مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی محدوده‌های مختلف وزن مولکولی پروتئین آبکافتی حاصل از سر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

سکینه یگانه[1*]، مینا اسمعیلی خاریکی[2]، حامد احمدی[3]

۱- دکتری، استاد، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

۲- دکتری، استادیار، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۱۳

کلمات کلیدی:

پروتئین آبکافتی،

وزن مولکولی،

سر کپور معمولی،

خواص آنتی اکسیدانی.

DOI: 10.52547/fsct.18.119.319

* مسئول مکاتبات:

s.yeganeh@sanru.ac.ir

چکیده

در مطالعه حاضر خواص آنتی‌اکسیدانی محدوده‌های مختلف وزن مولکولی و غلظت‌های مختلف پروتئین آبکافتی حاصل از سر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا آبکافت سر ماهی کپور معمولی با آنزیم آلکالاز (غلظت ۱ درصد حجمی/وزنی) در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و pH ۸ در زمان ۱۸۰ دقیقه انجام شد. سپس این پروتئین آبکافتی با استفاده از اولترافیلترهای ۳ و ۱۰ کیلودالتون به سه محدوده وزن مولکولی کمتر از ۳، بین ۳ تا ۱۰ و بیشتر از ۱۰ کیلودالتون تقسیم گردید. نتایج نشان داد که در فعالیت مهار رادیکال DPPH بین محدوده‌های مختلف وزن مولکولی اختلاف معنی‌دار وجود داشت و بیشترین و کمترین میزان به‌ترتیب در وزن مولکولی ۳-۱۰ و کمتر از ۳ کیلودالتون مشاهده شد ($p<0.05$). همچنین کمترین مقدار IC_{50} در مهار رادیکال DPPH برای محدوده وزن مولکولی ۳-۱۰ کیلودالتون بدست آمد (۱/۱۹±۰/۰۱۵میلی-گرم/میلی‌لیتر). قدرت کاهندگی آهن سه ظرفیتی با افزایش غلظت، در تمامی وزن‌های مولکولی افزایش یافت. همچنین بالاترین قدرت کاهندگی یون آهن در محدوده وزن مولکولی بالاتر از ۱۰ کیلودالتون مشاهده شد ($p<0.05$). قدرت مهارکنندگی رادیکال ABTS، در تمامی غلظت‌ها بین وزن‌های مختلف مولکولی تفاوت معنی‌داری نشان داد و بیشترین و کمترین میزان به‌ترتیب در وزن مولکولی ۳-۱۰ و کمتر از ۳ کیلودالتون مشاهده شد ($p<0.05$). کمترین مقدار IC_{50} در مهار رادیکال ABTS برای محدوده وزن مولکولی ۳ تا ۱۰ کیلودالتون بدست آمد (۱/۱±۰/۰۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر). به طور کلی، با توجه به تاثیر مثبت پروتئین آبکافتی سر ماهی کپور معمولی در حذف رادیکال‌های آزاد DPPH، ABTS و قدرت کاهندگی آهن سه ظرفیتی در غلظت‌ها و وزن-های مولکولی مختلف، می‌توان اظهار داشت که این پروتئین آبکافتی می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی، به منظور کاربرد در صنایع غذایی و یا خوراک دام، طیور و آبزیان مورد توجه قرار گیرد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-24]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.6.6]

[DOI: 10.52547/fsct.18.119.319]

۱- مقدمه

امروزه آبزی‌پروری نقش بسیار مهمی در تأمین غذای بشر در جهان ایفا می‌کند [۱] و ماهی به عنوان یک آبزی به دلیل داشتن پروتئین بالا، از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. در دهه‌ی اخیر نیز ماهیان از منابع مهم تامین پروتئین جهانی محسوب می‌شوند به طوری که ۱۷/٤ درصد از پروتئین حیوانی مصرفی دنیا و ٦/۹ درصد از کل پروتئین مصرفی از طریق ماهیان تأمین می‌گردد. میزان تولید ماهی کپور معمولی در جهان در سال ۲۰۱۷، ٤۱۲۹۱۰۰ تن بوده [۲] و میزان کل تولیدات ماهی‌های گرم آبی در ایران در سال ۱۳۹۷، ۱۸۷۳۹۹ تن بوده است [۳]. ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) حدود ۲۵ تا ۳۰ درصد از گونه‌های پرورشی در استخرهای گرم‌آبی ایران را به خود اختصاص می‌دهد [٤]. امروزه مصرف‌کنندگان ماهی گرایش به سمت مصرف ماهی فیله‌شده و تازه دارند، در نتیجه فراورده‌های جنبی (حدود ۳۰ درصد از مواد خام) مثل استخوان‌ها، پوست، سر، فلس‌ها و اندرونه حاصل می‌شود [۵]، که سر تقریبا ۱۹ درصد از فرآورده‌های جنبی ماهی پس از فیله‌شدن را تشکیل می‌دهد [٦، ۷، ۸]. فرآورده‌های جنبی ماهی، منابعی با قیمت پایین هستند که با مدیریت و فرآوری صحیح و مناسب می‌توانند به فرآورده‌هایی با ارزش اقتصادی بالا تبدیل شوند [۹]. این ترکیبات حاوی درصد بالایی پروتئین و چربی بوده و بخش پروتئین می‌تواند جهت تولید پروتئین آبکافتی با ویژگی‌های کارکردی مطلوب استفاده شود [۱۰]. از عملکردهای این پروتئین‌های آبکافتی می‌توان به خواص زیست فعالی مثل خواص ضد میکروبی، ضد فشار خون، ضد سرطانی، ضد دیابت، تقویت‌کننده سیستم ایمنی بدن، مهارکنندگی آنزیم تبدیل کننده آنژیوتنسین، عملکرد ضد انعقادی، تنظیم‌کنندگی سیستم هورومونی و هم‌چنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد [۱۱، ۱۲، ۱۳]. این خصوصیات زیست‌فعال ناشی از پپتیدهایی با ۲۰-۲ آمینواسید و وزن مولکولی کمتر از ٦۰۰۰ دالتون می‌باشند [١٤] که در فرایند آبکافت آنزیمی [۱۹- ۱۵]، شیمیایی [۱۲، ۲۰، ۲۱] و یا تخمیر میکروبی [۲۲] تولید شده و فعالیت فیزیولوژیکی نشان می‌دهند [۲۳]. امروزه به‌دلیل آگاهی از خطرات سلامتی ناشی از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی، علاقمندی به یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی افزایش یافته است. آنتی‌اکسیدان‌ها برای جلوگیری از اکسیداسیون چربی و تشکیل ترکیبات سمی و بوها و طعم نامطلوب در مواد غذایی و نیز برای جلوگیری از استرس اکسیداتیو که منجر به تعدای از بیماری‌ها می گردند، مورد استفاده قرار می‌گیرند [٢٤]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی ناشی از پپتیدهای زیست‌فعال آن است و ترکیب اسیدهای آمینه، اندازه، وزن مولکولی و نیز میزان آبگریزی این پپتیدها بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی موثر می‌باشد [۲۵، ٢٦]. در برخی مطالعات گزارش شده است که در میان پپتیدهای حاصل از آبکافت، پپتیدهای با وزن مولکولی کمتر و دارای زنجیره کوتاه ١٦-۵ آمینواسید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نشان می‌دهند [۲۷- ۲۹]. سیستم غشایی اولترافیلتراسیون به طور وسیعی برای جداسازی پپتیدهای کوچک از پروتئین آبکافتی استفاده می‌شود و مزیت اصلی این سیتم این است که می‌توان با کاربرد صحیح غشای اولترافیلتر، توزیع وزن مولکولی مناسبی از پروتئین آبکافتی با ویژگی کارکردی و یا ویژگی زیست‌فعال را به دست آورد [۳۰، ۳۱]. اگرچه مطالعاتی درارتباط با فعالیت آنتی‌اکسیدانی محدوده‌های مختلف وزن مولکولی پروتئین آبکافتی حاصل از آبزیان انجام شده است [١٤، ۲۸، ۳۲]، اما تاکنون مطالعه‌ای در مورد بررسی فعایت آنتی‌کسیدانی محدوده‌های مختلف وزن مولکولی پروتئین آبکافتی حاصل از سر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام نشده است، لذا در این تحقیق مد نظر قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده‌سازی نمونه ماهی

۸ قطعه ماهی کپور معمولی با وزن متوسط ۰/۰۳٤ ± ۰/۷٦٦ کیلوگرم از بازار تهیه و در جعبه‌های یونولیتی به همراه یخ (با نسبت ۱: ۳ وزنی/ وزنی) به سرعت به آزمایشگاه فرآوری در گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل گردیدند. جهت برطرف کردن آلودگی‌ها و موکوس از سطح ماهیان، ماهیان با آب سرد شستشو داده شدند و سپس سر زنی، دم‌زنی و تخلیه محتویات درون شکم ماهیان صورت گرفت. در این تحقیق از سر ماهی کپور معمولی به عنوان ضایعات ماهی در ادامه مراحل تحقیق استفاده شد. سرهای ماهیان با استفاده از چرخ گوشت به طور کامل چرخ شده و پس از بسته‌بندی در کیسه‌های پلاستیکی، در دمای فریزر (۲۰- درجه سانتی‌گراد) تا روز آزمایش نگهداری شدند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.6.6]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.319]

۲-۲- آبکافت ضایعات سر ماهی کپور معمولی

به‌منظور آماده‌سازی نمونه‌ها، ابتدا سر چرخ‌شده ماهی کپور معمولی در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد انجمادزدایی و با آب مقطر با نسبت ۱: ۲ (v/w) مخلوط شدند و سپس به‌مدت ۲ دقیقه با استفاده از هموژنایزر (IKA T18-basic, Ultra-Turrax) با سرعت متوسط همگن شدند. به منظور غیرفعال‌سازی آنزیم‌های درونی، نمونه‌ها به مدت۱۰ دقیقه در حمام آب گرم (Memert wub 29, Germany) ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. به منظور انجام آزمایش، غلظت آنزیم آلکالاز (L ٢/٤، Novozymes, Denmark) ۱ درصد، دما ٥٥ درجه سانتی‌گراد، pH برابر ۸ و مدت زمان آبکافت نیز ۳۰، ٦۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه در نظر گرفته شد [۲۳]. پس از انجام فرآیند، جهت غیر فعال‌سازی آنزیم آلکالاز نمونه‌ها در حمام آبی (Memmert wub 29, Germany) ۹۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها به‌منظور جداسازی مواد غیرمحلول از پروتئین‌های محلول، سانتریفیوژ (Sigma, 2-16KL, Germany) (۲۰ دقیقه با دور g ۸۰۰۰) شدند و قسمت روماند هر نمونه به‌وسیله سمپلر جدا شده و بهترین زمان آبکافت با بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) در زمان ۱۸۰ دقیقه (درجه آبکافت: ۰/۸٦±٤۹/٦۷ درصد؛ پروتئین محلول: ۰/۱۹±۲۳/۰۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر؛ در غلظت ۲/٥ میلی‌گرم/میلی-لیتر ۲/۱۱±٦٤/۹۹ درصد) به‌دست آمد [۳۳]. سپس محصول آبکافت با شرایط ذکر شده در زمان ۱۸۰ دقیقه، با استفاده از اولترافیلترهای فالکونی ۳ و ۱۰ کیلودالتون (Amicon® Ultra Centrifugal Filters, Merck, Germany) و قرار دادن فیلترهای حاوی نمونه در سانتریفیوژ یخچال‌دار (Sigma, 3-United States30KS,) با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، سرعت ٥۰۰۰ دور در دقیقه و مدت ٦۰ دقیقه، به بخش‌های کوچکتر از ۳ کیلودالتون، بین ۳ الی ۱۰ کیلودالتون و بزرگتر از ۱۰ کیلودالتون تقسیم‌بندی شدند. سپس آزمایش‌های مهار رادیکال DPPH، قدرت کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی و فعالیت بازدارندگی رادیکال ABTS و همچنین میزان پروتئین محلول در مورد هر یک از فرکشن‌ها بر اساس پروتکل‌های اشاره شده انجام شد.

۲-۳- قدرت مهار رادیکال آزاد ۲ و ۲ دیفینیل -۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)

برای انجام این آزمایش به حجم معینی از محلول نمونه با غلظت‌های مختلف (۱، ۱/٥، ۲، ۲/٥، و ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، همان میزان از محلول ۰/۱ میلی‌مولار DPPH در متانول اضافه شد. مخلوط حاصل با استفاده از دستگاه وورتکس به مدت چند ثانیه هموژن (مدل 100-LS، شرکت Labtron، ایران) و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار داده شد و سپس جذب مخلوط به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر (Spectrophotometr UV-M51 UV/Vis, Italy) در طول موج ٥۱۷ نانومتر قرائت شد. درصد مهار رادیکال آزاد طبق رابطه زیر محاسبه گردید [۳٤].

درصد مهار DPPH = ((Ab – As) / Ab) ×۱۰۰

Ab: جذب شاهد؛ As: جذب نمونه یا استاندارد؛ As = جذب نمونه خوانده شده – جذب رنگ نمونه (۱ میلی‌لیتر نمونه + ۱ میلی‌لیتر متانول) Ab

۲-٤- قدرت کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی (یون فریک)

برای بررسی این شاخص، ۰/٥ میلی‌لیتر پروتئین آبکافتی با غلظت‌های مختلف (۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۲/٥ میلی-لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار (با pH=٦/٦) و ۲/٥ میلی‌لیتر محلول پتاسیم فری‌سیناید ۱ درصد مخلوط شد. سپس ترکیب بدست آمده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٥۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه و متعاقب آن ۲/٥ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک‌اسید ۱۰ درصد به آن اضافه گردید. سپس این محلول ۱۰ دقیقه با گردش ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Sigma, 2-16KL, Germany) و سپس فاز رویی با ۲/٥ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲/٥ میلی‌لیتر محلول کلرید فریک ۰/۱ درصد ترکیب شد. جذب محلول حاصل در طول موج ۷۰۰ نانومتر (Spectrophotometr UV-M51 UV/Vis, Italy) قرائت گردید. هر چه جذب بیشتر باشد قدرت کاهندگی پروتئین آبکافتی نیز بیشتر است [۱۹].

۲-٥- سنجش فعالیت مهارکنندگی رادیکال (ABTS)

برای سنجش فعالیت مهارکنندگی رادیکال (ABTS) از روش Alemán و همکاران (۲۰۱۱) [۳٥] استفاده شد. محلول ۷ میلی‌مولار ABTS در پتاسیم پرسولفات ۲/٤٥ میلی‌مولار تهیه و

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.6.6]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.319]

به مدت ۱۶ ساعت در دمای محیط و در مکان تاریک نگه‌داری شد. پس از طی زمان مورد نظر، رقیق‌سازی با آب مقطر تا رسیدن به میزان جذب ۰/۷±۰/۰۲ در طول موج ۷۳۴ نانومتر (Spectrophotometr UV-M51 UV/Vis, Italy) انجام شد. سپس ۲۰ میکرولیتر نمونه در غلظت‌های مختلف (۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، و ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۹۸۰ میکرولیتر محلول رقیق شده ABTS مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در مکان تاریک و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از طی زمان مورد نظر جذب نمونه‌ها در ۷۳۴ نانومتر (Spectrophotometr UV-M51 UV/Vis, Italy) قرائت شد. به منظور مقایسه نیز از غلظت‌های مختلف آسکوربیک‌اسید استفاده و درصد مهارکنندگی رادیکال ABTS با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

درصد مهارکنندگی ABTS=

۱۰۰×(جذب نمونه شاهد/ (جذب نمونه – جذب نمونه شاهد))

۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این تحقیق در قالب طرح کاملا تصادفی در تیمارهای مختلف سه محدوده مختلف وزن مولکولی و غلظت‌های مختلف انجام شد. بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک انجام شد. مقایسه‌ی میانگین‌ها با آنالیز واریانس یک طرفه و برای بررسی تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. تمام آنالیزها با سه بار تکرار انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 22 انجام گرفت.

۳- نتایج

۳-۱- قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH سر ماهی کپور معمولی

نتایج سنجش قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH در وزن‌های مولکولی کمتر از ۳، بین ۳ الی ۱۰ و بالای ۱۰ کیلودالتون نشان داد (جدول ۱).

Table 1 DPPH radical scavenging activity (%) of the different molecular weight fractions of protein hydrolysate produced from Common carp head

Molecular weight (KDa)	Concentration (mg/ml)				
	1	1.5	2	2.5	3
<3	40.52 ± 0.47^{Aa}	45.43 ± 0.69^{Ba}	52.88 ± 0.39^{Ca}	61.07 ± 0.86^{Da}	67.84 ± 0.33^{Ea}
3-10	45.25 ± 0.31^{Ac}	55.25 ± 1.63^{Bc}	69.11 ± 1.42^{Cc}	76.65 ± 0.69^{Dc}	86.06 ± 1.33^{Ec}
>10	43.87 ± 0.31^{Ab}	49.86 ± 0.93^{Bb}	60.87 ± 0.27^{Cb}	65.39 ± 0.87^{Db}	73.67 ± 0.82^{Eb}

*Mean ± STD (n=3). Different uppercase (A-D) and lowercase (a-d) letters show significant difference in each raw and column, respectively (p<0.05).

با افزایش غلظت، قدرت مهارکنندگی نیز در تمامی وزن‌ها افزایش پیدا می‌کند (p<۰/۰۵). با توجه به شکل ۱ نتایج محاسبه IC_{50} نشان داد که بین وزن‌های مولکولی مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت، به طوری که کمترین و بیشترین مقدار IC_{50} به‌ترتیب در وزن مولکولی ۳ تا ۱۰ کیلودالتون و کمتر از ۳ کیلودالتون مشاهده شد (p<۰/۰۵).

در تمامی غلظت‌ها، بین وزن‌های مختلف مولکولی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد و بیشترین و کمترین میزان به‌ترتیب در وزن مولکولی ۳-۱۰ و کمتر از ۳ کیلودالتون مشاهده شد (p<۰/۰۵).

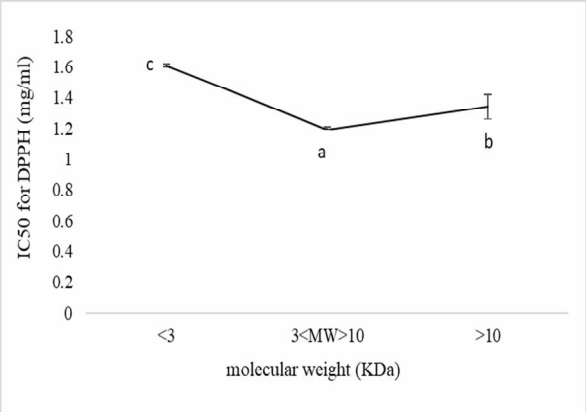

Fig 1 The result of IC_{50} value for DPPH radical scavenging activity of the different molecular weight fractions of protein hydrolysate produced from Common carp head. *Mean ± SD (n=3). Different lowercase (a-d) letters show significant differences (p<0.05).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.6.6]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.319]

۳-۲- قدرت کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی (یون فریک)

نتایج سنجش قدرت کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی در جدول ۲ آمده است. با افزایش غلظت، قدرت کاهندگی آهن سه ظرفیتی در تمامی وزن‌های مولکولی افزایش معنی‌داری پیدا کرد (p<۰/۰۵). در تمامی غلظت‌ها نیز بین وزن‌های مولکولی مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده شد و با افزایش وزن مولکولی، قدرت کاهندگی به طور معنی‌داری افزایش یافت (p<۰/۰۵).

Table 2 Ferric ion (Fe^{+3}) reduction power of the different molecular weight fractions of protein hydrolysate produced from Common carp head

Molecular weight (KDa)	Concentration (mg/ml)		
	1	2	3
<3	0.08 ± 0.007^{Aa}	0.163 ± 0.006^{Ba}	0.206 ± 0.003^{Ca}
3-10	0.124 ± 0.005^{Ab}	0.273 ± 0.003^{Bb}	0.322 ± 0.008^{Cb}
>10	0.18 ± 0.006^{Ac}	0.321 ± 0.002^{Bc}	0.398 ± 0.004^{Cc}

*Mean ± SD (n=3). Different uppercase (A-D) and lowercase (a-d) letters show significant difference in each raw and column, respectively (p<0.05).

۳-۳- قدرت مهارکنندگی رادیکال ABTS

نتایج سنجش قدرت مهار رادیکال آزاد **ABTS** در وزن‌های مولکولی کمتر از ۳، بین ۳ الی ۱۰ و بالای ۱۰ کیلودالتون نشان داد (جدول ۳) که با افزایش غلظت، قدرت مهارکنندگی نیز در تمامی وزن‌ها افزایش پیدا کرد (p<۰/۰۵).

Table 3 ABTS radical scavenging activity (%) of the different molecular weight fractions of protein hydrolysate produced from Common carp head

Molecular weight (KDa)	Concentration (mg/ml)				
	1	1.5	2	2.5	3
<3	13.38 ± 1.71^{Aa}	27.46 ± 1.39^{Ba}	42.94 ± 1.69^{Ca}	61.82 ± 1.25^{Da}	78.30 ± 0.70^{Ea}
3-10	16.32 ± 0.56^{Ab}	38.02 ± 1.53^{Bc}	52.79 ± 1.53^{Cc}	69.98 ± 1.14^{Dc}	90.38 ± 1.41^{Ec}
>10	16.52 ± 0.57^{Ab}	32.34 ± 1.27^{Bb}	47.01 ± 1.08^{Cb}	65.45 ± 1.87^{Db}	82.61 ± 1.57^{Eb}

*Mean ± SD (n=3). Different uppercase (A-D) and lowercase (a-d) letters show significant difference in each raw and column, respectively (p<0.05).

در تمامی غلظت‌ها نیز بین وزن‌های مختلف مولکولی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد و بیشترین و کمترین قدرت مهارکنندگی به‌ترتیب در وزن مولکولی ۳-۱۰ و کمتر از ۳ کیلودالتون مشاهده شد (p<۰/۰۵). تنها در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در بین وزن مولکولی ۳-۱۰ و بالای ۱۰ کیلودالتون تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵).با توجه به شکل ۲ نتایج محاسبه مقادیر IC_{50} نشان داد که بین وزن‌های مولکولی مختلف اختلاف معنی-دار مشاهده شد و وزن مولکولی ۳ الی ۱۰ کیلودالتون کمترین IC_{50} را داشت.

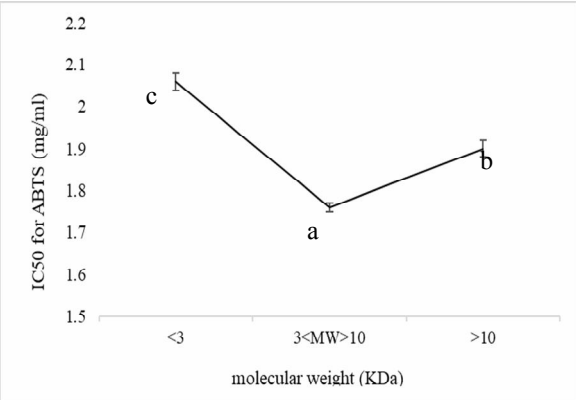

Fig 2 The result of IC_{50} value for ABTS radical scavenging activity of the different molecular weight fractions of protein hydrolysate produced from Common carp head. *Mean ± SD (n=3). Different lowercase (a-d) letters show significant difference in each raw (p<0.05).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.6.6]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.319]

٤- بحث

در تحقیق حاضر، قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH در پپتیدهای با محدوه وزن ملکولی بین ۳ تا ۱۰ کیلودالتون، بیشتر از محدوده-های بالای ۱۰ و زیر ۳ کیلودالتون بوده است. همچنین با افزایش غلظت، قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH در تمامی وزن‌های ملکولی افزایش یافت. DPPH یک رادیکال آزاد پایدار است و زمانی که از یک آنتی‌اکسیدان الکترون دریافت کند مهار می‌شود [۳٦]. استفاده از DPPH، روشی ارزان و ساده بوده و به طور گسترده برای تست مهارکنندگی یا ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳۷]. نوع سازوکار آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای زیست‌فعال هنوز به خوبی مشخص نیست و احتمالا آمینواسیدهایی مثل هیستیدین، سیستئین، والین، پرولین، فنیل-آلانین، تیروزین و تریپتوفان نقش مهمی در عملکرد آنتی‌اکسیدانی پپتیدها و پروتئین‌های آبکافت شده ماهی دارند [۳۸، ۳۹]، همچنین توالی پپتیدها، ترکیب و درصد آبگریز بودن آن‌ها خصوصیات آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای جدا شده را مشخص می‌کند [٤۰، ٤۱، ٤۲]. در مطالعه Lahart و همکاران (۲۰۱۱) [٤۳] در مورد آبکافت کازئین نیز با پیشرفت آبکافت، وزن مولکولی پروتئین آبکافتی حاصل کاهش یافت و با کاهش وزن مولکولی فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تر بود. آنزیم‌های مختلف پیوندهای مختلفی را می‌شکنند و توان ایجاد وزن‌های مولکولی مختلفی را دارند و در نهایت وزن‌های مختلف اثر مختلفی را بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی خواهند گذاشت که متاثر از خواص پپتیدهای حاصل از آبکافت می‌باشد. در تحقیق Xiu-xia و همکاران (۲۰۰۸) [٤٤] وزن مولکولی ۵۰۰ تا ۱۵۰۰ دالتون بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی از جمله مهار رادیکال آزاد را داشتند. در مطالعه Bougatef و همکاران (۲۰۰۹) [٤۵] که پپتیدهای حاصل از آبکافت پروتئین عضله کوسه با وزن‌های مختلف مولکولی شامل ۳۵۰۰، ٦۵۰۰ الی ۱۲۲۰۰ و ۱۲۲۰۰ دالتون مورد بررسی قرار گرفتند، مشخص شد که وزن مولکولی ۳۵۰۰ دالتون بهترین وضعیت آنتی‌اکسیدانی را داراست. علاوه بر این، در مطالعه Dong و همکاران (۲۰۱۳) [۲۸] سه وزن مولکولی کمتر از ۱، ۱ الی ۵ و بالاتر از ۵ کیلودالتون از پروتئین آبکافتی ماهی کپور نقره‌ای استخراج شد و نتایج حاصل نشان داد که وزن مولکولی بالاتر از ۵ کیلودالتون بیشترین قدرت مهار رادیکال DPPH را داشت. همچنین بین وزن‌های مختلف مولکولی (کمتر از ۵۰۰، بین ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ و بیشتر از ۱۰۰۰ دالتون) حاصل از آبکافت ماهی کراکر (*Umbrina canosai*) با آنزیم فلاورزایم و کیموتریپسین، وزن مولکولی بیش از ۱۰۰۰ دالتون بیشترین فعالیت مهار رادیکال DPPH را نشان داد. همچنین بیان شده که فعالیت مهار رادیکال DPPH وابسته به غلظت بود به طوری که در پروتئین آبکافت شده با کیموتریپسین میزان فعالیت با افزایش غلظت افزایش یافت اما با افزایش به بیشتر از ۲/۵ میلی‌گرم/میلی-لیتر، تغییری در فعالیت مهار رادیکال DPPH مشاهده نشد [۱٤]. در مطالعه De Quadros و همکاران (۲۰۱۹) [۵] قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH پروتئین آبکافتی حاصل از blackfin pacu (*Colossoma macropomum*) در محدوده‌های مختلف وزن مولکولی (بیشتر و کمتر از یک کیلودالتون) وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت، میزان فعالیت افزایش یافت و در تمام غلظت‌ها وزن مولکولی کمتر از یک کیلودالتون، فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH بیشتری نشان داد. نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که وزن‌های مولکولی مختلف از پروتئین آبکافتی سر ماهی کپور معمولی به عنوان اهداکننده الکترون عمل کرده و توانایی پایدار کردن رادیکال DPPH را دارند.

همچنین در تحقیق حاضر نتایج حاصل از اندازه‌گیری قدرت کاهندگی یون آهن برای محدوده‌های مختلف وزن مولکولی نشان داد که پپتیدهای بالای ۱۰ کیلودالتون اثر کاهندگی یون آهن فریک بیشتری نسبت به ۳ تا ۱۰ و زیر ۳ کیلودالتون دارند، همچنین با افزایش غلظت در تمامی وزن‌های ملکولی میزان کاهندگی یون آهن نیز افزایش پیدا کرد. قدرت کاهندگی یون آهن شاخص دیگری است که تحت تاثیر درجه آبکافت تغییر می‌کند و یکی از موثرترین روش‌ها جهت ارزیابی عملکرد آنتی-اکسیدان‌ها برای اهدای الکترون بوده و عدد آن بین صفر تا ۱ می-باشد [۱٤، ۲۳]. نتایج مطالعه Wu و همکاران (۲۰۰۳) [٤٦] که بر روی آبکافت ماهی ماکرل (*Scomber scombrus*) انجام شد، نشان داد که پپتیدهای با وزن مولکولی ۱٤۰۰ دالتون نسبت به ۹۰۰ و ۲۰۰ دالتون بیشترین قدرت کاهندگی را داشته‌اند. همچنین این محققین بیان کردند تغییر اندازه، مقدار و ترکیب اسید آمینه آزاد تولید شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی را تحت تاثیر

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.6.6]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.319]

قرار می‌دهند. افزایش میزان آبکافت همیشه به افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی منجر نخواهد شد و علت کاهش ظرفیت کاهندگی فریک در این مطالعه را می‌توان به مقدار بیش از حد اسید آمینه آزاد مرتبط دانست، زیرا پپتیدها اثربخشی بیشتری نسبت به اسیدآمینه آزاد دارند و با افزایش تبدیل پپتیدها طی فرآیند آبکافت به اسید آمینه آزاد این اثربخشی کاهش می‌یابد. خصوصیات پپتیدهای جداشده از پروتئین آبکافتی مانند توالی و ترکیب آن‌ها در آبکافت‌های مختلف متغیر بوده و ممکن است خاصیت کاهندگی یون فلزی از طریق اهدای هیدروژن یا دادن الکترون را نداشته باشند. به عنوان مثال اسید آمینه‌های آبگریز از جمله هیستیدین، پرولین، متیونین، سیستئین، تیروزین و فنیل آلانین فعالیت آنتی‌اکسیدانی پپتیدها را بهبود می‌بخشند [۴۱، ۴۲، ۴۷]. علاوه بر این، در قدرت کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی در تحقیق حاضر در تمامی غلظت‌ها بین وزن‌های مختلف مولکولی تفاوت معنی‌داری وجود داشت و با افزایش وزن مولکولی، به طور معنی-داری افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). وزن مولکولی بیش از ۱۰ کیلودالتون در شاخص قدرت کاهندگی آهن سه ظرفیتی مناسب-تر بود. Bougatef و همکاران (۲۰۱۰) [۳۸] عنوان کردند اندازه پپتیدهای پروتئین آبکافتی ساردین قدرت کاهندگی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. تحقیق Xiu-xia و همکاران (۲۰۰۸) [۴۴] نشان داد وزن مولکولی ۵۰۰ تا ۱۵۰۰ دالتون بیشترین قدرت کاهندگی را داشت. همچنین در مطالعه Bougatef و همکاران (۲۰۰۹) [۴۵] بین پپتیدهای حاصل از آبکافت پروتئین عضله کوسه با وزن‌های مولکولی ۳۵۰۰، ۶۵۰۰ الی ۱۲۲۰۰ و ۱۲۲۰۰ دالتون، وزن مولکولی ۳۵۰۰ بهترین وضعیت آنتی‌اکسیدانی از جمله قدرت کاهندگی را نشان داد. Dong و همکاران (۲۰۱۳) [۲۸] در مقایسه سه دامنه وزن مولکولی کمتر از ۱، ۱ الی ۵ و بالاتر از ۵ کیلودالتون حاصل از پروتئین آبکافت شده ماهی کپور نقره‌ای، بیشترین قدرت کاهندگی آهن را در وزن مولکولی ۱ الی ۵ کیلودالتون گزارش نمودند. این تحقیقات این موضوع را تایید می‌کند که وزن‌های مولکولی مختلف پپتیدی ویژگی‌های مختلفی را ایجاد کرده که در نهایت منجر به بروز خاصیت آنتی‌اکسیدانی متفاوت می‌گردد. بین وزن‌های مختلف مولکولی (کمتر از ۵۰۰، بین ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ و بیشتر از ۱۰۰۰ دالتون) حاصل از آبکافت ماهی کراکر (*U. canosai*) با آنزیم‌های فلاورزایم و کیموتریپسین، به‌ترتیب وزن مولکولی بیش از ۱۰۰۰ دالتون و وزن مولکولی بین ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ دالتون بیشترین فعالیت کاهندگی آهن را نشان دادند [۱۴]. نتایج مطالعات نشان داده است که خواص آنتی‌اکسیدانی نه فقط به وزن مولکولی بلکه به توالی و ترکیب محدوده‌های مختلف وزن مولکولی پپتیدی از نظر آبگریزی، توانایی انتقال الکترون توسط باقیمانده‌های آمینواسیدی در توالی و شرایط آبکافت وابسته است [۴۸]. نتایج مطالعه De Quadros و همکاران (۲۰۱۹) [۵] نشان داد که فعالیت کاهندگی آهن وزن‌های مختلف مولکولی پروتئین آبکافتی حاصل از blackfin pacu (*C. macropomum*) به‌جز در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر در تمام غلظت‌های مورد تحقیق (۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) در وزن مولکولی کمتر از یک کیلودالتون بیشتر از وزن مولکولی بالای یک کیلودالتون بود. مقادیر مختلف فعالیت کاهندگی آهن ممکن است به افزایش قابلیت دسترسی به یون‌های هیدروژن تولید شده در طول آبکافت مرتبط باشد [۴۹].

سنجش توانایی مهار رادیکال ABTS یک روش رنگ‌سنجی است که بر اساس شکل‌گیری رادیکال کاتیون ABTS ساخته شده است و ابزاری عالی برای تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های اهدا کننده هیدروژن (مهارکنندگی رادیکال‌های فاز آبی) و آنتی‌اکسیدان‌های شکننده زنجیره (شکستن رادیکال‌های پراکسید لیپید) است. رادیکال ABTS نسبتاً پایدار است و به راحتی توسط آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش می‌یابد. پپتیدهای مختلف با اندازه مولکولی، ممکن است فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوتی نیز از خود نشان دهند [۵۰]. از طریق فرآیند اولترافیلتراسیون می‌توان پپتیدها را بر اساس وزن مولکولی جدا کرد. درجه آبکافت بالاتر نشان‌دهنده این است که پیوندهای پپتیدی بیشتری شکسته شده و پپتیدهایی با وزن مولکولی پایین‌تر تولید شده است. در نهایت افزایش درجه آبکافت منجر به افزایش سر آزاد گروه‌های آبدوست کربوکسیلی و آمینی می‌شود که حلالیت بیشتر پپتیدها را بدنبال دارد، اگرچه در تحقیق حاضر با کاهش وزن مولکولی به کمتر از ۳ کیلودالتون قدرت مهار رادیکال آزاد ABTS کاهش یافت. بنابراین با توجه به این نتیجه می‌توان در شرایط موجود در مطالعه حاضر اظهار داشت که کاهش وزن مولکولی پپتیدها به معنای اثربخشی بهتر نمی‌باشد و پپتیدها در محدوده وزنی به

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.6.6]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.319]

خصوصی، اثرات آنتی‌اکسیدانی بهتری را نشان می‌دهند. در مطالعه Chai و همکاران (۲۰۱۵) [۵۱] فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS در وزن‌های کمتر از ۳، ۳ الی ۱۰ و بیشتر از ۱۰ کیلودالتون در پپتیدهای حاصل از آبکافت ماهی *Potamotrygon motoro* اندازه‌گیری شد و نتایج نشان داد که وزن ۳ الی ۱۰ کیلودالتون قدرت بیشتری برای مهار رادیکال آزاد ABTS داشت. Dong و همکاران (۲۰۱۳) [۲۸] در مقایسه‌ی سه وزن مولکولی کمتر از ۱، ۱ الی ۵ و بالاتر از ۵ کیلودالتون حاصل از پروتئین آبکافتی ماهی کپور نقره‌ای، وزن کمتر از ۱ کیلودالتون را وزن بهینه به منظور افزایش قدرت مهار ABTS دانستند. بین وزن‌های مختلف مولکولی (کمتر از ۵۰۰، بین ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ و بیشتراز ۱۰۰۰ دالتون) حاصل از آبکافت ماهی کراکر (*U. canosai*) با آنزیم فلاورزایم و کیموتریپسین، وزن مولکولی بیش از ۱۰۰۰ دالتون بیشترین فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS را نشان داد [۱٤]. در مطالعه De Quadros و همکاران (۲۰۱۹) [۵] در غلظت کمتر از ۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر (۰/۵، ۱ و ۲/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) از پروتئین آبکافتی حاصل از blackfin pacu (*C. macropomum*)، وزن مولکولی کمتر از یک کیلودالتون فعالیت مهار رادیکال ABTS بیشتری نشان داد، اما در غلظت ۵ میلی‌گرم، وزن مولکولی بیش از یک کیلودالتون، فعالیت بیشتری داشت.

۵- نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی آنتی‌اکسیدان‌ها با مهار رادیکال آزاد به طرق مختلف از واکنش‌های اکسیداسیون جلوگیری به عمل می‌آورند. در تحقیق حاضر، برای تعیین وزن مولکولی مناسب جهت ارتقای فعالیت-های آنتی‌اکسیدانی، از روش اولترافیلتراسیون و مقایسه سه محدوده وزن مولکولی مختلف شامل کمتر از ۳، بین ۳ تا ۱۰و بیشتر از ۱۰ کیلودالتون استفاده شد و وزن ۳ الی ۱۰ کیلودالتون در مورد دو شاخص حذف رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS و وزن مولکولی بیش از ۱۰ کیلودالتون در شاخص قدرت کاهندگی آهن سه ظرفیتی مناسب‌تر بودند.

٦- تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تحت قرارداد با شماره ۰۲-۱۳۹۸-۰۳ انجام شد و به این وسیله سپاسگزاری می‌شود.

۷- منابع

[1] Tacon, A.G.J. and Metian, M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects, Aquaculture, 285: 146-158

[2] FAO, 2019. Fishery and aquaculture statistics. Food and Agriculture organization of the United Nations. Pp. 108.

[3] Iran Fisheries Organization Statistics Yearbook. 1392-1397. Deputy of planning and Resource Management. Pp: 33. (in Persian)

[4] Mesbah, M., Mohammadi, G.A., Khajeh, Gh. and Mombenni, A., 2017. Evaluation of physical and biochemical characteristics of farmed common carp melt of Khuzestan province in winter season. Iranian Veterinary Journal, 12(4): 109-117. (in Persian)

[5] De Quadros, C.D.C., Lima, K.O., Bueno, C.H.L., Santos Fogaça, F.H.D., Da Rocha, M. and Prentice, C., 2019. Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activity of protein hydrolysates and peptide fractions derived from *Colossoma macropomum* and their effect on ground beef lipid oxidation. Journal of Aquatic Food Product Technology, 28(6): 677–688

[6] Kittiphattanbawon, P., Benjakil, S., Visessanguan, W. and Shahidi, F., 2012. Gelatin hydrolysate from blacktip shark skin prepared using papaya latex enzyme: Antioxidant activity and its potential in modelsystems. Food Chemistry, 135: 1118–1126.

[7] Sai-Ut, S., Benjakul, S., Sumpavapol P. and Kishimura, H., 2014. Optimization of gelatinolytic enzyme production by B. amyloliquefaciens sp. H11 through Plackett–Burman design and response surface methodology. International Aquatic Research, 6(1): 1-11

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.6.6]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.319]

[8] Prihanto, A.A., Nurdiani, R. and Bagus, A.D., 2019. Production and characteristics of fish protein hydrolysate from parrotfish (*Chlorurus sordidus*) head. PeerJ, 7: 1-16.

[9] Hapsari N. and Welasi, T., 2013. Utilization of fish by product as biofertilizer. Jurnal Teknik Lingkungan, 2(1):1–6.

[10] Liaset, B., Julshamn, K. and Espe, M., 2003. Chemical composition and theoretical nutritional evaluation of the produced fractions from enzymic hydrolysis of salmon frames with protamex™. Process Biochemistry, 38(12): 1747-1759.

[11] Rajapakse, N, Jung, W.K, Mendis, E., Moon, S.H. and Kim S.K., 2005. A novel anticoagulant purified from fish protein hydrolysates inhibits factor XIIa and platelet aggregation. Life Science, 76 (22): 2607-2619.

[12] Shahidi, F. and Zhong, Y., 2008. Bioactive peptides. The Journal of AOAC International, 91(4): 914-31.

[13] Jiang, H., Tong, T., Sun, J., Xu, Y., Zhao, Z.H. and Liao, D., 2014. Purification and characterization of antioxidative peptides from round scad (Decapterus maruadsi) muscle protein hydrolysates. Food Chemistry, 154(1): 158-63.

[14] Centenaro, G.S., Salas-Mellado, M., Pires, C., Batista, I., Nunes, M.L. and Prentice, C., 2014. Fractionation of Protein Hydrolysates of Fish and Chicken Using Membrane Ultrafiltration: Investigation of Antioxidant Activity. Applied Biochemistry and Biotechnology, 172(6): 2877-2893.

[15] Safari, R., Motamedzadegan, A., Ovissipour, M., Regenstein, J.M., Gildberg, A. and Rasco, B., 2009. Use of hydrolysates from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) heads as a complex nitrogen source for lactic acid bacteria. Food and Bioprocess Technology, 5(1): 73-79.

[16] Kim, J. and Kim, S.K., 2013. Bioactive peptides from marine sources as potential anti-inflammatory therapeutics. Current Protein and Peptide Science, 14(3): 177-182.

[17] Ovissipour, M., Benjakul, S., Safari, R. and Motamedzadegan, A., 2010. Fish protein hydrolysates production from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) head using Alcalase and Protamex. International Aquatic Research, 2: 87-95.

[18] Ovissipour, M., Rasco, B., Shiroodi, S.G., Modanlow, M., Gholami, S. and Nemati, M., 2012a. Antioxidant activity of protein hydrolysates from whole anchovy sprat (*Clupeonella engrauliformis*) prepared using endogenous enzymes and commercial proteases. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(7): 1718–1726.

[19] Ovissipour, M., Safari, R., Motamedzadegan, A. and Shabanpour, B., 2012b. Chemical and biochemical hydrolysis of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) visceral protein. Food and Bioprocess Technology, 5(2): 460-465.

[20] Asgharnia, M., Yeganeh, S., Jafarpour S.A. and Safari, R., 2018. Production of protein hydrolysate by chemical method from Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) viscera and its application as a culture media for *Pseudomonas aeruginosa.* Journal of Fisheries Science and Technology. 7(2):101-107. (in Persian)

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

[22] Kim, D.C., Chae, H.J. and In, M.J., 2004. Existence of stable fibrin-clotting inhibitor in salt-fermented anchovy sauce. Journal of Food Composition and Analysis, 17(1): 113-118.

[23] Esmaeili Kharyeki, M., Rezaei, M., Khodabandeh, S. and Motamedzadegan, A., 2018. Antioxidant activity of protein hydrolysate in *Skipjack tuna* head. Journal of Fisheries Science and Technology. 7(1): 57-64 (in Persian)

[24] García-Moreno, P.J., Batista, I., Pires, C., Bandarra, N.M., Espejo-Carpio, F.J., Guadix, A. and Guadix, E.M. 2014. Antioxidant activity of protein hydrolysates obtained from discarded Mediterranean fish species. Food Research International, 65(c): 469-476.

[25] Wiriyaphan, C., Chitsomboon, B. and Yongsawadigul, J., 2012**.** Antioxidant activity of protein hydrolysates derived from threadfin bream surimi byproducts. Food Chemistry, 132(1): 104-111.

[26] Pezeshk, S., Ojagh, S.M., Rezaei, M. and Shabanpour, B., 2017. Optimization of Protein Hydrolysates with Antioxidant Activity of Viscera Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.6.6]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.319]

[36] Shimada, T., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T., 1992. Antioxidant properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40: 945–948.

[37] Yang, P., Ke, H., Hong, P., Zeng, S. and Cao, W., 2011. Antioxidant activity of big eye tuna (*Thunnus obesus*) head protein hydrolysate prepared with alcalase. Internatinal Journal of Food Sciance and Technology, 46: 2460-2466.

[38] Bougatef, A., Nedjar-Arroume, N., Manni, L., Ravallec, R., Barkia, A., Guillochon, D. and Nasri, M., 2010. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. Food Chemistry, 118: 559–565.

[39] Chalamaiah, M., Hemalatha, R. and Jyothirmayi, T., 2012. Fish protein hydrolysates: proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: a review. Food Chemistry, 135(4): 3020-3038.

[40] Jun, S.Y., Park, P.J., Jung, W.K. and 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.

[41] Je, J.Y., Qian, Z.J., Byun, H.G. and Kim, S.K., 2007. Purification and characterization of an antioxidant peptide obtained from tuna backbone protein by enzymatic hydrolysis. Process Biochemistry, 42(5): 840-846.

[42] Ren, J., Zhao, M., Shi, J., Wang, J., Jiang, Y., Cui, C., Kakuda, Y. and Xue, S.J., 2008. Purification and identification of antioxidant peptides from grass carp muscle hydrolysates by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. Food Chemistry, 108: 727–736.

[43] Lahart, N.O., Callaghan, Y., Aherne, S.A., O'Sullivan, D., FitzGerald, R.J. and O'Brien, N.M., 2011. Extent of hydrolysis effects on casein hydrolysate bioactivity: Evaluation using the human Jurkat T cell line. International Dairy Journal, 21(10): 777- 82.

[44] Xiu-xia, L., Lu□jia, H. and Long□jian, C., 2008. In vitro antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from corn gluten meal. with the Protamex Enzyme. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 12(3): 99-108. (in Persian)

[27] Bernardini, R.D., Harnedy, P., Bolton, D., Kerry, J., O'Neill, E., Mullen, A.M., and Hayes, M., 2011. Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. Food Chemistry. 124: 1296–1307.

[28] Dong, S-Y., Zhao, Y-H., Xu, D-X., Liu, Z-Y. and Zeng, M-Y., 2013. Assessing the antioxidant activity of the ultrafiltration fractions from silver carp protein hydrolysate by different antioxidant methods. Journal of Aquatic Food Product Technology, 22(6): 573-583.

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

[30] Careri, M. and Mangia, A., 2003. Analysis of food proteins and peptides by chromatography and mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1000: 609–635.

[31] Gao, D., Cao, Y., and Li, H., 2010. Antioxidant activity of peptide fractions derived from cottonseed protein hydrolysate. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90: 1855–1860.

[32] Foh, M.B.K., Qixing, J., Amadou, I. and Xia, W.S., 2010. Influence of ultrafiltration on antioxidant activity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein hydrolysate. Advance Journal of Food Science and Technology, 2(5): 227-235.

[33] Yeganeh, S., Esmaeili Kharyeki, M. and Ahamdi, H., 2021. Effect of hydrolysis time on the antioxidant activity of Common carp (*Cyprinus carpio*) head protein hydrolysate. Iranian Scientific Fisheries Journal, 29(6): 29-42.

[34] Mishra, K., Ojha, H. and Chaudhury, N.K., 2012. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. Food Chemistry, 130: 1036-1043.

[35] Alemán, A., Giménez, B., Montero, P. and Gómez-Guillén, M.C., 2011. Antioxidant activity of several marine skin gelatins. LWT-Food Science and Technology, 44(2): 407-413.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.6.6]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.319]

Journal of the Science of Food and Agriculture, 88(9): 1660-6.

[45] Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., and Nasri, M., 2009. Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. Food Chemistry, 114(4): 1198–1205.

[46] Wu, H.C., Chen, H.M. and Shiau, C.Y., 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). Food Research International, 36(9-10): 949-957.

[47] You, L., Zhao, M., Regenstein, J.M. and Ren, J., 2010. Purification and identification of antioxidative peptides from loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. Food Research International, 43: 1167–1173.

[48] Chabeaud, A., Dutournié, P., Guérard, F., Vandanjon, L. and Bourseau, P., 2009. Application of response surface methodology to optimise the antioxidant activity of a saithe (*Pollachius virens*) hydrolysate. Marine Biotechnology, 11: 445–455.

[49] Kong, B., and Xiong, Y. L., 2006. Antioxidant activity of zein hydrolysates in a liposome system and the possible mode of action. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 6059–6068.

[50] Nalinanon, S., Benjakul, S., Kishimura, H. and 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(4): 1354-1362.

[51] Chai, T.T., Tong, S.R., Law, Y.C., Ismail, N.I.N. and Wong F.C., 2015. Anti-oxidative, metal chelating and radical scavenging effects of protein hydrolysates from blue-spotted stingray. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 14(8): 1349–1355.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.6.6]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.319]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

An investigation on antioxidative properties of different molecular weight fractions of protein hydrolysate produced from Common carp (*Cyprinus carpio*) head

Yeganeh, S. [1*], Esmaeili Kharyeki, M. [2], Ahamdi, H. [3]

1. PhD. Prof. Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
2. PhD. Assisstant Prof. Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
3. MSc graduated, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

ARTICIE INFO

Article History:

Received 2020/ 06/ 26
Accepted 2021/ 09/ 04

Keywords:

Protein hydrolysate, molecular weight, Common carp head, antioxidative properties.

DOI: 10.52547/fsct.18.119.319

*Corresponding Author E-Mail: s.yeganeh@sanru .ac.ir

ABSTRACT

In the present study, the antioxidant properties of different molecular weight fractions and different concentrations of protein hydrolysate from Common carp (*Cyprinus carpio*) head were investigated. Fish heads were hydrolyzed by Alcalase enzyme (1% v/w) at 55˚C and pH 8 during 180 min. The supernatant was fractionated to three different molecular weight fractions of <3, between 3 and 10 and >10 KDa by ultrafiltration. The results showed a significant difference between DPPH radical scavenging activity of the different molecular weight fractions, and the highest and the lowest values were observed in the fractions of 3-10 and less than 3 KDa, respectively ($p < 0.05$). The fraction with molecular weight of 3-10 KDa showed the lowest IC_{50} (1.15±0.015 mg/ml) for DPPH scavenging activity. As the concentration increased, ferric ion reducing power of all molecular weight fractions were increased, and the highest value was observed in the molecular weight of more than 10 kDa ($p < 0.05$). Significant differences of ABTS radical scavenging activity were observed between the different molecular weight fractions at all concentrations, and the highest and the lowest values were observed in the molecular weight fractions of 3-10 and less than 3 kDa, respectively ($p < 0.05$). The molecular weight fraction of 3-10 kDa, exhibited the lowest IC_{50} value for ABTS radical scavenging activity (1.1±0.01 mg/ml). In general, according to the positive function of Common carp head protein hydrolysate at different concentrations and different molecular weights on DPPH and ABTS radical scavenging activity and ferric ion reducing power, it can be stated that this protein hydrolysate can be considered as a natural antioxidant for use in the food industry or animal, poultry and aquatic feed.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-24]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.6.6]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.319]