

مقایسه ترکیب اسیدآمینه پودر پروتئین گوشت ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) با استفاده از روش‌های شستشو، حرارتی و تغییر pH

محدثه عزیزاده پیرعلیدهی^۱، سید ولی حسینی^{۲*}، محمد علی نعمت الهی^۱، فضا آریا نسب^۲

^۱گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

^۲گروه پژوهشی شیمی، پژوهشکده شیمی و پتروشیمی، پژوهشگاه استاندارد، کرج، ایران

چکیده

پروتئین ماهی با داشتن مقادیر اسیدهای آمینه ضروری بالاتر از پروتئین حیوانات خشکی، قابلیت هضم بالا و قابلیت اتصال قوی با سایر پروتئین‌ها به عنوان همبند، امولسیفایر یا عامل پخش کننده، متخصصان صنایع غذایی را بر آن داشته که در جهت تولید انواع روش‌های تولید کنسانتره و پودر حاصل از آن پژوهش‌های بسیاری کنند. در این پژوهش با استفاده از روش‌های شستشو، حرارتی و تغییر pH از گوشت ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) پودر پروتئین تولید و آنگاه ترکیب اسیدآمینه پودر پروتئین تولید شده با روش‌های مختلف با یکدیگر مقایسه گردید. نتایج مقایسه میانگین سنجش ترکیب اسیدآمینه حاکی از آن بود که تیمار حرارتی به ترتیب با میانگین مجموع اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری و نسبت EAA/NEAA، ۳۰۶/۰۸، ۴۰۹/۰۹ میلی گرم بر گرم پروتئین و ۰/۷۵٪ حداکثر مقدار را دارا می باشد ($p < 0.05$) و مقادیر حداقلی در دو شاخص EAA و NEAA به تیمار تغییر pH با مقدار میانگین به ترتیب ۲۲۹/۳۹ و ۳۲۱/۰۸ میلی گرم بر گرم پروتئین ($p < 0.05$) و نیز حداقل نسبت EAA/NEAA تیمار شستشو با مقدار میانگین ۰/۶۸٪ به خود اختصاص داده است ($p < 0.05$). از طرفی طبق نتایج کلی و در راستای تعیین و طبقه بندی تیمار بهینه می توان گزارش نمود که تیمار حرارتی از بین سایر تیمارها، به دلیل مقادیر حداکثری مجموع اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری و نسبت EAA/NEAA و مقدار اسید آمینه های Asp و Glu (دو اسید آمینه مهم اومامی)، به عنوان تیمار مطلوب تری تعیین می گردد و پس از آن تیمار شستشو و تغییر pH به ترتیب در جایگاه دوم و سوم، جهت غنی سازی در فرمولاسیون های غذایی، پیشنهاد می گردد.

کلید واژه ها: تیمار حرارتی، تغییر pH، شستشو، پودر پروتئین، خواص تغذیه ای ماهی، اسیدآمینه.

نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۹/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۱۹

تاریخ چاپ الکترونیکی:

۱۴۰۳/۱۲/۱۵

*نویسنده مسئول:

hosseinisv@ut.ac.ir

مقدمه

با پیشرفت آگاهی بشریت، امروزه مصرف منظم ماهی به عنوان یک منبع پروتئینی بالقوه به طور گسترده ای تبلیغ می شود. شواهد علمی قوی ای نیز برای این موضوع وجود دارد. محتوای پروتئین ماهی (بر اساس وزن تر) بیشتر از حیوانات خشکی است (به ترتیب میانگین ۱۷/۳٪ در مقابل ۱۳/۸٪)^[۱]. علاوه بر این، پروتئین ماهی بسیار قابل هضم و غنی از اسیدهای آمینه ضروری است که در مقایسه با پروتئین حیوانی از مقادیر متیونین (۶/۵٪ در مقایسه با ۵/۷٪ از کل اسیدهای آمینه ضروری) و لیزین (۱۹/۶٪ در مقایسه با ۱۹٪ کل اسیدهای آمینه ضروری) بالاتری برخوردار می باشد^[۲]. به علاوه پروتئین ماهی به دلیل اتصالات قوی با سایر پروتئین ها و ظرفیت ژل شدن زیاد، به عنوان همبند، امولسیفایر^۲ یا عامل

¹ Binder

² Emulsifier

پخش‌کننده^۳ قابلیت بالایی برای استفاده در فرمولاسیون مواد غذایی دارد [۳]. این امر کنجکاو محققان و متخصصان فرآوری مواد غذایی را در افزودن پروتئین ماهی به محصولات مبتنی بر غلات برانگیخته است چرا که این محصولات غذایی سرشار از کربوهیدرات هستند و از طرفی فاقد مقادیر کافی پروتئین، اسیدهای چرب ۳-۳ و اسیدهای آمینه ضروری (به ویژه متیونین، لیزین، هیستیدین و والین)، LC-PUFA (اسید چرب غیراشباع با زنجیره بلند) شامل دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA)^۴ و ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA)^۵ هستند. بنابراین، غذای نامتعادل تغذیه‌ای در نظر گرفته می‌شوند [۵، ۴].

پودر پروتئین ماهی (FPP)^۶ در واقع همان کنسانتره^۷ پروتئینی خشک و پایدار حاصل از ماهی می‌باشد که برای مصرف انسان در نظر گرفته شده است و پروتئین موجود در آن بیشتر از گوشت ماهی خام می‌باشد [۴]. اما پودر پروتئین خشک شده بر خلاف کنسانتره پروتئین، مزایای زیادی در تجارت مواد غذایی از جمله سهولت حمل و نقل، هزینه‌های توزیع کم، ذخیره‌سازی راحت و سهولت در اختلاط با سایر مواد غذایی را دارا می‌باشد [۴].

کیفیت و خصوصیات ترکیبات پودر پروتئین ماهی به شدت به منبع مواد خام و روش‌های فرآوری بستگی دارد [۶، ۷]. گوشت سفید و ماهی با محتوای کم چربی مناسب‌ترین گونه برای تولید پودر پروتئینی ماهی در نظر گرفته می‌شوند [۸]. با این حال، بهره‌برداری بیش از حد از این گونه‌های ماهی کم چرب، علاقه صنایع فرآوری را به سمت سایر ماهیان از جمله ماهیان تیره گوشت و یا ماهیان پرچرب، از قبیل ماهیان پلاژیک، منحرف می‌کند. اما این ماهی‌ها نیز دارای خواص ژل‌کنندگی ضعیفی هستند که با محتوای لیپید بالا، پروتئین محلول در آب و پروتئین‌های درون‌زا، که به‌طور محکم به ماهیچه‌های ماهی متصل هستند، مرتبط است [۹]. بنابراین برای غلبه بر مشکلات فوق می‌توان از ماهیان آب شیرین، که مشکلات بر شمرده را بالنسبه به‌صورت کمتری برخوردار هستند، به‌عنوان ماده اولیه تولید پودر پروتئین ماهی استفاده نمود. به‌طور کلی ماهی‌های آب شیرین را می‌توان با هزینه کم پرورش داد و در مدت زمان کوتاهی به اندازه مطلوب دست یافت. بنابراین، آنها توجه بیشتری را به خود جلب می‌کنند تا به‌عنوان کاندیدای بالقوه برای تولید کنسانتره پروتئین ماهی و پودر حاصل از آن در نظر گرفته شوند [۱۰]. در این میان ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) به دلیل رشد سریع، مقاومت در برابر استرس و بیماری‌ها، دارا بودن پروتئین با ارزش غذایی بالا، گوشت سفید و قیمت نسبتاً پایین، یکی از گونه‌های اصلی است که به‌طور گسترده در بسیاری از جوامع، از جمله در کشور ایران، پرورش و مورد استفاده قرار می‌گیرد.

از این رو با توجه به اینکه کیفیت تغذیه‌ای پودر پروتئین حاصل، عامل مهمی در تعیین کاربرد آن در فرمولاسیون محصولات غذایی (با هدف غنی‌سازی و ارتقاء جنبه‌های تغذیه‌ای آنها) می‌باشد، پژوهش حاضر در نظر دارد به بررسی تولید پودر پروتئین به سه روش مختلف از ماهی کپور نقره‌ای و مقایسه و ارزیابی ترکیبات اسیدآمینه آن‌ها بپردازد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی ماهی

در این پژوهش ۱۵ کیلوگرم ماهی کپور نقره‌ای تازه صید شده در اوزان پرواری (۱۰۰±۳۰۰) از بازار ماهی‌فروشان رشت خریداری شد. با یونولیت حاوی یخ (نسب ماهی به یخ ۱:۲) به آزمایشگاه فرآوری آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران منتقل شدند (طی ۶ ساعت) و پس از شستشوی کامل با آب، عملیات پوست کنی و تخلیه امعاء و احشاء و فیله‌سازی، با استفاده از چرخ گوشت چرخ‌شدند. سپس بافت چرخ شده در بسته‌های پلی‌اتیلنی بسته‌بندی شده و تا زمان انجام آزمایشات در فریزر (۲۰- درجه سلسیوس) قرار داده شد.

³ Dispersing agent

⁴ Docosahexaenoic acid

⁵ eicosapentaenoic acid

⁶ Fish protein powder

⁷ Concentrate

تولید پودر پروتئین از ماهی کپور نقره‌ای

در این پژوهش از سه روش عمومی تولید کنسانتره و تغلیظ پروتئینی (روش‌های شستشو، حرارتی و تغییر pH) به منظور تولید پودر پروتئین از ماهی کپور نقره‌ای استفاده شد:

جهت تهیه پودر پروتئین از طریق روش شستشو، از مسیر تهیه سوریمی عمل شد^[۱۱] گوشت چرخ کرده ماهی با آب سرد (۴ درجه سلسیوس) با استفاده از نسبت چرخ کرده/آب ۳:۱ (w/v) برای حذف پروتئین‌های سارکوپلاسمی، خون، رنگدانه، چربی و سایر اجزای با وزن مولکولی پایین شسته شدند. مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه به‌طور مداوم در یک شرایط سرد (۴ درجه سلسیوس) هم زده شدند. گوشت چرخ شده شسته شده سپس از طریق یک پارچه تنظیف چهار لایه و با استفاده از وزنه آگیری شد. شستشو سه بار انجام شد. مرحله سوم شستشو با استفاده از محلول نمک طعام ۰/۵ درصد با نسبت چرخ کرده به محلول نمک طعام ۳:۱ (w/v) انجام شد.

در این روش برای تولید ایزوله پروتئینی از شیوه‌ی شرح داده شده توسط Kelleher و Hultin^[۱۲] استفاده شد. گوشت چرخ شده ماهی در آب مقطر سرد (۴ درجه سلسیوس) با نسبت ۱۶:۱ (w/v) هموژن شد. سپس pH را در روش اسیدی با هیدروکلریک اسید (HCl) ۲ N به ۲/۵ رسانیده شد. جهت حذف چربی‌ها و مواد نامحلول، مخلوط‌های حاصل سانتریفیوژ شدند (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس). پس از سانتریفیوژ فاز میانی از لایه دوتایی پارچه تنظیف عبور داده شدند و با افزودن سدیم هیدروکسید (NaOH)، به نقطه ایزوالکتریک در pH ۵/۵ رسیدند. در نهایت پروتئین‌های رسوب داده شده پس از سانتریفیوژ از فاز محلول جدا شدند.

پودرهای پروتئین بر اساس تیمار حرارتی طبق روش Sathivel و همکاران^[۱۳] تولید شدند. به این منظور مقداری از گوشت چرخ کرده ماهی کپور نقره‌ای با حجم مساوی آب مقطر (۲۳ درجه سلسیوس) مخلوط شدند و در مخلوط‌کن به مدت ۲ دقیقه همگن شدند. مخلوط به مدت ۶۰ دقیقه به‌طور مداوم در دمای ۸۵ درجه سلسیوس هم زده شد. سوسپانسیون حرارت دیده در ۲۵۶۰ g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ فاز نیمه جامد در پایین حاوی پروتئین نامحلول، فاز مایع سنگین در وسط حاوی پروتئین‌های محلول و فاز مایع سبک در بالا حاوی چربی است. لایه میانی (مایع سنگین) و پروتئین‌های نامحلول جدا و جمع‌آوری شد.

مرحله نهایی تولید پودر پروتئین ماهی کپور نقره‌ای

پس از تولید نمونه‌های کنسانتره پروتئینی به ۳ روش مذکور، نمونه‌ها در دمای 5 ± 8 درجه سلسیوس به مدت ۵ ساعت در آون قرار گرفت تا رطوبت نمونه‌ها به زیر ۱۰ درصد برسد. SCP خشک شده با آسیاب به پودر تبدیل شد و سپس الک شد و در نهایت در زیپ پک در دمای ۱۸- درجه سلسیوس تا شروع آنالیزها نگهداری شدند.

تعیین ترکیب اسیدهای آمینه

روش Pico Tag با تغییرات جزئی برای تعیین پروفایل اسید آمینه نمونه‌ها استفاده شد^[۱۴ و ۱۵]. آماده‌سازی نمونه‌ها شامل حذف چربی در محلول کلروفرم: متانول به نسبت ۲:۱ در طول شب بود و سپس انکوباسیون به مدت ۳ ساعت در مخلوط متانول: آب به نسبت ۱:۱ انجام شد. نمونه‌ها به ویال‌های شیشه‌ای منتقل و سپس با هیدروکلریک اسید ۶ مولار (sp gr = 37% Merck) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس هیدرولیز شدند. پس از خارج کردن لوله‌ها از اجاق و سرد شدن تا دمای اتاق، لوله‌ها باز شده و HCl^۸ اضافی با روتاری تحت خلاء در دمای 1 ± 50 درجه سلسیوس (Edvard, Model: E2M8, Crawley, Sussex, UK) خارج شد. نمونه‌های خشک شده برای مشتق‌سازی اسید آمینه توسط PITC^۹ عرضه شده در آمپول‌های ۱ میلی‌لیتری خلاء استفاده شد.

^۸Hydrochloric acid

^۹ phenylisothiocyanate

در مراحل قبل از ستون، نمونه‌ها ابتدا با HCl هیدرولیز می‌شوند و سپس با PITC مشتق‌سازی می‌شوند تا اسیدهای آمینه فنیل تیوکاربامیل^{۱۰} (PTC) تولید شود. یک نمونه (۱۰ میکرولیتر) از مخلوط استاندارد پیرس (Pierce Chemical Co., Rockford, IL, USA) از هر یک از ۱۷ اسید آمینه (Gly, Ser, Glu, Asp, His, Thr, Ala, Arg, Pro, Tyr, Val, Met, Cys, Ile, Leu, Phe و Lys) در یک لوله آزمایش کوچک خشک شدند. استانداردها و هیدرولیزهای اسیدآمینه در ۱۰۰ میکرولیتر بافر (استونیتریل: پیریدین: تری‌اتیل‌آمین: آب، ۳:۵:۲:۱۰) حل شدند. این محلول‌ها با روتاری در خلاء ($50 \pm$) درجه سلسیوس) خشک شدند و باقیمانده‌ها در ۱۰۰ میکرولیتر بافر کوپلینگ مجدداً حل شدند. سپس ۵ میلی‌لیتر PITC به این محلول اضافه شد. پس از ۵ دقیقه در دمای اتاق، محلول با روتاری تحت خلاء بالا (پمپ خلاء: ۵۰-۱۰۰ mTorr) تا خشک شدن تبخیر شد. PTC اسیدآمینه حاصل در محلول ۲۵۰ میکرولیتری استونیتریل: آب (۲:۷) حل شد. مقادیر ۱-۱۰ میکرولیتر از محلول‌ها با HPLC فاز معکوس (Waters Assoc., Shimadzu, Kyoto, Japan) آنالیز شد.

سیستم HPLC یک سیستم Waters (Milford, MA, USA) بود و شامل یک پمپ Waters 1525 binary HPCL، آشکارساز جذب دوگانه Waters 2487، انژکتور Rheodyne و نرم‌افزار Breeze بود. ستون مورد استفاده از نوع PICO.TAG فاز معکوس C 18 (۳۰۰ میلی‌متر $\times$ ۳/۹ میلی‌متر در روز) بود. دمای آون ستون در مرز ۳۸ درجه سلسیوس تنظیم گردیده بود. حلال مورد استفاده شامل: (الف) بافر آبی و (ب) ۶۰ درصد استونیتریل در آب. بافر ۰/۱۴ مولار استات سدیم حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر در لیتر تری‌اتیل‌آمین (Merck) بود که با اسید استیک به pH ۴/۶ تنظیم شد. در این تحقیق از اسید L-a-amino-n-butyric (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) به‌عنوان استاندارد داخلی استفاده شد. محتوای آمینواسید بر اساس اندازه‌گیری‌های سطح پیک تعیین شد. پنج غلظت مختلف برای ایجاد منحنی‌های استاندارد برای همه اسیدآمینه‌ها با استفاده از مواد مرجع تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها در سه تکرار اجرا و میانگین مساحت‌ها محاسبه شد. نظر به استفاده از اسید برای هیدرولیز اولیه نمونه و از آنجا که اسید در دمای بالا باعث تخریب تربیتوفان می‌گردد، مقدار تربیتوفان تعیین نگردید. پیک‌های شناسایی شده با استفاده از نرم‌افزار Breeze (Version 3.200, Waters, Milford, MA, USA) محاسبه شدند. نتایج با استفاده از بسته آماری نرم‌افزار IBM SPSS Statistics 27 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. بعد از انجام تست نرمالیتیه تیمارها توسط آزمون Shapiro-Wilk از آزمون آماری One-way ANOVA جهت معنی‌داری اختلاف بین تیمارهای داده‌های کمی استفاده شد. در نهایت تفاوت معنی‌دار بین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن^{۱۱} تعیین گردید. برای رسم شکل‌ها نیز از نرم‌افزار Excell استفاده گردید.

نتایج

مطابق نتایج جدول ۱، ۱۷ اسید آمینه در پودر پروتئین حاصل از ماهی کپور نقره‌ای شناسایی شد که از میان آنها ۱۰ اسیدآمینه ضروری و ۷ اسیدآمینه غیرضروری بودند. طبق نتایج آزمون One_Way ANOVA، بین مقادیر تمامی مقادیر اسید آمینه‌های سه تیمار شستشو، حرارتی و تغییر pH در سطح خطا یک درصد اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$). همان‌طور که در جدول ۱ و شکل ۱ و ۲ مشاهده می‌شود، نتایج مقایسه میانگین مجموع اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری، مجموع HAAها و نسبت EAA/NEAA پودر پروتئین ماهی در سه تیمار شستشو، حرارتی و تغییر pH حاکی از آن می‌باشد که تیمار حرارتی به ترتیب با مقدار میانگین ۳۰۶/۰۸، ۴۰۹/۱۹، ۲۹۷/۳۳ میلی‌گرم بر گرم پروتئین و ۷۵٪ مقدار حداکثر را دارا می‌باشد ($p < 0.05$) و مقادیر حداقلی در شاخص EAA، NEAA و مجموع HAAها به تیمار تغییر pH با مقدار میانگین به ترتیب ۲۲۹/۴۸ و ۳۲۱/۰۸ و ۲۲۹/۳۹ میلی‌گرم بر گرم پروتئین اختصاص یافته است ($p < 0.05$). در این میان حداقل نسبت EAA/NEAA را نیز تیمار شستشو، با مقدار میانگین ۰/۶۸٪، به خود اختصاص داده است ($p < 0.05$).

¹⁰ phenylthiocarbamyl

¹¹ Duncan multi-range test

جدول ۱- جدول ANOVA و مقایسه میانگین ترکیب اسید آمینه پودر پروتئین تولیدی به سه روش شستشو، حرارتی و تغییر pH (میلی گرم بر گرم پروتئین): داده‌های جدول شامل میانگین $\pm$ اشتباه معیار است. حروف کوچک (a, b, c) متفاوت در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین سه تیمار فوق می‌باشد و سطح معنی داری $**$ بیانگر سطح خطا ۹۹٪ می‌باشد. مجموع مقادیر اسیدهای آمینه آیزو: Gly, Val, Tyr, Ile, Leu, Ala, Met, Pro, Phe. مجموع مقایر اسیدهای آمینه ضروری: Leu, Ile, Lys, Met, Phe, Thr, Val, His. مجموع مقادیر اسیدهای آمینه غیر ضروری: Tyr, Arg, Ala, Asp, Glu, Gly, Pro, Ser. مقدار EAA و مجموع اسیدآمینه‌های آروماتیک بدون احتساب اسید آمینه تربیتوفان می‌باشد.

اسیدآمینه/تیمار ^۱	شستشو	حرارتی	تغییر pH	FAO/WHO adult (infant) (mg/g protein)	F	معنی داری
آسپاراتات یا آسپارتیک اسید (Asp)	۹۰.۰ $\pm$ ۳۹.۴ ^c	۹۷.۰ $\pm$ ۳۵.۲ ^a	۷۷.۰ $\pm$ ۵۷.۲ ^b		۱۰۵.۳۷	**
گلوتامات یا گلوتامیک اسید (Glu)	۱۱۰.۰ $\pm$ ۶۶.۲ ^b	۱۱۳.۰ $\pm$ ۴۵.۳ ^a	۸۷.۰ $\pm$ ۸۳.۶ ^c		۱۰۲۰.۳۲	**
سیرین (Ser)	۴۰.۰ $\pm$ ۹۱.۱ ^a	۳۹.۰ $\pm$ ۲۱.۹ ^b	۳۰.۰ $\pm$ ۶۵.۲ ^c		۶۷۵	**
گلیسین (Gly)	۲۴.۰ $\pm$ ۵۸.۸ ^a	۲۳.۰ $\pm$ ۴۴.۱ ^a	۱۸.۰ $\pm$ ۵۵.۲ ^c		۴۰.۴۹	**
هیستیدین (His)	۱۶.۰ $\pm$ ۰.۱ ^a	۱۵.۰ $\pm$ ۳۵.۱ ^b	۱۴.۰ $\pm$ ۵۹.۲ ^c	۱۵(۲۰)	۱۴.۴۹	**
آرژنین (Arg)	۳۴.۰ $\pm$ ۸۰.۱ ^b	۳۶.۰ $\pm$ ۳۲.۳ ^a	۲۸.۰ $\pm$ ۳۲.۱ ^c		۳۶۲.۸۲	**
ترئونین (Thr)	۳۴.۰ $\pm$ ۰.۳ ^a	۳۲.۰ $\pm$ ۲۸.۳ ^a	۲۶.۰ $\pm$ ۲۱.۳ ^c	۲۳(۳۱)	۲۳۲.۶۴	**
آلانین (Ala)	۲۹.۰ $\pm$ ۳۰.۳ ^a	۳۹.۰ $\pm$ ۱۱.۱ ^a	۳۱.۰ $\pm$ ۲۹.۲ ^c		۲۴۷.۹۷	**
پروлін (Pro)	۲۵.۰ $\pm$ ۱۳.۱ ^b	۲۷.۰ $\pm$ ۸۴.۱ ^a	۲۰.۰ $\pm$ ۶۵.۳ ^c		۱۹۷.۳۳	**
تیروزین (Tyr)	۱۴.۰ $\pm$ ۳۰.۲ ^a	۱۳.۰ $\pm$ ۴۴.۱ ^a	۱۱.۰ $\pm$ ۲۷.۲ ^c		۵۷.۵۱	**
والین (Val)	۴۰.۰ $\pm$ ۳۴.۳ ^b	۴۶.۰ $\pm$ ۹۴.۲ ^a	۳۷.۰ $\pm$ ۱۲.۰ ^c	۳۹(۵۵)	۳۵۰.۷۶	**
متیونین (Met)	۱۱.۰ $\pm$ ۳۹.۱ ^a	۱۳.۰ $\pm$ ۰.۸ ^a	۱۰.۰ $\pm$ ۵۵.۳ ^c	۷۱(۴۲)	۲۹۰.۰۴	**
سیستین (Cys)	۱.۰ $\pm$ ۸۹.۰ ^a	۱.۰ $\pm$ ۹۲.۰ ^a	۱.۰ $\pm$ ۶۵.۰ ^c		۶۷.۷۳	**
ایزولوسین (Ile)	۴۵.۰ $\pm$ ۴۰.۳ ^b	۵۰.۰ $\pm$ ۳۹.۶ ^a	۳۹.۰ $\pm$ ۷۴.۶ ^c	۳۰(۳۲)	۱۲۲.۵۳	**
لوسین (Leu)	۵۱.۰ $\pm$ ۲۸.۱ ^b	۵۷.۰ $\pm$ ۱۶.۲ ^a	۴۶.۰ $\pm$ ۳۷.۴ ^c	۵۹(۶۶)	۶۰۲.۱۷	**
فنیل آلانین (Phe)	۱۸.۰ $\pm$ ۵۱.۲ ^a	۲۵.۰ $\pm$ ۱۲.۱ ^b	۱۳.۰ $\pm$ ۹۴.۲ ^a	۱۹(۷۲)	۸۹۴.۹۰	**
لایزین (Lys)	۵۵.۰ $\pm$ ۱۷.۲ ^b	۶۵.۰ $\pm$ ۷۷.۶ ^a	۴۰.۳ $\pm$ ۸۷.۶ ^c	۴۵(۵۷)	۷۵۶.۵۱	**
مجموع اسیدآمینه‌های آیزو (HAA ^۱)	۳۷۰.۱ $\pm$ ۲۳.۸ ^b	۲۹۷.۰ $\pm$ ۳۳.۹ ^a	۲۳۹.۱ $\pm$ ۴۸.۲ ^c	----	۶۱۷.۸۹	**
مجموع اسید آمینه‌های ضروری (EAA ^۲)	۲۷۲.۱۳ $\pm$ ۱.۵۴ ^b	۳۰۶.۰۸ $\pm$ ۰.۴ ^a	۲۲۹.۳۹ $\pm$ ۱.۶۵ ^c	----	۸۴۴.۶۳	**
مجموع اسید آمینه‌های غیر ضروری (NEAA ^۳)	۳۹۹.۷۹ $\pm$ ۰.۴۷ ^b	۴۰۹.۰۹ $\pm$ ۱.۴۳ ^a	۳۲۱.۰۸ $\pm$ ۰.۶۹ ^c	----	۲۸۱۴.۰۶	**
مجموع	۶۷۱.۹۳ $\pm$ ۱.۶۶ ^b	۷۱۵.۲۸ $\pm$ ۱.۷۴ ^a	۵۵۰.۴۷ $\pm$ ۲.۲۳ ^c	----	۲۰۲۴.۸۵	**
EAA/NEAA	۰.۶۸ $\pm$ ۰.۰۰ ^c	۰.۷۵ $\pm$ ۰.۰۰ ^a	۰.۷۱ $\pm$ ۰.۰۱ ^b	----	۱۰۱.۸۵	**
پروتئین (%)	۶۸.۴۶ $\pm$ ۰.۱۶ ^c	۷۲.۱ $\pm$ ۰.۱ ^b	۸۸.۲ $\pm$ ۰.۳۷ ^a		۱۹۰.۸/۰۱	**

نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه (جدول ۱ و شکل ۱) نیز به تفکیک به شرح زیر ارائه می‌گردد و مقادیر نیز با نیاز روزانه (mg/g) پروتئین مورد نیاز بزرگسالان (نوزادان) مقایسه می‌شود [۱۶]:

نتایج مقایسه میانگین اسیدآمینه آسپارتیک اسید (Asp) در سه تیمار شستشو، حرارتی و تغییر pH حاکی از آن می‌باشد که تیمار حرارتی در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۹۷/۳۵ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می‌باشد و تیمار تغییر pH با میانگین ۷۷/۵۷ میلی گرم بر گرم پروتئین کمترین مقدار را دارا می‌باشد.

¹² Hydrophobic amino acids

¹³ Essential Amino Acid

¹⁴ Non-essential amino acid

به علاوه نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه گلوتامیک اسید (Glu) نشان داد که تیمار حرارتی در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۱۱۳/۴۴ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و تیمار تغییر pH با ۸۷/۸۳ میلی گرم بر گرم پروتئین کمترین مقدار را برخوردار می باشد. نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه سرین (Ser) نیز نشان داد که تیمار شستشو در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۴۰/۹۱ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و تیمار تغییر pH با ۳۰/۶۵ میلی گرم بر گرم پروتئین از حداقل مقدار برخوردار می باشد. نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه گلیسین (Gly) نشان داد که تیمار شستشو در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۲۴/۵۸ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و تیمار تغییر pH با ۱۸/۵۵ میلی گرم بر گرم پروتئین از حداقل مقدار برخوردار می باشد. نتایج مقایسه میانگین بین تیمار شستشو و حرارتی نیز تفاوتی نشان نداده است.

نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه هیستیدین (His) در سه تیمار شستشو، حرارتی و تغییر pH حاکی از آن می باشد که تیمار شستشو در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۱۶/۰۱ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و تیمار تغییر pH با ۱۴/۵۹ میلی گرم بر گرم پروتئین کمترین مقدار را دارا می باشد. طبق نتایج مقایسه میانگین تیمار شستشو و حرارتی به ترتیب با میانگین مقدار ۱۶/۰۱ و ۱۵/۳۵ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاتر از نیاز توصیه شده برای بزرگسالان و نوزادان بر اساس WHO/FDA بودند [۱۶].

نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه آرژنین (Arg) حاکی از آن می باشد که تیمار شستشو در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۳۴/۸۰ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و کمترین میانگین متعلق به تیمار تغییر pH با مقدار ۲۸/۳۲ میلی گرم بر گرم پروتئین می باشد. نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه ترئونین (Thr) حاکی از آن می باشد که تیمار شستشو در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۳۴/۰۳ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و تیمار تغییر pH با میانگین ۲۶/۲۱ میلی گرم بر گرم پروتئین از حداقل مقدار برخوردار می باشد. به علاوه بین تیمار شستشو و حرارتی نیز تفاوتی نشان داده نشده است. طبق نتایج مقایسه میانگین هر سه تیمار فوق به ترتیب با میانگین مقدار ۳۴/۰۳، ۳۲/۲۸ و ۲۶/۲۱ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاتر از نیاز توصیه شده برای بزرگسالان و نوزادان بر اساس WHO/FDA بودند [۱۶].

نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه آلانین (Ala) حاکی از آن می باشد که تیمار حرارتی در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۳۹/۱۱ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و تیمار شستشو با میانگین ۲۹/۳۰ میلی گرم بر گرم پروتئین از حداقل مقدار برخوردار می باشد. نتایج مقایسه میانگین بین تیمار شستشو و حرارتی تفاوتی نیز نشان نداده است.

نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه پرولین (Pro) حاکی از آن می باشد که تیمار شستشو در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۲۷/۸۴ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و تیمار تغییر pH با میانگین ۲۰/۶۵ میلی گرم بر گرم پروتئین از حداقل مقدار برخوردار می باشد. نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه تیروزین (Tyr) نشان داد که تیمار شستشو در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۱۴/۳۰ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و تیمار تغییر pH با میانگین ۱۱/۲۷ میلی گرم بر گرم پروتئین از حداقل مقدار برخوردار می باشد و مقایسه میانگین بین تیمار شستشو و حرارتی تفاوتی نشان نداده است.

نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه والین (Val) در سه تیمار شستشو، حرارتی و تغییر pH نشان داد که تیمار حرارتی در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۴۶/۹۴ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و تغییر pH با میانگین ۳۷/۱۲ میلی گرم بر گرم پروتئین از حداقل مقدار برخوردار می باشد. طبق نتایج مقایسه میانگین مقدار اسید آمینه تیمار شستشو و حرارتی بالاتر از نیاز توصیه شده برای بزرگسالان بر اساس WHO/FDA بودند [۱۶].

نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه متیونین (Met) در سه تیمار شستشو، حرارتی و تغییر pH حاکی از آن می باشد که تیمار حرارتی در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۱۳/۰۸ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و تیمار تغییر pH با میانگین ۱۰/۵۵ میلی گرم بر گرم پروتئین از حداقل مقدار برخوردار می باشد. طبق نتایج فوق هیچ کدام از تیمارها نتوانستند نیاز توصیه شده برای بزرگسالان و نوزادان بر اساس WHO/FDA تامین کنند [۱۶].

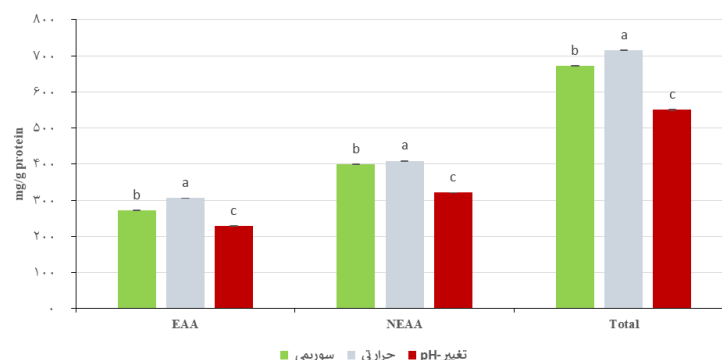
نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه سیستئین (Cys) نشان داد که تیمار حرارتی در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۱/۹۲ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و تیمار تغییر pH با میانگین ۱/۶۵ میلی گرم بر گرم پروتئین از حداقل مقدار برخوردار می باشد. طبق نتایج پژوهش حاضر Cys به عنوان اسید آمینه محدود کننده در تمامی تیمارها شناخته شد و نسبت به سایر آمینو اسیدها نمرات بسیار پایینی را کسب نمود.

نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه ایزولوسین (Ile) در سه تیمار شستشو، حرارتی و تغییر pH حاکی از آن می باشد که تیمار حرارتی در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۵۰/۳۹ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و تیمار تغییر pH با میانگین ۳۹/۷۴ میلی گرم بر گرم پروتئین از حداقل مقدار برخوردار می باشد. طبق نتایج مقایسه میانگین هر سه تیمار فوق، به ترتیب با میانگین مقدار ۴۵/۴۰، ۵۰/۳۹ و ۳۹/۷۴ میلی گرم بر گرم پروتئین، بالاتر از نیاز توصیه شده برای بزرگسالان و نوزادان بر اساس WHO/FDA بودند [۱۶].

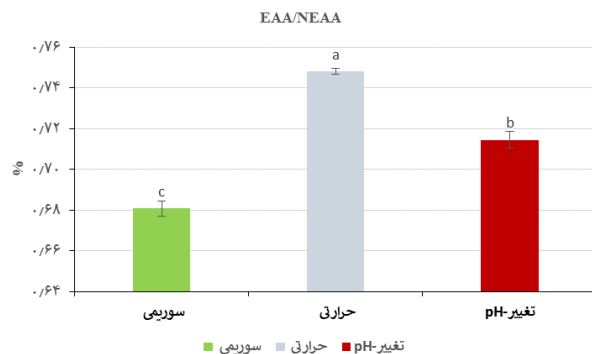
نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه لوسین (Lu) در سه تیمار شستشو، حرارتی و تغییر pH حاکی از آن می باشد که تیمار حرارتی در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۵۷/۱۶ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و تیمار تغییر pH با میانگین ۴۶/۳۷ میلی گرم بر گرم پروتئین از حداقل مقدار برخوردار می باشد. طبق نتایج فوق هیچ کدام از تیمارها نتوانستند نیاز توصیه شده برای بزرگسالان و نوزادان بر اساس WHO/FDA تامین کنند [۱۶].

نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه فنیل آلانین (Phe) حاکی از آن می باشد که تیمار حرارتی در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۲۵/۱۲ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و تیمار تغییر pH با میانگین ۱۳/۹۴ میلی گرم بر گرم پروتئین از حداقل مقدار برخوردار می باشد. طبق نتایج فوق، از بین سه تیمار تنها تیمار حرارتی توانست مقدار اسید آمینه فنیل آلانین توصیه شده برای بزرگسالان بر اساس WHO/FDA تامین کنند در صورتی که نتوانست نیاز توصیه شده برای نوزادان را تامین نماید [۱۶].

نتایج مقایسه میانگین اسید آمینه لیزین (Lys) در سه تیمار شستشو، حرارتی و تغییر pH حاکی از آن می باشد که تیمار حرارتی در بین سایر تیمارها با حداکثر میانگین ۶۵/۷۷ میلی گرم بر گرم پروتئین بالاترین مقدار را دارا می باشد و تیمار تغییر pH با میانگین ۴۰/۸۷ میلی گرم بر گرم پروتئین از حداقل مقدار برخوردار می باشد. به علاوه طبق نتایج مقایسه میانگین تیمار شستشو و حرارتی با مقدار میانگین اسید آمینه Lys ۵۵/۱۷ و ۶۵/۷۷ میلی گرم بر گرم پروتئین نتوانستند نیاز توصیه شده برای بزرگسالان را بر اساس WHO/FDA برآورده کنند. در صورتی که از میان تیمارهای فوق فقط تیمار حرارتی توانست مقدار اسید آمینه لیزین توصیه شده مورد نیاز نوزادان را تامین کند [۱۶].



شکل ۱- مقایسه میانگین ترکیب اسیدهای آمینه EAA، NEAA و مجموع اسید آمینه های تیمار شستشو، حرارتی و تغییر pH



شکل ۲- مقایسه میانگین نسبت NEAA/EAA تیمار شستشو، حرارتی و تغییر pH

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه فواید پروتئین ماهی و سایر آبیان بر کسی پوشیده نیست. پروتئین ماهی با داشتن مقادیر اسیدهای آمینه ضروری بالاتر از پروتئین حیوانات خشکی، قابلیت هضم بالا، قابلیت اتصال قوی با سایر پروتئین‌ها و ظرفیت ژل شدن زیاد، به‌عنوان همبند^{۱۵}، امولسیفایر^{۱۶} یا عامل پخش‌کننده در فرمولاسیون مواد غذایی، متخصصان صنایع غذایی را بر آن داشته که در جهت تولید انواع روش‌های تولید کنسانتره و پودر حاصل از آن و غنی‌سازی این محصول کاربردی در فرمولاسیون محصولات غذایی، از جمله محصولات آردی و نانی، پژوهش‌های بسیار انجام دهند.

پروتئین جیره اصلی‌ترین و گران‌ترین جزء آبی‌های فرموله‌شده است و عامل اصلی اسیدهای آمینه در رژیم غذایی است. اسیدهای آمینه ضروری رژیم غذایی یا ماهی و میگو عبارتند از ترئونین، والین، لوسین، ایزولوسین، متیونین، تریپتوفان، لیزین، هیستیدین، آرژنین و فنیل آلانین. کمبود بسیاری از منابع پروتئین جایگزین جدید غیر مبتنی بر پودر ماهی مانند منابع گیاهی این است که آنها اغلب فاقد اسیدهای آمینه ضروری، مانند لیزین و متیونین، هستند^[۱۷].

همان‌طور که در جدول ۱ و شکل ۱ و ۲ مشاهده می‌کنید، نتایج مقایسه میانگین مجموع اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری و نسبت EAA/NEAA پودر پروتئین ماهی در سه تیمار شستشو، حرارتی و تغییر pH حاکی از آن می‌باشد که تیمار حرارتی به ترتیب با مقدار میانگین ۳۰۶/۰۸، ۴۰۹/۱۹ میلی‌گرم بر گرم پروتئین و ۰/۷۵ مقدار حداکثر را دارا می‌باشد ($p < 0.05$) و مقادیر حداقلی در شاخص EAA و NEAA به تیمار تغییر pH با مقدار میانگین به ترتیب ۲۲۹/۳۹ و ۳۲۱/۰۸ میلی‌گرم بر گرم پروتئین اختصاص یافته است ($p < 0.05$) که کمتر از مقادیر گزارش شده توسط Zhong و همکاران^[۱۸] بود که طبق گزارش آن‌ها محتوای اسید آمینه ضروری کنسانتره‌های پروتئین ماهی بازیابی شده از محصولات جانبی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) با استفاده از انحلال و رسوب با pH قلیایی از ۲۹/۵۹٪ تا ۳۴/۵۸٪ گزارش گردید. در این میان حداقل نسبت EAA/NEAA را نیز تیمار شستشو با مقدار میانگین ۰/۶۸ به خود اختصاص داده است ($p < 0.05$) اما با این حال این نسبت بهتر از مقادیر مرجع ۰/۶٪ توصیه شده توسط FAO/WHO^[۱۹] است. در این زمینه Kakko و همکاران^[۱۹] در گزارشات خود منبئ بر دلیل بالاتر بودن نسبت EAA به NEAA از نظر آماری از پروتئین‌های استخراج‌شده با تغییر pH در مقایسه با نسبت موجود در مواد خام ماهی به حذف مواد کلاژنی و در نتیجه کاهش بیشتر اسیدهای آمینه غیرضروری گلیسین، پرولین و هیدروکسی پرولین نسبت به اسیدهای آمینه ضروری نسبت دادند، که می‌توان دلیلی به بالاتر بودن این نسبت به تیمار شستشو دانست، چرا که حذف بیشتر مواد کلاژنی در طی رسوب سانترفیوژ

¹⁵ binder

¹⁶ emulsifier

¹⁷ % , g/100g protein= 10⁻¹ mg/g protein

صورت خواهد گرفت و کاهش مشاهده شده در نسبت EAA به NEAA در مطالعه حاضر نیز ممکن است با از دست دادن EAA های آبگریز، والین، لوسین، ایزولوسین، فنیل آلانین، متیونین و تریپتوفان به رسوب در طول سانتریفیوژ توضیح داده شود.

در مجموع از میان EAA ها، تیمار حرارتی از نظر مقادیر لیزین (Lys)، لوسین (Lu)، ایزولوسین (Ile)، متیونین (Met) و والین (Val) بالاترین مقدار را به خود اختصاص داده است و از میان NEAA ها، اسیدهای آمینه آرژنین (Arg)، آلانین (Phe)، گلوتامیک اسید (Glu) و آسپارتیک اسید (Asp) حداکثر مقدار را دارا می باشد. در این زمینه Lee و همکاران [۲۰] گزارش کردند که اسیدهای آمینه غیرضروری اصلی کنسانتره های پروتئین تخمدان ماهی *Thunnus albacares* به ترتیب اسید گلوتامیک (g/100 g ۱۳,۱-۱۳,۲)، اسید آسپارتیک (۸,۷-۹,۲٪) و آرژنین (۶,۵-۶,۶٪) بودند. در این زمینه cha و همکاران [۲۱] گزارش کردند پروتئین ایزوله تخمدان حاوی سطوح بالایی از اسید گلوتامیک، اسید آسپارتیک، لوسین و لیزین بودند که به ترتیب ۱۲,۲٪-۱۲,۸٪، ۹,۰٪-۹,۸٪، ۸,۸٪-۹,۸٪ و ۸,۴٪-۸,۸٪ از کل اسیدهای آمینه را تشکیل می دادند. Intarasirisawat و همکاران [۲۲] نیز گزارش کردند که اسیدهای آمینه غیرضروری اصلی در تخمدان ماهی تون بدون چربی، اسید گلوتامیک و اسید آسپارتیک بودند، در حالی که لوسین و لیزین اسیدهای آمینه ضروری غالب بودند که با نتایج این تحقیق (هر سه تیمار) موافق است. به علاوه نتایج حاکی از آن است که تیمار شستشو و حرارتی با مقدار میانگین اسید آمینه Lys ۵۵/۱۷ و ۶۵/۷۷ میلی گرم بر گرم پروتئین توانستند نیاز توصیه شده برای بزرگسالان را بر اساس WHO/FDA برآورده کنند. در صورتی که از میان تیمارهای فوق فقط تیمار حرارتی توانست مقدار اسید آمینه لیزین توصیه شده مورد نیاز نوزادان را تامین کند [۱۶]. اما این میزان کمتر از کنسانتره پروتئین سویا از (72 mg/g) و پروتئین سفیده تخم مرغ (81 mg/g) بود (که می تواند به جبران کمبود لیزین در غذاهای غلات کمک کند) [۱۸].

در مجموع از میان NEAA ها، تیمار شستشو از نظر مقدار اسید آمینه های گلیسین (Gly)، سرین (Ser)، آلانین (Ala) و تیروزین (Tyr) بالاترین مقدار را به خود اختصاص داده است و از میان EAA ها، تیمار شستشو در بین سایر تیمارها از نظر مقدار اسید آمینه های هیستیدین (His) و تراونین (Thr) بالاترین مقدار را به خود اختصاص داده است. تیمار تغییر pH نیز نسبت به دو تیمار حرارتی و شستشو به جز اسید آمینه فنیل آلانین در تمامی اسید آمینه های فوق مقادیر پایین تری را نشان داد ($p < 0.05$) که مطابق با یافته های Kakko و همکاران [۱۹] می باشد که ایزوله های اسیدی و قلیایی فرآوری شده با تغییر pH در اسیدهای آمینه ضروری (EAA) مانند ایزولوسین و فنیل آلانین فراوان تر بودند. به علاوه مطالعات نشان دادند سطح پایین گلیسین و پرولین (Pro) تیمار تغییر pH به ترتیب با میانگین ۱۸/۵۵ و ۲۰/۶۵ میلی گرم بر گرم پروتئین (در مقابل تیمار شستشو با حداکثر میانگین ۲۴/۵۸ و ۲۵/۱۳ میلی گرم بر گرم پروتئین) می تواند به این دلیل باشد که بخشی از این اسید آمینه به شکل آزاد است و بنابراین در مایع رویی دوم طی فرآیند تغییر pH حذف می شود. از طرفی کلاژن همچنین غنی از گلیسین و پرولین است و از این رو حذف کلاژن طی اولین مرحله رسوب سانتریفیوژ، به کاهش سطح گلیسین در پروتئین های ایزوله تولید شده توسط تغییر pH کمک کند [۲۳].

علاوه بر این، مشخص شد پروتئین کنسانتره سه تیمار فوق غنی از اسید آمینه های Glu و Asp می باشند که از میان سایر اسید آمینه ها مقادیر بالاتری را دارا می باشند و در این میان نیز تیمار حرارتی به ترتیب با مقدار میانگین ۱۱۳/۴۵ و ۹۷/۳۵ میلی گرم بر گرم پروتئین حداکثر مقدار را دارا می باشد. همان طور که مشخص شده است Glu و Asp دو اسید آمینه مهم اومامی^{۱۸} هستند که می توانند طعم اومامی را در ادویه ها یا فرآوری غذا فراهم کنند. بنابراین، پروتئین های بازیافت شده هر سه تیمار با اولویت تیمار حرارتی ممکن است به طور بالقوه به عنوان ماده umami در محصولات طعم دهنده و ادویه استفاده شوند. این امر با نتایج مطالعات Zhong و همکاران [۱۸] نیز مطابقت دارد.

نتایج مقایسه میانگین مجموع HAA ها پودر پروتئین ماهی در سه تیمار شستشو، حرارتی و تغییر pH نیز حاکی از آن بود که تیمار حرارتی به ترتیب با مقدار میانگین ۲۹۷/۳۳ میلی گرم بر گرم پروتئین دارای حداکثر مقدار می باشد و حداقل مقدار میانگین به تیمار تغییر pH با میانگین میلی گرم بر گرم پروتئین ۲۲۹/۴۸ اختصاص یافته است ($p < 0.05$). در این زمینه Lee و همکاران [۲۰] گزارش کردند که کنسانتره های پروتئین تخمدان ماهی *Thunnus albacares* دارای اسیدهای آمینه آبگریز بودند که از ۰,۴۵ تا ۴۶,۶٪ متغیر بود. آبگریزی نقش مثبت مهمی در تعیین خواص امولسیون کنندگی دارد [۲۴]. به علاوه FitzGerald و O'Cuinn [۲۵] گزارش کردند که تلخی هیدرولیز پروتئین با آزادسازی پپتیدهای حاوی

بقایای اسید آمینه آبگریز مرتبط است. بنابراین، پودر پروتئین تولیدی به سه روش فوق احتمالاً می‌توانند مکمل پروتئین رژیمی برای پروتئین‌های رژیمی با تعادل ضعیف باشند که تلخی کم را نشان می‌دهند و تیمار تغییر pH از این بابت تیمار برتر می‌باشد.

داده‌های کیفیت پروتئین برای ارزیابی اینکه آیا غذا با دریافت‌های توصیه شده توسط سازمان‌های معتبر جهانی برای انسان مطابقت دارد یا خیر و برای ارزیابی کفایت پروتئین برای اهداف نظارتی، استفاده می‌شود. از این‌رو در ادامه از منظر مقایسه با مقادیر نیاز روزانه (mg/g) پروتئین مورد نیاز بزرگسالان (نوزادان) [۱۶] نیز مورد بررسی قرار می‌گیرد. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، EAAهای یافت شده در تیمار تغییر pH بالاتر از نیاز توصیه‌شده برای بزرگسالان بر اساس WHO/FDA هستند [۱۶] که حاکی از مواردی از قبیل: ترئونین (Thr) و ایزولوسین (Ile) می‌باشد. EAAهای یافت شده در تیمار حرارتی نیز، که بالاتر از نیاز توصیه شده برای بزرگسالان بر اساس WHO/FDA هستند [۱۶]، حاکی از مواردی مانند: هیستیدین (His)، ترئونین (Thr)، ایزولوسین (Ile)، والین (Val)، فنیل آلانین (Phe) و لایزین (Lys) می‌باشد. در نهایت EAAهای یافت شده در تیمار شستشو بالاتر از نیاز توصیه شده برای بزرگسالان بر اساس WHO/FDA هستند [۱۶]. که حاکی از مواردی چون: هیستیدین (His)، ترئونین (Thr)، ایزولوسین (Ile)، والین (Val) و لایزین (Lys) می‌باشد.

در صورتی که جهت برآورد نیاز غذایی نوزادان، که بیشتر از بزرگسالان است، به ترتیب اسید آمینه‌های ترئونین (Thr) و ایزولوسین (Ile) برای تیمار شستشو، ترئونین (Thr) و لایزین (Lys) و ایزولوسین (Ile) برای تیمار حرارتی و ایزولوسین (Ile) برای تیمار تغییر pH را می‌توان نام برد [۱۶]. بنا بر نتایج فوق تنها اسید آمینه‌های ضروری که در هر سه پودر پروتئین تولیدی به سه روش شستشو، حرارتی و تغییر pH به اندازه کافی وجود داشتند، ایزولوسین (Ile) و ترئونین (Thr) بودند که مقادیر آنها حاکی از مقدار بیشتر از نیاز غذایی بزرگسالان و نوزادان می‌باشد که جهت برآورد نیاز غذایی رژیم نوزادان و بزرگسالان پیشنهاد می‌گردد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داده است که روش فرآوری اساساً بر خواص تغذیه‌ای پروتئین ماهی و در نتیجه قابلیت استفاده در فرمولاسیون‌های غذایی تأثیر می‌گذارد. مطابق نتایج سنجش ترکیب اسیدآمینه، ۱۷ اسیدآمینه در پودر پروتئین حاصل از ماهی کپور نقره‌ای شناسایی شد که از میان آنها ۱۰ اسیدآمینه ضروری و ۷ اسیدآمینه غیرضروری بودند. نتایج مقایسه میانگین مجموع اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری و نسبت EAA/NEAA حاکی از آن می‌باشد که تیمار حرارتی به ترتیب با مقدار میانگین ۳۰۶/۰۸، ۴۰۹/۰۹ میلی‌گرم بر گرم پروتئین و ۷۵٪ حداکثر مقدار را دارا می‌باشد ($p < 0.05$) و مقادیر حداقلی در شاخص EAA و NEAA به تیمار تغییر pH، با مقدار میانگین به ترتیب ۲۲۹/۳۹ و ۳۲۱/۰۸ میلی‌گرم بر گرم پروتئین و حداقل نسبت EAA/NEAA را تیمار شستشو، با مقدار میانگین ۰/۶۸٪ به خود اختصاص داده است ($p < 0.05$) (جدول ۱، شکل ۱). از طرفی طبق نتایج کلی از آنجا که هر سه تیمار فوق دارای تمامی اسید آمینه‌های ضروری می‌باشند، هر سه تیمار فوق می‌توانند جهت غنی‌سازی فرمولاسیون مواد غذایی به کار گرفته شوند. در راستای تعیین و طبقه‌بندی تیمار بهینه طبق نتایج کلی می‌توان گزارش نمود که تیمار حرارتی از بین سایر تیمارها، به دلیل مقادیر حداکثری مجموع اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری و نسبت EAA/NEAA و مقدار اسید آمینه‌های Glu و Asp (دو اسید آمینه مهم اومامی)، به عنوان تیمار مطلوب‌تری تعیین می‌گردد و پس از آن تیمار شستشو و تغییر pH به ترتیب در جایگاه دوم و سوم، جهت غنی‌سازی در فرمولاسیون‌های غذایی، پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از سرکار خانم مهندس کبری ضیایی که همکاری شایانی در انجام بخشی از پژوهش حاضر داشتند، قدردانی می‌گردد.

تأییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: بخشی از بودجه مورد نیاز طرح از محل اعتبار حمایت از پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تهران تامین گردید.
سهم نویسندگان: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع

- 1- Tahergorabi R, Hosseini S, Jaczynski J. Seafood proteins. Handbook of food proteins: Elsevier; 2011. p. 116-49.
- 2- Henchion M, Hayes M, Mullen AM, Fenelon M, Tiwari B. Future protein supply and demand: strategies and factors influencing a sustainable equilibrium. Foods. 2017;6(7):53.
- 3- Sasidharan A, Venugopal V. Proteins and co-products from seafood processing discards: Their recovery, functional properties and applications. Waste and Biomass Valorization. 2020;11:5647-63.
- 4- Giuberti G, Gallo A. Reducing the glycaemic index and increasing the slowly digestible starch content in gluten-free cereal-based foods: A review .International Journal of Food Science & Technology. 2018;53(1):50-60.
- 5- Larretxi I, Txurruka I, Navarro V, Lasa A, Bustamante MÁ, Fernández-Gil MdP, et al. Micronutrient analysis of gluten-free products: Their low content is not involved in gluten-free diet imbalance in a cohort of celiac children and adolescent. Foods. 2019;8(8):321.
- 6- Shaviklo GR, Thorkelsson G, Arason S, Kristinsson HG, Sveinsdottir K. The influence of additives and drying methods on quality attributes of fish protein powder made from saithe (*Pollachius virens*). Journal of the Science of Food and Agriculture. 2010;90(12):2133-43.
- 7- Arason S, Karlsdottir M, Valsdottir T, Slizyte R, Rustad T, Falch E, et al. Maximum resource utilisation-value added fish by-products. Nordic Council of Ministers; 2010.
- 8- Hultin H, Kristinsson H, Lanier T, Park J. Process for recovery of functional proteins by pH shifts. 2005.
- 9- Bents CA, Zotos A, Petridis D. Production of fish-protein products (surimi) from small pelagic fish (*Sardinops pilchardus*), underutilized by the industry. Journal of Food Engineering. 2005;68(3):303-8.
- 10- Yingchutrakul M, Wasinnitwong N, Benjakul S, Singh A, Zheng Y, Mubango E, et al. Asian carp, an alternative material for surimi production: Progress and future. Foods. 2022;11(9):1318.
- 11- Rawdkuen, S., Sai-Ut, S., Khamson, S., Chaijan, M., & Benjakul, S. (2009). Biochemical and gelling properties of tilapia surimi and protein recovered using an acid-alkaline process. *Food Chemistry*, 112(1), 112-119.
- 12- Hultin HO, Kelleher SD. Surimi processing from dark muscle fish. FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-. 2000:59-78.
- 13- Sathivel S, Bechtel PJ, Babbitt JK, Prinyawiwatukul W, Patterson M. Functional, nutritional, and rheological properties of protein powders from arrowtooth flounder and their application in mayonnaise. Journal of food science. 2005;70(2):E57-E63.
- 14- Deng ShangGui DS, Peng ZhiYing PZ, Chen Fang CF, Yang Ping YP, Wu Tie WT. Amino acid composition and anti-anaemia action of hydrolyzed offal protein from *Harengula Zunasi* Bleeker. 2004.
- 15- Matloubi H, Aflaki F, Hadjiezadegan M. Effect of γ -irradiation on amino acids content of baby food proteins. Journal of Food Composition and Analysis. 2004;17(2):133-9.
- 16- WHO J. Protein and amino acid requirements in human nutrition. World Health Organization technical report series. 2007(935):1.

- 17- Gatlin III DM, Barrows FT, Brown P, Dabrowski K, Gaylord TG, Hardy RW, et al. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture research*. 2007;38(6):551-79.
- 18- Zhong S, Liu S, Cao J, Chen S, Wang W, Qin X. Fish protein isolates recovered from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) by-products using alkaline pH solubilization and precipitation. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 2016;25(3):400-13.
- 19- Kakko T, Damerau A, Nisov A, Pukanen A, Tuomasjukka S, Honkapää K, et al. Quality of protein isolates and hydrolysates from Baltic Herring (*Clupea harengus membras*) and Roach (*Rutilus rutilus*) produced by pH-shift processes and enzymatic hydrolysis. *Foods*. 2022;11(2):230.
- 20- Lee HJ, Park SH, Yoon IS, Lee G-W, Kim YJ, Kim J-S, et al. Chemical composition of protein concentrate prepared from Yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe by cook-dried process. *Fisheries and Aquatic Sciences*. 2016;19:1-8.
- 21- Cha JW, Yoon IS, Lee GW, Kang SI, Park SY, Kim JS, et al. Food functionalities and bioactivities of protein isolates recovered from skipjack tuna roe by isoelectric solubilization and precipitation. *Food Science & Nutrition*. 2020;8(4):1874-87.
- 22- Intarasirisawat R, Benjakul S, Visessanguan W. Chemical compositions of the roes from skipjack, tongol and bonito. *Food chemistry*. 2011;124(4):1328-34.
- 23- 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.
- 24- Chalamaiah M, Balaswamy K, Rao GN, Rao PP, Jyothirmayi T. Chemical composition and functional properties of mrigal (*Cirrhinus mrigala*) egg protein concentrates and their application in pasta. *Journal of food science and technology*. 2013;50:514-20.
- 25- FitzGerald R, O'cuinn G. Enzymatic debittering of food protein hydrolysates. *Biotechnology advances*. 2006;24(2):234-7.

Comparison of the amino acid composition of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) meat protein powder using washing, thermal and pH change methods

Mohaddeseh Alizadeh Pir Alidehi¹, Seyed Vali Hosseini^{1*}, Mohammad Ali Nematollahi¹, Fezzeh Aryanasab²

1. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

2- Chemical Research Department, Chemical and Petrochemical Research Institute, Standard Research Institute, Karaj, Iran

ABSTRACT

Fish protein, with its higher levels of essential amino acids than land animal protein, high digestibility, and strong binding ability with other proteins as a binder, emulsifier, or dispersing agent, has prompted food industry experts to conduct extensive research into various methods for producing concentrates and powders from it. In this research, protein powder was produced from silver carp meat (*Hypophthalmichthys molitrix*) by washing, heat and pH-shift methods, and then the amino acid composition of the protein powder produced by different methods was compared. The results of the comparison of the average of the amino acid composition indicated that heating treatment has the maximum amount of 306.08, 409.09 mg/g of protein and 75.0% of total essential and non-essential amino acids and EAA/NEAA ratio, respectively ($p < 0.05$). and the minimum values in the EAA and NEAA indices in the pH-shift treatment with the average values of 229.39 and 321.08 mg/g of protein, respectively ($p < 0.05$). Also, the minimum ratio of EAA/NEAA was assigned to the washing treatment with an average value of 0.68% ($p < 0.05$). On the other hand, according to the general results and in line with determining and classifying the optimal treatment, it can be reported that heat treatment among other treatments, Due to the maximum amounts of total essential and non-essential amino acids and the EAA/NEAA ratio and the amount of Glu and Asp amino acids (two important umami amino acids), It is determined as a more desirable treatment, and after that, the treatment of washing and pH-shift is suggested in the second and third place, respectively, for enrichment in food formulations.

KEYWORDS: heating treatment, pH-shift, washing, protein powder, nutritional properties of fish, amino acid.

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 06
December 2024
Accepted: 08
February 2025
ePublished: 06
March 2025

* Corresponding Author: Seyed Vali Hosseini

Email address: hosseinisv@ut.ac.ir

Tel: 09197674083

© Published by Tarbiat Modares University

ISSN: 2322-5513