

تولید پروتئین هیدرولیز شده از امعاء و احشاء فیل ماهی (*Huso huso*) با استفاده از آنزیم آلکالاز

*مجید تقی‌اف^۱، محمد رضا قمی^۲ و محمود رضا اویسی‌پور^۳

^۱گروه شیمی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران

^۲گروه شیلات، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران

^۳گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۲۵

چکیده

در تحقیق حاضر، از روش پاسخ سطحی (Response Surface Method; RSM) به منظور بهینه سازی شرایط تولید پروتئین هیدرولیز شده از امعاء و احشاء فیل ماهی (*Huso huso*) از لحاظ دما، زمان و میزان آنزیم، استفاده گردید. در این روش، اثر سه فاکتور دما، زمان و میزان آنزیم (متغیر مستقل) را روی درجه هیدرولیزاسیون به عنوان پاسخ سطحی، مورد بررسی قرار می‌دهد. بر اساس نمودارهای سه بعدی، شرایط بهینه از لحاظ دما، زمان و میزان آنزیم، به ترتیب عبارت از دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۱۲۰ دقیقه و میزان آنزیم ۱ درصد بودند. پروتئین هیدرولیز تولید شده با استفاده از آنزیم آلکالاز، دارای ۶۶ درصد پروتئین و ۱/۳۴ درصد چربی می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان چربی در پروتئین هیدرولیز شده نسبت به مواد خام اولیه، به شدت کاهش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، امعاء و احشاء، بهینه سازی، پروتئین هیدرولیز شده، فیل ماهی

مقدمه

مقدار بسیار زیادی از مواد جانبی صنایع عمل آوری آبزیان، بدون هیچ تلاشی برای استفاده از آنها، دور ریخته می‌شوند. ولی بسیاری از تولیدکننده‌های فرآورده‌های دریایی، به دلایل زیست محیطی، قادر به دور ریختن ضایعات خود به صورت مستقیم به دریا نمی‌باشند و برای پالایش این مواد باید هزینه زیادی را متحمل شوند. بنابراین یافتن یک روش مناسب به عنوان جایگزینی برای دور ریختن این مواد، امری ضروری است (۹). به طور کلی سالانه بیش از ۱۰۰ میلیون تن ماهی در دنیا صید می‌شود که ۲۹/۵٪ از آن به پودر ماهی تبدیل می‌شود (۵). احتمالاً بیش از ۵۰ درصد از بافت ماهیان، به صورت ضایعات غیر قابل

مصرف در می‌آید و تنها ۵۰ درصد توسط انسان مصرف می‌شود. با افزایش جمعیت بشر و افزایش میزان صید به بیش از ۱۰۰ میلیون تن در سال، باید از منابع دریایی با دقت بیشتری استفاده نمود (۹). با به کارگیری تکنولوژی آنزیم برای بازیافت پروتئین، تولید طیف وسیعی از مواد به عنوان افزودنی غذای دام، طیور و آبزیان و یا فرآورده‌هایی برای کاربردهای صنعتی و دارویی، فراهم می‌شود (۱۳). امعاء و احشاء ماهیان که یکی از مهمترین ضایعات آنها می‌باشد، سرشار از اسیدهای چرب غیر اشباع و پروتئین می‌باشد، ولی به شدت فساد پذیر بوده و باید به صورت منجمد نگهداری شود (۱۴).
اصلاح آنزیمی پروتئین‌ها با استفاده از آنزیم‌های پروتئاز که باعث شکسته شدن پروتئین‌ها از نقاط

*نویسنده مسئول: m.taghiof@yahoo.com

با توجه به اینکه ویژگی‌های پروتئین هیدرولیز شده با توجه به نوع سوبسترا، نوع و میزان آنزیم و شرایط هیدرولیز متفاوت می‌باشد (۹)، بهینه سازی شرایط تولید پروتئین هیدرولیز شده، می‌تواند باعث صرفه جویی در زمان، هزینه و میزان آنزیم مورد استفاده، گردد. به همین منظور تحقیق حاضر با هدف بهینه سازی شرایط (دما، زمان و میزان فعالیت آنزیم) تولید پروتئین هیدرولیز شده از امعاء و احشاء فیل ماهی به منظور به دست آوردن درجه هیدرولیزاسیون بهینه انجام شد.

مواد و روش‌ها

امعاء و احشاء فیل ماهی (*Huso huso*) از اداره کل شیلات مازندران تهیه شد و تا شروع آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. آنزیم مورد استفاده در این تحقیق Alcalase 2.4 L بود. این آنزیم یک آنزیم آلكالینی (با فعالیت آنزیمی Anson ۲/۴ Unite/g) می‌باشد که از باکتری *Bacillus licheniformis* استخراج شده است. این آنزیم از نمایندگی شرکت Novozymes در تهران، ایران، تهیه شد و تا شروع آزمایش در دمای یخچال (۴°C) نگهداری گردید.

در ابتدا، امعاء و احشاء فیل ماهی در دمای یخچال (۴°C) به مدت ۲۴ ساعت انجماد زدایی شده و سپس در دستگاه چرخ گوشت، به صورت کاملاً هموژن در آمد. پس از آن به منظور غیر فعال سازی آنزیم‌های درونی امعاء و احشاء، مواد خام اولیه در دمای ۸۵ °C برای مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند (۱۳). سپس امعاء و احشاء پخته شده، با محلول بافر فسفات، به نسبت (w:v) ۱:۲ رقیق شدند و بعد از آنکه نمونه‌ها با استفاده از دستگاه مولینکس، به مدت ۲ دقیقه در دمای محیط، کاملاً هموژن گردیدند، با استفاده از محلول سود ۰/۲ نرمال، pH مخلوط به ۸/۵ که

خاص می‌شوند، به صورت گسترده در صنایع غذایی کاربرد دارد (۱۱). آنزیم‌های مورد استفاده به منظور هیدرولیز آنزیمی، می‌تواند دارای منشاء گیاهی باشند مانند آنزیم پاپاین (۸، ۱۵)، و یا مثل پپسین، کموترپسین و تریپسین با منشاء جانوری باشد (۱۷). آنزیم‌های با منشاء میکروبی نیز به صورت گسترده کاربرد وسیع دارند. در مقایسه با آنزیم‌های با منشاء گیاهی و جانوری، آنزیم‌های میکروبی دارای مزایای بیشتری هستند که از آن جمله می‌توان به تنوع خواص پروتئولتیکی و پایداری بیشتر در pH و دماهای مختلف اشاره نمود (۴). به طور کلی آنزیم Alcalase® 2.4 L به دلیل عملکرد در pH قلیایی، تولید پروتئین هیدرولیز شده با درجه هیدرولیزاسیون بالاتر و طول زنجیره پپتیدی کوتاهتر، بیشترین توجه را به خود اختصاص داده است (۲، ۹، ۱۳). هیدرولیز پروتئین‌ها می‌تواند باعث بهبود جذب رودوی پپتیدها گردد (۹) و می‌تواند به صورت پپتون، به عنوان منبع ازت در محیط‌های کشت باکتری مورد استفاده قرار گیرد (۶). تحقیقات انجام شده در زمینه تولید پروتئین‌های 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 پروتئین‌ها در مواد غذایی برای انسان (۱۳) می‌باشند.

فیل ماهی یکی از گونه‌های با ارزش تاسماهیان می‌باشد که به منظور تکثیر مصنوعی، تولید گوشت و خاویار، در سواحل جنوبی دریای خزر صید و پرورش داده می‌شود. ضایعات حاصل از عمل آوری تاسماهیان، به استثنای کیسه شنا و ستون مهره‌ها، دور ریخته می‌شود. امعاء و احشاء فیل ماهی، سرشار از پروتئین و اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشد.

قرار گرفت. آزمایش مورد نظر شامل هشت نقطه فاکتوریل، شش نقطه محوری و چهار نقطه مرکزی می‌باشد. درجه هیدرولیزاسیون به عنوان سطح پاسخ به متغیرها، در نظر گرفته شد. پاسخ سیستم آزمایشی، بر اساس معادله زیر انجام گرفت:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j$$

y عبارت است از متغیر وابسته (درجه هیدرولیزاسیون محاسبه شده)، β_0 یک عدد ثابت، β_i و β_{ii} عبارتند از ضرایب محاسبه شده بر اساس مدل آزمایشی و اینکه X_i و X_j سطوح متغیرهای مستقل می‌باشند که به صورت خطی، مربع و ارتباط متقاطع، اثر سه فاکتورهای X_1 ، X_2 و X_3 را روی متغیر وابسته (درجه هیدرولیزاسیون) ارایه می‌دهند. این مدل، اثر هر متغیر مستقل را روی پاسخ، نشان می‌دهد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، با استفاده از نرم افزار آماری (SAS Institute, Cary, NC, USA) انجام گردید (۱۲) و رسم نمودارهای بهینه سازی، با استفاده از نرم افزار MATLAB (Release 13.0) انجام گرفت.

درجه هیدرولیزاسیون بر اساس روش Hoyle و Merritt (۸) که توسط Ovissipour و همکاران (۱۳) به منظور تعیین درجه هیدرولیزاسیون پروتئین‌های تاسماهی ایرانی، استفاده شد، محاسبه گردید. مطابق این روش، بعد از انجام هر آزمایش، محلول ۲۰٪ اسید تری کلرو استیک (TCA) به حجم برابری از محلول حاوی پروتئین هیدرولیز اضافه گردید تا محلول ۱۰٪ اسید تری کلرو استیک (TCA) به دست آید. سپس ترکیب فوق تحت سانتریفوژ قرار گرفت و ماده رویی برداشته شد. درجه هیدرولیزاسیون بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید.

فعالیت بهینه آنزیم آلکالاز است، رسانیده شد. تمام واکنش‌های هیدرولیز آنزیمی، در ارلن‌های ۲۵۰ میلی لیتری که حاوی ۵۰ گرم نمونه امعاء و احشاء بود، در دستگاه انکوباتور متحرک (Ivymen System, Comecta, Spain)، با دور ثابت ۲۰۰ دور در دقیقه انجام گردیدند. در پایان هر آزمایش، به منظور قطع واکنش آنزیمی، نمونه‌ها برای مدت ۱۵ دقیقه در دمای 95°C قرار داده شدند (۱۳). سپس پروتئین هیدرولیز شده، روی یخ خشک و با استفاده از سانتریفوژ مدل Hermle Labrotechnik GmbH z206a (کشور آلمان) به مدت ۲۰ دقیقه در دمای 10°C در 8000g ، سانتریفوژ شد و مایع رویی برای بررسی‌های بعدی جمع آوری شد.

به منظور تعیین رطوبت، تقریباً ۲ گرم از نمونه روی ظرف آلومینیومی از قبل وزن شده قرار داده شد. سپس نمونه‌ها در آون در دمای 105°C برای مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند تا اینکه وزن ظروف، ثابت گردید (۱). برای تعیین میزان پروتئین کل در مواد خام اولیه، از روش کج‌لدال استفاده شد (۱)، و میزان خاکستر نیز با قرار دادن نمونه خام در کوره در دمای 600°C تعیین گردید (۱). برای تعیین میزان چربی نیز از دستگاه سوکسله استفاده شد (۱).

برای تعیین میزان پروتئین محلول در مواد هیدرولیز شده، از روش بیورت (۱۰) استفاده و به همین منظور برای رسم نمودار استاندارد، پروتئین استاندارد سرم گاو مصرف و میزان جذب دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway, 6305, UV/vis) روی 540nm نانومتر تنظیم گردید.

بهینه سازی شرایط تولید پروتئین هیدرولیز شده، با استفاده از روش پاسخ سطحی (Response Surface Method) با به کارگیری طرح فاکتوریل، انجام گردید. سه متغیر مستقل دما (X_1)، زمان (X_2) و نسبت آنزیمی (X_3) در سه سطح (+۱، ۰، -۱) مورد آزمایش

و میزان معنی دار بودن تیمارها در سطح اعتماد ۰/۰۵٪
سنجیده شد.

نتایج

ترکیب شیمیایی ماده خام اولیه و پروتئین هیدرولیز شده در جدول ۱ ارائه شده است. همانطوری که مشخص است، میزان پروتئین و چربی در امعاء و احشاء فیل ماهی، به ترتیب ۱۳/۶۷ و ۱۴/۳۴ درصد می باشد.

$$\%DH = \frac{\text{میزان نیتروژن در } TCA\ 10\%}{\text{کل نیتروژن در نمونه}} \times 100$$

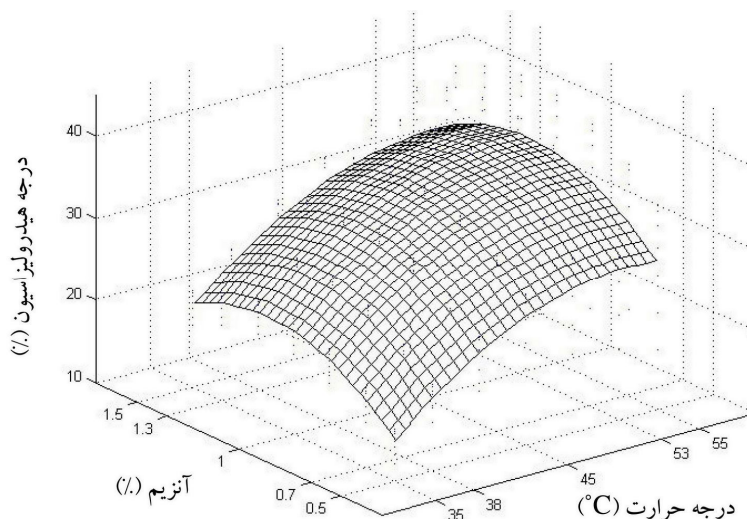
آزمایشات بهینه سازی با استفاده از روش پاسخ سطحی (Response Surface Method; RSM) و طرح فاکتوریل انجام گرفته و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از نرم افزار آماری (Cary Inc., NC, USA) SAS استفاده گردید. به منظور رسم نمودارهای مربوط به بهینه‌سازی، از نرم افزار MATLAB استفاده

جدول ۱- ترکیب شیمیایی مواد خام و پروتئین هیدرولیز شده امعاء و احشاء فیل ماهی

پروتئین (%)	چربی (%)	رطوبت (%)	خاکستر (%)	
۱۳/۶۷ ± ۱/۴	۱۴/۳۴ ± ۰/۴۳	۶۳/۵۱ ± ۳/۷	۶/۴۵ ± ۳/۲۱	امعاء و احشاء
۶۶/۴۳ ± ۳/۶۲	۱/۳۴ ± ۰/۲۳	۷/۴۸ ± ۲/۷	۲۵/۳۱ ± ۲/۸۶	پروتئین هیدرولیز شده

درجه هیدرولیزاسیون کاهش را نشان می‌دهد. با افزایش میزان درجه حرارت نیز، بر شدت هیدرولیزاسیون افزوده می‌گردد. ولی بعد از دمای ۴۵ درجه سانتی گراد، نرخ رشد هیدرولیز کاهش یافته و تقریباً ثابت می‌شود.

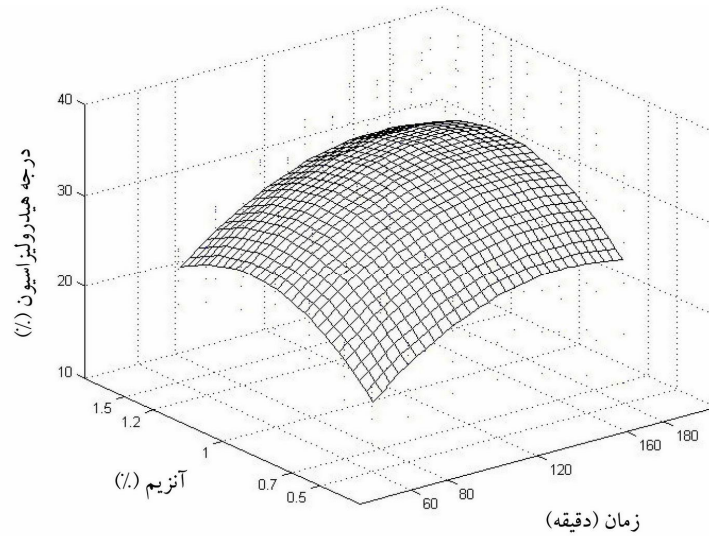
اثر متقابل میزان آنزیم و دمای هیدرولیزاسیون بر درجه هیدرولیزاسیون، در شکل ۱ ارائه شده است. همانطوری که مشخص است، با افزایش میزان آنزیم، درجه هیدرولیزاسیون در حال افزایش می‌باشد. اما با افزایش میزان آنزیم از ۱/۳ درصد، اثر آنزیم روی



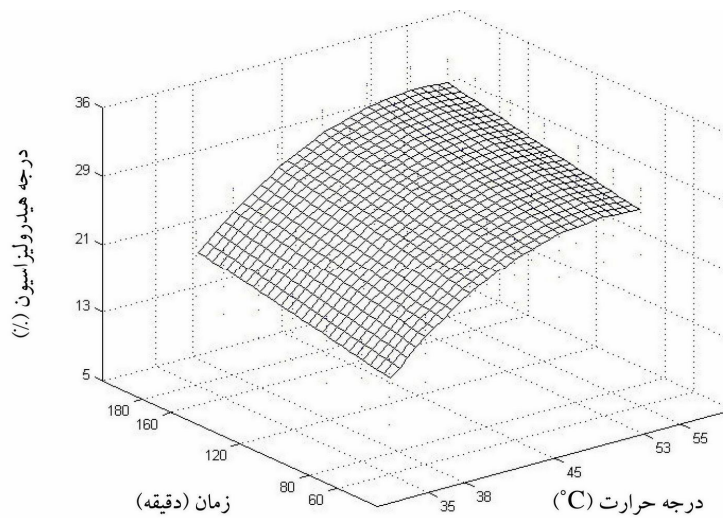
شکل ۱- اثر متقابل میزان آنزیم و دمای هیدرولیزاسیون بر درجه هیدرولیزاسیون

افزایش مدت زمان هیدرولیزاسیون، از شدت هیدرولیز کاسته شده و تقریباً ثابت می‌گردد.

اثر متقابل زمان هیدرولیزاسیون و میزان آنزیم در شکل ۲ ارائه شده است. بر اساس این نمودار، با



شکل ۲- اثر متقابل زمان هیدرولیزاسیون و میزان آنزیم بر درجه هیدرولیزاسیون



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

نمودند (۳، ۹، ۱۲، ۱۳، ۱۵، ۱۶). میزان چربی در پروتئین هیدرولیز شده امعاء و احشاء فیل ماهی، ۱/۳۴ درصد بود (جدول ۱) که با نتایج سایر محققین برابری می‌کرد (۹، ۱۳، ۱۵). 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 می‌یابد (۹، ۱۳). کاهش میزان چربی در پروتئین هیدرولیز شده، می‌تواند این فرآورده را از اکسید شدن و فساد چربی، مصون نگه دارد (۹، ۱۳، ۱۵).

اثر متقابل دما و زمان هیدرولیزاسیون در شکل ۳ ارائه شده است. همانطوری که در تصویر مشخص می‌باشد، با افزایش دما از ۳۵ به ۴۵ درجه سانتی‌گراد، شدت هیدرولیزاسیون افزایش می‌یابد.

بحث

بر اساس جدول ۱، میزان پروتئین در پروتئین هیدرولیز شده ۶۶/۴۳ درصد بود که مشابه نتایج سایر محققین می‌باشد که میزان مناسب پروتئین در پروتئین هیدرولیز شده آبزیان را بین ۶۳ الی ۹۰ درصد گزارش

هیدرولیز را حداکثر تا ۳۰ درصد افزایش داد که در شرایط ۴۵-۵۵ درجه سانتیگراد و طی مدت ۱۲۰-۱۶۰ دقیقه حاصل می‌شود. Bhaskar و همکاران (۳) بهترین زمان برای دستیابی به حداکثر هیدرولیزاسیون را ۱۳۵ دقیقه اعلام نمودند. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات محققینی مانند Kristinsson و Rasco (۹)، Bhaskar و همکاران (۳) و Ovissipour و همکاران (۱۳) مطابقت دارد. بعنوان 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 ۵۰ درجه سانتی گراد، زمان ۱۲۰ دقیقه و میزان آنزیم ۱ درصد بودند.

تقدیر و تشکر

این پژوهش در قالب طرح پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن انجام گرفته است. از همکاری و مساعدت‌های آقایان دکتر جواد خلعتبری، دکتر خلیل پورشمسیان و خانم وکیلی تقدیر می‌گردد.

با توجه به اینکه بالاترین درجه هیدرولیزاسیون (۳۰ درصد) در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد و میزان آنزیم ۱/۵ درصد مشاهده می‌شود (شکل ۱)، این دما، بهترین دمای هیدرولیزاسیون می‌باشد. Diniz و Martin (۴) طی تحقیقی روی بهینه سازی شرایط هیدرولیز پروتئین‌های عضلات کوسه، دمای ۵۳ درجه سانتی گراد را بهترین دما برای هیدرولیزاسیون اعلام کردند. Bhaskar و همکاران (۳) اعلام نمودند که دمای بهینه برای هیدرولیز آنزیمی پرتئین‌های امعاء و احشاء کپور هندی (*Catla catla*)، ۵۰ درجه سانتی گراد می‌باشد.

بر اساس شکل ۲، بعد از حدود ۱۲۰ دقیقه، شدت هیدرولیز کاهش می‌یابد. علت این کاهش را میتوان در کاهش شدت فعالیت آنزیمی، کاهش میزان باندهای پپتیدی در دسترس برای هیدرولیز و شکل گیری فرآورده‌های ممانعت کننده از فعالیت آنزیم در درجات بالای هیدرولیزاسیون دانست (۷، ۱۳).

با افزایش دما بیش از ۴۵ درجه سانتی گراد (شکل ۳)، شدت هیدرولیزاسیون کاهش یافته که به نظر می‌رسد با کنترل زمان و دمای هیدرولیز می‌توان درجه

منابع

1. AOAC, 2000. Official methods of analysis (17th ed.). Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.
2. Aspino, S.I., Horn, S.J., Eijsink, V.G.H., 2005. Enzymatic hydrolysis of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera. *Process Biochemistry*, 40: 1957-1966.
3. Bhaskar, N., Benila, T., Radha, C., 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: 335-343.
4. Diniz, F.M., Martin, A.M., 1997. Optimisation of nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) protein: composition of the hydrolysates. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 48: 191-200.
5. FAO, 2006. Year book of fishery statistics (Vol. 98/1&2). Rome: Food and Agricultural Organisation of the United Nations.
6. Gildberg, A., Batista, I., Strom, E., 1989. Preparation and characterization of peptones obtained by a two-step enzymatic hydrolysis of whole fish. *Biotechnology Applied Biochemistry*, 11: 413-423.
7. Guerard, F., Dufossé, L., De La Borise, D., Binet, A., 2002. Enzymatic hydrolysis of proteins from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) wastes using alcalase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 11: 1051-1059.

8. Hoyle, N.T., Merritt, J.H., 1994. Quality of fish protein hydrolysate from Herring (*Clupea harengus*). Journal of Food Science, 59: 76–79.
9. Kristinsson, H.G., Rasco, B.A., 2000. Fish protein hydrolysates: Production, biochemical and functional properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 40: 43–81.
10. Layne, E., 1957. Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. Methods in enzymology (Vol. 3, pp. 450). New York: Academic press, Ind.
11. Mullally, M.M., O'Callaghan, D.M., FitzGerald, R.J., Donnelly, W.J., Dalton, J.P., 1994. Proteolytic and peptidolytic activities in commercial pancreatin protease preparations and their relationship to some whey protein hydrolysate characteristics. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42: 2973-2979.
12. Nilsang, S., Lertsiri, S., Suphantharika, M., Assavanig, A., 2005. Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. Journal of Food Engineering, 70: 571–578.
13. Ovissipour, M., Abedian, A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R., Shahiri, H., 2009. The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. Journal of Food Chemistry, 115: 238-242.
14. Raa, J., Gildberg, A., Strom, T., 1983. Silage production—theory and practice. In: D. Ledward, A. Taylor, & R. Lawrie (eds.), Upgrading waste for feeds and food (pp. 117–132). London: Butterworths.
15. Shahidi, F., Han, X. Q., Syniowiecki, J., 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). Food Chemistry, 53: 285–293.
16. Souissi, N., Bougatef, A., Triki-Ellouz, Y., Nasri, M., 2007. Biochemical and functional properties of Sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. Food Technology and Biotechnology, 45: 187-194.
17. Viera, G.H.F., Martin, A.M., Saker-Sampaiao, S., Omar, S., Goncalves, R.C.F., 1995. Studies on the enzymatic hydrolysis of Brazilian lobster (*Panulirus* spp.) processing wastes. Journal of Science and Food Agriculture, 69: 61-70.

**Production of hydrolyzed protein from viscera of beluga *Huso hosu*
by Alcalase enzyme**

M. Taghiof^{1*}, M.R. Ghomi², M.R. Ovissipor³

¹ Department of Chemical Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran,

² Department of Fisheries Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

³ Faculty of Fisheries Sciences, Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources University,
Gorgan, Iran

Abstract

Response Surface Method (RSM) was employed for optimizing the temperature, enzyme quantity, and time in order to production of hydrolyzed protein form viscera of beluga *Huso hosu*. Thus, the effects of three independent variables including temperature, time and enzyme quantity were investigated on hydrolization rate as a surface respond. On the basis of three dimensions graphs, the optimum condition for temperature, time and enzyme quantity consisted of 50 °C, 120 min and 1%, respectively. The hydrolyzed protein contained 66% protein and 1.34% lipid by using Alcalase 2.4 L enzyme. The results of this study revealed that the proportion of lipid content has been dramatically decreased in hydrolyzed protein rather than initial row materials.

Keywords: Alcalase enzyme; *Huso hosu*; hydrolyzed protein; Response Surface Method