Archive of SID

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 4, Oct- Nov 2016, p. 463-476

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۴، مهر - آبان ۱۳۹۵، ص. ۴۷۶-۴۶۳

مقایسه‌ی ویژگی‌های کاربردی پروتئین‌های جدا شده از عضله‌ی تیره‌ی تون زردباله (*Thunnus albacares*) با استفاده ازفرآیندهای تغییر pH اسیدی و قلیایی

نرجس دماوندی کمالی[۱]، امیررضا شویکلو[۲]، علی معتمدزادگان[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۷/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۱۳

چکیده

در این پژوهش، برای استخراج پروتئین از عضله‌ی تیره‌ی ماهی تون زرد باله (*Thunnusalbacares*) به روش تغییر pH، از سه تیمار اسیدی با pH ۳/۵، ۳، ۲/۵ و سه تیمار بازی با pH ۱۱/۵، ۱۱، ۱۰/۵ استفاده شد. سپس اثر این تیمارها بر میزان بازدهی پروتئین، اکسایش و ویژگی‌های کاربردی پروتئین‌ها بررسی گردید. برطبق نتایج بدست آمده بیش از ۸۰٪ پروتئین‌ها بازیافت شدند. در بین دو گروه تیمار مورد بررسی بیش‌ترین بازیافت پروتئین‌ها مربوط به تیمارهای قلیایی بود. در این فرآیندها چربی بیش از ۷۰٪ کاهش یافت که این میزان در تیمارهای قلیایی بالاتر بود. بنابراین میزان اکسایش در نمونه‌ها نیز پایین بوده است. در بین تیمارها، تیمار اسیدی با pH ۳/۵ بیشترین ظرفیت نگهداری آب و تیمار قلیایی با pH ۱۱ بیشترین ویسکوزیته را دارا بودند. با توجه به نتایج قدرت ژلی و شاخص‌های بافتی، پروتئین‌های بدستآمده از عضله‌ی تیره، احتمالا به دلیل تغییر ماهیت پروتئین‌ها هنگام جابه‌جایی، نگهداری و فرآوری ماهی تون، ژل مطلوبی تولید نکردند. بر اساس تشکیل باندهای پروتئینی در الکتروفورز شاید بتوان نتیجه گرفت که پایداری پروتئین‌ها هنگام بالا رفتن pH مناسب بوده است. این پژوهش امکان استفاده از ایزوله‌ی پروتئین تون در فرمولاسیون مواد خوراکی مختلف، جایی که نیاز به قدرت ژلی بالا نیست، را مورد تاکید قرار داد و این مهم می‌تواند ضمن افزایش بهره وری موجب ایجاد ارزش افزوده در صنعت فرآوری آبزیان شود.

واژه های کلیدی: ایزوله‌ی پروتئین ماهی، تون زرد باله، عضله‌ی تیره، تغییر pH

مقدمه

با افزایش آگاهی و پیشرفت علوم و نیز افزایش نیاز به تامین منابع جدید پروتئینی در جهان، تلاش‌های بسیاری برای بهره‌برداری از منابع آبزی شامل گونه‌های کم‌ارزش آبزیان و یا ماهیان ریز و نیز باقی‌مانده‌ی حاصل از فرآورش آبزیان (پسماند یا ضایعات آبزیان)، صورت گرفته است (Nolsøe & Undeland, 2009). استفاده از پروتئین‌های بازیافت‌شده‌ی ماهی به‌عنوان افزودنی‌های کاربردی در فرمولاسیون مواد خوراکی، روش مناسبی برای ایجاد ارزش افزوده، بالا بردن بهره‌وری (Aspmo *et al*, 2005; Ovissipour *et al*, 2009) و افزایش سرانه‌ی مصرف ماهی می‌باشد (Shaviklo, 2008). تون ماهیان یکی از با ارزش‌ترین ماهیان صنعتی در جهان محسوب می‌شوند که رقم قابل توجهی از صید سالانه را به خود اختصاص می‌دهند. یکی از مهمترین گونه‌های تون‌ماهیان، ماهی تون زردباله (*Thunnus albacares*) است. بر اساس آخرین آمار رسمی سازمان شیلات ایران، درسال ۱۳۹۲ از حدود ۲۵۰ هزارتن صید تون ماهیان رقمی معادل ۴۵ هزار تن مربوط به ماهی تون زردباله بوده است (سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۳) که بخش عمده‌ای از آن به مصرف تولید کنسرو ماهی رسیده است. عضلات ماهی شامل عضله‌ی تیره و روشن می‌باشد، عضله‌ی تیره شامل نواری از بافت‌های تیره است که در زیر پوست در سراسر بدن کشیده شده است. در ماهی تون، عضله‌ی تیره نزدیک استخوان پشتی نیز وجود دارد. هر چند که بطور معمول نسبت بین عضله‌ی تیره و روشن بسته به فعالیت ماهی متفاوت است، ماهیان چرب حجم عضله‌ی تیره بالاتری دارند مثلا در تون زرد باله به ۴۸٪ هم می‌رسد (Sánchez-Zapata & Pérez-Alvarez, 2007).

باقی‌مانده‌ی مواد خام حاصل از کنسروسازی تون ماهیان حدود۶۰-۵۰ ٪ برآورد می شود که از این مقدار ۲۰-۱۰٪ مربوط به

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس
۲- استادیار پژوهشی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات و ترویج کشاورزی، کرج.
۳- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.
(* - نویسنده مسئول: Email: shaviklo@gmail.com)

www.SID.ir

Archive of SID

عضله‌ی تیره است که در کنسروسازی از گوشت روشن جدا شده و همراه با دیگر بخش‌های جدا شده از ماهی (مانند سر و احشا) به‌عنوان ضایعات در اختیار واحدهای فرآوری پودر ماهی قرار می‌گیرد (رضوی شیرازی، ۱۳۸۰). ترکیبات شیمیایی متفاوتی در این دو نوع عضله وجود دارد، اما مهمترین آنها حجم بالاتر چربی و رنگدانه‌های هِم[1] موجود در عضله‌ی تیره می‌باشد.

برای بازیافت پروتئین‌ها از روش‌های مختلفی می‌توان استفاده کرد که روش تغییر pH[2] یکی از آن‌هاست (Batista, 1999). پروتئین استخراجی با این روش ایزوله‌ی پروتئین ماهی[3] نامیده می‌شود. ایزوله‌ی پروتئین ماهی بطور مستقیم مورد استفاده قرار نمی‌گیرد بلکه به‌عنوان یک ماده خام در صنایع غذایی و تولید فرآورده‌های با ارزش افزوده بکار می‌رود (Shaviklo *etal*, 2012). استفاده از ایزوله‌ی پروتئین ماهی برای غنی‌سازی فیله‌ی ماهی، افزایش قوام لعاب فرآورده‌های سوخاری و کمک به کاهش جذب روغن در فرآورده‌های سرخ شده و نیز ساخت فرآورده‌های فرموله‌شده‌ی آماده‌ی مصرف گزارش شده است (Shaviklo, 2008).

استفاده از اسید و قلیا برای بازیافت پروتئین‌ها سه مزیت اصلی دارد:

۱- عضلات بطور مکانیکی از استخوان یا پوست جدا نشده و مواد خام خرد شده یا چرخ شده می‌تواند بطور مستقیم در معرض اسید یا قلیا قرار گیرندو بر اساس چگالی متفاوت مواد در طی سانتریفوژ جدا شوند.

۲- پروتئین‌های سارکوپلاسمی بازیافت شده، ضمن بهبود ویژگی‌های کاربردی پروتئین‌های استخراج شده، موجب افزایش بازده می‌شوند.

۳- حذف حداکثری لیپیدها؛ که در این صورت خطر اکسایش چربی‌ها را به ویژه در طول انبارش به حداقل می‌رساند (Nolsøe & Undeland, 2009).

Hultin و همکاران (۲۰۰۵)، فرآیند استفاده از اسید وقلیا و روش سنتی برپایه‌ی شستشو (تولید سوریمی[4]) را با هم مقایسه کردند و با ارزیابی شاخص‌هایی مانند کارایی پروتئین‌ها، توانایی تولید ژل، رنگ و پایداری در برابر اکسایش لیپیدها نتیجه‌گیری کردند که ایزوله پروتئین ماهی و سوریمی شباهت‌های بسیاری با هم داشته و حتی در شرایطی ایزوله پروتئین ماهی بر سوریمی برتری دارد. بر این اساس امروزه استفاده از پروتئین ایزوله شده ماهی رو به گسترش است (Shaviklo *et al*, 2012). ویژگی‌های کیفی ایزوله پروتئین ماهی بستگی به فرآیندهای مورد استفاده (اسیدی یا قلیایی)، گونه‌ی ماهی و نوع مواد خام دارد (Shaviklo, 2008). بر اساس پژوهشی از Hultin و Kristinsson (۲۰۰۳)، تیمار قلیایی پروتئین عضله‌ی کاد (*Gadus morhua*) باعث بهبود ویژگی‌های کاربردی (امولسیون‌کنندگی و قدرت ژلی) پروتئین‌های میوفیبریلی و میوزین شده است.

از هدف‌های اصلی این پژوهش بررسی امکان استخراج پروتئین از باقی‌مانده‌ی حاصل از فرآورش تون زرد باله (عضله‌ی تیره) و تعیین ویژگی‌های کیفی آن است. هرچند انجام موفقیت‌آمیز این پروژه و تولید فرآورده‌ای با ارزش افزوده موجب افزایش بهره‌وری در صنایع شیلاتی کشور خواهد شد.

مواد و روش

گوشت تیره‌ی منجمد شده‌ی تون زرد باله (*Thunnusalbacares*) (۱۰ کیلوگرم) از شرکت کنسروسازی آذین مهر خزر (بابلسر، مازندران) تهیه و در جعبه‌های عایق به آزمایشگاه مرکزی واقع در دانشکده علوم دریایی و منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس (نور، مازندران) منتقل شد. در طول مدت انجام آزمایش‌ها، عضله‌ی تیره در سردخانه آزمایشگاه (دمای $-20^{\circ}C$) نگهداری شد.

طراحی تیمارها بر اساس پژوهش‌های پیشین (Davenport & Kristinsson, 2011; Nolsoe & Undeland, 2009; Kristinsson *et al*, 2005) بود. از این‌رو سه تیمار اسیدی با pH ۳/۵، ۳، ۲/۵و سه تیمار بازی با pH ۱۱/۵، ۱۱، ۱۰/۵ انتخاب شدند. در این پژوهش برای تنظیم pHهای مختلف تیمارهای اسیدی و قلیایی از اسید کلریدریک ۱ مولار و سود ۱ مولار استفاده شد. در ابتدا عضله‌ی تیره‌ی ماهی تون زردباله با استفاده از چرخ گوشت (saya, Promeat, W1800, 5mm) بخوبی چرخ شده و سپس گوشت چرخ شده‌ی ماهی با ۹ قسمت آب مقطر سرد، مخلوط (Hultin *et al*, 2005) و با استفاده از همزن مکانیکی (IKA,RW 20 digital, speed 50/ min, 1 min) همگن گردید. سپس با استفاده از محلول‌های یاد شده، pH مخلوط به ۳/۵، ۳، ۲/۵و ۱۱/۵، ۱۱، ۱۰/۵ رسانده شد (Hultin & Kelleher, 2000). در مرحله‌ی بعد، بمنظور جداسازی مواد نامحلول از مواد حل شده از سانتریفوژ آزمایشگاهی (Hermle Labortechnik GmbH, Z36HK, Germany, 8000×g, 25 min) استفاده شد (Park & Thawornchinsombut, 2006). پس از سانتریفوژ کردن نمونه‌ها، ۳ فاز تشکیل گردید. یک لایه در پایین شامل ناخالصی‌ها، یک لایه‌ی ژل مانند در بالا که مجموعه‌یی از لیپیدها و یک لایه در وسط که شامل پروتئین‌های محلول بود. در مرحله‌ی بعد، pH محلول جدا شده با استفاده از اسید یا قلیا به pH ایزوالکتریک[5] رسانده شد (۵/۵) که به موجب آن پروتئین‌های سارکوپلاسمی و میوفیبریلی رسوب کردند. در

1 Heme
2pH-shift
3 Fish protein isolate (FPI)
4 Surimi

5Isoelectric

www.SID.ir

Archive of SID

مرحله‌ی پایانی، پروتئین‌های رسوب کرده توسط سانتریفوژ (۲۰ min، ۴۰۰۰ ×g) جدا شده و رطوبت ایزوله‌پیروتئین با فشردن دستی در پارچه صافی کاهش داده شد (۷۲-۷۰٪). در این مرحله دقت شد که رطوبت پروتئین‌های آبگیری شده یکسان باشند. پروتئین‌های استخراج شده به روش اسیدی و قلیایی در کیسه‌های زیپ‌دار در فریزر (دمای ۱۸°C-) نگهداری شده و آزمون‌ها ظرف یک هفته بر روی آنها انجام شد. اندازه گیری مقادیر پروتئین با استفاده از دستگاه کلدال، چربی با استفاده از دستگاه سوکسله، رطوبت با آون و خاکستر با کوره طبق روش AOAC (۱۹۹۵) بر روی عضله‌ی تیره و پروتئین استخراج شده انجام شد. اندازه گیری تیوباربیتوریک اسید[1] به روش رنگ‌سنجی صورت گرفت. مقدار (TBA میلی‌گرم مالون آلدئید در کیلوگرم) بر اساس رابطه روبرو محاسبه گردید (Natseba *et al*, 2005).

$$TBA = \frac{(As-Ab)\times 50}{200} \quad (۱)$$

As: مقدار جذب نمونه در ۵۳۰ نانومتر

Ab: مقدار جذب شاهد (آب مقطر)

آماده‌سازی ژل شامل ۴ مرحله‌ی خرد کردن، پرکردن، حرارت‌دهی و سردسازی بود. به این صورت که نمونه‌های ایزوله پروتئین حاصل از هر تیمار با ۳٪ وزنی نمک مخلوط و با آسیاب برقی (Vidas.VI-905) بخوبی همگن شدند. سپس با فشار زیاد و به صورت متراکم با استفاده از قیف (قیف قنادی به شکل سرنگ) وارد روکش (روکش سوسیس از نوع پلی اتیلنی به قطر ۱۵ mm) شدند. در این مرحله دقت شد که حباب هوا در نمونه و روکش ایجاد نشود. دو سر روکش را با نخ، محکم بسته و به مدت ۱ ساعت در یخچال قرار گرفت. سپس در دمای ۹۰°C-۸۵ به مدت ۳۰ min در بن‌ماری حرارت داده شد. پس از حرارت‌دهی، نمونه‌های ایزوله پروتئین روکش شده در مخلوط آب و یخ خنک و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شدند. سپس به قطعاتی به طول۱۵ mm برش داده شد و آزمون‌های مربوط انجام گردید. به‌منظور انجام آزمون نفوذ[2] (Brookfield, USA) از میله سر کروی به قطر ۵ mm، از جنس فولاد زنگ‌نزن و سرعت نفوذ ۶۰mm/minute استفاده شد (FAO/WHO, 2005). میزان نیروی شکست بر حسب گرم و فاصله‌ی شکست بر حسب سانتی‌متر در این آزمایش تعیین شده و استحکام ژل[3] بر مبنای این دو پارامتر محاسبه گردید.

(۲) استحکام ژل =نیروی شکست[4] (g)× شکست فاصله(cm)

آنالیز پروفایل بافت[5] با پروب آلومینیومی (Brookfield, USA) به قطر ۵۰ mm و نیروی وارده به میزان ۲۵ kg و سرعت ۱ mm/s انجام شد (FAO/WHO, 2005). برای محاسبه‌ی شاخص‌های مرتبط با این آزمون، هر نمونه ۲ بار فشرده و سختی (نیروی بیشینه طی اولین چرخه فشردن)، الاستیسیته (ارتفاعی که نمونه در بازه زمانی بین انتهای گاز زدن اول و شروع گاز زدن دوم به آن باز می‌گردد)، چسبندگی (ناحیه نیروی منفی حاصل از گاز زدن اول که بیانگر کار لازم جهت کشیدن پروب دستگاه به عقب از داخل نمونه می‌باشد) و بهم پیوستگی (نسبت مساحت سطح۲ به سطح ۱) ژل سنجیده شد.

بمنظور ارزیابی رنگ، با دستگاه رنگ‌سنج (Micromatch plus,sheen, ASTM 2244)، نمونه‌ها به ضخامت ۱۵ mm برش داده شده و شاخص‌های رنگی نمونه‌ها شامل L* (میزان روشنایی)، a* (میزان تمایل به رنگ قرمز) و b* (میزان تمایل به رنگ زرد) اندازه‌گیری شد. میزان سفیدی نمونه‌ها (Whiteness) طبق رابطه زیر مشخص گردید (FAO/WHO, 2005).

$$\text{Whiteness}=100-\sqrt{(100-L*)^2+a*^2+b*^2} \quad (۳)$$

بمنظور اندازه‌گیری قدرت ژلی به روش حسی (Park, 2004) از آزمون تا کردن با دست[6] و گاز زدن با دندانهای جلو[7] که یکی از ساده‌ترین راه‌ها برای سنجش قدرت ژلی است، استفاده شد. آزمون تا کردن با برشی از نمونه ژل به ضخامت ۵ mm که بین دو انگشت اشاره و شست به آرامی روی هم تا شدند، انجام شد. آزمون‌ها توسط سه نفر فرد آموزش دیده انجام و امتیازبندی بر پایه‌ی جدول (۱) صورت گرفت.

جدول ۱- امتیازبندی در آزمون تا کردن

نوع خصوصیت	امتیاز
اگر دو بار روی هم تا شود، ترک نمی‌خورد	۵
یک بار تا شود ترک نمی‌خورد ولی اگر دو بار تا شود ترک ایجاد می‌شود	۴
یک بار تا شود ترک نمی‌خورد اما اگر دو بار تا شود دو نیم می‌شود	۳
یک بار تا شود ترک ایجاد می‌شود	۲
یک بار تا شود به دو نیم تقسیم می‌شود	۱

(FAO/WHO, 2005)

آزمون گاز زدن هم (توسط سه نفر فرد آموزش دیده) با برشی از نمونه ژل به ضخامت ۵ mm و با دندان‌های جلو انجام گرفت و میزان ارتجاعیت و الاستیسیته مشخص گردید. امتیاز بندی بر طبق جدول (۲) انجام شد.

بمنظور سنجش ویسکوزیته، نمونه‌های پروتئین به نسبت ۱:۵ با آب مقطر و با استفاده از هموژنایزر (WIGGEN HAUSER,D-500,Germany, speed 10000/min, 1 min)، همگن شدند.

سپس ۱۵ میلی‌لیتر از مخلوط همگن شده را وارد سیلندر

1 Thiobarbituric acid (TBA)
2Puncture test
3Gel strength
4breaking force
5Textrure Profile Analysis (TPA)

6FoldingTest
7BitingTest

www.SID.ir

Archive of SID

ویسکومتر کرده (نوع پروب Spindle S-31) و ویسکوزیته با استفاده از ویسکومتر بروکفیلد (Brookfield,DV-II+Pro,U.S.A) در دمای ۵°C با سرعت چرخش ۱۰۰ rpm به مدت ۲ دقیقه اندازه‌گیری شد (Kristinsson *etal*, 2005). در طول اندازه‌گیری با کمک یخ دمای حمام آب ویسکومتر در ۵°C ثابت نگه‌داشته شد. آزمون ظرفیت نگهداری آب با استفاده از سانتریفوژ (AOAC, 1995) انجام شد. به این صورت که ۲-۱ گرم از نمونه در کاغذ صافی پیچیده و با دور ۱۳۵۰rpm در دمای ۵°C به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ (Hermle Labortechnik GmbH, Z36HK,Germany) شد. تفاوت وزن نمونه قبل و بعد از سانتریفوژ محاسبه گردید و ظرفیت نگهداری آب طبق رابطه زیر بدست آمد.

$$WHC = \frac{Wwet - Wdry}{Wdry} \times 100 \qquad (۴)$$

Wwet: وزن نمونه قبل از سانتریفوژ به گرم

Wdry: وزن نمونه بعد از سانتریفوژ به گرم

جدول ۲- امتیازبندی در آزمون گاز زدن

کیفیت ژل	امتیاز
فوق‌العاده سخت	۱۰
خیلی سخت	۹
سخت	۸
کمی سخت	۷
نسبتا خوب	۶
کمی ضعیف	۵
ضعیف	۴
خیلی ضعیف	۳
فوق‌العاده ضعیف	۲
ناتوان در تشکیل ژل	۱

(FAO/WHO, 2005)

پروتئین‌های بدست آمده از تیمارهای اسیدی و قلیایی به روش الکتروفورز عمودی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. الکتروفورز ژل سدیم دو دسیل سولفات پلی اکریلامید[1]، به روش Laemelli (۱۹۷۰) انجام شد. نمونه‌ی پروتئین پس از آماده‌سازی به مقدار ۱۵µL در ژل مورد نظر بارگذاری شد. ژل پس از رنگ آمیزی، عکس‌برداری شده و باندهای تشکیل شده بررسی شدند. وزن مولکولی استاندارد به کار برده شده ۱۱۶-۱۴/۴ kDa بود. دراین روش از تفاوت وزن مولکولی و بارالکتریکی پروتئین‌ها بطور همزمان برای تفکیک آنها از یکدیگر استفاده شد. مقادیر دناتوره شدن پروتئین‌ها، مقادیر اکتین و میوزین و توالی پروتئین‌ها با استفاده از این روش مشخص گردید (Kristinsson *et al*, 2005).

برای تجزیه و تحلیل نتایج از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ (Chicago, IL, U.S.A.windows, SPSS Inc.,SPSS 16.0 for) استفاده شد. جهت تعیین اختلاف معنی‌دار بین تیمارها از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه[2] استفاده گردید. برای مقایسه میانگین‌ها در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی‌دار بود از آزمون دانکن استفاده شد. لازم به ذکر است که در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل تمام اختلاف‌ها در سطح ($p<۰/۰۵$) معنی‌داری در نظر گرفته شدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه‌ی تقریبی عضله‌ی تیره‌ی تون زرد باله و پروتئین‌های استخراج شده‌ی حاصل از تیمارهای اسیدی و قلیایی در جدول‌های ۳ و ۴ نشان داده شده است.

جدول ۳- تجزیه‌ی تقریبی عضله‌ی تیره‌ی تون زرد باله

رطوبت (٪)	پروتئین ماده خشک (٪)	چربی ماده خشک (٪)	خاکستر ماده خشک (٪)
۷۱/۱۳±۰/۰۸	۸۳/۷۹±۱/۲۵	۳/۸۳±۰/۲۲	۵/۰۵±۰/۰۷

داده‌ها به صورت میانگین± انحراف معیار گزارش شده‌اند.

جدول ٤- تجزیه‌ی تقریبی پروتئین بازیافتی حاصل از تیمارهای اسیدی و قلیایی

تیمار(pH)	رطوبت (٪)	پروتئین (خشک) (٪)	چربی (خشک) (٪)
۲/۵	۷۶/۰۰±۰.۵۶^{a}	۷۰/۰±۰/۰^{c}	۴/۲۲ ±۰/۳۸^{c}
۳	۷۵/۵۰±۱.۵۵^{a}	۷۰/۰±۰/۰^{c}	۳/۶۲ ±۰/۲۴^{c}
۳/۵	۷۱/۶۶±۰/۵۱^{bc}	۷۴/۰±۰/۰^{a}	۸/۲۱ ±۰/۲۶^{a}
۱۰/۵	۷۰/۵۰±۰/۹۸^{c}	۷۴/۰±۰/۰^{a}	۶/۴۲ ±۰/۷۴^{b}
۱۱	۷۰/۶۰±۰/۱۴^{c}	۷۲/۰±۰/۰^{b}	۱/۷۹ ±۰/۲۹^{d}
۱۱/۵	۷۲/۶۱±۰/۸۲^{b}	۷۰/۰±۰/۰^{c}	۴/۳۰ ±۱/۶۹^{c}

داده‌ها به صورت میانگین± انحراف معیار گزارش شده‌اند.

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ($p<۰/۰۵$) می‌باشد.

بطور متوسط رطوبت پروتئین‌های بازیافتی ۷۲٪ بود. کمترین مقدار رطوبت (۷۰٪) در تیمارهای قلیایی با pH ۱۰/۵ و ۱۱ دیده شد. مقدار چربی در تیمارهای اسیدی با pH ۲/۵، ۳ و تیمار قلیایی با pH ۱۱/۵ یکسان بود ($p>۰/۰۵$). تیمارهای اسیدی ۳/۵ و قلیایی ۱۰/۵، بیشترین مقدار چربی را دارا بودند که با هم و با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند. متوسط وزن خشک پروتئین حدود ۷۱٪ بود و تیمارهای ۳/۵ و۱۰/۵، مقدار پروتئین بیشتری داشتند (۷۴٪) که اختلاف آن با دیگر تیمارها معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).

در شکل (۱) میزان تیوباربیتوریک اسید پروتئین حاصل از

1Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis

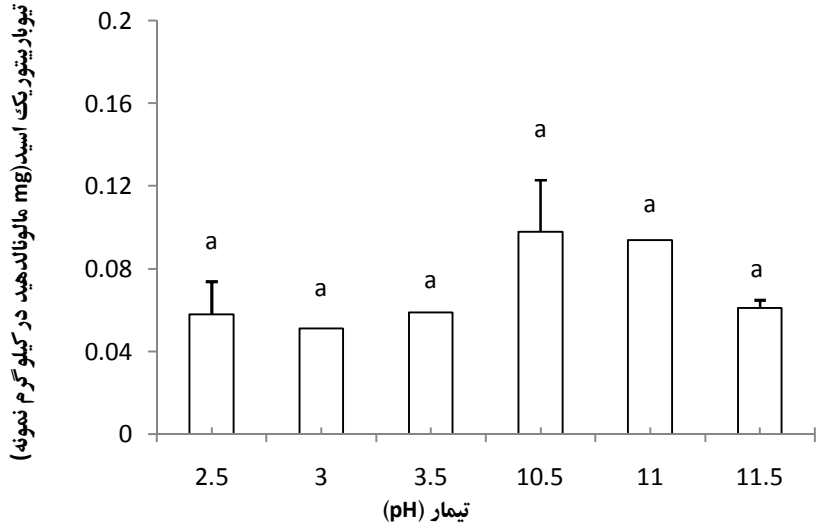
2 One way ANOVA

www.SID.ir

Archive of SID

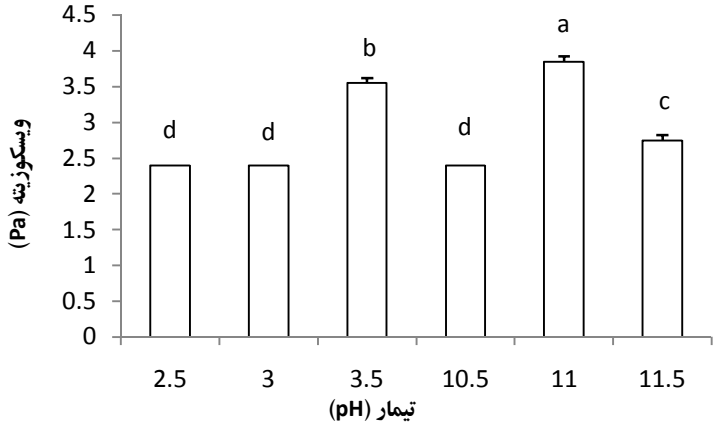
تیمارهای اسیدی و قلیایی نشان داده شده است.

بر طبق نمودار مقادیر شاخص TBA، شاخص اکسایش ثانویه، بطور کلی پایین و این میزان در تیمارهای اسیدی بطور معنی‌داری کمتر از تیمارهای قلیایی با pH ۱۰/۵ و ۱۱ و برابر با تیمار ۱۱/۵ بود. تیمارهای قلیایی با pH ۱۰/۵ و ۱۱ بیشترین مقدار اکسایش و با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند ($p<0/05$). نتایج حاصل از اندازه‌گیری ویسکوزیته پروتئین استخراج شده از تیمارهای اسیدی و قلیایی در شکل (۲) نشان داده شده است.



شکل ۱- مقادیر تیوباربیتوریک اسید تیمارهای مختلف pH (mg مالون‌آلدهید در kg نمونه)

حروف نشان‌دهنده نداشتن اختلاف آماری معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $p>0/05$ می‌باشد.



شکل ۲- مقادیر ویسکوزیته پروتئین بدست آمده از تیمارهای مختلف pH

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $p<0/05$ می‌باشد.

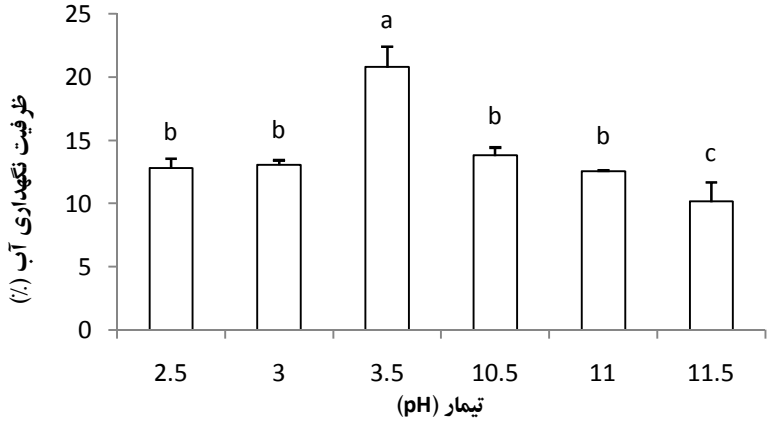
در بین تیمارها، تیمار قلیایی ۱۱ بیشترین ویسکوزیته را داشت. تیمارهای اسیدی با pH ۲/۵ و۳ و تیمار قلیایی ۱۰/۵ ویسکوزیته کمتر و مشابه داشتند و اختلاف آنها با دیگر تیمارها معنی‌دار بود. تیمارهای ۳/۵ و ۱۱/۵ نیز با هم و با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند ($p<0/05$).

در شکل ۳ مقادیر حاصل از اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب

www.SID.ir

Archive of SID

پروتئین استخراج شده از تیمارهای مورد آزمایش نشان داده شده است. بطور کلی تفاوت چشمگیری بین تیمارهای اسیدی و قلیایی از نظر ظرفیت نگهداری آب دیده شد. تیمار اسیدی با pH ۳/۵ بیشترین ظرفیت نگهداری آب و با تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$).



شکل ۳- مقادیر ظرفیت نگهداری آب پروتئین حاصل از تیمارهای اسیدی و قلیایی

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $p<۰/۰۵$ می‌باشد.

نتایج مربوط به سنجش شاخص‌های رنگی و سفیدی بر روی عضله‌ی تیره‌ی تون زرد باله و همینطور بر روی ژل پروتئین حاصل از تیمارهای اسیدی و قلیایی در جدول ۵ نشان داده شده است. همانطور که از جدول پیداست به دلیل تیره رنگ بودن نمونه اولیه، مقادیر شاخص‌های روشنایی و سفیدی پایین بوده و طبیعی است که شاخص‌های قرمزی و زردی مقادیر بیش‌تری داشته باشند.

جدول ۵- مقادیر شاخص‌های رنگی و تعیین سفیدی عضله‌ی تیره‌ی تون زرد باله و ژل پروتئینی حاصل از تیمارهای مختلف pH

	pH	L*	a*	b*	Whiteness
تیمار اسیدی	۲/۵	۳۳/۴۷±۰/۸۳^{a}	۴/۱۸±۰/۴۴^{ab}	۱۳/۵۰±۱/۸۰^{a}	۳۱/۹۶ ±۰/۴۷^{a}
	۳	۳۰/۶۳±۰/۰۹^{b}	۴/۶۷±۰/۰۹^{a}	۱۲/۹۵±۰/۵۹^{a}	۲۹/۲۷±۰/۰۰^{b}
	۳/۵	۲۷/۷۹±۱/۹۱^{c}	۴/۱۷±۰/۶۰^{ab}	۵/۲۴±۲/۰۵^{b}	۲۷/۴۶±۱/۷۹^{c}
تیمار قلیایی	۱۰/۵	۳۲/۶۶±۰/۷۴^{a}	۳/۳۷±۰/۱۸^{c}	۱۳/۹±۰/۲۸^{a}	۳۱/۱۶±۰/۶۷^{a}
	۱۱	۳۲/۷۲±۰/۶۰^{a}	۴/۰۵±۰/۶۳^{b}	۱۳/۷۳±۰/۰۱^{a}	۳۱/۲۱±۰/۵۶^{a}
	۱۱/۵	۲۹/۸۲±۰/۵۳^{b}	۳/۳۷±۰/۲۰^{c}	۶/۰۹±۰/۰۱^{b}	۲۹/۴۷±۰/۵۲^{b}
	عضله‌ی تیره	۲۶/۳۵±۰/۲۹	۴/۶۸±۰/۱۲	۳/۹۳±۰/۵۰	۲۶/۰۹±۰/۳۳

داده‌ها به صورت میانگین± انحراف معیار گزارش شده‌اند.

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $p<۰/۰۵$ می‌باشد.

برای شناسایی اختلاف در وضعیت پروتئینی ایزوله‌های پروتئین تون از SDS-PAGE استفاده شد و نمونه یا نوار استاندارد با نشانگرهای وزن مولکولی برای تعیین حضور پروتئین‌های مختلف یا عدم حضور آن‌ها به کار برده شد. همانطور که در شکل ۴ دیده می‌شود پروتئین‌های شناسایی شده در pHهای مختلف عبارتند از: α- اکتینین[1]، اکتین[2]، دسمین[3]، تروپومیوزین[4]. با مقایسه باندهای حاصل در SDS-PAGE مشاهده شد که باندهای اصلی پروتئین در نمونه‌ها وجود دارند.

سنجش بافت نمونه‌ها حاکی از آن است که پروتئین ایزوله‌ی تون از چسبندگی[5]، بهم‌پیوستگی[1] و ارتجاعیت[2] پایینی برخوردار هستند.

1 α-actinin
2Actin
3Desmin
4Trompomyosin
5Adhesiveness

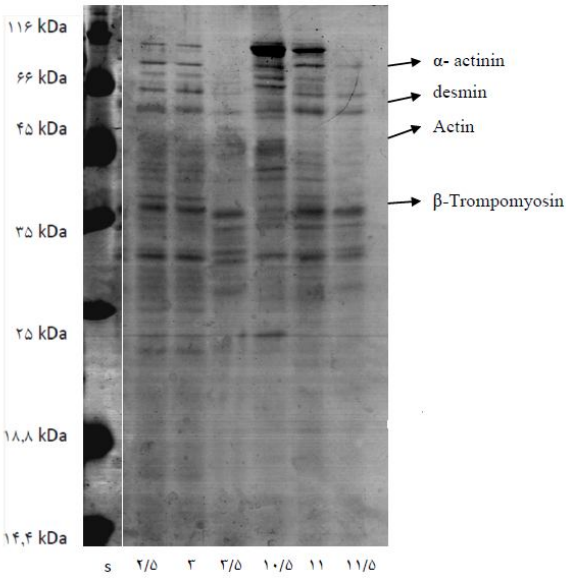
www.SID.ir

Archive of SID

جدول۶ مقادیر حاصل ازآنالیز پروفایل بافت را در تیمارهای مختلف، نشان می‌دهد.

مقادیر حاصل از آزمون نفوذ تیمارهای مختلف، در جدول۷ نشان داده شده است. تفاوت آماری معنی‌دار در قدرت ژلی نمونه‌های فرآوری شده‌ی ایزوله پروتئین ماهی در pHهای مختلف دیده شد($p<۰/۰۵$). با افزایش pH مقدار قدرت ژلی نیز افزایش یافت. در نتیجه کم‌ترین قدرت ژلی مربوط به تیمار با ۲/۵ pH و بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار با ۱۱/۵ pH بود.

نتایج آزمون‌های تا کردن و گاز زدن با نتایج ارزیابی قدرت ژلی ایزوله‌ها در جدول ۷ مقایسه شده است.



شکل ٤- سدیم دودسیل سولفات پلی اکریل آمید ژل الکتروفورز (SDS-PAGE)، ژل ۲۰-٤٪ و ۱۵µL بارگذاری، پروتئین‌های رسوب کرده حاصل از تیمارهای مختلف pH در مرحله دوم سانتریفوژ، (s) مشخص‌کننده نوار استاندارد (۱۱٦-۱٤/٤ کیلو دالتون) و اعداد نشان‌دهنده تیمار مورد استفاده

امتیاز ۱، کم‌ترین امتیاز در آزمون تا کردن می‌باشد و به این معناست که ژل مورد نظر با یک بار تا کردن دو نیم می‌شود و در امتیاز ۲ ترک برمی‌دارد. در واقع نمونه‌های ژل تولید شده قابلیت تا شدن نداشتند. با این حال نمونه‌های قلیایی امتیازهای بهتری دریافت کردند. در آزمون گاز زدن نمونه حاصل از تیمار قلیایی با pH ۱۱ امتیاز نسبتاً خوب را بدست آورده است و نمونه‌های دیگر از امتیاز ۵ (کمی ضعیف) تا امتیاز ۲ (فوق العاده ضعیف) را به خود اختصاص دادند. در بین تیمارها، تیمار اسیدی با pH ۲/۵ کمترین قابلیت را در آزمون گاز زدن داشت. از نتایج آزمون‌های حسی پیداست که پروتئین بازیافتی از عضله‌ی تیره قابلیت تشکیل ژل پایینی داشت.

عوامل زیادی مانند فصل صید، محیط زندگی، سن و مراحل فیزیولوژیکی، در مقدار تجزیه‌ی تقریبی آبزیان مؤثر هستند. از این رو مقایسه ترکیبات عضلات ماهیان مختلف مشکل است. با این حال آزمون‌های انجام شده حاکی از آن است که تجزیه‌ی تقریبی عضله‌ی تیره‌ی ماهی تون زردباله با دیگر ماهیان تون، مانند ماهی بونیتو (*Sarda sarda*) (Emin-Erdem *et al*, 2009) و همینطور *Thunnus orientalis* (Nakamura *et al,* 2007) یکسان می‌باشد.

هیچ گزارش منتشر شده‌ایی در خصوص تجزیه‌ی تقریبی ایزوله‌ی پروتئین ماهی تون زردباله برای مقایسه با نتایج این پژوهش یافت نشد. مقدار رطوبت در ایزوله‌ی پروتئین ماهی بستگی به روش رطوبت‌گیری و تنظیم آن دارد. با این حال وجود گروه‌های فعال در ساختار پروتئین‌ها باعث جذب و نگهداری بیشتر آب می‌شود (موسوی‌نسب و همکاران، ۱۳۹۰). کاهش چربی‌ها نیز به دلیل حذف آنها در پایان سانتریفوژ مرحله‌ی نخست است. شکسته شدن چربی‌ها و انحلال بیشتر آن در آب می‌تواند دلیلی بر کاهش جداسازی چربی‌ها با استفاده از روش اسیدی در مقایسه با روش بازی باشد (Shaviklo, 2007؛ موسوی نسب و همکاران، ۱۳۹۰).

Undeland و همکاران (۲۰۰۲) در مطالعه بر روی ماهی هرینگ، به این نتیجه رسیدند که نمونه‌های پروتئین ایزوله شده‌ی ماهی که به روش قلیایی تهیه شده بودند نسبت به نمونه‌های ایزوله به روش اسیدی، دارای میزان چربی کم‌تری بودند.

کاهش بیشتر لیپیدها در فرآیندهای اسیدی و قلیایی مورد انتظار است چرا که در pH بالا و پایین، پروتئین‌های حل شده از لیپیدهای ذخیره‌ای و فسفولیپیدهای غشایی جدا و در مرحله‌ی سانتریفوژ این ترکیبات بر اساس تفاوت در دانسیته و قابلیت حل شدن مجزا می‌شوند. بیشتر چربی‌های ذخیره‌ای و اسیدهای چرب اشباع در لایه بالایی وجود دارند، و حال آنکه اگر شرایط مساعد باشد، انتظار می‌رود قسمت اعظم فسفولیپیدهای غشایی غیراشباع در خلال مرحله‌ی نخست سانتریفیوژ دیده شوند (Hultin, 2002). از طرف دیگر کاهش کمتر لیپیدها در فرآیندهای اسیدی و قلیایی تعجب آور نیست چرا که در مرحله‌ی رسوب ایزوالکتریک لیپیدهای غشایی حفظ و قسمتی از لیپیدهای ذخیره‌ای با پروتئین‌ها متراکم می‌شوند (Davenport *et al*, 2004). در مقایسه دو فرآیند، تیمار قلیایی نسبت به تیمار اسیدی در کاهش چربی‌ها موفق‌تر بوده است (Kristinsson *et al*, 2005). در توضیح Kristinsson و Demir (۲۰۰۳) بزرگترین تفاوت بین روش سنتی تولید سوریمی و فرآیندهای اسیدی و قلیایی به سانتریفوژ مرحله‌ی نخست مربوط است. در تحقیق حاضر نیز درصد کاهش چربی‌ها در تیمار قلیایی (۷۶/۳۹٪) بیشتر از تیمار اسیدی (۷۳/۴۴٪) بود. کمترین کاهش چربی در تیمار اسیدی با ۳/۵ pH و تیمار قلیایی با ۱۰/۵ pH بود.

1 Cohesiveness
2Resilience

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٦- مقادیر حاصل از آنالیز پروفایل بافت (TPA)

تیمار (pH)	سختی (g)	بهم‌پیوستگی	چسبندگی (mJ)	جهندگی	حالت ارتجاعی
۲/۵	۲۴۶۷±۲/۸۲^{f}	۰/۱۲±۰/۰۰f	۰/۰	۰/۵۰±۰/۰۰^{c}	۰/۰۵±۰/۰۰^{d}
۳	۹۹۳۲±۱/۴۱^{b}	۰/۲۰±۰/۰۰^{d}	۰/۱۵±۰/۰۷	۰/۸۲±۰/۰۱^{b}	۰/۱۲±۰/۰۳^{c}
۳/۵	۳۱۳۰±۰/۷۰^{e}	۰/۱۲±۰/۰۱^{f}	۰/۰	۰/۴۶±۰/۰۲^{d}	۰/۰۷±۰/۰۰^{d}
۱۰/۵	۶۵۸۱±۱/۴۱^{c}	۰/۳۵±۰/۰۱^{c}	۰/۱۵±۰/۰۷	۰/۹۱±۰/۰۱^{a}	۰/۱۲±۰/۰۰^{c}
۱۱	۶۴۹۱±۰/۷۰^{d}	۰/۶۴±۰/۰۰^{a}	۰/۰	۰/۹۱±۰/۰۰^{a}	۰/۳۱±۰/۰۱^{a}
۱۱/۵	۱۰۷۹۳±۱/۴۱^{a}	۰/۵۳±۰/۰۱^{b}	۰/۰	۰/۸۱±۰/۰۱^{b}	۰/۲۰±۰/۰۰^{b}

جدول۷- مقادیر قدرت ژلی (آزمون نفوذ) و امتیازهای داده شده در آزمون‌های تا کردن (۵ تا ۱) و گاز زدن (۱۰ تا ۱) به ژل پروتئینی حاصل از تیمارهای مختلف pH

	تیمار(pH)					
شاخص	۲/۵	۳	۳/۵	۱۰/۵	۱۱	۱۱/۵
قدرت ژلی (g×cm)	۳/۱۷±۰/۱۶$_{f}$	۳۷/۵۱±۰/۴۸$_{e}$	۶۴/۲۲±۰/۳۲$_{d}$	۹۷/۳۶±۰/۳۶$_{c}$	۱۵۶/۶۰±۰/۵۱$_{b}$	۳۲۵/۸۰±۰/۴۳$_{a}$
تا کردن	۱±۰/۰^{b}	۱±۰/۰^{b}	۱±۰/۰^{b}	۲±۰/۰^{a}	۲±۰/۰^{a}	۱±۰/۰^{b}
گاز زدن	۲±۰/۰^{e}	۴/۳۳±۰/۵۷^{c}	۳/۶۶±۰/۵۷^{d}	۴/۶۶±۰/۵۷^{c}	۶±۰/۰^{a}	۵/۶۶±۰/۵۷^{b}

داده‌ها به صورت میانگین± انحراف معیار گزارش شده‌اند. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $p<۰/۰۵$ می‌باشد.

رنگدانه‌ها و اکسایش لیپیدها واکنش‌های اصلی مخرب در گوشت ماهی و فرآورده‌های شیلاتی در طی ذخیره‌سازی و مسئول کاهش معنی‌دار خصوصیات کیفی نظیر رنگ، طعم، بافت و ارزش غذایی هستند (Belitz *et al*, 2009). مقدار میوگلوبین موجود در عضله‌ی تیره‌ی ماهی تون (۹۶۵۰ mg/kg) در مقایسه با دیگر ماهیان دارای عضله‌ی تیره بالا می‌باشد (Sánchez-Zapata *et al*, 2011) به عنوان مثال این مقدار در قباد ۰/۳۹ mg/g و در نیزه ماهی سیاه[1]، ۰/۵۱ mg/g می‌باشد (Sikorski *et al*, 1994). این حجم میوگلوبین، عضله‌ی ماهی تون را مستعد اکسایش لیپیدها می‌کند (Papadopoulos *et al*, 2003). پروتئین‌های "هم" بعنوان کاتالیزورهای عمده یا واسطه‌های اکسایش در عضلات ماهیان هستند (Kristinsson *et al*, 2005). در هنگام اکسایش چربی در نتیجه‌ی تجزیه اسیدهای چرب چند غیراشباعی، مالون آلدهید (شاخص اکسایش ثانویه) تشکیل می‌شود که ناشی از وجود مواد واکنش دهنده با ترکیبات حاصل از مرحله دوم اتواکسیداسیون است. طی آن پراکسیدها به موادی چون آلدهیدها و کتون‌ها تبدیل می‌شوند (Lindasy, 1991). در تحقیق حاضر بمنظور بررسی میزان اکسایش ثانویه بعد از اعمال فرآیندهای اسیدی و قلیایی از شاخص TBA استفاده شد. به گزارش Sánchez-Zapata و همکاران (۲۰۱۱) شاخص TBA در عضله‌ی تیره‌ی تون زردباله (پس از یک ماه نگهداری در ۱۸°C-)، ۱/۲۳ میلی‌گرم مالون آلدهید در کیلوگرم نمونه تعیین شده است. Kristinsson و Demir (۲۰۰۳) در مطالعه‌ای بر روی چندین گونه به این نتیجه رسیدند که اکسایش چربی‌ها در فرآیند اسیدی بطور معنی‌داری نسبت به فرآیند قلیایی بیشتر است.

Kristinsson و همکاران، ۲۰۰۵، گزارش کرده اند که سطوح TBA تشکیل شده بعد از فرآیند تاثیر زیادی در پایداری اکسایشی بعدی ایزوله در طول دوره ذخیره سازی دارد؛ مقادیر بالاتر TBA موجب افزایش سرعت و توسعه اکسایش می‌شود (Petty & Kristinsson, 2004). حضور رنگدانه‌های بیشتر در عضله‌ی تیره موجب تشدید اکسایش می‌شود. در نمونه‌های ایزوله‌ی پروتئین حاصل از عضله‌ی تیره‌ی تون زردباله اکسایش به دلیل کم شدن لیپیدها پایین بوده با این حال در تیمارهای قلیایی با pH ۱۰/۵ و ۱۱ بیشتر از دیگر تیمارها بوده ولی معنی‌دار نبوده است. یکی از اهداف تولید ایزوله‌ی پروتئین، جداسازی پروتئین‌ها از چربی‌های غشایی نامطلوب است (Kristinsson *et al*, 2005). Hultin (۲۰۰۲) گزارش کرده است که ویسکوزیته ۵۰ mPa یا کم‌تر برای خارج کردن چربی‌ها در مرحله‌ی سانتریفوژ (در حالی که پروتئین‌ها محلول باقی می‌مانند) مطلوب است. بنظر می‌رسد افزایش در ویسکوزیته با افزایش و کاهش pH از حالت خنثی در نتیجه بالا رفتن دافعه الکترواستاتیک و ظرفیت هیدرودینامیک پروتئین‌های ماهیچه باشد (Kristinsson *et al*, 2005). افزایش بار پروتئین بعنوان عامل تورم قابل ملاحظه آن در نتیجه نیروی دافعه بین پروتئین‌ها می‌باشد (Kristinsson & Hultin, 2003). اعتقاد بر این است که تورم یا رسوب و به همراه آن

1 Black Marlin

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش ویسکوزیته عمدتا به دلیل وجود پروتئین‌های میوفیبریلی در ماهیچه است که بیشتر فضای سلول را اشغال کرده‌اند و به علت مجموعه ساختاری و کشیدگی ساختارها، ظرفیت هیدرودینامیکی بالایی دارند و به این ترتیب موجب افزایش بار می‌شوند (Undeland *et al*, 2002; Kristinsson, 2002).

ظرفیت نگهداری آب یکی از مهمترین شاخص‌های کیفی گوشت و فرآورده‌های شیلاتی می‌باشد چرا که از دست دادن وزن را در طی خرد کردن و ذخیره سازی کاهش می‌دهد و توانایی گوشت را به منظور حفظ آب در طی فرآوری بهبود می‌بخشد (Sánchez-Zapata و همکاران، ۲۰۱۱). به گزارش Sánchez-Zapata و همکاران (۲۰۱۱) ظرفیت نگهداری آب عضله‌ی تیره در حدود ۸/۳۷ گرم آب در گرم نمونه می‌باشد و به این معناست که عضله‌ی تیره مانند عضله‌ی روشن قابلیت استفاده در غذاهای امولسیون شده یا فرآورده‌های پخته شده را دارد چرا که ظرفیت اتصال امولسیون نتیجه دناتوره شدن و کاهش حلالیت پروتئین‌هاست Sánchez-Zapata (*etal*, 2011). پروتئین‌های بافت‌های عضلات ماهیان به طور معمول در سه گروه پروتئین‌های سارکوپلاسمی (۳۰-۲۵٪)، پروتئین‌های میوفیبریلی (۸۰-۷۰٪) و پروتئین‌های استروما از بافت‌های پیوندی (۳٪) جای می‌گیرند (Huss, 1998). عضلات تیره نسبت به عضلات روشن پروتئین‌های سارکوپلاسمی بیشتری دارند (Hultin & Kelleher, 2000). ویژگی‌های کاربردی پروتئین‌ها تحت تاثیر روابط متقابل آب و پروتئین‌هاست و در نهایت وابسته به این است که در یک فرآورده خوراکی چطور یک پروتئین به آب متصل شده و آنرا حفظ می‌کند (Kristinsson & Rasco, 2000). در تولید ایزوله‌ی پروتئین، قابلیت اتصال به آب پروتئین به دلیل حفظ پروتئین‌های سارکوپلاسمی افزایش می‌یابد. در تحقیق حاضر مقادیر ظرفیت نگهداری آب تیمارهای اسیدی و قلیایی نزدیک به هم می‌باشد با این حال دلیل اختلاف معنی‌دار تیمار اسیدی ۳/۵ با دیگر تیمارها را می‌توان به بازیافت بیشتر پروتئین‌های سارکوپلاسمی ربط داد. pH، نوع و مقدار پروتئین و نیز میزان تغییر ماهیت یا دناتوره شدن آنها بر ظرفیت نگهداری آب اثرگذار هستند (Shaviklo, 2008).

رنگ ایزوله‌ی پروتئین ماهی بستگی به نوع ماده‌ی خام اولیه دارد. بنابراین هر چه مقدار رنگدانه‌ها در ماده‌ی خام بیش‌تر باشد فرآورده‌یی تیره‌تر تولید می‌شود (Nolsqe & Undeland, 2009).Onyango و همکاران (۱۹۹۸) مطالعاتی بر روی گوشت راسته[1] جانوران مختلف انجام داده و مقدار میوگلوبین موجود در آنها را مشخص کردند. نتایج این تحقیق مشخص کننده رابطه‌ای بین مقدار میوگلوبین و شاخص روشنایی (L*) می‌باشد ($y= -2.24x + 51.2$ که در آن y برابر با L* و x برابر با حجم میوگلوبین (mg/g)). بر طبق این رابطه حجم میوگلوبین موجود در عضلات تون ۱۴-۳ بار بیشتر از ماهیچه‌های پستانداران است. این نتایج منطبق با تحقیق گزارش شده توسط Kanoh و همکاران (۱۹۸۶) نیز می‌باشد. مقادیر بالای شاخص‌های زردی و قرمزی در ایزوله‌ی پروتئین نمایانگر حضور رنگدانه‌های میوگلوبین و هموگلوبین است (Choi & Park, 2002). بنابراین مقادیر شاخص روشنایی به واسطه این رنگدانه‌ها پایین می‌آید. در حقیقت کاهش شاخص روشنایی مربوط به حضور پروتئین‌های سارکوپلاسمی به نام پروتئین‌های "هم" در ایزوله‌ی پروتئین می‌باشد (Kim *et al*, 2005). با توجه به مطالب بیان شده در تحقیق حاضر نیز روشنایی در همه تیمارها پایین بود. وجود اختلاف‌های معنی‌دار بین تیمارها، می‌تواند مربوط به فروپاشی بیشتر یا کمتر رنگدانه‌ها در تیمارهای اسیدی و قلیایی و یا به عبارتی حذف پروتئین‌های "هم" و همینطور می‌تواند مرتبط با میزان رطوبت نمونه‌ها باشد (Nolsøe & Undeland, 2009).

تجزیه و تحلیل SDS-PAGE حاصل از بازیافت تیمارهای اسیدی و قلیایی آشکار می‌سازد که پروتئین‌های ماهیچه (شامل پروتئین‌های میوفیبریلی) بعد از سانتریفوژ اول در هر دو تیمار (فرآیندهای اسیدی و قلیایی) وجود دارند (Kristinsson *et al*, 2005). همچنین مقادیر قابل توجهی از پروتئین‌های میوفیبریلی در رسوب لایه پایینی از دست می‌رود. ائتلاف پروتئین‌ها در این دو فاز موجب می‌شود که حجم زیادی از پروتئین بازیافت نشود. قسمت کمی از پروتئین هم در سانتریفوژ آخر در بخش رویی[2] از دست می‌رود، هر چند که فرآیند قلیایی نسبت به فرآیند اسیدی منجر به ائتلاف پروتئینی بیشتری می‌شود (Kristinsson *et al*, 2005). مطالعات الکتروفورز نمونه‌ها نشان داد که شدت باندهای مربوط به آلفا اکتینین و اکتین در تیمارهای اسیدی با pH ۲/۵ و ۳ و قلیایی با pH ۱۰/۵ و ۱۱ قوی‌تر از تیمارهای ۳/۵ و ۱۱/۵ بود که این امر به دلیل اعمال pHهای مختلف و سپس رساندن به نقطه ایزوالکتریک در طی تولید بوده است که سبب تغلیظ پروتئین‌های میوفیبریلی می‌شود. از سوی دیگر همانطور که مشاهده می‌شود تفاوت چندانی در شدت باند مربوط به زنجیره سبک میوزین در نمونه‌ها مشاهده نمی‌شود. با افزایش pH کاهش خاصی در شدت باندهای اصلی پروتئینی موجود در نمونه‌ها مشاهده نشد. این امر نشان می‌دهد که پایداری این پروتئین‌ها هنگام بالارفتن pH مناسب بوده است. با توجه به شناسایی پروتئین‌ها در pHهای مختلف اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای ۳/۵ و ۱۱/۵ با دیگر تیمارها دیده شد. این در حالی است که بین نمونه های حاصل از تیمارهای ۲/۵، ۳ و ۱۰/۵، ۱۱، این تفاوت معنی‌دار نبود. این مهم می‌تواند به دلیل مقدار پروتئین ایزوله در pHهای مختلف و نیز

1 loin

2supernatant

www.SID.ir

Archive of SID

دناتوره شدن پروتئین‌ها به دلیل تغییراتpH باشد که خود منجر به تفاوت ویژگی‌های کاربردی پروتئین‌های ایزوله می‌شود (Hultin& Kristinsson, 2004).

تشکیل ژل توسط پروتئین‌های ماهی مهم‌ترین گام در ایجاد یک بافت مناسب در بسیاری از فرآورده‌های شیلاتی است (Lanier *et al*, 2005). به این منظور آزمونTPA به صورت گسترده‌ای برای برآورد تجربی کیفیت بافت غذاهای پروتئینی استفاده می‌شود. این آزمون شامل فشردن نمونه بین دو صفحه‌ی موازی بوده و در این فرآیند مقادیر نیرو در برابر تغییر شکل ثبت می‌گردند. سنجش بافت نمونه‌ها نشان داد که پروتئین ایزوله‌ی تون از چسبندگی، بهم‌پیوستگی و ارتجاعیت پایینی برخوردار هستند. آزمون نفوذ و ارزیابی حسی برای تعیین قدرت ژلی نمونه‌ها نیز امتیاز پایینی داشتند. بطور کلی قدرت ژلی نمونه‌های ایزوله‌ی پروتئین تون ضعیف بوده و در مقایسه با قدرت ژلی ایزوله‌ی پروتئین حاصل از فیله ماهی یا باقی مانده‌ی مواد حاصل از فرآورش آبزیان و نیز سوریمی پایین می‌باشند. با این حال قدرت ژلی تیمارهای ۲/۵ تا ۱۱ پایین‌تر از قدرت ژلی گزارش شده برای ایزوله‌ی ماهی حاصل از زائدات فرآوری ماهی کاد (۲۷۴g×cm) و ماهی سیث (۱۹۸g×cm) بودند (Shaviklo, 2007). در میان همه عوامل، مهمترین عامل‌های تاثیرگذار در کیفیت ژل حاصل از ایزوله‌ی پروتئین ماهی، گونه و نوع ماده‌ی خام، تغییرات پس از صید یا برداشت و دمای مورد استفاده در جابه‌جایی و طول دوره فرآورش و pH می‌باشد (Hultin *et al*, 2005; Choi & Park, 2002; Park *et al*, 2005; Park & Lanier, 2000). به همین دلیل سرد سازی سریع مواد خام پس از صید اهمیت زیادی دارد چرا که پس از مرگ دمای عضلات ماهی، به دلیل ادامه یافتن متابولیسم، در حدود ۵-۱۰°C، تمایل به بالا رفتن دارد (Lanier *etal*, 2005). در ماهی تون این عوامل از حساسیت بیشتری برخوردار است.

تازگی یکی از شاخص‌های کلیدی تاثیرگذار در کیفیت ایزوله‌ی پروتئین ماهی است. Hultin و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه بر روی قدرت ژلی ماهی هرینگ به این نتیجه رسیدند که ایزوله‌ی پروتئین هرینگ تازه بیش‌ترین قدرت ژلی (۸۱۰g×cm) و ایزوله‌ی پروتئین هرینگ نگهداری شده در یخ به مدت ۶ روز کم‌ترین قدرت ژلی (۲۸۷g×cm) را داشته اند. قدرت ژلی ایزوله‌ی پروتئین هرینگ منجمد نیز به ۲۸۷ g×cm کاهش یافته است. بنابراین تازگی و انجماد ماهی می‌تواند کیفیت ایزوله‌ی پروتئین ماهی را تحت تاثیر قرار دهند.

تون‌ماهیان در کشور ما معمولا به شکل شکم پر و با استفاده از یخ جابه‌جا می‌شوند؛ هر چند بخشی از صید در شناورهای مجهز به سردخانه منجمد شده و به این شکل به ساحل حمل می‌شوند. طولانی بودن زمان صید تا تخلیه و نیز انتقال صید به سردخانه و سپس به کارخانه‌های کنسروسازی منجر به افت کیفیت ماهی می‌شود. از سوی دیگر نوسان دما در سردخانه‌ها و در هنگام حمل و نقل موجب صدمه دیدن پروتئین‌های گوشت و تغییر ماهیت آن‌ها می‌شود. در نتیجه پروتئین استخراج شده از چنین ماده‌ی خامی دارای قدرت ژلی مناسبی نخواهد بود. با این حال می‌توان برای استحکام ژل و افزایش قدرت ژلی از افزودنی‌های پروتئینی استفاده کرد. هر چند که از چنین فرآورده‌یی نمی‌توان فرآورده‌های ژلی ماهی تولید کرد ولی این ماده را می‌توان به دلیل داشتن پروتئین بالا در ساخت و غنی‌سازی فرآورده‌های خوراکی مورد استفاده قرار داد (Shaviklo, 2011).

قدردانی

از پشتیبانی‌های دانشگاه تربیت مدرس، صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور، مرکز رشد واحدهای فناوری طبرستان، شرکت آذین مهرخزر در اجرای این پژوژه سپاسگزاری می‌شود.

منابع

رضوی شیرازی، ح ،. ۱۳۸۰، تکنولوژی فرآورده های دریایی: علم فرآوری (۲)، تهران: انتشارات نقش مهر، ص. ۲۵۵.

سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۳، سالنامه‌ی آماری سازمان شیلات ایران ۱۳۹۲-۱۳۸۲، دفتر برنامه و بودجه سازمان شیلات ایران، تهران.

موسوی نسب، م.، آزادیان، م. و یوسفی، ع.، ۱۳۹۰، تولید سوریمی و پروتئین ایزوله از ماهی کپور نقره ای(Hypophthalmichthys molitrix) و بررسی تغییرات مؤلفه‌های رنگی و شیمیایی نمونه‌های ژل و پودر تولیدی از آنها، مجله علمی شیلات ایران، ۲۰(۳)، ۱۰-۱.

AOAC., 1995, Official methods of analysis, Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

Aspmo, S.I., Horn, S.J. & Eijsink, V.G.H., 2005, Enzymatic hydrolysis of Atlantic cod (Gadus morhua L.) viscera. *Process Biochemistry*. 40, 1957-1966.

Batista, I., 1999, Recovery of proteins from fish waste products by alkaline extraction. *European Food Research and Technology*. 210, 84-89.

Belitz, H.D., Grosch, W. & Schieberle, P., 2009, Food chemistry, 4rd Edition, springer publishers, *Berlin Heidelberg*, 43.

Choi, Y.J. & Park J.W., 2002, Acid-Aided Protein Recovery from Enzyme-rich Pacific whiting. *Journal of Food Science*. 67, 2962-2967.

Davenport, M., Theodore, A.E. & Kristinsson H.G., 2004, Influence of insoluble muscle components on the gelation

www.SID.ir

Archive of SID

properties of catfish protein isolates made with acid and alkali-aided processing. Abstract 83A-21, IFT Annual Meeting; Las Vegas, Nev.; Chicago, Ill. *Institute of Food Technologists*.

Davenport, M. & Kristinsson H.G., 2011, Channel Catfish (Ictalurus punctatus) muscle protein isolate performance processed under different acid and alkali pH values. *Journal of Food Science*. 76(3), 240-247.

Emin-Erdem, M., Kakayci, F., Avni-Duyar, H. & Samsun S., 2009, Shelf Life and Biochemical Composition of Bonito Fish (Sarda Sarda Bloch 1758) Stored at 4°C and Fishing with Different Fishing Tools. *Journal of Muscle Foods*. 20(2), 242-253.

FAO/WHO, 2005, Codex code for frozen surimi, In: Park J.W., editor, Surimi and Surimi Sea Food.Boca Raton, *Taylor and Francis Group*.869-885.

Hultin, H.O. & Kelleher, S.D., 2000, Surimi processing from dark muscle fish. In: Park J.W., editor, Surimi and surimi seafood, New York, *Marcel Dekker*. 59–77.

Hultin, H.O., 2002, Recent advances in surimi technology. In: Fingerman M., Nagabhushanam R., editors, Recent advances in marine biotechnology. Enfield, N.H. *Science Publishers*.7, 241–51.

Hultin, H. O. & Kelleher S. D., 2002, Protein composition and process for isolating a protein composition from a muscle source.*Patent* US6451975.

Hultin, H.O., Kristinsson, H.G., Lanier, T.C. & Park J.W., 2005, Process for Recovery of Functional Proteins by pH-shifts. In: Park J.W., editor, Surimi and Surimi Seafood. *Taylor and Francis Group*. Boca Raton, 107-139.

Huss, H. H., 1998, Fresh Fish: Its Quality and Quality Changes. *Food and Agricultural Organization*, Rome.

Kanoh, S., Suzuki, T., Maeyama, K., Takewa, T., Watabe, S. & Hashimoto K., 1986, Comparative Studies on Ordinary and Dark Muscle of Tuna Fish. Bulletin of the Japanese Society of Fisheries Oceanography. 52(10), 1807-1816.

Kim, Y.S., Atdigul, J.Y., Park, J.W. & Thawornchinsombut S., 2005, Characteristics of sarcoplasmic proteins and their interaction with myofibrillar proteins. *Journal of Food Biochemistry*. 29, 517–532.

Kristinsson, H.G. & Rasco, B.A. 2000, Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 40(1), 43-81.

Kristinsson, H.G., 2002, Conformational and functional changes of hemoglobin and myosin induced by pH: Functional role in fish quality [DPhil dissertation].Amherst, Mass, Univ. of Massachusetts.

Kristinsson, H.G. & Demir, N., 2003, Functional Fish Protein Ingredients from Fish Species of warm and Temperate Waters: Comparison of Acid and Alkali-Aided Processing Vs. Conventional Surimi Processing. Advances in Seafood By products, Fairbanks, AK; Alaska Sea Grant College Program.

Kristinsson, H.G. & Hultin, H.O., 2003, Changes in Conformation and Subunit Assembly of Cod Myosin at Low and High pH and after Subsequent Refolding. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 51, 7187-7196.

Kristinsson, H.G. & Hultin, H.O., 2003, Changes in Conformation and Subunit Assembly of Cod Myosin at Low and High pH and after Subsequent Refolding. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 51, 7187-7196.

Kristinsson, H.G., Theodore, A.E., Demir, N. & Ingadottir B., 2005, A comparative study between acid and alkali-aided processing and surimi processing for the recovery of proteins from channel catfish muscle. *Journal of Food Science*. 70(4), 298-306.

Laemmli, U.K., 1970, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227: 680–5.

Lanier, T., Carvajal, P. & Yongsawatdigul J., 2005, Surimi gelation chemistry, In Park J. W. (Ed.), Surimi and surimi seafood. *Boca Raton*. CRC, 435–477.

Lindsay, R.C., 1991, Flavour of fish, Paper presented at 8th World Congress of Food Science and Technology.Toronto, Canada.

Nakamura, Y. N., Ando, M., Seoka, M., Kawasaki, K. & Tsukamasa Y., 2007, Changes of Proximate and Fatty Acid Compositions of the Dorsal and Ventral Ordinary Muscles of the Full-cycle Cultured Pacific Bluefin Tuna Thunnus Orientalis with the Growth. *Food Chemistry*. 103(1), 234-241.

Natseba, A., Lwalinda, I., Kakura, E., Muyanja, C.K. & Muyonga J.H., 2005, Effect of pre-freezing icing duration on quality changes in frozen Nile perch (Lates niloticus). *Food Research International*. 38(4), 469-474.

Nolsøe, H. & Undeland I., 2009, The Acid and Alkaline Solubilization Process for the Isolation of Muscle Proteins, State of the Art. Food Bioprocess Technology. 2, 1-27.

Onyango, C. A., Izumimoto, M. & Kutima P. P, 1998, Comparison of Some Physical and Chemical Properties of Selected Game Meats.*Meat Science*. 49(1), 117-125.

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

Papadopoulos, V., Chouliara, I., Badeka, A., Savvaidis, I. N. & Kontominas M. G., 2003, Effect of Gutting on Microbiological, Chemical, and Sensory Properties of Aquacultured Sea Bass (Dicentrarchus labrax) Stored in Ice. *Food Microbiology*. 20(4), 411-420.

Park, J. W. & Lanier, T. C., 2000, Processing of Surimi and Surimi Seafood. In Marine Freshwater Products Handbook; R. E. Martin, Ed., Technomic Publishing Company: *Lancaster*, NH.

www.SID.ir

Archive of SID

Park, J.W., 2004, Surimi Gel preparation and texture analysis for better quality control, In: Sakaguch`i M., editor, More efficient of fish and fisheries products. *Hardbound*, 333-341.

Park, J.W., Yongsawatdigul, J. & Lin T.M., 2005, Surimi: Manufacturing and evaluation. In: Park J.W., editor. Surimi and surimi sea food, Boca Raton: *Taylor and Francis Group*, 33-106.

Petty, H. & Kristinsson, H. G., 2004, Impact of antioxidants on lipid oxidation during acid and alkali processing of Spanish mackerel. 2004 IFT Annual Meeting 49B-7, Las Vegas, NV, IFT, 7-12-2004, *Conference Proceeding*.

Sánchez-Zapata, E. & Pérez-Alvarez, J. A., 2007, The Color in Different Fish Species. Alimentación, *Equipos y Tecnología*. 219, 39-43.

Sánchez-Zapata, E., Amensour, M., Oliver, R., Fuentes-Zaragoza, E., Navarro, C., Fernández-López, J., Sendra, E., Sayas, E. & Pérez-Alvarez J.A., 2011, Quality Characteristics of Dark Muscle from Yellowfin Tuna (Thunnus albacores) to Its Potential Application in the Food Industry. *Food and Nutrition Sciences*. 2, 22-30.

Shaviklo, G.R., 2007, Quality assessment of fish protein isolates using surimi standard methods, PDF E-Book, United Nations University- Fisheries Training Programme, Reykjavik, Iceland. Book URL [http://www.unuftp.is/static/fellows/document/reza06prf.pdf]

Shaviklo, G.R., 2008, Fish protein isolate; a new source of protein ingredient.INFOFISH International. 4, 45-48.

Shaviklo, G.R., 2011, Using product development approach for increasing fish consumption in the Near East region. INFOFISH International. 4, 47-52.

Shaviklo, A.R., Thorkelsson, G. & Arason S., 2012, Quality Changes of Fresh and Frozen Protein Solutions Extracted from Atlantic Cod (Gadus morhua) Trim as Affected by Salt, Cryoprotectants and Storage Time. *Turkish Journal of Fish Aquatic Science*. 12, 41-51.

Sikorski, E., Kolakowska, A. & Sun-Pan B., 1994, Nutrient Composition of the Major Groups of Marine Food Organisms. In: Sikorski E., Ed., Technology seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation, *Acribia*, Zaragoza, Spain. 41-70.

Thawornchinsombut, S. & Park, J.W., 2006, Frozen Stability of Fish Protein Isolate under Various Storage Conditions. *Journal of Food Science*. 71, 227-230.

Undeland, I.A., Kelleher, S.D. & Hultin H.O., 2002, Recovery of Functional Proteins from Herring (Clupea Harengus) Light Muscle by an Acid or Alkaline Solubilization Process.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 7371-7379.

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 4, Oct- Nov 2016, p. 463-476

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۴، مهر- آبان ۱۳۹۵، ص. ۴۷۶-۴۶۳

A comparative study on stability and functional properties of the proteins isolated from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) dark muscle by acid-aided and alkaline-aided processes

N. Kamali-Damavandi[1], A. R. Shaviklo[2*], A. Motamedzadegan[3]

Received: 2014.10.18
Accepted: 2015.01.13

Introduction: At least 60% of the estimated 300,000 metric tons of tuna that are processed in Iran areby-products which arebeingwasted and converted to non-human products as fish meal or fertilizers. Therefore, a major challenge facing the tuna canning industry is to find the new processes to utilize tuna processing by-products (mainly dark muscle) into valuable foods. The characteristics of tuna dark meat (TDM) make it not acceptable for these industries. Therefore, the isolation of proteins from TDM for food application would be a more responsible way of using a nutritious and abundant rest raw material.

The pH-shift technology for recovering fish proteins involves the solubilisation of chopped and homogenized fish flesh either in an aqueous acidic or alkaline solution. The protein rich solution is separated from solids (insoluble proteins, skin, bones, and scales) and neutral lipids by centrifugation. The soluble proteins are then recovered by isoelectric precipitation by adjusting the pH to 5.5 and the precipitated proteins are removed by centrifugation. This method can be potentially applied with any white/ dark muscle fish or fish by-products. No evidence can be foundon isolation of protein from TDM. Therefore, this study was carried out to investigate stability and functional properties of proteins recovered from TDM.

Materials and methods: The ground TDM was homogenized for 1 min (speed 50) with 9 volumes of ice-cold distilled water. The proteins in the homogenate were solubilized by dropwise addition of 1 N HCl or 1 N NaOH until the intended pH (2.5, 3.0 and 3.5or10.5,11.0 and 11.5) was reached. The protein suspension was centrifuged. The soluble proteins were precipitated by adjusting the pHs to 5.5 using 1 N NaOH or 1 N HCl. Precipitated proteins were collected via a second centrifugation. Proximate analysis of tuna protein isolates (TPI) was carried out. TBARS, pH, viscosity, water holding capacity (WHC), gel strength, biting and folding tests, texture profile analyses (TPA), and color were measured. Qualitative protein analysis was carried out using sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE).

Results and discussion: The protein, fat and moisture contents of the acid-aided protein isolates were found to be 28.65, 5.35 and 74.36% respectively. While alkaline-aided protein isolates contained 29.57% protein, 4.17% fat and 71.23% moisture. A significant difference was found in TBARS level between the isolated products. The lowest TBARS value was found in acid-aided isolate and isolate treated at pH 11.5. The TBARS value of isolates extracted at pH 10.5 and 11 was 0.15 mg malondialdehyde / kg, which was below the border line recommended for fish products. Lipid oxidation in fish protein isolates has been reported during pH-shift process. The lipid content of TPI samples and activating of haem proteins as prooxidants at different pH may describe lipid oxidation in TPI samples.

The average viscosity of TPIs was 3.81 cP (Centipoise). The highest viscosity scores were observed for the isolates prepared at pH 11.0 followed by the isolates made at pH 3.5 and 11.5. The isolates treated at pH of 2.5, 3.0 and 10.5 had the same level of viscosity. Low viscosity might be due to low cross linking degree of protein molecules. The low viscosity of the prototypes may possibly be explained by decreasing interaction between proteins and the surrounding medium. Therefore, denaturation and modification of protein conformation in tuna protein samples may have affected the viscosity.

The WHC of the samples (12-16%) was similar to the proteins isolated from the other fish by-products. The highest value of WHC among TPIs was found for the isolates prepared at pH 3.5. The rest samples had the same

1- Department of seafood processing, Faculty of Marine Science, Tarbiat Modares University, Iran
2- Department of Animal Products Processing, Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.
3- Department of Food Science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Sari, Iran
(*-Corresponding Author Email: shaviklo@gmail.com)

www.SID.ir

Archive of SID

value of viscosity. The WHC can be defined as the ability of a protein gel to retain water against a gravitational force. The level of water retained in a gel is affected by the same factors that affect the formation of a good protein gel *'i.e.'* moisture, pH and salt. Furthermore, the WHC usually reflects the extent of denaturation of the protein and water contents. It has been reported that WHC is closely related to fish species, amount of salt, different processing method and the interaction between these factors.

The highest scores for gel strength, biting and folding tests and TPA (hardness, cohesiveness, springiness and resilience) were observed in TPIs treated at alkaline pH. The muscle proteins being particularly responsible for gelation are myosin and actomyosin. It has been reported that alkali-aided protein extraction caused less denaturation than an acid-aided process. This lower denaturation of proteins leads to products with enhanced texture. Hardness and cohesiveness were found to be maximum for samples prepared at pH of 11.5. The increase in hardness may also be due to the stronger gel network formed by the concentrated myofibrillar proteins in the protein isolates. The difference between TPA parameters of the recovered proteins andthe TDM mightbe due to the difference in lipid and collagen content.

The alkali-aided process recovered proteins of higher whiteness than the acid-aided process possibly due to high removal amount of myoglobin and haemoglobin during leaching. The electrophoretic patterns revealed the stability of proteins in alkaline pH. The lowest reduction in band intensity of myosin (myosin heavy chain) and actin was found when the alkaline-aided process was applied. Accordingly the highest band intensity of myosin and actin proteins was observed at the high pH (11). The weak bands of protein among acid-aided samples have possibly been due to the hydrolysis effect of enzyme activity.

Keywords: Tuna protein isolates, Yellow fin tuna, Dark muscle, pH-shift

www.SID.ir