

محله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir



مقاله علمی_پژوهشی

تأثیر پیش‌تیمار مایکروویو بر درجه هیدرولیز و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده اندرونه

(*Husohuso*) فیل ماهی

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

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

چکیده

اطلاعات مقاله

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر پیش‌تیمار مایکروویو بر درجه هیدرولیز و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی (*Huso huso*) 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 سانتی‌گراد)، توسط آنزیم آلکالاز با غلظت ۲ درصد، دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و pH ۸ هیدرولیز گردید و سپس درجه هیدرولیز و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های 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 آنتی‌اکسیدانی (توانایی مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS و قدرت کاهنده یون آهن) بالاتری نسبت به تیمار کنترل نشان داد ($p < 0.05$). مقادیر IC_{50} این تیمار در مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS به ترتیب $1/25$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و $1/63$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد که کمتر از تیمار کنترل بود ($p < 0.05$). همچنین در هر دو نمونه با افزایش غلظت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت معناداری افزایش پیدا کرد ($p < 0.05$). در مجموع می‌توان بیان نمود که پیش‌تیمار مایکروویو به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد اثر مطلوبی بر خصوصیات پروتئین هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی داشته که می‌تواند بیانگر قابلیت کاربرد این فناوری در فرآیند تولید پروتئین هیدرولیز شده ماهی باشد.

تاریخ های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۳

کلمات کلیدی:

پروتئین هیدرولیز شده،
مایکروویو،
فعالیت آنتی‌اکسیدانی،
فیل ماهی،
ضایعات.

DOI: 10.22034/FSCT.19.133.155

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.133.13.8

*مسئول مکاتبات:

Mina.smaily@gmail.com

آنژیمی باعث بهبود رهاسازی پیتیدهای زیستفعال 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 [۱۹-۲۳]. 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 حللاه و کاهش زمان استخراج گزارش شده است [۲۱]. مایکروویو همچنین برای پیش‌تیمار مواد بیولوژیکی برای بهبود سرعت واکنش آنژیمی استفاده شده است [۲۲]. این فرآیند باعث افزایش باز شدن ساختار پروتئین‌ها شده و دسترسی آنژیم‌ها به باندهای پیتیدی را افزایش می‌دهد و در نهایت منجر به تولید پروتئین هیدرولیز شده با خواص کارکردی و عملکرد زیستفعال مناسب می‌گردد [۲۳]. با توجه به مطالب بیان شده، در پژوهش حاضر به منظور بهره‌برداری از اندرونه فیل‌ماهی (*H. huso*) که یکی از ضایعات حاصل از فرآوری این ماهی می‌باشد، فرآیند هیدرولیز آنژیمی با آنژیم آکالالاز مورد استفاده قرار گرفته و همچنین تأثیر پیش‌تیمار مایکروویو بر درجه هیدرولیز و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده بررسی شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه ماده اولیه

پنج کیلوگرم‌اندرونه فیل ماهی از مرکز پرورش ماهیان خاویاری قره‌برون واقع در منطقه چپکرود 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.

۱- مقدمه

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 ماندهای خام حاصل از فرآوری شامل ستون مهره، استخوان‌های تن ماهیان، سر، پوست، باله، فلس و اندرونه به جا ماند 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، آنژیم‌ها، اسیدهای چرب امگا، پروتئین‌ها و پیتیدهای زیستفعال 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 پیتیدی با محدوده متنوعی از وزن‌های ملکولی و خواص زیستفعال می‌باشد [۹]. خواص پیتیدهای زیستفعال وابسته به اندازه و وزن ملکولی آن‌ها و همچنین ترکیب و توالی آمینواسیدی آن‌ها است و گاهی پیتیدهای تولید شده دارای خواص چندگانه مختلف‌همانند عملکرد ضد میکروبی، تقویت سیستم ایمنی، مهارکنندگی آنژیم تبدیل کننده آنژیوتونسین I، بازدارندگی رنین، عملکرد ضد انعقادی، خواص ضد سرطان، ضد تومور، ضد آلزاپر، ضد دیابت و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند [۱۰-۱۲]. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که پیش‌تیمار پروتئین‌ها قبل از هیدرولیز

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

۴-۲-تعیین درجه هیدرولیز

به منظور سنجش درجه هیدرولیز باتدا ۵۰۰ میکرولیتر از پروتئین آبکافت شده با ۵۰۰ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰٪ مخلوط شده و سپس با دور ۸۰۰۰ g 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 (%) =

$$\frac{100 \times \text{میزان نیتروژن در محلول} - 10\% \text{ تری کلرواستیک اسید}}{\text{میزان نیتروژن در نمونه}}$$

۵-سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده

۱-۵-۱-قدرت مهار رادیکال آزاد و ۲ دیفنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)

برای انجام این آزمایش حجم مشخصی از نمونه در غلاظت‌های مختلف با همان مقدار محلول ۱/۰ میلی‌مolar 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) طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد مهار رادیکال طبق رابطه زیر محاسبه گردید [۲۷]:

$$\text{DPPH} \times 100 = \text{درصد مهار AB-As/Ab}$$

Ab: جذب شاهد As: جذب نمونه

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

۵-۲-سنجش فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS

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

۲-۲-تولید پروتئین هیدرولیز شده

۱-۲-۱-نمونه بدون پیش‌تیمار

به منظور آماده‌سازی نمونه‌ها، ابتدا ۵۰ گرم نمونه چرخ شده اندرونه فیل‌ماهی در دمای ۰/۲ ± ۴ درجه سانتی‌گراد انجام‌داده 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 آنزیم‌های داخلی، به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آبی (Memmert wub 29, Germany) سانتی‌گراد قرار گرفتند. غلاظت آنزیم آلکالاز (Alcalase 2.4 L pH ۵۵ FG, Novozymes ۲ درصد، دما ۵۵ درجه سانتی‌گراد و ۸ در نظر گرفته شد. پس از افزودن آنزیم آلکالاز، ظروف حاوی نمونه در انکوباتور شبکه‌دار 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 سانتی‌گراد قرار گرفتند. نمونه‌ها پس از خنک شدن تا دمای اتاق، به مدت ۳۰ دقیقه و با دور ۶۰۰۰ g با استفاده از سانتریفیوژ (United StatesSigma, 3-30KS، یخچال‌دار) شدند. قسمت سوپرناتانت به وسیله سپلر جدا شده و پس از انجام، با دستگاه خشک کن انجام‌داده (Vaco 2 Zirbus, Germany) خشک شده و برای آنالیز‌های مربوطه در فریزر ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید [۲۴].

۱-۲-۲-پیش‌تیمار با مایکروویو

نمونه‌ها پس از طی مراحل آماده‌سازی ذکر شده برای نمونه شاهد، پیش از افزودن آنزیم آلکالاز تحت تیمار با مایکروویو قرار گرفتند. بدین منظور نمونه‌های هموژن شده در ظروف درب‌دار مخصوص مایکروویو، در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد و فرکانس ۲۴۵۰ هرتز، به مدت ۱۰ دقیقه تحت تیمار با مایکروویو قرار داده شدند. بقیه مراحل هیدرولیز به روش ذکر شده در بالا انجام شد [۱۸].

۳-سنجش پروتئین محلول

مقدار پروتئین محلول به روش لوری و همکاران [۲۵] و با استفاده‌های آلبومین سرم گاوی (۰/۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) به عنوان پروتئین استاندارد و خواندن جذب نمونه‌ها با استفاده از

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

۶-۲-روش تعزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تعزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار SPSS 17 انجام گرفت. پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک، 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 نرم افزار 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 اندرونی 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 25.0 ± 2.32 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد.

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

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

*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 56.06 ± 0.19 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 20.7 ± 0.02 در طول موج ۷۳۴ نانومتر انجام گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر نمونه پروتئین هیدرولیز شده اندرونی فیل ماهی در غلظت‌های مختلف با 980 میکرولیتر محلول رقیق‌سازی 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 توسط دستگاه Spectrophotometer UV-M51 UV/Vis, Italy خوانده شد و درصد مهارکنندگی رادیکال ABTS با رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{مهارکنندگی رادیکال ABTS} =$$

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

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

جهت سنجش فعالیت کاهنده‌گی یون آهن بر اساس روش Oyaizu (۱۹۸۶) میلی‌لیتر پروتئین هیدرولیز شده اندرونی فیل ماهیدر غلظت‌های مختلف با $2/5$ میلی‌لیتر فری‌سیناید پتابسیم 1 درصد و $2/5$ میلی‌لیتر بافر فسفات 0.2 مولار ($\text{pH}=7.6$) مخلوط شد [۲۹]. سپس ۲۰ دقیقه در دمای 50 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

۲-۳- درجه هیدرولیز

نتایج حاصل از بررسی تاثیر تیمارهای مایکروویو (MW) و حمام آبی (HT) بر درجه هیدرولیز پروتئین هیدرولیز شده اندرونی 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 ($p < 0.05$)^۱. در همهٔ غلظت‌های اندازه‌گیری شده بیشترین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH مربوط به تیمار MW می‌باشد. هم‌چنین مقایسه مقادیر IC₅₀ تیمارها (جدول ۴) نشان داد که بین دو نمونه تیمار اختلاف معنی‌داری وجود داشت و مقدار IC₅₀ تیمار MW (0.1 ± 0.25 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و کم‌تر از تیمار HT بود ($p < 0.05$)^۱ که نشان دهنده فعالیت بالاتر در مهار رادیکال آزاد DPPH است.

۳-۳- فعالیت آنتی اکسیدانی

DPPH توانایی حذف رادیکال آزاد

نتایج حاصل از سنجش قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH پرتوئین های هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی حاصل از تیمارهای مایکروویو (MW) و حمام آبی (HT) در غلظت های ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر در جدول ۳ مشاهده می شود. با توجه به نتایج، در هر غلظت تفاوت معنی داری 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 همه غلظت‌های اندازه‌گیری شده بیش‌ترین مقدار احیا کنندگی یون آهن مربوط به تیمار MW بود.

۳-۲-توانایی احیای یون آهن

نتایج حاصل از بررسی قدرت احیاکنندگی یون آهن پروتئین های هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی حاصل از تیمارهای مایکرورو بیو (MW) و حمام آب (HT) در غلظت های ۰/۰۵، ۱، ۱/۵ 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 پرتوئین هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی حاصل از تیمارهای مایکروویو MW و حمام آبی HT در حذف

۳-۳-۳-۳-توانایی حذف رادیکال آزاد ABTS

شده نیز با استفاده از درصد های از دارندگی در غلظت های مختلف محاسبه گردید و همان گونه که در جدول ۷ قابل مشاهده است، بین تیمارهای MW و HT تفاوت معنی داری وجود داشت ($p<0.05$).

رادیکال ABTS را نشان می دهد. با توجه به نتایج، بین تیمارهای MW و HT در تمامی غلظت های مورد بررسی تفاوت معنی دار مشاهده گردید ($p<0.05$). در تمامی غلظت های آندازه گیری شده تیمار MW درصد توانایی حذف رادیکال ABTS بالاتری نشان داد. مقدار IC_{50} پروتئین های 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±0.3 ³	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 کردند که پیش تیمار با مایکروویو می تواند با کوتاه کردن زمان مورد نیاز برای هیدرولیز آنزیمی بر درجه هیدرولیز تأثیر بگذارد [۳۲] و همکاران [۳۳] نیز تأثیر پیش تیمارهای التراسوند و مایکروویو بر درجه هیدرولیز پروتئین شیر را بررسی کردند 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 می شود [۱۲]. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی اکسیدان، از رنگ بنفس به زرد تغییر رنگ می دهد [۲۷]. فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده تنها به یک مکانیسم وابسته نیست. پروتئین های هیدرولیز شده حاوی توالي های مختلف پیتیدی با مکانیسم های اثر متفاوت هستند. برخی از پیتیدهای آنتی اکسیدانی به عنوان جاذب یا مهار کننده رادیکال موثر تر هستند و برخی دیگر کاهنده فلزات هستند [۳۴]. فعالیت مهار رادیکال یک پروتئین هیدرولیز شده به تعداد پیتیدهای شکسته شده بستگی دارد که به نوبه خود عمدتاً توسط شرایط هیدرولیز مورد استفاده همانند نوع سویسترا، نوع آنزیم پروتئولیتیک مورد استفاده، شرایط

۴- بحث

مطالعه حاضر با هدف بررسی درجه هیدرولیز و فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی تحت تیمار حمام آبی و مایکروویو انجام شد. درجه هیدرولیز نشان دهنده درصد کاهش تعداد پیوندهای پیتیدی در طی فرآیند هیدرولیز است [۳۰] و شاخص اولیه بررسی ویژگی های محصول هیدرولیز شده است. مطالعات نشان داده اند زمانی که از فناوری هایی مانند مایکروویو در طول یا قبل از هیدرولیز آنزیمی استفاده می شود درجه هیدرولیز افزایش می یابد که در این مطالعه نیز این نتیجه تأیید شده است Izquierdo. و همکاران (۲۰۰۸) بیان نموده اند که امواج مایکروویو بسته به شدت، فرکانس و مدت زمان قرار گرفتن در معرض امواج، اثرات متفاوتی ایجاد می کنند [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 می تواند نتیجه اثرات امواج مایکروویو باشد که باعث باز شدن ساختار پروتئین و بهبود دسترسی آنزیم می شود و در نتیجه هیدرولیز آنزیمی را تسريع می کند [۳۲]. در مطالعه Ketnawa و Ligeaga [۱۸] بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*O.mykiss*) درجه هیدرولیز بهتری

به طور کلی فعالیت کاهنده‌گی به وزن مولکولی، ساختار، ترکیب اسید آمینه و شکل فضایی پیتیدها بستگی دارد [۴۰، ۴۱]. در مطالعه Ketnawa و همکاران (۲۰۱۶) بر روی ماهی قزلآلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) نیز برای نمونه پیش‌تیمار شده با مایکروویو اثر احیاکننده‌گی 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 آنژیم اجازه می‌دهد تا به جایگاه‌های هدف بیشتری دسترسی پیدا کند و پیتیدهای 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 احیاکننده‌گی 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 بخشدید. این محققین بیان کردند که بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های حاصل از تیمار مایکروویو به احتمال زیاد به دلیل بازشدن ساختار پروتئین و یا بازآرائی مجدد آن می‌باشد که منجر به در دسترس قرار گرفتن بخش‌های آبگریز برای آنژیم پروتئاز گردید. این تغییرات در نهایت منجر به افزایش سرعت هیدرولیز و تولید مقادیر زیادی از پیتیدهای 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 Ketnawa و همکاران (۲۰۱۶) بر روی ماهی قزلآلای رنگین کمان (*O. mykiss*) درصد مهارکننده‌گی 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

پیش‌تیمار، pH، دما، نسبت آنژیم به سوبسترا و زمان هیدرولیز تعیین می‌شود [۳۵]. در مطالعه حاضر درصد فعالیت مهارکننده‌گی رادیکال DPPH وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت پروتئین هیدرولیز شده افزایش یافت و بیشترین مقدار آن در تیمار مایکروویو (۲۵/۱ ± ۲/۷۳) درصد در غلظت ۵/۲ میلی‌گرم (بر میلی‌لیتر) مشاهده شد که تقریباً مشابه با مطالعه Nguyen و همکاران (۲۰۱۷) می‌باشد که مقدار فعالیت مهارکننده‌گی 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 Uluko و Labeorohita و همکاران (۲۰۱۴) بر روی پروتئین شیر نیز درصد مهارکننده‌گی رادیکال DPPH تیمار مایکروویو را می‌توان با مایکروویو بهتر از نمونه بدون تیمار گزارش شد [۳۶، ۳۷]. توانایی مهار رادیکال DPPH تیمار مایکروویو را می‌توان به افزایش حلالیت پیتیدهای کوچکتر (درجه هیدرولیز بالاتر) و حضور احتمالی درصد بالای اسیدهای آمینه آبگریز در ساختار پیتیدها نسبت داد. مطالعات نشان داده‌اند که تغییرات در اندازه، تعداد، سطح و ترکیب اسیدهای آمینه آزاد و پیتیدهای کوچک در طول زمان هیدرولیز بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی تاثیر می‌گذارد [۳۷].

روش ارزیابی قدرت کاهنده‌گی 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 کاهنده‌گی 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 پیتیدها در اثر گذشت زمان و افزایش درجه آبکافت، بر روی کاهنده‌گی یون آهن تاثیرگذار است [۳۹]. در مطالعه حاضر همان‌گونه که در بخش نتایج مشاهده شد، پروتئین هیدرولیز شده حاصل از تیمار مایکروویو فعالیت احیاکننده‌گی یون آهن بهتری را در تمامی غلظت‌ها دارا بود. در مطالعه Neguyen و همکاران (۲۰۱۷) بر روی ماهی قزلآلای رنگین کمان (*O. mykiss*) نمونه تحت تیمار با مایکروویو اثر احیاکننده‌گی بهتری را نسبت به نمونه بدون تیمار نشان داد [۱۶]. نتایج این مطالعه مشخص کرد که اندازه پیتید نقش مهمی در ظرفیت کاهنده‌گی پیتیدهای زیست‌فعال دارد.

- [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 تیمارنشان دادند [٤٤]. 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 آنتی‌اکسیدانی مطلوب می‌گردد [٤٥].

۵- نتیجه گیری

در پژوهش حاضر نتایج ارزیابی درجه هیدرولیز نشان داد که پیش تیمار مایکروویو کارایی بالای در تولید پروتئین هیدرولیز شده با درجه هیدرولیز مناسب داشت. نتایج بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده اندرونه فیل ماهی (*H.huso*) نشان داد که تیمار مایکروویو تاثیر به سزانی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشت به گونه‌ای که نمونه تیمار شده با مایکروویو فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS و DPPH و همچنین فعالیت کاهنده‌ی یون آهن بالاتری نسبت به تیمار شاهد نشان داد. مقایسه مقادیر IC_{50} نیز نشان‌دهنده عملکرد بهتر تیمار مایکروویو بود به گونه‌ای که در مقایسه با تیمار شاهد در غلظت پایین‌تری از این پروتئین هیدرولیز شده میزان ۵۰ درصد بازدارندگی رادیکال آزاد مشاهده گردید.

۶- تقدير و تشکر

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

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 (*Scarusghobban*) 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., Arnaudin, 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 (*Scombera austriasicus*). 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] Yıldırım, 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 *Labeo rohita* 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



Scientific Research

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

EsmaeiliKharyeki, 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

ARTICLE INFO

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 IC₅₀ 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 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