نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 14، شماره 1، فروردین -اردیبهشت 1397 ص.176-162

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 14, No. 1, Apr. May. 2018, p. 162- 176

بررسی پروفیل اسیدچرب روغن، خواص عملکردی و آنتی‌اکسیدانی پروتئین حاصله از آبکافت آنزیمی اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده از آنزیم‌های پروتامکس و نئوتراز

سهیل ریحانی‌پول[1]- سید علی جعفرپور[2*]- رضا صفری[3]

تاریخ دریافت: 1394/11/20
تاریخ پذیرش: 1395/08/15

چکیده

هدف از مطالعه حاضر آبکافت پروتئین اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از آنزیم‌های پروتامکس و نئوتراز و مقایسه خواص عملکردی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو پروتئین آبکافتی تولید شده و همچنین بررسی پروفیل اسیدچرب روغن اندرونه به‌عنوان محصول جانبی فرایند آبکافت می‌باشد. آنزیم پروتامکس نسبت به نئوتراز منجر به تولید پودر پروتئینی، با درجه آبکافت (٪2/92 ±34/76) و بازیابی پروتئین (٪1/98 ±68/16) بالاتری شد. پروفیل اسیدچرب روغن اندرونه نشان داد که این روغن دارای 34 درصد اسیدچرب تک‌غیراشباع، 34/49 درصد اسیدچرب چندغیراشباع و 31/4 درصد اسیدچرب اشباع است. هر دو پروتئین آبکافتی در تمام pHهای تحت آزمون به‌جز pH=4 از حلالیت بالایی (بیشتر از 90 درصد) برخوردار بودند. از نظر شاخص فعالیت کف‌زایی و پایداری کف، پروتئین آبکافتی با پروتامکس نسبت به پروتئین آبکافتی با نئوتراز عملکرد مطلوبتری داشت تا جایی که در pH=6 توانست شاخص فعالیت کف‌زایی و پایداری کف ٪9/31 ±200/13 و ٪5/64 ±135/6 را به‌خود اختصاص دهد. این دو پروتئین دارای ظرفیت نگهداری آب حدود 4/5 میلی‌لیتر در گرم پروتئین آبکافتی بودند ($p>0.05$). قدرت مهار رادیکال DPPH پروتئین آبکافتی با پروتامکس به‌طور معنی‌داری بیشتر از پروتئین آبکافتی با نئوتراز بود ($p<0.05$). اما در مورد قدرت کاهندگی عکس این نتیجه ثبت شد و پروتئین آبکافتی با نئوتراز قدرت کاهندگی بالاتری نسبت به پروتئین آبکافتی حاصل از عمل پروتامکس داشت ($p<0.05$). در ضمن بین فعالیت چلاته‌کردن پروتئین آبکافتی با نئوتراز (٪5/49 ±69/44) و پروتئین آبکافتی حاصل از فعالیت پروتامکس (٪4/26 ±62/99) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p>0.05$).

واژه‌های کلیدی: آبکافت آنزیمی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، روغن اندرونه، خواص عملکردی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

با رشد روزافزرون جمعیت و در پی تلاش مراکز تولید مواد غذایی برای تامین غذا، ضایعات زیادی تولید می‌شود که می‌توان از این ضایعات مواد با ارزش افزوده تولید کرد و آنها را مجددا به چرخه تولید و مصرف بازگرداند. این کار از دو جهت، یعنی کاهش ضایعات و مسائل اقتصادی حائز اهمیت است. (اویسی‌پور و قمی، 1387). یکی از مراکزی که سهم بالایی در تولید ضایعات دارد، کارگاه‌های تکثیر و پرورش (مراکز عرضه) آبزیان است. آبزیان دارای حجم بالای ضایعات ازجمله سر، دم، باله‌ها، ستون فقرات و از همه مهم‌تر، اندرونه هستند. چنانچه این ضایعات به‌درستی مدیریت شوند می‌توانند در تولید مواد باارزشی از جمله پودر پروتئین آبکافتی (حاصل آبکافت ضایعات با استفاده از آنزیم‌های پروتئازی) و روغن ماهی (محصول جانبی فرایند آبکافت آنزیمی) مورد استفاده قرار گیرند. پروتئین‌های آبکافتی یک آنتی‌اکسیدان قوی هستند (Elavarasan *et al*., 2014; Ren *et al.*, 2010) که در صنایع غذایی می‌توانند جایگزین خوبی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی باشند. از این پروتئین‌ها می‌توان به‌عنوان ماده کف‌زا در نوشیدنی‌ها استفاده کرد. استفاده از پروتئین‌های آبکافتی در فرمول فراورده‌های گوشتی به‌واسطه قابلیت نگهداری آب بالا، موجب کاهش آبچک بعد از انجماد زدایی (Kristinsson, 1998) و افزایش بازده پخت (Onodenalore & Shahidi, 1996) می‌گردد.

1 و 2- به‌ترتیب دانشجو کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران.
3- مربی، عضو هئیت علمی پژوهشکده اکولوژی آبزیان دریای خزر، ساری، مازندران، ایران.
(*- نویسنده مسئول: (Email: a.jafarpour@gmail.com
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.53714

همچنین استفاده از این پروتئین‌ها در فراورده‌های غذایی با رطوبت متوسط، موجب بهبود ویژگی‌های بافتی آنها خواهد شد (Chiang *et al.*, 1999). روغن ماهی تولید شده به‌عنوان محصول جانبی فرایند آبکافت، سرشار از امگا3 است که فواید زیادی از جمله کاهش کلسترول خون، کمک به سلامت قلب و عروق، رشد سلولهای مغزی، کاهش وزن و پیشگیری از ایجاد سرطان دارد (Ruxton *et al*, 2004; Pak, 2005).

برای انجام فرایند آبکافت آنزیمی (بیوشیمیایی) از آنزیم‌های پروتئازی مختلفی استفاده شده است، از جمله این آنزیم‌ها می‌توان به آلکالاز، پروتامکس، نئوتراز، تریپسین (Diniz & Martin, 1997؛ Ovissipour *et al*., 2009)، پاپائین، پانکراتین (Ren *et al*., 2010 ; Shahidi *et al*., 2005)، بروملاین و فلاورزایم (Elavarasan *et al*., 2014) اشاره کرد. پروتامکس و نئوتراز دو نوع آنزیم پرتئازی میکروبی هستند که به‌ترتیب از دو گونه *Bacillus subtilis* و *Bacillus amyloliquefaciens* استخراج شده و در دامنه شرایط بهینه پیوندهای پپتیدی را تجزیه کرده و از سوبسترای پروتئینی، پودرهای پروتئین‌آبکافتی تولید می‌کنند (Aspmo *et al*.,2005؛ اویسی‌پور و همکاران، 1389).

انتخاب ضایعات ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، به‌واسطه تولید بسیار بالا در کشور، برای این کار قابلیت توجیه بالایی دارد. استفاده از این حجم بالای ضایعات، برای تولید پروتئین آبکافتی و روغن مستلزم مدیریت و تدبیر صحیح برای جمع‌آوری آنهاست، چرا که بخش اعظم این ماهی بدون فراوری به‌دست مصرف‌کننده می‌رسد، بنابراین حجم زیادی از ضایعات، در خانه‌های مردم و رستوران‌ها طی پاک‌کردن، دور ریز و تلف می‌شود. برای حل این مشکل، باید قوانینی وضع شود یا فرهنگ‌سازی صورت گیرد تا ماهی فروشان، ابتدا ضایعات این ماهی را جدا کرده و ماهی را بدون ضایعات و به‌صورت پاک شده به مشتری تحویل دهند. در نهایت با مراجعه به مراکز فروش آبزیان، به‌راحتی می‌توان این ضایعات را جمع‌آوری نمود.

هدف از پژوهش حاضر، آبکافت اندرونه ماهی مذکور با استفاده از دو آنزیم تجاری (نئوتراز و پروتامکس)، بررسی و مقایسه خواص عملکردی (حلالیت، شاخص فعالیت کف‌زایی، پایداری کف و ظرفیت نگهداری آب) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH، قدرت کاهندگی یون فریک و چلاته‌کردن فلزات) دو نوع پروتئین حاصل و ارزیابی پروفیل اسیدچرب روغن تولیدشده به‌عنوان محصول جانبی فرایند آبکافت است.

مواد و روش‌ها

اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از بازار ماهی فروشان شهرستان ساری تهیه و در ظروف درب‌دار محتوی یخ، به آزمایشگاه گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل شد. این ضایعات توسط همزن، هموژن و تا شروع آزمایش در دمای 18- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در این پژوهش از دو آنزیم میکروبی نئوتراز (0/8 AU/g) و پروتامکس (1/5 AU/g) برای آبکافت آنزیمی استفاده شد. آنزیم‌های مذکور (Novozymes، دانمارک) از نمایندگی تهیه و تا شروع آزمایش در دمای یخچال (4 درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند.

آماده‌سازی پروتئین‌های آبکافتی

برای انجام فرایند آبکافت، 100گرم اندرونه هموژن‌شده در ارلن 500 میلی‌لیتری ریخته شد، سپس 200 میلی‌لیتر بافر فسفات با pH=7/4 به ارلن اضافه شد. از آنجا که اندرونه دارای آنزیم‌های داخلی بوده و هدف بررسی اثر آنزیم‌های تجاری است، قبل از اضافه کردن آنزیم‌های تجاری، ارلن‌ها 20 دقیقه در حمام آبی (Memert wnb 29, Germany) با دمای 85 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا آنزیم‌های داخل بافتی غیرفعال شوند. سپس برای اطمینان، pH محتویات کنترل شده و تا 7 (مناسب برای فعالیت دو آنزیم) تنظیم شد. بعد از این مرحله و خنک‌شدن محتوای ارلن‌ها، آنزیم‌ها به میزان 1/5 درصد (به ازای یک کیلوگرم سوبسترای پروتئین) به مخلوط‌ها اضافه و متعاقب، ارلن‌ها در انکوباتور شیکردار (Cold shaker incubator, TM 65, Iran) با دمای 50 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از سه ساعت آبکافت، ارلن‌ها به مدت 15 دقیقه در دمای 95 درجه‌سانتی‌گراد قرار گرفتند تا در این دما آنزیم‌های تجاری غیرفعال شده و واکنش خاتمه یابد. پس از خنک‌شدن ارلن‌ها، محتوی آنها 20 دقیقه در دمای 10 درجه سانتی-گراد با دور 8000×g، سانتریفوژ (D-78532 Tuttlingen,Germany) شدند. بعد از سانتریفوژ، در فالکون‌ها چهار لایه دیده شد که بالاترین فاز (لایه) روغن است. فرم متیل‌استر این روغن (حاصل از آبکافت اندورنه با پروتامکس) برای مشخص شدن پروفیل اسیدچرب آن به دستگاه کروماتوگرافی گازی (CP 3800 Varian, Holland) تزریق شد. بعد از جدا کردن روغن، فاز زیرین آن که حاوی پروتئین محلول است، ایزوله و با دستگاه خشک‌کن انجمادی (Vaco 2 Zirbus, Germany) به پودر پروتئینی تبدیل شد (Guerard *et al*., 2002; Safari *et al*., 2012; Ovissipour *et al*., 2009; Ovissipour *et al*.,2010). تولید پودر پروتئینی برای هر آنزیم در سه تکرار انجام گرفت.

ترکیب شیمیایی

اندرونه و پروتئین‌های آبکافتی مشتق‌شده از آنها با استفاده از روش‌های استاندارد AOAC مورد آنالیز شیمیایی قرار گرفتند (AOAC, 2005).

درجه آبکافت فرایند

به‌منظور تعیین درجه آبکافت، بعد از پایان فرایند آبکافت و سانتریفوژ محلول‌های محتوی پروتئین آبکافتی، 1/5 میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) 20 درصد به 1/5 میلی‌لیتر مایع رویی افزوده شد و محلول حاصل با دور 6700g در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مدت 20 دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس نیتروژن موجود در فاز رویی[1] جدید (محلول 10 درصد تری‌کلرواستیک اسید) به روش بیورت (Layne, 1957) سنجیده شد (برای رسم منحنی استاندارد از سرم آلبومین گاوی استفاده شد). درجه آبکافت فرایند از رابطه زیر محاسبه گردید (Hoyle & Merritt, 1994) :

(1) 100× (نیتروژن کل/ نیتروژن موجود در محلول 10 درصد تری‌کلرواستیک اسید)= درصد درجه آبکافت

طول زنجیره پپتیدی (PCL[2]) و بازیابی پروتئین (PR[3])

میانگین طول زنجیره پپتیدی از طریق رابطه زیر (Adler-Nissen & Olsen, 1979) و بازیابی پروتئین به‌صورت مقدار(گرم) پروتئین آبکافت‌شده نسبت به میزان اولیه پروتئین محاسبه شد (Ovissipour *et al*., 2009).

(2) PCL =100 /درجه آبکافت

ارزیابی رنگ

رنگ پروتئین‌های آبکافتی با استفاده از دستگاه رنگ سنج (IMG-pardazesh cam- system XI, Iran) در سیستم CIE بر مبنای شاخص‌های L^*، a^*، b^*و W^* مورد بررسی قرار گرفت (Kunte *et al*., 1997).

حلالیت

به‌منظور محاسبه میزان حلالیت پروتئین آبکافتی در آب، 200 میلی‌گرم از آن با 20 میلی‌لیتر آب دیونیزه مخلوط گردید. سپس با استفاده از اسید و سود 0/2 نرمال، pH محلول حاضر به 2، 4، 6، 8، 10 و 12 رسانده شد. این مخلوط (با pH مشخص) 30 دقیقه در دمای اتاق همزده و سپس 15 دقیقه با دور 7500g سانتریفوژ شد. بعد از سانتریفوژ دو فاز رویی و زیرین ظاهر گردید. پروتئین محلول در فاز رویی از روش بیورت و پروتئین موجود در نمونه بعد از حل شدن آن در سود 0/5 نرمال تعیین شد (Robinson & Hodgen ,1940). حلالیت پروتئین از رابطه زیر به‌دست آمد:

(3) 100×(پروتئین کل/پروتئین محلول در سوپرناتانت)= حلالیت

شاخص فعالیت کف‌کنندگی (FAI[4]) و پایداری کف (FSI[5])

برای اندازه‌گیری شاخص فعالیت کف‌کنندگی (کف‌زایی)، 20 میلی‌لیتر محلول 0/5 درصد پروتئین آبکافتی با استفاده از هموژنایزر (Ika, Germany) با سرعت 13500 دور در دقیقه در دمای اتاق به مدت دو دقیقه هموژن شد. نمونه همزده شده به سرعت به سیلندرهای مدرج 300 میلی‌لیتری منتقل و حجم مخلوط پس از 30 ثانیه قرائت گردید (Sathe & Salunkhe, 1981). این شاخص به‌صورت درصد بیان شده و از طریق فرمول زیر محاسبه گردید:

(4) 100× (حجم نمونه قبل از همزدن/ (حجم نمونه قبل از همزدن- حجم نمونه بعد از همزدن))= شاخص فعالی کف‌کنندگی

نمونه همزده شده، به مدت 30 دقیقه در دمای 20 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری و سپس حجم نمونه یادداشت شد. شاخص پایداری کف به‌صورت درصد بیان شده و از رابطه زیر محاسبه گردید (Sathe & Salunkhe, 1981):

(5) 100× (حجم نمونه قبل از همزدن/ (حجم نمونه قبل از همزدن- حجم نمونه بعد از قرارگیری در دمای 20 درجه سانتی‌گراد))= شاخص پایداری کف

ظرفیت نگهداری آب (WHC[6])

برای اندازه‌گیری این شاخص، 100 میلی‌گرم نمونه پروتئینی با 10 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و در دمای 22 درجه سانتی‌گراد به مدت 20 دقیقه با دور 1800g سانتریفوژ و فاز رویی با خم کردن لوله آزمایش (زاویه 45 درجه) به مدت 10 دقیقه تخلیه شد. اختلاف حجم فاز رویی و حجم اولیه آب (10 میلی‌لیتر) برابر است با ظرفیت نگهداری آب پروتئین آبکافتی. ظرفیت نگهداری آب به‌صورت میلی‌لیتر آب نگهداری‌شده در گرم پودر پروتئینی بیان می‌شود (Rodríguez-Ambriz *et al*, 2005).

قدرت مهار رادیکال آزاد 2و2 دیفنیل -1- پیکریل هیدرازیل (DPPH)

برای اندازه‌گیری این شاخص، ابتدا محلول 2 میلی‌گرم در میلی‌لیتر پروتئین آبکافتی تهیه شد. این محلول با نسبت برابر به محلول 0/1 میلی‌مولار رادیکال DPPH در اتانول 99/50 اضافه و با سرعت بالا هموژن شد. محلول حاضر به مدت 30 دقیقه در مکان تاریک (داخل کابینت) انکوبه و بعد از این مدت، جذب آن در طول موج 517 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر(UV/Vis UV-M51

1 Supernatant
2 Peptide Chain Length
3 Protein Recovery

4 Foam Activity Index
5 Foaming Stability Index
6 Water Holding Capacity

Spectrophotometer, Italy) قرائت شد. قدرت مهار رادیکال DPPH پروتئین‌های آبکافتی با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Yen & Wu, 1999).

(6) 100× (جذب شاهد/ جذب نمونه)- 1= قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH

قدرت کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی (فریک)

به‌منظور بررسی قدرت این پروتئین‌ها برای کاهش یون فریک (آهن سه ظرفیتی) به فرو (آهن دو ظرفیتی) ابتدا محلول 40 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پروتئین آبکافتی تهیه شد. سپس 1 میلی‌لیتر از محلول آماده‌شده با 2/5 میلی‌لیتر بافر فسفات 0/2 مولار (pH= 6/6) و 2/5 میلی‌لیتر محلول 1% وزنی- حجمی پتاسیم فریسیانید مخلوط گردید. برای انجام واکنش، این محلول به مدت 30 دقیقه در دمای 50 درجه سانتی‌گراد انکوبه و بعد از این مدت به منظور خاتمه‌دادن به واکنش، 2/5 میلی‌لیتر محلول 10 درصد وزنی- حجمی تری‌کلرواستیک‌اسید به محلول واکنش اضافه گردید. در نهایت 2/5 میلی‌لیتر از این مخلوط با 2/5 میلی‌لیتر آب مقطر و 0/5 میلی‌لیتر فریک‌کلرید 0/1 درصد ترکیب و 10 دقیقه در دمای محیط انکوبه و سپس جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 700 نانومتر قرائت شد. جذب بالاتر نشان‌دهنده قدرت کاهندگی بیشتر پروتئین‌های آبکافتی است (Oyaiza, 1986).

فعالیت چلاته‌کنندگی فلزات

برای سنجش این خاصیت در پروتئین‌های آبکافتی، ابتدا محلول 40 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پروتئین آبکافتی تهیه شد و یک میلی‌لیتر از آن به 3/7 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. سپس به محلول حاضر 0/1 میلی‌لیتر محلول 2 میلی‌مولار کلریدآهن و 0/2 میلی‌لیتر محلول 5 میلی‌مولار فروزین اضافه و 20 دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. بعد از این مدت، جذب محلول در طول موج 562 نانومتر قرائت و فعالیت چلاته‌کنندگی از طریق رابطه زیر محاسبه گردید (Decker & Welch, 1990):

(7) 100× (جذب شاهد/ جذب نمونه در طل موج 562 نانومتر- 1)= فعالیت کلاته کردن فلزات (٪)

برای ساخت شاهد، به‌جای نمونه پروتئینی از آب مقطر استفاده شد. لازم به ذکر است که در سنجش هر سه شاخص فعالیت آنتی‌اکسیدانی، از بوتیلیدهیدروکسی‌تولوئن (BHT) و بوتیلیدهیدروکسی‌آنیزول (BHA) در غلظت 200ppm برای مقایسه استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این پژوهش در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا شده و به‌منظور آنالیز آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه 19 استفاده گردید و داده‌ها از طریق آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) آنالیز شده و معنی‌داری تفاوت بین میانگین‌ها توسط آزمون دانکن و t-test در سطح اطمینان 95 درصد مورد بررسی قرار گرفت. برای رسم نمودارها و جداول از نرم‌افزار Excel (2014) استفاده شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی

مطابق جدول 1، پروتئین‌های آبکافتی دارای مقادیر بالای پروتئین (ازت) هستند. نتایج سایر پژوهش‌ها نیز از وجود درصد بالای پروتئین در پودرهای پروتئینی آبکافتی حکایت دارد (اویسی‌پور و همکاران، 1389; بخشان و همکاران، 1393; Souissi *et al.*, 2007 ; Taheri *et al.*, 2012 Wasswa *et al.*, 2007). همانطور که در جدول 1 مشاهده می‌شود، میزان پروتئین در پودر پروتئین آبکافتی با پروتامکس (85/40 ±1/58٪) مقداری بیشتر از پودر پروتئین آبکافتی حاصل از عمل نئوتراز (82/95 ±0/7٪) است اما اختلاف معنی‌داری از این نظر وجود ندارد ($p>0.05$). میزان چربی در پروتئین‌های آبکافتی نسبت به سوبسترا به‌صورت چشمگیری کاهش یافت (کمتر از یک درصد). پژوهش های متعددی (Shahidi *et al.*, 1995; Gbogouri *et al.*, 2004 Pacheco-Aguilar *et al.*, 2008) وجود چربی کمتر از 1 درصد را در پروتئین آبکافتی گزارش کردند. علت کم‌چرب بودن پروتئین‌های آبکافتی را می‌توان اینطور توجیه کرد که استفاده از فرایندهای حرارتی (در آغاز و پایان فرایند آبکافت) و آنزیم موجب تخریب بافت سوبسترا و آزاد شدن چربی آن می‌گردد. این چربی (روغن) بعد از سانتریفوژ مخلوط آبکافت (سوبسترا، بافر و آنزیم) در بالاترین فاز قرار می‌گیرد و برای رسیدن به مایع محتوی پروتئین محلول، این فاز جدا می‌شود. به این ترتیب پروتئین‌های آبکافتی چربی بسیار کمی دارند. همانطور که در جدول 1 مشاهده می‌شود میزان چربی در پودر آبکافتی با نئوتراز (0/91± 0/06٪) به‌طور معنی‌داری ($p<0.05$) بیشتر از پودر حاصل از فعالیت پروتامکس (0/77± 0/05٪) است. علت این امر را شاید بتوان در قدرت بیشتر آنزیم پروتامکس نسبت به نئوتراز و در تجزیه بیشتر پیوندهای پپتیدی و آزادشدن حجم بالاتری از روغن (بالاتربن فاز پس از سانتریفوژ) دانست. ضمن اینکه دو پودر پروتئین آبکافتی مقدار رطوبت و خاکستر تقریبا یکسانی دارند ($p>0.05$).

ارزیابی رنگ پروتئین‌های آبکافتی

رنگ محصولات غذایی یکی از فاکتورهای مهم بازارپسندی است (Bueno-Solano *et al.*, 2009). جدول 2 شاخص‌های رنگی هر دو پروتئین آبکافتی را در سیستم CIE نشان می‌دهد، همانطور که مشهود

است این دو پروتئین فقط از نظر شاخص روشنایی با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند ($p<0.05$) به گونه‌ای که پروتئین آبکافتی با پروتامکس به‌طور معناداری روشن‌تر از پروتئین آبکافتی حاصل از عمل نئوتراز است. آنالیز شاخص‌های رنگی پروتئین آبکافتی تولیدشده از سوبسترای پوست ماهی علفخوار[7] با استفاده از آلکالاز (درجه آبکافت ٪14/9) نشان داد که این پروتئین دارای شاخص روشنایی 0/7 ±59/3، قرمزی 0/8 ±1/38- و زردی 0/9 ±26/6 است (Wasswa *et al*., 2007). این اختلاف در شاخص‌های رنگی پروتئین‌های آبکافتی تهیه شده از سوبسترهای مختلف ناشی از عواملی مانند نوع سوبسترا (گونه ماهی)، نحوه فراوری، محتوی چربی و رطوبت، نور، دما، هموگلوبین، میوگلوبین و سایر پروتئین‌ها و رنگدانه‌هاست (Bueno-Solano *et al*., 2009). در مورد اثر نوع سوبسترا در تعیین رنگ پروتئین‌های آبکافتی می‌توان اظهار داشت که، اندرونه قزل‌آلا حاوی رنگدانه‌های متعددی است که می‌توانند در رنگ پروتئین آبکافتی مشتق‌شده از آن بسیار موثر باشند (Taheri *et al*., 2012)

درجه آبکافت، میانگین طول زنجیره پپتیدی و بازیابی پروتئین

درجه آبکافت یکی از فاکتورهای بسیار مهم فرایند آبکافت می‌باشد و به معنای درصدی از پیوندهای پپتیدی است که توسط آنزیم تجاری طی فرایند آبکافت شکسته می‌شوند. در تحقیق فعلی درجه آبکافت پروتئین آبکافتی با پروتامکس (٪2/92 ±34/76) به‌طور معناداری ($p<0.05$) بیشتر از پروتئین آبکافتی با نئوتراز (٪2/63 ±27/41) می‌باشد (جدول 3). این امر را می‌توان با توجه به قدرت آنزیم‌ها تحت شرایط این آزمایش توجیه کرد. بدین معنی که آنزیم پروتامکس تحت شرایط این آزمایش قوی‌تر از آنزیم نئوتراز عمل کرد و توانست طی سه ساعت، درصد بیشتری از پیوندهای پپتیدی مولکول پروتئین را تجزیه کند. هرچه درجه آبکافت بیشتر باشد، میانگین طول زنجیره پپتیدی کمتر خواهد بود (رابطه عکس). در جدول 3 این امر به وضوح قابل رویت است. همانطور که مشاهده می‌شود، میانگین طول زنجیره پپتیدی پروتئین آبکافتی با پروتامکس به‌طور معناداری ($P<0.05$) کمتر از پروتئین آبکافتی با نئوتراز است. در تحقیقی که بافت ماهی کپور آب شیرین (*Catla catla*) با استفاده از آنزیم‌های آلکالاز، بروملاین، فلاورزایم و پروتامکس به‌ترتیب با نسبت‌های آنزیم به سوبسترای 1، 0/5، 1 و 2 درصد آبکافت شد، بیشترین درجه آبکافت (٪12/61) و کمترین طول زنجیره پپتیدی (7/93) به پروتئین آبکافتی با پروتامکس تعلق داشت (Elavarasan *et al*., 2014). یکی دیگر از پارامترهای مهم در بحث آبکافت پروتئین‌ها، بازیافت پروتئین است. این شاخص در واقع نشان‌دهنده نسبت گرم پروتئین آبکافتی تولیدشده به گرم پروتئین سوبستراست و مانند درجه آبکافت با قدرت آنزیم رابطه مستقیم دارد. یعنی هرچه یک آنزیم تحت شرایط آزمایش قوی‌تر عمل کند و باندهای بیشتری را بشکند، منجر به تولید گرم پروتئین آبکافتی بیشتری می‌شود. در پژوهش حاضر آنزیم پروتامکس منجر به تولید پودر پروتئین آبکافتی با درصد بالاتر بازیابی پروتئین (٪1/98±68/16) نسبت به نئوتراز (٪2/77 ±55/26) شد ($P<0.05$). بازیابی پروتئین در چهار پودر پروتئین آبکافتی که از ماهی کاپلین (*Mallotus villosus*) با استفاده از آنزیم‌های پاپائین، نئوتراز، آلکالاز و آنزیم‌های داخلی تولید شده بودند، به‌ترتیب 2/13 ±57/1، 1/92 ±51/6 و 1/50 ±70/6 و 1/66 ±22/9 درصد بود (Shahidi *et al*., 1995).

ارزیابی پروفیل اسیدچرب روغن اندرونه

جدول 4 پروفیل اسیدچرب روغن اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان را نشان می‌دهد. همانطور که پیش‌تر عنوان شد، این روغن محصول جانبی فرایند آبکافت اندرونه با آنزیم پروتامکس است. طبق جدول، پالمتیک‌اسید، دکوزاهگزانوئیک‌اسید (DHA)، اولئیک‌اسید، ایکوزانوئیک‌اسید و ایکوزاپنتانوئیک‌اسید (EPA) جز اسیدهای چرب اصلی این روغن هستند که سهم هر کدام از آنها 9 تا 17 درصد است. روغن اندرونه از نظر لیگنوسریک اسید، بهنیک اسید، ایکوسادینوئیک اسید، مریستولئیک اسید، اوریک اسید و آراشیدیک اسید بسیار فقیر است و اسیدهای مذکور از 0/1 تا کمتر از یک درصد این روغن را تشکیل می‌دهند. لازم به ذکر است که در بین اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFA)، دکوزاهگزانوئیک‌اسید (٪11/29)، در بین اسیدهای چرب تک‌غیراشباع (MUFA)، اولئیک‌اسید (٪9/68) و در بین اسیدهای چرب اشباع (SFA)، پالمتیک‌اسید (٪16/49) بیشترین فراوانی را در این روغن داشتند. طبق جدول 4، در مجموع این روغن دارای 34 درصد اسیدچرب تک غیراشباع، 34/49 (28/27 درصد امگا3 +6/22 درصد امگا6) درصد اسیدچرب چندغیراشباع و 31/4 درصد اسیدچرب اشباع می‌باشد. دو اسید چرب امگا3 مهم در روغن ماهی دکوزاهگزانوئیک اسید و ایکوزاپنتانوئیک اسید هستند. سهم این دو اسید چرب در روغن اندرونه قزل‌آلا به‌ترتیب 11/29 و 9/08 درصد بود (جدول 4). نقش این اسیدهای چرب بر سلامتی انسان غیرقابل انکار است. چرا که از طریق کاهش سطوح تری‌گلسرید و کلسترول خون موجب پیشگیری از بیماریهای قلبی- عروقی می‌شوند. همچنین نقش اسیدهای چرب مذکور در بهبود عملکرد سیستم ایمنی، درمان انواع سرطان، زخم‌های مزمن، ریزش مو، آسم و غیره سال‌هاست که به اثبات رسیده است.

بررسی پروفیل اسیدچرب روغن ماهی کیلکا نشان داد که سهم دکوزاهگرانوئیک اسید و ایکوزاپنتانوئیک اسید از کل روغن به‌ترتیب 5/89 و 6/35 درصد می‌باشد ضمن اینکه سطح PUFA و MUFA در روغن کیلکا، به‌ترتیب 21/77 و 40/74 درصد است (ملاحمدی و

7 *Ctenopharyngodon idella*

همکاران،1393). همچنین در پژوهشی که پروفیل اسید چرب روغن گوشته ماهی مرکب (*Sepia pharaonis*) ارزیابی شد، میزان PUFA، MUFA، EPAو DHA آن به‌ترتیب 50/3، 11، 7/6 و 28/3 درصد گزارش شد (Thanonkaew *et al*., 2006). از مقایسه روغن اندرونه قزل‌آلا و دو روغن مذکور چنین بر می‌آید که ارزش این روغن از نظر غنی بودن از اسیدهای چرب مفید، تقریبا معادل دو روغن دیگر است. نسبت MUFA به PUFA (مقاومت اکسایشی روغن‌ها)، PUFA به SFA (ارزش غذایی روغن‌ها)، امگا3 به امگا6 و DHA به EPA در روغن اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌ترتیب معادل 0/98، 1/09، 4/54 و 1/24 بود (جدول 4). این نسبت‌ها در روغن گوشته ماهی مرکب (*Sepia pharaonis*) به‌ترتیب 0/21، 1/43، 3/1 و 3/7 گزارش شدند (Thanonkaew *et al*., 2006).

حلالیت پروتئین‌های آبکافتی

حلالیت یکی از مهمترین خواص عملکردی پروتئین‌های آبکافتی است که بر سایر خواص از جمله کف‌زایی و پایداری کف، فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی اثرگذار است (Wilding *et al*., 1984). پروتئین میوفیبریلی دست‌نخورده، در دامنه وسیعی از pH فاقد حلالیت است (Shahidi, 1994 Spinelli *et al*., 1972 & ;Venugopal) و آبکافت آنزیمی موجب شکستن پروتئین‌ها به پپتیدهای کوچک و افزایش حلالیت آنها می‌شود. در تحقیق حاضر هر دو پروتئین آبکافتی حلالیت بالایی را در آب نشان دادند. نتایج سایر پژوهش‌ها نیز از حلالیت بسیار بالای پروتئین‌های آبکافتی حکایت دارد (Nalinanon *et al*., 2010; Klompong *et al*., 2007 ; Taheri *et al*., 2012).

مطابق جدول 5، حلالیت پروتئین آبکافتی با پروتامکس در تمام pHها کمی بیشتر از پروتئین آبکافتی با نئوتراز است اما به غیر از pH=4، در سایر pHها اختلاف معنی‌داری از این نظر بین دو پروتئین وجود ندارد (P>0.05). اختلاف در حلالیت دو پروتئین آبکافتی (در pH یکسان) می‌تواند دلایل مختلفی داشته باشد که از آن جمله می‌توان به تفاوت در وزن مولکولی (Linder *et al*., Chobert *et al*., 1988 1996) و نسبت آمینواسیدهای آبدوست و آبگریز (Gbogouri *et al*., 2004) پپتیدهایی اشاره کرد که در اثر آبکافت با هر آنزیم تولید می‌شوند. شرایطی که بر جذب آب پروتئین اثر منفی می‌گذارند، سبب کاهش حلالیت آن نیز می‌شوند. البته این یک قانون کلی نیست و همیشه رابطه مستقیمی میان کاهش یا افزایش جذب آب یک پروتئین با کاهش یا افزایش میزان حلالیت وجود ندارد (فاطمی، 1378). همانطور که در جدول 5 مشاهده می‌شود، هر دو پروتئین در pH=4 نسبت به سایر pHها حلالیت کمتری دارند (البته حلالیت پروتئین آبکافتی با پروتامکس در pHهای 4 و 8 اختلاف معنی‌داری ندارد (p>0.05)) چرا که این pH در محدوده نقطه ایزوالکتریک پروتئین‌های این ماهی قرار دارد (Linder Chobert *et al*., 1988; 1996 *et al*.,). همچنین بیشترین میزان حلالیت هر دو پروتئین آبکافتی مربوط به pH=6 است گرچه حلالیت هر کدام از این دو پروتئین در این pH با pHهای ۱۰،۲ و 12 اختلاف معنی‌داری ندارد (p>0.05). پروتئین آبکافتی تولید شده از سر و اندرونه ماهی ساردین (*Sardinella aurita*) با استفاده از آنزیم آلکالاز (درجه آبکافت 10/16%) حداقل حلالیت را در pH=3 (زیر 60٪) و حداکثر میزان آن را در pH=6 (100%) نشان داد (Souissi *et al*., 2007). حلالیت پروتئین آبکافتی تولید شده از فیله ماهی *Nemipterus hexodon* با استفاده از آنزیم پپسین (درجه آبکافت 10٪) در pHهای 3، 5، 7 و 9 به‌ترتیب معادل 2 ±97/8، 1/1 ±71/2، 0/5 ±97 و 0/7 ±96/6 درصد بود (Nalinanon *et al*., 2011).

جدول 1– آنالیز شیمیایی ماده خام و پروتئین‌های آبکافتی حاصل از آن

ماده	پروتئین (٪)	چربی (٪)	رطوبت (٪)	خاکستر (٪)
اندرونه قزل آلا	16/01 ± 0/31	12/98 ± 0/72	67/12 ± 0/62	3/85 ± 0/42
پروتئین آبکافتی با پروتامکس	85/40 ± 1/58[a]	[a]0/77 ± 0/05	3/57 ± 0/58[a]	[a] 7/61 ± 0/87
پروتئین آبکافتی با نئوتراز	82/95 ± 0/7 [a]	[b] 0/91 ± 0/06	[a]3/49 ± 0/35	[a] ± 0/35 7/44

حروف یکسان بالای اعداد نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین آنهاست.

جدول 2- آنالیز رنگ پروتئین‌های آبکافتی

شاخص‌های رنگی	پروتئین آبکافتی با پروتامکس	پروتئین آبکافتی با نئوتراز
شاخص روشنایی (L*)	73/69 ± 0/06[a]	68/70 ± 1/11[b]
شاخص قرمزی (a*)	2/68 ± 0/77[a]	3/95 ± 0/89[a]
شاخص زردی (b*)	29/81 ± 2/71[a]	26/84 ± 1/75[a]
شاخص سفیدی (w*)	60/17 ± 2/07[a]	58/57 ± 1/67[a]

حروف یکسان بالای اعداد نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های هر سطر است.

جدول 3- درجه آبکافت، میانگین طول زنجیره پپتیدی و بازیابی پروتئین

آنزیم	درجه آبکافت (٪)	میانگین طول زنجیره پپتیدی	بازیابی پروتئین (٪)
پروتامکس	$34/76 \pm 2/92^{a}$	$2/88 \pm 0/23^{a}$	$68/16 \pm 1/98^{a}$
نئوتراز	$27/41 \pm 2/63^{b}$	$3/66 \pm 0/35^{b}$	$55/26 \pm 2/77^{b}$

حروف متفاوت بالای داده‌ها نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین آنهاست.

جدول 4- پروفیل اسیدچرب روغن اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

ردیف	پروفیل اسید چرب	شماره پیوند دوگانه	نام اسید چرب	مقدار (٪)
1	C 14 : 0		Myristic acid	5/93
2	C 14 : 1	n-5	Myristoleic acid	0/98
3	C 16 : 0		Palmitic acid	16/49
4	C 16 : 1	n-7	Palmitoleic acid	5/04
5	C 18 : 0		Stearic acid	8/16
6	C 18 : 1	n-9	Oleic acid	9/68
7	C 18 : 1	n-7	Vaccenic acid	8/14
8	C 18 : 2	n-6	Linoleic acid	2/01
9	C 18 : 3	n-3	α-Linolenic acid	3/03
10	C 20 : 0		Arachidic acid	0/12
11	C 20 : 1	n-9	Eicosenoic acid	9/28
12	C 20 : 2	n-6	Eicosadienoic acid	0/98
13	C 20 : 3	n-3	Eicosatrienoic acid	4/87
14	C 20 : 4	n-6	Arachidonic acid	3/23
15	C 20 : 5 (EPA)	n-3	Eicosapentaenoic acid	9/08
16	C 22 : 0		Behenic acid	0/6
17	C 22 : 1	n-9	Erucic acid	0/88
18	C 22 : 6 (DHA)	n-3	Docosahexaenoic acid	11/29
19	C 24 : 0		Lignoceric acid	0/1
20	Other			0/11

جدول 5- میزان حلالیت پروتئین‌های آبکافتی در pHهای مختلف

pH	حلالیت پروتئین آبکافتی با پروتامکس (%)	حلالیت پروتئین آبکافتی با نئوتراز (٪)
2	$96/67 \pm 3/16^{Abc}$	$94/31 \pm 2/81^{Aef}$
4	$91/26 \pm 3/2^{Ba}$	$84/65 \pm 1/84^{Cd}$
6	$99/37 \pm 0/89^{Dc}$	$97/17 \pm 1/46^{Df}$
8	$93/67 \pm 1/63^{Eab}$	$93 \pm 1/76^{Ee}$
10	$99/01 \pm 0/38^{Fc}$	$95/32 \pm 2/69^{Fef}$
12	$96/43 \pm 3/49^{Gbc}$	$94/04 \pm 0/22^{Gef}$

حروف بزرگ یکسان نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های هر سطر است (اثر آنزیم).
حروف کوچک یکسان نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های هر ستون است (اثر pH).

شاخص فعالیت کف‌زایی و پایداری کف پروتئین‌های آبکافتی

در پژوهش حاضر هر دو پروتئین آبکافتی در مقایسه با سایر پژوهش‌ها (Klompong *et al*., 2007; Elavarasan *et al*., 2014)، شاخص فعالیت کف‌زایی و پایداری کف مناسبی ارائه کردند. همانطور که در جدول 6 مشاهده می‌شود، در تمام pHهای مورد بررسی به غیر از pH=4، پروتئین آبکافتی با پروتامکس به‌طور معناداری شاخص فعالیت کف‌زایی بیشتری نسبت به پروتئین آبکافتی حاصل از فعالیت نئوتراز دارد ($p<0.05$). ضمن اینکه هر دو پروتئین

بیشترین کف را در pH=6 و کمترین مقدار آن را در pH=4 تولید کردند. علت کاهش این شاخص در pH=4، کمتر بودن حلالیت پروتئین در این pH (ایزوالکتریک) نسبت به سایر pHهاست (Pearson, 1983). تشکیل کف تحت تاثیر عواملی مانند انتقال، نفوذ و سازمان‌دهی مجدد مولکول‌ها در سطح مشترک هوا و آب قرار دارد (Halling, 1981 ; Wilde & Clark, 1996). پروتئینی دارای قدرت کف‌زایی بالاست که بتواند سریع‌تر به سطح مشترک آب و هوا مهاجرت کند و در نتیجه کاهش کشش سطحی، ساختارش از حالت پیچ و تاب خارج (باز) و مجددا بازآرایی شود. در روند جذب (مهاجرت) پروتئین به سطح مشترک آب- هوا، عواملی مانند اندازه، ساختار و گروه‌های آبگریز مولکول پروتئینی، منبع پروتئین و روش آبکافت دخیل هستند (Taheri *et al*., 2012, Martin *et al*., 2002).

جدول 6- شاخص فعالیت کف‌زایی پروتئین‌های آبکافتی در pHهای مختلف

pH	شاخص کف زایی پروتئین آبکافتی با پروتامکس (٪)	شاخص کف زایی پروتئین آبکافتی با نئوتراز (٪)
2	$143/86 \pm 8/42^{Ad}$	$129/46 \pm 6/98^{Bi}$
4	$19/60 \pm 2/88^{Ca}$	$44/53 \pm 5/25^{Df}$
6	$200/13 \pm 9/31^{Ee}$	$159/87 \pm 6/24^{Fj}$
8	$118/93 \pm 3/44^{Gb}$	$95/73 \pm 5/82^{Hh}$
10	$141/2 \pm 5/41^{Id}$	$83/06 \pm 1/77^{Jg}$
12	$126/8 \pm 2/62^{Kc}$	$81/46 \pm 4/02^{Lg}$

حروف بزرگ یکسان نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های هر سطر است (اثر آنزیم).
حروف کوچک یکسان نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های هر ستون است (اثر pH).

شاخص بعدی در این زمینه، پایداری کف است. مطابق با جدول 7، پایداری کف پروتئین آبکافتی با پروتامکس در تمام pHها به غیر از pH=8 و pH=4 به‌طور معناداری ($p<0.05$) بیشتر از پروتئین آبکافتی با نئوتراز است. لازم به ذکر است که هر دو پروتئین در pH=6 و pH=4 به ترتیب بیشترین و کمترین پایداری کف را ارائه کردند (جدول 7). شاخص فعالیت کف‌زایی و پایداری کف پروتئین آبکافتی حاصل از اندرونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با آنزیم آلکالاز در pHهای 2 تا 10 به‌ترتیب از حدود 80 تا 250 و 30 تا 100 درصد متغیر بود. ضمن اینکه بیشترین مقدار این شاخص‌ها به pH=6 و کمترین آنها به pH=4 تعلق داشت (Taheri *et al*., 2012). یکی از مواردی که در پایداری کف موثر است، ترکیب آمینواسیدی پروتئین آبکافتی است. وجود دو آمینواسید هیدروکسی‌پرولین[1] و هیدروکسی‌لایزین[2] در پروتئین‌های آبکافتی موجب افزایش شمار پیوندهای هیدروژنی و متعاقب تراکم بار پروتئین می‌شود. به این طریق این دو آمینواسید کف را پایدار می‌کنند (Giménez *et al*., 2009). بنابراین در پروتئین آبکافتی که غلظت این دو اسیدآمینه بالاست، پایداری کف مطلوبی انتظار می‌رود. پژوهشی که شاخص فعالیت کف‌زایی و پایداری آن را در پروتئین‌های آبکافتی تهیه‌شده از بافت ماهی کپور آب شیرین (*Catla catla*) به‌وسیله چهار آنزیم آلکالاز، بروملاین، پروتامکس و فلاورزایم مورد ارزیابی قرار داد، پروتئین آبکافتی با فلاورزایم را به‌عنوان مناسب‌ترین پروتئین از نظر این دو شاخص معرفی کرد چرا که این پروتئین تا حدود 130درصد قدرت کف‌زایی داشت و بعد از نیم ساعت توانست تا بالای 90درصد آن را حفظ کند (Elavarasan *et al*., 2014).

ظرفیت نگهداری آب پروتئین‌های آبکافتی

ظرفیت نگهداری آب پروتئین آبکافتی با پروتامکس (4/77±0/48 میلی‌لیتر در گرم پروتئین) اندکی از پروتئین آبکافتی با نئوتراز (4/46± 0/1 میلی‌لیتر در گرم پروتئین) بیشتر بود (شکل 1) اما اختلاف معنی‌داری از این نظر بین دو پروتئین وجود نداشت ($p>0.05$). از جمله عوامل تاثیرگذار در این ظرفیت می‌توان به تعداد و نسبت گروههای قطبی و غیرقطبی (آمینواسیدهای آبدوست و آبگریز) و ترکیب (پروفیل) آمینواسید پروتئین‌های آبکافتی که با هر آنزیم تولید شده‌اند، اشاره کرد. به گونه‌ای که هرچه تعداد (غلظت) گروههای قطبی مانند COOH (کربوکسیل) و NH_2 (آمین) در یک پروتئین بیشتر باشد، آن پروتئین قابلیت نگهداری مقدار بیشتری از آب را داراست (Kristinsson & Rasco, 2000). همچنین وجود دو اسیدآمینه گلوتامیک‌اسید[3] و آسپارتیک‌اسید[4] در یک پروتئین آبکافتی، آبکافتی، به جذب و نگهداری آب بیشتری کمک می‌کند (Deeslie & Cheryan, 1988). دو پروتئین آبکافتی که از سوبسترای فیله ماهی (با نام علمی) *Prionotus punctatus* با استفاده از آنزیم‌های آلکالاز و فلاورزایم تولید شدند، به‌ترتیب ظرفیت نگهداری آب 2/4 و

1 Hydroxyproline
2 Hydroxylysine

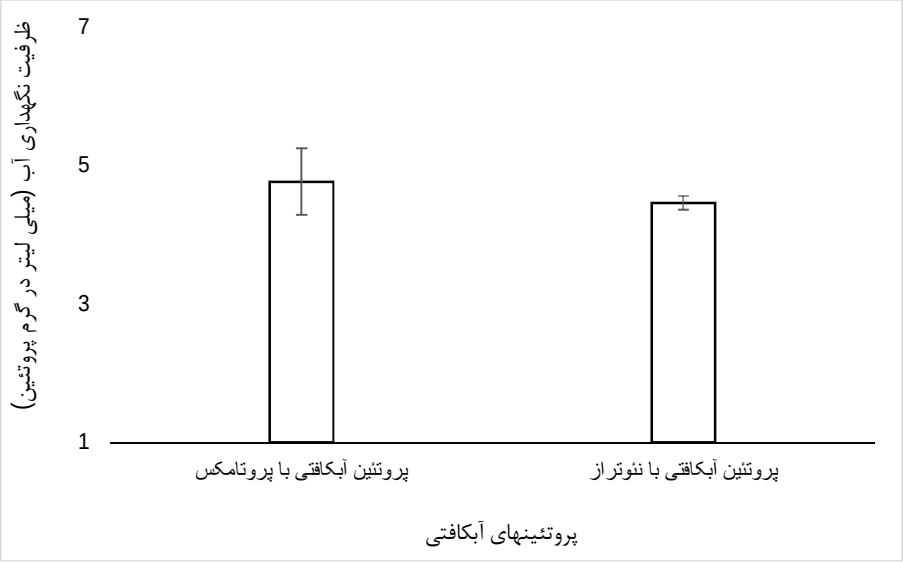
3 Glutamic acid
4 Aspartic acid

3/7 گرم برگرم پروتئین را ارائه کردند (Dos Santos *et al*., 2011). پروتئین‌های آبکافتی تولیدشده در پژوهش حاضر نسبت به پروتئین‌های پژوهش مذکور، توانایی نگهداری میلی‌لیتر آب بیشتری داشتند. Kristinsson (1998) پروتئین آبکافتی تولید شده از ماهی سالمون را به نسبت 1/5 درصد به گوشت همین ماهی اضافه کرد. بعد از 48 ساعت دوره انجماد و سپس انجمادزدایی، میزان آبچک نسبت به تیمار شاهد 2 درصد کمتر بود. علت این امر توانایی بالای پروتئین‌های آبکافتی در نگهداری آب فراورده‌های پروتئینی است.

جدول 7- شاخص پایداری کف پروتئین‌های آبکافتی

pH	پایداری کف پروتئین آبکافتی با پروتامکس (٪)	پایداری کف پروتئین آبکافتی با نئوتراز (٪)
2	$102 \pm 3/6^{Ae}$	$87/06 \pm 4/63^{Bk}$
4	$10/53 \pm 1/28^{Ca}$	$16/13 \pm 1/92^{Dg}$
6	$135/6 \pm 5/64^{Ef}$	$110/21 \pm 3/94^{Fl}$
8	$65/46 \pm 1/8^{Gb}$	$64/91 \pm 4/33^{Gj}$
10	$92/29 \pm 4/57^{Hd}$	$57/68 \pm 1/83^{Ii}$
12	$74/93 \pm 1/51^{Jc}$	$39/41 \pm 2/54^{Kh}$

حروف بزرگ یکسان نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های هر سطر است (اثر آنزیم).
حروف کوچک یکسان نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های هر ستون است (اثر pH).



شکل 1- ظرفیت نگهداری آب در دو پروتئین آبکافتی

قدرت مهار رادیکال آزاد 2 و 2 دیفینیل -1- پیکریل هیدرازیل (DPPH) پروتئین‌های آبکافتی

یکی از شاخص‌های مهم جهت سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌ها، قدرت آن‌ها برای مهار (خنثی‌کردن) رادیکال آزاد 2 و 2 دیفینیل -1- پیکریل هیدرازیل (DPPH) است. DPPH یک رادیکال آزاد پایدار و محلول در اتانول است که بیشترین جذب را در طول موج 517 نانومتر دارد. وقتی این رادیکال با مواد الکترون‌دهنده مانند آنتی‌اکسیدان‌ها (در اینجا، پروتئین آبکافتی) مواجه می‌شود، مهار شده و جذبش کاهش می‌یابد (Shimada *et al*., 1992).

مطابق جدول 8 پروتئین آبکافتی با پروتامکس به‌طور معناداری قدرت مهار رادیکال DPPH (73/11±1/34%) بیشتری نسبت پروتئین آبکافتی با نئوتراز (61/43±3/43٪) ارائه کرد ($p<0.05$). ضمن اینکه هر دو پروتئین آبکافتی نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک از نظر این شاخص ضعیف‌تر عمل کردند ($p<0.05$). قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH پروتئین‌های آبکافتی مشتق‌شده از بافت ماهی کپور آب شیرین (*Catla catla*) که با استفاده از آنزیم‌های آلکالاز، فلاورزایم، پروتامکس و بروملاین تولید شده بودند، به‌ترتیب 64/65± 1/48، 70/45± 0/35، 67/9± 0/42 و 77/92± 0/59

درصد گزارش شد (Elavarasan *et al*., 2014).

جدول 8- قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH پروتئین‌های آبکافتی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک

پروتئین‌های آبکافتی	قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH (%)
پروتئین آبکافتی با پروتامکس	$73/11 \pm 1/34^{b}$
پروتئین آبکافتی با نئوتراز	$^{a}61/43 \pm 3/43$
BHA	$92/39 \pm 1/42^{d}$
BHT	$87/38 \pm 0/96^{c}$

حروف متفاوت بالای داده‌ها نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین آنهاست.

قدرت کاهندگی پروتئین‌های آبکافتی

توانایی پروتئین‌های آبکافتی برای کاهش یون فریک (Fe^{3+}) به یون فرو (Fe^{2+}) شاخص دیگری جهت سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های آبکافتی است. مطابق جدول 9 پروتئین آبکافتی با نئوتراز قدرت کاهندگی بیشتری ($p<0.05$) نسبت به پروتئین آبکافتی حاصل از عمل پروتامکس نشان داد و توانست جذب 0/016 ±0/631 را در طول موج 700 نانومتر به خود اختصاص دهد. در پژوهشی که خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی حاصل از ضایعات فرایند فیله کردن ماهی آزاد (*Salmo salar*) با آنزیم تریپسین در سه درجه آبکافت مورد مطالعه قرار گرفت، قدرت کاهندگی پروتئین با درجه آبکافت 0/55 ±61/73 درصد، جذب 0/00 ±0/42 در طول موج 700 نانومتر گزارش شد (بخشان و همکاران، 1393). همچنین قدرت کاهندگی پروتئین‌های آبکافتی تهیه‌شده از بافت ماهی کپور آب شیرین (*Catla catla*) با استفاده از آنزیم بروملاین معادل جذب 0/06 ±0/885 در طول موج 700 نانومتر بود (Elavarasan *et al*., 2014) که در مقایسه با دو پروتئین تولیدشده در پژوهش حاضر رقم بالاتری است.

جدول 9- قدرت کاهندگی پروتئین‌های آبکافتی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک

پروتئین‌های آبکافتی	قدرت کاهندگی یون فریک (جذب در طول موج 700 نانومتر)
پروتئین آبکافتی با پروتامکس	$0/583 \pm 0/024^{a}$
پروتئین آبکافتی با نئوتراز	$0/631 \pm 0/016^{b}$
BHA	$0/973 \pm 0/021^{d}$
BHT	$0/907 \pm 0/019^{c}$

حروف متفاوت بالای داده‌ها نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین آنهاست.

فعالیت چلاته‌کردن فلزات پروتئین‌های آبکافتی

یکی دیگر از شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های آبکافتی که در پژوهش حاضر مورد بررسی قرار گرفت، فعالیت چلاته‌کردن فلزات است. همانطور که در جدول 10 مشاهده می‌شود، این شاخص در پروتئین آبکافتی با نئوتراز (٪5/49 ±69/44) کمی بیشتر از پروتئین آبکافتی با پروتامکس (٪4/26 ±62/99) است اما اختلاف معنی‌داری بین دو پروتئین از این نظر وجود ندارد ($p>0.05$). پروتئین‌آبکافتی مشتق‌شده از ماهی تراولی نوار زرد (*Selaroides leptolepis*) با استفاده از آلکالاز (درجه آبکافت ٪15) در غلظتی برابر با غلظت مورد بررسی در پژوهش جاری، فعالیت کلاته‌کنندگی تقریبا معادل با پروتئین‌های تولیدشده در پژوهش حاضر ارائه کرد (Klompong *et al*., 2007).

جدول 10- فعالیت چلاته‌کردن پروتئین‌های آبکافتی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی

پروتئین‌های آبکافتی	فعالیت چلاته‌کردن فلزات (٪)
پروتئین آبکافتی با پروتامکس	$62/99 \pm 4/26^{a}$
پروتئین آبکافتی با نئوتراز	$69/44 \pm 5/49^{a}$
BHA	$96/02 \pm 3/12^{b}$
BHT	$94/54 \pm 1/06^{b}$

حروف یکسان بالای داده‌ها نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین آنهاست.

نتیجه‌گیری

از تحقیق حاضر چنین بر می‌آید که اندرونه ماهی منبع غنی از پروتئین بوده و تکنیک آبکافت آنزیمی یک روش موثر برای استخراج و بهبود خواص عملکردی و آنتی‌اکسیدانی این ماکرومولکول است. همچنین با توجه به خواص مطلوب این پروتئین‌ها، می‌توان از این محصول در فرمولاسیون مواد غذایی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و جزء عملکردی استفاده کرد.

منابع

اویسی پور م.، قمی م.ر. 1387. بیوتکنولوژی در تولید فراورده‌های دریایی. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن. 104-

اویسی پور م.، عابدیان کناری ع.، معتمدزادگان ع.، نظری ر. 1389. بررسی خواص پروتئین‌های هیدرولیز شده امعاء و احشاء ماهی تون زردباله (*Thunnus albacares*) با استفاده از آنزیم های تجاری. نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد 6، شماره 1، 76-68

بخشان ع.، علیزاده دوغیکلایی ا.، طاهری ع. 1393. بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی بدست آمده از ضایعات، در فرایند فیله کردن ماهی آزاد (*Salmo salar*). پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، سال یازدهم، شماره 1، 1152-1143

فاطمی ح .، 1378، شیمی مواد غذایی، شرکت سهامی انتشار. چاپ نهم، 78-82

ملااحمدی ن .، فرهوش ر.، شریف ع. 1393. بررسی ساختار اسید چرب روغن ماهی کیلکا. همایش ملی علوم و فناوریهای نوین در صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تربت حیدریه، یازدهم دیماه 1393.

Adler-Nissen, J. & Olsen, H. 1979. The influence of peptide chain length on taste and functional properties of enzymatically modified soy protein. *In Food Chemistry (A.Pour-El, ed.) American Chemical Society*, Washington, DC.

AOAC, W. H. (2005). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. *Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA*.

Bueno-Solano, C., López-Cervantes, J., Campas-Baypoli, O. N., Lauterio-García, R., Adan-Bante, N. P., & Sánchez-Machado, D. I. (2009). Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products. *Food chemistry*, 112(3), 671-675.

Chobert, J. M., Bertrand-Harb, C., & Nicolas, M. G. (1988). Solubility and emulsifying properties of caseins and whey proteins modified enzymically by trypsin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(5), 883-892.

Chiang, W. D., Shih, C. J., & Chu, Y. H. (1999). Functional properties of soy protein hydrolysate produced from a continuous membrane reactor system. *Food Chemistry*, 65(2), 189-194.

Deeslie, W. D., & Cheryan, M. (1988). Functional properties of soy protein hydrolyzates from a continuous ultrafiltration reactor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(1), 26-31.

Decker, E. A., & Welch, B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(3), 674-677.

Dos Santos, S. D. A., Martins, V. G., Salas-Mellado, M., & Prentice, C. (2011). Evaluation of functional properties in protein hydrolysates from bluewing searobin (*Prionotus punctatus*) obtained with different microbial enzymes. *Food and bioprocess technology*, 4(8), 1399-1406.

Elavarasan, K., Naveen Kumar, V., & Shamasundar, B. A. (2014). Antioxidant and functional properties of fish protein hydrolysates from fresh water carp (*Catla catla*) as influenced by the nature of enzyme. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 1207-1214.

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

Gbogouri, G. A., Linder, M., Fanni, J., & Parmentier, M. (2004). Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon byproducts hydrolysates. *Journal of food science*, 69(8), C615-C622.

Giménez, B., Gómez-Estaca, J., Alemán, A., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, M. P. (2009). Physico-chemical and film forming properties of giant squid (*Dosidicus gigas*) gelatin. Food Hydrocolloids, 23(3), 585-592.

Halling, P. J. (1981). Protein stabilized foams and emulsions. CRC Critical Reviews in *Food Science*, 12, 155–203.

Hoyle, N. T., & Merritt, J. O. H. N. (1994). Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*, 59(1), 76-79.

Kunte, L. A., Gennadios, A., Cuppett, S. L., Hanna, M. A., & Weller, C. L. (1997). Cast films from soy protein isolates and fractions 1. *Cereal Chemistry*, 74(2), 115-118.

Kristinsson, H. G. (1998). Reaction kinetics, biochemical and functional properties of salmon muscle proteins hydrolyzed by different alkaline proteases.

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.

Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., & Shahidi, F. (2007). Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food chemistry*, 102(4), 1317-1327.

Layne, E. (1957). [73] Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. *Methods in enzymology*, 3, 447-454.

Linder, M., Fanni, J., & Parmentier, M. (1996). Functional properties of veal bone hydrolysates. *Journal of Food Science*, 61(4), 712-716.

Martin, A. H., Grolle, K., Bos, M. A., Stuart, M. A. C., & van Vliet, T. (2002). Network forming properties of various proteins adsorbed at the air/water interface in relation to foam stability. *Journal of Colloid and Interface Science*, 254(1), 175-183.

Nalinanon, S., Benjakul, S., & Kishimura, H. (2010). Biochemical properties of pepsinogen and pepsin from the stomach of albacore tuna (*Thunnus alalunga*). *Food Chemistry*, 121(1), 49-55.

Nalinanon, S., Benjakul, S., Kishimura, H., & Shahidi, F. (2011). Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from the muscle of ornate threadfin bream treated with pepsin from skipjack tuna. *Food Chemistry*, 124(4), 1354-1362.

Oyaiza, M. (1986). Studies on products of browning reaction: Antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Journal of nutrition*.44, 307–315.

Onodenalore, A. C., & Shahidi, F. (1996). Protein dispersions and hydrolysates from shark (*Isurus oxyrinchus*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 5(4), 43-59.

Ovissipour, M., 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. *Food Chemistry*, 115(1), 238-242.

Ovissipour, M., Benjakul, S., Safari, R., & Motamedzadegan, A. (2010). Fish protein hydrolysates production from yellowfin tuna *Thunnus albacares* head using alcalase and protamex. *International Aquatic Research*, 2, 87-95.

Pearson, A. M. (1983). Soy proteins. In B. J. F. Hudson (Ed.), Developments in food proteins-2(pp. 67–108). Essex, England: Applied Science Publishers

Pak, C. S. 2005. Stability and quality of fish oil during typical domestic application. Final Project. Wonsan University of fisheries Kangwon Province, DPR of Korea.

Pacheco-Aguilar, R., Mazorra-Manzano, M. A., & Ramírez-Suárez, J. C. (2008). Functional properties of fish protein hydrolysates from Pacific whiting (*Merluccius productus*) muscle produced by a commercial protease. *Food Chemistry*, 109(4), 782-789.

Robinson, H. W., & Hogden, C. G. (1940). The biuret reaction in the determination of serum proteins. 1. A study of the conditions necessary for the production of a stable color which bears a quantitative relationship to the protein concentration. *Journal of Biological Chemistry*, 135, 707-725.

Ruxton, C. H. S., Reed, S. C., Simpson, M. J. A., & Millington, K. J. (2004). The health benefits of omega□3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 17(5), 449-459.

Rodríguez-Ambriz, S. L., Martinez-Ayala, A. L., Millán, F., & Davila-Ortiz, G. (2005). Composition and functional properties of Lupinus campestris protein isolates. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60(3), 99-107.

Ren, J., Wang, H., Zhao, M., Cui, C., & Hu, X. (2010). Enzymatic hydrolysis of grass carp myofibrillar protein and antioxidant properties of hydrolysates. *Czech Journal of. Food Science*. Vol, 28(6), 475-484.

Spinelli, J., Koury, B., & Miller, R. (1972). Approaches to the utilization of fish for the preparation of protein isolates enzymic modifications of myofibrillar fish proteins. *Journal of Food Science*, 37(4), 604-608.

Sathe, S. K., & Salunkhe, D. K. (1981). Functional properties of the Great Northern bean (*Phaseolus vulgaris L.*) proteins: Emulsion, foaming, viscosity, and gelation properties. *Journal of Food Science*, 46(1), 71-81.

Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of agricultural and food chemistry*, 40(6), 945-948.

Shahidi, F., Han, X. Q., & Synowiecki, J. (1995). Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food chemistry*, 53(3), 285-293.

Souissi, N., Bougatef, A., Triki-Ellouz, Y., & Nasri, M. (2007). Biochemical and functional properties of sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. *Food Technology and Biotechnology*, 45(2), 187.

Safari, R., Motamedzadegan, A., Ovissipour, M., Regenstein, J. M., Gildberg, A., & Rasco, B. (2012). Use of hydrolysates from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) heads as a complex nitrogen source for lactic acid bacteria. *Food and Bioprocess Technology*, 5(1), 73-79.

Thanonkaew, A., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2006). Chemical composition and thermal property of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) muscle. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2), 127-133.

Taheri, A., Anvar, S. A. A., Ahari, H., & Fogliano, V. (2012). Comparison the functional properties of protein Hydrolysates from poultry byproducts and rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) viscera. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(1), 154-169.

Venugopal, V., & Shahidi, F. (1994). Thermostable water dispersions of myofibrillar proteins from Atlantic mackerel

(*Scomber scombrus*). *Journal of food science*, 59(2), 265-268.
Wilding, P., Lillford, P. J., & Regenstein, J. M. (1984). Functional properties of proteins in foods. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology. Biotechnology*, 34(3), 182-189.
Wilde, P. J., & Clark, D. C. (1996). The competitive displacement of β-lactoglobulin by Tween 20 from oil-water and air-water interfaces. *Journal of colloid and interface science*, 155(1), 48-54.
Wasswa, J., Tang, J., Gu, X. H., & Yuan, X. Q. (2007). Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chemistry*, 104(4), 1698-1704.
Yen, G. C., & Wu, J. Y. (1999). Antioxidant and radical scavenging properties of extracts from Ganoderma tsugae. *Food Chemistry*, 65(3), 375-37.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 14, No. 1, Apr. May. 2018, p. 162- 176

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 14، شماره 1، فروردین -اردیبهشت 1397 ص.176-162

Evaluation of oil fatty acid profile, functional properties and antioxidants activity of hydrolyzate produced from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) viscera by application of protamex and neutrase enzymes

S. Reyhani Poul[1], S. A. Jafarpour[2*], R. Safari[3]

Received: 2016.02.09
Accepted: 2016.11.05

Introduction: With the growing population and following the efforts of food production industries, more waste is produced which can be recovered by adding value and brought them back into the cycle of production and consumption. The reason behind is firstly the reduction of waste and secondly the economic importance of value added resultant products. Aquaculture sector produces large volume of wastes including the head, tail, fins, spine, and most importantly their viscera. If the waste managed properly, valuable materials such as hydrolyzed protein powder (the resulting waste hydrolysis using proteases enzymes) and fish oil (byproduct of enzymatic hydrolysis) can be produced. In this study rainbow trout waste was chosen, due to its large volume production in the country. The functional properties and antioxidant activity of hydrolysates as well as the oil fatty acid profile are the main factors to be considered. This study was aimed to investigate the hydrolysis of rainbow trout viscera (*oncorhynchus mykiss*) by protamex and neutrase enzymes individually and compare the functional properties and antioxidants activity of protein hydrolysate as well as analyze the fatty acid profile of fish oil obtained as by-product of enzymatic hydrolysis process.

Materials and methods: Rainbow trout viscera (*Oncorhynchus mykiss*) were obtained from the fish market in Sari and transported in ice containers to the laboratory. Protamex and neutrase enzymes were purchased from Novozymes Company and protein hydrolysates prepared enzymatically according to the method of Guerard et al. (2002). Proximate analysis was carried out according to the procedures outlined by the AOAC (1995). Degree of hydrolysis determined as described by Hoyle and Merritt (1994). Peptide chain length (PCL) was measured using the method of Adler-Nissen and Olsen (1979). Protein recovery (PR) determined using the method used by Ovissipour et al (2009). Protein solubility for hydrolysates was determined using the method of Robinson and Hodgen (1940). Foam stability index was measured according to the method described by Sathe and Salunkhe (1981). Water holding capacity (WHC) was determined using the method of Rodriguez-Ambriz et al. (2005). DPPH radical-scavenging activity was measured using the method of Yen and Wu (1999). Reducing power was determined by the method of Oyaiza (1986).The chelating activity on Fe^{2+} was determined, using the method of Decker and Welch (1990).

Results & Discussion: Protamex leads to the production of protein powder with higher degree of hydrolysis (34.76 ± 2.92%) and protein recovery (68/16 ± 1.98%) compared to neutrase ($p<0.05$). The color of two types of hydrolysates was not significantly different ($p>0.05$) despite the difference in L* value. The viscera oil contains 34% monounsaturated, 34.49% polyunsaturated and 31.4% saturated fatty acid. Apart from pH 4 (isoelectric point), the solubility of both protein powders in water was remarkable (more than 90%). The foam activity and stability index of hydrolyzate produced by protamex were more desirable than hydrolyzate produced by neutrase, whereas at pH 6, these indices reached to their maximum values of 200.13± 9.31% and 135.6 ± 5.64 %, respectively. Furthermore, water holding capacity of both hydrolyzates was measured as approximately 4.5 ml/g protein ($p>0.05$). Protamex leads to the production of protein powder with the higher DPPH radical scavenging activity compared to hydrolyzate produced by neutrase. Conversely, the reducing power of hydrolyzate produced by neutrase was higher than that of protamex ($p<0.05$). In terms of metal-chelating activity, there was no significant difference between the hydrolyzates produced by neutrase (69.44 ± 5.49%) and protamex (62.99 ±

1. M.Sc of fisheries processing products, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, P. O. Box : 578. Sari, Iran
2. Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, P. O. Box : 578. Sari, Iran.
3. Instructor, Faculty Member of Caspian Aquatic Aquatic Institute, Sari, Mazandaran, Iran.
(*Corresponding Author Email: a.jafarpour@gmail.com)

4.26%) ($p>0.05$).

Key words: Enzymatic hydrolysis, Rainbow trout, Viscera oil, Functional properties and antioxidant activity