ผลของระยะเวลาในการย่อยต่อสมบัติทางเคมี-กายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาดาบเงิน
Effect of Hydrolyzing Time on Physicochemical and Functional Properties of Protein Hydrolysate from Largehead hairtail (*Trichiurus lepturus*)

จิรนาถ บุญคง[1] และ การันต์ พุกชัยวาณิชย์[1]
Boonkong, J.[1], and Phuckchaiwanit, K.[1]

Abstract

This research was determined the effect of hydrolyzing time on physico-chemical and functional properties of fish protein hydrolysate solution from dried largehead hairtail. Hydrolyzing was produced by using 6 Molar hydrochloric acid at the ratio of fish to acid was 1:1 (w/v). Hydrolyzing time was varied to 2, 4 and 6 hours. The results found that, increasing of hydrolyzing time, degree of hydrolysate, amino-nitrogen content, moisture content and salt content were increased. The amino nitrogen content exhibited highest at 4 hours hydrolyzing time and the protein content was decreased. The physical properties revealed that, as the hydrolyzing time increased, viscosity and redness (a*) were increased, while the lightness (L*) and yellowness (b*) were decreased. The functional properties showed that increasing of hydrolyzing time, nitrogen solubility, radical scavenging activity, reducing power, foaming capacity were increased, especially at hydrolyzing time at 4 hours showed the highest foaming capacity. Emulsifying activity index and emulsion stability index decreased with increasing of hydrolyzed time.

Keyword: hydrolysated protein, *Largehead hairtail*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยโปรตีนต่อสมบัติทางเคมี-กายภาพ และสมบัติเชิงหน้าที่ของสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเนื้อปลาดาบเงินอบแห้ง ทำการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตโดยการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6 โมลาร์ โดยใช้อัตราส่วนเนื้อปลาอบแห้งต่อปริมาณกรดเท่ากับ 1:1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แปรผันระยะเวลาในการย่อยที่ 2 4 และ 6 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการย่อยมากขึ้น ระดับการย่อยสลาย และปริมาณอะมิโนไนโตรเจนเพิ่มขึ้น ปริมาณความชื้นและเกลือเพิ่มขึ้น โดยปริมาณอะมิโนไนโตรเจนมีค่าสูงสุดในชั่วโมงที่ 4 และปริมาณโปรตีนมีค่าลดลง ในด้านสมบัติทางกายภาพ เมื่อระยะเวลาการย่อยเพิ่มขึ้น พบว่าค่าความหนืดเพิ่มขึ้น ค่าสีแดง (a*) เพิ่มขึ้น ในขณะที่ ค่าความสว่าง (L*) และค่าสีเหลือง (b*) ลดลง ในด้านสมบัติเชิงหน้าที่พบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการย่อย ปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระและกำลังการรีดิวซ์เพิ่มขึ้น และความสามารถในการเกิดโฟมเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งความสามารถในการเกิดโฟมมีค่าสูงที่สุดที่เวลาในการย่อย 4 ชั่วโมง และความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชันลดลง เมื่อใช้เวลาในการย่อยมากขึ้น

คำสำคัญ: โปรตีนไฮโดรไลเซต, ปลาดาบเงิน

คำนำ*

โปรตีนจากปลาทะเลประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็นที่ร่างกายใช้ในการเจริญเติบโต ซ่อมแซมเนื้อเยื่อและกล้ามเนื้อที่สึกหรอ โปรตีนปลาใกล้เคียงกับโปรตีนในเนื้อสัตว์ทั่วไป เนื่องจากเป็นแหล่งโปรตีนที่ครบถ้วนสมบูรณ์ (Green และ Mattick, 1979) โปรตีนจากปลาเข้มข้นหรือโปรตีนไฮโดรไลเซต เตรียมได้จากปลาทะเลชนิดต่างๆ โดยมีขั้นตอนที่สำคัญ 3 ขั้นตอน ได้แก่ การเตรียมวัตถุดิบ (แยกส่วนก้าง หรือกระดูก ลำไส้) การสกัดไขมันออก และการใช้เอนไซม์กลุ่มที่ย่อยสลายโปรตีนหรือกรด ดังนั้นการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตให้มีคุณภาพดีนั้น นอกจากการเลือกวัตถุดิบที่มีคุณภาพ มีปริมาณโปรตีนสูง ราคาถูกและหาได้ง่าย ยังมีผลจากกระบวนการผลิตอีกด้วย ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการผลิต ได้แก่ สัดส่วนของวัตถุดิบกับสารละลายที่ย่อยสลาย อุณหภูมิ และระยะเวลาในการย่อยสลาย (Kristinsson และ Rasco, 2000a) โปรตีนปลาไฮโดรไลเซตที่มีคุณภาพดีจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง ได้แก่ การเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับเลี้ยงจุลินทรีย์ ใช้เป็นอาหารสัตว์ ใช้เป็นสารเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ สารเชิง

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม ถ.เพชรเกษม บางหว้า ภาษีเจริญ กรุงเทพมหานคร 10160
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Petchkasem Rd., Bangwa, Phasicharoen, Bangkok, 10160

หน้าที่ และสารให้กลิ่นรสในอาหารได้ (Raikate และคณะ, 2011) ซึ่งงานวิจัยนี้สนใจที่จะศึกษาผลของระยะเวลาในการย่อยต่อสมบัติทางเคมี-กายภาพ และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาดาบเงินที่ผลิตได้

อุปกรณ์และวิธีการ **

1. การเตรียมเนื้อปลาอบแห้งและการสกัดไขมัน โดยแล่เนื้อปลา (แยกส่วนหัว ก้าง และไส้) ขูดเนื้อปลาออกจากหนังปลา สับเนื้อปลาให้ละเอียด แล้วนำไปวางบนตะแกรง จากนั้น นำเข้าตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนแห้งและนำมาบดเป็นผง สกัดแยกไขมันออกจากผงเนื้อปลา ด้วยสารละลายเอทานอลร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1:2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) (Boonkong และ Sukchai 2007) กรองแยกผงเนื้อปลา และล้างด้วยเอทานอล 2 ครั้ง ระเหยเอทานอลออก อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (ควบคุมความชื้นไม่เกินร้อยละ 12) จะได้ผงเนื้อปลาที่สกัดไขมันออกแล้วเพื่อใช้ทดลองต่อไป

2. การศึกษาผลของระยะเวลาในการย่อยต่อสมบัติทางเคมี-กายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซต โดยเตรียมผงเนื้อปลาต่อปริมาณกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6 โมล่าร์ ในสัดส่วน 1:1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) (Boonkong และ Sukchai 2007) ย่อยภายในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส โดยแปรผันระยะเวลาในการย่อย เท่ากับ 2, 4, 6 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับพีเอชเป็นกลาง ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 50 กรองแยกกากออก และเก็บสารละลายที่ได้เพื่อไปวิเคราะห์สมบัติทางเคมี-กายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ ได้แก่ วิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย (Qi และ คณะ, 1997) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (AOAC, 1995) ปริมาณไนโตรเจนที่เป็นกรดอะมิโน (AOAC, 1995) ปริมาณโปรตีน ความชื้น และเกลือ (AOAC, 2000) วัดค่าความหนืด (Brookfield Viscometer) และวัดค่าสี ระบบ CIE (HunterLab รุ่น ColorFlex 4510 วิเคราะห์ไนโตรเจนที่ละลายน้ำได้ (Morr, 1985) ความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชัน (Pearce และ Kinsella, 1978) ความสามารถในการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟม (Kato, 1989) ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH และกำลังการรีดิวซ์ (Wu และคณะ, 2003)

ผลและวิจารณ์ผล

1. ผลของระยะเวลาในการย่อยต่อสมบัติทางเคมี-กายภาพของสารละลายโปรตีนปลาไฮโดรไลเซต

ระดับการย่อยสลายจะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาที่ใช้ในการย่อยเพิ่มมากขึ้น (Table 1) ซึ่งแสดงว่าโปรตีนถูกย่อยสลายจนได้เพปไทด์สายสั้น และกรดอะมิโนอิสระจำนวนมาก (สุปราณี, 2539) ในช่วงแรกของการย่อยสลายระดับการย่อยสลายมีค่าสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อโปรตีนถูกย่อยสลายโดยกรดจะทำให้เกิดเพปไทด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่อระยะเวลาการย่อยเพิ่มขึ้น พบว่าค่าระดับการย่อยสลายมีค่าสูงขึ้นเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากเกิดการแข่งขันกันระหว่างโปรตีนที่เป็นสารตั้งต้น และเพปไทด์ที่เป็นสารผลิตภัณฑ์ในการทำปฏิกิริยากับกรด ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการย่อยสลายโปรตีนที่มีต่อค่าระดับการย่อยสลายในการทดลองนี้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sathivel และคณะ, (2003) ที่มีค่าระดับการย่อยสลายสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงระยะแรกของการย่อยสลาย และเมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่งค่าระดับการย่อยสลายจะเริ่มมีค่าคงที่ เช่นเดียวกับปริมาณอะมิโนไนโตรเจนจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการย่อย 2–4 ชั่วโมง และลดลงเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 6 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชั่วโมงที่ 4 (Table 1) ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อโปรตีนถูกย่อยด้วยกรดเป็นเวลานาน จะทำให้สารประกอบไนโตรเจนถูกทำลายไปบางส่วน ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองของ สุกัญญา, (2533) ซึ่งกล่าวว่า ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของโปรตีนภายใต้อุณหภูมิและปริมาณกรดสูงจะทำให้กรดอะมิโนบางตัว เช่น ทริปโตเฟน และซีสเตอีน เกิดการสลายตัว เมื่อระยะเวลาการย่อยเพิ่มมากขึ้นปริมาณโปรตีนจะลดลง (Table 1) เนื่องจากโปรตีนจะถูกย่อยสลายด้วยกรดเป็นกรดอะมิโนและเพปไทด์สายสั้น โดยปริมาณโปรตีนจะแปรผกผันกับระดับการย่อยสลาย และพบว่าปริมาณความชื้น และปริมาณเกลือเพิ่มขึ้น (Table 1) เนื่องจากผลของปริมาณสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในขั้นตอนการปรับพีเอชให้เป็นกลางในขั้นตอนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต จึงเกิดปฏิกิริยาสะเทิน (neutralization reaction) ระหว่างกรดและด่างได้เป็นผลิตภัณฑ์คือ เกลือและน้ำ (Raymond, 1998) ความหนืดของโปรตีนไฮโดรไลเซตจะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาย่อยเพิ่มขึ้น เนื่องจากโปรตีนจะถูกย่อยสลายเป็นกรดอะมิโนและเพปไทด์ ทำให้มีความความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนมากขึ้น ส่งผลให้มีความหนืดมากขึ้นเล็กน้อย แต่เมื่อระยะเวลาย่อยดำเนินมาถึงชั่วโมงที่ 6 ความหนืดจะลดลง (Table 2) ซึ่งอาจจะเกิดจากการลดลงของกรดอะมิโนและเพปไทด์ เมื่อโปรตีนถูกย่อยด้วยกรดเป็นเวลานาน จะทำสารประกอบไนโตรเจนที่ได้ถูกทำลายไปบางส่วนเกิดเป็นสารประกอบที่ระเหยได้ เช่น อัลดีไฮด์ ฮิวมิน หรือสารเมลานอยดิน (Manley และ Fagerson, 1970) ค่าสีของโปรตีนไฮโดรไลเซตเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยเมื่อระยะเวลาย่อยเพิ่มขึ้น โดยค่าสีแดง (a*) มีค่าเพิ่มขึ้นจากชั่วโมงที่ 2 ถึงชั่วโมงที่ 6 ส่วนค่าความสว่าง (L*) และค่าสีเหลือง (b*) มีค่าลดลงตามระยะเวลาในการย่อยที่มากขึ้น (Table 2) ซึ่งเป็นผลจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดระหว่างกรดอะมิโนกับน้ำตาลรีดิวซ์

2. ผลของระยะเวลาในการย่อยต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของสารละลายโปรตีนปลาไฮโดรไลเซต

ความสามารถในการละลายวัดในรูปของดัชนีการละลายของไนโตรเจน (NSI) ซึ่งบ่งชี้ความสามารถในการละลายของโปรตีน และเป็นคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญมากที่สุดของโปรตีน เนื่องจากจะมีผลต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่อื่นๆของโปรตีน เช่น ความสามารถในการเกิดอิมัลชันหรือความสามารถในการเกิดโฟม เป็นต้น ความสามารถในการละลายของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการย่อย โดยจะเพิ่มขึ้นจนถึงชั่วโมงที่ 4 และจะลดลงเล็กน้อยเมื่อมีการย่อยต่อไป (Table 3) โดยความสามารถในการละลายของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซต จะมีความสัมพันธ์กับปริมาณอะมิโนไนโตรเจนที่มีอยู่ในโปรตีนปลาไฮโดรไลเซต ซึ่งปริมาณอะมิโนไนโตรเจนมีปริมาณสูงสุด ณ ชั่วโมงที่ 4 และจะลดลงเมื่อมีการย่อยต่อไปเช่นเดียวกัน (Table 1) เมื่อโปรตีนเกิดการย่อยสลายภายใต้อุณหภูมิและปริมาณกรดสูงจะทำให้กรดอะมิโนบางชนิด ได้แก่ ทริปโตเฟน ไทโรซีน ซีสเตอีน อาร์จินีน และฮีสทิดีน เกิดการสลายตัวซึ่งจะตรวจพบในรูปของแก๊สแอมโมเนีย

ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระและกำลังการรีดิวซ์ของโปรตีนไฮโดรไลเซตเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการย่อย โดยมีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก (Table 3) ทั้งนี้โปรตีนจะถูกย่อยสลายเป็นกรดอะมิโนและเพปไทด์มากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กรดอะมิโนที่มีวงแหวนอะโรมาติก และกรดอะมิโนฮีสทีดีน ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนและทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเพื่อที่จะได้ผลิตภัณฑ์ที่เสถียร (Rajapakse และ คณะ, 2005) นอกจากนี้ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตยังขึ้นอยู่กับปริมาณและชนิดของกรดอะมิโนในสายเพปไทด์ และการเปลี่ยนของขนาด ระดับและองค์ประกอบของกรดอะมิโนอิสระ (Wu และคณะ, 2003) เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้น ความสามารถในการเกิดโฟมเพิ่มขึ้น และความสามารถในการเกิดโฟมสูงสุด ณ ชั่วโมงที่ 4 และลดลงเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 6 (แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ) (Table 3) เนื่องจากสารประกอบไนโตรเจนบางส่วนถูกทำลายจากการย่อยของกรด ความหนาแน่นของประจุบนโมเลกุลลดลง การขยายตัวของโฟมจึงลดลงด้วย

ความสามารถในการเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนปลาไฮโดรไลเซตเกิดจากการที่โปรตีนถูกย่อยสลายเกิดเป็นเพปไทด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นสารช่วยเกาะติด ที่มีส่วนหนึ่งของโมเลกุลชอบน้ำ)มีประจุ (และอีกส่วนหนึ่งชอบน้ำมัน (ไม่มีประจุ) ผลการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการย่อยมากขึ้น ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน และความคงตัวของอิมัลชันลดลง (Table 3) ความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชัน มีความสัมพันธ์กับระดับการย่อยสลาย โดยจะแปรผกผันกับระดับการย่อยสลาย ซึ่งผลการทดลองที่ได้จะสอดคล้องกับ งานวิจัยของ Kristinsson และ Rasco (2000a) ซึ่งได้รายงานว่าความสามารถในการเกิดอิมัลชัน และความคงตัวของอิมัลชันจะลดลงเมื่อระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น

สรุป

ระยะเวลาในการย่อยโปรตีน มีผลต่อสมบัติทางเคมี-กายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซต โดยพบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการย่อยมากขึ้น ระดับการย่อยสลาย ปริมาณอะมิโนไนโตรเจน ปริมาณความชื้นและเกลือ ค่าความหนืด ค่าสีแดง (a*) ปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระและกำลังการรีดิวซ์ และความสามารถในการเกิดโฟมเพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้าม ปริมาณโปรตีนมีค่าลดลง ค่าความสว่าง (L*) และค่าสีเหลือง (b*) และความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชันลดลง เมื่อใช้เวลาในการย่อยมากขึ้น โดยระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาดาบเงิน คือ ระยะเวลาย่อย 4 ชั่วโมง และโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตได้มีแนวโน้มที่จะประยุกต์ใช้เป็นสารเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ สารเชิงหน้าที่ และสารให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหาร

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม ที่ให้การสนับสนุนการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

สุกัญญา ฉัตรเดชา, 2533, การผลิตและการใช้ประโยชน์ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันและของเหลือโรงงานวุ้นเส้น,วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สุปราณี แย้มพราย, 2539, การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากของเหลือจากโรงงานผลิตซูริมิเพื่อใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

AOAC, 1995, Official Method of Association of official chemist, 16th ed., Association official Analytical chemist. Arlington, Va., U.S.A

AOAC, 2000, Official methods of analysis, 17th ed, Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.

Boonkong, J. and Sukchai, S., 2007, The study on optimal condition of hydrolysated fish protein production from Largehead Hairtail *(Trichiurus lepturus Linnaeus)* 33th Congress on Science and Technology of Thailand, October, 18-20, 2007, Walailak University. Nakonsrithumarat.

Green, J.H. and Mattick, J.F., 1979, Fishery west management: In food processing waste management, Marcel Dekker, New York.

Kato, A., Ibrahim, H.R., Watanabe, H., Homma, K. and Kobayashi, K., 1989, New approach to improve the gelling and surface functional properties of dried egg white by heating in dry state, Journal Agriculture Food Chemistry, 37(2): 433-437.

Kristinsson, H.G., and Rasco, B.A., 2000, Fish protein hydrolysates: production, biochemical and functional properties, Crit, Rev, Food Science of Nutriotion, 40: 43 – 81.

Manley, C.H., and Fagerson, I.S., 1970, Major volatile neutral and acid compounds of hydrolyzed soy protein, Journal of Food Science, 35: 286-291.

Morr, C.V, 1985, Composition, physicochemical and functional properties of reference whey protein concentrate, Journal of Food Science, 50: 1406-1411.

Pearce, K.N., and Kinsella, J.E., 1978, Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. Journal of Agriculture Food Chemistry, 26: 716-723.

Qi, M., Hettiarachchy, N.S. and Kalapathy, U., 1997, Solubility and emulsifying properties of soy protein isolates modified by pancreatin, Journal of Food Science, 62: 1110-1115.

Raikate, P., Orose R., Riantong, S., and Paweena N., 2011, Protein hydrolysate from fish waste: Conditions for red tilapia *(Oreochromis niloticus)* viscera hydrolysis with papain, Nutrition Science Journal, 8(1): 101-108

Rajapakse, N., Mendis, E., Jung, W.K., Je, J.K. and Kim, S.K, 2005, Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties, Food Research International Journal, 38(2): 175-182.

Raymond, C., 1998., General Chemistry.MaGraw – Hill Companies Incorporate. USA, pp. 131-132.

Sathivel, S., Bechtel, P.J. Babbitt, J., Smiley, S., Crapo, C. and Reppond, K.D., 2003. Biochemical and functional properties of herring (*Clupea harengus*) byproduct hydrolysates. Journal of Food Science, 68 (7): 2196–2200.

Wu, H.C., Chen, H.M., and Shiau, C.Y. 2003, Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysated of mackerel *(Scomber austriasicus).* Food Research International Journal, 36(9-10): 949-957.

Table 1 Effect of hydrolyzing time on physico-chemical properties of protein hydrolysate.

Hydrolysing time (hr.)	Degree of hydrolysis	Amino nitrogen (g/L)	Protein (%)	Moisture (%)	NaCl (%)
2	13.99 ± 0.05^{c}	20.54 ± 1.33^{b}	26.42 ± 1.63^{a}	46.80 ± 0.79^{c}	4.91 ± 0.12^{b}
4	14.92 ± 0.06^{b}	22.59 ± 0.47^{a}	26.33 ± 1.15^{a}	47.82 ± 0.81^{b}	4.97 ± 0.15^{b}
6	15.33 ± 0.02^{a}	21.01 ± 0.22^{ab}	22.50 ± 0.15^{b}	49.19 ± 1.14^{a}	5.99 ± 0.10^{a}

Remark: different alphabets within the same column indicate significant difference ($p \leq 0.05$)

Table 2 Effect of hydrolyzing time on viscosity and colors of protein hydrolysate.

Hydrolysing time (hr.)	Viscosity (cP)	Color		
		*L**	*a**	*b**
2	3.67 ± 0.58^{c}	2.66 ± 0.05^{a}	0.10 ± 0.07^{b}	0.33 ± 0.10^{a}
4	8.67 ± 0.58^{a}	2.54 ± 0.07^{b}	0.13 ± 0.11^{b}	0.39 ± 0.10^{a}
6	5.67 ± 0.58^{b}	2.47 ± 0.03^{c}	0.23 ± 0.11^{a}	0.21 ± 0.16^{b}

Remark: different alphabets within the same column indicate significant difference ($p \leq 0.05$)

Table 3 Effect of hydrolyzing time on functional properties of protein hydrolysate.

Hydrolysing time (hr.)	NSI (%)	Antioxidant activity DPPH (%)	Reducing power	Foam capacity (%)	EAI (m^2/g)	ESI (min)
2	3.61 ± 0.74^{b}	23.34 ± 0.59^{b}	1.53 ± 0.06^{b}	160.00 ± 2.06^{b}	1.21 ± 0.03^{a}	26.69 ± 0.48^{a}
4	6.32 ± 0.83^{a}	37.21 ± 0.83^{a}	2.02 ± 0.04^{a}	186.67 ± 3.14^{a}	0.94 ± 0.07^{b}	25.73 ± 0.50^{a}
6	5.94 ± 0.35^{a}	39.14 ± 0.58^{a}	2.27 ± 0.24^{a}	178.33 ± 5.59^{a}	0.90 ± 0.01^{b}	18.61 ± 0.58^{b}

Remark: different alphabets within the same column indicate significant difference ($p \leq 0.05$)