فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه:

میگوی خنجری یا گنتک(*Parapenaeopsis stylifera*) از انواع میگوهای ریز تا متوسط در سواحل کشورمان محسوب شده و از ارزش اقتصادی کمتری برخوردار است. افراد بزرگ جثه این میگو طولی در حدود ۱۰-۹ سانتی متر دارند. بیشترین پراکنش این میگو در کشورمان در استان خوزستان بوده و به همراه میگوی سرتیز یکی از دو گونه اصلی میگو در صید و صیادی این استان محسوب می شود.

یکی از مهمترین خواص کاربردی پروتئین ها، میزان توانایی آنها در تولید ژل می باشد. مهمترین روش تولید ژل از گوشت آبزیان، استفاده از حرارت بوده و لازمه تولید ژل از پروتئین ها توسط حرارت این است که ابتدا پروتئین های میوفیبریل را بصورت محلول در آب در آورد.

اگر گوشت چرخ شده یا سوریمی نمک زده شده آبزیان را قبل از حرارت دهی مدتی در یک دمای پایین قرار دهیم بعد از حرارت دادن ژل محکم تر و چسبنده تری تشکیل می شود. علت این پدیده عملکرد یک آنزیم داخل سارکوپلاسم به نام ترنس گلوتامیناز می باشد. در صنعت، آنزیم ترنس گلوتامیناز به روشی ارزان از طریق کشت دادن نژادی از یک نوع باکتری تولید می شود که به آن ترنس گلوتامیناز میکروبی اطلاق می گردد. افزایش دمای گوشت چرخ شده یا سوریمی نمک زده شده آبزیان برای تولید ژل تا حدود ٦٠ درجه سانتی گراد باعث می شود تا یک سری آنزیم های تجزیه کننده پروتئین عمل نموده که باعث تجزیه پروتئین های میوفیبریل و از بین بردن شبکه سه بعدی ژل شده و در نتیجه یک ژل نرم که از قوام خوبی برخوردار نمی باشد ایجاد شود. در حدود دو دهه قبل مشخص گردید که اضافه کردن یک سری مواد به گوشت چرخ شده یا سوریمی جلوی فعالیت این آنزیم ها را می گیرد.

از آنجاییکه پژوهش های بسیار کمی در رابطه با اثر قوام یافتگی و آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی و افزودنی های پروتئینی روی میگو انجام شده و با توجه به کم ارزش بودن میگوی انتخابی می توان از نتایج این رساله در راستای افزایش ارزش افزوده میگوی خنجری استفاده نمود.

۱-۲- کلیات:

بخش خوراکی بدن میگوها، عضلات بند شکمی آنها می باشند که امکان حرکت و جابجایی را برای جانور فراهم می سازند. عضلات بدن میگوها نیز مانند عضلات تمام جانوران ازسلولها یا الیاف عضلانی[۱] بزرگی تشکیل می شوند که با چشم غیرمسلح نیز دیده می شوند. سلولهای عضلانی را از خارج، غشایی به نام سارکولم[۲] در بر گرفته و در داخل سیتوپلاسم این سلولها که سارکوپلاسم[۳] نامیده می شود، علاوه بر تمام اندامکهایی که در سلولهای معمولی وجود دارد، تعداد بسیار زیادی میله هایی از جنس پروتئین به موازات یکدیگر قرار دارند که به آنها میوفیبریل[۴] اطلاق می گردد. این ساختارها که حدود۸۰٪ از حجم سارکوپلاسم را به خود اختصاص می دهند، وظیفه اصلی سلولهای عضلانی که همان انقباض و کشش عضلات و کل بدن می باشد را بر دوش می کشند.

اگر میله های میوفیبریل را بطور دقیق تر در زیر میکروسکوپ الکترونی مشاهده نماییم، یک سری نوارهای تیره و روشن بطور یک در میان در امتداد طولی آنها دیده می شود. نوارهای تیره عمدتا از پروتئینی به نام میوزین[۵] و نوارهای روشن از پروتئینی بنام اکتین[۶] تشکیل شده اند. پروتئین میوزین مهمترین پروتئین عضله در نشان دادن خواص کاربردی[۷] پروتئینهای عضله مانند حلالیت[۸] و تشکیل ژل[۹] محسوب می شود.

در اطراف میوفیبریلها در سارکوپلاسم مانند سیتوپلاسم تمام سلولها پروتئینهای زیادی در آب محلول هستند؛ در حالیکه پروتئینهای سازنده میوفیبریل ها در آب نمک رقیق حل می شوند. به پروتئین های محلول در آب موجود در سارکوپلاسم، پروتئینهای سارکوپلاسمیک[۱۰] اطلاق می شود که بخش عمده آن شامل تعداد بسیار زیادی از آنزیمها و همینطور رنگدانه هایی مانند هموگلوبین، میوگلوبین، هموسیانین و غیره می باشند. علاوه بر پروتئینهای میوفیبریل و سارکوپلاسمیک، دسته دیگری از پروتئینها نیز در عضله یافت می شوند که نه در آب حل می شوند و نه در آب نمک. این پروتئینها بصورت بافتهای پیوندی ای هستند که اطراف توده عضلات و همینطور اطراف سلول های عضلانی را در بر گرفته و استروما[۱۱] به آنها اطلاق می شود. میزان این نوع پروتئینها در عضله میگو و سایر آبزیان نسبت به عضله پرندگان و پستانداران ناچیز می باشد (حدود۵-۲٪درمقابل۲۵-۱۵٪). یکی از مهمترین انواع پروتئینهای بافت پیوندی کلاژن می باشد.

1. muscle fibres
2. sarcolem
3. sarcoplasm
4. myofibril
5. myosin
6. actin
7. Functional properties
8. solubility
9. gelatin
10. Sarcopelasmic proteins
11. stroma

یکی از مهمترین خواص کاربردی پروتئینها، میزان توانایی آنها در تولید ژل[1] می باشد (پارس[2] و لدوارد[3]، ۲۰۰۱ و پارس و همکاران، ۱۹۹۸). مهمترین روش تولید ژل از گوشت آبزیان، استفاده از حرارت است (تابیلو-مونیزاگا[4] و باربوزا-کانوواس[5]، ۲۰۰٤) تا در وهله اول پیوندهایی که بین زنجیره های پلی پپتیدی پروتئینها وجود دارد از بین رفته و بدین ترتیب ساختمانهای چهارم، سوم و دوم پروتئینها باز شده و در حقیقت پروتئینها دناتوره شوند و در مرحله دوم بتدریج و به آرامی انواع مختلفی از پیوندهای جدید شامل پیوندهای هیدروژنی، یونی، هیدروفوبیک[6]، کووالانسی دی سولفیدی بین زنجیرهای پلی پپتیدی میوزین تشکیل شده (گیله لند[7] و لانیر[8]، ۱۹۹۷) و یک شبکه بزرگ سه بعدی بین مولکولهای پروتئین میوزین و اکتین ایجاد گردد که همان ژل اکتومیوزین می باشد (لانیر، ۱۹۹۱). این شبکه، میزان زیادی آب را نیز درخود محبوس می کند (سانو[9] و همکاران، ۱۹۸۸).

لازمه تولید ژل از پروتئینها توسط حرارت این است که ابتدا پروتئینهای میوفیبریل را بصورت محلول در آب درآورد. برای این کار معمولا از نمک طعام به میزان ۳-۲ درصد از وزن گوشت استفاده می گردد و قبل از آن نیز ابتدا گوشت به قطعات ریز تبدیل می شود تا با سهولت بیشتری بحالت محلول درآید. به گوشت چسبناکی که در این مرحله تولید می شود، سُل[10] اطلاق می گردد.

همانطورکه قبلا عنوان گردید، چهار نوع پیوند باعث ایجاد ارتباط بین زنجیره های پلی پپتیدی در شبکه سه بعدی ژل می شوند. هر چند پیوندهای هیدروژنی را نمی توان چندان بعنوان عامل تولید کننده ژل دانست، ولی با این حال علّت مستحکم شدن ژل با سرد شدن به تشکیل این پیوندها بر می گردد (هو[11] و همکاران، ۱۹۹٤). پیوندهای هیدروژنی بین اسید آمینه های قطبی –که با حرارت دادن گوشت در سطح پروتئینها ایجاد می شوند– با مولکولهای آب ظاهر می شوند (لانیر، ۲۰۰۰).

نمکی که به گوشت آبزیان اضافه می شود تا پروتئین های میوفیبریل را به حالت محلول در آورد، در عین حال باعث ایجاد یکسری پیوندهای یونی می شود که به ایجاد شبکه سه بعدی ژل کمک می کنند؛ بدین ترتیب که یون های Na^+ و Cl^- باعث شکسته شدن جاذبه بین یونی بین نقاط مثبت و منفی بعضی از

1. gel
2. Pares
3. Ledward
4. Tabilo-Monizaga
5. Barbosa-C'anovas
6. hydrophobic interactions
7. Gilleland
8. Lanier
9. Sano
10. sol
11. Howe

اسیدآمینه ها با بارهای غیرهمنام شده و جاذبه های یونی قویتری را تشکیل می دهند (لانیر، ۲۰۰۰).

$$Pr - Coo^- \ ^+NH_3 - Pr \xrightarrow{+NaCl} PrCoo^- \ Na^+ + Cl^-NH_3^+ - Pr$$

پیوندها یا برهمکنشهای هیدروفوبیک در حقیقت یک پاسخ فیزیکی پروتئینهای میوفیبریل دناتوره شده در برابر آب است بدین ترتیب که این پروتئینها قبل از دناتوره شدن در وضعیتی قرار دارند که اسید آمینه های آبگریز در بخش داخلی پروتئین و اسیدآمینه های آب دوست در بخش خارجی آنها قرار می گیرند. با بهم ریختن ساختمانهای چهارم تا دوم پروتئینها در اثر حرارت، اسید آمینه های آبگریز در سطح و در معرض آب قرار می گیرند. در این حالت برای اینکه این پروتئینها کمترین رویارویی را با آب داشته باشند، به دور هم تجمع یافته و نوعی پیوند به وجود می آورند (مانند ذرات چربی و روغن در آب که به یکدیگر متصل شده و قطرات بزرگی را به وجود می آورند). این نوع پیوند برعکس پیوند هیدروژنی با افزایش دما تا ۴۰°C قویتر شده و بعد از پیوند کووالانسی دی سولفیدی، مهمترین پیوند در ایجاد شبکه سه بعدی ژل می باشد (لانیر، ۲۰۰۰ و گیله لند و همکاران، ۱۹۹۷).

پیوند کووالانسی دی سولفیدی مهمترین پیوند در ایجاد شبکه سه بعدی ژل در دماهای بالاتر از ۴۰°C بوده که بعد از تشکیل نیز براحتی شکسته نمی شود. این پیوند بین دو اسیدآمینه سیستئین از دو زنجیره پروتئین مقابل هم تشکیل می شود؛ بدین ترتیب که دو اسیدآمینه سیستئین که دارای گروه SH می باشند اکسید شده و با از دست دادن اتم H، پیوند S—S را در بین خود به وجود می آورند (لانیر، ۲۰۰۰).

$$Pr - SH + HS - Pr \rightarrow Pr - S - S - Pr + H_2O$$

اگر گوشت چرخ شده یا سوریمی[1] نمک زده شده (سُل) آبزیان را قبل از حرارت دهی مدتی در یک دمای پایین (زیر ۴۰°C) قرار دهیم بعد از حرارت دادن ژل محکم تر و چسبنده تری تشکیل می شود (کاماث[2] و همکاران، ۱۹۹۲؛ ان[3] و همکاران، ۱۹۹۶ و آلوارز[4] و تجادا[5]، ۱۹۹۷).علت این پدیده عملکرد یک آنزیم داخل سارکوپلاسم به نام ترنس گلوتامیناز[6] می باشد (کیمورا[7] و همکاران، ۱۹۹۱ و کیشی[8] و همکاران، ۱۹۹۱) که باعث ایجاد پیوندهای متقابل[9] بین اسیدآمینه های گلوتامین و لیزین در زنجیره های مجاور شده

1. surimi
2. Kamath
3. An
4. Alvarez
5. Tejada
6. transglutaminase
7. Kimura
8. Kishi
9. crosslink

(ایمای[1] و همکاران، ۱۹۹۶) و باعث گسترش شبکه سه بعدی ژل می گردد؛ به این پدیده قوام یافتگی[2] اطلاق می گردد (لانیر، ۲۰۰۰).

معمولا برحسب گونه ماهی یا میگو از ۳ سطح دمایی برای قوام یافتگی استفاده می شود: دمای پایین حدود ۴°c ، دمای متوسط حدود ۲۵°c و دمای بالاحدود ۴۰°c (لانیر،۲۰۰۰). هرچه دمای مورد استفاده پایینتر باشد، زمانی که گوشت در آن دما قرار می گیرد طولانی تر خواهد بود. در کشور تایلند که یکی از بزرگترین کشورهای تولید کننده سوریمی در بخش جنوب شرقی آسیاست به مدت چندین دهه از تکنیک قوام یافتگی در صنعت تولید محصولات غذایی برپایه سوریمی[3] استفاده می شود (بنجاکول[4] و همکاران، ۲۰۰۳). از آنجاییکه استفاده از دماهای پایین قوام یافتگی زمانبر می باشد، معمولا از دما های بالا تر برای این کار استفاده می گردد (بنجاکول و همکاران، ۲۰۰۳e).

درعین حال می توان علاوه بر استفاده از تکنیک قوام یافتگی برای فعال شدن آنزیم ترنس گلوتامیناز، این آنزیم را به گوشت ماهی یا میگو اضافه نمود. دلایلی که برای اضافه کردن این آنزیم وجود دارند عبارتند از: ۱–اگر از سوریمی ژل تهیه شود به علت شستشویی که روی گوشت انجام می گیرد، پروتئین های سارکوپلاسمیک و از جمله این آنزیم از دست می روند. ۲–میزان این آنزیم در سارکوپلاسم سلولهای ماهیچه ای ممکن است در گونه های مختلف، متفاوت باشد. ۳–در بعضی از گونه ها ممکن است عواملی در بخش سارکوپلاسم وجود داشته باشند که جلوی عمل این آنزیم را بگیرند (لانیر، ۲۰۰۰).

درصنعت، آنزیم ترنس گلوتامیناز به روشی ارزان از طریق کشت دادن نژادی از یک نوع باکتری با نام علمی *Streptomyces mobaraense* تولید می شود که به آن آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی[5] (MTG_{ase}) اطلاق می گردد (ساکاموتو[6] و همکاران، ۱۹۹۵). امروزه در کشور ژاپن به طور گسترده ای از آنزیم MTG_{ase} در صنعت تولید محصولات غذایی بر پایه سوریمی استفاده می گردد (لانیر، ۲۰۰۰).

افزایش دمای گوشت چرخ شده یا سوریمی نمک زده شده ی آبزیان (سُل) برای تولید ژل تا حدود ۶۰°c (رادکوئن[7]و همکاران، ۲۰۰۷) باعث می شود تا یکسری آنزیمهای تجزیه کننده پروتئین (پروتئاز[8]، پروتئیناز[9] یا آنزیم های پروتئولیتیک[10]) که نسبت به حرارت مقاوم هستند[11]، یا در دماهای بالاتر فعال می شوند[12] .

---

1. Imai
2. setting
3. surimi-based procucts
4. Benjakul
5. microbial Transglominase
6. Sakamoto
7. Rawdlkuen
8. Protease
9. proteinase
10. proteolitic enzyms
11. heat-stable
12. heat-activated

(موریسی[1] و همکاران، ۱۹۹۳) عمل نموده که باعث تجزیه پروتئینهای میوفیبریل و از بین بردن شبکه سه بعدی ژل شده و در نتیجه ژل نرم که از قوام خوبی برخوردار نمی باشد ایجاد شود (آلوارز[2] و همکاران، ۱۹۹۵). به این پدیده مودوری[3] اطلاق می گردد (ان و همکاران، ۱۹۹۶) که یکی از پر چالش ترین پدیده ها در صنعت سوریمی محسوب می شود (کانگ[4] و لانیر، ۲۰۰۰).

در حدود دو دهه قبل مشخص گردید که اضافه کردن یک سری مواد به گوشت چرخ شده یا سوریمی جلوی فعالیت این آنزیمها را می گیرد (موریسی و همکاران، ۱۹۹۳؛ واسون[5] و همکاران، ۱۹۹۲ و بنجاکول و همکاران، ۲۰۰۱). از جمله این مواد که بیشترین کاربرد را در صنعت دارند می توان به پروتئین پلاسمای گاوی[6] (BPP) ، سفیده تخم مرغ[7] (EW) و عصاره پروتئین آب پنیر[8] (WPC) اشاره نمود (کانگ و لانیر، ۲۰۰۰). در حقیقت صنعت تولید سوریمی از ماهی نرم باله اقیانوس آرام[9] که امروزه در بین ماهیان مورد استفاده برای ساخت سوریمی در جهان رتبه دوم را دارد با کشف اثر این بازدارنده ها در سال ۱۹۹۱ شکل گرفت (موریسی و تان[10]، ۲۰۰۰).

با اینکه آثار مثبت پدیده قوام یافتگی و افزودن آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی و افزودنی های پروتئینی در کیفیت ژل حاصل از گوشت چرخ شده و سوریمی ماهی در پژوهش های مختلف به اثبات رسیده، اما از یک طرف پژوهش های بسیار کمی در رابطه با اثر موارد بالا روی میگو انجام شده (تاماتینا[11] و همکاران، ۲۰۰۷) و از طرف دیگر، تأثیر افزودن ترنس گلوتامیناز میکروبی و افزودنی های پروتئینی به صورت توأم و رابطه بین آن ها برای اولین بار است که روی گوشت چرخ شده میگو در حال انجام بوده و با توجه به کم ارزش بودن میگوی انتخابی می توان از نتایج این پایان نامه در راستای افزایش ارزش افزوده[12] میگوی خنجری استفاده نمود.

میگوی خنجری یا گنتک[13] با نام علمی ***Parapenaeopsis stylifera*** H.milne Edwards, 1837 به همراه میگوی سرتیز یا سفید ***(Metapenaeus affinis*** H.milne Edwadrs, 1837) از انواع

---

1. Morrissey
2. Alvarez
3. modori
4. Kang
5. Wasson
6. Beef Plasma Protein
7. Egg White
8. Whey Protein Concenterate
9. Pacific whiting
10. Tan
11. Tammatinna
12. added value
13. kiddi shrimp

میگوهای ریز تا متوسط در سواحل کشورمان محسوب شده و از ارزش اقتصادی کمتری برخوردار است (برعکس میگوهای موزی، ببری سبز و سفید هندی). این میگو در طول سواحل خلیج فارس، دریای عمان تا سواحل غربی و شرقی هندوستان، سریلانکا تا بنگلادش انتشار داشته و بیشترین پراکندگی آن در طول سواحل غربی هند و مخصوصا در ایالت کوچین[1]می باشد. افراد بزرگ جثه این میگو طولی در حدود ۱۰-۹ سانتی متر دارند. بیشترین پراکنش این میگو در کشورمان در استان خوزستان بوده و به همراه میگوی سرتیز یکی از دو گونه اصلی میگو در صید و صیادی این استان محسوب می شود. میزان صید این میگو در کشور تقریبا ٤٥٠ تن در سال می باشد (دیهیم، ۱۳۸۲). یکی از شاخص های بسیار مهم در شناسایی این میگو این است که قسمت جلویی روستروم آن به شدت به سمت بالا بر می گردد. از روش های دیگر شناسایی این میگو، عدم وجود دندانه در بخش زیرین روستروم آن می باشد (این مشخصه دربین میگوهای سواحل کشورمان در میگوی سرتیز نیز دیده می شود). بااینحال میگوی سرتیز نسبت به میگوی خنجری روشنتر بوده و میگوی خنجری متمایل به قرمز می باشد (دیهیم، ۱۳۸۲).

۱-۳- فرضیه های تحقیق:

۱-قرار دادن گوشت چرخ شده میگوی خنجری در دما ها (۵ ، ۲۵ و ٤٠ درجه سانتی گراد) و زمان های مختلف (۰/۵ ، ۱ ، ۲ ، ۳ ، ۱۲ و ۲٤ ساعت) قبل از استفاده از دمای مستقیم (۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه) نسبت به قرار دادن آن ها فقط در دمای مستقیم، کیفیت ژل حاصل از گوشت چرخ شده میگو را بهبود می بخشد.

۲-اضافه کردن آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی در مقادیر ۰/٦ ، ۱ ، ۱/٤ و ۱/۸ واحد در گرم و افزودنی های پروتئینی شامل سفیده تخم مرغ و عصاره پروتئین آب پنیر در مقادیر ۰/۵ ، ۱ ، ۳ و ۵ درصد، استحکام ژل حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجری را افزایش می دهد.

۳-استفاده توأم از آنزیم MTG_{ase} و افزودنی های پروتئینی، کیفیت ژل حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجری را افزایش می دهد.

٤-افزایش غلظت آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی از ۰ تا ۱/۸ واحد در هر گرم گوشت چرخ شده میگوی خنجری و افزودنی های پروتئینی شامل سفیده تخم مرغ و عصاره پروتئین آب پنیر از ۰ تا ۵ درصد، منجر به افزایش استحکام ژل حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجری می شود.

1. Cochin

۱-۴- هدف تحقیق:

هدف ما در این تحقیق، بهبود خواص و کیفیت ژل حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجری برای استفاده در فرآورده های آماده مصرف در صنعت تولید محصولات غذایی بر پایه مینس[1] (گوشت چرخ شده) و سوریمی می‌باشد.

1. mince

فصل دوم

مروری بر منابع

پژوهش در مورد تولید غذای آماده مصرف شیلاتی در جهان توسعه یافته و تاکنون مطالعات زیادی روی نحوه تولید و بررسی کیفی محصولات غذایی تولیدی شامل کیک ماهی، کوفته ماهی، برگر ماهی و برگر میگو و غیره صورت گرفته است (نامولما و همکاران، ۱۹۹۹).

بعلت افزایش نیاز به محصولات آماده مصرف، مطالعه در مورد مینس و سوریمی ماهی و میگو بعنوان مهمترین ماده اولیه این محصولات و توانایی تشکیل ژل مینس و سوریمی بعنوان عامل تعیین کننده اختصاصات بافتی محصولات نهایی در حال افزایش است.

بنجاکول و همکاران در سال ۲۰۰٤ تأثیر پروتئین پلاسمای گاوی (BPP) و سفیده تخم مرغ (EW) را بر جلوگیری از تجزیه پروتئینها و کیفیت ژل حاصل از مینس شسته شده و شسته نشده مارمولک ماهی[1] (*Saurida tumbil*) بررسی نمودند. هر دو افزودنی تأثیر بازدارندگی بر پروتئازهای سارکوپلاسمیک فعال شده در اثر حرارت و اتولیز مینس شسته شده و شسته نشده در دمای c° ٦۰ داشتند که این تأثیر با افزایش غلظت این افزودنی ها افزایش می یافت. تأثیر BPP و EW در مقادیر ۱ ، ۲ و ۳ درصد بر خو اص ژل حاصل از سوریمی این ماهی نیز در این پژوهش بررسی گردید. استفاده از این دو افزودنی پروتئینی باعث افزایش نیروی شکست[2] و تغییر شکل پذیری[3] در ژل های حاصل از سوریمی گردیدند. با این حال استفاده از BPP باعث کاهش سفیدی ژل ها گردید در حالی که EW تغییری در سفیدی ژل های حاصل از سوریمی ایجاد نکرد.

یونگ ساوادیگول و پیاداماویبون[4] در سال ۲۰۰٤ اثر بازدارنده های پروتئیناز در ژل حاصل از سوریمی مارمولک ماهی (*Saurida tumbil*) را بررسی کردند. بر اساس نتایج حاصل از تعیین پروتئین های محلول در اسید تری کلرو استیک[5] (TCA) ، میزان بازدارندگی سفیده تخم مرغ (EW) و عصاره پروتئین آب پنیر (WPC) به ترتیب ۷۷٪ و ۹٦٪ بود. با این حال کیفیت ژل های حاصل از اضافه کردن EW بالا تر از کیفیت ژل های حاصل از اضافه کردن WPC به سوریمی این ماهی در تمامی تیمارهای با دما ها و زمان های مختلف قوام یافتگی بود. بهترین کیفیت به ژل هایی اختصاص داشت که ۱٪ EW به آن ها اضافه شده و به مدت ٤ ساعت در دمای قوام یافتگی c° ۲۵ قرار گرفتند.

1.lizard fish
2.breaking force
3.deformation
4.Yongsawatdigul & Piyadhammaviboon
5. Tri Chloroacetic Acid

بنجاکول و ویسه سانگوان[1] در سال ۲۰۰۳ اثر قوام یافتگی را بر کیفیت ژل حاصل از سوریمی در دو گونه ازماهی سرخوی چشم درشت[2] (*Priacanthus tayenus* و*Priacanthus macracauthus*) را بررسی نمودند. قوام یافتگی در دما های ۲۵°c و ۴۰ °c قبل از استفاده از دمای ۹۰°c منجر به افزایش نیروی شکست و تغییر شکل پذیری در ژل های حاصل از سوریمی در هر دو گونه گردید؛ مخصوصا هنگامی که زمان قوام یافتگی افزایش می یافت. بهترین شرایط قوام یافتگی برای سل های سوریمی در گونه

p. tayenus دمای ۴۰°c بمدت ۲ ساعت و در گونه *P. macracauthus* دمای ۲۵°c بمدت ۳ ساعت بود. رادکوئن و همکاران در سال ۲۰۰۴ اثر مقادیر مختلف پروتئین پلاسمای مرغی[3] (CPP) بر کیفیت ژل حاصل از سوریمی گوشت ماهی سورخوی چشم درشت (*p. tayenus*) را بررسی کردند. بالاترین نیروی شکست و تغییر شکل پذیری در ژل هایی اتفاق افتاد که ۰/۵٪ CPP به آن اضافه شده و قبل از قرار گرفتن در دمای ۹۰°c بمدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰°c قوام یافتند. سفیدی ژل ها با افزودن CPP تا حدی کاهش یافت. کاهش میزان پپتید های محلول در TCA نیز بیانگر این موضوع بود که افزودن CPP توانست از متلاشی شدن پروتئین های سوریمی جلوگیری کند. آزمایش الکتروفورز نیز نشان داد که با افزایش میزان CPP، میزان پلیمریزه شدن زنجیره های سنگین میوزین[4] (MHC) کاهش می یابد. عکسهای میکروسکوپ الکترونی نیز نشان دادند که با افزودن ۰/۵٪ CPP به سوریمی، ارتباطات کمتری بین رشته های پروتئین ایجاد شده و رشته های ضخیم تر و کلفت تری در ساختار شبکه پروتئین ایجاد شدند.

رادکوئن و همکاران در سال ۲۰۰۴ اثر بازدارندگی مقادیر مختلف پروتئین پلاسمای مرغی (CPP) بر پروتئیناز و اتولیز مینس شسته شده و شسته نشده مارمولک ماهی(*Saurida tumbil*) و سرخوی چشم درشت(*p. tayenus*) را بررسی کردند. CPP در مقادیر مختلف اثر بازدارندگی بر پروتئیناز و اتولیز مینس داشته و این اثر با افزایش پلاسمای مرغی به طور مؤثری از تجزیه زنجیر سنگین میوزین در مینس شسته شده و شسته نشده جلوگیری نمود. نیروی شکست و تغییر شکل پذیری ژل های مودوری حاصل از سوریمی در این دو

1. Visessanguan
2.bigeye snapper
3. Chiken Plasma Protein
4. Myosin Heavy Chain

گونه ماهی با افزایش میزان CPP افزایش یافت و این افزایش با کاهش میزان پپتید های محلول در TCA همراه بود. با این حال با افزایش میزان CPP سفیدی ژل ها کاهش یافت. بررسی ساختار میکروسکوپ الکترونی ژل

های مودوری که به میزان ۲٪ CPP دریافت کردند نیز رشته های منظم تری را نشان دادند که نشان دهنده اثر بازدارندگی این افزودنی بر هیدرولیز پروتئین های میوفیبریل می باشد.

رادکوئن و همکاران در سال ۲۰۰۵ اثر ترکیبی پروتئین پلاسمای مرغی و قوام یافتگی را بر خصوصیات ژل حاصل از سوریمی بررسی کردند. بیشترین نیروی شکست و تغییر شکل پذیری در ژل هایی اتفاق افتاد که به میزان ۰/۵ درصد CPP، ۱۰ میلی مول بر کیلوگرم $CaCl_2$ و ۲۰۰ واحد ترومبین در هر گرم CPP دریافت کرده و قبل از وارد شدن در دمای $90^{\circ}c$، بمدت ۳۰ دقیقه در دمای $40^{\circ}c$ قرار گرفته بودند. هنگامی که CPP، $CaCl_2$و ترومبین با هم اضافه گردیدند حتی در زمان های بالای قوام یافتگی هیچ گونه شبکه بندی[1] در میوزین اتفاق نیفتاد.

بنجاکول و همکاران در سال ۲۰۰۳ اثر قوام یافتگی در دمای $25^{\circ}c$ را بر خصوصیات بافتی و شبکه بندی پروتئینهای میوزین در ژل های حاصل از سوریمی چهار گونه ماهی بررسی کردند. افزایش زمان قوام یافتگی از صفر تا هشت ساعت، نیروی شکست و تغییر شکل پذیری را در تمام ژل های ساخته شده افزایش داده و افزایش استحکام ژل با افزایش تشکیل پیوندهای غیر دی سولفیدی و کاهش تراکم زنجیر سنگین میوزین همراه بود.

بنجاکول و همکاران در سال ۲۰۰٤ اثر پروتئین پلاسمای خوکی[2] (PPP) و قوام یافتگی در دمای بالا را بر خصوصیات ژل حاصل از سوریمی در چهار گونه ماهی (سرخوی چشم درشت، شوریده، گوازیم و کوتر) بررسی نمودند. PPP به طور مؤثری نیروی شکست و تغییر شکل پذیری را در ژل های حاصل از سوریمی ای که قبل از این که به مدت ۲۰ دقیقه وارد دمای $90^{\circ}c$ شوند، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای $40^{\circ}c$ قوام یافته بودند را افزایش داد. بهترین مقدار PPP برای سوریمی گونه های سرخوی چشم درشت، شوریده، گوازیم و کوتر به ترتیب ۰/۵ ، ۰/۵ ، ۱/۵ و ۱/۵ درصد و بهترین زمان قوام یافتگی برای این گونه ها به ترتیب ۲ ، ۱/۵ ، ۱/۵ و ۲ ساعت بود. با اینحال اضافه کردن PPP سفیدی را به میزان قابل توجهی کاهش داد.

1. crosslinking
2.Porcine Plasma Protein

آکپچ و همکاران[1] در سال ۲۰۰۸ اثر مقادیر سفیده تخم مرغ (EW) ، عصاره پروتئین آب پنیر (WPC) و پروتئین پلاسمای گاوی (BPP) (از ۰ تا ۳٪) را بر خصوصیات ژل حاصل از گوشت میگوی وانامی[2] (*Penaeus vannamei*) بررسی کردند. تمام افزودنیها هم در ژل هایی که بمدت ۲۰ دقیقه تحت حرارت

مستقیم ۹۰°c قرار گرفتند و هم در ژل هایی که قبل از وارد شدن در حرارت مستقیم، بمدت ۳۰ دقیقه در دمای ٤۰°c قوام یافتند اثر بازدارندگی بر اتولیز ژل های حاصل از میگوی وانامی داشتند. اثر بازدارندگی در ژل هایی که فقط تحت حرارت مستقیم قرار گرفتند با افزایش میزان افزودنیها، افزایش یافت همچنانکه حفظ باند مربوط به زنجیر سنگین میوزین (MHC) در آزمایش الکتروفورز مؤید همین مطلب بود. بیشترین میزان نیروی شکست در ژل هایی اتفاق افتاد که به میزان ۰/۵٪ BPP دریافت کرده بودند. میزان نیروی شکست ژل هایی که ۰/۵٪ PPP دریافت کرده و تحت تأثیر حرارت مستقیم قرار گرفتند نسبت به ژل های شاهد ۲۱۱/۹٪ و در ژل هایی که ۰/۵٪ BPP دریافت کرده و قبل از وارد شدن به حرارت مستقیم، تحت تأثیر قوام یافتگی قرار گرفتند ۲۸۳/۳٪ افزایش نشان داد. افزودن BPP باعث کاهش میزان L* و افزایش میزان b* در ژل های قوام یافته گردید در حالی که افزودن EW مخصوصا در مقادیر بالاتر میزان L* را افزایش داد.

تاماتینا و همکاران در سال ۲۰۰۷ خصوصیات ژل حاصل از گوشت میگوی وانامی (*Penaeus vannamei*) را بررسی کردند که مقادیر مختلفی از آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی (MTG_{ase}) را دریافت نموده و قبل از این که بمدت ۲۰ دقیقه در دمای ۹۰°c قرار گیرد، تحت تأثیر قوام یافتگی در دمای ۲۵°c بمدت ۲ ساعت و ٤۰°c بمدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. نیروی شکست با افزایش میزان آنزیم MTG_{ase} هم در ژل هایی که تحت تأثیر حرارت مستقیم قرار گرفته و هم در ژل هایی که قبل از وارد شدن به حرارت مستقیم، قوام یافتگی را پشت سر گذاشتند، افزایش یافت. با اینحال هیچ گونه تغییری در میزان تغییر شکل پذیری ژل ها در هیچ کدام از نمونه ها دیده نشد. در تمام مقادیر MTG_{ase} ژل هایی که فقط تحت تأثیر حرارت مستقیم قرار گرفتند نسبت به ژل های قوام یافته نیروی شکست کوچکتری را نشان دادند. ژل هایی که تحت تأثیر قوام یافتگی در دمای ۲۵°c قرار گرفتند نسبت به ژل هایی که دمای قوام یافتگی ٤۰°c را پشت سر گذاشتند از نیروی شکست بزرگتری برخوردار بوده و میزان پپتیدهای محلول در TCA در ژل هایی که در دمای ٤۰°c قوام یافتند بالاتر بود.

---

1. Eakpetch
2. Pacific white shrimp

آزمایش الکتروفورز نیز نشان داد که بیشترین میزان پلیمریزه شدن زنجیر سنگین میوزین (MHC) در نمونه هایی مشاهده گردید که MTG_{ase} دریافت کرده بودند و در عین حال بررسی ساختار ژل ها در میکروسکوپ الکترونی نیز نشان داد که ژل هایی که MTG_{ase} دریافت کرده بودند نسبت به ژل هایی که فاقد این آنزیم بودند، از شبکه بندی ظریف تری برخوردار بوده و حفرات کوچکتری در آنها دیده می شد.

مرور پژوهش های قبلی نشان داد که قوام یافتگی و اضافه کردن افزودنی های پروتئینی شامل سفیده تخم مرغ و عصاره پروتئین آب پنیر و همینطور آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی تأثیر بالایی بر خواص ژل تولیدی از مینس و سوریمی ماهی و میگو دارند. به طور کلی در رابطه با توانایی تولید ژل مینس میگو مطالعات کمی صورت گرفته و بنابراین برای تکمیل مطالعات روی میگو به منظور بهبود کیفیت فراورده های حاصل از میگو و به دنبال آن افزایش مصرف سرانه آن در این تحقیق اثر قوام یافتگی و افزودنی های مختلف بر خواص ژل حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجری مورد بررسی قرار گرفت.

فصل سوم

مواد و روش ها

۳-۱-تهیه میگو و انتقال به آزمایشگاه

میگوی خنجری که در تاریخ خرداد ۱۳۹۰ از مناطق صید آبادان صید شده و هر یک کیلوگرم از آنها تقریبا حاوی ۱۵۰ قطعه میگو بود. در بسته های پلاستیکی به وزن ۲ کیلوگرم بسته بندی شده و به مدت ۱ شب در سردخانه $-35^{\circ}C$ قرار گرفتند. در روز بعد این بسته های فریز شده در کنار یخ وارد جعبه های یونولیتی شده و از طریق هوایی به تهران و سپس به سرعت به آزمایشگاه شیمی فرآورده های شیلاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شده و در فریزر $-20^{\circ}C$ (هیمالیاF350، ایران) قرار گرفتند.

۳-۲- آماده سازی میگوها و تولید ژل از آنها[1]

بسته های ۲ کیلوگرمی میگو از حدود ۱۲ ساعت قبل از شروع آزمایش از فریزر خارج شده و در یخچال (سایوانR602، ایران) قرار داده شدند تا به آرامی از حالت انجماد خارج شوند و بعد از کامل شدن انجماد زدایی، میگوها پوست کنی و رگ برداری شدند.

برای تولید ژل، ابتدا گوشت میگو باید به حالت سل درآید، به این معنی که باید با نمک مخلوط شود تا پروتئینهای میوفیبریل آن به حالت محلول در آیند. برای ترکیب با نمک نیز ابتدا گوشت میگو باید خرد شود. برای این کار از مولینکس (Moulinex 320, Spain) استفاده گردید. برای تعیین میزان نمک مورد استفاده برای اضافه کردن به گوشت مولینکس شده میگو، این گوشت در ابتدا توزین شده و سپس به میزان ۲/۵٪ از وزن گوشت، نمک طعام توزین می گردد (شعبانپور و همکاران، ۱۳۸۵). اضافه کردن نمک به گوشت در داخل دستگاه غذاساز (Yellow line MSH basic) انجام گرفت؛ به این ترتیب که بعد از قرار دادن گوشت در داخل دستگاه، نمک توزین شده در قسمت های مختلف گوشت ریخته شده و عمل مخلوط کردن گوشت و نمک به مدت حدود پنج دقیقه و در دو جهت مختلف گردش تیغه دستگاه انجام گرفت تا یک سل هموژن از آن ایجاد شود.

افزودنیها شامل آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی (Ajinomoto, Japan)، پودر سفیده تخم مرغ(شرکت گل پودر آق قلا، ایران) و عصاره پروتئین آب پنیر (DMV, Germany) به سل میگو اضافه می شدند؛ بدین ترتیب که گوشتی که پس از اضافه کردن نمک به آن به حالت سل درآمده به تعداد تیمارهای مورد نیاز

1. gel preparation

در ظروف جداگانه ای وزن شده و مقادیر مورد نیاز از افزودنیهای فوق بعد از توزین بوسیله ترازوی حساس (Sartorius, BP 310P) به ظروف موردنظر اضافه گردید. عمل مخلوط کردن افزودنیها با گوشت سل میگو آنقدر ادامه یافت که افزودنیها بطور کامل در گوشت آمیخته شده و هیچ گونه ذراتی از آنها در داخل گوشت دیده نشود. در عین حال، ظروف حاوی گوشت میگوها در تمام مراحل روی تکه های یخ قرار گرفته و عمل ترکیب گوشت با افزودنی نیز در همین شرایط انجام شد تا از بالا رفتن دمای گوشت جلوگیری شود.

برای تولید ژل، سل هارا باید بمدت ۲۰ دقیقه در دمای $90^{\circ}c$ قرار داد. این کار توسط یک قیف انجام گرفت بدین ترتیب که سل تولیدی به وسیله قیف به یک پوشش سوسیس قرمز رنگ پنج لایه پلی آمیدی با قطر ۲۵

میلیمتر وارد شده و پوشش های حاوی سل به مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری (Memmer, Germany) با دمای آب ۹۰°c برای تولید ژل حرارت دهی شدند.

نمونه هایی که قرار بود قوام یافتگی را نیز پشت سر بگذرانند پوششهای استوانه ای حاوی سل آنها قبل از وارد شدن به بن ماری حاوی آب ۹۰°c، برحسب دما و زمان های مختلف قوام یافتگی یا بمدت ۱۲ و ۲٤ ساعت در دمای ۵°c یخچال یا بمدت۱ ، ۲ و ۳ ساعت در بن ماری با دمای آب ۲۵°c و یااینکه بمدت ۳۰ و ٦۰ دقیقه در بن ماری با دمای آب ٤۰°c قرار گرفته و سپس برای تولید ژل بمدت ۲۰ دقیقه به بن ماری با دمای آب ۹۰°c منتقل شدند. ژل های تولید شده در ادامه بلافاصله از بن ماری ۹۰°c به داخل آب یخ منتقل شده و بمدت حدود ٤۵ دقیقه در آن باقی ماندند. ژل ها سپس به یخچال با دمای ٤°c منتقل شده و حدود ۱۲ ساعت در آن باقی ماندند تا برای انجام آزمایشهای فیزیکی و شیمیایی آماده شوند (لانیر، ۱۹۹۲).

ژل های مختلف تولید شده به شرح زیر می‌باشند:

۱- ژل های شاهد: بدون وارد کردن هیچ گونه افزودنی و استفاده از حرارت مستقیم.

۲- ژل های حاوی مقادیر مختلف از سفیده تخم مرغ (۰/۵ تا ۵ درصد) و تولید شده در حرارت مستقیم.

۳- ژل های حاوی مقادیر مختلف از عصاره پروتئین آب پنیر (۰/۵ تا ۵ درصد) و تولید شده در حرارت مستقیم.

٤- ژل های حاوی مقادیر مختلف از آنزیم MTGase (۰/٦ تا ۱/۸ واحد در گرم) و تولید شده در حرارت مستقیم.

۵- ژل های مقادیر مختلف از آنزیم MTGase (۰/٦ تا ۱/۸ واحد در گرم) و قوام یافته در دمای ۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ ساعت.

٦- ژل های مقادیر مختلف از آنزیم MTGase (۰/٦ تا ۱/۸ واحد در گرم) و قوام یافته در دمای ۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲٤ ساعت.

۷- ژل های مقادیر مختلف از آنزیم MTGase (۰/٦ تا ۱/۸ واحد در گرم) و قوام یافته در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت.

۸- ژل های مقادیر مختلف از آنزیم MTGase (۰/٦ تا ۱/۸ واحد در گرم) و قوام یافته در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲ ساعت.

۹- ژل های مقادیر مختلف از آنزیم MTGase (۰/٦ تا ۱/۸ واحد در گرم) و قوام یافته در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳ ساعت.

۱۰- ژل های مقادیر مختلف از آنزیم MTGase (۰/٦ تا ۱/۸ واحد در گرم) و قوام یافته در دمای ٤۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه.

۱۱- ژل های مقادیر مختلف از آنزیم MTGase (۰/٦ تا ۱/۸ واحد در گرم) و قوام یافته در دمای ٤۰ درجه سانتی گراد به مدت ٦۰ دقیقه.
۱۲- ژل های حاوی مقادیر بهینه EW و MTGase و تولید شده در حرارت مستقیم.
۱۳- ژل های حاوی مقادیر بهینه WPC و MTGase و تولید شده در حرارت مستقیم.

۳-۳- بافت سنجی[1]

برای انجام آزمایشات بافت سنجی، نمونه های ژل از یخچال خارج شده، با محیط آزمایشگاه هم دما شده و سپس از هر نمونه ژل، ٦ قطعه استوانه ای به طول ۲۰mm جدا گردید که مورد آزمایش رسوخ[2] شامل تعیین میزان استحکام[3] (برحسب گرم) و تغییرشکل پذیری (برحسب سانتی متر) و همینطور آزمایش آنالیز پروفیل بافتی[4] (TPA) توسط دستگاه بافت سنج (LFRA-1000,BrookField) قرار گرفتند.
برای اندازه گیری استحکام و تغییر شکل پذیری از یک پروب[5] کروی با قطر ۵mm استفاده گردید که با سرعت ٦۰ mm/min وارد نمونه می شد و برای انجام آنالیز پروفیل بافتی از یک پروب استوانه ای با قطر ۵۰/۸ mm استفاده شد که با سرعت ٦۰ mm/min و با ۳۵٪ تغییر شکل فشاری به نمونه برخورد نموده و پارامتر سختی[6]، خاصیت صمغی[7] و قابلیت جویدن[8] را اندازه گیری می نمود (جعفرپور و گرسیکا[9]، ۲۰۰۹).

---

1. Texture analysis
2. Puncture
3. Strength
4. Texture Profile Analysis
5. probe
6. hardness
7. gumminess
8. Chewiness
9. Gorczyca

۳-۴- تعیین رنگ

تعیین رنگ نمونه های ژل توسط دستگاهی به نام رنگ سنج [1] (Lovibond, CAM-system 500, UK) انجام شده و مؤلفه های L* (روشنی[2])، a* (بعد سرخی به سبزی) و b* (بعد زردی به آبی) در این دستگاه مورد اندازه گیری قرار گرفتند.

۳-۵- تعیین میزان رطوبت تحت فشار[3]

رطوبت تحت فشار ژل بر اساس روش ان جی[4] (۱۹۷۸) به دست می آید؛ بدین ترتیب که یک قطعه ژل به ضخامت ۵ mm جدا شده و وزن آن یادداشت می شود، سپس دو عدد کاغذ صافی(واتمن شماره ۱) روی این قطعه ژل و سه عدد نیز در زیر آن قرار می دهند. در ادامه یک وزنه ۵ کیلوگرمی را به مدت ۲ دقیقه روی ژل قرار داده و پس از سپری شدن این زمان، نمونه ژل را خارج نموده و دوباره وزن می کنند. کاهش وزن ژل، بیانگر میزان رطوبت تحت فشار ژل می باشد.

۳-۶- الکتروفورز سدیم دو دسیل سولفات-پلی اکریل آمید[5] (SDS-PAGE)

آزمایش الکتروفورز طبق روش لاملی[6] (۱۹۷۰) انجام گرفت. ابتدا پروتئین موجود در نمونه ژل باید استخراج شود؛ برای این کار به میزان ۳ گرم از هر نمونه ژل جدا نموده و وارد ۲۷^{cc} از محلول ۵٪ SDS (Merck, Germany)با دمای $۸۵^{\circ}c$ گردید. این مخلوط بمدت ۲ دقیقه با دستگاه هموژنایزر(IKA T25, Germany) هموژن گردید و سپس بمدت ۱ ساعت وارد بن ماری با دمای $۸۵^{\circ}c$ شد تا پروتئین های آن بحالت محلول درآیند. در ادامه، این محلول به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۸۵۰۰g سانتریفیوژ(Eppendorf 5810R, Germany) گردید تارسوبات غیرمحلول آن جدا گردد. ۱۰۰میکرولیتر از سوپرناتانت نمونه برداشت شده، وارد ظروف اپندورف $۱/۵^{cc}$ شده و ۲۰۰ میکرولیتر بافر نمونه به آن اضافه می شود (ترکیب بافر نمونه در ادامه بیان می گردد). این ظروف به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفته و بمدت ۱۰ دقیقه با دور ۸۰۰۰g سانتریفیوژ می شوند. ۲۰ میکرولیتر نمونه از این ظروف خارج نموده، به دستگاه الکتروفورز (Biorad Protein iixl cell)تزریق نموده و دستگاه راه اندازی می شود.

---

1. colorimeter
2. lightness
3. expressible moisture
4. Ng
5. Sodium Dodecyl Sulfate-Poly Acrylamide Gel Electrophoresis
6. Laemmli

در اینجا باید اذعان نمود که ژل پایین و ژل بالا که خود حاوی بافرهایی هستند و بافرتانک (ترکیب همه آنها در ادامه در جدول های ذکر خواهد شد) از روز قبل وارد دستگاه الکتروفورز شده اند.

در ابتدای راه اندازی دستگاه از ولتاژ ۵۰ ولت برای اجرای ژل بالا و هنگامی که خط رنگی از مرز ژل بالا و پایین عبور نمود، از ولتاژ ۱۵۰ ولت برای اجرای ژل پایین استفاده می گردد. زمانیکه خط رنگی به فاصله ۱ سانتی متری انتهای شیشه برسد، جریان برق را قطع نموده، ژل را خارج نموده، ژل بالا دور انداخته شده و ژل پایین بمدت ۱۶ الی ۲۰ ساعت وارد محلول رنگ آمیزی شده و سپس بمدت ۱ تا ۲ روز در محلول رنگ بری