اثر پوشش ترکیبی آلژینات- صمغ دانه چیا بهمراه پروتئین هیدرولیز شده تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان بر ماندگاری گوشت طی مدت زمان نگهداری در یخچال

محمدحسن گلپایگانی [۱]، پیمان آریایی [۲*]، محمد احمدی [۳]، رضا صفری [۴]

۱- دانشجوی دکتری،گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ا... آملی،دانشگاه آزاد اسلامی،آمل، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ا... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی،آمل، ایران

۳- استادیار،گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ا... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی،آمل، ایران

۴- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، ساری، ایران

[*] مسئول مکاتبه:Email:p.aryaye@yahoo.com

چکیده

در این پژوهش تاثیر پروتئین هیدرولیز شده تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به همراه پوشش آلژینات- صمغ دانه‌چیا برای افزایش ماندگاری فیله گوشت طی دوره ۱۶ روزه نگهداری در یخچال بررسی شد. ابتدا پروتئین هیدرولیز شده توسط آنزیم آلکالاز تولید، بدین منظور ۵ تیمار فیله گوشت، شامل تیمار۱: شاهد، تیمار۲: آلژینات+ صمغ چیا، تیمار ۳: آلژینات+ صمغ چیا+ پروتئین هیدرولیز شده ۱درصد، تیمار ۴: آلژینات+ صمغ چیا+ پروتئین هیدرولیز شده ۱/۵درصد و تیمار ۵: آلژینات+ صمغ چیا + BHA تهیه و به صورت دوره‌ای مورد ارزیابی میکروبی (مقادیر باکتری کل و سرمادوست)، شیمیایی (مقادیر عدد پراکسید و بازهای نیتروژنی فرار) و حسی قرار گرفتند. نتایج مربوط به پروتئین هیدرولیز شده نشان داد درجه هیدرولیز در زمان‌های مختلف هیدرولیز مابین ۲۴/۴۷-۴۰/۴۸ بود و پروتئین هیدرولیز شده حاوی مقدار بالایی از اسیدهای آمینه آبگریز (۴۲/۷۹) بود. پوشش آلژینات- صمغ دانه چیا سبب کند شدن فساد میکروبی و شیمیایی و افزودن پروتئین هیدرولیز شده تخم ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان باعث بهبود ویژگی‌های مذکور شد و با افزایش غلظت پروتئین هیدرولیز شده نتایج بهتری مشاهده شد به طوریکه تیمار ۴ روند فساد میکروبی و اکسیداسیونی در گوشت را به طور معنی‌داری به تعویق انداخت و عمر ماندگاری گوشت را افزایش داد، همچنین در اکثر موارد به طور موثرتری از آنتی اکسیدان سنتزی BHA عمل نمود ($P<۰/۰۵$). با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان نتیجه گیری کرد که به طور کلی افزودن پروتئین هیدرولیز شده تخم ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان در سطح ۱/۵ درصد به پوشش آلژینات- صمغ دانه‌چیا می‌تواند تقاضای مصرف کنندگان به فرآورده های گوشتی عاری از مواد شیمیایی را تامین نماید.

کلمات کلیدی: پروتئین هیدرولیز شده، آنزیم آلکالاز ، تخم ماهی، پوشش مرکب، کیفیت گوشت

۱- مقدمه

گوشت قرمز به عنوان یکی از عمده‌ترین مواد غذایی مصرفی انسان‌ها شناخته شده که با دارا بودن منابع سرشاری از پروتئین، انرژی و ویتامین‌های B، مواد معدنی و اسیدهای آمینه جزء منابع مغذی و ارزشمند غذایی محسوب می‌گردد. علاوه بر ارزش بالای غذایی گوشت قرمز در ایران و جهان، صنایع مرتبط با تولید، نگهداری، بسته بندی، فرآوری و توزیع گوشت قرمز نقش مهمی در ایجاد ارزش افزوده، اشتغال و تجارت کشورهای درگیر با آن و در کل در تمام دنیا ایفا می‌نمایند (۳۵). برخی از میکروارگانیسم-های مولد فساد در سطح گوشت طی دوره نگهداری در یخچال وجود دارد و در دمای پایین رشد می‌کنند و در نتیجه باعث کاهش ماندگاری گوشت طی دوره نگهداری در یخچال می‌شوند (۱۳، ۳۹). در سال‌های اخیر، بسته بندی‌های ضدباکتریایی یا فعال توجه زیادی را به خود جلب کرده است، زیرا پتانسیل بالایی برای برآوردن خواسته های تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان در مورد محصولات با ماندگاری بیشتر دارند (۲۳، ۳۰).

آلژینات سدیم دارای خواص ژل خوب و قابلیت تشکیل فیلم است، و فیلم‌های آلژینات دارای مزایای شفافیت و خواص مکانیکی هستند که به طور گسترده در دارو و غذا استفاده می شود. توجه محققان به فیلم‌های مرکب دو یا سه پلیمر بیشتر است. با این حال، فیلم‌های منفرد دارای ضعف‌های خاص، شکنندگی بالا و خواص کششی ضعیف هستند. بنابراین، خواص فیلم‌های خوراکی را می توان با افزودن پلیمرهای مختلف مانند پلیمرها، هیدروکلوئیدها و لیپیدها بهبود بخشید (۱۱). صمغ دانه چیا یک هیدروکلوئید جدید، استخراج شده از دانه‌های گیاه چیا است که در سال‌های اخیر به خاطر رفتار خاص رئولوژیکی و راحتی استخراج، محققان سعی در به کار بردن آن به عنوان عامل تغلیظ کننده و ژل کننده در صنعت غذا داشته‌اند. از آن جایی که آگاهی بسیار خوبی از موارد کاربرد دارویی این دانه ایجاد شده است، بدیهی است مواد غذایی فرموله شده با صمغ دانه چیا هم به خوبی توسط مصرف کنندگان مورد پذیرش قرار می‌گیرند. دانه های چیا به دلیل ترکیب تغذیه ای قابل توجه، از جمله محتوای بالای پروتئین (۱۵ تا ۲۵ درصد) ، چربی (۳۰ تا ۳۳ درصد) و فیبر (۴۱ درصد) ، محبوبیت ویژای پیدا کرده اند و شامل همه‌ی اسید آمینه‌های ضروری به ویژه گلوتامیک اسید، آرژنین، آسپارتیک اسید، آلانین، فنیل آلانین، لوسین، سرین است (۲۱، ۳۶).

تخم ماهی[1] محصولی بسیار با ارزش می‌باشد و در بسیاری از نقاط دنیا مصرف می‌گردد. بخش بزرگی از تخم ماهیان در کشورهای آسیایی مورد مصرف قرار نمی‌گیرد و به عنوان دورریز می‌باشند. تخم ماهی با داشتن ۱۱ درصد آلبومین، ۷۵ درصد اووگلوبولین و ۱۳ درصد کلاژن منبع خوبی برای تولید پپتیدهای زیست فعال از طریق هیدرولیز آنزیمی می‌باشد (۲۸). فرآورده‌ها و ضایعات دریایی نیز به عنوان منبع خوبی از پپتیدهای دارای فعالیت آنتی اکسیدانی به اثبات رسیده‌اند. فرآیند هیدرولیز آنزیمی روش موثری برای تعدیل منابع پروتئینی کم مصرف به فرآورده‌های با ارزش است و می‌تواند خواص کاربردی و فعالیت‌های زیستی پروتئین‌ها را بدون تاثیر بر ارزش غذایی بهبود بخشد (۲۶). هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌ها یکی از روش‌های بهبود خصوصیات پروتئین‌هاست. خصوصیات پروتئین هیدرولیز شده با درجه هیدرولیز و ساختار پپتیدهای تولید شده تعیین می‌شود و این موارد بستگی به ویژگی پروتئین و خصوصاً نوع آنزیم به کار رفته و شرایط هیدرولیز به‌ویژه دما و pH دارد (۳۱). فرآیند هیدرولیز آنزیمی می‌تواند با استفاده از آنزیم‌ها با منشا داخلی (فرآیند اتولیز) و نیز آنزیم‌های تجاری انجام شود. فرآیند کاربرد

[1] Fish roe

آنزیم‌های تجاری به جای فرآیندهای شیمیایی و یا آنزیم‌های داخلی دارای مزایای بسیار زیادی است. زیرا کل فرآیند هیدرولیزاسیون کاملا تحت کنترل است، در نتیجه محصول و فرآورده‌های با خواص مشخص تولید می‌شود. یکی از فاکتورهای تعیین کننده و مهم در هیدرولیز آنزیمی با استفاده از آنزیم‌های تجاری، انتخاب آنزیم پروتئاز می‌باشد. آنزیم‌های که برای هیدرولیز پروتئین‌های غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند، حداقل باید دارای یک ویژگی مشترک باشند، آن‌ها باید از ارزش غذایی برخوردار باشند و اگر منشأ میکروبی دارند، ارگانیزم تولیدکننده آن‌ها باید غیربیماری‌زا باشد (۳۷). قزل‌آلای رنگین‌کمان ماهی پرورشی تجاری است که به طور وسیع در داخل کشور تکثیر و پرورش داده می‌شود. اغلب اجزای تشکیل دهنده این آبزی، به ویژه تخم آن به دلیل طعم و مزه مطلوب و فواید تغذیه‌ای بالا مورد پسند مردم قرار می‌گیرد. اما پرورش دهندگان این گونه ماهی در زمان تکثیر، ماهیان پیش مولدی دارند که تخم‌های بدست آمده از آنها به دلیل پایین بودن بازده لقاح و باروری دورریخته می‌شوند و در مواردی با تخم‌های رسیده مازاد مواجه هستند (۲۲).

Rajabzadeh و همکاران (۲۰۱۷) به تولید پروتئین هیدرولیز شده تخم قزل‌آلای رنگین‌کمان توسط پپسین و آلکالاز پرداختند. درجه هیدرولیز به ترتیب ۴۴/۰۸ و ۲۷/۶۲ درصد (پپسین و آلکالاز) بود. و هر دو پروتئین هیدرولیز شده حاوی مقدار بالایی از اسیدهای آمینه ضروری (۳۳/۵۳ درصد آلکالاز-۲۹/۳۹ درصد پپسین) بودند (۲۸).

Pezeshk و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی تاثیر پروتئین هیدرولیز شده ماهی تن زرده باله بر مقادیر فساد اکسیداسیونی و میکروبی گوشت چرخ شده کپور نقره ای پرداختند، آنها اعلام نمودند پروتئین هیدرولیز شده می تواند فساد میکروبی و اکسیداسیون را در گوشت چرخ شده کپور نقره ای به تأخیر اندخته و خواص حسی گوشت را در طی نگهداری در شرایط یخچالی بهبود دهد (۲۷).

با توجه به اینکه اطلاعات مصرف کنندگان در مورد ارزش غذا، ایمنی و اجزای آن در سراسر جهان در حال افزایش است و مصرف کنندگان ترجیح می دهند از نگهدارنده‌های طبیعی استفاده نمایند. بنابر این استفاده از پروتئین هیدرولیز شده از تخم ماهی (محصولی بسیار با ارزش دور ریز) به همراه پوشش‌های خوراکی کامپوزیت منطقی به نظر می رسد. با این حال، با توجه به بررسی هایی که ما انجام داده‌ایم مطالعات اندکی در مورد فیلم‌های کامپوزیت خوراکی مبتنی بر پوشش ترکیبی به همراه پروتئین هیدرولیز شد گزارش شده بود. بنابر این هدف از مطالعه حاضر تولید پروتئین هیدرولیز شده حاصل از هیدرولیز آنزیمی تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان توسط آنزیم‌های آلکالاز ، بهمراه پوشش ترکیبی (آلژینات، صمغ دانه چیا) در جهت افزایش عمر ماندگاری گوشت می‌باشد.

۲-مواد و روش ها

۲-۱مواد اولیه

تخمدان‌های کامل از ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان از مرکز تکثیر و پرورش ساری در سال ۱۳۹۹ تهیه و به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی منتقل گردید. آنزیم آلکالاز (استخراج شده از*Bacillus licheniformis*) از شرکت نووازیم (دانمارک) تهیه شد و تا زمان مصرف در درجه حرارت ۴ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شد. آلژینات از نمایندگی شرکت مرک آمریکا و دانه چیا با نام تجاری ا.آ.ب از فروشگاه زنجیره‌ای آرین تهیه شد. تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده در آزمایش از شرکت مرک آلمان تهیه و از درجهٔ آزمایشگاهی برخوردار بودند.

۲-۲آماده سازی نمونه‌های تخم ماهی

تخم همگن شده ماهی قزل آلا در آون با دمای ۶۸ درجه‌سانتی‌گراد طی مدت زمان ۱۰-۸ ساعت خشک و سپس توسط آسیاب پودر گردید. پودر خشک شده تخم ماهی با ایزوپروپانول با نسبت ۳:۱ در دمای محیط (۲±۲۴درجه‌سانتی‌گراد) به مدت ۲ ساعت هموژن شد (۲۴). پس از عبور از کاغذ صافی، نمونه‌ها در خشک کن (FDB-550، ایران، کره جنوبی) در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت، خشک شدند. ماده خشک شده به کمک آسیاب پودر و در ظروف در بسته در دمای ۲۰- درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شد (۷).

۲-۳ تعیین غلظت بهینه مورد نیاز برای هر آنزیم

بعد از آماده‌سازی پودر پروتئینی تخم ماهی و اندازه‌گیری میزان پروتئین آن، ابتدا غلظت بهینه برای عمل هر آنزیم تعیین گردید (۶). پودر پروتئینی با نسبت ۳۰/۱ وزنی/حجمی با آب مقطر مخلوط شد.pH نمونه برای آنزیم آلکالاز (pH=۸) تنظیم گردید. سپس آنزیم آلکالاز در غلظت‌های مختلف (۱، ۲ و ۳ درصد) در زمان ۱۲۰ دقیقه در دمای مشخص آنزیم آلکالاز ، ۵۷ درجه‌سانتی‌گراد انکوباسیون گردید. بعد از هیدرولیز آنزیمی، ۳۰ میلی لیتر نمونه با ۳۰ میلی لیتر از محلول تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد مخلوط و سپس درg۱۴۰۵۰ (۲۰دقیقه و دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد) سانتریفیوژ گردید (۵).

۲-٤ تأثیر زمان بر درجه هیدرولیز

جهت انتخاب زمان بهینه آنزیم‌آلکالاز با غلظت بهینه (۲ درصد،تعیین شده از آزمون فوق) در زمان‌های ۶۰، ۹۰، ۱۲۰و ۱۵۰ دقیقه در دما و pH بهینه هیدرولیز، تیمار شد. سپس ۳۰ میلی لیتر پودر تخم ماهی با ۲۰ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد مخلوط، سپس سانتریفیوژ (CENTRIC CF 48/-R) (۲۰ دقیقه و دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد) گردید (۶). طبق بخش تعیین غلظت بهینه آنزیم میزان نیتروژن کل و درجه هیدرولیز تعیین شد.

درجه هیدرولیز براساس میزان α آمینو اسید در میزان پروتئین نمونه محاسبه شد (۸).

۲-۵ آماده سازی پروتئین هیدرولیز شده تخم قزل آلای رنگین کمان

۵ گرم پودر تخم ماهی با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط گردید. پس از تنظیم pH بهینه، دما برای عمل بهینه آنزیم آلکالاز (۵۷ درجه سانتی‌گراد) تنظیم و سپس غلظت انتخابی آنزیم ۲درصد) به نمونه‌ها اضافه شد و هیدرولیز آنزیمی طی زمان انتخابی (۱۲۰دقیقه) انجام گردید. پس از اتمام هیدرولیز، برای غیر فعال‌سازی آنزیم‌ها، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۹۵-۸۵ درجه‌سانتی‌گراد حرارت داده و سپس در g۱۳۰۰۰ (۳۰ دقیقه، ۴ درجه‌سانتی‌گراد) سانتریفیوژ شد. سوبسترا بدست آمده توسط خشک کن تصعیدی، خشک و پروتئین هیدرولیز شده تخم ماهی جهت انجام آزمایشات در ظروف در بسته در ۲۰- درجه‌سانتی‌گراد نگهداری گردید (۶، ۲۸).

۲-٦ تعیین ترکیب اسید آمینه

پودر پروتئین هیدرولیز شده برای مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۱۰ درجه‌سانتی‌گراد با استفاده از هیدروکلریک ۶ نرمال هیدرولیز کامل شد. سپس با استفاده از فنیل ایزو تیوسیانات (PITC) عمل مشتق‌سازی اسیدهای آمینه انجام شد. میزان اسیدهای آمینه کل

با استفاده از دستگاه HPLC مدل Smart line (آلمان) با استفاده از ستون C18 با آشکارساز فلورسنت (RF-530) انجام شد (۱۶).

۲-۷ استخراج صمغ از دانه چیا

جهت انجام فرآیند استخراج، به دانه‌های چیا (به نسبت ۱:۲۰) آب اضافه و پس از ۳۰ دقیقه و با مشاهده دانه‌های متورم شده و تشکیل ژل در اطراف آن‌ها، نمونه ها درون دستگاه سانتریفیوژ (به مدت ۲۰ دقیقه و دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد) قرار داده شد. موسیلاژ استخراج شده، درون آون (بهداد، ایران)، (به مدت ۲ ساعت و دمای ۵۰ درجه‌سانتی‌گراد) خشک، سپس به وسیله ی آسیاب پودر شد. پودر حاصل در کیسه‌های پلی اتیلنی قرار داده شد و تا زمان مصرف در جای خشک و خنک نگهداری گردید (۱۵).

۲-۸ تهیه گوشت

گوشت گوسفندی (قسمت ران) مورد نیاز از مرکز فروش شهرستان ساری خریداری و با رعایت شرایط صحیح انتقال به آزمایشگاه تخصصی صنایع غذایی منتقل گردید و پس از آماده سازی گوشت، فیله‌هایی با وزن ۱۰۰-۸۰ گرم تهیه شد.

۲-۹ تهیه پوشش ترکیبی (آلژینات+ صمغ چیا) غنی شده با پروتئین هیدرولیز شده تخم قزل‌آلا

برای تهیه محلول ۲درصد وزنی- حجمی پوشش آلژینات ابتدا ۲۰ گرم پودر آلژینات به یک لیتر آب مقطر اضافه گردید و عمل هم زدن با سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه انجام و در ادامه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه‌سانتی‌گراد حرارت‌دهی شد. محلول صمغ چیا در سطح ۱ وزنی- وزنی از طریق انحلال صمغ در آب مقطر و هم زدن شدید با سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه با همزن مغناطیسی به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط تهیه گردید. در مرحله بعد ۲۰۰ میلی‌لیتر از محلول آلژینات به آرامی به محلول صمغ اضافه شده و به مدت ۴ ساعت عمل هم‌زدن ادامه یافت. پس از گذشت این مدت ابتدا میزان ۲ درصد گلیسرول با دو سطح پروتئین هیدرولیز شده (۱ و ۱/۵ درصد) به محلول آلژینات به صورت مکانیکی مخلوط گشته و بعد از یکنواخت شدن به محلول‌های پوشش ترکیبی اضافه گردید و به مدت دو دقیقه عمل همزدن به کمک دستگاه هموژنایزر (سری Raffaello HA32) و با دور ۹۰۰۰ دور در دقیقه صورت گرفت تا پپتیدها به طور یکنواخت در ماتریس پوشش پخش شدند (۲۹).

۲- ۱۰آماده سازی نمونه‌ها

فیله‌ها (۱۰۰-۸۰ گرم) به مدت ۱ دقیقه در پوشش ترکیبی(آلژینات (۲درصد) + صمغ چیا (۱ درصد)) و همچنین پوشش ترکیبی (آلژینات (۲درصد)+ صمغ چیا (۱ درصد)) غنی شده با دو سطح پروتئین هیدرولیز شده تخم ماهی با غلظت‌های (۱ و ۱/۵ درصد) غوطه‌ور شد، سپس آنها را از محلول خارج و به مدت ۳۰ ثانیه اجازه داده شد تا آب چک انجام شود. پس از خشک شدن پوشش، فیله‌ها به یخچال منتقل شده و در دمای ۲ ± ۴ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۱۶ روز نگهداری و در فواصل زمانی ۰، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶روز مورد ارزیابی میکروبی و شیمیایی قرار گرفت. یک تیمار بدون پوشش نیز به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد.

۲-۱۱ تغییرات اکسیداتیو

مقدار پراکسید (PV) روغن استخراج شده از گوشت با استفاده از روش پیرسون تعیین شد (۲).

بازهای نیتروژنی کل (TVB-N) با استفاده از روش micro-diffusion مطابق با Javadian و همکاران (۲۰۱۷) تعیین شد (۱۹).

۲- ۱۲ تغییرات میکروبی

برای شمارش باکتریایی نمونه‌ها، ۱۰ گرم از نمونه فیله گوشت در شرایط استریل با ۹۰ میلی‌لیتر محلول کلرید سدیم ۰/۸۵ مخلوط و هموژن شد و متعاقب آن رقت‌های متوالی ($۱۰^{-۲}$ تا $۱۰^{-۱۰}$) تهیه گردید. یک میلی‌لیتر از هر رقت برای کشت باکتری ها به روش پور پلیت[1] مورد استفاده قرار گرفت. شمارش تعداد باکتری‌های کل و باکتری‌های سرمادوست در محیط پلیت کانت آگار [2] به ترتیب در دماهای ۳۷ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۲ روز و ۷ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز با شمارش کلنی‌های موجود بر روی پلیت انجام گرفت.تمامی شمارش‌ها به صورت log CFU/g گزارش گردید (۳۳).

۲-۱۳ آزمون حسی

ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های گوشت توسط ۱۰ ارزیاب نیمه آموزش دیده از نظر رنگ، بو، طعم و پذیرش کلی در روز اول نگهداری توسط آزمون هدونیک پنج نقطه‌ای استفاده شد که امتیاز ۵ بیانگر بسیار خوب بودن و امتیاز ۱ بیانگر بسیار بد بودن نمونه بود (۱۲).

۲-۱٤ تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها در طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد و نتیجه به‌صورت میانگین با انحراف معیار گزارش گردید. آنالیز آماری تیمارها توسط جدول آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم افزار (SPSS version 18) صورت گرفت. برای بیان اختلاف معنی‌داری میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ استفاده شد و نمودارها با نرم‌افزار Microsoft Excel ترسیم شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی مقادیر درجه هیدرولیز

نتایج مربوط به درجه هیدرولیز در جدول ۱ آورده شده است با افزایش غلظت آنزیم تا ۲ درصد مقادیر درجه هیدرولیز افزایش یافت($P<۰/۰۵$). این افزایش به دلیل برخی از پپتیدهای آزاد شده توسط آنزیم به اسیدهای آمینه و پپتیدهای کوچکتر با افزایش غلظت آنزیم می باشد (۱۷). اما غلظت ۲ و ۳ درصد آنزیم اختلافی با هم نداشتند ($P>۰/۰۵$). که در واقع این تاثیر مثبت تنها تا غلظت ۲درصد بوده است. با افزایش زمان هیدرولیز مقادیر درجه هیدرولیز (جدول ۲) به طور معنی داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). دلیل این امر میتواند این باشد که در مدت زمان بیشتر فعالیت آنزیمی بیشتر صورت گرفته و باندهای پپتیدی مدت زمان بیشتری در دسترس قرار می‌گیرند و دچار شکست بیشتر می‌شوند که حاصل شکست بیشتر باندهای پپتیدی نتیجه درجه هیدرولیز بیشتر را در پی دارد (۲۵، ۳۱). اما زمان ۱۲۰ و ۱۵۰ دقیقه اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. این موضوع به دلیل کاهش سوبسترای موجود با افزایش زمان می تواند باشد.

بنابراین پروتئین هیدرولیز شده تولیدی با استفاده از غلظت ۲درصد آنزیم و زمان ۱۲۰ دقیقه برای آزمون‌های بعدی استفاده شد.

[1] Pour plat
[2] Plate count agar

جدول ۱:مقادیر درجه هیدرولیز پروتئین‌های هیدرولیز شده با استفاده از آنزیم آلکالاز

غلظت آنزیم (درصد)	آنزیم آلکالاز
۱	۳٦/۸٥±۲/٦۸[b]
۲	٤۰/۲٥±۰/۸۸[a]
۳	٤۰/۹۱±۰/۳۳[a]

۱) همه اعداد بر حسب درصد بیان شده است (میانگین ± انحراف از معیار)

۲) اعداد در یک ستون با حروف متفاوت اختلاف معنی دار دارند.(a, b, c,..)

جدول ۲: مقادیر درجه هیدرولیز پروتئین‌های هیدرولیز شده با استفاده از آنزیم آلکالاز

زمان هیدرولیز (دقیقه)	آنزیم آلکالاز
٦۰	۲٤/٤۷±۰/٥۹[c]
۹۰	۳۲/۷۳±۰/۸٤[b]
۱۲۰	٤۰/۲٥±۰/۸۸[a]
۱٥۰	٤۰/٤۸±۰/٦۳[a]

۱) همه اعداد بر حسب درصد بیان شده است (میانگین ± انحراف از معیار)

۲) اعداد در یک ستون با حروف متفاوت اختلاف معنی دار دارند.(a, b, c,..)

۳-۲ ترکیب اسید آمینه

عملکرد هر پپتید بیشتر به ترکیب اسید آمینه آن بستگی دارد به عنوان مثال، اسیدهای آمینه آبگریز (HAA) به شدت دارای فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشد. مجموع اسیدهای آمینه آبگریز (جدول ۳) برابر با ۴۲/۷۹ بوده است. بنابراین، می توان ادعا کرد که پروتئین‌های هیدرولیز شده به دلیل وجود مقادیر بالایی از HAA ممکن است اثرات مهاری بر روی چندین نوع رادیکال آزاد داشته باشند (۲۸).

فراوان‌ترین اسیدهای آمینه ضروری، لوسین و لایزین و سپس ترئونین بودند که با مطالعات گذشته مطابقت دارد (۴، ۲۸). ارزش تغذیه‌ای پروتئین هیدرولیز شده به وجود آمینواسیدهای ضروری برای برآورده کردن نیازهای عملکردی بدن انسان بستگی دارد (۶). مقادیر اسیدهای ضروری در مطالعه حاضر برابر با ۳۵/۳۱درصد بود.

مقادیر ترئونین، والین، ایزولوسین، لوسین، تیروزین،هیستیدین و لایزین در هر دو پروتئین هیدرولیز شده نیز بالاتر از توصیه‌های FAO/WHO (1990) در مورد پروتئین‌های حیوانی یافت شد، نشان می‌دهد که پروتئین های تخم قزل‌آلا از کیفیت غذایی بالایی برخوردار هستند و ممکن است به عنوان یک منبع پروتئین در رژیم غذایی انسان مورد استفاده قرار گیرند (۱۴).

با توجه به FAO/WHO (1990) نسبت اسید آمینه ضروری به کل اسید آمینه‌ها نباید کمتر از ۴۰درصد باشد و همچنینی میزان اسید آمینه ضروری به غیر ضروری نباید کمتر از ۰/۶ باشد. با توجه به نتایج هر دو پروتئین هیدرولیز شده از ترکیب اسید آمینه مناسبی برخوردار است. نسبت اسید آمینه ضروری به غیر ضروری برابر با ۰/۶۷ و میزان اسید آمینه ضروری به کل اسید آمینه موجود برابر با ۴۰/۰۵ به ترتیب بوده است. هر پروتئین هیدرولیز شده دارای مقادیر مناسبی هستند (۱۴).

جدول ۳: ترکیب اسید آمینه موجود در پروتئین هیدرولیز شده

اسید آمینه (گرم در ۱۰۰ گرم نمونه)	آلکالاز	FAO/ WHO, 1990
هیستدین[1]	۱/۰۹	
ایزو لوسین[1]	۳/۰۵	۲/۸۰
لوسین[1]	۸/۵۵	٦/٦۰
لایزین[1]	۵/۹۹	۵/۸۰
متیونین[1]	۱/۰۵	
فنیل آلانین[1]	۵/۵۵	٦/۳۰
تروئنین[1]	۵/۷۸	۳/٤
والین[1]	٤/۱۱	۳/۵
آسپارتیک اسید	٦/۲۳	
آرژنین	٤/۹۹	
پرولین	۵/۳۵	
سرین	٤/۲۵	
آلانین	۸/۸۵	
سیستئین	۱/۵۵	
گلوتامیک اسید	۱۵/۲۵	
تیروزین	۵/۵٤	۱/۱
گلایسین	۱/۰۵	
نسبت اسید آمینه ضروری به کل اسید آمینه	٤۰/۰۵	
نسبت اسید آمینه ضروری به اسید امینه غیرضروری	۰/٦۷	
HAA[2]	٤۲/۷۹	
میزان اسید آمینه کل	۸۹/۰۰	

[1] اسیدآمینه ضروری

[2] مجموع اسیدهای آمینه آبگریز (آلانین، والین، ایزولوسین، لوسین، تیروسین، فنیل آلانین، تریپتوفان، پرولین، متیونین و سیستئین)

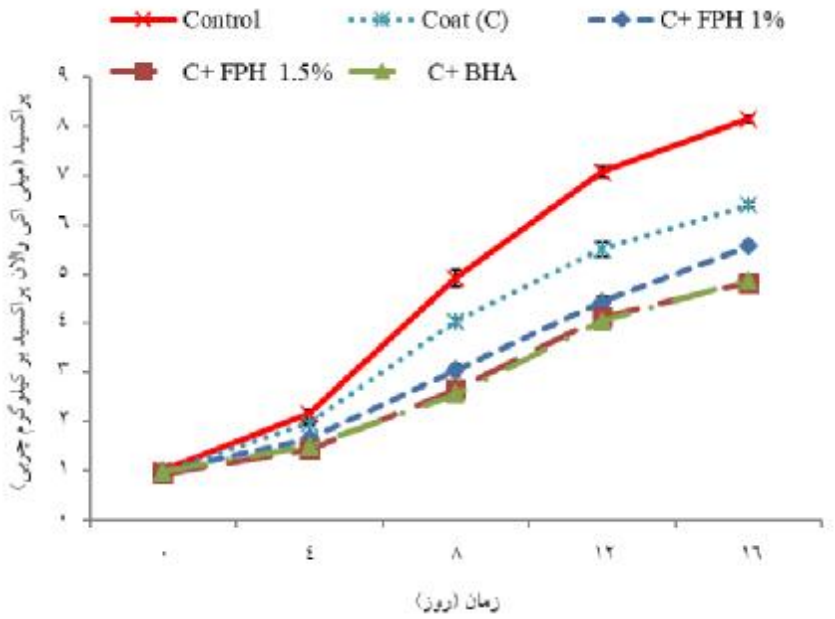
۳-۳ مقادیر عدد پراکسید طی مدت نگهداری

نتایج مربوط به مقادیر عدد پراکسید در نمودار ۱ آورده شده است. با توجه به نتایج آنالیز آماری در اکثر روزها بیشترین مقادیر در تیمار شاهد، مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). افزودن نگهدارنده‌ها سبب کند شدن روند افزایشی عدد پراکسید شد، هیدروکلوئیدها، مانع

از نفوذ اکسیژن به درون بافت می‌شود و در نتیجه از سرعت اکسیداسیون اولیه چربی‌ها و متعاقب آن تشکیل هیدروپرواکسیدها کاسته می‌شود (۳۲). با افزایش غلظت پروتئین هیدرولیز شده نتایج بهتری مشاهده شد و به طوری که در روز ۱۶ ام نگهداری کمترین مقادیر عدد پراکسید در تیمار پوشش+ پروتئین هیدرولیز شده ۱/۵درصد و بیشترین مقادیر در تیمار شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵). فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده عمدتا به پپتیدهای موجود در پروتئین هیدرولیز شده بستگی دارد. پروتئین هیدرولیزشده سرشار از پپتیدهای حاوی آمینو اسیدهای آبگریز، مانند والین ، پرولین، لوسین، تیروزین و فنیل آلانین می-باشد که اعتقاد بر این است که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند. علاوه بر این، اسیدهای آمینه اسیدی گلوتامیک اسید و آسپارژیک اسید و یا اسید آمینه اساسی لایزین نقش مهمی در کلاتاسیون یون‌های فلزی توسط گروه‌های کربوکسیل خود دارند (۲۷) و با افزایش غلظت پروتئین هیدرولیز شده، خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش می‌یابد.

میزان مجاز پراکسید در فرآورده‌های گوشتی برای مصرف انسانی ۵ است (۳۸). بر این اساس به تیمار پروتئین هیدرولیزشده ۱/۵درصد و BHA تا انتهای دوره نگهداری سالم ماندند.

Pezeshk و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی تاثیر پروتئین هیدرولیز شده ماهی تن زرده باله بر مقادیر عدد پراکسید گوشت چرخ شده کپور نقره ای پرداختند، آنها نیز اعلام نمودند بیشترین مقادیر عدد پراکسید در تیمارشاهد مشاهده شد و کمترین مقادیر در تیمار حاوی پروتئین هیدرولیز شده ۱/۵٪ مشاهده شد (۲۷).

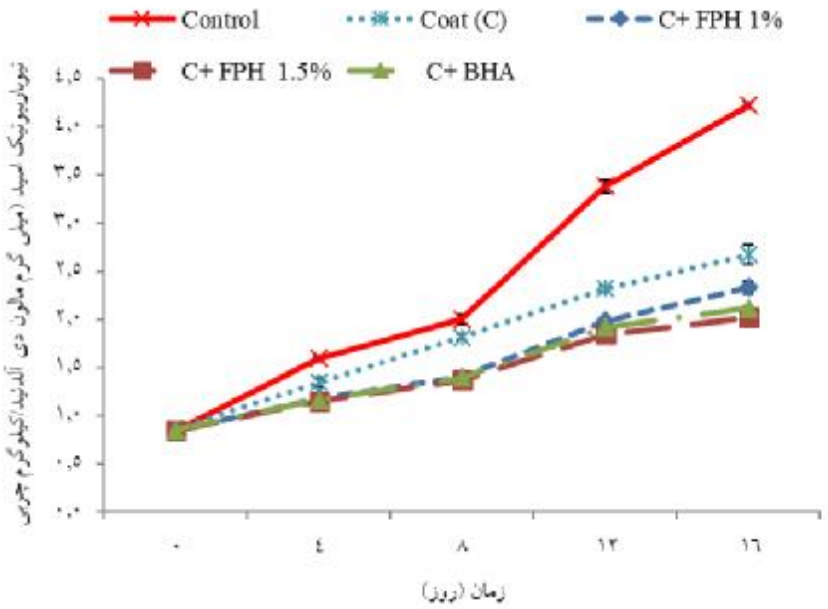


نمودار ۱: مقادیر عدد پراکسید در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

۳-٤ مقادیر تیوباربیوتیک اسید طی مدت نگهداری

نتایج مربوط به مقادیر تیوباربیوتیک اسید در نمودار ۲ آورده شده است. با توجه به نتایج آنالیز آماری در اکثر روزها بیشترین مقادیر با افزایش زمان مقادیر تیوباربیوتیک اسید در تمامی تیمارها افزایش یافت. روند افزایشی این شاخص به دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در ماهیچه و همچنین تولید آلدئیدها از محصولات ثانویه حاصل از شکست هیدروپراکسیدها است (۳۵). با توجه به نتایج در اکثر روزها بیشترین مقادیر در تیمار شاهد، مشاهده شد. بطور کلی پوشش‌های زیست تخریب پذیر

نفوذپذیری بسیار کمی نسبت به اکسیژن و دی اکسید کربن دارند. بنابراین پوشش تشکیل شده روی سطح فیله‌ها بطور قابل ملاحظه‌ای نرخ تماس محصول را با اکسیژن کاهش داده که از سرعت اکسیداسیون اولیه چربی‌ها و متعاقب آن تشکیل هیدروپرواکسیدها کاسته می‌شود (۲۳)، و با افزودن پروتئین هیدرولیز شده نتایج بهتری مشاهده شد و همچنین افزایش غلظت پروتئین هیدرولیز شده تاثیر مثبتی بر کند کردن روند افزایشی تیوباربیوتیک اسید شد، فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده قبلاً توسط Pezeshk و همکاران (۲۰۱۷) گزارش شده بود، آنها اعلام نمودند، فعالیت آنتی اکسیدانی پپتیدهای موجود نه تنها به توالی اسیدهای آمینه، بلکه همچنین به توالی اسید آمینه آنها نیز بستگی دارد (۲۷). فعالیت یک پپتیدهای موجود در پروتئین هیدرولیز شده در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید نیز به دلیل اسیدهای آمینه آبگریز موجود در توالی پپتید اختصاص داده شده است. این آبگریزی منجر به فعل و انفعالات زیاد بین پپتید و اسیدهای چرب می شود و در نتیجه در برابر اکسیداسیون محافظت می شود (۲۷).



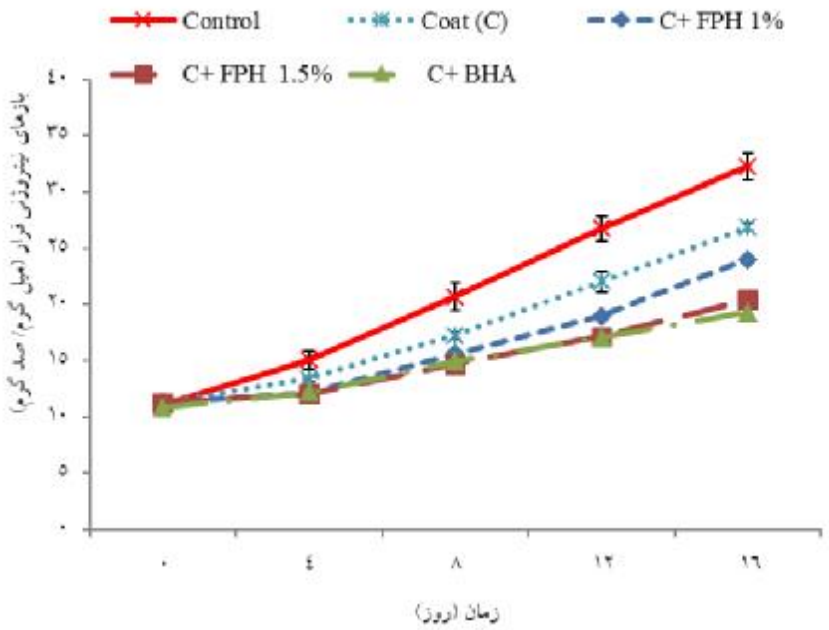
نمودار ۲: مقادیر تیوباربیوتیک اسید در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

۳-٤ بررسی مقادیر بازهای نیتروژنی فرار

در مجموع در تمامی تیمارها با افزایش زمان، میزان بازهای نیتروژنی فرار (نمودار ۳) افزایش یافت ($P<0/05$). با توجه به نتایج در اکثر روزها بیشترین مقادیر در تیمار شاهد، مشاهده شد. از آنجا که حضور باکتری‌ها در گوشت منجر به اتولیز پروتئین‌ها و تجزیه آنها، شکستن ترکیباتی از جمله تری متیل آمین اکسیدها، پپتیدها، آمینواسیدها و غیره می‌شود مقادیر بیشتر بار باکتریایی مشاهده شده در نمونه‌های شاهد می‌تواند توجیهی برای افزایش میزان بازهای نیتروژنی در آنها باشد. با اما در سایر روزهای نگهداری افزودن نگهدارنده‌ها سبب کند شدن روند افزایشی بازهای نیتروژنی فرار شد پوشش‌های خوراکی به صورت ماده ضد میکروبی عمل کرده و بر میزان بازهای ازته فرار اثر می‌گذارد (۱۲). کمترین مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تیمار پوشش+ پروتئین هیدرولیز شده ۱/۵درصد و بیشترین مقادیر در تیمار شاهد مشاهده شد. کمتر بودن میزان بازهای ازته فرار در این تیمار نسبت به بقیه تیمارها را می‌توان به دلیل کاهش جمعیت باکتری تیمارهای مذکور و یا کاهش توانایی اکسایشی باکتری‌ها در جداکردن آمین ها

از ترکیبات نیتروژنی غیرفرار و یا هر دو عامل در نتیجه اثر پروتیئن هیدرولیز شده بر باکتری‌های موجود در فیله گوشت نسبت داد (۹). حد مطلوب مجموع بازهای ازته فرار در گوشت و فرآورده های آن ۲۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم گوشت گزارش شده است (۱). بر این اساس به تیمار پروتین هیدرولیزشده ۱/۵درصد و BHA تا انتهای دوره نگهداری سالم ماندند.

Da Rocha و همکاران، (۲۰۱۸) نیز اعلام نمودند پروتئین هیدرولیز شده ماهی شوریده اطلسی (*Umbrina canosai*) سبب کند شدن روند افزایشی مقادیر بازهای نیروژنی فرار فیله ماهی (*Paralichthys orbignyanus*) شد (۹).



نمودار ۳: مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

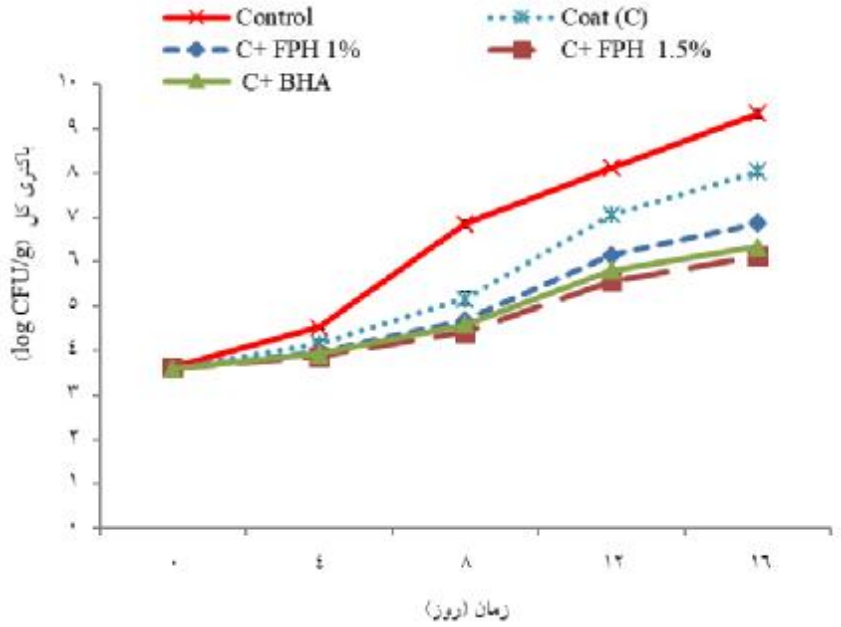
۳-۵ مقادیر باکتری کل و باکتری سرما دوست طی مدت نگهداری

در مطالعه حاضر نتایج مربوط به باکتری سرمادوست (نمودار ۴) و باکتری کل (نمودار ۵) با هم، هم‌خوانی داشت، به طوریکه با توجه به نتایج در اکثر روزها بیشترین مقادیر باکتری سرمادوست و باکتری کل در تیمار شاهد، مشاهده شد پوشش دهی با آلژینات-صمغ چیا سبب کند شدن روند افزایشی مقادیر باکتری شد. خاصیت ضد میکروبی پوشش‌های هیدروکلوئیدی نظیر آلژینات را به وجود گروه‌های آمینوی با بار مثبت نسبت داده است که با درشت ملکول‌های دارای بار منفی در سطح سلول میکروبی پیوند ایجاد نموده و منجر به گسیختگی غشای سلول باکتری، نشت مواد درون سلولی و در نهایت مرگ آن می شود. همچنین دانه‌ی چیا منبعی به علت دارد بودن ترکیباتی نظیر فلاونول‌ها، کلروژنیک اسید، کافئیک اسید، میرستین، کوئرستین، کامفرول دارای خاصیت ضد میکروبی می باشد (۱۰، ۱۲).

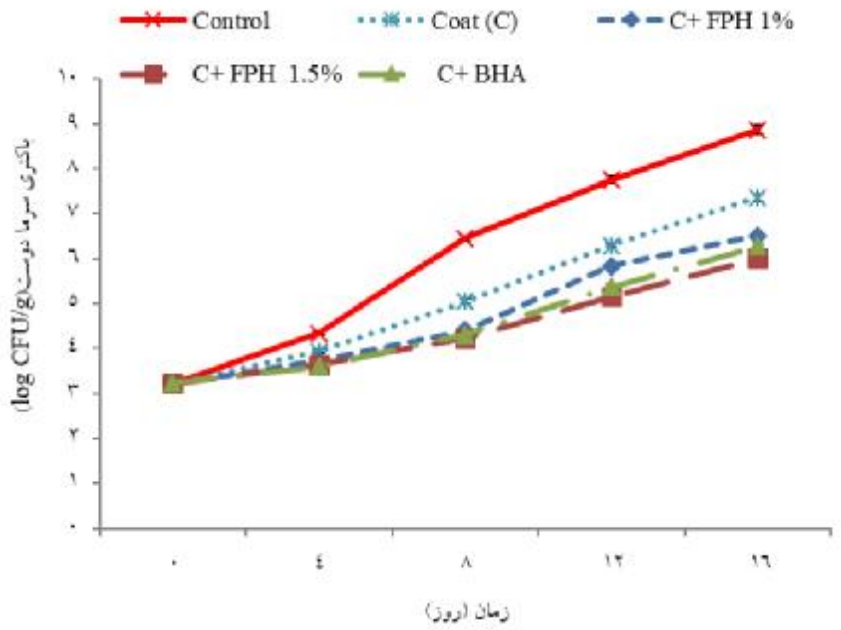
خواص ضد میکروبی پروتئین‌های هیدرولیز شده در مطالعات گذشته نیز بیان شده است (۳، ۲۷، ۳۴). ساختار سلول باکتری، سطح-های پیچیده با ویژگی‌های آب دوست و آب‌گریز دارد. سطح‌های هیدروفیل عمدتا شامل گروه‌های بدون بار ، مانند گروه‌های کربوکسیل، اسید فسفریک و هیدروکسیل هستند. در مقابل، سطح‌های آبگریز عمدتا حاوی مولکول‌های فسفولیپید غشای پلاسما هستند. ساختار مزدوج پپتیدهای چلاته کننده یون فلزی می تواند سطح غشای سلول را تغییر دهد، در نتیجه بر ساختار کامل غشای سلول تأثیر می‌گذارد. این پدیده ممکن است یکی از عوامل اصلی موثر بر فعالیت های بیولوژیکی پپتیدها باشد با توجه به ترکیب اسیدهای آمینه پروتئین هیدرولیز شده، وجود آمینو اسیدهای (HAA) در مطالعه حاضر می تواند نمایانگر این پدیده باشد (۲۷).

میزان مجاز باکتری کل و باکتری سرمادوست برای گوشت ۷ log CFU/g پیشنهاد شده است (۱۸). بر این اساس به تیمار پروتین هیدرولیزشده ۱ و ۱/۵درصد و BHA تا انتهای دوره نگهداری سالم ماندند.

Pezeshk و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی تاثیر پروتئین هیدرولیز شده ماهی تن زرده باله بر مقادیر باکتری کل و سرمادوست گوشت چرخ شده کپور نقره ای پرداختند، آنها اعلام نمودند بیشترین مقادیر باکتری کل و سرمادوست در تیمارشاهد مشاهده شد و کمترین مقادیر در تیمار حاوی پروتئین هیدرولیز شده مشاهده شد (۲۷).



نمودار ٤: مقادیر باکتری کل در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

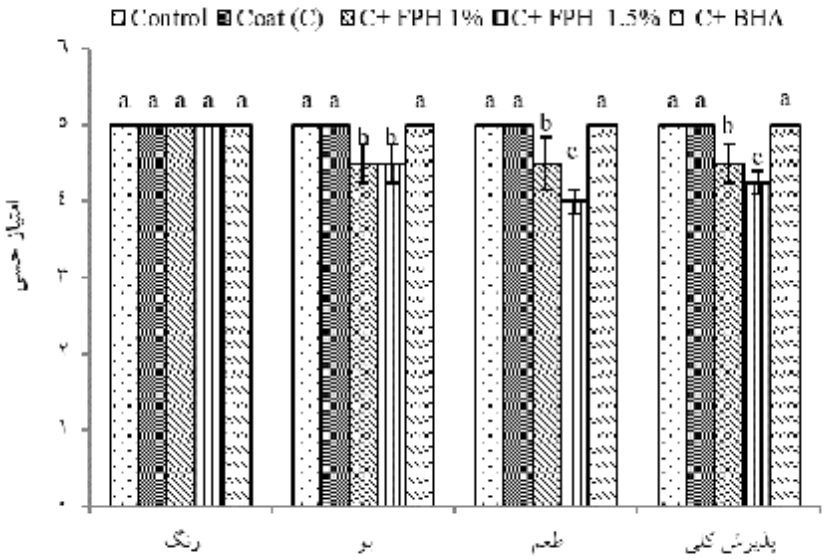


نمودار ۵: مقادیر باکتری سرمادوست در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

۳-۶ ارزیابی حسی طی مدت نگهداری

بی شک ویژگی‌های حسی از مهم‌ترین فاکتورهای پذیرش از دیدگاه مصرف‌کننده می‌باشند. لذا بررسی ویژگی‌های حسی با توجه به بازار پسندی محصول تولیدی بسیار مهم می‌باشد و همچنین آنالیز حسی راهنمای نهایی پذیرش محصول توسط ارزیاب‌ها می‌باشد. لذا بررسی ویژگی‌های حسی امری مهم و ضروری می‌باشد. امتیاز حسی (نمودار ۶) تیمار آلژینات+صمغ دانه چیا+ پروتئین هیدرولیز شده ۱/۵درصد کمتر از سایر تیمارها بود در مجموع تمامی تیمارها مورد تایید ارزیاب‌ها بود.Ketnawa و همکاران (۲۰۱۶) نیز اعلام نمودند افزودن پروتئین هیدرولیز شده میگو به توفو ماهی[1] سبب کاهش امتیاز حسی شد اما تمامی تیمارها مورد تایید ارزیاب‌ها بودند (۲۰).

[1] Fish tofu



نمودار ٦: ارزیابی حسی در تیمارهای مختلف در ابتدای دوره نگهداری

٤- نتیجه گیری نهایی

با بررسی مطالعات، پژوهش‌های انجام شده در ارتباط با استفاده از پپتیدهای زیست فعال حاصل از هیدرولیز آنزیمی از تخم ماهی قزآلای رنگین کمان در نگهداری گوشت و فرآورده‌های گوشتی نادر هستند. با توجه به مجموعه توانایی‌های پروتئین حاصل از هیدرولیز آنزیمی تخم ماهی قزل‌آلا می توان از این پپتید به همراه پوشش ترکیبی آلژینات – صمغ دانه چیا در جهت نگهداری فرآورده‌های گوشتی که حساسیت بالا به فساد باکتریایی و اکسیداسیونی در شرایط مختلف دارند، بهره برد. بنابر این در این تحقیق سعی شده است با استفاده از پوشش ترکیبی آلژینات-صمغ دانه چیا بهمراه پروتئین هیدرولیز شده حاصل از هیدرولیز آنزیمی تخم ماهی قزل آلا رنگین کمان توسط آنزیم آلکالاز در فرآورده‌ایی با سطح رطوبت بالا مانند گوشت، موجب افزایش عمر ماندگاری این محصول شود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پوشش آلژینات+ صمغ چیا+ پروتئین هیدرولیز شده دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی می‌باشد و افزایش غلظت پروتئین هیدرولیز شده سبب افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن شده است و در تمامی آزمون‌ها دارای اثری مشابه و یا بهتر از نگهدارنده سنتزی BHA بود. بنابراین ترکیب آلژینات، صمغ چیا و پروتئین هیدرولیز شده تخم ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان در سطح ۱/۵ درصد سبب حفظ کیفیت فیله گوشت از لحاظ شاخص‌های کیفی شیمیایی، میکروبی و افزایش ماندگاری در یخچال نسبت به سایر نمونه ها می‌شود.

۵- منابع:

1. Ashour, M.M.S., Moawad, R. K. and Bareh, G.F. 2013. Quality Enhancement and Shelf-Life Extension of Raw Beef Patties Formulated with Lactate/Thyme Essential Oil during Refrigerated Storage. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(13): 6699-6709.
2. Bagheri, R., Izadi Amoli, R., Tabari Shahndash, N. and Shahosseini, S. R. 2016. Comparing the effect of encapsulated and unencapsulated fennel extracts on the shelf life of minced common kilka (*Clupeonella cultriventris* caspia) and *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in the mince. *Food science and nutrition*, 4(2): 216–222.
3. Barcellos, C., Bassil, P.E., Duarte, M.C., Franco, R., Keller, L., Mesquita, E. 2020. The effect of the commercial fish gelatin protein hydrolysate on rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fillet quality. *Food Science and Technology International*, 40: 929-937.
4. Chalamaiah, M., Dinesh kumar, B., Hemalatha, R. and Jyothirmayi, T. 2012. Fish protein hydrolysates, Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications A review. *Food Chemistry*, 135: 3020-3038.
5. Chalamaiah, M., Hemalatha, R., Jyothirmayi, T., Diwan, P.V., Bhaskarachary, K., Vajreswari, A., Ramesh Kumar, R. and Dinesh Kumar, B. 2015b. Chemical composition and immunomodulatory effects of enzymatic protein hydrolysates from common carp (*Cyprinus carpio*) egg (roe). *Food Science and Technology*, 52(12): 5817-5825.
6. Chalamaiah, M., Jyothirmayi, T., Bhaskarachary, K., Vajreswari, A., Hemalatha, R., Dinesh Kumar, B. 2013. Chemical composition, molecular mass distribution and antioxidant capacity of rohu (*Labeo ohita*) roe (egg) protein hydrolysates prepared by gastrointestinal proteases. *Food Research International*, 52: 221–229.
7. Chalamaiah, M., Jyothirmayi, T., Prakash, V.D., Dinesh Kumar, B. 2015a. Antioxidant activity and functional properties of enzymatic protein hydrolysates from common carp (*Cyprinus carpio*) roe (egg). *Food Science and Techology*, 52(9): 5817–5825.
8. Chatterjee, R., Day, T.K., Ghosh, M., Dhar, P. 2015. Enzymatic modification of sesame seed protein, sourced from waste resource for nutraceutical application. *Food and Bioproducts Processing*, 94: 70-81.
9. DaRocha, M., Alemán, A., Romani, V. P., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., Montero, P., & Prentice, C. 2018b. Effects of agar films incorporated with fish protein hydrolysate or clove essential oil on flounder (*Paralichthys orbignyanus*) fillets shelf-life. *Food Hydrocolloids,* 81: 351–363.
10. Dehkhoda, M., Khodaiyan, F. and Movahhed, S. 2015. Effect of isomalt and maltitol on quality and sensory properties of sponge cake. *Iranian Journal of Biosystem Engineering*, 46(2): 147-155.
11. Dou, L., Li, B., Zhang, K., Chu, X., Hou, H. 2018. Physical properties and antioxidant activity of gelatin-sodium alginate edible films with tea polyphenols. I*nternational Journal of Biological Macromolecules*, 18 (15): 1377- 1383.
12. Esmaeili, M., Ariaii, P. Nasiraie, L.R., Yousefpour. M. 2020. Comparison of coating and nano-coating of chitosan- Lepidium sativum seed gum composites on quality and shelf life of beef. *Food Measurement,*6:206-237.
13. Fan, X., Liu, S., Li, H., He, J., Feng, J., Zhang, X., Yan, H. 2019. Effects of Portulaca oleracea L. extract on lipid oxidation and color of pork meat during refrigerated storage. *Meat Science*, 147:82-90.
14. FAO/WHO. 1990. Energy and protein requirements. Report of joint FAO/ WHO/UNU Expert Consultation Technical Report. *FAO/WHO and United Nations University, Geneva*, Series No. 724.

15. Felisberto, M. H. F., Wahanik, A. L., Gomes-Ruffi, C. R., Clerici, M. T. P. S., Chang, Y. K. and Steel, C. J. 2015. Use of Chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage gel to reduce fat in pound cakes. *Food Science and Technology*, 63 (2): 1049- 1055.
16. Hamzeh, A., Rezaei, M., Khodabandeh, S. 2019. Antiproliferative and antioxidative activities of cuttlefish (Sepia pharaonis) protein hydrolysates as affected by degree of hydrolysis. *Food Measurement,* 12: 721–727 .
17. Haslaniza, H., Maskat, M.Y., Wan Aida, W.M., Mamot, S. 2010. The effects of enzyme concentration, temperature and incubation time on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein precipitate from cockle (*Anadara granosa*) meat wash water. *International Food Research Journal,* 17: 147-152.
18. ICMSF . 2005. Microorganisms in foods 6: microbial ecology of food commodities, 2nd edn (1st edn published 1998). Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
19. Javadian, S. R., Shahoseini, S. R. and Ariaii, P. 2017. The effects of liposomal encapsulated thyme extract on the quality of fish mince and *Escherichia coli* O157: H7 inhibition during refrigerated storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26 (1): 115-123.
20. Ketnawa, S., Benjakul, S., Martínez-Alvarez, O. 2016. Physical, chemical, and microbiological properties of fish tofu containing shrimp hydrolysate. *Fish Science,* 82: 379–389
21. Marineli, R. S., Moraes, E. A., Lenquiste,S. A., Godoy, A. T., Eberlin , M. N. and Marostica, M. R. 2014. Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean Chia seeds and oil (Salvia hispanica L). *Food Science and Technology*, 52 (2): 1304-1310.
22. Mirsadghi, H., Alishahi, A., Shabanpuor, b. and Safari, R. 2015. Salt and water temperature curing effect on rainbow trout fish eggs qualitative changes (*Oncorhyncus mykiss*) during cold storage. *Journal of Fisheries Science and Technology*, 4: 93-104.
23. Mohammadi, H., Kamkar, A., Misaghi, A., Zunabovic-Pichler, M., Fatehi, S. 2019. Nanocomposite films with CMC, okra mucilage, and ZnO nanoparticles: Extending the shelf-life of chicken breast meat. *Food Packaging and Shelf Life*, 21: 100330.
24. Narsing Rao, G., Balaswamy, K., Satyanarayana, A.k. and Prabhakara Rao, P. 2012. Physico-chemical, amino acid composition, functional and antioxidant properties of roe protein concentrates obtained from (*Channa striatus* and *Lates calcarifer*). *Food Chemistry*, 132:1171-1176.
25. Nemati, M., Javadian, S. R., Ovissipour, M. and Keshavarz, M. 2012. A study on the properties of alosa (Alosa caspia) by-products protein hydrolysates using commercial enzymes. *World Applied Sciences Journal,* 18 (7): 950-956.
26. Neves, A.C., Harnedy, P.A. and FitzGerald, R.J. 2016. Angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase-IV inhibitory, and antioxidant activities of a blue mussel (Mytilus edulis) meat protein extract and its hydrolysates. *Journal of Aquatic Food Product and Technology*, 25 (8): 1221-1233.
27. Pezeshk, S., Ojagh, S., Rezaei, M., Shabanpour, B. 2017. Antioxidant and Antibacterial Effect of Protein Hydrolysis of Yellowfin Tuna Waste on Flesh Quality Parameters of Minced Silver Carp. *Journal of Genetic Resources*, 3(2): 103-112.
28. Rajabzadeh, M., Pourashouri, P., Shabanpour, B., Alishahi, A. 2017. Amino acid composition, antioxidant and functional properties of protein hydrolysates from the roe of rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Food Science & Technology*, 53(2):313–319.
29. Rhim, J. W. 2011. Effect of clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of agar-based nanocomposite films. *Carbohydrate polymers*, 86(2): 691-699.
30. Safari, R., Shahhoseini, S.R., Javadian, S. R. 2018. Antibacterial and Antioxidant Effects of the Echinophora Cinerea Extract on Bighead Carp (*Aristichthys nobilis*) Fillet During Two Storage Conditions. *Journal of Aquatic Caspian Sea*, 3(2): 13-24.

31. Shahosseini, S.R., Javadian, S.R., Safari, R. 2021b. Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Liza abu* viscera protein hydrolysate. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 30 (2): 123-146.
32. Shahosseini, S.R., Safari, R., Javadian, S.R. 2021a. Evaluation antioxidant effects of Pullulan edible coating with watercress extract (*Nasturtiumn officinale*) on the chemical corruption of fresh beluga sturgeon fillet during storage in a refrigerator. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 30 (2): 123-146. (DOI): 10.22092/ISFJ.2021.124553
33. Shahosseini, S.R., Safari, R., Javadian, S. R. and Habibi, F.2019. Evaluation effect of Carboxymethyl cellulose coating with Anethum graveolens extract on quality of fried fillet fried fish (*Anethum graveolens*). *Journal of Aquatic Caspian Sea*, 4(2): 37-46.
34. Song, R., Wei, R., Zhang, B., Wang, D. 2012. Optimization of the Antibacterial Activity of Half-Fin Anchovy (*Setipinna taty*) Hydrolysates. *Food Bioprocess Technology*, 5: 1979–1989.
35. Tometri, S.S., Ahmady, M., Ariaii, P. 2020 Extraction and encapsulation of *Laurus nobilis* leaf extract with nano-liposome and its effect on oxidative, microbial, bacterial and sensory properties of minced beef. *Food Measurement*, 14: 3333–3344.
36. Urbizo-Reyes, U., San Martin-González, M. F., Garcia-Bravo, J., Liceaga, A. M. 2020 . Development of chia seed (*Salvia hispanica*) mucilage films plasticized with polyol mixtures: Mechanical and barrier properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134 (1): 1038- 1044.
37. Varedesara, M.S., Ariaii, P., Hesari, J. 2021. The effect of grape seed protein hydrolysate on the properties of stirred yogurt and viability of *Lactobacillus casei* in it. *Food science and nutrition*, 9:2180–2190.
38. Yanar, Y. 2007. Quality Changes of Hot Smoked Catfish (*Clarias Gariepinus*) During Refrigerated storage. *Journal of Muscle Foods*, 18: 391-400.
39. Yuan, L., Feng, W., Zhang, Z., Peng, Y., Xiao, Y., Chen, J. 2020. Effect of potato starch-based antibacterial composite films with thyme oil microemulsion or microcapsule on shelf life of chilled meat. *LWT-Food Science and Technology*, 14:11-46.

Effect of Alginate-Chia Gum composite Coating with Rainbow Trout roe Protein Hydrolyzed on the Meat Shelf Life during Refrigeration

Mohammad Hasan Golpaigani[1], Peiman Ariaii[2*], Mohammad Ahmadi [3], Reza Safari [4]

[1]PhD student, Department of Food Science and Technology, Ayatolla Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
[2] Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ayatolla Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ayatolla Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
[4]Caspian Sea Ecology Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Sari, Iran

*Corresponding author: Email: p.aryaye@yahoo.com

Abstract:
In this study, the effect of hydrolyzed rainbow trout roe protein with alginate-chia gum coating to increase the shelf life of meat fillets during the 16-day refrigeration period was investigated. First, the protein is hydrolyzed by the alcalase enzyme, then, 5 treatments including, treatment 1: control, treatment 2: alginate + chia gum, treatment 3: alginate + chia gum + hydrolyzed protein 1%, treatment 4: alginate + chia gum + hydrolyzed protein 1.5% and Treatment 5: Alginate + chia gum + BHA were prepared and periodically evaluated for microbial (total bacterial and cold-loving values) and chemical (peroxide value and volatile nitrogen bases). The results related to the hydrolyzed protein showed that the degree of hydrolysis at different times of hydrolysis was between 24.47-40.48 and the hydrolyzed protein contained a high amount of hydrophobic amino acids (42.79). The results of the present study showed that alginate-chia seed coating slowed down microbial and chemical spoilage and the addition of hydrolyzed protein of rainbow trout roe improved the mentioned characteristics, and with increasing the concentration of hydrolyzed protein better results was observed, so that treatment 4 significantly delayed the process of microbial and oxidative spoilage in meat and increased the shelf life of meat and in most cases acted more effectively than the synthetic antioxidant BHA ($P < 0.05$). According to the obtained results, it can be concluded that, adding hydrolyzed rainbow trout roe protein to alginate-chia seed coating can meet the demand of consumers for chemical products free of chemicals.

Keywords: Hydrolyzed protein, Alcalase enzymes, Fish roe, Composite coating, Meat quality