



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی خواص ضددیابتی، ضد فشارخون و ضد اکسیدانی پپتیدهای زیست فعال استخراج شده از ضایعات میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*)

محیا دمالی امیری^{۱*}، رضا حسن ساجدی^۲

۱- کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه تربیت مدرس، جلال آل احمد، کارگر شمالی

۲- دکتری بیوشیمی، استاد، دانشگاه تربیت مدرس، جلال آل احمد، کارگر شمالی

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	در صنایع عمل آوری میگو حدود ۴۵-۴۰٪ از ماده اولیه به صورت مواد زائد شامل سر، امعا و احشا و پوسته دور ریز می شوند. هدف از این مطالعه، استخراج و ارزیابی فعالیت زیستی پپتیدهای حاصل از ضایعات فرآوری میگوی ببری سبز (<i>Penaeus semisulcatus</i>) بود. ضایعات حاصل از عمل آوری میگو تهیه و بافت های هدف جهت تیمار آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت. نتایج مربوط به تعیین ترکیب تقریبی ماده خام اولیه بر اساس وزن خشک نمونه با رطوبت ۷۴/۵٪، بیش ترین ترکیب بدن میگوی ببری سبز و سپس پروتئین ۴۴٪ و خاکستر ۲/۲٪ محتوای بافت میگوی سبز را تشکیل می دادند. در ادامه، از سه نوع آنزیم آلکالین پروتئاز، آلکالاز و اوتاز جهت هیدرولیز و تولید پپتیدها از ضایعات میگو استفاده شد. سپس آنزیم های درونی میگو بوسیله دمای ۸۵ درجه غیرفعال شده و در محدوده pH ۸/۰ تنظیم گردید. هیدرولیز در ۸ و ۱۶ ساعت انجام شد و میزان پروتئین کلی بخش رویی توسط تکنیک کجدال، جهت آنالیز و بررسی نمونه های تولید شده و انتخاب بهترین نمونه، سنجیده شد و ساعت ۱۶ هیدرولیز شده با آنزیم آلکالاز با ۳۵/۵٪ پروتئین به عنوان نمونه بهینه انتخاب شد. پروتئین های استخراج شده با استفاده از آنزیم آلکالاز هیدرولیز شده و در سه بازه وزنی کمتر از ۳، ۱۰ و ۳۰ کیلو دالتون با روش اولترافیلتراسیون جداسازی شدند. نتایج نشان دادند که فراکسیون پپتیدی با وزن مولکولی کمتر از ۳ kDa بیشترین فعالیت زیستی را داراست؛ به طوری که مهار آنزیم DPP-IV تا ۷۳/۳۵٪، مهار ACE تا ۵۵٪ و فعالیت مهار رادیکال آزاد در آزمون DPPH برابر با ۶۹/۶۱٪ بود.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۳	
تاریخ داوری: ۱۴۰۴/۰۷/۲۰	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۲۴	
کلمات کلیدی:	
پپتید دریایی،	
هیدرولیز آنزیمی،	
پپتید زیست فعال،	
میگوی ببری سبز،	
خاصیت ضد دیابت	
DOI: 10.48311/fsct.2026.83919.0	
* مسئول مکاتبات:	
mahya.amirii76@gmail.com	

۱- مقدمه

امروزه مشکلات ناشی از فشار خون، بیماری دیابت، سرطان و سایر بیماری های متابولیک مرتبط با سبک زندگی تبدیل به مهمترین نگرانی در خصوص سلامتی در سراسر جهان شده است [۱]. افزایش جمعیت، پیری، رژیم های نادرست، چاقی و شیوه زندگی بی تحرک، میزان شیوع این بیماری ها را افزایش میدهد. در بیماری دیابت تغذیه درمانی نقش کلیدی در مدیریت متابولیسم این بیماری دارد که می تواند منجر به کاهش سطح گلوکز خون و افزایش حساسیت به انسولین شود. یکی از راهکارهای دارویی برای کنترل بیماری متابولیک دیابت، مهار آنزیم دی پپتیدیل پپتیداز^۱ است، اما مصرف مداوم داروهای مهارکننده این آنزیم با عوارض جانبی از جمله ناراحتی های گوارشی و کلیوی همراه بوده و نیاز به جایگزین های طبیعی را افزایش داده است [۱].

پپتیدهای زیست فعال حاصل از منابع غذایی، به ویژه پروتئین های آبی، به عنوان ترکیبات طبیعی با اثرات چندگانه زیستی، مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته اند. این پپتیدها اغلب از طریق هیدرولیز آنزیمی به دست می آیند و بسته به وزن مولکولی، توالی اسیدهای آمینه و ساختار فضایی، فعالیت هایی چون مهار آنزیم های دی پپتیدیل پپتیداز و آنزیم مبدل آنژیوتانسین^۲، خاصیت ضد اکسیدانی، ضد فشار خون، ضد التهاب و حتی ضد سرطان دارند [۲، ۳].

مطالعات بسیاری فعالیت زیستی این پپتیدها را از منابع مختلف بررسی کرده اند. Nongonierma و FitzGerald در سال ۲۰۱۷ گزارش دادند که پروتئین های زیست فعال استخراج شده از منابع غذایی، پتانسیل بالایی در تنظیم شاخص گلاسمیک دارند [۳].

Wang و همکاران شرایط بهینه هیدرولیز پروتئین جلبک *Chlorella pyrenoidosa* را بررسی کردند و موفق به جداسازی پپتیدی با خاصیت مهار ACE شدند [۴]. Chalamaiah و همکاران (۲۰۱۲) در مرور جامع خود بر

3- DPPH

4- ABTS

1-(DPP-IV)

2-ACE

هیدرولیز پروتئین ماهی، تأکید کردند که این ترکیبات به دلیل دارا بودن طیف وسیعی از پپتیدهای زیست فعال با خواص آنتی اکسیدانی قوی، پتانسیل بالایی برای استفاده در تولید غذاهای فراسودمند دارند [۵]. Ramazani در مطالعه ای سال ۲۰۱۸ نشان داد که پپتیدهای حاصل از ضایعات ماهی پنجزاری دارای خاصیت ضد اکسیدانی و ضد فشار خون قابل توجهی هستند [۶]. Ko و همکاران نیز در مطالعه ای فعالیت مهار ACE در هیدرولیز پروتئین گونه های مختلف جلبک را ارزیابی کردند [۷]. Ishak و همکاران در مطالعه ای نشان دادند که پپتیدهای حاصل از ضایعات ماهی باله سیاه دارای خاصیت ضد اکسیدانی و ضد فشار خون قابل توجهی هستند [۸]. در مطالعه ای دیگر Shahidi و همکاران در یک مرور ساختاریافته تأکید کردند که پپتیدهای مشتق از نوعی ماهی گرمسیری می توانند در مهار رادیکال های آزاد نقش کلیدی ایفا کنند [۹].

در ایران، Nahvi و همکاران، استخراج پپتیدهای زیست فعال از ماهی کیلکا را گزارش کردند که خاصیت مهار رادیکال آزاد ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل^۳ و ۲،۲-آزینو-بیس (۳-اتیل بنزوتیازولین-۶-سولفونیک اسید)^۴ در آن ها مشاهده شد [۱۰].

با وجود گسترش مطالعات مشابه در مورد گونه های ماهی، هنوز پژوهش های محدودی بر روی ضایعات میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) انجام شده است؛ در حالی که این گونه یکی از آبزیان اقتصادی و بومی سواحل جنوبی ایران بوده و ضایعات فرآوری آن شامل پوست، سر و دم، سرشار از پروتئین قابل استفاده است.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- تهیه ماده ی اولیه

مواد اولیه

شده با اواتاز و ۰/۲۵۳ گرم پودر رویی خشک شده‌ی میگوی ۱۶ ساعت هیدرولیز شده با آلکالاز و کنترل ۱۶ ساعت جهت تست کج‌جدال انتقال داده شد [۱۱ و ۱۲].

در بررسی درصد ماده‌ی خشک، اندازه‌گیری نمونه قبل و بعد از خشک شدن در آون مورد نیاز می‌باشد [۱۳]. بدین منظور، ۱ سی سی نمونه در سانتریفیوژ (دور ۱۲۰۰۰، به مدت ۱۵ الی ۲۵ دقیقه) قرار داده شده و وزن بخش رویی و زیری به صورت جداگانه سنجش گردید.

۲-۳- تولید پروتئین هیدرولیز شده

جهت بدست آوردن بالاترین بازده، بهینه سازی شرایط هیدرولیز انجام گرفت. به این منظور غلظت آنزیم ۲ درصد، زمان هیدرولیز (۱ الی ۸ ساعت و ۱۶ ساعت) و آنزیم‌های آلکالین پروتئاز تجاری با منبع میکروبی شامل آلکالاز، اواتاز و آلکالین پروتئاز روبوزایم به عنوان سطوح متغیرهای مستقل انتخاب شدند. مقدار ۲۰ گرم میگوی پودری با نسبت ۵:۱ (نمونه: آب مقطر) ترکیب شده و با استفاده از HCl-NaOH، pH مخلوط به ۸/۰ که فعالیت بهینه آنزیم آلکالاز می‌باشد، رسانده شد. بعد از آن، نمونه‌ها در انکوباتور (دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. آنزیم آلکالاز به نسبت ۲٪ وزن (۲۰ میلی‌لیتر آلکالاز، ۲۰ میلی‌گرم اواتاز و ۲۰ میلی‌گرم آلکالین پروتئاز روبوزایم) مخلوط به نمونه اضافه شده و نمونه‌ها به مدت های مشخص شده هم‌زده شدند؛ هر یک ساعت به منظور توقف واکنش آنزیمی، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. نمونه‌ها بعد از خنک‌شدن، سانتریفیوژ شده و مایع رومانند جمع‌آوری و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۹ و ۱۴].

۲-۴- جداسازی پپتیدها

آنزیم آلکالاز (Alcalase® 2.4L FG) از شرکت Novozymes دانمارک، آلکالین پروتئاز (Alkaline Sigma- protease Cat. No. P4860) از شرکت Aldrich آمریکا و اواتاز (Ovozyme®) از شرکت DSM Food Specialties هلند تهیه شد. کیت سنجش فعالیت DPP-IV (Cat. No. MAK203) و سایر مواد شیمیایی از جمله ABTS، DPPH و کیت سنجش فعالیت ACE (Cat. No. CS0002) از شرکت Sigma-Aldrich آمریکا خریداری شدند. سایر مواد شیمیایی و حلال‌ها از شرکت Merck آلمان تهیه شدند. ضایعات میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) شامل پوست، سر و دم از آب‌های خلیج فارس در استان هرمزگان با طول تقریبی ۵ سانتی‌متر خریداری شده و در جعبه‌های حاوی یخ با نسبت یخ به میگو ۱:۲ به آزمایشگاه دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شد. ۱۰۰ گرم نمونه‌ی منجمد شده در دستگاه خشک‌کن انجمادی قرار گرفته و به صورت پودر، مخلوط و ناخالصی آن خارج شد. نمونه الک شد و پس از الک در جای خشک و دور از تابش مستقیم خورشید قرار گرفت.

۲-۲- تعیین ترکیب ماده اولیه از طریق آنالیزهای تقریبی مقادیر رطوبت، پروتئین کل، درصد ماده خشک و خاکستر بر طبق پروتکل پیشنهاد شده توسط AOAC^۵ آزمون شد. برای اندازه‌گیری رطوبت از آون (۱۰۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۲۴ ساعت جهت ثابت شدن وزن نمونه استفاده شد. برای تعیین خاکستر، ۰/۵ گرم نمونه (که از قبل در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار خشک شده بود) در بوتله‌چینی ریخته شده و در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت سوزانده شد. میزان پروتئین با روش کج‌جدال محاسبه شد. بدین منظور، قبل از هیدرولیز ۱ گرم نمونه‌ی پودری و بعد از هیدرولیز ۰/۵۵۳ گرم پودر خشک شده‌ی رویی میگوی ۱۶ ساعت هیدرولیز

5-AOAC Association of Official Agricultural Chemists

۲-۷-۲- ارزیابی ظرفیت مهار رادیکال آزاد ABTS
 ظرفیت مهار رادیکال آزاد ABTS نمونه‌های سنتز شده با
 فرمول زیر محاسبه شد. [۱۶ و ۱۷]

$$\text{Free radical scavenging (\%)} = (A \text{ blank} - A \text{ sample}) \times 100 / A \text{ blank}$$

A sample = ABTS محلول همراه نمونه به همراه محلول

A blank = جذب کنترل فاقد ترکیب فعال

۲-۸- سنجش فعالیت ضددیابتی از طریق ممانعت‌کنندگی
 دی‌پتیدیل پپتیداز DPP-IV

فعالیت مهار کنندگی DPP-IV با استفاده از کیت سنجش
 مهار DPP-IV اندازه‌گیری شد که بر اساس شکافت
 سوبسترای غیرفلورسنت عمل می‌کند. این آزمایش با
 مخلوط کردن ۲۵ میکرولیتر نمونه با غلظت‌های مختلف و
 ۵۰ میکرولیتر محلول آنزیمی در هر چاهک انجام شد. سپس
 میکروپلیت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه
 انکوبه شد. ۲۵ میکرولیتر سوبسترای DPP-IV به هر
 واکنش نمونه‌های آزمایش، شاهد و کنترل آنزیمی اضافه شد.
 آزمایشات در میکروپلیت ۹۶ خانه تیره انجام و توسط
 میکروپلیت ریدر خوانده شد. بافر به جای محلول آنزیمی به
 عنوان کنترل مورد استفاده قرار گرفت. پس از ۱۵-۳۰ دقیقه
 انتظار جهت مخلوط شدن همه‌ی معرف‌ها، فلورسانس
 ($\lambda_{ex}=360/\lambda_{em}=460 \text{ nm FLU}$) طول موج تحریک
 ۳۵۵ نانومتر و طول موج انتشار ۴۶۰ نانومتر توسط
 میکروپلیت ریدر در حالت متحرک یک بار در دقیقه در دمای
 ۳۷ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. سپس شیب بین دو
 زمان T1 و T2 در محدوده خطی نمودار
 DFLU/minute به دست آمد. شیب تمام ترکیبات
 آزمایش از نمونه شاهد مربوطه کم شد تا اندازه‌گیری صحیح
 به دست آید [۳].

طبق داده‌های موجود نمونه هیدرولیز شده با آنزیم آلکالاز
 بهینه‌ترین نتایج را داشت و جداسازی پپتیدها توسط اولترا
 فیلتراسیون با سه فیلتر آمیکون با وزن مولکولی مختلف
 (۳، ۱۰، ۳۰ کیلودالتون) توسط نمونه ذکر شده انجام شد و
 چندین فرکشن جدا گردید. با استفاده از فیلترهای آمیکون،
 پپتیدهای هیدرولیز شده با آلکالاز را بر اساس وزن مولکولی
 جدا کردیم [۱۵ و ۱۶].

۲-۵- آنالیز پپتیدها

پروپایل توزیع اندازه مولکولی پروتئین هیدرولیز شده با
 آلکالاز همراه با اجزای پپتیدی توسط الکتروفورز ژل
 (SDS-PAGE) تعیین شد. با توجه به کم رنگ بودن ژل
 حاصل از رنگ آمیزی کوماسی بلو، رنگ آمیزی نقره نترات
 جهت مشاهده دقیق‌تر باندها انجام شد [۱۵].

۲-۶- سنجش جذب و غلظت پپتیدها

جهت ارزیابی خواص مختلف نمونه‌ها ابتدا غلظت پروتئین
 رویی و همچنین OD نمونه‌ها در طول موج ۲۸۰ نانومتر
 توسط دستگاه الیزاریدر سنجیده گردید تا از یکسان بودن
 شرایط ارزیابی اطمینان حاصل گردد.

۲-۷- سنجش فعالیت ضد اکسیدانی

این سنجش با دو روش ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی
 رادیکال آزاد DPPH و ABTS انجام شد.

۲-۷-۱- قدرت حذف‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH با استفاده از رابطه
 زیر محاسبه گردید. [۱۶ و ۱۷]

$$\text{Free radical scavenging (\%)} = (A \text{ blank} - A \text{ sample}) \times 100 / A \text{ blank}$$

A sample = DPPH محلول همراه نمونه

A blank = DPPH محلول همراه با اتانول

آزمون ها در چند تکرار انجام شده و نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شد. هم چنین به منظور رسم نمودارها، از نرم افزار اکسل استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- آنالیزهای ماده اولیه

نتایج مربوط به تعیین ترکیب تقریبی ماده خام اولیه بر اساس وزن خشک نمونه در جدول ۱ ارائه شده است. رطوبت با میزان ۷۴/۵٪ بیش ترین ترکیب بدن میگوی ببری سبز را به خود اختصاص داده بود. به طور کلی بدن میگوی ببری سبز دارای رطوبت ۷۴/۵٪، پروتئین ۴۴٪ و خاکستر ۲/۲ است. تعیین ترکیب تقریبی این گونه، با توجه به ماهیت پروتئینی ماده مورد استفاده در این تحقیق، اطلاعاتی را در مورد محتوای پروتئینی منشاء اولیه آن می دهد.

۲-۹- سنجش فعالیت ضد فشارخون از طریق ممانعت کنندگی آنزیم مبدل آنژیوتانسین ACE1

برای تعیین فعالیت مهار ACE از کیت فشارخون شرکت سیگما استفاده شد. این آزمایش با اضافه کردن ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه با ۴۰ میکرولیتر آنزیم (رقیق شده در بافر سنجش) انجام شد و سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه انکوبه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر سوبسترای رقیق شده بلافاصله اضافه و سپس در طول موج تحریک ۳۲۰ نانومتر و طول موج انتشار ۴۰۵ نانومتر در ۵ چرخه به مدت ۵ دقیقه خوانش شد [۱۸].

۲-۱۰- تجزیه و تحلیل آماری

Table 1. Approximate ingredients of oven-dried green tiger shrimp

Sample	Protein (%)	Ash (%)	Dry matter (%)	Moisture (%)
Oven dried sample	44	2/2	99/6	74/5

به دست آمده از طریق درصد ماده خشک و درصد بخش رویی پس از فرآیند هیدرولیز ۱۶ ساعته ی آلکالاز به عنوان فرآیندی تکمیلی جهت تایید نتایج قبلی انجام گردید (جدول ۲). هیدرولیز ۱۶ ساعته ی آلکالاز به عنوان نمونه ی اصلی جهت ادامه ی آزمایشات انتخاب شد.

۳-۲- تعیین درصد پروتئین کل نمونه ها
میزان پروتئین کلی بخش رویی توسط تکنیک کجدال، جهت آنالیز و بررسی نمونه های تولید شده و انتخاب بهترین نمونه، سنجیده شد که در جدول ۲ ارائه شده است. همچنین نتایج

Table 2. Supernatant protein percentage of hydrolyzed samples with Alcalase and Evatase enzymes in the production process

Sample	Protein (%)	The percentage of dry matter	The percentage of the supernatant
Treated with Alcalase	69	8	35/5
Control	44/15	4	15/5

می رفت آنزیم آلکالاز نسبت به دیگر نمونه های هیدرولیز شده و نمونه کنترل بالاترین درصد پروتئین را داشت. آنزیم آلکالین پروتئاز روبوزایم در اکثر آزمایش های انجام شده

۳-۳- سنجش غلظت پروتئین محلول به روش بیورت
نتایج مربوط به تعیین غلظت نمونه های هیدرولیز شده ی ۱۶ ساعته طبق شکل ۱ می باشد. همان گونه که انتظار

پایین ترین نتایج را داشت و از ادامه ی آنالیز نمونه ها کنار گذاشته شد.

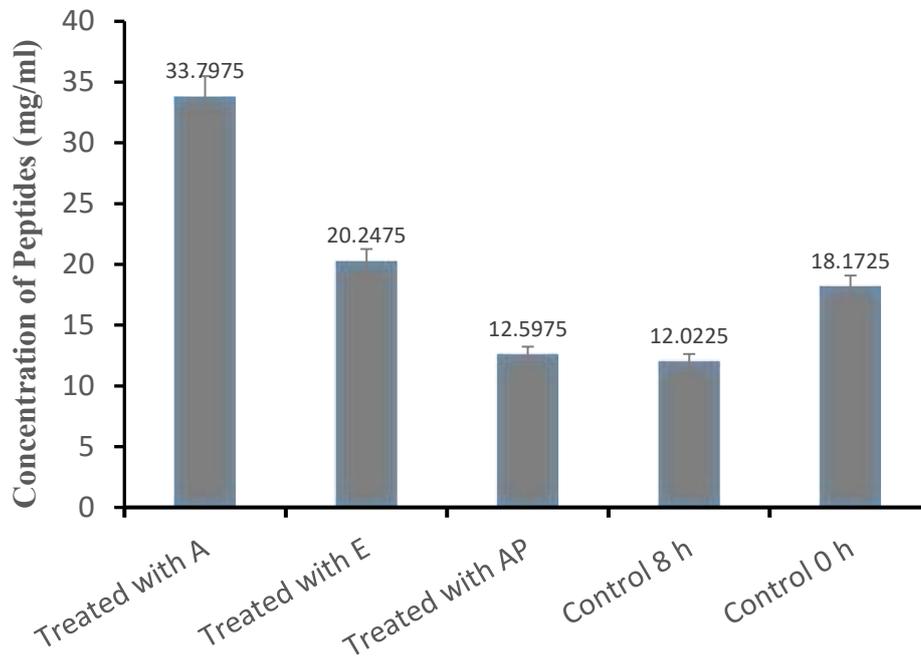


Fig 1. Comparison of the concentration of peptides in the control samples, protein hydrolyzed with A, E and AP by the Biuret method

شده است. با توجه به کم رنگ بودن ژل حاصل از رنگ آمیزی کوماسی بلو، رنگ آمیزی نقره نیترات جهت مشاهده دقیق تر باندها انجام شد. در نمونه های با اندازه کم تر از ۳۰ کیلودالتون، باند قابل توجهی مشاهده نشد و باندهای پپتیدی به صورت کم رنگ ظاهر شدند که مطابق با نتایج Bordbar و همکاران [۱۵] بود.

۳-۴- آنالیز پپتیدها

مطابق با شکل ۲ پروفایل توزیع اندازه مولکولی پروتئین هیدرولیز شده با آلکالاز همراه با اجزای پپتیدی توسط الکتروفورز ژل تعیین شد که از یک مارکر استاندارد برای تشخیص وزن پپتیدها با وزن های مولکولی مختلف استفاده

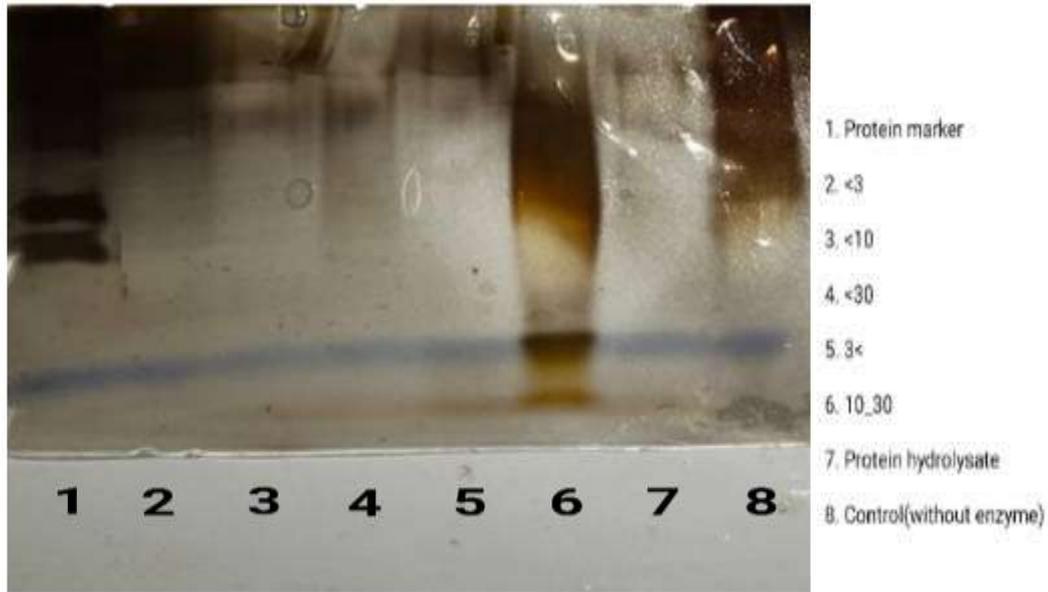


Fig 2. SDS-PAGE patterns of unfractionated and ultrafiltered fractions

است منجر به تولید پپتیدهایی با خواص زیست فعالی قوی شود.

۳-۵- آنالیز غلظت پپتیدهای اولترافیلتر شده

نتایج حاصله برای تعیین غلظت نمونه های اولترافیلتر شده در شکل ۳ نشان داده شده است. تحقیقات زیادی روی هیدرولیز آنزیمی قسمت های مختلف ماهیان با استفاده از آنزیم های تجاری صورت گرفته است. بسیاری از این تحقیقات اثر آنزیم های مختلف را مورد بررسی قرار دادند که از جمله می توان به آنزیم پاپائین با منشا گیاهی، آنزیم تریپسین و کیموتریپسین با منشا جانوری، آنزیم آلکالاز، پروتامکس، فلاورزایم و نئوتراز با منشاء میکروبی اشاره داشت [۱۹و۸]. راندمان بازیافت پروتئینی نشان دهنده توانایی یک آنزیم در جداسازی پروتئین های یک ماده میباشد که به خصوصیات ماده مورد نظر، شرایط هیدرولیز و فعالیت آنزیم بستگی دارد [20]. کارایی بالای آنزیم آلکالاز در برش پروتئین ها و تولید پپتیدهای کوچک با نتایج Bordbar و همکاران [۱۵] مطابقت دارد. تولید پپتیدهای با وزن مولکولی کم تر توسط آلکالاز نشان می دهد که پروتئین میگوی ببری سبز می تواند دارای بخش هایی با قابلیت برش سازگار با آنزیم آلکالاز باشد. به گفته ی Ishak و همکاران [8]، آلکالاز با برش پروتئین منجر به تولید پپتیدهای کوچک می شود؛ از این رو وجود باندهای با وزن مولکولی کم در اجزای پپتید در این مطالعه ممکن

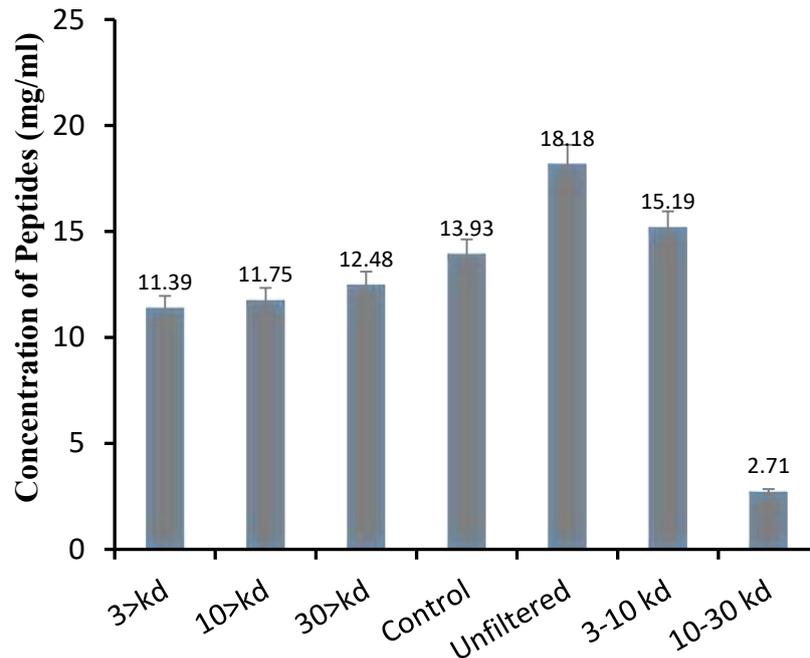


Fig 3. Comparison of ultrafiltrated peptides concentration in different components by biuret

دارای خاصیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH بالاتری بودند ($p \leq 0.05$).

آنزیم مورد استفاده در این مطالعه آلکالاز بود که به عنوان یک پروتئاز قلبی، توانایی بالایی در هیدرولیز پیوندهای پپتیدی و تولید پپتیدهای با وزن مولکولی پایین دارد. نتایج این پژوهش نشان داد که هیدرولیز پروتئین با آلکالاز منجر به افزایش معنی دار ($p \leq 0.05$) فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌ها در مقایسه با نمونه کنترل (هیدرولیز نشده) شد. این افزایش احتمالاً به دلیل آزادسازی پپتیدهای زیست فعال با خاصیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH بوده است. مطالعات پیشین نیز نشان داده‌اند که هیدرولیز با آلکالاز می‌تواند منجر به تولید پپتیدهای با ظرفیت آنتی اکسیدانی بالا شود که این موضوع به ماهیت و توالی اسیدهای آمینه آزاد شده وابسته است [21]. به ویژه در مطالعه‌ای که بر روی پروتئین ماهی پنجزاری باله نارنجی انجام شد [17]، آلکالاز به طور چشمگیری فعالیت آنتی اکسیدانی را بهبود بخشید و درصد مهار رادیکال DPPH در نمونه‌های هیدرولیز شده با این

3-6- ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی

3-6-1- قدرت حذف‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH یکی از شاخص‌های مهم جهت سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین‌ها، قدرت آنها برای مهار رادیکال آزاد DPPH است. DPPH یک رادیکال آزاد پایدار و محلول در اتانول است که بیشترین جذب را در طول موج 517 نانومتر دارد. این رادیکال با مواد الکترون دهنده مانند آنتی اکسیدانها مهار شده و جذبش کاهش می‌یابد. نتایج حاصل از بررسی خاصیت ضداکسیدانی ترکیبات هیدرولیز شده نشان داد که ترکیب هیدرولیز شده دارای خاصیت ضداکسیدانی بالایی در تمامی زمان‌ها تا 3 رقت پس از غلظت 10 میلی گرم بوده است. بالاترین میزان مهارکنندگی برای نمونه‌ی زیر 30 کیلوالتون طبق شکل 4 در غلظت 10 mg/mL در حدود ($69/61 \pm 0/15$) بود. نمونه‌های هیدرولیز شده در مقایسه با نمونه کنترل (هیدرولیز نشده)،

شد. این ترکیب به عنوان یک معیار استاندارد در ارزیابی توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در نمونه‌های مختلف استفاده گردید. همچنین در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بالاترین توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH مشاهده شد (۶۹/۶۱٪). نتایج مشابهی در مطالعات انجام گرفته بوسیله سایر محققان گزارش شد. رمضان زاده و همکاران [۱۶] بیان کردند بالاترین میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ارزیابی قدرت کاهندگی پروتئین هیدرولیز شده ماهی قزل‌آلا با آنزیم آلکالاز در غلظت ۱۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ۳۹/۸٪ بوده است. همچنین طبق مطالعه ی رمضان زاده و همکاران [۱۷]، ماهی پنجزاری باله نارنجی در هیدرولیزهای ۱ تا ۴ ساعت، بالای ۷۰ درصد مهارکنندگی DPPH داشت. بنابراین پپتیدهای مشتق شده از پروتئین‌های ماهی توانایی اعمال فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی قوی را در سیستم‌های مختلف اکسیداتیو نشان می‌دهند [۲۲].

آنزیم به ۶ / ۱ ± ۵۹ / ۷۵ رسید [۲۱]. نتایج مربوط به مقایسه درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH پروتئین هیدرولیز شده و اجزای پپتیدی دارای وزن‌های مولکولی مختلف در شکل ۴ نشان داده شده است. نتایج حاصل از بررسی خاصیت ضد اکسیدانی فرکشن‌های پپتیدی نیز نشان داد که با کاهش غلظت، مهارکنندگی نیز افزایش یافت و همه اجزای پپتیدی (۳)، ۳۰-۱۰ و >۳۰ کیلوالتون، توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH را دارا بودند. از آسکوربیک اسید (ویتامین C) در غلظت‌های ۰/۰۰۱-۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و فعالیت ضد اکسیدانی آن در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ۷۰/۰۵٪ محاسبه شد. این انتخاب به دلیل ویژگی‌های شناخته شده‌اش در مهار رادیکال‌های آزاد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی است. ویتامین C به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی با توانایی بالای خود در مهار رادیکال‌های آزاد، به طور گسترده‌ای در مطالعات آزمایشگاهی برای مقایسه با سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۲]. در این پژوهش، ویتامین C در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی معادل ۷۰.۵٪ را نشان داد که برای مقایسه با نمونه‌های هیدرولیز شده با آلکالاز در نظر گرفته

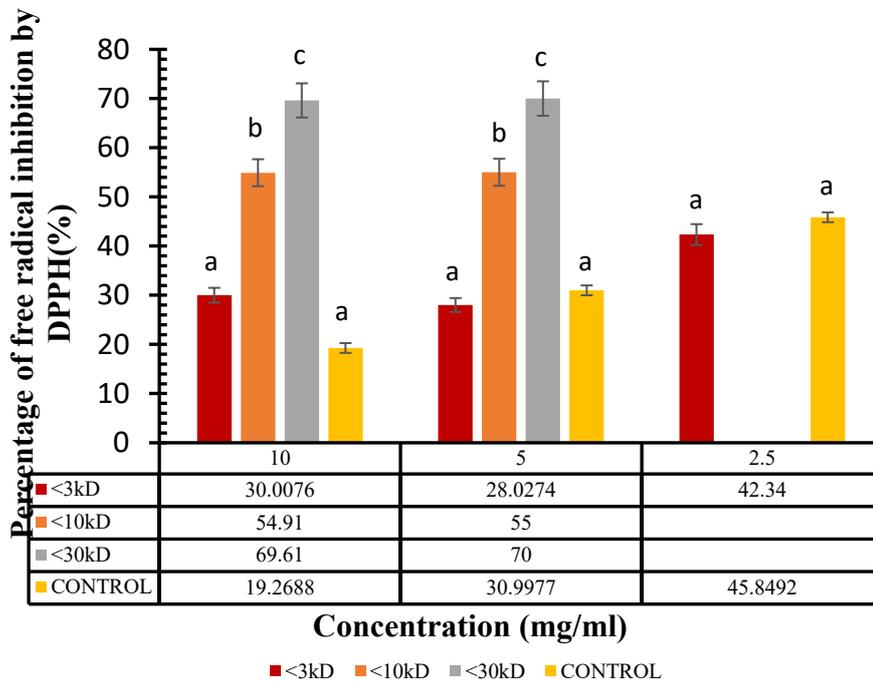


Fig 4. Comparison chart of DPPH free radical inhibition percentage of different samples

آروماتیک خاص می‌توانند فعالیت ضداکسیدانی پپتیدها را افزایش دهند. اجزاء پپتیدی و پروتئین هیدرولیز شده، طبق نتایج حاصل از بررسی خاصیت ضداکسیدانی اجزای مختلف پپتیدی توانایی مهار رادیکال آزاد ABTS را دارا بودند (شکل ۵). نمونه‌های هیدرولیز شده در وزن‌های مختلف، در مقایسه با نمونه کنترل (هیدرولیز نشده)، قادر به مهار رادیکال آزاد ABTS بودند ولی تفاوت فعالیت مهارکنندگی نمونه‌ها در غلظت‌های مختلف از نظر آماری معنی دار نبود. ($p > 0.05$).

۳-۶-۲- ظرفیت مهار رادیکال آزاد ABTS رادیکال آزاد ABTS رادیکالی نسبتاً پایدار است و به آسانی توسط ضداکسیدان‌ها مهار می‌شود [۲۳]. همچنین ظرفیت مهار بالتر در رادیکال آزاد ABTS نسبت به رادیکال آزاد DPPH در نمونه‌های مورد بررسی با نتایج Shahidi و همکاران [۹] مطابقت داشت. رادیکال‌های آزاد، مهم‌ترین مکانیسم ضداکسیدانی پپتیدهای حاصل از هیدرولیز پروتئین است که عامل آن وجود اسید آمینه‌هایی مانند والین، لوسین، پرولین و آلانین در توالی پپتیدی آن‌هاست [۲۴ و ۲۵]. احتمالاً مقادیر بالای اسیدهای آمینه مانند Asp, His, Arg, Leu, Cys, Met, Tyr, Trp, Ala, Pro در ساختار پروتئین طبق یافته‌های ZHONG و همکاران [۲۵] تایید می‌گردد. نتایج ZHONG و همکاران [۲۶] نشان می‌دهد که وجود این اسیدآمینه‌های آب‌گریز و

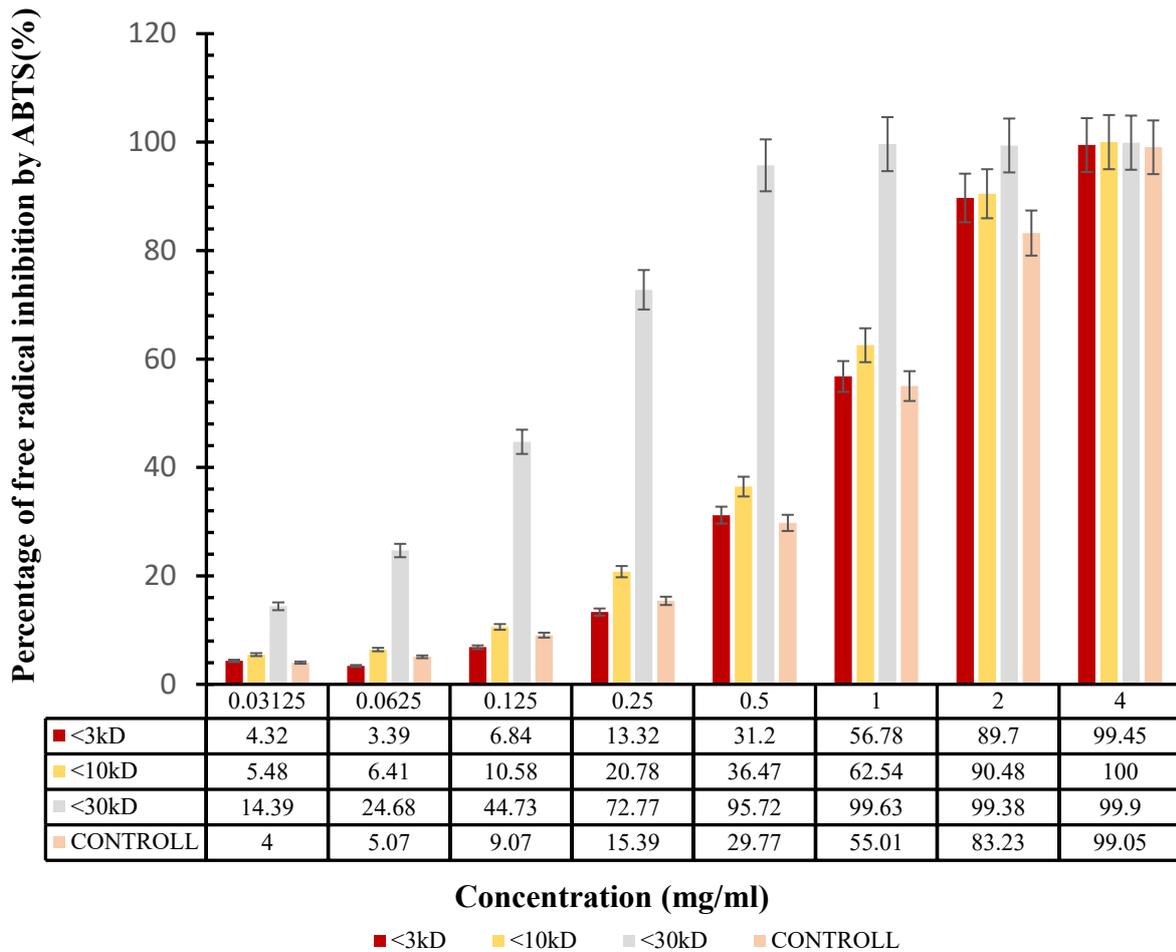


Fig 5. Comparison chart of ABTS free radical inhibition percentage of different samples

زیست‌فعالی را نشان دادند. عوامل زیادی روی خواص زیست‌فعالی پپتیدها موثر می‌باشد که از آن جمله می‌توان به نوع آنزیم پروتئاز، درجه هیدرولیز، وزن مولکولی، ترکیب آمینو اسیدی پپتیدها و شرایط هیدرولیز شامل دما، زمان و pH، اشاره نمود [۲۷]. اما مهمترین عامل موثر، وزن مولکولی می‌باشد. دلیل این امر را می‌توان در تاثیر وزن مولکولی روی ترکیب و تنوع اسیدهای آمینه پپتیدها دانست که تاثیر زیادی در ممانعت از فعالیت آنزیم ACE دارد. مشخص شده است که پپتیدهای با وزن مولکولی کمتر از ۳ کیلودالتون، دارای ترکیب مناسب آمینواسیدی برای ممانعت از فعالیت آنزیم ACE هستند. Forghani و همکاران [۱۸] ظرفیت مهارکنندگی ACE

۳-۷- سنجش فعالیت مهارکنندگی آنزیم مبدل آنژیوتنسنین (ACE-I)

فعالیت مهارکنندگی پروتئین هیدرولیز شده و اجزای پپتیدی حاصل از الترافیلتراسیون در غلظت میکروگرم بر میلی‌لیتر، علیه آنزیم ACE در شکل ۶ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد، همه‌ی نمونه‌ها توانایی مهارکنندگی ACE را دارا بودند. فعالیت بازدارندگی بین ۳۳٪ تا ۵۵٪ بود. بیش‌ترین میزان مهارکنندگی متعلق به جزء پپتیدی زیر ۳ کیلودالتون بود (۵۴/۸۸٪) و طبق آنالیز (ANOVA) اختلاف معنی‌داری با نمونه‌های زیر ۳۰ و ۱۰ کیلودالتون داشتند ($p < 0.05$). همچنین طبق نتایج به دست آمده، نمونه‌های پپتیدی کمتر از ۳۰ کیلودالتون کمترین خاصیت

ACE بهتری نسبت به پپتیدهای با وزن ملکولی بالا می‌باشند [۱۹]. این نتایج در تطبیق با نتایج Wu و همکاران [۲۶] است که بالاترین توانایی بازدارندگی ACE را در فرکشن‌های با وزن ملکولی پایین مشاهده نمودند. به طور کلی در نتایج ما فعالیت بازدارندگی بین ۳۳٪ تا ۵۵٪ بود، که با نتایج Borges-Contreras و همکاران [۲۷] در خصوص اثر ضدفشار خون پپتید حاصل از هیدرولیز پوسته میگو تطابق داشته است. مطالعات قبلی در مورد پپتیدهای بازدارنده ACE نشان دادند که پپتیدهای با وزن مولکولی پایین‌تر، فعالیت مهار قوی‌تری نسبت به پپتیدهای با وزن مولکولی بالا داشتند [۱۸ و ۱۹] که با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر مطابقت دارد. پپتیدهایی با وزن مولکولی ۱۰-۵ کیلودالتون حاصل از ژلاتین پوست ماهی کاد اقیانوس اطلس طبق مطالعات Ngo و همکاران [۲۸]، دارای مهارکنندگی حدوداً ۶۰٪ می‌باشند. از آنجایی که فعالیت اولیه ACE بریدن دی‌پپتید C ترمینال سوبستراهی البگوپپتیدی با ویژگی گسترده است، مهارکننده‌های قوی ACE طبق یافته‌های Ngo و همکاران [۲۸] به شدت تحت تأثیر توالی تری‌پپتیدی C ترمینال آن‌ها قرار دارد.

پپتیدهای هیدرولیز شده توسط آنزیم پروتئاز آلکالاز فلاوروزیم تریسین، پایابین بروملین و پروتامکس بررسی قرار دادند که نتایج همسو با نتایج مطالعه حاضر بود و به طور کلی پپتیدهای هیدرولیز شده توسط آنزیم آلکالاز فعالیت ضد فشارخونی بالاتری داشتند. دادند. بر طبق مطالعه Ishak و همکاران [۸]، اجزای پپتیدی حاصل از الترافیلتراسیون پروتئین هیدرولیز شده به شدت تحت تأثیر توالی پپتیدها و همچنین حضور اسید آمینه‌های خاص در C ترمینال توالی پپتیدهایی مانند Pro, Phe, Tyr, Trp و یک اسید آمینه آب‌گریز که تمایل به تعامل با محل فعال ACE قرار دارد، دارند. خاصیت ضدمهار قوی می‌تواند تا حدی هم به منبع پروتئین و یا پپتید استخراج شده و نحوه فیلتراسیون با غشاهای اولترافیلتر نسبت داده شود. بطور کلی، جداسازی پپتیدها براساس اندازه، فعالیت زیستی پروتئین هیدرولیز شده را افزایش می‌دهد [۱۹]. همانگونه که در نتایج مشاهده شد با تغییر وزن ملکولی پپتیدها، توانایی بازدارندگی ACE تغییر معنی دار نشان داد. بالاترین توانایی بازدارندگی در فرکشن کمتر از ۳ کیلودالتون و کمترین فعالیت نیز در فرکشن بیش از ۳۰ کیلودالتون مشاهده گردید. این نتایج تایید می‌کنند که پپتیدهای با وزن ملکولی پایین بازدارنده‌های

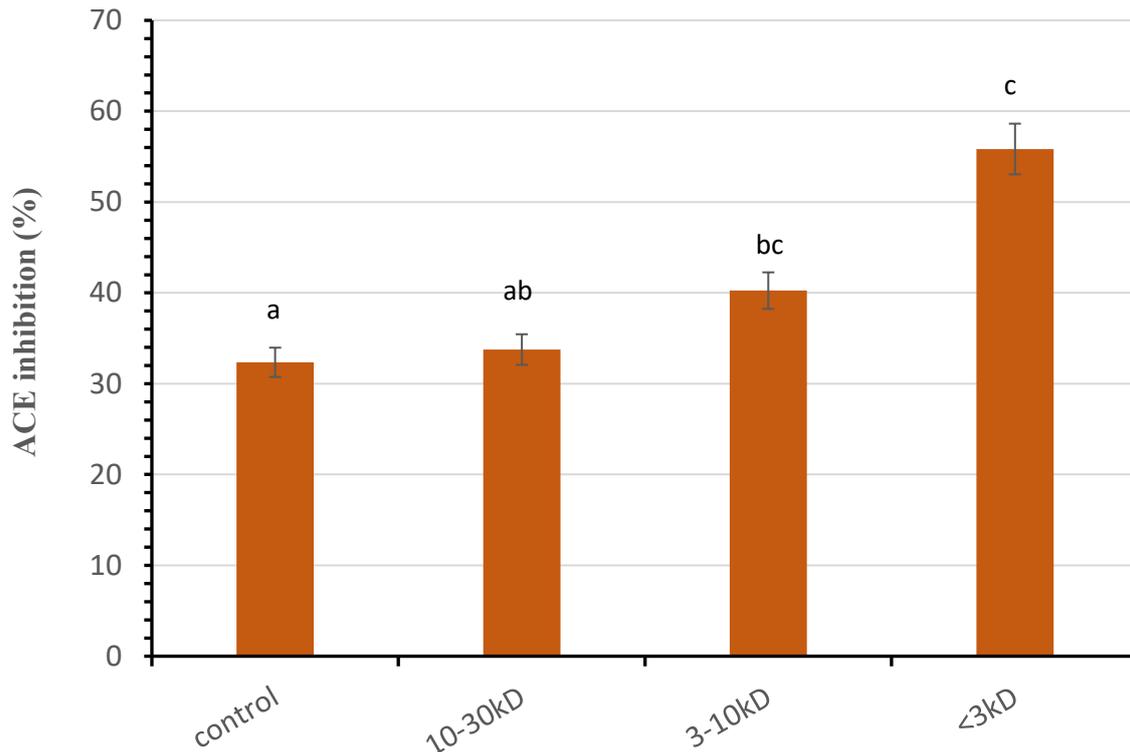


Fig 6. Comparison chart of ACE enzyme inhibition percentage at 12.5 ($\mu\text{g/ml}$) concentration of different hydrolyzed samples

انواع مختلف پروتئین هیدرولیز شده می‌تواند به دلیل تفاوت در ساختار پپتیدها باشد به گونه ای که Huang و همکاران [۲۹] بیان نموده اند که توانایی مهار DPP-IV در یک پروتئین هیدرولیز شده بوسیله ترکیب و توالی امینواسیدی پپتیدها تعیین می‌گردد. تعدادی از محققین گزارش داده اند که وزن مولکولی مطلوب برای پپتیدهای بازدارنده DPP-IV بین ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ دالتون می‌باشد [۳۰]. در مطالعه انجام شده توسط Hsu و همکاران [۳۰] بیان شده است که فرکشن با وزن مولکولی کمتر از ۱/۵ کیلو دالتون از پروتئین هیدرولیز شده ژلاتین پوست خوک بالاترین بازدارندگی DPP-IV را در مقایسه با نمونه‌های با وزن مولکولی بالاتر نشان دادند. همان‌گونه که انتظار می‌رفت فرکشن کمتر از ۳ کیلو دالتون در پژوهش حاضر نیز بالاترین فعالیت را نسبت به پروتئین هیدرولیز شده کل و سایر فرکشن‌ها نشان داد. با این حال، پپتیدهای با وزن مولکولی بالاتر (مانند ۱۰ و ۳۰ کیلودالتون) نیز فعالیت ضد دیابتی قابل توجهی از خود نشان دادند، که این موضوع ممکن است به دلیل ساختار سه‌بعدی خاص یا

۳-۸- سنجش فعالیت ضد دیابتی از طریق ممانعت کنندگی دی‌پپتیدیل پپتیداز (DPP IV-4)

فعالیت بازدارندگی DPP-IV پروتئین هیدرولیز شده و اجزای پپتیدی حاصل از اولترافیلتراسیون آن در غلظت میلی گرم بر میلی لیتر در شکل ۷ نشان داده شده است. بر طبق نتایج، همه‌ی نمونه‌ها توانایی مهار کنندگی DPP-IV را دارا بودند. فعالیت مهار کنندگی بین ۳۵/۷۳٪ (بالاترین میزان مهار کنندگی که متعلق به جزء پپتیدی زیر ۳ کیلودالتون بود) تا ۱۲/۲۸٪ (پایین ترین میزان مهار کنندگی که متعلق به ۱۰ تا ۳ کیلودالتون بود)، بود که این نتیجه تقریباً مطابق با نتایج حاصل از آزمون‌های بررسی خاصیت ضد فشارخون می‌باشد. Nongonierma و FitzGerald [۳] گزارش کردند که پارامترهای ساختاری ممکن است با خواص بازدارندگی DPP-IV مرتبط باشد و احتمالاً طول پپتید مستقیماً بر عملکرد تأثیر نمی‌گذارد. تفاوت در میزان فعالیت

Oreochroma niloticus (۵۱٪/۹۱) توانایی مهار DPP-IV، در غلظت ۱ میلی گرم در میلی لیتر نشان داد که مشابه با فعالیت فرکشن کمتر از ۳ کیلودالتون در مطالعه حاضر می‌باشد. در مطالعه‌ی رمضان زاده [۱۷]، در غلظت ۲ میلی گرم در میلی لیتر، پپتیدهای بین ۳ تا ۱۰ کیلودالتون ماهی پنجزاری باله نارنجی، بالاترین خاصیت مهارکنندگی DPP-IV را با درصد حدود ۵۵٪ از خود نشان دادند که مطابق با یافته‌های ما از تاثیر پپتیدهای کوچکتر از ۳ کیلودالتون روی کیت دیابت بود.

مکانیسم‌های عمل متفاوت آن‌ها باشد. تحلیل آماری (ANOVA) نشان داد که تفاوت بین گروه‌ها از نظر آماری معنی‌دار است ($p < 0.05$). این یافته‌ها نشان می‌دهند که وزن مولکولی به تنهایی نمی‌تواند فعالیت ضد دیابتی پپتیدها را تعیین کند و عوامل دیگری مانند ساختار پپتید و مکانیسم عمل نیز نقش مهمی ایفا می‌کنند. Wang و همکاران [۴] از پوست ماهیان گرمایی و سردایی متعدد برای تولید ژلاتین هیدرولیز شده استفاده نموده و فعالیت بازدارندگی-DPP-IV آن‌ها را مقایسه کردند. نتایج پژوهش این محققین نشان داد که فرکشن بالاتر از ۱/۵ کیلودالتون ژلاتین پوست تیلایپا

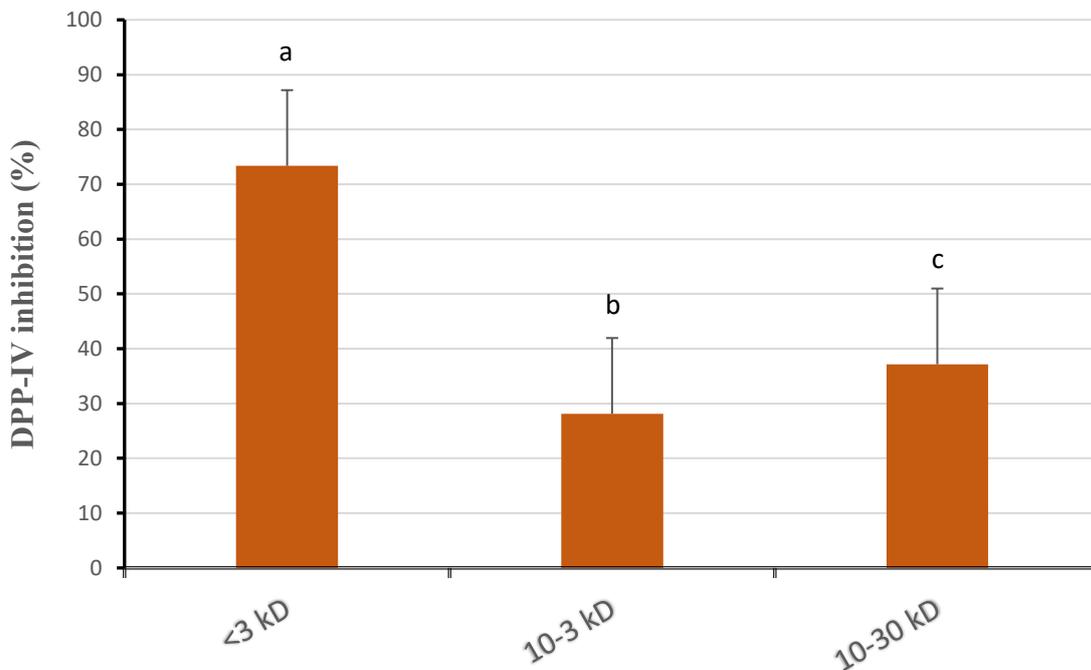


Fig 7. Comparison of DPP-IV inhibitory activity of hydrolyzed protein and peptide components with different molecular weights at a concentration of 2 (mg/ml)

علی‌رغم تلاش‌های فراوان برای استخراج ترکیبات زیست‌فعال از ضایعات آبزیان، این حوزه همچنان مورد توجه محققان و صنایع باقی مانده است. در صنعت فرآوری میگو، ضایعاتی شامل سر و قفسه سینه، پوسته (کاراپاس) و دم (۴۰-۴۵٪) تولید می‌شود که یا به عنوان خوراک

۴- نتیجه گیری

با توجه به افزایش جمعیت جهانی، نیاز به منابع پروتئینی بیشتر از همیشه احساس می‌شود. برای رفع این نیازها، استفاده بهینه و هوشمندانه از منابع دریایی ضروری است.

استخراج پپتیدها از ضایعات میگوی ببری سبز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تمام اجزای پپتیدی توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS و همچنین مهار DPP-IV و ACE را دارند. پپتیدهای با وزن مولکولی کمتر از ۳ کیلودالتون بالاترین میزان زیست‌فعالی را نشان دادند.

رضایت‌نامه کتبی

رضایت‌نامه کتبی و آگاهانه از تمامی شرکت‌کنندگان در مطالعه اخذ شد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ‌گونه تعارض منافع ندارند.

بیانیه دسترسی‌ها

داده‌های پژوهش به اشتراک گذاشته نمی‌شوند.

آبزی‌پروری یا مکمل خوراک دام استفاده می‌شود. سر و قفسه سینه شامل پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه است که می‌توان آن‌ها را به پپتیدهای زیست‌فعال تبدیل کرد. این پپتیدها می‌توانند به عنوان مواد افزودنی غذایی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدفشارخونی مورد استفاده قرار گیرند. همچنین سر و قفسه سینه میگو می‌تواند منبع خوبی از کلسیم و سایر مواد معدنی باشد که به عنوان مکمل‌های غذایی استفاده می‌شوند. پوسته حاوی پپتیدهای زیست‌فعال و نیز کیتین و کیتوسان که می‌توان آن را به کیتوسان تبدیل کرد. به عنوان مثال، از کیتوسان در تولید فیلم‌های خوراکی، داروهای ضدباکتری، و مکمل‌های غذایی استفاده می‌شود. دم میگو حاوی پروتئین‌ها و پپتیدهای زیست‌فعال است که می‌توان آن‌ها را هیدرولیز کرده و به پپتیدهای زیست‌فعال با خواص ضدفشارخونی و ضدباکتری تبدیل کرد. برخی از ضایعات میگو حاوی روغن‌های با ارزش غذایی در دم خود هستند که می‌توانند به عنوان منبع اسیدهای چرب امگا-۳ و سایر ترکیبات مفید استفاده شوند. پپتیدهای زیست‌فعال با خواص زیستی متنوع، گزینه‌های مناسبی برای تولید این محصولات هستند. در این تحقیق، هیدرولیز ۱۶ ساعته با استفاده از آنزیم آلکالاز برای

antioxidant activities, and applications: A review. *Food Chemistry*, 135(4), 3020–3038.

- 5-منابع
- [1] Ma, W., Li, N., Lin, L., Wen, J., Zhao, C., & Wang, F. (2023). Research progress in lipid metabolic regulation of bioactive peptides. *Food Production, Processing and Nutrition*, 5(1), 10.
 - [2] Hu, S., Li-Chan, E. C. Y., Wan, Y., Zhang, Y., & Pan, S. (2019). Identification of anti-diabetes peptides from *Spirulina platensis*. *Journal of Functional Foods*, 56, 333–341.
 - [3] Nongonierma, A. B., & FitzGerald, R. J. (2019). Features of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory peptides from dietary proteins. *Journal of Food Biochemistry*, 43(1), e12451.
 - [4] Li, Y., He, F., Liu, S., Wang, J., & Zhu, H. (2021). Investigation of *Chlorella pyrenoidosa* protein as a source of novel angiotensin I-converting enzyme (ACE) and dipeptidyl peptidase-IV (DPP-IV) inhibitory peptides. *Nutrients*, 13(5), 1624.
 - [5] Chalamaiah, M., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities, and applications: A review. *Food Chemistry*, 135(4), 3020–3038.
 - [6] Ramazani, M. (2018). Effect of hydrolysis intensity on functional properties of hydrolyzed protein from the ponyfish (*Leiognathus bindus*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 10(2), 137–149.
 - [7] Ko, S.-C., Kim, E.-A., & Jung, W.-K. (2012). A novel angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptide from a marine *Chlorella ellipsoidea* and its antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Process Biochemistry*, 47(12), 2005–2011.
 - [8] Ishak, N., & Sarbon, N. (2018). Physicochemical characterization of enzymatically prepared fish protein hydrolysate from waste of shortfin scad (*Decapterus macrosoma*). *International Food Research Journal*, 25(6), [pages].
 - [9] Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., & Shahidi, F. (2008). Comparative study on antioxidative activity of yellow stripe trevally protein hydrolysate produced from Alcalase and Flavourzyme. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(6), 1019–1026.

- [10] Nahvi, A. N., Ali, M., & Masoud, R. (2017). Production of hydrolyzed protein from Kilka fish by enzymatic hydrolysis and evaluation of its bioactive properties. *Physiology and Biotechnology of Aquatics*, 5(3), 39–58.
- [11] Zhang, Y., Duan, X., & Zhuang, Y. (2012). Purification and characterization of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin. *Peptides*, 38(1), 13–21.
- [12] Ng, K., & Mohd Khan, A. (2012). Enzymatic preparation of palm kernel expeller protein hydrolysate (PKEPH). *International Food Research Journal*, 19(2), [pages].
- [13] Owisi, H. R. (2009). Inhibitory properties of hydrolyzed aquatic proteins on angiotensin I-converting enzyme activity and its effect in reducing the risk of heart attack. In *Proceedings of the First National Congress on Veterinary Laboratory Sciences* (pp. [pages]).
- [14] Nejad, K. (2019). Comparison of separate and combined levels of commercial multi-enzymes on the feeding efficiency and chemical composition of common carp (*Cyprinus carpio*) carcasses. *Journal of Veterinary Research*, 74(1), 35–43.
- [15] Bordbar, S., Ebrahimpour, A., Zarei, M., Abdul Hamid, A., & Saari, N. (2018). Alcalase-generated proteolysates of stone fish (*Actinopyga lecanora*) flesh as a new source of antioxidant peptides. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 1541–1559.
- [16] Ramezanzade, L., et al. (2018). Recovery of bioactive peptide fractions from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processing waste hydrolysate. *Ecopersia*, 6(1), 31–40.
- [17] Ramezanzade, L., et al. (2022). Evaluation of bioactive properties of peptide fractions from enzymatic hydrolysis of orange fin ponyfish (*Leiognathus bindus*). *Journal of Fisheries Science and Technology*, 11(2), 106–122.
- [18] Forghani, B., et al. (2012). Enzyme hydrolysates from *Stichopus horrens* as a new source for angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, Article ID 236384.
- [19] Auwal, S. M., et al. (2018). Enhanced physicochemical stability and efficacy of angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory biopeptides by chitosan nanoparticles optimized using Box-Behnken design. *Scientific Reports*, 8(1), 10411.
- [20] Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000). Fish protein hydrolysates: Production, biochemical, and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(1), 43–81.
- [21] Herawati, E., Akhsanitaqwm, Y., Agnesia, P., Listyawati, S., Pangastuti, A., & Ratriyanto, A. (2022). In Vitro Antioxidant and Antiaging Activities of Collagen and Its Hydrolysate from Mackerel Scad Skin (*Decapterus macarellus*). *Marine Drugs*, 20(8), 516. <https://doi.org/10.3390/md20080516>
- [22] Bashir, K. M. I., Chakniramol, S., Mansoor, S., Jahn, A., Cho, M.-G., & Choi, J.-S. (2024). Antioxidant activity of protein hydrolysates from redlip mullet (*Chelon haematocheilus*) muscle and byproducts. *Foods*, 13(18), 3009.
- [23] Umayaparvathi, S., Meenakshi, S., Vimalraj, V., Arumugam, M., Sivagami, G., & Balasubramanian, T. (2014). Antioxidant activity and anticancer effect of bioactive peptide from enzymatic hydrolysate of oyster (*Saccostrea cucullata*). *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4(3), 343–353.
- [24] Oh, Y., Ahn, C. B., Nam, K. H., Kim, Y. K., Yoon, N. Y., & Je, J. Y. (2019). Amino acid composition, antioxidant, and cytoprotective effect of blue mussel (*Mytilus edulis*) hydrolysate through the inhibition of caspase-3 activation in oxidative stress-mediated endothelial cell injury. *Marine Drugs*, 17(2), 135. <https://doi.org/10.3390/md17020135>
- [25] Zhong, S., et al. (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.
- [26] Wu, S., et al. (2012). Optimization of hydrolysis conditions for the production of angiotensin-I converting enzyme-inhibitory peptides and isolation of a novel peptide from lizard fish (*Saurida elongata*) muscle protein hydrolysate. *Marine Drugs*, 10(5), 1066–1080.
- [27] Borges-Contreras, B., et al. (2019). Angiotensin-converting enzyme inhibition in vitro by protein hydrolysates and peptide fractions from mojarra of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skeleton. *Journal of Medicinal Food*, 22(3), 286–293.
- [28] Ngo, D.-H., et al. (2016). Angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from Pacific cod skin gelatin using ultrafiltration membranes. *Process Biochemistry*, 51(10), 1622–1628.
- [29] Huang, S.-L., et al. (2012). Dipeptidyl-peptidase IV inhibitory activity of peptides derived from tuna cooking juice hydrolysates. *Peptides*, 35(1), 114–121.
- [30] Hsu, K. C., Tung, Y. S., Huang, S. L., & Jao, C. L. (2013). Dipeptidyl peptidase-IV inhibitory activity of peptides in porcine skin gelatin hydrolysates. *Bioactive food peptides in health and disease*, (2), 205–218.



Scientific Research

Investigation of Antidiabetic, Antihypertensive, and Antioxidant Properties of Bioactive Peptides Extracted from the Waste of Green Tiger Shrimp (*Penaeus semisulcatus*)

Mahya damali amiri^{1*}, Reza hasan sajadi²

- 1- master of biochemistry, Tarbiat modares university, Jalal al ahmad, Kargar shomali.
 2- phd of biochemistry, professor Tarbiat modares university, Jalal al ahmad, Kargar shomali.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Article History:</p> <p>Received: 2024/11/03</p> <p>Review: 2025/10/12</p> <p>Accepted: 2025/10/16</p> <hr/> <p>Keywords:</p> <p>marine peptide, enzymatic hydrolysis, bioactive peptide, Green tiger shrimp, antidiabetic properties</p> <hr/> <p>DOI: 10.48311/fsct.2026.83919.0</p> <p>*Corresponding Author E- mahya.amirii76@gmail.com</p>	<p>Kiwi has high antioxidant properties due to high amounts of ascorbic acid (vitamin C) and polyphenolic and flavonoid compounds and is widely consumed in the world. Kiwi juice is very popular due to its easy consumption and longer shelf life than its fruit. Processes such as concentration and clarification require the use of high temperatures or pressures, which cause the reduction of heat-sensitive compounds and the formation of undesirable compounds in the color, taste, and aroma of fruit juices. Nanofiltration is a suitable alternative for thermal processes in fruit juices due to its cost-effectiveness, high efficiency, no need for high temperature and pressure, and simplicity in carrying out the process. In this research, kiwifruit juice (variety of Hayward) was first subjected to a microfiltration process with a polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane with a pore size of 0.22 μm and the permeate was entered into the nanofiltration process with a polyamide membrane with a cut-off of 400 Da and the process continued until the concentration of nutritional compounds. After the membrane process, in addition to determining the dominant fouling index by the Hermia model, the physicochemical properties of kiwi fruit juice such as acidity, total soluble solids, turbidity, pH, total polyphenolic and flavonoid compounds, and antioxidant properties were measured. Microfiltration and then performing the nanofiltration process resulted in the concentration of nutritional compounds that by reaching the volume concentration factor equal to 4, polyphenolic compounds increased 7 times (from about 0.0028 mg/100 cc sample to about 0.02 mg/100 cc sample) and flavonoid compounds increased about 10 times (from about 0.164 mg/100 cc sample to about 1.64 mg per 100 cc sample) were concentrated. Also, the fouling study showed that microfiltration as a pre-treatment caused the reduction of suspended particles in kiwifruit juice and delayed the fouling of the nanofiltration.</p>