" بسم الله الرحمن الرحيم "

مقارنة تكنوكيماوية على بعض منتجات الأسماك

" الملخص العربى "

من المعروف أن سمك الـ Hake من الأسماك اللحمية التى تحتوى على مركب أوكسيد ثلاثى ميثيل أمين و التى عند تخزينها بالتجميد يحدث تكسير لهذا المركب بواسطة الأنزيمات و ينتج عن ذلك مركبات داى ميثيل أمين و الفورمالدهيد والتى تؤدى الى حدوث تغيرات غير مرغوبه تقلل من إمكانية التخزين لهذا النوع من الأسماك لفترة طويلة .

لذلك يهدف البحث الى محاولة تقليل فرصة تكوين مثل هذه المركبات عن طريق إعداد منتجات من الأسماك المفرومةمن سمك الـ Hake (سمك لحمى) مع خلطها بنسب مختلفة من سمك دهنى (السردين) لإطالة فترة التخزين المجمد بالإضافة الى المحافظة على جودة هذه المنتجات و بناء على ذلك اقترحت المخاليط الأتية بالنسب الموضحة قرين كل منها : -

العينة A : - ١٠٠٪ من أسماك الـ Hake المفرومة

العينة B : - ٧٥٪ من مفروم سمك الـ Hake + ٢٥ ٪ سردين مفروم (بنسبة ٣ : ١)

العينة C : - ٥٠٪ من مفروم سمك الـ Hake + ٥٠ ٪ سردين مفروم (بنسبة ١ : ١)

العينة D : - ٢٥٪ من مفروم سمك الـ Hake + ٧٥ ٪ سردين مفروم (بنسبة ١ : ٣)

العينة E : - ١٠٠٪ من سمك السردين المفروم.

ومن ناحية أخرى تم تجميد هذه المنتجات على - ٣٠°م ودراسة ثباتها أثناء التخزين بالتجميد على - ٢٠°م لمدة ١٢ شهرا وقد إشتملت الرسالة على الأربعة أجزاء التالية : -

<u>الجزء الأول</u> : الخواص الكيماوية و الطبيعية للمنتجات المصنعة من حيث: -

- التركيب الكيماوى ورقم الـ pH
- تكون مركبات الداى ميثيل أمين ومركب الفورمالدهيد أثناء التخزين با لتجميد.
- دراسة التغيرات التى تحدث فى قوام ولون المنتجات المصنعة .

<u>الجزء الثانى</u> :دراسة التغيرات التى تحدث فى الخواص الوظيفية لبروتينات هذه المنتجات وذلك من خلال مدلول الخصائص الأتية :

* ذوبان البروتين
* اللزوجة الظاهرية
* سعة المستحلب
* ثبات المستحلب

الجزء الثالث : إستخلاص الأكتوميوسين (NAM) بواسطة محلول ٦ر٠ مول كلوريد صوديوم مع دراسة كل من :

* نسبة الإستخلاص (NAM)
* نماذج الهجرة فى المجال الكهربى لمستخلص الأكتوميوسين (S1)
* الخواص الأستحلابية لمستخلص الأكتوميوسين (S1) وذلك من خلال معرفة وتحديد مايلى:-

١ ـ معامل نشاط المستحلب (EAI) Emulsion activity Index

٢ ـ معامل ثبات المستحلب (ESI) Emulsion stability Index

* إستخدام وسائط متعددة لذوبان الراسب المتبقى من عملية الإستخلاص ودراسة أنماط الهجرة فى المجال الكهربى للبروتين الذائب.

الجزء الرابع : إستخدام الميكروسكوب الألكترونى لفحص التغيرات التى تحدث أثناء التخزين على درجة - ٢٠° م لكل من : ـ

* التركيب المورفولوجى للعضلات فى بداية ونهاية فترة التخزين.
* فحص التغيرات التى تحدث لمستخلص الأكتوميوسين (S1)
* الفحص المورفولوجى للرا سب المتبقى من عملية الإستخلاص الأكتوميوسين (P1)

هذا ويمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها من هذه الدراسة فى النقاط التالية : ـ

الجزء الأول :- الخواص الكيماوية و الطبيعية لهذه المنتجات :-

* التركيب الكيماوى : ـ

لوحظت إختلافات فى التركيب الكيماوى للعينات المختبرة والتى ترجع الى طبيعة الأصناف المستخدمة فى إعداد خليط سمك الـ Hake و السردين كما أشارت النتائج المتحصل عليها الى ثبات المحتوى الرطوبى تحت ظروف التخزين بالتجميد على -٢٠° م . هذا وتشير النتائج إلى إرتفاع الرقم الأيدروجينى pH لمفروم سمك الـ Hake (٦ر٨٨) و إنخفاضه فى سمك السردين (٥ر٩٣) مقارنة بالعينات D, C, B حيث يتراوح رقم الـ pH لها من ٦ر٥٧ إلى ٦ر١٥ . ومن ناحية أخرى لوحظ أن هناك إرتفاعا فى رقم الـ pH لجميع العينات أثناء فترة التخزين بالتجميد على - ٢٠° م .

* تكوين مركبات الداى ميثيل أمين والفورمالدهيد : -

- تشير النتائج الى وجود علاقة طردية بين مدة التخزين المجمد لمفروم سمك الـ Hake ومركبات الداى ميثيل أمين و الفورمالدهيد وهذا يرجع الى تكسير مركب أوكسيد ثلاثى ميثيل أمين بواسطة الأنزيمات المتخصصة والتى قد تؤدى الى حدوث تغيرات غير مرغوبة .

- ثبت من نتائج التحليل أن مفروم سمك السردين يحتوى على أقل نسبة من مركبات الداى ميثيل أمين و الفورمالدهيد وهذا يفسر أنه بزيادة نسبة السردين المفروم فى مخاليط العينات C ، D يقلل من فرصة تكوين مثل هذه المركبات أثناء التخزين بالتجميد .

* التغيرات التى تحدث فى القوام : -

تعطى نتائج هذه الدراسة بعض المدلولات للأسماك غير الدهنية والتى يعتبر حدوث التغير فى قوامها أحد الأسباب الرئيسية لحدوث التلف بسبب التكسير الأنزيمى لمركب أوكسيد ثلاثى ميثيل أمين الى مركبات الداى ميثيل أمين و الفورمالدهيد . ومن ثم يتفاعل الفورمالدهيد مع بروتينات الأسماك و يسرع فى حدوث التغيرات غير المرغوبة فى القوام .

- أوضحت النتائج حدوث زيادة فى قيم القوام لعينات الأسماك المفرومة أثناء التخزين على درجة -٢٠°م خاصة فى مفروم سمك الـ Hake مقارنة بمفروم سمك السردين. وعليه ثبت أنه بزيادة النسبة المضافة من سمك السردين الى سمك الـ Hake إنخفضت التغيرات التى تحدث فى القوام طوال فترة التخزين بالتجميد . وقد تم التأكد من ذلك من خلال التحليلات الإحصائية والتى أوضحت وجود إختلافات معنوية بين العينات إعتبارا من الشهر الثانى وحتى نهاية فترة التخزين .

* التغيرات التى تحدث فى اللون : -

أشارت نتائج التحليلات الإحصائية الى وجود إختلافات معنوية فى مقاييس اللون لقيم كل من (L* , a* , b*) بين سمك الـ Hake و سمك السردين حيث كانت L* لسمك السردين منخفضة و قيم a*, b* مرتفعة بعكس مفروم سمك الـ Hake .

- أما فى مخاليط العينة D, C, B فوجد أن إضافة مفروم سمك السردين الى سمك الـ Hake أدى إلى إنخفاض ملحوظ فى قيم L* مع زيادة فى المدلولات اللونية لقيم a*, b* وقد كانت هذه التغيرات أكثر وضوحا فى العينات D, C. .

- ومع وجود هذه الإختلافات فى بداية التخزين على درجة -٢٠°م لمدلول الألوان السابق الإشارة اليها بين العينات التى تحت الدراسة فقد ثبت من النتائج المتحصل عليها إستمرار تباين درجة الإختلاف فى لون العينات طوال فترة التخزين والتى إمتدت ١٢ شهرا على درجة -٢٠°م

الجزء الثانى : تأثير التخزين بالتجميد على الخواص الوظيفية لبروتينات مفروم الأسماك :

- تعتبر الخواص الوظيفية لبروتينات الأسماك أحد العوامل الهامة فى دراسة عملية الدنترة (التغير فى طبيعة البروتين) ومن أهم هذه الخواص : -

* ذوبان البروتينات :-

يتصف سمك السردين بإحتوائه على نسبة مرتفعة من البروتين الذائب . وقد ثبت من الدراسة أن هناك علاقة عكسية بين معدل ذوبان هذه البروتينات وفترة التخزين على درجة - ٢٠°م وقد كانت هذه الظاهرة أكثر وضوحا فى مفروم سمك الـ Hake .

- هذا وقد لوحظ أن إضافة سمك السردين الى سمك الـ Hake أدى إلى زيادة معدل ثبات البروتينات أى يقل معدل حدوث عمليات الدنترة و الـ aggregation وعليه فإن البروتينات تحتوى على نسبة أعلى من البروتين الذائب. وبناء عليه فإن الإختلاف فى درجة الذوبان الخاصة بالبروتينات بين مخاليط الأسماك ترجع إلى إختلاف النسبة المضافة من مفروم سمك السردين .

* نسبة البروتين فى المحلول المستخدم فى قياس اللزوجة : -

- أوضحت النتائج أنه بعد عملية التجميد إحتوى المحلول المجنس لمفروم سمك الـ Hake و المستخدم فى قياس اللزوجة على أقل نسبة من البروتين بالنسبة للعينات الأخرى بعكس مفروم سمك السردين والذى إختلف إختلافا معنويا مع العينات الأخرى عند أى فترة من فترات التخزين .

- إ نخفضت نسبة البروتين بدرجة ملحوظة فى العينات B, A إعتبارا من الشهرالثامن للتخزين على درجة - ٢٠°م ، بينما ظلت نسبة البروتين ثابته تقريبا لمفروم سمك السردين .

* التغيرات التى تحدث فى اللزوجة الظاهرية :-

- أشارت النتائج الى وجود إختلافات معنوية بين العينات المختبرة وكان ذلك واضحا فى أغلب فترات التخزين . وقد ثبت أن أعلى لزوجة كانت للمحلول المجنس الخاص للعينة A.

- ومن ناحية أخرى أظهرت النتائج وجود علاقة عكسية بين اللزوجة وفترة التخزين على درجة -٢٠°م وكان هذا الإتجاه أكثر وضوحا فى العينة A ٠هذا وقد أدت زيادة نسبة مفروم السردين المضافة الى سمك الـ Hake إلى إنخفاض اللزوجة فى بداية التخزين وعلى الرغم من ذلك فإن هذه العينات احتفظت بقيم عالية للزوجة مقارنة بالعينات الأخرى ولوحظ أيضا أن العينة E تتميز بأقل إنخفاض فى اللزوجة بزيادة فترة التخزين .

* التغيرات التى تحدث فى سعة المستحلب Emulsifying capacity :-

- فى بداية التخزين على درجة -٢٠°م كان لمفروم سمك الـ Hake أقل قيمة لـ emulsifying capacity وعلى العكس من ذلك فإن مفروم سمك السردين كان له أعلى قيمة فى بداية و أثناء التخزين

- أشارت النتائج الى عدم وجود إختلافات معنوية فى بداية عملية التخزين بين المخاليط المصنعة من سمك السردين و سمك الـ Hake (D, C, B.) .

- أظهرت النتائج المعملية وجود علاقة عكسية بين الـ emulsifying capacity و تقدم فترة التخزين بالتجميد . أدى إضافة مفروم سمك السردين الى سمك الـ Hake فى العينات D, C, B إلى تقليل مدى الإنخفاض الذى يحدث فى قيم الـ emulsifying capacity أثناء التخزين بالتجميد٠

* التغيرات التى تحدث فى ثبات المستحلب :

- بينت النتائج المتحصل عليها أن ثبات مستحلب مفروم سمك السردين كان منخفضا فى بداية فترة التخزين بالمقارنة لمفروم سمك الـ Hake وقد وجد أنه بإطالة فترة التخزين على -٢٠°م فإن ثبات المستحلب يقل بصورة واضحة بعد تكوينه .

- أظهر مفروم سمك الـ Hake إنخفاضا تدريجيا لمدى ثبات المستحلب حتى الشهر الخامس أما الإنخفاض الحاد فقد بدأ ظهوره فى الشهر الثامن مع عدم إمكانية تكوين المستحلب فى نهاية مدة التخزين .

- أدت زيادة النسبة المضافة من مفروم سمك السردين لسمك الـ Hake الى زيادة ثبات المستحلب الأمر الذى يرجع الى زيادة نسبة البروتين فى المحلول المجنس .

الجزء الثالث : تأثير التخزين بالتجميد على إستخلاص الأكتوميوسين (Natural actomyosin (NAM:

* مستخلص الأكتوميوسين (NAM S1):

- أوضحت التجارب أن أعلى نسبة إستخلاص للأكتوميوسين بعد التجميد على -٣٠°م كانت لمفروم سمك السردين بالمقارنة بالعينات الأخرى . و يحدث إنخفاضا فى كمية الأكتوميوسين المستخلص أثناء التخزين على درجة - ٢٠°م وهذا يدل على حدوث عمليات الدنترة و الـ aggregation لجزىء البروتين .

- أشارت النتائج الى أن أقل نسبة إستخلاص للأكتوميسين كان لمفروم سمك الـ Hake و إعتبارا من الشهر الخامس للتخزين على درجة - ٢٠°م و حتى نهاية التخزين لم يستخلص الأكتوميوسين و الذى تعرض بالكامل لحدوث عملية الـ aggregation على العكس من ذلك استمر إستخلاص الأكتوميوسين من مفروم سمك السردين حتى نهاية فترة التخزين مع فقد فى الكمية الى النصف .

تتناسب كمية الأكتوميوسين المستخلصة من العينات المحضرة من مخاليط سمك السردين وسمك الـ Hake تناسب طرديا بزيادة نسبة مفروم السردين على النحو التالى :.B < C < D.

* التغيرات التى تحدث فى أنماط الهجرة فى المجال الكهربى لمستخلص الأكتوميوسين (S1):-

- تختلف أنماط الهجرة فى المجال الكهربى للعينات المختبرة طبقا لإختلاف الأصناف ونسبة الخلط كما أن هناك تغيرا واضحا فى عينات كل من الـ Hake و السردين أثناءالتخزين على درجة -٢٠°م . وترجع هذه التغيرات بصفة أساسية الى الميوسين والذى يعتبر من أكثر البروتينات حساسية لعملية الدنترة التى تحدث أثناء التخزين بالتجميد. هذا وقد لوحظ وجود زيادة فى كمية البروتين التى تحدث لها aggregation بإطالة فترة التخزين المجمد حيث تظهر فى قمة الجيل والتى تدل على تراكم مركبات ذات أوزان جزئية عالية .

- ثبت من التجارب أن الميوسين (MHC) و الأكتين يمثلان الغالبية العظمى من البروتينات فى مفروم سمك الـHake بينما لوحظ فى حالة مفروم السردين تكون مركبات ذات وزن جزئى مرتفع مع إنخفاض فى الميوسين و الأكتين. و من ناحية أخرى وجد أنه بزيادة فترة تخزين العينة A يحدث إنخفاضا فى نسبة الميوسين مع زيادة نسبيه فى كمية الأكتين وكذلك فى المركبات التى ينخفض وزنها الجزئى عن الأكتين .

- توضح نماذج الهجرة فى المجال الكهربى المتحصل عليها فى بداية التخزين الى وجود aggregates للبروتينات المستخلصة من المخاليط (مخاليط السردين و الـ Hake) و أن الميوسين و الأكتين هى البروتينات الرئيسية و تمثل الغالبية العظمى. هذا وثبت وجود إنخفاضا واضحا فى نسبة الميوسين مع نهاية فترة التخزين .

* التغيرات التى تحدث فى خواص الإستحلاب لمستخلص الأكتوميسين NAM : ـ

ـ أظهرت جميع العينات المختبرة نشاطا مرتفعا للإستحلاب فى بداية التخزين على درجة ـ٢٠°م مع ثبات المستحلب فى حالة إحتواء المستخلص على تركيز من البروتين يصل إلى ٥ملجم /مل وخاصة فى العينات التى تحتوى على مفروم سمك الـ Hake من ١٠٠ ـ ٥٠ ٪ .

ـ بصفة عامة وجد أن مستخلص الأكتوميسين NAM للعينة C يتصف بجودة عالية من حيث الخواص الإستحلابية بالمقارنة بالعينات الأخرى و إستمرت هذه الميزة حتى نهاية فترة التخزين . بينما أظهرت العينات D, E أقل قيم من حيث الخواص الإستحلابية.

إستخلاص البروتينات (S2) من الراسب (P1) المتبقى بعد إستخلاص Natural actomyosin .

أولا : تكسير Secondary interaction :ـ

١ ـ المعاملة بواسطة ٢٪ Sodium dodecyl sulphate (SDS) :ـ

ـ بينت النتائج أن هناك علاقة عكسية بين نسبة البروتين المستخلص بهذه المعاملة و إطالة فترة التخزين كما أوضحت أنماط الهجرة فى المجال الكهربى لهذه البروتينات المستخلصة ما يلى : ـ

بالنسبة للعينة A : ـ يمثل الميوسين والأكتين الغالبية العظمى للبروتينات المستخلصة من هذه العينة بعد التخزين لمدة خمسة أشهر على درجة ـ ٢٠°م ومع طول فترة التخزين تقل نسبة الميوسين و يكون الأكتين هـ و الغالبية العظمى .

بالنسبة للعينة E : ـ لوحظ إحتواء مستخلص البروتين لهذه العينة على مركبات ذات وزن جزئى مرتفع بعد خمسة أشهر من التخزين مع ظهور الميوسين و الأكتين بنسبة ضعيفة. هذا وقد وجد فى نهاية مدة التخزين الغالبية العظمى من البروتينات و التى حدث لها aggregation ذات أوزان جزئية متوسطة .

ـ أظهرت النتائج الخاصة بالعينات المخلوطة (D, C, B) وجود aggregates فى بداية التخزين مع إرتفاع نسبة وجود الميوسين و الأكتين بينما لوحظ فى نهاية التخزين إرتفاع نسبة الأكتين على الرغم من ظهور الميوسين فى كل العينات .

- أدى إستخدام هذه المعاملة فى كل العينات المختبرة زيادة كمية البروتين المستخلصة عند مقارنتها بمعاملات الذوبان الأخرى بعد ثمانية و إثنى عشر شهرا من التخزين المجمد (على درجة -٢٠°م).

- أوضحت نماذج الهجرة فى المجال الكهربى عدم وجود إختلاف يذكر فى البروتينات المفصولة لمفروم سمك الـ Hake بعد التخزين لمدة ثمانية أو إثنى عشر شهرا على درجة -٢٠°م مع ظهور الأكتين بصورة واضحة. وقد لوحظ نفس الإتجاه فى حالة مفروم سمك السردين. كما أظهرت النتائج عدم وجود إتجاها واضحا لنماذج الهجرة فى المجال الكهربى للبروتين المستخلص بهذه المعاملة للعينات المخلوطه .

الجزء الرابع : الفحص باستخدام الميكروسكوب الأكترونى:-

* الفحص التشريحى لعينات الأسماك المفرومة: -

- تبين من الفحص التشريحى فى بداية التخزين على درجة -٢٠°م أن تركيب العضلات كان كاملا فى كل من سمك الـ Hake و السردين مع ظهور منطقة الـ Z-line بوضوح. وفى نهاية فترة التخزين حدثت تغيرات واضحة فى منطقة Z-line لمفروم سمك الـ Hake بينما لم تلاحظ أى تغيرات فى السردين .

* الفحص التشريحى لمستخلص الأكتوميوسين (S1) Natural actomyosin :-

- العينة A :- ثبت من الفحص التشريحى أن البروتين المستخلص من هذه العينة يميل إلى الشكل الكروى مع ظهور العديد من الخيوط الصغيرة متصله بالتبادل مع الكرويات الصغيرة وتكون العديد من micro-aggregates

- العينة B : ظهر البروتين المستخلص من هذه العينة بعد شهرين من التخزين على درجة -٢٠°م على شكل خيوط متصله بـ aggregates و التى تظهر بصورة أكبر فى العينه A. و عند زيادة مدة التخزين يلاحظ ظهور الشكل الحلقى Ring-shaped structures مع micro-aggregates و الناتجة عن تكون covalent bonds.

- العينة C : - إنخفض ظهور الخيوط بحيث تكون Few filamentous zones بعد شهرين من التخزين

على درجة -٢٠°م بحيث يظهر الـ بروتين فى شكل كتل (Large agglomerations) ومع زيادة مدة التخزين يظهر تجمعات aggregated zons و تكون فى شكل حلقى Ring-shaped structures و تظهر البروتينات فى نهاية مدة التخزين على شكل عقد متشابكة Tangled network.

- العينة D : - بعد شهرين من التخزين على درجة -٢٠°م يظهر البروتين فى شكل تجمعات صغيرة (small aggregates) ذات شكل كروى مع ظهور الشكل الخيطى filamentous structures معطيا شكل مختلف عن العينات السابقة . بزيادة مدة التخزين إلى خمسة أشهر لوحظ وجود تجمعات من البروتين فى شكل خيوط (filaments) مع ظهور الشكل الحلقى المتشابك Ring-shaped structures فى نهاية مدة التخزين .

- العينة E : - أوضح الفحص التشريحى لهذه العينة بعد التخزين لمدة شهرين على درجة -٢٠°م ظهور البروتين فى شكل تجمعات كروية صغيرة متماثله مع العينه D . بزيادة مدة التخزين حدث إلتصاق للبروتين بجدار الأنبوبة و أدى ذلك إلى عدم إمكانية فحص العينة بواسطة الميكروسكوب الألكترونى .

* الفحص التشريحى للراسب المتبقى من إستخلاص الأكتوميوسين (P1):-

- أظهر الفحص التشريحى أن الـ sturctures يظهر بصورة واضحة مع بداية فترة تخزين مفروم السردين على درجة -٢٠°م وكذلك الحال فى العينات التى تحتوى على نسبة من سمك السردين بعكس العينات التى تحتوى على نسبة عالية من مفروم سمك الـ Hake . ومن ناحية أخرى ثبت صعوبة رؤية منطقة z-line فى العينة A و مع زيادة التخزين إلى ثمانيه أشهر وجد أن الـ structures يظهر فى شكل كثيف فى خطوط متوازية مع تكوين aggregates بين الأكتين و الميوسين.

- شكل الـ structures للراسب المتحصل عليه فى نهاية مدة التخزين من مفروم سمك الـ Hake تميز واضحا عند الفحص التشريحى مقارنة بالعينات المماثلة والتى تم فحصها مع بداية التخزين حيث لوحظت ضعف منطقة z-line أما فى حالة سمك السردين فإن منطقة z-line تظهر بوضوح حتى أن الشكل العام يشبه الـ sarcomere الأصلى . بينما فى العينات المخلوطه يظهر الشكل التشريحى فى صورة وسطية بين كل من مفروم سمك الـ Hake و سمك السردين .

مقارنة تكنوكيماوية على بعض منتجات الاسماك

رسالة مقدمة من

جمال فؤاد محمد عبد الجواد

بكالوريوس علوم زراعية (قسم علوم الاغذية)

كلية الزراعة - جامعة القاهرة ١٩٧٨

ماجستير علوم زراعية (صناعات غذائية)

كلية الزراعة - جامعة عين شمس ١٩٩١

للحصول على درجة الدكتوراه

فى العلوم الزراعية (صناعات غذائية)

قسم علوم الاغذية

كلية الزراعة بمشتهر

جامعة الزقازيق

١٩٩٧