شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹
صفحات ۲۸۴-۲۷۳

استخراج پروتئین از پساب تولیدی کارخانه تولید پودر ماهی با روش رسوب ایزوالکتریک و ارزیابی خواص کاربردی آن

علی طاهری[۱*]، زینب احسان نسب[۲]، ، سجاد ظهیری[۳]

۱. دانشیار فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، ایران
۲. دانشجوی دکتری فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، ایران
۳. دانش آموخته فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۳۰

چکیده

کارخانه های تولید پودر ماهی طی روند تولید مقدار زیادی پســـاب ایجاد می کنند که حاوی پروتئین اند. هدف از این مطالعه بازیافت پروتئین از پساب کارخانه پودر ماهی به روش ایزوالکتریک و بررسی خواص کاربردی پروتئین بازیافتی بود. نمونه پساب ازکارخانه تولید پودر ماهی شهرستان کنارک تهیه و ترکیبات تقریبی آن بررسی شد. پروتئین موجود در پساب با استفاده از روش رسوب ایزوالکتریک و تغییر pH بازیافت شد و خواص کاربردی آن شامل حلالیت، ظرفیت نگه‌داری آب و روغن، شاخص امولسیون کنندگی و پایداری امولسیون، تشکیل کف و پایداری کف اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که مقدار پروتئین در نمونه تیمار شده با پساب تفاوت معنی داری نشان نداد ($p>0.05$). بیشترین و کمترین حلالیت به ترتیب در pH ۲ و pH ۶ بدســـت آمد. میزان ظرفیت نگه داری آب و روغن نیز به ترتیب ۰/۴۵ ml/g و ۰/۴ پروتئین بازیافتی بود. بیشـــترین فعالیت امولسیونی در pH ۱۰ و بیشترین ظرفیت تشکیل کف درpH ۲ مشاهده شد. بیشترین پایداری امولسیون در pH ۲ و بیشترین پایداری کف در pH ۲ و ۱۰ مشاهده شد. پروتئین بازیافتی خواص کاربردی خوبی نشان داد و با تغییر pH تغییر یافت اما تمامی خواص از روند مشخصی پیروی نکرد.

واژگان کلیدی: پروتئین بازیافتی، پساب کارخانه، پودر ماهی، امولسیون، رسوب ایزوالکتریک، حلالیت.

* نویسنده مسئول: **علی طاهری**
Email: taherienator@gmail.com

Journal of Fisheries
Vol. 73, No. 3 Autumn 2020
pp. 273-284

Extraction of protein from the wastewater of fish meal production plant by isoelectric precipitation method and evaluation of its functional properties

Ali Taheri [1*], Zeinab Ehsan-nasab [2], Sajad Zahiri [3]

1. Associate Professor, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran
2. Ph.D Student, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran
3. Bs.C of Fish Processing Thechnology, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

Received: 19-Feb-2020 Accepted: 27-Sep-2020

Abstract

Fishmeal factories produce a large amount of wastewater during the production process, which contains protein. The aim of this study was to recover protein from the effluent of fishmeal factory by isoelectric method and investigate the functional properties of recycled protein. The effluent sample was obtained from fishmeal production plant in the Konarak city and proximate composition analysis of the effluent sample was investigated. The protein in the effluent was recycled using the isoelectric precipitation method and pH changing. The functional properties of the recovered protein including solubility, oil and water holding capacity, emulsifying index and emulsion stability, foam formation and foam stability were measured using standard methods procedures. The results showed that the amount of protein in the treated sample has no any significant differences under the effluent effects ($p > 0.05$). The highest and lowest solubility were obtained at pH 2 and pH 6, respectively. The water and oil holding capacity of recycled protein was 0.45 and 0.4 ml/g, respectively. The highest emulsion activity was observed at pH 10 and the highest foam formation capacity at pH 2. The highest emulsion stability was observed at pH 2 and the highest foam stability was observed at pH 2 and 10. Recycled protein showed good functional properties and changed with pH, but not all properties followed a specific trend.

Key Words: Protein Recovery, Fishmeal, Factory effluent, Emulsion, Isoelectric precipitation, Solubility.

Corresponding author: Ali Taheri Email: taherienator@gmail.com

۱. مقدمه

پساب و ضایعات آبزیان به عنوان منبع مناسبی از پپتید و آمینو اسیدهای قابل بازیافت است که قابلیت استفاده جهت مصارف انسانی یا حیوانی را دارد و ویژگی های کاربردی مطلوبی مانند فعالیت آنتی اکسیدانی، حلالیت، جذب چربی و پایداری امولسیون و غیره را نشان داده اند (Sathivel *et al*., 2003).

ارزش غذایی بالاتر فرآورده های در یایی، مو جب افزایش سطح تقاضا نسبت به سایر پروتئین‌های حیوانی شده است. از آنجا که رشد مداوم تولید آبزیان با میانگین سالانه ۳/۲درصد و افزایش سرانه از ۱۹/۲ کیلوگرم در سال ۲۰۱۲ (LA *et al.*, 2016) به ۲۰/۳ کیلوگرم در سال ۱۸-۲۰۱۶ رسیده است (OECD, 2019)، انتظار می رود در نتیجه افزایش تقاضا برای محصولات شیلاتی، شاهد افزایش تولیدات باشیم. این بدان معنی است که حجم دورریزهای حاصل از فرآوری محصولات شیلاتی نیز افزایش می یابد (Martinez-Alvarez *et al.*, 2015). دورریزهای شیلاتی ناشی از فرآوری ماهی به طور کلی اندام های داخلی، پوست، فلس، اسکلت و عضلات هستند که حدود ۷۰ درصد مواد اولیه را تشکیل می دهند (Ghaly *et al.*, 2013). از این رو در بسیاری از کشورها تأکید ویژه ای بر بررسی امکان استفاده از این مواد شده است (Caruso *et al.*, 1998).

پودر ماهی ارزشمندترین محصولی است که در سال های اخیر تولید آن از دور ریزهای شیلاتی در جهان به شدت افزایش یافته و به حدود ۶ میلیون تن رسیده است (Ghaly *et al.*, 2013). بر طبق سالنامه رسمی سازمان شیلات در ایران کارخانه های تولید پودرماهی به تعداد ۴۶ واحد تا سال ۱۳۹۵ گزارش شده که این واحدها دارای ظرفیت ۹۴۳ تن مواد اولیه در روز هستند (سالنامه آماری سازمان شیلات،۱۳۹۵). برای تولید یک پودر ماهی با کیفیت ، پایدار، خشک، مواد اولیه گرم و فشرده می شوند. پس از خشک شدن، مواد خنک و آسیاب می گردد و بسته بندی می شود. در این فرآیند مواد محلول در آب جدا شده و آب حاصل می تواند مجدد استفاده یا تبخیر شود (Arvanitoyannis and Kassaveti, 2008).

به نظر می رسد بازیافت پروتئین یک روش منطقی برای استفاده بهینه از پساب باشد (Taskaya *et al.*, 2009). روش رسوب ایزوالکتریک پتانسیل بالایی در یازیافت پروتئین از محصولات گوشتی دارد. این فرآیند شامل محلول سازی اسیدی یا قلیایی پروتئین‌ها برای جداسازی پروتئین از پوست، استخوان، بافت پیوندی، غشای سلولی و لیپیدها و به دنبال آن رسوب ایزوالکتریکی پروتئین های محلول برای بدست آوردن پروتئین جدا شده بسیار کاربردی و پایدار است (Rawdkuen *et al.*, 2009). فرآورده های بازسازی شده حاصل از پروتئین بازیافت شده باعث ایجاد تنوع در محصولات شیلاتی می شود. درک خواص کاربردی این پروتئین های بازیافت شده کاربرد صنعتی آن ها را مشخص می سازد (Ferreira *et al.*, 2013). تاکنون مطالعات زیادی در مورد بازیافت پروتئین از ضایعات آبزیان و نیز پساب کارخانه های شیلاتی صورت گرفته است. در مطالعه‌ای ویژگی‌های بیوشیمیایی پروتئین هیدرولیز شده ضایعات ماهی *Sardinella aurita* بررسی گردید (Souissi *et al.*, 2007). ترکیبات شیمیایی و ویژگی های عملکردی پروتئین جدا شده از فانوس ماهی *Benthosema pterotum* با روش تغییر pH بررسی گردید (Oliyaei *et al.*, 2015). خواص کاربردی پروتئین جدا شده از ضایعات سر ماهی *Priacanthus tayenus* با تغییر pH بررسی شده است (Panpipat and Chaijan, 2017). در مطالعه دیگری خواص عملکردی پروتئین استخراج شده از ماهی کاراس معمولی بررسی شد (Saffar Shargh *et al.*, 2018). اما مطالعاتی که به بررسی پساب حاصل از کارخانجات تولید پودر ماهی پرداخته باشند کمتر است، مطالعه Garcia-Sifuentes و همکاران (۲۰۰۹) از این دست می باشد. در ایران نیز قابلیت بازیافت پروتئین از پساب کارخانه های تولید آرد ماهی با استفاده از کیتوزان بررسی گردیده است (Risi *et al.*, 2015).

با توجه به آنچه بیان شد هدف از انجام این مطالعه بازیابی پروتئین موجود در پساب کارخانه های تولید پودر ماهی با روش رسوب ایزوالکتریک و نیز سنجش خصوصیات

کاربردی پروتئین بازیافتی بود تا نتایج حاصل بتواند در تصمیم گیری ها و برنامه ریزی های آتی مورد استفاده قرار گیرد.

۲. مواد و روش‌ها

۱،۲. نحوه تهیه نمونه

پساب مورد نیاز از تولید کارخانه پر شین کنارک تهیه شد. پساب پس از یک ساعت از شروع تولید از ابتدای داکت خروجی به سمت فاضلاب توسط یک سطل پلاستیکی با گنجایش دو لیتر برداشت شد. نمونه در یونولیت محتوی یخ درون یک ظرف پلاستیکی ۲ لیتری به آزمایشگاه دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار منتقل شد و جهت بازیافت پروتئین مورد استفاده قرار گرفت.

۲،۲. روش بازیافت پروتئین

ابتدا پساب در ظروف ۲۵۰ میلی‌لیتری با سانتریفیوژ مدل (Centurion Scientific, K241R, England) در ۵۱۲۵ دور در دقیقه به مدت۱۰دقیقه، سانتریفیوژ شد تا مواد جامد معلق رسوب کند. فاز مایع رویی برای رسوب پروتئین جداسازی گردید و با HCl ۶ نرمال (pH ۲/۵) و NaOH ۲ نرمال جهت تغییر pH تیمار شد و نمونه مجدد سانتریفیوژ شد. پس از اتمام فرآیند، pH رسوب بدست آمده با NaOH ۵ نرمال روی ۸/۵ تنظیم و به دنبال آن سانتریفیوژ نهایی در ۱۲۲۵۶ دور در دقیقه در ۱۲/۵ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد انجام شد. بخش‌های نامحلول حاصل توسط خشک کن انجمادی (Jalteb, Iran) خشک شد و نمونه‌های پروتئین بازیافت شده برای انجام آزمایش های بعدی در ۲۰°C- درجه سانتیگراد درون فریزر نگه‌داری شدند (Garcia-Sifuentes *et al.*, 2009).

۳،۲. تعیین ترکیب تقریبی پروتئین بازیافتی

ترکیب تقریبی نمونه ها بر اساس روش (AOAC, 2000)اندازه¬گیری شد. محتوای رطوبت در آون C105° اندازه¬گیری شد (روش شماره ۹۵۰/۴۶). سنجش پروتئین با استفاده از کجلدال و ضریب ۶/۲۵ در نیتروژن انجام شد. سنجش لیپید با استفاده از سوکسله انجام شد (روش ۶۰/۳۹). میزان خاکستر کل با استفاده از کوره در دمای 550 ° C درجه سانتی گراد سنجش شد (روش ۹۲۰/۱۵۳).

۴،۲. اندازه گیری خواص کاربردی پروتئین بازیافت شده

۱،۴،۲. حلالیت

برای اندازه گیری حلالیت پروتئین، ابتدا محلول ۱۰ گرم بر لیتر از نمونه تهیه شد. سپس با اسید کلریدریک ۱ مولار و هیدروکسید سدیم ۱ مولار pH روی ۱ تا ۱۲ تنظیم شد. محلول ها با استفاده از ورتکس به مدت ۳ دقیقه و در دمای اتاق مخلوط شدند. سپس به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۲۸۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. میزان پروتئین محلول با روش بیورت اندازه گیری شد. از آلبومین سرم گاوی برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد (Souissi *et al.*, 2007). حلالیت پروتئین مطابق معادله (۱) محاسبه گردید:

معادله (۱)

$$\text{حلالیت}(\%) = \frac{\text{(محتوای پروتئین موجود در نمونه پس از سانتریفیوژ)}}{\text{(محتوای کل پروتئین موجود در نمونه)}} \times ۱۰۰$$

۲،۴،۲. ظرفیت نگه داری آب

ظرفیت نگه‌داری آب با روش (Rodriguez-Ambriz *et al.*, 2005) تعیین گردید. ۱۰۰ میکروگرم نمونه پروتئین با ۱۰۰۰ میکرولیتر آب مقطر توسط استیرر مخلوط شد. سوسپانسیون پروتئینی به دست آمده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۲ درجه سانتی گراد در g ۱۸۰۰دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. نمونه ریخته شده در لوله آزمایش با زاویه ۴۵ درجه قرار داده شد تا آب از آن خارج شود. میزان ظرفیت نگه‌داری آب نمونه از اختلاف وزن نمونه قبل از اضافه کردن آب و وزن نمونه بعد از عملیات بالا طبق معادله ۲ زیر به دست آمد.

معادله (۲)

$$WHC\left(\frac{ml}{g}\right) = \frac{\text{مقدار آب حفظ شده } (ml)}{\text{مقدار اولیه پروتئین}(g)} \times ۱۰۰$$

۳،۴،۲. ظرفیت نگه داری روغن

ظرفیت نگه‌داری روغن براساس روش (Lin and Zayas, 1987)سنجش شد. ۱۰۰ میکروگرم از نمونه پروتئین با

۱۰۰۰ میکرولیتر روغن آفتابگردان در یک لوله قرار داده شد و به مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه ورتکس به منظور تهیه امولسیون مخلوط شد. امولسیون ایجاد شده ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد و سپس در g ۱۳۶۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، سانتریفیوژ شد. بعد از قرارگیری لوله به مدت ۲۰ دقیقه در زاویه ۴۵ درجه، بخش شناور دور ریخته شد و لوله مجددا وزن گردید. مقدار ظرفیت نگه‌داری روغن از اختلاف وزن حاصل بین نمونه قبل و بعد از اضافه کردن روغن طبق معادله ۳ سنجش شد.

معادله۳

$$OHC\left(\frac{ml}{g}\right) = \frac{\text{مقدار روغن حفظ شده } (ml)}{\text{مقدار پروتئین}(g)} \times ۱۰۰$$

۴،۴،۲. خواص امولسیون کنندگی

شاخص فعالیت امولسیفایری و شاخص پایداری امولسیون بر طبق روش (Klompong *et al.*, 2008) انجام شد. ۳۰۰ میلی‌گرم پروتئین در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. سپس با ۱۰ میلی لیتر روغن آفتابگردان مخلوط شد و pH روی ۱۰، ۸، ۶، ۴، ۲ تنظیم شد. مخلوط های بدست آمده با سرعت g ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ دقیقه هموژن شد. سپس ۱۵ میکرولیتر از نمونه ها از کف ظرف در زمان های صفر و ۱۰ دقیقه بعد از هموژن برداشته شد و با ۵ میلی لیتر از محلول ۰/۱ درصد سدیم دو دسیل سولفات مخلوط شد و جذب محلول رقیق شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۰ نانومتر قرائت شد. داده های حاصل در معادله (۴) جاگذاری و محاسبه شد. پایداری امولسیون نیز مطابق با روش پیشنهادی (Pearce and Kinsella , 1978) طبق معادله (۵) محاسبه شد.

معادله (۴)

$$EAI(m^2/g) = \frac{۲\times۲/۳۰۳\times A\times DF}{l\emptyset C}$$

A: جذب در ۵۰۰ نانومتر، DF: ضریب رقت، l: طول مسیر کووت (m)، $\emptyset$: حجم روغن

C: غلظت پروتئین در فاز آبی (g/m^3).

معادله (۵)

$$ESI(min) = \frac{A_0}{\Delta A} \times \Delta t$$

A_0 : جذب در ۵۰۰ نانومتر در زمان صفر،

ΔA: (جذب در ۵۰۰ نانومتر به مدت ۱۰ دقیقه)،

Δt: ۱۰ دقیقه.

۵،۴،۲. تشکیل کف

خاصیت تشکیل کف با روش (Sze-Tao and Sathe, 2000) محا سبه گردید. ۲۵۰ میلی گرم از نمونه پروتئینی در ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل و سپس pH آن روی ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ تنظیم شد. محلول برای مدت ۳ دقیقه به سرعت ورتکس شد، سپس در استوانه مدرج ۲۵۰ میلی لیتری ریخته شد. حجم نمونه میلی لیتر در زمان صفر برای محاسبه ظرفیت کف زایی و حجم نمونه میلی لیتر در زمان ۱۰ دقیقه برای پایداری کف اندازه گیری شد. ظرفیت کف زایی(FE) طبق معادله (۶) و پایداری کف(FS) طبق معادله (۷) محاسبه شد:

معادله (۶)
$$FE(\%) = \frac{V_T}{V_0} \times ۱۰۰$$

معادله(۷)
$$FS(\%) = \frac{V_t}{V_T} \times ۱۰$$

V_0 : حجم اولیه قبل از هم زدن، V_T : حجم کل بعد از هم زدن،

Vt: حجم کل بعد از ماندن در دمای اتاق برای زمان های مختلف (۳۰ و ۶۰ دقیقه) است.

۵،۲. تجزیه و تحلیل آماری داده ها

نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیروویلک سنجش شد. مقایسه با استفاده از آزمون t انجام شد. جهت تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار Graphpad-Prism 7 و برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل استفاده شد.

۳. نتایج

۱،۳. تعیین ترکیب بیوشیمیایی ماده خام و پروتئین

نتایج تعیین ترکیب تقریبی ماده خام اولیه و پروتئین بازیافت شده در ماده‌ی خشک در جدول ۱ آورده شده است. طبق جدول مقدار پروتئین موجود در نمونه بازیافتی با مقدار ۱/۵ ± ۷۰/۹۱ درصد بسیار خوب بود و تفاوت معنی‌داری را با نمونه پساب نشان نداد ($p>0.05$). مقدار خاکستر در نمونه بازیافتی نسبت به نمونه پساب بیشتر بود، اما مقدار چربی در نمونه‌های پساب بیش از نمونه‌های

پروتئین بازیافت شده بود ($p<0.05$).

جدول۱: تجزیه بیو شیمیایی نمونه های پساب و پروتئین بازیافت شده در ماده ی خشک (٪)

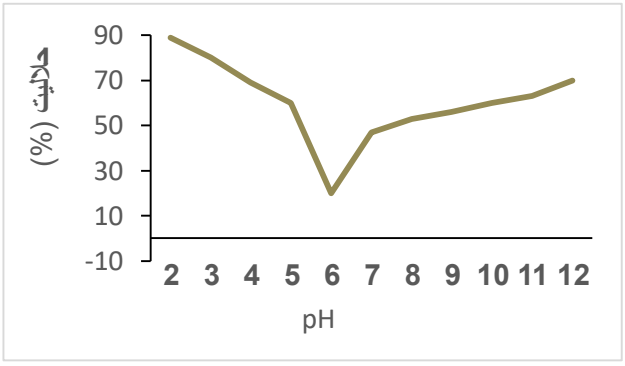
فاکتور بررسی	پساب	پروتئین بازیافت شده
چربی	۳۰ ± ۱/۵^{a}	۰/۴۰ ± ۰/۰۴^{b}
خاکستر	۵ ± ۰/۰۹^{b}	۲۴/۴۹ ± ۳/۰۶^{a}
پروتئین	۶۹/۵ ± ۱/۰۹^{a}	۷۰/۹۱ ± ۱/۵^{a}

a، b میزان معنی داری در هر ردیف با سطح احتمال ۹۵درصد را نشان می دهد، حروف هم نام غیر معنی دارند.

۲،۳. نتایج بررسی خواص کاربردی

۱،۲،۳. حلالیت

میزان حلالیت پروتئین بازیافت شده در نمودارشکل ۱ آورده شده است. بیشترین میزان حلالیت در pH ۲ و کمترین حلالیت در pH ۶ دیده شد. بر طبق شکل ۱ در pH اسیدی و قلیایی شدید میزان حلالیت پروتئین افزایش یافت. با کاهش اسیدیته میزان حلالیت یک روند کاهشی تا pH ۶ و با افزایش قلیائیت تا pH ۱۲ میزان حلالیت پروتئین یک روند افزایشی را نشان داد.



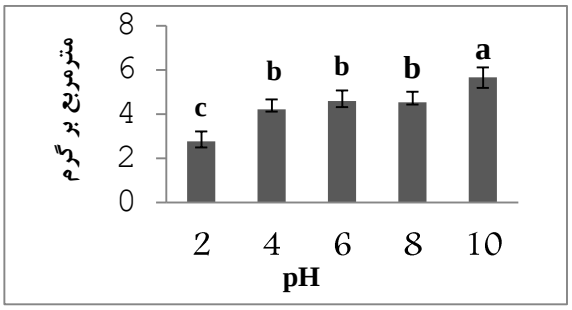
شکل ۱- نمودار حلالیت پروتئین بازیافت شده از پساب کارخانه پودر ماهی

۲،۲،۳. ظرفیت نگه داری آب و روغن

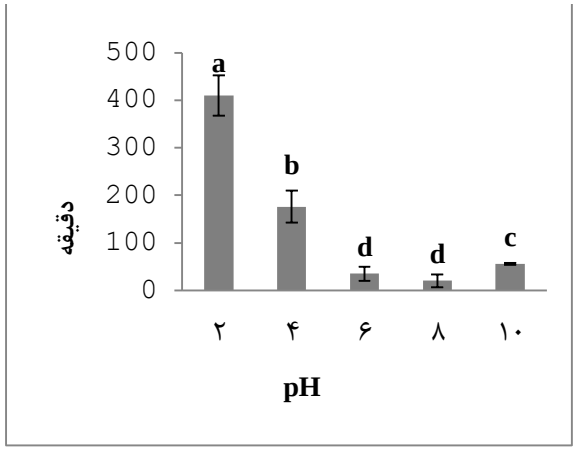
براساس نتایج به دست آمده ظرفیت نگه‌داری آب پروتئین بازیافت شده از پساب کارخانه تولید آرد ماهی ۰/۴۵ ±۰/۰۱ml/g و ظرفیت نگه داری روغن ۰/۴ ±۰/۰۱ml/g بود.

۳،۲،۳. خواص امولسیون کنندگی پروتئین بازیافتی

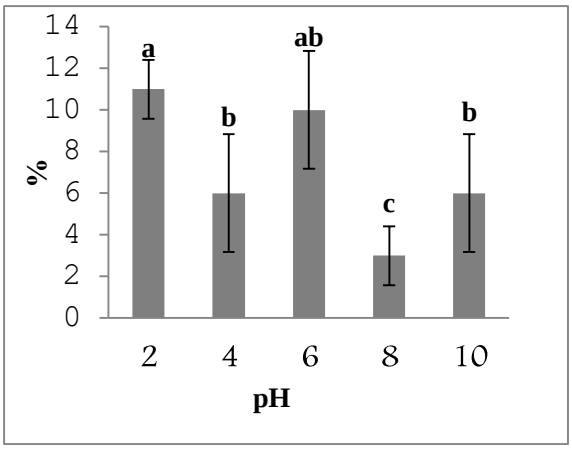
ظرفیت امولسیون کنندگی پروتئین بازیافت شده و پایداری امولسیون به ترتیب در نمودار های شکل های۲ و ۳ نشان داده شده است. بیشترین و کمترین میزان امولسیون کنندگی به ترتیب در pH ۱۰ و pH ۲ مشاهده شد. pH ۲ تفاوت معنی‌داری را با سایر pH ها نشان داد. با افزایش pH ظرفیت امولسیون کنندگی افزایش یافت و درpH ۱۰ تفاوت معنی داری با سایر تیمارها نشان داد ($p<0.05$). بر طبق نمودار شکل ۳ بیشترین میزان پایداری امولسیون مربوط به pH ۲ بود و کمترین میزان پایداری مربوط به pH ۸ بود. pH ۶ و ۸ با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشتند، اما سایر pH ها تفاوت معنی داری را از نظر پایداری با هم نشان دادند ($p<0.05$).



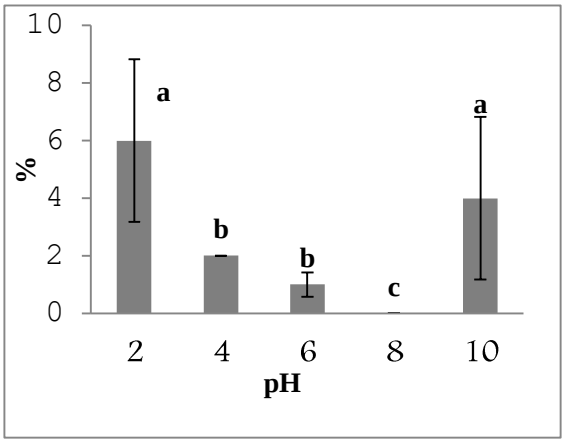
شکل ۲- نمودار ظرفیت امولسیون کنندگی پروتئین (متر مربع بر گرم).



شکل ۳- نمودار میزان پایداری امولسیون (دقیقه).



شکل ۴-نمودار میزان تشکیل کف.



شکل۵- نمودار میزان پایداری کف.

۴,۲,۳.خواص تشکیل کف

میزان تشکیل کف و پایداری کف به ترتیب در نمودار ۴ و نمودار شکل۵ آورده شده است. بیشترین میزان تشکیل کف در pH ۲ و ۶ و کمترین میزان در pH ۸ مشاهده شد. pH ۲ و ۶ با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان دادند. pH ۸ با تمام تیمارها تفاوت معنی‌دار نشان داد ($p<0.05$). بیشترین میزان پایداری کف در pH ۲ و۱۰ دیده شد که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشتند ($p<0.05$) و کمترین میزان آن درpH ۸ بود که مقدار آن تقریبا برابر با صفر بود.

۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج تعیین ترکیبات تقریبی نشان داد که میزان پروتئین بازیافتی اختلاف معنی داری با پروتئین موجود در پساب نداشت که نشان از کارآیی بازیافت دارد. همچنین در روش بازیافت میزان چربی موجود در پساب به میزان کم به پروتئین بازیافتی وارد شد. میزان حلالیت پروتئین در pH های اسیدی و قلیایی افزایش یافت و در محدوده نقطه ایزوالکتریک (pH ۶) حلالیت آن کاهش یافت. علت آن بار مثبت و منفی پروتئین‌ها در pH های اسیدی و قلیایی است که بدلیل وجود دافعه الکتروستاتیک، موجب افزایش حلالیت می‌گردد، اما در نقطه ایزوالکتریک که بارهای مثبت و منفی برابر است، پروتئین رسوب می‌کند و حلالیت کم می‌شود (Kristinsson and Liang, 2006). نقطه ایزوالکتریک ۶ در تحقیق حاضر نزدیک به دامنه ۰/۵ تا ۵/۵ تعیین شد که نزدیک به دامنه بازیابی پروتئین از ماهیان است. البته مطالعات برخی محققین از جمله Taheri و همکاران (۲۰۱۳) نقطه ایزوالکتریک را ۴ گزارش کرده‌اند (Shi *et al.*, 2017).

ظرفیت نگه‌داری آب توانایی پروتئین برای حفظ آب در ماتریکس غذایی است (Kristinsson and Rasco, 2000). در مطالعه حاضر ظرفیت نگه‌داری آب پروتئین بازیافتی به میزان ۰/۴۵ ml/g میلی گرم در لیتربود. این یافته کمتر از میزان پروتئین بازیافتی میگوی سفید هندی (۲/۵ ml/g) و پروتئین هیدرولیز شده اسکوئید بود (۲/۵ml/g تا ۵/۵) بود (Bougatef *et al.*, 2009; Slizyte *et al.*, 2009; Abreu *et al.*, 2019). در گزارشی دیگر نیز بالاترین ظرفیت نگه‌داری آب پروتئین ماهی آنچوی در pH ۱۱ برابر ۱۶/۲۱ ml/g میلی لیتر در گرم و برای پروتئین عضله ماهی سی باس در pH ۳ مقدار ۱۳/۲۹ میلی لیتر در گرم بود (Freitas *et al.*, 2015). به طور کلی تغییر pH موجب پدید آمدن گروه‌های باردار می‌گردد که در نتیجه قرارگیری آن‌ها در نقاط اتصال با آب، افزایش قطبیت پروتئین و در نهایت افزایش ظرفیت نگه‌داری آب را موجب می‌شود (Zayas, 2012). میزان کم ظرفیت نگه داری آب در تحقیق حاضر ممکن است به دلیل تغییر در ساختار پروتئین باشد که به دلیل عدم

بررسی ساختار پروتئین در تحقیق حاضر نمی‌توان درباره آن اظهار نظر قطعی کرد.

جذب روغن در فرمولاسیون سیستم های غذایی مانند سوسیس و مایونزها دارای اهمیت است (Fohmbk, 2012). مطابق نتایج ظرفیت نگه‌داری روغن پروتئین بازیافتی ۰/۴ ml/g میلی لیتر در گرم پروتئین بود. این یافته خیلی کمتر از گزارش Abreu و همکاران (۲۰۱۹) برای پروتئین میگوی سفید هندی به میزان ۸/۵ ml/g میلی لیتر در گرم بود (Abreu *et al.*, 2019). در مطالعه ای در مورد پروتئین بازیافتی عضله ماهی کروکر، اظهار شد که فرآیند اسیدی منجر به افزایش ۱۰۲درصد جذب بیشتر پروتئین فرآوری شده می گردد (Martinez-Alvarez *et al.*, 2015). همچنین در مطالعه دیگری بیان شد که افزایش pH، ظرفیت نگه‌داری روغن را افزایش می‌دهد که دلیل آن می‌تواند تغییر در ساختارهای پروتئینی باشد (He *et al.*, 2013).

در این مطالعه فعالیت امولسیونی با افزایش pH افزایش یافت و در pH ۱۰ بیشترین بود. در مطالعه ای مشابه نیز با افزایش pH از ۳ به ۸ ظرفیت امولسیون کنندگی پروتئین بازیافتی افزایش یافت (Abreu *et al.*, 2019). خواص امولسیون کنندگی در بسیاری از کاربردهای غذایی پروتئین حائز اهمیت است. ظرفیت امولسیونی (EC) حداکثر مقدار چربی امولسیون شده از طریق پراکندگی پروتئین را دقیقاً قبل از نقطه وارونگی تعیین می کند. شاخص فعالیت امولسیون کنندگی (EAI) توسط چندین محقق مورد استفاده قرار گرفته است و شاخص اندازه‌گیری مهم‌تری از ظرفیت امولسیون کنندگی پروتئین محسوب می شود. زیرا، تقریباً اندازه قطرات و توانایی پروتئین برای کمک به پراکندگی فاز روغن را تخمین می زند. ظرفیت امولسیون کنندگی پروتئین به توانایی جذب آن در سطح مشترک روغن و آب بستگی دارد. پس از جذب، ماده امولسیون کننده با تشکیل یک فیلم در سطح مشترک آب و روغن، مانع به هم پیوستن قطرات فاز پراکنده می شود. حلالیت پروتئین اجازه می-دهد تا پروتئین به سطح مشترک برسد و آبگریز بودن آن امکان تماس بهتر گروه های غیر قطبی با فاز روغن را فراهم می کند (Shevkani *et al.*, 2015). بر طبق گزارش Kristinssonو Hultin (۲۰۰۳)، با افزایش pH به ۹ و ۱۱، فعالیت امولسیون کنندگی افزایش می یابد و در pH۱۱به حداکثر خود خواهد رسید. این محققین ارتباط بسیار خوبی بین افزایش میزان آب‌گریزی و فعالیت امولسیون کنندگی میوزین ماهی کاد را گزارش کرده اند. این نتایج با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد و pH۱۰ بالاترین ظرفیت امولسیون کنندگی را نشان داد. در تحقیقی روی بازیابی پروتئین از ضایعات میگو با تغییر pH بیشترین ظرفیت امولسیون کنندگی در pH ۲ و ۱۰ بدست آمد (El-Beltagy and El-Sayed, 2012). در واقع باز شدن جزئی و دناتوراسیون پروتئین ها طی فرآیند تغییر pH باعث جذب سریع بخش فوقانی نسبتاً آبگریز پروتئین به گلبول‌های غیر قطبی چربی می‌شود (Panpipat and Chaijan, 2017).

شاخص پایداری امولسیون در این مطالعه از روند خاصی پیروی نکرد و بیشترین پایداری در pH ۲ و ۴ ثبت گردید. در تحقیق El-Beltagy و El-Sayed (۲۰۱۲)، روی بازیابی پروتئین از ضایعات میگو بیشترین ظرفیت امولسیون کنندگی در pH ۲ و ۱۰ بدست آمد که فقط در مورد pH ۲ با تحقیق حاضر مطابقت دارد. اگرچه، ظرفیت امولسیون کنندگی پروتئین ها به توانایی جذب آن‌ها در سطح مشترک روغن و آب بستگی دارد، اما پایداری امولسیون تشکیل شده با خاصیت لایه تشکیل یافته مشخص خواهد شد (Shevkani *et al.*, 2015). به این ترتیب، بالا بودن درصد گروه های فعال سولفیدریل در نمونه ها ممکن است به پایداری امولسیون کمک کند.

تشکیل کف با انتقال، نفوذ و باز شدن ساختار مولکول های پروتئین در سطح مشترک آب و هوا کنترل می شود. یک پروتئین باید قابلیت مهاجرت سریع به این سطح مشترک، باز شدن و بازسازی ساختار مجدد را داشته باشد تا توانایی تشکیل کف خوبی نشان دهد (Surasani, 2018). حلالیت پروتئین، تعادل بین انعطاف پذیری و استحکام پروتئین در سطح مشترک، آب گریزی، pH،

قدرت یونی و دما روی ظرفیت تشکیل کف تاثیر دارد (Jiang *et al.*, 2015). در تحقیق حاضر ظرفیت تشکیل کف در pH های ۲ و ۶ بیشتر بود و در pH ۸ کمترین مقدار را داشت. افزایشpH بار پروتئین را افزایش می‌دهد و از آن‌جا که تشکیل کف توسط پروتئین ها مربوط به پراکندگی آن‌ها در بین آب و هوا است، این تغییر ساختار موجب پراکندگی بهتر پروتئین‌ها و افزایش ظرفیت تشکیل کف می شود. از یک سو نیز تغییر مشاهده شده در ظرفیت تشکیل کف شاید به دلیل تجمع پروتئین‌ها و تداخل در ارتباط لازم بین پروتئین و آب برای تشکیل کف باشد (Surasani, 2018). ظرفیت تولید و پایداری کف از جمله خواص عملکردی پروتئین است که روش استفاده از آن‌ها در سیستم های غذایی را تعیین می‌کند و در محصولاتی مانند کیک‌ها، غذاهای پخته شده و بستنی به کار می رود. در تحقیق حاضر پایداری کف در pH های ۲ و ۱۰ بیشترین بود. به طور کلی، پایداری کف به پایداری فیلم پروتئینی شکل گرفته در لایه سطحی مشترک گاز و مایع و نفوذپذیری گاز به آن بستگی دارد (Barac *et al.*, 2011). خاصیت تثبیت کنندگی کف به افزایش ارتباط مناسب بین پروتئین-پروتئین ارتباط دارد. تشکیل فیلم چند لایه از عدم تناسب حباب ها و ترکیب آن‌ها جلوگیری می‌کند. بعلاوه باعث تشکیل فیلم ضخیم‌تر می‌شود و تخلیه آب از سطح مشترک را مشکل می سازد (Panpipat and Chaijan, 2017). پایداری کف با وزن مولکولی پروتئین و پپتید نیز رابطه مستقیم دارد (Surasani, 2018).

این مطالعه نشان داد که با استفاده از رسوب ایزوالکتریک می‌توان با موفقیت پروتئین موجود در پساب کارخانه پودر ماهی را بازیافت کرد. پروتئین بازیافتی خاصیت انحلال پذیری خوبی در pH های شدیداً اسیدی و قلیایی دارد. همچنین ظرفیت امولسیون کنندگی خوب در pH ۱۰ و پایداری کف خوب در pH ۲ دارد. ظرفیت تشکیل کف در pH ۲ بیشترین بود و کف تولید شده بیشترین پایداری را در حداکثر حلالیت نشان داد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار به جهت فراهم آوردن امکانات تحقیق تشکر می نمایند.

۵. منابع

References

Abreu, A.D.S., De Souza, M.M., Da Rocha, M., Wasielesky, W.F., Prentice, C. 2019. Functional Properties of White Shrimp (Litopenaeus vannamei) By-Products Protein Recovered by Isoelectric Solubilization/Precipitation. Journal of Aquatic Food Product Technology 28(-), 649-657.

AOAC. 2000. Association of Official Analytical Chemists. 16th ed Washington, D.C: AOAC International.

Arvanitoyannis, I.S., Kassaveti, A. 2008. Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses. International Journal of Food Science & Technology 43(-), 726-745.

Barac, M., Cabrilo, S., Pesic, M., Stanojevic, S., Pavlicevic, M., Macej, O., Ristic, N. 2011. Functional properties of pea (Pisum sativum, L.) protein isolates modified with chymosin. International Journal of Molecular Sciences 12(-), 8372-8387.

Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., Nasri, M. 2009. Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (Mustelus mustelus) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. Food Chemistry 114(-), 1198-1205.

Caruso, G., Zaccone, R., Genovese, L., Crisafi, E. 1998. microbiological, monitoring of castellammare p (TP) waters for tiieir suitability in marine. Microbiologica 21, 169-182.

El-Beltagy, A.E., El-Sayed, S.M. 2012. Functional and nutritional characteristics of protein recovered during isolation of chitin from shrimp waste. Food and Bioproducts Processing 90(4), 633-638.

Fohmbk, X. 2012. Influence of pH shift on functional properties of protein isolated of Tilapia (Oreochromis niloticus) muscles and of soy protein isolate. Food & Bioprocess Technology 5(-), 2192-2200.

Ferreira, F.A., Freire, B.P., Andreghetto de Souza, J.T., Cortez-Vega, W.R., Prentice, C. 2013. Evaluation of Physicochemical and Functional Properties of Protein Recovered Obtaining from Whitemouth Croaker (Micropogonias furnieri) Byproducts. Food and Nutrition Sciences 4(5), 580-585.

Freitas, I.R., Cortez-Vega, W.R., Prentice, C. 2015. Recovery of anchovy (Engraulis anchoita) and white mouth croaker (Micropogonias furnieri) proteins by alkaline solubilisation process. Acta Alimentaria 44, 221-228.

Garcia-Sifuentes, C., Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sanchez, M., Garcia-Sanchez, G., Ramirez-Suarez, J., Garcia-Carreno, F. 2009. Properties of recovered solids from stick-water treated by centrifugation and pH shift. Food Chemistry 114, 197-203.

Ghaly, A., Ramakrishnan, V., Brooks, M., Budge, S., Dave, D. 2013. Fish Processing Wastes as a Potential Source of Proteins. Amino Acids and Oils: A Critical Review. Journal of Microbial & Biochemical Technology 5(-), 107-129.

He, S., Franco, C., Zhang, W. 2013. Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). Food Research International 50(-), 289-297.

Jiang, L., Wang, Z., Li, Y., Meng, X., Sui, X., Qi, B., Zhou, L. 2015. Relationship between surface hydrophobicity and structure of soy protein isolate subjected to different ionic strength. International Journal of Food Properties 18(-), 1059-1074.

Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., Hayes, K.D., Shahidi, F. 2008. Comparative study on antioxidative activity of yellow stripe trevally protein hydrolysate produced from Alcalase and Flavourzyme. International journal of food science & technology 43, 1019-1026.

Kristinsson, H.G., Hultin, H.O. 2003. Effect of low and high pH treatment on the functional properties of cod muscle proteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51, 5103-5110.

Kristinsson, H.G., Liang, Y. 2006. Effect of pH-shift processing and surimi processing on Atlantic croaker (Micropogonias undulates) muscle proteins. Journal of Food Science 71, C304-C312.

Kristinsson, H.G., Rasco, B.A. 2000. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 40, 43-81.

La, C.A., La, A.Y., Todos, N.P. 2016. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. FAO report, Contribucion a la seguridad alimentaria y la nutricion para todos. Roma. 224 p.

Lin, C., Zayas, J. 1987. Functionality of defatted corn germ proteins in a model system: fat binding capacity and water retention. Journal of Food Science 52, 1308-1311.

Martinez-Alvarez, O., Chamorro, S., Brenes, A. 2015. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: a review. Food Research International 73(-), 204-212.

OECD. 2019. OECD-FAO Agricultural Outlook 2019-2028, OECD Publishing, Paris/Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 326 P.

Oliyaei, N., Moosavi-Nasab, M., Gorbani, M., Sadeghi Mahoonak, A.R., Maghsoudloo, Y. 2015. Composition and functional properties of isolated protein from Myctophid (Benthosema pterotum) using pH shift method. Iranian Scientific Fisheries Journal 24(1), 25-36.(In Persion)

Panpipat, W., Chaijan, M. 2017. Functional properties of pH-shifted protein isolates from bigeye snapper (Priacanthus tayenus) head by-product. International Journal of Food Properties 20, 596-610.

Pearce, K.N., Kinsella, J.E. 1978. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. Journal of Agricultural and Food Chemistry 26(-), 716-723.

Planning and Budget Office. 2017. Statistical Yearbook of the Fisheries Organization of Iran 1391-1395. Ghorbanzadeh, R.B., Nazari, S (Editors), Fisheries Organization of Iran / Deputy of Planning and Resource Management / Planning and Budget Office / Planning and Statistics Group, 64p.(In Persion)

Rawdkuen, S., Sai-Ut, S., Khamsorn, S., Chaijan, M., Benjakul, S. 2009. Biochemical and gelling properties of tilapia surimi and protein recovered using an acid-alkaline process. Food Chemistry 112(-), 112-119.

Reisi, S., Alishahi, A., Shabanpour, B. 2015. Effects of chitosan, chitosan nanoparticles and chitosan- aluminum sulfate composition on protein recovery from fish meal plant effluent. Fisheries Science & technology 4(2), 55-64.(In Persion)

Rodriguez-Ambriz, S., Martinez-Ayala, A., Millan, F., Davila-Ortiz, G. 2005. Composition and functional properties of Lupinus campestris protein isolates. Plant Foods for Human Nutrition 60(-), 99-107.

Saffar Shargh, A., Zakipour Rahimabadi, E., Alizadeh Doughikollaee, E., Gheybi, F. 2018. Functional Properties of Protein Extracted from Crucian Carp,Using Acidic and Basic Isoelectric Solubilization/Precipitation Method. Journal of Fisheries Science and Technology 7(1),17-23.(In Persion)

Sathivel, S., Smiley, S., Prinyawiwatkul, W., Bechtel, P.J. 2005. Functional and nutritional properties of red salmon (Oncorhynchus nerka) enzymatic hydrolysates. Journal of Food Science 70(-), 401-406.

Shevkani, K., Singh, N., Kaur, A., Rana, J.C. 2015. Structural and functional characterization of kidney bean and field pea protein isolates: a comparative study. Food Hydrocolloids 43, 679-689.

Shi, L., Beamer, S.K., Yin, T., Matak, K.E., Yang, H., Jaczynski, J. 2017. Mass balance for isoelectric solubilization/precipitation of carp, chicken, menhaden, and krill. LWT-Food Science and Technology 81(-), 26-34.

Slizyte, R., Mozuraityte, R., Martinez-Alvarez, O., Falch, E., Fouchereau-Peron, M., Rustad, T. 2009. Functional, bioactive and antioxidative properties of hydrolysates obtained from cod (Gadus morhua) backbones. Process Biochemistry 44(-), 668-677.

Souissi, N., Bougatef, A., Triki-Ellouz, Y., Nasri, M. 2007. Biochemical and functional properties of sardinella (Sardinella aurita) by-product hydrolysates. Food technology and biotechnology 45(-), 187-194.

Surasani, V.K.R. 2018. Acid and alkaline solubilization (pH shift) process: a better approach for the utilization of fish processing waste and by-products. Environmental Science and Pollution Research 25(-), 18345-18363.

Sze-Tao, K., Sathe, S. 2000. Functional properties and in vitro digestibility of almond (Prunus dulcisl) protein isolate. Food Chemistry 69(-), 153-160.

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

Taskaya, L., Chen, Y.C., Jaczynski, J. 2009. Functional properties of proteins recovered from silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) by isoelectric solubilization/precipitation. LWT-Food Science and Technology 42(-), 1082-1089.

Zayas, J.F. 2012. Functionality of proteins in food. Springer Science & Business Media, Verlag Berlin Heidelberg, First Edition, 373p.