2025, 1(1): 33-40

JAER

Journal of Animal Environmental Reaserch

Journal homepage: http://www.journalaer.com

Research Article

Antibacterial peptides have attracted a- great deal of attention due to their biological properties against a wide range of microorganisms

Maryam Shokoohmand [1*], Hossein Zolgharnein [1], Mohammad Ali Salari Ali Abadi [1], Mojtaba Alishahi [2], Reza Safari [3]

[1] Department of Marine Biology, Faculty of Marine and Ocean Sciences, Khorramshahr University of Marine Sciences and Technology, Khorramshahr, Iran

[2] Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

[3] Caspian Sea Ecological Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Sari, Iran

Key Words

Aeromunas hydrophyila
Antibacterial properties
Bioactive peptides
Lantern fish
Streptococcus agalactiae
Sterptococcu iniae
Yersini ruckeri

Abstract

Introduction: The present study aimed to investigate antibacterial and properties of proteins produced by the enzyme hydrolysis of lantern fish (*Benthosema petrotum*) produced by alcalase and flavourzyme enzymes.

Materials & Methods: Membrane ultrafiltration method was used to isolate and purify antimicrobial peptides smaller than 3 kDa. Antibacterial activity of protein hydrolyzed with alkalase enzyme (BPHA) and flavourzyme enzyme (BPHF) against *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae*, *Sterptococcus iniae*, *Yersinia ruckeri* (standard strains) was performed by disk diffusion and microdilution method.

Results: The results showed the appropriate efficiency of enzymes used to isolate antimicrobial peptides smaller than 3 kDa from lantern fish. Also, the lowest amount of MIC, MBC of hydrolyzed protein by flavourzyme against bacteria *S, iniae* was 16 and 32 µg / ml. The diameter of the growth inhibition zone of peptides isolated with alkalase enzyme (BPHA) and flavourzyme enzyme (BPHF) against *Y. ruckeri* and *S. iniae* was competitive with tetracycline antibiotic.

Conclusion: In general, it can be concluded that bioactive peptides derived from lantern fish have relative antibacterial effects against fish bacterial agents, although this effect depends on the type of enzyme used and the bacterial species. Therefore, further research on the possibility of using these antibacterial agents for fish bacterial pathogens is recommended.

Article info

* Corresponding Author's email:
shokoohmand_sa@yahoo.com

Received: 8 May 2024
Reviewed: 9 June 2024
Revised: 21 August 2024
Accepted: 11 September 2024

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]

[DOI: 10.22034/aer.1.1.33]

مقاله علمی - پژوهشی

بررسی اثر ضد باکتریایی پپتیدهای زیست فعال فانوس ماهیان دریای عمان (*Bebthosema petrotum*) در برابر برخی باکتری‌های بیماری‌زای ماهی

مریم شکوهمند[*۱]، *حسین ذوالقرنین*[۱]، *محمدعلی سالاری‌علی‌آبادی*[۱]، *مجتبی علیشاهی*[۲]، *رضا صفری*[۳]

[۱] گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

[۲] گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

[۳] پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

کلمات کلیدی

خواص ضدباکتریایی
پپتید زیست فعال
فانوس ماهیان
Yersini ruckeri
Aeromunas hydrophyila
Streptococcus agalactiae
Sterptococcu iniae

چکیده

مقدمه: پپتیدهای ضدباکتریایی به‌علت دارابودن خواص بیولوژیکی در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها، استفاده می‌شوند. در این مطالعه بررسی خواص ضدباکتریایی پروتئین هیدرولیز شده فانوس ماهیان دریای عمان (*Benthosema petrotum*) تولید شده با آنزیم‌های آلکالاز (Alcalase) و فلاورزایم (Flavourzyme) انجام شد.

مواد و روش‌ها: از روش اولترافیلتراسیون غشایی برای جداسازی و خالص‌سازی پپتیدهای ضدمیکروبی کوچک‌تر از ۳ کیلو دالتون استفاده گردید. فعالیت ضدباکتریایی پروتئین هیدرولیز شده با آنزیم آلکالاز (BPHA) و آنزیم فلاورزایم (BPHF) در برابر باکتری‌های *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae* , *Sterptococcus iniae* , *Yersinia ruckeri* (سویه‌های استاندارد) به‌روش میکرودایلوشن و انتشار دیسک انجام شد.

نتایج: نتایج تحقیق نشان دهنده کارآیی مناسب آنزیم‌های به‌کار رفته برای جداسازی پپتیدهای ضدمیکروبی کوچک‌تر از ۳ کیلودالتون از فانوس ماهیان بودند. هم‌چنین کم‌ترین میزان MIC و MBC پروتئین هیدرولیز شده توسط فلاورزایم در برابر باکتری *S. iniae* به‌میزان ۱٦ و ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. میزان قطر هاله عدم رشد پپتیدهای جدا شده با آنزیم آلکالاز (BPHA) و آنزیم فلاورزایم (BPHF) در برابر باکتری *Y. ruckeri* و *S. iniae* قابل رقابت با آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین بود.

بحث و نتیجه‌گیری: به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت که پپتیدهای زیست فعال حاصل از فانوس‌ماهیان دارای اثرات ضدباکتریایی نسبی در برابر عوامل باکتریایی ماهی بوده، هرچند این اثر بستگی به نوع آنزیم به‌کار رفته و گونه باکتری دارد. لذا تحقیق بیش‌تر در زمینه امکان استفاده از این مواد ضدباکتریایی در مبارزه با عوامل بیماری‌زای ماهی اکیداً توصیه می‌گردد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
shokoohmand_sa@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۹ اردیبهشت ۱٤۰۳
تاریخ داوری: ۲۰ خرداد ۱٤۰۳
تاریخ اصلاح: ۳۱ مرداد ۱٤۰۳
تاریخ پذیرش: ۲۱ شهریور ۱٤۰۳

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]

[DOI: 10.22034/aer.1.1.33]

مقدمه

تولیدات آبزیان در جهان طی چند دهه اخیر به‌طور چشمگیری افزایش یافته است، به‌طوری‌که انتظار می‌رود تا سال ۲۰۲۵ به حدود ۱۹۶ میلیون تن خواهد رسید. با توجه به آمار فوق سهم فرآوری آبزیان از ۲۵ درصد به ۷۵ درصد افزایش خواهد یافت (۱). توسعه پایدار آبزی‌پروری، نیازمند به‌کارگیری تکنیک‌های نوین می‌باشد. استفاده از تکنولوژی‌های نوین در افزایش بهره‌وری و کاهش هزینه تولید ازجمله موارد قابل اهمیت در آبزی‌پروری پایدار است (۲). تلفات ناشی از بروز و شیوع بیماری‌های مختلف عفونی و انگلی که به‌دنبال عوامل استرس‌زا و کاهش سیستم ایمنی رخ می‌دهد از مهم‌ترین مشکلات پرورش‌دهندگان و از موانع اصلی رشد و توسعه این صنعت در ایران می‌باشد. عفونت‌های باکتریایی یکی از عوامل اصلی مرگ‌ومیر ماهیان پرورشی است. آئروموناس هیدروفیلا یکی از باکتری‌های گرم منفی، متحرک، هوازی و بی‌هوازی اختیاری است که در محیط‌های آبی و دستگاه گوارش ماهیان سالم زندگی می‌کند و موجب سپتی‌سمی همراه با خونریزی‌های جلدی و احشایی، تورم روده و مرگ می‌شود (۳). بیماری دهان قرمز باکتریایی (Red Entric Mouth or Yersiniosis) یکی از بیماری‌های باکتریایی مهم در صنعت پرورش ماهیان سردآبی می‌باشد که در چند سال اخیر باعث بروز تلفات در مزارع سردآبی کشور شده است (۴). عامل بیماری، باکتری یرسینیا روکری (*Yersini ruckeri*) می‌باشد. این باکتری جزء خانواده انتروباکتریاسه بوده که به‌عنوان یک عامل بیماری‌زای بسیار مهم برای بسیاری از گونه‌های مختلف ماهیان از جمله خانواده آزاد ماهیان است و در کشور نیز این بیماری از مهم‌ترین بیماری‌های باکتریایی پرورش قزل‌آلا است. استرپکوکوزیس نیز به‌عنوان یکی از بیماری‌های عمده مراکز تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی در بسیاری از کشورهای دنیا و ایران معرفی شده است (۵). این باکتری‌ها امکان ایجاد بیماری در ماهیان آب‌شیرین و شور را دارند. در ایران نیز به عنوان عامل مهم بیماری‌زا در ماهی قزل‌آلا مطرح است و هم‌چنین در ماهیان دریایی مثل پرورش‌ماهی سی‌باس‌آسیایی مهم‌ترین عامل بیماری‌زا و آسیب‌رسان است (۶). اعمال روش‌های درمانی مرسوم علیه بیماری‌ها نظیر استفاده از انواع آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای شیمیایی دارای معایب و مشکلاتی است. برای مثال، استفاده مداوم از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به بروز پدیده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در گونه‌های پرورشی و مصرف کنندگان در بلندمدت می‌شود. امکان انتقال این مقاومت به انسان مصرف کننده ماهی نیز از خطرات آنتی‌بیوتیک تراپی است. هم‌چنین اثرات مخرب داروهای شیمیایی بر منابع آبی و محیط زیست غیرقابل اغماض است (۷). ماهیان دریایی منبع غنی از ترکیبات فعال‌زیستی مانند پپتیدها هستند. که می‌توانند به‌عنوان داروهای ضدباکتری، ضدقارچی، ضدویروسی و ضد تومور استفاده شوند (۸). براساس مطالعات انجام‌شده، استفاده دارویی از پپتیدها در مدل‌های جانوری بسته به هدف مطالعه به‌صورت گاواژ، ترکیب با خوراک و تزریقی پیشنهاد شده است (۹). درخصوص ماهیان در مراحل لاروی به‌صورت غوطه‌وری و یا در ماهیان مولد مانند قزل‌آلا به‌صورت تزریقی مطرح شده است (۱۰). در ساختار فضایی پروتیئن، اجزای پپتیدی در قالب اسیدآمینه‌های مختلف به تعداد ۲ تا ۲۰ عدد و وزن مولکولی کم‌تر از ۱۰۰۰۰ دالتون وجود داشته که در شکل اولیه پروتین به‌صورت غیرفعال بوده و هنگامی‌که پروتین تحت تاثیر هیدرولیز بیوشیمیایی قرار می‌گیرد، پپتیدهای مذکور نمایان شده و بسته به وزن مولکولی و توالی و تعداد اسید آمینه‌ها خواص کارکردی متفاوتی از خود نشان می‌دهند (۱۱). از پروتئین هیدرولیز شده ماهی پپتیدهای ضد میکروبی مختلفی جدا کردند. پتیدهای ضدمیکروبی دارای بخش‌های کاتیونی می‌باشند که فعل و انفعالات آن‌ها با غشای پاتوژن‌های میکروبی را تسهیل می‌کنند (۱۲). گونه‌های بیماری‌زا *Aeromunas hydrophyila*، *Yersina ruckeri* و *Staphylococcus aureus*) نسبت به پروتین‌های هیدرولیز شده از ماهیان تیلاپیا، باربوس ماهیان و کپورماهیان حساسیت نشان دادند (۱۳، ۱۴، ۱۵). تعدادی از ماهیان دریایی که درنتیجه صیدجانبی به‌ویژه تورترال به‌دست‌می‌آیند به‌عنوان ارگانیسم غیرهدف بوده که بایستی در مدیریت شیلات مدنظر قرار داده شوند. یک خانواده از این ماهیان، فانوس ماهیان (Lantern Fish) بوده که از دسته ماهیان مزوپلاژیک دریایی محسوب می‌شوند و از اعماق ۳۰۰ تا ۱۲۰۰ متری آب‌ها با ۲۳۰ تا ۲۵۰ گونه و ۳۰ تا ۳۵ جنس وجود داشته و پراکندگی آن‌ها در آب‌های آزاد بسیار گسترده است. فانوس ماهی، متعلق به خانواده Myctophidae می‌باشد. از میان گونه‌های شناسایی‌شده در دریای‌عمان گونه *Benthosema pterotum,* Alcock 1890 گونه شاخص و غالب معرفی شده است، به‌طوری‌که میزان آن در آب‌های ایران حدوداً ۱تا ۴ میلیون تن می‌باشد. فانوس ماهی‌ها، ماهی‌های کوچک با اندازه‌حداکثر ۴ سانتی‌متر و وزنی حدوداً ۲ تا ۵ گرم می‌باشند که در ایران مصرف خوراکی ندارند و معمولاً به مصرف تولید آرد ماهی می‌رسند (۱۶، ۱۷). این ماهیان منابعی غنی از پروتئین، به‌میزان کم‌تری چربی و کربوهیدرات هستند (۱۸). فانوس ماهیان از ذخایر بکر و دست نخورده‌ای هستند که برای استفاده از آن‌ها جهت مصرف انسانی و خوراک دام پژوهش‌های زیادی انجام شده‌است. مطمئناً با توجه به محدودیت منابع پروتئینی قابل استحصال از دریا، در آینده توجه به استفاده از فانوس ماهیان جایگاه ویژه‌ای خواهد یافت (۱۹). هرچند استفاده ازاین ماهیان برای

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]
[DOI: 10.22034/aer.1.1.33]

تولید پودر ماهی و تغذیه دام معمول است ولی یکی از بهترین روش‌های استفاده از این منبع وسیع پروتئین خدادادی ارزان، تولید مواد بیولوژیک فعال و ارزشمند قابل استفاده در صنایع دارویی و غذایی است (۲۰). یکی از این مواد بیولوژیک پپتیدهای ضدمیکروبی هستند، لذا در تحقیق حاضر هیدرولیز آنزیمی برای تولید ترکیبات زیست فعال از فانوس‌ماهیان دریای‌عمان به‌کار گرفته شد و به‌منظور ارزیابی اثرات ضد باکتریایی این مواد از روش‌های انتشار دیسک و رقیق‌سازی در برابر ۴ باکتری استاندارد ذکر شده استفاده گردید.

مواد و روش‌ها

فانوس ماهیان (*Benthosema pterotum*) با وزن متوسط ۱۰-۲ گرم از دریای عمان (طول و عرض جغرافیایی 57 00 E /25 10 N) صید و با حفظ کامل شرایط انتقال و کنار یخ با هواپیما به آزمایشگاه پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل شد. سپس ماهی‌ها به‌عنوان ماده خام اولیه تا زمان مصرف در دمای فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردید. آنزیم آلکالاز استخراج شده از *Licheniformis bacillus* و فلاورزایم استخراج شده از *Aspergillus oryzae* از نمایندگی شرکت نووزایم دانمارک در ایران تهیه و تا زمان آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

سنجش ترکیبات ماهی: سنجش ترکیبات ماهی برای سنجش ترکیب تقریبی نمونه‌ها از روش AOAC استفاده شد. برای اندازه‌گیری رطوبت از آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد جهت ثابت شدن وزن نمونه استفاده شد. برای تعیین خاکستر، نمونه خشک در بوته چینی ریخته شده و در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ ساعت انکوبه گردید. میزان پروتئین با روش کجلدال به‌دست آمد. چربی کل نیز با سوکسله استخراج شد (۲۱).

هیدرولیز ماهی‌ها: برای تهیه پروتئین هیدرولیز شده از فانوس ماهیان (کل ماهی)، ابتدا ماهی منجمد شده جهت یخزدایی در دمای اتاق قرار گرفت، سپس ۱۰۰ گرم از آن توزین و به دو ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری (هر کدام ۵۰ گرم) انتقال داده شد. سپس میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با نسبت وزنی- حجمی ۱ به ۲ به هر ارلن مایر حاوی نمونه اضافه شد. سپس ارلن‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه درون حمام آبی با دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا آنزیم‌های داخلی پوست غیرفعال شوند (۱۱). بعد از خنک شدن ارلن‌ها، آنزیم آلکالاز به‌میزان ۱ درصد محتوی پروتئین به ارلن اول اضافه شد و هیدرولیز به‌مدت ۹۰ دقیقه در pH ۸/۵ و دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از آن آنزیم فلاورزایم به مقدار ۱ درصد محتوی پروتئین به ارلن دوم اضافه شد و هیدرولیز به‌مدت ۹۰ دقیقه در pH ۷ و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انجام گردید. سپس از فرآیند حرارتی در دمای ۹۰ درجه به‌مدت ۱۰ دقیقه جهت غیرفعال کردن آنزیم‌ها استفاده گردید. بعد از این زمان، ارلن‌ها در دمای محیط خنک و سپس محتویات آن‌ها،۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰ ×gدر دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریفوژ شدند. سوپرناتانت‌ها (مایعات رویی) با استفاده از خشک‌کن انجمادی، خشک شدند (۲۲). پودرهای تولیدی در کیسه‌های زیپ‌دار در فریزر در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگه داری شدند. تولید پروتئین هیدرولیز شده در سه تکرار انجام گردید.

اندازه‌گیری میزان هیدرولیز: اندازه‌گیری میزان هیدرولیز (DH) به‌کمک تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۲۰ درصد حجمی/ حجمی اندازه‌گیری شد. مبنای این روش اندازه‌گیری، درصد نسبت پروتئین‌های هیدرولیزی محلول در تری‌کلرواستیک اسید به کل پروتئین‌های موجود در نمونه حاصل از سانتریفوژ پس از هیدرولیز است. بدین‌منظور حجم مساوی از محلول پروتئینی جدا شده با محلول TCA مخلوط شده و پس از هم‌زدن در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه (۶۷۰۰×g) سانتریفوژ شدند. سپس مقدار پروتئین در فاز محلول با روش Lowry اندازه‌گیری گردید. در این روش ایجاد کمپلکس رنگی و شدت رنگ ایجاد شده بستگی به غلظت پروتئینی موجود در نمونه دارد (۲۳). میزان درجه هیدرولیز از طریق معادله ذیل محاسبه شد (۲۴).

$$DH=\frac{\text{TCA10\%—Soluble N in sample}}{\text{Total N in sample}}\times 100$$

جداسازی پپتیدها: جداسازی پپتیدها توسط اولترافیلتراسیون با دو فیلتر آمیکون با وزن مولکولی مختلف (3, 10 MWCO) کیلو دالتون انجام شد. ابتدا پروتئین هیدرولیز شده خام با استفاده از فیلتر آمیکون ۱۰ کیلودالتون در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت زمان ۱۰ دقیقه و با سرعت ۷۵۰۰×g سانتریفوژ شد. سپس پروتئین هیدرولیز شده کم‌تر از ۳ کیلو دالتون در دمای ۲۵ درجه به‌مدت زمان ۲۰ دقیقه و با سرعت ۷۵۰۰×g سانتریفوژ شد. بدین‌ترتیب پپتیدهای بین ۳ و ۱۰ کیلو دالتون و پپتیدهای زیر ۳ کیلو دالتون جدا شدند.

باکتری‌های مورد استفاده: باکتری‌های مورد مطالعه شامل *Streptococcus agalactiae*، *Aeromonas hydrophila*، *Sterptococcus iniae* و *Yersinia ruckeri* به‌صورت لیوفیلیزه از بانک باکتریایی بخش آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز استفاده گردید. این باکتری‌ها از ماهیان بیمار در طول سال‌ها جداسازی شده و دارای سابقه تشخیص مولکولی با PCR و از نظر اسید نوکلئیکی توالی‌یابی شده بودند.

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]

[DOI: 10.22034/aer.1.1.33]

تعیین MIC و MBC به روش میکرودایلوشن (ریز- رقیق سازی): استوک اولیه با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از هر یک از پپتیدهای ضدمیکروبی تولید شده با دو آلکالاز و فلاورزایم به صورت جداگانه تهیه شد. برای ساختن محلول از پودر لیوفیلیزه پروتین هیدرولیز شده زیر ۳ کیلودالتون در آب دوبار تقطیر استفاده شد (۱۸). برای تهیه رقت‌های متوالی از محیط کشت مولر هینتون براث (Merck Germany, Darmstadt) استفاده شد (۲۵). به‌طور خلاصه ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مولر هینتون براث به چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای کشت سلولی اضافه گردید و سپس رقت های متوالی بر مبنای دو در سه تکرار در میکروپلیت تهیه گردید، بدین‌منظور ۱۰۰ میکرولیتر استوک اولیه به گوده هر ردیف اضافه شد و بعد از پیپتینگ، ۱۰۰ میکرولیتر به گوده دوم منتقل و به‌همین صورت تا گوده آخر تکرار شد و از گوده آخر ۱۰۰ میکرولیتر خارج گردید. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت $1/5\times10^{8}$ cfu/ml باکتری‌های آئروموناس هیدروفیلا، استرپتوکوکوس اینه، استرپتو کوکوس آگالاکتیه و یرسینا راکری به‌طور جداگانه در هر دریف (در ۳ تکرار) تلقیح گردید. سپس جذب نوری میکروپلیت در طول موج ۶۲۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفوتومتر (Bio Tek ELx800, USA) خوانده شد. بعد از انکوباسیون ۲۴ ساعته در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد علاوه بر بررسی چشمی رشد باکتری، جذب نوری مجدداً در طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه‌گیری و ثبت شد و حداقل غلظتی که باعث مهار رشد شده بود، به‌عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین MBC، پس از این‌که حداقل غلظت مهاری BPHA و BPHF بر سوش‌های باکتریایی مورد نظر تعیین شد، از سه غلظت بعدی MIC ($^1/_2$ ، $^1/_4$ و $^1/_8$) بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار به‌وسیله سوآپ در شرایط استریل کشت داده شد و پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. رشد باکتری‌ها نشان دهنده حداقل غلظت کشندگی MBC می‌باشد (۲۶).

تعیین قدرت ضدباکتریایی پروتئین‌های ضدمیکروبی به روش انتشار دیسک: در ارزیابی خاصیت ضدباکتریایی پپتیدها به روش انتشار دیسک (Diffusion Disk) ابتدا دیسک‌های بلانک استریل را به‌مدت ۵ دقیقه در استوک پپتیدهای زیست‌فعال زیر ۳ کیلودالتون قرار داده شدند تا پروتئین‌ها کامل جذب دیسک‌ها شوند. سپس باکتری‌های مورد تحقیق در سطح محیط مولر هینتون آگار به‌طور یکنواخت با استفاده از سوآپ استریل کشت داده شده و سپس دیسک‌های آماده شده با استفاده از پنس استریل روی پلیت‌ها قرار داده شدند. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک استاندارد مخصوص آنتی‌بیوگرام هم به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شدند. محیط‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شده و سپس قطر هاله عدم رشد باکتری در مورد هر باکتری برای محصول پپتید ضد میکروبی و آنتی‌بیوتیک‌ها ثبت گردید (سه تکرار) (۲۲).

تجزیه و تحلیل آماری: تمام آزمایش‌ها در سه تکرار انجام و نتایج ثبت گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. میانگین مقادیر و انحراف معیار در نرم‌افزار Excel محاسبه شد. از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۸ برای آنالیز داده‌ها استفاده گردید.

نتایج

نتایج تعیین ترکیبات تقریبی مربوط به تعیین ترکیبات تقریبی خشک شده فانوس ماهی و پروتئین هیدرولیز شده آن توسط دو آنزیم آلکالاز و فلاورزایم در جدول ۱ ارائه شده است. همان‌طوری‌که مشاهده می‌شود میزان پروتئین، در پروتئین هیدرولیز شده فانوس ماهیان به‌میزان قابل توجهی نسبت به ماده اولیه ماهی و سایر ترکیبات شیمیایی بالاتر بود. میزان رطوبت و چربی در پروتئین هیدرولیز شده نسبت به ماده خام ماهی کاهش داشت. درحالی‌که میزان خاکستر در نمونه هیدرولیز شده در مقایسه با نمونه خام افزایش داشت. درجه هیدرولیز پروتئین هیدرولیز شده با آلکالاز بیش‌تر از پروتئین هیدرولیز شده با فلاورزایم بود ($p<0/05$) (جدول ۲).

جدول ۱: آنالیز شیمیایی ماده خام (براساس وزن خشک) و پروتئین‌های هیدرولیز شده حاصل از آن

ماده	رطوبت (٪)	چربی (٪)	خاکستر (٪)	پروتئین (٪)
پروتیین نمونه خام	۱۱/۷۷±۰/۴۵^{a}	۲۵/۳±۰/۰۲^{a}	۱۸/۴±۰/۰۵ ^{a}	۲۱/۱۵±۰/۱۲ ^{a}
پروتیین هیدرولیز شده با آنزیم آلکالاز	۳۶/۹±۰/۰۴^{b}	۳۶/۱±۰/۰۱^{b}	۴۱/۸±۰/۰۷ ^{b}	۲۶/۸±۰/۸۵ ^{b}
پروتیین هیدرولیز شده با آنزیم فلاورزایم	۷۵/۹±۰/۰۳ ^{c}	۶۴/۱±۰/۰۵ ^{c}	۶۸/۸±۰/۰۴ ^{c}	۴۵/۷۹±۰/۳۶ ^{c}

حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]
[DOI: 10.22034/aer.1.1.33]

جدول ۲: درجه هیدرولیز پروتئین هیدرولیز شده فانوس ماهیان

آنزیم	PH	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان (دقیقه)	درجه هبدرولیز (٪)
آلکالاز	۸/۵	۵۸	۹۰	۴۲/۳۵±۰/۱۶ [a]
فلاورزایم	۷	۵۰	۹۰	۲۷/۳۱±۰/۲۱ [b]

حروف متفاوت لاتین اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

فعالیت ضدباکتریایی: در بررسی فعالیت ضدباکتریایی پپتیدهای زیر ۳ کیلودالتون توسط آنزیم آلکالاز و فلاورزایم به‌روش MIC و MBC، نتایج نشان داد کم‌ترین میزان MIC و MBC به باکتری *S. iniae* مربوط بود، یعنی این باکتری بیش‌ترین حساسیت را به پپتید BPHF را نشان داد (جدول ۳). مشاهده هاله عدم رشد پپتیدهای زیست‌فعال فانوس‌ماهیان در محیط کشت باکتری‌های *A. hydrophila*، *S. agalactiae*، *S. iniae*، *Y. ruckeri* موید اثر ضدباکتریایی پپتیدهای مذکور بود ولی قابل رقابت با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد اریترومایسین، کلرامفنیکل و تتراسایکلین نبود. هم‌چنین باکتری‌های *S. iniae* و *Y. ruckeri* در برابر آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین هیچ‌گونه هاله عدم رشد مشاهده نگردید (جدول ۴).

جدول ۳: میزان حداقل غلظت ممانعت کنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) فرکشن‌های پپتیدهای زیست فعال

باکتری	آنزیم	MIC (میکروگرم/ میلی‌لیتر)	MBC (میکروگرم/ میلی‌لیتر)
A. hydrophila	BPHA	۳۲	۶۴
	BPHF	۳۲	۶۴
S. agalactiae	BPHA	۶۴	۶۴
	BPHF	۳۲	۶۴
S. iniae	BPHA	۳۲	۶۴
	BPHF	۱۶	۳۲
Y. ruckeri	BPHA	۶۴	۱۲۸
	BPHF	۳۲	۶۴

جدول ۴: میزان قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) پپتیدهای زیست فعال در برابر باکتری‌های استاندارد

باکتری	BPHA (میلی‌متر)	BPHF (میلی‌متر)	Erythromycin (میلی‌متر)	Chloramphenicol (میلی‌متر)	Tetracycline (میلی‌متر)
A. hydrophila	۱۰	۸	۲۲	۳۵	۲۸
S. agalactiae	۱۱	۸	۲۲	۱۵	۳۲
S. iniae	۱۰	۸	۲۵	۳۵	-
Y. ruckeri	۸	۱۰	۳۸	۱۸	-

بحث

پروتین‌های محلول ماهی، منابع غنی از پپتیدهای زیست فعال با پتانسیل‌های ارزشمند و دارویی می‌باشند. پپتیدهای زیست فعال که به‌صورت غیرفعال در پروتئین اولیه وجود دارند، تحت تاثیر هیدرولیز آنزیمی فعال می‌شوند (۲۷). به‌کارگیری تکنولوژی آنزیمی به‌منظور بازیابی و تغییرات پروتئینی، منجر به تولید طیف گسترده‌ای از اجزای غذایی و محصولات صنعتی گردیده است. هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌های غذایی روشی موثر در بازیابی پپتیدهای زیست فعال قوی می‌باشد. مشخص شده است که پروتئین‌های هیدرولیز شده ماهی کاربردهای تغذیه‌ای و دارویی دارند (۲۸). تحقیقات زیادی روی هیدرولیز آنزیمی قسمت‌های مختلف ماهی با استفاده از آنزیم‌های تجاری صورت گرفته است. بسیاری از این تحقیقات اثر آنزیم‌های مختلف را مورد بررسی قرار دادند که از جمله می‌توان به آنزیم پاپاین با منشا گیاهی، آنزیم تریپسین و کیموتریپسین با منشا جانوری، آنزیم آلکالاز، پروتامکس، فلاورزایم و نئوتراز با منشا میکروبی اشاره داشت. راندمان بازیافت پروتئینی نشان‌دهنده توانایی یک آنزیم در جداسازی پروتئین‌های یک ماده می‌باشد که به خصوصیات ماده مورد نظر، شرایط هیدرولیز و فعالیت آنزیم بستگی دارد (۲۹). نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده آن است که میزان پروتئین پس از هیدرولیز با استفاده از آنزیم آلکالاز و فلاورزایم نسبت به نمونه خام اولیه افزایش داشته (۷۰-۶۵ درصد) و میزان چربی و رطوبت کاهش

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]

[DOI: 10.22034/aer.1.1.33]

یافته است. مطالعات Henriques و همکاران، بر روی پروتئین‌های هیدرولیز شده چندین گونه از ماهیان شمال غرب اسپانیا با استفاده از آنزیم آلکالاز انجام شد که در آن میزان چربی و رطوبت پس از هیدرولیز کاهش یافته و میزان پروتئین تا حد ۶۹/۸ تا ۷۶/۶ درصد افزایش یافت که هم‌سو با نتایج حاضر می‌باشد (۳۰). بررسی انجام شده توسط Ovissipour و همکاران، اثر چهار آنزیم تجاری (آلکالاز، پروتامکس، نئوتراز و تریپسین) بر هیدرولیز پروتئین‌های امعا و احشا ماهی کپور نقره‌ای مورد مطالعه قرار گرفت (۳۱). در این مطالعه بیش‌ترین درجه هیدرولیز مربوط به آنزیم آلکالاز بوده است که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. این امر را می‌توان با توجه به قدرت آنزیم‌ها تحت شرایط این آزمایش توجیه کرد. بدین‌معنی که آنزیم آلکالاز تحت شرایط این آزمایش قوی‌تر از فلاورزایم عمل کرد و توانست طی ۱۸۰ دقیقه، درصد بیش‌تری از پیوندهای پپتیدی مولکول پروتئین را تجزیه کند. برهمین اساس در بررسی دیگری روند هیدرولیز امعا و احشا ماهی تون زرد باله را با استفاده از آنزیم‌های آلکالاز، پروتامکس و فلاورزایم مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که پروتئین هیدرولیز شده آلکالاز به‌صورت معنی‌داری از لحاظ میزان پروتئین بازیافت نیتروژنی و درجه هیدرولیز بالاتر از سایر پروتئین‌های هیدرولیز شده می‌باشد (۲۹). این نتیجه با مطالعه فعلی هم‌خوانی دارد. آنزیم آلکالاز باعث تولید اسیدهای‌آمینه قابل‌دسترس بیش‌تری‌شده و به نوعی مکمل فعالیت پروتئازی باکتری مورد استفاده در جهت هیدرولیز فراتر پپتیدها و متعاقب آن تولید اسیدهای آمینه آزاد می‌باشد. در مطالعه حاضر عملکرد بهینه آنزیم آلکالاز با غلظت ۱/۵ در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد، محدوده PH ۸/۵ و در زمان ۹۰ دقیقه مشاهده شد. این در حالی است که شرایط بهینه برای آنزیم فلاورزایم با غلظت ۱/۵ در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد؛ محدوده PH ۷ و در زمان ۹۰ دقیقه حاصل شد. در خصوص آنزیم آلکالاز بایستی اشاره نمود که بهترین دما برای فعالیت آنزیم بین ۵۰ تا ۵۷ درجه سانتی‌گراد بوده ولی این آنزیم قادر به فعالیت در دماهای پایین‌تر و بالاتر و هم‌چنین دامنه PH ۷-۸/۵ نیز می‌باشد. در مطالعه Yasemi و همکاران، بیشینه دو شاخص دما و زمان برای آنزیم آلکالاز به‌منظور هیدرولیز امعا و احشا کپور سرگنده در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و در زمان ۶۰ دقیقه و کمینه آن‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد ۱۵ دقیقه حاصل شد. در واقع سینتیک بازیافت پروتئینی در طی هیدرولیز آنزیمی به دو قسمت تقسیم‌می‌شود؛ یک‌واکنش اولیه سریع که در آن زنجیره‌های پپتیدی با باندهای ضعیف از ذرات پروتئینی نامحلول جدا می‌شوند و یک واکنش اولیه آهسته‌تر که در آن پروتئین‌های مرکزی زنجیره شکسته می‌شوند. بنابراین کل بازیافت پروتئینی مربوط به کاهش فعالیت آنزیمی، اشباعیت سوبسترا یا بازداری محصول می‌باشد. به طورکلی آنزیم‌ها با منشا میکروبی از جمله آلکالاز دارای مزیت‌های بیش‌تری هستند که می‌توان به پایداری بیش‌تر در برابر حرارت و PH بالا و خصوصیات پروتئولیتیکی اشاره کرد (۳۲). مطالعه حاضر نیز نشان‌دهنده برتری آنزیم آلکالاز در مقایسه با آنزیم فلاورزایم می‌باشد. در این تحقیق مهار رشد باکتری آئروموناس هیدروفیلا، استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استرپتوکوکوس اینیه و یرسینیا راکری توسط پروتئین‌های هیدرولیز شده کم‌تر از ۳ کیلو دالتونِ فانوس ماهیان دیده شد. بیش‌ترین میزان MIC و MBC در پپتیدهای جدا شده با آنزیم آلکالاز (BPHA) در برابر باکتری *Y. ruckeri* به‌ترتیب ۶۴ و ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کم‌ترین میزان در پپتیدهای جدا شده با آنزیم فلاورزایم (BPHF) در برابر باکتری *S. iniae* به ترتیب ۱۶ و ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در مطالعه Cerrato و همکاران، اثرات ضدباکتریایی پروتئین هیدرولیز شده ماهی Yellowfin tuna علیه باکتری آیروموناس هیدروفیلا با روش MIC و MBC انجام شد. این بررسی نشان داد که پپتیدهای مذکور می‌توانند باعث مهار رشد باکتری آیروموناس هیدروفیلا گردد (۳۳). Payam و همکاران، گزارش کردند که عصاره‌های متانولی گناد و عضله خیار دریایی به عنوان مواد زیست فعال اثرات بازدارندگی و کشندگی مشابهی علیه باکتری *A. hyydrophyla* نشان دادند و حداقل غلظت بازدارندگی mg/ml ۶۲/۵ را گزارش نمودند که هم‌سو با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد (۳۴). در بررسی حاضر بیش‌ترین میزان قطر هاله عدم رشد پپتیدهای زیست فعال فانوس ماهیان جدا شده با آنزیم آلکالاز علیه باکتری‌های استرپتوکوکوس آگالاکتیه به‌میزان ۱۱ میلی‌متر مشاهده شد. در بررسی که توسط Salavati Khoshghalb و همکاران، اثرات ضدباکتریایی هم‌ولنف دوکفه‌ای، *Cerastoderma* و *Didacna* به‌عنوان ترکیبات فعال زیستی با استفاده از اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد بررسی گردید، بیش‌ترین میزان را به‌ترتیب ۱۷ و ۱۵ میلی‌متر گزارش نمودند (۳۵). در بررسی که توسط Baco و همکاران، انجام شد، پپتیدهای ضد باکتریایی شناسایی شده با عنوان Fpigmghsrpa که شامل ۱۲ اسیدآمینه می‌باشند، می‌توانند سبب جلوگیری از رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی شوند (۳۶). مکانیسم اثر پپتیدهای ضدباکتریایی با زنجیره آمینواسیدی کم‌تر از ۳ کیلودالتون براساس ویژگی‌های بیوشیمیایی مثل بارخالص به‌دو گروه پپتیدهای کاتیونی و پپتیدهای آنیونی تقسیم می‌شوند. اغلب پپتیدهای ضد میکروبی کاتیونی هستند (۳۷). هرچند مکانیسم دقیق عملکرد آن‌ها هنوز به‌طور دقیق مشخص نشده است ولی تصور بر آن است که این پپتیدهای باردار مثبت، پوشش سلولی باکتریایی که بار منفی دارد را هدف قرار می‌دهند. سپس با نفوذ به درون غشای سلول، ساختار

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]

[DOI: 10.22034/aer.1.1.33]

سلولی را تخریب کرده و منجر به تراوش اجزای سیتوپلاسم به بیرون و نهایتاً مرگ سلولی می‌شوند (۳۸). درحالی‌که پپتیدهای ضد میکروبی آنیونی، گیرنده‌های ویژه‌ای را هدف قرار داده و به‌عنوان بازدارنده‌های اصلی مسیرهای متابولیکی رفتار می‌کنند (۳۹). هم‌چنین این پپتیدها می‌توانند بدون لیز غشایی، با تغییر متابولیسم سلول باکتری و تراوش مواد به داخل سلول باعث از بین رفتن باکتری گردند. بنابراین می‌توان از پپتیدهای ضد باکتریایی برای ساخت آنتی‌بیوتیک‌های جدید در صنایع دارویی و صنایع غذایی استفاده کرد (۴۰). با توجه به نتایج به‌دست آمده در بررسی حاضر نشان داده شد که اولاً حساسیت باکتری‌های مورد مطالعه به پپتیدهای زیست فعال بسیار متفاوت است ولی با توجه به نوع باکتری، استفاده از این پپتیدها در درمان و پیشگیری از بیماری‌های باکتریایی ماهی نیاز به بررسی‌های مورد ارزیابی قرار گیرد.

منابع

1. **Gao, R., Yu, Q., Shen, Y., Chu, Q., Ge, C., Fen, S., Yang, M., Yuan, L., McClements, D.J. and Sun, Q., 2021.** Production, bioactive properties, and potential applications of fish protein hydrolysates: Developments and challenges. *Trends Food Sci Technol*. 110: 687-699. doi: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.031
2. **Adel, M., Pourgholam, R., Zoriehzahra, S.J., Safari, R. and Ghiasi, M., 2015.** The effect of different level of *Mentha piperita* on growth performance, body composition, Intestinal bacteria and survival rate of *Oncorhynchus mykiss* in challenging with *Yersinia ruckeri*. *Aquat Ecol*. 4(4): 70-62.
3. **Mortazi, M., Omidzahir, S. and Akhoundian, M., 2021.** Study the occurrence of *Aeromonas hydrophila* septicemia in Carassius gibelio of Shazde River of Babolsar. *Veterinary Researches & Biological Products*. 34(1): 140-147. doi: 10.22092/VJ.2020.128309.1645
4. **Zorriehzahra, M.J., Adel, M. and Torabi Delshad, S., 2017.** Enteric redmouth disease: Past, present and future: A review. *Iran J Fish Sci.* 17(4): 1135-1156. doi: 10.22092/IJFS.2018.114726
5. **Sepahdari, A., Saeedi, A.S., Kakoulaki, S., Habibi Kotanaee, F. and Babaalian, A.R., 2014.** Incidence of streptococcusis in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) farms in Haraz River in Mazandaran Province, Iran. *Iran J Fish Sci.* 22(4): 41-50. doi: 20.1001.1.10261354.1392. 22.4.4.9
6. **Zorriehzahra, M.J., Mehrabi, M. and Rezvani, S., 2014.** Introducing of the most important rearing Tilapia infectious diseases (bacterial and viral) in hatchery phase till offer to the market (Grow out phase). *J Ornam Aquat*. 1(3): 9-20. doi: 20.1001.1.24234575.1393.1.3.2.1
7. **Harikrishnan, R., Nisha, M.R. and Balasundaram, C., 2003.** Hematological and biochemical parameters in common carp, Cyprinus carpio, followingherbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture*. 221 (1-4): 41-50. doi: https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03) 00023-1
8. **Ucak, I., Afreen, M., Montesano, D., Carrillo, C., Tomasevic, I., Simal-Gandara, J. and Barba, F.J., 2021.** Functional and bioactive properties of peptides derived from marine side streams. *Mar Drugs*. 19(2): 71. doi: https://doi.org/10.3390/md19020071
9. **Rabiei, S., Nikoo, M., Rezaei, M. and Rafieian-Kopaei, M., 2018.** A review on therapeutic effects of marine bioactive peptides in animal models and human. Iranian *Journal of Physiology and Pharmacolog*. 2(4): 213-201.
10. **Javaherdoust, S., Yeganeh, S. and Keramat Amirkolaie, A., 2019.** Effects of dietary rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) viscera protein hydrolysate on some hematological and blood serum biochemical parameters of rainbow trout juvenile. *Iran Fish Sci J*. 28(2): 71-83. doi: 10.22092/ISFJ.2019.118925
11. **Guerard, F., Guimas, L. and Binet, A., 2002.** Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. *J Mol Catal B Enzym*. 19: 489-498. doi: https://doi.org/10.1016/S1381-1177(02)00 203-5
12. **Bi, J., Tian, C., Jiang, J., Zhang, G.L., Hao, H. and Hou, H.M., 2020.** Antibacterial activity and potential application in food packaging of peptides derived from turbot viscera hydrolysate. *J Agric Food Chem*. 68(37): 9968-9977. doi: https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc. 0c03146.
13. **Anil, K.T. and Sunil, K., 2016.** Biochemical characterisation and antibacterial properties of fish skin mucus of freshwater fish (*Hypophthalmichthys nobilis*). *Int J Pharm Pharm Sci*. 8(6): 6-10.
14. **Robert, M., Zatylny-Gaudin, C., Fournier, V., Corre, E., Le Corguillé, G., Bernay, B. and Henry, J., 2015.** Molecular characterisation of peptide fractions of a Tilapia (*Oreochromis niloticus*) byproduct hydrolysate and in vitro evaluation of antibacterial activity. *Process Biochem*. 50(3): 487-92. doi: https://doi.org/10.1016/j. procbio.2014.12.022
15. **Sila, A., Nedjar-Arroume, N., Hedhili, K., Chataigné, G., Balti, R., Nasri, M., Dhulster, P. and Bougatef, A., 2014.** Antibacterial peptides from barbel muscle protein hydrolysates: Activity against some pathogenic bacteria. *LWT-Food Sci Technol*. 55(1): 183-188. doi: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.07.021
16. **Valinassab, T., Pierce, J. and Johannesson, K., 2006.** Lantern fish (*Benthosema pterotum*) resources as a target for commercial exploitation in the Oman Sea. *J Appl Ichthyol*. 23(5): 573-577. doi: https://doi.org/10.1111/j. 1439-0426.2007.01034.x
17. **Zahuranec, B., Karuppasamy, P.K., Valinassab, T., Kidwai, S., Bernardi, J. and Bernardi, G., 2012.** Cryptic speciation in the mesopelagic environment: Molecular phylogenetics of the lanternfish genus Benthosema. *Mar Genom*. 7: 7-10. doi: https://doi.org/ 10.1016/j.margen.2012.05.001
18. **Chai, H.J., Chan, Y.L., Li, T.L., Chen, Y.C., Wu, C.H., Shiau, C.Y. and Wu, C.J., 2012.** Composition characterization of Myctophids (*Benthosema pterotum*): Antioxidation and safety evaluations for Myctophids protein hydrolysates. *Int Food Res J.* 46(1): 118-126. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.12.008
19. **Shaviklo, A. and Moradi, Y., 2019.** Supplying nutritional needs of livestock and humans from lanternfishes. *Iran Fish Sci J*.28(4): 90-96. doi: 10.22092/ ISFJ.2019.119466
20. **Asgarzadeh, F., Ataei, M. and Choobkar, N., 2020.** Comparative comparison of physicochemical properties

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]
[DOI: 10.22034/aer.1.1.33]

21. **Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2002.** Official Methods of Analysis Chemists 14th ed. Washington DC.

22. **Ojagh, S.M., Abdollahzadeh, E., Shabanpour, B., Kordjazi, M. and Khosravi, G.R., 2017.** Effectiveness of bioactive compounds produced by *Lactobacillus lactis* in combination with essential oils, salts and acetic acid to control *Listeria monocytogenes* in liquid model and minced meat of *hypophthalmichthys molitrix*. *Aquatic Physiology and Biotechnology*. 4(4): 89-110. doi: 20. 1001.1.23453966.1395.4.4.7.0

23. **Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., 1951.** Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 193(1): 265-275.

24. **Raghavan, S. and Kristinsson, H.G., 2008.** Antioxidative efficacy of alkali-treated tilapia protein hydrolysates: A comparative study of five enzymes. *J Agric Food Chem.* 56(4): 1434-1441. doi: https://doi.org/ 10.1021/jf0733160

25. **Azizi, R., Motallebi, A., Nazemi, M., Sharifruhani, M. and Afsharnasab, M., 2020.** Survey of antibacterial properties of extracts of green algae ulva fasciata collected from Persian Gulf. *J Anim Environ*. 12(3): 469-474. doi: 10.22034/AEJ.2020.121633 (In Persian)

26. **Ghotaslou, R., Saghati, H., Dehnad, A. and Salahi Eshlaghi, B., 2016.** Antibacterial effects of Azerbaijan honey on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. *Iran J Med Microbiol*. 9(4): 40-46.

27. **Siddik, M.A., Howieson, J., Fotedar, R. and Partridge, G.J., 2021.** Enzymatic fish protein hydrolysatesin finfish aquaculture: a review. *Rev Aquac*. 13(1): 406-430. doi: https://doi.org/10.1111/raq.12481

28. **Montesano, D., Gallo, M., Blasi, F. and Cossignani, L., 2020.** Biopeptides from vegetable proteins: New scientific evidences. *Curr Opin Food Sci*. 31: 31-37. doi: https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.10.008

29. **Ovissipour, M., Rasco, B., Shiroodi, S.G., Modanlow, M., Gholami, S. and Nemati, M., 2013.** Antioxidant activity of protein hydrolysates from whole anchovy sprat (*Clupeonella engrauliformis*) prepared using endogenous enzymes and commercial proteases. *J Sci Food Agric*. 93(7): 1718-1726. doi: https://doi.org/10.1002/jsfa.5957

30. **Henriques, A., Vázquez, J.A., Valcarcel, J., gério Mendes, R.O., Bandarra, M.N. and Pires, C., 2021.** Characterization of protein hydrolysates from fish discards and by-products from the North-West Spain fishing fleet as potential sources of bioactive peptides. *Mar Drugs*. 19(6): 338. doi: https://doi.org/10.3390/ md19060338

31. **Ovissipour, M., Abedian, A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R. and Shahiri, H., 2009.** The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Accipenser persicus*) viscera. *Food Chem*. 115(1): 238-242. doi; https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12. 013

32. **Yasemi, M., Ghomi Marzdashti, M.R., Darnahal, T., Mohammadzadeh, B. and Amini, H., 2013.** Yelid of protein recovery and degree of hydrolysis associated protein hydrolysates from Bighead Carp (*Aristichthys nobilis*) by using enzymes. *Iran Fish Sci J*. 22(1): 149-156. doi: http://hdl.handle.net/1834/36758

33. **Cerrato, A., Capriotti, A.L., Capuano, F., Cavaliere, C., Montone, A.M.I., Montone, C.M., Piovesana, S., Zenezini Chiozzi, R. and Laganà, A., 2020.** Identification and antimicrobial activity of medium-sized and short peptides from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) simulated gastrointestinal digestion. *Foods*. 9(9): 1185. doi: https://doi.org/10.3390/foods9091185

34. **Payam, B., Soltani, M., Shamsaie Mehrgan, M., Rajabi Islami, H. and Nazemi, M., 2021.** Antibacterial activity of sea cucumber (*Holothuria leucospilota*) extracts on *Lactococcus garvieae* and *Aeromonas hydrophila. J Anim Environ*. 13(3): 307-314. doi: 10.22034/AEJ.2020.254363.2387 (In Persian)

35. **Salavati Khoshghalb, M., Moshfegh, A. and Setorki, M., 2020.** Evaluation of Antibacterial Characteristics of Hemolymph of Cerastoderma and Didacna Bivalves in the southern Coasts of Caspian Sea. *J Anim Environ*. 12(1): 369-374. doi: 10.22034/AEJ.2020.105614 (In Persian)

36. **Baco, N., Oslan, S.N.H., Shapawi, R., Mohhtar, R.A.M., Noordin, W.N.M. and Huda, N., 2022.** Antibacterial activity of functional bioactive peptides derived from fish protein hydrolysate. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 967(1): 012019. doi: https://doi.org/10. 1088/1755-1315/967/1/012019

37. **Marshall, S.H. and Arenas, G., 2003.** Antimicrobial peptides: A natural alternative to chemical antibiotics andapotential for applied biotechnology. *Electron J Biotechnol*. 6(3): 96-109.

38. **Bagley, C.P., 2014.** Potential role of synthetic antimicrobial peptides in animal health to combat growing concerns of antibiotic resistance, a review. *Wyno Academic Journal of Agricultural Sciences*. 2(2): 19-28.

39. **Cotter, P.D., Ross, R.P. and Hill, C., 2013.** Bacteriocins -a viable alternative to antibiotics? Nat Rev Microbiol. 11(2): 95-105. doi: https://doi.org/10.1038/nrmicro2937

40. **Pezeshk, S., Ojagh, S.M., Rezaei, M. and Shabanpour, B., 2019.** Fractionation of protein hydrolysates of fish waste using membrane ultrafiltration: investigation of antibacterial and antioxidant activities. *Probiotics Antimicrob Proteins*.11(3): 1015-1022. doi: https://doi.org/10.1007/s 12602-018-9483-y

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-11-15]

[DOI: 10.22034/aer.1.1.33]