بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد ششم، شماره اول، بهار ۱۳۹۶
http://japu.gau.ac.ir

مروری بر ترکیبات زیست‌فعال مشتق‌شده از باقی‌مانده‌های مواد خام فرآوری ماهی

زهرا نحوی[۱]، *سید فخرالدین حسینی[۲] و مژگان زندی[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه تربیت مدرس نور،
[۲]استادیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه تربیت مدرس نور،
[۳]دانشیار گروه پلیمرهای زیستی، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۲۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۱۰

چکیده

موجودات دریایی به‌عنوان یک منبع با ارزش از مواد غذایی و ترکیبات کارکردی شناخته می‌شوند. از طرفی سالانه مقادیر زیادی از مواد زائد کم ارزش، در کارخانجات فرآوری غذاهای دریایی تولید می‌شوند. در نتیجه، محققان تعدادی از ترکیبات زیست‌فعال از جمله پپتیدهای زیست‌فعال، کلاژن و ژلاتین، الیگوساکاریدها، اسیدهای چرب، آنزیم‌ها، کلسیم، مواد محلول در آب، و پلیمرهای زیستی را از مواد دور ریختنی و باقی مانده‌های مواد خام شناسایی کردند. پپتیدهای زیست‌فعال مشتق شده از ضایعات ماهی می‌تواند به‌عنوان ضدفشارخون، ضداکسیدان، ضدانعقادخون، و ترکیبات ضدمیکروبی در غذاهای کارکردی یا مواد غذایی و دارویی با توجه به پتانسیل درمانی آن‌ها در درمان یا پیشگیری از بیماری‌ها استفاده شوند. در این راستا، در حال حاضرکلاژن و ژلاتین در زمینه‌های مختلف از جمله صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی و زیست‌پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین کیتین، کیتوزان و مشتقات‌شان دارای پلی‌ساکاریدهای زیست‌فعال می‌باشند. از این‌رو، ضایعات غذاهای دریایی، منابع طبیعی ارزشمندی هستند که محدوده وسیعی از ویژگی‌های کارکردی را نشان می‌دهند و از این رو مواد بالقوه‌ای برای صنایع پزشکی، زیستی و غذا- دارو می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: آبزیان، باقی‌مانده‌های مواد خام، ترکیبات زیست‌فعال، غذادارو، محصولات با ارزش افزوده

*مسئول مکاتبه: hosseinisf@modares.ac.ir

مقدمه

محیط زیست دریایی دارای تنوع زیستی فوق‌العاده می‌باشد و منبع فراوانی از ترکیبات زیست فعال با پتانسیل زیاد در زمینه غذا و غذادارو (Nutraceutical) است؛ اقیانوس‌ها ۷۰ درصد از سطح زمین را پوشش می‌دهند و حدود ۷۰ درصد از موجودات در آن زندگی می‌کنند. به‌طور عمده، صید ماهی برای مصارف انسانی و کاربردهای جنبی آن مانند تولید غذا و طعمه می باشد؛ ۷۸ درصد از کل صید ماهی در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته به‌عنوان غذای انسانی به حساب می آید که حدود ۲۱٪ به‌عنوان ضایعات صنایع فرآوری مواد غذایی دور ریخته می‌شود (وانوسینی، ۲۰۰٤). فرآوری منجر به تولید مقادیر زیادی زیست توده از ضایعات ماهی (به عنوان مثال پوست، استخوان، تخم و باله) می‌گردد که هر ساله دور ریخته می‌شود (۷/۳ میلیون تن/ سال) (جایاتهیلاکان و همکاران، ۲۰۱۲). مطالعات اخیر تعدادی از ترکیبات زیست‌فعال از باقی مانده‌های پروتئین‌های عضله ماهی، کلاژن و ژلاتین، روغن ماهی، استخوان ماهی، ارگان‌های داخلی بدن و پوسته صدف و سخت‌پوستان را شناسایی کردند (منون و همکاران، ۲۰۱۵). به‌طور کلی، سودآوری از طریق تولید مواد مصرفی انسان به مراتب بهتر به‌دست آمده است و بالاترین سوددهی در حال حاضر از ترکیبات زیست‌فعال انتظار می‌رود. این ترکیبات زیست فعال را می‌توان استخراج و خالص‌سازی کرد، این ترکیبات شامل جداسازی پپتیدهای زیست‌فعال، الیگوساکاریدها، اسیدهای چرب، آنزیم‌ها، مواد معدنی محلول در آب و پلیمرهای زیستی برای کاربردهای بیوتکنولوژیکی و داروسازی می‌باشد (کیم و مندیز، ۲۰۰٦). در این بین، پپتیدهای زیست‌فعال، ترکیبات به‌دست آمده از مواد غذایی هستند که علاوه‌بر ارزش کارکردی‌شان، اثرات فیزیولوژیکی مفیدی را در بدن اعمال می‌کنند (لی، ۲۰۱٤). این پپتیدهای کوچک معمولاً ۲ تا ۲۰ دنباله اسید آمینه و وزن مولکولی کمتر از ٦۰۰۰ دالتون دارند (سان و همکاران، ۲۰۰٤). پپتیدهای زیست‌فعال استخراج شده از ماهی ممکن است فعالیت‌های زیستی متنوع از جمله بازدارندگی آنزیم مبدل آنژیوتنسین I[1] (ACE) (رقاون و کریستینسون، ۲۰۰۹)، تنظیم سیستم ایمنی (شهیدی و همکاران، ۱۹۹۵)، اثرات ضدانعقادی (جو و همکاران، ۲۰۰۸)، اثرات ضداکسیدانی (تیانسیلاکول و همکاران، ۲۰۰۷) و اثرات ضدمیکروبی (سالامپس و همکاران، ۲۰۱۰) را نشان دهند (جدول ۱). پپتیدهای ضدمیکروبی[2] فعالیت ضدمیکروبی بالا و سمیت انتخابی در برابر میکروارگانیسم‌ها با پتانسیل پایین به جهت ایجاد مقاومت به آنتی‌بیوتیک نشان می‌دهند، که مشکل بزرگ ضدمیکروب‌های سنتی است (هنکوک و اسکات، ۲۰۰۰). همچنین نسبت به ضدمیکروب‌های دیگر همانند روغن‌های اساسی[3] و ترکیبات فنولیک، تأثیرات منفی کمتری بر روی خواص حسی سیستم‌های غذایی ارائه می‌دهند (گولد، ۱۹۹٦).

علاوه‌بر این برخی از این ترکیبات زیست‌فعال به‌دلیل داشتن امکانات بالقوه غذا- دارویی که در ارتقاء سلامت انسان مفید می‌باشند، شناسایی شده‌اند (مادریگال-کاربالو و همکاران، ۲۰۱۰). بنابراین، توسعه فناوری‌های جدید در جستجوی ترکیبات زیست‌فعال جدید از ضایعات غذاهای دریایی ارزشی بیشتر از آن چیزی که امروزه در نظر گرفته می‌شود به ارمغان خواهد آورد و نشان دهنده چالش‌های منحصر بفرد و فرصت‌هایی برای صنعت غذاهای دریایی می‌باشد.

1- Angiotensin Converting Enzyme
2- Antimicrobial peptides (AMPs)
3- Essential oils

جدول ١- ترکیبات زیست فعال استخراج شده از آبزیان و فعالیت زیستی آن‌ها.

منابع آبزیان	ترکیب زیست‌فعال استخراج شده	فعالیت زیستی	منابع
یال‌اسبی‌ماهی سیاه (*Aphanopus carbo*)	پروتئین هیدرولیز شده	ضداکسیدانی	باتیستا و همکاران (٢٠٠٩)
ماهیچه ماهی شوریده (*Otolithes ruber*)	پپتید	ضداکسیدانی	نزیر و همکاران (٢٠١٢)
سفره ماهی (*Paralichthys olivaceus*)	پپتید	ضداکسیدانی	کو و همکاران (٢٠١٣)
تک شاخ ماهی پوست چرمی (*Aluterus monoceros*)	ژلاتین هیدرولیز شده	ضداکسیدانی	سای- اوت و همکاران (٢٠١٤)
ماهی خاویاری آمور (*Acipenser schrenckii*)	پپتید	ضداکسیدانی	نیکو و همکاران (٢٠١٤)
ماهی اسکات (*Raja* Kenojei)	پپتید	بازدارنده ACE	لی و همکاران (٢٠١١)
ماهی تون چشم درشت (*Thunnus obesus*)	پپتید	بازدارنده ACE	لی و همکاران (٢٠١٠)
ماهی سیم دریایی (*Abramis brama*)	پپتید	بازدارنده ACE	فهمی و همکاران (٢٠٠٤)
ماهی مرکب (*Dosidicus gigas*)	پپتید	ضد میکروبی	موسکوئرا و همکاران (٢٠١٤)
ماهی غاربزرگ زرد (*Larimichthys crocea*)	پپتید ضد میکروبی NK-lysin	ضدمیکروبی	ژو و همکاران (٢٠١٦)

پروتئین‌ها و پپتیدها از ضایعات مختلف ماهی و فعالیت زیستی‌شان

پروتئین عضله ماهی: استخوان‌ها و ضایعات دورریختنی ماهی ممکن است شامل مقدار قابل توجهی از پروتئین عضله باشد. پروتئین‌های عضله دارای ارزش تغذیه‌ای و اسید آمینه کامل هستند که قابلیت هضم راحتی دارند. بنابراین، پروتئین‌های ماهی مشتق شده از ضایعات غذاهای دریایی فرآوری شده می‌تواند به روش آنزیمی جهت بازیابی پروتئین، هیدرولیز شوند (جیانگ وهمکاران، ٢٠١٤). همان‌طور که در جدول ١ مشاهده می‌شود، هیدرولیز ضایعات غذاهای دریایی از چندین گونه دریایی به‌منظور تعیین خواص تغذیه‌ای و کاربردی‌شان آنالیز شدند؛ عمده تحقیقات به بررسی امکان به‌دست آوردن پپتیدهای زیست‌فعال می‌پردازند، زیرا پپتیدهای موجود در هیدرولیز آنزیمی، خواص فیزیکوشیمیایی و فعالیت‌های زیستی مختلف را به نمایش می‌گذارند. بنابراین، به منظور دستیابی به پپتیدهای زیست‌فعال، هیدرولیز آنزیمی یک روش متداول می‌باشد (ویجسکارا و همکاران، ٢٠١١). در این رابطه، چندین آنزیم هیدرولیتیک از میکروب‌ها، گیاهان و حیوانات برای هیدرولیز ضایعات فرآورده‌های دریایی بکار گرفته شده است (سیمپسون و همکاران، ١٩٩٨). علاوه‌بر این، این یک واقعیت شناخته شده است که وزن مولکولی قطعات پپتید برای فعالیت‌های زیستی‌شان بسیار مهم هستند. بنابراین می‌توان از سیستم غشایی اولترافیلتراسیون به‌منظور جداسازی پپتیدهای دارای وزن مولکولی موردنظر استفاده نمود (جئون و کیم، ٢٠٠٠).

فعالیت‌های زیستی پروتئین هیدرولیز شده و پپتیدهای ماهی: پروتئین هیدرولیز شده و پپتیدهای حاصل از باقی‌مانده‌های ماده خام گونه‌های متعدد ماهی، خواص کارکردی بی‌نظیری را از خود نشان داده‌اند. به همین علت در سال‌های اخیر توجه زیادی به استخراج ترکیبات زیست‌فعال از ضایعات آبزیان به دلیل پتانسیل‌های بی‌نظیرش به‌وجود آمده است. اخیرا مطالعات متعددی در زمینه استخراج این ترکیبات و بررسی خواص کارکردی‌شان انجام شده است که برخی از آن‌ها عبارتند از: در مطالعه‌ای توسط دانگ و همکاران (٢٠٠٨)، پروتئین مینس ماهی کپور نقره‌ای

(*Hypophthalmichthys molitrix*) با آنزیم‌های آلکالاز و فلاورزایم هیدرولیز شده و خواص بیوشیمیایی و ضداکسیدانی آن بررسی شد. پروتئین هیدرولیز شده توانایی قابل توجهی را در مهار رادیکال هیدروکسیل و پراکسیداسیون اسید لینولئیک از خود نشان داد. نتایج نشان داد که فعالیت ضداکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده ماهی کپور نقره‌ای وابسته به درجه هیرولیز، زمان هیدرولیز و وزن مولکولی می‌باشد. همچنین، در مطالعه‌ای توسط باتیستا و همکاران (۲۰۰۹)، ویژگی‌های پروتئین هیدرولیز شده و لیپیدهای به‌دست آمده از ضایعات ماهی یال‌اسبی‌ماهی سیاه (*Aphanopus carbo*) و نیز فعالیت ضداکسیدانی هیدرولیز به‌دست آمده مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا، پروتئین‌هیدرولیز شده از ضایعات ماهی موردنظر آماده و به‌عنوان جایگزینی برای مواد خام در نظر گرفته شد؛ هم‌چنین پروتئین‌هیدرولیز شده، فعالیت ضداکسیدانی قوی در برابر مدل‌های مختلف نشان داد.

در همین رابطه، زمانی و همکاران (۲۰۱٦)، فعالیت ضدکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده عضله ماهی کیلکا معمولی (*Clupeonella cultriventris caspia*) تهیه شده با تریپسین تخلیص شده از روده ماهی کیلکا را مورد بررسی قرار دادند. طبق نتایج به دست آمده فعالیت مهار رادیکال DPPH، ABTS، قدرت کاهندگی آهن و فعالیت شلاته‌کنندگی آهن Π پروتئین‌هیدرولیز شده با افزایش درجه هیدرولیز تا ٤٠ درصد افزایش یافت. بنابراین، تریپسین روده ماهی کیلکای معمولی می‌تواند در فرآیند تولید پروتئین هیدرولیز شده با خواص ضداکسیدانی مفید واقع شود. همچنین، پپتیدهایی که از هیدرولیز پروتئین ماهیان مختلف جدا شدند فعالیت‌های زیستی مختلفی مانند ضدفشار خون، ضداکسیدانی، ضدانعقادی و تنظیم‌کنندگی دستگاه ایمنی را نشان دادند. در همین ارتباط، پپتیدهای ماهیچه ماهی که به‌روش آنزیمی تهیه شدند، خواص ضدانعقادی و ضدپلاکتی در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند، همچنین، پپتیدهای مشتق شده از پروتئین ماهی، توانایی اعمال فعالیت-های ضداکسیدانی قوی را در سیستم‌های اکسیداتیو مختلف نشان دادند (راجاپاکس و همکاران، ۲۰۰۵).

در حال حاضر توجه فراوانی برای کشف مواد ضداکسیدانی طبیعی بدون عوارض جانبی وجود دارد و این فعالیت‌های ضداکسیدانی شناخته شده پتانسیلی برای توسعه ضداکسیدان‌های طبیعی ایمن و غیرخطرناک برای عوارض ناشی از اکسیداسیون مولکول‌های زیستی دارند (راموس و همکاران، ۲۰۱٤). در همین رابطه، کو و همکاران (۲۰۱۳)، تخلیص و جداسازی دو پپتید ضداکسیدانی جدید از سفره ماهی (*Paralichthys olivaceus*) را با استفاده از پروتئازهای گوارشی مورد بررسی قرار داد. آن‌ها پروتئین هیدرولیز شده را با استفاده از ۸ پروتئاز تجاری همانند پاپایین، پپسین، تریپسین، نئوتراز، آلکالاز، پروتامکس، Kojizyme و α- کیموتریپسین تهیه کردند. طبق نتایج، پروتئین هیدرولیز شده با α- کیموتریپسین بالاترین فعالیت ضداکسیدانی را از میان ۸ آنزیم مورد استفاده به نمایش گذاشت. سپس پپتیدهای هیدرولایز α- کیموتریپسین به‌وسیله اولترافیلتراسیون، ژل فیلتراسیون و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با فاز معکوس جداسازی شدند. در نهایت دو پپتید جدید با فعالیت ضداکسیدانی بالا تخلیص و توالی آمینواسیدهای آن تعیین شد. در همین رابطه، موسکوئرا و همکاران (۲۰۱٤)، ماهی مرکب (*Dosidicus gigas*) خشک شده با روش خشک‌کردن انجمادی و خشک‌کردن در هوای آزاد را با ۳ آنزیم پپسین، آلکالاز و اسپراز هیدرولیز کردند. آنزیم پپسین کارایی پایینی را در شکستن پروتئین و

تولید پروتئین هیدرولیز شده دارا بود و خاصیت ضداکسیدانی پایینی را به نمایش گذاشت در حالی که پپتیدهای حاصل از آنزیم‌های آلکالاز و اسپراز فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد ABTS، مهارکنندگی ACE و فعالیت ضدمیکروبی خوبی را از خود به نمایش گذاشتند.

به علاوه‌بر طبق مطالعه لی و همکاران (٢٠١١)، پپتید Gly- Asp- Leu- Gly- Lys- Thr- Thr- Thr- Val- Ser- Asn- Trp- Ser- Pro- Pro- Lys- Try- Lys- Asp- Thr- Pro که از ساختمان پروتئین هیدرولیز شده تون چشم درشت به‌دست آمده، اثر سرکوبگرانه قوی بر روی فشار خون بالا از SHRs نشان داد؛ این فعالیت ضد فشار خون بالا با کاپتوپریل (یک داروی تجاری ضد فشار خون) مشابه بوده است. به‌علاوه، آن‌ها هیچ عوارض جانبی بعد از تجویز این پپتید ضدفشارخون به موش گزارش نکردند. همچنین، این پپتید ضدفشارخون دریایی فعالیت ضدفشارخونی قوی در داخل بدن نسبت به محیط آزمایشگاهی نشان داده بود. مکانیسم بنیادی دقیق این پدیده هنوز مشخص نشده است؛ اگرچه پیشنهاد شده بود که پپتیدهای زیست‌فعال تمایل بافتی بالاتری دارند و به آرامی بیشتر از کاپتوپریل حذف می‌شوند.

همچنین جانگ و همکاران (٢٠٠٥) گزارش کردند که پپتیدهای ماهی به سبب دارا بودن فاکتورهای رشد می‌توانند به جذب کلسیم سرعت بخشند. در بسیاری از شرایط، جذب کلسیم غذا به علت تشکیل ترکیبات نامحلول درون مجاری غذایی غیرقابل دسترس می‌شود و ناکافی بودن کلسیم در رژیم غذایی با بعضی از بیماری‌های متداول و مزمن از جمله پوکی استخوان، آرتروز، بیماری‌های قلبی عروقی (فشار خون بالا و سکته مغزی) دیابت، چاقی و سرطان مرتبط می‌باشد.

فعالیت زیستی پپتیدهای پوست و استخوان پشت ماهی: جزء آلی استخوان ماهی نشان دهنده ٣٠ درصد از کلاژن است، در حالی‌که جزء معدنی آن به‌طور عمده شامل فسفات کلسیم و هیدروکسی آپاتیت می‌باشد و مقدار آن‌ها حدود ٧٠-٦٠ درصد می‌باشد (باراکات و همکاران، ٢٠٠٨). لی و همکاران، (٢٠١١) از پوست skate پپتیدهای بازدارنده ACE را جداسازی کردند. پپتیدهای تخلیص شده به‌ترتیب مقادیر IC50، ٩٥ و ١٤٨ میکرومول را برای هر دو پپتید جدا شده از پوست skate نشان دادند. در مطالعه‌ای، ستون فقرات ماهی تن با استفاده از پروتئازهای مختلف مانند آلکالاز، آلفا کیموتریپسین، نئوتراز، پاپایین، پپسین و تریپسین جهت به‌دست آوردن پپتید ضداکسیدانی هیدرولیز شد (جی و همکاران، ٢٠٠٧). در مطالعه دیگر، یک پپتید ضداکسیدانی از پروتئین استخوان ماهی horki به‌وسیله هضم گوارشی استخراج شد (کیم و همکاران، ٢٠٠٧). آن‌ها همچنین از تعدادی آنزیم برای فرآیند هیدرولیز استفاده کردند و پپتیدهای استخراج شده فعالیت ضداکسیدانی قوی در مدل‌های مختلف نشان داد.

کلاژن و ژلاتین پوست ماهی: ژلاتین که ترکیب اصلی پوست حیوانات، استخوان، و بافت پیوندی است، مخلوط ناهمگنی از پروتئین‌ها با وزن مولکولی بالای محلول در آب است که توسط تغییر ماهیت[1] حرارتی کلاژن استخراج می‌شود و به طور گسترده‌ای در جهت بهبود کشسانی، قوام و پایداری غذاها بکار می‌رود (یو و همکاران، ٢٠١٠). این ترکیب یک پروتئین ژلی است که به‌طور گسترده‌ای در صنایع غذایی و دارویی استفاده می‌شود و مقدار مورد استفاده آن در سراسر جهان در حال افزایش است (چو و

1- Denaturation

همکاران، ۲۰۰۵). در حال حاضر تولید ژلاتین ماهی کم است و در حدود ۱/۵ درصد از کل تولید سالانه ژلاتین جهان را دارا می‌باشد (گومز- گویلن و همکاران، ۲۰۰۹). حدود ٦/٥ درصد از کل ژلاتین تولید شده در دنیا در صنعت داروسازی استفاده می‌شود (جایاتهیلاکان و همکاران، ۲۰۱۲).

طی ساخت ژلاتین، ماده خام حیوانی با اسید یا قلیای رقیق تیمار شده، که منجر به شکستن بخشی از اتصالات عرضی می‌شود که این ساختار به کلاژن محلول در آب گرم شکسته می‌شود و ژلاتین شکل می‌گیرد (اسچریبر و گارایی، ۲۰۰۷). از این‌رو، می‌توان از ضایعات پوست ماهی حاصل از فرآوری به عنوان یک منبع بالقوه برای استخراج کلاژن و ژلاتین استفاده شود. در حال حاضر آن‌ها در زمینه‌های مختلف مانند مواد غذایی، آرایشی و بهداشت و صنایع بیوپزشکی استفاده می‌شوند (انگو و همکاران، ۲۰۱٤). علاوه‌بر پوست ماهی، کلاژن و ژلاتین توانستند از استخوان و باله‌های حاصل از ضایعات فرآوری ماهی جداسازی شوند (واساوا و همکاران، ۲۰۰۷). کلاژن و ژلاتین، پروتئین منحصربه‌فردی در مقایسه با پروتئین‌های عضله ماهی هستند و این منحصربه‌فرد بودن ماهی در محتوای آمینواسیدشان نهفته است به‌طوری‌که سرشار از اسیدهای آمینه غیرقطبی (بالای ۸۰ درصد) مانند گلیسین، آلانین، والین، و پرولین می‌باشند. اگر چه منابع اصلی صنعتی کلاژن و ژلاتین، پوست گاو و خوک می‌باشد، مطالعات زیادی جهت استخراج کلاژن و ژلاتین از پوست ماهی صورت گرفته و کاربردهای صنعتی بالقوه‌شان نیز مورد بررسی قرار گرفته است (سوپاویتیپاتانا و همکاران، ۲۰۰۸). یکی از مزایای عمده این منابع ژلاتین دریایی آن است که آن‌ها با خطر شیوع انسفالوپاتی اسفنجی شکل گاوی همراه نیستند (انگو و همکاران، ۲۰۱٤).

فعالیت زیستی پپتیدهای ژلاتین و کلاژن: ژلاتین پوست ماهی که به‌طور آنزیمی هیدرولیز شده فعالیت زیستی بهتری را نسبت به پپتیدهای مشتق شده از پروتئین ماهیچه ماهی نشان می‌دهد که به‌عنوان عوامل ضداکسیدانی و ضدفشار خون عمل می‌کند (لین و همکاران، ۲۰۱۲). پپتیدهای ژلاتین دارای توالی تکرار شده منحصربه‌فرد گلیسین- پرولین- آلانین در ساختارشان می‌باشند، و تصور شده که خواص ضداکسیدانی و ضد فشار خون پپتیدهای ژلاتین می‌تواند با ترکیبات آمینواسیدی منحصر به‌فردشان در ارتباط باشد. علاوه‌بر این، این پپتیدها جذب سریع کلسیم جیره را در مدل‌های حیوانی نشان دادند که زیست‌فراهمی (Bioavailibility) کلسیم را افزایش می‌دهد (کیم و همکاران ۱۹۹۸). همچنین، خیاری و همکاران (۲۰۱٤)، پپتیدهای استخراج شده از هیدرولیز ژلاتین پوست ماهی ماکرل را مورد بررسی قرار دادند. پپتیدها بعد از ۲٤ ساعت هیدرولیز، بالاترین فعالیت ضداکسیدانی با کاهش DPPH حدود ۸۰ درصد را نشان دادند؛ همچنین فعالیت مهارکنندگی ACE بالاتر از ۷۰ درصد و بازدارندگی تجمع پلاکت‌ها در حدود ۳۰ درصد را در رابطه با فعالیت ضدانعقادی به نمایش گذاشتند. همچنین، نیکو و همکاران (۲۰۱٤)، پپتیدی با توالی –Pro–Ala–Gly Tyr (PAGT) را از ژلاتین پوست ماهی خاویاری آمور (*Acipenser schrenckii*) جدا کرده و خواص ضداکسیدانی و حفاظت سرمایی آن را بر روی مینس ماهی باس دریایی ژاپنی (*Lateolabrax japonicas*) مورد بررسی قرار دادند. این پپتید فعالیت مهار رادیکال DPPH، ABTS و هیدروکسیل را نشان داده و در سطح ۲۵ پی‌پی‌ام از پراکسیداسیون لیپیدی در مینس ماهی جلوگیری کرده اما در سطوح بالاتر بی اثر بود.

کاربردهای پزشکی و غذا- دارو: کلاژن معمولاً در صنایع پزشکی و دارویی به سبب ابقاء طولانی مدت با غلظت‌های مختلف دارو و رهایش کنترل شده در محل‌های هدف به‌عنوان مولکول‌های حامل برای دارو، پروتئین و ژن مورد استفاده قرار می‌گیرد، به خصوص ورقه‌های کلاژن ریز الیاف به‌عنوان حامل‌های امیدبخش داروها برای درمان سرطان استفاده می‌شوند (لی و همکاران، ٢٠٠١). علاوه‌بر این، فیلم/ماتریکس کلاژن به عنوان عامل انتقال ژن جهت بهبود تشکیل استخوان و غضروف استفاده می‌شود (ناکاگاوا و تاگاوا، ٢٠٠٠). همچنین، تحقیقات بالینی نشان می‌دهد که مصرف هیدرولیز کلاژن/ ژلاتین درد را در بیماران مبتلا به آستئوآرتریت کاهش می‌دهد و کلاژن هیدرولیز شده در سنتز ماتریکس غضروف نقش دارد. علاوه‌بر این، در حال حاضر کلاژن/ ژلاتین به‌عنوان مکمل برای نگه‌داری انسجام استخوان‌های طبیعی، درمان ناخن‌های شکننده و تقویت موی سر به بازار عرضه می‌شوند (موسکوویتز، ٢٠٠٠).

کیتین، کیتوزان و مشتقات آن‌ها از پوست سخت پوستان و صدف: بعد از سلولز، کیتین بیشترین پلی‌ساکارید طبیعی در زمین است که در سخت پوستان، نرم‌تنان، دیاتومه‌های دریازی، حشرات مانند پروانه‌ها و کفش دوزک‌ها، دیواره سلولی جلبک‌ها، قارچ‌ها و مخمرها به‌علاوه اسکلت خارجی گونه‌های زئوپلانکتون‌های دریایی، شامل مرجان‌ها و ماهی‌های ژله‌ای یافت می‌شود. ضایعات به‌دست آمده طی عمل‌آوری خرچنگ، میگو و صدف‌ها شامل ٧٥ درصد از وزن کل سخت پوستان است. در حال حاضر مقدار کمی از ضایعات پوسته برای غذای حیوانات یا استخراج کیتین استفاده می‌شود (تاجیک و همکاران، ٢٠٠٨). کیتین یک پلیمر خطی است که می‌تواند به مشتقات دیگر مانند کیتوزان تبدیل شود؛ کیتوزان حاوی گروه‌های استیل کمتر نسبت به کیتین می‌باشد و می‌تواند با تیمارهای شیمیایی و میکروبیولوژیکی تهیه گردد. کیتین، کیتوزان و مشتقات آن‌ها به‌دلیل عدم سمیت، زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری، و انواع فعالیت‌های زیستی بسیار مورد توجه‌اند (حسینی و همکاران، ٢٠١٣).

کیتوزان یک کوپلیمر از 2-Amino-2-deoxy-glucose (glucosamine) و 2-Acetamido-2-deoxy-D-glucose (N-acetyl glucosamine) است که به‌وسیله N- دی‌استیلاسیون کیتین از ضایعات خرچنگ و میگو تهیه می‌شود. این امر در شرایط مختلف دما (٨٠ تا ١٤٠ درجه سانتی‌گراد) و زمان (تا ١٠ ساعت) با استفاده از محلول‌های هیدروکسید سدیم و پتاسیم غلیظ (٣٠ تا ٦٠ درصد w/v) انجام می‌گیرد. غلظت قلیا، زمان و دمای فرآیند به‌علت تأثیرات آن بر درجه دی‌استیله شدن، وزن مولکولی و توزیع آن به‌علاوه توزیع واحدهای دی‌استیله در طول زنجیره پلی‌ساکارید باید دقیقاً کنترل شود (جایاکومار و همکاران، ٢٠١١).

فعالیت زیستی کیتین، کیتوزان و مشتقات آن‌ها: کیتوزان و مشتقاتش به‌عنوان ضداکسیدان‌های بالقوه به‌وسیله مهار کردن رادیکال‌های مختلف از جمله رادیکال اکسیژن گزارش شدند و همچنین گزارش شده فعالیت‌های زیستی‌شان وابسته به وزن مولکولی و درجه داستیله شدن می‌باشد. به تازگی، فعالیت ضداکسیدانی کیتوزان و مشتقاتش توجه بسیاری را جلب کرده است؛ فعالیت ضداکسیدانی کیتوزان و مشتقات مختلف آن توسط بسیاری از محققان گزارش شده است، فعالیت ضداکسیدانی کیتوزان به‌وسیله اتصال آن با ترکیبات مختلف فنلی افزایش یافته است (آیتکین و همکاران، ٢٠١٠).

مهار رادیکال‌های DPPH، هیدروکسیل، سوپراکسید وآلکیل، شلاته شدن فلز و پراکسیداسیون چربی با کیتوزان و مشتقاتشان مورد مطالعه قرار گرفتند که فعالیت‌های قابل توجهی را نشان دادند. کیتوزان و مشتقاتش به‌عنوان عوامل ضدمیکروبی خوب گزارش شده‌اند. گروه‌های مختلف با بدنه اصلی کیتوزان جهت افزایش حلالیت آب و فعالیت‌شان کنژوکه می‌شوند؛ همچنین، اعتقاد براین است که عمل ضدباکتریایی به علت جذب بار مثبت گروه آمونیوم نوع چهارم به بارالکتریکی منفی در سطح غشا سلول‌های باکتریایی و در نهایت اختلال در یکپارچگی غشاء می‌باشد (یانگ و همکاران، ۲۰۱۰).

بسیاری از محققان فعالیت مهارکنندگی ACE کیتوزان و مشتقاتش را مورد بررسی قرار دادند و گزارش دادند که این فعالیت‌ها بستگی به درجه داستیله شدن دارد (پارک و همکاران، ۲۰۰۳). علاوه‌بر این، آن‌ها گزارش دادند که کیتواولیگوساکاریدها (COS) با درجه پایین داستیله شدن فعالیت مهارکنندگی ACE بالاتری نشان دادند. جایگزینی اتم هیدروژن در موقعیت کربن شماره ٦ باقی‌مانده پیرانوز با گروه آمینواتیل به‌طور قابل توجهی فعالیت مهارکنندگی ACE را ارتقاء داده است (انگو و همکاران، ۲۰۱٤). همچنین، چه‌اونگ و لی‌چان (۲۰۱۰)، گزارش کردند که هیدرولایز تولید شده به روش آنزیمی از میگو فعالیت بازدارندگی قوی ACE را به نمایش گذاشته است. همچنین هوآنگ و همکاران (۲۰۰٦)، فعالیت ضدسرطانی مشتقات COS را با استفاده از رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی مانند HeLa، Hep3B و SW480، مورد مطالعه قرار دادند. جفت شدن میتومایسین c با کیتوزان N-سوکسینیل فعالیت‌های ضدسرطانی قابل توجهی به‌دلیل توزیع عمده‌شان به درون بافت تومور و رهایش آهسته با هر دو فرمولاسیون نامحلول در آب و محلول در آب نشان داد.

جداسازی و کاربرد روغن ماهی به‌عنوان عامل ارتقا دهنده سلامت: پژوهش‌ها نشان می‌دهند که مصرف ماهی یا روغن ماهی که حاوی اسیدهای چرب غیراشباع امگا-۳ (PUFAs) می‌باشد، سبب کاهش خطر ابتلا به بیماری عروق کرونر قلب، کاهش فشار خون، ممانعت از تپش قلب نامنظم و مرگ ناگهانی، کاهش بروز دیابت، و کاهش آرتروز رماتیسمی می‌شوند (خورا، ۲۰۱۳). بنابراین، مقدار زیادی از مواد زائد تولید شده از فرآوری به‌ویژه از ضایعات ماهیان چرب فرآوری شده، منبع بالقوه‌ای برای تولید روغن ماهی با کیفیت خوب برای مصارف انسانی خواهد بود. به‌طور عمده، روغن ماهی از دو نوع اسید چرب، ایکوزاپنتانوییک اسید (EPA) و دکوزاپنتانوییک اسید (DHA) تشکیل شده است؛ این‌ها PUFAs هستند که به‌عنوان اسیدهای چرب امگا-۳ طبقه‌بندی می‌شوند و در بسیاری از حیوانات دریایی از جمله گونه‌های ماهیان آب سرد با محتوی چربی اشباع نشده بالا یافت می‌شوند (خورا، ۲۰۱۳). البته، امگا-۳ به راحتی نمی‌تواند درون اکثر غذاهای کارکردی به سبب حلالیت ضعیف در آب، بی‌ثباتی شیمیایی و زیست‌فراهمی پایین استفاده شود (آیوگوستین و سانگوآنسری، ۲۰۱۵). بنابراین، نیاز مبرم به توسعه سیستم‌های تحویل مؤثر به‌منظور غلبه بر این چالش‌ها وجود دارد، به طوری‌که چربی‌های فعال زیستی را می‌توان درون طیف وسیعی از غذاهای کارکردی گنجانید (مومند و لیم، ۲۰۱۵).

برای این منظور، می‌توان با استفاده از روش‌های مختلف کپسوله‌کردن (Encapsulation) از جمله خشک‌کردن پاششی[1]، سردکردن پاششی[2]، اکستروژن، نانوامولسیون، انباشته‌سازی[3]، الکتروریسندگی[4] و غیره استفاده نمود (فانگ و بهانداری، ۲۰۱۰). در این

1- Spray drying
2- Spray cooling
3- Coacervation
4- Electrospinning

راستا، کومایکو و همکاران (٢٠١٦)، انکپسوله‌کردن اسیدهای چرب امگا-٣ با استفاده از سیستم نانوامولسیون و یک امولسیفایر طبیعی (فسفولیپیدهای گل آفتابگردن) را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها گزارش کردند که فسفولیپیدهای آفتابگردان یک امولسیفایر طبیعی مناسب برای تحویل اسیدهای چرب امگا-٣ به درون محصولات غذایی و آشامیدنی می‌باشد. از طرفی کارایی و ظرفیت کپسوله کردن هر کدام از این روش‌ها با یکدیگر متفاوت می‌باشد؛ برای مثال، مومند و لیم (٢٠١٥)، توانایی اکسیداتیو روغن ماهی درون الیاف زئین را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها گزارش کردند که کارایی کپسوله کردن الیاف حاوی ١٥ درصد روغن ماهی (٩٦ درصد) از الیاف حاوی ٣٠ درصد روغن ماهی (٩١ درصد) بیشتر بود. روش‌ها و شرایط استخراج روغن ماهی برای کیفیت روغن ماهی حیاتی می‌باشد (خورا، ٢٠١٣). روش استخراج سنتی شامل حرارت دادن یا زدودن بخار مواد اولیه به‌منظور انتشار چربی می‌باشد؛ در حال حاضر چندین روش مانند سانتریفیوژ با سرعت بالا، استخراج با حلال در دمای پایین و استخراج با سیال فوق بحرانی مورد استفاده برای استخراج روغن ماهی می‌باشند (هیراتا و همکاران، ١٩٩٣). روش‌های جداسازی زیادی جهت جداسازی در خلوص بالاتر از جمله استخراج با تبلور، تقطیر، سیال فوق بحرانی و کروماتوگرافی توسعه یافته است. به‌خصوص کروماتوگرافی ستونی مایع غالباً برای آنالیز و جدا کردن اسیدهای چرب استفاده می‌شود. ساهنا و همکاران، (٢٠١٠) ازاستخراج با سیالات فوق بحرانی برای جدا کردن روغن از پوست ماهی طلال Indian mackerel استفاده کردند.

کاربرد استخوان ماهی به‌عنوان یک منبع بالقوه کلسیم: استخوان ماهی به‌عنوان یک منبع مهم دیگر از ضایعات غذاهای دریایی شناخته شده است که می‌تواند در تولید کلسیم استفاده شود. از آنجا که سالانه مقدار بسیار زیادی از ضایعات استخوانی از صنایع فرآوری غذاهای دریایی حذف می‌شوند، آن‌ها می‌توانند به‌عنوان یک منبع مهم برای تولید کلسیم معدنی استفاده شوند که می‌تواند در صنایع مختلف مانند صنایع پزشکی و غذایی به‌کار روند. بخش آلی استخوان ماهی نشان دهنده ٣٠ کلاژن است در حالی‌که جزء معدنی عمدتاً شامل فسفات کلسیم و هیدروکسی آپاتیت می‌باشد که حدود ٦٠-٧٠ درصد می‌باشد (باراکات و همکاران، ٢٠٠٨). کلسیم معدنی برای غنی‌سازی پودر شیر یا سایر مواد غذایی استفاده می‌شود (آرونوو و همکاران، ٢٠٠٧).

نتیجه‌گیری

به تازگی مواد زائد غذاهای دریایی به‌دلیل داشتن فعالیت‌های زیستی بالقوه و فراوانی طبیعی‌شان توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. همچنین، آن‌ها پتانسیل زیادی برای استفاده در صنایع مختلف دارند. سالانه، مقدار زیادی از مواد زائد از کارخانجات فرآوری غذاهای دریایی دور ریخته می‌شوند که دارای ترکیبات زیست‌فعال مختلف می‌باشند. تابحال مواد فعال‌زیستی مختلفی مانند پپتیدها، کیتوزان، کیتین، کلسیم، ژلاتین، کلاژن، و روغن ماهی از ضایعات ماهی استخراج شده که محدوده وسیعی از فعالیت‌های زیستی مانند ضداکسیدانی، ضد فشار خون، ضد سرطان، ضد تومور، ضد باکتری، ضدویروس، ایدز و غیره گزارش شده است. از این‌رو، مواد زائد غذاهای دریایی منابع طبیعی بالقوه‌ای برای طیف وسیعی از صنایع می‌باشند.

منابع

1.Augustin, M.A., and Sanguansri, L. 2015. Challenges and solutions to incorporation of nutraceuticals in foods. Annual Review of Food Science and Technology, 6: 463-477.

2.Aronove, D., Karlov, A., and Rosenman, G. 2007. Hydroxyapatite nanoceramics: Basic physical properties and biointerface modification. Journal of the European Ceramic Society. 27(13): 4181–4186.

3.Aytekin, A.O., Morimura, S., and Kida, K. 2010. Synthesis of chitosan–caffeic acid derivatives and evaluation of their antioxidant activities. Journal of bioscience and bioengineering. 111(2): 212–216.

4.Barakat, A.M.N., Khalil, K.A., Sheikh, F.A., Omran, A.M., Gaihre, B., Khil, S.M., and Kim, H.Y. 2008. Physicochemical characterization of hydroxyapatite extracted from bones by three different methods: Extraction of biological desirable HAP. Materials Science and Engineering: C, 28(8): 1381–1387.

5.Batista, I., Ramos, C., Coutinho, J., Bandarra, NM., and Nunes, N.L. 2009. Characterization of protein hydrolysates and lipids obtained from black scabbardfish (*Aphanopus carbo*) by-products and antioxidative activity of the hydrolysates produced. Process Biochemistry, 45(1): 18-24.

6.Cheung, I.W.Y., and Li-Chan, E.C.Y. 2010. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity and bitterness of enzymatically-produced hydrolysates of shrimp (*Pandalopsis dispar*) processing byproducts investigated by Taguchi design. Food Chemistry. 122(4): 1003–1012.

7.Cho, S.M., Gu, Y.S., and Kim, S.B. 2005. Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. Food Hydrocolloids, 19(2): 221-229.

8.Dong, S., Sun, J., Li, Y., Li, J., Cui, W., and Li, B. 2014. Electrospun Nanofibrous Scaffolds Of Poly (L-Lactic Acid)–Dicalcium Silicate Composite Via Ultrasonic-Aging Technique For Bone Regeneration. Materials Science And Engineering: C, 35: 426–433.

9.Fang, Z., Bhandari, B. 2010. Encapsulation of Polyphenols-a Rview, Trends in Food Science and Technology, 21(10): 510-523.

10.Gómez-Guillén, M.C., Pérez-Mateos, M., Gómez-Estaca, J., López-Caballero, E., Giménez, B., and Montero, P. 2009. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. Trends in Food Science and Technology, 20(1): 3-16.

11.Gould, G.W. 1996. Industry Perspectives on the Use of Natural Antimicrobials and Inhibitors for Food Applications, Journal of Food Protection, 82-86.

12.Hirata, H., Saeki, H., Nonaka, M., Kawasaki, K., Ooizumi, T., and Motoe, K. 1993. Recovery of fish oil from the manufacturing process of highly nutritional fish meat for foodstuffs from sardine. Nippon Suisan Gakkaishi 59: 111–116.

13.Hosseini, S.F., Zandi, M., Rezaei, M., and Farahmandghavi, F. 2013. Two-Step Method for Encapsulation of Oregano Essential Oil in Chitosan Nanoparticles: Preparation, Characterization and In Vitro Release Study, Carbohydrate Polymers, 95(1): 50-56.

14.Huang, R., Mendis, E., Rajapakse, N., and Kim, S.K. 2006. Strong electronic charge as an important factor for anticancer activity of chitooligosaccharides (COS). Life sciences, 78(20): 2399-2408.

15.Jayakumar, R., Prabaharan, M., Kumar, P.S., Nair, S.V., and Tamura, H. 2011. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. Biotechnology advances, 29(3): 322-337.

16.Jayathilakan, K., Sultana, K., Radhakrishna, K., and Bawa, A.S. 2012. Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review, Journal of Food Science and technology, 49(3): 278-293.

17.Je, J.Y., Qian, Z.J., Byun, H.G., and Kim, S.K. 2007. Purification and characterization of an antioxidant peptide obtained from tuna backbone protein by enzymatic hydrolysis, Process Biochemistry, 42(5): 840-845.

18.Jeon, Y.J., and Kim, S.K. 2000. Continuous production of chitooligosaccharides using a dual reactor system. Process Biochemistry. 35(6): 623–632.
19.Jiang, H., Tong, T., Sun, J., Xu, Y., Zhao, Z., and Liao, D. 2014. Purification and characterization of antioxidative peptides from round scad (*Decapterus maruadsi*) muscle protein hydrolysate, Food Chemistry, 154: 158-163.
20.Jo, H.Y., Jung, W.K., and Kim, S.K. 2008. Purification and Characterization of a Novel Anticoagulant Peptide from Marine Echiuroid Worm, Urechis Unicinctus, Process Biochemistry, 43(2): 179-184.
21.Jung, W.K., Park, P.J., Byun, H.G., Moon, S.H., and Kim, S.K. 2005. Preparation of hoki (*Johnius belengerii*) bone oligophosphopeptide with a high affinity to calcium by carnivorous intestine crude proteinase. Food Chemistry. 91(2): 333–340.
22.Khiari, Z., Rico, D., Martin-Diana, A.B., and Barry-Ryan, C. 2014. Structure elucidation of ACE-inhibitory and antithrombotic peptides isolated from mackerel skin gelatin hydrolysates, Journal of the science of food and agriculture, 94(8): 1663-1671.
23.Khora, Ss. 2013. Therapeutic Benefits Of Ω-3 Fatty Acids From Fish, International Journal Of Drug Development and Research, 5(2): 55-65.
24.Kim, G.H., Jeon, Y.J., Byun, H.G., Lee, Y.S., and Kim, S.K. 1998. Effect of calcium compounds from oyster shell bound fish skin gelatin peptide in calcium deficient rats, Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 31: 149–159.
25.Kim, S.Y., Je, J.Y., and Kim, S.K. 2007. Purification and characterization of antioxidant peptide from hoki (*Johnius belengerii*) frame protein by gastrointestinal digestion. The Journal of Nutritional Biochemistry, 18(1): 31–38.
26.Ko, J.Y., Lee, J.H., Samarakoon, K., Kim, J.S., and Jeon, Y.J. 2013. Purification And Determination Of Two Novel Antioxidant Peptides From Flounder Fish (*Paralichthys Olivaceus*) Using Digestive Proteases, Food And Chemical Toxicology, 52: 113-120.
27.Komaiko, J., Sastrosubroto, A., McClements, D.J. 2016. Encapsulation of ω-3 fatty acids in nanoemulsion-based delivery systems fabricated from natural emulsifiers: Sunflower phospholipids. Food Chemistry, 203: 331-339.
28.Lee, H.C., Singla, A., and Lee, Y. 2001. Biomedical applications of collagen. International Journal of Pharmaceutics. 221(1-2): 1–22.
29.Li, Z. 2014. Encapsulation of Bioactive Salmon Protein Hdrolysates Wth Chitosan-Coated Liposomes, Journal of Master of Science Thesis The university of Dalhousie, Halifax, Canada.
30.Lin, L., Lv, S., and Li, B. 2012. Angiotensin-I-converting enzyme (ACE)-inhibitory and antihypertensive properties of squid skin gelatin hydrolysates, Food chemistry, 131(1): 225-230.
31.Madrigal-Carballo, S., Lim, S., Rodriguez, G., Vila, A.O., Krueger, C.G., Gunasekaran, S., and Reed, J.D. 2010. Biopolymer Coating of Soybean Lecithin Liposomes Via Layer-By-Layer Self-Assembly as Novel Delivery System for Ellagic Acid, Journal of Functional Foods, 2(2): 99-106.
32.Menon, V., Venugopal, and Smita, Lele, S. 2015. Nutraceuticals and bioactive compounds from seafood processing waste. Springer Handbook of Marine Biotechnology. Springer Berlin Heidelberg, 1405-1425.
33.Moomand, K., and Lim, L.T. 2015. Effects of solvent and n-3 rich fish oil on physicochemical properties of electrospun zein fibres. Food Hydrocolloids, 46: 191-200.
34.Moskowitz, R.W. 2000. Role of collagen hydrolysate in bone and joint disease. Seminars in arthritis and rheumatism. 30(2): 87–99.
35.Mosquera, M., Giménez, B., da Silva, I.M., Boelter, J.F., Montero, P., Gómez-Guillén, M.C., and Brandelli, A. 2014. Nanoencapsulation of an active peptidic fraction from sea bream scales collagen, Food chemistry, 156(2): 144-150.
36.Nakagawa, T., and Tagawa, T. 2000. Ultrastructural study of direct bone formation induced by BMPs-collagen complex implanted into an ectopic site, Oral Diseases, 6(3): 172–179.

37.Ngo, D.H., Ryu, B.M., and Kim, S.K. 2014. Active peptides from skate (*Okamejei kenojei*) skin gelatin diminish angiotensin-I converting enzyme activity and intracellular free radical-mediated oxidation, Food Chemistry, 143: 246-255.
38.Nikoo, M., Benjakul, S., Ehsani, A., Li, J., Wu, F., Yang, N., Xu, B., Jin, Z., and Xu, X., 2014. Antioxidant and cryoprotective effects of a tetrapeptide isolated from Amur sturgeon skin gelatin. *Journal of Functional Foods*, 7: 609-620.
39.Park, P.J., Je, J.Y., and Kim, S.K. 2003. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity of hetero-chitooligosaccharides prepared from partially different deacetylated chitosans. Journal of Agricultural Food Chemistry. 51(17):4930–4934.
40.Raghavan, S., Kristinsson, H.G., 2009. ACE-Inhibitory Activity of Tilapia Protein Hydrolysates, Food chemistry, 117(4): 582-588.
41.Rajapakse, N., Jung, W.K., Mendis, E., Moon, S.H., and Kim, S.K. 2005. A novel anticoagulant purified from fish protein hydrolysate inhibits factor XIIa and platelet aggregation, Life Sciences, 76(22): 2607–2619.
42.Ramos, M., Jiménez, A., Peltzer, M., Garrigós, M.C. 2014. Development of novel nano-biocomposite antioxidant films based on poly (lactic acid) and thymol for active packaging. Food chemistry, 162: 149-155.
43.Sahena, F., Zaidul, I.S.M., Jinap, S., Jahurul, M.H.A., Khatib, A., and Norulaini, N.A.N., 2010. Extraction of fish oil from the skin of Indian mackerel using supercritical fluids. Journal of Food Engineering. 99(1): 63–69.
44.Salampess, J., Phillips, M., Seneweera, S., and Kailasapathy, K. 2010. Release of Antimicrobial Peptides through Bromelain Hydrolysis of Leatherjacket (*Meuchenia sp*) Insoluble Proteins, Food Chemistry, 120(2): 556-560.
45.Schrieber, R., and Gareis, H. 2007. Gelatine Handbook. Wiley-VCHGmbH and Co., Weinhem. Simopoulos, A.P. 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. Am. J. Clin. Nutr.
46.Shahidi, F., Han, X.Q., and Synowiecki, J. 1995. Production and Characteristics of Protein Hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*), Food chemistry, 53(3): 285-293.
47.Simpson, B.K., Nayeri, G., Yaylayan, V., and Ashi, I.N.A. 1998. Enzymatic hydrolysis of shrimp meat, Food Chemistry, 61(1-2): 131–138.
48.Sun, J., He, H., and Xie, B.J. 2004. Novel Antioxidant Peptides from Fermented Mushroom Ganoderma lucidum, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(21): 6646-6652.
49.Supavititpatana, P., Wirjantoro, T.I., Apichartsrangkoon, A., and Raviyan P. 2008. Addition of gelatin enhanced gelation of corn–milk yogurt, Food Chemistry, 106(1): 211–216.
50.Tajik, H., Moradi, M., Razavi Rohani, S.M., Erfani, A.M., and Shokouhi Sabet Jalali, F., 2008. Preparation of chitosan from brine shrimp (*Artemia uremiana*) cyst shells and effects of different chemical processing sequences on the physicochemical and functional properties of the product. Molecules, 13: 1263-1274.
51.Thiansilakul, Y., Benjakul, S., and Shahidi, F. 2007. Antioxidative Activity of Protein Hydrolysate from Round Scad Muscle Using Alcalase and Flavourzyme, Journal of Food Biochemistry, 31(2): 266-287.
52.Vannuccini, S. 2004. Overview of Fish Production, Utilization, Consumption and Trade. FAO, Rome. 70, 560S–569S.
53.Wassawa, J., Tang, J., and Gu, X. 2007. Utilization of fish processing by-products in the gelatin industry. Food Reviews International, 23(2): 159–174.
54.Wijesekara, Z.J., Qian, B., Ryu, D.H., and Ngo, S.K.Ki. 2011.Purification and identification of antihypertensive peptides from seaweed pipefish (*Syngnathus schlegeli*) muscle protein hydrolysate, Food Research International, 44(3): 703-707.
55.Yang, L., Chen, L., Zeng, R., Li, C., Qiao, R., Hu, L., and Li, Z. 2010. Synthesis, nanosizing and in vitro drug release of a novel anti-HIV polymeric prodrug: Chitosan-O-isopropyl- 50-O-d4T monophosphate conjugate. Bioorganic and Medicinal Chemistry. 18(1): 117–123.

56.You, L., Regenstein, J M., and Liu, R H. 2010. Optimization of hydrolysis conditions for the production of antioxidant peptides from fish gelatin using response surface methodology, Journal of food science, 75(6): 582-587.
57.Zamani, A., Madani, R., Rezaei, M., Benjakul, S. 2016. Antioxidative Activitiy of Protein Hydrolysate from the Muscle of Common Kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) Prepared Using the Purified Trypsin from Common Kilka Intestine. Journal of Aquatic Food Product Technology, 1-15.