مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هجدهم، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲، صفحات ۱۰۴-۹۳

بهینه‌یابی فرآیند پروتئین هیدرولیزشده از ضایعات میگو *Metapenaeus affinis*

محمود توحیدی نسب[۱]، لاله رومیانی[۲]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران. پست الکترونیکی: l.roomiani@iauahvaz.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۴

چکیده

سابقه و هدف: هرسال، صنعت شیلات تقریباً ۱۰۶ تن مواد زائد تولید می‌کند که بیشتر آن یا فرآوری‌شده و یا به زباله و محصولات کم‌ارزش مانند خوراک دام تبدیل شده و یا دور ریخته می‌شود. سخت‌پوستان مقدار قابل‌توجهی پلی‌ساکارید در پوست خود دارند، که می‌تواند در صنایع‌غذایی مختلف مورد استفاده قرار گیرد. این مطالعه با هدف بهینه‌یابی تولید پروتئین هیدرولیزشده از پوست و سر میگوی سفیدسرتیز (*Metapenaeus affinis*) به روش سطح‌پاسخ و با استفاده از آنزیم پاپائین انجام شد.

مواد و روش‌ها: فاکتورهای مورد بررسی جهت رسیدن به بیشترین میزان درجه هیدرولیز، دما (۳۵، ۶۵ و ۹۵ درجه سانتی‌گراد)، زمان (۴۵، ۵۵ و ۶۵ دقیقه) و نسبت آنزیم به سوبسترا (۱/۵، ۲/۲۵ و ۳ درصد) بودند. شرایط هیدرولیزی که بتواند بهترین درجه هیدرولیز را نشان دهد، با استفاده از روش سطح‌پاسخ (RSM) با طرح مرکب‌مرکزی (CCD) بهینه شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد اثر متغیرهای واکنش روی هر یک از پاسخ‌های آزمایش معنی‌دار شد ($p<۰/۰۵$). بر اساس نمودارهای سه بعدی روش سطح‌پاسخ، شرایط عملیاتی بهینه برای بیشینه درجه هیدرولیز پروتئین سر میگو به میزان ۷۴/۴۴ درصد، در زمان ۹۵ دقیقه، دما ۶۱/۵۱ درجه سانتی‌گراد و غلظت آنزیم ۲/۲۳ به دست آمد. همچنین شرایط بهینه برای بیشینه درجه هیدرولیز پروتئین پوست میگو به میزان ۷۴/۵۳ درصد، در زمان ۷۵/۳۰ دقیقه، دمای ۵۶/۳۹ درجه سانتی‌گراد و غلظت آنزیم ۲/۹۹ درصد حاصل گردید.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که پوست و سر میگو سرتیز از پروتئین هیدرولیزشده بالایی برخوردار می‌باشد که می‌توانند برای مصارف دارویی و انسانی مفید باشند.

واژگان کلیدی: پروتئین هیدرولیزشده، بهینه‌یابی، درجه هیدرولیز، میگوی سرتیز

• مقدمه

صنعت فرآوری آبزیان مسئول تولید مقادیر قابل توجهی از غذاهای دریایی است. فقط ۴۰ درصد از صید آبزیان برای مصرف انسان استفاده می‌شود، در حالی که حدود ۶۰ درصد دور ریخته می‌شود. تخمین زده می‌شود که ۲۵ درصد تولید آبزی‌پروری مواد زائد است (۱). فرآوری میگو مستلزم حذف سر و کاراپاس آن است که تقریباً ۴۰ تا ۶۰ درصد از کل بدن جانور را تشکیل می‌دهد و مواد زائد زیادی تولید می‌کند که به عنوان آلاینده برای محیط زیست محسوب می‌شوند. این مسئله‌ای است که باید به آن پرداخته شود، زیرا این ضایعات کاربرد مستقیمی ندارند. ضایعات میگو و سایر سخت‌پوستان سرشار از محصولات جانبی ضروری مانند کاروتنوئیدها، پروتئین‌ها، مواد معدنی، ترکیبات طعم‌دهنده و کیتین هستند (۲).

هیدرولیز پروتئین آبزیان را می‌توان با آنزیم‌ها، اسیدها یا بازها به زنجیره‌های پپتیدی کوتاه‌تر از دو تا ۲۰ اسید آمینه تولید کرد. این پپتیدها ترکیبات زیستی فعال و رایج‌ترین منبع اسیدآمینه قابل دسترس برای اعمال فیزیولوژیکی متعدد در بدن انسان هستند. پپتیدها به دلیل افزایش پایداری رادیکال، آنتی‌اکسیدان‌های قوی‌تری نسبت به اسیدهای‌آمینه آزاد درنظر گرفته می‌شوند. فعالیت بیولوژیکی پپتیدها بر اساس ترکیب اسیدآمینه و توالی آنها است (۳). تحقیقات علمی نشان می‌دهد که خواص تغذیه‌ای پروتئین‌های هیدرولیزشده آبزیان نسبت به

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.10.1]

سایر هیدرولیزهای پروتئینی متعادل‌تر و برتر است. هیدرولیزهای پروتئینی در صنایع مختلفی از جمله داروسازی، تغذیه انسان، تغذیه حیوانات و لوازم آرایشی کاربرد دارند. هیدرولیزهای پروتئینی نیز به عنوان منبع نیتروژن در محیط-های رشد میکروارگانیسم‌ها بکار می‌روند. اخیراً هیدرولیزهای پروتئینی که از محصولات جانبی دریایی استخراج می‌شوند، در موادغذایی رایج شده‌اند، زیرا محتوی پروتئین بالایی هستند (۴).

ویژگی‌ها و کیفیت پروتئین هیدرولیزشده آبزیان به شدت تحت‌تأثیر چندین عامل است، از جمله درجه‌هیدرولیز، نوع آنزیم یا مواد شیمیایی مورد استفاده در فرآیند هیدرولیز، دما، pH و مدت زمان هیدرولیز. خلوص مواد شیمیایی مورد استفاده در هر فرآیند تکنولوژیکی مهم است. با این حال، تأثیر آن بر ویژگی‌های پروتئین هیدرولیزشده در سطح متغیرهای پردازش نیست. از بین عوامل تأثیرگذار، درجه‌هیدرولیز، به عنوان شاخصی برای تفاوت میزان پروتئین‌های هیدرولیز شده مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵). اگرچه شرایط تجربی در تولید پروتئین هیدرولیز شده استفاده می‌شود، می‌توان شرایط تولید (فرآیند) بهینه را با استفاده از روش سطح‌پاسخ (RSM) برای رسیدن به حداکثر درجه هیدرولیز تعیین کرد (۶).

اگرچه روش‌های جدید و مدرن نانومیکروفناوری باعث ایجاد ضایعات کمتری در فرآوری غذاهای دریایی می‌شوند، اما بسیاری از مزارع ماهی همچنان از روش‌های سنتی استفاده می‌کنند. امروزه مشکل دوگانه مسائل زیست‌محیطی و کاربردهای کمتر سودآور برای محصولات جانبی و ضایعات ناشی از صنایع فرآوری آبزیان بر نیاز به ارزش‌گذاری آنها و در عین حال کمک به صنعت فرآوری پایدار، مورد توجه واقع شده است (۷). با توجه به پتانسیل بالای پروتئین‌های هیدرولیزشده در ارائه خواص عملگرا (۸،۹) تولید پروتئین هیدرولیزشده از ضایعات منابع دریایی هم از دیدگاه اقتصادی و هم تولید محصولی باارزش، بسیار حائز اهمیت است. ترکیبات شیمیایی موادغذایی با فراهم‌کردن مواد مغذی ضروری، نقش مهمی را در سلامت بدن ایفا می‌کنند. در مطالعه‌ای که بر هیدرولیز امعاءو-احشاء *Macrobrachium rosenbergii* انجام شد، نشان دادند که دما عامل موثرتری نسبت به زمان و غلظت آنزیم بر درجه هیدرولیز بود (۱۰).

هیدرولیز پوسته و سر میگو (*Litopenaeus vannamei*) با استفاده از آنزیم انجام شد. نتایج نشان داد اپتیمم شرایط برای حصول به بیشترین درجه‌هیدرولیز تحت ۳ فاکتور دما، زمان و غلظت آنزیم صورت گرفت و میزان درجه‌هیدورلیز مربوط به سر میگو بیشتر از پوسته بود (۱۱). در مطالعه دیگر، پوست میگوهای خانواده Acetes با استفاده از آنزیم آلکالاز هیدرولیز گردید و نتایج نشان داد که بیشترین محصول بدست آمده در بالاترین درجه هیدورلیز (۳۰ درصد) اتفاق افتاد (۱۲).

از این رو، مطالعه ما با هدف بهینه‌یابی شرایط هیدرولیز، نسبت آنزیم به غلظت سوبسترا، دما و زمان برای به دست آوردن حداکثر درجه هیدرولیز انجام شد.

• مواد و روش‌ها

تهیه نمونه

میگوی سفیدسرتیز (*Metapenaeus affinis*) از بازار ماهی-فروشان آبادان تهیه و در یخدان حاوی یخ با نسبت ۲:۱ (میگو: یخ) به آزمایشگاه منتقل شد. جهت تهیه نمونه، سر و پوست بدن میگوها جدا شده و به طور جداگانه با استفاده از یک میکسر صنعتی کاملاً چرخ و در بسته‌های پلاستیکی به صورت ۵۰ گرمی که با ترازوی دیجیتال توزین شده، بسته‌بندی و در دمای ۲۰ - درجه سانتی‌گراد تا انجام مراحل آزمایش نگهداری شدند.

هیدرولیز آنزیمی و تهیه پروتئین هیدرولیزشده

به منظور هیدرولیز پوست و سر میگو از آنزیم پاپائین (شرکت نووزایم، دانمارک) استفاده و تا زمان آزمایش در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. ۵۰ گرم از نمونه ضایعات سر و پوست به طور جداگانه، درون ارلن‌مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته و سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به نسبت ۲:۱ به آن اضافه و با همزن دیجیتال به مدت ۲ دقیقه هموژنیزه و سپس ۲۰ دقیقه در بن‌ماری با حرارت ۸۵ درجه سانتی‌گراد به منظور غیرفعال-سازی آنزیم‌های داخلی قرار داده شد. جهت انجام هیدرولیز نمونه‌های منجمد به مدت ۲۴ ساعت در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند تا انجمادزدایی صورت گیرد. ۵۰ گرم از نمونه در ارلن‌مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتر ریخته و جهت غیرفعال‌سازی آنزیم‌های درونی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار داده شد. سپس با نسبت ۱ به ۲ با محلول بافر فسفات ۰/۲ مولار (pH=8/5) رقیق شدند. به مدت ۲ دقیقه با استفاده از هموژنایزر به طور کامل هموژن شدند. سپس محلول همگن با استفاده از سود یک نرمال، pH محلول را به ۸/۵ که pH بهینه آنزیم پاپائین است، رسانیده شد. آنزیم پاپائین با نسبت ۱ درصد به نمونه‌ها اضافه و به انکوباتور شیکردار با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد با دور ثابت ۲۰۰ دور بر دقیقه انتقال داده شد. عمل هیدرولیز در مدت زمان‌های ۱، ۲ و ۳ ساعت انجام شد. پس از طی مدت زمان‌های مذکور به منظور توقف واکنش آنزیمی، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار گرفتند. نمونه‌ها پس از خنک‌شدن در دمای معمولی اتاق، در دمای ۱۰ درجه

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.10.1]

سانتی‌گراد، به مدت ۳۰ دقیقه و با سرعت (g ×۷۰۰۰) سانتریفوژ شدند. مایع رویی برای بررسی‌های بعدی جمع‌آوری و در دستگاه خشک‌کن انجمادی در دمای ۶۰- تا ۷۰ - قرار داده شد تا به صورت پودر درآید (۱۳).

اندازه‌گیری درجه هیدرولیز

درجه هیدرولیز از میزان پروتئین حل‌شده در اسیدتری-کلرواستیک به میزان کل پروتئین بعد از هیدرولیز بدست آمد (۱۴). مخلوط به نسبت ۱:۱ با ۲۰ درصد اسیدتری‌کلرواستیک همزده و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور g × ۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. پروتئین حل‌شده در مایع شفاف (۱۰ درصد اسیدتری‌کلرواستیک) انتقال داده شد. درجه هیدرولیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\%DH = \frac{N_0}{NT} \times 100$$

N_0: میزان پروتئین حل‌شده در ۱۰ درصد اسیدتری-کلرواستیک، NT: مقدار کل پروتئین موجود در هیدرولیز

آزمایشات بهینه‌یابی

بهینه‌یابی شرایط هیدرولیز با استفاده از روش سطح‌پاسخ (Response Surface Method) RSM بر پایه طرح مرکب مرکزی CCD (Central Composite Design) انجام شد. سه متغیر مستقل شامل دما، زمان و نسبت آنزیم به سوبسترا در سه سطح مساوی (۱+، ۰، ۱-) جهت بررسی تأثیر شرایط بر پاسخ‌ها و بهینه‌یابی فرآیندهای مذکور استفاده شد.

جدول۱. فاکتورهای مستقل و سطوح مورداستفاده برای بهینه‌یابی شرایط هیدرولیز با آنزیم پاپائین

متغیرهای مستقل	سطوح		
	-۱	۰	۱
X_1 دما (سانتی‌گراد)	۴۵	۵۵	۶۵
X_2 نسبت آنزیم به سوبسترا (درصد)	۱/۵	۲/۲۵	۳
X_3 زمان (دقیقه)	۳۵	۶۵	۹۵

تجزیه و تحلیل آماری

مهم‌ترین مسئله این تحقیق بررسی آثار اصلی و متقابل فاکتورها بود. از این رو طرح آماری سطح‌پاسخ انتخاب شد. در این مطالعه اثر متغیرهای مستقل شامل دما (۴۵، ۵۵،۶۵ درجه سانتی‌گراد)، زمان (۳۵، ۶۵، ۹۵ دقیقه) و نسبت آنزیم به سوبسترا (۱/۵، ۲/۲۵، ۳ درصد) به عنوان متغیرهای مستقل در سه سطح (۱+، ۰، ۱-) مورد آزمایش قرار گرفت. مدل مورد استفاده در روش سطح پاسخ عموماً رابطه درجه دوم می‌باشد. در روش سطح‌پاسخ برای هر متغیر وابسته مدلی تعریف می‌شود که آثار اصلی و متقابل فاکتورها را بر روی هر متغیر جداگانه بیان می‌نماید، مدل چند متغیره به صورت معادله زیر می‌باشد:

$$Y=b_0+\Sigma b_i x_i + \Sigma b_{ii} x_i^{\,2} + \Sigma b_{ij} x_i x_j + \varepsilon$$

در معادله مذکور، Yپاسخ پیش‌بینی شده، b_0 ضریب‌ثابت، b_i ، b_{ii} و b_{ij} ضرایب برآوردشده توسط مدل می‌باشد. ثابت، x_i و x_j سطحی از متغیرهای مستقل می‌باشند که نشان‌دهنده اثرات خطی، درجه‌دوم و متقابلX_1، X_2، X_3 بر پاسخ هستند. بعد از مشخص‌شدن محدوده متغیرهای مورد بررسی و واردکردن آنها به نرم‌افزار Design Expert نسخه ۱۱، نقشه آزمایش‌ها بدست آمد. طرح‌کلی آزمایش‌ها شامل ۱۹ آزمون (Run) بود که با ۵ تکرار در نقاط مرکزی انجام گرفت. سپس تک‌تک آزمایش‌های پیشنهادی در نقشه آزمایش انجام گرفت و میانگین نتایج حاصله از آزمون‌ها به عنوان پاسخ در نظر گرفته شد تا در مرحله بعد این نتایج برای بدست‌آوردن شرایط بهینه، تجزیه و تحلیل گردند. تجزیه واریانس برای ارزیابی اثرات معنی‌داری متغیرهای فرآیند بر روی پاسخ‌ها انجام شد. با انجام آنالیز رگرسیون چندمتغیره، مدل‌های چندجمله‌ای درجه‌دوم برای پیش‌بینی پاسخ در همه نمونه‌ها به دست آمد. سپس برازش داده‌های به-دست‌آمده برای درصد درجه هیدرولیز بر اساس مدل چند جمله‌ای درجه دوم صورت گرفت.

• یافته‌ها

جدول ۲ اثرات متقابل سه فاکتور زمان (دقیقه)، دما (درجه سانتی‌گراد) و غلظت آنزیم (درصد) بر درجه هیدرولیز پروتئین هیدرولیز شده از ضایعات سر و پوست میگو سرتیز را نشان می-دهد.

از بررسی جدول ۲ مشخص می‌شود که بیشینه درجه هیدرولیز سر میگو، با مقدار ۷۵/۱ درصد، در تیمار با اثرات سه-گانه زمان (۹۵ دقیقه)، دما (۵۵ درجه سانتی‌گراد) و غلظت آنزیم (۲/۲۵ درصد) و بیشینه درجه هیدرولیز مربوط به هیدرولیز پوست میگو در تیمار با اثرات سه‌گانه زمان (۶۵ دقیقه)، دما (۵۵ درجه سانتی‌گراد) و غلظت آنزیم (۳ درصد) مشاهده شد. جدول ۳ نشان‌دهنده تجزیه واریانس اثرات متقابل سه‌گانه متغیرها بر درجه هیدرولیز پروتئین سر میگوی سفیدسرتیز می‌باشد. از بررسی این جدول مشخص می‌شود که فقط اثر خطی زمان و اثر درجه‌دوم آنزیم دارای تأثیر معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بر درجه هیدرولیز پروتئین حاصل از سر میگو سفیدسرتیز بودند و سایر پارامترها معنی‌دار نبودند ($p>۰/۰۵$).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.10.1]

جدول ۲. اثرات متقابل سه‌گانه متغیرها بر درجه هیدرولیزاسیون پروتئین حاصل از سر و پوست میگو سفیدسرتیز

آزمون	زمان (دقیقه) (X_1)	دما (سانتی‌گراد) (X_2)	آنزیم (درصد) (X_3)	درصد هیدرولیز پروتئین پوست	درصد هیدرولیز پروتئین سر
۱	۶۵	۵۵	۳	۷۳/۹۸	۶۹/۳۳
۲	۹۵	۵۵	۲/۲۵	۷۲/۱۲	۷۵/۱۰
۳	۶۵	۵۵	۲/۲۵	۷۲/۱۸	۷۰/۳۶
۴	۹۵	۶۵	۱/۵	۷۱/۱۴	۷۲/۵۱
۵	۶۵	۵۵	۲/۲۵	۷۲/۱۰	۷۲/۱۵
۶	۳۵	۵۵	۲/۲۵	۶۸/۶۹	۶۸/۷۴
۷	۹۵	۴۵	۱/۵	۶۸/۱۰	۷۱/۱۲
۸	۳۵	۴۵	۱/۵	۶۳/۱۵	۶۶/۱۰
۹	۹۵	۴۵	۳	۷۳/۲۱	۷۲/۱۴
۱۰	۹۵	۶۵	۳	۷۳/۳۳	۷۲/۲۳
۱۱	۳۵	۶۵	۳	۶۸/۲۰	۶۸/۵۹
۱۲	۳۵	۴۵	۳	۶۴/۱۲	۶۸/۱۶
۱۳	۳۵	۶۵	۱/۵	۶۹/۲۲	۶۷/۴۵
۱۴	۶۵	۵۵	۲/۲۵	۷۱/۱۸	۷۱/۱۶
۱۵	۶۵	۶۵	۲/۲۵	۷۰/۶۸	۷۱/۱۰
۱۶	۶۵	۵۵	۲/۲۵	۷۱/۲۲	۷۱/۱۴
۱۷	۶۵	۵۵	۲/۲۵	۷۰/۴۸	۷۲/۱۲
۱۸	۶۵	۵۵	۱/۵	۷۲/۱۰	۶۹/۴۵
۱۹	۶۵	۴۵	۲/۲۵	۶۹/۵۵	۷۱/۱۱

جدول ۳. آنالیز واریانس درجه هیدرولیز سر میگو سفید سرتیز تحت‌تأثیر سه متغیر مستقل در طرح مرکب‌مرکزی روش سطح‌پاسخ برای مدل درجه‌دو

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	F-value	p-value
مدل	۹	۸/۵۵	۱۶/۸۴	۰/۰۰۰۱
زمان	۱	۵۷/۸۹	۱۱۳/۹۶	<۰/۰۰۰۱
دما	۱	۱/۰۶	۲/۰۸	۰/۱۸۳۲
آنزیم	۱	۱/۴۶	۲/۸۷	۰/۱۲۴۳
زمان×دما	۱	۰/۰۱۱۲	۰/۰۲۲۱	۰/۸۸۵۰
زمان×آنزیم	۱	۰/۷۵۶۴	۱/۴۹	۰/۲۵۳۴
دما×آنزیم	۱	۰/۶۱۶۰	۱/۲۱	۰/۲۹۹۴
اثر درجه‌دوم زمان	۱	۰/۹۴۳۵	۱/۸۶	۰/۲۰۶۰
اثر درجه‌دوم دما	۱	۱۴/۱۳	۰/۲۷۸۱	۰/۶۱۰۷
اثر درجه‌دوم آنزیم	۱	۱۰/۳۱	۲۰/۲۹	۰/۰۰۱۵
فقدان برازش	۵	۰/۴۵۷۰	۰/۷۹۹۴	۰/۶۰۲۵
خطای خالص	۴	۰/۵۷۱۷		
تصحیح کلی	۱۸			
R^2	۰/۹۴۳۹			
Adjusted R^2	۰/۸۸۷۹			
Predicted R^2	۰/۷۳۹۵			

بررسی اثر متغیرها بر درجه هیدرولیز (جدول ۴) نشان داد که تجزیه واریانس اثرات خطی زمان، دما و آنزیم و اثرات متقابل زمان- دما و زمان- آنزیم و همچنین اثرات درجه دوم زمان و دما بر درجه هیدرولیز پروتئین حاصل از پوست میگو معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). اما اثر متقابل دما- آنزیم و اثر درجه‌دوم آنزیم

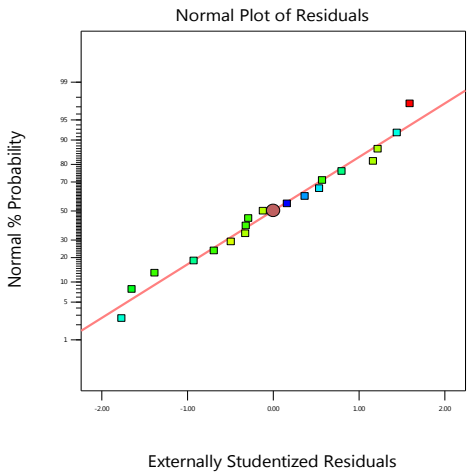
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.10.1]

بر درجه هیدرولیز پروتئین حاصل از پوست میگو سرتیز معنی-دار نبود ($p>۰/۰۵$) (جدول ۴).

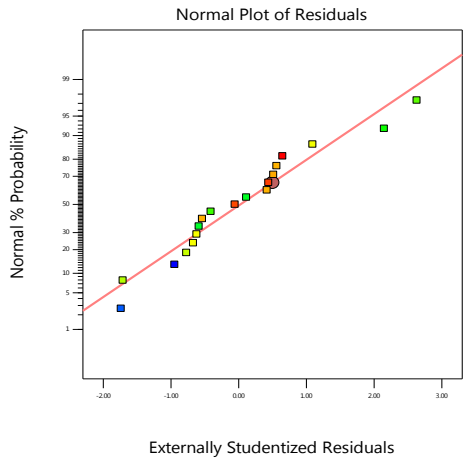
شکل ۱ نشان‌دهنده توزیع احتمال نرمال داده‌ها و مقایسه نتایج حاصل از تخمین مدل و نتایج واقعی است. همان طور که در تصویر نشان داده شده است، وقتی نمودار باقی‌مانده در امتداد یک خط مستقیم باشد، فرضیه نرمال‌بودن، توجیه می‌شود. بررسی این نمودار نشان می‌دهد که پراکنش مقادیر باقی‌مانده که تفاوت بین میزان عددی پیش‌بینی و مقدار تجربی است خط مستقیمی را تشکیل می‌دهد و مقادیر باقی‌مانده به شکل نرمال در دو سمت این خط پراکنده‌اند. این نمودار نشان می‌دهد که نقطه مورد آزمایش به شکل معقول با مقدار پیش‌بینی شده توسط مدل هم‌راستا بوده است. تأثیر متغیر مستقل زمان در سطوح (۳۵، ۶۵ و ۹۵ دقیقه) بر درجه هیدرولیز پروتئین، زمانی که دو متغیر دما و غلظت آنزیم در نقطه مرکزی ثابت نگه داشته شدند، در شکل ۲ نشان داده شده است. همان گونه که در شکل مشخص است، افزایش زمان در محدوده ۹۵-۳۵ دقیقه منجر به افزایش درجه هیدرولیز شد. حداکثر مقدار درجه هیدرولیز پروتئین حاصل از سر میگو سرتیز در صورتیکه زمان در محدوده ۹۵-۳۵ دقیقه متغیر بود و سایر متغیرها (دما، و غلظت آنزیم) در نقطه مرکزی ثابت بودند، ۷۴/۳۵ درصد به دست آمد (شکل ۲ الف).

جدول ۴. آنالیز واریانس درجه هیدرولیز پوست میگو سفیدسرتیز تحت‌تأثیر سه متغیر مستقل در طرح مرکب‌مرکزی روش سطح‌پاسخ برای مدل درجه‌دو

منابع تغییر	درجه‌آزادی	میانگین مربعات	F-value	p-value
مدل	۹	۱۵/۸۹	۲۰/۷۵	<۰/۰۰۰۱
زمان	۱	۶۰/۱۲	۷۸/۵۵	<۰/۰۰۰۱
دما	۱	۲۰/۸۵	۲۷/۲۴	۰/۰۰۰۵
آنزیم	۱	۸/۳۴	۱۰/۸۹	۰/۰۰۹۲
زمان×دما	۱	۶/۱۱	۷/۹۸	۰/۰۱۹۹
زمان×آنزیم	۱	۶/۷۵	۸/۸۲	۰/۰۱۵۷
دما×آنزیم	۱	۳/۰۱	۳/۹۴	۰/۰۷۸۵
اثر درجه‌دوم زمان	۱	۸/۱۵	۱۰/۶۵	۰/۰۰۹۸
اثر درجه‌دوم دما	۱	۱۱/۱۲	۱۴/۵۳	۰/۰۰۴۱
اثر درجه دوم آنزیم	۱	۲/۲۵	۲/۹۴	۰/۱۲۰۵
فقدان برازش	۵	۰/۹۷۳۶	۱/۹۳	۰/۲۷۲۳
خطای خالص	۴	۰/۵۰۵۱		
تصحیح کلی	۱۸			
R^2	۰/۹۵۴۰			
Adjusted R^2	۰/۹۰۸۱			
Predicted R^2	۰/۷۵۲۵			



الف) بخش سر میگو سفید سرتیز

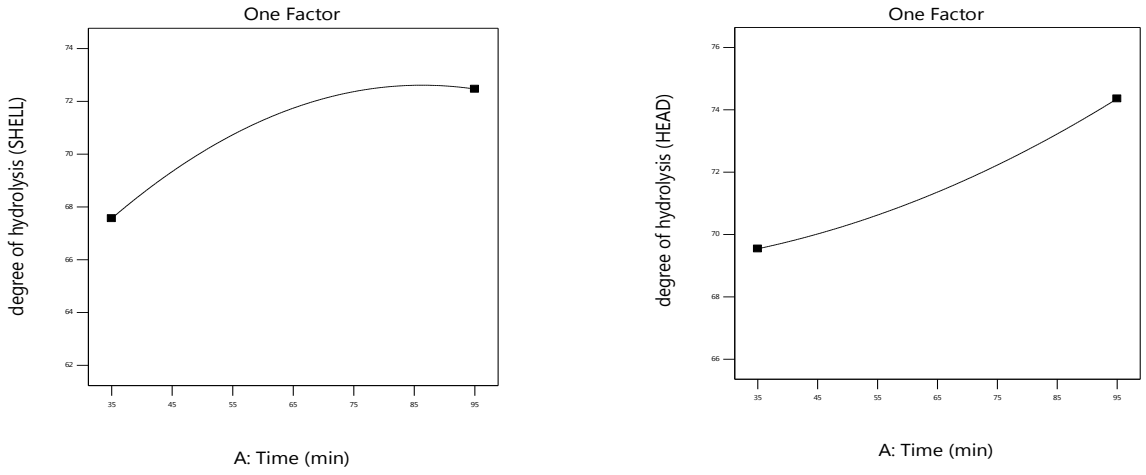


ب) بخش پوست میگو سفید سرتیز

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.10.1]

شکل ۱. مقایسه مقدار پیش‌بینی مدل در برابر مقدار تجربی و توزیع احتمال نرمال

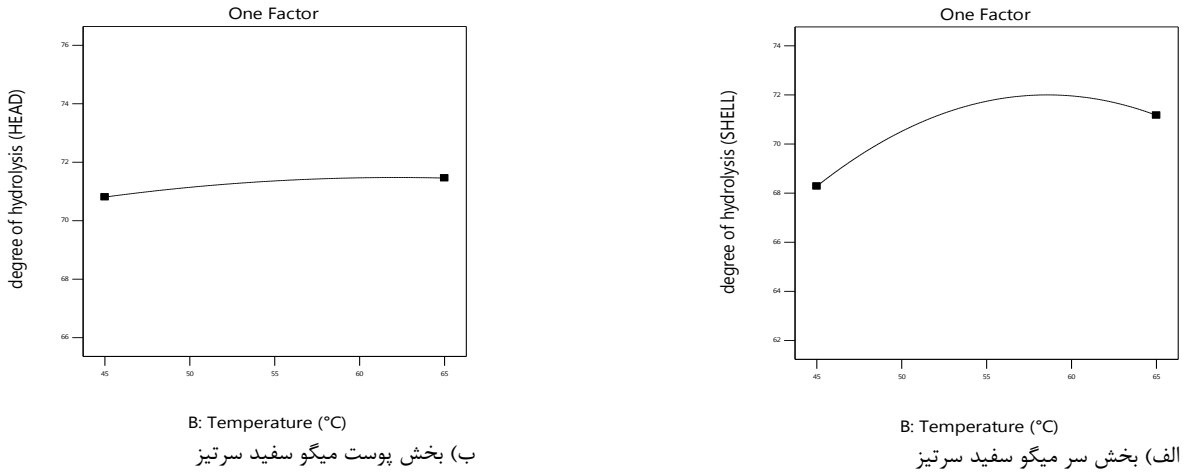


الف) بخش سر میگو سفید سرتیز ب) بخش پوست میگو سفید سرتیز

شکل ۲. تأثیر متغیر زمان بر درجه هیدرولیز

بر اساس شکل ۲ ب افزایش زمان در محدوده ۸۲-۳۵ دقیقه منجر به افزایش درجه هیدرولیز پروتئین حاصل از پوست میگو سرتیز شد. حداکثر مقدار درجه هیدرولیز پروتئین در صورتی که زمان در محدوده ۹۵-۳۵ دقیقه متغیر بود و سایر متغیرها (دما و غلظت آنزیم) در نقطه مرکزی ثابت بودند، ۷۲/۶۰ درصد و در زمان۸۲ دقیقه مشاهده شد. افزایش زمان به بیش از ۸۰ دقیقه منجر به کاهش جزئی در درجه هیدرولیز شد.

بر اساس شکل ۳ الف افزایش دما در محدوده ۵۹-۴۵ درجه سانتی‌گراد منجر به افزایش جزیی درجه هیدرولیز شد و افزایش دما به بیش از ۵۹ درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش درجه هیدرولیز گردید. حداکثر مقدار درجه‌هیدرولیز حاصل از سر میگو سرتیز در صورتیکه زمان در محدوده ۶۵-۴۵ درجه سانتی‌گراد متغیر بود و سایر متغیرها (زمان و غلظت آنزیم) در نقطه مرکزی ثابت بودند، ۷۱/۵۲ درصد بود که در دمای ۵۹ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. همان گونه که در شکل ۳ ب مشخص است، افزایش دما در محدوده ۵۷-۴۵ درجه سانتی‌گراد منجر به افزایش درجه‌هیدرولیز حاصل از پوست میگو سرتیز شد و افزایش دما به بیش از ۵۷ درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش درجه‌هیدرولیز شد. حداکثر مقدار درجه هیدرولیز پروتئین حاصل از سر میگو در صورتیکه دما در محدوده ۶۵-۴۵ درجه سانتی‌گراد و سایر متغیرها (زمان و غلظت آنزیم) در نقطه مرکزی ثابت بودند، ۷۲/۰۴ درصد بود.

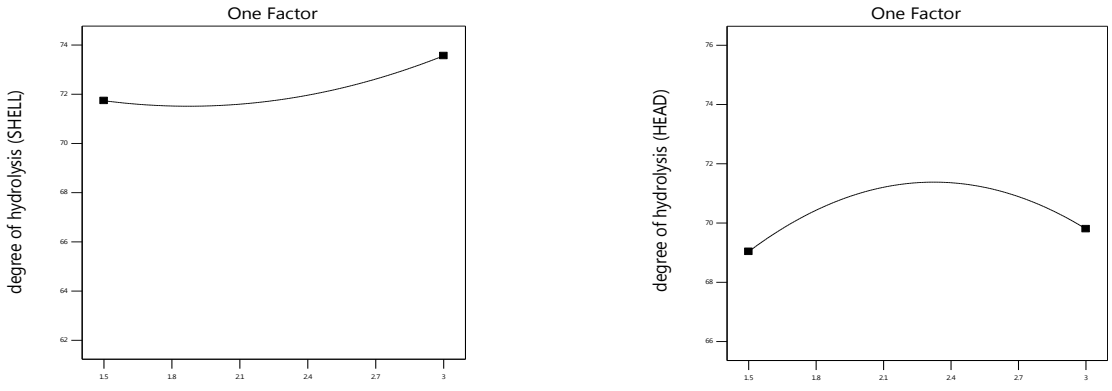


الف) بخش سر میگو سفید سرتیز ب) بخش پوست میگو سفید سرتیز

شکل ۳. تأثیر متغیر دما بر درجه هیدرولیز

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.10.1]



الف) بخش سر میگو سفید سرتیز ب) بخش پوست میگو سفید سرتیز

شکل ۴- تأثیر متغیر غلظت آنزیم بر درجه هیدرولیز

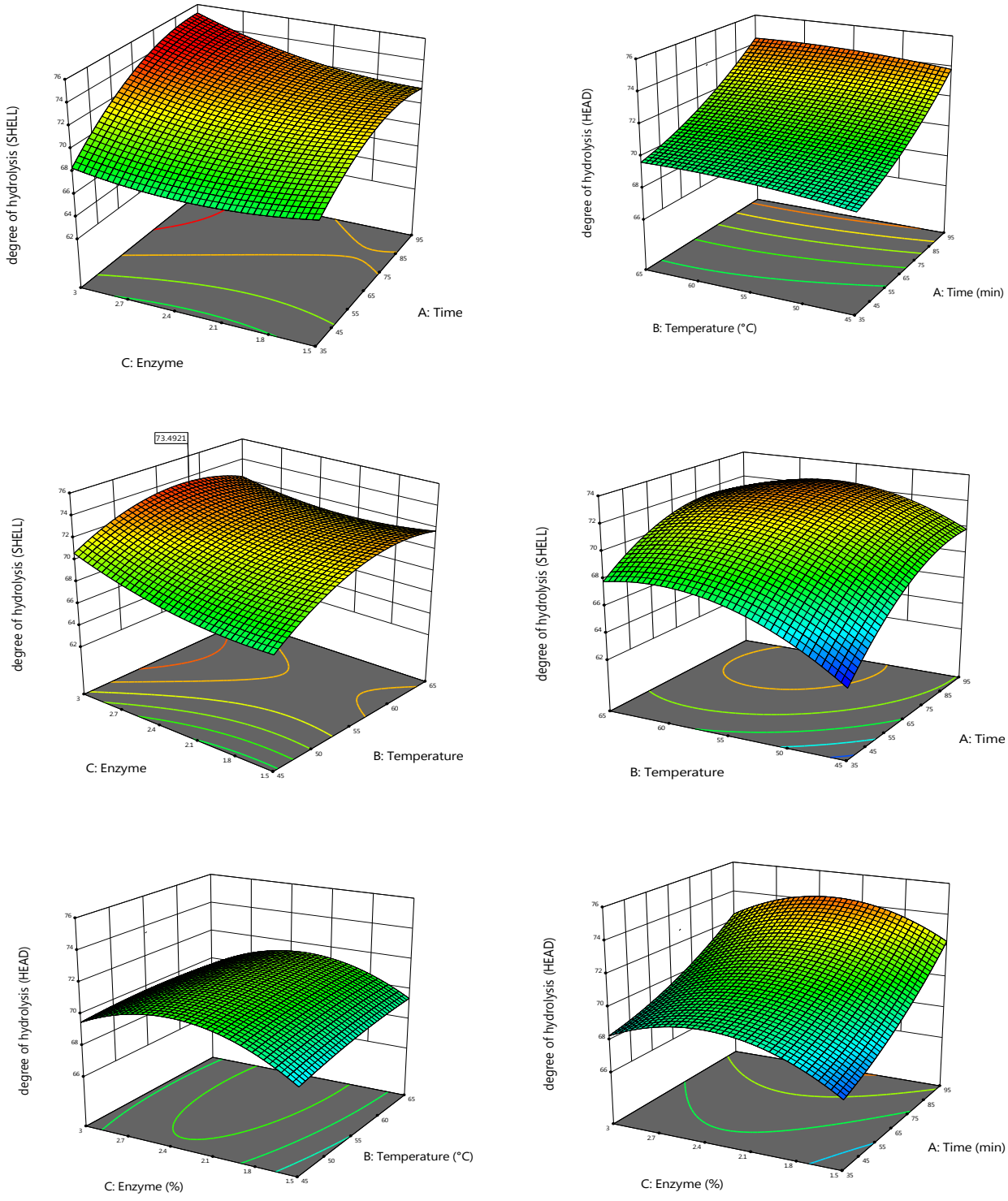
بر اساس شکل ۴ الف می‌توان بیان کرد که افزایش غلظت آنزیم تا ۲/۲۳ درصد منجر به افزایش درجه هیدرولیز پروتئین سر میگو شد. بیشترین درجه هیدرولیز ۷۱/۴۱ درصد بود که در غلظت آنزیم ۲/۲۳ درصد حاصل و افزایش بیشتر آنزیم منجر به کاهش درجه‌هیدرولیز گردید. افزایش غلظت آنزیم در محدوده ۳-۱/۵ درصد منجر به افزایش درجه‌هیدرولیز پوست میگو شد. حداکثر مقدار درجه‌هیدرولیز پوست میگو در صورتیکه غلظت آنزیم در محدوده ۳-۱/۵ درصد و سایر متغیرها (زمان و دما) در نقطه مرکزی ثابت بودند، ۷۳/۶۱ درصد بود که در غلظت ۳ درصد آنزیم حاصل شد. نمودارهای سه‌بعدی سطح-پاسخ در شکل ۵ اثرات متقابل فاکتورهای زمان (۹۵-۳۵ دقیقه) و دمای (۶۵-۴۵ درجه سانتی‌گراد) را بر درجه هیدرولیز نشان می دهد، در حالیکه غلظت آنزیم در نقطه مرکزی ۲/۲۵ درصد ثابت نگه داشته شد. می‌توان بیان داشت که اثر متقابل این دو فاکتور بر درجه‌هیدرولیز پروتئین قسمت سر و پوست میگو افزایشی بود. بالاترین درجه هیدرولیز پروتئین حاصل از سر میگو ۷۴/۳۱درصد به زمان حدود ۹۵ دقیقه و دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد مربوط بود. بر اساس شکل ۵ افزایش دما در زمان-های کمتر در مقایسه با زمان‌های بالاتر دارای تأثیر بیشتری برای افزایش درجه هیدرولیز پروتئین حاصل از پوست میگو است.

در شکل ۵، نمودارهای سه‌بعدی سطح پاسخ اثرات متقابل زمان، دما و غلظت آنزیم بر درجه هیدرولیز را نشان می دهد. افزایش هماهنگ زمان و غلظت آنزیم در سطوح مورد بررسی بر درجه هیدرولیز پروتئین اثر افزایشی داشت. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش زمان تا حدود ۹۵ دقیقه و افزایش آنزیم تا حدود ۲/۴ درصد باعث ایجاد بیشترین درجه هیدرولیز پروتئین حاصل از سر میگو سرتیز شد. شکل ۵ نشان می‌دهد که افزایش زمان در سطوح بالای غلظت آنزیم در مقایسه با سطوح پایین دارای تأثیر بیشتری بر افزایش درجه هیدرولیز پروتئین حاصل از پوست میگو سرتیز بود.

نمودارهای سه‌بعدی سطح پاسخ اثرات متقابل دما (۶۵-۴۵ درجه سانتی‌گراد) و غلظت آنزیم (۳-۱/۵ درصد) بر درجه-هیدرولیز درحالیکه زمان در نقطه مرکزی ثابت باشد، در شکل۵ نشان داده شده است. افزایش دما در سطوح مختلف غلظت آنزیم دارای تأثیر جزئی بر افزایش درجه‌هیدرولیز پروتئین سر میگو بود. افزایش دما تا حدود ۵۵ دقیقه و افزایش آنزیم تا ۳ درصد باعث ایجاد بیشترین درجه‌هیدرولیز پروتئین پوست میگو شد. تأثیر تک‌تک متغیرها بصورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از روش سطح‌پاسخ بهینه‌یابی شد. می‌توان چنین اظهار کرد که شرایط بهینه برای بیشینه درجه‌هیدرولیز پروتئین سر میگو ۷۴/۴۴ درصد، زمان ۹۵ دقیقه، دمای ۶۱/۵۱ درجه سانتی‌گراد و غلظت آنزیم ۲/۲۳ درصد بود. شرایط بهینه برای بیشینه درجه‌هیدرولیز پروتئین پوست میگو ۷۴/۵۳ درصد، شامل زمان ۷۵/۳۰ دقیقه، دمای ۵۶/۳۹ درجه سانتی‌گراد و غلظت آنزیم ۲/۹۹ درصد بود.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.10.1]



شکل۵. اثرات متقابل بین فاکتورهای زمان، دما و غلظت آنزیم به صورت ۳ بعدی

• بحث

در این مطالعه تأثیر سه فاکتور دما، زمان و غلظت آنزیم بر میزان پروتئین هیدرولیزشده میگوی سرتیز (*Metapenaus affinis*) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که تولید این محصول به صورت موثری تحت تأثیر شرایط واکنش قرار دارد. در واقع هر یک از فاکتورهای دما، زمان و مقدار آنزیم تأثیر کاملاً معنی‌داری بر میزان هیدرولیز داشتند. در مطالعه‌ای که بر بهینه‌یابی پروتئین هیدرولیزشده امعاء و احشاء ماهی تن زردباله با آنزیم پروتامکس انجام شد، آنها نشان دادند که تأثیر

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.10.1]

هریک از متغیرها بر میزان پاسخ‌ها معنی‌دار است. آنها ثابت کردند رابطه بین خواص آنتی‌اکسیدانی و طول زنجیره پپتید با پارامترهای هیدرولیز از نوع درجه‌دوم می‌باشد. بالابودن ضریب همبستگی ۰/۹۸۲ (خاصیت آنتی‌اکسیدانی) و ۰/۹۶۷ (طول زنجیره پپتیدی) حاکی از توانایی خوب مدل سطح‌پاسخ در پیش‌بینی شرایط واکنش است (۱۳). در مطالعه حاضر ضرایب رگرسیون چندگانه از طریق روش حداقل مربعات به منظور پیش‌بینی مدل چندجمله‌ای درجه دوم برای متغیر پاسخ تعیین شد و با توجه به معنی‌دار بودن ضرایب (جدول۳ و ۴) مدل‌های پیشنهادی زیر ارائه گردید: معادله (۱) برای بهینه‌یابی درجه هیدرولیز پروتئین سر میگو و معادله (۲) برای بهینه‌یابی درجه هیدرولیز پروتئین پوست میگو سفید سرتیز می‌باشد:

$$1: Y= 34.5905 + 0.0329\ A + 0.3739\ B + 18.9716\ C - 0.0001\ AB - 0.0136\ AC - 0.037\ BC + 0.0006\ A^2 - 0.0022\ B^2 - 3.4531\ C^2$$

$$2: Y= -19.7856 + 0.3995\ A + 2.737\ B - 4.1966\ C - 0.0029\ AB + 0.0408\ AC - 0.0818\ BC - 0.0019\ A^2 - 0.0201\ B^2 + 1.6134\ C^2$$

دو معادله بالا نشان می‌دهند که رابطه بین درجه‌هیدرولیز با پارامترها از نوع درجه‌دوم است و نتایج جدول ۲ و ۳ نشان دادند که ضریب همبستگی R^2 برای مدل برای بخش سر و پوست میگو به ترتیب ۰/۹۴۳۹ و ۰/۹۵۴۰ به دست آمد. هرچه این ضریب به ضریب واقعی نزدیک‌تر باشد، نشان می‌دهد مدل رگرسیون واکنش را بخوبی توضیح داده است. ضریب تعیین نباید کمتر از ۸۰ درصد باشد (۱۴). با توجه به نتایج جدول ۲ و ۳ فقدان برازش برای مدل معنی‌دار نبود ($p>0/05$) و این نشان‌دهنده این است که مدل ایجادشده توانسته تغییرات را به اندازه کافی توضیح دهد. در مطالعه دیگر محققان نشان دادند متغیرهای مستقل هیدرولیز تأثیر مستقیمی بر فعالیت آنزیم داشته و به دنبال آن بر خواص ضداکسایش پروتئین‌های نهایی موثرند (۱۵). بهینه‌یابی پروتئین هیدرولیزشده از عضله ماهی مرکب خلیج‌فارس به روش سطح‌پاسخ مورد بررسی قرار گرفت (۱۶). نتایج اثر متقابل فاکتورها فقط برای اثر متقابل دما و نسبت آنزیم به سوبسترا معنی‌دار بود. نتایج مربوط به توان دوم فاکتورها هم وجود اختلاف معنی‌داری را بین آنها نشان داد ($p< 0/05$). بیشترین میزان درجه‌هیدرولیز ۴۳/۱۵ درصد در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۲۰ دقیقه با غلظت ۲ درصد آنزیم به دست آمد. آنها نشان دادند که با افزایش غلظت آنزیم شاهد افزایش میزان درجه‌هیدرولیز بودند، اما بعد کاهش آن مشاهده شد. بهینه‌یابی پروتئین هیدرولیزشده از محصولات جانبی صنایع گوشت با روش سطح‌پاسخ انجام شد (۱۷).

فاکتورهای مورد بررسی جهت رسیدن به بیشترین میزان درجه-هیدرولیز دما (۵۲-۴۳ درجه سانتی‌گراد)، زمان (۱۹۰-۶۵ دقیقه) و نسبت آنزیم به سوبسترا (Anson Unit/kg protein۹۵-۵۰) بودند. نتایج نشان داد که دمای ۴۷/۱۷ درجه سانتی‌گراد، زمان ۱۵۸/۷۴ دقیقه و نسبت آنزیم به سوبسترا ۷۸/۶۰ به دست آمد که میزان درجه هیدرولیز ۳۶/۳ درصد حاصل شد. ضرایب همبستگی برای هر یک از مدل‌های ارائه شده مربوط به درجه‌هیدرولیز نشان از دقت بالای مدل برای پیش‌بینی شرایط واکنش با متغیرهای مختلف بود. در مطالعه‌ای که روی میگوی (*Metapenaeus dobsoni*) انجام شد، با استفاده از آنزیم آلکالاز پروتئین قسمت سر میگو هیدرولیز شد. درجه هیدرولیز ۴۲/۸۹ درصد به دست آمد (۱۸). با استفاده از همین آنزیم درجه هیدرولیز ۲۶/۳۲ و ۲۹/۵۷ درصد از هیدرولیز پروتئین *Acetes chinensis* و *Acetes indicus* گزارش شد (۲۰، ۱۹).

در مطالعه دیگر، ضایعات سر میگو (*Marsupenaeus japonicus*) با استفاده از آنزیم پاپائین هیدرولیز گردید. مطالعه آنها نشان داد که شرایط هیدرولیز بر محصول نهایی بسیار موثر است. پاپائین ویژگی منحصربفردی برای کاتالیز هیدرولیز پیوندهای پپتیدی دارد که پپتیدها را با اسیدهای‌آمینه مانند لوسین و گلیسین آزاد می‌کند (۲۱). در بررسی دیگر که روی هیدرولیز امعاء و احشاء میگو (*Macrobrachium rosenbergii*) انجام شد، از آنزیم آلکالاز و فلاورزایم استفاده گردید. نتایج نشان داد دما از زمان و غلظت آنزیم بر درجه‌هیدرولیز موثرتر بود و بیشترین درجه هیدرولیز در دمای ۶۷/۸ درجه سانتی‌گراد با غلظت آنزیم ۲/۴ درصد آلکالاز و ۰/۵ درصد فلاورزایم به دست آمد. در دمای ۵۱ درجه سانتی‌گراد اپتیمم درجه هیدرولیز با ۱/۸۸ درصد حاصل شد (۱۰).

در تمام مطالعات بالا ثابت شد که میزان درجه‌هیدرولیز به جنس، فصل و گونه موردمطالعه بستگی دارد. در مطالعات مختلف افزایش میزان درجه‌هیدرولیز، در مراحل اولیه افزایش داشت، ولی با گذشت زمان از شدت آن کاسته شد (۲۲،۲۳،۲۴). با افزایش زمان هیدرولیز، تعداد پیوندهای پپتیدی در دسترس آنزیم کاهش می‌یابد (۲۵). همچنین از میزان فعالیت پروتئولیتیکی آنزیم کاسته می‌شود که در مجموع موجب کاهش شدت هیدرولیز می‌شود (۲۶). شکل‌گیری ترکیباتی که ممانعت‌کننده فعالیت آنزیمی هستند می‌تواند موثر باشد (۲۷). این احتمال می‌رود که پپتیدهای ایجاد شده می‌توانند باعث کاهش درجه هیدرولیز شوند، چون پپتیدها می‌توانند با پروتئین‌هایی که هنوز هیدرولیز نشده‌اند برای اتصال آنزیم به آنها باهم رقابت کنند (۲۸). شکل ۱ مقایسه داده‌های به دست

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.10.1]

آمده و داده‌های پیش‌بینی شده بر اساس توضیحات نرم‌افزار را نشان می‌دهد که وجود یک تناسب که با خطی با زاویه ۴۵ درجه نسبت به محورها مشخص شده، ارتباط خوب بین آنها و احتمال نرمال‌بودن داده‌ها را تایید می‌کند. شاخص عدم‌تطبیق مدل با داده‌های آزمایشی (فقدان برازش) برای هر یک از مدل‌ها معنی‌دار نشد ($p>۰/۰۵$) و بیانگر این است که نقاط به خوبی اطراف مدل قرار گرفته‌اند و می‌توان از مدل برای پیش‌گویی مقادیر متغیرهای وابسته استفاده کرد.

هیدرولیز پروتئین‌ها یکی از روش‌های مؤثر و مفید برای تبدیل گونه‌های کم‌مصرف و یا ضایعات آبزیان به فرآورده‌هایی با ارزش افزوده بالا می‌باشد. در فرآیند هیدرولیز پروتئین‌ها به پپتیدهای کوچک‌تر تبدیل می‌شوند و از این رو بهتر می‌توانند وارد بدن شده و نقش خود را ایفا کنند. امروزه مطالعات زیادی برای تولید یک محصول در شرایط بهینه انجام می‌شود. روش سطح‌پاسخ، یک روش ریاضی مؤثر به منظور بررسی اثر چندین فاکتور و جستجوی شرایط بهینه برای پاسخ موردنظر است. در تحقیق حاضر نتایج نشان داد که مدل مورداستفاده از تناسب و اطمینان خوبی به منظور پیش‌بینی درجه‌هیدرولیز پوست و سر میگوی سرتیز با استفاده از آنزیم پاپائین است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که می‌توان پروتئین موجود در سر و پوست میگو را حل و آن را به یک منبع پروتئین برای پرورش آبزیان و سایر جانوران تبدیل کرد.

• References

1. Dayakar B, Xavier, KM, Das, O, Layana P, Balange A, Nayak BB. Application of extreme halophilic archaea as biocatalyst for chitin isolation from shrimp shell waste. Carbohydrate Polymer Technologies and Applications 2021; doi.org/ 10.1016/j.carpta.2021.100093. Article 100093.

2. Haque R, Sawant PB, Sardar P, Xavier KM, Varghese T, Chadha NK. Synergistic utilization of shrimp shell waste-derived natural astaxanthin with its commercial variant boosts physio metabolic responses and enhances colouration in discus (*Symphysodon aequifasciatus*). Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management 2021; 15. doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100405. Article 100405.

3. Nguyen NV, Hai PD, My VTM, Men DT, Trung LD, Bavor HJ. Improving product added-value from shrimp (*Litopenaeus vannamei*) waste by using enzymatic hydrolysis and response surface methodology. Aquatic Food Product Technology 2021; doi.org/10.1080/10498850.2021.1949770.

4. Baharuddin NA, Halim NRA, Sarbon NM. Effect of degree of hydrolysis (DH) on the functional properties and angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity of eel (*Monopterus* sp.) protein hydrolysate. International Food Research 2016; 23(4).

5. Sila A, Sayari N, Balti R, Martinez-Alvarez O, Nedjar-Arroume N, Moncef N. Biochemical and antioxidant properties of peptidic fraction of carotenoproteins generated from shrimp by-products by enzymatic hydrolysis. Food Chemistry 2014; 148: 445–452. doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.146.

6. Korkmaz K, Tokur B. Optimization of hydrolysis conditions for the production of protein hydrolysates from fish wastes using response surface methodology. Food Bioscience. 2021 doi: org/10.1016/j.fbio.2021.10131.

7. Elavarasan K, Naveen Kumar V, Shamasundar BA. Antioxidant and functional properties of fish protein hydrolysates from fresh water carp (*Catla catla*) as influenced by the nature of enzyme. Food Processing and Preservation 2014; 38 (3): 1207–1214. https://doi.org/10.1111/jfpp.12081.

8. He S, Franco C, Zhang W. Functions, Applications ve production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). Food Research International 2013; 50: 289-297.

9. Hoyle NT, Merritt JH. Quality of Fish Protein Hydrolysates from Herring (*Clupea harengus*). Food Science 1994; 59 (1): 76-79.

10. Fabrini SA, Stroher R, Scheufele FB, Mauerwerk MT, Ballester ELC. Optimization of the enzymatic hydrolysis process of shrimp viscera (*Macrobrachium rosenbergii*) with two commercial enzymes, aiming to produce an alternative protein source for aquaculture feed formulation. Aquaculture International 2023; 31: 807-825.

11. Dayakar B, Xavier KAM, Ngasotter S, Layana P, Balange AK, Priyadarshini B, Nayak BB. Characterization of spray-dried carotenoprotein powder from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) shells and head waste extracted using papain: Antioxidant, spectroscopic, and microstructural properties. LWT -Food Science and Technology 2022; 159:113188.

12. Dhanabalan V, Xavier KAM, Eppen S, Joy A, Balange A, Asha KK, Murthy N, Nayak BB. Characterization of chitin extracted from enzymatically deproteinized Acetes shell residue with varying degree of hydrolysis. Carbohydrate Polymers 2021; 253: 117203.

13. Diniz FM, Martin AM. Use of response surface methodology to describe the combined effects of pH, temperature and E/S ratio on the hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) muscle. Food Science Technology 1996; 31 (5):419–26.

14. Alahmd K, Noman A, Xia W, Jiang Q, Xu Y. Influence of the enzymatic hydrolysis using flavourzyme enzyme on functional, secondary structure, and antioxidant characteristics of protein hydrolysates produced from bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). Molecules 2023;28(2),519. https://doi.org/10.3390/molecules28020519

15. Akbari-adergani B, Shabani P. Evaluation of physicochemical and functional properties of cottonseed protein hydrolyzed protein by alcalase enzyme. Iranian Journal of Food Science and Technology 2019; 84: 301-317.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.10.1]

16. Hamze A, Rezaei M, Khodabandeh S, Motamedzadegan A, Norozinia M. Optimization of Persian Gulf cuttlefish (*Sepia pharaonis*) muscle hydrolysate production by RSM. Fisheries Science and Technology 2016; 5: 69-82.

17. Meshginfar N, Sadeghi Mahoonak AR, Ziaiifar AM, Ghorbani M, Kashaninejad M. Optimization of the production of protein hydrolysates from meat industry by products by response surface methodology. Food Researches 2014; 24; 215-225.

18. Gunasekaran J, Kannuchamy N, Kannaiyan S, Chakraborti R, Gudipati V. Protein hydrolysates from shrimp (*Metapenaeus dobsoni*) head waste: Optimization of extraction conditions by response surface methodology. Journal of Aquatic Food Product Technology 2015; 24(5); 429–442. https://doi.org/10.1080/ 10498850.2013.787134.

19. Cao W, Zhang C, Hong P, Ji H. Optimising the free radical scavenging activity of shrimp protein hydrolysate produced with alcalase using response surface methodology. International Journal of Food Science and Technology 2009; 44(8): 1602–1608. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01901.x

20. Dhanabalan V, Xavier M, Murthy LN, Asha KK, Balange AK, Nayak BB. Evaluation of physicochemical and functional properties of spray-dried protein hydrolysate from non-penaeid shrimp (*Acetes indicus*). Journal of the Science of Food and Agriculture 2020; 100(1): 50–58. https://doi.org/10.1002/jsfa.9992.

21. Nikoo M, Benjakul S, Yasemi M, Gavlighi HA, Xu X. Hydrolysates from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processing by-product with different pretreatments: Antioxidant activity and their effect on lipid and protein oxidation of raw fish emulsion. Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie 2019; 108:120–128. https:// doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.049

22. Nazeer R. A., Kulandai K. A., 2012 Evaluation of antioxidant activity of muscle and 487 skin protein hydrolysates from giant kingfish, *Caranx ignobilis* (Forsskål 1775). International 488 Journal of Food Science and Technology 2012; 47(2):274–281.

23. Sinthusamran S, Benjakul S, Kijroongrojana K, Prodpran T, Kishimura H. Protein hydrolysates from Pacific white shrimp cephalothorax manufactured with different processes: Compositions, characteristics and antioxidative activity. Waste and Biomass Valorization 2020; 11(5): 1657–1670. https://doi.org/10.1007/s12649-018- 0517-1

24. Zhou J, Han Q, Koyama T, Ishizaki S. Preparation, Purification and Characterization of Antibacterial and ACE Inhibitory Peptides from Head Protein Hydrolysate of Kuruma Shrimp, *Marsupenaeus japonicas*. Molecules 2023; 28: 894.

25.Lorzani A, Roomiani L. Effects of condition enzymatic hydrolysis on degrees of hydrolysis and antioxidant activity of head protein of bighead (*Aristichthys nobilis*). Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology 2022; 17: 124-132.

26.Farsimadan M, Roomiani L. Study of antioxidant activity of sea cucumber hydrolyzed protein (*Holothuria leucospilota*) and its effect on microbial and chemical properties of surimi of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). Journal of Fisheries Science and Technology 2021; 10: 259-271.

27. De Holanda HD, Netto FM. Recovery of components from shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*) processing waste by enzymatic hydrolysis. Journal of Food Science 2006; 71(5): 298-303.

28. Sharifi N, Roomiani L. Use of hydrolyzed from shrimp on the chemical, microbial and tissue properties of surimi of silver carp. EJFPP 2020; 12: 1-20.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.10.1]

Optimizing the Hydrolyzed Protein Process from *Metapenaeus Affinis* Shrimp Wastes

Tohidi Nasab M[1], Roomiani L[2]*

1-Department of Food Sciences and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

*2-*Corresponding author: Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran*
Email: l.roomiani@iauahvaz.ac.ir

Received 6 Apr, 2023 **Accepted 26 Jul, 2023**

Background and Objectives: Every year, the fisheries industry produces approximately 10^6 tons of wastes, most of which are processed, wasted low-value products such as animal feeds or discarded. Crustaceans include significant quantities of polysaccharides in their skins, which can be used in various food industries. This study was carried out to optimize production of hydrolyzed proteins from the skin and head of *Metapenaeus affinis* using response surface method (RSM) and papain enzyme.

Materials and Methods: Investigated factors to reach the maximum degrees of hydrolysis included various temperatures (35, 65 and 95 °C), times (45, 55 and 65 min) and enzyme/substrate ratios (1.5, 2.25 and 3%). Hydrolysis conditions that showed the best degrees of hydrolysis were optimized using RSM with central composite design (CCD).

Results: Results showed that effects of reaction variables on each of the test responses were significant ($p < 0.05$). Based on the three-dimensional graphs of the response surface analysis, the optimal operating conditions for the maximum degree of hydrolysis of the shrimp head protein were achieved using the rate of 74.44%, time of 95 min, temperature of 61.51 °C and enzyme concentration of 2.23%. Moreover, the optimal conditions for the maximum degree of hydrolysis of the shrimp shell proteins included 74.53%, 75.30 min, 56.39 °C and enzyme concentration of 2.99%.

Conclusion: This study showed that shell and head of *M. affinis* included high hydrolyzed proteins that could be useful for medicinal and human uses.

Keywords: Shrimp protein hydrolysate, Optimization, Degree of hydrolysis, *Metapenaus affinis*

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.3.10.1]