تاثیر آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی بر ویژگی‌های کارکردی و رئولوژیکی ژلاتین پوست ماهی کپور سرگنده (*Hypophtalmichthys nobilis*)

الهه ابویی[۱] سید علی جعفرپور[۲*]، علی معتمد زادگان[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد،گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲- دانشیار گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
(تاریخ دریافت: ۹٤/٤/۱ تاریخ پذیرش: ۹٤/۸/۲۳)

چکیده

این پژوهش با هدف بهبود ویژگی‌های رئولوژیکی ژلاتین استحصالی از پوست کپور سرگنده با کمک آزمون‌های رئولوژیک انجام شد. در تحقیق حاضر از پوست ماهی کپور سرگنده (*Hypophtalmichthys nobilis*) به منظور تولید ژلاتین استفاده شد و تاثیر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر ژلاتین در فعالیت‌های مختلف (۱، ۳ و ٦واحد بر گرم ژلاتین) در زمان‌های اثر مختلف (۱۵، ۳۰ و ٦۰ دقیقه) در pH ، ۸۲/۵ بررسی شده است. نتایج نشان داد که افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز درحداقل فعالیت آنزیم و حداقل زمان اثر آن (۱واحد بر گرم ژلاتین در ۱۵ دقیقه) بدون آنکه تاثیر معنی داری بر رنگ ژلاتین (ΔE) بگذارد ($p\geq ۰/۰۱$)، قدرت ژلی ژلاتین را به طور معنی داری (۱±۲۵۸ گرم) نسبت به ژلاتین شاهد (۱±۲۲۸ گرم) افزایش داد ($p\leq ۰۱/۰$). با افزایش مقدار آنزیم و زمان اثر واکنش آن، قدرت ژلی کاهش پیدا کرد. همچنین نقطه ذوب و نقطه بستن ژل با تاثیر آنزیم افزایش یافت. در تمامی نرخ‌های برشی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز باعث افزایش ویسکوزیته ظاهری شد. افزایش مدول ذخیره (G') همراه با افزودن آنزیم ترانس-گلوتامیناز، تشکیل ژل قوی‌تر را نشان داد و تغییرات در G'' ،G' و زاویه فازی (δ) در روبش گرمایشی و سرمایشی نشان دهنده افزایش نقطه ذوب و نقطه بستن ژل بوده است. نتیجه اینکه می‌توان از آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی به میزان ۱-٦ واحد بر گرم در بهبود ویژگی‌های کیفی ژلاتین استخراجی از ماهی کپور سرگنده استفاده نمود.

کلید واژگان: ژلاتین، کپور سرگنده، ترانس گلوتامیناز، رئولوژی، رنگ

* مسئول مکاتبات: a.jafarpour@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-22]

۱- مقدمه

ژلاتین، پروتئینی مشتق‌شده از آبکافت جزئی کلاژن حیوانی موجود در پوست و استخوان حیوانات است، در طول تولید ژلاتین مواد خام اولیه توسط اسید یا باز تیمار می‌شوند که در نتیجه بخشی از باندها شکسته شده و در ادامه در محلول آب گرم ژلاتین استخراج می‌شود. فرآیند تولید ژلاتین شامل سه مرحله اصلی می‌باشد: مراحل پیش تیمار ماده اولیه، استخراج ژلاتین و خالص سازی و خشک کردن. بسته به روش پیش تیمار کردن ژلاتین، دو نوع ژلاتین (که هر کدام خصوصیات متفاوت دارند) می‌تواند تولید شود. ژلاتین نوع A (نقطه ایزوالکتریک آن در۹-٦: pH) از کلاژنی که با اسید تیمار می-شود؛ و نوع B (نقطه ایزوالکتریک آن pH:٥) از کلاژنی که با باز تیمار می‌شود، تولید می‌شود [۱]. ژلاتین یکی از معدود پروتئین‌های مناسب جهت تولید صنعتی با استفاده از محصولات جانبی کارخانجات صنایع گوشت می‌باشد. این ماده به مقدار زیادی در صنایع غذایی به منظور ایجاد ژل، ایجاد امولسیون کنندگی، ایجاد باند و قوام مناسب در محصولات مختلف استفاده می‌گردد و همچنین به طور گسترده در پزشکی، دارو سازی، آرایشی و عکاسی کابرد دارد [۲].

مهمترین منبع تولیدکننده این بیوپلیمر طبیعی پوست خوک می-باشد که حدود ٤٦٪ از ژلاتین تولیدی سالانه دنیا را در بر می-گیرد پس از آن پوست گاو (۲۹/٤٪) و استخوان گاو از دیگر منابع اصلی تامین کننده ژلاتین می‌باشد، اما، محدودیت‌های دینی اعم از حیوانات حرام‌گوشت مانند خوک وکشتار غیرشرعی به خصوص در بین مسلمان و یهودیان همواره به عنوان یکی از موانع استفاده از ژلاتین این پستانداران است؛ در نتیجه ژلاتین ماهی از مطلوبیت بیشتری در بازار غذاهای حلال و کوشر برخوردار شده است. همچنین از طرفی شیوع بیماری-هایی مانند جنون گاوی (BSE) که در چند سال اخیر سبب شده است تا مطالعاتی برای یافتن جایگزینی مناسب برای ژلاتین حاصل از پستانداران صورت گیرد [۳]. از این رو تلاش برای یافتن جایگزین‌های مناسب ژلاتین برای محصولات غذایی بسیار رو به رشد است. ژلاتین ماهی به ویژه با خصوصیاتی مانند دمای ذوب پایین‌تر، حل‌شدن سریع در دهان و عدم ایجاد حالت لاستیکی یکی از مناسب‌ترین جایگزین‌های ژلاتین پستانداران محسوب شده و به عنوان غذایی حلال پذیرفته شده می‌باشد [۲].

با این حال ژلاتین ماهی با ژلاتین پستانداران در خواص از قبیل ذوب، دمای ژله‌ای شدن و قدرت ژل متفاوت است. تفاوت به علت ترکیب‌های مختلف اسید آمینه به ویژه پرولین و هیدروکسی پرولین می‌باشد. هیدروکسی پرولین آمینو اسیدی است که از پرولین مشتق شده است. هر دو آنها مسئول ثبات و پایداری ساختار کلاژن می‌باشد. آنها پیوند هیدروژنی تشکیل می‌دهند که ساختار مارپیچی سه‌گانه را توسط پیچش شدید ساختارکلاژن پایدار می‌سازد. حضور پرولین و هیدروکسی پرولین همچنین مسئول ذوب و دمای بسته شدن ژل در انواع مختلف ژلاتین می‌باشد. محتوای این اسیدهای آمینه در انواع مختلفی از منابع ژلاتین متفاوت است پرولین و هیدروکسی پرولین کمتر، کاهش نقطه ذوب و دمای بسته شدن ژل را در ژلاتین به همراه دارد. که این مسئله را می‌توان توسط راهکارهای مختلفی (آنزیمی و شیمیایی) برطرف کرد.

در این تحقیق از ماهی کپور سرگنده که از خانواده ماهیان گرمابی می‌باشد، استفاده شده است و همچنین براساس سالنامه آماری شیلات ایران در سال ۱۳۹۱ [٦]، سهم آبزی پروری استان مازندران از مجموع ۱٥٤٥٦٥ تن تولید ماهی در بخش پرورش ماهیان گرمآبی کل کشور، ۸/۲۹٪ است که میزان تولید ماهی کپور سرگنده در سال ۱۳۹۳ طبق آمار شیلات کل مازندران ۳٦۰۰ تن بود. و با توجه بررسی‌هایی که در بازار ماهی‌فروشان صورت گرفت، کپور سرگنده بیشترین ضایعات را داشت که معمولا به علت پوست ضخیم آن، مشتری تمایل دارد آن را بصورت فیله بدون پوست خریداری کند بنابراین می‌توان از پوست آن یک ماده با ارزش همانند ژلاتین تولید کرد و با استفاده از آنزیم ترانس‌گلوتامیناز خواص آن را بهبود و ارتقا بخشید تا بصورت گسترده‌تر مورد استفاده قرار بگیرد.

آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی (MTGase) که به نام EC ۲,۳,۳,۱۳ نیز شناخته می‌شود، جزء آنزیم‌های ترانسفراز می‌باشد. MTGase پروتئینی است با وزن مولکولی ۳۷/۳٦۸

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-22]

دالتون که حاوی ۳۳۱ اسیدآمینه می‌باشد. این آنزیم از یک گونه‌ی مهم باکتریایی به نام *Strepto verticillium* استخراج و خالص‌سازی می‌شود. TGase حاصل از این باکتری دارای وزن مولکولی ٤۰۰۰ دالتون و pH ایزوالکتریک معادل ۸/۹ است. اپتیمم pH فعالیت این آنزیم، بین ٤ تا ۹ و بهترین دما برای عملکرد آن بین ۳۷ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد است. این آنزیم میکروبی فرایند آسیل‌ترانسفراز را کاتالیز می‌کند و با ایجاد باندهای کووالانت بین پروتئین ها، باعث بهبود بافت و کیفیت محصول غذایی می‌گردد و پروتئین‌های جدید با ویژگی‌های جدید و منحصر به فرد ایجاد می‌کند. این پیوندها شامل اتصالات عرضی بین لایزین از یک پروتئین و گلوتامین از پروتئین دیگر می‌باشد (شکل۱-۳). این اتصالات بسیار پایدار و در برابر عواملی مانند تغییرات pH و حرارت، بطور فوق‌العاده‌ای مقاوم هستند. بنابراین می‌توان با استفاده از میکروارگانیسم‌ها، کیفیت محصولات غذایی را تا حد امکان افزایش داد [۲۰].

مصارف ترانس گلوتامیناز، در فرآوری آبزیان بر اساس توانایی تاثیرگذاری مثبت آنزیم بر خواص تکنولوژیکی بافت ماهی است، خواصی مانند : سفت‌شدن بافت‌ها و ظرفیت نگهداری آب در بافت‌ها. در نتیجه اثرات این آنزیم، به عنوان یک فاکتور اقتصادی نیز مطرح می‌شود. مصارف ترانس‌گلوتامیناز در تولید سوریمی نیز نتایج مثبتی داشته است. این اثر از طریق، افزایش قابلیت ارتجاعی (الاستیسیته) و تولید محصول با کیفیت بالاتر، تحقق می‌یابد [٤].

در مورد تاثیر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی بر ویژگی‌های کارکردی ژلاتین گونه‌های مختلف و دیگر مواد غذایی پژوهش‌های انجام شده است که در ادامه به اختصار به برخی از این تحقیقات خواهیم پرداخت.

رادمهر و معتمد زادگان در سال ۱۳۹۳ اثر هم‌زمان آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی، نمک و زمان تأثیر آنزیم یا فرآیند قوام یابی بر روی ویژگی‌های کیفی و بافت ناگت مرغ با استفاده از روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار دادند. تأثیر همزمان فعالیت آنزیمی و زمان اثر آنزیم بر میزان تغییر شکل نمونه در اثر اعمال نیروی تراکمی معنی‌دار بود. می‌توان نتیجه گرفت که افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی می‌تواند گزینه مناسبی برای تولید ناگت مرغ کم نمک باشد [٤].

فدائی و همکاران (۱۳۹۳) اثر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی به عنوان بخشی از پروتئین شیر تغلیظ شده بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی ماست اسفناج را بررسی کردند. تاثیر این آنزیم بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی انتخابی (نظیر pH، اسیدیته قابل تیتر، میزان آب‌اندازی و ویسکوزیته) و خواص حسی (بافت، طعم، بو و پذیرش کلی) مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی، افزودن غلظت‌های مختلف آنزیم ضمن جلوگیری از تغییرات مشخص در pH و اسیدیته، ویسکوزیته (گرانروی) ماست را افزایش داد و باعث کاهش آب‌اندازی در ماست شد. نتایج این بررسی نشان داد که استفاده از آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی می‌تواند جایگزین قابل قبولی برای پروتئین شیر تغلیظ شده در ماست همزده اسفناج باشد [۵].

گمزگویلن و همکاران در سال ۲۰۰۱ تاثیر ترانس گلوتامیناز را روی ویژگی‌های ویسکوالاستیک ژلاتین استحصالی از پوست گونه ماهی مگریم[1] را بررسی کردند و بیان کردند که ترانس گلوتامیناز زمان قوام‌یابی ژلاتین ماهی را افزایش می‌دهد و همچنین دمای ذوب، قدرت و ویسکوزیته ژلی این آنزیم، به طور قابل توجهی افزایش پیدا کرده است [۷].

فرناندزدیاز و همکاران در سال ۲۰۰۱ ویژگی‌های ژلی کلاژن پوست ماهی کاد[2] و هیک[3] و اصلاح آنها توسط اتصال دهنده-های منیزیم‌سولفات، گلیسرول و ترانس‌گلوتامیناز را مورد مطالعه قرار داده‌اند. طبق نتایج آنها قدرت ژلی به طور قابل توجهی توسط این اتصال‌دهنده‌ها افزایش پیدا کرد هر چند این افزایش بستگی به نوع گونه دارد. و در هر دو گونه افزودن هر کدام از این عوامل باعث افزایش مدول ویسکوزیته (G'') شد اما مدول الاستیسیته (G') تنها با افزودن گلیسرول (w/v)۱۵٪و منیزیم سولفات ۰/۵ مولار در ژلاتین هیک ، و در کاد توسط همه عوامل افزایش داشته است. نقطه ذوب و نقطه‌ی ژله‌ای شدن که از ویژگی‌های مهم ژلاتین ماهی است، افزایش قابل

1. megrim *(Lepido rhombusboscii)*
2. *Gadus morhua*
3. *Merluccius merluccius*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-22]

توجهی را نشان داده است و رفتارهای متفاوت نیز بستگی به نوع گونه دارد [۸].

موتار و همکاران در سال ۲۰۱۳ بهینه‌سازی ژلاتین ماهی هوکی[4] توسط آنزیم ترانس‌گلوتامیناز را انجام دادند که بعضی از ویژگی‌های رئولوژیک آن بررسی شد. در مقدار مناسب آنزیم و زمان و دمای بهینه، قدرت ژلی محاسبه شده بسیار رضایت بخش بود. و همچنین نقطه ذوب آن افزایش پیدا کرد. افزایش 'G با افزایش ترانس‌گلوتامیناز نشان دهنده‌ی ژل پایدارتر می‌باشد و تغییرات در 'G و "G با افزایش دما، افزایش نقطه ذوب را نشان می‌دهد [۹].

با توجه به اینکه معمولا به علت پوست ضخیم ماهی سرگنده، مشتری تمایل دارد بصورت فیله خریداری کند بنابراین می توان از پوست آن یک ماده با ارزش همانند ژلاتین تولید کرد و هدف تحقیق حاضر استخراج ژلاتین از پوست ماهی کپور سرگنده و بررسی ویژگی‌های عملکردی آن بعلاوه بررسی اثر آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی بر این ویژگی ها با کمک آزمون‌های رئولوژیک می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

آنزیم ترانس گلوتامیناز از شرکت آجینوموتو فرانسه Activia (WM) با فعالیت ۱۰۰ یونیت بر گرم که شامل ۹۹٪ مالتو دکسترین و ۱٪ آنزیم می‌باشد، تهیه شده است.

۲-۲- روش استخراج ژلاتین

طبق روش متولی و معتمدزادگان (۱۳۹۳) با اندکی تغییرات انجام شد. پوست ماهی کپور سرگنده از بازار ماهی فروشان محلی خریداری شده و در یونولیت حاوی یخ به محل آزمایشگاه انتقال یافت. پوست ها پس از شست وشو و فلس گیری، در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند و یک روز قبل از انجام عمل استخراج در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا انجماد زدایی گردند. پوست‌ها را در اندازه (۲×۳) قطعه قطعه کرده، ابتدا در سود ۰/۱۹ مولار (۱:۱۰) به مدت نیم ساعت با سه بار تکرار به طوری که جمعا یک ونیم ساعت همراه با محلول سود تیمار شده‌اند و به دنبال آن در اسید فسفریک ۰/۰۲ نرمال (۱:۱۰) به مدت ۱ ساعت با سه تکرار، که جمعا ۳ ساعت در محلول اسیدی تیمار شدند، سپس در حمام آبی (مدل FP-108AX TAIWAN) ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤ ساعت قرار گرفت و ادامه عملیات استخراج ژلاتین، انجام گرفت؛ در مرحله بعدی محلول از پارچه تنظیف و صافی عبور داده شد و سپس خالص سازی گردیده است و در نهایت در آون (UFB 400, memert- Germany) در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد خشک گردیده و پس از بسته‌بندی، در یخچال نگهداری شده است [۱۰].

۲-۳- آماده‌سازی محلول

محلول w/v ۳٪ ژلاتین توسط حل شدن پودر خشک ژلاتین در آب مقطر با دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد در حمام آبی بدست آمده است، سپس فعالیت‌های مختلف آنزیم (۱، ۳ و ٦ یونیت بر گرم ژلاتین) را بعد از حل شدن کامل ژلاتین، در زمان‌های مختلف (۱۵، ۳۰ و ٦۰ دقیقه) در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد با محلول ژلاتین ترکیب شد و بعد از ۱۸-۱٦ ساعت در دمای ۷-۵ درجه سانتی‌گراد (یخچال)، بلافاصله آزمون‌های مورد نظر صورت گرفته است [۹].

۲-٤- تعیین قدرت ژلی

زمانی که نمونه بلافاصله از این که از یخچال خارج شد قدرت ژلی توسط دستگاه تکسچر آنالایزر[5] مدل (TC3, Brookfield- UK) ، با ضخامت پروب ۱/۲۷ سانتی‌متر در سرعت ۱mm/s با نیروی ۰/۱N، انجام شده است. زمانی که پروب به مقدار ٤ میلی‌متر در ژلاتین نفوذ کرده است، نیرویی بر حسب گرم برای قدرت ژلی گزارش شده است، که این مقدار حداکثر نفوذی است که ژلاتین می‌تواند تحمل کند [۹].

۲-۵- رفتارهای رئولوژیکی

به منظور توصیف ویژگی‌های رفتاری رئولوژیکی محلول ژلاتین، از رئومتر تنشی کنترلی[6] مدل (MCR-301, Anton-

4. *Macruronus novaezelandiae*

5. Texture analyzer
6. Controled stress

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-22]

paar- German) صفحه و صفحه[7] استفاده شده است (۴۰ میلی‌متر، زاویه: ۲ درجه و گپ: ۵۲ میلی میکرون). آزمون نوسانی کوچک به کار گرفته شده است. ویژگی‌های ویسکوالاستیک محلول ژلاتینی (۳ درصد وزنی/حجمی) در محدوده ۵ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد (پویش گرمایش) و ۵۰ تا ۵ درجه سانتی‌گراد (پویش سرمایشی) با نرخ گرمایشی/ سرمایشی ۱ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه اندازه‌گیری شده است. فرکانس نوسانی ۱ هرتز و تنش وارد شده ۰/۳ پاسکال بوده و ضریب ذخیره یا الاستیسیته ('G)، ضریب افت یا گرانروی ("G) و زاویه فاز (tan δ) با استفاده از این آزمون بدست می‌آید با استفاده از این آزمون بدست آمده است و ویسکوزیته ظاهری آن با افزایش سرعت برشی از ۰/۰۱ تا۳۰۰ بر ثانیه در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد [۱۰].

۲-۶- اندازه‌گیری pH

روش انستیتو استاندار بریتانیا (BSI 757, 1975) برای تعیین pH محلول ژلاتین استفاده شد [۱۰]. محلول ژلاتین (۱٪w/v) با حل کردن پودر ژلاتین در آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه بدست آمده است، سپس محلول را به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شده است و در پایان قبل از اندازه گیری pH با pH سنج مدل CB 16NW, UK ،ابتدا محلول سرد و سپس اندازه گیری شده است [۱۰].

۲-۷- تعیین رنگ

نمونه‌های ژل حاوی هر یک از تیمارها برای اندازه‌گیری رنگ آماده شد و با دستگاه رنگ‌سنج مدل(IMG Pardazesh, Cam-system XI) با منبع نوری ۴۵ درجه و ناظر صفر درجه رنگ سنجی می‌شود [۱۱]. اندازه‌گیری کلی اختلاف رنگ[8] توسط جایگزینی پارامترهای اندازه‌گیری شده عبارتند از: L: روشنایی، a: محور قرمز (+) تا سبز (-) و b: محور زرد (+) تا آبی (-). روشنایی، تحت عنوان اندازه‌گیری ΔE از طریق این معادله بدست می‌آید [۱۲].

$$E = [(L_{gelatin} - L_{standard})^2 + (a_{gelatin} - a_{standard})^2 + \Delta(b_{gelatin} - b_{standard})^2]^{0.5}$$

۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش‌های این پژوهش به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ با کمک آنالیز واریانس یک طرفه و مدل خطی عمومی و زیر شاخه Univariate انجام شده است. تفاوت بین میانگین‌ها مشخص شدند و معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در سطح اعتماد ۹۵ درصد با کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن بررسی شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- قدرت ژلی

نمودار۱ قدرت ژلی ژلاتین پوست ماهی کپور سرگنده را در pH= ۵/۸۲ که با فعالیت‌های مختلف ترانس گلوتامیناز (۱، ۳ و ۶ واحد/گرم ژلاتین) در سه زمان مختلف اثر آنزیم (۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه) ترکیب شده‌اند، نشان می‌دهد به طور کلی، قدرت ژلی در حضور ترانس‌گلوتامیناز در مقدار مناسب افزایش پیدا کرده است زیرا این آنزیم موجب تشکیل پیوندهای جدید از طریق پیوندهای کووالانسی غیرسولفیدی در ساختار ژل می‌شود [۹]. قدرت ژلی به طور معنی داری در مقدار ۱ و ۳ واحد/گرم ژلاتین در زمان ۱۵ و ۳۰ دقیقه اثر آنزیم، در مقایسه با نمونه شاهد افزایش پیدا کرده است ($p\leq$۰/۰۵).

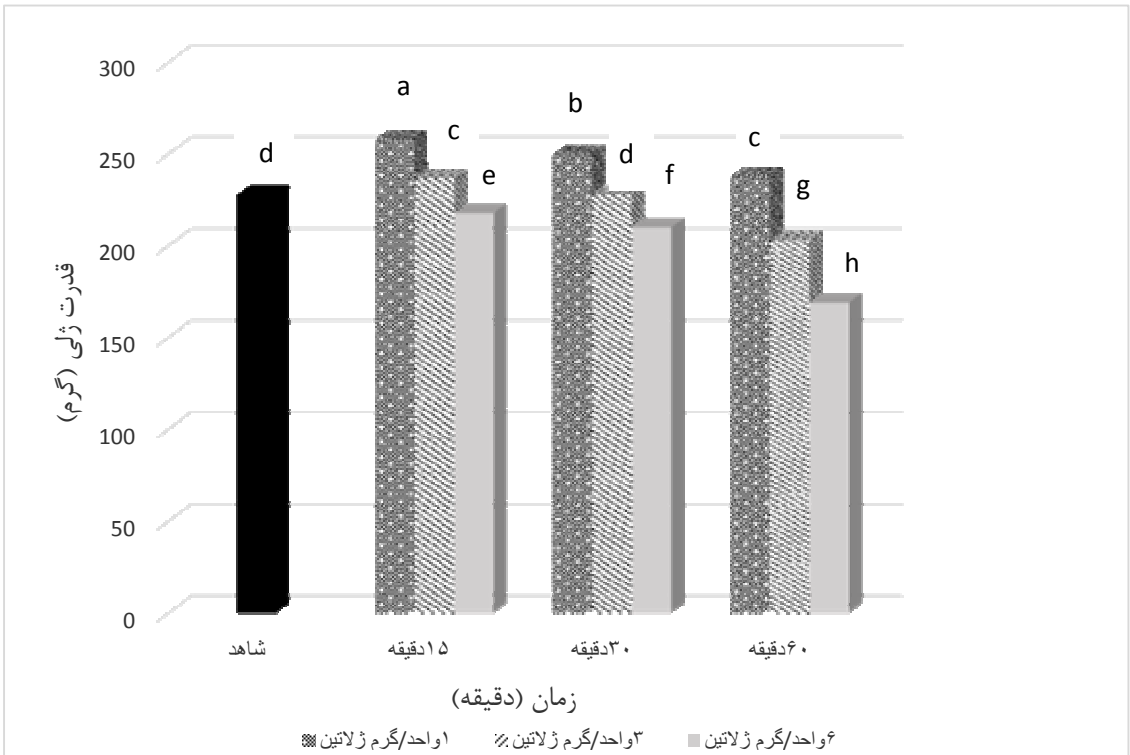
قدرت ژلی نمونه ۳ واحد/گرم ژلاتین هر چند از نمونه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر شده است ولی از نمونه ۱ واحد/گرم ژلاتین کمتر شد. این بررسی نشان داد که در مقدار بیشتر از ۱ واحد/گرم ژلاتین، قدرت ژلی کاهش پیدا کرده است که ممکن است به دلیل شدت تشکیل پیوندهای کووالانسی باشد در واقع پیوندهای کوولانسی داخل مولکولی را گسترش داده و به عنوان باند مزاحم عمل کرده و مانع تشکیل شبکه ژلی آلفا مارپیچی گردیده است [۹]. به عبارتی با توجه به مطالعات منابع دیگر، چون آنزیم باعث می‌شود پیوندهای کووالانسی سریعا تشکیل گردد و فرصت و زمان کافی به تشکیل شبکه ژلی نمی‌دهد که این نتایج مشابه نتایج دی زو و همکاران (۲۰۰۹) بود آنها نیز دریافتند که قدرت ژلی ژلاتین خوک در

7. Cone-plate
8. E

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-22]

مقادیر بیشتر از ۱ واحد/گرم ژلاتین، کاهش یافته است و افزایش آنزیم ترانس گلوتامیناز موجب افزایش تشکیل پیوندهای کووالانسی کاتالیز شده با ترانس گلوتامیناز شده که باعث کاهش تجمع زنجیره آلفا مارپیچی سه گانه در کلاژن گردیده است در نتیجه شبکه ژلی کاهش یافت [۱۳].

همچنین علاوه بر اینکه آنزیم بر قدرت ژلی تاثیر گذاشته است، زمان اثر آنزیم نیز به طور معنی داری تاثیر گذار بود، به طوریکه در حداقل زمان (۱۵ دقیقه) بیشترین قدرت ژلی (۱± ۲۵۸) را نشان داده است و با افزایش زمان اثر آنزیم، قدرت ژل به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p\leq$۰/۰۵). یعنی در زمان ۱۵، ۳۰ و ٦۰ دقیقه به ترتیب قدرت ژلی ۱± ۲۵۸، ۲۵۰ و ۱±۲۳۸ گرم شده است؛ که احتمال می‌رود به دلیل تشکیل میزان بیشینه پیوندهای عرضی درون و بین مولکولی در ساختار پروتئین که به عنوان سدی برای تشکیل شبکه ژلی عمل می‌کند، باشد؛ در نتیجه قدرت ژلی با افزایش زمان اثر آنزیم نیز کاهش یافت و همچنین این یافته‌ها با نتایج رادمهر و معتمدزادگان (۱۳۹۲) مطابقت داشت. از طرفی این نتایج مطابق با یافته‌های سقایی و همکاران (۱۳۹۳) که تاثیر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز را بر پایداری امولسیون پروتئین استخراج شده از عضله ماهی فیتوفاگ را بررسی کرده‌اند، می‌باشد. زیرا با افزایش زمان به دلیل کاهش تعادل سطوح هیدروفیل و هیدروفوب به دلیل افزایش ساختار پلی‌مری پروتئین، پایداری کاهش یافته است [١٤]. از طرفی موهتار و همکاران (۲۰۱۳) یافتند که در زمان ۳۰ دقیقه آنزیم ترانس گلوتامیناز بالاترین قدرت ژلی را برای ژلاتین ماهی هوکی (*Macruronus novaezelandiae*) نتیجه داشته است، البته آنها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد زمان اثر آنزیم را بررسی نموده‌اند ولی در مطالعه ما در دمای ٤٥ درجه سانتیگراد زمان اثر آنزیم بررسی شده است؛ بنابراین احتمالا دما در این راستا تاثیرگذار بوده است [۹]. بنابراین به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که در حداقل فعالیت آنزیم و حداقل زمان اثر آن، بیشترین قدرت ژلی را داشته‌ایم که می‌تواند توجیه اقتصادی خوبی داشته باشد.



نمودار ۱ قدرت ژلی ژلاتین بدون آنزیم (شاهد) و همراه با آنزیم ترانس گلوتامیناز. میانگین± انحراف معیار در سطح معنی داری($p\leq$۰/۰۵).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-22]

۳-۲- رفتارهای رئولوژیکی

رفتار مدول‌های ویسکوالاستیک تیمارهایی که از لحاظ قدرت ژلی، قوی‌ترین (U/g gelatin۱ در زمان ۱۵ دقیقه اثر آنزیم)، ضعیف ترین (U/g gelatin ٦ در زمان ٦٠ دقیقه اثر آنزیم) و حد میانه (U/g gelatin ۳ در ۳۰ دقیقه زمان اثر آنزیم) قدرت ژلی را داشتند، در نمودار ۲و۳ نشان داده شده است. در دمای پایین‌تر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد، مدول ذخیره یا الاستیسیته [8] (G') و مدول افت یا گرانروی[9](G") با افزایش دما کاهش پیدا کرده و مدول الاستیک بزرگتر از مدول افت شده است (G" < G') که نشان دهنده این مسئله است که نمونه‌ها هنوز حالت ژله‌ای دارند. در دماهای تقریبا پایین‌تر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد بین نمونه‌ی تیمارها در مقایسه با شاهد اثر آنزیم مشهود نیست و حتی در تیمار U/g gelatin ٦ و۳ مدول الاستیک و مدول ویسکوز کمی کمتر از شاهد شد یعنی با افزایش زمان انکوباسیون یا غلظت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز ، مقدار عددی مدول الاستیک در دمای ۵ درجه سانتیگراد کاهش یافت. این کاهش مدول الاستیک با زنجیره های پپتیدی بلندتر بخش جانبی پلیمر مرتبط است، زیرا طی کاهش دما نمی‌توانند با ایجاد اتصالات بین مولکولی به شکل مارپیچ سه‌تایی پایدار در آیند، به عبارتی دیگر ظرفیت بازسازی (رناتوراسیون) پایینی دارند [۷]. اما بتدریج با افزایش دما مدول ذخیره (G') نمونه-ی تیمار شده با آنزیم بزرگتر از نمونه شاهد شده است که نشان دهنده مقاومت دمایی نمونه‌ی تیمار شده با آنزیم است.

همچنین وقتی دما بیشتر افزایش پیدا کرد، هر دو مدول (G" و G') به طور قابل توجهی کاهش پیدا کرده‌اند، که در تیمار u/g gelatin ۱ در بعضی نقاط از گراف، G" و G' همدیگر را قطع کرده که می‌تواند به عنوان نقطه ذوب تعریف شود که در این دمای بحرانی، G' = G" شده‌اند [۱۵]. که این نتایج با یافته‌های موهتار و همکاران (۲۰۱۳) که رفتارهای رئولوژیکی ژلاتین ماهی هوکی را بررسی کرده‌اند، مطابقت داشته است. ولی آنها مشاهده کردند که در بالاتر از نقطه ذوب، مدول افت (G") بیشتر از مدول ذخیره (G') شده است که دلیل آن از بین رفتن ساختار شبکه ژلی بود که تبدیل به محلول ژلاتین شده است [۹]. در حالی که در مطالعه ما در بالاتر از نقطه ذوب همچنان G' بالاتر از G" شده است که می‌توان نتیجه گرفت که احتمالا ژل هنوز به طور کامل ذوب نشده و حالت ویسکوالاستیک خود را حفظ کرده است.

نقطه ذوب ژلاتین ماهی کپور سرگنده در تیمار U/g gelatin۱ از ۲۷/٤۸ به ۲۸/۰٤ افزایش پیدا کرده است؛ که طبق مطالعات گیمزگویلن و همکاران (۲۰۰۱) به علت افزایش متوسط وزن مولکولی ژلاتین، نقطه ذوب افزایش می‌یابد. این مسئله به لحاظ بیولوژی ماهی می‌تواند مربوط به گرمابی بودن ماهی کپور سرگنده نیز باشد که به منظور سازگاری با دمای بالاتر محیط ساختار مولکولی کلاژن پوست آن تفاوت‌هایی در مقایسه با ماهی مثل هوکی که در مناطق شمالی و آب‌های سردتر اقیانوسی زیست میکند، پیدا کرده است. بنابراین بسته به هدف پژوهش و نوع کاربرد آن، نوع گونه ماهی انتخابی می-تواند متفاوت باشد. به عنوان مثال بعلت بالا بودن نقطه ذوب ژلاتین ماهی کپورسرگنده، این نوع ژلاتین در محصولاتی که در دمای اتاق نگهداری می‌شوند استفاده شود [۲]. و همچنین طبق مطالعات مورتا و همکاران نقطه ذوب ژلاتین ماهی که از ضایعات سوریمی بدست آمده است، از ١٦/٧ به ١٧/٣ شد که بسته به گونه ماهی، نقطه ذوب و افزایش آن می‌تواند متفاوت باشد [۷]. ولی تیمارهای U/g gelatin ۳ و U/g gelatin ٦ با افزایش دما (بالاتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد)، آنزیم به طور قابل توجهی اثر خود را نشان داد به طوری که مدول افت (G") و مدول ذخیره (G') در آنها بیشتر از تیمار شاهد U/g gelatin ۱ شده است و همچنین در هیچ نقطه‌ای تقاطع نداشتند که می‌تواند نشان دهنده این مسئله باشد که با افزایش آنزیم و زمان اثر آن، ژلاتین حالت الاستیک پیدا کرده و در محدوده دمایی تعریف شده (۵۰-۵ درجه سانتی‌گراد) ذوب نشده است.

تیمار U/g gelatin ٦ بیشترین رفتار الاستیک را از خود نشان داده است و با توجه فاصله زیادی که بین G' و G" که در این تیمار اتفاق افتاده است، احتمال اینکه G' و G" حتی در دماهای بالاتر از ۵۰ درجه سانتی‌گراد همدیگر را قطع کنند، بسیار بعید است. همچنین این دو تیمار حتی در حمام آب جوش ذوب نشدند که این نتایج می‌تواند با یافته‌های کلودزیجسکا و همکاران (۲۰۰٤) مطابقت داشته باشد زیرا آنها نیز مشاهده کرده‌اند که ژلاتین اصلاح شده توسط آنزیم در

8. Storage modulus
9. Viscose modolus

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-22]

حمام آب جوش ذوب نمی‌شود. همچنین آنها پیشنهاد داده‌اند که اگر ساختار ژل در دماهای بالا ذوب نشود، ژلاتین ماهی می‌تواند به عنوان جزء ژلی در محصولات استریل شده که نیاز به مقاومت دمایی بالایی دارند، استفاده شود [۱۶]. و همچنین با یافته‌های گمزگویلن و همکاران (۲۰۰۱) تطابق داشت زیرا آنها نیز یافتند که ژلاتین ماهی گونه *megrim* (*Lipidohrhombus boscii*) با افزایش آنزیم ترانس-گلوتامیناز ذوب نشد که به علت فعالیت پیوند کووالانسی غیر قابل برگشت و تغییرناپذیر که توسط آنزیم ترانس‌گلوتامیناز ایجاد می‌شود، بود [۷]. در روبش سرمایشی در تیمار U/g gelatin۱و شاهد مدول الاستیک و مدول ویسکوز افزایش پیدا کردند و این افزایش تا زمانی است که "G و'G در بعضی نقاط همدیگر را قطع کرده‌اند و"G = G' ، که این نقطه یا نقاط در روبش سرمایشی[10] به عنوان نقطه بستن ژل تعریف شده است که این نقطه در ژلاتین کپور سرگنده در تیمار U/g gelatin ۱ از ۱۹/۹٤ درجه سانتی‌گراد به ۲۱/٦۷ درجه سانتی-گراد افزایش پیدا کرده است.

با توجه به نتایج نوریزا و همکاران (۲۰۰۹) که نقطه بستن ژل در مطالعه آنها از ۵/۱ به ۵/۷ افزایش پیدا کرده است [۱٦]. و در مطالعه گمزگویلن و همکاران (۲۰۰۱) نقطه بستن ژل ماهی از ۱۷ به ۲۲ درجه سانتی‌گراد افزایش داشت [۱۷]. در حالیکه در U/g gelatin ٦ و۳ ، "G و'G در روبش سرمایشی همانند روبش گرمایشی هیچ تقاطعی نداشته‌اند ولی با کاهش دما هر دو "G و'G افزایش پیدا کرده است و همچنین فرناندز و همکاران (۲۰۰۱) به این نتیجه رسیده‌اند که افزایش ترانس-گلوتامیناز نقطه ذوب و نقطه بستن ژل را افزایش، در حالیکه قدرت ژلی را کاهش داده است [۸].

۳-۳- زاویه فازی (tanδ)

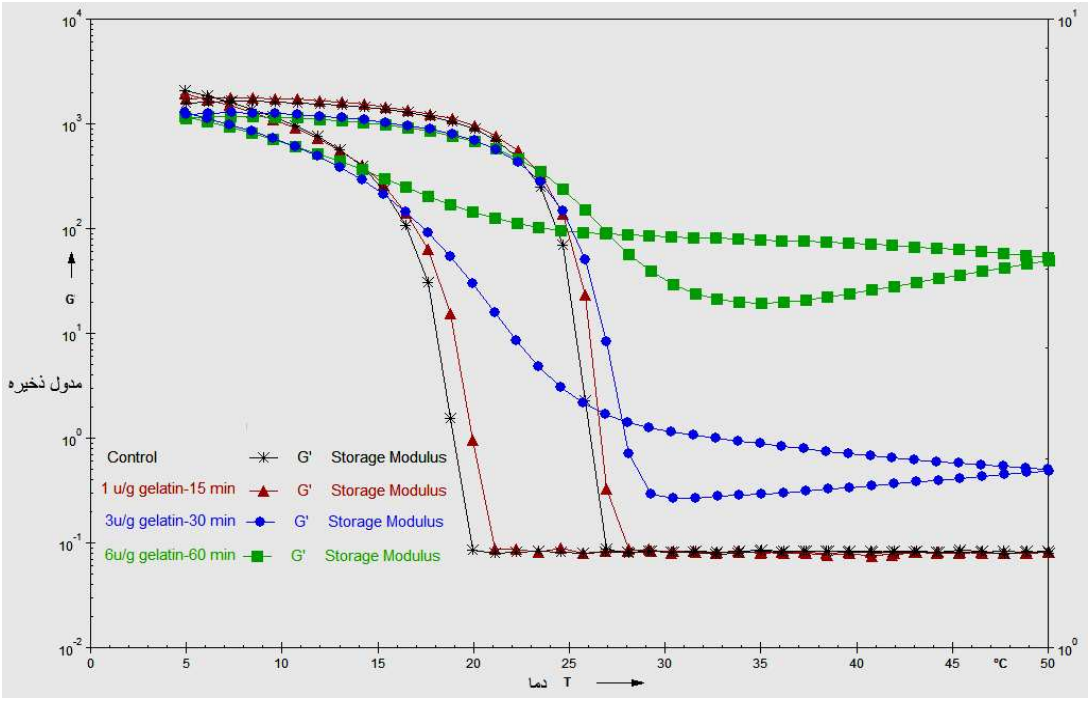
تانژانت زاویه فازی (تانژانت شیفت فازی یا تانژانت دلتا) که فاکتور اتلاف نامیده می شود، پارامتر مهمی در توصیف رفتار ویسکوالاستیک مواد می‌باشد، نشاندهنده تغییرات ساختمان ژل بوده و تابعی از فرکانس و دما می باشد. در بررسی تغییرات زاویه فازی تحت تاثیر درجه حرارت، کاهش یا افزایش شدید زاویه فازی، بیان کننده نقطه بستن ژل و نقطه‌ی ذوب می‌باشد [۱۷]. شدت ژل شوندگی/ذوب شدن[6] را با توجه به شیبی که نقطه فازی بسرعت کاهش یا افزایش می یابد می توان در نظر گرفت. در این مطالعه نیز در نمودار ٤ زاویه فازی نمونه‌های که از لحاظ قدرت ژلی، قوی‌ترین (U/g gelatin۱ در زمان ۱۵ دقیقه اثر آنزیم)، ضعیف ترین (U/g gelatin ٦ در زمان ٦۰ دقیقه اثر آنزیم) و حد میانه (U/g gelatin ۳ در ۳۰ دقیقه زمان اثر آنزیم) قدرت ژلی را داشتند، نشان داده شد. بر این اساس شدت (سرعت/نرخ) تشکیل ژل/ذوب شوندگی در نمونه شاهد و U/g gelatin ۱تقریبا مشابه بوده و سریعتر از نمونه U/g gelatin ٦ و ۳ بود. در حالی که در نمونه های U/g gelatin ٦ و ۳ در نتیجه‌ی افزایش اتصالات عرضی به ساختمان ژل واقعی‌تر[11] ، پایدارتر و ماهیت الاستیک نزدیکتر هستیم. از طرفی در تمامی تیمارها زاویه فازی طی حرارت دهی کاهش می یابد (جدول ۱) که با توجه به کوچکتر شدن چندین برابری زاویه فازی در نمونه U/g gelatin ٦ می‌توان گفت این نمونه بطور قابل توجهی از درجه ویسکوالاستیسیته بسیار بالاتری در مقایسه با سایر تیمارها برخوردار است. بطور کلی به عنوان یک اصل زاویه فازی بین صفر تا ۹۰ درجه تغییر می کند. زاویه فازی نزدیک صفر نشان دهنده این است که تنش بکار رفته و اندازه گیری شده در فاز هستند و ماده در حالت الاستیک است. در مواد ویسکوز زاویه فازی به ۹۰ درجه رسیده و تنش‌ها خارج از فاز هستند.

به عبارتی می‌توان گفت در نمونه‌های U/g gelatin ٦ و ۳ شیب نمودار کم شده است که نشان دهنده این است ماده به فرصت و انرژی بیشتری برای ذوب شدن نیاز دارد، در واقع فرصت بیشتری برای بازسازی خود یا حالت برگشت پذیری حرارتی دارد و حتی ممکن است حالت غیر قابل بازگشت پیدا کند. و چون در واقع زاویه فازی افت انرژی[12] و انرژی ذخیره[13] شده در ماده را نشان می‌دهد و حاصل تقسیم انرژی کاهش یافته بر ذخیره شده هست که در نمونه‌های قوی‌تر مخرج کسر بالاتر می‌باشد و به این علت زاویه فازی کوچکتری را نشان می‌دهد که این نتایج با یافته‌های گمزگویلن و همکاران (۲۰۰۱) که تاثیر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر ژلاتین ماهی *Lipidorhombus boscii* بررسی کردند، مطابقت داشت [۷].

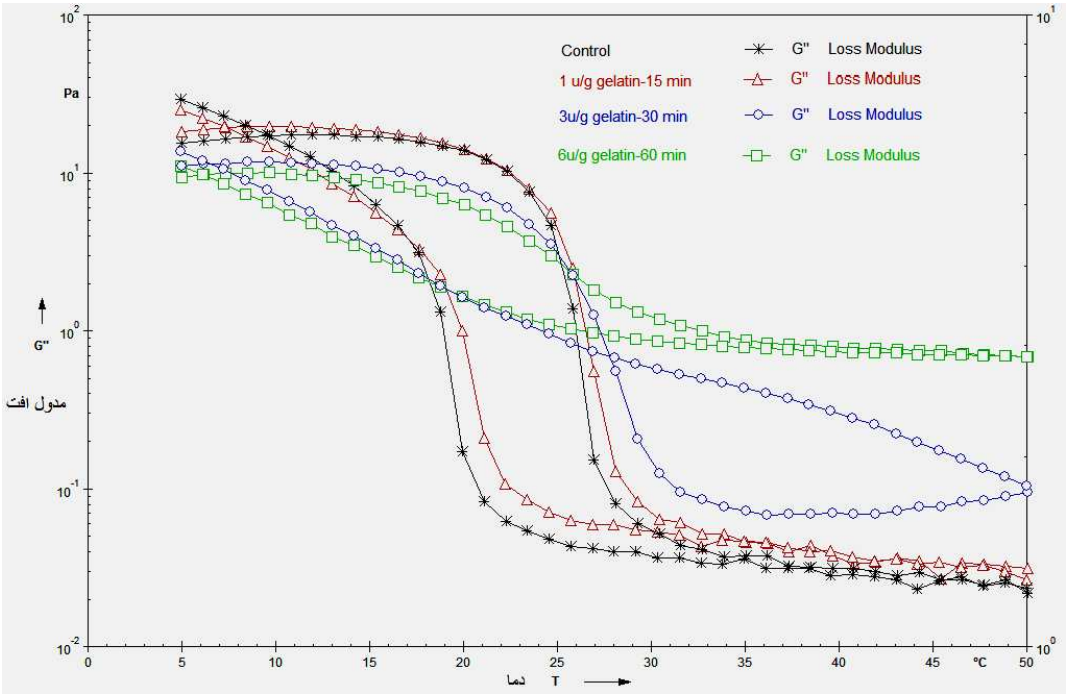
10. Cooling sweep

11. True gel
12. G"
13. G'

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-22]



نمودار ۲ عملکرد مدول ذخیره یا الاستیسیته (G') در روبش گرمایشی و سرمایشی. تعیین نقطه ذوب و نقطه بستن ژل ژلاتین ماهی کپور سرگنده در نمونه حاوی ۱، ۳ و ٦ واحد آنزیم بر گرم ژلاتین و نمونه بدون آنزیم (کنترل).

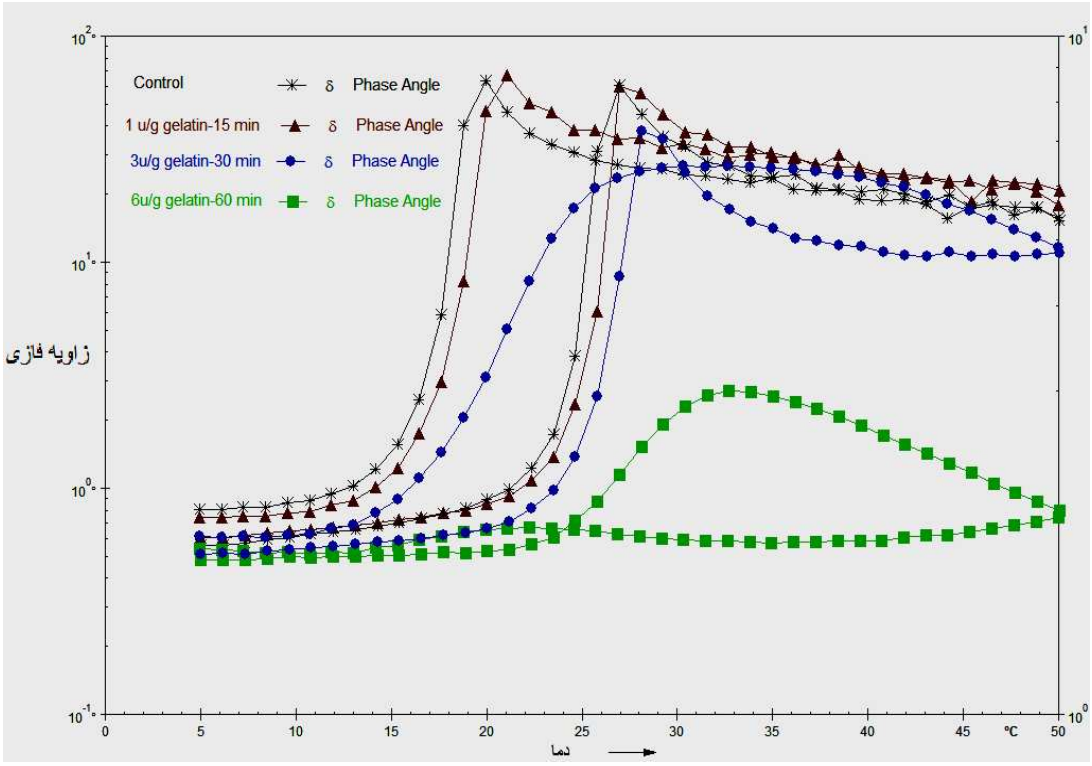


نمودار ۳ عملکرد مدول افت یا گرانروی (G") در روبش گرمایشی و سرمایشی. تعیین نقطه ذوب و نقطه بستن ژل ژلاتین ماهی کپور سرگنده در نمونه حاوی ۱، ۳ و ٦ واحد آنزیم بر گرم ژلاتین و نمونه بدون آنزیم (کنترل).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-22]

جدول ۱ نتایج حاصل از رفتارهای زاویه فازی نمونه‌های ۳،۱و ٦ واحد آنزیم بر گرم ژلاتین و نمونه شاهد

زاویه فازی(δ)	دمای ذوب (°C)	دمای بستن ژل (°C)
شاهد	٦٠/٣٥	٦٣/٤
١ واحد/گرم ژلاتین	٥٩/٦	٦٣/٤
٣ واحد/گرم ژلاتین	٢٣/٦	٣٧/٩٣
٦ واحد/گرم ژلاتین	٠/٦٥	٢/٦٨



نمودار ٤ زاویه فازی نمونه‌های ۳،۱و ٦ واحد آنزیم بر گرم ژلاتین و نمونه شاهد.

۳-٤- ویسکوزیته ظاهری

در نمودار۵ ویسکوزیته ظاهری نمونه شاهد، نمونه قوی‌ترین (١ U/g gelatin در ١٥ دقیقه زمان اثر آنزیم) و نمونه ضعیف‌ترین (٦ U/g gelatin در ٦٠ دقیقه زمان اثر آنزیم) از لحاظ قدرت ژلی در مقایسه با نمونه شاهد نشان داده شده است. رفتار غیرنیوتنی از نوع رقیق‌شونده (سودوپلاستیک) با برش[14] در تمامی تیمارها قابل مشاهده است در واقع در رفتار سودوپلاستیک، ویسکوزیته سیال وابسته به سرعت برشی[15] بوده و با افزاش سرعت برشی کاهش پیدا می‌کند. در این رفتار ابتدا با افزایش تنش به مقدار ثابت، سرعت برشی به مقدار معینی افزایش می‌یابد و سپس با افزودن همان مقدار ثابت تنش به تنش اولیه ، سرعت برشی بیشتر از مقادیر قبل افزایش پیدا می‌کند [۱۸]. ویسکوزیته غیر نیوتونی هر دو تیمار در مقایسه

14. Shear stress
15. Shear rate

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-22]

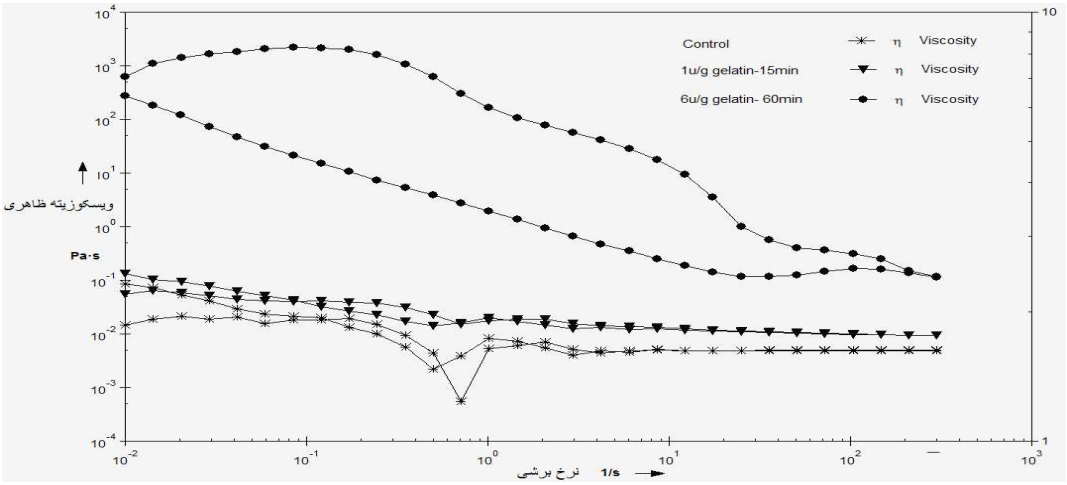
با نمونه شاهد در تمامی نرخ‌ها یا سرعت برشی بالاتر بوده است. ویسکوزیته غیر نیوتنی در نمونه ٦ U/g gelatin که زمان اثر آنزیم در ٦٠ دقیقه بررسی شده است، در مقایسه با نمونه شاهد و نمونه ۱ U/g gelatin که زمان اثر آنزیم در ۱۵ دقیقه بررسی شده است در تمامی نرخ‌های برشی بالاتر بوده است. این افزایش ویسکوزیته می‌تواند احتمالا بدلیل افزایش وزن مولکولی با تاثیر فعالیت آنزیمی بالاتر باشد در واقع رابطه غیر خطی بین وزن مولکولی ماده محلول و ویسکوزیته محلول وجود دارد که با افزایش وزن مولکولی ویسکوزیته افزایش پیدا می‌کند. همینطور جدایی فضایی داده های ویسکوزیته بین مرحله افزایش و کاهش نرخ برشی به شاخص تیکسوتروپی بالای این تیمار (٦ U/g gelatin) بر می‌گردد و نشان‌دهنده اختلاف انرژی بالا در بازسازی و تخریب شبکه ژلی است. از عوامل اصلی این پدیده تفاوت ساختمان ژلی و نوآرایی زنجیره‌های می‌تواند باشد. به عبارتی می‌توان گفت فرصت بیشتری برای بازسازی خود یا حالت برگشت‌پذیری[16] حرارتی دارد و حتی ممکن است حالت غیر قابل بازگشت پیدا کند. طبق یافته‌های دی‌زو و همکاران (۲۰۰۹) که آنها ویسکوزیته ژلاتین را توسط ویسکومتر بررسی نمودند و مشاهده کرده‌اند که به علت توانایی ترانس‌گلوتامیناز در واکنش‌های آسیل ترانسفراز و تشکیل پیوند بین مولکول‌های ژلاتین، ویسکوزیته افزایش پیدا کرده است [۱۳]. همچنین گمزگیلن و همکاران (۲۰۰۱) اثر آنزیم را در دمای اتاق که زمان انکوباسیون را از ٤٥ دقیقه به ١٦٠ دقیقه افزایش داده‌اند، بررسی نموده‌اند که شواهد نشان داد با افزایش زمان انکوباسیون ۸۰٪ ویسکوزیته افزایش پیدا کرده است که دلیل آن را افزایش وزن مولکولی که توسط واکنش‌های آنزیمی حاصل شده است، نسبت داده‌اند البته آنها نیز ویسکوزیته را توسط ویسکومتر اندازه‌گیری کرده‌اند [۷]. فدائی و همکارن (۱۳۹۳) تاثیر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز روی ماست اسفناج بررسی نمودند به این نتیجه رسیده‌اند که افزودن غلظت های مختلف آنزیم ضمن جلوگیری از تغییرات مشخص در pH و اسیدیته، ویسکوزیته (گرانروی) ماست را افزایش داد و باعث کاهش آب‌اندازی در ماست شد [۵]. بنابراین به طور کلی می‌توان گفت با افزایش مقدار فعالیت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز ویسکوزیته ژلاتین افزایش می‌یابد.

٤-۳- تعیین رنگ

واکنش ترانس‌گلوتامیناز میکروبی، کریستاله شدن و ساختار مولکولی ماتریکس ژلاتین را تغییر می‌دهد که منجر به تغییر رنگ آن می‌شود [۱۹]. با توجه به جدول ۲ مقدار ΔE در فعالیت‌های آنزیمی ۱ و ۳ واحد/گرم ژلاتین در زمان‌های مختلف افزایش داشت ولی معنی‌دار نبود($p\geq$۰/۰۵). ولی در فعالیت ٦ واحد/گرم ژلاتین تفاوت معنی‌دار بود ($p\leq$۰/۰۵)و بر کدورت ژلاتین تاثیر گذاشت. به عبارتی با افزایش فعالیت آنزیم، محلول ژلاتین رنگ مات و کدربه خود گرفته است. که این نتایج مطابق با یافته‌های یورستی و همکاران (۲۰۰۳) که اثر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی را بر روی رنگ فیلم تولیدی از ژلاتین ماهی بررسی کردند، بود [۲۱]. همچنین گارسیا و ساربال (۲۰۰۵) یافتند که رنگ فیلم ژلاتینی که از تیلاپیا بدست آمد، تحت تاثیر غلظت‌های مختلف ژلاتین قرار گرفت که می‌توان به مقدار پروتئین آن نسبت داد [۲۲]. البته در خصوص تاثیر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز به طور مستقیم بر رنگ محلول ژلاتین مطالعه‌ای صورت نگرفته است و در بیشتر مطالعات بر روی فیلم ژلاتین ماهی پژوهش انجام شده است که فیلم نیز علاوه بر آنزیم، ترکیبی از مواد دیگر از جمله گلیسرول و غیره می‌باشد. در نتیجه مطالعه در این زمینه محدود است.

16. Reversible

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-22]



نمودار۵ ویسکوزیته نمونه حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز ۱ u/g gelatin ۱ در زمان ۱۵ وu/g gelatin ٦ در زمان ٦٠ دقیقه و نمونه کنترل (بدون آنزیم)

جدول ۲ تاثیر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر روی رنگ (ΔE) محلول ژلاتین (۳٪).

تیمار	٦٠ دقیقه	۳۰ دقیقه	۱۵ دقیقه
۱ واحد/گرم ژلاتین	۱±۰/۰۱۷^{b}	۱±۰/۰۱۵^{b}	۱±۰/۰۰۵^{b}
۳ واحد/گرم ژلاتین	۱±۰/۰۱۷^{b}	۱±۰/۰۱۵^{b}	۱±۰/۰۱۵^{b}
٦ واحد/گرم ژلاتین	۷±۰/۰۰۵^{a}	۷^{a}	۷^{a}

٤- نتیجه گیری

در نتیجه افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز در حداقل فعالیت و حداقل زمان اثر، بدون تاثیر بر رنگ و کدورت ژلاتین، قدرت ژلی ژل ژلاتین ماهی سرگنده را به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده است که می‌تواند توجیه خوبی از لحاظ اقتصادی باشد در حالیکه با افزایش فعالیت آنزیم و زمان اثر آن، قدرت ژلی کاهش یافت که احتمال می‌رود به دلیل تشکیل میزان بیشینه پیوندهای عرضی درون و بین‌مولکولی در ساختار پروتئین که به عنوان سدی برای تشکیل شبکه ژلی عمل می‌کند، باشد. و همچنین رفتارهای جریانی نشان دهنده افزایش نقطه ذوب و نقطه بستن ژل و همچنین افزایش ویسکوزیته ظاهری در تمامی نرخ‌های برشی شده است که احتمالا بدلیل افزایش وزن مولکولی در اثر واکنش با آنزیم بود. در نتیجه ژلاتینی که با آنزیم اصلاح شده است می‌تواند به عنوان جزئی از اجزای مواد غذایی، کاربرد ژلاتین ماهی را در صنعت گسترده‌تر کرده و با ژلاتین پستانداران رقابت کند.

٥- منابع

[1] Ledward, D. A. (1986). Gelation of gelatin. In J. R. Mitchell, & D. A. Ledward (Eds.),Functional properties of food macromolecules. London: Elsevier Applied Science Publishers. 171-201.

[2] Karim, A.A. & Bhat, R. (2009). Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. Food hydrocolloids. 23, 563-576.

[3] Ebdali, S. & Motamedzadegan, A. (1390). Applying Fish gelatin as one of the most important sources of halal Gelatin in the world. The first national seminar on food security. Islamic Azad University Savadkooh.

[4] Radmehr, E. & Motamedzadegan, A. (1392). The effect of transglutaminase and sodium chloride on physicochemical properties of chicken nugget. Journal of Food Research. 3, 293-303.

[5] Fadaei Noqani, V., Mofidi, A. & Zeraei, M. (1393). The effect of microbial transglutaminase enzyme as part of milk protein concentrates on characteristics

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-22]

Physicochemical and sensory yogurt, spinach. Journal of Food Industries. 3, 93-100.

[6] Ghorbanzadeh, R. & Nazari, S. (1392). Salnameh Amari Sazman Shilat Iran, (1381-1391). Tehran, 64.

[7] Gómez-Guillén, M.C., Isabel Sarabia, A., Teresa Solas, M., & Montero, P. (2002) . Effect of microbial transglutaminase of the functional properties of megrim (Lepidorhombus boscii) skin gelatin. Journal of the Science of Food and Agriculture. 81, 665-673.

[8] Fernandez-díaz, M. D., Motero, P., & Gómez-Guillén, M.C. (2001). Gel properties of collagens from skins of cod (Gadusmorhua) and hake (Merluccius merluccius) and their modification by the coenhancers magnesium sulphate, glycerol and transglutaminase. Food Chemistry. 74(2), 161-167.

[9] Mohtar, N.F., Perera, C.O., & Quek, S.Y. (2013) . Optimization of gelatine gel preparation from New Zealand hoki (Macruronusnovaezelandiae) skins and the effect of transglutaminase enzyme on the gel properties. International Food Research. 18**,** 1111-1115.

[10] Norziah, M. H., All-Hassan, A., Khairulnizam, A.B., Mordi, M.N., & Nortia, M. (2009) . Characterization of Fish Gelatin from Surimi Processing Wastes: Thermal Analysis and Effect of Transglutaminase on Gel Properties. Food Hydrocolloids. 23**,** 1610-1616.

[11] Chanarat, S., Benjakul, S., & H-Kittikun, A. (2011). Comparative study on protein cross-linking and gel enhancing effect of microbial transglutaminase on surimi from different fish. Science of Food and Agriculture. 92, 844-852.

[12] Hunter Lab applications note (1996). September 1–15, Vol. 8, No. 11. Kester, J. J., & Fennema, O. R. (1986). Edible films and coatings – a review. Food Technology. 40, 47–59.

[13] Deyi, Z., Wang, C., Ren, H., & Li, Y. (2013). Effect ofTransglutaminase on the Functional Properties of GelatinObtained from Chrome-tanned Pigskin. 32nd Congress of the International Union of Leather Technologists and Chemist Societies, IULTCS.

[14] Saqaei, R., Motamedzadegan, A., & Rezaei, M. (1392). The effect of transglutaminase enzyme on the stability of emulsion protein extracted from silver carp muscle (Hypophthalmichthys molitrix). Food Tecknology and Nutrition. 10, 27-44.

[15] Michon, C., Cuvalier, G., & Launay, B. (1993). Concentration dependence of critical viscoelastic properties of gelatin at the gel point. Rheologica Acta. 32, 94-103.

[16] Kolodziejska, I., Kaczorowski, K., Piotrowska, B., & Sadowska, M. (2004). Modification of the properties of gelatin from skins of Balti cod (Gadusmorhua) with transglutaminase. Food Chemistry. 86, 203-209.

[17] Liu, M., & Damodaran, S. (1999). Effect of transglutaminase-catalyzed polymerization of β-casein on its emulsifying properties. Agric Food Chem. 47, 1514-519.

[18] Ghanbarzadeh, B. (1388). Fundamentals of rheology of materials and food biopolymers. Institute of Tehran University Press, 390.

[19] Yi, J. B., Kim, Y. T., Bae, H. J., Whiteside, W. S., & Park, H. J. (2006). Influence of transglutaminase-induced cross-linking on properties of fish gelatin films. Journal of Food Science. 71, 376–383.

[20] Yokoyama, K., Nio, N. Kikuchi, Y. (2004). Properties and Applications of Microbial Transglutaminase. Applied Microbiology and Biotechnology. 64**,** 447-454.

[21] Uresti, R., Ramirez, J., Lopez-Arias, N., & Vazquez, M. (2003). Negative effect of combining microbial transglutaminase with low methoxyl pectins on the mechanical properties and colour attributes of fish gels. Food Chemistry. 80, 551–556.

[22] Garcia, F. T., & Sobral, P. (2005). Effect of the thermal treatment of the filmogenic solution on the mechanical properties, colour and opacity of films based on muscle proteins of two varieties of tilapia. Food Science and Technology. 38, 289–296.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-22]

Effects of microbial transglutaminase (MTGase) on functional and rheological properties of big head *(Hypophtalmichthys nobilis*) fish skin gelatin

Abouei, E. [1], Jafarpour, A. [2*], Motamed zadegan, [3].

1. M.SC, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
2. A-ssociat Professor, Department of Fishery, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, sari, Iran.
3. A-ssociat Professor, Department of Food Science and technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Mazandaran, Iran.

(Received: 94/4/1 Accepted: 94/8/23

The aims of this study was improve the rheological charactristics of gelatin obtained from the skin of the Big head by rheological test. In this study gelatin was extracted from big head *(Hypophtalmichthys nobilis*) fish skin and the effect of microbial transglutaminase (MTGase) on gelatin in different concentrations (1, 3 and 6 u/g gelatin) and reaction times (15, 30 and 60 minutes) was examined. The result showed that addition of MTGase in minimum concentration and reaction time (1u/g gelatin in 15 minute reaction time) increase the gel strength from 228±1g to 250g significantly ($p \leq 0.01$) whitout the changing the color of result gelatin. Furthermore, increasing concentrations of MTGase redused the gel strength of gelatin. Also the addition of MTGase increased the viscosity in all shear rates and improved melting and gelling point. The increase in storage modulus (G') values with the addition of MTGase indicated the formation of firmer gels and also changes in G' and G" values during the heating and cooling sweep test showed increase in melting point and gelling point. It is conclude that the application of 1-6 U/g of MTase can improve the quality of driven gelatin from big head fish.

Key words: Gelatin, Big head *(Hypophtalmichthys nobilis)*, transglutaminase Enzyme, Rheology, color

∗ Corresponding Author E-Mail Addreess: a.jafarpour@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-22]