مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد دوم، شماره دوم، تابستان ۸۹
۹۹-۱۱۰
http://ejfpp.gau.ac.ir

اثر شدت هیدرولیز بر بازیافت نیتروژنی و اندازه مولکولی پروتئین گوشت کوسه چانه سفید (*Carcharhinus dussumieri*)

ریحانه شکرپور رودباری[۱]، *علی معتمدزادگان[۲]، سیدهاشم حسینی‌پرور[۲] و محمودرضا اویسی‌پور[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری،
[۲]استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری،
[۳]پژوهشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه واشنگتن- آمریکا
تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۲

چکیده

در این پژوهش اثر شدت هیدرولیز با آنزیم آلکالاز بر بازیافت نیتروژنی، درجه هیدرولیز و طول زنجیره پپتیدی پروتئین هیدرولیز شده گوشت کوسه چانه سفید (*Carcharhinus dussumieri*) در بازه‌های زمانی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. در هر بازه زمانی هیدرولیز در ٤ مرحله پی‌درپی (با زمان‌های مشابه) انجام شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که افزایش تعداد دفعات هیدرولیز باعث کاهش درجه هیدرولیز، راندمان بازیافت نیتروژنی و افزایش طول زنجیره پپتیدی در مراحل متوالی چهارگانه مربوط به هر بازه زمانی (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) می‌شود. میانگین هر یک از پارامترهای اندازه‌گیری شده برای ٤ مرحله متوالی هر بازه زمانی هیدرولیز به‌عنوان پارامتر کلی آن بازه زمانی محاسبه گردید. درجه هیدرولیز ۱/۹۱، ۲/۲۵ و ۲/۵۳، راندمان بازیافت نیتروژنی ٤۹/٤۳، ٥٦/٦۸ و ٦۰/۷۷ و طول زنجیره پپتیدی ٥۲/۱٥، ٤٤/۳٥ و ۳۹/٤٤ به‌ترتیب برای زمان‌های هیدرولیز ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه به‌دست آمد. افزایش زمان هیدرولیز موجب افزایش درجه هیدرولیز، راندمان بازیافت نیتروژنی و کاهش طول زنجیره پپتیدی گردید ($P<۰/۰٥$).

واژه‌های کلیدی: هیدرولیز، آلکالاز، کوسه چانه سفید

* مسئول مکاتبه: amotgan@yahoo.com

مقدمه

کوسه چانه سفید (*Carcharhinus dussumieri*) یکی از گونه‌های مهم کوسه آب‌های جنوب ایران می‌باشد که به‌دلیل بالا بودن میزان اوره در گوشت آن بازارپسندی کمی دارد. ارزش غذایی گوشت کوسه در مقایسه با ماهیان استخوانی با توجه به ترکیب و توزیع اسیدهای آمینه کم‌تر می‌باشد. از آن‌جا که میزان اوره در بافت عضلانی کوسه ماهیان بالاست بنابراین به‌منظور استفاده به‌عنوان یک منبع غذایی لازم است که میزان اوره کاهش یابد. علی‌رغم اوره زدایی بازهم این گوشت برای افرادی که ناراحتی‌های قلبی- عروقی، نقرس و فشارخون بالا دارند توصیه نمی‌شود. پژوهش‌های روی ۳۰ گونه کوسه نشان داده که میزان اوره بین ۲۳۰۰-۱۶۰۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت متغیر است.

با توجه به پیشرفت تکنولوژی، افزایش جمعیت جهان و افزایش میزان صید فراورده‌های دریایی و به‌دنبال آن افزایش میزان ضایعات، پژوهش‌گران به‌دنبال روش‌هایی برای استخراج مواد با ارزش از این فراورده‌ها و ضایعات آن‌ها هستند که از جمله می‌توان به استخراج پروتئین اشاره کرد. پروتئین استخراج شده از این فرآورده‌ها به‌عنوان یک منبع جدید پروتئینی محسوب شده که علی‌رغم ارزش تغذیه‌ای زیاد از نظر اقتصادی کم هزینه بوده و خواص کارکردی مطلوبی را دارا می‌باشد[۷].

برای تبدیل ضایعات ماهی و بخش‌های کم‌مصرف آن‌ها به پروتئین از روش‌های هیدرولیز شیمیایی و آنزیمی می‌توان استفاده کرد. طی بررسی‌های انجام شده روی نتایج این روش‌ها، هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌های بهتری از نظر تغذیه‌ای و کارکردی ایجاد می‌کند[۱۰]. آنزیم‌های پروتئولیتیک مورد استفاده به این منظور می‌توانند منبع حیوانی، گیاهی یا میکروبی داشته باشند[۱۷].

آنزیم‌های پروتئولیتیک با شکستن پیوندهای پپتیدی، پروتئین ماهی را به پپتیدهایی با اندازه کوچک‌تر تبدیل می‌کنند و به این ترتیب پروتئین هیدرولیز شده ماهی (FPH) تولید می‌شود که در بسیاری از فراورده‌های غذایی می‌توان آن را به‌کار برد[۱۰]. و در نتیجه مواد غذایی غنی از پروتئین با هزینه کم‌تر و ارزش تغذیه‌ای بیش‌تر تولید کرد[۱۳]. امروزه استفاده از FPH به‌طور جالبی در حال افزایش است که از موارد کاربرد آن می‌توان به کاربردش به‌عنوان یک منبع پپتیدی و یا به‌عنوان سوبسترای نیتروژن‌دار برای تخمیر اشاره کرد[۹]. این محصول در تولید کراکر، غذاها بر پایه غلات و... نیز استفاده می‌شود[۱۹]. همچنین از پروتئین‌های هیدرولیز شده امعاء و احشاء ماهی تون می‌توان به‌طور موفقی برای تهیه محیط‌های کشت میکروبی استفاده نمود [۱۶].

در مقایسه با آنزیم‌هایی با منشا گیاهی و جانوری، آنزیم‌های میکروبی دارای مزایا بیش‌تری هستند که از آن جمله می‌توان به تنوع خواص پروتئولیتیکی و پایداری بیش‌تر در pH و دماهای مختلف اشاره نمود[۲و۸]. به‌طورکلی آنزیم Alcalase® 2.4 L به‌دلیل عملکرد در pH قلیایی، تولید پروتئین هیدرولیز شده با درجه هیدرولیز بالاتر و طول زنجیره پپتیدی کوتاه‌تر، بیش‌ترین توجه را به خود اختصاص داده است[۱۰، ۵، ۲، ١٤].

درجه هیدرولیز یکی از مهم‌ترین فاکتورهای بررسی خواص پروتئین‌های هیدرولیز شده است که میزان شکسته شدن باندهای پپتیدی را بیان می‌کند و باید کنترل گردد. این فاکتور و کنترل آن بسیار مهم است، زیرا که بسیاری از خواص پروتئین هیدرولیز شده، از جمله میزان اسیدهای آمینه آزاد، میزان انحلال‌پذیری و وزن مولکولی پروتئین تولید شده، وابسته به‌شدت و درجه هیدرولیز می‌باشد [۱].

بازیافت نیتروژنی یکی دیگر از فاکتورهای مهم در بررسی عملکرد آنزیم‌ها در هیدرولیز پروتئین‌های غذایی محسوب می‌شود که بیان‌کننده توانایی یک آنزیم در جداسازی پروتئین‌های محلول از انواع غیرمحلول و در نتیجه میزان بازدهی فرایند در طی هیدرولیزاسیون آنزیمی بوده که از جنبه اقتصادی نیز مهم می‌باشد[۱، ۹، ۱۲]. در تمام پژوهش‌هایی که تاکنون در خصوص بررسی عوامل مؤثر بر شدت هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌ها انجام شده‌اند، تنها بخشی از سوبسترا هیدرولیز و محلول شده و یا برای افزایش راندمان استحصال پروتئین محلول، هیدرولیز شدید انجام گرفته است. در این پژوهش به‌منظور افزایش راندمان محلول‌سازی پروتئین‌ها و احتمالاً حفظ بهتر خواص‌کاری پروتئین‌های هیدرولیز شده از طریق ممانعت از هیدرولیز شدید، هیدرولیز مرحله‌ای در بازه‌های زمانی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه انجام شده است.

مواد و روش‌ها

ماده خام اولیه: کوسه چانه سفید (*Carcharhinus dussumieri*) از بندر چابهار صید شد و به‌صورت منجمد در دما ۲۰- درجه سانتی‌گراد به کارخانه بسته‌بندی ماهی (کیان ماهی خزر، بابلسر، ایران) ارسال گردید. در کارخانه، امعاء و احشاء آن به‌صورت منجمد خارج شده و ماهی پوست‌گیری شد. گوشت کوسه به‌صورت منجمد در داخل یونولیت طی یک ساعت به آزمایشگاه مرکز رشد واحدهای فناوری طبرستان در ساری منتقل گردید. در محل آزمایشگاه گوشت ماهی توسط چرخ گوشت صنعتی با قطر سوراخ ۰/۵ میلی‌متر به‌طور کامل چرخ شد. سپس گوشت چرخ شده ماهی در کیسه‌های پلی‌اتیلنی بسته‌بندی شده و به‌منظور آزمایشات بعدی در فریزر با دما ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

آنزیم: به‌منظور هیدرولیز آنزیمی، از آنزیم آلکالاز (شرکت Novoenzyme) با فعالیت آنزیمی ۲/٤ آنسون به‌ازای هر میلی‌لیتر آنزیم استفاده شد. این آنزیم یک پروتئاز میکروبی است و تا زمان آزمایش در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

هیدرولیز پروتئین گوشت کوسه: به‌دلیل وجود اوره زیاد و نیتروژن فرار بالا در گوشت کوسه، قبل از انجام هیدرولیز طی دو مرحله شستشو با آب نمک ۰/۱ مولار در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد مقدار نیتروژن فرار آن کاهش داده شد. به این منظور در مرحله اول شستشو یک قسمت از گوشت با وزن معلوم با مقدار ۳ برابر آب نمک با غلظت ۰/۱ مولار (حجمی- وزنی) مخلوط و با استفاده از یک همزن مکانیکی (IKA, Germany ،RW20) با سرعت ۱۵۰ دور بر دقیقه در مدت ۱۰ دقیقه پخش و یکنواخت گردید. مخلوط به‌دست آمده سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۳۲۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ (بهداد، تهران- ایران) شد. پس از سانتریفوژ سوپرناتانت تخلیه شده و پروتئین رسوبی برای بار دوم (همانند مرحله اول) شستشو داده شد. در مرحله دوم نیز سوپرناتانت دور ریخته شد و پروتئین رسوب یافته آماده هیدرولیز با آنزیم آلکالاز گردید. طی دو مرحله شستشو میزان بازهای فرار تا ٦٤ درصد کاهش یافت.

برای انجام هیدرولیز، یک نسبت از گوشت شستشو شده کوسه چانه سفید با ۲ برابر آب مقطر (حجمی- وزنی) در ارلن مایر ریخته و در بن ماری با دما ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از تنظیم دما، آنزیم آلکالاز (۳۵ آنسون به‌ازای یک گیلوگرم پروتئین) به آن افزوده شد و به‌مدت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه عمل هیدرولیز روی نمونه‌ها در همین دما انجام گردید. بعد از پایان هیدرولیز به‌منظور غیرفعال‌سازی آنزیم، ظروف حاوی نمونه در بن‌ماری با دما ۹۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شدند. برای خنک کردن نمونه‌های غیرفعال شده از آب و یخ استفاده گردید.

نمونه‌ها بعد از خنک شدن تا دمای اتاق با استفاده از سانتریفوژ با سرعت ۳۲۰۰ دور بر دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. تمام مراحل هیدرولیز ذکر شده در بالا در هر دوره زمانی هیدرولیز (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) در چهار مرحله متناوب ادامه یافت. به‌طوری‌که ماده رسوبی به‌دست آمده از هر سانتریفوژ به‌عنوان ماده اولیه هیدرولیز بعدی با زمان هیدرولیز مشابه استفاده گردید.

اندازه‌گیری پروتئین: مقدار پروتئین نمونه‌ها به‌روش لوری (لوری و همکاران، ۱۹۵۱) با اندازه‌گیری شدت جذب در طول موج ۷۵۰ نانومتر به کمک اسپکتروفوتومتر (T $80^{+,}$ uv/vis Spectrum, British) انجام شد و برای رسم منحنی استاندارد از سرم آلبومین گاوی (شرکت زیست شیمی، Albumin RGT) استفاده گردید.

اندازه‌گیری درجه هیدرولیز (DH): درجه هیدرولیز به روش فونک و سینگ (۱۹۹۶) اندازه‌گیری شد. مبنای این روش اندازه‌گیری درصد نسبت پروتئین‌های محلول در تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به‌کل پروتئین‌های موجود در نمونه می‌باشد. برای این منظور ۵ میلی‌لیتر از نمونه با ۵ میلی‌لیتر از تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد مخلوط گردید و پس از هم زدن به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۲۰۰ دور بر دقیقه طی ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس مقدار پروتئین در فاز محلول اندازه‌گیری و میزان درجه هیدرولیز با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد.

$$DH=۱۰۰\times \frac{\text{پروتئین حل شده در محلول ۱۰ درصد از TCA}}{\text{کل حل پروتئین‌های نمونه}}$$ (رابطه ۱)

اندازه‌گیری طول زنجیره پپتیدی: برای اندازه‌گیری طول تقریبی پپتیدهای حاصل (PCL) از روش کریستنسن و راسکو (۲۰۰۰) استفاده شد. در این روش از درجه هیدرولیز برای محاسبه طول زنجیره پپتیدی مطابق رابطه ۲ استفاده گردید. در این معادله DH درجه هیدرولیز پروتئین‌ها بوده و بر حسب درصد به‌کار می‌رود.

$$PCL=\frac{۱۰۰}{DH}$$ (رابطه ۲)

اندازه‌گیری راندمان بازیافت نیتروژنی: میزان بازیافت نیتروژنی براساس رابطه ۳ محاسبه شد.

$$A/B=\text{راندمان بازیافت نیتروژنی}$$ (رابطه ۳)

A: میزان نیتروژن در پروتئین هیدرولیز شده

B: میزان نیتروژن در نمونه

آنالیز آماری: برای آنالیز آماری داده‌ها در هر یک از مراحل چهارگانه و نیز بین سه زمان هیدرولیز ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه مقایسه میانگین ساده با استفاده از آزمون آماری دانکن در سطح اعتماد ۹۵ درصد انجام شد. به این منظور از نرم‌افزار MSTATC برای آنالیز آماری و Excel برای رسم شکل‌ها استفاده گردید.

نتایج و بحث

درجه هیدرولیز: درجه هیدرولیز نمونه‌ها در سه دوره زمانی هیدرولیز ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه اندازه‌گیری شد. به این صورت که درجه هیدرولیز به‌طور جداگانه برای هر ٤ مرحله پی در پی هیدرولیز ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه اندازه‌گیری گردید. داده‌های مربوط به درجه هیدرولیز این مراحل در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ آمده است.

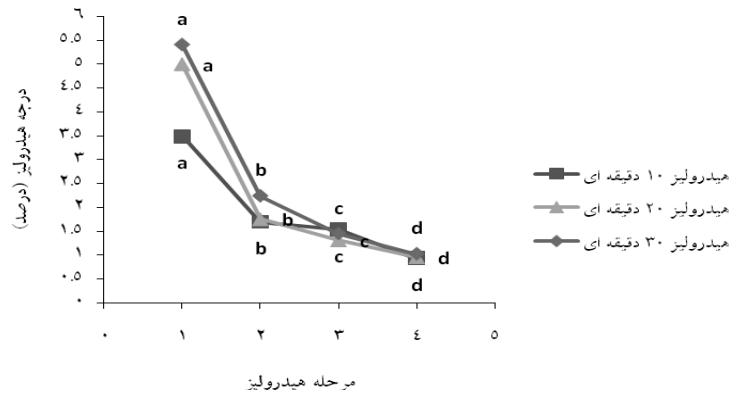
همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود با افزایش مراحل هیدرولیز در بازه زمانی ۱۰ درجه سانتی‌گراد مقدار درجه هیدرولیز کاهش می‌یابد. آنالیز آماری این داده‌ها نشان داد که بین داده‌ها اختلاف معنی‌دار وجود دارد به این صورت که در مرحله اول شدت هیدرولیز نسبت به مراحل دیگر بیش‌تر است.

در هیدرولیز انجام شده در مدت ۲۰ و ۳۰ دقیقه نیز مشابه با هیدرولیز ۱۰ دقیقه‌ای درجه هیدرولیز طی مراحل هیدرولیز کاهش یافته و بین داده‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد (شکل ۱).

با استفاده از محاسبه میانگین درجه هیدرولیز در زمان‌های هیدرولیز ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درجه هیدرولیز به‌ترتیب ۱/۹۱، ۲/۲۵ و ۲/۵۳ به‌دست آمد. بین این داده‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱). در نتیجه با افزایش مدت زمان هیدرولیز، درجه هیدرولیز افزایش می‌یابد. در واقع می‌توان گفت با افزایش زمان هیدرولیز آنزیم و سوبسترا در مدت زمان بیش‌تری در مجاورت هم قرار داشته و شدت هیدرولیز بیش‌تر می‌شود.

لیاست و همکاران[۱۱] نشان دادند که افزایش زمان هیدرولیز باعث افزایش درجه هیدرولیز ماهی سالمون با استفاده از آنزیم آلکالاز می‌گردد. نتیجه مشابهی هم توسط سویسی و همکاران [۱۸] در مورد امعاء و احشاء ماهی ساردین به‌دست آمد. معتمدزادگان و همکاران[۳] نیز نشان دادند که افزایش زمان اثر آنزیم پاپائین باعث افزایش شدت درجه هیدرولیز پروتئین‌های میوفیبریلار ماهی کیلکا می‌شود.

بسیاری از محققان مانند اویسی‌پور و همکاران[١٦]، کائو و همکاران[٦]، شهیدی و همکاران[۱۸]، کریستینسن و راسکو[۱۱] نیز نشان دادند که افزایش زمان هیدرولیز باعث افزایش درجه هیدررولیز شده و نتیجه به‌دست آمده را تأیید نمودند.

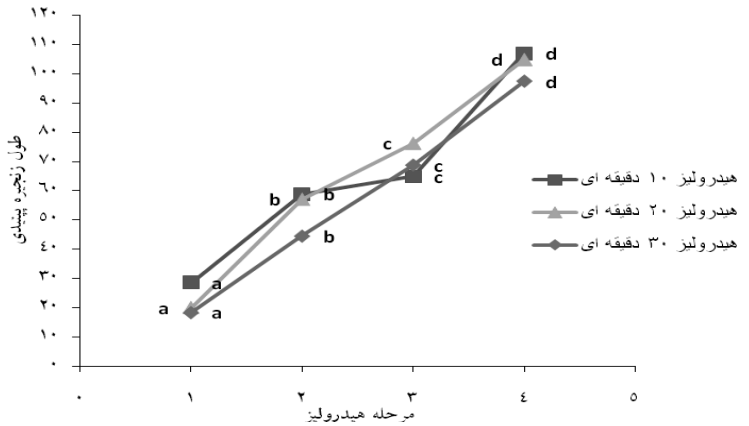


شکل ۱- تأثیر افزایش دفعات هیدرولیز بر درجه هیدرولیز.

طول زنجیره پپتیدی: داده‌های مربوط به طول زنجیره پپتیدی در زمان‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ در شکل ۲ نشان داده شده است. اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها نشان می‌دهد که غیرفعال‌سازی آنزیم در هر یک از مراحل چهارگانه مربوط به هر بازه زمانی از هیدرولیز شدید پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند. سپس در مرحله بعدی پروتئین باقی‌مانده هیدرولیز می‌گردد. در واقع با افزایش تعداد مراحل هیدرولیز، از کاهش شدید طول زنجیره پپتیدی ممانعت می‌شود. این مسأله به‌دلیل کاهش درجه هیدرولیز در این مراحل می‌باشد. در مرحله اول شدت هیدرولیز بیش‌تر است و مقدار بیش‌تری از پروتئین‌های محلول به‌وسیله آنزیم جدا می‌شود بنابراین طول زنجیره پپتیدی کوچک‌تر خواهد بود. احتمالاً پروتئین هیدرولیز نشده سوبسترای مناسب‌تری برای هیدرولیز با آنزیم است ولی با افزایش تعداد مراحل هیدرولیز به‌رغم ثابت بودن نسبت آنزیم افزوده شده و زمان هیدرولیز، به‌دلیل کاهش جایگاه‌های قابل هیدرولیز در سطح مولکول پروتئین، درجه هیدرولیز کاهش می‌یابد. در مراحل بعدی چون درجه هیدرولیز کاهش می‌یابد طول زنجیره پپتیدی پروتئین‌ها بزرگ‌تر می‌شود.

به‌طورکلی با افزایش زمان هیدرولیز (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) طول زنجیره پپتیدی با اختلاف معنی‌داری کاهش یافته است. در این آزمایش مقدار آن برای زمان‌های یاد شده به‌ترتیب ۵۲/۱۵، ٤٤/۳۵ و ۳۹/٤٤ به‌دست آمد. در واقع می‌توان گفت با افزایش زمان و درجه هیدرولیز، طول زنجیره پپتیدی کاهش می‌یابد (جدول ۱).

معتمدزادگان و همکاران[۳] نیز در بررسی اثر آنزیم پاپائین بر میانگین تقریبی طول زنجیره پپتیدی به‌دست آمده از هیدرولیز ماهی کیلکا نشان دادند که این صفت تحت‌تأثیر درجه حرارت قرار ندارد بلکه، تابع درجه دوم فعالیت آنزیم و زمان اثر آن می‌باشد. در واقع با کنترل طول زنجیره پپتیدی می‌توان از هیدرولیز شدید پروتئین جلوگیری کرد چرا که افزایش شدت هیدرولیز باعث ایجاد پپتیدهای بسیار محلول می‌شود که خواص کاری مطلوبی ندارد[۱۰].



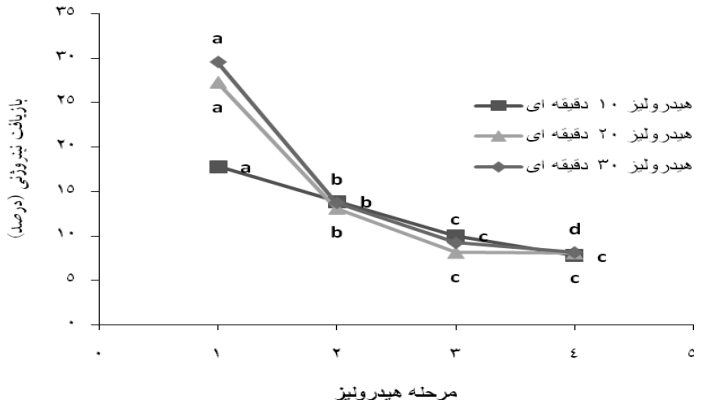
شکل ۲- تأثیر افزایش دفعات هیدرولیز بر طول زنجیره پپتیدی.

بازیافت نیتروژنی: در هیدرولیز ۱۰ دقیقه‌ای با افزایش مراحل هیدرولیز، راندمان بازیافت نیتروژنی کاهش می‌یابد (شکل ۳). آنالیز آماری این داده‌ها نشان دادند که بین آن‌ها اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P<۰/۰۵$) اما شدت هیدرولیز در مرحله اول هیدرولیز بیش‌تر بوده و مقدار بیش‌تری نیتروژن بازیافت می‌شود. در مراحل انتهایی با کاهش درجه هیدرولیز، بازیافت نیتروزنی هم کاهش می‌یابد.

در زمان‌های هیدرولیز ۲۰ و ۳۰ دقیقه از مرحله اول تا مرحله سوم با افزایش تعداد مراحل هیدرولیز، بازیافت نیتروژنی به‌صورت معنی‌داری کاهش می‌یابد ($P<۰/۰۵$). اما اختلاف داده‌ها بین مرحله سوم و چهارم معنی‌دار نیست ($P>۰/۰۵$).

آنالیز کلی داده‌ها نشان می‌دهد با افزایش زمان هیدرولیز از ۱۰ دقیقه به ۳۰ دقیقه مطابق با جدول ۱، بازیافت نیتروژنی افزایش می‌یابد. اویسی‌پور و همکاران[۱۵] نشان دادند که با افزایش زمان

هیدرولیز آنزیم آلکالاز، مقدار بازیافت نیتروژنی افزایش می‌یابد. در بررسی انجام شده توسط شهیدی و همکاران (۱۹۹۵) بازیافت نیتروژنی دو آنزیم آلکالاز و نئوتراز تعیین شد. همچنین این محققان افزایش میزان بازیافت نیتروژنی را با افزایش زمان گزارش نمودند. در بررسی دیگری آجیلار و همکاران[٤] با هیدرولیز ماهی نرم باله اروپایی نیز نتیجه مشابهی را به‌دست آوردند.



شکل ۳- تأثیر افزایش دفعات هیدرولیز بر بازیافت نیتروژنی.

جدول ۱- تأثیر زمان هیدرولیز بر درجه هیدرولیز، طول زنجیره پپتیدی و بازیافت نیتروژنی.

	۱۰ دقیقه	۲۰ دقیقه	۳۰ دقیقه
درجه هیدرولیز (درصد)	۱/۹۱ ± ۰/۰۲^{a}	۲/۲۵ ± ۰/۰۱^{b}	۲/۵۳ ± ۰/۰۳^{c}
طول زنجیره پپتیدی	۵۲/۱۵ ± ۰/۵۵^{c}	٤٤/۳۵ ± ۰/٤۲^{b}	۳۹/٤٤ ± ۰/۷۸^{a}
بازیافت نیتروژنی (درصد)	٤۹/٤۳ ± ۰/٤۲^{a}	٥٦/٦۸ ± ۰/۲۸^{b}	٦۰/۷۷ ± ۰/۵۳^{c}

در هر سطر اعداد با حروف مشابه اختلاف معنی‌داری ندارند ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهند افزایش زمان هیدرولیز موجب افزایش درجه هیدرولیز و بازیافت نیتروژنی پروتئین‌های هیدرولیز شده گوشت کوسه چانه سفید شده اما از طول زنجیره پپتیدی کاسته می‌شود. در واقع با انجام هیدرولیز مرحله‌ای می‌توان بازده استحصال پروتئین محلول را افزایش داد و احتمالاً، انجام هیدرولیز کنترل شده‌تر به‌دست آوردن پروتئین‌هایی با خواص کاری مطلوب‌تر کمک می‌کند.

سپاسگزاری

از مرکز رشد واحدهای فناوری طبرستان جهت تامین امکانات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱- اویسی‌پور، م.، عابدیان‌کناری، ع.، معتمدزادگان، ع.، و محمدنظری، ر. ۱۳۸۹. بررسی خواص پروتئین‌های هیدرولیز شده امعاء و احشاء ماهی تون زرد باله (*Thunnus albacores*) با استفاده از آنزیم‌های تجاری. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ٦. شماره ۱. ص ٦٨-٧٦

۲- تقی‌اف، م.، قمی، م.، اویسی‌پور، م. ۱۳۸۹. تولید پروتئین هیدرولیز شده از امعاء و احشاء فیل‌ماهی (*Huso hus*) با استفاده از آنزیم آلکالاز. مجله شیلات. سال چهارم. شماره اول.

۳- معتمدزادگان، ع.، شهیدی، ف.، مرتضوی، ع.، پورآذرنگ، ه.، حمزه، ش.، شهیدی‌یاساقی، ا.، قربانی‌حسن‌سرایی، ا.، و خانی‌پور، ا. ۱۳۸۸. اثر آنزیم پاپائین بر درجه هیدرولیز و طول زنجیره پپتیدی پروتئین‌های میوفیبریلار ماهی کیلکا. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد شانزدهم. شماره سوم.

4.Aguilar, R., Mazorra-Manzano, M., and Ramı´rez-Sua´rez, J. 2008. Functional properties of fish protein hydrolysates from Pacific whiting *(Merluccius productus)* muscle produced by a commercial protease. *Food Chemistry*, 109, 782-789.

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

6.Cao, W., Zhang, C., and Hong, Ji.H. 2008. Response surface methodology for autolysis parameters optimization of shrimp head and amino acids released during autolysis. *Food Chemistry*, 109, 176-183.

7.Diniz, F.M., and Martin, A.M. 1997. Effects of the Extent of Enzymatic Hydrolysis on Functional Properties of Shark Protein Hydrolysate. Lebensmittel-Wissenschaft and Technology, 3 (3), 266-272.

8.Diniz, F.M., and Martin, A.M. 1997. Optimization of nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of dogfish *(Squalus acanthias)* protein: composition of the hydrolysates. *Food Science and Nutrition*, 48, 191-200.

9.Guerard, F., Guimas, L., and Binet, A. 2002. Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 19-20, 489-498.

10.Kristinsson, H.G., and Rasco, B.A. 2000. Rasco. Fish protein hydrolasates production biochemical and functional properties. *Food Science and Nutrition*, 40 (1), 43-81.

11.Kristinsson, H.G., and Rasco, B.A. 2000. Biochemical and functional properties of Atlantic salmon *(Salmo salar)* muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. *Agriculture Food Chemistry*, 48, 657-666.
12.Liaset, B., Lied, E., and Espe, M. 2000. Enzymatic hydrolysis of by- products from the fish-filleting industry; chemical characterization and nutritional evaluation. *Science of Food and Agriculture*, 80, 581-589.
13.Liaset, B., Nortvedt, R., Lied, E., and Espe, M. 2002. Studies on the nitrogen recovery in enzymatic hydrolysis of Atlantic salmon *(Salmo salar*, L.*)* frames by Protamex protease. *Process Biochemistry*, 37, 1263-1269.
14.Liceaga-Gesualdo, A.M., and Li-Chan, E.C.Y. 1999. Functional properties of fish protein hydrolysate from Herring *(Clupea harengus)*. *Food science*, 64 (6).
15.Ovissipour, M., Abedian, A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R., and Shahiri, H. 2009. The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon *(Acipenser persicus)* viscera. *Food Chemistry*, 115, 238-242.
16.Ovissipour, M., Benjakul, S., Safari, R., and Motamedzadegan, A. 2010. Fish protein hydrolysates production from yellowfin tuna Thunnus albacares head using Alcalase and Protamex. International Aquatic Research, 2, 87-95.
17.Ovissipour, M., Safari, A., Rasco, B., Pourgholam, R., and Mohagheghi, A. 2009. Use of hydrolysates from yellowfin tuna Thunnus albacaresmedia. *International Aquatic Research*, 1, 73-77.
18.Shahidi, F., Han, X.Q., and Synowiecki, J. 1995 .Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin *(Mallotus villosus)*. *Food Chemistry*, 53, 285-29.
19.Souissi, N., Bougatef, A., Triki-Ellouz, Y., and Nasri, M. 2007. Biochemical and Functional Properties of Sardinella *(Sardinella aurita)* By-Product Hydrolysates, *Food Technol. Biotechnol*, 45 (2), 187-194.
20.Venogupal, V., and Shahidi, F. 1994. Thermostable water dispersions of myofibrillar proteins from Atlantic Mackerel *(Scomber scombrus)*. *Food Science*, 59, 2.

EJFPP., Vol. 2 (2): 99-110
http://ejfpp.gau.ac.ir

The effect of the extent of enzymatic hydrolysis on nitrogen recovery and protein molecular size of white cheek shark meat hydrolysate

R. Shokrpour Roodbari[1], *A. Motamedzadegan[2], S.H. Hosseiniparvar[2] and M.R. Ovissipour[3]

[1]M.Sc. Student, Dept. of Food Science and Technology, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [2]Assistant Prof., Dept. of Food Science and Technology, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [3]School of Food Science, Washington State University-USA

Received: 2011-05; Accepted: 2012-02

Abstract

The effect of enzymatic hydrolysis by Alcalase on degree of hydrolysis (DH), peptide chain length (PCL) and nitrogen recovery (NR) of White cheek shark meat *(Carcharhinus dussumieri)* has been studied. Hydrolysis carried out in four stages each at 10, 20 and 30 minutes. DH, and NR decreased, but PCL increased in each stage in compare with the previous one. The mean of DH in the whole process of 10, 20 and 30 minute were 1.91, 2.25, 2.53 for DH, 49.43, 56.58, 60.77 for NR, and 52.15, 44.35, 39.44% for PCL, in that order. However, at longer hydrolysis time, DH, and NR increased, but PCL decreased significantly ($P<0.05$).

Keywords: Hydrolysis; Alcalase; White cheek shark

* Corresponding Author; Email: amotgan@yahoo.com