، نوع آنزیم، pH [۹] و درجه هیدرولیز بستگی دارد به طوری که با کاهش مقدار درجه هیدرولیز خاصیت امولسیونی بهتر می‌شود [۳۹]. به طور کلی با کاهش اندازه‌ی پروتئین ارتباط فیلم‌های اطراف قطرات امولسیون ضعیف می‌شود و در نتیجه‌ی آن ثبات امولسیونی هم کاهش می‌یابد. امولسیون بهینه برای pH حدود ۸ تا ۱۱ ثبت شده است [۹].

مورنو و همکاران (۲۰۱۵) خواص امولسیونی و آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده ماهی را بررسی کردند. آنها بعد از هیدرولیز پروتئین‌های عضلانی ساردین و کوسه (Catshark) را در درجات مختلف ۳، ۴، ۵ و ۶ درصد به این نتیجه رسیدند که پروتئین هیدرولیز شده ساردین با درجات ۳ و ۴ درصد پپتیدهای موثرتری را برای ثبات امولسیون دارد که این امر حاکی از این است که پروتئین بیشتری جذب شده که به عنوان یک سد فیزیکی در برابر پرواکسیدان عمل می‌کند. پروتئین هیدرولیز شده Catshark با درجه هیدرولیز ۳ درصد نیز امولسیون پایدار با غلظت‌های کم آلدئید را به همراه داشت [۴۰]. همچنین شعبانپور و همکاران (۱۳۹۳) خصوصیات آنتی-اکسیدانی هیدرولیزهای میگوی ببری سبز (*semisulcatus* *Penaeus*) تولید شده با استفاده از آنزیم فلاورزیم را از سه روش ارزیابی قدرت دفع رادیکال‌های آزاد DPPH، هیدروکسیل و قدرت احیای آهن انجام دادند که طبق گزارشات آنها که فراورده‌های تولیدی پاسخ بهتری به دفع رادیکال DPPH نسبت به سایر روش‌ها دادند. از بین تیمارها، تیمار با دمای ۵۴/۰۶ درجه سانتی‌گراد به همراه نسبت آنزیم به سویسترا ۱/۶۱ درصد و زمان ۱۰۵/۸ دقیقه، با درجه هیدرولیز ۳۳/۵ درصد و محتوای پروتئینی ۷۹/۵ درصد، به عنوان تیمار

8. Chelate

7. Fish protein hydrolysate

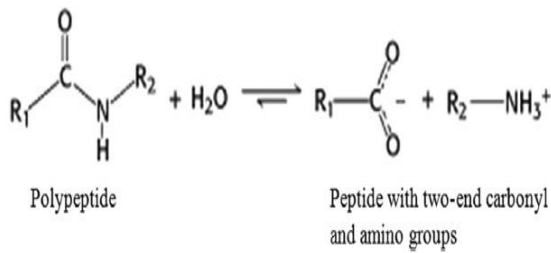


Fig 2 Formation of two-end carbonyl and amino groups during hydrolysis

۳-۵- قابلیت‌های پروتئین هیدرولیز شده

عضلات ماهی غنی از پروتئین‌اند و هیدرولایزهای حاصل از آن دارای کاربردهای بیولوژیکی مختلف از جمله کاربردهای دارویی [۴۳] مانند فعالیت مهار آنزیم آنژیوتانسین ۱ (ACE)، فعالیت ضد تکثیر، ضد التهابی [۴۴] و غذایی [۲۹] نظیر نقش آن به عنوان ¹⁰Cryoprotective [۱۴] و استفاده در جیره‌ی غذایی حیوانات به ویژه آزیان پرورشی [۴۵] دارد. همچنین دارای انواع کاربردهای کشاورزی مانند تامین کننده‌ی منبع نیتروژن برای رشد گیاهان [۱۶] نیز می‌باشد.

تحقیقات بسیاری در این زمینه‌ها صورت گرفته است، از جمله، توپچام و همکاران (۲۰۱۶) فعالیت مهار آنزیم آنژیوتانسین ۱ (ACE) پروتئین‌های هیدرولیز شده‌ی حاصل از گوشت چرخ شده، گوشت چرخ شده‌ی شسته شده و پروتئین‌های سارکوپلاسمی ماهی تیلایا با پروتئاز *Virgibacillus halodenitrificans* SK1-3-7 را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که هیدرولیزهای گوشت چرخ شده با درجه هیدرولیز ۴۸ درصد بیشترین فعالیت مهار (ACE) را دارند در حالی که پروتئین‌های سارکوپلاسمی با درجه هیدرولیز کمتر، فعالیت مهار (ACE) کمتری را نشان داد [۴۶]. اکسیو و همکاران (۲۰۱۶) طی مطالعه‌ای از سطوح مختلف پروتئین هیدرولیز شده (۰، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد) در جیره ماهی *Scophthalmus maximus* استفاده کردند و طبق نتایج آنها نرخ رشد SGR در رژیم غذایی ۲۰ درصد به طور قابل توجهی کاهش یافت و مصرف غذا در مقایسه با گروه شاهد بیشتر شد و همچنین غلظت چربی خام کمتری را در کل بدن نسبت به گروه شاهد نشان داد و به طور کلی با افزایش سطح FPH در رژیم غذایی غلظت تری‌آسیل

بهینه بر اساس بالاترین خواص آنتی‌اکسیدانی برگزیده شد [۴۱].

۳-۴-۳- کف کنندگی: خاصیت کف کنندگی FPH از حدود ۲۳ تا ۲۴۰ درصد متغیر است و مقدار بهینه آن حدود ۲۰ تا ۱۴۰ درصد است. خاصیت کف‌کنندگی به تغییرات pH پاسخ می‌دهد به طور مثال در pH حدود ۴ کم است و در رنج pH حدود ۶ تا ۱۰ پایدار است. همچنین این خاصیت به وزن ملکولی هم بستگی دارد و با کاهش اندازه‌ی پپتید خاصیت کف‌کنندگی نیز کاهش می‌یابد [۴۲].

۳-۴-۴- ظرفیت نگهداری آب: مطالعات مختلف نشان داد که محدوده‌ی ظرفیت نگهداری آب در FPH از ۲/۴۷ تا ۶/۶۰ میلی‌لیتر بر گرم است. وزن ملکولی پپتیدهای تولید شده بر ظرفیت اتصال آب موثر است به گونه‌ای که پپتیدهای حاصل از هیدرولیز در مدت زمان طولانی‌تر، ظرفیت نگهداری آب بالاتری دارند چرا که پپتیدهای کوچک نسبت به پپتیدهای بزرگ آبدوست‌ترند. همچنین افزایش غلظت گروه‌های قطبی مانند NH_2 و COOH ناشی از هیدرولیز آنزیمی بر مقدار آب جذب شده موثر است [۴۲، ۹].

۳-۴-۵- ظرفیت اتصال چربی: به طور کلی روش‌های مختلفی برای اندازه‌گیری ظرفیت اتصال چربی وجود دارد که مقدار آن برای پروتئین هیدرولیز شده بین ۱/۰ تا ۱۰/۸ میلی‌لیتر بر گرم است [۹]. ظرفیت اتصال چربی FPH با سطح آبریزی آن در ارتباط است [۳] و بر طعم و مزه موثر است و در صنایع گوشت و قنادی بیشترین کاربرد را دارد [۴۲].

۳-۴-۶- حلالیت: FPH حلالیت خوبی در طیف وسیعی از pH دارد و با افزایش pH، حلالیت افزایش می‌یابد. حلالیت بالای هیدرولایزها^۹ در بالاتر از یک رنج وسیعی از pH به دلیل کم بودن وزن ملکولی پپتیدهای باقی‌مانده و قطبیت بالاتر آنها از پروتئین طبیعی می‌باشد. پپتیدها با وزن ملکولی بالا به دلیل کاهش پیوندهای هیدروژنی، حلالیت کمی دارند. در فرآیند هیدرولیز گروه‌های هیدروفوب، از طریق تولید دو پایانه‌ی کربونیل و گروه‌های آمین، به گروه‌های هیدروفیل تبدیل می‌شود (شکل ۲)، که افزایش حلالیت را نیز می‌توان به آن نسبت داد [۹].

۱۰. عوامل محافظت کننده‌ی بافت منجمد در برابر آسیب‌های ناشی از انجماد

آمینواسیدهای هیدروفوب مناسب تر است و اغلب بازده تلخی محصول را کم می‌کند. علاوه بر این استفاده از مخلوطی از آنزیم‌های آگزوپپتیداز و اندوپپتیداز در کاهش تلخی نقش بسزایی دارند. آنزیم‌های آگزوپپتیداز برای غلبه بر تلخی پروتئین هیدرولیز شده مفید هستند و در واقع اسید آمینه‌ی هیدروفوبیک را از پپتیدهای تلخ جدا می‌کند و تلخی کمتری تولید می‌کند. بنابراین برای آماده سازی محصول می‌توان هم از آنزیم‌های آگزوپپتیداز و هم اندوپپتیداز استفاده کرد [۳۱،۱۶].

۴- نتیجه گیری

امروزه استفاده از ضایعات غذاهای دریایی، به عنوان ماده‌ای دور ریختنی در نظر گرفته نمی‌شود. این ضایعات منبعی ارزشمند از ترکیبات فعال زیستی محسوب می‌شوند که دارای کاربردهای متنوعی می‌باشند [۵]. یکی از راه‌های ارزش افزودن به ضایعات پروتئینی دریایی، تبدیل آنها به هیدرولیزهای پروتئینی (FPH) می‌باشد [۲۵]. استفاده از FPH در صنایع مختلف به دلیل خواص عملکردی بالا و قابلیت‌های متنوع پذیرش آن به عنوان یک جایگزین را امکان‌پذیر می‌نماید اما با این وجود چالش‌های بزرگی در این راه وجود دارد که می‌توان به کیفیت ماده‌ی خام مصرفی، بروز تلخی در محصول نهایی، هزینه بالای فرآیند در جداسازی و بازیابی توالی پپتیدی در طول فراوری مواد غذایی اشاره کرد که با پرداختن به این مسایل می‌توان محصولات حاصل از این هیدرولیزها (FPH) را در زمینه‌های مختلف کشاورزی، صنایع غذایی، دارویی و آرایشی، تجاری کرد و سپس توسعه داد [۵۰]. پژوهش‌های گذشته درباره‌ی کاربردهای پروتئین هیدرولیز شده حاصل از ضایعات ماهی در مقیاس آزمایشگاهی با دقت مناسب انجام یافته و به دستاوردهای مناسبی رسیده‌اند. حال باید در مسیر انتقال دانش فنی از شرایط و مقیاس آزمایشگاهی به مقیاس‌های صنعتی با تولید انبوه گام برداشت. تجزیه و تحلیل اقتصادی پروتئین هیدرولیز شده‌ی ماهی یکی از مسائل مطرح در آینده و استفاده از این هیدرولیزها می‌باشد. جهت کسب و کار جامع و تجاری‌سازی پروتئین هیدرولیز شده، درک وضعیت بازار، توسعه و بهبود استراتژی بازار، طرح عملیاتی، مدیریت درست پرسنل، مسائل حقوقی، طرح مالی و آنالیز خطرات موجود، مورد نیاز است. امید است که پژوهش‌های بعدی گویای پیشرفت چشمگیر صنعت شیلات در استفاده از محصولات

گلیسرول و کلسترول سرم خون کاهش می‌یابد [۴۷]. Nesse و همکاران (۲۰۱۴) در پژوهشی اثر پروتئین هیدرولیز شده (Amizate) پروتئین هیدرولیز شده اختصاصی آماده از آزاد ماهی اطلس) را به عنوان مکمل غذایی بر ایمنی ۴۳۸ کودک بین سنین ۷ تا ۸ که دچار سوء تغذیه شده بودند را مورد بررسی قرار دادند. آنها از نوشیدنی‌های شکلاتی حاوی ۳،۰ و ۶ گرم Amizate در روز استفاده کردند. Amizate با هیچ عوارض جانبی گزارش شده است و تجزیه و تحلیل نمونه خون و ادرار هیچ ناهنجاری که مربوط به مداخله آن باشد را نشان نداد [۴۸]. درواج و همکاران (۱۳۹۲) [۴۹] طی مطالعه‌ای پروتئین هیدرولیز شده ماهی کیلکا (*Clupeonella cultiventris*) را با استفاده از آنزیم‌های تجاری پرومود و بروملین در $\text{pH} = 7$ تولید کرده و پپتون بدست آمده از هیدرولیز آنزیمی را به عنوان محیط کشت سه سویه باکتری *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* و *Vibrio anguillarum* بکار بردند. نتایج نشان داد که بازیافت نیتروژنی پروتئین هیدرولیز شده توسط آنزیم پرومود بالاتر از پروتئین هیدرولیز شده توسط آنزیم بروملین بود و محیط کشت حاوی پپتون کیلکا تاثیر بیشتری بر روی رشد باکتری‌ها نسبت به محیط کشت تجاری (TSA) ^{۱۱} داشت.

۳-۶- مشکلات هیدرولیز آنزیمی

پروتئین هیدرولیز شده علاوه بر مزایای بسیار دارای، معایب و مشکلاتی نیز می‌باشد که از مهم‌ترین آنها می‌توان به هزینه‌ی بالای عملیات و تلخی اشاره کرد [۵۰]. اگرچه که هیدرولیز آنزیمی باعث بهبود خواص عملکردی پروتئین می‌شود ولی تلخی یکی از مشکلاتی می‌باشد که پذیرش آن به عنوان یک ماده‌ی غذایی را با مشکل مواجه می‌کند [۳]. آمینواسیدهای هیدروفوبیک پپتیدهای منع و آرایش خاص گروه‌های شیمیایی پپتیدها، از عوامل اساسی تلخی در پروتئین هیدرولیز شده آنزیمی می‌باشد [۳].

انتخاب آنزیم برای هیدرولیز و درجه هیدرولیز در کنترل تلخی موثر می‌باشند. هیدرولیز گسترده یا هیدرولیز در مدت زمان طولانی‌تر و همچنین میزان اسیدهای آمینه‌ی آزاد منجر به کاهش تلخی می‌شوند زیرا پپتیدهای هیدروفوبیک در مقایسه با اسیدآمینه‌های آزاد، بسیار تلخ‌ترند. هر آنزیم در هیدرولیز بر پپتید خاصی عمل می‌کند به عنوان مثال، آنزیم آلکالاز برای

11. Tryptic Soy Agar

[11] Geirsdottir, M., Sigurgisladottir, S., Hamaguchi, P. Y., Thorkelsson, G., Johannsson, R., Kristinsson, H. G., & Kristjansson, M. M. 2011. Enzymatic hydrolysis of blue whiting (*Micromesistius poutassou*); functional and bioactive properties. *Journal of Food Science*, 76, C14–C20.

[12] Javadian, S.R., Roshan, A., Ovisipour, M., Keshavarz, M., Nemati, M. 2015. Optimizing the production of kilka (*Clupeonella cultiventris*) hydrolyzed protein using permode enzyme. *Journal of Marine Biology*, 26, 83-90.

[13] Parekh, V.J., Rathod, V.K., Pandit, A.B., 2011. Substrate Hydrolysis: Methods, Mechanism, and Industrial. Applications of Substrate Hydrolysis, 103- 118.

[14] Chalamaiah, M., Dinesh kumar, B., Jyothirmayi, T. 2012. Fish protein hydrolysates: proximate composition amino acid composition, antioxidant activities and applications: a review. *Food Chemistry*, 135, 3020–3038.

[15] Benhabiles, M. S., Abdi, N., Drouiche, N., Lounici, H., Pauss, A., Goosen, M. F. A., Mameri, N. 2012. Fish protein hydrolysate production from sardine solid waste by crude pepsin enzymatic hydrolysis in a bioreactor coupled to an ultrafiltration unit. *Material Science and Engineering C*, 32, 922–928.

[16] Shahidi, F., 2007. Maximising the value of marin by- product. Boca Raton Boston New York Washington, DC. 229 – 248 pp.

[17] Villamil, O., Váquiro, H., Solanilla, J.F. 2017. Fish viscera protein hydrolysates: Production, potential applications and functional and bioactive properties. *Food Chemistry*, 224, 160–171.

[18] Luisa Tavano, O. 2013. Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 90, 1– 11.

[19] Tsugita, A., Scheffler, J.J. A. 1982. A rapid method for acid hydrolysis of protein with a mixture of trifluoroacetic acid and hydrochloric acid. *European Journal of Biochemistry*, 124, 585-588.

[20] Tsugita, A., Scheffler, J. 1982. A Rapid Method for Acid Hydrolysis of Protein with a Mixture of Trifluoroacetic Acid and Hydrochloric Acid. *Europe Journal Biochem*, 124, 585-588.

[21] Mortazavi tabrizi, J., Sheyeh, J., Notash, Sh., Mirzaei, H., Vatan khah, A. 2011. Effect

حاصل از ضایعات عمل‌آوری آبزیان مانند پروتئین هیدرولیز شده در زمینه‌های مختلف باشد.

۵- منابع

[1] Love, D.C., Fry, J.P., Milli, M.C., Neff, R.A. 2015. Wasted seafood in the United States: Quantifying loss from production to consumption and moving toward solutions. *Global Environmental Change*, 35, 116–124.

[2] FAO. 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture. World review of fisheries and aquaculture. 243p. [3] Kristinsson, H.G., Barbara A. R. 2000. Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties. *Food Science and Nutrition*, 40, 43-81.

[4] Wisuthiphaet, N., Kongruang, S. 2015. Production of Fish Protein Hydrolysates by Acid and Enzymatic Hydrolysis. *Journal of Medical and Bioengineering*, 4, 466-470.

[5] Kumar Pal, G., Suresh, P.V. 2016. Sustainable valorisation of seafood by-products: Recovery of collagen and development of collagen-based novel functional food ingredients. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 37, 201–215.

[6] FAO. 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture. World review of fisheries and aquaculture. 243 p.

[7] Suresh, P. V., Prabhu, G. N. 2013. Seafood. In M. Chandrasekaran (Ed.), Valorization of food processing by-products. Taylor & Francis, New York: CRC Press 685–736 pp.

[8] Srikanya1, A., Dhanapal, K., Sravani1, K., Madhavi, K., Praveen Kumar, G. 2017. A 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, 3220-3229.

[9] Halim, N.R.A., Yusof, H.M., Sarbon, N.M. 2016. Functional and bioactive properties of fish protein hydrolysates and peptides: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 51, 24-33.

[10] Arnesen, J. A., Gildberg, A. 2006. Extraction of muscle proteins and gelatine from cod head. *Process Biochemistry*, 41, 697-700.

- enhancement of enzymatic hydrolysis of invasive biomass species. *Bioresource Technology*, 213, 342–349.
- [31] Hosseini, Sh., Ghoroghi, A., Jamalzadeh, H.R., Safari, R., Hosseini, Sh. 2012. Comparison of produced fish protein hydrolysete from viscera and head of Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) using Alcalase enzyme and internal tissue enzymes. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 55-62.
- [32] Ha, M., Dinbekhit, A., Carne, A., Hopkins, D. 2013. Characterisation of kiwifruit and asparagus enzyme extracts, and their activities toward meat protein. *Food Chemistry*, 136, 989–998.
- [33] Benjakul, S., Yarnpakdee, S., Senphan, T., Halldorsdottir, S.M., Kristinsson, H.G. 2014. Fish protein hydrolysates: Production, bioactivities, and applications. In H. G. Kristinsson (Ed.), Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd. 237–281 pp.
- [34] Liu, Y., Li, X., Chen, Z., Yu, J., Wang, F., Wang, J., 2014. Characterization of structural and functional properties of fish protein hydrolysates from surimi processing by-products. *Food Chemistry*, 151, 459–465.
- [35] García-Moreno, P.J., Batista, I., Pires, C., Bandarra, N.M., Espejo-Carpio, F.J., Guadix, A., Guadix, E.M. 2016. Physical and oxidative stability of fish oil-in-water emulsions stabilized with fish protein hydrolysates. *Food chemistry* 203:124-135.
- [36] Venugopal, V., 2016. Marine Enzymes Biotechnology: Production and Industrial Applications, Part II - Marine Organisms Producing Enzymes, *Advances in Food and Nutrition Research*, Academic Press, 47-69 pp.
- [37] Ovissipour, M., Abedian Kenari, A., Motamedzadegan, A., & Nazari, R. M. 2010. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*). *Food and Bioprocess Technology*, 5:696–705.
- [38] Foh, M.B.K., Kamara, M.T., Amadou, I., Foh, B.M., Wenshui, X. 2011. Chemical and physicochemical properties of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish protein hydrolysates and concentrate. *International Journal of Biological Chemistry*, 5, 21–36
- [39] Moreno, P., Guadix, A., Guadix, E., Jacobsen, Ch. 2016. Physical and oxidative stability of fish oil-in-water emulsions of different levels of multi enzyme on liver enzymes on functional factors in rainbow trout fish (*oncorhynchus mykiss*). *Journal of Veterinary Islamic Azad University*, 5, 49-55.
- [22] Yang, F., Rustad, T., Xu, Y., Jiang, Q., Xia, W. 2015. Endogenous proteolytic enzymes – A study of their impact on cod (*Gadus morhua*) muscle proteins and textural properties in a fermented product. *Food Chemistry*, 172, 551–558.
- [23] Hultmann, L., Rustad, T. 2004. Iced storage of Atlantic salmon (*Salmo salar*) – Effects on endogenous enzymes and their impact on muscle proteins and texture. *Food Chemistry*, 87, 31–41.
- [24] Gaarder, M. Q., Bahuaud, D., Veiseth-Kent, E., Mørkø, T., Thomassen, M. S. 2012. Relevance of calpain and calpastatin activity for texture in super-chilled and ice-stored Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets. *Food Chemistry*, 132, 9–17.
- [25] Aspino, S.I., Horn, S.J., Eijsink, V.G. 2005. Enzymatic hydrolysis of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera. *Process Biochemistry*, 40, 1957-1966.
- [26] Ketnawa, S., Benjakul, S., Martinez-Alvarez, O., Rawdkuen, S. 2014. Three-phase partitioning and proteins hydrolysis patterns of alkaline proteases derived from fish viscera. *Separation and Purification Technology*, 132, 174–181.
- [27] Bhaskar, N., Mahendrakar, N. S. 2008. Protein hydrolysate from visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*): Optimization of hydrolysis conditions for a commercial neutral protease. *Bioresource Technology* 99: 4105–4111.
- [28] Merza, M., Ewert, J., Baur, C., Appel, D., Blank, D., Stressler, T., Fischer, L., 2015. Wheat gluten hydrolysis using isolated Flavourzyme peptidases: Product inhibition and determination of synergistic effects using response surface methodology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 122, 218–226.
- [29] Valencia, P., Espinoza, K., Pinto, C.M., Almonacid, S. 2015. Novel modeling methodology for the characterization of enzymatic hydrolysis of proteins. *Process Biochemistry*, 50, 589–597.
- [30] Borah, A.J., Agarwal, M., Poudyal, M., Goyal, A., Moholkar, V.S. 2016. Mechanistic investigation in ultrasound induced

- Bioavailability of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides derived from *Virgibacillus halodenitrificans* SK1-3-7 proteinases hydrolyzed tilapia muscle proteins. *Food Chemistry*, 220, 190–197.
- [46] Xu, H., Mu, Y., Zhang, Y., Li, J., Liang, M., Zheng, K., Wei, Y. 2016. Graded level of fish protein hydrolysate in high plant diets for turbot (*Scophthalmus maximus*): effects on growth performance and lipid accumulation. *Aquaculture*, 454, 140- 147.
- [47] Ness, K., Nasalakshmi, A.P., Marimuthu, P., Singh, M., Bhetariya, P., Ho, M., Simon, R. 2014. Safety evaluation of fish protein hydrolysate supplementation in malnourished. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 69: 1–6.
- [48] Dervaj, Z., Javadian, S.R., Ovisipour, M., Nemati, M. 2013. The use of Kilka's hydrolyzed protein (*Clupeonella cultiventris*) as a source of peptone in a bacterial culture medium (*Bacillus subtilis*, *bacillus licheniformis* *vibrio anguillarum*). *Journal of aquatic and fisherys*, 15, 11-18.
- [49] Valencia, P.L., Flores, S.A., Pinto, M.J., Almonacid, S.F. 2016. Analysis of the operational strategies for the enzymatic hydrolysis of food proteins in batch reactor. *Journal of Food Engineering*, 176, 121 – 127.
- [50] Foh, M.B.K., Kamara, M.T., Amadou, I., Foh, M.B., Wenshui, X. 2011. Chemical and physicochemical properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fish Protein Hydrolysate and Concentrate. *International Journal of Biological Chemistry*, 155, 1-15
- stabilized with fish protein hydrolysates. *Food chemistry*, 203, 124-135.
- [40] Shabanpour, B., Kordjazi, M., Nazari, Kh., Esmaili Khariki, M. 2017. Effect of enzymatic hydrolysis time, temperature and enzyme to substrate ratio on antioxidant properties of prawn bioactive peptides. *Journal of food science and technology*, 14, 31-45.
- [41] Taheri, A., Anvar, S. A. A., Ahari, H., Fogliano, V. 2013. Comparison the functional properties of protein hydrolysates from poultry by-products and rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) viscera. *Iranian Journal of Fisheries Science*, 12, 154 – 169.
- [42] Nalinanon, S., Benjakul, S., Kishimura, H., Shahidi, F. 2011. Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from the muscle of ornate threadfin bream treated with pepsin from skipjack tuna. *Food Chemistry*, 124, 1354–1362.
- [43] Nasri, R., Abdelhedi, O., Jemil, I., Daoued, I., Hamden, Kh., Kallel, Ch., Abdelfattah, E., Senhadji, M., Boualga, A., Nasri, M., Karra-Chaabouni, M. 2015. Ameliorating effects of goby fish protein hydrolysates on high-fat-high-fructose diet-induced hyperglycemia, oxidative stress and deterioration of kidney function in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 242, 71-80.
- [44] Barrias, C., Oliva-Teles. 2000. The use of locally produced fish meal and other dietary manipulations in practical diets for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Res*, 31, 213 – 218.
- [45] Toopcham, T., Mes, J.J., Wichers, H.J., Roytrakul, S., Yongsawatdigul, J. 2017.



Review of hydrolyzed protein from fishery by-product: Production methods, application and Biological Properties

Ziyaei, K. ¹, Hosseini, S. V. ^{2*}

1. M.Sc. Graduate, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
2. Associate Prof., Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received 11 May 2018
Accepted 18 March 2020

Keywords:

Fishery by-products,
bioactive compounds,
FPH,
functional properties.

DOI: 10.52547/fsct.18.02.30

*Corresponding Author E-Mail:
hosseini.seyedvali@gmail.com

According to FAO reports, a huge amount of fish processing by-products (around 50%) are produced every day. Fish processing by-products are mainly head, tail, skin, scale, backbone and viscera. These by-products usually consist of several bioactive materials, such as proteins, enzymes, fatty acids, and biopolymers. Seafood by-products could be a source of healthy food for both human (such as fish sauce, fish protein hydrolysate; FPH) and animals (such as fish meal, fish silage, FPH). Additionally, bioactive substances derived from seafood by-products have been used in various biotechnological, nutritional, pharmaceutical, and biomedical applications. FPH is one of the most important products which is prepared by hydrolysis of underutilized fish or fish processing by-products. Although FPH has been used for agricultural purposes, advanced technological developments have made it possible to apply these FPHs as functional ingredients in food and pharmaceuticals. Likewise, the hydrolysate is also a rich source of biologically active small peptides that have been proved for various therapeutic potentials. This paper will review properties and potential applications of FPH in the human nutrition.