

## تأثیر پروتئین ایزوله بادام زمینی بامبارا

### (*Voandzeia subterranea*) به منزله بازدارنده پروتئازی بر

### ویژگی‌های ژل سوریمی کاریچون ماهی (*Saurida tumbil*)

❖ امین اوجی فرد\*: استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس بوشهر، برازجان، ایران

❖ سیدولی حسینی: استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

❖ علی طاهری: استادیار گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

#### چکیده

تأثیر پروتئین ایزوله بادام زمینی بامبارا (BGPI) در خودهضمی و ویژگی‌های ژل سوریمی کاریچون ماهی بررسی شد. با افزایش سطوح پروتئین ایزوله بادام زمینی بامبارا از سطح صفر تا ۳ درصد، نیروی شکست (breaking force)، تغییر شکل (deformation) و پایداری / بقای زنجیره سنگین میوزین ژل مدوری به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P \leq 0.05$ )، اما در ژل کاماباکو فقط تا سطح ۰/۲۵٪ سبب افزایش پارامترهای مذکور شد. با افزایش سطوح BGPI در ژل کاماباکو، روندی کاهشی در شاخص سفیدی و رطوبت تحت فشار مشاهده شد ( $P \leq 0.05$ ). به سبب بهینه‌بودن سطح ۰/۲۵٪ BGPI در کاماباکو، این سطح برای بررسی ساختار میکروسکوپ الکترون و ارزیابی حسی ژل انتخاب شد. ساختار میکروسکوپ الکترونی ژل کاماباکو با ۰/۲۵٪ BGPI، در مقایسه با تیمار شاهد (بدون BGPI)، متراکم‌تر بود. همچنین، از نظر ارزیابی حسی، میزان قابلیت ارتجاعی، بافت و پذیرش کلی کاماباکو حاوی ۰/۲۵٪ BGPI به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. بنابراین، BGPI در سطح مناسب می‌تواند به منزله بازدارنده پروتئازی در بهبود ویژگی‌های ژل کاماباکو عمل کند.

واژگان کلیدی: ارزیابی حسی، بادام زمینی بامبارا، سوریمی، کاریچون ماهی، *Saurida tumbil*.

## ۱. مقدمه

گونه ماهی که سوریمی از آن ساخته می‌شود، متفاوت است. برای مثال، سفیده تخم مرغ و پروتئین پلاسمای گاوی میزان تنش برشی (shear stress) سوریمی منهدن (menhaden) را به یک میزان افزایش دادند (Hamann *et al.*, 1990)، اما مشخص شد که پروتئین پلاسمای گاوی، در مقایسه با سفیده تخم مرغ، اثر بازدارندگی بیشتری در سوریمی هاک اقیانوس آرام (*Merluccius productus*) دارد (Kang and Lanier, 1999; Morrissey *et al.*, 1993). Rawdkuen and Benjakul (2008) تأثیر کنسانتره پروتئین آب پنیر را در ویژگی‌های ژل سوریمی کاریچون ماهی بررسی کردند و مشخص شد که با افزایش کنسانتره آب پنیر تا سطح ۳ درصد، میزان نیروی شکست، تغییر شکل و بقای زنجیره میوزین افزایش یافت؛ همچنین، ساختار میکروسکوپ الکترونی ژل نیز متراکم‌تر شد، ولی افزایش سطح با کاهش میزان سفیدی ژل همراه بود. با وجود این، به علت دسترسی کمتر به این مواد در مقیاس صنعتی همچنین مشکلات بهداشتی از جمله بیماری جنون گاوی در پروتئین پلاسمای گاوی، استفاده از پودرهای گیاهی به‌منزله بازدارنده پروتئاز در صنایع غذایی توسعه یافته است (Luo *et al.*, 2006).

برای مثال، از پروتئین ایزوله سویا نیز، به‌منزله بازدارنده پروتئینی غیر ماهیچه‌ای، در ژل سوریمی استفاده می‌شود که این خود به علت قیمت کمتر و بهداشت بیشتر آن است (Luo *et al.*, 2006). در تحقیقی دیگر از دانه بقولات به‌منزله بازدارنده پروتئاز سرین در ماهیچه ماهی استفاده شد (Ramirez *et al.*, 2002). در واقع، دانه‌های بقولات سرشار از بازدارنده‌های پروتئازی اند که می‌توانند، به‌منزله

پروتئولیز از طریق فعالیت‌های گرمایی و پروتئازهای داخلی مقاوم به گرما ایجاد می‌شود و نقشی اساسی در کاهش مقاومت ژل سوریمی ایفا می‌کند. این پدیده به‌منزله «مودوری»<sup>۱</sup> شناخته می‌شود و از مهم‌ترین فاکتورهای تخریبی است که موجب تضعیف ژل و کاهش ارزش بازاری آن می‌شود (Morrissey *et al.*, 1993). حضور پروتئازهای داخلی در گوشت چرخ‌شده ماهی یا سوریمی نیز موجب کاهش مقاومت ژل، به‌ویژه در دمای حدود ۵۰ تا ۶۰°C می‌شود (Alvarez *et al.*, 1999). پروتئازهای داخلی بر اساس قابلیت جداسازی به دو دسته پروتئازهای سارکوپلاسمی و میوفیبریل تقسیم می‌شوند (Kinoshita *et al.*, 1990). پروتئازهای سارکوپلاسمی تا حدودی طی فرایند شست‌وشو حذف می‌شوند؛ در حالی که، پروتئازهای میوفیبریل در سوریمی باقی می‌مانند و باعث تضعیف خصوصیات ژل حاصل از آن می‌شوند (Benjakul *et al.*, 1996). پروتئازهای سرین میوفیبریل، در ماهیچه کپور، بالاترین فعالیت اتولیتیکی را در دمای ۵۵°C نشان می‌دهند (Osatomi *et al.*, 1997).

برای محافظت پروتئین‌های میوفیبریل از پروتئولیز از بازدارنده‌ها استفاده می‌شود که پروتئازهای داخلی آنها را ایجاد می‌کنند. از جمله بازدارنده‌ها می‌توان به پروتئین پلاسمای گاوی، سفیده تخم مرغ و کنسانتره پروتئین آب پنیر اشاره کرد (Chang-Lee *et al.*, 1990; Weerasinghe *et al.*, 1996). تأثیر بازدارنده‌های پروتئازی، بسته به

1. Modori

## ۲.۲. تهیه پروتئین ایزوله بادامزمینی بامبارا<sup>۴</sup>

بادامزمینی بامبارا از بازار تایلند (شهر Hat Yai) خریداری شد. نخست، نمونه‌ها پوسته‌زدایی و با استفاده از خردکن کاملاً پودر شدند. پروتئین ایزوله بادامزمینی بامبارا (BGPI) طبق روش (Pastor-Cavada *et al.*, 2009) تهیه شد. نخست، پودر بادامزمینی بامبارا در هیدروکسید سدیم ۰/۲٪ با pH ۱۲ به نسبت ۱ به ۱۰ مخلوط شد. سپس، محلول به‌دست‌آمده به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق (۲۸ تا ۳۰°C) به هم زده شد و پس از آن با سرعت ۸۰۰۰ g برای ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵°C سانتریفیوژ شد. محلول بالایی آن جمع‌آوری شد و pH آن با استفاده از اسید کلریدریک به ۴/۵ رسانده شد. رسوب آن با سرعت ۸۰۰۰ g برای ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵°C سانتریفیوژ شد. رسوب به‌دست‌آمده دوباره به میزان ۱۰ برابر حجم آن با آب مقطر شست‌وشو داده شد (با pH ۴/۵) سپس، با سرعت ۸۰۰۰ g برای ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت رسوب باقی‌مانده با استفاده از دستگاه خشک‌کن انجمادی خشک شد. BGPI در کیسه پلی اتیلنی و در دمای ۴°C نگهداری شد.

## ۳.۲. مطالعات خوددهضمی سوریمی

### کاریچون ماهی

میزان ۳ گرم سوریمی در دماهای مختلف (۴۵، ۵۰، ۵۵، ۶۰، ۶۵، ۷۰، ۷۵ و ۸۰°C) به مدت ۶۰ دقیقه در حمام آب قرار گرفت. واکنش خوددهضمی با اضافه کردن ۲۷ میلی‌لیتر از تری کلرو استیک اسید (TCA) ۵٪ متوقف شد. مخلوط برای ۱ دقیقه با

افزودنی، به ژل سوریمی اضافه شوند (Liener and Kakade, 1980).

تأثیر بازدارنده‌های پروتئازی بادامزمینی بامبارا در ژل سوریمی گوازیم (Nemipteridae) به اثبات رسیده است (Benjakul *et al.*, 1999)، ولی با توجه به اینکه تأثیر هر بازدارنده در سوریمی حاصل از ماهی‌های گوناگون، متفاوت است در نتیجه در این تحقیق تأثیر بازدارنده‌های پروتئازی بادامزمینی بامبارا در ویژگی‌های ژل سوریمی کاریچون ماهی بررسی می‌شود. از طرفی، بادامزمینی بامبارا از بقولات داخلی تایلند است که به فراوانی در این کشور یافت می‌شود و، نظر به تأثیر پروتئین ایزوله‌شده آن در عملکرد پروتئازهای داخلی، پژوهش حاضر به دنبال بررسی قابلیت آن در حفظ خصوصیات ژل کاریچون ماهی و دستیابی به سطح بهینه آن است.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۱.۲. مواد شیمیایی و سوریمی

سدیم کلراید و تری کلرو استیک اسید (TCA)<sup>۱</sup> از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. سدیم دو دسیل سولفات (SDS)<sup>۲</sup>، تترا متیل اتیلن دی آمین (TEMED)<sup>۳</sup> و کوماسی بلو از آزمایشگاه بیورد امریکا تهیه شدند. سوریمی یخ‌زده کاریچون ماهی با درجه A از بازار تایلند تهیه شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف (حدود ۲ ماه) نگهداری شد.

1. Trichloroacetic acid
2. Sodium dodecyl sulphate
3. Tetramethyl ethylene diamine

4. Bambara Groundnut Protein Isolate (BGPI)

حمام آب به دست آمد (شکل ۲). برای تهیه ژل مودوری، در ابتدا سول برای ۳۰ دقیقه در دمای  $60^{\circ}\text{C}$  در حمام آب قرار گرفت و به دنبال آن به مدت ۲۰ دقیقه در دمای  $90^{\circ}\text{C}$  حرارت دهی شد. تمامی ژل‌ها پس از حرارت دهی همراه با آب یخ به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  نگهداری شدند.



شکل ۱. افزودن پروتئین ایزوله بامبارا به سوریمی کاریچون ماهی و تشکیل مخلوطی همگن



شکل ۲. کاماباکوی آماده شده برای انجام دادن آزمایش‌ها

## ۵.۲. آنالیز بافت

آنالیز بافتی همه ژل‌ها، با استفاده دستگاه آنالیز بافتی (Stable Micro System, Surrey, UK) TA-XT2 انجام گرفت. ژل‌ها قبل از آنالیز به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق ( $25$  تا  $30^{\circ}\text{C}$ ) هم‌دما شدند. نمونه‌ها در

استفاده از دستگاه هموژنایزر با سرعت  $11000\text{ rpm}$  هموژن شد. سپس، با استفاده از میکروسانتریفیوژ با سرعت  $7500\text{ g}$  برای مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول بالایی آن برداشته شد و میزان پپتیدهای محلول در TCA با استفاده از روش (1951) *et al.*, Lowry سنجش شد.

برای تعیین الگوی اتولیتیکی، به مانند قبل عمل شد و فقط برای پایان دادن به واکنش از  $27$  میلی‌لیتر  $5\%$  SDS استفاده شد. سپس، مخلوط در  $11000\text{ rpm}$  برای ۱ دقیقه هموژن شد و به دنبال آن با استفاده از میکروسانتریفیوژ با سرعت  $7500\text{ g}$  برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. از محلول بالایی به دست آمده در روش SDS-PAGE استفاده شد.

## ۴.۲. تأثیر BGPI در ویژگی‌های ژل

### سوریمی

سوریمی یخ‌زده از سردخانه خارج شد و، با استفاده از آب جاری، دمای آن به  $25^{\circ}\text{C}$  رسانده شد. سوریمی به قطعات کوچک با ضخامت حدود ۱ سانتی‌متر تقسیم شد. پس از آن درون خردکن قرار گرفت و  $2/5\%$  نمک طعام به آن اضافه شد. BGPI در سطوح ۰،  $0/25$ ،  $0/5$ ، ۱، ۲ و ۳ درصد به مخلوط اضافه شد. مخلوط برای ۴ دقیقه در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  به هم زده شد تا مخلوطی همگن به دست آید (شکل ۱). پس از آن، مخلوط درون پوشش‌های نایلونی با قطر  $2/5$  سانتی‌متر قرار گرفت و دو سر آن با استفاده از کش لاستیکی بسته شد. ژل کاماباکو از طریق انکوباسیون سول<sup>۱</sup> در دمای  $40^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ دقیقه و به دنبال آن به مدت ۲۰ دقیقه در دمای  $90^{\circ}\text{C}$  در

1. Sol

## ۸.۲ الکتروفورز با ژل پلی اکریل آمید

### (SDS-PAGE)

برای حلالیت پروتئین، به سوریمی و ژل (۳ گرم) ۲۷ میلی لیتر محلول SDS، ۵٪ اضافه شد. سپس، مخلوط با استفاده از هموژنایزر با سرعت ۱۱۰۰۰ rpm برای ۲ دقیقه هموژن شد. برای محلول کردن پروتئین کل، مخلوط برای ۱ ساعت در دمای ۸۵°C قرار گرفت. الگوی پروتئینی با استفاده از ژل پلی اکریل آمید و طبق روش (Laemmli (1970) انجام گرفت. نمونه‌ها با سرعت ۷۵۰۰ g به مدت ۲۰ دقیقه برای برداشت مواد نامحلول سانتریفیوژ شدند. غلظت پروتئین در محلول بالایی آن با استفاده از روش (1951) *et al.* و Lowry با استفاده از سرم آلبومین گاوی به منزله استاندارد سنجش شد. نمونه‌ها به میزان ۱۵ میکروگرم پروتئین در ژل پلی اکریل آمید قرار گرفتند. ژل پلی اکریل آمید حاوی ۱۰٪ ژل جداکننده (running gel) و ۴٪ ژل متراکم کننده (stacking gel) بود که در الکتروفورز با جریان ۱۵ میلی آمپر برای هر ژل استفاده شد. بعد از اتمام کار، ژل با ۰/۲ گرم بر لیتر کوماسی بلو در متانول ۵۰٪ و اسید استیک ۷/۵٪ رنگ آمیزی شد و پس از آن با استفاده از متانول ۵۰٪ و اسید استیک ۷/۵٪ و به دنبال آن متانول ۵٪ و اسید استیک ۷/۵٪ رنگ بری شد.

## ۹.۲ بررسی ریزساختار بافت ژل سوریمی

### با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی

#### (SEM)<sup>۵</sup>

ساختمان میکروسکوپی ژل سوریمی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی تشریح شد. ژل کاماباکوی

ابتدا به شکل استوانه‌ای با طول ۲/۵ سانتی متر برش زده شدند. نیروی شکست<sup>۱</sup> (نقطه قوت) و تغییر شکل<sup>۲</sup> (چسبندگی / قابلیت ارتجاعی) با استفاده از دستگاه آنالیز بافت مجهز به پیستون شناور کروی (با قطر ۵ میلی متر) با سرعت ۶۰ میلی متر در دقیقه سنجش شد.

## ۶.۲ سنجش شاخص سفیدی<sup>۳</sup>

برای این منظور از دستگاه رنگ سنجی هانتز (ColorFlex, Hunter Associates Laboratory, ) (Reston, VA, USA) استفاده شد که فاکتور رنگ را در قالب شاخص‌های  $a^*$ ،  $b^*$ ،  $L^*$  اندازه گیری می کند. شاخص سفیدی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (NFI, 1991).

$$100 - [100 - L^*]^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2} = \text{شاخص سفیدی}$$

## ۷.۲ تعیین میزان رطوبت تحت فشار<sup>۴</sup>

میزان رطوبت تحت فشار با استفاده از روش *et al.* Benjakul (2004) مشخص شد. برای این منظور ژل‌ها به شکل استوانه‌ای با قطر ۵ میلی متر برش زده شدند سپس، وزن آنها اندازه گیری شد (X) و پس از آن بین دو عدد کاغذ واتمن شماره ۱ قرار گرفتند. وزن استاندارد معادل ۵ کیلوگرم در بالای نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه قرار داده شد سپس، نمونه‌ها از کاغذ واتمن جدا و دوباره وزن شدند (Y). میزان رطوبت تحت فشار از طریق فرمول زیر محاسبه شد:

$$100 \times \{(X-Y)/X\} = \text{میزان رطوبت تحت فشار } (\%)$$

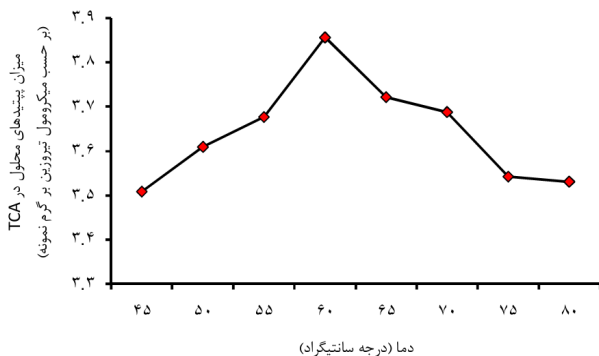
1. Breaking force
2. Deformation
3. Whiteness
4. Expressible moisture content

5. Scanning Electronic Microscopy

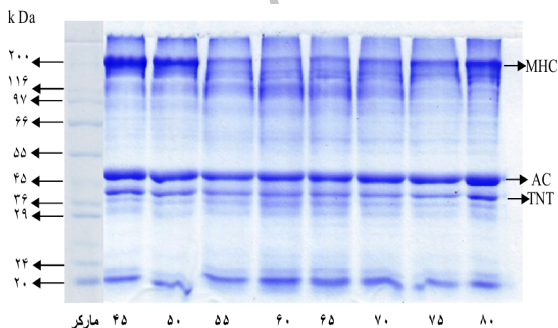
#### ۴. نتایج

##### ۱.۴. خوددهضمی سوریمی در دماهای مختلف

خوددهضمی سوریمی کاریچون در دماهای مختلف در شکل ۳ نشان داده شده است. بالاترین میزان خوددهضمی در دمای  $60^{\circ}\text{C}$  مشاهده شد. نتایج نشان داد که دما فاکتوری مهم و تأثیرگذار در خوددهضمی است. همچنین، الگوی خوددهضمی آن در شکل ۴ نشان داده شده است. تخریب پروتئین میوزین در دمای بالاتر از  $50^{\circ}\text{C}$  نشان‌دهنده تأثیر دما در تخریب پروتئین سوریمی است. برای اکتین، تغییرات اندکی در ضخامت باندهای آن در دماهای مختلف ایجاد شد. در دماهای بالاتر از  $75^{\circ}\text{C}$  زنجیره سنگین میوزین بیشتر ابقا شد.



شکل ۳. میزان پپتیدهای محلول در TCA در سوریمی کاریچون قرارگرفته در دماهای مختلف. مدت خوددهضمی ۶۰ دقیقه



شکل ۴. الگوی پروتئینی سوریمی کاریچون قرارگرفته در دماهای مختلف. (MHC = زنجیره سنگین میوزین، AC = اکتین، TNT = تروپومیوزین-تی)

کنترل (بدون BGPI) و کاماباکویی که به میزان  $0.25\%$  BGPI به آن اضافه شده بود با ضخامت ۲ تا ۳ میلی‌متر با  $2/5\%$  گلو تار آلدوئید در  $0.2$  مول بر لیتر بافر فسفات ( $7/2 = \text{pH}$ ) ثابت شد. نمونه‌ها قبل از اینکه با اتانول ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰٪ آب‌کشی شوند به مدت ۱ ساعت با آب مقطر شست و شو داده شدند. نمونه‌های خشک‌شده روی استاب‌های<sup>۱</sup> برنزی نصب و طلااندود شدند. ریزساختار بافت ژل سوریمی با میکروسکوپ الکترونی با ولتاژ ۲۰ کیلوولت بررسی شد.

##### ۱.۰.۲. ارزیابی حسی

ژل کاماباکوی کنترل (بدون BGPI) و کاماباکویی که به میزان  $0.25\%$  BGPI به آن اضافه شده بود از نظر رنگ، مزه، قابلیت ارتجاعی، بافت، بو، طعم و پذیرش کلی با کمک ۳۰ نفر ارزیاب آموزش‌دیده و با استفاده از مقیاس هدونیک ۹ نقطه‌ای (۹ = فوق‌العاده خوب، ۸ = خیلی خوب، ۷ = به طور متوسط خوب، ۶ = کمی خوب، ۵ = بد، ۴ = کمی بد، ۳ = به طور متوسط بد، ۲ = خیلی بد، ۱ = فوق‌العاده بد) سنجش شدند (Meilgaard et al., 1999).

##### ۳. آنالیز آماری

همه آزمایش‌ها با سه تکرار انجام شدند. داده‌ها با استفاده از واریانس یک‌طرفه (ANOVA) تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه بین میانگین‌ها نیز با روش دانکن (سطح معنی‌دار ۰/۰۵) انجام شد. از آزمون T-تست برای مقایسه‌های جفتی (سطح معنی‌دار ۰/۰۵) و از نرم‌افزار SPSS (16.0) برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده شد.

## ۲.۴. تأثیر BGPI در ویژگی‌های بافتی ژل

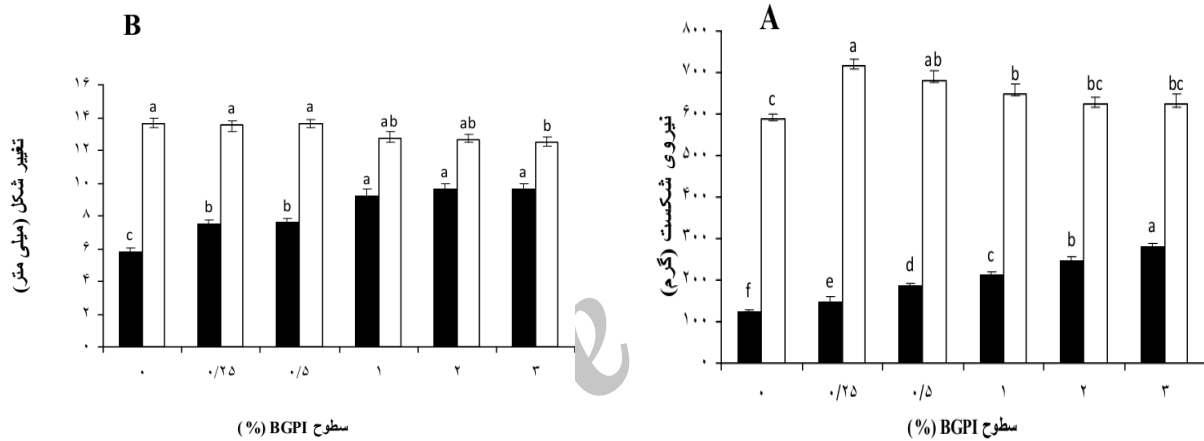
## کاماباکو و مودوری

نیروی شکست و تغییر شکل کاماباکو و مودوری با حضور BGPI در سطوح مختلف در شکل ۵ نشان داده شده است. نیروی شکست و تغییر شکل در ژل مودوری با افزایش سطوح BGPI افزایش یافت. برای کاماباکو، اضافه کردن BGPI در سطح ۰/۲۵٪ سبب افزایش نیروی شکست شد و در سطوح بالاتر از آن، نیروی شکست کاهش معنی داری یافت ( $P \leq 0/05$ ).

## ۳.۴. شاخص سفیدی و میزان رطوبت تحت

## فشار

شاخص سفیدی کاماباکو که به سطوح مختلف BGPI اضافه شده، در جدول ۱ مشخص شده است. کاهش معنی داری در میزان شاخص سفیدی با افزایش میزان سطوح BGPI ایجاد شد ( $P \leq 0/05$ ). همچنین، از نظر میزان رطوبت تحت فشار نیز کاهش معنی داری با افزایش سطوح BGPI مشاهده شد ( $P \leq 0/05$ ).



شکل ۵. A = نیروی شکست و B = تغییر شکل مودوری و کاماباکوی کاریچون که سطوح مختلف BGPI به آن افزوده شده است. (■ = مودوری، □ = کاماباکو). میانگین  $\pm$  SE ۳. تکرار، وجود حروف غیر همسان روی ستون‌ها نشانه اختلاف معنی دار است ( $P \leq 0/05$ ).

جدول ۱. شاخص سفیدی و میزان رطوبت تحت فشار ژل کاماباکو حاصل از سوریمی کاریچون که سطوح مختلف BGPI به آن افزوده شده است

رطوبت تحت فشار (%)	شاخص سفیدی	سطح BGPI (%)	نمونه
۵/۱۴ ± ۰/۴۳ <sup>a</sup>	۹۱/۲۸ ± ۰/۳ <sup>a</sup>	۰	کاماباکو
۳/۹۵ ± ۰/۵۸ <sup>ab</sup>	۹۱/۰۰ ± ۰/۵۰ <sup>a</sup>	۰/۲۵	
۳/۵۷ ± ۰/۸۱ <sup>ab</sup>	۸۸/۷۳ ± ۰/۱۴ <sup>b</sup>	۰/۵	
۳/۱۱ ± ۰/۳۸ <sup>b</sup>	۸۸/۵۷ ± ۰/۲۳ <sup>bc</sup>	۱	
۲/۹۸ ± ۰/۲۱ <sup>b</sup>	۸۸/۱۵ ± ۰/۰۳ <sup>bc</sup>	۲	
۲/۸۵ ± ۰/۳۷ <sup>b</sup>	۸۷/۷۴ ± ۰/۳۱ <sup>c</sup>	۳	

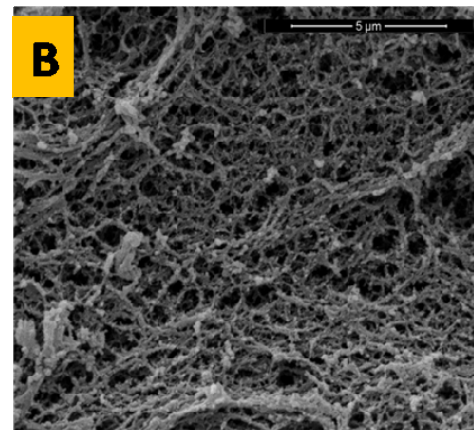
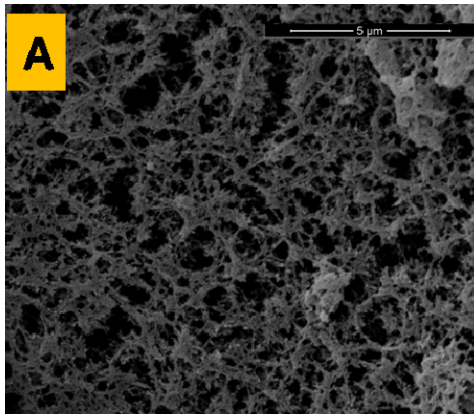
وجود حروف غیر همسان در هر ستون نشانه اختلاف معنی دار است ( $P \leq 0/05$ ).

#### ۴.۴. الگوی پروتئینی ژل کاماباکو و مودوری

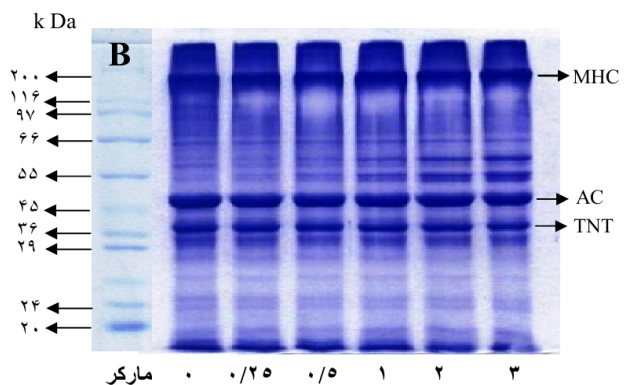
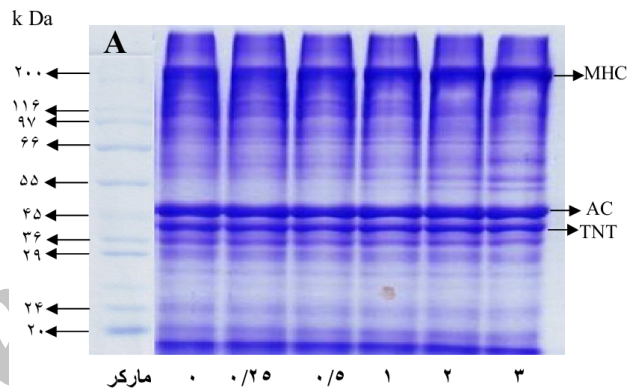
الگوی پروتئینی ژل کاماباکو و مودوری که سطوح مختلف BGPI به آن اضافه شده در شکل ۶ نشان داده شده است. کمترین ضخامت باند زنجیره سنگین میوزین در مودوری بدون حضور BGPI به دست آمد و با افزایش میزان BGPI میزان ابقای میوزین نیز بیشتر شد. با افزایش سطوح BGPI تغییر معنی داری در ضخامت زنجیره سنگین میوزین ژل کاماباکو مشاهده نشد (شکل ۶، B).

#### ۴.۵. ساختار میکروسکوپ الکترونی

ساختار الکترونی کاماباکو با میزان ۰/۲۵ BGPI، شبکه ژلی متراکم تر با منافذ کوچک تر را نسبت به کاماباکوی کنترل (بدون BGPI) نشان داد (شکل ۷).



شکل ۷. ریزساختار الکترونی ژل کاماباکوی حاصل از سوریمی کاریچون A= بدون BGPI و B= میزان ۰/۲۵ BGPI اضافه شده است. بزرگنمایی  $\times 10000$



شکل ۶. الگوی SDS-PAGE مربوط به A= ژل مودوری و B= ژل کاماباکوی حاصل از سوریمی کاریچون که سطوح مختلف BGPI به آن افزوده شده است. (MHC= زنجیره سنگین میوزین، AC= اکتین، TNT= تروپومیوزین-تی). اعداد مشخص کننده سطوح BGPI بر اساس درصد است.

#### ۴.۶. ارزیابی حسی ژل سوریمی

ارزیابی حسی اختلاف معنی داری را در رنگ، مزه، بو و طعم دو تیمار کاماباکوی کنترل و کاماباکو با ۰/۲۵ BGPI نشان نداد ( $P \geq 0.05$ )، ولی تیمار کاماباکو از نظر قابلیت ارتجاعی، بافتی و مقبولیت کلی دارای اختلاف معنی دار با کاماباکوی شاهد بود ( $P \leq 0.05$ ).



جدول ۲. ارزیابی حسی ژل کاماباکوی شاهد و تیمارشده با ۰/۲۵ BGPI

سطوح	BGPI(%)	رنگ	مزه	قابلیت ارتجاعی	بافت	بو	طعم	پذیرش کلی
صفر	۷/۶۰±۱/۰۶ <sup>a</sup>	۷/۴۳±۰/۹۷ <sup>a</sup>	۷/۵۰±۰/۸۶ <sup>b</sup>	۷/۳۳±۰/۷۵ <sup>b</sup>	۷/۱۰±۱/۳۷ <sup>a</sup>	۷/۱۳±۱/۱۰ <sup>a</sup>	۷/۱۱±۰/۹۷ <sup>b</sup>	
۰/۲۵	۷/۸۶±۰/۷۷ <sup>a</sup>	۷/۳۰±۰/۸۷ <sup>a</sup>	۸/۰۲±۰/۶۵ <sup>a</sup>	۷/۹۶±۰/۸۰ <sup>a</sup>	۷/۴۳±۰/۹۷ <sup>a</sup>	۷/۳۰±۰/۹۵ <sup>a</sup>	۷/۹۳±۰/۷۸ <sup>a</sup>	

وجود حروف غیر همسان در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار است ( $P \leq 0.05$ ).

## ۵. بحث و نتیجه‌گیری

خوددهضمی سوریمی کاریچون بر اساس میزان پپتیدهای محلول در TCA تعیین شد (شکل ۳) که بالاترین میزان خوددهضمی را در دمای ۶۰°C نشان داد. کاهش سریع منحنی در دماهای بالاتر از ۶۰°C احتمالاً به علت دناتورشدن پروتئازهای داخلی است. مشخص شده است که پروتئازهای سرین مسئول تخریب بافتی در سوریمی گونه گوازیم ماهی است (Toyohara and Shimizu, 1988). به طور کلی، نتایج نشان‌دهنده تأثیر دما در تخریب پروتئین‌ها، به‌ویژه پروتئین میوزین، در سوریمی بود. در گونه‌های بز ماهی (Mullidae) و ماهی سرخو چشم‌درشت (*lutjanusLutjanus*) نیز بالاترین میزان خوددهضمی در دماهای به ترتیب ۶۰ و ۶۵°C مشاهده شد (Rawdkuen and Benjakul, 2008; Yarnpakdee et al., 2009). برای اکتین، تغییرات اندکی در ضخامت باندهای آن در دماهای مختلف ایجاد شد که این نشان‌دهنده حساسیت بیشتر زنجیره سنگین میوزین نسبت به دیگر پروتئین‌هاست. در دماهای بالاتر از ۷۵°C، به علت ازبین‌رفتن و غیرفعال‌شدن پروتئازهای داخلی، زنجیره سنگین میوزین بیشتر ابقا شد. به طور کلی، کاهش در تراکم باندهای پروتئینی به منظور افزایش در میزان پپتیدهای محلول در TCA بود (شکل‌های ۳ و ۴). بنابراین، دمای ۶۰°C به منزله دمایی که باعث ضعف در ژل سوریمی

(مودوری) می‌شود، انتخاب شد.

برای کاماباکو، فقط با اضافه‌کردن BGPI تا سطح ۰/۲۵٪ نیروی شکست افزایش و با افزایش سطح BGPI، نیروی شکست کاهش یافت. در واقع اثر رقیق‌شدگی (dilution effect) پروتئین‌های میوفیبریل یا تداخل (interference) پیوندهای عرضی پروتئین‌های میوفیبریل در سطوح بالای بازدارنده‌ها می‌تواند از تشکیل شبکه ژل جلوگیری کند و سبب کاهش نیروی شکست شود (Rawdkuen et al., 2004). نتایج نشان داد که BGPI نقش اساسی به‌منزله بازدارنده برای پروتئازهای داخلی در سوریمی کاریچون ماهی ایفا می‌کند که فعالیت خوددهضمی اپتیمم آن دمای ۶۰°C (شکل ۳) بود. (1999) et al., Benjakul و Oujifard et al., (2012) نیز در تحقیقی تأثیر بازدارندگی BGPI در ژل سوریمی گوازیم (Nemipteridae) را مشخص کرده بودند. در تحقیقی با افزایش سطوح کازئین و پروتئین پلاسمای خوک به ترتیب در ژل سوریمی آلاسکا پولاک (*Theragra chalcogramma*) و گوازیم نیز کاهش در میزان نیروی شکست مشاهده شد (Benjakul et al., 1996; Yamashita et al., 2004) که با داده‌های این تحقیق مطابقت می‌کند. بنابراین، BGPI در سطح ۰/۲۵٪ برای بهبود ویژگی‌های ژل کاماباکو مناسب تشخیص داده شد.

ویژگی‌های رنگ سوریمی به طور مستقیم تحت

مشاهده شد که همسو با نتایج مربوط به نیروی شکست و تغییر شکل بود (شکل های ۵، A, B). به هم پیوسته بودن بیشتر شبکه سه بعدی پروتئین در کاماباکوی تیمار شده نشان دهنده تأثیرات بازدارندگی BGPI در تخریب پروتئین است.

نتایج آنالیز حسی (جدول ۲) نیز هم راستا با نتایج نیروی شکست و ساختار میکروسکوپ الکترونی کاماباکوی اضافه شده با ۰/۲۵ BGPI بود (شکل های ۵ و ۷، A, B). بنابراین، کاهش میزان مقبولیت کلی کاماباکوی شاهد نیز می تواند به علت نرمی بیشتر بافت آن باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد که اضافه کردن BGPI در ژل سوریمی در سطح اپتیمم ۰/۲۵٪ باعث افزایش نیروی شکست و تراکم ساختار ژلی آن می شود و مقبولیت کمتر ژل کاماباکوی بدون BGPI احتمالاً می تواند به سبب نرمی بیشتر آن باشد. در نتیجه می توان BGPI را در سطح اپتیمم ۰/۲۵٪ به ژل سوریمی به منظور افزایش خاصیت ارتجاعی آن اضافه کرد بدون اینکه تأثیر منفی در ویژگی های حسی آن داشته باشد.

### تقدیر و تشکر

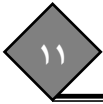
از همکاری مستمر جناب آقای پروفیسور سوتاوات بنجاکول و خانم تانگ مسئول محترم آزمایشگاه تکنولوژی غذایی دانشگاه PSU تایلند در اجرای این تحقیق تقدیر می شود.

تأثیر نوع و میزان افزودنی ها قرار می گیرد ( Benjakul *et al.*, 2004; Rawdkuen *et al.*, 2004). با وجود این، تا سطح ۰/۲۵ BGPI اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $P \geq 0/05$ ). در نتیجه در این سطح، BGPI تأثیر منفی در شاخص سفیدی کاماباکو ندارد. رنگ دانه های موجود در BGPI احتمالاً مسئول کاهش سفیدی کاماباکو هستند.

از نظر میزان رطوبت تحت فشار نیز کاهش معنی دار آن می تواند تحت تأثیر BGPI باشد. BGPI ممکن است با محصور کردن آب باعث ابقای بیشتر آب در شبکه ژل شود (Benjakul *et al.*, 2004).

کمترین ضخامت باند زنجیره سنگین میوزین در مودوری بدون حضور BGPI به دست آمد. افزایش ضخامت باند میوزین با افزایش سطوح BGPI هم راستا با افزایش میزان نیروی شکست و تغییر شکل در ژل مودوری بود (شکل ۵، B, A). نتایج مشخص کرد که BGPI قادر است از تخریب زنجیره سنگین میوزین در ژل مودوری جلوگیری کند و در نتیجه سستی ژل را کاهش دهد. با افزایش سطوح BGPI ضخامت زنجیره سنگین میوزین در ژل کاماباکو تا اندازه ای افزایش یافت که به علت اثر بازدارندگی BGPI در پروتئازهای داخلی بود و در نتیجه آن هیدرولیز میوزین کاهش یافت یا حداقل بدون تغییر باقی ماند (شکل ۶، B).

همچنین، شبکه ژلی متراکم تر و با منافذ کوچک تر در کاماباکوی تیمار شده با ۰/۲۵ BGPI



## References

- [1]. Alvarez, C., Couso, I., Tejada, M., 1999. Thermal gel degradation (modori) in sardine surimi gel. *Journal of Food Science*, 64, 633-637.
- [2]. Benjakul, S., Seymour, T.A., Morrissey, M.T., An, H., 1996. Proteinase in Pacific whiting surimi wash water: identification and characterization. *Journal of Food Science*, 61, 1165-1170.
- [3]. Benjakul, S., Visessanguan, W., Chantarasuwan, C., 2004. Effect of porcine plasma protein and setting on gel properties of surimi produced from fish caught in Thailand. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, 37, 177-185.
- [4]. Benjakul, S., Karoon, S., Suwanno, A. 1999. Inhibitory effect of legume extracts on fish proteinases. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1875-1881.
- [5]. Chang-Lee, M.V., Lampila, L.E., Crawford, D.L., 1990. Yield and composition of surimi from Pacific whiting (*Merluccius productus*) and the effect of various protein additives on gel strength. *Journal of Food Science*, 55, 83-86.
- [6]. Hamann, D.D., Amato, P.M., Wu, M.C., Foegeding, E.A. 1990. Inhibition of modori (gel weakening) in surimi by plasma hydro-lysate and egg white. *Journal of Food Science*, 55, 665-669.
- [7]. Kang, I.S., Lanier, T.C. 1999. Bovine plasma protein functions in surimi gelation compared with cysteine protease inhibitors. *Journal of Food Science*. 64, 842-846.
- [8]. Kinoshita, M., Toyohara, H., Shimizu, Y., 1990. Purification and properties of a novel latent proteinase showing myosin heavy chain-degrading activity from threadfin bream muscle. *Journal of Biochemistry*, 107, 587-591.
- [9]. Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage. *Nature*, 227, 680-685.
- [10]. Liener, I.E., Kakade, M.L., 1980. Protease inhibitors. *Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*. pp. 7-71. In: Liener, I.E. (Ed.). Academic Press, New York, USA.
- [11]. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 256-275.
- [12]. Luo, Y., Shen, H., Pan, D., 2006. Gel-forming ability of surimi from grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*): influence of heat treatment and soy protein isolate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 687-693.
- [13]. Meilgaard, M., Civille, G.V., Carr, B.T., 1999. *Sensory evaluation techniques*. 3<sup>rd</sup> Ed. CRC Press, Inc. Boca Raton, U.S.A., pp. 111-116.
- [14]. Morrissey, M.T., Wu, J. W., Lin, D.D., An, H., 1993. Effect of food grade protease inhibitor on autolysis and gel strength of surimi. *Journal of Food Science*, 58, 1050-1054.
- [15]. NFI., 1991. *A manual of standard methods for measuring, specifying the properties of surimi*. Washington, DC: National Fisheries Institute. PP. 6-27.
- [16]. Oujifard, A., Benjakul, S., Ahmad, M., Seyfabadi, J., 2012. Effect of bambara groundnut protein isolate on autolysis and gel properties of surimi from threadfin bream (*Nemipterus bleekeri*). *LWT-Food Science and Technology*. 47, 261-266.
- [17]. Osatomi, K., Sasai, H., Cao, M.J., 1997. Purification and characterization of myofibril-bound serine proteinase from carp (*Cyprinus carpio*) ordinary muscle. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 116B, 183-190.

- [18]. Pastor-Cavada, E., Juan, R., Pastor, J. E., Alaiz, M., Vioque, J., 2009. Analytical nutritional characteristics of seeds proteins in six wild *Lupinus* species from southern Spain. *Food Chemistry*, 117, 466-469.
- [19]. Rawdkuen, S., Benjakul, S., Visessenjuan, W., Lanier, T.C., 2004. Chicken plasma protein affects gelation of surimi from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Hydrocolloids*, 18, 259-270.
- [20]. Rawdkuen, S., Benjakul, S. 2008. Whey protein concentrate: Autolysis inhibition and effects on the gel properties of surimi prepared from tropical fish. *Food Chemistry*, 106, 1077-1084.
- [21]. Ramirez, J.A., Garcia-Carreno, F.L., Morales, O.G., Sanchez, A. 2002. Inhibition of modori-associated proteinases by legume seed extracts in surimi production. *Journal of Food Science*, 67, 578-581.
- [22]. Toyohara, H., Shimizu, Y., 1988. Relation between the modori phenomenon and myosin heavy chain breakdown in threadfin-bream gel. *Agricultural and Biological Chemistry*, 52, 255-257.
- [23]. Weerasinghe, V.C., Morrissey, M.T., An, H., 1996. Characterization of active components in food-grade proteinase inhibitors for surimi manufacture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 2584-2590.
- [24]. Yarnpakdee, S., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kijroongrjana, K., 2009. Autolysis of goatfish (*Mulloidichthys martinicus*) mince: Characterisation and effect of washing and skin inclusion. *Food Chemistry*, 114, 1339-1344.
- [25]. Yamashita, T., Araki, H., Seki, N., 1996. Effects of casein on gelling properties of surimi paste. *Fisheries Science*, 62, 421-426.

Archive of SID