

## بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی پروتئین ایزوله ضایعات ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به روش تغییر pH

سمانه پزشکی<sup>۱</sup>، مسعود رضائی<sup>۲\*</sup>، مهدی عبداللهی<sup>۳</sup>، هدایت حسینی<sup>۴</sup>

۱. گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
۲. گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
۳. گروه زیست شناسی و مهندسی بیولوژیک - علوم غذایی و تغذیه، دانشگاه صنعتی چالمرز، گوتنبرگ، سوئد
۴. گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

### چکیده

### نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۳/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۲۳

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۳۹۹/۷/۳۰

\* نویسنده مسول:

rezai\_ma@modares.ac.ir

آدرس: مازندران، نور، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، گروه فرآوری محصولات شیلاتی

هدف از این تحقیق تولید ایزوله پروتئینی از ضایعات ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و بررسی خواص تغذیه‌ای، ساختاری، کاربردی و حسی آن بود. ایزوله پروتئین ماهی با روش تغییر pH با استفاده از pHهای قلیایی و اسیدی (۲/۵، ۳/۵، ۱۱ و ۱۱/۵) تولید گردید. پروتئین استخراج شده از نظر ارزش غذایی، خواص کارکردی، خواص حسی، رنگ و تغییرات ساختاری مورد بررسی قرار گرفت. پروتئین‌های استخراج شده ارزش غذایی نسبتاً بالایی را در مقدار اسید آمینه ضروری نشان دادند. میزان حلالیت، ژل‌دهی و ظرفیت کف‌کنندگی پروتئین‌ها به طور معنی‌داری به pH آن بستگی داشت. به طوری که درصد حلالیت و ظرفیت کف‌کنندگی پروتئین‌های استخراج شده در شرایط قلیایی میزان بالاتری را نسبت به شرایط اسیدی نشان داد در حالیکه کمترین غلظت تولید ژل مربوط به pH ۱۱/۵ بود. بررسی و مقایسه خصوصیات رنگی ( $a$ ،  $b$ ،  $L$  و سفیدی) و حسی پروتئین‌های ایزوله شده نشان داد که در pH اسیدی رنگ روشنتر و سفیدتر و خواص حسی بهتری را نسبت به پروتئین‌های ایزوله شده در pH قلیایی داشتند. تغییر pH باعث تخریب گسترده پروتئین شد که توسط FTIR و SEM نشان داده شد. نتایج فوق نشان داد ایزوله پروتئین ضایعات ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تولید شده دارای ویژگی‌های عملکردی و تغذیه‌ای مناسبی در شرایط قلیایی است در حالی خواص حسی و رنگ شرایط اسیدی نتایج بهتری را نشان داد.

**کلید واژه‌ها:** ضایعات ماهی، تغییر pH، پروتئین ایزوله، خواص کارکردی

### مقدمه

در صنعت فرآوری آبزیان مقادیر زیادی ضایعات حاصل از فرآوری ماهیان و سخت پوستان (امعاء و احشاء، سر، استخوان، پوست، باله‌ها) تولید می‌شود که بیش از ۵۰ درصد از وزن کل آن‌ها را تشکیل می‌دهد [1]. ضایعات حاصله منبع غنی از پروتئین‌ها، اسیدهای چرب غیر اشباع، همچنین ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌باشند [2]، با این وجود به طور عمده برای تولید محصولاتی با ارزش پایین مثل کود، سیلاژ ماهی، پودر ماهی و غذای ماهی استفاده می‌شوند. از این رو یکی از موضوعات مهم در صنعت عمل‌آوری محصولات دریایی تولید محصولاتی با ارزش افزوده جهت بالا بردن درآمدزایی، کاهش هزینه‌های دفع و کاهش آلودگی زیست محیطی ناشی از دور ریختن این ضایعات می‌باشد [3]. به طوری که در نیمه دوم قرن گذشته، تلاش‌های تحقیقاتی زیادی برای پیدا کردن راهی برای استفاده از ضایعات حاصله، انجام گرفته است. با

این وجود توسعه روش‌هایی که بتواند علیرغم پیچیدگی ساختاری و ترکیبی ضایعات، امکان بازیافت پروتئین و سایر ترکیبات مغذی با کیفیت بالا از ضایعاتی که معمولاً حاوی مقادیر زیاد پرواکسیدان‌ها، خون و چربی‌های چند غیراشباع حساس به اکسیداسیون هستند را فراهم سازد، به طوری که پروتئین‌ها بدون تخریب و یا تغییر ساختاری باقی بمانند، یک تنگنای اساسی محسوب می‌شود [4]. پروتئین‌ها ماکرومولکول‌ها و پلیمرهای بسیار پیچیده‌ای هستند که ویژگی‌های عملکردی آن‌ها بستگی به ساختار شیمیایی آن‌ها دارد. هرگونه تغییر هدفمند در ساختار این ترکیبات می‌تواند باعث بهبود عملکرد و افزایش کارایی آن‌ها شود. پروتئین ایزوله شده ماهی به روش تغییر pH، یک محصول حد واسط با ارزش تغذیه‌ای مناسب است که دارای درصد بسیار پایین چربی (۰-۰/۰۵ درصد) و درصد بسیار بالای پروتئین (بالای ۹۰ درصد) می‌باشد که می‌تواند به عنوان عامل اتصال‌دهنده، مرطوب‌کننده، ایجادکننده کف در صنایع غذایی و یا جهت غنی‌سازی محصولات غذایی به کار برده شود. به طور کلی، شکل پروتئین ایزوله شده مورد استفاده در یک محصول غذایی خاص با توجه به خواص کارکردی آن مانند ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی، حالیت، ژل‌دهی، پراکندگی و ویسکوزیته متفاوت است [5]. در روش تغییر pH، دافعه الکترواستاتیک بین مولکولی منجر به باز شدن زنجیره پروتئینی شده و زیر واحدهای آن به خصوص در مقادیر pH بین ۲ تا ۳ از هم جدا می‌شوند و سپس تحت شرایط کنترل شده بر اساس pH و قدرت یونی پروتئین ایزوله شده می‌تواند دوباره جمع شود [6]. تجمع مجدد زیر واحدهای پروتئینی نقش مهمی در ترکیب و متعاقباً خواص عملکردی آن دارد [7]. تحقیقات سال‌های اخیر نشان داده است که استفاده از روش تغییر pH به طور قابل توجهی باعث افزایش بازده تولید پروتئین و همچنین کاهش زمان استخراج آن می‌شود [8, 9]. در فرآیند تولید پروتئین ایزوله ماهی به روش تغییر pH، حلالیت مواد همگن پروتئینی تحت تاثیر pH محلول می‌باشد. در این فرآیند بافت چرخ شده آبزیان با ۵ تا ۹ برابر آب رقیق شده و با القای حلالیت در شرایط اسیدی یا بازی (pH بالاتر از ۱۱ یا پایین‌تر از ۳/۵) و در دمای پایین (کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد) به کمک سانتریفیوژ پروتئین‌های حل شده از اجزاء نامحلول مانند استخوان، فلس و چربی جداسازی می‌گردد. در ادامه با تغییر pH محلول پروتئینی به دست آمده، به نقطه ایزوالکتریک پروتئین‌ها (۵/۲-۵/۸)، پروتئین‌های میوفیبریلی رسوب کرده و پروتئین ایزوله شده ماهی حاصل می‌گردد [10]. در سال‌های اخیر مطالعات گسترده‌ای در زمینه بازیافت پروتئین از آبزیان با استفاده از روش تغییر pH صورت گرفته است. بخشی از این مطالعات به بازیافت پروتئین از باقی‌مانده حاصل از فرآوری آبزیان مانند ضایعات هرینگ (*Clupea harengus*) [11]، خرده‌گوشت‌های ماهی هداک (*Melanogrammus aeglefinus*) [12]، ضایعات میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) های استخراجی پرداخته شده است. بنابراین هدف از تحقیق حاضر تولید پروتئین ایزوله از ضایعات (سر، استخوان پستی و باله) قزل‌آلای رنگین کمان به روش تغییر pH و بررسی ویژگی‌های عملکردی، تغذیه‌ای و ساختاری و حسی ایزوله‌های پروتئینی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

سر، استخوان پستی و باله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان از کارخانه کیان ماهی خزر واقع در بابلسر تهیه و با استفاده از یونولیت به شکل یخ گذاری شده به آزمایشگاه فرآوری دانشکده علوم دریایی تربیت مدرس (نور) منتقل شد و به وسیله چرخ گوشت چرخ شده به قطر ۳ میلی‌متر در آمد و بسته‌بندی گردید و تا زمان استفاده در دمای ۸۰- نگهداری شد.

**روش تهیه پروتئین ایزوله شده به روش تغییر pH:** برای تولید پروتئین ایزوله از ۶ برابر وزنی آب استفاده شد و پس از مخلوط کردن ۵۰ گرم ضایعات چرخ شده با آب، مخلوط توسط دستگاه هموژنایزر هموژن گردید. جهت تنظیم pH از محلول‌های اسید کلریدریک و سود استفاده گردید. به طور کلی ۴ تیمار مختلف در pH های ۲/۵، ۳/۵، ۱۱ و ۱۱/۵ تهیه و سپس از سانتریفیوژ یخچال‌دار برای رسوب و جداسازی مواد نامحلولی همچون پوست، استخوان، فلس و ناخالصی‌ها استفاده شد. بخش محلول که حاوی پروتئین‌های استحصالی است از لایه فوقانی که حاوی چربی می‌باشد جدا و سپس pH آن به pH ایزوالکتریک پروتئین (۵/۴ - ۵/۶) رسید و به مدت ۵ دقیقه فرصت داده شد تا پروتئین‌ها ناپایدار شده و شروع به رسوب کنند. سپس از سانتریفیوژ برای ته‌نشینی و جداسازی پروتئین‌ها که همان پروتئین ایزوله است، استفاده گردید. ایزوله‌های پروتئین با استفاده از فریزدرایر لیوفیریز (D-37520, Germany) شدند و نمونه‌های پودر شده در ۸۰- درجه سانتیگراد ذخیره گردید [14].

**ترکیب اسید آمینه:** به منظور تعیین ترکیب اسیدهای آمینه، در ابتدا نمونه‌ها در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد برای مدت ۲۴ ساعت با استفاده از اسید هیدروکلریک ۶ نرمال هیدرولیز شدند. سپس لوله‌های هضم در آن قرار داده شدند و حجم درون لوله‌های با آب مقطر دو بار تقطیر به ۲۵ میلی لیتر رسانیده شد و با استفاده از فیلتر ۰/۴۵ میکرونی، فیلتر گردیدند. با استفاده از ماده او- فتال دی آلدئید (OPA) عمل مشتق سازی اسیدهای آمینه انجام شد<sup>[15]</sup>. میزان اسیدهای آمینه کل با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا با استفاده از ستون C18 انجام گردید.

**حلالیت و بازده پروتئین:** حلالیت پروتئین مطابق با روش *آنما* و همکاران<sup>[16]</sup> انجام گردید. میزان بازده پروتئین بر اساس وزن نمونه ایزوله شده نسبت به وزن ماده اولیه محاسبه شد<sup>[14]</sup>.

**قدرت تشکیل و پایداری کف:** برای اندازه گیری قدرت تشکیل و پایداری کف، ۲۵۰ میلی گرم هر پودر پروتئین را در ۲۵ میلی لیتر 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 پس از همگن شدن ( $V_1$ ) و بعد از ۶۰ دقیقه ( $V_{60}$ ) اندازه گیری گردید<sup>[17]</sup> و ظرفیت کف و پایداری کف با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

$$\text{Foaming capacity}(\%) = \frac{V_1 - V_{initial}}{V_{initial}} \times 100$$

$$\text{Foaming stability}(\%) = \frac{V_{60} - V_{initial}}{V_{initial}} \times 100$$

**حداقل غلظت تولید ژل:** حداقل غلظت لازم جهت تشکیل ژل براساس روش *بنلهاج* و همکاران<sup>[18]</sup> مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌های پروتئین در ۵ میلی لیتر آب مقطر در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد حل گردید و به مدت ۱ ساعت در حمام آب در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. سپس به سرعت به وسیله آب روان خنک شد و در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲ ساعت نگهداری شدند. کمترین غلظت که در هنگام واژگونی لوله حاوی محلول پایین نیافتاد به عنوان حداقل غلظت تولید ژل در نظر گرفته شد.

**آنالیز رنگ:** رنگ نمونه پروتئین ایزوله توسط دستگاه رنگ سنج (Loviband CAM-system, England 500) مورد آنالیز قرار گرفتند. برای بیان شاخص روشنایی متغیر  $L$  برای بیان شاخص روشنایی (۰) بعد سیاهی تا (۱۰۰) بعد سفیدی، شاخص  $a$  برای بیان قرمزی-سبزی ( $+a$ ) نشان دهنده قرمز تر و  $-a$  نشان دهنده سبزتر، شاخص  $b$  برای بیان بعد زرد-آبی ( $+b$ ) نشان دهنده زردتر و  $-b$  نشان دهنده آبی تر) می‌باشد<sup>[19]</sup>.

**آنالیز حسی:** روش تجزیه و تحلیل کمی برای ارزیابی ویژگی‌های حسی از پودر پروتئین ماهی در قالب یک محلول ۱ درصد (۱ گرم پودر پروتئین در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) استفاده گردید که توسط *عبداللهی و آندلند*<sup>[4]</sup> توضیح داده شده است. محلول‌های پروتئینی ۱ ساعت قبل از تجزیه و تحلیل آماده شده و به صورت سرد نگهداری شدند. در ابتدا از پنلیست‌های آموزش دیده خواسته شد بو و عطر و طعم محلول‌های پروتئینی را در دو تکرار ارزیابی کنند. نمونه‌ها با کدهای تصادفی سه رقمی کدگذاری شده و به صورت مقیاس درصدی (۰ تا ۱۰۰ درصد) ارزیابی شدند.

**طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریر (FTIR):** به منظور طیف سنجی مادون قرمز میزان ۳ میلی گرم از نمونه مستقیماً بر روی محل قرارگیری نمونه گذاشته شد و طیف‌سنجی با استفاده از دستگاه FTIR اسپکتروفتومتر در گستره‌ی  $4000-400 \text{ cm}^{-1}$  و در تفکیک-پذیری  $4 \text{ cm}^{-1}$  با ۳۲ اسکن تعیین شد<sup>[4]</sup>.

**بررسی ریزساختار:** ریزساختار نمونه‌های پروتئین لیوفیلیزه با استفاده از میکروسکوپ نوری (SEM)، 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<sup>[17]</sup>.

روش تحلیل داده‌ها: به منظور تجزیه تحلیل نتایج از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ استفاده شد. بررسی نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون شاپیروویک (Shapiro-Wilk) و سپس همگنی واریانس آن‌ها از طریق آزمون لون (Leven) بررسی گردید. جهت مقایسه آماری تیمارهای مختلف از تجزیه واریانس یکطرفه (ANOVA) در قالب آزمون دانکن جهت مقایسه چندگانه میانگین‌ها استفاده شد ( $p < 0.05$ ).

## نتایج

**پروفایل اسیدآمینه:** ترکیب اسیدهای آمینه نمونه ضایعات ماهی قزل‌آلا و پروتئین ایزوله استخراج شده با روش‌های اسیدی و قلیایی در جدول (۱) خلاصه شده است.

جدول (۱) ترکیب اسید آمینه (mg/g protein) نمونه چرخ شده ضایعات ماهی (نمونه اولیه)، پروتئین ایزوله استخراج شده با pH ۲/۵ (۱)، پروتئین ایزوله استخراج شده با pH ۳/۵ (۲)، پروتئین ایزوله استخراج شده با pH ۱۱ (۳) و پروتئین ایزوله استخراج شده با pH ۱۱/۵ (۴)

نوع اسید آمینه	نمونه اولیه	۱	۲	۳	۴	FAO / WHO بزرگسال (شیرخوار) (mg/g protein)
آسپارتیک اسید	۹/۴ ± ۰/۲ <sup>a</sup>	۴/۸ ± ۰/۰۵ <sup>d</sup>	۶/۵ ± ۰/۰۵ <sup>b</sup>	۴ ± ۰/۰۲ <sup>e</sup>	۵/۷ ± ۰/۰۷ <sup>c</sup>	
گلوتامیک اسید	۱۰/۸۶ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۶/۱۸ ± ۰/۰۲ <sup>e</sup>	۷/۰۱ ± ۰/۱۲ <sup>b</sup>	۶/۴ ± ۰/۰۰ <sup>d</sup>	۶/۵۲ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>	
سرین	۸/۴۴ ± ۰/۰۵ <sup>e</sup>	۱۰/۸ ± ۰/۰۹ <sup>d</sup>	۱۳/۰۹ ± ۰/۱۲ <sup>a</sup>	۱۱/۰۵ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>	۱۱ ± ۰/۲۲ <sup>b</sup>	
گالامین	۱۱/۵ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۸/۲ ± ۰/۳۳ <sup>b</sup>	۷/۳ ± ۰/۰۸ <sup>c</sup>	۶ ± ۰/۱۳ <sup>e</sup>	۶/۶ ± ۰/۱۴ <sup>d</sup>	
آرژنین	۳/۸۱ ± ۰/۰۸ <sup>a</sup>	۰/۸۷ ± ۰/۳۳ <sup>d</sup>	۰/۸۷ ± ۰/۳ <sup>d</sup>	۱/۰۴ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>	۱/۸ ± ۰/۱ <sup>b</sup>	
آلانین	۱/۸۲ ± ۰/۰۴ <sup>d</sup>	۲/۱۱ ± ۰/۰۹ <sup>b</sup>	۱/۶۶ ± ۰/۰۵ <sup>e</sup>	۲/۰۶ ± ۰/۰۸ <sup>d</sup>	۲/۳۷ ± ۰/۰۷ <sup>a</sup>	
تیروزین	۱/۰۷ ± ۰/۰۱۵ <sup>e</sup>	۲/۶ ± ۰/۰۷ <sup>b</sup>	۲/۲۹ ± ۰/۰۸ <sup>c</sup>	۲/۶۹ ± ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۱/۹۵ ± ۰/۰۱۵ <sup>d</sup>	
هیستیدین	۱۳/۰۲ ± ۰/۲۴ <sup>d</sup>	۱۴ ± ۰/۶۶ <sup>c</sup>	۱۵/۷ ± ۰/۰۵ <sup>b</sup>	۱۶/۳ ± ۰/۱۵ <sup>a</sup>	۱۵/۷ ± ۰/۰۵ <sup>b</sup>	۱/۵ (۲)
ترئونین	۱۰/۱ ± ۰/۰۱ <sup>e</sup>	۱۱/۳ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>	۱۱/۸۷ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۱۱/۱۵ ± ۰/۰۵ <sup>c</sup>	۱۰/۵۲ ± ۰/۰۱۵ <sup>d</sup>	۲/۳ (۳/۱)
متیونین	۹/۷۱ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۶/۸ ± ۰/۰۱۵ <sup>b</sup>	۴/۰۵ ± ۰/۰۹ <sup>e</sup>	۵/۶ ± ۰/۰۲۲ <sup>d</sup>	۶/۷ ± ۰/۰۹ <sup>c</sup>	۱/۶ (۴/۲)
والین	۲/۲ ± ۰/۰۶ <sup>e</sup>	۸/۹ ± ۰/۲۷ <sup>a</sup>	۸/۵ ± ۰/۳۲ <sup>b</sup>	۸/۰۲ ± ۰/۱۵ <sup>d</sup>	۸/۱ ± ۰/۲۵ <sup>c</sup>	۳/۹ (۵/۵)
فیل آلانین	۰/۰۵ ± ۰/۰۰ <sup>e</sup>	۳/۰۹ ± ۰/۲۱ <sup>b</sup>	۲/۴۱ ± ۰/۲۳ <sup>d</sup>	۲/۹۱ ± ۰/۲ <sup>c</sup>	۳/۲۳ ± ۰/۳ <sup>a</sup>	۱/۹ (۷/۲)
ایزولوسین	۵/۸ ± ۰/۰۱ <sup>d</sup>	۸/۹۵ ± ۰/۴ <sup>a</sup>	۷/۴۶ ± ۰/۰۳ <sup>c</sup>	۸/۶۱ ± ۰/۳۸ <sup>b</sup>	۸/۹۵ ± ۰/۴۵ <sup>a</sup>	۳ (۳/۲)
لوسین	۶/۲۵ ± ۰/۰۳ <sup>e</sup>	۱۰/۲ ± ۰/۱۵ <sup>b</sup>	۸/۲ ± ۰/۲۴ <sup>d</sup>	۹/۶۳ ± ۰/۰۸ <sup>c</sup>	۱۱/۰۸ ± ۰/۱۸ <sup>a</sup>	۵/۹ (۶/۶)
لیزین	۱/۱۵ ± ۰/۰۰۹ <sup>e</sup>	۲/۰۶ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۴۵ ± ۰/۰۲ <sup>d</sup>	۱/۹ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>	۱/۹۸ ± ۰/۰۱ <sup>b</sup>	۴/۵ (۵/۷)
مجموع اسید آمینه ضروری	۴۸/۲۸	۶۵	۵۹/۶۴	۶۴/۱۲	۶۶/۲۶	
اسیدهای آمینه ضروری /اسیدهای آمینه کل	۰/۵	۰/۶۴	۰/۶	۰/۶۵	۰/۶۴	

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

نتایج نشان‌دهنده آن است که اسیدهای آمینه آسپارتیک اسید، گلوتامیک اسید، گالامین، آرژنین و متیونین در نمونه اولیه نسبت به پروتئین‌های ایزوله مختلف مقادیر بالاتری را دارد. در حالی که اسیدهای آمینه ضروری مختلف شامل هیستیدین، ترئونین، والین، فیل آلانین، ایزولوسین، لوسین و لیزین در پروتئین ایزوله به دست آمده به هر دو روش اسیدی و قلیایی از نمونه اولیه به طور معنی‌داری بیشتر می‌باشد ( $p < 0.05$ ) که مقادیر بالاتر در نمونه‌های با pH ۲/۵ و ۱۱/۵ مشاهده گردید.

**حلالیت و بازده پروتئین:** درصد حلالیت و بازده پروتئین به دست آمده در طی فرآیند تغییر pH از ضایعات ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در جدول (۲) آورده شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، روش تغییر pH بر میزان حلالیت و بازده پروتئین نمونه‌های مورد مطالعه، تاثیر معنی‌داری را نشان داد، به طوری که شرایط قلیایی نسبت به شرایط اسیدی تاثیر بیشتری را بر حلالیت داشت. بیشترین میزان حلالیت

(۶۵/۹۸ درصد) در pH ۱۱/۵ در قالب قیاس با سایر pH های مورد مطالعه بود ( $p < 0.05$ ). بیشترین بازده پروتئین در pH ۱۱/۵ و ۲/۵ مشاهده گردید.

جدول ۲) میانگین آماری درصد حلالیت، درصد قدرت تشکیل کف، درصد پایداری کف و کمترین غلظت ژلهای چهر نوع پروتئین ایزوله استخراج شده

pH	حلالیت (درصد)	بازده (درصد)	قدرت تشکیل کف (درصد)	پایداری کف (درصد)	کمترین غلظت ژل دهی (g/۱۰۰ml)
۲/۵	۵۲/۶۱ ± ۰/۴ <sup>d</sup>	۴۷/۵۴ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۴۰ ± ۱/۵ <sup>d</sup>	۶۲/۵ ± ۰/۵ <sup>b</sup>	۱۰ <sup>b</sup>
۳/۵	۵۸/۶۹ ± ۰/۲ <sup>c</sup>	۳۹/۷۳ ± ۰/۲۴ <sup>c</sup>	۷۰ ± ۱/۵ <sup>b</sup>	۳۵/۷ ± ۱/۲ <sup>c</sup>	۱۰ <sup>b</sup>
۱۱	۶۳/۲۶ ± ۰/۱۵ <sup>b</sup>	۴۳/۶۴ ± ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۸۰ ± ۲ <sup>a</sup>	۸۳/۷ ± ۱/۳ <sup>a</sup>	۱۰ <sup>b</sup>
۱۱/۵	۶۵/۹۸ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۴۷/۳۴ ± ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۶۰ ± ۱/۵ <sup>c</sup>	۸۳/۲ ± ۰/۸ <sup>a</sup>	۲۰ <sup>a</sup>

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین ها است ( $p < 0.05$ ).

**قدرت تشکیل کف (FC) و پایداری کف (FS):** مقادیر شاخص های FC و FS در pH های مختلف در جدول (۲) آورده شده است. با توجه به نتایج، تفاوت معنی داری در میزان ظرفیت کف کنندگی (FC) در pH های مختلف مشاهده گردید، به گونه ای که بیشترین مقدار آن در pH ۱۱ (۸۰ درصد) به دست آمد ( $p < 0.05$ ). در ارتباط با شاخص پایداری کف (FS) نتایج نشانگر اختلاف معنی دار بین پروتئین های استخراج شده در شرایط قلیایی و اسیدی بود. به طوری که شرایط قلیایی درصد بالاتری را به خود اختصاص داد. با این حال در شرایط اسیدی در pH ۲/۵ درصد بالاتری با میزان ۶۲/۵ درصد نسبت به pH ۳/۵ با میزان ۳۵/۷ مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ).

**حداقل غلظت تولید ژل:** مقادیر شاخص کمترین غلظت تولید ژل در در pH های مختلف در جدول (۲) آمده است. کمترین میزان غلظت ژل دهی در pH های ۲/۵، ۳/۵ و ۱۱ به میزان (g/۱۰۰ml) ۱۰ تعیین گردید و در pH ۱۱/۵ مقدار به میزان (g/۱۰۰ml) ۲۰ مشخص گردید که به طور معنی داری از سایر تیمارها بیشتر بود ( $p < 0.05$ ).

**آنالیز رنگ:** ویژگی های رنگی (مقادیر  $L$ ،  $a$  و  $b$ ) و شاخص سفیدی تیمارهای مختلف پروتئین ایزوله ماهی در جدول (۳) ارائه شده است.

جدول ۳) پارامترهای رنگ پروتئین های ایزوله مختلف

pH	$L$	$a$	$b$	سفیدی
۲/۵	۴۰/۴۶ ± ۰/۴۵ <sup>a</sup>	۶/۱۷ ± ۰/۲۸ <sup>b</sup>	۲۰/۸۰ ± ۰/۷۲ <sup>a</sup>	۳۶/۶۱ ± ۰/۰۲ <sup>b</sup>
۳/۵	۴۰/۰۰ ± ۱/۰ <sup>a</sup>	۶/۱ ± ۰/۱ <sup>b</sup>	۱۸/۱۳ ± ۰/۱۵ <sup>b</sup>	۳۷/۱۳ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>
۱۱	۳۷/۴۳ ± ۲/۰۵ <sup>b</sup>	۷/۸۳ ± ۰/۳۷ <sup>a</sup>	۱۷/۴۱ ± ۰/۸ <sup>c</sup>	۳۴/۵۲ ± ۰/۰۳ <sup>c</sup>
۱۱/۵	۳۵/۴۲ ± ۲/۵ <sup>c</sup>	۷/۹۸ ± ۰/۴۶ <sup>a</sup>	۱۷/۵ ± ۱/۰۷ <sup>c</sup>	۳۲/۵۹ ± ۰/۰ <sup>d</sup>

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین ها است ( $p < 0.05$ ).

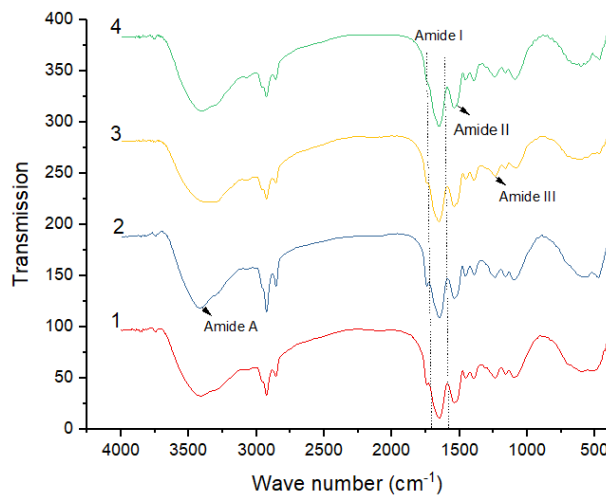
با توجه به نتایج حاصله در ارتباط با شاخص رنگ، تفاوت معنی داری بین تیمارهای مختلف دیده شد. میزان روشنایی ( $L$ )،  $b$  و سفیدی در تیمارهای اسیدی به طور معنی داری از نمونه های قلیایی بیشتر است. در حالی که شاخص  $a$  مقادیر بالاتری را در نمونه های قلیایی نسبت به اسیدی نشان داد.

**آنالیز حسی:** همانطور که در شکل (۱) مشاهده می شود. در قالب قیاس در pH های مختلف pH های ۲/۵ و ۳/۵ از نظر ویژگی های بو شامل بوی روغن ماهی، بوی ماهی خشک، بوی ترشیدگی و مزه شامل مزه تلخی، مزه ترشیدگی، مزه ماهی خشک و مزه روغن ماهی کمترین میزان را نسبت به pH های قلیایی نشان دادند و به طور کلی ویژگی های حسی بهتری را دارا بودند.



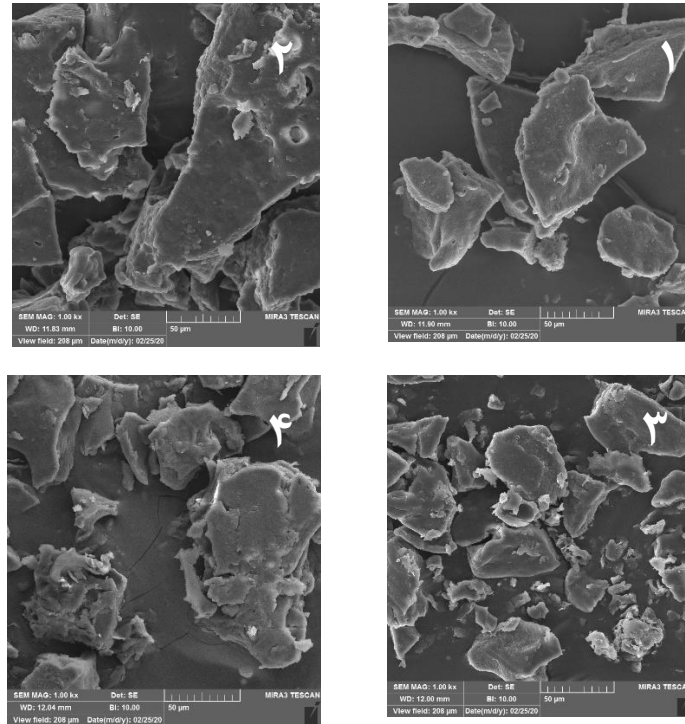
شکل ۱) آنالیز حسی پروتئین ایزوله ماهی تحت تاثیر پارامتر pH ۲/۵، ۳/۵، ۴/۵، ۱۱ و ۱۱/۵ (۴)

**طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریر (FTIR):** شکل ۲ طیف FTIR را در نمونه‌های مختلف نشان می‌دهد. طیف منحنی باند امید I (دامنه عدد موجی ۱۶۰۰-۱۷۰۰) در FT-IR حساس به تغییرات pH بود. پیک‌های مربوط به امید II (عدد موجی ۱۵۳۸)، امید III (عدد موجی ۱۲۴۰) و امید A (دامنه عدد موجی ۳۴۰۰ تا ۳۴۴۰) در تمامی تیمارها قابل رویت می‌باشد.



شکل ۲) طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) پروتئین ایزوله ماهی تحت تاثیر پارامتر pH ۲/۵، ۳/۵، ۴/۵، ۱۱ و ۱۱/۵ (۴)

**ریزساختار:** تصاویر مربوط به تأثیر pH بر ساختار پروتئین ایزوله ماهی ۱ (pH ۲/۵)، ۲ (pH ۳/۵)، ۳ (pH ۴/۵)، ۴ (pH ۱۱/۵) با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی در شکل (۳) نشان داده شده است. تصاویر SEM نشان داد که پروتئین‌های ایزوله ماهی با تغییر pH تمایل به تشکیل ورق‌های نسبتاً نازک به شکل نامنظم دارند. با توجه به شکل (۲)، تیمار ۴ نسبتاً ساختار یکنواختی پیدا کرده است و سایر تیمارها نسبتاً ساختار غیریکنواختی دارند.



شکل ۳) ریزساختار پروتئین ایزوله ماهی تحت تاثیر پارامتر pH ۲/۵ (۱)، ۳/۵ (۲)، ۱۱ (۳) و ۱۱/۵ (۴)

## بحث

با توجه به نتایج، پروتئین‌های ایزوله استخراج شده طی فرآیند تغییر pH مقادیر بالاتری از اسیدهای آمینه ضروری را نسبت به نمونه اولیه دارند که این نتیجه می‌تواند مربوط به حذف موفقیت آمیز ناخالصی‌های کلاژنی مانند استخوان و پوست در طی فرآیند تغییر pH باشد که حاوی مقدار زیادی آمینو اسیدهای غیر ضروری از جمله گلیسین و پرولین است که منجر به افزایش غلظت اسیدهای آمینه باقی مانده در پروتئین ایزوله شده می‌گردد [4]. در جدول پروتئین تولید شده با تغییر pH از هرینگ در تحقیق ساتیول و بکتل [20] مقادیر بیشتر اسیدهای آمینه ضروری در پروتئین ایزوله تولید شده در مقایسه با مواد اولیه اولیه آن‌ها گزارش شده است. در مطالعه حاضر، تمام اسیدهای آمینه ضروری موجود در پروتئین‌های ایزوله جز لیزین بسیار بالاتر از میزان توصیه شده برای بزرگسالان بر اساس (WHO / WHO / FDA (2007) / FAO / UNU) بود. با این حال، میزان فنیل آلانین مورد نیاز شیرخواران را که از بزرگسالان بالاتر است، را برآورده نمی‌کند. این نتایج در مقایسه با داده‌هایی که قبلاً گزارش شده برای پودر پروتئین و ایزوله‌های حاصل از ماهی کاد (*Merluccius capensis*) شکم خالی [21] که فقط در مقدار لیزین و ترئونین میزان شیرخوار را توصیه کرد، ارزش غذایی بالاتری را نشان می‌دهد.

حلالیت پروتئین پس از اولین مرحله سانتریفیوژ به عنوان عامل اصلی تاثیرگذار بر بازده پروتئین به دست آمده در فرآیند تغییر pH در نظر گرفته می‌شود [22]. 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 [23]. حلالیت پروتئین‌ها در آب به چندین عامل از جمله خصوصیات سطحی اسیدهای آمینه آن‌ها، میزان pH، وزن مولکولی و وضعیت کنفورماسیونی آن بستگی دارد [24]. نتایج به دست آمده در حلالیت و بازده پروتئین ضایعات قزل‌آلای رنگین کمان با سایر گونه‌های ماهی همانند ماهی تیلپیا (*Oreochromis niloticus*) [25] و فانوس ماهی (*Benthoosema pterotum*) [26] مشابهت داشت.

افزایش ظرفیت تشکیل کف می‌تواند به دلیل افزایش حلالیت و آبگریزی سطحی باشد. باز شدن پروتئین‌ها و قرار گرفتن سطوح آبگریز در سطح، باعث افزایش جذب پروتئین در ارتباط آب-هوا می‌شوند تا ذرات هوا را محصور کرده و تشکیل کف را تقویت کنند. نتایج خاصیت کف‌کنندگی پروتئین‌های ایزوله نشان داد که با افزایش pH، ظرفیت تشکیل کف پروتئین‌ها افزایش یافت. با افزایش pH بار خالص پروتئین‌ها

نیز افزایش پیدا می‌کند و منجر به افزایش انعطاف‌پذیری پروتئین‌ها می‌گردد که منجر به افزایش جذب پروتئین در ارتباط آب-هوا می‌شود و در نتیجه میزان کف بیشتری تشکیل می‌شود<sup>[27]</sup>. پایداری مناسب کف به شدت با pH ارتباط دارد<sup>[28]</sup>. حلالیت پروتئین عامل مهمی است که پایداری مناسب را تحت تأثیر قرار می‌دهد، زیرا برای حفظ پایداری حباب‌های هوا، برای ایجاد سطح جذب نیاز به حلالیت خاصی می‌باشد<sup>[29]</sup>. خاصیت ژلدهی پروتئین به دناتوراسیون جزئی پروتئین متناسب می‌شود<sup>[30]</sup>. با توجه به جدول (۲)، کمترین میزان غلظت ژلدهی با کاهش pH به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) کاهش یافت. در طی فرآیند تغییر pH، دناتوراسیون جزئی پروتئین اجازه می‌دهد تا گروه‌های عملکردی پروتئین‌ها در معرض قرار گیرند و با هم در تعامل باشند و همچنین باعث افزایش مناطق آبریز شود و منجر به بهبود ایجاد ساختار سه بعدی ژل گردد. بنابراین، مقدار قابل توجهی آب در ساختار ژل حفظ می‌شود و در پی آن نمونه مایع به جامد تبدیل می‌شود<sup>[31]</sup>. نتایج به دست آمده با نتایج تحقیق فلورس جیمنس و همکاران<sup>[31]</sup> در ارتباط با کاهش میزان غلظت ژلدهی در pH اسیدی نسبت به قلیایی مشابهت داشت. رنگ یک پارامتر حسی مهم است که وظیفه قابل قبول بودن و بازاریابی محصولات غذایی را بر عهده دارد. دلیل افزایش فاکتور  $L$ ،  $b$  و سفیدی نمونه‌های اسیدی حذف بسیاری از رنگدانه‌های تیره و دناتوره شدن هموگلوبین است<sup>[32]</sup>. پارامتر رنگ  $a$  شاخص تمایل قرمزی-سبزی نمونه می‌باشد و نمونه‌های قلیایی رنگ قرمز بیشتری را نشان داد. قرمز بودن نمونه‌ها به وجود رنگه‌هایی مانند هموگلوبین در محصول مرتبط است. گزارش‌های بسیاری نشان داده حلالیت پروتئین‌های ماهی در pH قلیایی و رسوب در نقطه ایزوالکتریک منجر به بازیافت پروتئین با ویژگی‌های رنگی بهتری می‌شود<sup>[33, 32]</sup>. در مطالعه حاضر تغییر pH بهبود رنگ را در پروتئین ایزوله سبب شد که می‌تواند آن‌ها را برای مصرف‌کنندگان جذاب‌تر و مطلوب‌تر کند.

FTIR نمونه‌ها نشان داد که امید I با عدد شاخص در ناحیه  $1600-1700\text{ cm}^{-1}$  عمدتاً مرتبط با گروه  $C=O$  ستون فقرات کششی-لرزشی می‌باشد. به طور کلی نتایج نشان دهنده آن است که کاهش pH موجب کاهش در مقادیر  $\alpha$ -helix و  $\beta$ -Sheet و افزایش  $\beta$ -Turn و Random coil شده است. در واقع، ساختارهای ثانویه پروتئین‌ها توسط انواع مختلف پیوندهای هیدروژنی در کنار هم نگه داشته می‌شوند<sup>[34]</sup>. پدیده کاهش  $\alpha$ -helix نشان دهنده آن است که پیوند هیدروژن مولکول‌های پروتئین را شکسته و ساختار پروتئین سفت و سخت از بین می‌رود و انعطاف‌پذیری مولکول‌های پروتئین بهبود می‌یابد<sup>[35]</sup>. نتایج نشان می‌دهد که تغییر شرایط استخراج پروتئین ممکن است اختصاصاً انواع خاصی از پیوندهای هیدروژن را بشکند و در نتیجه باعث می‌شود برخی از ساختارهای  $\alpha$ -helix به  $\beta$ -Sheet،  $\beta$ -Turn و Random coil تبدیل شوند. امید II عموماً مسئول ترکیب خمش درون صفحه ای NH و CN کششی-لرزشی است. پیک شاخص امید A که معمولاً مربوط به باند نوسانی کششی N-H می‌باشد و در دامنه موجی  $3340-3400$  ظاهر می‌شود<sup>[36]</sup>. با توجه به شکل (۱) ساختار کلوخه‌ای در مورد ایزوله‌های قلیایی مشاهده گردید که این امر ممکن است به دلیل تجمع پروتئین طی استخراج قلیایی آن‌ها باشد<sup>[37]</sup>. با این حال ایزوله اسیدی به نسبت بیشتری دارای نواحی کلوخه‌ای و تجمع یافته بود. این امر می‌تواند به علت دناتوره شدن پروتئین در pH‌های شدید اسیدی و تجمع آن‌ها باشد. نتایج مشاهده شده با نتایج خواص عملکردی هم‌خوانی داشته و می‌تواند توجیه‌کننده آن‌ها باشد.

## نتیجه‌گیری

پروتئین ایزوله به دست آمده خواص تغذیه‌ای مناسبی به لحاظ میزان اسید آمینه، برخوردار بود. خواص کارکردی پروتئین‌های ایزوله به طور معنی‌داری به pH استخراجی آن بستگی داشت. به طوری که درصد حلالیت و ظرفیت کف‌کنندگی پروتئین‌های استخراج شده در شرایط قلیایی میزان بالاتری را نسبت به شرایط اسیدی نشان داد که عمدتاً به دلیل تغییرات ساختاری ایجاد شده در پروتئین در اثر تغییر شرایط pH می‌باشد. تولید ژل پروتئین ایزوله تحت تأثیر pH بود. مقایسه خصوصیات رنگی و حسی پروتئین‌های ایزوله شده نشان دهنده آن بود که پروتئین‌های ایزوله شده در pH اسیدی رنگ روشن‌تر و سفیدتر و خواص حسی بهتری را نسبت به پروتئین‌های ایزوله شده در pH قلیایی داشتند. بنابراین، فرآیند تغییر pH می‌تواند به عنوان ابزاری مناسب جهت بازیابی پروتئین از ضایعات ماهی مورد استفاده قرار گیرد.

**تشکر و قدردانی:** بدینوسیله از حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران در انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را داریم.

**تاییدیه اخلاقی:** موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.



**تعارض منافع:** نویسندگان اعلام می‌دارند هیچگونه تعارض منافی وجود ندارد.

**سهم نویسندگان:** سمانه پزشکی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی (۳۰ درصد)؛ مسعود رضائی (نویسنده دوم)، روش شناس/تحلیل گر آماری (۳۰ درصد)؛ مهدی عبداللهی (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی (۲۰ درصد)؛ هدایت حسینی (نویسنده چهارم)، پژوهشگر کمکی (۲۰ درصد).

**منابع مالی:** پژوهش حاضر تحت حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران انجام شده است.

## منابع

1. Aspevik T, Totland C, Lea P. Sensory and surface-active properties of protein hydrolysates based on Atlantic salmon (*Salmo salar*) by-products. *Process Biochem*. 2016;51(8):1006-14.
2. Bhaskar N, Benila T, Radha C, Lalitha RG. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresour Technol*. 2008;99(2):335-43.
3. Lin H, Shang-gui D, Zhang B, Pang J. Separation, structure identification and antimicrobial activity of ferrous chelate of protein hydrolysate in hairtail (*Hrichiurus Haumela*). *J Single Mol Res*. 2013;1(1):2-6.
4. Abdollahi M, Undeland I. Structural, functional, and sensorial properties of protein isolate produced from salmon, cod, and herring by-products. *Food Bioprocess Tech*. 2018;11:1733-49.
5. Xu Y, Co;da R, Holopainen-Mantila U, Laitila A, Katina K, Tenkanen M. Impact of in situ produced exopolysaccharides on rheology and texture of fava bean protein concentrate. *Food Res Int*. 2019;115:191-199.
6. Zhang QT, Tu ZC, Wang H, Huang X, Fan LL, Bao ZY, et al. Functional properties and structure changes of soybean protein isolate after subcritical water treatment. *J Food Sci Tech*. 2015;52(6):412-21.
7. Wang R, Xu P, Chen Z, Zhou X, Wang T. Complexation of rice proteins and whey protein isolates by structural interactions to prepare soluble protein composites. *LWT-Food Sci Tech*. 2019;101:207-13.
8. Bogahawaththa D, Hoang Bao Chau N, Trivedi J, Dissanayake M, Vasiljevic T. Impact of selected process parameters on solubility and heat stability of pea protein isolate. *LWT-Food Sci Tech*. 2019;102:246-53.
9. Chen W, Wang W, Ma X, Lv R, Watharkara R, Dinga T, et al. Effect of pH-shifting treatment on structural and functional properties of whey protein isolate and its interaction with epigallocatechin-3-gallate. *Food Chem*. 2019;274:234-41.
10. Xiong T, Xiong W, Ge M, Xia J, Li B, Chen Y. Effect of high intensity ultrasound on structure and foaming properties of pea protein isolate. *Food Res Int*. 2018; 109:260-67.
11. Sathivel S, Bechtel PJ, Babbitt J, Prinyawiwatkul W, Negulescu II, Reppond KD. Properties of protein powders from arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*) and herring (*Clupea harengus*) byproducts. *J Agric Food Chem*. 2004;52:5040-46.
12. Shaviklo GR, Thorkelsson G, Arason S, Sveinsdottir K. Characteristics of freeze-dried fish protein isolated from saithe (*Pollachius virens*). *J food sci tech*. 2012;49(3):309-18.
13. Córdova-Murueta JH, García-Carreño FL, Navarrete-del-Toro MÁ. pH-Solubilization Process as an Alternative to Enzymatic Hydrolysis Applied to Shrimp Waste. *Turk J Fish Aquat Sc*. 2013;13:639-46.

14. 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 Bioproc Tech*. 2015;8:758–769.
15. Chomnawang C, Yongsawatdigul J. Protein Recovery of Tilapia Frame By-Products by pH-Shift Method. *J Aquat Food Prod Technol*. 2013;22(2):112-20.
16. Anema SG, Pinder DN, Hunter RJ, Hemar Y. Effects of storage temperature on the solubility of milk protein concentrate (MPC85). *Food Hydrocoll*. 2006;20:386-393.
17. 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 Chem*. 2017;229:695–709.
18. Benelhadj S, Gharsallaoui A, Degraeve P, Attia H, Ghorbel D. Effect of pH on the functional properties of Arthrospira (*Spirulina*) platensis protein isolate. *Food Chem*. 2016;194:1056–63.
19. 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 Hydrocoll*. 2019;96:433–441.
20. Sathivel S, Bechtel PJ. Properties of soluble protein powders from Alaska pollock (*Theragra chalcogramma*). *Int J Food Scie Tech*. 2006;41(5):520–29.
21. Pires C, Batista I, Fradinho P, Costa S. Utilization of alkaline-recovered proteins from cape hake by-products in the preparation of frankfurter-type fish sausages. *J Aquat Food Prod Technol*. 2009;18(1–2):170–90.
22. Undeland I, Hall G, Wendin K, Gangby I, Rutgersson A. Preventing lipid oxidation during recovery of functional proteins from herring (*Clupea harengus*) fillets by an acid solubilization process. *J Agric Food Chem*. 2005;53(14):5625–34.
23. Hultin HO, Kelleher SD, Feng Y, Richards MP, Kristinsson H, Undeland I, Ke S. High efficiency protein extraction. 2001;Google Patents.
24. 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 Res Int*. 2015;76:719–24.
25. 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 Bioprocess Tech*. 2010;5(6):2192-00.
26. 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. 2015;5(10):25-36. [Persian]
27. Ren X, Li C, Yang F, Huang Y, Huang C, Zhang K, Yan L. Comparison of hydrodynamic and ultrasonic cavitation effects on soy protein isolate functionality. *J Food Eng*. 2020;265:109697.
28. Oboroceanu D, Wang L, Magner E, Auty MAE. Fibrillization of whey proteins improves foaming capacity and foam stability at low protein concentrations. *J Food Eng*. 2014;121:102–11.
29. 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. *Carbohydr Polym*. 2017;155:201–07.
30. Resendiz-Vazquez JA, Ulloa JA, Urías-Silvas JE, Bautista-Rosales PU, Ramírez- Ramírez JC, Rosas-Ulloa P, González-Torres L. Effect of high-intensity ultrasound on the technofunctional properties and structure of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seed protein isolate. *Ultrason Sonochem*. 2017;37:436–44.

31. Flores-Jiménez NT, Ulloa JA, Urías Silvasb JE, Ramírez Ramírezd JC, Ulloac PR, Rosalesa PUB, et al. Effect of high-intensity ultrasound on the compositional, physicochemical, biochemical, functional and structural properties of canola (*Brassica napus*). 2019;121:947-56.
32. Kristinsson HG, Liang T. Effect of pH-shift processing and surimi processing on Atlantic croaker (*Micropogonias undulates*) muscle proteins. J Food Sci. 2006;7:298-06.
33. Kristinsson HG, Theodore AE, Demir N, Ingadottir BA. Comparative study between acid- and alkali-aided processing and surimi processing for the recovery of proteins from channel catfish muscle. J Food Sci. 2005;70:298-06.
34. Zhang Z, Yang Y, Zhou P, Zhang X, Wang J. Effects of high pressure modification on conformation and gelation properties of myofibrillar protein. Food Chem. 2017;217:678-86.
35. Stathopoulos PB, Scholz GA, Hwang YM, Rumfeldt JAO, Lepock JR, Meiering EM. Sonication of proteins causes formation of aggregates that resemble amyloid. Protein Sci. 2004;13(11):3017-27.
36. Carbonaro M, Nucara A. Secondary structure of food proteins by Fourier transform spectroscopy in the mid-infrared region. Amino Acids. 2010;38(3):679-690.
37. Chaijan M, Panpipat W, Benjakul S. Physicochemical and gelling properties of short-bodied mackerel (*Rastrelliger brachysoma*) protein isolate prepared using alkaline-aided process. Food Bioprod Process. 2010;88(2-3):174-80.

# Investigation of physicochemical and sensory properties of protein from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) waste by pH shifting method

Samaneh Pezeshk<sup>1</sup>, Masoud Rezaei<sup>2\*</sup>, Mehdi Abdollahi<sup>3</sup>, Hedayat Hosseini<sup>4</sup>

1. Seafood Processing Department, Marine Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
2. Seafood Processing Department, Marine Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
3. Department of Biology and Biological Engineering–Food and Nutrition Science, Chalmers University of Technology, Gothenburg, Sweden
4. Department of Food Science and Technology, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

## ABSTRACT

The aim of this study was to produce protein isolates from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and to investigate its nutritional, structural, functional and sensory properties. Fish protein isolates were produced by pH change method using alkaline and acidic pHs (2.5, 3.5, 11 and 11.5). The extracted proteins were evaluated for nutritional value, and functional properties, sensory properties, color, and structural changes of proteins. The extracted proteins showed relatively high nutritional value in the amount of essential amino acids. The solubility, gelling and foaming capacity of the proteins depended significantly on its extraction pH. So that the percentage of solubility and foaming capacity of proteins extracted under alkaline conditions showed a higher rate than acidic conditions while the least gelation concentration was related to pH 11.5. Examination and comparison of color (*L*, *a*, *b* and whiteness) and sensory properties of isolated proteins showed that proteins at acidic pH had a brighter and whiter color and better sensory properties than those from alkaline pH. The change in pH caused extensive protein degradation as shown by FTIR and SEM. The above results showed that the protein isolated from rainbow trout waste has good functional and nutritional properties in alkaline conditions, while the sensory properties and color of acidic conditions showed better results.

## ARTICLE TYPE

Original Research

## ARTICLE HISTORY

Received: 21 May 2020

Accepted: 14 October 2020

ePublished: 21 October 2020

**KEYWORDS:** Fish waste, pH change, Isolated protein, Functional properties

\* Corresponding Author:

Email address: rezaei\_ma@modares.ac.ir

Tel: +98 (11) 44553366

© Published by Tarbiat Modares University

eISSN:2476-6887 pISSN:2322-5513