مجله علوم و فنون شیلات
نسخه ویژه خلیج فارس
دوره ۱۰ شماره ۲، بهار ۱۴۰۰، صفحات ۲۵۹ تا ۲۷۱

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده خیاردریایی(*Holothuria leucospilota*) و تاثیر آن بر خصوصیات میکروبی و شیمیایی سوریمی کپورنقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)

مریم فارسی‌مدان[۱]، لاله رومیانی[۲*]
۱-گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
۲- گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

چکـــیده

هدف از این پژوهش، بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده خیاردریایی(*Holothuria leucospilota*) و تاثیر آن بر خصوصیات میکروبی و شیمیایی سوریمی کپورنقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) در دمای یخچال بود. هضم آنزیمی عضله خیاردریایی با استفاده از آنزیم آلکالاز (۱/۵ درصد وزن ماده اولیه، ۴ ساعت، دمای ۵۵درجه سانتی‌گراد) انجام شد. سوریمی از فیله کپورنقره‌ای تهیه و به آن دو غلظت ۰/۵ و ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیزشده خیاردریایی اضافه شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پراکسید(PV)، بازهای نیتروژنی فرار(TVB-N)، تیوباربیتوریک اسید(TBA)، pH، اسیدهای چرب فرار(FFA)، شمارش بار باکتریایی مزوفیل هوازی و باکتری‌های سرمادوست در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ انجام شد. میزان قدرت مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH) توسط پروتئین هیدرولیز شده خیاردریایی در دو غلظت ۰/۵ و ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب ۹۲/۲۴ و ۶۲/۱۱ درصد بود که نسبت به آنتی‌اکسیدان تجاری BHT در همان غلظت مقدار بالاتری را نشان داد ($p<0.05$) میزان پراکسید در تیمار ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم تا روز نهم و در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تا روز دوازدهم در محدوده مجاز بود. نتایج بررسی TVB-N، TBA، FFA، بار باکتریایی مزوفیل هوازی و باکتری‌های سرمادوست در هر دو تیمار و در روزهای بررسی از حد مجاز در نظر گرفته شده عبور نکرد. این مطالعه نشان داد پروتئین هیدرولیز شده خیاردریایی قادر به کنترل بار باکتریایی و فرآیند اکسیداسیون در سوریمی کپور نقره‌ای است. تیمارهای حاوی پروتئین هیدرولیزشده خیاردریایی نسبت به تیمار شاهد، توانستند ماندگاری سوریمی را ۹ روز افزایش دهند.

کـــلید واژه‌ها: پروتئین هیدرولیز شده، خیاردریایی، آنتی‌اکسیدان، خصوصیات میکروبی و شیمیایی، سوریمی

نوع مقـاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۲۵
تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۰/۳/۱۰

***نویسنده مسول:**
L.roomiani@yahoo.com

مقدمه

مشکل اساسی و مهم در توزیع ماهی و فرآورده‌های شیلاتی طبیعت فسادپذیر ماهی و کیفیت نامناسب آن‌هاست. این امر ناشی از آلودگی فرآورده‌های شیلاتی به وسیله میکروارگانیسم‌ها است [۱]. تجربیات بدست آمده طی دهه گذشته نشان داده است که گوشت و فرآورده‌های ماهی با توجه به اختصاصات تغذیه‌ای، در مقایسه با محصولات مشابه تولید شده از گوشت قرمز، می‌تواند از بازارپسندی بسیار مناسبی برخوردار باشد، اما کوتاه‌بودن ماندگاری این محصول در شرایط نگهداری در دمای یخچال از جمله موانع اصلی توسعه تولید صنعتی آن‌ها به شمار می‌رود [۲]. به دلیل

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.1.3]

نگرش منفی از حیث ایمنی و سلامت، امروزه استفاده از عصاره‌های طبیعی و یا ترکیبات آنها به عنوان مواد آنتی‌اکسیدان و نگهدارنده، به علت طبیعی و سالم بودنشان مورد پذیرش و استقبال شدید مصرف‌کنندگان قرار گرفته است [۳]. پروتئین‌های هیدرولیز شده مانند بتاگلوکان‌ها [۴] و لیپوپلی‌ساکاریدها [۵] از جمله محرک‌های ایمنی بیوشیمیایی هستند. در واقع مشخص گردیده است که از نظر بیوشیمیایی طی فرآوری و هیدورلیز پروتئین، پپتیدهای فعال با قدرت تحریک سیستم ایمنی و ویژگی‌های ضدباکتریایی تولید می‌گردد [۶]. در واقع پروتئین‌های هیدرولیز شده دارای خواص تغذیه‌ای و دارویی، ضداکسیدانی و مهار آنزیم مبدل آنژیوتانسین I می‌باشند. پروتئین‌های هیدرولیز شده مخلوطی از پپتیدهاست که وزن‌های ملکولی متنوعی دارند که دارای خواص ضدتومور، ضدسرطان، ضددیابت و فعالیت آنتی‌اکسیدان می باشند. پروتئین‌های هیدرولیزشده در قالب پوشش مواد غذایی می‌توانند بواسطه خاصیت ضدمیکروبی، از فساد مواد غذایی خصوصاً آبزیان و فرآورده‌های ناشی از آنها جلوگیری کنند [۴].

خیاردریایی جانوری با پوسته پوشیده شده از خار است و در شاخه خارپوستان(Echinodermata) و رده خیارسانان(Holothuroidea) قرار می‌گیرد. خیارهای دریایی از لحاظ بوم‌شناختی، زیست‌شناختی و اقتصادی حائز اهمیت هستند [۷]. این موجود از جمله بی‌مهرگانی است که استفاده‌های سنتی، پزشکی و تغذیه‌ای از آن دارای قدمت بالایی است [۸]. تاکنون مطالعه‌ای درخصوص استفاده از پروتئین هیدرولیز شده در فرآورده‌های شیلاتی مانند سوریمی انجام نشده است. اما بررسی‌های انجام شده بر روی خیاردریایی (اطلاعات دقیقی از میزان صید این گونه وجود ندارد) علاوه بر اثرهای ضدباکتری، اثر آنتی‌اکسیدانی را نیز نشان داده‌اند [۹]. Adibpour و همکاران (۲۰۱۴) [۱۰] اثرات ضدباکتری و ضدقارچی خیاردریایی *Holothuria leucospilota* و Sarhadizadeh و همکاران (۲۰۱۴) [۱۱] عوامل زیست فعال خیاردریایی گونه *Stichopus hermauni* را مورد بررسی قرار دادند و عنوان کردند که عصاره خیاردریایی با داشتن مواد آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی کاندیدی مناسب به عنوان نگهدارنده مواد غذایی است[۱۰،۱۱]. از این رو در تحقیق تاثیر پروتئین هیدرولیز شده خیاردریایی (*Holothuria leucospilota*) بر روی ویژگیهای شیمیایی و فاکتورهای میکروبی سوریمی کپور نقره‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه پروتئین هیدرولیز شده

۳۰ نمونه خیاردریایی (*Holothuria leucospilota*) از آب‌های استان بوشهر صید (شناسایی گونه توسط گروه زیست‌شناسی دریا دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز و کارشناسان شیلات استان بوشهر صورت گرفت) و پس از شستشو و تمیزکردن در محل صید درون جعبه‌های یونولیتی کاملا پوشیده از یخ به آزمایشگاه ارسال و سپس با آب سرد شستشو داده شده، چرخ و درون فلاسک‌ها توزین شد. به منظور غیرفعال‌سازی آنزیم‌های داخلی، نمونه‌ها (۲۰ گرم) درون حمام آب ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند [۱۲]. نمونه‌های حرارت دیده با بافر تریس- اسیدکلریدریک به نسبت وزنی– حجمی ۱ به ۲ به حالت سوسپانسیون یکنواخت و با pH ۷/۵ جهت فعالیت آنزیم آلکالاز (۱/۵ درصد وزن ماده اولیه، دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد) درآمده و در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد)، آنزیم‌ها بر اساس فعالیت تعریف شده به سوسپانسیون به مدت ۴ ساعت اضافه شدند. تمامی واکنش‌ها در فلاسک‌های ۱۰۰ میلی‌لیتر در انکوباتور شیکردار و با دور ثابت ۲۰۰ دور در دقیقه برای هر تیمار انجام شد. به منظور حصول اطمینان از غیرفعال شدن آنزیم، واکنش آنزیمی با حرارت دادن سوسپانسیون در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه به اتمام رسید و ترکیب هیدرولیز شده در حمام یخ، به سرعت سرد و در انتها در سانتریفیوژ یخچال‌دار با دور g ۸۰۰۰ در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۰ دقیقه جهت جمع‌آوری سوپرناتانت قرار گرفت. سوپرناتانت با استفاده از دستگاه فریزدرایر (Vaco 2 Zirbus, Germany)خشک و پودر پروتئینی خیاردریایی بدست آمد. پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت پودر مورد نظر محاسبه شد [۱۳]. به منظور محاسبه درجه هیدرولیز، محلول اسید تری‌کلرواستیک ۲۰ درصد با نسبت برابر به سوپرناتانت اضافه و محلول حاصل با دور g ۶۷۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ (Universal R320, Germany) گردید. نیتروژن موجود در سوپرناتانت از طریق روش بیورت و درجه هیدرولیز از طریق رابطه زیر محاسبه گردید:

(۱۰۰*نیتروژن کل نمونه / نیتروژن موجود در محلول ۱۰ درصد تری‌کلرواسیداستیک =درصد درجه هیدرولیز)

میانگین طول زنجیره پپتیدی از طریق رابطه مقابل بدست آمد [۱۴]: (درجه هیدرولیز/۱۰۰= طول زنجیره پپتیدی)

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.1.3]

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۵۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH (۰/۱۶ میلی‌مولار در اتانول ۹۶ درصد) با ۵۰۰ میکرولیتر نمونه پروتئین هیدرولیزشده خیاردریایی (۱/۲۵–۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مخلوط و کاملاً ورتکس و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. برای مقایسه از BHT (۸۰–۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) استفاده و ظرفیت حذف رادیکال DPPH از طریق زیر محاسبه شد [۱۴]:

$$\text{درصدمهارکنندگی} = 100 \times \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب نمونه شاهد}}{\text{جذب نمونه شاهد}}$$

آماده‌سازی سوریمی

ماهی کپور نقره‌ای با وزن ۱۷۰۰–۱۵۰۰ گرم از استخرهای پرورش ماهی استان خوزستان تهیه و با یخ‌گذاری (با نسبت ۱ به ۱وزنی/وزنی) درون ظروف عایق به آزمایشگاه دانشگاه آزد اسلامی واحد اهواز منتقل شدند. بلافاصله ماهی‌ها شستشو شده و پس از سر و دم زنی، به روش دستی فیله شده، سپس مجدداً شستشو شدند. فیله‌ها توسط دستگاه استخوان‌گیر با قطر منفذ استوانه ۲ میلی‌متر تبدیل به گوشت چرخ کرده بدون استخوان شدند. جهت تهیه سوریمی، ابتدا آب نمک ۰/۲۵ درصد تهیه گردید. سپس به نسبت ۴:۱ (گوشت: آب نمک) درون ظروف شستشو ریخته شد و عمل هم زدن به مدت ۱۰دقیقه انجام گرفت. در تمام مدت شستشو دمای آب بین ۴–۰ درجه سانتیگراد بود. عمل آبگیری با استفاده از پارچه تنظیف ابریشمی بصورت دستی و عمل شستشو و آبگیری در سه نوبت انجام پذیرفت. سوریمی پس از اختلاط کامل با مواد نگهدارنده (۴ درصد شکر، ۴ درصد سوربیتول، ۰/۳ تری‌پلی‌فسفات سدیم) در کیسه ای پلی‌اتیلنی با وزن ۱ کیلوگرم بسته‌بندی شد. سپس نمونه‌ها در دمای یخچال نگهداری شدند [۲].

طراحی آزمایش

دو غلظت پروتئین هیدرولیز شده ۰/۵ و ۰/۱ میلی‌گرم/کیلوگرم (بر مبنای مقدار پروتئین)، بصورت پودر به سوریمی کپورنقره‌ای افزوده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و آزمایشات مورد نظر در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ انجام شد. به تیمار شاهد پروتئین هیدرولیز شده اضافه نشد.

شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی

۱۰ گرم نمونه سوریمی ماهی در کیسه استومیکر قرار داده شد. ۹۰ میلی‌لیتر محلول نمک استریل(۱۰۰mL / ۰/۸۵ g) به آن اضافه شد. بعد از هموژنیزه‌کردن به مدت ۱ دقیقه، رقت‌های متوالی تهیه و ۱ میلی‌لیتر از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلیت در محیط پلیت کانت آگار قرار گرفت. سپس نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوبانور قرار داده شدند. تعداد باکتری به صورت Log cfu/g بیان شد [۱۵].

شمارش باکتری‌های سرمادوست

تحت شرایط استریل و زیر هود آزمایشگاهی ظروف حاوی نمونه را باز کرده و مقدار ۵ گرم از نمونه ماهی را در کیسه‌های پلاستیکی استریل مخصوص قرار داده و سپس ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به آن افزوده و سپس جهت هموژنیزاسیون محتویات به دستگاه استومیکرو Inter-science 400 به مدت ۱ دقیقه منتقل گردید. نمونه هموژن شده به روش معمول رقیق‌سازی متوالی شده و بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت آگار مغذی و به روش کشت سطحی کشت داده شد. جهت شمارش باکتری‌های سرمادوست پلیت‌ها به مدت ۱۰–۷ روز و در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند [۱۶].

اندازه‌گیری بازهای نیتروژنی فرار کل (TVB-N)

اندازه گیری TVB-N به کمک روش کجلدال و با دستگاه Kjeldtherm ساخت کشور آلمان صورت گرفت. مقدار ۱۰گرم نمونه به یک بالن ۵۰۰ میلی‌لیتری انتقال یافت. سپس ۲ گرم اکسید منیزیم به عنوان کاتالیزور و در نهایت ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر برای تقطیر به آن اضافه شد. در مرحله بعد ۲۵ میلی‌لیتر اسیدبوریک ۲درصد در داخل ارلن مایر به رنگ زرد درآمد. سپس با اسیدسولفوریک ۰/۰۱ نرمال تیتر شد تا به رنگ ارغوانی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.1.3]

تبدیل و در دستگاه کلدال به مدت ۴۵ دقیقه حرارت داده تا زمانیکه محلول داخل ارلن مایر به رنگ زرد درآمد. سپس با اسید سولفوریک ۰/۰۱ نرمال تیتر گردید تا رنگ اولیه (ارغوانی) حاصل شد [۱۷].

اندازه‌گیری تیوباربیتیوریک اسید (TBA)

اندازه‌گیری TBA به وسیله روش رنگ‌سنجی صورت گرفت. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه به یک بالن ۲۵ میلی‌لیتری انتقال و با بوتانول-۱ به حجم رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر از مخلوط فوق به لوله‌های خشک درب‌دار وارد و به آن ۵ میلی‌لیتر از معرف TBA افزوده شد (معرف TBA به وسیله حل شدن ۲۰۰ میلی‌گرم از TBA در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال بوتانول-۱ پس از فیلتر شدن به دست آمد). لوله‌های درب‌دار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفتند و پس از آن در دمای محیط سرد شدند. سپس توسط دستگاه اسپکتروفتومتری (UV-VIS-NIR مدل UV-3600 Plus ساخت ژاپن) مقدار جذب(As) در ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد (Ab)خوانده شد. مقدار TBA (میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در کیلوگرم بافت ماهی) بر اساس رابطه زیر محاسبه شد [۱۸].

$$TBA = \frac{(\mathrm{As} - \mathrm{Ab}) * 50}{200}$$

اندازه‌گیری عدد پراکسید(PV)

مقداری از روغن به دقت در ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری سرسمباده‌ای وزن شد و حدود ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسید استیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسیداستیک ۳:۲) به محتویات ارلن اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰ میلی‌لیتر از آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته یک درصد به مجموعه اضافه و مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات‌سدیم ۰/۰۱ نرمال تیتر شد. میزان پراکسید از رابطه زیر مورد محاسبه قرار گرفت [۱۹].

$$PV = \frac{100 * \text{نرمالیته} * \text{حجم مصرفی}}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار (FFA)

۳ قطره محلول فنل‌فتالئین به یک ارلن حاوی ۲۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۷ درصد اضافه شد. با افزودن ۲ قطره هیدروکسیدسدیم، رنگ آن به ارغوانی تغییر کرد. محلول حاصل را به ارلن حاوی چربی اضافه و بعد گرما داده شد. پس از جوشیدن، ۲ قطره فنل‌فتالئین اضافه کرده و با سود تیتر و سپس اسیدهای چرب آزاد بر حسب درصد اولئیک‌اسید، طبق رابطه زیر بدست آمد [۱۹] :

$$FFA = \frac{N \times (V2 - V1) \times 2.82}{W}$$

N نرمالیه سود، V_2 میلی‌لیتر سود مصرفی نمونه، V_1 میلی‌لیتر سود مصرفی برای نمونه شاهد و W گرم چربی است.

سنجش pH

برای این منظور مقدار ۵ گرم از هریک از نمونه‌ها به همراه ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر در یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری توسط همزن برقی به طور کامل هموژن و pH نمونه‌ها با دستگاه pH متر دیجیتالی مدل ۶۱۳ Metrohm اندازه‌گیری شد [۲۰].

تجزیه و تحلیل آماری

مطالعه فعلی در طرح کاملاً تصادفی اجرا و از نرم‌افزار SPSS برای انجام آنالیز آماری استفاده شد. آزمون واریانس یک‌طرفه، برای تجزیه و تحلیل داده‌ها بکار گرفته شد. معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.1.3]

نتایج

خصوصیات پروتئین هیدرولیزشده خیاردریایی در جدول ۱ آمده است.

جدول۱. ویژگی‌های پروتئین هیدرولیزشده خیاردریایی

	ترکیب شیمیایی				
پروتئین (٪)	چربی (٪)	رطوبت (٪)	خاکستر (٪)	درجه هیدرولیز (درصد)	طول زنجیره
۸۹/۷۹±۰/۴۶	۰/۲۱±۰/۰۶	۸/۰۰±۱/۲۰	۲/۰۰±۰/۱۳	۱۳/۸۰±۰/۱۱	۴/۱۳

عملکرد مهار رادیکال DPPH پروتئین هیدرولیز شده خیاردریایی

خاصیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده خیاردریایی با استفاده از DPPH مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). عملکرد پروتئین هیدرولیزشده خیاردریایی وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت، فعالیت بازدارندگی آن به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<0.05$).

جدول ۲. نتایج آزمون DPPH پروتئین هیدرولیز شده خیار دریایی (درصد). حروف کوچک متفاوت در هر ردیف، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ردیف است($p<0.05$). حروف بزرگ متفاوت در هر ستون، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ستون است ($p<0.05$).

تیمار	غلظت	۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر
BHT		۱۰۰/۱۵± ۳/۰۰^{Aa}	۹۸/۱۵±۲/۳۱^{Ab}
پروتئین هیدرولیز شده عضله		۵۶/۲۱±۱/۱۷^{Ba}	۲۲/۱۴±۰/۶۰^{Bb}

بررسی تاثیر پروتئین هیدرولیزشده خیاردریایی بر ویژگی‌های شیمیایی سوریمی

تاثیر پروتئین هیدرولیز شده خیار دریایی بر عدد پراکسید سوریمی در جدول ۳ نشان داد که در هر دو تیمار ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده، با گذشت زمان (روز) میزان پراکسید افزایش معنی‌داری یافت ($p<0.05$). بیشترین میزان عدد پراکسید در تیمار شاهد (۲۱/۱۵±۰/۰۱) در روز پانزدهم مشاهده گردید. در تمامی روزها تفاوت معنی دار آماری ($p<0.05$) بین تیمارها در روزهای مختلف مشاهده شده است.

مقایسه میزان تیوباربیتیوریک اسید در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ در هر دو تیمار ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در جدول ۳ نشان داد که با افزایش زمان ماندگاری میزان تیوباربیتیوریک اسید در هر دو تیمار افزایش معنی‌دار یافت ($p<0.05$) و در روز پانزدهم در هر دو تیمار ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، بالاترین میزان تیوباربیتیوریک اسید با اختلاف معنی‌دار در مقایسه با سایر روزها اندازه‌گیری شد ($p<0.05$). مقایسه میزان بازهای نیتروژنی فرار در روزهای مختلف نگهداری سوریمی تیمار شده با پروتئین هیدرولیز شده خیاردریایی، نشان داد میزانTVB-N در هر دو تیمار افزایش معنی‌داری داشت ($p<0.05$) و در هر دو تیمار بالاترین سطح بازهای نیتروژنی فرار در روز پانزدهم و کمترین آن در روز صفر اندازه‌گیری شد($p<0.05$) (جدول ۴).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.1.3]

جدول ۳. بررسی تاثیر پروتئین هیدرولیز شده خیاردریایی بر میزان (PV) و (TBA) سوریمی؛ حروف کوچک متفاوت در هر ردیف، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ردیف است($p<0.05$). حروف بزرگ متفاوت در هر ستون، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ستون است ($p<0.05$).

تیمار / روز	۰	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
PV (میلی‌اکی والان در کیلوگرم)						
شاهد	۳/۴۵±۰/۱۱^{aC}	۶/۱۵±۰/۱۰^{bC}	۹/۱۵±۰/۱۴^{cC}	۱۲/۱۵±۰/۰۳^{dC}	۱۶/۱۵±۰/۱۱^{eC}	۲۱/۱۵±۰/۰۱^{fC}
۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده	۳/۱۵±۰/۱۳^{aB}	۵/۱۳±۰/۰۷^{bB}	۸/۱۱±۰/۱۵^{cB}	۱۰/۰۰±۰/۰۹^{dB}	۱۳/۰۰±۰/۲۰^{eB}	۱۸/۳۶±۰/۱۱ ^{fB}
۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده	۲/۰۰±۰/۰۳^{aA}	۳/۱۴±۰/۰۴^{bA}	۶/۰۰±۰/۱۳^{cA}	۹/۱۳±۰/۲۴^{dA}	۱۰/۰۰±۰/۳^{eA}	۱۵/۱۴±۰/۳۸^{fA}
TBA (میلی‌گرم مالون –دی‌آلدئید بر کیلوگرم)						
شاهد	۱/۱۲±۰/۱۸^{aC}	۲/۱۸±۰/۱۰^{aC}	۳/۲۲±۰/۰۸^{aC}	۵/۰۰±۰/۱۵^{aC}	۶/۱۱±۰/۱۹^{aC}	۶/۸۹±۰/۱۲^{aC}
۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده	۱/۱۲±۰/۲۰^{aB}	۲/۱۰±۰/۱۴^{bB}	۲/۴۸±۰/۱۷^{cB}	۲/۹۸±۰/۲۲^{dB}	۳/۰۰±۰/۲۴^{eB}	۳/۱۵±۰/۱۸^{fB}
۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده	۱/۱۱±۰/۱۸^{aA}	۱/۴۸±۰/۱۱^{bA}	۱/۸۱±۰/۰۸^{cA}	۲/۰۰±۰/۱۴^{dA}	۲/۱۶±۰/۱۷^{eA}	۲/۵۶±۰/۰۶^{fA}

جدول ۴. بررسی تاثیر پروتئین هیدرولیز شده خیار دریایی بر میزان بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) سوریمی (میلی‌گرم ازت در ۱۰۰ گرم)؛ حروف کوچک متفاوت در هر ردیف، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ردیف است($p<0.05$). حروف بزرگ متفاوت در هر ستون، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ستون است ($p<0.05$).

تیمار / روز	۰	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد	۹/۱۵±۰/۱۴^{aC}	۱۸/۲۳±۰/۰۴^{bC}	۲۴/۵۶±۰/۱۵^{cC}	۳۱/۲۳±۰/۰۱^{dC}	۴۰/۰۰±۰/۱۵^{eC}	۴۸/۱۳±۰/۰۱^{fC}
۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده	۹/۱۱±۰/۲۲^{aB}	۱۵/۱۴±۰/۳۴^{bB}	۱۹/۰۰±۰/۲۸ ^{cB}	۲۰/۱۲±۰/۳۷^{dB}	۲۲/۱۳±۰/۳۰^{eB}	۲۵/۱۳±۰/۱۸^{fB}
۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده	۹/۰۰±۰/۴۴^{aA}	۱۲/۳۶±۰/۱۷^{bA}	۱۵/۵۶±۰/۲۰^{cA}	۱۸/۱۷±۰/۱۱^{dA}	۲۰/۱۰±۰/۳۷^{eA}	۲۲/۱۷±۰/۵۹^{fA}

جدول ۵ روند تغییرات اسیدهای چرب آزاد را در تیمارهای حاوی پروتئین هیدرولیزشده خیاردریایی در سوریمی نشان می دهد که، تفاوت معنی دار آماری بین تیمارها در روزهای مختلف مطالعه مشاهده گردید ($p<0.05$). تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیزشده کمترین میزان اسیدهای چرب آزاد را در بین سایر تیمارها نشان داد.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.1.3]

جدول۵. بررسی تاثیر پروتئین هیدرولیز شده خیار دریایی بر میزان اسیدهای چرب آزاد (FFA) سوریمی (درصد اسیداولئیک)

تیمار / روز	۰	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد	۰/۱۲±۰/۰۴^{aC}	۰/۲۹±۰/۰۴^{bC}	۰/۹۶±۰/۰۵^{cC}	۱/۲۳±۰/۰۷^{dC}	۲/۰۰±۰/۰۵^{eC}	۳/۳۳±۰/۰۱^{fC}
۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده	۰/۱۱±۰/۰۲^{aB}	۰/۲۲±۰/۰۴^{bB}	۰/۴۵±۰/۰۸ ^{cB}	۰/۸۰±۰/۰۳^{dB}	۱/۱۳±۰/۰۲^{eB}	۲/۰۰±۰/۰۱^{fB}
۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده	۰/۱۰±۰/۰۴^{aA}	۰/۲۰±۰/۰۷^{bA}	۰/۳۱±۰/۰۶^{cA}	۰/۳۹±۰/۰۵^{dA}	۰/۴۵±۰/۰۴^{eA}	۰/۸۹±۰/۰۵^{fA}

بررسی تاثیر پروتئین هیدرولیز شده خیار دریایی بر اندازه‌گیری میزان باکتری‌های شمارش‌شده

بار باکتریایی کل در سوریمی دارای سطوح ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده خیاردریایی (جدول ۶) روند افزایش معنی‌دار ($p<0.05$) را با افزایش زمان مطالعه در هر دو تیمار ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده خیار دریایی نشان داد. در تیمار ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بار باکتریایی کل در روزهای ۱۲ و ۱۵ اختلاف معنی‌داری نداشت ($p<0.05$).

جدول ۶. بررسی تاثیر پروتئین هیدرولیز شده خیاردریایی بر تغییرات میزان باکتری در سوریمی (Log CFU/g)

تیمار / روز	۰	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
TVC						
شاهد	۱/۴۴±۰/۰۸^{aC}	۴/۷۴±۰/۰۹^{bC}	۶/۱۴±۰/۰۰^{cC}	۹/۱۴±۰/۱۹^{dC}	۱۲/۱۴±۰/۰۵^{eC}	۱۶/۱۴±۰/۰۱^{fC}
۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیزشده	۱/۲۰±۰/۰۳^{aB}	۳/۱۰±۰/۲۵ ^{bB}	۴/۱۵±۰/۲۸^{cB}	۵/۰۰± ۰/۳۲ ^{dB}	۶/۱۲±۰/۱۸^{eB}	۶/۱۱±۰/۰۸ ^{eB}
۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیزشده	۱/۰۰±۰/۱۰^{aA}	۲/۱۲±۰/۱۱^{bA}	۳/۱۸±۰/۲۰^{cA}	۴/۱۴±۰/۰۹^{dA}	۴/۴۵±۰/۰۶^{eA}	۵/۲۲±۰/۰۵^{fA}
PTC						
شاهد	۲/14±۰/۰۱^{aC}	۳/۳۵±۰/۰۰^{bC}	۶/۱۰±۰/۰۰^{cC}	۸/۳۰±۰/۰۲^{dC}	۱۱/۰۰±۰/۰۱^{eC}	۱۴/۲۳±۰/۰۷^{fC}
۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده	۲/0۱±۰/۰۷^{aB}	۲/۵۰±۰/۰۸^{bB}	۳/۱۷±۰/۵۲ ^{cB}	۳/۶۰±۰/۱۸ ^{dB}	۴/۰۰±۰/۰۶^{eB}	۵/۱۶±۰/۱۰ ^{fB}
۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیزشده	۲/۰۰±۰/۰۲^{aA}	۲/۳۰±۰/۰۵^{bA}	۲/۷۰±۰/۰۸^{cA}	۳/۰۰±۰/۰۷^{cA}	۳/۲۵±۰/۱۱^{dA}	۴/۶۰±۰/۲۵^{eA}

همانند شمارش باکتری‌های کل، میزان باکتری‌های ساکروفیل نیز در هر دو تیمار مورد بررسی روند افزایشی را نشان داد و در روز پانزدهم در هر دو تیمار، بالاترین تعداد باکتری‌های ساکروفیل شمارش شده به دست آمد ($p<0.05$) (جدول ۶). تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده خیاردریایی، توانست کمترین میزان تعداد باکتری را در تمام روزهای مطالعه به خود اختصاص دهد ($p<0.05$).

بحث

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.1.3]

پپتیدهای زیست فعال، اجزاء پروتئینی هستند که در ساختار پروتئین اصلی غیرفعال بوده و طی آزاد شدن در جریان هیدرولیز آنزیمی، عملکردهای فیزیکوشیمیایی متعددی از جمله فعالیت آنتی‌کسیدانی از خود نشان می‌دهند [۲۱]. در مطالعه حاضر قدرت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده خیار دریایی بررسی شد و نتایج نشان داد در هر دو غلظت ۰/۵ و ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قدرت مهار رادیکال‌های آزاد توسط پروتئین هیدرولیز شده خیار دریایی خوب بود. Li و همکاران (۲۰۰۸) [22] طی بررسی که بر روی قدرت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد توسط پروتئین هیدرولیز شده (*Sphyraena jello*) انجام دادند، عنوان کردند که پروتئین‌های هیدرولیز شده دارای توانایی زدودن رادیکال‌های آزاد را دارند که با نتایج یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد [۲۲]. در مطالعه بررسی هیدرولیز آنزیمی ژلاتین پوست قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH را ۱/۹۹±۳۹/۸ درصد عنوان کردند که در مقایسه با مقادیر بدست آمده در تحقیق حاضر مقدار کمتری را نشان داد. در مطالعات Khantaphant و Benjakul (۲۰۰۸) [۲۴] بر روی پروتئین هیدرولیز شده ژلاتین پوست اسنپر قرمز (*Lutjanus campechanus*) و Klompong و همکاران (۲۰۰۹) [۲۳]، بر روی پروتئین هیدرولیز شده تراولی زرد (*Carangoides bartholomaei*) نیز عنوان شد که پروتئین هیدرولیز شده دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است. گونه آبزی و روش مطالعه محققان مختلف تاثیر زیادی در نتایج دارد [۲۳،۲۴،۲۵]. در مطالعه حاضر، با افزایش غلظت پروتئین هیدرولیز شده، خاصیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. پیشه‌ورزاد و همکاران (۱۳۹۳) [۲۵]، در مطالعه‌ای که بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های دو گونه خیار دریایی *Holothuria leucospilota* و *H. parva* انجام دادند عنوان کردند که قدرت مهار اکسیداسیونی همه نمونه‌های خیار دریایی با افزایش غلظت رابطه مستقیم داشته و به میزان غلظت وابسته است [۲۵]. Slizyte و همکاران (۲۰۱۶) [۲۶] در بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده ماهی سالمون عنوان کردند که رابطه مستقیم بین افزایش غلظت پروتئین و درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد وجود دارد که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد [۲۶]. تفاوت در میزان فعالیت انواع مختلف پروتئین هیدرولیزشده می‌تواند به دلیل تفاوت در ساختار پپتیدها باشد. ترکیب و توالی آمینواسیدهای پپتیدها نقش مهمی در توانایی مهار DPPH دارد. احتمالاً پروتئین هیدرولیزشده خیاردریایی حاوی آمینواسیدها یا پپتیدهایی است که دارای ترکیبات الکترون دهنده هستند و با رادیکال‌های آزاد واکنش داده و آنها را به محصولات پایدارتر تبدیل می‌کنند. تفاوت در ماده اولیه و شرایط پروسه هیدرولیز نیز موثر است. در مطالعات مختلف ثابت شده است که درجه هیدرولیز با افزایش زمان هیدرولیز بالا می‌رود. در واقع با افزایش زمان هیدرولیز، شدت هیدرولیز به علت اینکه آنزیم و سوبسترا بیشتر در مجاورت هم قرار می‌گیرند، زیاد می‌شود، اما به مرور کاهش می‌یابد. غلظت آنزیم و نوع سوبسترای پروتئینی بر درجه هیدرولیز و شرایط آن موثر است [۲۶].

از جمله پارامترهای بسیار مهم و تاثیرگذار بر روی ماندگاری یک ماده غذایی، شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی و نیز باکتری‌های سرمادوست است [۲۹]. نتایج این بررسی نشان داد که تعداد هر دو گروه باکتری با افزایش زمان نگهداری در سوریمی کپور نقره‌ای افزایش یافت، ولی این افزایش با بالارفتن غلظت پروتئین هیدرولیز شده روندی عکس داشت و تعداد باکتری‌ها در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده در مقایسه با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده خیار دریایی کمتر بود. در هر دو تیمار میزان شمارش هر دو گروه باکتری از ۷ Log CFU/g عبور نکرد [۳۴] که نشان می‌دهد پروتئین هیدرولیز شده خیار دریایی توانسته است با کنترل رشد باکتری‌ها، ماندگاری سوریمی کپور نقره‌ای را افزایش دهد. از جمله دلایل کنترل رشد باکتری توسط این ماده می‌توان به وجود ترکیباتی نظیر ساپونین، گلیکوزیدهای تری-ترپنی‌تری‌سولفاته که دارای خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی هستند اشاره کرد [۳۵،۳۶]. رضائیان و همکاران (۱۳۹۵) [۳۶] در بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره خیاردریایی بر روی فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان عنوان کردند که عصاره خیاردریایی احتمالاً به واسطه دارابودن ترکیبات زیستی با خاصیت ضدباکتریایی یک نگهدارنده طبیعی برای فیله در دمای یخچال بشمار می‌رود [۳۶]. Abraham و همکاران (۲۰۰۲) [۳۴] عنوان کردند که عصاره الکلی استخراج شده از گونه‌های *Actinopyga echinites*، *A. miliaris* و *Holothuria atra* دارای فعالیت ضدباکتریایی است که با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد [۳۴].

کندروتین سولفات فوکوزیله شده یک ترکیب غیرسمی و محلول در خیاردریایی است که خاصیت ممانعت‌کنندگی از تکثیر باکتری‌ها را دارد [۳۷،۳۸] که با اختلال در تنظیم اسمزی سلولی مرگ سلول را به همراه دارد. در بررسی اثر ضدباکتری عصاره‌های استخراج شده از خیاردریایی *Holothuria leucospilota*، پتانسیل ضدمیکروبی عصاره‌ها و یا ترکیبات بدست آمده از خیاردریایی را به علت حضور عوامل ضدمیکروبی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.1.3]

مانند ساپونین‌های استروئیدی، اسیدهای چرب چندغیراشباعی [۳۹]، گلیکولیپیدها، پلی‌آمین‌ها، کاروتنوئیدها یا استرول [۴۰] مرتبط دانستند و عنوان کردند که این ترکیبات زیست‌فعال با تاثیر بر روی دیواره و غشاء موجب متلاشی‌شدن سلول‌ها می‌شوند.

تاثیر پروتئین هیدرولیز شده خیاردریایی بر پارامترهای کیفی سوریمی نشان داد که کنترل میزان رشد باکتری توسط پروتئین هیدرولیز شده سبب کاهش میزان TVB-N شده و عاملی برای پایین بودن مقدار این پارامتر از حد مجاز است. مقایسه میزان بازهای نیتروژنی فرار در روزهای مختلف نگهداری سوریمی کپور نقره‌ای در دمای یخچال نشان داد که سطح TVB-N پس از روز صفر در هر دو تیمار مورد بررسی روند افزایشی به خود گرفت و در روز پانزدهم در هر دو تیمار مورد بررسی بالاترین مقدار این پارامتر را نشان دادند. در تیمار دارای غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با تیمار ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده خیاردریایی، مقادیر این شاخص کمتر بود. Ucak و همکاران (۲۰۱۱) [۱۶] حد مجاز TVB-N را ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن به ازای ۱۰۰ گرم نمونه اعلام کردند که بر اساس یافته‌های بدست آمده در دو تیمار حاوی پروتئین هیدرولیزشده در تمامی روزهای مطالعه زیر حد مجاز بدست آمد. بازهای ازته فرار عمدتاً در نتیجه فساد باکتریایی ایجاد می‌شوند و شاخصی مهم برای ارزیابی کیفی و ماندگاری محسوب می‌شوند.

در فرآیند اکسیداسیون، اکسیژن با اتصال به پیونددوگانه اسیدهای چرب غیراشباع، سبب اکسیداسیون چربی شده و پراکسیدها را تشکیل می‌دهد. عدد پراکسید در هر دو غلظت مورد بررسی با افزایش زمان روند افزایشی به خود گرفت، اما مقدار پراکسید اندازه‌گیری شده در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم کمتر بود. پروتئین‌های هیدرولیز شده با تشکیل لایه‌ای در اطراف قطرات روغن، از نفوذ آغازکننده‌های اکسیداسیون چربی جلوگیری می‌کنند و با افزایش سطح پروتئین هیدرولیز شده این خاصیت افزایش می‌یابد [۲۲] که با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. پروتئین هیدرولیز شده دربردانده انواع مختلفی از پپتیدها و یا پروتئین‌های دهنده هیدروژن است که با ایجاد واکنش با رادیکال‌های آزاد آنها را به محصولات پایدار تبدیل می‌کنند و در واقع واکنش زنجیره‌ای رادیکال‌ها را قطع می‌کنند [۲۴]. حد مجاز پراکسید برای مصارف انسانی ۱۰ میلی‌اکی والان در کیلوگرم است [۲۹] که تیمار حاوی ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از روز نهم به بعد و تیمار حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از روز ۱۲ به بعد از نظر مصرف انسانی مناسب نبودند.

مالون‌دی‌آلدئید بواسطه اکسیدشدن هیدروپراکسیدها به موادی نظیر آلدئید و کتون تبدیل می‌شود. در این میان تیوباربیتوریک اسیدها به طور گسترده‌ای به عنوان شاخص اکسیداسیون ثانویه چربی استفاده می‌شوند [۳۰]. در مورد میزان مالون‌دی‌آلدئید تولیدی در کیلوگرم یا TBA روند افزایش با افزایش زمان نگهداری، در هر دو تیمار پروتئین هیدرولیزشده مشاهده شد. افزایش میزان TBA در طول دوره را می‌توان به اکسیداسیون چربی و تولید متابولیت‌های فرار در حضور اکسیژن مربوط دانست [۳۱،۳۲]. اما بر اساس جدول ۳، در روزهای ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ روند افزایش TBA در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با تیمار۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم عدد کمتری را نشان داد. به طور کلی حد بالای TBA برای محصولات آبزیان در حدود ۳-۲ میلی‌گرم مالون‌آلدئید در کیلوگرم گوشت ماهی می‌باشد [۳۳] که در تمام روزهای مورد بررسی و در هر دو تیمار در محدوده مجاز بودند. مهار رادیکال‌های آزاد و مهار اکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع موجود در سوریمی توانست باعث کاهش اسیدهای چرب آزاد در تیمارهای حاوی توسط پروتئین هیدرولیز شده خیاردریایی شود. میزان کمتر اسیدهای چرب آزاد در نمونه‌های حاوی پروتئین هیدرولیزشده را می‌توان به کاهش رنسیدیتی هیدرولیتیک از طریق جلوگیری از بخار آب دانست. در مطالعات مختلف کاهش اسیدهای چرب آزاد توسط استفاده از پروتئین‌های هیدرولیزشده نشان داده شده است [۳۱،۳۲،۳۳].

در مورد pH روند افزایش مقدار این شاخص در هر روز و در هر دو تیمار به وضوح قابل مشاهده بود، اما نتایج نشان داد که افزایش غلظت پروتئین هیدرولیز شده بر روی این پارامتر تاثیری نداشت. افزایش میزان این شاخص را می‌توان با تجزیه گلیکوژن در سوریمی [۲۶] مرتبط دانست. Ozogul و همکاران (۲۰۱۳) [۲۷] pH بالاتر از ۷ را نشانه فساد اعلام کردند که طبق نتایج بدست آمده در هیچ یک از روزهای مورد بررسی و در هر دو تیمار از حد مجاز عنوان شده عبور نکرد [۲۷].

نتیجه‌گیری

نتایج شاخص‌های میکروبی و شیمیایی این پژوهش، با توجه به اثر آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشده خیاردریایی، نشان داد که تیمارهای حاوی پروتئین هیدرولیزشده توانستند ۹ روز بیشتر از تیمار شاهد (بدون پروتئین هیدرولیزشده) ماندگاری سوریمی را افزایش دهند.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.1.3]

تاییدیه‌های اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

سهم نویسندگان: مریم فارسی‌مدان پژوهشگر اصلی/ امور اجرایی تحقیق (۳۰ درصد)، لاله رومیانی، پژوهشگر اصلی/ نگارش مقاله (۷۰ درصد)

منابع مالی: تمامی هزینه‌ها توسط نویسنده اول تامین شده است.

منابع

1- Scott GR, Sloman KA cott GR, Sloman KA. The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. Aquat Toxicol. 2004; 68: 369–92.

2- Jalili S, Hamrang Omshi A. Physicochemical and sensory quality changes of surimi from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) in frozen storage at -18°C. isfj. 2011; 20(3): 33–44. (in Persian).

3- Ojagh SM, Sahari MA, Rezaei M, Hosseini S V. Applicability of β-carotene and green tea polyphenols as two natural antioxidants in preservation of common kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) with ice. Agric Res Rev. 2011;1(4):174–81.

4- CHEN D, AINSWORTH AJ. Glucan administration potentiates immune defence mechanisms of channel catfish, Ictalurus punctatus Rafinesque. Fish Dis. 1992;15(4):295–304.

5- Anderson DP. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. Annu Rev Fish Dis. 1992; 2: 281–307.

6- Raa J. The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming. Rev Fish Sci. 1996; 4(3): 229–88.

7- Bruckner AW, Johnson KA, Field JD. Conservation strategies for sea cucumbers: Can a CITES Appendix II listing promote sustainable international trade. SPC Bêche-de-mer Inf Bull. 2003;18(1):24–33.

8- Jao CL, Ko WC. 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging by protein hydrolyzates from tuna cooking juice. Fish Sci. 2002; 68(2):430–5.

9- Sugawara T, Zaima N, Yamamoto A, Sakai S, Noguchi R, Hirata T. Isolation of sphingoid bases of sea cucumber cerebrosides and their cytotoxicity against human colon cancer cells. Biosci Biotechnol Biochem. 2006; 70: 60318–9.

10- Adibpour N, Nasr F, Nematpour F, Shakouri A, Ameri A. Antibacterial and antifungal activity of *Holothuria leucospilota* isolated from Persian gulf and Oman sea. Jundishapur J Microbiol. 2014; 7(1).

11-Sarhadizadeh N, Afkhami M, Ehsanpour M. Evaluation bioactivity of a Sea cucumber, Stichopus hermanni from Persian Gulf. Eur J Exp Biol. 2014; 4(1): 254–8.

12- Guerard F, Guimas L, Binet A. Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. Mol Catal B Enzym. 2002; 19(20): 489–98.

13- Ovissipour M, Taghiof, M. Motamedzadegan A, Rasco B, Esmaeili Molla A. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of beluga sturgeon *Huso huso* using alcalase. Int Aquat Res. 2009; 1(1): 31–8. (in Persian)

14- Dey SS, Dora KC. Antioxidative activity of protein hydrolysate produced by alcalase hydrolysis from shrimp waste (*Penaeus monodon* and *Penaeus indicus*). Food Sci Technol. 2014 Mar;51(3):449–57.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.1.3]

15- Adeline Dorcas F, Sheila J, Estherly D, Priya I, Priyadarshini S. , & Priyadarshini, S. (2016). Study on the antimicrobial property of bitter orange (*Citrus aurantium* L.) Peel powder and developing recipes using the powde. Int Home Sci. 2016; 2(21):125–31.
16- Uçak İ, Özogul Y, Durmuş M. The effects of rosemary extract combination with vacuum packing on the quality changes of Atlantic mackerel fish burgers. Int Food Sci Technol. 2011; 46(6):1157–63.
17- Parvaneh V. Quality control and the chemical analysis of food. Tehran. University of Tehran Press. Third edition; 2007. 400 p.
18- Namulema A, Muyonga JH, Kaaya AN. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lares niloticus*) stored at -13 and -27°C. Food Res Int. 1999 Mar 1; 32(2):151–6.
19- Egan H, Krik RS, Sawyer R. Pearsons chemical analysis of foodes. Vol. 9. 1997. 609-634. p.
20- Liravi A, Roomiani L, Fazlara A. Study of chemicals, sensory and microbial indicators of spoligae of the consolidated burger (silver carp- red meat) during refrigrated storage. JFST. 2017; 63(14):15–28. (in Persian).
21- Sarmadi BH, Ismail A. Antioxidative peptides from food proteins: a review. Peptides. 2010; 31(10):1949–56.
22- Li Y, Jiang B, Zhang T, Mu W, Liu J. Antioxidant and free radical-scavenging activities of chickpea protein hydrolysate (CPH). Food Chem. 2008 Jan 15; 106(2): 444–50.
23- Klompong V, Benjakul S, Yachai M, Visessanguan W, Shahidi F, Hayes KD. Amino acid composition and antioxidative peptides from protein hydrolysates of yellow stripe trevally (Selaroides leptolepis). Food Sci. 2009; 74(2):126–33.
24- Khantaphant S, Benjakul S. Comparative study on the proteases from fish pyloric caeca and the use for production of gelatin hydrolysate with antioxidative activity. Comp Biochem Physiol - B Biochem Mol Biol. 2008 Dec 1;151(4):410–9.
25- Pishevarzad F, Yosefzadi M, Kamrani E, Moeini Zanjani T, Aliahmadi A, Keshavarz M. Antooxidant properties of extracts of two species of Persian Gulf sea cucumber. Aquatic Ecology Feb 4 (1): 29-34. (in Persian).
26- Slizyte R, Rommi K, Mozuraityte R, Eck P, Five K, Rustad T. Bioactivities of fish protein hydrolysates from defatted salmon backbones. Biotechnol Reports. 2016 Sep 1; 11: 99–109.
27- Song Y, Liu L, Shen H, You J, Luo Y. Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). Food Control. 2011 Mar 1; 22(3–4): 608–15.
28- Ozogul Y, Uçar Y. The effects of natural extracts on the quality changes of frozen chub mackerel (*Scomber japonicus*) burgers. Food Bioprocess Technol. 2013; 6(6): 1550–60.
29- Huss HH. Quality and quality changes in fresh_sh. FAO Fisheries Technical. 1995. 348 p.
30- Lindsay RC. Flavour of fish. Procceding of the 8th World Congress of Food Science and Technology; 29th September–4October; Toronto, Canada. In 1991.
31- Lu F, Liu D, Ye X, Wei Y, Liu F. Alginate-calcium coating incorporating nisin and EDTA maintains the quality of fresh northern snakehead (*Channa argus*) fillets stored at 4 °C. Sci Food Agric. 2009 Mar 30; 89(5): 848–54.
32- Chytiri S, Chouliara I, Savvaidis IN, Kontominas MG. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. Food Microbiol. 2004 Apr 1; 21(2): 157–65.
33- Karaçam H, Boran M. Quality changes in frozen whole and gutted anchovies during storage at - 18°C. Int Food Sci Technol. 1996; 31(6): 527–31.
34- Abraham T, Jawahar JN, Shanmugam SA. Antimicrobial substances of potential biomedical importance from holothurian species. Indian Geo-Marine Sci. 2002; 31(2):161–4.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.1.3]

35- Mokhlesi A, Saeidnia S, Gohari AR, Shahverdi, A. R. Mollazadeh-Moghaddam K, Es' haghi N. Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of Bohadschia marmorata, a sea cucumber from north coastal of Persian Gulf. Pharmacol. 2011; 3: 1029–38.
36- Rezaeeian H, Hosseini S V., Motalebi Moghanjooghi A, Miroaghafi A. Evaluation of the Antimicrobial Activity of Sea Cucumber (*Holothuria Leucospilota*) Extract on the Shelf-Life of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fillets during Refrigerated Storage. Nat Resour. 2018; 69(1): 29–37. (in Persian).
37- Huang N, Wu MY, Zheng CB, Zhu L, Zhao JH, Zheng YT. The depolymerized fucosylated chondroitin sulfate from sea cucumber potently inhibits HIV replication via interfering with virus entry. Carbohydr Res. 2013 Oct 18; 380:64–9.
38- Borsig L, Wang L, Cavalcante MC, Cardilo-Reis L, Ferreira PL, Mourąo PA, et al. Selectin Blocking Activity of a Fucosylated Chondroitin Sulfate Glycosaminoglycan from Sea Cucumber: Effect on tumor metastasis and neutrophil recruitment. Biol Chem. 2007 May 18; 282(20):14984–91.
39- Svetashev VI, Levin VS, Cham Ngok Lam, Do Tuet Nga. Lipid and fatty acid composition of holothurians from tropical and temperate waters. Comp Biochem Physiol. 1991 Jan 1; 98(4):489–94.
40- Vaskovsky VE, Kostetsky EY, Svetaschev VI, Zhukova IG, Smirnova GP. Glycolipids of marine invertebrates. Comp Biochem Physiol. 1970 May 1; 34(1):163–77.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.1.3]

Journal of Fisheries Science and Technology
Special issue on Persian Gulf ecosystem
Volume10, Issue 2, Spring 2021
Pages: 259- 271

Study of antioxidant activity of sea cucumber hydrolyzed protein (*Holothuria leucospilota*) and its effect on microbial and chemical properties of surimi of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*)

Maryam Farsimadan[1], Laleh Roomiani[2*]
1-Department of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran
2-Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

A B S T R A C T

The aim of this study was to investigate the antioxidant effect of cucumber hydrolyzed protein (*Holothuria leucospilota*) and its effect on microbial and chemical properties of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) at refrigerator temperature. Enzymatic digestion of cucumber muscle was performed using alkalase enzyme (1.5% of weight of raw material, 55 °C and 4hr). Surimi was prepared from silver carp fillet and added to it at two concentrations of 0.5 and 0.1 mg/ kg of hydrolyzed protein. Antioxidant activity, peroxide value (PV), total volatile nitrogen bases (TVB-N), thiobarbituric acid (TBA), pH, volatile fatty acids (FFA), aerobic mesophilic bacterial count and psychrotroph bacteria on 0, 3, 6, 9, 12 and 15 days were performed. The rate of free radical scavenging by cucumber hydrolyzed protein at 0.5 and 0.1 mg/ kg was 92.24% and 62.11%, respectively, which showed a higher value than the commercial antioxidant BHT ($p< 0.05$). The amount of peroxide in the treatment was 0.1 mg/ kg until the ninth day and in the treatment of 0.5 mg/ kg until the twelfth day was within the allowable range. The results of TVB-N, TBA, FFA, aerobic mesophilic bacterial and psychrophilic bacteria in both treatments and on the days of the study did not exceed the allowable limit. This study showed that cucumber hydrolyzed protein is able to control bacterial load and oxidation process in silver carp surimi. Treatments containing cucumber hydrolyzed protein could increase the shelf life of surimi for 9 days compared to the control treatment.

KEYWORDS: Hydrolyzed protein, *Holothuria leucospilota*, Antioxidant, Chemical and microbial properties, Surimi

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 19 January 2021
Accepted: 15 May 2021
ePublished: 31 May 2021

* Corresponding Author:
Email address: L.roomiani@yahoo.com
Tel: +98 9166436971
© Published by Tarbiat Modares University
eISSN:2476-6887 pISSN:2322-5513

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-04]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.2.1.3]