مجله علوم وفنون دریایی، فصل نامه ی علمی پژوهشی

دوره ۲۲، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲، صفحات ۹۱ تا ۹۸

مقاله پژوهشی

Available Online: *http://jmst.kmsu.ac.ir*

بهینه سازی هیدرولیز آنزیمی ماهی تون زرد باله (*Thunnus albacores*) با استفاده از روش RSM

الهام موحدنیا [۱*]، مجید مرادی [۱]، امیرهوشنگ بحری [۱]، علی معتمد زادگان [۲]

۱. گروه منابع طبیعی، شیلات و تکثیر و پرورش آبزیان، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران.

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زارعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

[*] **نویسنده مسئول، پست الکترونیک:** Elhammovahednia99@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۹/۰۳ **تاریخ بارنگری:** ۱۳۹۵/۰۷/۲۹ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۵/۰۸/۱۶

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22113/JMST.2016.38961

چکیده :

در این تحقیق از امعاء و احشاء ماهی تون زرد باله (*Thunnus albacores*) پروتئین هیدرولیز شده با استفاده از آنزیم فلاوروزیم تولید گردید. شرایط هیدرولیز (زمان، دما، نسبت آنزیم به سوبسترا) با استفاده از روش پاسخ سطحی(Response Surface Method; RSM) و طرح ترکیبی مرکزی (Central Composite Design) بهینه سازی شد. این روش، اثر سه فاکتور دما، زمان و میزان آنزیم (متغیر مستقل) را روی درجه هیدرولیزاسیون به عنوان پاسخ سطحی، مورد بررسی قرار می دهد. شرایط بهینه این آزمایش عبارت بود از نسبت آنزیم به سوبسترای ۱/۱۱ واحد آنسون بر گرم پروتئین، زمان ۱۰۵ دقیقه و دمای ۴۴/۹۳ درجه سانتی گراد که درجه هیدرولیزاسیون برابر ۲۳/۳۷٪ را حاصل نمود. پروتئین هیدرولیزشده حاصل محتوی مقدار بالای پروتئین بود (۶۷/۴۵٪). در نتیجه گیری نهائی می توان بیان داشت که مدل حاصل از شرایط خوبی جهت پیش بینی برخوردار بوده و پروتئین هیدرولیز شده امعاء و احشاء ماهی تون زرد باله قابل استفاده در جیره غذایی آبزیان و همین طور به عنوان افزودنی در صنایع غذایی می باشد.

واژگان کلیدی: امعاء و احشاء ماهی تون زردباله، پروتئین هیدرولیز شده، آنزیم فلاوروزیم، روش پاسخ سطحی

Copyrights:

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted Journal of Marine Science and Technology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons. org/licenses/ by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

۱.مقدمه

میزان نسبتا بالای صید جهانی(۱۳۲ میلیون تن) و به دنبال آن صنایع عمل آوری، منجر به تولید حجم بالایی از مواد جانبی (By product) و غیر قابل استفاده گردیده (۲۰ میلیون تن در سال شامل امعاء و احشاء، پوست، فلس، ستون مهره و، استخوان های تنه) که بدون هیچ توجه زیست محیطی، دور ریخته می شود(Taheri *et al*., 2011; Gildberg *et al*., 2001). ولی بسیاری از تولید کننده های فرآورده های دریایی ، به دلایل زیست محیطی قادر به دور ریختن ضایعات خود بصورت مستقیم به دریا نمی باشند و برای پالایش این مواد باید هزینه زیادی را متحمل شوند. بر اساس یک تخمین علمی، میزان تولید امعاء و احشاء در صنایع کنسروسازی تن ماهیان به ۳۰۰۰۰۰ تن در سال می‌رسد (Machendrakar, 2000). این زایدات صنایع شیلاتی، منبع غنی از پروتئین، اسیدهای چرب غیر اشباع و آنزیم ها بوده کهطبق پژوهش .Gilbert et al (۲۰۰۱) یک سوبسترای مناسب برای تخمیر اسید لاکتیکی وطبق پژوهش .Bhaskar et al (۲۰۰۷) منبع باکتری های تولید کننده آنزیم پروتئاز می باشد. بر طبق اطلاعات منتشر شده از سوی FAO (۲۰۰۶) اگر این ترکیبات بیولوژیکی به نحو احسنت مورد استفاده قرار بگیرند، از یک سمت باعث کاهش آلودگی زیست محیطی ناشی از دور ریختن آنها شده و از سمت دیگر تولید محصولاتی با ارزش افزوده بالا را به دنبال خواهند داشت شاید بتوان اذعان نمود که بهترین راه برای تولید محصولاتی با ارزش افزوده بالا، تولید پروتئین هیدرولیز شده از این مواد خام کم ارزش می باشد (Razavi Shirazi, 1994). هیدرولیز پروتئین ها طبق نظر .Kristinsson et al (۲۰۰۰) می تواند باعث بهبود جذب رودوی پپتیدها گردد روش‌های تولید پروئین هیدرولیز شده از ما هی تماما مبتنی بر کاربرد آنزیم ها بوده واین روشهای هیدرولیز پروتئین ماهی بر اساس نوع آنزیم و پروسه تولید، به دو دسته تقسیم می شوند. گروه اول گروهی است که منحصرا از آنزیم های داخلی (Endogenous Enzyme) برای تولید آنها استفاده می‌شود، مانند سیلاژ ماهی (Fish silage) و سس ماهی(Fish sauce) و گروه دوم گروهی است که از آنزیم های خارجی برای هیدرولیز پروتئین استفاده می‌شود (Gildberg *et al*., 2001). کاربرد آنزیم های خارجی به منظور هیدرولیز پروتئین های غذایی، فرآیند مهمی است که برای بهبود یا اصلاح خواص بیوشیمیایی و عملکردی پروتئین ها بدون هیچ اثر سوئی روی ارزش غذایی و قابلیت جذب آنها استفاده می شود (Mullaly *et al*., 1995). با توجه به صنعت رو به رشد آبزی پروری و صنایع وابسته به آن در ایران، به نظر می رسد که پتانسیل بالایی در جهت تولید پروتئین هیدرولیز شده وجود داشته باشد. تحقیقات انجام شده در زمینه تولید پروتئین های هیدرولیز شده تا امروز، با اهداف مختلفی انجام شده است. برخی از این تحقیقات با هدف تولید پروتئین هیدرولیز شده به منظور منبع پروتئینی برای جانوران بوده و برخی دیگر با هدف بهبود خواص کاربردی پروتئین ها در مواد غذایی برای انسان می باشد (Ovissipour *et al*., 2009). ماهی تون زرد باله یکی از مهم ترین تون ماهیان در خلیج فارس می باشد که ۳۵ درصد کل صید را بخود اختصاص داده است. ضایعات امعاء و احشاء این ماهی غنی از پروتئین هستند.در تحقیق حاضر به بهینه سازی تولید پروتئین هیدرولیز شده از ضایعات ماهی تون زرد باله (*Thunnus albacores*) به عنوان یک منبع پروتئینی قابل بازیافت به شکل پروتئین هیدرولیز شده پرداخته شده است.

۲.مواد و روش‌ها

برای آماده سازی ماده اولیه برای هیدرولیز آنریمی، ماده خام اولیه که ضایعات امعاء و احشاء ماهی تن می باشد، از کارخانجات کنسرو سازی شهرک صنعتی شهرستان چابهار تهیه گردید، نمونه های امعاء و احشاء به سرعت یخ گذاری شده و در ظروف عایق (یونولیت) به آزمایشگاه منتقل شد. آنزیم فلاورزیم با فعالیت ۵۰ واحد آنسون بر گرم پروتئین از شرکت نووازیم کشور دانمارک تهیه شد و تا زمان مصرف در ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. نمونه ها دردستگاه مولینکس (شرکت هوتخش) ، کاملاً هموژنیزه شده سپس مقداری از نمونه چرخ شده به منظور تعیین ترکیب شیمیایی برداشته شد. بقیه مواد خام چرخ شده در ظروف یک لیتری پلاستیکی قرار داده و منجمد شدند. قبل از شروع آزمایش در دمای یخچال انجماد زدایی شد. به منظور غیر فعال سازی آنزیم های داخلی امعاء و احشاء نمونه ها برای مدت ۲۰ دقیقه دردمای ۸۵ درجه سانتی گراد در بن ماری (حمام آبی) قرار داده شدند(Guerard *et al*., 2001; Bhaskar *et al*., 2008). غیرفعال سازی آنزیم های داخلی به این دلیل انجام شد که شرایط کاملا کنترل شده باشد و نتایج بدست آمده حاکی از اثر فقط آنزیم خارجی تحت شرایط تمرین شده باشدبعداز سرد شدن نمونه ها به نسبت ۱ به ۲ (حجمی : وزنی) با بافر فسفات در مولینکس به مدت ۲ دقیقه در دمای محیط با دور بالاهموژنیزه می شود و آنزیم به سوبسترا بر اساس فعالیت آنزیمی اضافه شد (۳۰ واحد آنسون به ازای یک کیلوگرم). آنزیم فلاوروزیم، یک کمپلکس پروتئاز قارچی (حاصل از *Aspergillus oryzae*) است که به pH وابسته است (اندوپپتیداز در pH = ۵ یا اگزوپپتیداز در pH =۷) و با یک فعالیت شناسایی شده 50 LAPU (Leucine aminopeptidase units g^{-1}) در یک محدوده دمای بهینه ۵۵–۵۰ درجه سانتی گراد که توسط شرکت NOVO A/S(Bagsraerd, Denmark) تولید شده است. بعد از تلقیح آنزیم و سپری شدن زمان مورد نظر در انکوباتور شیکر دار (مدل Ivymen System Comecta,Spain)، نمونه ها به منظور غیر فعال شدن آنزیم به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد قرار داده شدند(Guerard *et al*., 2001). pH مخلوط حاصل توسط محلول هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال در نقطه ۸/۵ تنظیم شد. پروتئین هیدرولیز شده ماهی تحت شرایط بهینه

مجدد تهیه و با استفاده از دستگاه اسپری درایر خشک و به پودر تبدیل شد.

از روش پاسخ سطحی (RSM) (Response surface methodology) برای بهینه سازی شرایط هیدرولیزاسیون استفاده گردید. طرح ترکیبی مرکزی (Central composite desing) با ۵ سطح برای هر تیمار و ۴ تکرار حول نقطه مرکزی استفاده شد (جدول ۱). این طرح از ۸ نقطه سازگانی، ۴ نقطه محوری و ۶ نقطه حول نقطه مرکزی تشکیل شده است. درجه هیدرولیزاسیون به عنوان سطح پاسخ به متغیرها، در نظر گرفته شد. سه فاکتور دما، زمان و نسبت آنزیم به سوبسترا در ۵ سطح مساوی ($\alpha+$ و ۱+ و ۱− و $\alpha+$) به کار گرفته شدند (جدول ۱). پاسخ سیستم آزمایشی، براساس رابطه (۱) انجام گرفت.

Y درجه هیدرولیزاسیون یا متغیر وابسته، β_0 عدد ثابت،β_i و β_{ij} و β_{ii} ضرایب محاسبه شده براساس مدل آزمایشی ، x_i و x_j سطوح متفاوت متغیرهای مستقل می باشند که بصورت خطی،مربع و ارتباط متقاطع، اثر سه فاکتور X_1, X_2, x_3 را روی متغیر وابسته (درجه هیدرولیزاسیون) ارائه می دهد . این مدل، اثر هر متغیر مستقل را روی پاسخ نشان می دهد.

درجه هیدرولیزاسیون براساس روش Hoyle و Merritt (1994)، محاسبه گردید. مطابق این روش، بعد از انجام هر آزمایش، محلول ۲۰ درصد اسید تری کلرو استیک (TCA) به حجم برابری از محلول حاوی پروتئین هیدرولیز اضافه گردید تا محلول ۱۰ درصد اسید تری کلرو استیک (TCA) به دست آید. سپس ترکیب فوق تحت سانتریفوژ قرار گرفت و ماده رویی برداشته شد. درجه هیدرولیزاسیون براساس رابطه ۲ محاسبه گردید.

برای تجزیه و تحلیل آماری در این تحقیق از طرح آماری ترکیبی مرکزی(CCD) با چهار تکرار در نقطه مرکزی و پنج سطح از هر متغیر استفاده گردید. سپس نتایج به کمک نرم افزار آماری SAS به روش پاسخ سطحی RSM-REG تجزیه و تحلیل شده و مدل های بدست آمده به صورت منحنی و به روش (RSM) برازش شدند. سطوح مورد استفاده به فاصله ۱+ و ۱− و $\alpha+$ و $-\alpha$ از نقطه مرکزی قرار داشتند.رسم نمودارها توسط نرم افزار Design Expert 7انجام گرفت. فاکتور α معادل ۱/۶۸۲ در نظر گرفته شد (Charles, 1982; Myers *et al*., 2002). نقطه بهینه براساس پارامترهای فوق الذکر از روی منحنی های همتراز بدست آمد. مقایسه میانگین ها به روش دانکن و با سطح معنی داری p=0/05 و یا p=0/01 انجام شد.

رابطه (۱) $$Y = \beta 0 + \Sigma^{3}_{i=1} \beta_i x_i + \Sigma^{3}_{i=1} \beta_{ii} x_i^{2} + \Sigma^{2}_{i=1} \Sigma^{3}_{j=i+1} \beta_{ij} x_i x_j$$

رابطه (۲) $$DH = \text{۱۰٪TCA - نمونه در محلول نیتروژن} \times \text{۱۰۰}$$

جدول ۱- فاکتورها و شرایط مورد استفاده در آزمایش بهینه سازی

Table 1- Factors and conditions used in the optimization experiment

فاکتور	نشانه	سطوح کد داده شده				
		+۱/٦٨٢	+۱	۰	−۱	−۱/۶۸۲
غلظت آنزیم (AU/g)	X_1	۱/۳۲	۱/۱۱	۰/۸	۰/٤٨	۰/۲۷
زمان‌هیدرولیزاسیون(min)	X_2	۱۲۸/۸٦	۱۰۵	۷۰	۳۵	۱۱/۱۴
درجه حرارت (°C)	X_3	٦۱/۷۷	۵۷	۵۰	٤۳	۳۸/۲۳

جدول ۲- **ترکیب تقریبی (٪) ضایعات ماهی تون زرد باله و پروتئین هیدرولیز شده حاصله**

Table 2- Approximate composition (%) of yellowfin tuna waste and the resulting hydrolyzed protein

نوع مواد	رطوبت	چربی	پروتئین	خاکستر
مواد خام	۶۵/۱±۳۴/۹ a	۵/۰±۶۷/۴ a	۲۲/۰±۱/۱۷a	۵/۰±۲۱/۴a
پروتئین هیدرولیز شده	۷/۰±۲/۳۸ b	۱/۰±۹/۲ b	۶۷/۱±۴۵/۲۳ b	۱±۱۶/۳ b

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $P<0.05$ می باشند.(SD)

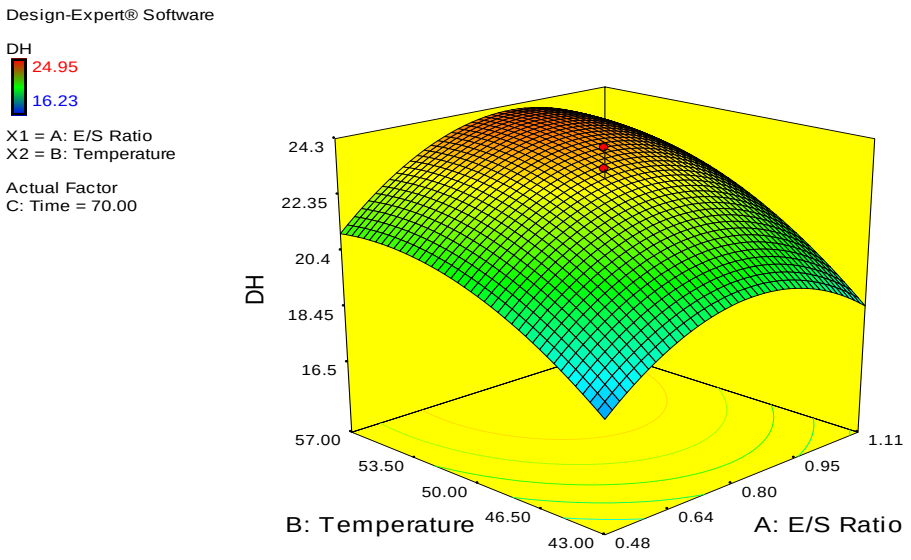
۳.نتایج

ترکیب شیمیایی ماده خام اولیه و پروتئین هیدرولیز شده در جدول ۲ ارائه شده است. میزان پروتئین و چربی در امعاء واحشاء تون زرد باله به ترتیب ۲۲/۱ و ۵/۶۷ درصد می باشد.

در شکل(۱) سه بعدی میزان مصرف آنزیم و دما بر روی درجه هیدرولیزاسیون پروتئین امعاء و احشاء ماهی تون زرد باله هنگامی که زمان در سطح ۷۰ دقیقه ثابت است، مشاهده می شود. با توجه به اثر متقابل نسبت آنزیم به سوبسترا و دما، این دو عامل به طور موثری سبب تغییر در درجه هیدرولیزاسیون می شوند. با افزایش نسبت آنزیم به سوبسترا از ۰/۴۸ به ۱/۱۱ واحد آنسون بر گرم و افزایش دما از ۴۳ به ۴۴/۹۳ درجه سانتی گراد مشاهده می گردد که درجه هیدرولیز نیز از ۱۶/۵ به ۲۳/۳۷ افزایش یافته است و پس از آن با افزایش این دو عامل کاهش درجه هیدرولیزاسیون مشاهده می گردد و افزایش میزان مصرف آنزیم تاثیری بر میزان درجه هیدرولیزاسیون ندارد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که اثر متقابل این دو عامل تاثیر زیادی ر۱وی میزان درجه هیدرولیزاسیون دارد.

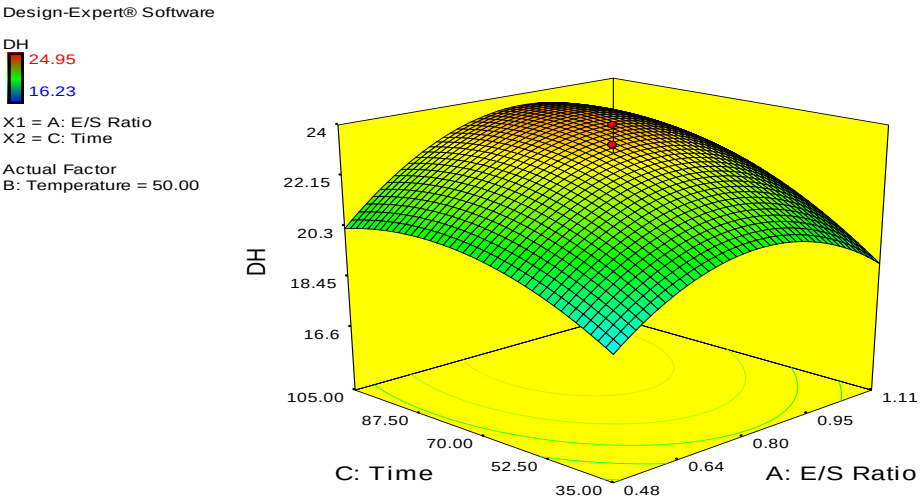
در شکل ۲. سه بعدی تاثیر میزان مصرف آنزیم و زمان بر روی درجه هیدرولیزاسیون پروتئین امعاء و احشاء ماهی تون زردباله در زمانی که دما در سطح ۵۰درجه سانتی گراد ثابت است، مشاهده می گردد. با توجه به اثر متقابل نسبت آنزیم به سوبسترا و زمان بر میزان درجه هیدرولیزاسیون مشاهده می گردد که با افزایش میزان نسبت آنزیم به سوبسترا از ۰/۴۸ به ۰/۶۰ واحد انسون بر گرم و افزایش زمان از ۳۵ به ۸۶/۸۲ دقیقه میزان درجه هیدرولیزاسیون با توجه به شکل از ۱۶/۶ به ۲۰/۹۳ افزایش یافته و پس از آن کاهش درجه هیدرولیزاسیون مشاهده می گردد و افزایش میزان مصرف آنزیم تاثیری بر میزان درجه هیدرولیزاسیون ندارد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که اثر متقابل این دو عامل تاثیر چندانی روی میزان درجه هیدرولیزاسیون ندارد.

در شکل سه بعدی شماره ۳ تاثیر زمان و دما بر روی درجه هیدرولیزاسیون پروتئین امعاء و احشاء ماهی تون زرد باله هنگامی که نسبت آنزیم به سوبسترا در سطح ۰/۸ واحد آنسون بر گرم پروتئین ثابت است، مشاهده می گردد. با توجه به اثر متقابل زمان و دما بر میزان درجه هیدرولیزاسیون مشاهده می گردد که با افزایش میزان دما از ۴۳ به ۴۵/۸۸ درجه سانتی گراد و افزایش زمان از ۳۵ به ۵۲/۹۶ دقیقه میزان درجه هیدرولیزاسیون از ۱۶/۵ به ۲۰/۷۹ افزایش می یابد و پس از آن با افزایش این دو عامل کاهش درجه هیدرولیزاسیون مشاهده می گردد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که اثر متقابل این دو عامل تاثیر چندانی بر میزان درجه هیدرولیزاسیون ندارد.



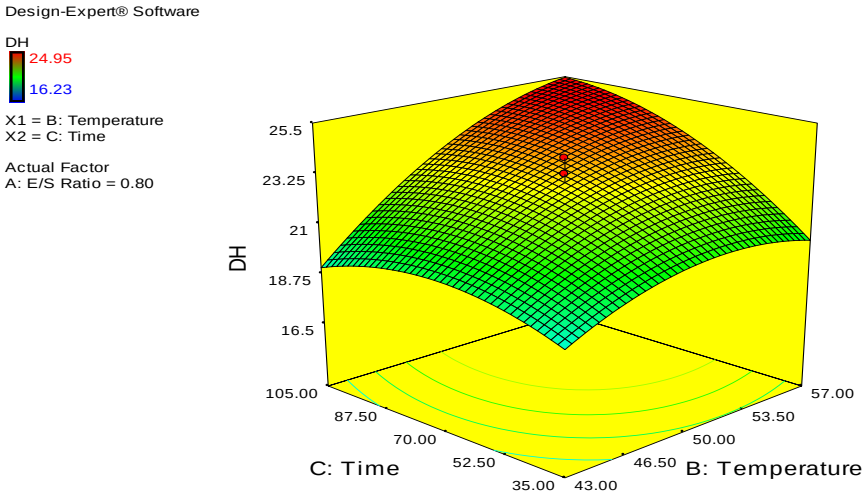
شکل ۱-اثر متقابل دما و نسبت آنزیم به سوبسترا بر روی درجه هیدرولیزاسیون

Fig. 1- The interaction of temperature and the ratio of enzyme to substrate on the degree of hydrolysis



شکل ۲- رابطه زمان و نسبت آنزیم به سوبسترا بر روی درجه هیدرولیزاسیون

Fig. 2- Relationship between time and ratio of enzyme to substrate on the degree of hydrolysis



شکل ۳- اثر متقابل زمان و دما بر روی درجه هیدرولیزاسیون

Fig 3- Interaction of time and temperature on the degree of hydrolysis

٤.بحث و نتیجه گیری

بر اساس جدول ۱، میزان پروتئین در پروتئین هیدرولیز شده ۶۷/۴۵ درصد بود که مشابه نتایج سایر محققین می باشد که میزان مناسب پروتئین در پروتئین هیدرولیز شده آبزیان را بین ۶۳ الی ۹۰ درصد گزارش نمودند (Bhaskar *et al*., 2008; Kristinsson *et al*., 2008; Nilsang *et al*., 2005; Ovissipour *et al*., 2009; Shahidi *et al*., 1995; Souissi *et al*., 2007). میزان چربی در پروتئین هیدرولیز شده امعاء و احشاء تون زرد باله، ۱/۹ درصد بود که با نتایج سایر محققین برابری می کرد (Kristinsson *et al*., 2000; Ovissipour *et al*., 2009; Shahidi *et al*., 1995). میزان چربی در پروتئین هیدرولیز شده، به دلیل هیدرولیز آنزیمی و شکسته شدن باندها و به دنبال آن، سانتریفوژ با دور بالا، نسبت به مواد خام اولیه، به شدت کاهش می یابد (Kristinsson, 2000; Ovissipour *et al*.,2009). کاهش میزان چربی در پروتئین هیدرولیز شده، می تواند این فرآورده را از اکسید شده و فساد چربی، مصون نگه دارد (Kristinsson *et al*., 2000; Ovissipour *et al*., 2009; Shahidi *et al*., 1995). با توجه به اینکه بالاترین درجه هیدرولیزاسیون (۲۳/۳۷ درصد) در دمای ۴۴/۹۳ درجه سانتی گراد و میزان آنزیم ۱/۱۱ درصد مشاهده می شود (شکل ۲)، این دما، بهترین دمای هیدرولیزاسیون می باشد. Diniz و Martin (1997) طی تحقیقی

روی بهینه سازی شرایط هیدرولیز پروتئین های عضلات کوسه، دمای ۵۳ درجه سانتی گراد را بهترین دما برای هیدرولیزاسیون اعلام کردند. Bhaskar et al. (2008) اعلام نمودند که دمای بهینه برای هیدرولیز آنزیمی پروتئین های امعاء و احشاء کپور هندی (*Catla catla*)، ۵۰ درجه سانتی گراد می باشد. براساس شکل ۲، بعد از حدود ۸۶/۸۲ دقیقه، شدت هیدرولیز کاهش می یابد. علت این کاهش را می توان در کاهش شدت فعالیت آنزیمی، کاهش میزان باندهای پپتیدی در دسترس برای هیدرولیز و شکل گیری فرآورده های ممانعت کننده از فعالیت آنزیم در درجات بالای هیدرولیزاسیون دانست (Ovissipour *et al*., 2009; Guerard *et al*., 2002). با افزایش دما بیش از ۴۵/۸۸ درجه سانتی گراد (شکل۳)، شدت هیدرولیزاسیون کاهش یافته که به نظر می رسد با کنترل زمان و دمای هیدرولیز می توان درجه هیدرولیز را حداکثر تا ۲۰/۷۹ درصد افزایش داد که در شرایط ۴۵/۸۸-۴۳ درجه سانتی گراد و طی مدت ۵۲/۹۶-۳۵ دقیقه حاصل می شود. (Bhaskar *et al*., 2008) بهترین زمان برای دستیابی به حداکثر هیدرولیزاسیون را ۱۳۵ دقیقه اعلام نمودند. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات محققینی مانند Kristinsson و Rasco (2000)، Bhaskar (2008) و Ovissipour (2009) مطابقت دارد. به عنوان نتیجه گیری نهایی می‌توان بیان داشت که بر اساس نمودارهای سه بعدی، شرایط بهینه از لحاظ دما،زمان و میزان آنزیم، به ترتیب عبارت از دمای ۴۴/۹۳ درجه سانتی گراد، زمان ۱۰۵ دقیقه و میزان آنزیم ۱/۱۱ درصد بودند.

Refrences

Bhaskar, N., Sudeepa, E.S., Rashmi, H.N. and Selvi, A.T., 2007. Partial purification and characterization of protease of Bacillus proteolyticus CFR3001 isolated from fish processing waste and its antibacterial activities. *Bioresource Technology*, *98*(14), pp.2758-2764. Doi: 10.1016/j.biortech.2006.09.033.

Bhaskar, N., Benila, T., Radha, C. and Lalitha, R.G., 2008. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (Catla catla) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresource technology*, *99*(2), pp.335-343. Doi: 10.1016/j.biortech.2006.12.015.

Charles, R.H., 1982. Fundamental concepts in design of experiment. 3rd edition. New York.

Diniz, F.M. and Martin, A.M., 1997. Optimization of nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of dogfish (Squalus acanthias) protein. Composition of the hydrolysates. *International journal of food sciences and nutrition*, *48*(3), pp.191-200. Doi: 10.3109/09637489709012592.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fishery and Aquaculture Information and Statistics Service, 2008. *FAO yearbook 2006. Fishery and aquaculture.* Rome: Fao.

Gildberg, A., 2001. Utilisation of male Arctic capelin and Atlantic cod intestines for fish sauce production–evaluation of fermentation conditions. *Bioresource Technology*, *76*(2), pp.119-123. Doi: 10.1016/S0960-8524(00)00095-X.

Guérard, F., Dufosse, L., De La Broise, D. and Binet, A., 2001. Enzymatic hydrolysis of proteins from yellowfin tuna (Thunnus albacares) wastes using Alcalase. *Journal of molecular catalysis B: Enzymatic*, *11*(4-6), pp.1051-1059. Doi: 10.1016/S1381-1177(00)00031-X.

Hoyle, N.T. and Merrltt, J.H., 1994. Quality of fish protein hydrolysates from herring (Clupea harengus). *Journal of food Science*, *59*(1), pp.76-79. Doi: 10.1111/j.1365-2621.1994.tb06901.x.

Kristinsson, H.G. and Rasco, B.A., 2000. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. *Critical reviews in food science and nutrition*, *40*(1), pp.43-81. Doi: 10.1080/10408690091189266.

Mahendrakar, N.S., 2000. Aquafeeds and meat quality of cultured fish. *Aquaculture–Feed and health. Biotechnology Consortium India Ltd., New Delhi*, pp.26-30.

Mullally, M.M., O'callaghan, D.M., Fitzgerald, R.J., Donnelly, W.J. And Dalton, J.P., 1995. Zymogen activation in pancreatic endoproteolytic preparations and influence on some whey protein hydrolysate characteristics. *Journal of food science*, *60*(2), pp.227-233. Doi: 10.1111/j.1365-2621.1995.tb05643.x.

Myers, R.H., and Montgomery, D.C. 2002. Response surface methodology, Process and product optimization using designed

experiments. 2nd edition. John Wiley & SonsT New Jersey.

Nilsang, S., Lertsiri, S., Suphantharika, M. and Assavanig, A., 2005. Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. *Journal of food Engineering*, *70*(4), pp.571-578. Doi: 10.1016/j.jfoodeng.2004.10.011.

Ovissipour, M., Abedian, A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R. and Shahiri, H., 2009. The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (Acipenser persicus) viscera. *Food Chemistry*, *115*(1), pp.238-242. Doi: 10.1016/j.foodchem.2008.12.013.

Razavi Shirazi, H., 1994, seafood technology: principles handling and processing, Tehran. (In Persian).

Shahidi, F., Han, X.Q. and Synowiecki, J., 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (Mallotus villosus). *Food chemistry*, *53*(3), pp.285-293. Doi: 10.1016/0308-8146(95)93934-J.

Souissi, N., Bougatef, A., Triki-Ellouz, Y. and Nasri, M., 2007. Biochemical and functional properties of sardinella (Sardinella aurita) by-product hydrolysates. *Food technology and biotechnology*, *45*(2), pp.187-194.

Taheri, A., Abedian Kenari, A., Motamedzadegan, A. and Habibi Rezaie, M., 2011. Optimization of goldstripe sardine (Sardinella gibbosa) protein hydrolysate using Alcalase® 2.4 L by response surface methodology Optimización de hidrolisato de proteína de Sardinela dorada (Sardinella gibbosa) usando Alcalase® 2.4 L a través de RSM. *CyTA-Journal of Food*, *9*(2), pp.114-120. Doi: 10.1080/19476337.2010.484551.

Journal of Marine Science and Technology

Spring 2023, Vol. 22, No.1, pp: 91-98.

Available Online: ***http://jmst.kmsu.ac.ir***

Original Article

Optimization of enzymatic hydrolysis of yellowfin tuna (*Thunnus albacores*) using RSM method

Elham Movahedinia[*1], Majid Moradi [1], Amir Houshang Bahri [1], Ali Moatamedzadegan [2]

1. Department of Natural Resources, Fisheries and Aquacultur, Bandar Abbas Branch, Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran.
2. Department of Food Science and Industry, Faculty of Agricultural Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

[*] **Corresponding Author E-mail:** Elhammovahednia99@gmail.com

Received: 24 November 2013 **Revise Date**: 20 October 2016 **Accepted:** 6 November 2016

DOI: 10.22113/JMST.2016.38961

Abstract:

The viscera of yellowfin tuna (*Thunnus albacores*) protein hydrolysis was produced using enzymes Flavourzim. Hydrolytic conditions (time, temperature, enzyme to substrate ratio) using response surface methodology (Response Surface Method; RSM) and central composite design (Central Composite Design was optimization). Through these methods, the effects of three factors, temperature, time and amount of enzyme (independent variable) on the degree Hydrolysis as response surface can be studied. The optimized conditions were the ratio of enzyme to substrate of 11/1 Anson units per gram of protein, time 105 min, temperature 93/44 ° C, which brought about the temperature Hydrolysis to 37/23 %. Based on this study which showed that Hydrolysis proteins contain high amounts of protein (45/67 %), it can be concluded that the model predictions are in good condition and protein hydrolysates can be used in fish diets and as additives in the food industry.

Key words: Yellowfin tuna intestine and viscera, Hydrolyzed protein, Flavourzim enzyme, Surface response method

Copyrights:
Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted Journal of Marine Science and Technology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons. org/licenses/ by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.