



تاثیر پیش تیمار مایکروویو بر درجه هیدرولیز و فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده اندرونه
فیل ماهی (*Husohuso*)

مینا اسمعیلی خاریکی^{۱*}، سیده محدثه حسینی^۱

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

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>تاریخ های مقاله :</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۶</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۳</p>	<p>هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر پیش تیمار مایکروویو بر درجه هیدرولیز و فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی (<i>Husohuso</i>) بود. بدین منظور، اندرونه ماهی با دو شرایط شامل بدون تیمار با مایکروویو و یا پس از ده دقیقه تیمار با مایکروویو (فرکانس ۲۴۵۰ هرتز و دمای ۹۰ درجه سانتی گراد)، توسط آنزیم آلکالاز با غلظت ۲ درصد، دمای ۵۵ درجه سانتی گراد و pH ۸ هیدرولیز گردید و سپس درجه هیدرولیز و فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های تولید شده مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده، درجه هیدرولیز تیمار تحت مایکروویو نسبت به نمونه بدون تیمار به صورت معناداری بالاتر بود ($p < 0/05$). همچنین نمونه تولید شده تحت تیمار با مایکروویو فعالیت آنتی اکسیدانی (توانایی مهار رادیکال های DPPH و ABTS و قدرت کاهندگی یون آهن) بالاتری نسبت به تیمار کنترل نشان داد ($p < 0/05$). مقادیر IC_{50} این تیمار در مهار رادیکال های DPPH و ABTS به ترتیب ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و ۱/۶۳ میلی گرم بر میلی لیتر بدست آمد که کمتر از تیمار کنترل بود ($p < 0/05$). همچنین در هر دو نمونه با افزایش غلظت، فعالیت آنتی اکسیدانی به صورت معناداری افزایش پیدا کرد ($p < 0/05$). در مجموع می توان بیان نمود که پیش تیمار مایکروویو به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد اثر مطلوبی بر خصوصیات پروتئین هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی داشته که می تواند بیانگر قابلیت کاربرد این فن آوری در فرآیند تولید پروتئین هیدرولیز شده ماهی باشد.</p>
<p>کلمات کلیدی:</p> <p>پروتئین هیدرولیز شده، مایکروویو، فعالیت آنتی اکسیدانی، فیل ماهی، ضایعات.</p> <p>DOI: 10.22034/FSCT.19.133.155 DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.133.13.8</p> <p>* مسئول مکاتبات: Mina.smaily@gmail.com</p>	

۱- مقدمه

آنزیمی باعث بهبود رهاسازی پپتیدهای زیست فعال از انواع مختلف پروتئین‌ها می‌شود. این روش‌ها شامل فن‌آوری‌های فشار هیدرواستاتیک بالا (HPP)، اولتراسوند (US)، مایکروویو (MV)، حمام آبی (HT)، میدان الکتریکی پالسی (PEF) و غیره می‌باشند [۱۳-۱۹]. امواج مایکروویو در واقع به موج الکترومغناطیسی با طول موج از ۱ میلی‌متر تا ۱ متر و فرکانس از ۳۰۰ مگاهرتز تا ۳۰۰ گیگاهرتز اطلاق می‌شود [۲۰]. اخیراً استخراج به کمک مایکروویو به عنوان یک تکنیک کارآمد برای استخراج ترکیبات فعال زیستی با بازده بالا، استفاده کم از حلال‌ها و کاهش زمان استخراج گزارش شده است [۲۱]. مایکروویو همچنین برای پیش تیمار مواد بیولوژیکی برای بهبود سرعت واکنش آنزیمی استفاده شده است [۲۲]. این فرآیند باعث افزایش باز شدن ساختار پروتئین‌ها شده و دسترسی آنزیم‌ها به باندهای پپتیدی را افزایش می‌دهد و در نهایت منجر به تولید پروتئین هیدرولیز شده با خواص کارکردی و عملکرد زیست فعال مناسب می‌گردد [۲۳]. با توجه به مطالب بیان شده، در پژوهش حاضر به منظور بهره‌برداری از اندرونه فیل ماهی (*H. huso*) که یکی از ضایعات حاصل از فرآوری این ماهی می‌باشد، فرآیند هیدرولیز آنزیمی با آنزیم آلکالاز مورد استفاده قرار گرفته و همچنین تأثیر پیش تیمار مایکروویو بر درجه هیدرولیز و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده بررسی شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه ماده اولیه

پنج کیلوگرم اندرونه فیل ماهی از مرکز پرورش ماهیان خاویاری قره‌برون واقع در منطقه چپکروود تهیه شده و در جعبه‌های یونولیتی حاوی یخ در کوتاه‌ترین زمان به آزمایشگاه فرآوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انتقال یافت. سپس اندرونه‌ها پس از شستشو و آبکشی با آب خنک، با استفاده از چرخ گوشت صنعتی چرخ شده و در بسته های پلی‌اتیلنی بسته‌بندی شده و تا انجام آزمایشات بعدی در فریز ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

در سال‌های اخیر با توجه به روند رو به رشد جمعیت جهان و افزایش نیاز به پروتئین در برنامه غذایی، توجه پژوهشگران و صنعت به منابع دریایی جلب شده است که منجر به مصرف بیشتر آبزیان به ویژه ماهی گردیده است [۱]. افزایش تولید آبزیان منجر به افزایش تولید محصولات جنبی حاصل از فرآوری شده است ولی این ضایعات به ندرت مورد استفاده برای مصرف انسانی قرار می‌گیرند [۲]. پس از فرآوری ماهیان مقادیر بسیار زیادی باقی مانده‌های خام حاصل از فرآوری شامل ستون مهره، استخوان‌های تنه ماهیان، سر، پوست، باله، فلس و اندرونه به جا می‌ماند که گاهی تا حدود ۷۵٪ از وزن کل ماهی را شامل می‌شود [۱]. این محصولات جنبی غنی از پروتئین و چربی هستند و می‌توانند به منظور تولید ترکیبات با ارزش همانند روغن ماهی، سوخت زیستی، آنزیم‌ها، اسیدهای چرب امگا، پروتئین‌ها و پپتیدهای زیست فعال مورد استفاده قرار گیرند [۳]. ارزیابی ترکیبات شیمیایی ضایعات گونه‌های مختلف ماهی نشان داده است که بیش از ۵۰٪ وزن خشک آن‌ها را پروتئین تشکیل می‌دهد [۴]. اندرونه ماهیان که یکی از مهم‌ترین ضایعات آن‌ها می‌باشد، سرشار از پروتئین است [۵]. بنابراین می‌توان از روش‌های مختلف فرآوری برای استفاده از این ترکیبات ارزشمند استفاده نمود تا حداکثر بهره‌برداری و بازیافت صورت گیرد [۶]. یکی از این روش‌های فرآوری استفاده از فرآیند هیدرولیز است [۷]. هیدرولیز پروتئین ماهی یک استراتژی مناسب و اقتصادی جهت دستیابی به محصولات با ارزش می‌باشد [۸]. پروتئین هیدرولیز شده مخلوطی از فرکشن‌های مختلف پپتیدی با محدوده متنوعی از وزن‌های ملکولی و خواص زیست فعال می‌باشد [۹]. خواص پپتیدهای زیست فعال وابسته به اندازه و وزن ملکولی آن‌ها و همچنین ترکیب و توالی آمینواسیدی آن‌ها است و گاهی پپتیدهای تولید شده دارای خواص چندگانه مختلف‌همانند عملکرد ضد میکروبی، تقویت سیستم ایمنی، مهارکنندگی آنزیم تبدیل کننده آنژیوتنسنین I، بازدارندگی رنین، عملکرد ضد انعقادی، خواص ضد سرطان، ضد تومور، ضد آلزایمر، ضد دیابت و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند [۱۰-۱۲]. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که پیش تیمار پروتئین‌ها قبل از هیدرولیز

۲-۲-۲- تولید پروتئین هیدرولیز شده**۲-۲-۱- نمونه بدون پیش تیمار**

به منظور آماده سازی نمونه ها، ابتدا ۵۰ گرم نمونه چرخ شده اندرونه فیل ماهی در دمای $0/2 \pm 4$ درجه سانتی گراد انجام دزدایی شده و با آب مقطر با نسبت ۱:۲ (W/V) مخلوط و با هموژنایزر (IKA T25-Digital Ultra-Turrax) به مدت ۲ دقیقه هموژن شدند. سپس ظروف حاوی نمونه به منظور غیرفعال کردن آنزیم های داخلی، به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آبی (Memmert wub 29, Germany) با دمای ۹۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. غلظت آنزیم آلکالاز (Alcalase 2.4 L FG, Novozymes) ۲ درصد، دما ۵۵ درجه سانتی گراد و pH ۸ در نظر گرفته شد. پس از افزودن آنزیم آلکالاز، ظروف حاوی نمونه در انکوباتور شیکردار قرار گرفته و مدت زمان هیدرولیز نیز ۱۲۰ دقیقه در نظر گرفته شد. در نهایت برای قطع واکنش آنزیمی ظروف حاوی نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آبی ۹۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. نمونه ها پس از خنک شدن تا دمای اتاق، به مدت ۳۰ دقیقه و با دور ۶۰۰۰g با استفاده از سانتریفیوژ یخچال دار (United States Sigma, 3-30KS)، سانتریفیوژ شدند. قسمت سوپرناتانت به وسیله سمپلر جدا شده و پس از انجام، با دستگاه خشک کن انجامی (Vaco 2 Zirbus, Germany) خشک شده و برای آنالیزهای مربوطه در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید [۲۴].

۲-۲-۲- پیش تیمار با میکروویو

نمونه ها پس از طی مراحل آماده سازی ذکر شده برای نمونه شاهد، پیش از افزودن آنزیم آلکالاز تحت تیمار با میکروویو قرار گرفتند. بدین منظور نمونه های هموژن شده در ظروف درب دار مخصوص میکروویو، در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد و فرکانس ۲۴۵۰ هرتز، به مدت ۱۰ دقیقه تحت تیمار با میکروویو قرار داده شدند. بقیه مراحل هیدرولیز به روش ذکر شده در بالا انجام شد [۱۸].

۲-۳- سنجش پروتئین محلول

مقدار پروتئین محلول به روش لوری و همکاران [۲۵] و با استفاده از آلبومین سرم گاوی (۱-۰/۱ میلی گرم/میلی لیتر) به عنوان پروتئین استاندارد و خواندن جذب نمونه ها با استفاده از

دستگاه خوانش جذب میکروپلیت، در طول موج ۷۵۰ نانومتر سنجش شد.

۲-۴- تعیین درجه هیدرولیز

به منظور سنجش درجه هیدرولیز باتدا ۵۰۰ میکرو لیتر از پروتئین آبکافت شده با ۵۰۰ میکرو لیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰٪ مخلوط شده و سپس با دور ۸۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مقدار پروتئین در فاز محلول به روش لوری تعیین و در نهایت درجه هیدرولیز با معادله زیر محاسبه شد [۲۶]:

درجه هیدرولیز (%)

$$= 100 \times \frac{\text{میزان نیتروژن در محلول}}{\text{میزان نیتروژن در نمونه}} \times 100$$

میزان نیتروژن در نمونه

۲-۵- سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین**هیدرولیز شده****۲-۵-۱- قدرت مهار رادیکال آزاد ۲ و ۲ دیفنیل -۱-****پیکریل هیدرازیل (DPPH)**

برای انجام این آزمایش حجم مشخصی از نمونه در غلظت های مختلف با همان مقدار محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH در متانول مخلوط شد. سپس مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط در تاریکی قرار داده شد و در نهایت عدد جذب مخلوط به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (Spectrophotometer UV-M51 UV/Vis, Italy) در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد مهار رادیکال طبق رابطه زیر محاسبه گردید [۲۷]:

$$DPPH = 100 \times \frac{(Ab - As)}{Ab}$$

Ab: جذب شاهد As: جذب نمونه

As = جذب نمونه خوانده شده - جذب رنگ نمونه (۱ میلی لیتر نمونه + ۱ میلی لیتر متانول)

۲-۵-۲- سنجش فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS

برای سنجش فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS از روش Alemán و همکاران (۲۰۱۱) استفاده شد [۲۸]. محلول ۷ میلی مولار ABTS در پتاسیم پرسولفات ۲/۴۵ میلی مولار تهیه و

ادامه، از فاز رویی برداشته شده و با حجم برابری از آب مقطر و محلول کلرید فریک ۰/۱ درصد ترکیب شد. در نهایت جذب محلول حاصل در طول موج ۷۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر (Spectrophotometer UV-M51 UV/Vis, Italy) قرائت شد.

۲-۶- روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 17 انجام گرفت. پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلیک، برای مقایسه تاثیر تیمارهای مختلف بر درجه هیدرولیز و عملکرد آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده از آنالیز تی غیرجفتی استفاده شد و بررسی تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۵ درصد انجام گردید. تمام آزمایشات با سه تکرار انجام شد و برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

۳- نتایج

۳-۱- پروتئین محلول

نتایج حاصل از بررسی تاثیر تیمار مایکروویو (MW) و حمام آبی (HT) بر غلظت پروتئین محلول پروتئین هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی در جدول انشان داده شده است. بررسی آماری داده‌ها نشان داد که بین تیمار مایکروویو و حمام آبی تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$) و مقدار آن در تیمار مایکروویو 43.32 ± 1.25 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد.

Table 1 Soluble protein concentration of the protein hydrolysate obtained from Beluga viscera

Pretreatment	Protein concentration (mg/ml)
HT	36.22±1.27
MW	43.32±1.25*

*indicate significant difference ($p < 0.05$)

HT: Control Treatment, MW: Microwave treatment

آماری داده‌ها نشان داد که بین تیمارهای مایکروویو و حمام آبی تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$). همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود بیش‌ترین مقدار آن ۰/۱۹ $56.06 \pm$ درصد بود که در تیمار MW مشاهده شد.

به مدت ۱۶ ساعت در دمای محیط و در جای تاریک نگه‌داری شد، پس از طی زمان مورد نظر، رقیق‌سازی با آب مقطر تا رسیدن به میزان جذب 0.7 ± 0.2 در طول موج ۷۳۴ نانومتر انجام گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر نمونه پروتئین هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی در غلظت‌های مختلف با ۹۸۰ میکرولیتر محلول رقیق‌سازی شده‌ی 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 توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (Spectrophotometer UV-M51 UV/Vis, Italy) خوانده شد و درصد مهارکنندگی رادیکال ABTS با رابطه زیر محاسبه گردید:

=مهارکنندگی رادیکال ABTS

$100 \times \text{جذب نمونه شاهد} / \text{جذب نمونه-جذب نمونه شاهد}$ درصد
- نمونه شاهد از آب مقطر به جای پروتئین هیدرولیز شده استفاده شد و سایر مراحل مشابه با سایر تیمارها طی‌گردید.

۲-۳-۵- قدرت کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی (یون فریک)

جهت سنجش فعالیت کاهندگی یون آهن بر اساس روش Oyaizu (۱۹۸۶) 0.5 میلی‌لیتر پروتئین هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی در غلظت‌های مختلف با $2/5$ میلی‌لیتر فری‌سیناید پتاسیم 1 درصد و $2/5$ میلی‌لیتر بافر فسفات 0.2 مولار ($pH=6.6$) مخلوط شد [۲۹]. سپس ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و به دنبال آن $2/5$ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک‌اسید 10 درصد به آن اضافه گردید. سپس مخلوط حاصل 10 دقیقه با گردش 3000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در

۳-۲- درجه هیدرولیز

نتایج حاصل از بررسی تاثیر تیمارهای مایکروویو (MW) و حمام آبی (HT) بر درجه هیدرولیز پروتئین هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی در جدول ۲ نشان داده شده است. بررسی

Table 2 Degree of hydrolysis (DH) of Beluga viscera protein hydrolysate

Pretreatment	DH (%)
HT	31.20±0.32
MW	56.06±0.19*

*indicate significant difference(p <0.05)

HT: Control Treatment, MW: Microwave treatment

مشاهده شد ($p < 0.05$). در تمامی غلظت‌های اندازه‌گیری شده بیش‌ترین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH مربوط به تیمار MW می‌باشد. همچنین مقایسه مقادیر IC_{50} تیمارها (جدول ۴) نشان داد که بین دو نمونه تیمار اختلاف معنی‌داری وجود داشت و مقدار IC_{50} تیمار MW (0.1 ± 0.25 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و کم‌تر از تیمار HT بود ($p < 0.05$) که نشان دهنده فعالیت بالاتر در مهار رادیکال آزاد DPPH است.

۳-۳-۳- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۳-۳-۳-۱- تاثیر تیمارهای مایکروویو و حمام آبی بر

توانایی حذف رادیکال آزاد DPPH

نتایج حاصل از سنجش قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH پروتئین‌های هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی حاصل از تیمارهای مایکروویو (MW) و حمام آبی (HT) در غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در جدول ۳ مشاهده می‌شود. با توجه به نتایج، در هر غلظت تفاوت معنی‌داری بین تیمارها

Table 3 DPPH free radical scavenging activity (%) of Beluga viscera protein hydrolysate

Concentration (mg/ml)	0.5	1	1.5	2.5
HT	10.73±0.57	22.17±0.7	40.43±0.72	64.01±1.38
MW	14.57±0.49*	34.07±0.22*	50.88±0.37*	73.26±1.25*

* indicate significant difference(p <0.05)

HT: Control Treatment, MW: Microwave treatment

Table 4 The ability of Beluga viscera protein hydrolysate to inhibit 50% of DPPH free radical (IC_{50})

Treatment	IC_{50}
HT	1.78±0.09*
MW	1.25±0.01

* indicate significant difference(p <0.05)

HT: Control Treatment, MW: Microwave treatment

میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در جدول ۵ مشاهده می‌شود. با توجه به نتایج، در هر غلظت تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد ($p < 0.05$). در تمامی غلظت‌های اندازه‌گیری شده بیش‌ترین مقدار احیا کنندگی یون آهن مربوط به تیمار MW بود.

۳-۳-۲- توانایی احیای یون آهن

نتایج حاصل از بررسی قدرت احیا کنندگی یون آهن پروتئین‌های هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی حاصل از تیمارهای مایکروویو (MW) و حمام آبی (HT) در غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵

Table 5 Iron ion reducing power of Beluga viscera protein hydrolysate

Concentration (mg/ml)	0.5	1	1.5	2	2.5
HT	0.093±0.004	0.184±0.009	0.322±0.014	0.541±0.018	0.727±0.017
MW	0.12±0.008*	0.236±0.008*	0.434±0.012*	0.726±0.02*	1.03±0.037*

* indicate significant difference(p <0.05)

HT: Control Treatment, MW: Microwave treatment

جدول ۶ توانایی پروتئین هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی حاصل از تیمارهای مایکروویو MW و حمام آبی HT در حذف

۳-۳-۳- توانایی حذف رادیکال آزاد ABTS

شده نیز با استفاده از درصدهایبازدارندگی درغلظت‌های مختلف محاسبه گردید و همان‌گونه که در جدول ۷ قابل مشاهده است، بین تیمارهای MW و HT تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$).

رادیکال ABTS را نشان می‌دهد. با توجه به نتایج، بین تیمارهای MW و HT در تمامی غلظت‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید ($p < 0.05$). در تمامی غلظت‌های اندازه‌گیری شده تیمار MW درصد توانایی حذف رادیکال ABTS بالاتری نشان داد. مقدار IC_{50} پروتئین‌های هیدرولیز

Table 6 ABTS free radical scavenging activity (%) of Beluga viscera protein hydrolysate

2.5	1.5	1	0.5	Concentration (mg/ml)
59.58±1.74	27.84±0.31	18.16±0.33	10.6±0.45	HT
72.12±1.63*	35.76±0.47*	25.46±0.66*	15.1±0.41*	MW

* indicate significant difference ($p < 0.05$)

HT: Control Treatment, MW: Microwave treatment

Table 7 The ability of Beluga viscera protein hydrolysate to inhibit 50% of ABTS radical (IC_{50})

IC_{50}	Treatment
1.74±0.01*	HT
1.63±0.04	MW

* indicate significant difference ($p < 0.05$)

HT: Control Treatment, MW: Microwave treatment

برای نمونه تحت تیمار با مایکروویو نسبت به نمونه حمام آبی گزارش شده است. محققین بیان کرده‌اند که پیش تیمار با مایکروویو می‌تواند با کوتاه کردن زمان مورد نیاز برای هیدرولیز آنزیمی بر درجه هیدرولیز تأثیر بگذارد [۳۲]. Uluko و همکاران [۳۳] نیز تأثیر پیش تیمارهای التراسوند و مایکروویو بر درجه هیدرولیز پروتئین شیر را بررسی کردند و گزارش دادند که تیمار مایکروویو بالاترین درجه هیدرولیز را نسبت به تیمار اولتراسوند و حمام آبی دارا بود.

رادیکال آزاد DPPH یک ترکیب ناپایدار است که با دریافت الکترون یا هیدروژن به یک مولکول پایدار تبدیل می‌شود [۱۲]. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی‌اکسیدان، از رنگ بنفش به زرد تغییر رنگ می‌دهد [۲۷]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده تنها به یک مکانیسم وابسته نیست. پروتئین‌های هیدرولیز شده حاوی توالی‌های مختلف پپتیدی با مکانیسم‌های اثر متفاوت هستند. برخی از پپتیدهای آنتی‌اکسیدانی به عنوان جاذب یا مهارکننده رادیکال موثرتر هستند و برخی دیگرکاهنده فلزات هستند [۳۴]. فعالیت مهار رادیکال یک پروتئین هیدولیز شده به تعداد پپتیدهایشکسته شده بستگی دارد که به نوبه خود عمدتاً توسط شرایط هیدرولیز مورد استفاده همانند نوع سوبسترا، نوع آنزیم پروتئولیتیک مورد استفاده، شرایط

۴- بحث

مطالعه حاضر با هدف بررسی درجه هیدرولیز و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی تحت تیمار حمام آبی و مایکروویو انجام شد. درجه هیدرولیز نشان دهنده درصد کاهش تعداد پیوندهای پپتیدی در طی فرآیند هیدرولیز است [۳۰] و شاخص اولیه بررسی ویژگی‌های محصول هیدرولیز شده است. مطالعات نشان داده‌اند زمانی که از فناوری‌هایی مانند مایکروویو در طول یا قبل از هیدرولیز آنزیمی استفاده می‌شود درجه هیدرولیز افزایش می‌یابد که در این مطالعه نیز این نتیجه تأیید شده است Izquierdo و همکاران (۲۰۰۸) بیان نموده‌اند که امواج مایکروویو بسته به شدت، فرکانس و مدت زمان قرار گرفتن در معرض امواج، اثرات متفاوتی ایجاد می‌کنند [۳۱]. در مطالعه حاضر نمونه تیمار شده با مایکروویو اثر بهتری را نسبت به نمونه حمام آبی نشان داد. افزایش درجه هیدرولیز در تیمار مایکروویو نسبت به تیمار حمام آبی می‌تواند نتیجه اثرات امواج مایکروویو باشد که باعث باز شدن ساختار پروتئین و بهبود دسترسی آنزیم می‌شود و در نتیجه هیدرولیز آنزیمی را تسریع می‌کند [۳۲]. در مطالعه Ketnawa و Ligeaga [۱۸] بر روی ماهی قزل آلی رنگین‌کمان (*O. mykiss*) درجه هیدرولیز بهتری

پیش تیمار، pH، دما، نسبت آنزیم به سوبسترا و زمان هیدرولیز تعیین می‌شود [۳۵]. در مطالعه حاضر درصد فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت پروتئین هیدرولیز شده افزایش یافت و بیش‌ترین مقدار آن در تیمار مایکروویو (۲۵/۱ ± ۲۳/۲۶ درصد در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مشاهده شد که تقریباً مشابه با مطالعه Nguyen و همکاران (۲۰۱۷) می‌باشد که مقدار فعالیت مهارکنندگی DPPH برای تیمار مایکروویو ۱۵ دقیقه را ۷۱ درصد گزارش کردند [۱۶]. در مطالعه Bruno و همکاران (۲۰۱۹) بر روی پروتئین هیدرولیز شده سر ماهی *Labeorohita* و *Uluko* و همکاران (۲۰۱۴) بر روی پروتئین شیر نیز درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH نمونه تیمار شده با مایکروویو بهتر از نمونه بدون تیمار گزارش شد [۳۴، ۳۶]. توانایی مهار رادیکال DPPH تیمار مایکروویو را می‌توان به افزایش حلالیت پپتیدهای کوچکتر (درجه هیدرولیز بالاتر) و حضور احتمالی درصد بالای اسیدهای آمینه آبگریز در ساختار پپتیدها نسبت داد. مطالعات نشان داده‌اند که تغییرات در اندازه، تعداد، سطح و ترکیب اسیدهای آمینه آزاد و پپتیدهای کوچک در طول زمان هیدرولیز بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی تأثیر می‌گذارد [۳۷].

روش ارزیابی قدرت کاهندگی اغلب جهت بررسی توانایی یک آنتی‌اکسیدان برای اهدای الکترون استفاده می‌شود [۳۸]. در مطالعات مختلف بیان شده است که ارتباط مستقیمی بین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت کاهندگی یک ترکیب زیست‌فعال وجود دارد. در این روش توانایی پروتئین‌های هیدرولیز شده برای کاهش یون فریک به یون فرو ارزیابی می‌شود [۲۴]. تغییر در اندازه، ساختار، تعداد آمینواسیدها و پپتیدها در اثر گذشت زمان و افزایش درجه آبکافت، بر روی کاهندگی یون آهن تأثیرگذار است [۳۹]. در مطالعه حاضر همان‌گونه که در بخش نتایج مشاهده شد، پروتئین هیدرولیز شده حاصل از تیمار مایکروویو فعالیت احیاکنندگی یون آهن بهتری را در تمامی غلظت‌ها دارا بود. در مطالعه Nguyen و همکاران (۲۰۱۷) بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) نمونه تحت تیمار با مایکروویو اثر احیاکنندگی بهتری را نسبت به نمونه بدون تیمار نشان داد [۱۶]. نتایج این مطالعه مشخص کرد که اندازه پپتید نقش مهمی در ظرفیت کاهندگی پپتیدهای زیست‌فعال دارد.

به طور کلی فعالیت کاهندگی به وزن مولکولی، ساختار، ترکیب اسید آمینه و شکل فضایی پپتیدها بستگی دارد [۴۱، ۴۰]. در مطالعه Ketnawa و همکاران (۲۰۱۶) بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) نیز برای نمونه پیش‌تیمار شده با مایکروویو اثر احیاکنندگی آهن بهتری نسبت به نمونه بدون پیش‌تیمار گزارش شد [۱۸]. در این مطالعه بیان شد که این نتیجه را می‌توان به تابش امواج مایکروویو ربط داد که ساختار پروتئین را تغییر می‌دهد و به آنزیم اجازه می‌دهد تا به جایگاه‌های هدف بیشتری دسترسی پیدا کند و پپتیدهای فعال را آزاد کند. در مطالعه Bruno و همکاران (۲۰۱۹) بر روی سر ماهی کپور هندی (*L. rohita*) نیز نمونه حاصل از تیمار مایکروویو بالاترین فعالیت احیاکنندگی یون آهن را نسبت به نمونه کنترل دارا بود [۳۴]. به طور کلی، تیمار مایکروویو فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده سر ماهی کپور هندی را بهبود بخشید. این محققین بیان کردند که بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های حاصل از تیمار مایکروویو به احتمال زیاد به دلیل بازشدن ساختار پروتئین و یا بازآرایی مجدد آن می‌باشد که منجر به در دسترس قرار گرفتن بخش‌های آبگریز برای آنزیم پروتئاز گردید. این تغییرات در نهایت منجر به افزایش سرعت هیدرولیز و تولید مقادیر زیادی از پپتیدهای با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا می‌گردد.

از دیگر شاخص‌های بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، بررسی قدرت مهار رادیکال آزاد ABTS است. رادیکال ABTS یک رادیکال ناپایدار است که به آسانی توسط یک آنتی‌اکسیدان مهار می‌گردد [۴۲]. سنجش فعالیت مهار رادیکال ABTS را می‌توان هم برای ترکیبات چربی دوست و هم برای ترکیبات آبدوست به کار برد و به طور گسترده به عنوان یک روش سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌شود [۴۳]. در پژوهش حاضر بهترین فعالیت حذف رادیکال ABTS در تمامی غلظت‌های اندازه‌گیری شده در تیمار مایکروویو مشاهده شد. در مطالعه Ketnawa و همکاران (۲۰۱۶) بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) درصد مهارکنندگی رادیکال ABTS برای نمونه با پیش‌تیمار مایکروویو (۵۵-۶۰ درصد) گزارش شد [۱۸] و همانند پژوهش حاضر، تیمار حاصل از مایکروویو نسبت به نمونه کنترل عملکرد بهتری داشت. در مطالعه Zheng و همکاران (۲۰۲۱) بر روی استخوان گاو نمونه‌های تیمار شده با

- [2] Wang, H., Seekamp, I., Malzahn, A., Hagemann, A., Carvajal, A. K., Slizyte, R., ... & Reitan, K. I. (2019). Growth and nutritional composition of the polychaete *Hedistediversicolor* (OF Müller, 1776) cultivated on waste from land-based salmon smolt aquaculture. *Aquaculture*, 502, 232-241.
- [3] Girgih, A. T., Udenigwe, C. C., Hasan, F. M., Gill, T. A., & Aluko, R. E. (2013). Antioxidant properties of Salmon (*Salmo salar*) protein hydrolysate and peptide fractions isolated by reverse-phase HPLC. *Food Research International*, 52(1), 315-322.
- [4] He, S., Franco, C., & Zhang, W. (2013). Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). *Food Research International*, 50(1), 289-297.
- [5] Taqif, M., QomiMarzdashti, M., Oysipour, M., (2009). Hydrolyzed protein production from Bluga (*Huso huso*) using alcalase enzyme. *New technologies in the development of aquaculture (Fisheries)*, 4(1), 35-40.
- [6] Li, Z., (2014). Encapsulation of bioactive salmon protein hydrolysates with chitosan-coated liposomes, master of science thesis, the university of Dalhousie, Halifax, Canada.
- [7] Nikoo, M., Benjakul, S., Ehsani, A., Li, J., Wu, F., Yang, N., ... & Xu, X. (2014). Antioxidant and cryoprotective effects of a tetrapeptide isolated from Amur sturgeon skin gelatin. *Journal of Functional Foods*, 7, 609-620.
- [8] Wisuthiphaet, N., Kongruang, S., & Chamcheun, C. (2015). Production of fish protein hydrolysates by acid and enzymatic hydrolysis. *Journal of Medical and Biological Engineering*, 4 (6), 466-470.
- [9] Kim, S.K., (2013). *Marin proteins and peptides: biological activities and applications*. Wiley-Blackwell publication. P:385-435.
- [10] Zhong, S., Ma, C., Lin, Y.C. and Luo, Y. (2011). Antioxidant properties of peptide fractions from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) processing by-product protein hydrolysates evaluated by electron spin resonance spectrometry. *Food Chemistry*, 126(4): 1636-1642.
- [11] Wang, M., Nie, Y., Peng, Y., He, F., Yang, J., Wu, C., Li, X. (2012). Purification,

مایکروویو درصد مهار کنندگی رادیکال ABTS بهتری را نسبت به نمونه بدون تیمار نشان دادند [۴۴]. محققین دلیل احتمالی برای عملکرد بهتر نمونه تیمار شده با مایکروویو در مقایسه با تیمار شاهد را اینگونه بیان کردند که ممکن است در اثر امواج مایکروویو ساختار ثانویه پروتئینها باز شده و تغییرات در ناحیه آبگریز پروتئینها ایجاد شده باشد که منجر به تولید پپتیدهایی با عملکرد آنتی اکسیدانی مطلوب می گردد [۴۵].

۵- نتیجه گیری

در پژوهش حاضر نتایج ارزیابی درجه هیدرولیز نشان داد که پیش تیمار مایکروویو کارایی بالایی در تولید پروتئین هیدرولیز شده با درجه هیدرولیز مناسب داشت. نتایج بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی (*H. huso*) نشان داد که تیمار مایکروویو تاثیر به سزایی بر فعالیت آنتی اکسیدانی داشت به گونه ای که نمونه تیمار شده با مایکروویو فعالیت مهار کنندگی رادیکال DPPH و ABTS و همچنین فعالیت کاهندگی یون آهن بالاتری نسبت به تیمار شاهد نشان داد. مقایسه مقادیر IC_{50} نیز نشان دهنده عملکرد بهتر تیمار مایکروویو بود به گونه ای که در مقایسه با تیمار شاهد در غلظت پایین تری از این پروتئین هیدرولیز شده میزان ۵۰ درصد بازدارندگی رادیکال آزاد مشاهده گردید.

۶- تقدیر و تشکر

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تحت قرارداد با شماره ۰۷-۱۴۰۰-۰۳ انجام شد که به این وسیله سپاسگزاری می شود.

۷- منابع

- [1] Abbasi, S., Naqdi, S., Mousavi Nadoshan, R., (1400). Evaluation of the effect of acid and enzyme extraction methods on the recovery of collagen from the skin of parrotfish (*Scarus ghobban*) and their structural, chemical, antioxidant and functional characteristics, *Journal of Aquaculture Sciences*, 9(1), 213-228.

- structural changes of egg white proteins. Food and Bioprocess Technology, 10(7), 1224-1239.
- [20] Tian, S., Du, K., Yan, F., & Li, Y. (2022). Microwave-assisted enzymatic hydrolysis of wheat germ albumin to prepare polypeptides and influence on physical and chemical properties. Food Chemistry, 374, 131707.
- [21] Xiao, S., Zhang, D., Pan, D., Zhu, W., Liu, P., Cai, Y., ... & Li, H. (2019). A chloroplast structured photocatalyst enabled by microwave synthesis. Nature Communications, 10(1), 1-10.
- [22] Roy, I., Mondal, K., & Gupta, M. N. (2003). Accelerating enzymatic hydrolysis of chitin by microwave pretreatment. Biotechnology Progress, 19(6), 1648-1653.
- [23] Yang, M., Huang, F., Liu, C., Zheng, C., Zhou, Q., & Wang, H. (2013). Influence of microwave treatment of rapeseed on minor components content and oxidative stability of oil. Food and Bioprocess Technology, 6(11), 3206-3216.
- [۲۴] EsmaeiliKharyeki. M., Rezaei. M., Khodabandeh. S., Motamedzadegan. A., (2018). Antioxidant Activity of Protein Hydrolysate of Skipjack tuna Head. Journal of Fisheries Science and Technology 7(1), 57-64. (in Persian).
- [25] Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., (1951). Protein measurement with the folin phenol Reagent. Journal of Biological Chemistry, 193: 265-275.
- [26] Hoyle N.T. and Merritt J.H. (1994). Quality of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). Journal of Food Science, 59, 76-79.
- [27] 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.
- [28] Alemán, A., Pérez-Santín, E., Bordenave-Juchereau, S., Arnaudín, I., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2011). Squid gelatin hydrolysates with antihypertensive, anticancer and antioxidant activity. Food Research International, 44(4), 1044-1051.
- [29] Oyaizu, M., (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of Browning reaction prepared from characterization and antitumor activities of a new protein from *Syngnathusacus*, an official marine fish. Marine Drugs, 10(1): 35-50.
- [12] Farvin, K. S., Andersen, L. L., Nielsen, H. H., Jacobsen, C., Jakobsen, G., Johansson, I., & Jessen, F. (2014). Antioxidant activity of Cod (*Gadus morhua*) protein hydrolysates: In vitro assays and evaluation in 5% fish oil-in-water emulsion. Food Chemistry, 149, 326-334.
- [13] Quirós, A., Chichón, R., Recio, I., & López-Fandiño, R. (2007). The use of high hydrostatic pressure to promote the proteolysis and release of bioactive peptides from ovalbumin. Food Chemistry, 104(4), 1734-1739.
- [14] Knežević-Jugović, Z., Stefanović, A., Žuža, M., Milovanović, S., Jakovetić, S., Manojlović, V., & Bugarski, B. (2012). Effects of sonication and high-pressure carbon dioxide processing on enzymatic hydrolysis of egg white proteins. Acta Periodica Technologica, (43), 33-41.
- [15] Uluko, H., Zhang, S., Liu, L., Tsakama, M., Lu, J., & Lv, J. (2015). Effects of thermal, microwave, and ultrasound pretreatments on antioxidative capacity of enzymatic milk protein concentrate hydrolysates. Journal of Functional Foods, 18, 1138-1146.
- [16] Nguyen, E., Jones, O., Kim, Y. H. B., Martin-Gonzalez, S., & Liceaga, A.M. (2017). Impact of microwave-assisted enzymatic hydrolysis on functional and antioxidant properties of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* by-products. Fisheries Science, 83(2), 317-331.
- [17] Chen, W., X. Ma, W. Wang, R. Lv, M. Guo, T. Ding, X. Ye, S. Miao, and D. Liu. (2019). Preparation of modified whey protein isolate with gum acacia by ultrasound maillard reaction. Food Hydrocolloids 95: 298-307.
- [18] Ketnawa, S. And Liceaga, A.M., (2017). Effect of microwave treatments on antioxidant activity and antigenicity of fish frame protein hydrolysates. Food and Bioprocess Technology, 10(3), 582-591.
- [19] Stefanović, A. B., Jovanović, J. R., Dojčinović, M. B., Lević, S. M., Nedović, V. A., Bugarski, B. M., & Knežević-Jugović, Z.D. (2017). Effect of the controlled high-intensity ultrasound on improving functionality and

- hydrolysates of mackerel (*Scomberaustriasicus*). Food Research International, 36(9-10), 949-957.
- [38] Yaqubzadeh, Z., and Safari, R., (2017). antioxidant activity of enzyme hydrolysates of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, the second international conference on new technologies in science, Amol (in Persian)
- [39] Bougatef, A., Nedjar-Arroume, N., Manni, L., Ravallec, R., Barkia, A., Guillochon, D., & Nasri, M. (2010). Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. Food Chemistry, 118(3), 559-565.
- [40] Yildirim, A., Mavi, A., & Kara, A.A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of rumex crispus L. Extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(8), 4083-4089.
- [41] Guo, L., Hou, H., Li, B., Zhang, Z., Wang, S., & Zhao, X. (2013). Preparation, isolation and identification of iron-chelating peptides derived from Alaska pollock skin. Process Biochemistry, 48(5), 988-993.
- [42] Jeevitha, K., Mohana, P.K., Khora, S.S. (2014). Antioxidant activity of fish protein hydrolysates from *Sardinella longiceps*. International Journal of Drug Development and Research, 6 (4): 137-145.
- [43] Miliauskas, G., Van Beek, T. A., Venskutonis, P. R., Linssen, J. P., de Waard, P., & Sudhölter, E. J. (2004). Antioxidant activity of *Potentilla fruticosa*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84(15), 1997-2009.
- [44] Zheng, Z., Zhang, M., Fan, H., & Liu, Y. (2021). Effect of microwave combined with ultrasonic pretreatment on flavor and antioxidant activity of hydrolysates based on enzymatic hydrolysis of bovine bone. Food Bioscience, 44, 101399.
- [45] Habinshuti, I., Mu, T. H., & Zhang, M. (2020). Ultrasound microwave-assisted enzymatic production and characterization of antioxidant peptides from sweet potato protein. Ultrasonics Sonochemistry, 69, 105262.
- glucosamine. Japanese Journal of Nutrition, 44(6): 307-315.
- [30] Wang, B., Meng, T., Ma, H., Zhang, Y., Li, Y., Jin, J., & Ye, X. (2016). Mechanism study of dual-frequency ultrasound assisted enzymolysis on rapeseed protein by immobilized Alcalase. Ultrasonics Sonochemistry, 32, 307-313.
- [31] Izquierdo, F. J., Alli, I., Yaylayan, V., & Gomez, R. (2007). Microwave-assisted digestion of β -lactoglobulin by pronase, α -chymotrypsin and pepsin. International dairy journal, 17(5), 465-470.
- [32] Rejasse, B., Lamare, S., Legoy, M. D., & Besson, T. (2007). Influence of microwave irradiation on enzymatic properties: applications in enzyme chemistry. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 22(5), 519-527.
- [33] Uluko, H., Zhang, S., Liu, L., Chen, J., Sun, Y., Su, Y., ... & Lv, J. (2013). Effects of microwave and ultrasound pretreatments on enzymolysis of milk protein concentrate with different enzymes. International Journal of Food Science & Technology, 48(11), 2250-2257.
- [34] Bruno, S. F., Kudre, T. G., & Bhaskar, N. (2019). Effects of different pretreatments and proteases on recovery, umami taste compound contents and antioxidant potentials of *Labeorohita* head protein hydrolysates. Journal of Food Science and Technology, 56(4), 1966-1977.
- [35] Sila, A., & Bougatef, A. (2016). Antioxidant peptides from marine by-products: isolation, identification and application in food systems. A review. Journal of Functional Foods, 21, 10-26.
- [36] Uluko, H., Liu, L., Li, H., Cui, W., Zhang, S., Zhao, L., ... & Lv, J. (2014). Effect of power ultrasound pretreatment on peptidic profiles and angiotensin converting enzyme inhibition of milk protein concentrate hydrolysates. Journal of the Science of Food and Agriculture, 94(12), 2420-2428.
- [37] Wu, H. C., Chen, H. M., & Shiau, C. Y. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein



The effect of microwave pretreatment on degree of hydrolysis and antioxidant activity of Beluga (*Huso huso*) viscera protein hydrolysate

EsmailiKharyeki, M. ^{1*}, Hoseyni, S. M. ¹

1. Department of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effect of microwave pretreatment on the degree of hydrolysis and antioxidant activity of Beluga (*Huso huso*) viscera protein hydrolysate. For this purpose, the samples were hydrolyzed after two conditions of pretreatment including no microwave treatment or after ten minutes of microwave treatment (frequency 2450 Hz and temperature 90 °C), by Alcalase enzyme with a concentration of 2%, temperature of 55°C and pH 8, and then the degree of hydrolysis and antioxidant activity of the produced samples were evaluated. According to the results, the degree of hydrolysis after microwave treatment was significantly higher than the sample without microwave treatment ($p < 0.05$). Also, the sample produced after microwave treatment showed higher antioxidant activity (DPPH and ABTS radicals scavenging activity and Fe reduction capacity) compared to the control treatment ($p < 0.05$). The IC_{50} values of this treatment in DPPH and ABTS radicals scavenging were obtained as 1.25 mg/ml and 1.63 mg/ml, respectively, which was significantly lower than the control treatment ($p < 0.05$). Also, in both samples, antioxidant activity increased significantly with increasing concentration ($p < 0.05$). In general, it can be stated that 10 minutes of microwave pretreatment at 90 °C has a favorable effect on the properties of Beluga viscera protein hydrolysate which can indicate the applicability of this technology in the production process of fish protein hydrolysate.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 12/ 17
Accepted 2023/ 02/ 02

Keywords:

Microwave,
Protein hydrolysate,
Antioxidant activity,
Degree of hydrolysis,
Beluga,
Waste.

DOI: 10.22034/FSCT.19.133.155
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.133.13.8

*Corresponding Author E-Mail:
Mina.smaily@gmail.com