

تاثیر آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی بر خواص ژل حاصل از گوشت چرخ شده ی میگوی خنجری (*Parapenaeopsis stylifera*)

سید مهدی حسینی^{۱*}، بهاره شعبانپور^۲، سید علی جعفرپور^۳، علی شعبانی^۲، سید یوسف پیغمبری^۲

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
۲. گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

چکیده

تاثیر آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی (MTGase) در مقادیر ۰/۶، ۱، ۱/۴ و ۱/۸ واحد در هر گرم از گوشت چرخ شده ی میگوی خنجری (*Parapenaeopsis stylifera*) بر خصوصیات ژل تولید شده از گوشت این میگو مورد بررسی قرار گرفت. اکثر پارامترهای نشان دهنده ی خصوصیات بافتی با اضافه کردن آنزیم MTGase نسبت به ژل های شاهد تحت تاثیر قرار گرفته و میزان این تاثیر در مقادیر بالاتر این آنزیم (۱/۸ و ۱/۴) از همه بیشتر بود. آنزیم MTGase میزان رطوبت تحت فشار و میزان پپتیدهای محلول در TCA را در ژل ها کاهش داده و بیشترین کاهش در ژل های با بیشترین میزان MTGase دیده شد. آنزیم MTGase مخصوصا در مقادیر بالاتر روی رنگ گوشت نیز تاثیر گذار بوده طوریکه میزان شاخص L^* را افزایش داده و از میزان شاخص های a^* و b^* کاهش یافت. الگوی الکتروفورز SDS-PAGE نشان داد که با افزایش میزان این آنزیم، از شدت و غلظت باند مربوط به زنجیره ی سنگین میوزین کاسته می شود. مقایسه ی عکس های میکروسکوپ الکترونی ژل های تولید شده حاوی بیشترین میزان آنزیم MTGase و ژل های شاهد نشان دادند که آنزیم MTGase باعث شد تا به میزان رشته های نازک و طویل که در قسمت های مختلف دارای اتصالات عرضی هستند افزوده شود. بنابراین افزودن آنزیم MTGase می تواند نقش مهمی را در افزایش خصوصیات ژل حاصل از گوشت چرخ شده ی میگوی خنجری ایفا نماید.

۱. مقدمه

یکی از مهمترین خواص کاربردی پروتئینها در صنایع غذایی، میزان توانایی آنها در تولید ژل می باشد (Pares *et al.*, 2001 و Pares and Ledward, 1998). مهمترین روش تولید ژل از گوشت آبزیان، استفاده از حرارت می باشد (Tabilo-Monizaga and Barbosa-C'anos, 2004) تا در وهله اول پیوندهایی که بین زنجیره های پلی پپتیدی پروتئینها وجود دارد از بین رفته و بدین ترتیب ساختمانهای چهارم، سوم و دوم پروتئینها فرو ریخته و در حقیقت پروتئینها دناتوره شوند و در مرحله دوم بتدریج و به آرامی انواع مختلفی از پیوندهای جدید شامل پیوندهای هیدروژنی، یونی، هیدروفوبیک^۱، کووالانسی دی سولفیدی بین زنجیره های پلی پپتیدی میوزین تشکیل شده (Gilleland and Lanier, 1997) و یک شبکه بزرگ سه بعدی بین مولکولهای پروتئین میوزین تشکیل گردد که همان ژل می باشد (Lanier, 1991). این شبکه، میزان زیادی آب را نیز در خود محبوس می کند (Sano *et al.*, 1988).

دلایلی که می توان برای اضافه کردن آنزیم MTGase به گوشت ماهی یا میگو ذکر نمود عبارتند از: ۱- اگر از سوریمی ژل تهیه شود به علت شستشویی که روی گوشت انجام می گیرد، پروتئین های سارکوپلاسمیک و از جمله این آنزیم از دست می روند. ۲- میزان این آنزیم در سارکوپلاسم سلولهای ماهیچه ای ممکن است در گونه های مختلف، متفاوت باشد. ۳- در بعضی از گونه ها ممکن است عواملی در بخش سارکوپلاسم وجود داشته باشند که جلوی عمل این آنزیم را بگیرند (Lanier, 2000).

در صنعت، آنزیم ترنس گلوتامیناز به روشی ارزان از طریق کشت دادن نژادی از یک نوع باکتری با نام علمی *Streptomyces mobaraense* تولید می شود که به آن آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی (MTGase) اطلاق می گردد (Sakomoto *et al.*, 1995). امروزه

در کشور ژاپن به طور گسترده ای از آنزیم MTGase در صنعت تولید محصولات غذایی بر پایه سوریمی استفاده می گردد (Lanier, 2000). با اینکه آثار مثبت آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی در کیفیت ژل حاصل از گوشت چرخ شده و سوریمی ماهی در پژوهش های مختلف به اثبات رسیده، پژوهش های بسیار کمی در رابطه با اثر این آنزیم روی میگو انجام شده (Tammattinna *et al.*, 2007) و با توجه به کم ارزش بودن میگوی خنجری می توان از نتایج این پژوهش در راستای افزایش ارزش افزوده این میگو استفاده نمود. هدف ما در این تحقیق، بهبود خواص و کیفیت ژل حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجری برای استفاده در فرآورده های آماده مصرف در صنعت تولید محصولات غذایی بر پایه مینسو سوریمی می باشد.

۲. مواد و روشها

۲-۱- تامین میگو و انتقال به آزمایشگاه

میگوهای خنجری که از مناطق صید آبادان برداشت شده بودند بسته بندی و منجمد شده و در کوتاه ترین زمان ممکن به آزمایشگاه شیمی فرآورده های شیلاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند.

۲-۲- آماده سازی میگو و ساخت ژل از آنها^۲

میگوهای بسته بندی شده از حالت انجماد خارج شده و بعد از کامل شدن انجمادزدایی، میگوها پوست کنی و رگ برداری شدند. گوشت به دست آمده با دستگاه مولینکس خرد شده و به نسبت ۲/۵٪ از وزن آن، نمک اضافه گردید (شعبانپور و همکاران، ۱۳۸۵) تا یک سل هموزن از آن ایجاد شود. مقادیر مختلف از آنزیم MTGase (۰/۶، ۱/۴ و ۱/۸ واحد در هر گرم) به سلها اضافه شده و در مجاورت یخ به طور کامل در گوشت آمیخته شدند. سل های تولیدی به وسیله ی قیف به یک پوشش سوسیس پلی آمیدی به قطر ۲۵

پارامتر سختی، خاصیت صمغی^۵ و قابلیت جویدن^۶ را اندازه گیری می نمود (Jafarpour and Gorczyca, 2009).

۴-۲- تعیین رنگ

تعیین رنگ نمونه های ژل توسط دستگاهی به نام رنگ سنج^۷ انجام شده و مؤلفه های L^* (روشنی)، a^* (بعد سرخی به سبزی) و b^* (بعد زردی به آبی) در این دستگاه مورد اندازه گیری قرار گرفتند.

۵-۲- تعیین میزان رطوبت تحت فشار^۸

رطوبت تحت فشار ژل بر اساس روش ان جی^۹ (۱۹۷۸) به دست می آید؛ بدین ترتیب که یک قطعه ژل به ضخامت ۵ mm جدا شده و وزن آن یادداشت می شود، سپس دو عدد کاغذ صافی روی این قطعه ژل و سه عدد نیز در زیر آن قرار می دهند. در ادامه یک وزنه ۵ کیلوگرمی را به مدت ۲ دقیقه روی ژل قرار داده و پس از سپری شدن این زمان، نمونه ژل را خارج نموده و دوباره وزن می کنند. کاهش وزن ژل، بیانگر میزان رطوبت تحت فشار ژل می باشد.

۶-۲- الکتروفورز سدیم دو دسیل سولفات- پلی

اکریل آمید^{۱۰} (SDS-PAGE)

آزمایش الکتروفورز طبق روش لاملی^{۱۱} (۱۹۷۰) انجام گرفت. برای این کار به میزان ۳ گرم از هر نمونه ژل جدا نموده و وارد 27°C از محلول ۵٪ SDS با دمای 85°C گردید. این مخلوط به مدت ۲ دقیقه هموزن شده و سپس به مدت ۱ ساعت وارد بن ماری با دمای 85°C شد تا پروتئین های آن به حالت محلول درآیند. در ادامه، این محلول به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۸۵۰۰g سانتریفیوژ گردید تا رسوبات غیرمحلول آن جدا گردد. ۱۰۰ میکرولیتر از سوپرناتانت نمونه

میلیمتر وارد شده و پوشش های حاوی سل به مدت ۲۰ دقیقه وارد بن ماری با دمای آب ۹۰ درجه سانتیگراد برای تولید ژل حرارت دهی شدند.

نمونه هایی که قرار بود قوام یافتگی را نیز پشت سر بگذرانند پوششهای استوانه ای حاوی سل آنها قبل از وارد شدن به بن ماری حاوی آب 90°C ، برحسب دما و زمان های مختلف قوام یافتگی یا بمدت ۱۲ و ۲۴ ساعت در دمای 5°C یخچال یا بمدت ۱، ۲ و ۳ ساعت در بن ماری با دمای آب 25°C و یا اینکه بمدت ۳۰ و ۶۰ دقیقه در بن ماری با دمای آب 40°C قرار گرفته و سپس برای تولید ژل بمدت ۲۰ دقیقه به بن ماری با دمای آب 90°C منتقل شدند. ژل های تولید شده در ادامه بلافاصله از بن ماری 90°C به داخل آب یخ منتقل شده و بمدت حدود ۴۵ دقیقه در آن باقی ماندند. ژل ها سپس به یخچال با دمای 4°C منتقل شده و حدود ۱۲ ساعت در آن باقی ماندند تا برای انجام آزمایشهای فیزیکی و شیمیایی آماده شوند (Lanier, 1992).

۳-۲- بافت سنجی^۱

برای انجام آزمایشات بافت سنجی، نمونه های ژل از یخچال خارج شده، با محیط آزمایشگاه هم دما شده و سپس از هر نمونه ژل، ۶ قطعه استوانه ای به طول ۲۰mm جدا گردید که مورد آزمایش رسوخ^۲ شامل تعیین میزان استحکام (برحسب گرم) و تغییرشکل پذیری (برحسب سانتی متر) و همینطور آزمایش آنالیز پروفیل بافتی^۳ (TPA) قرار گرفتند.

برای اندازه گیری استحکام و تغییر شکل پذیری از یک پروب^۴ کروی با قطر ۵mm استفاده گردید که با سرعت ۶۰ mm/min وارد نمونه می شد و برای انجام آنالیز پروفیل بافتی از یک پروب استوانه ای با قطر ۵۰/۸ mm استفاده شد که با سرعت ۶۰ mm/min و با ۳۵٪ تغییر شکل فشاری به نمونه برخورد نموده و

5. Gumminess

6. Chewiness

7. Colorimeter

8. Expressible moisture

9. Ng

10. Sodium Dodecyl Sulfate- Poly Acrylamide Gel Electrophoresis

11. Laemmli

1. Texture analysis

2. Puncture

3. Texture Profile Analysis

4. Probe

برداشت شده و ۲۰۰ میکرولیتر بافر نمونه به آن اضافه می شود این محلول به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفته و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۸۰۰۰g سانتریفیوژ می شود. ۲۰ میکرولیتر نمونه از این محلول جدا شده و به دستگاه الکتروفورز تزریق می گردد. ژل بدست آمده به مدت ۱۶ الی ۲۰ ساعت وارد محلول رنگ آمیزی شده و سپس به مدت ۱ تا ۲ روز در محلول رنگ بری قرار می گیرد تا زمینه ژل شفاف شده و باند های پروتئینی با وضوح بیشتری دیده شوند.

برای عکس گرفتن از ژل ها با میکروسکوپ الکترونی ابتدا باید نمونه های ژل تثبیت و آگیری شده و سپس تحت انجماد خشک^۱ قرار گیرند. برای تثبیت ژل ها، تکه های بسیار کوچکی از نمونه های ژل بریده شده (کوچکتر از عدس) و به مدت ۲ ساعت وارد محلول گلو تار آلدئید ۲/۵٪ بافر فسفات ۰/۲ M (pH=۷/۲) شدند. نمونه های تثبیت شده برای آگیری از این محلول خارج شده و به ترتیب وارد محلول های الکل ۵۰٪، ۷۰٪، ۸۰٪، ۹۰٪ و ۱۰۰٪ شدند. تکه های ژل در هر محلول حدود نیم ساعت باقی ماندند. تکه های نمونه ژل به مدت ۴ ساعت در دستگاه Freez dryer خشک شده و سپس مراحل آماده سازی برای گرفتن عکس های میکروسکوپ الکترونی را پشت سر گذاشتند. برای آماده سازی، نمونه ها به مدت ۲۲۰ ثانیه توسط روش اسپاترینگ^۲ اسپاترینگ^۲ و تحت خلأ با حضور گاز آرگن با طلا پوشیده شدند. سپس نمونه ها وارد میکروسکوپ نوع الکترونی روبشی گسیل میدانی^۳ شده و توسط ردیاب^۴ ردیاب^۴ نوع الکترون ثانویه^۵ (SE) تصویر برداری شدند.

پیتید در هر گرم نمونه اندازه گیری شد. برای تجزیه و تحلیل نتایج از آنالیز واریانس یک طرفه و برای مقایسه میانگین داده ها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵٪ استفاده شد. قبل از تجزیه واریانس، نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کلمو گروف- اسمیرنوف و همگنی واریانسها با استفاده از آزمون لون بررسی گردید. برای تجزیه و تحلیل نتایج، از نرم افزار SPSS استفاده گردید.

۳- نتایج

آنزیم ترنس گلو تامیناز میکروبی در مقادیر مختلف ۰/۶ تا ۱/۸ واحد در گرم در سه تیمار قوام یافتگی شامل حرارت مستقیم، ۲۵°C در ۳ ساعت و ۴۰°C در ۶۰ دقیقه تأثیری بر استحکام ژل های ساخته شده از گوشت چرخ شده میگوی خنجرى نداشته (P>۰/۰۵) ولی در بقیه تیمارهای قوام یافتگی مؤثر بود بدین ترتیب که در تیمار ۵°C در ۱۲ ساعت بیشترین استحکام مربوط به میزان ۱/۸ از آنزیم بوده، در تیمار ۵°C به مدت ۲۴ ساعت بیشترین استحکام مربوط به ژل هایی بود که به میزان ۱/۴ و ۱/۸ واحد در هر گرم آنزیم دریافت نموده بودند، در تیمار ۲۵°C در ۱ ساعت و ۴۰°C بمدت ۳۰ دقیقه استحکام ژل هایی که به میزان ۱، ۱/۴، ۱/۸ واحد در هر گرم آنزیم دریافت کرده بودند از بقیه تیمارها بیشتر بوده و در تیمار ۲۵°C در ۲ ساعت فقط ژل هایی که به میزان ۱/۸ واحد در گرم آنزیم دریافت کرده بودند نسبت به

برای تعیین میزان پپتیدهای محلول در TCA در ژلهای ساخته شده به روش مورسی و همکاران

1. Dry freezing
2. Sputtering
3. Field-emission scanning electron microscope
4. Detector
5. Secondary Electron

ژل های فاقد آنزیم (شاهد) اختلاف معنی داری نشان دادند ($P \leq 0.05$) (جدول ۱).

جدول ۱. تاثیر استفاده از مقادیر مختلف آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی بر میزان استحکام ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجر در درجه حرارت و زمان های مختلف قوام یافتگی

زمان ها و دماهای مختلف								غلظت آنزیم (واحد)
۴۰ درجه سانتی گراد و ۶۰ دقیقه	۴۰ درجه سانتی گراد و ۳۰ دقیقه	۲۵ درجه سانتی گراد و ۳ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۲ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۱ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۲۴ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۱۲ ساعت	حرارت مستقیم	
۱۱۵/۳۳±۷/۵۳ ^a	۱۰۸/۰۰±۵/۲۹ ^b	۱۱۶/۳۳±۶/۴۸ ^a	۱۱۴/۳۳±۴/۲۵ ^b	۱۰۳/۶۶±۵/۴۵ ^c	۱۳۰/۶۶±۵/۲۳ ^c	۱۲۶/۶۶±۵/۷۸ ^b	۹۷/۶۶±۸/۱۱ ^a	۰
۱۰۴/۰۰±۶/۶۵ ^a	۱۱۳/۶۶±۴/۹۱ ^b	۱۱۸/۰۰±۲/۸۸ ^a	۱۲۸/۳۳±۲/۴۰ ^{ab}	۱۱۱/۶۶±۴/۶۳ ^{bc}	۱۲۷/۰۰±۴/۹۳ ^c	۱۲۶/۳۳±۴/۹۷ ^b	۹۸/۰۰±۴/۶۱ ^a	۰/۶
۱۱۸/۶۶±۳/۷۵ ^a	۱۲۲/۰۰±۴/۳۵ ^{ab}	۱۲۶/۰۰±۱۳/۸۹ ^a	۱۳۴/۳۳±۳/۹۲ ^{ab}	۱۲۱/۳۳±۵/۵۴ ^{ab}	۱۴۱/۳۳±۶/۴۸ ^{bc}	۱۴۴/۶۶±۶/۲۲ ^{ab}	۱۱۳/۳۳±۹/۳۸ ^a	۱
۱۲۵/۶۶±۶/۴۸ ^a	۱۱۶/۳۳±۵/۳۶ ^{ab}	۱۳۷/۰۰±۴/۷۲ ^a	۱۳۴/۶۶±۱۱/۴۰ ^{ab}	۱۲۸/۶۶±۲/۴۰ ^a	۱۵۴/۰۰±۴/۳۵ ^{ab}	۱۳۳/۳۳±۴/۹۱ ^b	۱۲۳/۶۶±۷/۶۸ ^a	۱/۴
۱۲۷/۶۶±۷/۷۹ ^a	۱۳۱/۳۳±۲/۶۰ ^a	۱۴۱/۰۰±۶/۳۵ ^a	۱۴۵/۶۶±۴/۰۹ ^a	۱۳۰/۶۶±۵/۲۳ ^a	۱۵۹/۰۰±۵/۲۹ ^a	۱۶۲/۳۳±۶/۴۸ ^a	۱۲۰/۶۶±۶/۴۳ ^a	۱/۸

داده ها بصورت انحراف معیار ± میانگین ارائه شده است. حروف غیر مشترک در یک ستون بیانگر اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح ۰.۰۵٪ می باشد.

آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی در مقادیر مختلف ۰/۶ تا ۱/۸ واحد در هر گرم ژل در تیمارهای قوام یافتگی شامل حرارت مستقیم، ۱۲ ساعت-۵°C، ۲ ساعت-۲۵°C و ۶۰ دقیقه-۴۰°C نتوانست تغییری در شکل پذیری ژل های ساخته شده از گوشت میگو ایجاد کند و در بقیه تیمارها نیز روند تغییرات شکل منظمی نداشت (جدول ۲).

جدول ۲. تاثیر استفاده از مقادیر مختلف آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی بر میزان تغییر شکل پذیری ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجر در درجه حرارت و زمان های مختلف قوام یافتگی

زمان ها و دماهای مختلف								غلظت آنزیم (واحد)
۴۰ درجه سانتی گراد و ۶۰ دقیقه	۴۰ درجه سانتی گراد و ۳۰ دقیقه	۲۵ درجه سانتی گراد و ۳ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۲ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۱ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۲۴ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۱۲ ساعت	حرارت مستقیم	
۵/۰۹±۰/۱۰ ^a	۵/۴۰±۰/۰۸ ^b	۴/۴۲±۰/۱۲ ^b	۴/۸۸±۰/۰۹	۵/۳۹±۰/۱۰ ^a	۴/۷۱±۰/۱۹	۴/۲۳±۰/۱۸ ^b	۴/۴۸±۰/۱۲ ^a	۰
۴/۷۶±۰/۰۷ ^a	۴/۵۳±۰/۰۸ ^c	۵/۷۰±۰/۱۹ ^a	۵/۱۴±۰/۱۱	۴/۹۱±۰/۱۳ ^{bc}	۴/۷۹±۰/۱۴	۵/۰۷±۰/۱۱ ^a	۴/۸۵±۰/۰۶ ^a	۰/۶
۵/۱۶±۰/۲۵ ^a	۴/۷۵±۰/۳۰ ^c	۴/۶۷±۰/۴۶ ^b	۵/۱۶±۰/۱۵	۴/۷۳±۰/۰۵ ^c	۵/۳۲±۰/۱۵	۴/۳۶±۰/۱۸ ^b	۵/۱۶±۰/۲۳ ^a	۱
۵/۰۰±۰/۲۳ ^a	۶/۰۴±۰/۱۷ ^a	۴/۲۹±۰/۱۰ ^b	۵/۳۹±۰/۰۴	۵/۰۹±۰/۱۲ ^{ab}	۴/۸۳±۰/۳۰	۵/۲۷±۰/۰۵ ^a	۴/۹۰±۰/۱۳ ^a	۱/۴
۵/۲۳±۰/۱۳ ^a	۴/۷۰±۰/۰۹ ^c	۵/۸۲±۰/۰۷ ^a	۵/۰۶±۰/۱۷	۴/۱۹±۰/۰۹ ^d	۵/۲۹±۰/۱۸	۵/۴۱±۰/۲۶ ^a	۴/۹۸±۰/۲۳ ^a	۱/۸

داده ها بصورت انحراف معیار ± میانگین ارائه شده است. حروف غیر مشترک در یک ستون بیانگر اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح ۰.۰۵٪ می باشد.

با افزایش میزان آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی از ۰/۶ تا ۱/۸ واحد در هر گرم گوشت تقریباً در همه تیمارهای قوام یافتگی میزان سختی ژل های ساخته شده بطور یکنواخت افزایش یافته و بیشترین میزان سختی در تیمارهای حرارت مستقیم، ۱۲ ساعت-۵°C، ۲ ساعت-۲۵°C، ۳ ساعت-۲۵°C و ۶۰ دقیقه-۴۰°C در میزان ۱/۸ و در تیمارهای ۱۲ ساعت-۵°C، ۲

ساعت- 25°C و 30 دقیقه- 40°C در میزان $1/4$ و $1/8$ اتفاق افتاد (جدول ۳).

جدول ۳. تاثیر استفاده از مقادیر مختلف آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی بر میزان سختی ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجری در دماها و زمان های مختلف قوام یافتگی

غلظت آنزیم (واحد)	حرارت مستقیم	زمان ها و دماهای مختلف					
		۵ درجه سانتی گراد و ۱۲ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۱۲ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۱۲ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۱ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۲ ساعت	۴۰ درجه سانتی گراد و ۳۰ دقیقه
۰	$10.63/66 \pm 12/66^c$	$1231/66 \pm 12/34^c$	$1174/00 \pm 49/33^c$	$1009/66 \pm 13/57^d$	$1195/33 \pm 15/82^d$	$1224/33 \pm 8/08^d$	
۰/۶	$110.5/33 \pm 10/96^d$	$1212/00 \pm 8/00^c$	$1198/66 \pm 14/74^c$	$1152/00 \pm 14/52^b$	$1209/00 \pm 12/12^d$	$1214/66 \pm 12/34^d$	
۱	$1147/33 \pm 22/03^c$	$1391/33 \pm 17/00^b$	$1408/00 \pm 14/79^b$	$1120/66 \pm 11/06^c$	$1253/00 \pm 57/54^c$	$1311/66 \pm 14/97^c$	
۱/۴	$1219/66 \pm 15/27^b$	$1439/00 \pm 18/00^a$	$1383/33 \pm 14/50^b$	$1285/33 \pm 10/26^a$	$1283/00 \pm 11/13^b$	$1377/66 \pm 13/01^b$	
۱/۸	$1361/66 \pm 21/12^a$	$1414/00 \pm 16/09^{ab}$	$1507/00 \pm 21/63^a$	$1275/66 \pm 17/24^a$	$1353/66 \pm 13/05^a$	$1402/00 \pm 11/53^a$	

داده ها بصورت انحراف معیار \pm میانگین ارائه شده است. حروف غیر مشترک در یک ستون بیانگر اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح 5% می باشد.

آنزیم (۱/۸)، تیمارهای ۵ درجه سانتی گراد در ۱۲ ساعت و ۵ درجه سانتی گراد در ۲۴ ساعت در غلظتهای $1/4$ و $1/8$ در تیمارهای ۲۵ درجه سانتی گراد در ۲ ساعت و ۴۰ درجه سانتی گراد در ۶۰ دقیقه در غلظت $1/4$ روی داد (جدول ۴).

خاصیت صمغی ژل های ساخته شده حاوی آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی نیز با افزایش غلظت آنزیم در همه تیمارها افزایش یافته و بیشترین افزایش در تیمارهای حرارت مستقیم، ۲۵ درجه سانتی گراد در ۱ ساعت، ۲۵ درجه سانتی گراد در ۳ ساعت و ۴۰ درجه سانتی گراد در ۳۰ دقیقه در غلظت حداکثر

جدول ۴. تاثیر استفاده از مقادیر مختلف آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی بر میزان خاصیت صمغی ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجری در دماها و زمان های مختلف قوام یافتگی

غلظت آنزیم (واحد)	حرارت مستقیم	زمان ها و دماهای مختلف					
		۵ درجه سانتی گراد و ۱۲ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۱۲ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۱۲ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۱ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۲ ساعت	۴۰ درجه سانتی گراد و ۳۰ دقیقه
۰	$836/03 \pm 9/68^c$	$1103/00 \pm 10/53^c$	$968/00 \pm 15/09^d$	$815/33 \pm 6/02^d$	$874/86 \pm 15/95^d$	$942/66 \pm 14/04^d$	
۰/۶	$825/00 \pm 8/00^c$	$1093/00 \pm 14/10^c$	$1097/00 \pm 14/42^c$	$825/33 \pm 8/02^d$	$1011/00 \pm 17/52^c$	$1111/00 \pm 16/52^c$	
۱	$952/33 \pm 8/62^b$	$1243/33 \pm 5/85^b$	$1250/66 \pm 12/66^b$	$984/50 \pm 19/77^c$	$1194/00 \pm 12/52^b$	$1123/00 \pm 12/76^c$	
۱/۴	$972/00 \pm 20/51^b$	$1301/33 \pm 10/01^a$	$1286/33 \pm 7/02^a$	$1099/16 \pm 13/68^b$	$1264/00 \pm 9/16^a$	$1184/66 \pm 19/85^b$	
۱/۸	$1118/33 \pm 15/50^a$	$1312/00 \pm 14/79^a$	$1302/33 \pm 13/42^a$	$1200/76 \pm 18/77^a$	$1184/00 \pm 19/51^b$	$1257/66 \pm 11/93^a$	

داده ها بصورت انحراف معیار \pm میانگین ارائه شده است. حروف غیر مشترک در یک ستون بیانگر اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح 5% می باشد.

در ۳ ساعت و ۴۰ درجه سانتی گراد در ۶۰ دقیقه در مقادیر $1/4$ و $1/8$ ، در تیمارهای حرارت مستقیم و ۲۵ درجه سانتی گراد در ۲ ساعت در میزان $1/8$ و تیمار ۴۰ درجه سانتی گراد در ۳۰ دقیقه در مقادیر

قابلیت جویدن ژل های ساخته شده نیز با افزایش غلظت آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی افزایش یافته و بیشترین افزایش در تیمارهای ۵ درجه سانتی گراد در ۱۲ ساعت، ۵ درجه سانتی گراد در ۲۴ ساعت، ۲۵ درجه سانتی گراد در ۱ ساعت، ۲۵ درجه سانتی گراد

جدول ۷. تاثیر استفاده از مقادیر مختلف آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی بر پارامتر a^* (سرخی به سبزی) ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجری در دماها و زمان های مختلف قوام یافتگی

زمان ها و دماهای مختلف								غلظت آنزیم (واحد)
۴۰ درجه سانتی گراد و ۶۰ دقیقه	۴۰ درجه سانتی گراد و ۳۰ دقیقه	۲۵ درجه سانتی گراد و ۳ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۲ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۱ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۲۴ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۱۲ ساعت	حرارت مستقیم	
۹/۱۱±۰/۱ ^{bc}	۹/۵۲±۰/۰۹ ^a	۱۰/۱۳±۰/۰۵ ^a	۱۰/۰۴±۰/۰۷ ^a	۱۰/۳۰±۰/۰۶ ^a	۸/۷۶±۰/۰۵ ^b	۹/۵۸±۰/۱۶ ^a	۱۰/۳۵±۰/۲۷ ^a	۰
۹/۰۳±۰/۱۲ ^c	۹/۳۱±۰/۰۶ ^{ab}	۱۰/۱۹±۰/۰۴ ^a	۹/۲۰±۰/۰۶ ^b	۹/۶۴±۰/۰۵ ^b	۸/۷۰±۰/۱۷ ^b	۹/۲۵±۰/۰۴ ^b	۹/۵۳±۰/۰۴ ^b	۰/۶
۹/۳۷±۰/۰۵ ^b	۹/۲۷±۰/۰۶ ^b	۹/۷۴±۰/۰۴ ^b	۹/۰۹±۰/۰۵ ^b	۹/۱۸±۰/۰۷ ^c	۹/۰۷±۰/۰۹ ^{ab}	۸/۸۱±۰/۰۵ ^c	۹/۷۴±۰/۰۵ ^b	۱
۹/۰۹±۰/۰۷ ^{bc}	۹/۱۸±۰/۰۵ ^b	۹/۲۵±۰/۰۶ ^c	۹/۰۲±۰/۰۴ ^b	۹/۴۷±۰/۰۹ ^b	۹/۱۹±۰/۱۳ ^a	۸/۶۹±۰/۰۶ ^c	۹/۳۴±۰/۰۷ ^b	۱/۴
۹/۷۴±۰/۰۵ ^a	۹/۱۰±۰/۰۷ ^b	۹/۷۳±۰/۱۷ ^b	۹/۱۱±۰/۰۳ ^b	۱۰/۳۳±۰/۰۴ ^a	۸/۷۴±۰/۰۴ ^b	۸/۹۰±۰/۰۷ ^c	۹/۳۹±۰/۰۳ ^b	۱/۸

داده ها بصورت انحراف معیار \pm میانگین ارائه شده است. حروف غیر مشترک در یک ستون بیانگر اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح ۵٪ می باشد.

گوشت چرخ شده میگوی خنجری را کاهش دهد؛ در حالیکه در تیمارهای حرارت مستقیم و ۲۵ درجه سانتی گراد در ۱ ساعت مؤثر بوده و میزان تأثیرگذاری نیز با افزایش غلظت آنزیم، کاهش یافته است (جدول ۸).

آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی در تیمارهای قوام یافتگی ۵ درجه سانتی گراد در ۱۲ ساعت، ۵ درجه سانتی گراد در ۲۴ ساعت، ۴۰ درجه سانتی گراد در ۶۰ دقیقه و ۴۰ درجه سانتی گراد در ۳۰ دقیقه نتوانست میزان b^* رنگ ژل های ساخته شده از

جدول ۸. تاثیر استفاده از مقادیر مختلف آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی بر پارامتر b^* (زردی به آبی) ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجری در دماها و زمان های مختلف قوام یافتگی

زمان ها و دماهای مختلف								غلظت آنزیم (واحد)
۴۰ درجه سانتی گراد و ۶۰ دقیقه	۴۰ درجه سانتی گراد و ۳۰ دقیقه	۲۵ درجه سانتی گراد و ۳ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۲ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۱ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۲۴ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۱۲ ساعت	حرارت مستقیم	
۶/۲۶±۰/۰۴ ^a	۶/۶۲±۰/۱۶ ^a	۵/۰۳±۰/۰۷ ^a	۵/۱۸±۰/۰۹ ^c	۵/۳۳±۰/۰۸ ^a	۶/۱۰±۰/۰۷ ^a	۴/۹۲±۰/۱۲ ^b	۵/۵۶±۰/۲۲ ^{ab}	۰
۶/۳۷±۰/۰۵ ^a	۶/۴۳±۰/۱۹ ^a	۵/۰۱±۰/۱۳ ^b	۵/۹۳±۰/۰۷ ^a	۴/۹۳±۰/۰۸ ^b	۶/۵۴±۰/۰۵ ^a	۶/۲۹±۰/۰۷ ^a	۵/۹۲±۰/۰۵ ^a	۰/۶
۶/۲۶±۰/۰۸ ^a	۶/۳۴±۰/۱۰ ^a	۴/۷۳±۰/۰۶ ^{ab}	۵/۷۶±۰/۱۳ ^{ab}	۴/۳۱±۰/۱۰ ^c	۵/۹۱±۰/۰۷ ^a	۵/۹۶±۰/۰۶ ^a	۵/۲۸±۰/۰۷ ^b	۱
۶/۶۴±۰/۰۴ ^a	۶/۴۶±۰/۱۷ ^a	۴/۵۲±۰/۱۵ ^b	۵/۵۵±۰/۱۳ ^b	۳/۸۷±۰/۰۶ ^d	۶/۰۱±۰/۱۱ ^a	۶/۰۷±۰/۱۶ ^a	۴/۴۵±۰/۰۳ ^c	۱/۴
۶/۴۷±۰/۱۹ ^a	۶/۵۱±۰/۰۵ ^a	۴/۱۳±۰/۱۵ ^c	۵/۱۶±۰/۰۷ ^c	۳/۶۳±۰/۰۸ ^d	۶/۲۲±۰/۴۴ ^a	۶/۲۳±۰/۰۷ ^a	۴/۴۰±۰/۰۹ ^c	۱/۸

داده ها بصورت انحراف معیار \pm میانگین ارائه شده است. حروف غیر مشترک در یک ستون بیانگر اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح ۵٪ می باشد.

ساعت، ۴۰ درجه سانتی گراد در ۳۰ دقیقه و ۴۰ درجه سانتی گراد در ۶۰ دقیقه در غلظت ۱/۸، در تیمار ۵ درجه سانتی گراد در ۱۲ ساعت در غلظت ۱/۴ و در تیمارهای ۲۵ درجه سانتی گراد در ۱

آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی در تمام تیمارهای قوام یافتگی توانست رطوبت تحت فشار را در ژل های تولیدی از گوشت میگو کاهش دهد. بیشترین میزان کاهش در تیمارهای حرارت مستقیم، ۵ درجه سانتی گراد در ۲۴ ساعت، ۲۵ درجه سانتی گراد در ۲

ساعت و ۲۵ درجه سانتی گراد در ۳ ساعت در غلظتهای ۱/۴ و ۱/۸ اتفاق افتاد (جدول ۹).

جدول ۹. تاثیر استفاده از مقادیر مختلف آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی بر میزان رطوبت تحت فشار ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجری در دماها و زمان های مختلف قوام یافتگی

زمان ها و دماهای مختلف								غلظت آنزیم (واحد)
۴۰ درجه سانتی گراد و ۶۰ دقیقه	۴۰ درجه سانتی گراد و ۳۰ دقیقه	۲۵ درجه سانتی گراد و ۳ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۲ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۱ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۱۲ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۱۲ ساعت	حرارت مستقیم	
۳۴/۸۸±۰/۱۸ ^a	۳۱/۱۵±۰/۱۹ ^a	۳۰/۳۳±۰/۲۸ ^a	۳۰/۷۶±۰/۰۸ ^a	۳۰/۶۴±۰/۵۹ ^a	۲۹/۵۸±۰/۲۸ ^a	۲۹/۹۵±۰/۲۳ ^a	۳۱/۲۲±۰/۷۹ ^a	۰
۳۳/۶۹±۰/۱۷ ^b	۳۰/۰۳±۰/۱۵ ^b	۳۰/۳۱±۰/۰۹ ^a	۳۰/۲۶±۰/۳۸ ^{ab}	۲۹/۹۶±۰/۵۹ ^a	۲۹/۰۲±۰/۲۲ ^a	۲۸/۵۹±۰/۲۳ ^b	۳۰/۲۱±۰/۲۶ ^a	۰/۶
۳۲/۱۳±۰/۱۲ ^c	۳۰/۵۳±۰/۲۹ ^{ab}	۳۰/۳۸±۰/۳۵ ^a	۲۹/۰۷±۰/۲۶ ^c	۲۸/۵۸±۰/۱۰ ^b	۲۷/۸۲±۰/۲۴ ^b	۲۷/۹۵±۰/۱۲ ^b	۲۸/۵۷±۰/۴۴ ^b	۱
۳۲/۳۴±۰/۲۵ ^c	۳۰/۳۶±۰/۱۵ ^b	۲۹/۳۵±۰/۱۰ ^b	۲۹/۸۴±۰/۱۴ ^b	۲۷/۷۴±۰/۱۱ ^{bc}	۲۶/۹۳±۰/۰۸ ^c	۲۶/۷۳±۰/۰۵ ^c	۲۷/۵۶±۰/۱۵ ^b	۱/۴
۲۹/۶۱±۰/۱۶ ^d	۲۸/۷۳±۰/۱۸ ^c	۲۹/۵۳±۰/۲۳ ^b	۲۷/۷۶±۰/۱۰ ^d	۲۶/۵۳±۰/۳۰ ^c	۲۴/۸۸±۰/۰۷ ^d	۲۷/۸۸±۰/۳۶ ^b	۲۳/۶۳±۰/۱۲ ^c	۱/۸

داده ها بصورت انحراف معیار ± میانگین ارائه شده است. حروف غیر مشترک در یک ستون بیانگر اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح ۵٪ می باشد.

جدول ۱۰. تاثیر استفاده از مقادیر مختلف آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی بر میزان پپتیدهای محلول در TCA در ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجری در دماها و زمان های مختلف قوام یافتگی

زمان ها و دماهای مختلف								غلظت آنزیم (واحد)
۴۰ درجه سانتی گراد و ۶۰ دقیقه	۴۰ درجه سانتی گراد و ۳۰ دقیقه	۲۵ درجه سانتی گراد و ۳ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۲ ساعت	۲۵ درجه سانتی گراد و ۱ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۱۲ ساعت	۵ درجه سانتی گراد و ۱۲ ساعت	حرارت مستقیم	
۲۹/۰۱±۰/۴۵ ^a	۲۷/۷۰±۰/۳۳ ^a	۲۵/۱۲±۰/۶۱ ^a	۲۶/۰۰±۰/۴۵ ^a	۲۴/۷۶±۰/۵۶ ^a	۲۴/۱۸±۰/۳۷ ^a	۲۳/۰۷±۰/۷۲ ^a	۲۱/۹۵±۰/۵۵ ^a	۰
۲۷/۷۷±۰/۵۱ ^a	۲۵/۰۵±۰/۲۴ ^b	۲۴/۳۷±۰/۲۰ ^a	۲۱/۶۵±۰/۳۲ ^b	۲۴/۱۳±۰/۵۱ ^a	۲۲/۲۶±۰/۲۷ ^b	۱۹/۹۰±۰/۴۹ ^b	۲۰/۹۹±۰/۶۳ ^a	۰/۶
۲۴/۸۰±۰/۵۲ ^b	۲۴/۴۸±۰/۷۴ ^b	۲۴/۲۲±۰/۲۶ ^a	۲۰/۷۳±۰/۶۶ ^{bc}	۱۸/۵۹±۰/۵۱ ^b	۱۸/۴۴±۰/۲۱ ^c	۱۷/۹۰±۰/۲۸ ^c	۱۷/۷۲±۰/۲۴ ^b	۱
۲۳/۲۴±۰/۲۵ ^c	۱۹/۷۴±۰/۲۵ ^c	۲۰/۵۵±۰/۲۲ ^b	۱۸/۳۱±۰/۴۸ ^{cd}	۱۶/۳۲±۰/۳۱ ^c	۱۷/۲۰±۰/۳۴ ^d	۱۶/۶۵±۰/۴۲ ^c	۱۵/۴۴±۰/۷۶ ^c	۱/۴
۲۰/۰۹±۰/۶۱ ^d	۱۸/۹۴±۰/۵۴ ^c	۱۹/۸۳±۰/۴۸ ^b	۱۹/۴۹±۰/۲۱ ^d	۱۵/۷۰±۰/۳۹ ^c	۱۳/۴۰±۰/۶۲ ^e	۱۴/۷۸±۰/۲۱ ^d	۱۴/۶۱±۰/۴۳ ^c	۱/۸

داده ها بصورت انحراف معیار ± میانگین ارائه شده است. حروف غیر مشترک در یک ستون بیانگر اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح ۵٪ می باشد.

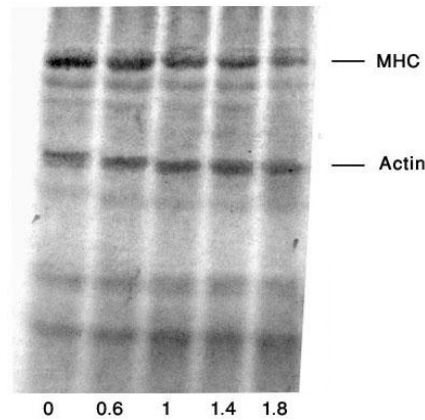
تیمارهای ۵ درجه سانتی گراد در ۱۲ ساعت، ۵ درجه سانتی گراد در ۲۴ ساعت و ۴۰ درجه سانتی گراد در ۶۰ دقیقه در غلظت ۱/۸ اتفاق افتاد (جدول ۱۰).

شکل ۱ تا ۸ تأثیر مقادیر مختلف از آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی در شرایط مختلف قوام یافتگی را بر میزان تجزیه زنجیره سنگین میوزین (MHC) در ژل های ساخته شده نشان می دهند. همانطور که در این تصاویر دیده می شود، آنزیم MTG_{ase} در مقادیر

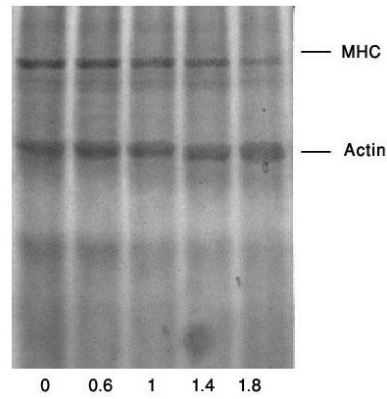
میزان پپتیدهای محلول در TCA با وارد کردن آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی در ژل های تولیدی از گوشت چرخ شده میگوی خنجری در تمام تیمارهای قوام یافتگی کاهش یافت و بیشترین کاهش در تیمارهای حرارت مستقیم، ۲۵ درجه سانتی گراد در ۱ ساعت، ۲۵ درجه سانتی گراد در ۲ ساعت، ۲۵ درجه سانتی گراد در ۳ ساعت و ۴۰ درجه سانتی گراد در ۳۰ دقیقه در غلظتهای ۱/۴ و ۱/۸ و در

شدت باند مربوط به پروتئین اکتین در هیچ یک از تیمارها تغییر محسوسی را نشان نمی دهد.

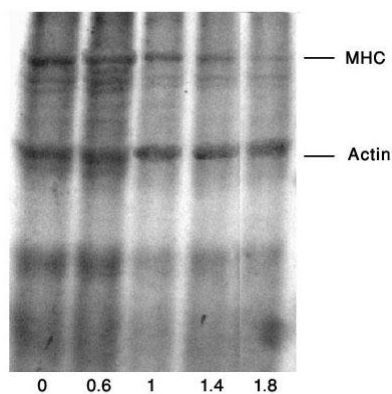
بالاتر از شدت باند مربوط به MHC کاسته و میزان این کاهش در دماهای بالاتر قوام یافتگی (مخصوصاً 40°C) با وضوح بیشتری دیده می شود. با اینحال



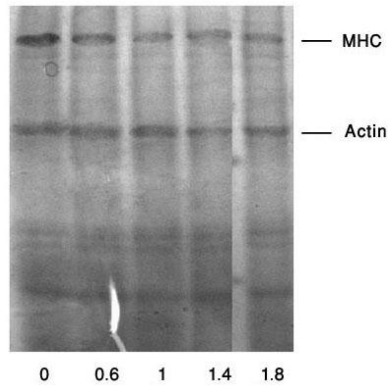
شکل ۱. الگوی SDS-PAGE در ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجر حوی مقادیر مختلف از آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی (۰ تا ۱/۸ واحد در هر گرم ژل) و قوام یافته در حرارت مستقیم (۲۰ دقیقه در دمای 90°C) MHC=زنجیر سنگین میوزین



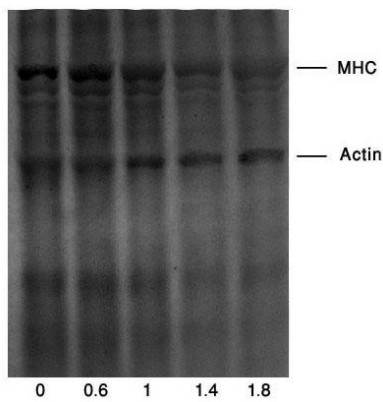
شکل ۲. الگوی SDS-PAGE در ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجر حوی مقادیر مختلف از آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی (۰ تا ۱/۸ واحد در هر گرم ژل) و قوام یافتگی بمدت ۱۲ ساعت در دمای 5°C . MHC=زنجیر سنگین میوزین



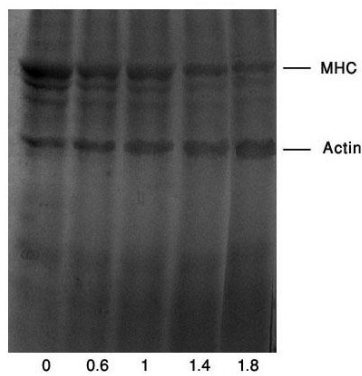
شکل ۳- الگوی SDS-PAGE در ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجر حوی مقادیر مختلف از آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی (۰ تا ۱/۸ واحد در هر گرم ژل) و قوام یافته بمدت ۲۴ ساعت در دمای 5°C . MHC=زنجیر سنگین میوزین



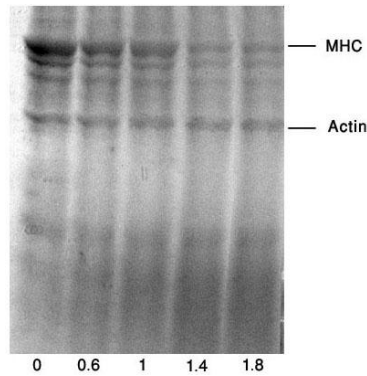
شکل ۴. الگوی SDS-PAGE در ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجرى حاوی مقادیر مختلف از آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی (۰ تا ۱/۸ واحد در هر گرم ژل) و قوام یافته بمدت ۱ ساعت در دمای 25°C . MHC=زنجیر سنگین میوزین



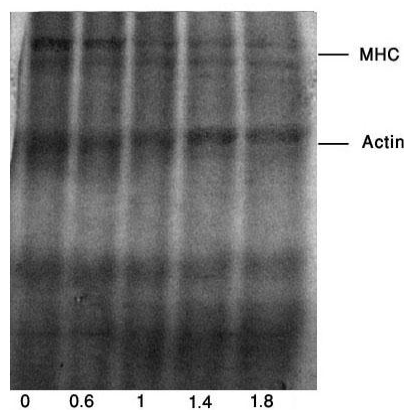
شکل ۵. الگوی SDS-PAGE در ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجرى حاوی مقادیر مختلف از آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی (۰ تا ۱/۸ واحد در هر گرم ژل) و قوام یافته بمدت ۲ ساعت در دمای 25°C . MHC=زنجیر سنگین میوزین



شکل ۶. الگوی SDS-PAGE در ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجرى حاوی مقادیر مختلف از آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی (۰ تا ۱/۸ واحد در هر گرم ژل) و قوام یافته بمدت ۳ ساعت در دمای 25°C . MHC=زنجیر سنگین میوزین



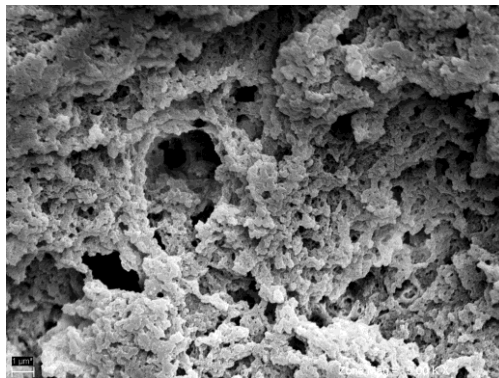
شکل ۷. الگوی SDS-PAGE در ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجری حاوی مقادیر مختلف از آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی (۰ تا ۱/۸ واحد در هر گرم ژل) و قوام یافته بمدت ۳۰ دقیقه در دمای 40°C . MHC=زنجیر سنگین میوزین



شکل ۸. الگوی SDS-PAGE در ژل های حاصل از گوشت چرخ شده میگوی خنجری حاوی مقادیر مختلف از آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی (۰ تا ۱/۸ واحد در هر گرم ژل) و قوام یافته بمدت ۶۰ دقیقه در دمای 40°C . MHC=زنجیر سنگین میوزین

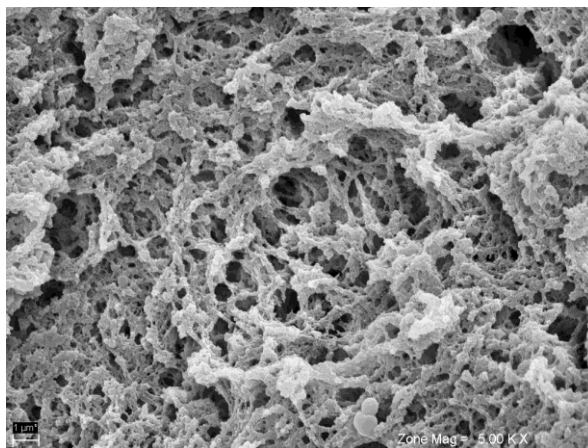
نهایت باهم تشکیل یک شبکه توری مانند را داده اند. چشمه های مختلف در بین این شبکه توری مانند دیده می شود که از اندازه های یکنواختی برخوردار نبوده و از چشمه های کوچک تا حفرات بزرگ در بین آنها دیده می شود.

در شکل ۹ عکس میکروسکوپ الکترونی از ژل هایی دیده می شود که در حرارت مستقیم (90°C) از گوشت چرخ شده میگوی خنجری تولید شده اند. در این شکل تجمعات کروی^۱ پروتئین دیده می شوند که در کنار هم رشته ها یا فیبرهایی را تشکیل داده اند که در جهات مختلف قرار گرفته و این رشته ها در



شکل ۹. عکس میکروسکوپ الکترونی از ژل های تولید شده از گوشت چرخ شده میگوی خنجری در حرارت مستقیم

اند. رشته های نازک و طولیل پروتئین در این شکل دیده می شوند که اتصالات عرضی یا متقاطع با یکدیگر ایجاد نموده و تشکیل شبکه پروتئینی توری مانند را داده اند.



شکل ۱۰. عکس میکروسکوپ الکترونی از ژل های ساخته شده با میزان بهینه آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی و قوام یافتگی 5°C بمدت ۲۴ ساعت

حداکثری آنزیم (۱/۸ واحد در هر گرم گوشت) در پژوهش دیگری نیز گزارش شده است (Tammatina *et al.*, ۲۰۰۷) اما این وضعیت در تعدادی از پژوهشهای دیگر صادق نبوده و بیشترین استحکام ژل ها در گونه های مختلف ماهی در مقادیر ۰/۳ و ۰/۲ و ۰/۳۴ واحد در هر گرم سوریمی یا مینس گزارش شده است (Seguro *et al.*, ۱۹۹۵) و (Tsai *et al.*, 1996). با اینکه به اعتقاد بعضی از پژوهشگران کاهش بعضی از شاخص های خصوصیات بافتی با افزایش میزان آنزیم MTG_{ase} از حد بهینه ممکن است در اثر تشکیل بیش از حد پیوندهای اپسیلون- (گاما- گلوتامیل- لیزین) باشد (سگورو و همکاران، ۱۹۹۵) تعدادی دیگر عقیده دارند که میزان مناسب این آنزیم بستگی به عواملی مانند گونه ماهی یا میگو، تازگی، کیفیت پروتئین و فصل صید دارد (Asagami *et al.*, 1995).

افزافه کردن آنزیم MTG_{ase} به گوشت چرخ شده میگوی خنجری نسبت به نمونه های فاقد این آنزیم باعث کاهش میزان رطوبت تحت فشار در ژل ها شده

در شکل ۱۰ عکس میکروسکوپ الکترونی از ژل هایی دیده می شود که با اضافه کردن میزان حداکثر از آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی (۱/۸ واحد در گرم) به گوشت چرخ شده میگوی خنجری و قرار گرفتن به مدت ۲۴ ساعت در دمای قوام یافتگی 5°C تولید شده

۴. بحث و نتیجه گیری

اکثر پارامترهای نشان دهنده خصوصیات بافتی ژل های تولید شده از گوشت چرخ شده میگوی خنجری با اضافه کردن آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی (MTG_{ase}) نسبت به ژل های شاهد (فاقد افزودنی) تحت تأثیر قرار گرفته و میزان این تأثیر در مقایسه بالاتر این آنزیم (۱/۸ و ۱/۴ واحد در هر گرم از گوشت چرخ شده) از همه بیشتر بود (جدول های ۱ تا ۶). آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی اضافه شده به گوشت دقیقاً همان نقش آنزیم ترنس گلوتامیناز سارکوپلاسمیک را در داخل گوشت ایفا می کند؛ بدین ترتیب که باعث ایجاد یکسری پیوندهای کووالانسی غیر دی سولفیدی بین اسیدآمین های لیزین و گلوتامین به نام اپسیلون-(گاما- گلوتامیل- لیزین)^۱ در ماتریکس ژل شده (Seki *et al.*, ۱۹۹۰) که افزایش تعداد این پیوندها به خصوصیات بافتی ژل منجر می شوند. با اینکه ایجاد بیشترین میزان خصوصیات بافتی ژل ها در استفاده از میزان

1. ϵ -(γ -Glutamyl-Lysine)

نتایج ارزیابی الگوی الکتروفورزی پروتئین (شکل ۱ تا ۸) نشان می دهند که با افزایش میزان آنزیم MTG_{ase} از ۰ تا ۱/۸ واحد در هر گرم از گوشت چرخ شده میگوی خنجری از شدت و غلظت باند مربوط به زنجیره سنگین میوزین (MHC) کاسته می شود زیرا این آنزیم باعث می شود تا بین مولکلهای منفرد میوزین پیوندهای کووالانسی غیر دی سولفیدی تشکیل شده و این مولکولها با هم یک شبکه سه بعدی را تشکیل داده و بنابراین از میزان و تراکم این مولکولهای منفرد کاسته می شود؛ به عبارتی مولکولهای منفرد میوزین پلیمریزه می شوند.

شدت باند مربوط به پروتئین اکتین در هیچ یک از ژل های ساخته شده در مقادیر مختلف از آنزیم MTG_{ase} تحت تأثیر قرار نگرفت (شکل ۱ تا ۸). ناکاهارا و همکاران (۱۹۹۹) در بررسی اثر آنزیم ترنس گلوتامیناز بر کپور بیان کردند که مولکولهای اکتین با اضافه شدن آنزیم پلیمریزه نشده و این آنزیم به طور انتخابی مولکولهای MHC به جای پروتئین های دیگر میوفیبریل را پلیمریزه نمود.

مقایسه عکس میکروسکوپ الکترونی از ژل های تولیدی از گوشت چرخ شده میگوی خنجری که حاوی ۱/۸ واحد آنزیم در هر گرم بوده و قبل از قرار گرفتن در دمای $90^{\circ}C$ ، به مدت ۲۴ ساعت در دمای $5^{\circ}C$ قوام یافت (شکل ۱۰) با عکسی که از ژل هایی که فقط تحت تأثیر حرارت مستقیم تولید شد (شکل ۹) نشان می دهد که آنزیم MTG_{ase} و قوام یافتگی باعث شده اند تا از میزان لخته های پروتئینی متراکم و بهم فشرده کاسته شده و به میزان رشته های نازک و طویل که در قسمتهای مختلف دارای اتصالات عرضی یا متقاطع با یکدیگر هستند افزوده شود. افزایش میزان این فیبرها یا رشته های در هم تنیده می تواند توجیهی برای بهبود ویژگیهای بافتی ژل های حاوی MTG_{ase} که قوام یافتگی را پشت سر گذاشتند نسبت به ژل هایی که تحت تأثیر حرارت مستقیم تولید شده اند باشد.

و کمتر میزان رطوبت تحت فشار در ژل هایی دیده شد که از بیشترین میزان این آنزیم برخوردار بودند (۱/۸ و ۱/۴ واحد در هر گرم) (جدول ۹). کاهش میزان رطوبت تحت فشار در ژل های حاوی بیشترین میزان آنزیم MTG_{ase} در اثر ایجاد بیشترین میزان پیوندهای اپسیلون- (گاما- گلوتامیل- لیزین) در اثر اضافه کردن مقادیر بالای آنزیم و بالاترین ظرفیت ژل برای وارد کردن و حفظ آب در شبکه پروتئینی ژل می باشد (Tammatina et al., 2007).

میزان پپتیدهای محلول در TCA در ژل های حاوی آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی نسبت به ژل های فاقد این آنزیم کاهش یافته و میزان این کاهش در ژل هایی که مقادیر بیشتری از این آنزیم را دریافت کرده بودند (۱/۸ و ۱/۴ واحد در هر گرم) بیشتر از بقیه بود (جدول ۱۰). پایین تر بودن میزان پپتیدهای محلول در TCA به معنی جلوگیری بیشتر از عملکرد آنزیمهای تجزیه کننده پروتئین در ژل بوده زیرا پیوندهای کووالانسی غیر دی سولفیدی که توسط آنزیم MTG_{ase} ساخته می شوند در برابر این پروتئینازها مقاوم ترند (Niwa, 1992 و Sano et al., 1988).

اضافه کردن آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی - مخصوصا در مقادیر بالاتر- به گوشت چرخ شده میگوی خنجری توانست روی رنگ گوشت تأثیرگذار باشد به طوریکه میزان روشنی (L^*) را افزایش داده و از میزان شاخص های a^* و b^* کاست (جدول های ۶، ۷ و ۸)؛ بنابراین این آنزیم احتمالا روی میزان رنگدانه های موجود در گوشت میگو مؤثر بوده و از میزان آنها می کاهد (al., 2007 Tammatinaet). کاروتنوئیدها^۱ شامل آستاگزانتین^۲ و کانتاگزانتین^۳ از رنگدانه های اصلی در ماهیچه میگو محسوب می شوند (Simpson, 1982).

1. Carotenoids
2. Astaxanthin
3. Canthaxanthin

Lowry Q.H., Rosebrough, N.J., Farr, L.A. Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 256-275.

Morrissey, M.T., Wu, Y.W. An, H. 1993. Protease inhibitor effect on torsion measurements and autolysis of Pacific whiting surimi. *J. Food Sci.*, 58: 1050-1054.

Nakahara, C., Nozawa, H. Seki, N. 1999. A comparison of crosslinking of fish myofibrillar proteins by endogenous and microbial transglutaminase. *Fisheries Science*, 65: 138-144.

Ng, C.S. 1978. Measurement of free and expressible drips. In: H. Hasegawa (Ed.), *Laboratory manual on analytical methods and procedure for fish and fish products* (pp. 1-2). New York, USA: Marcel Dekker.

Niwa, E. 1992. Chemistry of surimi gelation. In T.C. Lanier and C. M. Lee (Ed.), *Surimi technology* (pp. 389-428). New York. Marcel Dekker, Inc.

Pares, D., Ledward, D.A. 2001. Emulsifying and gelling properties of porcine blood plasma as influenced by high-pressure processing. *Food Chemistry*, 74: 139-145.

Pares, D., Sature, E., Saurina, J., Sunol, J.J. Carretero, C. 1998. Functional properties of heat induced gels from liquid and spray-dried porcine blood plasma as influenced by pH. *J. Food Sci.*, 63: 958-961.

Sakamoto, H., Kumazawa, Y., Toguchi, S., Seguro, K., Soeda, T. Motoki, M. 1995. Gel strength enhancement by addition of microbial transglutaminase during onshore surimi manufacture. *Jo. Food Sci.*, 60(2): 300-304.

Sano, T., Noguchi, S.F., Tsuchiya, T. Matsumoto, J.J. 1988. Dynamic viscoelastic behavior of natural actomyosin and myosin during thermal gelation. *J. Food Sci.*, 53: 924-928.

Seguro, K., Kumazawa, Y., Ohtsuka, T., Toiguchi, S. Motoki, M. 1995. Microbial transglutaminase ϵ -(γ -glutamyl) lysine crosslink effects on elastic properties of kamaboko gels. *J. Food Sci.*, 60: 305-311.

Seki, N., Uno, H., Lee, N.H., Kimura, I., Toyoda, K., Fujita, T., et al. 1999. Transglutaminase activity in Alaska Pollack muscle and surimi, and its reaction with myosin B. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56: 125-132.

Simpson, K.L. 1982. Carotenoid pigments in seafood. In R. E. Martin, G. J. Flick and D. R. Ward (Eds.), *Chemistry and biochemistry of*

نتیجه‌گیری کلی: با افزایش میزان آنزیم ترنس گلوتامیناز میکروبی از ۰/۶ تا ۱/۸ واحد به هر گرم از گوشت چرخ شده ی میگوی خنجرى خصوصیات ژل افزایش یافته و اضافه کردن دست کم ۱/۸ واحد از این آنزیم به هر گرم از گوشت چرخ شده ی میگو در فرآورده های آماده ی مصرف توصیه می گردد.

منابع

شعبانپور، ب.، شعبانی، ع.، معینی، س.، حامدی، م. و پورکبیره، م. ۱۳۸۸. اثرات شرایط مختلف شستشو بر ترکیب شیمیایی و خواص تولید ژل سوریمی کیلکای آنچوی (*Engrauliformis clupeonella*)، پژوهش و سازندگی، ۷۲: ۹۲ - ۸۴.

Asagami, T., Ogiwara, M., Wakameda, A. Noguchi, S. 1995. Effect of microbial transglutaminase on the quality of frozen surimi made from various kinds of fish species. *Fishery Science*, 61: 267-272.

112.

Gilleland, M.G. and Lanier, T.C. 1997. Investigation into the mechanism of gelation of surimi pastes treated by high isostatic pressures. *Food Science*, 4: 1-5.

Jafarpour, A. Gorczyca, E.M. 2009. Characteristics of sarcoplasmic proteins and their interaction with surimi and kamaboko gel. *J. Food Sci.*, 74(1), N16-N22.

Kang, I.S. Lanier, T.C. 2000. Heat-induced softening of surimi gels by proteinases. In J. W. Park (Ed.), *Surimi and Surimi Seafood* (pp. 445-474). New York. Marcel Dekker.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage. *Nature*, 227: 680-685.

Lanier, T.C. 2000. Surimi gelation chemistry. In J. W. Park (Ed.), *Surimi and Surimi Seafood* (pp. 237-266). New York. Marcel Dekker.

Lanier, T.C. 1991. Interactions of muscle and non-muscle protein affecting heat set gel rheology. In Paris, N. and Barford, R. (Eds). *Interactions of Food Protein*, PP. 268-284. Washington DC: American Chemical Society.

Lanier, T.C. 1992. Measurement of surimi composition and functional properties. In: Lanier, T. C., Lee CM., editors. *Surimi technology*. New York: Marcel Dekker, Inc. pp. 123-63.

White shrimp (*Penaeus vannamei*) meat as influenced by setting condition and microbial transglutaminase: J. Science Direct, 40, 1489-1497.

Tsai, G.J., Lin, S.M. Jaing, S.T. 1996. Transglutaminase from *Streptovorticilium ladakanum* and application to mince fish product. J. Food Sci., 61: 1234-1238.

marine food products (pp. 115-148). Connecticut: AVI Publishing.

Tabilo-Munizaga, G. Barbosa-Canovas, G. 2004. Color and texture parameters of pressurized and heat-treated surimi gels as affected by potato starch and egg white. Food Research International, 37: 767-775.

Tammatinna, A., Benjakul, S., Visessanguan, W. Tanaka, M. 2007. Gelling properties of

Effect of microbial transglutaminase on gelling properties of kiddi shrimp (*Parapenaeopsis stylifera*) mince

Hoseini, Seyyed Mehdi. Shabanpour, Bahareh. Jafarpour, Seyyed Alo. Shabani, Ali. Peyghambari, Seyyed Yousef

1-Department of fisheries, Faculty of marine natural resources, University of marine science and technology, Khorramshahr. mehdi_1520@yahoo.com

2-Department of fisheries, Faculty of fisheries and environment, University of agriculture science and natural resources, Gorgan.

3-Department of fisheries, faculty of natural resources, University of agriculture science and natural resources, Sari.

Abstract

The properties of kiddi shrimp (*Parapenaeopsis stylifera*) gel added with different levels of microbial transglutaminase (MTGase) (0.6, 1, 1.4 and 1.8 units/g) were studied. Most textural parameters of the gels improved by adding MTGase especially at higher levels (1.8 and 1.4). The expressible moisture and trichloroacetic acid content declined with the increase in MTGase content. MTGase especially at higher levels was effective in the color of the gels so that it increased L* and decreased a* and b* value. SDS-PAGE study revealed that myosin heavy chain underwent polymerization to a higher extent in the presence of MTGase. Microstructure of gels added with 1.8 units of MTGase had more ordered fibrillar structure compared with those of gels without MTGase. Therefore it could be concluded that at MTGase play an important role in improving the gel properties of kiddi shrimp mince.

Keywords: microbial transglutaminase– gel – kiddi shrimp - mince