مجله علوم و فنون شیلات
دوره ۱۱ شماره ۴، پاییز ۱۴۰۱، صفحات ۳۱۷ تا ۳۳۰

ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و عملکردی و ریزساختار پروتئین ایزوله حاصل از ماهی کپورعلفخوار (*Ctenopharyngodon idella*)

مینا اسمعیلی خاریکی*[1]، شیما منصوری مقدم[1]

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

چکـــیده

پژوهش حاضر با هدف تولید پروتئین ایزوله از بافت عضلانی ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) و بررسی اثر pH استخراج بر خواص مختلف پروتئین انجام شد. پروتئین‌ها با روش تغییر pH در دو تیمار شامل انحلال در pH قلیایی (۱۱/۵) و pH اسیدی (۳) تولید گردیدند و سپس از نظر ارزش غذایی، خواص کارکردی و تغییرات ساختاری مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به نتایج، بازده تولید پروتئین‌ها به طور معنی‌داری در شرایط قلیایی بالاتر از شرایط اسیدی بود ($p<0.05$). بررسی خاصیت امولسیفایری، ظرفیت کف‌کنندگی و ظرفیت جذب آب نشان داد که پروتئین ایزوله شده در pH قلیایی نسبت به تیمار اسیدی برتری داشت ($p<0.05$). همچنین پروتئین‌های استخراج شده حاوی تمامی آمینواسیدهای ضروری در حد توصیه شده برای مصرف روزانه افراد بالغ بودند. بررسی شاخص‌های رنگ نشان داد که پروتئین حاصل از pH اسیدی رنگ روشن‌تر و سفیدتری نسبت به پروتئین استخراج شده در pH قلیایی داشت. بررسی ریزساختار پروتئین‌ها با میکروسکوپ الکترونی روبشی و همچنین بررسی طیف‌های FTIR نشان داد که روش تغییر pH منجر به تخریب گسترده ساختار پروتئین نگردید و هر دو ایزوله پروتئینی دارای تمامی پیک‌های جذبی مرتبط با پیوندهای اصلی ساختار پروتئین‌ها بودند. در مجموع می‌توان بیان نمود که روش تغییر pH یک روش کارآمد جهت استخراج پروتئین با کیفیت بالا از بافت ماهی کپور علفخوار بوده و شرایط متفاوت قلیایی و اسیدی منجر به تولید پروتئین‌هایی با خصوصیات متفاوت می‌گردند که بر اساس نوع کاربرد مورد نظر برای محصول نهایی می‌توانند استفاده شوند.

کـــلید واژه‌ها: پروتئین ایزوله، ریز ساختار، کپور علفخوار، روش تغییر pH

نوع مقـاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۱۵

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۱/۰۹/۳۰

***نویسنده مسئول:**
M.esmaeili@sanru.ac.ir

مقدمه

ماهی یک منبع غنی از پروتئین‌های با کیفیت و اسیدآمینه‌های ضروری است که می‌توانند در اختیار انسان قرار گیرند. یکی از روش‌های استفاده از ماهی‌ها، استخراج پروتئین و تولید محصولاتی با درصد بالای پروتئین است. در سال‌های اخیر، تلاش‌های تحقیقاتی زیادی جهت بررسی روش‌های مختلف استخراج پروتئین از ماهی‌ها به منظور کاربرد در فرمولاسیون‌های مختلف فرآورده‌های غذایی صورت گرفته است. در این راستا روشی به نام روش تغییر pH (pH-shift Method) توسط هالتین و همکاران [1] برای بازیابی پروتئین از انواع مختلف مواد اولیه همانند ماهی‌ها و نرم‌تنان، محصولات جنبی حاصل از فرآوری آبزیان و انواع مختلف مواد اولیه‌ای که ترکیبات پیچیده‌ای دارند معرفی گردید. این روش امکان بازیافت پروتئین با بازدهی بالا و خواص عملکردی مطلوب را از مواد خام پیچیده فراهم می‌سازد [2]. روش تغییر pH در واقع استخراج انتخابی پروتئین‌ها از مواد اولیه‌ی هموژن شده در آب با استفاده از pH قلیایی (بالاتر از ۱۰/۵) و یا اسیدی (پائین‌تر از ۳/۵) برای انحلال پروتئین و به دنبال آن سانتریفیوژ کردن جهت جداسازی ترکیبات ناخواسته‌ی با چگالی بالا و پائین می‌باشد. سپس پروتئین‌ها در pH ایزوالکتریک (معمولا حدود ۵/۵) رسوب می‌کنند و در نهایت پروتئین وارد پروسه آب‌زدائی با فیلتراسیون و یا خشک کردن با خشک‌کن انجمادی می‌گردد [3]. این پروتئین ایزوله می‌تواند با ترکیبات محافظ سرما مخلوط شده و همانند سوریمی یا گوشت چرخ شده ماهی منجمد شود و یا مستقیما خشک شده و به پودر پروتئین برای مصارف بعدی تبدیل شود. اگر این پودر پروتئین از بافت عضلانی ماهی با درصد بالای عضله سفید تهیه گردد، از آنجائی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1401.11.4.2.5]

که درصد چربی و محتوای رنگدانه هِم اندکی دارد، می‌تواند یک منبع بسیار خوب و تغلیظ شده از یک پروتئین با کیفیت و منبعی از آمینواسیدهای با قابلیت هضم بالا باشد که به راحتی می‌تواند به انواع مختلفی از محصولات غذایی اضافه شود [4]. با توجه به اینکه فرآیند تغییر pH هم پروتئین‌های میوفیبریلار و هم پروتئین‌های سارکوپلاسمیک را استخراج می‌کند، بازده پروتئین در این روش در مقایسه با روش‌های مبتنی بر خرد کردن و شستشو دادن بالاتر می‌باشد [5]. همچنین چرخه تغییر pH مورد استفاده در انحلال و ترسیب می‌تواند منجر به تغییراتی (به عنوان مثال پدیده باز شدن و تاخوردگی مجدد) در ساختار سه بعدی میوزین بویژه زنجیره سنگین میوزین شود. این تغییرات ساختاری در طی فرآیند تغییر pH باعث افزایش آبگریزی سطحی پروتئین‌های استخراج شده می‌گردند که به نوبه خود می‌تواند بر بهبود ویژگی‌های کارکردی و تکنولوژیک پروتئین‌های استخراج شده اثرگذار باشد [3]. گستره کاربردهای پروتئین ایزوله ماهی بر اساس خصوصیات کارکردی همانند قدرت انحلال، ظرفیت تشکیل ژل، ظرفیت تشکیل کف، قدرت تشکیل امولسیون و ظرفیت جذب آب و روغن تعیین می‌گردد. این خصوصیات به ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ساختاری پروتئین‌ها مرتبط بوده و در نهایت بر طعم و بافت ماده غذایی که به آن افزوده شده‌اند و بر پذیرش مصرف‌کننده اثر می‌گذارند [6]. در مجموع می‌توان بیان نمود که پروتئین ایزوله یک محصول حد واسط با ارزش تغذیه‌ای مناسب است که به عنوان یک منبع پروتئینی ارزشمند جهت غنی‌سازی محصولات غذایی مختلف به کار رود. در این راستا در پژوهش حاضر، پروتئین ایزوله از ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) در دو pH اسیدی و قلیایی به روش تغییر pH استخراج گردیده و خواص عملکردی، ارزش غذایی و ریزساختار محصولات تولید شده مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه ماده اولیه و تولید پروتئین ایزوله به روش تغییر pH

تعداد پنج قطعه ماهی کپور علفخوار تازه صید شده با میانگین وزنی حدود ۱ کیلوگرم از بازار ماهی‌فروشان تهیه شده و در جعبه‌های یونولیتی حاوی یخ (نسبت یخ به ماهی ۱:۲) در کوتاه‌ترین زمان به آزمایشگاه محل انجام آزمایش انتقال یافتند. ماهی‌ها پس از شستشوی کامل با آب، تخلیه شکمی شده و پس از جداسازی سر و دم، فیله شده و با استفاده از چرخ گوشت به طور کامل چرخ شدند. سپس بافت چرخ شده در بسته‌های پلی‌اتیلنی بسته‌بندی شده و تا زمان انجام آزمایشات در فریزر (۲۰- درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. تولید پروتئین ایزوله به روش عبدالهی و آندلاند [6] با تغییرات اندک صورت گرفت. بدین منظور ابتدا ۱۰۰ گرم از نمونه چرخ شده، پس از خروج از فریزر و انجمادزدائی در یخچال، با ۶ برابر حجمی آب مقطر سرد مخلوط شده و با استفاده از دستگاه هموژنایزر به مدت ۲ دقیقه به طور کامل هموژن شد. سپس با افزودن تدریجی محلول‌های اسیدکلریدریک و هیدروکسید سدیم ۲ مولار، pH محلول با توجه به تیمارهای تعریف شده به pH اسیدی (۳) یا قلیایی (۱۱/۵) رسانده شد. پس از تنظیم pH، ظروف حاوی نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در یک ظرف حاوی یخ انکوبه شدند. در ادامه نمونه‌ها با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار با دور ۸۵۰۰ g و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از طی مدت زمان سانتریفیوژ، لایه محلول میانی که حاوی پروتئین می‌باشد با استفاده از سمپلر، از لایه چربی (فاز بالائی) و لایه رسوب (فاز پائینی) جدا گردید. سپس pH محلول جداسازی شده با افزودن تدریجی محلول‌های اسیدکلریدریک و هیدروکسید سدیم ۱ مولار به pH ایزوالکتریک (۵/۵) رسانده شد تا پروتئین‌ها رسوب نمایند. پس از تنظیم pH مجددا ظروف حاوی نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در یک ظرف حاوی یخ انکوبه شده و سپس با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و دور ۸۵۰۰ g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند و در نهایت در این مرحله فاز رسوب که به عنوان پروتئین ایزوله می‌باشد جداسازی شد. نمونه‌های پروتئین ایزوله با استفاده از دستگاه خشک‌کن انجمادی خشک شده و تا زمان استفاده جهت انجام آزمایشات، در فریزر (۲۰- درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1401.11.4.2.5]

سنجش ترکیبات شیمیایی و ترکیب اسیدهای آمینه

ترکیبات شیمیایی (پروتئین، چربی و خاکستر) نمونه‌ها (ماده اولیه و پروتئین‌های ایزوله) طبق دستورالعمل‌های استاندارد [7] اندازه‌گیری شدند. میزان پروتئین با استفاده از دستگاه کلدال، میزان چربی با استفاده از دستگاه سوکسله و حلال اتر و میزان خاکستر با سوزاندن در کوره الکتریکی در دمای ۵۲۰ درجه اندازه‌گیری شد. به منظور تعیین ترکیب اسیدهای آمینه در پروتئین‌های استخراج شده، در ابتدا نمونه‌ها در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت با استفاده از اسید هیدروکلریدریک ۶ نرمال هیدرولیز شدند. سپس لوله‌های هضم در آون قرار داده شدند و حجم درون لوله‌ها با آب مقطر دو بار تقطیر به ۲۵ میلی‌لیتر رسانیده شد و با استفاده از فیلتر ۰/۴۵ میکرونی، فیلتر گردیدند. با استفاده از ماده او- فتال دی آلدهید (OPA) عمل مشتق‌سازی اسیدهای آمینه انجام شد. سنجش میزان اسیدهای آمینه با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و با استفاده از ستون C_{18} انجام گردید [8].

بازده استخراج پروتئین

میزان بازده پروتئین بر اساس وزن پودر پروتئین ایزوله نسبت به وزن ماده اولیه محاسبه شد [9].

$$\text{میزان بازده (٪)} = \frac{\text{وزن پودر پروتئین}}{\text{وزن ماده اولیه}} \times ۱۰۰$$

ظرفیت جذب آب

برای اندازه‌گیری ظرفیت جذب آب، ابتدا ۱ گرم از هر پودر پروتئین ($W_{Initial}$) در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط بر روی همزن قرار گرفت تا به طور کامل مخلوط شود. در ادامه مخلوط پودر پروتئین و آب مقطر به مدت ۲۰ دقیقه با دور۶۰۰۰ g سانتریفیوز شدند و فاز آب بالایی به طور کامل خارج گردیده و نمونه مرطوب نهایی وزن گردید ($W_{secondary}$). ظرفیت جذب آب با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید [10]؛

$$\text{Water Absorption Capacity (\%)} = \frac{\text{W secondary} - \text{W initial}}{\text{W initial}} \times 100$$

ظرفیت تشکیل و پایداری کف

برای اندازه‌گیری ظرفیت تشکیل و پایداری کف، ۲۵۰ میلی‌گرم از هر پودر پروتئین در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر اولیه ($V_{initial}$) مخلوط و سپس به مدت ۲ دقیقه به وسیله هموژنایزر در دور ۱۰۰۰۰ همگن شد. مخلوط به دست آمده به استوانه مدرج منتقل گردید و حجم کف تشکیل شده بلافاصله بعد از همگن شدن (V_1) و پس از ۶۰ دقیقه (V_{60}) اندازه‌گیری گردید و ظرفیت تشکیل کف و پایداری کف از معادله زیر محاسبه شد [6]:

$$\text{Foaming capacity (\%)} = \frac{\text{V1} - \text{V initial}}{\text{V initial}} \times 100$$

$$\text{Foaming stability (\%)} = \frac{\text{V60} - \text{V initial}}{\text{V initial}} \times 100$$

قدرت تشکیل و پایداری امولیسیون

جهت سنجش شاخص فعالیت امولسیون‌کنندگی (EAI[1]) و پایداری امولسیون (ESI[2]) ابتدا ۶۰۰ میلی‌گرم پودر پروتئین در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده و سپس ۱۰ میلی‌لیتر روغن آفتاب‌گردان به سوسپانسیون قبلی اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۱ دقیقه به وسیله هموژنایزر همگن شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از لایه امولسیون تشکیل شده بلافاصله (A_0) و پس از ۱۰ (A_{10}) دقیقه از زمان تشکیل امولسیون به لوله آزمایش

[1] Emulsion Activity Index
[2] Emulsion Stability Index

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1401.11.4.2.5]

حاوی ۵ میلی‌لیتر SDS (۰/۱ درصد) افزوده شد. در نهایت میزان جذب دو نمونه حاصل در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانده شد. شاخص فعالیت امولیسیون‌کنندگی (EAI) و شاخص پایداری امولیسیون (ESI) با استفاده از معادلات زیر محاسبه شدند [11]:

$$EAI = \frac{2 \times 2.303 \times Absorbance\ 500}{0.25 \times Protein\ concentration}$$

$$ESI = \frac{A0 \times \Delta t}{\Delta A}$$

آنالیز رنگ

رنگ نمونه‌های پروتئین ایزوله توسط دستگاه رنگ‌سنج مورد آنالیز قرار گرفت. شاخص L^* برای بیان روشنایی، شاخص a^* برای بیان قرمزی–سبزی و شاخص b^* برای بیان زردی–آبی مورد سنجش قرار گرفتند و میزان سفیدی نیز با فرمول زیر محاسبه گردید [12]:

$$Whiteness = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2}$$

بررسی ریزساختار

ریزساختار نمونه‌های پروتئین ایزوله در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه شیراز با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM, TESCAN vega3, Czech Republic)، مجهز به یک دوربین AxioCam (100 × objective lens) در دمای اتاق مشاهده شد. قبل از استفاده از SEM، نمونه‌ها با یک پوشش طلا پوشانده شدند [8].

طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریر (FTIR)

به منظور طیف‌سنجی مادون قرمز میزان ۳ میلی‌گرم از نمونه مستقیما" بر روی محل قرارگیری نمونه گذاشته شد و طیف‌سنجی با استفاده از دستگاه FTIR (Tensor II, Bruker, Germany) در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه شیراز انجام شد [6].

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

به منظور تجزیه و تحلیل نتایج از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ استفاده شد. پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک، برای مقایسه تاثیر تیمارهای مختلف بر خصوصیات پروتئین ایزوله از آنالیز تی دو نمونه مستقل استفاده شد و بررسی تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۵ درصد انجام گردید. تمام آزمایشات با سه تکرار انجام شد و برای رسم نمودارها نیز از نرم افزار Excell استفاده گردید.

نتایج

آنالیز ترکیبات شیمیایی

نتایج حاصل از سنجش ترکیبات شیمیایی پروتئین‌های ایزوله تولید شده به دو روش اسیدی و بازی، در جدول ۱ بیان شده است. همان طور که قابل مشاهده است، بین پروتئین، چربی و خاکستر بافت عضله ماهی کپور علفخوار و پروتئین‌های ایزوله حاصل از تیمارهای مختلف تفاوت معناداری وجود داشت ($p<0.05$). همچنین بین درصد پروتئین دو نمونه حاصل از تیمار اسیدی (۳) و قلیایی (۱۱/۵) نیز تفاوت معناداری مشاهده گردید به گونه‌ای که مقدار پروتئین در تیمار قلیایی بالاتر از تیمار اسیدی بود ($p<0.05$).

جدول ۱. درصد ترکیبات شیمیایی (بر اساس وزن خشک) پروتئین‌های ایزوله ماهی کپور علفخوار تولید شده در pHهای ۳ و ۱۱/۵

آنالیز تقریبی (٪)	پروتئین	لیپید	خاکستر
ماده‌اولیه	۶۲/۱۳± ۱/۰۶^{c}	۲۵/۰۶± ۰/۲۶^{a}	۱۲/۵۳± ۰/۴۶^{a}
FPI-3	۸۵/۵۳± ۰/۷۲^{b}	۷/۸۳± ۰/۱۲^{b}	۵/۷۷± ۰/۰۶^{c}
FPI-11.5	۸۶/۵۷ ±۰/۵۳^{a}	۶/۴۷± ۰/۲۱^{c}	۶/۶ ± ۰/۱۴^{b}

FPI-3: پروتئین ایزوله شده در pH اسیدی ۳ و FPI-11.5: پروتئین ایزوله شده در pH قلیایی ۱۱/۵ می باشند.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1401.11.4.2.5]

تمامی داده‌ها حاصل سه تکرار بوده و حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشند ($p<0.05$).

ترکیب اسید آمینه

ترکیب اسیدهای آمینه پروتئین‌های استخراج شده با دو روش اسیدی و قلیایی در جدول (۲) نشان داده شده است. نتایج نشان‌دهنده آن است که تمامی اسیدهای آمینه ضروری ترئونین، هیستیدین، لیزین، متیونین، والین، فنیل‌آلانین، ایزولوسین و لوسین در هر دو نمونه پروتئین استخراج شده وجود داشته و مقدار عددی تمامی اسیدهای آمینه ضروری به جز هیستیدین در پروتئین ایزوله حاصل از شرایط قلیایی بیشتر از پروتئین ایزوله حاصل از شرایط اسیدی بود.

جدول۲. ترکیب اسیدهای آمینه (میلی‌گرم/گرم پروتئین) پروتئین‌های ایزوله ماهی کپور علفخوار

نوع اسید آمینه	FPI-11.5	FPI-3	FAO / WHO بزرگسال (شیرخوار)
آسپارتیک اسید	۴۲/۱۹	۴۷/۶۳	
گلوتامیک اسید	۱۳۶/۷۲	۱۵۳/۸۰	
سرین	۴۷/۷۹	۴۹/۳۵	
گلایسین	۵۸/۸۴	۵۸/۳۰	
آرژنین	۶۷/۳۳	۶۱/۳۱	
آلانین	۸۱/۹۸	۸۳/۶۴	
تیروزین	۴۷/۲۹	۴۱/۷۰	
پرولین	۶۲//۸۱	۷۳/۲۵	
هیستیدین*	۲۹/۵۹	۳۴/۶۳	۱۵ (۲۰)
ترئونین*	۲۴/۸۸	۲۳/۳۵	۲۳ (۳۱)
متیونین*	۲۶/۴۰	۲۳/۷۰	۱۷ (۴۲)
والین*	۶۳/۴۱	۶۱/۶۹	۳۹ (۵۵)
فنیل آلانین*	۲۹/۷۱	۲۳/۵۸	۱۹ (۷۲)
ایزولوسین*	۴۲/۸۱	۳۷/۵۱	۳۰ (۳۲)
لوسین*	۱۱۰/۴۷	۱۰۸/۵۴	۵۹ (۶۶)
لیزین*	۱۲۷/۷۹	۱۱۷/۷۳	۴۵ (۵۷)
مجموع اسیدهای آمینه ضروری	۴۵۵/۰۷	۴۳۰/۷۵	
اسیدهای آمینه ضروری/کل اسیدهای آمینه	۰/۴۵	۰/۴۳	

*** نشان‌دهنده آمینواسیدهای ضروری می‌باشد.**

FPI-3: پروتئین ایزوله شده در pH اسیدی ۳ و FPI-11.5: پروتئین ایزوله شده در pH قلیایی ۱۱/۵ می باشند.

بازده استخراج پروتئین

بازده استخراج پروتئین از ماهی کپور علفخوار به روش تغییر pH در جدول (۳) نشان داده شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، pH استخراج بر میزان بازده نمونه‌های مورد مطالعه تاثیر معنی‌داری را نشان داد، به طوری که شرایط قلیایی نسبت به شرایط اسیدی منجر به بازده بالاتری گردید ($p<0.05$).

جدول ۳. میزان بازده پروتئین و خواص کارکردی پروتئین‌های ایزوله حاصل از عضله ماهی کپور علفخوار در دو pH قلیایی و اسیدی

پایداری کف (٪)	پایداری	ظرفیت امولیسیون-	قدرت تشکیل	ظرفیت جذب آب	بازده (٪)	pH استخراج
۶۵/۳۷ ±۱/۰۷	۶۱/۸۴ ± ۱/۲۳^{a}	۲۹/۴±۱/۲۷^{a}	۶۳/۴±۲/۴۵^{a}	۲۳/۲۸± ۰/۴۸^{a}	۶۴/۰۳ ±۱/۴۲^{a}	۱۱/۵
۴۳/۹۰ ±۱/۲۲^{b}	۳۷/۱۳ ±۰/۷۸^{b}	۱۱/۴± ۰/۵۱^{b}	۳۶/۱۳±۲/۳۱^{b}	۱۸/۵ ±۰/۳۷^{b}	۵۶/۷۴ ±۱/۴۷^{b}	۳

داده‌ها حاصل سه تکرار بوده و حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($p<0.05$).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1401.11.4.2.5]

ظرفیت جذب آب

با توجه به نتایج بدست آمده (جدول ۳)، ظرفیت جذب آب پروتئین استخراج شده از ماهی کپور علفخوار به روش قلیایی به طور معنی‌داری نسبت به نمونه حاصل از روش اسیدی بالاتر بود ($p<0.05$).

ظرفیت تشکیل کف (FC) و پایداری کف (FS)

نتایج حاصل از سنجش ظرفیت تشکیل کف نمونه‌های پروتئین تولید شده به دو روش اسیدی و قلیایی در جدول ۳ نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود ظرفیت تشکیل کف پروتئین ایزوله ماهی کپور علفخوار وابسته به pH استخراج بوده و در نمونه حاصل از pH قلیایی بالاتر از pH اسیدی می‌باشد ($p<0.05$). همچنین تفاوت معناداری در میزان شاخص پایداری کف دو نمونه مشاهده شد (جدول۳) به‌گونه‌ای که در نمونه حاصل از شرایط قلیایی بالاتر از نمونه استخراج شده در شرایط اسیدی بود ($p<0.05$).

ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولیسیون

نتایج حاصل از بررسی ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون پروتئین‌های ایزوله حاصل از ماهی کپور علفخوار در جدول ۳ بیان شده است. با توجه به نتایج، پروتئین ایزوله شده در pH قلیایی ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون بالاتری نسبت به پروتئین ایزوله حاصل از pH اسیدی داشت ($p<0.05$).

آنالیز رنگ

نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های رنگ (a^*، b^* و L^*) و همچنین شاخص سفیدی (W) پروتئین‌های ایزوله ماهی کپور علفخوار استخراج شده در دو pH قلیایی (۱۱/۵) و اسیدی (۳) در جدول۴ ارائه شده است. با توجه به نتایج، در تمامی شاخص‌های رنگی تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار مشاهده شد ($p<0.05$). میزان شاخص‌های a^* و b^* در تیمار قلیایی به طور معنی‌داری از نمونه‌ی اسیدی بیشتر بود. در حالی که نمونه‌ی حاصل از شرایط اسیدی مقدار شاخص L^* (۰/۲۷±۰/۲۶ /۵۶) و درصد سفیدی (۰/۳۷ ± ۵۲/۵۵) بالاتری نسبت به نمونه استخراج شده در شرایط قلیایی داشت.

جدول ۴. شاخص‌های رنگی (مقادیر a^*، b^* و L^*) و سفیدی پروتئین‌های ایزوله بافت ماهی کپور علفخوار

pH	L^*	a^*	b^*	سفیدی
۱۱/۵	۵۲/۵۵±۰/۳۷^b	۵/۴۲±۰/۴۳^a	۲۰/۸۰± ۰/۷۲^a	۴۶/۸۳± ۰/۲۸^b
۳	۵۶/۲۶± ۰/۲۷^a	۳/۰۹±۰/۸۱^b	۱۸/۱۳± ۰/۱۵^b	۵۲/۹۵±۰/۸۹^a

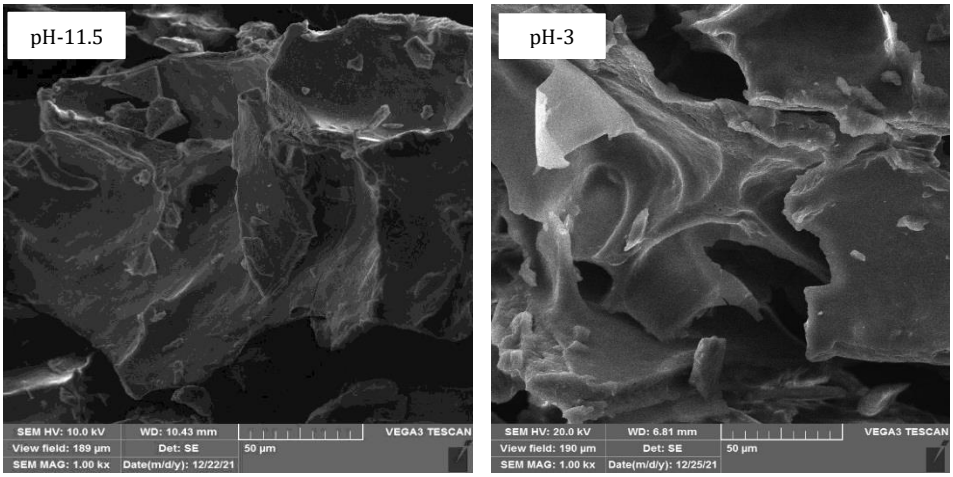
حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است ($p<0.05$).

بررسی ریزساختار

تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مربوط به تأثیر pH بر ریزساختار پروتئین‌های ایزوله ماهی کپور علفخوار استخراج شده در دو pH قلیایی (الف) و اسیدی (ب) در شکل ۱ نشان داده شده است. تصاویر SEM نشان داد تفاوت چندانی بین تصاویر مشاهده نشد و صرفا" پروتئین حاصل از تیمار قلیایی نسبت به تیمار اسیدی تا حدودی دارای ساختار یکنواخت‌تری می‌باشد و در مجموع استخراج با روش تغییر pH منجر به تخریب گسترده ساختارهای پروتئینی نگردید.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

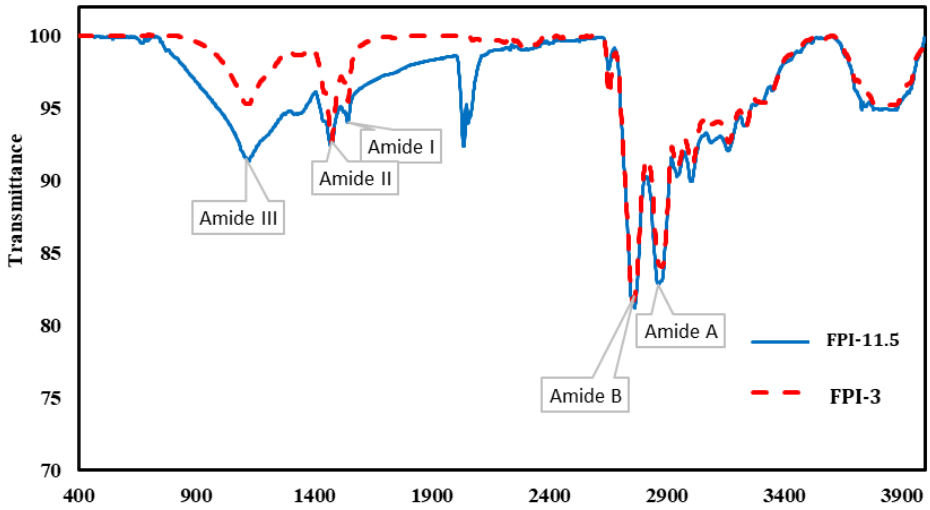
[DOR: 20.1001.1.23225513.1401.11.4.2.5]



شکل ۱. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی پروتئین‌های ایزوله بافت ماهی کپور علفخوار حاصل از pHهای ۳ و ۱۱/۵

طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریر (FTIR)

شکل ۲ طیف FTIR حاصل از بررسی دو نمونه پروتئین ایزوله حاصل از pH قلیایی (۱۱/۵) و اسیدی (۳) استخراج شده از بافت عضلانی ماهی کپور علفخوار را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که پیک‌های اصلی آمید I، آمید II و آمید III در بازه طول موج ۹۰۰ تا ۱۵۰۰ در هر دو تیمار دیده شده‌اند.



شکل ۲. طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) پروتئین‌های ایزوله بافت ماهی کپور علفخوار حاصل از pHهای اسیدی ۳ و قلیایی ۱۱/۵

بحث

ترکیب شیمیایی ماده اولیه مورد استفاده برای تولید پروتئین ایزوله می‌تواند تاثیر مهمی بر ترکیب محصول نهایی تولید شده داشته باشد. آنالیز تقریبی بافت عضله ماهی کپور علفخوار نشان داد که این ماده اولیه دارای ۱/۰۶±۶۲/۱۳ درصد پروتئین است و می‌تواند به عنوان یک منبع پروتئینی ارزشمند، به منظور تولید پروتئین ایزوله مورد استفاده قرار گیرد. درصد بالای پروتئین در نمونه‌های پروتئین ایزوله حاصل از pHهای

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1401.11.4.2.5]

مختلف نیز می‌تواند نشان‌دهنده کارایی بالای روش تغییر pH در فرآیند تولید پروتئین ایزوله و انحلال مناسب پروتئین ماده اولیه باشد. همانگونه که در بخش نتایج مشاهده شد درصد پروتئین نمونه تهیه شده به روش قلیایی به طور معنی‌داری بالاتر از نمونه حاصل از روش اسیدی بود. بالاتر بودن درصد پروتئین نمونه‌ی حاصل از شرایط قلیایی نسبت به شرایط اسیدی می‌تواند به تعامل بین پروتئین و آب مرتبط باشد که در محیط‌های قلیایی تقویت می‌شود و منجر به بهبود حلالیت پروتئین می‌گردد و در نهایت می‌تواند موجب افزایش میزان پروتئین در طی فرآیند استخراج به روش قلیایی شود [1]. مقدار چربی ایزوله‌های پروتئینی در پژوهش حاضر نسبت به ماده اولیه کمتر بود. دلیل کاهش چربی در نمونه‌ها را می‌توان به حذف موثر چربی‌ها در پایان سانتریفوژ مرحله اول نسبت داد. استفاده از سانترفیوژ جهت خارج‌سازی چربی‌های موجود در ماهی، یک مزیت در تهیه پروتئین ایزوله ماهی به روش تغییر pH محسوب می‌گردد [13]. همچنین نمونه‌های پروتئین ایزوله ماهی کپور علفخوار که به روش قلیایی تهیه شده بودند نسبت به نمونه‌های حاصل از روش اسیدی دارای میزان چربی کمتری بودند. بدین معنا که در طی فرآیند استخراج پروتئین به روش قلیایی میزان بیشتری چربی حذف می‌شود. به نظر می‌رسد که در pHهای بالا، غشای سلولی شکسته شده در نتیجه لیپیدها بر اساس اختلاف دانسیته و حلالیت در سانتریفوژ با سرعت بالا جداسازی می‌شوند. با حذف مناسب لیپیدها، کیفیت پروتئین و پایداری آن نسبت به اکسیداسیون افزایش می‌یابد [14, 15]. نتایج مشابهی در تحقیقات راکوئن و همکاران [16] بر روی ماهی تیلاپیا (*Oreochromis sp.*) گزارش شد. همچنین میزان خاکستر نمونه‌ها نسبت به بافت اولیه ماهی کاهش یافت که نشان‌دهنده حذف موثر ناخالصی‌ها در این روش است. با توجه به نتایج بررسی میزان آمینواسیدها در مطالعه حاضر، تمامی اسیدهای آمینه ضروری شامل والین، ترئونین، ایزولوسین، لوسین، لیزین، متیونین و هیستیدین در هر دو نمونه پروتئین ایزوله وجود داشته و مقدار آن‌ها بالاتر از میزان توصیه شده برای بزرگسالان بر اساس WHO و FDA بود [17] و همچنین در تمامی آمینواسیدهای ضروری به جز فنیل‌آلانین، ترئونین و متیونین مقادیر مورد نیاز شیرخواران که بالاتر از بزرگسالان است را نیز تامین می‌کند. این نتایج نشان‌دهنده ارزش غذایی مناسب و کیفیت بالای پروتئین ایزوله حاصل از ماهی کپور علفخوار در پژوهش حاضر می‌باشد و نشان می‌دهد که این پودر پروتئین می‌تواند در فرمولاسیون‌های مختلف به عنوان ماده افزودنی جهت غنی‌سازی و یا به عنوان مکمل‌های پروتئینی مورد استفاده قرار گیرد. نتایج بازده تولید بر اساس نسبت وزن محصول به وزن خشک ماده اولیه مورد استفاده به عنوان یکی از شاخص‌های ضروری جهت ارزیابی کارایی اقتصادی یک تکنولوژی می باشد. بازده پروتئین و به عبارت کلی‌تر بازده تولید در فرآیند تغییر pH تابع سه عامل کلی شامل میزان حلالیت پروتئین در pHهای اسیدی و قلیایی شدید، میزان رسوبات شکل گرفته در سانتریفیوژ اول و نهایتا میزان حلالیت پروتئین‌ها در pH انتخاب شده جهت ترسیب پروتئین در سانتریفیوژ دوم می‌باشد [5]. همانگونه که در نتایج مشاهده گردید بازده استخراج پروتئین از ماهی کپور علفخوار به روش تغییر pH در تیمار قلیایی بالاتر از تیمار اسیدی بود. تعامل بین پروتئین و آب ممکن است در محیط‌های قلیایی تقویت شود و بنابراین منجر به بهبود حلالیت پروتئین گردد که موجب افزایش میزان بازده پروتئین در طی فرآیند استخراج می‌شود [1]. حلالیت پروتئین‌ها در آب به چندین عامل از جمله خصوصیات سطحی اسیدهای آمینه آن‌ها، pH، وزن مولکولی و وضعیت ساختاری آن بستگی دارد [18]. در پژوهش مارمن و آندلاند [19] میزان بازده پروتئین برای ماهی هرینگ (*Clupea harengus*) تخلیه شکمی شده به ترتیب در حالت قلیایی و اسیدی ۵۷/۳±۲/۵ و۵۹/۳±۰/۰۳ گزارش شده است که این ارقام مشابه با تحقیق حاضر بود. ظرفیت تشکیل کف (FC) و پایداری کف (FS) می‌توانند پتانسیل پروتئین‌ها را برای کاربرد در سیستم‌های غذایی خاص روشن کنند [20]. تشکیل کف شامل ۲ مرحله اصلی: ۱-انتشار پروتئین محلول و جذب آن به سطح مشترک مایع-گاز و ۲- باز شدن ساختار پروتئین و جهت‌گیری مناطق آبگریز به سمت فاز گاز و مناطق آب‌دوست به سمت فاز مایع برای تشکیل حلقه‌های کف می‌باشد [21]. پروتئین‌ها با دارا بودن گروه‌های فعال سطحی موجب تشکیل کف می‌شوند. برای شکل‌گیری یک کف خوب، پروتئین باید این توانایی را داشته باشد تا سریع به سطح مشترک آب- هوا مهاجرت کرده، ساختار آن بازشده و در سطح مشترک بین فازها مجددا بازآرائی شود [22]. همچنین با افزایش حلالیت پروتئین‌ها کشش سطحی در فضای بین سطحی حباب‌های هوا و مایع کاهش بیشتری از خود نشان داده و ظرفیت کف‌زایی افزایش می‌یابد. به طور کلی پروتئین‌هایی که به سرعت در حد فاصل مایع و هوا جذب، ساختمان آن‌ها از هم باز شده و در سطح مشترک آب و هوا آرایش مجدد می‌یابند نسبت به پروتئین‌هایی که به آرامی جذب

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1401.11.4.2.5]

سطح مشترک شده و در برابر باز شدن ساختمان‌شان از خود مقاومت نشان می‌دهند کف مطلوب‌تری تشکیل می‌دهند. حلالیت پروتئین عامل مهمی است که پایداری کف را تحت تأثیر قرار می‌دهد، زیرا برای حفظ پایداری حباب‌های هوا، برای ایجاد سطح جذب نیاز به حلالیت خاصی می‌باشد [23]. همانگونه که در بخش نتایج مشاهده گردید، بررسی ظرفیت کف‌کنندگی پروتئین‌های ایزوله بافت ماهی کپور علفخوار نشان داد که در pH قلیایی ظرفیت تشکیل کف پروتئین بالاتر بوده و در تیمار قلیایی مقدار آن بیش از ۶۶ درصد بدست آمد. ظرفیت تشکیل کف بالاتر در pH قلیایی احتمالاً به دلیل افزایش بارهای خالص پروتئین‌ها است که برهمکنش‌های آبگریز را تضعیف می‌کند اما انعطاف‌پذیری پروتئین را افزایش می‌دهد. این شرایط احتمالاً به پروتئین اجازه می‌دهد تا با سرعت بیشتری در سطح مشترک هوا- آب پخش شود تا حباب‌های هوا را محصور کند و تشکیل کف را تقویت کند [24]. با توجه به نتایج، پایداری کف نیز با pH استخراج ارتباط تنگاتنگی دارد. برای تشکیل یک کف پایدار، پروتئین‌ها باید برهم‌کنش‌های گسترده‌ای با یکدیگر در اطراف حباب‌های هوای درون ماتریکس داشته باشند که منجر به تولید کف‌های پایدار می‌شود [25]. یکی دیگر از خصوصیات مهم پروتئین‌ها ظرفیت جذب آب می‌باشد. در واقع جذب آب را باید مهمترین خصوصیت فیزیکی پروتئین‌ها دانست. این پدیده بر ساختمان فیزیکی و خصوصیات ماده غذایی حاوی پروتئین نظیر خشک شدن عمیقاً اثر می‌گذارد. نتایج نشان داد که نوع روش بکار گرفته شده جهت استخراج پروتئین از ماهی اثر معنی‌داری بر ظرفیت جذب آب پروتئین ایزوله داشت، و پروتئین استخراج شده به روش قلیایی نسبت به روش اسیدی، ظرفیت جذب آب بالاتری داشت. دلیل افزایش ظرفیت جذب آب پروتئین با افزایش pH استخراج می‌تواند ناشی از تغییراتی باشد که در ساختار پروتئین و گروه‌های باردار سطحی آن به وجود می‌آید که منجر به در سطح قرار گرفتن مناطق آب دوست می‌شود و در نتیجه با افزایش قطبیت پروتئین، میزان اتصال با آب افزایش می‌یابد. در پژوهش فوه و همکاران [26] که از ماهی تیلاپیا پروتئین استخراج کردند بیان شد که پروتئین استخراج شده در pH ۱۱ دارای ظرفیت جذب آب بالایی می‌باشد. همچنین نتایج پژوهش حاضر در مورد بالاتر بودن ظرفیت حفظ آب در پروتئین‌های استخراج شده از بافت ماهی کپور علفخوار در شرایط قلیایی نسبت به شرایط اسیدی، هم‌راستا با نتایج پژوهش ستی و همکاران [10] در مورد بررسی ظرفیت جذب آب پروتئین ایزوله ماهی *Lathyrus sativus* به روش تغییر pH می‌باشد. این محققین بیان کردند که بالاتر بودن درصد ظرفیت نگهداری آب پروتئین‌های حاصل از pH قلیایی می‌تواند مرتبط با تعامل بین پروتئین و آب باشد که در محیط‌های قلیایی تقویت می‌شود. همچنین آزادیان و همکاران [9] پروتئین ماهی کپور نقره‌ای را در دو pH ۱۱ و ۱۲ استخراج کردند و ظرفیت جذب آب پروتئین‌های استخراج شده را به ترتیب (۲/۵۸±۰/۱ g/g) و (۲/۶۱±۰/۱۳ g/g) گزارش کردند. تفاوت نتایج پژوهش‌های مختلف در مورد مقادیر ظرفیت اتصال پروتئین‌های ایزوله به آب را می‌توان به تفاوت در متغیرهای فرآیند استخراج و ویژگی‌های ساختاری و پایداری پروتئین‌های ماده اولیه نسبت داد [27]. مطالعه و ارزیابی ظرفیت امولسیون‌کنندگی، به دلیل اهمیت آن از نظر فناوری غذایی به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است، زیرا امولسیون شدن یک خاصیت مهم در بسیاری از محصولات غذایی مانند سس‌ها، سوپ‌ها و خامه است [28]. این سیستم‌های امولسیونی اغلب ناپایدار هستند و به همین دلیل، جستجوی مداوم برای به دست آوردن امولسیفایرهایی با ویژگی‌های بهتر ضروری است. در واقع ظرفیت تشکیل امولسیون مولفه‌ای است که می‌تواند پتانسیل پروتئین‌ها برای کاربرد در طیف وسیعی از محصولات غذایی مبتنی بر امولیسیون را تعریف کند. پروتئین‌ها از آمینواسیدهای باردار، آمینو اسیدهای قطبی بدون بار و آمینو اسیدهای غیرقطبی با انواع مختلف گروه‌های فعال سطحی تشکیل شده‌اند که این عوامل باعث می‌شوند پروتئین بتواند به عنوان یک امولسیفایر عمل کند. داشتن همزمان هر دو خصوصیت آبدوستی و آبگریزی، پروتئین را قادر می‌سازد تا بتواند همزمان به آب و روغن در یک سیستم غذایی متصل شود .این پروتئین‌ها در سطح بین فاز آب و روغن جذب شده و از طریق فعل و انفعال انتخابی با هر دو سطح، منجر به تثبیت آب و روغن می‌شوند و از دو فاز شدن امولسیون جلوگیری می‌کنند [29, 30]. در فرآیند ایزوله کردن پروتئین با روش تغییر pH، ممکن است قسمت‌هایی از تاخوردگی ساختار پروتئین باز و پروتئین تا حدودی دناتوره شود. این دناتوره شدن جزئی پروتئین منجر به باز شدن ساختار مارپیچی پروتئین شده و در نتیجه گروه‌های آبگریز در سطح ساختار پروتئین قرار می‌گیرند [31]. تیمارهای مختلف اسیدی و قلیایی نیز اثرات متفاوتی بر خواص امولسیون‌کنندگی پروتئین دارند. همانگونه که در بخش نتایج مشاهده گردید ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین ایزوله ماهی کپور علفخوار

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1401.11.4.2.5]

حاصل از تیمار قلیایی برابر ۱/۲۷ ± ۲۹/۴ m^2/g بدست آمد که نسبت به تیمار اسیدی بالاتر بود. نتایج مشابه با پژوهش حاضر در مطالعه آزادیان و همکاران [13] بر روی پروتئین‌های ایزوله شده از ماهی کپور نقره‌ای در pHهای ۱۱ و ۱۲ گزارش شد. ظرفیت تشکیل امولیسیون بالاتر پودر پروتئین حاصل از pH قلیایی ممکن است به دلیل بالا بودن نواحی ابگریز و آب دوست در ساختار پروتئین باشد که سبب جذب سر آبگریز پروتئین استخراجی به سلول چربی غیرقطبی روغن می‌شود و در نتیجه فعالیت امولیسیفایری پروتئین ایزوله را افزایش می‌دهد [32]. رنگ یکی از فاکتورهای مهم تجاری پودر پروتئین از نظر پذیرش مصرف کننده است، زیرا ممکن است به بازارپسندی و جذابیت محصول برای مصرف‌کننده کمک کند. رنگ‌های مختلف پروتئین‌های استخراج شده از ماهیان به ترکیب مواد اولیه و شرایط استخراج بستگی دارد [33]. رنگ تیره‌تر پودر پروتئین ممکن است برای مصرف‌کنندگان جذابیت کمتری داشته باشد بنابراین کاربرد آن به عنوان ماده غذای محدود می‌شود [34]. کمیسیون بین المللی نورتابی (CIE) در سال ۱۹۷۶، فضای متفاوتی برای همبستگی بیشتر اختلاف رنگ ثبت شده و رنگ مشاهده شده معرفی کرد و این مقیاس را به نام فضای رنگ CIE LAB نامید که اجزای آن *a، *b و L^* می‌باشند. در این فضای رنگ، شاخص L^* بیانگر روشنایی (صفر تا ۱۰۰) است و *a محور قرمز/ سبز (۶۰- تا ۶۰+) و *b محور زرد/ آبی (۶۰- تا ۶۰+) می‌باشد. عوامل مختلفی مثل دناتوره شدن پروتئین، اکسیداسیون چربی، اتولیز، فساد و غیره می‌توانند بر شاخص‌های رنگی تاثیرگذار باشند. با توجه به نتایج پژوهش حاضر، میزان سفیدی و همچنین شاخص روشنایی در پروتئین حاصل از تیمار اسیدی بالاتر از تیمار قلیایی بوده است که احتمالا به دلیل حذف بسیاری از رنگدانه‌های تیره و دناتوره شدن هموگلوبین و حذف آن در شرایط اسیدی است [31, 16]. قرمز بودن نمونه‌ها نیز به وجود رنگیزه‌هایی مانند هموگلوبین در محصول مرتبط است [13]. در مطالعات بیان شده است که در حین استخراج پروتئین در pH قلیایی، ساختار هموگلوبین باز شده و منجر به رنگ متمایل به زرد- قهوه‌ای می‌شود. این پروتئین‌های دناتوره شده ممکن است در طی فرآیند استخراج رسوب کنند و در نتیجه منجر به ایجاد رنگ زرد در پروتئین‌ها شوند که در پژوهش حاضر نیز مشاهده گردیده است [35]. شرایط اسیدی تجزیه رنگدانه‌هایی مانند هموگلوبین را راحت‌تر می‌کند در نتیجه نمونه‌های پودر پروتئین ایزوله تهیه شده به روش اسیدی دارای رنگ روشن‌تری می‌باشند [13]. بررسی ریزساختار مواد یکی از پارامترهای کلیدی در مطالعه و بررسی خواص آن‌هاست. از این رو دانشمندان همواره به دنبال ابزارهایی هستند که به کمک آن‌ها بتوانند با دقت خوبی ریز ساختار مواد را مشاهده و بررسی نمایند. با توجه به شکل ۱ که تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی پروتئین‌های ایزوله بافت ماهی کپور علفخوار را نشان می‌دهد تفاوت چندانی بین دو تیمار مشاهده نشد و هر دو پروتئین ایزوله ساختار ورقه ای نشان دادند و تفاوت های اندک بین دو تیمار می‌تواند به دلیل تفاوت در تجمع ذرات پروتئین باشد. . طیف FTIR پودرهای پروتئین ایزوله ماهی کپور علفخوار استخراج شده در دو pH اسیدی (۳) و قلیایی (۱۱/۵) که در شکل ۲ نشان داده شده است بیانگر آن است که ۳ پیک اصلی آمید I، آمید II و آمید III در بازه طول موج ۹۰۰ تا ۱۵۰۰ در هر دو تیمار دیده شده است. هر دو نمونه یک باند جذبی مشخص در طول موج cm^{-1} ۳۴۰۰-۲۹۰۰ (آمید A، باند N-H یا o-H)، cm^{-1} ۲۹۰۰-۲۴۰۰ (آمید B)، cm^{-1} ۱۹۰۰-۱۶۰۰ (آمید I، باند C=0 و N-H)، cm^{-1} ۱۶۰۰-۱۴۰۰ (آمید II، C-N و N-H) و cm^{-1} ۱۴۰۰-۹۰۰ (آمید III) را از خود نشان دادند [6]. نتایج حاصل از پژوهش عبدالهی و آندلاند [6] در مورد پروتئین ایزوله حاصل از گونه‌های مختلف ماهی نیز مشابه با نتایج تحقیق حاضر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در یک جمع‌بندی کلی می‌توان گفت که فرآیند تغییر pH توانست به طور کارآمدی منجر به بازیافت پروتئین ایزوله از ماهی کپور علفخوار شود. پروتئین ایزوله به دست آمده از خواص تغذیه‌ای مناسبی برخوردار بود به گونه‌ای که از نظر ترکیب آمینواسیدها ارزش غذایی بالایی را نشان دادند و حاوی تمامی آمینواسیدهای ضروری در حد توصیه شده برای مصرف روزانه افراد بالغ بودند. خصوصیات پروتئین‌های ایزوله به طور معنی‌داری به pH استخراج آن بستگی داشت به گونه‌ای که پروتئین استخراج شده در شرایط قلیایی خواص کارکردی بهتری نشان داد و در مقابل، پروتئین ایزوله شده در pH اسیدی رنگ روشن‌تر و سفیدتری داشت. بررسی ریزساختار پروتئین‌ها با میکروسکوپ الکترونی روبشی و همچنین بررسی طیف‌های جذبی مادون قرمز نمونه‌ها نشان داد که روش تغییر pH منجر به تخریب گسترده ساختار پروتئین نگردید و هر دو ایزوله پروتئینی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1401.11.4.2.5]

حاصل از شرایط اسیدی و قلیایی دارای تمامی پیک‌های جذبی مرتبط با پیوندهای اصلی ساختار پروتئین‌ها بودند. در مجموع می‌توان بیان نمود که روش تغییر pH یک روش کارآمد جهت استخراج پروتئین با کیفیت بالا از بافت ماهی کپور علفخوار بوده و بر اساس نتایج بدست امده در این مطالعه، pH قلیایی نسبت به pH اسیدی شرایط بهتری را برای تولید پروتئین ایزوله به‌همراه داشته است.

تقدیر و تشکر: این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تحت قرارداد با شماره ۰۹-۱۴۰۱-۰۳ انجام شد که به این وسیله سپاسگزاری می‌شود.

تاییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

سهم نویسندگان: مینا اسمعیلی خاریکی (مجری طرح، پژوهشگر اصلی، ۵۵ درصد) و شیما منصوری مقدم (همکار طرح، نگارنده مقدمه، ۴۵٪)

منابع

1- Hultin HO, Kelleher SD, Feng Y, Richards MP, Kristinsson H, Undeland I, Ke S, inventors; University of Massachusetts UMass, assignee. High efficiency protein extraction. United States patent US 7,556,835. 2001.
2- Surasani VK, Raju CV, Shafiq U, Chandra MV, Lakshmisha IP. Influence of protein isolates from Pangas processing waste on physico-chemical, textural, rheological and sensory quality characteristics of fish sausages. LWT-Food Science and Technology. 2020; 117:108662.
3- Abdollahi M, Rezaei M, Jafarpour A, Undeland I. Dynamic rheological, microstructural and physicochemical properties of blend fish protein recovered from kilka (*Clupeonella cultriventris*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) by the pH-shift process or washing-based technology. Food Chemistry. 2017; 229: 695-709.
4- Santana P, Huda N, Yang TA. Technology for production of surimi powder and potential of applications. International Food Research Journal. 2012; 19(4): 1313–1323.
5- Nolsøe H, Undeland I. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: state of the art. Food and Bioprocess Technology. 2009; 2(1):1-27.
6- Abdollahi M, Undeland I. Structural, functional, and sensorial properties of protein isolate produced from salmon, cod, and herring by-products. Food and Bioprocess Technology. 2018; 11(9): 1733-49.
7- AOAC, Oficial methods of analysis of AOAC international. USA: Association of Official and Analytical Chemists, International Virginia. 2005.
8- Chomnawang C, Yongsawatdigul J. Protein Recovery of Tilapia Frame By-Products by pH-Shift Method. Journal of Aquatic Food Product Technology. 2013; 22(2): 112-20.
9- Tian J, Wang Y, Zhu Z, Zeng Q, Xin M. Recovery of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Protein isolate by high-intensity ultrasound-aided alkaline isoelectric solubilization/ precipitation process. Food and Bioprocess Technology. 2015; 8:758–769.
10- Sethi S, Yadav DN, Snigdha S, Gupta A. Optimization of process parameters for extraction of protein isolates from Khesari dhal (*Lathyrus sativus* L). LWT-Food Science and Technology. 2021; 137:110368.
11- Dara PK, Geetha A, Mohanty U, Raghavankutty M, Mathew S, Nagarajarao RC, Rangasamy A. Extraction and characterization of myofibrillar proteins from different meat sources: a comparative study. Journal of Bioresources and Bioproducts. 2021; 6(4): 367-78.
12- Mir NA, Riar CS, Singh S. Physicochemical, molecular and thermal properties of high-intensity ultrasound (HIUS) treated protein isolates from album (*Chenopodium album*) seed. Food Hydrocolloids. 2019; 96: 433–441.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1401.11.4.2.5]

13- Azadian M., Moosavi-Nasab M. Production of protein isolate and surimi from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and survey their gel and powder colorimetric and chemical parameters. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 2011; 20: 1-10.
14- Chen YC, Jaczynski J. Protein recovery from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processing byproducts via isoelectric solubilization/precipitation and its gelation properties as affected by functional additives. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007; 55 (22): 9079-88.
15- Kristinsson HG, Liang T. Effect of pH-shift processing and surimi processing on Atlantic croaker (*Micropogonias undulates*) muscle proteins. Journal of Food Science. 2006; 7: 298-06.
16- Rawdkuen S, Sai-Ut S, Khamsorn S, Chaijan M, Benjakul S. Biochemical and gelling properties of tilapia surimi and protein recovered using an acid-alkaline process. Food Chemistry. 2009; 112 (1): 112-9.
17- WHO/FAO/UNU. Protein and amino acid requirements in human nutrition. World Health Organization, technical report series, 2007; (935), 1–265.
18- Piornos JA, Burgos-Díaz C, Ogura T, Morales E, Rubilar M, Maureira-Butler I, Salvo-Garrido H. Functional and physicochemical properties of a protein isolate from AluProt-CGNA: A novel protein-rich lupin variety (*Lupinus luteus*). Food Research International. 2015; 76: 719–24.
19- Marmon SK, Undeland I. Protein isolation from gutted herring (*Clupea harengus*) using pH-shift processesJournal of Agricultural and Food Chemistry. 2010; 58 (19): 10480-6.
20- Shevkani K, Singh N, Kaur A, & Rana J. C. Structural and functional characterization of kidney bean and field pea protein isolates: a comparative study. Food Hydrocolloids. 2015; 43: 679–689
21- Abdollahi M, Rezaei M, Jafarpour A, Undeland I. Sequential extraction of gel-forming proteins, collagen and collagen hydrolysate from gutted silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), a biorefinery approach. Food Chemistry. 2018; 242: 568-78.
22- Klompong V, Benjakul S, Kantachote D, and Shahidi, F. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. Food Chemistry. 2007; 102: 1317-1327.
23- Pirestani S, Nasirpour A, Keramat J, Desobry S. Preparation of chemically modified canola protein isolate with gum Arabic by means of Maillard reaction under wet-heating conditions. Carbohydrate Polymers. 2017; 155: 201–07.
24- Benelhadj S, Gharsallaoui A, Degraeve P, Attia H, Ghorbel D. Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* protein isolate. Food Chemistry. 2016; 194: 1056–63.
25- Jain S, Anal AK. Optimization of extraction of functional protein hydrolysates from chicken egg shell membrane (ESM) by ultrasonic assisted extraction (UAE) and enzymatic hydrolysis. LWT-Food Science and Technology. 2016; 69: 295-302.
26- Foh MBK, Wenshui X, Amadou I, Jiang Q. Influence of pH shift on functional properties of protein isolated of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscles and of soy protein isolate. Food and Bioprocess Technology. 2010; 5(6): 2192-00.
27- Lqari H, Vioque J, Pedroche J, Millán F. *Lupinus angustifolius* protein isolates: chemical composition, functional properties and protein characterization. Food Chemistry. 2002; 76(3): 349-56.
28- Higuera-Barraza OA, Del Toro-Sanchez CL, Ruiz-Cruz S, Márquez-Ríos E. Effects of high-energy ultrasound on the functional properties of proteins. Ultrasonics Sonochemistry. 2016; 31: 558-562.
29- Yu J, Ahmedna M, Goktepe I. Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing. Food chemistry. 2007; 103(1): 121-129.
30- Broersen K, de Jongh HJ. Application potential of food protein modification. Chem. Eng. 2011; 135-182.
31- Pires C, Costa S, Batista AP, Nunes MC, Raymundo A, Batista I. Properties of protein powder prepared from Cape hake by-products. Journal of Food Engineering. 2012; 108 (2): 268-75.
32- Panpipat W, Chaijan M. Functional properties of pH-shifted protein isolates from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) head by-product. International Journal of Food Properties. 2017; 20 (3): 596-610.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1401.11.4.2.5]

33- Thiansilakul Y, Benjakul S, Shahidi F. Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decapterus maruadsi*). Food chemistry. 2007; 103(4): 1385-94.
34- Kristinsson HG, Rasco BA. Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2000; 48 (3): 657-66.
35- Oliaei N, Mosavinassab M, Ghorbani M, Sadeghi Mahonk AR, Maghsodlo Y. Composition and functional properties of isolated protein from Myctophid (*Benthosema pterotum*) using pH shift method. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 2015; 5(10): 25-36. [in Persian]

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1401.11.4.2.5]

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume11, Issue 4, Autumn 2022
Pages: 317 - 330

Evaluation of the physicochemical and functional properties and, microstructure of protein isolates from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)

Mina Esmaeili Kharyeki[1*], Shima Mansouri Moghadam[1]

1. Department of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

A B S T R A C T

The present study was conducted with the aim of protein isolation from the muscle of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and investigation of the effect of extraction pH on different properties of isolated protein. Proteins were produced by pH-shift method in two treatments including dissolution in alkaline pH (11.5), and acidic pH (3), and then evaluated in terms of nutritional value, functional properties, and structural changes. According to the results, the yield of protein production was significantly higher in alkaline conditions than in acidic conditions. The evaluation of emulsifying and foaming capacity and water absorption capacity showed that the protein obtained from alkaline pH was better than acidic treatment. Also, the extracted proteins contained all essential amino acids within the recommended limit for daily consumption of adults. The evaluation of color indices showed that the protein obtained from acidic pH had a brighter and whiter color than alkaline pH. The images obtained from the scanning electron microscope and the FTIR spectra of samples showed that the pH-shift method did not lead to extensive destruction of the protein structure and both protein isolates had all the absorption peaks related to the main bonds of the proteins structure. In general, it can be concluded that the pH-shift method is an efficient method for extracting high quality protein from grass carp tissue, and different alkaline and acidic conditions lead to the production of proteins with different characteristics that can be used based on the application that is intended for the final product.

KEYWORDS: Protein isolate, Microstructure, Grass carp, pH-Shift method

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 1 Sept 2022
Accepted: 6 Dec 2022
ePublished: 21 Dec 2022

* Corresponding Author:
Email address: Mina.smaily@gmail.com, M.esmaeili@sanru.c.ir
© Published by Tarbiat Modares University
eISSN:2476-6887
pISSN: 2322-5513

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1401.11.4.2.5]