دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دانشکده شیلات و محیط زیست

پایان‌نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد در رشته فرآوری محصولات شیلاتی

عنوان :

بهینه‌سازی شرایط هیدرولیز آنزیمی پروتئین ضایعات‌سرسینه میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) برای تولید پروتئین هیدرولیزشده با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا با استفاده از روش سطح پاسخ

پژوهش و نگارش:

خاطره نظری

استاد راهنما:

بهاره شعبان‌پور

استاد مشاور:

مینا اسمعیلی خاریکی

پاییز ۱۳۹۱

فصل اول: مقدمه و کلیات

1 – 1 مقدمه 2

1 – 2 کلیات 7

1– 2 – 1 تولید پروتئین هیدرولیز شده 7

1– 2 – 1 – 1 هیدرولیز به روش شیمیایی 7

1 – 2 – 1 – 2 هیدرولیز به روش اتولیتیک (تخمیر) 7

1 – 2 – 1 – 3 هیدرولیز به روش بیوشیمیایی 8

1 – 2 – 2 پروتئاز 11

1 – 2 – 3 خواص آنتی اکسیدانی 15

1 – 2 – 4 تلخی در پروتئین هیدرولیز شده 16

1 – 2 – 5 میگوی ببری سبز 17

1 – 2 – 5 – 1 اختصاصات 17

1 – 2 – 6 کاربرد پروتئین هیدرولیز شده 18

1 – 2 – 7 طرح آماری سطح پاسخ 19

فصل دوم: مرور منابع

2 – 1 منابع خارجی 21

2 – 1 – 1 آنزیم 21

2 – 1 – 2 درجه هیدرولیز 24

2 – 1 – 3 خواص آنتی اکسیدانی 25

2 – 1 – 4 طرح آماری سطح پاسخ 27

2 – 1 – 5 میگو 27

2 – 2 مطالعات داخلی 28

فصل سوم: مواد و روش‌ها

3 – 1 وسایل و تجهیزات مورد استفاده 30

3 – 2 مواد و روش ها 30

3 – 2 – 1 مواد شیمیایی 30

3 – 2 – 2 میگوی ببری سبز 31

3 – 2 – 3 آنزیم ها 31

3 – 2 – 4 تولید پروتئین هیدرولیز شده میگو 32

3 – 2 – 5 درجه هیدولیز 33

3 – 2 – 6 تعیین ترکیب تقریبی ماده خام و پروتئین هیدرولیز شده تولیدی 34

3 – 2 – 7 تعیین خواص آنتی اکسیدانی 34

3 – 2 – 7 – 1 قدرت دفع رادیکال آزاد DPPH 34

3 – 2 – 7 – 2 قدرت دفع رادیکال آزاد هیدروکسیل 35

3 – 2 – 7 – 3 قدرت احیای آهن 36

3 – 3 تجزیه و تحلیل آماری 36

3 – 4 آنالیز داده های نتایج 39

فصل چهارم: نتایج

4 – 1 تأثیر نوع آنزیم 40

4 – 2 ترکیب شیمیایی 41

4 – 3 درجه هیدرولیز 42

4 – 4 بهینه سازی فرآیند هیدرولیز پروتئین 44

4 – 4 – 1 بررسی مدل های برازش شده 44

4 – 4 – 2 پلات های سطح پاسخ و اثر فاکتورها 53

4 – 5 تأثیر شرایط مختلف تولید بر خواص آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده تولیدی با آنزیم های آلکالاز و

فلاورزایم 53

4 – 5 – 1 تأثیر شرایط مختلف تولید بر قدرت دفع رادیکال آزاد DPPH پروتئین هیدرولیز شده تولیدی با آنزیم آلکالاز 53

4 – 5 – 2 تأثیر شرایط مختلف تولید بر قدرت دفع رادیکال آزاد هیدروکسیل پروتئین هیدرولیز شده تولیدی با

آنزیم آلکالاز 55

4 – 5 – 3 تأثیر شرایط مختلف تولید بر قدرت احیای آهن پروتئین هیدرولیز شده تولیدی با آنزیم آلکالاز 59

4 – 5 – 4 اثر شرایط مختلف تولید بر قدرت دفع رادیکال آزاد DPPH پروتئین هیدرولیز شده تولیدی

با آنزیم فلاورزایم 63

4 – 5 – 5 تأثیر شرایط مختلف تولید بر قدرت دفع رادیکال آزاد هیدروکسیل پروتئین هیدرولیز شده تولیدی با آنزیم فلاورزایم 67

4 – 5 – 6 اثر شرایط مختلف تولید بر قدرت احیای آهن پروتئین هیدرولیز شده تولیدی با آنزیم فلاورزایم 71

4 – 6 انتخاب تیمار بهینه 73

فصل پنجم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها

5 – 1 بحث 75

5 – 2 انتخاب تیمار بهینه 83

5 – 3 نتیجه گیری کلی 84

5 – 4 پیشنهادها 85

5 – 4 – 1 پیشنهادات پژوهشی 85

5 – 4 – 2 پیشنهادات اجرایی 86

منابع (فارسی، خارجی) 87

فهرست جداول

جدول 1 – 1 : نوع و خواص کاربردی برخی پروتئازهای تولید شده به صورت تجاری ... 14

جدول 3 – 1 : آنزیم های مورد استفاده در تحقیق و اطلاعات کاربردی آن ها 32

جدول 3 – 2 : مقادیر عوامل متغیر برای آنزیم آلکالاز 38

جدول 3 – 3 : مقادیر عوامل متغیر برای آنزیم فلاورزایم 38

جدول 4-1: ترکیب شیمیایی ماده خام اولیه و میانگین 18 تیمار پروتئین هیدرولیز شده میگوی ببری سبز 41

(P. SEMISULCATUS) بر اساس وزن خشک 41

جدول 4-2: درجه هیدرولیز پروتئین هیدرولیز شده با آنزیم آلکالاز و فلاورزایم 43

جدول 4-3: طرح مرکب مرکزی و پاسخهای متغیرهای وابسته به متغیرهای مستقل برای تولید پروتئین هیدرولیز شده از ضایعات میگوی ببری سبز (P. SEMISULCATUS) با استفاده از آنزیم آلکالاز 45

جدول 4-4: طرح مرکب مرکزی و پاسخهای متغیرهای وابسته به متغیرهای مستقل برای تولید پروتئین هیدرولیز شده از ضایعات میگوی ببری سبز (P. SEMISULCATUS) با استفاده از آنزیم فلاورزایم 46

جدول 4-5: ضرایب معادله چند جملهای برازش شده برای پاسخهای مختلف 47

جدول 4 – 6: مدل سطح پاسخ 48

جدول 4-7: آنالیز واریانس (ANOVA) اثر ساده متغیرها بر ویژگیهای مورد آزمایش 49

جدول 4-8: آنالیز واریانس (ANOVA) پاسخ متغیرهای وابسته 50

جدول 4-9: آنالیز باقیماندههای مدلهای رگرسیون 52

جدول 4-10: مقادیر عوامل متغیر در نقاط تیمار بهینه مربوط به هر آنزیم 73

فهرست اشکال

شکل1 - 1: تجزیه هیدرولیتیکی پروتئین ها 5

شکل 4 – 1 : سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب)تأثیر همزمان مقدار آنزیم و دما بر دفع رادیکال آزاد DPPH پروتئین هیدرولیز شده ضایعات میگوی ببری سبز با آنزیم آلکالاز 54

شکل 4 – 2 : سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) تأثیر همزمان مقدار آنزیم و دما بر دفع رادیکال آزاد هیدروکسیل پروتئین هیدرولیز شده ضایعات میگوی ببری سبز با آنزیم آلکالاز 56

شکل 4 – 3 : سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) تأثیر همزمان مقدار آنزیم و زمان بر دفع رادیکال آزاد هیدروکسیل پروتئین هیدرولیز شده ضایعات میگوی ببری سبز با آنزیم آلکالاز 57

شکل 4 – 4: سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) تأثیر متقابل دما و زمان بر دفع رادیکال آزاد هیدروکسیل پروتئین هیدرولیز شده ضایعات میگوی ببری سبز با آنزیم آلکالاز 58

شکل 4 – 5 : سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) تأثیر همزمان مقدار آنزیم و دما بر قدرت احیای آهن پروتئین هیدرولیز شده ضایعات میگوی ببری سبز با آنزیم آلکالاز 60

شکل 4 – 6 : سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) تأثیر همزمان مقدار آنزیم و زمان بر قدرت احیای آهن پروتئین هیدرولیز شده ضایعات میگوی ببری سبز با آنزیم آلکالاز 61

شکل 4 – 7 : سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) تأثیر متقابل دما و زمان بر قدرت احیای آهن پروتئین هیدرولیز شده ضایعات میگوی ببری سبز با آنزیم آلکالاز ... 62

شکل 4– 8 : سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دوبعدی (ب) تأثیر همزمان مقدار آنزیم و دما بر قدرت دفع رادیکال آزاد DPPH پروتئین هیدرولیز شده ضایعات میگوی ببری سبز با آنزیم فلاورزایم 64

شکل 4 – 9: سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) تأثیر همزمان مقدار آنزیم و زمان بر قدرت دفع رادیکال آزاد DPPH پروتئین هیدرولیز شده ضایعات میگوی ببری سبز با آنزیم فلاورزایم 65

شکل 4 – 10: سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) تأثیر همزمان دما و زمان بر قدرت دفع رادیکال آزاد DPPH پروتئین هیدرولیز شده ضایعات میگوی ببری سبز با آنزیم فلاورزایم 66

شکل 4– 11: سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) تأثیر همزمان مقدار آنزیم و دما بر قدرت دفع رادیکال آزاد هیدروکسیل پروتئین هیدرولیز شده ضایعان میگوی ببری سبز با آنزیم فلاورزایم 68

شکل 4 – 12 : سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) تأثیر همزمان مقدار آنزیم و زمان بر قدرت دفع رادیکال آزاد هیدروکسیل پروتئین هیدرولیز شده ضایعات میگوی ببری سبز با آنزیم فلاورزایم 69

شکل 4 – 13: سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) تأثیر همزمان دما و زمان بر قدرت دفع رادیکال آزاد هیدروکسیل پروتئین هیدرولیز شده ضایعات میگوی ببری سبز با آنزیم فلاورزایم 70

شکل 4 – 14 : سطح پاسخ سه بعدی (الف) و کانتور دو بعدی (ب) تأثیر همزمان دما و زمان بر قدرت احیای آهن پروتئین هیدرولیز شده ضایعات میگوی ببری سبز با آنزیم فلاورزایم 72

چکیده

جهت بهینه‌سازی شرایط تولید پروتئین هیدرولیز شده (شامل نسبت آنزیم به سوبسترا، دما و زمان) به منظور دستیابی به بالاترین خواص آنتی‌اکسیدانی، مینس تهیه شده از ضایعات میگوی ببری سبز *(Penaeus semisulcatus)* پس از تعیین درصد پروتئین آن (۱۳٪ بر اساس وزن تر) با استفاده از دو پروتئاز تجاری آلکالاز و فلاورزایم بر اساس ۱۸ تیمار تعیین شده با طرح آزمایشات سطح پاسخ برای هر آنزیم، هیدرولیز شده و با خشک کن انجمادی به صورت پودر آماده گردید. جهت رسم نمودارهای سطح پاسخ و کانتور از نرم‌افزار MATLAB نسخه ۶/۵ استفاده شده و آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۵ و در حدود اطمینان ۹۵٪ انجام شده است. آزمایش‌های مربوط به خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده با سه روش قدرت دفع رادیکال‌های آزاد DPPH و هیدروکسیل و قدرت احیای آهن انجام شدند. به طور کلی فرآورده‌های تولید شده پاسخ بهتری به دفع رادیکال DPPH در مقایسه با قدرت دفع رادیکال آزاد هیدروکسیل و قدرت احیای آهن نشان دادند و از میان دو گروه فرآورده‌ها، پروتئین هیدرولیز شده با آنزیم آلکالاز دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، درجه هیدرولیز (۴۹/۷٪) و محتوی پروتئین (۸۶/۹٪) بالاتری بود. از میان تیمارهای تولیدی با آنزیم آلکالاز، تیمار ۱۱ (نسبت آنزیم به سوبسترا ۲/۵٪، دما ۷۵ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۸۵ دقیقه) به عنوان تیمار بهینه بر اساس خواص آنتی‌اکسیدانی برگزیده شد و از میان تیمارهای تولید شده با آنزیم فلاورزایم تیمار ۷ (نسبت آنزیم به سوبسترا ۱/۶۱٪، دما ۵۴/۰۶ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۱۰۵/۸ دقیقه) به عنوان تیمار بهینه بر اساس خواص آنتی‌اکسیدانی برگزیده شد.

کلمات کلیدی : آلکالاز، فلاورزایم، سطح پاسخ، آنتی‌اکسیدانی، میگوی ببری سبز

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱ – ۱ مقدمه

محصولات دریایی و صنایع شیلاتی یکی از مهمترین منابع تولید کننده غذای بشر هستند؛ بر اساس آمار رسمی سازمان خواروبار جهانی[1]، میزان تولید سالانه آبزیان بالغ بر ۱۳۲ میلیون تن است (فائو، ۲۰۰۵)، با توجه به این حجم عظیم تولیدات دریایی و نیز صنایع عمل‌آوری در سطح جهانی، سالانه مقادیر زیادی (در حدود ۵۰ درصد حجم تولید شده) ضایعات تولید می‌شوند، که بدون هیچ گونه توجهی به محیط زیست دور ریخته می‌شوند و در رابطه با دفع این ضایعات نگرانی‌های زیادی وجود دارد (بنجاکول و موریسی، ۱۹۹۷)، از طرفی افزایش نیاز به پروتئین در سطح جهانی توجهات را به سمت منابع پروتئینی غیرقابل استفاده یا کم ارزش معطوف کرده است (اویسی‌پور و همکاران، ۲۰۰۹). عمده ترین مواد جانبی صنایع عمل آوری آبزیان شامل امعاء و احشاء، پوست، فلس، ستون مهره، استخوانهای تنه و ضایعات سرسینه و پوست میگو و دیگر سخت‌پوستان است (بنجاکول و موریسی[2]، ۱۹۹۷). این ضایعات حاوی مواد غذایی ارزشمندی مانند پروتئین، چربی، کیتین، فیبر، مواد معدنی و رنگدانه‌ها هستند، که وجود این مواد مغذی باعث تسریع فساد در آن‌ها می‌شود (بهاسکار[3] و همکاران،۲۰۰۸). از اینرو یافتن راهی برای استفاده از این ضایعات و بازیافت مواد زیستی ارزشمند آن‌ها ضروری به نظر می‌رسد تا علاوه بر رفع مشکل انهدام این ضایعات، تولید محصولاتی با ارزش افزوده گردد. یکی از مهمترین مواد ارزشمند موجود در ضایعات، پروتئین است و پروتئین یکی از گران‌ترین اجزای غذایی است (اویسی‌پور و همکاران، ۱۳۸۹).

تبدیل محصولات جانبی و ضایعات فرآوری صنایع شیلاتی به مواد دیگری که دارای ارزش دارویی یا تغذیه‌ای باشند هر روزه علاقمندی بیشتری را به خود جلب می‌کند. فرآیندهای شیمیایی و فیزیکی برای انجام این تغییرات هریک محدودیت‌های خاص خود را در رابطه با کیفیت و کاربرد محصول نهایی ایجاد

---

[1] . FAO
[2] . Benjakul and Morrissey
[3] . Bhaskar

می‌کنند؛ در حالیکه به نظر می‌رسد روش آنزیمی دارای اولویت بیشتری بوده و محصول نهایی مناسب‌تری تولید می‌کند و باتوجه به پژوهش‌های صورت گرفته در این راستا، به نظر می‌رسد یکی از بهترین راه‌ها جهت بازیافت پروتئین‌ها از ضایعات استفاده از پروتئازها است. از اینرو نیاز به انجام تحقیقات گسترده در این زمینه و افزایش اطلاعات برای توسعه بیشتر این روش احساس می‌شود (جرارد[4] و همکاران، ۲۰۰۱). برخلاف روش‌های مکانیکی و شیمیایی که محصول را معیوب کرده و خواص مغذی آن را کاهش می‌دهد، پروتئولیز آنزیمی ملایم، سریع و قابل کنترل است (هو[5] و همکاران، ۲۰۱۱). یکی از مهمترین و شاید مرسوم‌ترین کاربرد پروتئازها استفاده از آن‌ها برای تولید پروتئین هیدرولیزشده از ضایعات است. پروتئازها آنزیم‌های هیدرولیتیک هستند که تجزیه یا شکستن باندهای پپتیدی را در مولکول‌های پروتئین کاتالیز می-کنند. هیدرولیز آنزیمی چندین جنبه مثبت در فرآورده تولیدی ایجاد می‌کند از جمله افزایش قدرت نگهداری آب، پایداری حرارتی پروتئین‌های میوفیبریل، خواص امولسی‌فایری، حلالیت پروتئین‌ها و ارزش تغذیه‌ای غذاها (ونوگوپال، ۲۰۰٦).

تولید جهانی میگو ٦ میلیون تن در سال تخمین زده شده است. که از این میزان ٤۹% تا ۵۸% آن ضایعات صنایع فرآوری است. ضایعات میگو شامل ۷۱/٤% سر و ۲۸/٦% پوسته است. که برای این ضایعات دو مشکل بزرگ انهدام و فساد مطرح است. از طرفی نیز این ضایعات حاوی مواد ارزشمندی مانند پروتئین، چربی و رنگدانه‌ی آستاگزانتین[6] هستند. بنابراین ضایعات صنایع فرآوری میگو، منبع مهمی برای استخراج این مواد ارزشمند، جهت استفاده در تولیدات آبزیان است (روتاناپورنواری و همکاران، ۲۰۰۵).

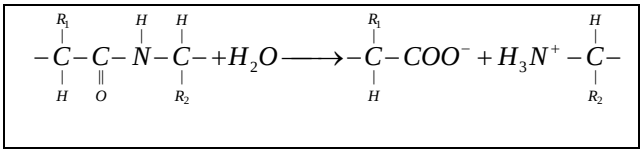
گونه‌های متفاوت سخت پوستان مانند میگو، خرچنگ و لابستر، منابع غنی از آمینواسیدها، پپتیدها، پروتئین‌ها و مواد بیوشیمیایی مفید دیگری هستند، که می‌توان جهت کاربردهای متفاوت خوراکی از آن‌ها

[4]. Guerard
[5]. Hou
[6]. Astaxanthine

بهره برد. طی دو دهه‌ی گذشته بیش از ٦٠٠٠ ترکیب طعم‌زای فرار شامل آلدهیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، ترکیبات حاوی گوگرد و نیتروژن و فوران‌ها، از سخت پوستان و چندین گونه دیگر جداسازی شده و پتانسیل آن‌ها به عنوان طعم دهنده‌های خوراکی مورد ارزیابی قرار گرفته است. پیشرفت‌های اخیر در بیوتکنولوژی قابلیت آنزیم‌ها را در تولید محصولات غذایی نوین، بهبود مواد غذایی و توسعه مدیریت ضایعات نشان داده است (سیمپسون[٧] و همکاران، ١٩٩٨).

در هیدرولیز پروتئین روش‌های بیولوژیکی و شیمیایی بیشترین کاربرد را دارند و استفاده از روش‌های شیمیایی در صنعت متداول‌تر است. در حال حاضر از روش‌های آنزیمی به طور پراکنده استفاده می‌شود. ولی به نظر می‌رسد کاربرد این روش رو به افزایش است زیرا پروتئین به دست آمده از هیدرولیز آنزیمی ارزش غذایی، دارویی و خواص کاربردی بسیار خوبی دارد (کریستینسون و راسکو[٨]، ٢٠٠٠a).

هیدرولیز پروتئین‌ها در واقع شامل تجزیه هیدرولیتیکی این باندهای پپتیدی است که با اسید، قلیا یا آنزیم صورت می‌گیرد (زایاس[٩]، ١٩٩٧).



شکل١ - ١: تجزیه هیدرولیتیکی پروتئین ها

[7] . Simpson
[8] . Kristinsson and Rasco
[9] . Zayas

با توجه به صنعت رو به رشد آبزی پروری و صنایع وابسته به آن در ایران، به نظر می‌رسد که پتانسیل بالایی جهت تولید پروتئین هیدرولیز شده وجود داشته باشد. در این پژوهش از ضایعات (سرسینه)[10] میگوی ببری سبز[11] (*Penaeus semisulcatus* De Haan, 1844) برای تولید پروتئین هیدرولیز شده[12] استفاده شده است. این گونه‌ی میگو بالغ بر ۸۰ درصد صید کشتی‌های صیادی استان بوشهر در خلیج فارس را تشکیل می‌دهد.

[10] . Cephalothorax
[11] . Green Tiger Prawn
[12] . Protein Hydrolysate

سوال محوری پژوهش

آیا پروتئین‌های هیدرولیزشده تولیدی از ضایعات سرسینه میگوی ببری سبز (*P.semisulcatus*) با آنزیم-های آلکالاز یا فلاورزایم دارای خواص آنتی‌اکسیدانتی می‌باشند؟

فرضیه

استفاده از آنزیم آلکالاز و فلاورزایم موجب تولید پروتئین هیدرولیزشده از ضایعات سرسینه میگوی ببری سبز (*P. semisulctus*)، با خواص آنتی‌اکسیدانتی مناسب می‌گردد.

هدف

بهینه‌سازی شرایط تولید پروتئین هیدرولیزشده از ضایعات سرسینه میگوی ببری سبز (*P. semisulcatus*) با کاربری‌های دارویی برای انسان، دام و آبزیان.

۱ – ۲ کلیات

۱– ۲ – ۱ تولید پروتئین هیدرولیز شده

هیدرولیز با سه روش شیمیایی، اتولیتیک (تخمیر) و بیو شیمیایی انجام می‌شود.

۱– ۲ – ۱ – ۱ هیدرولیز به روش شیمیایی

واکنش هیدرولیز با استفاده از اسید و باز مناسب صورت می‌گیرد که معمولا اسید هیدروکلریک و در برخی موارد اسیدسولفوریک برای هیدرولیز اسیدی و باز هیدروکسید سدیم برای هیدرولیز قلیایی به کار برده می‌شوند. عموما هیدرولیز شیمیایی (با استفاده از اسید یا باز) منجر به تولید پروتئین هیدرولیز شده با محتوی خاکستر بیشتر (به دلیل استفاده از اسید و باز در مرحله خنثی‌سازی) در مقایسه با هیدرولیز آنزیمی می‌شود (گیلدبرگ[۱۳] و همکاران ۱۹۸۹)، که این موضوع و نیز عدم عملکرد اختصاصی فرآیند شیمیایی (آلدر و نیسن[۱٤]، ۱۹۸٦)، جنبه غیر قابل قبول کاربرد این روش می‌باشد؛ با این‌حال روش شیمیایی تولید پروتئین هیدرولیز شده امروزه در صنعت متداول‌تر است.

۱ – ۲ – ۱ – ۲ هیدرولیز به روش اتولیتیک (تخمیر)

واکنش هیدرولیز در طول تخمیر مواد غذایی به عنوان نتیجه‌ای از عمل پروتئینازهای باکتریایی، قارچی و فعالیت پپتیدازها، انجام می‌گیرد. عضله ماهیان دارای آنزیم‌های کاتپتیکی (کاتپسین‌ها با یک زنجیره پلی-پپتیدی و وزن مولکولی ۱۳ تا ۲۵ کیلودالتون) است که بیش از ۱۰ برابر آنچه در پستانداران وجود دارد

[13] . Gildberg
[14] . Alder and Nissen

فعالند و به نظر می‌رسد که در نرم شدن عضله ماهیان پس از صید و طی نگهداری و نیز در پدیده تخمیر نقش عمده‌ای را بازی می‌کنند. در روش‌های سنتی برای تولید پروتئین هیدرولیزشده به روش تخمیری مانند تولید سیلاژ، آنزیم‌های داخلی عمل کننده هستند که این روش هیدرولیز قابل کنترل نیست و تحت تأثیر عواملی مانند نوع گونه و فصل می‌باشد که این عوامل خود بر نوع و مقدار آنزیم‌ها اثرگذارند، و عدم کنترل فرآیند، جنبه منفی کاربرد این روش است که با افزودن آنزیم‌های خارجی می‌توان این فرآیند را قابل کنترل ساخته و بر سرعت آن نیز افزود (سواپنا[15] و همکاران، ۲۰۱۰).

فرآیند اتولیز به میزان فعالیت آنزیم‌های ماهی، به ویژه آنزیم‌های گوارشی (پپسین، کیموزین، تریپسین) بستگی دارد و هیچ گونه آنزیم خارجی افزوده نمی‌گردد و این راه نسبتا ساده‌ای برای تولید پروتئین هیدرولیز شده و به عبارت بهتر کنسانتره پروتئینی ماهی[16] است (شهیدی و همکاران، ۱۹۹۵). فرآورده نهایی تولید شده در اثر فرآیند اُتولیز یا تخمیر، مایعی نسبتا غلیظ و سرشار از اسیدهای آمینه آزاد و پپتیدهای کوچک است.

۱ – ۲ – ۱ – ۳ هیدرولیز به روش بیوشیمیایی

آنزیم‌ها کاتالیزورهای بیوشیمیایی ضروری برای موجودات زنده هستند که باعث تسریع واکنش‌های بیو-شیمیایی درون سلولی می‌شوند و در غیر این صورت انجام این واکنش‌ها نیاز به مدت زمان زیادی خواهد داشت؛ هیدرولیز آنزیمی می‌تواند با استفاده از آنزیم‌های داخلی یعنی فرآیند اُتولیز[17] (تخمیر) انجام گیرد؛ و نیز می توان از آنزیم‌های تجاری برای این منظور استفاده کرد (شهیدی و همکاران، ۱۹۹۵). هیدرولیز

[15] . Swapna
[16] . Fish Protein Consentrate
[17] . Autolysis

آنزیمی پروتئین فرآیند پیچیده‌ای است، زیرا برای واکنش آنزیمی باندهای پپتیدی متعدد و با قابلیت‌های دسترسی متفاوتی وجود دارند (لیندر[18] و همکاران، ۱۹۹۵).

در روش بیوشیمیایی تولید پروتئین هیدرولیز شده از پروتئازهای خارجی استفاده می‌شود. استفاده از آنزیم-های تجاری به جای فرآیندهای شیمیایی و یا آنزیم‌های داخلی دارای مزایای بسیار زیادی است از این حیث که فرآیند هیدرولیز کاملاً قابل کنترل است. در نتیجه فرآورده‌هایی با خواص مشخص تولید می‌شوند (شهیدی و همکاران، ۱۹۹۵). به علاوه هیدرولیز آنزیمی اختصاصی عمل کرده و ارزش تغذیه‌ای پروتئین‌ها در طی واکنش حفظ شده و یا بهبود می‌یابد و این فرآیند منجر به از بین رفتن آمینو اسیدها نمی‌شود (آلدر و نیسن، ۱۹۸٦).

پروتئولیز یکی از روش‌های بهبود خصوصیات پروتئین‌هاست. خصوصیات پروتئین هیدرولیز شده با محاسبه درجه هیدرولیز و شناخت ساختار پپتیدهای تولید شده تعیین می شود و این موارد به ویژگی پروتئین اولیه، نوع آنزیم استفاده شده و شرایط به کار گرفته در طول واکنش هیدرولیز (دما، pH، مقدار آنزیم و زمان) بستگی دارد. تجزیه پروتئین، قابلیت حلالیت پروتئین را افزایش می‌دهد و پپتیدهای زیست فعالی تولید می‌کند که خواص آنتی‌اکسیدانی از خود نشان داده و از ۳ تا ۲۰ آمینواسید تشکیل شده‌اند (جه[19] و همکاران، ۲۰۰۷).

هیدرولیز آنزیمی امکان بازیابی همزمان مولکول‌های زیست فعال (چربی‌ها، پپتیدها، کیتین و کلاژن) را از ضایعات فرآوری آبزیان فراهم می‌کند (جرارد و همکاران، ۲۰۰۷ و اویسی‌پور و همکاران، ۲۰۱۰) و علاوه بر این پیشنهاد خوبی برای مدیریت مناسب و موثر ضایعات در صنایع فرآوری آبزیان می‌باشد (سواپنا و همکاران، ۲۰۱۰). هیدرولیز پروتئین غذا به طور گسترده برای ایجاد ارزش افزوده به واسطه بهبود خواص تغذیه‌ای، کند کردن فساد، بهبود خواص کاربردی (قدرت نگهداری آب، خاصیت امولسی-

[18] . Linder
[19] . Je