فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ۵، شمارهٔ ٤، زمستان ۱۳۹۵، صفحه ۱۳- ۲۸

خواص کارکردی و آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی تولیدشده از اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده از روش آنزیمی

سهیل ریحانی پول[۱]، سید علی جعفرپور[۲*]، رضا صفری[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲- دانشیار، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، پژوهشکده اکولوژی آبزیان دریای خزر، ساری

دریافت: ۹٤/۱۱/۰۵ پذیرش: ۹۵/۰۹/۰۷

*نویسنده مسئول مقاله: a.jafarpour@sanru.ac.ir

چکیده:

هدف از پژوهش حاضر، آبکافت اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از سه آنزیم فلاورزایم، پاپایین، پپسین و بررسی و مقایسه خواص کارکردی و آنتی‌اکسیدانی سه نوع پروتئین حاصل است. در زمان‌های یکسان، بیشترین درجه آبکافت و بازیافت نیتروژنی، برای پروتئین آبکافتی با فلاورزایم (به‌ترتیب ۱/۰۵ ± ۲۳/۱۲ درصد و ۰/٦۸ ± ۵۵/٦٤ درصد) ثبت شد. در تمام pH های بررسی شده (به غیر از دو pH=۸ و pH=۱۰) پروتئین آبکافتی با فلاورزایم به‌طور معناداری (p<۰/۰۵) نسبت به دو پروتئین دیگر حلالیت بیشتری داشت. همچنین شاخص فعالیت امولسیفایری (به غیر از pH=٤) و پایداری امولسیونی (به غیر از pH=۸) نیز در پروتئین آبکافتی با فلاورزایم در pH های بررسی شده به‌طور معناداری (p<۰/۰۵) بالاتر از دو پروتئین دیگر بود. برای مقایسه خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های آبکافتی از شاخص‌های قدرت مهار رادیکال آزاد ۲و۲ دیفنیل -۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) و کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی (فریک) استفاده شد و نتیجه اینکه، پروتئین آبکافتی با پپسین بیشترین قدرت مهار رادیکال DPPH و کاهندگی یون فریک را نشان داد (به‌ترتیب ۲/۲۷ ± ۸۳/۵۹ درصد و جذب ۰/۰۱۳ ± ۰/۸۸٦ در طول موج ۷۰۰ نانومتر). پژوهش حاضر نشان داد، پروتئین‌های تولیدشده از این سوبسترا، خواص مطلوبی دارند و عوامل مختلفی از جمله نوع آنزیم مصرفی تا حد زیادی این خواص را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

کلید واژگان: آبکافت آنزیمی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، اندرونه، درجه آبکافت

مقدمه

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]

میزان تولید آبزیان در سال ۲۰۱۲، ۱۵۸ میلیون تن برآورد شده است (FAO, 2014). بدیهی است که این مقدار تولید، دارای حجم بالایی از ضایعات شامل فلس، پوست، اندرونه، استخوان‌ها و ستون فقرات می‌باشد (Benjakul and Morrissey,1997). یکی از ماهیانی که تولید آن در کشور و به تبع آن، میزان ضایعات ایجادشده ناشی از مصرف آن بالا است، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد.

طی مصرف این ماهی، حجم بسیار زیادی از ضایعات در خانه‌های مردم، رستوران‌ها و درصد بسیار کمی هم در کارخانه‌های فراوری آبزیان تولید خواهد شد. ضایعات تولیدشده دارای ارزش غذایی بالا، پروتئین و مواد مغذی‌اند (Bhaskar,2008) و در صورت بهره‌برداری و مدیریت درست، می‌توانند برای تولید محصولاتی با ارزش افزوده بالا مانند آرد ماهی، روغن ماهی، سس ماهی، رنگدانه‌ها، کیتین، کیتوزان، کلاژن، ژلاتین، کلسیم، کنسانتره طعم و آنزیم‌های مختلف استفاده شوند (Ovissipour and Ghomi, 2008). یکی دیگر از راه‌های استفاده بهینه از این ضایعات، آبکافت آنها با استفاده از آنزیم‌های خانواده پروتئاز و در نتیجه تولید پودر پروتئینی است (Elavarasan et al., 2014 Krisstinsson and Rasco, 2000 ; Ovissipour et al., 2009 ; Klompong et al., 2007 ; Safari et al., 2012).

پودرهای پروتئینی حاصل از آبکافت آنزیمی، برای اهداف مختلف در صنایع غذایی کاربرد دارند، برای مثال به‌عنوان جایگزین مناسب برای پروتئین‌های شیر و یا پایدارکننده و طعم‌دهنده در نوشیدنی‌ها مطرح هستند (Skanderby, 1994). همچنین این پودرها، خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند و از این ویژگی می‌توان در صنایع غذایی بهره گرفت (Nalinanon et al., 2011 Klompong ; Taheri and Bita, et al., 2007 ; Elavarasan et al., 2014 ;2010). پودرهای پروتئینی حاصل از آبکافت، دارای پپتیدهای زیست‌فعالند. پپتیدهای زیست‌فعال شامل توالی‌های کوتاه آمینواسید هستند که وقتی از سوی انسان مصرف می‌شوند، اثرهای فیزیولوژیکی مفیدی بر بدن اعمال می‌کنند (Darjani, 2013). این پپتیدها دارای خواص بیولوژیکی از جمله تعدیل‌کننده فشار خون، تقویت‌کننده سیستم ایمنی، ضد انعقاد خون، ضد سرطان و ضد میکروب می‌باشند(Kim and Wijesekara, 2010 ; Ngo et al., 2011 ; Harneday and Fitzherald, 2012). پروتئین‌های آبکافتی یک منبع نیتروژنی ارزشمند برای تولید محیط کشت باکتری هستند (Safari et al., 2012). این پروتئین‌ها در اثر فعالیت آنزیمی به زنجیره‌های پپتیدی کوتاه شکسته شده‌اند که این ویژگی موجب افزایش قابلیت هضم‌پذیری و کاربرد آنها به‌عنوان مکمل پروتئینی در غذای انسان، دام و آبزیان می‌شود (Ovissipour and Ghomi, 2008). برای تولید پروتئین آبکافتی از آنزیم‌های پروتئازی مختلفی استفاده شده است. از جمله این آنزیم‌ها می‌توان به آلکالاز، پروتامکس، نئوتراز، تریپسین (Diniz and Martin., 1997 ; Ovissipour et al., 2009)، پاپایین، پانکراتین (Shahidi et al., 1995; Ren et al., 2010)، پپسین (Nalinanon et al., 2011)، بروملاین و فلاورزایم (Elavarasan et al., 2014) اشاره کرد.

فلاورزایم یک پروتئاز میکروبی است که از تخمیر غرقابی قارچ نژاد *Aspergillus oryzae* به‌دست می‌آید (Slizvte et al., 2005). پاپایین یک پروتئاز گیاهی است که از میوه نارس گیاه خربزه درختی با نام علمی *Carica papaya* استخراج می‌شود (Buttle et al., 1989). آنزیم پپسین (E.C.3.4.23.1) نوعی آسپارتیک پروتئیناز شیره معده است که در شرایط بسیار اسیدی، پروتئین را به پروتئوزها ، پپتون‌ها و پپتیدها تبدیل می‌کند (Fluhrer and Haass, 2009).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]

هدف از پژوهش حاضر بررسی و مقایسه خواص کارکردی و آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های آبکافتی تولیدشده از اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از سه آنزیم فلاورزایم، پاپایین، پپسین و معرفی بهترین آنزیم و pH برای هر کدام از خواص پروتئین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

اندرونه ماهی از بازار ماهی‌فروشان شهرستان ساری تهیه و در مجاورت یخ (برای جلوگیری از فساد) به آزمایشگاه گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل شد. این ضایعات به کمک مولینکس هموژن و تا شروع آزمایش در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آنزیم‌ها

آنزیم‌های استفاده شده، آنزیم‌های میکروبی (فلاورزایم)، گیاهی (پاپایین) و حیوانی (پپسین) می‌باشند که از نمایندگی شرکت Novozymes دانمارک و Merck آلمان تهیه شده و تا زمان شروع آزمایش در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. مشخصات آنزیم‌های مصرفی در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱ مشخصات آنزیم‌های مصرفی

آنزیم	دامنه دمایی (°C)	دامنه pH	فعالیت آنزیمی	کشور سازنده
فلاورزایم	۷۰-۵۰	۷-۵	۱۰۰۰ L	دانمارک
پاپایین	۸۰-٤۰	۹-۵	۱۰۰ TU/mg	آلمان
پپسین	٤۰-۲۵	٤-۱	۱۰۰ TU/mg	آلمان

- TU : واحد تیروزین
- AU : واحد آنسون

تولید پروتئین آبکافتی

به‌منظور تولید پروتئین آبکافتی، ۱۰۰گرم از نمونه‌های اندرونه (که در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد انجمادزدایی و سپس هموژن شدند) در ارلن مایرهای ۵۰۰ میلی لیتری ریخته شد، سپس میزان ۲۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات (با pH=۷، مناسب برای فعالیت آنزیم‌های پاپایین و فلاورزایم) و بافر سدیم استات (با pH=۳، مناسب برای فعالیت آنزیم پپسین) به ارلن مایرها اضافه شد. به‌منظور غیرفعال‌سازی آنزیم‌های داخلی، نمونه‌ها، به‌مدت ۲۰ دقیقه درون حمام آبی (Memert WNB 29, Germany) با دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس ظروف حاوی نمونه‌ها در انکوباتور شیکردار (Cold shaker incubator, TM 65, Iran) (با دمای بهینه برای فعالیت هر آنزیم (جدول ۲)) قرار داده و آنزیم‌ها به میزان ۱/۵ درصد میزان پروتئین سوبسترا به محلول‌ها اضافه شدند. پس از اتمام فرایند آبکافت (۳ ساعت)، برای قطع واکنش آنزیمی، نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. نمونه‌ها پس از خنک شدن در دمای اتاق، ۲۰ دقیقه با دور ۸۰۰۰g، در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ (D-78532 Tuttlingen,Germany) و سوپرناتانت با استفاده از دستگاه فریز درایر (Vaco 2 Zirbus, Germany) خشک و پودر پروتئینی حاصل شد (Safari Ovissipour et al., 2009 ; Guerard et al., 2002 ; Ovissipour et al.,2010 ; et al., 2012).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]

جدول ۲ شرایط بهینه برای آنزیم‌ها در طول واکنش

آنزیم	دمای بهینه (°C)	pH بهینه	زمان (ساعت)
فلاورزایم	۵۰	۷	۳
پاپایین	۵۰	۷	۳
پپسین	۳۵	۳	۳

- اعداد بهینه براساس پیش آزمون و مرور منابع انتخاب شده‌اند.

ترکیب شیمیایی

آنالیز پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت هم برای سوبسترا و هم برای پودرهای پروتئینی حاصل از آبکافت انجام شد. پروتئین و چربی کل نمونه‌ها به‌ترتیب با دستگاه کلدال (Behr S4, Germany) و سوکسله (Behr – EZ 100 H, Germany) اندازه‌گیری گردید (AOAC,2005). درصد رطوبت با خشک کردن نمونه در آون (Fan azma gostar, BM 55, Iran) با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت محاسبه شد. میزان خاکستر با قرار دادن نمونه در کوره (FM.2.8, Iran) با دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد تعیین شد (AOAC,2005).

درجهٔ آبکافت فرایند

برای محاسبه درجه آبکافت، پس از پایان فرایند آبکافت، تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) ۲۰ درصد با نسبت برابر به مایع رویی (سوپرناتانت) افزوده شد و محلول حاصل با دور ۶۷۰۰g در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس نیتروژن موجود در سوپرناتانت جدید (محلول ۱۰ درصد تری‌کلرواستیک‌اسید) به روش بیورت (Layne, 1957) سنجیده شد. درجه آبکافت فرایند از رابطه زیر محاسبه گردید (Hoyle and Merritt, 1994) :

$$\text{درصد درجه آبکافت} = \frac{\text{نیتروژن موجود در محلول ۱۰ درصد تری کلرو استیک اسید}}{\text{نیتروژن کل در نمونه}} \times ۱۰۰$$

برای رسم منحنی استاندارد دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-M51 UV/ Vis Spectrophotometr, Italy) از سرم آلبومین گاوی به‌عنوان پروتئین استاندارد استفاده شد.

طول زنجیره پپتیدی (PCL[1])

میانگین طول زنجیره پپتیدی از طریق فرمول زیر به‌دست آمد (Adler-Nissen and Olsen, 1986) :

$$PCL = \frac{100}{\text{درجه هیدرولیز}}$$

بازیابی پروتئین

بازیابی پروتئین به‌صورت درصدی از پروتئین آبکافت‌شده نسبت به مقدار اولیه آن محاسبه شد (Ovissipour et al., 2009).

ارزیابی رنگ

آنالیز رنگ پروتئین آبکافتی با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج (IMG- Pardazesh Cam- System XI, Iran) در سیستم CIE انجام شد. شاخص‌های استفاده شده L^* ، a^* ، b^* و W^* (به‌ترتیب شاخص روشنی، قرمزی، زردی و سفیدی) بودند. دامنه شاخص L^* از تاریکی (صفر) تا روشنی (۱۰۰)، دامنه شاخص a^* از سبز (٦۰–) تا قرمز (٦۰+) و دامنه شاخص b^* از آبی (٦۰–) تا زرد (٦۰+) است (Kunte et al., 1997). شاخص W^* هم با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$W = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{0.5}$$

1. Peptide Chain Length

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]

حلالیت

برای تعیین حلالیت پروتئین آبکافتی، ۲۰۰ میلی‌گرم پروتئین آبکافتی با ۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه مخلوط شد. با استفاده از اسید و سود ۰/۲ طبیعی، pH محلول به ۲،٤،٦،٨،١٠،١٢ رسانده شد. این مخلوط ۳۰ دقیقه در دمای اتاق هم‌زده و سپس ۱۵ دقیقه با دور g ۷۵۰۰ سانتریفوژ شد. پروتئین محلول در سوپرناتانت از روش بیورت و پروتئین موجود در نمونه پس از حل شدن آن در سود ۰/۵ طبیعی تعیین شد (Robinson and Hodgen ,1940). حلالیت پروتئین از رابطه زیر به‌دست آمد:

$$\text{حلالیت (٪)} = \frac{\text{میزان پروتئین محلول در سوپرناتانت}}{\text{پروتئین کل نمونه}} \times ۱۰۰$$

شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی

برای محاسبه این شاخص‌ها، ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر روغن گیاهی به ۳۰ میلی‌لیتر محلول یک درصد پروتئین آبکافتی اضافه و مخلوط حاصل با هموژنایزر (IKA, Germany) به‌مدت یک دقیقه با چرخش ۲۰۵۰۰ دور در دقیقه به‌صورت کامل هموژن شد و یک امولسیون به‌دست آمد. سپس به کمک سمپلر حجم ۵۰ میکرولیتر از ته ظرف حاوی امولسیون در دو زمان صفر و ۱۰ دقیقه پس از هموژن کردن برداشته و با ۵ میلی‌لیتر محلول سدیم دوسیل سولفات ۰/۱ درصد مخلوط شد. جذب این محلول‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-M51 UV/ Vis Spectrophotometr, Italy) در طول موج ۵۰۰ نانومتر قرائت گردید. شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد :

شاخص فعالیت امولسیفایری (متر مربع بر گرم)

$$= ۲\times۲/۳۰۳ \times A_0 / ۰/۲۵\times \text{وزن پروتئین (گرم)}$$

شاخص پایداری امولسیونی (دقیقه)

$$= A_{10} \times {Dt}/{DA}$$

که در این رابطه A_0 و A_{10} میزان جذب امولسیون در دو زمان صفر و ده دقیقه از شروع هموژنیزاسیون است. Dt برابر ۱۰ دقیقه و DA بیانگر اختلاف A_0 و A_{10} می‌باشد.

قدرت مهار رادیکال آزاد ۲و۲ دیفینیل -۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH)

برای اندازه‌گیری این قدرت، ابتدا پروتئین آبکافتی تا غلظت ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در آب حل شد. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از پروتئین‌های محلول به ۱/۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار رادیکال DPPH در اتانول ۹۹/۵۰ اضافه و با سرعت بالا هموژن شد. محلول حاضر به‌مدت ۳۰ دقیقه در مکان تاریک انکوبه و به‌دنبال جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-M51 UV/Vis Spectrophotometr, Italy) قرائت شد. سرانجام قدرت پروتئین‌های آبکافتی برای مهار رادیکال DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Yen and Wu, 1999) :

$$\text{قدرت مهار رادیکال DPPH} = ۱- \frac{\text{جذب نمونه}}{\text{جذب شاهد}} \times ۱۰۰$$

برای کنترل بهتر، قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH پروتئین‌های آبکافتی، با آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک از جمله بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن (BHT) و بوتیل‌هیدروکسی‌آنیزول (BHA) در غلظت ۲۰۰ppm مقایسه شد.

قدرت کاهندگی آهن سه ظرفیتی (یون فریک)

برای بررسی قدرت کاهندگی، ابتدا یک میلی‌لیتر پروتئین آبکافتی با غلظت ٤۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH=٦/٦ و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۱ درصد وزنی – حجمی پتاسیم فریسیانید مخلوط شد. این محلول به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و پس از این مدت با اضافه کردن محلول تری‌کلرواستیک‌اسید ۱۰ درصد، واکنش پایان یافت. در

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]

نهایت ۲/۵ میلی‌لیتر از این مخلوط با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر فریک کلرید ۰/۱ درصد ترکیب و ۱۰ دقیقه در دمای محیط انکوبه و سپس جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-M51 UV/ Vis Spectrophotometr, Italy) در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. جذب بالاتر نشان‌دهندهٔ قدرت کاهندگی بالاتر پروتئین‌های آبکافتی است (Oyaiza, 1986). در اینجا هم برای مقایسه بهتر، از آنتی‌اکسیدان‌های بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن (BHT) و بوتیل‌هیدروکسی‌آنیزول (BHA) در غلظت ۲۰۰ppm استفاده شد.

آنالیز آماری

آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام و داده‌ها از طریق آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون دانکن آنالیز شدند. برای رسم نمودارها و جداول از نرم‌افزار Excel (۲۰۱٤) استفاده شد.

نتایج

ترکیب شیمیایی اندرونه قزل‌آلا و پروتئین‌های آبکافتی مشتق‌شده از آن در جدول ۳ نشان داده شده است. همان‌طورکه مشاهده می‌شود، پروتئین موجود در اندرونه قزل‌آلا، ۰/۳۱ ± ۱٦/۰۱ درصد است، اما پروتئین موجود در پودر پروتئین‌های آبکافتی تهیه‌شده از آن، به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته که این امر نشان‌دهندهٔ موفق بودن فرایند آبکافت می‌باشد. بیشترین مقدار پروتئین (۰/۱۷± ۸۲/٤۲ درصد) در پودر پروتئینی آبکافتی با فلاورزایم وجود داشت ($p<0/05$). مطابق جدول میزان چربی و رطوبت در پروتئین‌های آبکافتی نسبت به اندرونه قزل‌آلا به‌صورت چشمگیری کاهش یافت. در این مطالعه میزان خاکستر در پروتئین آبکافتی نسبت به اندرونه قزل‌آلا بیشتر بود.

جدول ۳ ترکیب شیمیایی اندرونه قزل‌آلا و پروتئین‌های آبکافتی مشتق‌شده از آن با آنزیم‌های مختلف

ماده	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	رطوبت (درصد)	خاکستر(درصد)
اندرونه قزل‌آلا	۱٦/۰۱ ± ۰/۳۱	۱۲/۹۸ ± ۰/۷۲	٦۷/۱۲ ± ۰/٦۲	۳/۸۵ ± ۰/٤۲
پروتئین آبکافتی با فلاورزایم	۸۲/٤۲ ±۰/۱۷^{a}	۰/۹۲ ± ۰/۰۸^{a}	۳/۳۵ ± ۰/۲۱^{a}	۱۳/۵ ± ۰/۱ ^{a}
پروتئین آبکافتی با پاپایین	۷۸/۸۰ ± ۰/۹۷^{b}	۱/۰۸ ± ۰/۱۸^{b}	۳/۸۵ ± ۰/۵۷ ^{a}	۱۳/۱٦ ± ۱/۳^{a}
پروتئین آبکافتی با پپسین	۷۱/۰۵ ± ۲/٤۵^{c}	۱/۲٤ ± ۰/۱۲ ^{b}	٤/۰٦ ± ۰/٦٤ ^{a}	۱۷/۳٤ ± ۱/٤٤^{b}

• حروف یکسان بالای داده‌ها، نشانه عدم وجود اختلاف معنادار بین آنهاست.

درجه آبکافت، طول زنجیره پپتیدی و بازیابی پروتئین

در این مطالعه در زمان‌های مساوی، آنزیم فلاورزایم توانست نسبت به دو آنزیم دیگر، پیوندهای بیشتری را تجزیه کند و بالاترین درجه آبکافت را به خود اختصاص دهد (شکل ۱). بین درجات آبکافت (درجه آبکافت فرایند طی سه ساعت واکنش، هر نیم ساعت اندازه‌گیری شد و فقط درجه آبکافت در زمان ۱۸۰ دقیقه مورد بحث است) این آنزیم‌ها، اختلاف معناداری وجود دارد ($p<0/05$). در جدول ٤، دو شاخصه مهم دیگر هم دیده می‌شوند که با درجه آبکافت ارتباط دارند. اولین شاخصه میانگین طول زنجیره پپتیدی است که با درجه آبکافت رابطه عکس دارد و هرچه درجه آبکافت بیشتر شود، میانگین طول زنجیره کاهش می‌یابد که این مسئله در فرمول کاملاً مشهود است. کمترین طول زنجیره پپتیدی (۰/۲ ± ٤/۳۲) در پروتئین آبکافتی با فلاورزایم ($p<0/05$) اندازه‌گیری شد (کمینه طول زنجیره پپتیدی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]

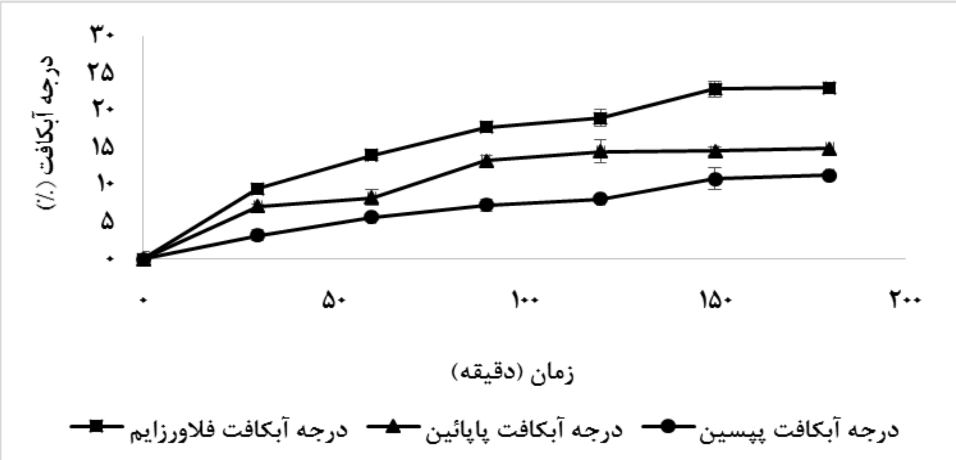
[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]

برای هر پروتئین، فقط بـا بیشـینه مقـدار درجـه آبکافـت محاسبه شده است). شاخص دیگر درصد بازیابی پروتئین است که نشان‌دهندهٔ میزان پـروتئین مسـتخرج از پـروتئین اولیه است. این شاخص رابطه مستقیمی با درجه آبکافت دارد و بیشترین میزان آن (۰/۶۸ ± ۵۵/۶٤ درصـد) بـرای پروتئین آبکافتی با فلاورزایم ثبت شد.

جدول ٤ درجه آبکافت، طول زنجیره پپتیدی و بازیابی پروتئین در پروتئین‌های آبکافت

پروتئین‌های آبکافتی	بیشینه درجه آبکافت (درصد)	کمینه طول زنجیره پپتیدی	بازیابی پروتئین (درصد)
پروتئین آبکافتی با فلاورزایم	$۲۳/۱۲ \pm ۱/۰۵^{a}$	$٤/۳۲ \pm ۰/۲^{a}$	$۵۵/٦٤ \pm ۰/٦۸^{a}$
پروتئین آبکافتی با پاپایین	$۱٤/۹۵ \pm ۰/۵۸^{b}$	$٦/٦۸ \pm ۰/۲٦^{b}$	$٤٤/۸٦ \pm ۱/۱۹^{b}$
پروتئین آبکافتی با پپسین	$۱۱/۳٤ \pm ۱/٤۵^{c}$	$۸/۹۰ \pm ۱/۱٤^{c}$	$۳۵/۸۲ \pm ۱/۲۹^{c}$

• حروف متفاوت بالای اعداد نشانه وجود اختلاف معنادار بین داده‌هاست.



شکل ۱ درجه آبکافت در طی زمان انجام واکنش

ارزیابی رنگ

در جدول ۵، شاخص‌هـای رنـگ پودرهـای پروتئینـی در سیستم CIE نشان داده شده است. همان‌طورکـه مشـاهده می‌شود، پروتئین آبکافتی با پاپایین، روشن‌ترین ($p<۰/۰۵$) و پروتئین آبکافتی با پپسین، قرمزترین ($p<۰/۰۵$) پودرهای پروتئینی بودند.

جدول ۵ مقایسه و ارزیابی رنگ پروتئین‌های آبکافتی با آنزیم‌های مختلف

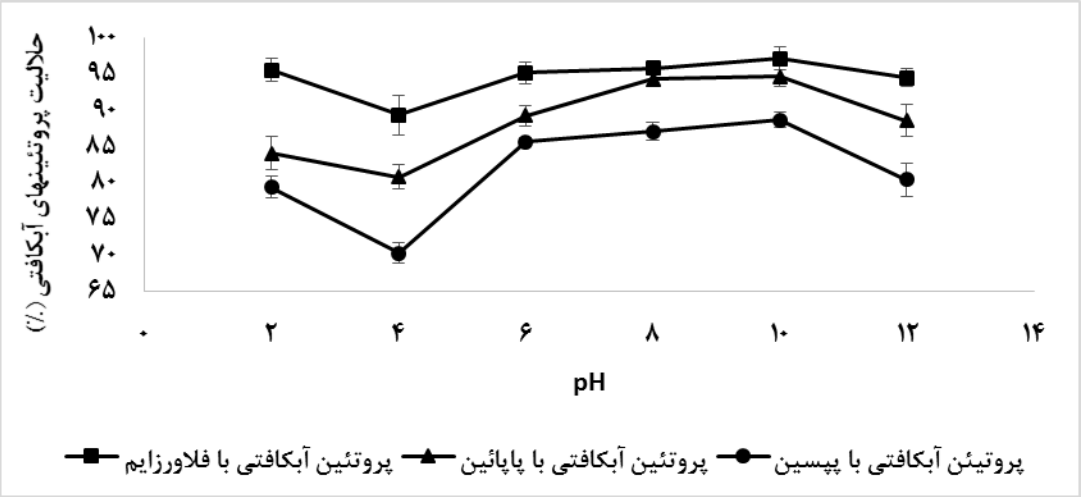
	پروتئین‌های آبکافتی		
شاخص‌های رنگی	پروتئین آبکافتی با فلاورزایم	پروتئین آبکافتی با پاپایین	پروتئین آبکافتی با پپسین
شاخص روشنایی (L^*)	$٦۵/۰٦ \pm ۰/۱۹^{a}$	$۷۲/۸۷ \pm ۰/۵۷^{b}$	$٦۸/۳٦ \pm ۰/۷^{c}$
شاخص قرمزی (a^*)	$٤/۷۱ \pm ۰/۷۸^{d}$	$۲/٦٤ \pm ۰/۱^{e}$	$۷/٤۷ \pm ۰/۸^{f}$
شاخص زردی (b^*)	$۲٤/۵٤ \pm ۰/۰٤^{g}$	$۳۳/٤۱ \pm ۰/٦۲^{h}$	$۳۲/۰۵ \pm ۱/۳۸^{h}$
شاخص سفیدی (W^*)	$۵۷/۰٤ \pm ۰/۱۷^{i}$	$۵٦/۸۸ \pm ۰/۷۹^{i}$	$۵٤/۳۲ \pm ۰/٦۹^{j}$

• حروف یکسان بالای اعداد، نشانه نبود اختلاف معنادار بین داده‌های هر سطر است.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]

حلالیت پروتئین‌های آبکافتی

در این پژوهش، پروتئین‌های آبکافتی در pH=٤ کمترین و در pH=۱۰ بیشترین حلالیت را داشتند؛ البته پروتئین آبکافتی با فلاورزایم در pH=۱۰ با تمام pH ها به غیر از pH=٤ از نظر حلالیت اختلاف قابل ملاحظه‌ای نداشت (p>۰/۰۵). همچنین پروتئین آبکافتی با پاپایین نیز در دو pH ۸ و ۱۰ اختلاف معناداری از این نظر ارائه نکرد (p>۰/۰۵). مثل همین نتیجه برای پروتئین آبکافتی با پپسین ثبت شد. شکل ۲، حلالیت پروتئین‌های آبکافتی را در pH های ۲ تا ۱۲ نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، بالاترین حلالیت در تمامی pH ها، مربوط به پروتئین آبکافتی با فلاورزایم است. ضمن اینکه این پروتئین در دو pH ۸ و ۱۰ از نظر حلالیت اختلاف معناداری با پروتئین آبکافتی حاصل از فعالیت پاپایین ندارد (p>۰/۰۵).



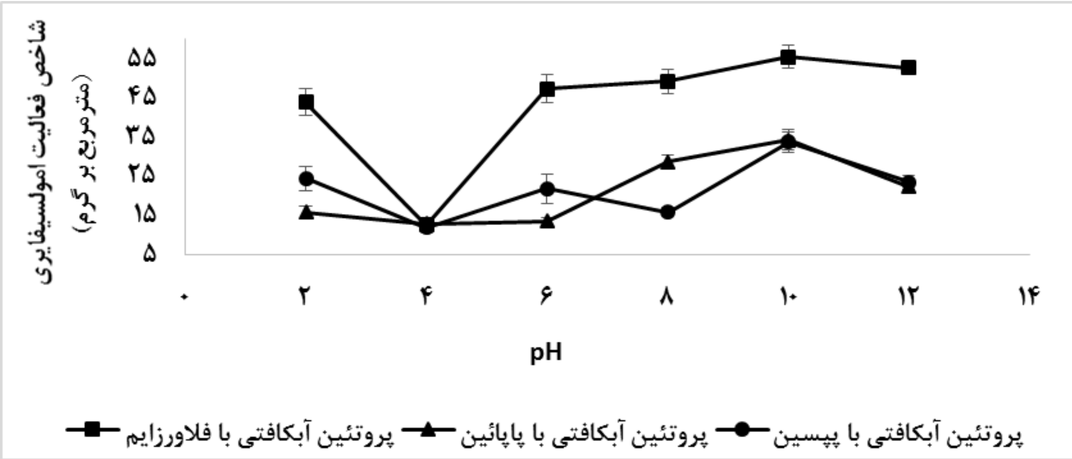
شکل ۲ حلالیت پروتئین‌های آبکافتی با آنزیم‌های مختلف

شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی

شکل ۳ میزان شاخص فعالیت امولسیفایری هر سه پروتئین آبکافتی را نشان می‌دهد. همان‌طور که در این شکل مشاهده می‌شود، در تمامی pH ها به غیر از pH=٤، این شاخص در پروتئین آبکافتی با فلاورزایم به‌طور معناداری (p<۰/۰۵) از دو پروتئین دیگر بیشتر است. همچنین کمترین میزان شاخص فعالیت امولسیفایری هر سه پروتئین آبکافتی در pH=٤ و بیشترین مقدار آن در pH=۱۰ ثبت شده است. ضمن اینکه پروتئین آبکافتی با پاپایین در pH های ۲، ٤، ٦ و پروتئین آبکافتی با پپسین در pH های ٤ و ۸ از نظر این شاخص اختلاف معناداری نداشتند (p>۰/۰۵). همچنین پروتئین آبکافتی با فلاورزایم در دو pH ۱۰ و ۱۲ از نظر این شاخص اختلاف قابل ملاحظه‌ای ارائه نکرد (p>۰/۰۵).

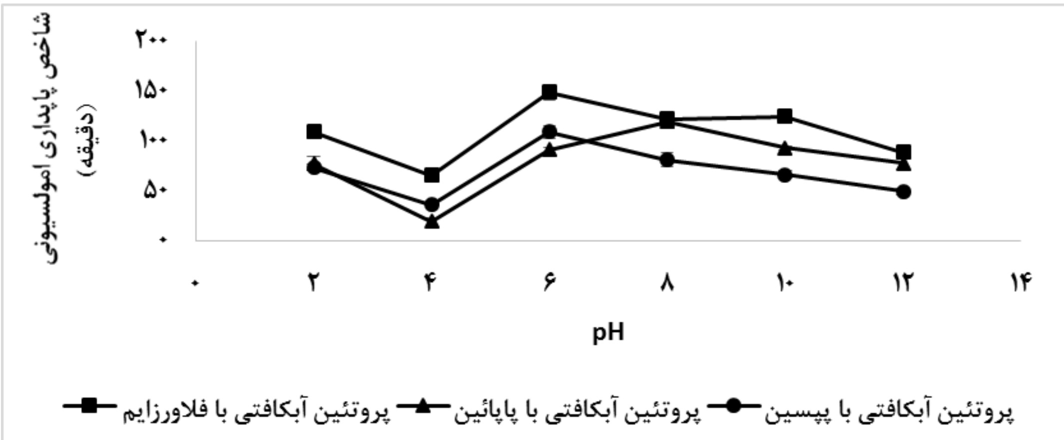
[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]



شکل ۳ شاخص فعالیت امولسیفایری پروتئین‌های آبکافتی با سه آنزیم در pH های مختلف

یکی دیگر از خواص کارکردی مهم پروتئین‌های آبکافتی شاخص پایداری امولسیونی است. مطابق شکل ٤، در تمام pH های بررسی شده (به غیر از pH=۸) پروتئین آبکافتی با فلاورزایم توانست به‌طور قابل ملاحظه‌ای (p<۰/۰۵) شاخص پایداری امولسیونی بیشتری را نسبت به دو پروتئین دیگر به خود اختصاص دهد. همچنین شاخص پایداری امولسیونی هر سه پروتئین آبکافتی در pH=٤ حداقل است. گفتنی است، بیشترین مقدار این شاخص در پروتئین آبکافتی با فلاورزایم و پپسین مربوط به pH=٦ و در پروتئین آبکافتی با پاپایین متعلق به pH=۸ بود.



شکل ٤ شاخص پایداری امولسیونی در پروتئین‌های آبکافتی با سه آنزیم در pH های مختلف

خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی

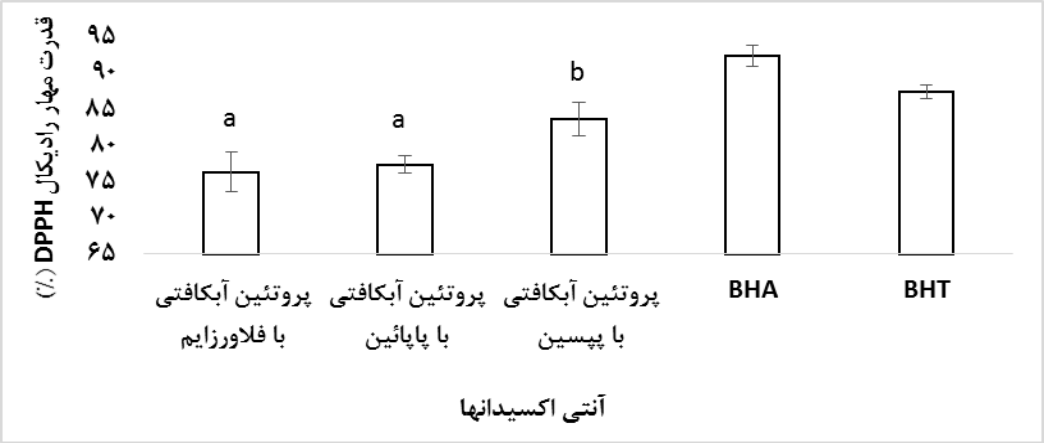
در این پژوهش از دو شاخص مهم برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های آبکافتی، یعنی قدرت مهار رادیکال آزاد ۲و۲ دیفینیل -۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) و کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی (فریک) استفاده شد.

مطابق شکل ۵، در بین پروتئین‌های آبکافتی، بالاترین (۲/۲۷ ± ۸۳/۵۹ درصد) قدرت مهار رادیکال

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]

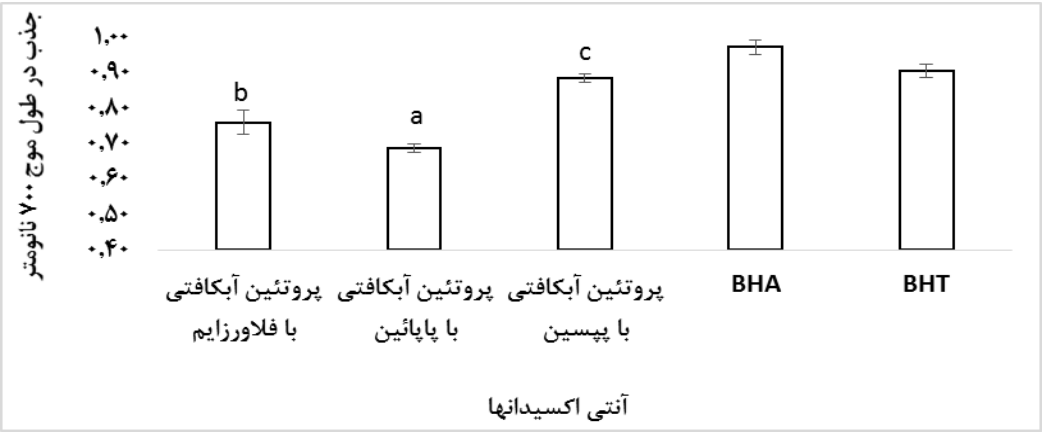
[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]

آزاد DPPH مربوط به پروتئین آبکافتی با پپسین بود (p<۰/۰۵). این ویژگی در پروتئین آبکافتی با پاپایین (۱/۲۵ ± ۷۷/۳٤ درصد) اندکی از پروتئین آبکافتی با فلاورزایم (۲/۷٤ ± ۷٦/۳۳ درصد) بیشتر بود، اما اختلاف معناداری بین این دو پروتئین از این نظر مشاهده نشد (p>۰/۰۵). شاخص آنتی‌اکسیدانی بعدی که بررسی شد، قدرت کاهندگی یون فریک بود. طبق شکل ٦، در این شاخص هم پس از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی، بیشترین قدرت کاهندگی یون فریک (آهن سه طرفیتی) به پروتئین آبکافتی با پپسین (جذب ۰/۰۱۳ ± ۰/۸۸٦ در طول موج ۷۰۰ نانومتر) اختصاص داشت. پروتئین‌های آبکافتی با فلاورزایم (جذب ۰/۰۳۵ ± ۰/۷٦۱ در طول موج ۷۰۰ نانومتر) و پاپایین (جذب ۰/۰۱۲ ± ۰/٦۸٦ در طول موج ۷۰۰ نانومتر) به‌ترتیب در مراتب بعدی قرار گرفتند.



شکل ۵ قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH در پروتئین‌های آبکافتی با سه آنزیم

- حروف یکسان بالای هر ستون نشان‌دهندهٔ نبود اختلاف معنادار بین داده‌ها است (p>۰/۰۵)



شکل ٦ قدرت کاهندگی پروتئین‌های آبکافتی با سه آنزیم

- حروف متفاوت بالای هر ستون نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنادار بین داده‌ها است (p>۰/۰۵)

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]

بحث

ترکیب شیمیایی پروتئین آبکافتی با سوبسترا، تفاوت اساسی دارد (Ovissipour et al., Taheri et al., 2013 ; 2010). علت بیشتر بودن درصد پروتئین در پودر پروتئینی تولیدشده با استفاده از آنزیم فلاورزایم (نسبت به دو پروتئین دیگر) را باید در فعالیت آنزیمی بالاتر این آنزیم نسبت به دو آنزیم دیگر و نوع سوبسترا جستجو کرد (Ovissipour et al., 2010). علت کمتر بودن چربی در پروتئین‌های آبکافتی نسبت سوبسترا را می‌توان این‌گونه توضیح داد که پیش از شروع فرایند آبکافت، برای غیرفعال‌سازی آنزیم‌های داخلی بافت، نمونه‌ها حدود ۲۰ دقیقه در معرض دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شوند. همچنین پس از پایان زمان تعیین‌شده برای فرایند آبکافت، به‌منظور غیرفعال‌سازی آنزیم‌های تجاری، نمونه‌ها ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه می‌شوند. این فرایندهای دمایی و استفاده از آنزیم، موجب تخریب بافت نمونه و آزاد شدن چربی می‌شوند. چربی آزاد شده به‌صورت یک لایه در بالای ارلن (محتوای بافر، اندرونه و آنزیم) قرار می‌گیرد. این موضوع در بالای فالکون‌ها پس از عمل سانتریفوژ، به‌صورت شفاف‌تر مشاهده می‌شود. برای رسیدن به سوپرناتانت، ناگزیر این چربی باید تخلیه شود و به این صورت پروتئین آبکافتی میزان چربی اندکی دارد (معمولاً حدود ۱ درصد). میزان چربی در پروتئین آبکافتی با فلاورزایم کمتر ($p<۰/۰۵$) از پروتئین آبکافتی با پاپایین و پپسین است که یکی از دلایل آن را می‌توان بالاتر بودن فعالیت آنزیمی فلاورزایم نسبت به پاپایین و پپسین دانست که می‌تواند پیوندهای پپتیدی بیشتری را شکسته و چربی بیشتری را آزاد کند. دلیل کاهش چشمگیر رطوبت در پروتئین آبکافتی، خشک کردن سوپرناتانت با دستگاه خشک‌کن انجمادی است. در تحقیقی که دربارهٔ تولید پروتئین آبکافتی از اندرونه ماهی تن زردباله (*Thunnus albacares*) انجام گرفت، علت بیشتر بودن خاکستر در پروتئین‌های آبکافتی نسبت به سوبسترا، افزایش میزان ماده خشک و به‌کارگیری بافر فسفات طی فرایند آبکافت گزارش شد (Ovissipour et al., 2010).

در مطالعه‌ای که به‌منظور مقایسه خواص پروتئین آبکافتی تولیدشده از اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و ضایعات مرغ با آلکالاز انجام گرفت، کاهش چربی، رطوبت و افزایش پروتئین در پودر پروتئین آبکافتی نسبت به سوبسترا مشاهده شد که نتیجه پژوهش حاضر را تأیید می‌کند (Taheri et al., 2013).

درجه آبکافت، شاخصی برای مشخص کردن میزان پیوندهای پپتیدی شکسته شده است. هر چه فعالیت آنزیمی یک آنزیم بیشتر باشد، آن آنزیم توانایی شکستن تعداد بیشتری از پیوندهای پپتیدی را دارد. یک عامل مهم در این بحث، شرایط آزمایش و نوع سوبستراست. در پژوهشی که اندرونه ماهی تن زردباله (*Thunnus albacares*) تحت تأثیر سه آنزیم آلکالاز، پروتامکس و فلاورزایم به میزان برابر (۳۰ واحد آنسون) طی ۹۰ دقیقه آبکافت شد، بالاترین درجه آبکافت (حدود ۲۷ درصد) و بازیافت نیتروژنی (۲/۸٤ ± ۸۰/٦۷ درصد) مربوط به پروتئین آبکافتی با آلکالاز بود (Ovissipour et al., 2010). در پژوهش حاضر بالاترین درجه آبکافت (۱/۰۵ ± ۲۳/۱۲ درصد) و بازیافت نیتروژنی (۰/٦۸ ± ۵۵/٦٤ درصد) به پروتئین آبکافتی با فلاورزایم اختصاص داشت.

حلالیت پروتئین‌های آبکافتی با توجه نوع آنزیم (درجه آبکافت) و pH متغیر است. در این مطالعه نیز پروتئین‌های آبکافتی تولیدشده با آنزیم‌های مختلف، حلالیت‌های متفاوتی داشتند. از جمله دلیل این تفاوت، درجه آبکافت و به‌دنبال آن طول زنجیره پپتیدی است. به گونه‌ای که هرچه

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]

درجه آبکافت بیشتر باشد، زنجیره‌هایی با طول کمتر تولید می‌کند و هر چه طول زنجیره کوتاه‌تر باشد (وزن مولکولی کمتر)، قابلیت انحلال آن افزایش می‌یابد. دلیل دیگر هم مربوط به تعداد و نسبت اسیدآمینه‌های آبدوست و آبگریز زنجیره‌های پپتیدی است که در اثر آبکافت با هر آنزیم تولید می‌شوند. همچنین طی این پژوهش، پروتئین‌های آبکافتی در pH=٤ کمترین حلالیت را داشتند، زیرا این pH در محدودهٔ pH ایزوالکتریک قرار دارد و مجموع بار مثبت و منفی رشته پپتیدی با یکدیگر برابر بوده و پپتید توانایی نگهداری آب را ندارد و ناگزیر رسوب می‌کند (Chobert et al., 1988; Linder et al., 1996).

مطالعه‌ای که دربارهٔ حلالیت پروتئین آبکافتی تولیدشده از ماهی (با نام علمی *Selaroides leptolepis*) با آنزیم‌های فلاورزایم و آلکالاز انجام شد، کمینه حلالیت را در pH=٤ و بیشینه آن را حدوداً در pH های بین ۷ تا ۱۰ گزارش کرد. (Klompong et al., 2007). همچنین طاهری و همکاران (۲۰۱۳) طی پژوهشی حلالیت پروتئین آبکافتی تولیدشده از اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از آنزیم آلکالاز را در pH دو تا ده بررسی کردند. نتیجه اینکه حداقل حلالیت در pH=٤ و حداکثر آن در pH=۱۱ اندازه‌گیری شد. در پژوهش حاضر حلالیت هر سه پروتئین در pH=٤ حداقل و در pH= ۱۰ حداکثر بود.

در مطالعه حاضر، شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی برای هر یک از پروتئین‌های آبکافتی وابسته به حلالیت و pH بود (خود حلالیت وابسته به pH است). دلیل حداقل بودن شاخص فعالیت امولسیفایری در pH=٤، کاهش حلالیت در (نقطه ایزوالکتریک) و به‌دنبال آن ناتوانی رشته‌های پپتیدی برای حرکت سریع (به‌دلیل کاهش حلالیت) به سمت سطح مشترک آب–هوا می‌باشد. علاوه بر آن بار شبکه پپتید در این pH به حداقل خود رسیده است. همچنین دلیل افزایش شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی در pH های بالاتر، افزایش حلالیت است. با افزایش حلالیت، پروتئین‌های آبکافتی به‌سرعت منتشر شده و به سطح مشترک آب–هوا جذب می‌شوند و از این‌رو شاخص فعالیت امولسیفایری افزایش می‌یابد (Klompong et al., 2007 ; Mutilangi et al., 1996). مطالعه‌ای که دربارهٔ شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری آن در پروتئین آبکافتی حاصل از بافت ماهی (با نام علمی *Selaroides leptolepis*) با استفاده از آنزیم آلکالاز و فلاورزایم در pH دو تا ده انجام شد، حداقل شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی را در pH=٤ گزارش کرد (Klompong et al., 2007) که از این نظر با نتیجه پژوهش حاضر مطابقت داشت. همچنین میزان این شاخص‌ها در سه پروتئین آبکافتی، اختلاف قابل ملاحظه‌ای داشت که این امر نشان‌دهندهٔ اهمیت نوع آنزیم‌های مصرفی برای فرایند آبکافت است. در تحقیقی که شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی پروتئین آبکافتی تولیدشده از بافت ماهی کپور آب شیرین (*Catla catla*) با استفاده از آنزیم‌های پروتامکس، فلاورزایم، بروملاین و آلکالاز مقایسه شد، بیشترین شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی به‌ترتیب برای پروتئین‌های آبکافتی با پروتامکس و پروتئین آبکافتی با بروملاین ثبت شد (Elavarasan et al., 2014). پژوهش مذکور، از نظر معنادار بودن نقش آنزیم در تعیین خواص امولسیفایری پروتئین، مطالعه حاضر را تأیید کرد.

پروتئین‌های آبکافتی خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای دارند (Elavarasan et al., 2007 ; Klompong et al., 2014; Taheri and Bita, 2010). تا حدی که در بعضی مواقع (بسته به شرایط) با آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]

مانند بوتیل‌هیدروکسی‌آنیزول (BHA) و بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن (BHT) برابری می‌کنند (Elavarasan et al., 2014). فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های آبکافتی به نوع پروتئاز (Jun et al., 2004 ; Elavarasan et al., 2014) و شرایط آبکافت بستگی دارد (Jao and Ko, 2002 ; Jun et al., 2004 ; Pena-Ramos and Xiong, 2003). در طول آبکافت بسته به نوع آنزیم استفاده شده، دامنه وسیعی از پپتیدهای کوچک و آمینواسیدهای آزاد تولید می‌شوند. تغییر اندازه و سطح آمینواسیدهای آزاد و پپتیدهای کوچک روی خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های آبکافتی اثرگذار است (Wu et al., 2003). در این مطالعه هم نوع آنزیم به‌عنوان عامل تعیین‌کننده در خاصیت آنتی‌اکسیدانی بررسی شد و آنزیم پپسین در تولید پروتئین‌های آنتی‌اکسیدان موفق‌تر عمل کرد. همان‌طور که پیش‌تر عنوان شد، خاصیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های آبکافتی به حدی بالا است که گاهی اوقات با آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک (بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن و بوتیل‌هیدروکسی آنیزول) برابری می‌کند. اشکال ۵ و ٦ نیز به‌درستی مبین این امر هستند. همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH تقریباً نزدیک به بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن است، اگرچه اختلاف معناداری دارند ($p<۰/۰۵$). همچنین در شکل ٦ کاملاً واضح است که پروتئین آبکافتی با پپسین از نظر قدرت کاهندگی یون فریک، اختلاف معناداری با بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن ندارد ($p>۰/۰۵$). طی پژوهشی پروتئین میوفیبریلی ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*) با استفاده از آنزیم‌های پاپایین، پانکراتین، برمولاین، نئوتراز، آلکالاز آبکافت و خواص آنتی‌اکسیدانی آن بررسی شد و نتیجه اینکه، پروتئین آبکافتی تولیدشده با آنزیم برومولاین بیشترین قدرت مهار رادیکال هیدروکسیل را داشت (Ren et al., 2010). همچنین در مطالعه‌ای، خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های آبکافتی تولیدشده از بافت ماهی کپور آب شیرین (*Catla catla*) با استفاده از آنزیم‌های برومولاین، آلکالاز، پروتامکس و فلاورزایم مقایسه شد و بیشترین قدرت مهار رادیکال آزاد DPPHو کاهندگی یون فریک مربوط به پروتئین آبکافتی با برومولاین بود (Elavarasan et al., 2014). دو پژوهش مذکور، مانند پژوهش حاضر، متفاوت بودن خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های آبکافتی تولیدشده (از یک سوبسترا) با آنزیم‌های مختلف را ثابت کردند.

نتیجه‌گیری

از این پژوهش چنین برمی‌آید که نباید ارزش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را تنها در کیفیت بالای بافت آن دید، بلکه این ماهی دارای ضایعات ارزشمندی با مقادیر بالای پروتئین است که در صورت آبکافت آنزیمی (این ضایعات)، محصولی با خواص کارکردی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مطلوب تولید خواهد شد (پروتئین آبکافتی). نتیجه دیگر اینکه، این مطالعه نشان داد تمام خواص (عملکردی و آنتی‌اکسیدانی) پروتئین آبکافتی به نوع آنزیم استفاده شده برای انجام فرایند آبکافت بستگی دارد و تغییر آنزیم، این خواص را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

تشکر و قدردانی

محققان این مطالعه بر خود لازم می‌دانند از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به‌ویژه گروه شیلات به‌دلیل کمک‌های بی‌شائبه تقدیر و تشکر به‌عمل آورند.

منابع

Adler-Nissen, J. and Olsen, H. 1979. The influence of peptide chain length on taste and functional properties of enzymatically modified soy protein. *In*

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]

Proteases. *Journal of Biological Chemistry*, 284, 13975-13979.

FAO 2014. *The state of world fisheries and aquaculture*, Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Guerard, F. Guimas, L. and Binet, A. 2002. Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 19**,** 489-498.

Hoyle, N. T. and Merritt, J. 1994. Quality of fish protein hydrolysates from herring (Clupea harengus). *Journal of Food Science*, 59, 76-79

Jao,C. L. and Ko,W.C. 2002.1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging by protein hydrolysates from tuna cooking juice. *Fisheries Science*, 68, 430–435.

Jun,S.Y. Park, P.J. Jung, W. K. and Kim, S. K. 2004. Purification and characterization of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysate of yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein. *European Food. Research and Technology*, 219, 20–26

Kunte, L. A.,Gennadison, A. Cuppett, S.L. Hanna, M. A. and Weller, C. L.1997. Cast films from soy protein isolates and fractions. *Cereal Chemistry*, 74, 115–118.

Klompong, V. Benjakul, S. Kantachote, D. and Shahidi, F. 2007. 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*, 102, 1317-1327.

Kim, S. K. and Wijesekara, I. 2010. Development and biological activities of marine- derived bioactive peptides: A review. *Journal of Functional Foods*, 2**,** 1-9.

Layne, E. 1957. Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. *Methods in enzymology*, 3, 447-454.

Linder, M. Fanni, J. and Parmentire, M. 1996. Functional properties of veal bone hydrolysates. *Journal of Food Science*, 61,712–6.

Mutilangi, W.A.M. Panyam, D. and Kilara, A. 1996. Functional properties hydrolysates from proteolysis

Food Chemistry (A. Pour-El, ed.) *American Chemical Society*, Washington, DC.

AOAC, W. H. 2005. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. *Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA*.

Buttle, D.J. Kembhavi, A.A. Sharp, S.L. Shute, R. E. Richd,.H. and Barrett A.J. 1989. Affinity purification of the novecysteine proteinase papaya proteinase IV, and papain from papaya latex, *Biochemisty Journal*, 261, 469-476.

Benjakul, S. and Morrissey, M. T. 1997. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45**,** 3423-3430.

Bhaskar, N. Benila, T. Radha, C. and Lalitha, R. G. 2008. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresource technology*, 99**,** 335-343.

Chobert, J. M. Bertrand -Harb, C. and Nicolus, M. G. 1988 .Solubility and emulsifying properties of caseins and whey proteins modified enzymatically by trypsin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,36, 883–892.

Diniz, F. M. and Martin, A. M. 1997. Optimization of nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) protein. Composition of the hydrolysates. *International journal of food sciences and nutrition*, 48**,** 191-200

Darjani, P. 2013. Bioactive peptides derived from meat and meat byproducts. Collection Articles Twenty-first National Congress of Food Science and Technology, Shiraz university.

Elavarasan, K. Naveen Kumar, V. and Shamasundar, B. 2014. Antioxidant and functional properties of fish protein hydrolysates from fresh water carp (*Catla catla*) as influenced by the nature of enzyme. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38**,** 1207- 1214.

Fluhrer, R. & Haass, CH. 2009. Intramembrane Proteolysis by Signal Peptide Peptidases: A Comparative Discussion of GXGD-type Aspartyl

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]

Ren, J. Wang, H. Zhao, M. Cui, C. and Hu, X. 2010. Enzymatic hydrolysis of grass carp myofibrillar protein and antioxidant properties of hydrolysates. *Journal of Food Science*. Vol, 28**,** 475-484.

Skanderby, M. 1994. Protein hydrolysates: their functionality and applications. *Food Science and Technology International*, 10**,** 141.

Shahidi, F. Han, X.-Q .and Synowiecki, J. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food chemistry*, 53**,** 285-293.

Safari, R. Motamedzadegan, A. Ovissipour, M. Regenstein, J. M. Gilberg, A. and Rasco, B. 2012. Use of hydrolysates from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) heads as a complex nitrogen source for lactic acid bacteria. *Food and Bioprocess Technology*, 5.1**,** 73-79.

Taheri, A. Bita, S. 2010, Antiantioxidant properties of protein hydrolysates horse mane fish (*Trichiurus lepturus*) viscera by application protamex enzyme. Research projects martime University of Chabahar No. 1632/48

Taheri, A. Anvar, S.A.A. Ahari H. and Fogliano, V. 2013. Comparison the functional properties of protein Hydrolysates from poultry by products and rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) viscera. *Iranian Journal of Fisheries*, 12, 154-169.

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

Yen, G. and Wu, J. 1999. Antioxidant and radical scavenging properties of extract from Ganoderma tsugae . *Food chemistry*. 65,375-379.

of heat-denatured whey protein isolate. *Journal of Food Science*, 61, 270–274, 303.

Nalinanon, S. Benjakul, S. Kishimura, H. and Shahidi, F. 2011. Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from the muscle of ornate threadfin bream treated with pepsin from skipjack tuna. *Food Chemistry*, 12**,** 1354-1362.

Ngo, D.H. Wijesekara, I. Vo, T.S. Ta, Q.V. and Kim, S.K. 2011. Marine food derived functional ingredients as potential antioxidants in the food industry An, overview. *Food Research International*, Int. 44, 523–529.

Oyaiza, M. 1986. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese journal of nutrition*, 44, 307–315.

Ovissipour, M. Abedian, A. Motamedzadegan, A. Rasco, B. Safari, R. and Shahidi, H. 2009.The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera .*Food chemistry*, 115**,** 238-242.

Ovissipour, M. Ghomi, M. R. 2008. Marine biotechnology production, Publishers of Islamic Azad university- tonkabon unit, 37-104

Ovissipour, M. Abedian, A. Motamedzadegan, A. Nazari, R.2010. study of properties of hydrolaste from yellow fin tuna (*Thunnus albacares*) using commercial enzymes. *Journal of Food Science and Technology*. 6, 68 - 76

Pena-Ramos, E. A. and Xiong, Y. L. 2003. Whey and soy protein hydrolysates inhibit lipid oxidation in cooked pork patties. *Meat Science*, 64, 259–263.

Robinson, H.W. and Hodgen, C. G. 1940. The biuret reaction in the determination of serum protein, A study of the condition necessary for the production of the stable color which bears a quantitative relationship to the protein concentration. *The Journal of Biological Chemistry*, 135, 707–725.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 5, No. 4, Winter 2017

Functional and antioxidant properties of fish protein hydrolysate from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) viscera by enzymatic method

Soheyl Reyhani Poul [1], Ali Jafarpour[2*], Reza Safari[3]

1- M.Sc Student, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
2- Associate Prof., Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
3- M.Sc Graduate, Institute of Aquatic Ecology of the Caspian Sea, Sari, Iran

Received: 25.01.2016 Accepted: 27.11.2016

*Corresponding author: a.jafarpour@sanru.ac.ir

Abstract:
The aim of this study was to hydrolysis of rainbow trout viscera by application of flavourzyme, papain and pepsin enzymes and compare the functional and antioxidant properties of these three types of proteins. At the same time, the maximum degree of hydrolysis and nitrogen recovery was recorded for the hydrolysate produced by flavourzyme (23.12 ± 1.05% and 55.64 ± 0.68% respectively). In all pH values tested (apart pH 8 and 10), hydrolysate produced by flavourzyme showed the highest solubility compared to other proteins ($p<0.05$). In addition, emulsion activity (apart from pH 4) and emulsion stability index (apart from pH 8) in this protein were higher in comparison with two other proteins ($p<0.05$). To compare the antioxidant properties of hydrolysate, the inhibition capability of scavenging of 2,2 diphynyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radicals and reduction capacity of iron (III), were measured. As a result, hydrolysate produced by pepsin showed highest DPPH scavenging power (83.59 ± 2.27 %) and iron (III) reduction power (0.886 ± 0.013 absorbtion in 700 nm).This study showed that the proteins produced from the substrate has favorable properties and various factors, including the type of enzyme used greatly affect these properties.

Keywords: Enzymatic hydrolysis, Rainbow trout, Viscera, Degree of hydrolysis

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-25]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.1.2]