مقایسه تغییرات ترکیب اسید چرب و آمینه در سوریمی تهیه شده از ماهی کیلکای معمولی به دو روش شستشو و تغییر pH طی دوره‌ی نگهداری در شرایط انجماد

سیده زهره قیامی، سید ولی حسینی *، حسین خدایی

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

*نویسنده مسئول: hosseinisv@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۸/۳/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۹/۳/۱۵

چکیده

در تحقیق حاضر کیفیت تغذیه‌ای سوریمی تهیه شده از ماهی کیلکای معمولی دریای خزر (*Clupeonella caspia*) تهیه شده به دو روش شستشو و تغییر pH در طی دوره‌ی نگهداری انجماد مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های تهیه شده به مدت سه ماه در شرایط انجماد نگهداری و کیفیت آن‌ها از نظر برخی از خصوصیات تغذیه‌ای (نسبت n_3/n_6، شاخص‌های کیفیت چربی مانند شاخص ترومبوژنیک و شاخص آتروژنیک و نسبت NEAA/EAA) بررسی شد. براساس نتایج تغییرات شاخص آتروژنیک در واحد زمان معنی‌دار بود (P>۰/۰۵). این شاخص به‌طور میانگین در روش تغییر pH در طی دوره نگهداری بالاتر از روش شستشو بود و همچنین میزان شاخص تروپوژنیک به طور میانگین در روش تغییر pH بالاتر از روش شستشو بود و میزان این شاخص در دو ماه اول کاهش و در ماه آخر دوره نگهداری افزایش یافت. نسبت EAA/NEAA در روش تغییر pH بیشتر از روش شستشو بود (P>۰/۰۵). در رابطه با تغییرات نسبت n-3/n-6 بین روش شستشو و تغییر pH معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) ولی این نسبت دارای تغییرات معنی‌داری در طی مدت نگهداری بود و زمان تاثیر معنی‌داری در رابطه با این شاخص داشت (P<۰/۰۵). نتایج نشان داد که مقادیر مرتبط با شاخص‌های کیفیت تغذیه‌ای اندازه‌گیری شده در سوریمی تهیه شده به روش تغییر pH از مطلوبیت بهتری نسبت به روش شستشو را دارا می‌باشد.

واژگان کلیدی: کیلکای معمولی، سوریمی، پروتئین ایزوله، شاخص‌های تغذیه‌ای.

مقدمه

سوریمی به گوشت چرخ شده ماهی اطلاق می‌شود که قسمت اعظم ترکیبات محلول در آب آن توسط فرایند شستشو خارج شده و پروتئین میوفیبریل باقی مانده قبل از انجماد با مواد محافظت کننده از پروتئین در برابر سرما مخلوط گردد (سوریمی منجمد). در گذشته برای تهیهٔ سوریمی بیشتر از ماهیانی نظیر Hoki (*Macronus navaezeliae*), Pacific whiting (*Merluccius productus)* southern blue whiting (*Micromesistius poutassous*), Northern blue whiting (*Micromesistius australis*), Threadfin bream (*Nemipterus japonicus*), و yellow croaker (*Pseudosciaena manchurica* استفاده می‌شد. این ماهیان به دلیل داشتن چربی و همچنین عضلات تیرهٔ کمتر، سوریمی مرغوبی داشتند (Shabani, 2010). اما امروزه به دلیل کمبود ذخایر آن‌ها و همچنین افزایش تقاضا برای مصرف محصولات شیلاتی مبتنی بر سوریمی و همچنین عدم دسترسی ماهیان مذکور برای برخی از کشورها از جمله ایران، منابع آبزی جدیدی (از قبیل کیلکا ماهیان از دریای خزر و ساردین و فانوس ماهیان از خلیج فارس و دریای مکُران و همچنین انواع کپورماهیان پرورشی به‌ویژه کپور نقره‌ای) برای تهیهٔ سوریمی مورد توجه قرار گرفته‌اند.

کیلکا ماهیان از جمله ماهیان پلاژیک دریای خزر می‌باشند که به دلیل جثهٔ کوچک و مشکلات ناشی از آماده‌سازی آن‌ها، کمتر مورد مصرف مستقیم انسانی قرار گرفته‌اند و بیشتر جهت تهیهٔ پودر ماهی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در تحقیق حاضر کیلکای معمولی، به دلیل درصد صید بالاتر آن نسبت به سایر کیلکا ماهیان برای پژوهش مورد نظر انتخاب گردید (Shabani, 2010).

برآوردها نشان می‌دهد که میزان تولید جهانی سوریمی حدود هشت میلیون تُن می‌باشد که تقریباً تمامی آن به روش مرسوم (شستشو) تهیه می‌شود (FAO, 2012). نظر به وجود برخی معایب در روش مرسوم تهیهٔ سوریمی مانند بازدهی پایین، نیاز به مصرف آب فراوان و به‌دنبال آن مشکلات زیست‌محیطی ناشی از دفع آن، حذف عمدهٔ ترکیبات ضداکسیداسیون‌های طبیعی موجود در گوشت و غیره، محققین را بر آن داشت تا از روشی کارآتر جهت تهیهٔ سوریمی از آبزیان استفاده نمایند. یکی از مهمترین روش‌ها، تهیهٔ پروتئین ایزوله شده ماهی (Fish protein isolate) به روش تغییر pH محیط (pH-shifting) می‌باشد. اساس تهیهٔ پروتئین ایزوله شده ماهی به روش تغییر pH، بر تغییر در بار الکتریکی پروتئین ماهی از طریق افزودن اسید یا قلیا مبتنی بوده و بدین طریق موجب انحلال و رسوب پروتین ماهی می‌گردد. پروتئین‌های ماهی در نقطهٔ ایزوالکتریک خود از نظر بار الکتریکی خنثی بوده و کمتر از حالت یونیزه آب دوست خواهند بود. به همین دلیل در نقطه ایزوالکتریک، حلالیت پروتئین و ظرفیت اتصال آب به آن به کمترین مقدار خود می‌رسد (Gehring *et al.*, 2011). پروتئین‌های استخراجی به شیوه‌ی بازی-اسیدی دارای خصوصیات عملکردی مناسبی جهت استفاده در صنایع غذایی می‌باشند (Taskaya *et al.*, 2009). مطالعات نشان داده‌اند که همزمان با استخراج پروتئین به این شیوه، چربی موجود در مادهٔ اولیه نیز استخراج می‌گردد (Hultin and Kellehr, 2002; Gehring, 2011). از آن‌جا که چربی ماهیان نقش اصلی را در بروز و تشدید فسادِ آن‌ها بازی می‌کند (Kristinsson *et al.*, 2000) به نظر می‌رسد که محصول به‌دست آمده با این روش، قادر خواهد بود از مدت ماندگاری بالاتری نیز برخوردار باشد. تغییر pH ماهی در pH قلیایی، اجازه‌ی بازیابی پروتئین‌ها با خواص عملکردی بهتر را می‌دهد و در نتیجه خواص بافت و رنگ بهتر می‌شود (Kristinsson *et al.*, 2006; Nolsoe *et al.*, 2009). بنابراین به نظر می‌رسد که هر کدام از شیوه‌های مذکورِ مورد استفاده در تهیهٔ کنستانترهٔ پروتئینی ماهی، تأثیر خاصی بر کیفیت تغذیه‌ای محصول به‌جای بگذارند. از همین رو مطالعهٔ حاضر بدنبال دلایل تأثیر هر یک از دو روش مرسوم و تغییر pH بر کیفیت خصوصیات تغذیه‌ای (نسبت n_3/n_6، شاخص‌های کیفیت چربی مانند TI و AI، نسبت NEAA/EAA) سوریمی تهیه شده از ماهی کیلکای معمولی با استفاده از روش شستشو و تغییر pH می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ماهی کیلکای معمولی در اوزان بازاری استفاده شد. نمونه‌های مورد نیاز (به میزان تقریبی ۸ کیلو) از صید روزانه بندر انزلی تهیه شد. انتخاب نمونه‌ها به صورت تصادفی و از بین نمونه‌ها سالم (فاقد آسیب دیدگی فیزیکی) و تقریباً هم‌اندازه بود. نمونه‌ها پس از تهیه و شستشو با آب تمیز، بلافاصله در جعبهٔ یونولیت همراه با یخ (نسبت ۳ به ۱ از یخ و ماهی) به آزمایشگاه منتقل و سپس تخلیهٔ شکمی شد. برای تهیهٔ سوریمی استخراج پروتئین به دو شیوهٔ شستشو (مرسوم) و روش تغییر pH مورد استفاده قرار گرفت. برای تهیه سوریمی به روش تغییر pH ماهیان تخلیه شکمی شده به همراه پوست و استخوان دستگاه چرخ گوشت با قطر منافذ ۲ میلی‌متر چرخ گردید. نمونه ها در روز اول و سپس هر ماه و به مدت ۳ ماه از لحاظ ماندگاری مورد مطالعه قرار گرفت.

روش شستشو: برای تهیهٔ سوریمی به روش شستشو، مطابق روش Shimizu و همکاران (۱۹۹۲) عمل گردید. ابتدا ماهیان با آب سرد (۴ درجه سانتی‌گراد) و تمیز شسته و سپس فیله و استخوان‌گیری گردید (به صورت دستی). برای تهیه سوریمی، فیله‌ها به وسیله دستگاه چرخ گوشت با قطر منافذ ۲ میلی‌متر چرخ گردید. گوشت چرخ شده طی ۳ مرحله و در هر مرحله به مدت ۱۵ دقیقه با آب مقطر

(نسبت ۴ به ۱ آب به گوشت ماهی) با درجه حرارت تقریبی ۴ درجه سانتی‌گراد شستشو گردید. مرحله سوم شستشو با آب نمک ۰/۳ درصد انجام گردید. پس از هر مرحله شستشو، فرآیند آبگیری توسط پارچه حریر (تنظیف) به صورت دستی انجام شد(سوریمی). مواد کرایوپروتکتنت (از اختلاط سوریمی با شکر به میزان ۴٪، سوربیتول به میزان ۴٪ و سدیم تری‌پلی‌فسفات به میزان ۰/۳٪) به سوریمی تهیه گردیده اضافه و با آن مخلوط خواهد گردید (به منظور نگهداری سوریمی در شرایط انجماد) سوریمی تهیه گردیده در کیسه‌های نایلونی زیپ‌دار به ابعاد ۲×۱۵×۲۰ سانتی‌متر و به مقدار ۲۵۰ گرم بسته‌بندی گردید و به مدت سه ماه در دمای ۱۸- درجهٔ سانتی-گراد منجمد و نگهداری گردید.

روش تغییر pH: برای تهیهٔ سوریمی، استخراج پروتئین به روش تغییر pH نمونه‌های ماهی ابتدا چرخ گردید و به نسبت ۱ به ۶ (گوشت چرخ شده حاصل از ماهی کاملاً تخلیه شکمی شده به آب) با آب توسط همزن (هموژنایزر) به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط گردید. برای استخراج به شیوه‌ی بازی، pH مخلوط نمونه ماهی با آب به کمک NaOH، ۶ مولار به ۱۱/۵ افزایش داده می‌شود. پس از این مرحله عمل سانتریفیوژ کردن نمونه‌ها در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد صورت پذیرفت، که حاصل آن تفکیک نمونه به سه فاز فوقانی (حاوی چربی)، فاز میانی (حاوی محلول پروتئینی) و فاز تحتانی (حاوی اسکلت، پوست، پروتئین‌های غیر قابل حل، چربی غشایی و غیره) می‌باشد. برای ترسیب پروتئین موجود در فاز میانی، لازم است که pH مخلوط با اسید یا باز به pH ایزوالکتریک پروتئین یعنی pH حدود ۵ رسانده شود که به آن اسیدکلریدریک ۶ مولار اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه با دستگاه هموژنایزر مخلوط و سپس مجددا تحت سانتریفیوژ در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفت (Nolsoe and Undel, 2008). پس از سانتریفیوژ کردن ۲ فاز تشکیل شد که آب و پروتئین رسوب کرده می باشد. آب را خالی و پروتئین را از فالکون-های ۵۰ سی‌سی جدا شد. چون نمونه‌ها رطوبت بالای ۹۰٪ داشتند، با استفاده از پارچه صافی و تحت فشار، رطوبت اضافی خارج شد.

آزمایشات

تعیین ترکیب اسید چرب: برای استخراج چربی، مقدار ۳ گرم نمونه به درون دکانتور انتقال یافت، سپس ۷ میلی‌لیتر متانول به نمونه اضافه گردید. دکانتور به مدت ۱ دقیقه به شدت تکان داده شد. سپس ۱۴ میلی‌لیتر محلول کلروفرم به آن اضافه گردید و دوباره به مدت ۱ دقیقه به شدت تکان داده شد. در ادامه دکانتورها در یک مکان تاریک به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. جهت جداسازی چربی از حلال، ظرف‌هایی شیشه‌ای که محتوی چربی و حلال بودند در حمام آب گرم قرار گرفت و گاز ازت به درون ظرف وارد گردید. به این ترتیب پس از چند دقیقه حلال تبخیر و از ظرف خارج گردید و نهایتاً چربی باقی ماند (Folch *et al.*, 1957).

به منظور استری کردن چربی از روش Firestone و همکاران (۱۹۹۸) استفاده شد. ۵ میلی لیتر سود متانولی ۲٪ (۲ گرم NaOH در ۱۰۰ گرم متانول) به ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم چربی استخراج شده اضافه گردید (علت تفاوت در مقدار چربی مورد استفاده در این است که بدانیم در کدام یک از مقادیر ذکر شده بهترین پیک به‌دست می‌آید. چون هرچه مقدار چربی مورد استفاده کمتر باشد، پیک‌ها واضح‌تر و به اصطلاح شارپ‌تر خواهند بود. گفته می‌شود برای بررسی پروفیل اسید چرب در ماهیان مقدار ۵۰ میلی گرم چربی ماهی باید با ۵ سی‌سی سود متانولی مخلوط گردد، اما تا ۱۰۰ میلی‌گرم هم می‌توان استفاده کرد). سپس درب ظرف بسته و به شدت تکان داده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. پس از خنک شدن محلول، ۳ میلی لیتر محلول BF_3 (تری بور فلوراید) به ترکیبات فوق اضافه شد و به مدت ۲-۳ دقیقه در حمام آب جوش

قرار گرفت. به مواد حاصل ۱ میلی لیتر هگزان نرمال اضافه و بعد از تکان دادن مواد به آن ۱ میلی‌لیتر محلول نمک اشباع (۳۰۰ گرم NaCl در ۱ لیتر آب مقطر) اضافه گردید.

محلول به دست آمده به شدت تکان داده شد و در جایی ساکن، مستقر گردید. بعد از پدیدار شدن دو فاز جداگانه، فاز بالایی به دقت جدا گردید. برای بررسی و شناسایی اسید های چرب موجود در نمونه از دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) فیلیپس مجهز به ستون کاپیلاری از نوع BPX70 (60×0.32mm ID×0.25 µm- film thickness) SGE و آشکار ساز یونش شعله‌ای (flame ionization detector; FID) استفاده گردید. دمای آشکار ساز و محل تزریق به ترتیب بر روی ۲۸۰ و ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. ۰/۲ میکرولیتر از نمونه استری با استفاده از سرنگ میکرولیتری به دستگاه گاز کروماتوگراف تزریق شد. دمای اولیه ستون روی ۱۶۰ درجه سانتیگراد تنظیم شد. بعد از مدت ۵ دقیقه، دمای ستون با سرعت ۲۰ درجه سانتیگراد در دقیقه به دمای ۱۸۰ درجه رسانده شد. به مدت ۱۰ دقیقه دما در این درجه باقی ماند و سپس با سرعت ۱ درجه سانتیگراد در دقیقه به دمای ۲۰۰ درجه سانتیگراد رسید. پس از یک دقیقه، دمای ستون با سرعت ۳۰ درجه سانتیگراد در دقیقه تا دمای ۲۳۰ افزایش یافت. در انتها ستون به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۳۰ باقی ماند تا تمام ترکیبات از آن خارج گردد. در این روش از گاز هلیوم (با خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد) به عنوان گاز حامل و گاز هیدروژن به عنوان سوخت، ازت (با خلوص ۹۹/۹ درصد) به عنوان گاز کمکی و هوای خشک استفاده شد. از مقایسه زمان بازداری کروماتوگرام‌های نمونه مجهول با کروماتوگرام‌های به دست آمده از محلول استاندارد اسیدهای چرب متیل استر، اسیدهای چرب موجود در عضلهٔ ماهی شناسایی شد، و نتایج به صورت درصد گزارش گردید.

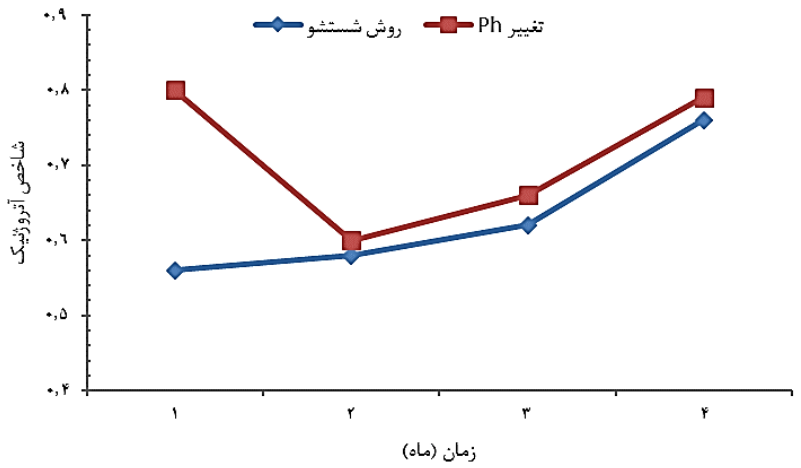
شاخص‌های کیفیت چربی: براساس مقادیر به دست آمده از آزمایش پروفیل اسیدهای چرب (اشاره شده در فوق)، مقدار هر یک از شاخص‌های کیفیت چربی شامل AI; atherogenic index و TI; thrombogenic index براساس فرمول زیر محاسبه شد (Ulbricht and Southgate, 1991):

$$AI = [12:0 + 4(14:0) + 16:0] / [MUFA + n\text{-}3\ PUFA + n\text{-}6\ PUFA]$$

$$TI = [14:0 + 16:0 + 18:0] / [0.5MUFA + 0.5(n\text{-}6PUFA) + 3(n\text{-}3PUFA) + (n\text{-}3PUFA/n\text{-}PUFA)]$$

روش استخراج چربی از نمونه به روش Folch: مقدار یک گرم نمونه تازه و آب دار را در لوله آزمایش در پیچدار قرار داده ۱۵ سی‌سی مخلوط کلروفورم + متانل (نسبت ۲ کلروفورم و۱ متانل) به آن اضافه می‌نمائیم درب لوله را بسته و حدود ۱۲ تا ۱۵ بار تکان می‌دهیم حال مقدار ۵ سی‌سی آب مقطر به لوله اضافه کرده و حدود ۱۵ بار تکان داده لوله‌ها را داخل جا لوله‌ای قرار داده تا محلول سه فاز شود فاز بالائی را جدا کرده دور می‌ریزیم باقی مانده را داخل دکانتور ریخته فاز پائینی را به داخل لوله دربدار دیگری انتقال داده و به‌وسیله گاز نیتروژن حلال آن که کلروفورم می‌باشد را تبخیر نموده باقی مانده در لوله آزمایش قابل استخراج است (Metcalf, 1966).

مراحل مشتق سازی اسید چرب نمونه روغن روش مت‌کالف (Metcalf, 1966): ابتدا داخل لوله آزمایش در پیچدار مقدار ۰/۱ گرم نمونه روغن استحصالی از سوریمی را می‌ریزیم. سپس مقدار ۵ میلی‌لیتر سود متانولی ۲٪ و یک سی‌سی محلول استاندارد داخل با غلظت ۲ میلی‌گرم بر سی‌سی حلال که در این روش از هگزان استفاده می‌شود به آن اضافه کرده درب لوله‌ها را بسته داخل حمام آب جوش به مدت ۱۰ دقیقه قرار می‌دهیم. بعد از گذشت زمان فوق و سرد گردیدن لوله‌ها درب آن‌ها را به آرامی باز کرده و مقدار دو و نیم از محلول BF_3 (بور تری فلورید متانل) به آن اضافه نموده، درب شیشه‌ها را بسته و به مدت ۳ دقیقه در داخل حمام آب جوش



شکل ۱ – تغییرات شاخص آتروژنیک در کنستانتره پروتئین کیلکای تهیه شده به دو روش سوریمی و تغییر pH.

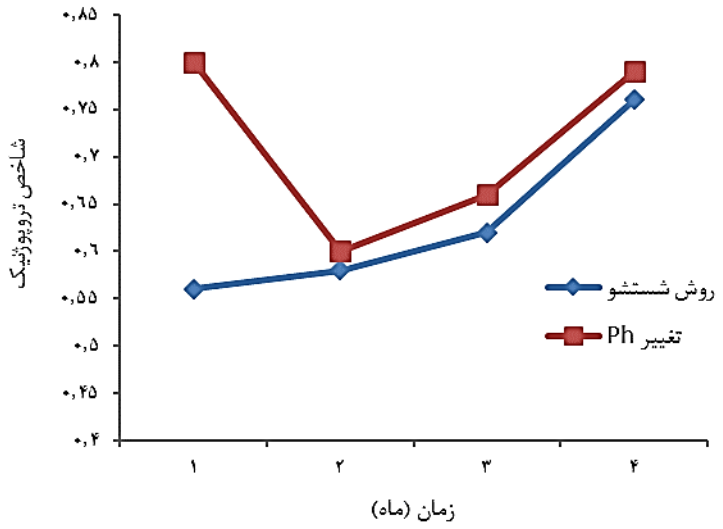
قرار می‌دهیم. بعد از گذشت زمان فوق لوله‌ها را از حمام در آورده و بعد از خنک گردیدن درب آن‌ها را به آرامی باز کرده و مقدار یک میلی‌لیتر حلال هگزان به آن‌ها اضافه می‌نمائیم. درب لوله‌ها را بسته و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس می‌کنیم. سپس مقدار یک میلی‌لیتر محلول نمک طعام اشباع اضافه نموده درب را بسته و به شدت تکان می‌دهیم. لوله‌ها را در داخل جای لوله‌ای قرار داده تا محلول دو فاز شود. فاز بالائی را به آرامی جدا کرده و مقدار ۱/۲ میکرولیتر به وسیله سرنگ هامیلتون به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق می‌نمائیم. جهت شناسایی اسیدهای چرب موجود در نمونه از دستگاه گازکروماتوگراف (GC) و آشکار ساز نوع FID استفاده خواهد گردید. در این روش از گاز هلیم به عنوان گاز حامل استفاده خواهد گردید. نظر به آن‌که که آشکارساز دستگاه به گونه‌ای به اسیدهای چرب حساس است که در ازاء هر اسید چرب که از ستون خارج می‌شود یک منحنی برابر با مقدار آن در کامپیوتر دستگاه ثبت می‌شود، با مقایسه زمان‌های خروج هر اسید چرب نمونه با زمان‌های خروج اسیدهای چرب استاندارد و همچنین مقایسه سطح زیر منحنی نمودارها رسم گردیده، تک‌تک اسیدهای چرب شناسایی و مقدار آن محاسبه گردید.

تعیین پروفایل اسید آمینه: برای تعیین پروفیل اسید آمینه از روش هضم اسیدی و شناسایی آن با روش ایزوکراتیک استفاده گردید (Matloubi, 2004). نمونه‌ها با بافر استات سدیم و سولفات مس (در pH برابر ۵/۶) با ستون پانزده سانتی‌متری C18 (شرکت فنومونکس، آمریکا) و به روش ایزوکراتیک در طول موج ۲۳۵ نانومتر به کمک دستگاه HPLC (Perkin-Elmer Co, Series 200, USA) مورد سنجش قرار گرفتند.

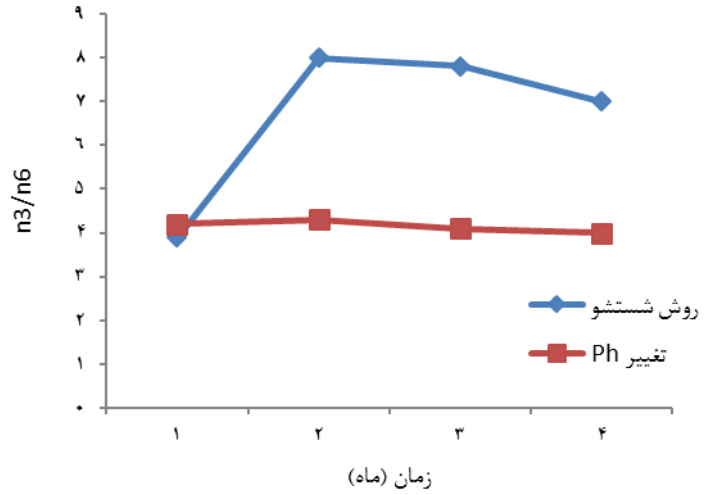
آنالیز آماری: برای مقایسهٔ میانگین نتایج حاصل از دو روش تهیه سوریمی با همدیگر، از آزمون paired t-test استفاده شد (در سطح احتمال α=۰/۰۵). در خصوص شاخص‌های کیفی مربوط به دورهٔ نگهداریِ هر کدام از روش‌ها (به طور جداگانه)، از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه استفاده شد. در ابتدا شرط نرمال بودن قبل از آزمون آنالیز واریانس، با آزمون Shapiro-wilk و همگنی واریانس داده‌ها به وسیله آزمون لون (Levene) مورد بررسی قرار گرفت. جهت مقایسه میانگین بین زمان‌ها و تیمارهای مختلف ازآزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. برای مقایسه میانگین هر یک از شاخص‌ها در طی دورهٔ نگهداری از آزمون دانکن استفاده شد. کلیهٔ آنالیزهای آماری با کمک نرم افزار آماری تحت ویندوز SPSS نسخه ۱۸ و رسم نمودارها با استفاده از برنامه اکسل (ویندوز ۲۰۰۷) انجام شد.

نتایج

شاخص آتروژنیک AI: نتایج آنالیز اماری نشان داد



شکل ۲ – تغییرات شاخص تروپوژنیک در کنستانتره پروتئین کیلکای تهیه شده به دو روش سوریمی و تغییر pH.



شکل ۳ – تغییرات شاخص n-3/n-6 در کنستانتره پروتئین کیلکای تهیه شده به دو روش سوریمی و تغییر pH.

که با گذشت زمان، اگرچه مقادیر اندازه‌گیری شده برای شاخص AI در سوریمی تهیه شده به هر دو روش شستشو و تغییر pH معنی‌دار بود، اما مقدار آن در روش تغییر pH بالاتر از روش شستشو است (شکل ۱).

شاخص تروپوژنیک: نتایج آنالیز آماری نشان داد اثر متقابل زمان در روش شستشو و روش تغییر pH بر روی شاخص تروپوژنیک معنی‌دار نیست. اما تاثیر این دو روش به طور جداگانه بر روی شاخص در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). این میزان در ماه اول کاهش و در دو ماه آخر دوره نگهداری افزایش یافت. به طور میانگین این شاخص در روش تغییر pH بالاتر از روش شستشو بود (شکل ۲).

نسبت n-3/n-6: نتایج آنالیز نشان داد میزان n-3/n-6 دارای تغییرات معنی‌دار در طی نگهداری بود ($P<۰/۰۵$) و زمان تاثیر معنی‌دار داشت. تغییرات n-3/n-6 بین روش شستشو و **تغییر** pH معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$) و جمع میانگین مربعات در روش شستشو بالاتر از **تغییر** pH مشاهده گردید (شکل ۳).

نسبت اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری: در طی ۳ ماه نگهداری این شاخص دارای روند صعودی می‌باشد. همچنین این شاخص‌ها در پروتئین ایزوله در زمان صفر بیشتر از روش شستشو می‌باشد که به نظر می‌رسد بازده بالاتر و احیای بالاتر پروتئین در آن

جدول ۱ - اسید آمینه های غیرضروری.

NEAA	روش شستشو روز اول	تغییر PHروز اول	روش شستشو ماه سوم	ماه سوم تغییر PH
Tyrosine	۴/۲۸	۹/۲۴	۴/۱۷	۶/۰۸
Argenine	۹/۷۵	۱۱/۶۷	۸/۰۹	۱۲/۳۳
Alanine	۸/۳۲	۸/۳۷	۵/۸	۷/۷۲
Aspartic acid	۱۲/۹۷	۱۷/۸۱	۱۰/۹۸	۱۵/۹
Glutamic/ asid	۲۵/۴۳	۳۰/۵۴	۲۲/۷۷	۲۸/۸
Glycine	۱۲/۶۲	۱۱/۷۸	۱۱/۳۲	۱۴/۳۳
Proline	۵/۳۹	۵/۶۸	۴/۹۱	۶/۴۷
Serine	۵/۴۳	۶/۷۴	۴/۸۶	۶/۵۵
مجموع	۸۴/۱۷	۱۰۱/۸	۷۲/۹	۹۸/۱۸

جدول ۲ - اسید آمینه های ضروری.

EAA	روش شستشو۱	تغییر PH1	روش شستشو۲	تغییر PH2
Isoleusin	۸/۶۴	۶/۶	۴/۸۱	۷/۴۳
Leusin	۱۰/۱۴	۱۱/۰۳	۹/۰۳	۱۳/۰۵
Lysine	۱۰/۰۸	۱۴/۲۷	۹/۷۳	۱۱/۴
Methionine	۱/۶	۲/۱۷	۱/۶۴	۲/۰۷
Phenylalanin	۴/۸۹	۵/۷۸	۴/۴	۶/۲۷
Threonine	۶/۰۵	۷/۲۸	۵/۶۳	۷/۰۵
Valine	۶/۳۹	۸/۵۹	۵/۸۶	۸/۹۷
Histidine	۱/۹۲	۴/۲۷	۲/۰۲	۱/۶
Total	۴۶/۷	۵۹/۹۷	۴۳/۱۲	۵۷/۸۴

موثر می‌باشد (Chen *et al.* , 2009) (جدول‌های ۱ و۲).

بحث

احیای پروتئین به روش بازی دارای ویژگی‌های عملکردی بهتری از جمله تشکیل ژل بهتر در گرما و به موجب آن بافت و ویژگی رنگ بهتر و سفیدتر می‌باشد (Chen *et al.*, 2007; Nolsoe *et al.*, 2009). از طرف دیگر احیای آلکالاینی دارای کیفیت تغذیه‌ای بالاتر از جمله میزان اسیدهای آمینه بالاتر در مقایسه با روش اسیدی می‌باشد (Chen *et al.*, 2007). همچنین میزان بیشتری چربی از ساختار پروتئینی نسبت به روش اسیدی جدا می‌گردد (Chen and Jaczynski, 2007). اگرچه مطالعات نشان داده که انحلال به روش اسیدی بازده پروتئینی بالاتری دارد ولی یک توافق بین‌المللی وجود دارد که در مجموع انحلال آلکالاینی مطلوبتر است (Jafarpour and Gorczyca, 2008). هرچه که میزان تغییر pH بیشتر باشد یک پاستوریزاسیون ملایمی هم در گوشت اتفاق می‌افتد (Lansdowne and Beamer, 2009). بررسی‌ها نشان می‌دهد که ترکیب اسیدهای چرب در روغن ماهی بسته به گونه، تغذیه، درجه حرارت و سایر شرایط محیطی دچار نوسان می‌شود که از این میان، رژیم غذایی ماهی اهمیت ویژه‌ای دارد (Sathivel *et al.*, 2002). ماهیان حاوی مقادیر بالایی از اسیدهای چرب ω-3 مثل اسید ایکوزاپنتاانوئیک (EPA) و اسید دوکوزاهگزاانوئیک (DHA) هستند. یکی از مهم‌ترین شاخص‌های کیفی اسیدهای چرب، میزان اسید ایکوزاپنتاانوئیک و دوکوزاهگزاانوئیک است.

اهمیت این شاخص به خواص دارویی و سلامتی بخش بودن آنها مرتبط است (Sidhu, 2003). کیلکای معمولی با داشتن میزان بالای EPA و DHA، یکی از ماهیان مناسب از نظر تغذیه‌ای محسوب می‌شود. از طرفی این اسیدهای چرب نسبت به سایر اسیدها به اکسیداسیون حساس‌ترند و معمولاً

میزان آن‌ها طی فرایندهای مختلف نگهداری و فرآوری‌های گوناگون کاهش پیدا می‌کند (Sant'ana *et al*., 2000; Tarely *et al*., 2004).

نسبت n-3/n-6 به منزلهٔ یک شاخص زیست-دارویی (بیومدیکال) استفاده می‌شود (Yanar *et al*., 2007). اسیدهای چرب مهم گروه n-3 شامل اسید لینولنیک C18:3، اسیدایکوزاپنتاانوئیک C20:5 و اسید دوکوزاهگزاانوئیک C22:6 و اسیدهای چرب مهم گروه n-6 نیز شامل اسید لینولئیک C18:2 و اسید آراشیدونیک C20:4 هستند (Belitz and Grosch, 1999).

میزان n-3/n-6 از ۱:۱ تا ۵:۱ در غذاهای انسان نشان دهندهٔ جیرهٔ سالم برای غذای انسان است (Zuraini *et al*., 2006). مشاهدهٔ تغییر در ترکیب اسیدهای چرب در طی نگهداری نشان‌دهندهٔ نوعی تبدیل اسیدهای چرب بلند زنجیرهٔ غیراشباع به اسیدهای چرب کوتاه زنجیره‌تر است (باباخانی، ۱۳۹۲). میزان n-3/n-6 در روش بازی و اسیدی معنی‌دار نمی‌باشد. در گونه‌های مختلف آبزیان مقایسه نسبت n-3/n-6 به عنوان یک شاخص سودمند جهت مقایسه ارزش غذایی چربی آن‌ها برای مصارف انسانی معرفی می‌شود (Pigott and Tucker 1990).

هر سه شاخص اندازه‌گیری شده در مطالعه‌ی حاضر طی دوره نگهداری در روش تغییر pH نسبت به روش شستشو سطح بالاتری از خود نشان داده هست که همسو با مطالعات Okada و همکاران (۲۰۰۷) ماهی ساردین را با روش تغییر pH از عضلات ماهی استخراج کردند که طبق یافته‌های آن-ها روغن استخراج شده به وسیله کیفیت بهتری را نسبت به روش شستشو از خود نشان داد. همچنین همه روغن‌های استخراج شده به این روش دارای پایداری زیادی نسبت به اکسیداسیون بودند و میزان فساد کمتری را در مقایسه با سایر روش ها از خود نشان دادند.

براساس بررسی‌های انجام شده، هیچ مقاله‌ای درباره آنالیز اسیدهای آمینه از موجودات دریایی که به روش تغییر pH فرآوری شده‌اند وجود ندارد (Chen and Jaczinsky, 20012). در مطالعه‌ی حاضر نسبت EAA/NEAA در روش تغییر pH نسبت به روش شستشو روند صعودی داشته در دوره-ی نگهداری و بالاتر از روش شستشو بود، با توجه به این‌که بررسی کاربرد روش تغییر pH برای فرآوری محصولات جانبی در صنعت نشان داد، روش تغییر pH به خصوص در pH اسیدی، دارای پروتئین و چربی بالاتر از ماهی برای مصارف غذای انسانی است. همچنین استفاده از مواد رسوب شده هم برای غذادهی حیوانات به عنوان منبعی از مواد معدنی مطرح می باشد (Chen *et al*., 2007). این موضوع همچنین در بررسی ترکیبات اسید آمینه و مواد معدنی در کریل کامل به روش تغییر pH توسط Chen و همکاران (۲۰۰۹) مورد بررسی قرار گرفت که در نتیجه آن در pH بازی تولید پروتئین پایین‌تر و میزان مواد معدنی غیرمحلول از جمله کلسیم و منیزیم و فسفر بیشتر در مقایسه با تیمار اسیدی بود.

روش تغییر pH موجب افزایش نسبت EAA/NEAA گردید (P<۰/۰۵) (Chen *et al*., 2007). میزان بازده EAA در ماهی قزل‌آلا در روش تغییر pH بالاتر از ۴۵ درصد از کل پروتئین احیا شده می‌باشد. در روش تغییر pH به روش بازی نسبت EAA/NEAA بالاتر از روش اسیدی بود ولی محتوای اسید آمینه کل در آن پایین تر از روش اسیدی می‌باشد (Chen *et al*., 2007; P<۰/۰۵). نتایج مطالعه Chen و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد نسبت EAA/nEAA در پروتئین حاصل از فرآورده‌های جانبی در ماهی قزل‌آلا تهیه شده به روش تغییر pH بالاتر می‌باشد. این با نتایج Satival و همکاران (۲۰۰۴) همخوانی دارد.

پروتئین تخم‌مرغ به‌عنوان یک منبع کامل با دارا بودن کیفیت تغذیه‌ای بالا مورد توجه می‌باشد. لایزین نیز به‌عنوان یک EAA بسیار مهم مورد مطالعه قرار می‌گیرد (Chen *et al*., 2007). در آزمایشات Chen

و همکاران (۲۰۰۷) میزان اسید آمینه لایزین در قزل‌آلا تهیه شده به روش تغییر pH را ۷۸-۶۷ میلی-گرم بر گرم اندازه‌گیری نمودند که مشابه میزان اسید آمینه تخم مرغ۷۰ میلی‌گرم بر گرم می‌باشد. این مقدار از میزان پروتئین سویا بالاتر و با پروتئین شیر قابل مقایسه می‌باشد (Sindayikengera and Xia, 2006).

صرف‌نظر از این‌که پروتئین ایزوله در محصولات جانبی دارای اسیدآمینه های ضروری می‌باشد، به‌جز درباره حساسیت به هیستیدین در کودکان زیر ۷ سال، منع مصرف برای بزرگسالان ندارد (USDA, 2004). به نظر می‌رسد پروتئین ایزوله می‌تواند به-عنوان یک افزودنی برای محصولات فراسودمند پروتئینی به‌منظور تامین پروتئین‌های ضروری مدنظر قرار گیرد (Chen *et al*., 2007).

در مطالعه‌ی حاضر خصوصیات تغذیه‌ای (شاخص‌های کیفیت چربی مانند TI و AI، نسبت EAA/NEAA) سوریمی تهیه شده از ماهی کیلکای معمولی با استفاده از روش شستشو و تغییر pH بررسی شد. شاخص‌های آتروژنیک برای روش تغییر pH بالاتر ولی شاخص آتروژنیک آن نسبت به روش شستشوکمتر گزارش شد. نسبت EAA/NEAA در تغییر pH بیشتر از روش شستشو بود. با توجه به اهمیت شاخص‌های تغذیه‌ای روش شستشو به دلیل پایین بودن شاخص آتروژنیک از روش تغییر pH مطلوبتر بود اما چون فساد اکسیداتیو در آن بالا می‌رود ماندگاری کمتری را داراست. بالا بودن میزان اسید آمینه های ضروری و همچنین بالا بودن شاخص اسیدآمینه کل در روش تغییر pH این محصول را از نظر تغذیه ای نسبت به روش شستشو ارجح می‌گرداند.

منابع

AOAC, 2005. Official methods of analysis (18th Ed). Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemists.

Bakar J., Zakipour Rahimabadi E., Che Man Y. 2008. Lipid characteristics in cooked, chill-reheated fillets of Indo-Pacific king mackerel (*Scomberomorous guttatus*). LWT - *Food Science and Technology*, 41, 2144-2150.

Chen Y.C., Jaczynski J. 2007. Gelatin from whole Antarctic Krill (*Euphausia superba*) by isoelectric solubilization/ precipitation as affected by additives. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55(5), 1814-1822.

Chen Y.C., Jaczynski J. 2007. Protein recovery from rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss)* processing *By-product*s via isoelectric solubilization/ precipitation and its gelatin properties as affected by functional additives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(22), 9079-9088.

Chen Y.C., Tou J.C., Jaczynski J. 2007. Amino acid, fatty acid, and mineral profiles of materials recovered from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processing By-products using isoelectric solubilization/ precipitation. *Journal of Food Science and Technology* 72(9), C528-C535.

Chen Y.C., Tou J.C., Jaczynski J. 2009. Amino acid and mineral composition of protein and other components and their recovery yields from whole Antarctic krill (*Euphausia superba*) using isoelectric solubilization precipitation. *Journal of Food Science and Technology* 74(2), H31-H39.

Cheng C.S., Hamann D.D., Webb N.B. Sidwell V. 1979. Effects of species and storage time on minced fish gel texture. *Journal of Food Science and Technology* 44(4), 1087-1092.

Corte´s-Ruiz J.A., Pacheco-Aguilar R., Garcı´a-Sa´nchez G., Lugo-Sa´nchez M.E. 2001. Functional characterization of a protein concentrate from bristly sardine made under acidic conditions. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 10, 5-23.

FAO 2012. Year book of fishery statistics (Vol. 98.1, 2). Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations.

Folch J., Lees M., Sloan-Stanley G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*,

Hultin H.O., Kristinsson H.G., Lanier T.C., Park J.W. 2005. Process for recovery of functional proteins by pH shift. In: J.W. Park (Ed.), Surimi and surimi seafood (2nd ed., Boca Raton, USA: CRC Press. pp: 107-140.

Jaczynski J. 2008. Protein and lipid recovery from food processing *By-product* using isoelectric solubilization/ precipitation. *Food Chemistry Research Development* 23, 25-35.

Jafarpour A., Gorczyca, E.M. 2008. Alternative techniques for producing a quality surimi and kamaboko from common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Food Science*, 73(9), E415–E424.

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 Agricultural and Food Chemistry* 51(24), 7187-7196.

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 and Technology* 71, 304-312.

Kristinsson H.G., Rasco B.A. 2000. Fish protein hydrolysates: Production, biochemical, and functional properties. *Journal of Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40(1), 43-81.

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 and technology*, 70, C298-C306.

Lamsal B.P., Jung S., Johson L.A. 2007. Rheological properties of soy protein hydrolysates obtained from limited enzymatic hydrolysis. *LWT-Food Science and Technology* 40(7), 1215-1223.

Lee C.M. 1984. Surimi process technology. *Food technology (Chicago)* 38(11), 69-80.

Lin L., Park J.W. 1995. Study of myofibrillar protein solubility during surimi processing: effects of washing cycles and ionic strength. In: PFT Annual Meeting, Mazatlan, Mexico.

Mahmoud M.I., Cordle C.T. 2000. Protein 226, 497-509.

Fountoulakis M., Lahm H.W. 1998. Hydrolysis and amino acid composition analysis of proteins. *Journal of Chromatography A* 826, 109-134.

Gehring C.K., Gigliotti J.C., Moritz J. S., Tou J.C., Jaczynski J. 2011. Functional and nutritional characteristics of proteins and lipids recovered by isoelectric processing of fish *By-product*s and low-value fish – a review. *Journal of Food Chemistry*, 124(2), 422-431.

Gigliotti J.C., Jaczynski J., Tou J.C. 2008. Determination of the nutritional value, protein quality and safety of krill protein concentrate isolated using an isoelectric solubilization/ precipitation technique. *Journal of Food Chemistry*, 111(1), 209-214.

Goudlas A.E., Kontominas M.G. 2005. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel *(Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Journal of Food Chemistry* 93, 511-520.

Haliloglu H.I. 2004. Comparison of fatty acid composition in some tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) living in seawater and freshwater. *Journal of Food Chemistry* 86, 55-59.

Hamann D., MacDonald G.A. 1992. Rheology and Texture Properties of Surimi and Surimi -Based Foods. In: T.C. Lanier, C.M. Lee (Eds.). *Journal of Surimi Technology. New York: Marcel Dekker* 429-500.

Hamann D., Webb N.B. 1979.Sensory and instrumental evaluation of material properties of fish gels. *Journal of Texture Studies* 10, 117-121.

Hultin H.O., Kelleher S.D. 2000. High efficiency alkaline protein extraction. U.S. Patent No. 6, 136, 959.

Hultin H.O., Kelleher S.D. 1999. Process for isolating a protein composition from a muscle fillet. *Journal of Food Science* 70, E477-483.

Hultin H.O., Kelleher S.D. 2002. Protein composition and process for isolating a protein composition from a muscle source. U.S. Patent No. 6, 451, 975.

Hultin H.O., Kelleher, S.D. 2001. Process for isolating a protein composition from a muscle source and protein composition. U.S. Patent No. 6, 288, 216.

Science and Technology 28, 397-403.

Tahergorabi R., Beamer K. S., Matak E.K., Jaczynski J. 2012. Isoelectric solubilization/ precipitation as a means to recover protein isolate from striped bass (*Morone saxatilis*) and Its physicochemical properties in a nutraceutical Seafood Product. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60, 5979-5987.

Tahergorabi R., Sivanandan L., Jaczynski J. 2012. Dynamic rheology and endothermic transitions of proteins recovered from chicken-meat processing *By-product*s using isoelectric solubilization/ precipitation and addition of TiO_2. *LWT – Food Science and Technology* 46(1), 148-155.

Taskaya L., Chen Y.C., Jaczynski J. 2009a. Functional properties of proteins recovered from whole gutted silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) by isoelectric solubilization/ precipitation. *LWT – Food Science and Technology* 42(6), 1082-1089.

Taskaya L., Chen Y.C., Jaczynski J. 2010. Color improvement by titanium dioxide and its effect on gelation and texture of proteins recovered from whole fish using isoelectric solubilization/ precipitation. *Journal of Food Science and Technology*. 43, 401-408

Taskaya L., Chen, Y.C., Beamer S., Jaczynski J. 2009b. Texture and colour properties of proteins recovered from whole gutted silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) using isoelectric solubilization/ precipitation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89(2), 349-358.

Taylor R.G., Geesink G.H., Thompson V.F., Koohmaraie M., Goll D.E. 1995. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? *Journal of Animal Science* 73(5), 1351-1367.

Torres J.A., Chen Y.C., Rodrigo-Garcia J., Jaczynski J. 2007. Recovery of byproducts from seafood processing streams. In: F. Shahidi (Ed), Maximising the value of marine by-products. Boca Raton, USA: CRC Press. pp: 65-90.

Yam K.L., Papadakis S.E. 2004. A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering* 61, 137-142.

hydrolysate as special nutritional ingredients. *Journal of Macromolecules in Food Systems*,181-215.

Metcalf D. 1966. The differentiation of myeloid Leukaemia cells**.** *British Journal of Haematology* 4, 1-40

Moghaddam F., ZaliBoinee H. 2004, An efficient and facile onestep synthesis of highly substituted thiophenes. *Tetrahedron* 60, 6085-6089.

Montejano J.F., Hamann D., Lanier T.C. 1985. Comparison of two instrumental methods with sensory texture of protein gels. *Journal of Texture Studies* 16, 403-424.

Nolsoe H., Undeland I. 2008. The acid and alkaline solubilisation process for the Isolation of Muscle proteins. *Journal of Food Bioprocess Technology* 2, 1-27

Nolsoe H., Undeland I. 2009. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: State of the art. *Journal of Food Bioprocess Technology* 2 1-27.

Okada M. 1990. The history of surimi and surimi-based products in Japan. Engineered seafood including surimi. Noyes Data Corporation, Park Ridge, NJ, 30-41.

Okada T., Morressey M.T. 2007. Recovery and characterization of sardine oil extracted by pH adjustment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1808-1809.

Perez-Mateos M., Amato P.M., Lanier T.C. 2004. Gelling properties of Atlantic croaker surimi processed by acid or alkaline solubilization. *Journal of Food Science* 69(4), FCT328–FCT333.

Salvador A., Fiszman S.M. 2004. Effect of concentration and temperature on properties of methylcellulose-added batters' application to battered, fried seafood. *Journal of Food Hydrocolloids* 18, 127-131.

Shimizu Y., Toyohara H., Lanier T.C. 1992. Surimi production from fatty and dark-flesh fish species, In: T.C. Lanier, C. Lee, M. Dekker (Eds.) Surimi Technology. Inc., New York. pp: 181-207.

Szczesniak A.S. 1963. Development of standard rating scales formechanical parameters of texture and correlation between ejective and the sensory methods of texture evaluation. *Journal of Food*

A comparative study of fatty and amino acid changes in common Klika derived surimi prepared with washing and pH-shift methods and stored under frozen condition

Zohre Ghyami, Seyed Vali Hosseini*, Hosein Khodaee

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

*Corresponding author: hosseinisv@ut.ac.ir

Received: 2019/6/11 Accepted: 2020/6/4

Abstract

In this study, Surimi nutritional quality of common Kilka *(Clupeonella caspia*) prepared by washing and pH shifting methods during freezing storage was investigated. The samples were stored under freezing conditions for three months and their nutritional qualities were evaluated for some nutritional properties (n3/n6 ratio, lipid quality indices such as TI index and AI index and EAA/NEAA ratio). According to the results, changes in AI index in time unit were significant (P<0.05). The average of the pH shifting during the maintenance period was higher than that of the washing method. Also, the tropogenic index was significantly higher in the pH shifting method than the washing method, and the index decreased in the first two months and increased in the last month of storage. The EAA/NEAA ratio was higher than the wash method in the pH shifting method (P<0.05). Regarding the changes in the n-3/n-6 ratio, there was no significant difference between the washing method and the pH shifting (P<0.05), but this ratio had significant changes during the maintenance period and had a significant effect on this index (P<0.05). The results showed that the values related to nutritional quality indices measured in surimi produced by the pH shifting method have a better utility than the washing method.

Keywords: Common Kilka, Surimi, Isolate protein, Nutritional quality.