بررسی خواص عملکردی و تولید ماست فراسودمند با استفاده از کلاژن پوست ماهی سنگسر (*Pomadasys kaakan*)

شیرین السادات متولی[۱]، رضوان موسوی ندوشن[۲*]، محمد ربانی[۲]

۱- کارشناس ارشد، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران- ایران
۲- استادیار، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران- ایران
(تاریخ دریافت: ۹۷ /۰۹/۰۹ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۷/۰۵)

چکیده

هدف از تحقیق حاضر بررسی خواص عملکردی ماست فراسودمند توسط کلاژن پوست ماهی سنگسر بود. به طوری که کلاژن به روش های اسیدی و آنزیمی و سپس میکروکپسول های فعال حاوی کلاژن تهیه شد. نمونه های ماست بدون کلاژن، حاوی ۱٪ کلاژن، ۱٪ کلاژن هیدرولیزشده، ۰/۵٪ کلاژن+۰/۵٪ کلاژن میکروانکپسوله و میکروکپسولهای کلاژن تهیه شد. جهت بررسی مقایسه میانگین داده ها از آزمون چند دامنه ای دانکن، در سطح احتمال خطای α=5% استفاده شد. نتایج تحقیق بر روی کلاژن و کلاژن هیدرولیز شده نشان داد کمترین قدرت کاهندگی متعلق به کلاژن طبیعی در غلظت (۰/۲ ٪) و بالاترین میزان آن در نمونه کلاژن هیدرولیزشده در غلظت (۵ ٪) بود. کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی در نمونه های کلاژن طبیعی (۰/۲ ٪) و کلاژن طبیعی (۱ ٪) و بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی در نمونه کلاژن هیدرولیزشده (۵ ٪) ملاحظه شد. بالاترین حلالیت متعلق به نمونه کلاژن هیدرولیز شده در (pH=٤) و پائین ترین حلالیت متعلق به نمونه کلاژن هیدرولیز شده در (pH=۱۰) بود. نتایج تحقیق بر روی ماست نشان داد که در روز یکم، pH تیمارهای ۲ (ماست محتوی ۱٪ کلاژن طبیعی) و ۳ (ماست محتوی ۱٪ کلاژن هیدرولیز) به طور معنی داری پائین تر از دیگر تیمارها بود. فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ٤ (ماست محتوی ۰/۵٪ کلاژن + ۰/۵٪ میکروکپسول) بالاترین مقدار را دارا بود. همچنین بالاترین سینرزیس متعلق به نمونه شاهد و کمترین میزان آن در نمونه ٤ (ماست محتوی ۰/۵٪ کلاژن + ۰/۵٪ کپسول) ملاحظه شد. در هر دو روز مورد بررسی، اختلاف آماری معنی داری در امتیاز رنگ، طعم و بو نمونه ها ملاحظه نشد و تیمار ٤ (ماست محتوی ۰/۵٪ کلاژن + ۰/۵٪ میکروکپسول) به عنوان تیمار برتر معرفی شد.

کلید واژگان: ماست، کلاژن، میکروکپسوله کردن، پکتین

*مسئول مکاتبات: mousavi.nadushan@gmail.com

1. Bovine Spongiform Encephalopathy

۱- مقدمه

کلاژن به یک گروه از پروتئین‌های ساختاری ماتریکس خارج سلولی را که در یک آرایش رشته ای جمع شده اند اطلاق می گردد [۱و۲]. کلاژن ویژگی‌های منحصر به فرد و زیادی دارد و در صنعت غذا و نوشیدنی ها برای بهبود الاستیسیته، استحکام و ثبات محصولات به صورت گسترده مورد استفاده قرار می گیرد و همچنین در صنایع پزشکی و صنایع دارویی نیز کاربرد دارد. کلاژن در همه ارگانیسم‌های زنده وجود دارند، و از نظر توالی ژنتیکی و آمینواسیدی، بویژه از نظر ساختار مارپیچ سه گانه، در بسیاری از ارگانیسم‌ها مشترک و بسیار فراوان بوده، بویژه در پستانداران که به عنوان ترکیب ساختاری (تا ۲۵ درصد از کل پروتئین) و با فعالیت بیولوژیک در بافت‌هایی مانند پوست، استخوان و غضروف هم وجود دارد[۳]. این ترکیب ساختار پیچیده و سازمان دهی منظمی دارد، و بیش از ۲۰ نوع کلاژن تا به امروز شناسایی و گزارش شده است. انواع مختلف کلاژن در بافت‌های مختلف حیوانی یافت می شود[٤]. با توجه به پتانسیل صنعتی استفاده از آن، کلاژن عمدتاً از گاو و خوک بدست می‌آیند، که در سال‌های اخیر باعث نگرانی‌هایی شده‌اند و همچنین به دلائل مختلفی نظیر شیوع بیماری انسفالوپاتی اسفنجی شکل گاوی[1] (BSE) (جنون گاوی)، دیگر منابع کلاژن مورد بررسی قرار گرفته‌اند. از این نظر، علاوه بر استفاده از تکنولوژی پروتئین نوترکیب (که گران‌تر بوده و همیشه کارآمد نیست)، استفاده از کلاژن از منابع دریایی توجه زیادی را بوسیله صنعت به عنوان یک منبع جایگزین مهم به خود جلب کرده است [٥و٦]. ماهی سنگسر شش خط با نام علمی *Pomadasys furcatus* از تیره *Haemulidae* می باشد و می تواند در تولید کلاژن مرد استفاده قرار گیرد. تحقیقات بسیاری در زمینه کلاژن‌های با منشأ دریایی انجام شده است. Wu وهمکاران (۲۰۱٤) در جداسازی، شناسایی وخالص سازی کلاژن پپسین محلول[2] (PSC) از اسکلت و استخوان سر کوسه ماهی نقره ای (*Carcharhinus albimarginatus*)، اذعان نمودند که کلاژن استخراج شده شامل ۸۲ تا ۸۸ درصد خاکستر بود. میزان هیدروکسی پرولین PSC اسکلت (۱۱۳ mg/g) و بالاتر از PSC استخوان سر بود. هردونوع کلاژن ترکیبی از زنجیره های متفاوت α (α۱وα۲) بودند. تجزیه و تحلیل زنجیره امینو اسیدی PSC اسکلت و سر نشان داد که محتوی ایمونو اسید در هر ۱۰۰۰ واحد باقی مانده به ترتیب ۱٥٦ و ۱۷٥ بوده است. طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه[3] نشان داد که دمای دناتوراسیون PSC اسکلت ۳۱C° و بیشتر از PSC سر بود. همچنین میکروسکوپ SEM ساختمان فیبری، متخلخل و چند لایه را نشان داد[۷]. Nagai و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی خصوصیات کلاژن ASC بدست آمده از پوست سیمین ماهی *Hypomesus pretiosus japonicas (Brevoor)* گزارش نمودند که بیشترین بازده کلاژن بر اساس وزن خشک ۲٤٪ است. با استفاده از روش SDS-پلی آکریل آمید ژل الکتروفورز و کروماتوگرافی دریافتند که این کلاژن هتروتریمر[4] با ترکیب زنجیره ای($\alpha_1,\alpha_2,\alpha_3$) است. دمای دناتوراسیون°C ۳۲/٥ بود که°C ٤/٥ کمتر از پوست خوک بود. آنالیز FTIR نشان داد که ترکیب ساختمان دوم کلاژن ۱۱٪ α-helix, ۳٤٪ β-sheet, ۱۹٪ β-turn و ۲۱٪ ترکیبات دیگر می باشد. دمای دناتوراسیون این ماهی در مقایسه با سایر آبزیان، بالا بود [۸]. لذا هدف از تحقیق حاضر بررسی خواص عملکردی کلازن از ضایعات و تولید ماست فراسودمند با استفاده از کلاژن پوست ماهی سنگسر قرار گرفت.

۲- مواد و روش ها

۲-۱ مواد مورد استفاده

ماهی سنگسر صید شده از آب های هندیجان (رودخانه ای واقع در جنوب شرقی خوزستان و شمال خلیج فارس)، از بازار ماهی تهیه شد. همچنین کلیه مواد شیمیایی مورد نیاز در انجام آزمایشات از شرکت مرک آلمان تهیه گردید.

۲-۲ تهیه و آماده سازی نمونه

در ابتدا بادقت پوست ماهی و فلس آن از گوشت جدا شد. به این صورت که گوشت بطور کامل از جدا گردید. در ادامه پوست توسط آب مقطر سه الی چهار مرتبه شسته و زمان داده شد تا آب اضافی آن کاملاً خارج شود، پس از این مرحله پوست به

2. Collagen solublepepsin

3. Fourier transform infrared spectrometer
4. Heterotrimer

قطعات cm^2 ۰/۵ × ۰/۵ برش داده شد و بلافاصله پوست در فریزر و دمای $-20\ ^{\circ}C$ قرار داده شد.

۲-۳- استخراج کلاژن به روش اسیدی

استخراج کلاژن در محلول اسیدی[5] (ASC) براساس روش Nagiaو همکاران (۲۰۰۰) با کمی تغییرات انجام شد. جهت حذف پروتئین های غیر کلاژنی، حدود چند گرم از پوست در سود ۰/۱ مولار با نسبت پوست/ سود ۱/۱۰ (w/v) غوطه ور شد. این مرحله با هم زدن مداوم و در دمای $4\ ^{\circ}C$ به مدت ٤٨ ساعت انجام شد. محلول قلیایی هر ٦ ساعت تعویض شد. سپس پوست از سود خارج و توسط آب مقطر سرد به خوبی شستشو داده شد تا زمانی که pH پوست خنثی شود. در ادامه جهت حذف چربی، پوست در بوتیل الکل ۱۰٪ با نسبت جامد/حلال ۱/۲۰ (w/v) به مدت ٤٨ ساعت قرار داده شد. در پایان این مرحله، پوست مجدد با آب مقطر شستشو داده شد تا به pH خنثی رسید. در مرحله بعد پوست در اسید استیک ۰/۵ مولار با نسبت ۱/۱۵ (w/v) به مدت ۷۲ ساعت غوطه ور گردید. سپس مخلوط پوست و اسید از دولایه صافی عبورراابطه (۱)پوست باقی مانده بر روی صافی تحت شرایط مشابه استخراج گردید. به محلول بدست آمده، Nacl ۲/٦ مولار اضافه شد و پس از مشاهده رسوب و رسیدن pH به محدوده خنثی جهت جداسازی رسوب از سانتریفوژ با دور ۱۸۰۰۰g به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. کلیه مراحل استخراج در $4^{\circ}C$ و با هم همزدن مداوم انجام شد. رسوب حاصل از این مرحله لیوفیلیز و پس از خشک شدن، در $-20^{\circ}C$ درجه سانتی گراد نگه داری گردید[۹].

۲-٤- تولید کلاژن هیدرولیز شده از ASC

هیدرولیر کلازن استخراج شده به روش اسیدی از پوست ماهی سنگسر بر اساس روش wang و همکاران (۲۰۱۳) صورت گرفت. محلول ASC (۳/۵ مولار) توسط اسید استیک ۰/۵ مولار (pH= ۲/۵) آماده سازی شد. سپس پپسین با نسبت آنزیم به کلاژن ۱/۲۰ اضافه و محلول به مدت ۵ ساعت در دمای$37^{\circ}C$ انکوبه شد. برای غیر فعال سازی آنزیم پپسین، محلول به مدت ۱۰ دقیقه در دمای $90^{\circ}C$ نگهداری و سپس با دور ۵۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه در دمای $4\ ^{\circ}C$ سانتریفیوژ شد. فاز مایع توسط خشک کن انجمادی خشک شده و در دمای $-20^{\circ}C$ نگه داشته شد[۱۰].

۲-۵- فعالیت آنتی اکسیدانی (DPPH)

در تحقیق اخیر فعالیت بازدارندگی DPPH [6] و کاهش قدرت کلاژن هیدرولیز شده و هیدرولیز نشده جهت محاسبه توانایی آن ها در محافظت از اکسیداسیون نمونه ها استفاده گردید. قابلیت مهار رادیکال ها با بی رنگ شدن رنگ بنفش محلول متانول توسط DPPH اندازه گیری شد. ۱ میلی لیتر از غلظت های مختلف (۵،۱،۰/۲) مولار از کلاژن های هیدرولیز شده و هیدرولیز نشده به ٤ml محلول اتانولی DPPH (۰/۰۰٤ ٪) اضافه شد. نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و محل تاریک انکوبه شدند. بعد از این مدت، میزان جذب در طول موج ۵۱۷nm خوانده شد. مهار رادیکال های آزاد توسط DPPH توسط رابطه۱ محاسبه شد. آنتی اکسیدان های (BHT) بوتیل هیدروکسی تولوئن و α-توکفرول به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفتند[۱۱] .

$$I\% = A_{blank} - A_{sample} / A_{blank} \times 100$$

A_{blank} = جذب DPPH، A_{sample} = جذب نمونه

۲-٦-روش استخراج پکتین

جهت استخراج پکتین ابتدا ۲۰۰ گرم از سیب رنده شده در CC ٤۰۰ آب مقطر که pH آن قبلاً توسط اسید نیتریک به ۱/۵ رسیده بود، ریخته شد. سپس محلول بر روی اجاق برقی با همزن شیشه-ای دائما هم زده شد و حرارت آن روی $85^{\circ}C$ درجه سانتی گراد تنظیم گردید. پس از آنکه آب کاملاً غلیظ شد، محلول از چند لایه تنزیب، عبور داده شد تا محلول به نصف حجم اولیه رسید. سپس تا حدود ۸۰ درصد اتانول اضافه شد. در این حالت پکتین به حالت ژله از محلول جدا شد. اجزای آن با کاغذ صافی جدا شد وسپس به مدت یک روز در حرارت ۳۰ تا ٤۰ درجهٔ سانتیگراد قرار داده شد تا خشک شود. در پایان رسوب خشک به صورت پودر در آمد[۱۲] .

۲-۷- آماده سازی محلول ها و تهیه میکرو کپسول های فعال حاوی کلاژن

5. Acid Solution Colagen

6. 2,2 - Diphenylpicrylhydrazyl

محلول های صمغ با استفاده از پودر صمغ زانتان و پکتین در غلظت های مختلف 0/1 و 0/5 درصد (وزنی/حجمی) در آب حل شده و هرکدام به طور جداگانه با استفاده از یک استیرر با سرعت ۱۱۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق هم زده شد و سپس یک شب در دمای ٤ درجه سانتی گراد نگهداری شد تا از انحلال پلیمرهای زیستی اطمینان حاصل شود. سپس کلاژن به مقدار مورد نظر در CC ۱ روغن حل شده و بعد از حل شدن به صمغ مورد نظر در غلظت مشخص اضافه شد. امولسیون روغن در آب با پخش شدن غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد (وزنی/حجمی) کلاژن در محلول صمغ های مورد نظر آماده شد. جهت تثبیت میکروکپسول ها مقدار ۱ درصد کلرید کلسیم به محلول های تهیه شده اضافه شد. سپس به منظور تشکیل میکروکپسول، محلول های تهیه شده از صمغ با غلظت مورد نظر با درصد های مختلف به مدت ۲ دقیقه با استفاده از یک هموژنایزر دور بالا در ۱۱۰۰۰rpm هموژن شد. سپس با استفاده از یک دستگاه خشک کن پاششی میکروکپسول های مورد نظر تهیه شد [۱۳].

۲-۸- افزودن میکروکپسول های حاوی کلاژن به نمونه های ماست

میکروکپسول های پودر شده توسط خشک کن پاششی به میزان ۱ درصد (وزنی/حجمی) به مایه ی تولید ماست اضافه شدند و هم زنی به طور ملایم انجام شد. سپس نمونه ها گرمخانه گزاری شدند تا ماست ببندد و سپس در یخچال در دمای °C ٤-۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا در روز های آزمایش مورد استفاده قرار گیرد. به طور کلی تیمارهای تعریف شده جهت بررسی در جدول ۱ ارائه شده اند.

Table 1 introducing the tested treatments in the research

Treatments	Contents
Cod 1	yogurt containing 0% collagen
Cod 2	yogurt containing 1% natural collagen
Cod 3	yogurt containing 1% hydrolyzed collagen
Cod 4	yogurt containing 0.5% collagen + 0.5% capsule)
Cod 5	yogurt containing 1% capsule

۲-۹-آزمون های صورت گرفته بر روی نمونه های غذایی

۲-۹-۱- اندازه گیری pH نمونه های ماست

pH و اسیدیته نمونه های ماست بر اساس روش بیان شده دراستاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۵۲ صورت گرفت [۱۱].

۲-۹-۲-اندازه گیری عدد تیوباربیتوریک اسید

اندازه گیری عدد تیوباربیتوریک اسید به روش Hekmat و Mcmahon(۱۹۹۷) انجام شد. بدین ترتیب که ۲۰۰ میلی گرم از نمونه داخل یک بالن حجمی ۲۵ میلی لیتری وزن شد ، سپس در ظرف دیگر ۲۰۰ میلی گرم تیوباربیتوریک اسید با CC ۱۰۰ بوتانول حل شده و با استفاده از یک پیپت ۵ میلی لیتر از محلول نمونه را به یک لوله آزمایش خشک انتقال داده و سپس ۵ میلی لیتر محلول واکنشگر به آن اضافه شد، لوله آزمایش با درب شیشه ای بسته و محتویات آن کاملاً با هم مخلوط شد. سپس لوله آزمایش داخل یک حمام آب مجهز به ترموستات در دمای °C ۹۵ قرار گرفت. پس از ۱۲۰ دقیقه لوله از بن ماری خارج شده و میزان جذب محلول واکنش در یک سل ۱۰ میلی متر در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه گرفته شد. به طور همزمان یک شاهد با نمونه ماست تهیه شده، و میزان جذب با استفاده از اسپکتروسکوپی خوانده شد [۱۲].

رابطه (۱)

A =میزان جذب محلول آزمایش، B= میزان جذب شاهد واکنشگر، M= جرم آزمایه بر حسب گرم

۲-۹-۳- ویسکوزیته نمونه های ماست

اندازه گیری ویسکوزیته نمونه های ماست با استفاده از ویسکومتر

بروکفیلد انجام پذیرفت. در این آزمایش از اسپیندل LV4 استفاده گردید. کلیه آزمون ها در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد و با شرایط یکسان انجام شدند، به طوری که ویسکوزیته نمونه ها در سرعت ۳۰ دور در دقیقه و پس از گذشت ۱۵ ثانیه از چرخش اسپیندل قرائت شد. در پایان ویسکوزیته نمونه ها بر اساس سانتی پوآز ثبت گردید [۱۳].

۲-۹- ٤-سینرزیس

جهت اندازه گیری آب اندازی ماست، مقدار ۲۵ گرم نمونه روی کاغذ صافی واتمن شماره ٤۱ توزین نموده و روی قیف قرار داده شد. میزان آب خارج شده از قیف پس از ۱۲۰ دقیقه در دمای $^{\circ}C$ ٤ با عنوان آب‌اندازی بیان گردید و درصد سینرزیس محاسبه شد [۱٤].

۲-۱۰- آنالیز آماري

در تحقیق حاضر به منظور تجزیه و تحلیل داده ها ی حاصل از آزمون ها از طرح کاملا تصادفی استفاده گردید هم چنین مقایسه میانگین داده ها توسط آزمون چند دامنه ای دانکن، در سطح احتمال $\alpha=5\%$ و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و رسم نمودارها توسط نرم افزار Excel صورت پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱-ارزیابی نتایج حاصل از خصوصیات نمونه های کلاژن

۳-۱-۱-ارزیابی نتایج قدرت کاهندگی

نتایج حاصل از قدرت کاهندگی در جدول ۲ ارائه شده است و بیانگر این مطلب است که کمترین قدرت کاهندگی متعلق به نمونه کلاژن طبیعی در غلظت (۰/۲ ٪) و بالاترین میزان آن در نمونه کلاژن هیدرولیزشده در غلظت (۵٪) بوده است ($P<0.05$). Qiukuan Wang و همکاران (۲۰۱٤) در پژوهشی که تحت عنوان پپتید های آنتی اکسیداتیو جدید از آبکافت پروتئینی صدف چروک انجام دادند نشان دادند که توالی آمینواسیدی دو پپتید (به ترتیب با وزن مولکولی ۵۱۸ و ٤٤۰ دالتون) به ترتیب: پرولین- والین- متیونین-گلایسین-آسپارتیک اسید (PVMGA) و گلوتامین- هیستیدین-گلایسین-والین (QHGV) بوده، پپتیدهای مذکور فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی را براساس فعالیت خنثی کنندگی رادیکال DPPH از خود نشان دادند.[۱٦]. رمضان زاده و همکاران (۱۳۹٤) در بررسی تهیه ژلاتین هیدرولیز شده از پوست ماهی قزل آلای رنگین کمان *(Oncorhynchus mykiss)* و بررسی خاصیت ضداکسیدانی آن با روش ارزیابی قدرت کاهندگی، در غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر، به بالاترین میزان کاهندگی دست یافتند [۱۷].

۳-۱-۲- ارزیابی نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی

نتایج حاصل از فعالیت آنتی اکسیدانی در جدول ۲ ارائه شده است و بیانگر این مطلب است که کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی متعلق به نمونه های کلاژن طبیعی (۰/۲ ٪) و کلاژن طبیعی (۱ ٪) بود و اختلاف آماری معنی داری بین تیمارهای مذکور ملاحظه نشد.در این تحقیق بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی در محلول کلاژن هیدرولیزشده در غلظت (۵ ٪) ملاحظه شد($P<0.05$). جهت بروز بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی، درجه هیدرولیز باید در حد خاصی باشد [۱۹] و کمتر یا بیشتر بودن نسبت به آن حد باعث کاهش خاصیت آنتی اکسیدانی می گردد[۱۸]. . هر عاملی که باعث افزایش درجه هیدرولیز یعنی هیدرولیز بیشتر و کوچکتر شدن پپتیدها گردد، تا قبل از رسیدن به درجه هیدرولیز خاص، عاملی مفید و بعد از رسیدن درجه هیدرولیز به آن حد عامل منفی خواهد بود. افزایش سرعت هیدرولیز در یک زمان ثابت و همچنین افزایش زمان هیدرولیز در سرعت ثابت باعث افزایش درجه هیدرولیز می گردد. عوامل دما، غلظت آنزیم و غلظت سوبسترا است که مشخص می کند در چه زمانی به درجه هیدرولیز خاص برای بروز حداکثر خاصیت آنتی اکسیدانی حاصل می شود[۲۰]. طاهری و همکاران(۲۰۱٤) در پژوهش های خود به بررسی خواص آنتی اکسیدانی و عملکردی پروتئین ها و فراکشن های پپتید جدا شده از شاه ماهی نمک سود شده آب شور نشان دادند که فراکشن هایی با وزن ملکولی ۵۰-۱۰ و۱-۱۰ کیلو دالتون فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد و قدرت کاهندگی خوبی در غلظت ۰/۵ ٪ دارا بوده اند، همچنین همه فراکشن ها کمی فعالیت چلاته کنندگی نشان دادند [۲۱]. Wu و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی اسید امینه های ازاد و پپتید های مرتبط با خواص انتی اکسیدانی در پروتئین های

هیدرولیز شده از ماهی خال خالی mackerel (*Scomber austriasicus*) بیان نمودند که بین مقدار پپتیدها و فعالیت آنتی اکسیدانی رابطه مثبتی وجود دارد. سه بخش پپتیدی توسط کروماتوگرافی وزنی از هیدرولیز جدا شد و نشان داد که در شرایط ازمایشگاهی پپتید هایی با وزن ملکولی حدود ۱۴۰۰ دالتون از نظر فعالیت آنتی اکسیدانی قوی تر از پپتید هایی با وزن ملکولی ۲۰۰و۹۰۰ دالتون هستند. Li و همکاران (۲۰۱۳) در پژوهشی تحت عنوان تاثیر میانگین وزن ملکولی (AMW) در خواص انتی اکسیدانی و عملکردی کلاژن هیدرولیز شده از غضروف سه نوع ماهی *Sphyrna lewini, Dasyatis akjei* و *Raja porosa* دریافتند که ظرفیت آنتی اکسیدانی (DPPH) و فعالیت مهارکنندگی رادیکال های هیدروکسیل و قدرت کاهندگی هیدرولیزها با لگاریتم AMW ارتباط منفی داشته است. [۲۲].

Table 2 Results of reducing power and antioxidant properties of colagen samples

Treatments	Reducing Power in 700 nm	Antioxidant properties (%)
Natural Colagen (0.2%)	2.45 ^{f}	7.26^{d}
Natural Colagen (1%)	5.30 ^{d}	7.89^{d}
Natural Colagen (5%)	6.40 ^{b}	11.37^{c}
Hydrolyzed Colagen (0.2%)	3.60^{e}	8.36^{d}
Hydrolyzed Colagen (1%)	5.70^{c}	12.90^{b}
Hydrolyzed Colagen (5%)	11.25^{a}	14.62^{a}

Different letters indicate a significant difference ($p\leq0.05$).

۳-۱-۳-ارزیابی نتایج حلالیت

نتایج حاصل از حلالیت در جدول ۳ ارائه شده است و بیانگر این مطلب است که بالاترین حلالیت متعلق به نمونه کلاژن هیدرولیزشده در (pH=٤) و پائین ترین حلالیت متعلق به نمونه کلاژن هیدرولیزشده در pH=۱۰ بوده است($P<0.05$). دانستن محلولیت پروتئین ها جهت دستیابی به عملکرد آنها ضروری است. مهمترین عوامل مؤثر بر حلالیت پروتئین شامل ترکیب آمینواسید، توالی آمینواسیدها، بار سطحی پروتئین، تا شدن پروتئین، تعادل هیدروفوبیک-هیدروفیلیک در سطح پروتئین، pH ، قدرت یونی، دما و حلال مورد استفاده است. Foegeding و همکاران (۱۹۹٦) گزارش کردند که کلاژن دارای محدوده pH ایزوالکتریک بین (٦-٤) بوده است[۲۳]. Chi و همکاران (۲۰۱٤) در تعیین خواص کلاژن استخراج شده با اسید از پوست کوسه ماهی سر چکشی، حلالیت بالایی را در pH=٤-۱ و غلظت پایین نمک (کمتر از ۳ درصد) به اثبات رساندند. در pH ایزوالکتریک با توجه به افزایش پیوندهای هیدروفوبیک- هیدروفیلیک، پروتئین دارای کمترین حد انحلال پذیری بوده، آگلوتینه شدن و رسوب پروتئین رخ می دهد[۲٤].

در صورتی که مقدار pH بیشتر یا کمتر از نقطه ایزوالکتریک باشد، انتظار می رود تشکیل شبکه باردار پروتئینی با بار مثبت در پائین و بار منفی در بالای نقطه ایزوالکتریک تشکیل شود. بنابراین، حلالیت کلاژن افزایش می یابد[۲۵]. شهیری طبرستانی همکاران مطالعاتی بر روی خواص بیوشیمیایی کلاژن استخراج شده از پوست و استخوان ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) انجام داده و نتایج تجزیه وتحلیل ها نشان داد که کلاژن پوست و استخوان به ترتیب در pH (۹و۷) کمترین حلالیت را داشتند[۲٦].

Table 3 Results of Solobility of colagen samples

Treatments	Foam Capacity (FC)
Natural Colagen (pH=4)	66.42 ^{b}
Natural Colagen (pH=7)	57.08 ^{d}
Natural Colagen (pH=10)	64.24 ^{c}
Hydrolyzed Colagen (pH=4)	88.44^{a}
Hydrolyzed Colagen (pH=7)	57.83^{d}
Hydrolyzed Colagen (pH=10)	49.40^{e}

Different letters indicate a significant difference ($p\leq0.05$).

۳-۲- ارزیابی نتایج آزمون های نمونه های ماست

۳-۲-۱- ارزیابی نتایج pH

نتایج حاصل از pH نمونه ها در جدول ٤ ارائه شده است و بیانگر این مطلب است که در روز یکم، pH نمونه کد ۵ به طور معنی داری بالاتر و pH تیمارهای کد ۲ (محتوی ۱٪ کلاژن طبیعی) و ۳ (نمونه محتوی ۱٪ کلاژن هیدرولیزشده) به طور معنی داری پائینتر از دیگر تیمارها بود ($P<0.05$). در روز چهاردهم، نیز pH نمونه کد ۵ به طور معنی داری بالاتر و pH نمونه کد ۲ (محتوی ۱٪ کلاژن طبیعی) به طور معنی داری پائین تر از دیگر تیمارها بود ($P<0.05$) همچنین در تمامی تیمارهای مورد بررسی، با گذشت زمان، میزان pH به طور معنی داری کاهش یافت ($P<0.05$). محققان طی بررسی‌های متعدد خود بیان نموده‌اند که فعالیت باکتری‌های آغازگر ماست موجب افت معنی دار pH در طی مدت زمان نگهداری (مدت انبارمانی) ماست می‌گردد [۲۸, ۲۷].Shor و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی تاثیر افزودن کلاژن استخراج شده از ماهی بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی ماست موسیر اذعان نمودند که افزودن کلاژن ماهی منجر به کاهش pH نمونه ها گشت ($P<0.05$) [۲۹].

۳-۲-۲-ارزیابی نتایج اسیدیته

نتایج حاصل از اسیدیته نمونه های ماست در جدول ٤ ارائه شده است و بیانگر این مطلب است که اسیدیته تمامی نمونه های مورد آزمون در محدوده استاندارد بوده است. نتایج حاصل از مقایسه میانگین نمونه ها نشان داد که در روز یکم، اسیدیته تیمارهای کد۲(محتوی ۱٪ کلاژن طبیعی)، کد ٤ (نمونه محتوی ۰/۵٪ کلاژن + ۰/۵٪ کپسول) و کد ۵ (نمونه محتوی ۱ ٪ کپسول) به طور معنی داری بالاتر از دیگر نمونه ها بود ($P<0.05$) و پائین ترین میزان اسیدیته در نمونه شاهد ملاحظه گشت همچنین در تمامی تیمارهای مورد بررسی، با گذشت زمان، اسیدیته طور معنی داری افزایش یافت ($P<0.05$). Shor و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی تاثیر افزودن کلاژن استخراج شده از ماهی بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی ماست موسیر اذعان نمودند که افزودن کلاژن ماهی منجر به افزایش اسیدیته نمونه ها گشت ($P<0.05$) و با گذشت زمان اسیدیته تمامی نمونه ها به طور معنی داری افزایش یافت. همچنین بیان نمودند که افزودن کلاژن ماهی منجر به افزایش اسیدهای آمینه آزاد نمونه ها گشت ($P<0.05$) و با گذشت زمان اسیدهای آمینه آزاد تمامی نمونه ها به طور معنی داری افزایش یافت و این امر به فعالیت پروتئولیتیکی بالاتر باکتری ها در حضور کلاژن ماهی نسبت داده شد. همچنین محققان افزایش اسیدیته نمونه های ماست با گذشت زمان را به تخمیر قند لاکتوز توسط باکتری ها و تولید اسید لاکتیک نسبت داده اند [۲۹].

۳-۲-۳- ارزیابی نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی

نتایج حاصل از فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ها در جدول ٤ ارائه شده است و بیانگر این مطلب است که در روز یکم، کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی متعلق به ماست نمونه شاهد و بالاترین میزان آن در ماست نمونه های محتوی ۱٪ کلاژن هیدرولیزشده و نمونه حاوی ۰/۵٪ کلاژن + ۰/۵٪ کپسول بوده است ($P<0.05$). در روز چهاردهم، نیز فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های کد ٤ (نمونه محتوی ۰/۵٪ کلاژن + ۰/۵٪ کپسول) و کد ۵ (نمونه محتوی ۱ ٪ کپسول) به طور معنی داری بالاتر از نمونه های دیگر بود ($P<0.05$). همچنین در تمامی تیمارهای مورد بررسی، با گذشت زمان، فعالیت آنتی اکسیدانی به طور معنی داری کاهش یافت ($P<0.05$). همانطور که بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های کلاژن نشان داد. بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی در نمونه کلاژن هیدرولیز (۰/۵ ٪) وجود داشته است و نمونه ماست محتوی ۱٪ کلاژن هیدرولیز شده نیز فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی نشان داده است. محققان اذعان داشته اند که با فعالیت باکتری های لاکتیکی و در اثر فعالیت پروتئولیتیکی باکتری های مذکور، پپتیدهای زیست فعال تشکیل می شوند [۳۰] که خواص آنتی اکسیدانی دارند [۳۱].

۳-۲-٤- ارزیابی نتایج اندیس تیوباربیوتیک

نتایج حاصل از اندیس تیوباربیوتیک نمونه ها در جدول ٤ ارائه شده است و بیانگر این مطلب است که در روز یکم، بالاترین اندیس تیوباربیوتیک اسید در نمونه شاهد و کمترین میزان متعلق به نمونه کد ۳ (نمونه محتوی ۱٪ کلاژن هیدرولیز) بود ($P<0.05$). در روز چهاردهم، نیز بالاترین اندیس تیوباربیوتیک اسید متعلق به نمونه شاهد و کمترین میزان متعلق به نمونه کد ۵

(نمونه محتوی ۱٪ کپسول) بود ($P<0.05$). همچنین در تمامی تیمارهای مورد بررسی، با گذشت زمان، اندیس تیوباربیوتیک نمونه ها به طور معنی داری افزایش یافت ($P<0.05$). نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ها نشان داد نمونه کد ۳ (نمونه محتوی ۱٪ کلاژن هیدرولیز) دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری بوده است.

اندیس تیوباربیتوریک اسید برای سنجش فساد ناشی از اکسیداسیون روغن ها به عنوان یک روش کمکی برای سایر روش ها از جمله اندازه گیری اندیس پراکسید به حساب می آید. این اندیس در اثر تجزیه هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در روزهای اول و تبدیل آنها به آلدئیدها و کتون افزایش می یابد. در روزهای پایانی آزمایش، تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون با سرعت بیشتری صورت می گیرد و مقدار زیادی از پراکسیدهای تشکیل شده در مراحل اولیه طی روزهای پایانی آزمایش، تجزیه و به مالون آلدئید تبدیل می شوند[۳۲].

Table 4 Results of physicochemical properties of yogurt samples

	pH		Acidity		Antioxidant properties		Tiobarbiotic acid	
Treatments	**Day 1**	**Day 14**	**Day 1**	**Day 14**	**Day 1**	**Day 14**	**Day 1**	**Day 14**
Cod 1	3.90 ^{cA}	3.80 ^{cB}	1.12 ^{bB}	1.41 ^{cA}	6.47 ^{dA}	6.39 ^{dB}	2.41 ^{aB}	2.99 ^{aA}
Cod 2	3.88 ^{dA}	3.79 ^{dB}	1.14 ^{aB}	1.52 ^{aA}	8.18 ^{cA}	8.19 ^{cB}	2.21 ^{cB}	2.72 ^{bA}
Cod 3	3.89 ^{dA}	3.82 ^{bB}	1.12 ^{bB}	1.47 ^{bA}	15.39 ^{aA}	9.35 ^{bB}	1.97 ^{eB}	2.77 ^{bA}
Cod 4	3.95 ^{bA}	3.82 ^{bB}	1.05 ^{cB}	1.53 ^{aA}	14.47 ^{aA}	12.09 ^{aB}	2.06 ^{dB}	2.08 ^{cA}
Cod 5	3.96^{aA}	3.84 ^{aB}	1.06 ^{cB}	1.50 ^{abA}	12.77 ^{bA}	11.05 ^{aB}	2.28 ^{bA}	2.26 ^{dB}

Small letters indicate significant differences in rows and capital letters indicate significant differences in the column ($p<0.05$).

Samples: Cod (1): control (yogurt containing 0% collagen), Cod (2): yogurt containing 1% natural collagen, Cod (3): yogurt containing 1.5% hydrolyzed collagen, Cod (4): yogurt containing 50% collagen + 50% capsule), Cod (5): yogurt containing 100% capsule

۳-۲-۵-ارزیابی نتایج سینرزیس

نتایج حاصل از سینرزیس نمونه ها در جدول ۵ ارائه شده است و بیانگر این مطلب است که در روز یکم، بالاترین سینرزیس متعلق به نمونه شاهد و کمترین میزان آن در نمونه های کد ٤ (نمونه محتوی ۰/۵٪ + ۰/۵٪ کپسول) و ۵ (نمونه محتوی ۱ ٪ کپسول) ملاحظه شد($P<0.05$) . در روز چهاردهم، نیز بالاترین سینرزیس متعلق به نمونه شاهد و کمترین میزان آن در نمونه کد ٤ ملاحظه شد($P<0.05$) همچنین در تمامی تیمارهای مورد بررسی، با گذشت زمان، میزان سینرزیس به طور معنی داری افزایش یافت ($P<0.05$). یکی از معایب عمده ماست آب اندازی است که در واقع به ظهور سرم یا آب پنیر در سطح ماست اطلاق می شود. به طور کلی می توان ساختار ماست را به صورت شبکه سه بعدی از زنجیره ها و خوشه های میسل های کازئین که شکل کروی خود را حفظ کرده اند توضیح داد [۳٤] آب اندازی در ماست به دلیل سست شدن پیوندهای هیدروژنی ؛افزایش دافعه یونی و چروکیدگی ساختار سه بعدی شبکه پروتئینی رخ میدهد که منجر به کاهش قدرت اتصال پروتئین های آب پنیر وخروج آن از ماست می گردد [۳۳]. همچنین مشخص گردیده است که با گذشت زمان ، به دلیل شل شدن بافت ماست و رهایش آب متصل به پروتئین های آزاد، سینرزیس افزایش می یابد که تغییرات pH از حالت طبیعی نیز در این امر دخیل هستند و باعث دناتوره شدن ساختمان پروتئین ها می شوند. کاهش pH در اواخر دوره نگهداری باعث تغییر فرم طبیعی پروتئین شده ودر اثر دناتوره شدن پروتئین، آب متصل به آن آزاد شده و سینرزیس افزایش می یابد [۳۵]. محققان دیگر نیز افزایش سینرزیس با گذشت زمان را به افزایش اسیدیته و همچنین انقباض شدید شبکه ژلی در اثر سرد کردن نسبت داده اند که منجر به افزایش سینرزسیس گشته است[۳٦].

۳-۲-۶- ارزیابی نتایج حاصل از ویسکوزیته نمونه ها

نتایج حاصل از ویسکوزیته نمونه ها در جدول ۵ ارائه شده است و بیانگر این مطلب است که در روز یکم، بالاترین ویسکوزیته متعلق به تیمار کد ۲ (نمونه محتوی ۱٪ کلاژن طبیعی) و پایین ترین ویسکوزیته متعلق به تیمارهای کد ٤ (نمونه محتوی ۰/۵٪ کلاژن + ۰/۵٪ کپسول) و ۵ (نمونه محتوی ۱ ٪ کپسول) بود($P<0.05$). در روز چهاردهم، نیز بالاترین ویسکوزیته متعلق به تیمار کد ۱ (فاقد کلاژن) و پایین ترین ویسکوزیته متعلق به تیمارهای کد ٤ (نمونه محتوی ۰/۵٪ کلاژن +۰/۵٪ کپسول) و ۵ (نمونه محتوی ۱ ٪ کپسول) بود($P<0.05$). همچنین در تمامی تیمارهای مورد بررسی، با گذشت زمان، ویسکوزیته به طور معنی داری کاهش یافت ($P<0.05$).

Table 5 Results of Synersis and viscosity physicochemical properties of yogurt samples

	Synersis		Viscosity	
Treatments	**Day 1**	**Day 14**	**Day 1**	**Day 14**
Cod 1	20.31 ^{aD}	26.94 ^{aD}	5.15 ^{cB}	8.59 ^{aA}
Cod 2	16.82 ^{bD}	21.14 ^{bD}	6.20 ^{aB}	8.12 ^{bA}
Cod 3	15.60 ^{cD}	19.38 ^{cD}	5.66 ^{bB}	8.14 ^{bA}
Cod 4	13.89 ^{dD}	3.82 ^{eD}	4.89 ^{dB}	7.53 ^{cA}
Cod 5	14.36 ^{dD}	3.84 ^{dD}	4.92 ^{dB}	7.49 ^{cA}

Small letters indicate significant differences in rows and capital letters indicate significant differences in the column ($p<0.05$).

Samples: Cod (1): control (yogurt containing 0% collagen), Cod (2): yogurt containing 1% natural collagen, Cod (3): yogurt containing 1.5% hydrolyzed collagen, Cod (4): yogurt containing 50% collagen + 50% capsule), Cod (5): yogurt containing 100% capsule

۳-۲-۳- ارزیابی نتایج آزمون های حسی نمونه های ماست

۳-۲-۳-۱- نتایج حاصل از امتیاز رنگ

نتایج حاصل از مقایسه میانگین نمونه ها نشان داد که در هر دو روز مورد بررسی، اختلاف آماری معنی داری در امتیاز رنگ نمونه ها ملاحظه نشد همچنین در تمامی تیمارهای مورد بررسی با گذشت زمان، امتیاز رنگ نمونه ها به طور معنی داری کاهش یافت ($P<0.05$).

۳-۲-۳-۲- نتایج حاصل از امتیاز عطر و بو

نتایج حاصل از مقایسه میانگین نمونه ها نشان داد که در دو روز مورد بررسی، اختلاف آماری معنی داری در امتیاز عطر و بو نمونه ها ملاحظه نشد. همچنین در تمامی تیمارهای مورد بررسی با گذشت زمان، امتیاز عطر و بو نمونه ها به طور معنی داری کاهش یافت ($P<0.05$).

۳-۲-۳-۳-نتایج حاصل از امتیاز طعم و مزه

نتایج حاصل از مقایسه میانگین نمونه ها نشان داد که در هر دو روز مورد بررسی، اختلاف آماری معنی داری در امتیاز طعم و مزه نمونه ها ملاحظه نشد تنها در روز یکم امتیاز طعم و مزه نمونه ۲ (محتوی ۱٪ کلاژن طبیعی) به طور معنی داری پائین تر تیمارهای دیگر بود. همچنین در تمامی تیمارهای مورد بررسی با گذشت زمان، امتیاز طعم و مزه نمونه ها به طور معنی داری کاهش یافت ($P<0.05$)

۳-۲-۳-٤- نتایج حاصل از امتیاز پذیرش کلی

نتایج حاصل از مقایسه میانگین نمونه ها نشان داد که در هر دو روز مورد بررسی، اختلاف آماری معنی داری در امتیاز پذیرش کلی نمونه ها ملاحظه نشد تنها در روز یکم امتیاز پذیرش کلی نمونه ۲ (محتوی ۱٪ کلاژن طبیعی) به طور معنی داری پائین تر از نمونه شاهد بود. همچنین در تمامی تیمارهای مورد بررسی با گذشت زمان، امتیاز پذیرش کلی نمونه ها به طور معنی داری کاهش یافت ($P<0.05$).

Table 5 Results of Sensory evaluation of yogurt samples

	Color		Odour		Antioxidant properties		Tiobarbiotic acid	
Treatments	**Day 1**	**Day 14**	**Day 1**	**Day 14**	**Day 1**	**Day 14**	**Day 1**	**Day 14**
Cod 1	7.66 ^{aA}	7.66 ^{aA}	7.66 ^{aA}	7.33^{aB}	8.33 ^{aA}	7.33 ^{aB}	8.00 ^{aA}	7.33 ^{aA}
Cod 2	7.33 ^{aB}	7.66 ^{aA}	7.66 ^{aB}	7.66 ^{aB}	6.66 ^{bA}	6.33 ^{aB}	6.66 ^{aB}	7.00 ^{aA}
Cod 3	7.33 ^{aA}	7.33 ^{aB}	7.33 ^{aA}	7.33 ^{aB}	7.66 ^{aA}	7.00 ^{aB}	7.33 ^{aA}	7.33 ^{aB}
Cod 4	7.66 ^{aA}	7.33 ^{aB}	7.66 ^{aA}	7.66^{aB}	7.66 ^{aA}	7.33 ^{aB}	7.66 ^{aA}	7.33 ^{aB}
Cod 5	7.33^{aA}	7.33^{aA}	7.66^{aA}	7.66^{aB}	7.33 ^{aA}	6.66 ^{aB}	7.33^{aA}	7.33^{aA}

Small letters indicate significant differences in rows and capital letters indicate significant differences in the column ($p<0.05$).

Samples: Cod (1): control (yogurt containing 0% collagen), Cod (2): yogurt containing 1% natural collagen, Cod (3): yogurt containing 1.5% hydrolyzed collagen, Cod (4): yogurt containing 50% collagen + 50% capsule), Cod (5): yogurt containing 100% capsule

٤- نتیجه گیری کلی

نتایج حاصل از آزمون های نمونه های ماست نشان داد که در روز یکم، pH نمونه ٥ (نمونه محتوی ١ ٪ کپسول) به طور معنی داری بالاتر و pH تیمارهای ٢ و ٣ به طور معنی داری پائین از دیگر تیمارها بود ($P<0.05$). در روز چهاردهم، نیز pH نمونه ٥ (نمونه محتوی ١ ٪ کپسول) به طور معنی داری بالاتر و pHنمونه ٢ (محتوی ١٪ کلاژن طبیعی) به طور معنی داری پائین تر از دیگر تیمارها بود ($P<0.05$) در روز یکم، اسیدیته تیمارهای ٢ (محتوی ١٪ کلاژن طبیعی)، کد ٤ (نمونه محتوی ٠/٥٪ کلاژن + ٠/٥٪ کپسول) و (نمونه محتوی ١ ٪ کپسول) به طور معنی داری بالاتر از دیگر نمونه ها بود($P<0.05$) و پائین ترین میزان اسیدیته در نمونه شاهد ملاحظه گشت. در روز یکم، کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی متعلق به نمونه شاهد و بالاترین میزان آن در نمونه های ٣ (نمونه محتوی ١٪ کلاژن هیدرولیز) و ٤ (نمونه محتوی ٠/٥٪ کلاژن + ٠/٥٪ کپسول) بوده است ($P<0.05$). در روز چهاردهم، نیز بالاترین اندیس تیوباربیوتیک اسید متعلق به نمونه شاهد و کمترین میزان متعلق به نمونه کد ٥ (نمونه محتوی ١ ٪ کپسول) بود ($P<0.05$). در روز یکم، بالاترین سینرزیس متعلق به نمونه شاهد و کمترین میزان آن در نمونه های کد ٤ (نمونه محتوی ٠/٥٪ کلاژن + ٠/٥٪ کپسول) و ٥ (نمونه محتوی ١ ٪ کپسول) ملاحظه شد ($P<0.05$). در روز چهاردهم، نیز بالاترین سینرزیس متعلق به نمونه شاهد و کمترین میزان آن در نمونه ٤ (نمونه محتوی ٠/٥٪ کلاژن + ٠/٥٪ کپسول) ملاحظه شد ($P<0.05$). در روز یکم، بالاترین ویسکوزیته متعلق به تیمار ٢ (محتوی ١٪ کلاژن طبیعی) و پایین ترین ویسکوزیته متعلق به تیمارهای کد ٤ (نمونه محتوی ٠/٥٪ کلاژن + ٠/٥٪ کپسول) و ٥ (نمونه محتوی ١ ٪ کپسول) بود ($P<0.05$). در روز چهاردهم، نیز بالاترین ویسکوزیته متعلق به تیمار کد ١ (فاقد کلاژن) و پایین ترین ویسکوزیته متعلق به تیمارهای کد ٤ (نمونه محتوی ٠/٥٪ کلاژن + ٠/٥٪ کپسول) و کد ٥ (نمونه محتوی ١ ٪ کپسول) بود ($P<0.05$) . همچنین در تمامی تیمارهای مورد بررسی، با گذشت زمان، ویسکوزیته به طور معنی داری افزایش یافت ($P<0.05$). در هر دو روز مورد بررسی، اختلاف آماری معنی داری در امتیاز رنگ، طعم، عطر و بو نمونه ها ملاحظه نشد همچنین در تمامی تیمارهای مورد بررسی با گذشت زمان، امتیاز رنگ نمونه ها به طور معنی داری کاهش یافت ($P<0.05$). در هر دو روز مورد بررسی، اختلاف آماری معنی داری در امتیاز طعم و مزه نمونه ها ملاحظه نشد تنها در روز یکم امتیاز طعم و مزه و مطلوبیت نهایی نمونه ٢ (محتوی ١٪ کلاژن طبیعی) به طور معنی داری پائین تر از تیمارهای دیگر بود ($P<0.05$).

٥- منابع

[1] Vanderrest, M.; Garrone, R. Collagen family of proteins. FASEB J. 1991, 5, 2814–2823.

Gelse, K.; Poschl, E.; Aigner, T. Collagens—Structure, function, and biosynthesis. Adv. Drug Deliv. Rev. 2003, 55, 1531–1546.

[2] Prockop, D.J.; Kivirikko, K.I. Collagens—Molecular-biology, diseases, and potentials for therapy. Ann. Rev. Biochem. 1995, 64, 403–434.

[3] Ferreira, A.M.; Gentile, P.; Chiono, V.; Ciardelli, G. Collagen for bone tissue regeneration. Acta Biomater. 2012, 8, 3191–3200.

[4] Arvanitoyannis, I.S.; Kassaveti, A. Fish industry waste: Treatments, environmental impacts, current and potential uses. Int. J. Food Sci. Technol. 2008, 43, 726–745.

[5] Leary, D.; Vierros, M.; Hamon, G.; Arico, S.; Monagle, C. Marine genetic resources: A review of scientific and commercial interest. Mar. Policy 2009, 33, 183–194.

[6] Nagai, N.; Yunoki, S.; Suzuki, T.; Sakata, M.; Tajima, K.; Munekata, M. Application of cross-linked salmon atelocollagen to the scaffold of human periodontal ligament cells. J. Biosci. Bioeng. 2004, 97, 389–394.

[7] Nagai, T. and Suzuki, N. (2000) Isolation of Collagen from Fish Waste Material—Skin, Bone and Fins. Food Chemistry, 68, 277-281.

[8] Hwang, J.H.; Chung, J.R.; Yoo, E.K.; Rha, S.J.; Lee, S.W.; Jeong, S.H.; Kim, H.W.; Han, K.H.; Kim, S.J.; Park, B.J.; et al. Cosmetic composition useful for moisturizing skin, comprises collagen separated from fish skin. KR2013066342-A; KR1339423-B1, 2013.

[9] Burits, M. and Bucar, F. (2000) Antioxidant Activity of Nigella sativa Essential Oil. Phytotherapy Research, 14, 323-328.

Hekmat, S. & MCMAHON, D. J. 1997. Manufacture and quality of ironfortified yogurt. Journal of dairy science, 80, 3114-3122.

[10] oghdaei S, Alaami M, Khamiri M, Rezaei R. (1389). Effect of Basil Seed Mucilage on Physicochemical, Sensory and Rheological Characteristics of Low-fat Yogurt. Electronic Journal of Food Processing and Maintenance, Vol. 2, No. 4, Winter 89, 17-1.

[11] National Standard of Iran. (1385). Publication of Iran Standards and Industrial Research Organization. Milk and its products - Determination of acidity and pH - Test method, No. 2852. Print 1.

[12] Soo E, Thakur S, Qu Zh, Jambhrunkar S, Parekh H.S, Popat A. (2015). Enhancing delivery and cytotoxicity of resveratrol through a dual nanoencapsulation approach. Journal of Colloid and Interface Science, 462: 368-374.

[13] Wang B., Li L., Chi C. F., Ma J. H., Luo H. Y., Xu Y. F. Purification and characterisation of a novel antioxidant peptide derived from blue mussel (Mytilus edulis) protein hydrolysate. Food Chem. (2013);138:1713–1719. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.12.002

[14] Ramezanzadeh, L. Sayed Fakhreddin H, Maryam Nikkhah, M. 1395. Hydrolysis of rainbow trout gelatin gelatin (Oncorhynchus mykiss) and evaluation of its antioxidant properties Journal of Fisheries Science and Technology, Volume 5, Number 2, Summer 1959, p.

[15] Chalamaiah, M., Dinesh kumar, B., Hemalatha, R., Jyothirmayi, T., 2012. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. Food Chemistry 135, 3020-303

[16] Lijun Youa MoumingZ haoa۲۰۰۹ .Effect of degree of hydrolysis on the antioxidant activity of loach (Misgurnus anguillicaudatus) protein hydrolysates. Innovative Food Science & Emerging Technologies Volume 10, Issue 2, Pages 235-240

[17] Shahidi, F. Hosseninejad, M. 2006. Enzymes in food processing. Ferdowsi university of mashhad publication. 373p.

[18] Taheri, M.2014.. Construction and characterization of a tissue-engineered oral mucosa equivalent based on a chitosan-fish scale collagen composite. J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater, 100B, 1792–1802.

[19] Wu,H., BaopingJibYonnieWu. 2003.Isolation and identification of antioxidative peptides from porcine collagen hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization–mass spectrometry Food Chemistry Volume 102, Issue 4, 2007, Pages 1135-1143

[20] Li, Z.R .,Chi. C.F.; Wang, B.; Luo. N.Y.: Ding. G.F.: Wu, C.W. 2013. Characterization of acid-soluble collagen from the skin of hammerhead shark (Sphyrosa levini). J. Fond Biochen,38, 236-247.

[21] Foegeding, E., Lanier, T. C., & Hultin, H. O. (1996). Characteristics of edible muscle tissue. In O. R.

[22] Fennema (Ed.), Food chemistry (3rd ed., pp. 879–942). New York: Marcel Dekker

Hemalatha, R., Jyothirmayi, T., 2012. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. Food Chemistry 135, 3020-303

[30] Lucey, J. A., Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. International Journal of Dairy Technology, 2004, 57, (2/3), 77-84.

[31] Malone J, Harvey G, Kitson A, McCormack B, Seers K, Titchen A. 2002.Getting evidence into practice: ingredients for change. Nurs Stand. 2002 May 29-Jun 4;16(37):38-43.

[32] Azimi, O., Zomoradi, Sh., Mohammadi Sani, AS. And Ahmadzadeh Ghavidl, R. 1392. Evaluation of the effect of orange fiber on the physico-chemical, rheological and sensory properties of strawberry fruit yogurt by response surface method. Quarterly Journal of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Sabzevar Branch, 5) 1: (23-34

[33] Tamime AY, Kaláb M, Davies G. The effect of processing temperature on the microstructure and firmness of labneh made from cow's milk by traditional method or by ultrafiltration. Food Struct. 1991;10:345–352

[23] Chang-Feng Chi ,Zi-Hao Cao 1 ,Bin Wang ,Fa-Yuan Hu ,Zhong-Rui Li Bin Zhang Antioxidant and Functional Properties of Collagen Hydrolysates from Spanish Mackerel Skin as Influenced by Average Molecular Weight Molecules 2014, 19(8), 11211-11230

[24] Kittiphattanabawon, P.; Benjakul, S.; Visessanguan, W.; Nagai, T.; Tanaka, M. Characterisation of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper (Priacanthus tayenus). Food Chem. 2005, 89, 363–372.

[25] Shahri Tabarestani, Hadi et al., Biochemical properties of collagen extracted from skin and bones of rainbow trout (onchorhynchus mykiss(

[26] Yeganeshzad, S., Mazaheri Tehrani, M., Shahidi, F. And zayr zadeh, u. 2009. Effect of soybean oil on the survival of Lactobacillus acidophilus bacteria and physicochemical and organoleptic properties of probiotic yoghurt. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. Volume 16, Number 1, 174-165.

[27] Shor,SH., Sadowska, M.; Karwowska, A.2013. Effect of adding collagen extracted from fish on physicochemical properties of garlic yogurt. Food Chemistry 135, 125-136

[28] Shah N, Ravula R. Freezing conditions frozen out. Dairy Ind Int 2001;1–7.

[29] Chalamaiah, M., Dinesh kumar, B.,

Investigation of functional properties and production of ultrasound yoghurt using collagen Gangsar fish skin

Shirin Sadat Motevali[1], Rezvan Mousavi nadushan[2*], Mohamad Rabani[3]

1.MSC Student, Department of Food Science and Technology, ،North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran,Iran 2. Professor, Department of Food Science and Technology, ،North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Professor, Department of of Food Science and Technology, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

(Received: 2018/11/30 Accepted:2019/09/27)

The purpose of this study was to investigate the functional properties and production of functional yoghurt using collagen from skin of Sangar. So the collagen was prepared by acid and enzymatic methods and then active microcapsules containing collagen were prepared. Yogurt samples were prepared containing 0% collagen, 1% collagen, 1.5% hydrolyzed collagen, 50% collagen + 50% encapsulated collagen and containing encapsulated collagen. To compare the mean of data, Duncan's multiple range test was used at α = 5% probability level. The results of collagen samples showed that the lowest reduceing power was observed in normal collagen samples (0.2%) and the highest in hydrolyzed collagen (5%) (P<0.05).The least antioxidant activity belonged to normal collagen (0.2%) and normal collagen (1%). The highest antioxidant activity was observed in hydrolyzed collagen (5%) (P<0.05). The highest solubility belonged to the hydrolyzed collagen sample (pH=4) and the lowest solubility belonged to the hydrolyzed collagen (pH =10) (P <0.05).The results of tests of yoghurt samples showed that the pH of sample code 5 was significantly higher on day 1 and pH of treatments of code 2 (containing 1% of normal collagen) and 3 (containing 1 % hydrolyzed collagen) There was a significant lower level of other treatments (P<0.05). Antioxidant activity of code 4 (containing 50% collagen + 50% capsule) was highest. .On the 14th day, the highest synersis belonged to the control (no collagen) and the least amount belonged to the code 4 (containing 0.5% collagen + 0.5% capsule) (P<0.05). In both days, a significant difference was not found in the color score the taste; odour of the samples was not observed. (P>0.05) and treatment of code 4 (containing 0.5% collagen + 0.5% capsule) was introduced as a superior treatment.

Key Words: Yoghurt, Collagen, Microcapsulation, Pectin

* Corresponding Author E-Mail Address: mousavi.nadushan@gmail.com