تأثیر پوشش کیتوزان غنی‌شده با لیکوپن بر پروفایل اسیدهای چرب و پارامترهای اکسیداسیون چربی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طول دوره نگهداری در یخچال

سیده‌سمانه نقیبی[۱]، علی احسانی[۲*]، حسین تاجیک[۱]، علیرضا طالبی[۳]، نوروز دلیرژ[٤]

۱. دستیار تخصصی گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۳. استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
٤. دانشیار گروه علوم درمانگاهی، بخش بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۵. دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات: ehsaniali@yahoo.com
(دریافت مقاله: ۹٤/۷/۷ پذیرش نهایی: ۹۵/۳/۸)

چکیده

ماهی مهم‌ترین منبع تغذیه‌ای اسیدهای چرب چند غیراشباع برای انسان می‌باشد. بنابراین، محافظت از ماهی در برابر انواع فساد اکسایشی ضروری به‌نظر می‌رسد. لیکوپن، یک منبع آنتی‌اکسیدانی طبیعی می‌باشد. مطالعه حاضر به‌منظور بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی لیکوپن (با استفاده از روش دی‌پی‌پی‌اچ) و اثر ترکیبی دوزهای مختلف آن (۱/۵ و ۳ درصد) و کیتوزان بر پارامترهای اکسیداسیون چربی و ترکیب اسیدهای چرب فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد. آنالیز در زمان‌های صفر، هشت و شانزده روز پس از نگهداری نمونه‌ها در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، به منظور تعیین شاخص‌های عدد پراکسید و اسیدهای چرب آزاد انجام شد. علاوه بر این، ترکیب اسیدهای چرب به‌روش کروماتوگرافی گازی تعیین گردید. در تیمار کنترل در روز صفر، ترکیبات اسید چرب فیله ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان شامل ۰/۰۳±۲۰/٦ درصد اسیدهای چرب اشباع، ۰/۰٤ ± ٤۳/۸۱ درصد اسیدهای چرب تک غیراشباع و ۰/۰۳±۳۲/۸۳ درصد اسیدهای چرب چند غیراشباع بود. آنالیز آماری نشان داد که در مقایسه با نمونه کنترل، تغییرات کمتری در میزان عدد پراکسید و اسیدهای چرب فرار و نسبت اسیدهای چرب نمونه‌های تیمارشده با کیتوزان و کیتوزان- لیکوپن در طول ۱٦ روز نگهداری در دمای یخچال، رخ داد. نمونه‌های پوشش داده‌شده با کیتوزان غنی‌شده با لیکوپن در هر سطح نسبت به دیگر نمونه‌ها، سبب کاهش سرعت تخریب لیپید گردید. مطالعه حاضر نشان داد که لیکوپن فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی دارد، که سبب تغییرات مطلوب در ساختار اسیدهای چرب می‌شود. بنابراین، می‌تواند به‌عنوان ماده نگهدارنده در ماهی استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: لیکوپن، اسیدچرب، اکسیداسیون چربی، قزل‌آلا

مقدمه

ماهی یک غذای بسیار فاسدشدنی در مقایسه با دیگر منابع غذایی است. ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) متعلق به خانواده آزادماهیان، و یکی از مهم‌ترین گونه‌های ماهی پرورشی در ایران است. تقاضا برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در ایران و سایر بازارهای کشور به‌طور چشم‌گیری در دهه گذشته افزایش یافته است. همراه با گسترش تقاضا، نیاز به توسعه فن‌آوری‌های جدید و روش‌های حفاظتی جهت افزایش مدت ماندگاری و بازارپسندی این محصولات به‌شدت احساس می‌شود (Chouliara *et al*., 2004). ماهی بزرگ‌ترین منبع غذایی حاوی اسیدهای چرب اشباع‌نشده (PUFA) امگا-۳ (ω-3)، ایکوزاپنتانوئیک اسید (C20: 5ω-3, EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (C22: 6ω-3, DHA) می‌باشد (Holub and Holub, 2004).

لینولئیک اسید (C18: 2ω-6; LA)، لینولنیک اسید (C18: 3ω-3; LNA) و مشتقات بلند زنجیره‌ای آن مانند آراشیدونیک اسید (C20: 5ω -3; AA) و C22: 6ω-3 از ترکیبات مهم ساختاری و فیزیولوژیکی سلول‌های گیاهی و جانوری هستند. این ترکیبات نقش مهمی در نفوذپذیری، فعالیت آنزیم و سایر عملکردهای غشاهای زیستی دارند (Simopoulos, 2000; Lee, 2001). بنابراین، اسیدهای چرب چند غیراشباع، به‌ویژه ترکیبات امگا-۳ (ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید)، به‌منظور رشد طبیعی و بقای سلول‌ها در رژیم غذایی مورد نیاز می‌باشند (Sargent *et al*. 2002; Wilson *et al*., 2007). از طرف دیگر، بافت ماهی به‌دلیل داشتن مقدار قابل‌توجهی از این نوع اسیدهای چرب، و اکسیداسیون آن بعد از مرگ، سریع‌تر دچار فساد می‌گردند (Foegeding *et al*., 1996). اکسیداسیون سریع اسیدهای چرب امگا ۳ و همچنین واکنش‌های هیدرولیتیک سبب کاهش عمرماندگاری در ماهیان می‌گردد (Cho *et al*., 1989; Pacheco-Aguilar *et al*., 2000). جهت جلوگیری و یا به تعویق انداختن فساد ماهی و فرآورده‌های آن راه‌کارهای متعددی ارائه شده است که از آن جمله می‌توان به کنترل درجه حرارت و کاهش آن، بسته‌بندی تحت خلاء و هم‌چنین افزودن آنتی‌اکسیدان اشاره نمود (Lin and Lin, 2004). به دلیل اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی امروزه استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی، بسیار توصیه می‌شود (Sakanaka *et al*., 2005).

لیکوپن یک رنگدانه کاروتنوئیدی می‌باشد که به‌صورت طبیعی در سبزیجات و میوه‌ها یافت می‌شود. لیکوپن به‌عنوان یک ایزومر بتاکاروتن مطرح می‌باشد و به‌واسطه فراوانی باندهای غیراشباع در زنجیره هیدروکربنی خود، قدرت بالایی در جذب رادیکال اکسیژن یگانه دارد (Clinton, 1998; Rao and Agarwal, 1999). لیکوپن گوجه‌فرنگی در مقابل حرارت و pH های مختلف موجود در مواد غذایی پایدار است. در غلظت‌های پایین تاثیرگذاری مطلوب دارد. طعم نامطلوب ندارد و رنگ زرد تا قرمز را می‌تواند در مواد غذایی ایجاد کند. مطالعات

اپیدمیولوژیک اثرات مثبت مصرف رژیم غذایی با لیکوپن بالا را بر روی سلامت تایید می‌کند (Rao and Agarwal, 1999; Shi and Maguer, 2000). با توجه به این‌که تاکنون مطالعه‌ای در زمینه بررسی اثرات لیکوپن در پوشش‌های غذایی انجام نشده است، این تحقیق، با هدف مطالعه خاصیت آنتی‌اکسیدانی لیکوپن و تعیین اثرات آن به همراه پوشش کیتوزان، بر ترکیب اسیدهای چرب فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد.

مواد و روش‌ها

اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی محلول لیکوپن با روش DPPH: محلول DPPH در متانول (۲٤ میکروگرم در میلی‌لیتر) تهیه شد و ۲ میلی‌لیتر از این محلول به ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف لیکوپن (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۳، ۵ و ۱۰٪) اضافه شد. پس از گذشت یک ساعت نگهداری در دمای اتاق و تاریکی جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Pharmacia LKB Novaspec, Sweden) اندازه‌گیری شد و با غلظت ۰/۵، BHT به‌عنوان آنتی‌اکسیدان شاهد مورد مقایسه قرار گرفت. از هر غلظت سه تکرار گذاشته شد و فعالیت جاروب‌کنندگی آن طبق فرمول زیر محاسبه گردید (Erkan *et al*., 2008).

= فعالیت جاروب‌کنندگی رادیکال آزاد
[(Ablank - ASample) / Ablank]×100

تهیه ماهی، فیله‌کنی و آماده‌سازی تیمارها جهت نگهداری در یخچال: پس از خرید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از فروشگاه توزیع آبزیان ارومیه، اقدام به فیله‌کنی ماهیان شد. سپس، پوست فیله‌ها به وسیله انبرک جدا گردید و سپس فیله‌ها با استفاده از آب تمیز مورد شستشو قرار گرفتند.

آماده‌سازی پوشش و غوطه‌ورسازی فیله ماهیان در آن: در این مرحله پس از آماده‌سازی محلول کیتوزان ۲٪، لیکوپن در نسبت‌های ۱/۵ و ۳٪ (بر اساس آزمون DPPH و نتایج ارزیابی حسی اولیه) به آن افزوده شد. به این منظور سطوح مناسب لیکوپن در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۲۰٪ حل و سپس ۰/۲ میلی‌لیتر امولسیفایر (Tween 80) به ازای هر ۱۰۰ میلی‌لیتر، به محلول آنتی‌اکسیدان اضافه شد و محلول آماده‌شده لیکوپن قبل از افزودن گلیسرول به محلول پوشش (کیتوزان) اضافه گردید. در این مرحله فیله‌های آماده‌شده در محلول‌های موردنظر غوطه‌ورسازی و به‌مدت ۵ ساعت در شرایط استریل و دمای ٤ درجه خشک شدند (Ojagh *et al*., 2010). در مرحله بعد، فیله‌های تیمارشده هر گروه در کیسه‌های زیپ‌دار شماره‌گذاری شده، قرار داده شدند و به یخچال منتقل گردید و به‌مدت ۱٦ روز در این شرایط نگهداری شدند و سپس آنالیز اسیدهای چرب با فواصل زمانی ۸ روز انجام شد.

آنالیز اسیدهای چرب: در این مرحله ابتدا چربی فیله‌ها به روش بلیغ و دایر (Bligh and Dyer, 1959) استخراج شد و جهت بررسی ترکیب اسیدهای چرب

مورد استفاده قرار گرفت. به‌منظور استری‌کردن چربی از روش ایچی‌هارا و همکاران (Ichihara *et al.*, 1996) با اندکی تغییرات در حجم‌های مصرفی استفاده گردید. بدین‌منظور ۰/۰۵ گرم چربی توزین شد و سپس به آن ۱۰۰ میکرولیتر KOH متانولی ۲ مولار و ۱۱۰۰ میکرولیتر n–هپتان اضافه گردید. سپس به‌مدت ۲ دقیقه با دستگاه ورتکس به شدت هم زده شد. نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب‌گرم (٦٥ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. پس از طی این زمان نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ٤۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردیدند. سپس لایه شفاف بالایی شامل n– هپتان– متیل استر اسیدهای چرب جداسازی و تا زمان تزریق به دستگاه گاز کروماتوگرافی در میکروتیوب‌های شماره‌گذاری‌شده نگهداری گردید. برای بررسی و شناسایی اسیدهای چرب موجود در نمونه از دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) مدل Agilent 6890N ساخت کشور آمریکا مجهز به ستون کاپیلاری DB-WAX از نوع (30m × 25mm I.d., 25 filmtickness 25 µm) و آشکارساز نوع FID (Flame Ionization Detector) استفاده گردید. مشخصات کامل دستگاه گاز کروماتوگراف مورد استفاده عبارتند از: ستون موینه به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS با برنامه دمایی ۷۰ تا ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و با افزایش تدریجی ۲۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲–۱۰ دقیقه بود. دمای محفظه تزریق ٢٦٥ درجه سانتی‌گراد و سرعت گاز هلیوم (به‌عنوان حامل) ۱/۲ میلی‌لیتر در هر دقیقه بود. طیف‌سنج جرمی از نوع Agilent 5973 با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد. از مقایسه زمان بازداری کروماتوگرام‌های نمونه مجهول با کروماتوگرام‌های به‌دست‌آمده در محلول استاندارد اسیدهای چرب متیل استر، اسیدهای چرب موجود روغن ماهی شناسایی شد. نتایج به صورت درصد سطح زیر پیک از کل بیان شد. هر نمونه دو بار مورد آزمایش قرار گرفت.

استخراج چربی کل جهت اندازه‌گیری پارامترهای اکسیداسیون: بدین‌منظور، در روزهای ۰، ٤، ۸، ۱۲ و ١٦ نگهداری در یخچال، فیله تعدادی ماهی را با هم از طریق چرخ‌گوشت مخلوط کرده و سپس ۱۰۰ گرم از گوشت یکنواخت‌شده را به همراه ۱۰۰ میلی‌لیتر کلروفرم و ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول در داخل مخلوط‌کننده ریخته و به‌مدت دو دقیقه مخلوط گردیدند. سپس طی دو مرحله ۱۰۰ میلی‌لیتر کلروفرم و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر به مخلوط فوق اضافه و دوباره مخلوط گردید و مخلوط تهیه‌شده از کاغذ صافی شماره یک تحت شرایط خلاء عبور داده شد که این کار باعث جداسازی فاز جامد از مایع گردید. مایع فیلترشده به داخل دکانتر منتقل شد و به‌مدت چند دقیقه تا جداشدن لایه‌ها و شفاف شدن آن‌ها باقی ماند. فاز شفاف پایینی (شامل کلروفرم و چربی استخراجی) با باز کردن شیر دکانتر خارج گردید. در صورت غیرشفاف‌بودن محلول، با ۱/۵

تا ۲/۵ گرم نمک (Na2SO4) محلول مورد شستشو قرار گرفت. پس از آن محلول مجدداً فیلتر شده و برای خارج‌کردن کلروفرم و تغلیظ چربی وارد حمام آب گرم متصل به دستگاه روتاری (Heidolph laborta 4003، ساخت کشور آلمان) گردید.

اندازه‌گیری پراکسید با روش ایگان ۱۹۸۱ انجام گرفت (Egan *et al.*, 1981) و به‌صورت میلی اکی‌والان گرم ید آزاد به ازای یک کیلوگرم چربی گزارش گردید. ابتدا مقدار ۰/۱ گرم چربی داخل یک فلاسک شیشه‌ای ۲۵۰ میلی‌لیتری درب‌دار ریخته شد. چربی در ۲۵ میلی‌لیتر حلال (مخلوطی از کلروفرم–اسید استیک) همراه با تکان‌دادن ظرف حل گردید. سپس، مقدار ۱ میلی‌لیتر محلول اشباع یدید پتاسیم به آن اضافه و بلافاصله درب آن بسته و به مدت ۱۰ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد. بعد از طی این زمان، مقدار ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر از محلول ۱/۵٪ نشاسته به آن اضافه و تکان داده شد. نمونه سپس با استفاده از Na2S2O3، ۰/۰۱ نرمال تا ناپدید شدن رنگ آبی توسط بورت دیجیتالی تیتر گردید. همزمان یک تست بدون چربی نیز انجام و میزان پراکسید از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$PV = [1000(V1-V2).N] / W$$

در آن V1 برابر حجم (میلی‌لیتر) محلول تیوسولفات سدیم مصرفی، V2 حجم تیوسولفات سدیم مصرفی در آزمایش بدون چربی، W وزن (گرم) چربی مصرفی و N نرمالیته محلول تیوسولفات سدیم می‌باشند.

اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد: اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد با روش ایگان و همکاران انجام گرفت (Egan *et al.*, 1981). ابتدا مقدار ۰/۲ گرم از چربی ماهی در ۵۰ میلی‌لیتر حلال (مخلوطی مساوی از اتانول ۹۶٪ با دی‌اتیل‌اتر به لحاظ حجمی) حل گردید. سپس مقدار ۱ تا ۲ قطره فنل‌فتالئین به عنوان شاخص به آن اضافه گردید. نمونه با هیدروکسید سدیم (۰/۱ نرمال) توسط بورت دیجیتالی تیتر گردید. هنگامی که رنگ نمونه به رنگ صورتی در آمد و حدود ۳۰ ثانیه دوام یافت، کار تیتراسیون متوقف و سپس از طریق رابطه زیر میزان اسید محاسبه گردید.

$$\text{Acid value} = \frac{56.1 \times N \times V}{W}$$

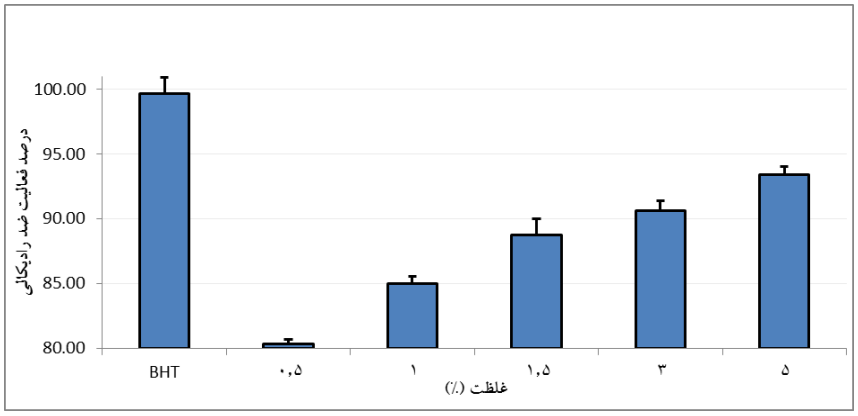
در فرمول فوق، N نرمالیته محلول مصرفی، V حجم هیدروکسید سدیم مصرفی و W وزن نمونه چربی ماهی مصرف شده را نشان می‌دهد. مقدار اسیدهای چرب آزاد از فرمول زیر محاسبه می‌گردد.

$$\text{FFA (\%)} = \text{Acid value} \times \frac{1}{2}$$

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزار SPSS انجام پذیرفت. به‌منظور تعیین تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف از آزمون توکی (Tukey) استفاده شد. در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز ۵ درصد در نظر گرفته شد. برای ترسیم نمودار از نرم‌افزار Excel (نسخه ۲۰۱۰) استفاده شد.

یافته‌ها

خواص آنتی اکسیدانی لیکوپن: در این بررسی، تست آنتی‌اکسیدان، غلظت‌های مختلف محلول لیکوپن را از نظر خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار قدرت‌مند ارزیابی نمود. نتایج این آزمون در نمودار (۱) قابل مشاهده است.



نمودار (۱)- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف لیکوپن به‌روش DPPH

نتایج بررسی ترکیب اسیدهای چرب: با بررسی ترکیب اسیدهای چرب فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌طور کلی تعداد ۱۹ نوع اسیدچرب شناسایی گردید. اسیدچرب‌های تک غیراشباع (MUFA)، اسیدچرب‌های چند غیراشباع (PUFA) و اسیدچرب‌های اشباع (SFA) به‌ترتیب قسمت عمده اسیدچرب‌های فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را تشکیل دادند. از بین اسیدچرب‌های چند غیراشباع C18:2n-6 و C22:6n-3 و از بین اسیدچرب‌های غیراشباع C16:0 و C18:0 به ترتیب فراوان‌ترین اسیدچرب‌ها بودند. جداول ۱، ۲ و۳ به ترتیب نتایج ترکیب اسیدهای چرب ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان حاوی سطوح مختلف لیکوپن را طی روزهای صفر، هشت و شانزده دوره نگهداری نشان می‌دهد.

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، میزان اسیدهای چرب اشباع (SFA) با گذشت زمان نگهداری در یخچال در کلیه تیمارها افزایش مقدار را نشان داد، اما میزان تغییرات در تیمارهای حاوی ۳٪ لیکوپن به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود ($p\leq$۰/۰۵). میزان SFA با افزایش میزان لیکوپن پوشش رابطه معکوس داشت. در طول دوره نگهداری در یخچال تیمار حاوی کیتوزان با تیمار کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. به‌طورکلی پوشش کیتوزان حاوی لیکوپن، در کاهش تغییرات SFA به‌طور معنی‌داری بهتر از پوشش کیتوزان و تیمار کنترل بود ($p\leq$۰/۰۵). در روز ۱۶ نگهداری نیز کارآیی افزودن لیکوپن به پوشش در مقایسه با گروه کنترل کاملاً مشهود و معنی‌دار بود ($P<$۰/۰۵).

جدول (۱)- درصد ترکیب اسیدهای چرب گروه کنترل فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روز صفر نگهداری در دمای یخچال

اسیدهای چرب	درصد
C14:0	۲/۰۸±۰/۰۱
C16:0	۱۳/۶۷±۰/۰۱
C16:1n-7	۳/۱۶±۰/۰۰۵
C18:0	۴/۳۱±۰/۰۱
C18:1n-9	۳۶/۵۵±۰/۰۱
C18:1n-7	۱/۹۸±۰/۰۱
C18:2n-6	۱۱/۴۷±۰/۰۰۵
C18:3n-3	۴/۴۳±۰/۰۱
C18:4n-3	۳/۲۶±۰/۰۰۵
C20:0	۰/۲۶±۰
C20:1n-9	۱/۶۴±۰/۰۱
C20-2n-6	۰/۳۷±۰/۰۱
C20:3n-3	۰/۸۸±۰/۰۰۵
C20:4n-6	۰/۱۸±۰/۰۰۵
C20:5n-3	۴/۱۹±۰/۰۱
C22:0	۰/۲۸±۰
C22:1n-9	۰/۱۷±۰/۰۱
C22:6n-3	۸/۰۵±۰/۰۱
C24:1n-9	۰/۳۱±۰
PUFA	۳۲/۸۳±۰/۰۶
n-6 PUFA	۱۲/۰۲±۰/۰۲
n-3 PUFA	۲۰/۸۱±۰/۰۴
SEA	۲۰/۰۶±۰/۰۳
MUFA	۴۳/۸۱±۰/۰۴

میزان اسیدهای چرب تک غیراشباع نیز در طول دوره نگهداری، در کلیه تیمارها افزایش مقدار را نشان داد. در طول دوره مطالعه تیمارهای کنترل و تیمار حاوی ۳٪ لیکوپن به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان MUFA را نشان دادند. علاوه بر آن افزایش سطوح لیکوپن سبب کاهش تغییرات MUFA گردید. در پایان دوره نگهداری در یخچال نیز، تیمار حاوی لیکوپن دارای کم‌ترین میزان MUFA بودند ($p\leq۰/۰۵$).

بررسی ترکیب اسیدهای چرب نشان داد که میزان اسیدهای چرب امگا-۳ در طول دوره نگهداری در کلیه تیمارها کاهش یافت. اما آن‌چه مشخص بود این بود که تیمارهای حاوی لیکوپن در کاهش تغییرات n-3 PUFA کارآیی قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با گروه شاهد نشان داد ($p\leq۰/۰۵$). در پایان دوره نگهداری در یخچال، تیمارهای حاوی لیکوپن در کاهش تغییرات n-3 PUFA کاراتر از تیمار کنترل و پوشش کیتوزان بود ($p\leq۰/۰۵$). علاوه بر آن لیکوپن افزوده‌شده به پوشش در سطوح ۱/۵ و ۳٪ از نظر میزان تغییرات n-3 PUFA نیز اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند.

جدول (۲)- درصد ترکیب اسیدهای چرب تیمارهای مختلف فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روز هشت نگهداری در دمای یخچال

اسیدهای چرب	درصد ترکیب اسیدهای چرب			
	کنترل	فیله+کیتوزان	فیله+کیتوزان+ لیکوپن ۱/۵٪	فیله+کیتوزان+ لیکوپن ۳٪
C14:0	۲/۲۲±۰/۰۰۵^{a}	۲/۲۱±۰/۰۰۵^{ab}	۲/۱۹±۰/۰۱^{ab}	۲/۱۷±۰/۰۱^{b}
C16:0	۱۴/۱۶±۰/۰۱^{a}	۱۴/۱۵±۰/۰۱^{a}	۱۳/۸۴±۰/۰۱^{b}	۱۳/۸۲±۰/۰۱**b**
C16:1n-7	۳/۲۴±۰^{a}	۳/۲۳±۰/۰۱**a**	۳/۲۲±۰/۰۰۵^{a}	۳/۲۲±۰/۰۱^{a}
C18:0	۴/۵±۰/۰۱^{a}	۴/۵±۰/۰۱^{a}	۴/۴۱±۰/۰۰۵^{b}	۴/۴۱±۰/۰۱^{b}
C18:1n-9	۳۷/۰۵±۰/۰۰۵^{a}	۳۷/۰۶±۰/۰۱^{a}	۳۶/۸۶±۰/۰۲^{b}	۳۶/۸۴±۰/۰۱^{b}
C18:1n-7	۲/۳۹±۰/۰۰۵^{b}	۲/۳۹±۰/۰۱^{b}	۲/۲۹±۰/۰۱^{a}	۲/۲۶±۰/۰۱**a**
C18:2n-6	۱۰/۸±۰/۰۱^{b}	۱۰/۸±۰/۰۰۵^{b}	۱۰/۹۵±۰/۰۱^{a}	۱۰/۹۶±۰/۰۱^{a}
C18:3n-3	۴/۰۶±۰^{b}	۴/۰۶±۰^{b}	۴/۰۹±۰^{a}	۴/۰۹±۰/۰۰۵^{a}
C18:4n-3	۳±۰/۰۰۵^{b}	۳/۰۱±۰^{b}	۳/۰۸±۰/۰۰۵^{a}	۳/۰۹±۰/۰۱^{a}
C20:0	۰/۳۳±۰/۰۱^{a}	۰/۳۳±۰/۰۰۵^{a}	۰/۳۲±۰/۰۰۵^{a}	۰/۳۱±۰/۰۱^{a}
C20:1n-9	۱/۹۲±۰/۰۰۵^{a}	۱/۹۱±۰/۰۰۵^{a}	۱/۸۴±۰/۰۱^{b}	۱/۸۱±۰/۰۱^{b}

C20:2n-6	۰/۲۵±۰/۰۰۵^{a}	۰/۲۶±۰^{a}	۰/۲۹±۰^{b}	۰/۲۹±۰/۰۰۵^{b}
C20:3n-3	۰/۶۹±۰/۰۱^{b}	۰/۶۹±۰/۰۰۵^{b}	۰/۷۶±۰/۰۰۵^{a}	۰/۷۹±۰/۰۱a
C20:4n-6	۰/۱±۰/۰۰۵^{a}	۰/۱۱±۰^{a}	۰/۱۱±۰/۰۰۵^{a}	۰/۱۲±۰^{a}
C20:5n-3	۳/۸۵±۰/۰۱^{a}	۳/۸۷±۰/۰۱^{a}	۳/۸۹±۰/۰۱^{a}	۳/۹±۰/۰۱^{a}
C22:0	۰/۳۲±۰/۰۱^{a}	۰/۳۱±۰^{a}	۰/۳۱±۰^{a}	۰/۳±۰/۰۰۵^{a}
C22:1n-9	۰/۲۹±۰/۰۰۵^{a}	۰/۲۹±۰^{a}	۰/۲۷±۰/۰۱^{a}	۰/۲۵±۰/۰۱^{a}
C24:1n-9	۰/۳۷±۰^{a}	۰/۳۶±۰/۰۰۵^{a}	۰/۳۶±۰^{a}	۰/۳۵±۰/۰۰۵^{a}
PUFA	۳۰/۳۲±۰/۰۵^{b}	۳۰/۳۶±۰/۰۲^{b}	۳۰/۸۱±۰/۰۲^{a}	۳۰/۸۹±۰/۰۵^{a}
n-6 PUFA	۱۱/۱۵±۰/۰۲^{b}	۱۱/۱۷±۰/۰۵^{b}	۱۱/۳۵±۰/۰۱^{a}	۱۱/۳۷±۰/۰۱^{a}
n-3 PUFA	۱۹/۱۷±۰/۰۳^{b}	۱۹/۱۹±۰/۰۲^{b}	۱۹/۴۶±۰/۰۲^{a}	۱۹/۵۲±۰/۰۴^{a}
SFA	۲۱/۵۳±۰/۰۴^{a}	۲۱/۵±۰/۰۳^{a}	۲۱/۰۷±۰/۰۳^{b}	۲۱/۰۱±۰/۰۴^{b}
MUFA	۴۵/۲۵±۰/۰۲^{a}	۴۵/۲۴±۰/۰۴^{a}	۴۴/۸۴±۰/۰۵^{b}	۴۴/۷۳±۰/۰۵^{b}

a, b: وجود حروف متفاوت در هر ردیف، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (p≤۰/۰۵).

میزان اسیدهای امگا-۶ نیز در کلیه تیمارها با افزایش زمان نگهداری کاهش پیدا نمود. در طول دوره نگهداری تیمارهای حاوی ۳٪ لیکوپن و کنترل به ترتیب دارای بیش‌ترین و کم‌ترین میزان n-6 PUFA بودند. نتایج نشان داد که افزودن لیکوپن به پوشش در مقایسه با گروه کنترل به طور فزاینده‌ای در کاهش تغییرات n-6 PUFA مؤثر بوده است (p≤۰/۰۵). میزان افزایش لیکوپن به پوشش رابطه مستقیمی با کاهش نرخ تغییرات n-6 PUFA نشان داد.

همانند تغییرات اسیدچرب‌های امگا-۳ و امگا-۶، کاهش میزان اسیدچرب‌های چند غیراشباعی (PUFA) در کلیه دوره مطالعه مشاهده گردید. اما میزان این تغییرات در گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود (p≤۰/۰۵). در پایان دوره نگهداری در یخچال تیمارهای حاوی لیکوپن دارای سطوح بالاتری از PUFA نسبت به تیمار کنترل بود (p≤۰/۰۵).

جدول (۳)- درصد ترکیب اسیدهای چرب تیمارهای مختلف فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روز شانزده نگهداری در دمای یخچال

اسیدهای چرب	درصد ترکیب اسیدهای چرب			
	کنترل	فیله+کیتوزان	فیله+کیتوزان+ لیکوپن ۱/۵٪	فیله+کیتوزان+ لیکوپن ۳%
C14:0	۲/۴۱±۰/۰۱ ^{a}	۲/۴±۰/۰۰۵ ^{a}	۲/۲۲±۰/۰۱^{b}	۲/۱۹±۰/۰۱^{b}
C16:0	۱۴/۳۷±۰/۰۲ ^{a}	۱۴/۳۵±۰/۰۰۵^{a}	۱۴±۰/۰۱ ^{b}	۱۳/۹۸±۰/۰۱^{b}
C16:1n-7	۳/۴۲±۰ ^{a}	۳/۴۱±۰/۰۰۵^{a}	۳/۳۴±۰/۰۰۵ ^{b}	۳/۳۳±۰/۰۱^{b}
C18:0	۴/۹۷±۰/۰۱ ^{a}	۴/۹۴±۰/۰۰۵^{a}	۴/۷۵±۰/۰۱^{b}	۴/۷۳±۰/۰۱^{b}
C18:1n-9	۳۷/۴۴±۰/۰۱ ^{a}	۳۷/۴۳±۰/۰۱^{a}	۳۷/۱۷±۰^{b}	۳۷/۱۵±۰/۰۱^{b}
C18:1n-7	۲/۵۴±۰/۰۱ ^{a}	۲/۵۳±۰/۰۱^{a}	۲/۴۶±۰/۰۰۵^{b}	۲/۴۵±۰/۰۱^{b}

C18:2n-6	۱۰/۲۷±۰/۰۱ b	۱۰/۲۹±۰/۰۱ b	۱۰/۵۲±۰a	۱۰/۵٤±۰/۰۱ a
C18:3n-3	۳/۸۳±۰/۰۰۵ b	۳/۸٤±۰/۰۱ b	۳/۹۳±۰/۰۱a	۳/۹۵±۰/۰۱a
C18:4n-3	۲/۸۳±۰ b	۲/۸۵±۰/۰۱b	۲/۹٤±۰a	۲/۹٦±۰/۰۱a
C20:0	۰/٤٦±۰/۰۱ a	۰/٤۳±۰/۰۰۵ab	۰/٤±۰/۰۰۵ ab	۰/۳۹±۰/۰۱b
C20:1n-9	۲/۰٤±۰ a	۲/۰۲±۰/۰۱ a	۱/۹۳±۰/۰۰۵b	۱/۹۱±۰b
C20:2n-6	۰/۱۲±۰/۰۱ b	۰/۱۲±۰ b	۰/۲±۰/۰۰۵ a	۰/۲۱±۰/۰۱a
C20:3n-3	۰/۵۱±۰/۰۱ b	۰/۵۲±۰/۰۰۵ b	۰/٦۲±۰/۰۱ a	۰/٦۳±۰/۰۰۵a
C20:4n-6	۰/۰٦±۰ a	۰/۰٦±۰/۰۱ a	۰/۰۸±۰/۰۰۵a	۰/۱±۰/۰۱a
C20:5n-3	۳/٦±۰/۰۰۵ b	۳/٦۱±۰/۰۰۵ b	۳/۷۵±۰/۰۱a	۳/۷۸±۰/۰۱a
C22:0	۰/٤۳±۰ a	۰/٤۲±۰/۰۰۵ a	۰/۳۸±۰/۰۱ b	۰/۳۷±۰/۰۱b
C22:1n-9	۰/۳۲±۰/۰۰۵ a	۰/۳۲±۰a	۰/۳±۰/۰۱a	۰/۲۸±۰/۰۱a
C22:6n-3	٦/۷۸±۰ b	٦/۷۸±۰/۰۱ b	۷/۰۵±۰/۰۱ a	۷/۰۱±۰/۰۲a
C24:1n-9	۰/۵۵±۰/۰۰۵ a	۰/۵۳±۰/۰۰۵ab	۰/۵±۰/۰۰۵ bc	۰/٤۸±۰/۰۱c
PUFA	۲۸±۰/۰٤ b	۲۸/۰۷±۰/۰٦b	۲۹/۰۹±۰/۰۵a	۲۹/۱۸±۰/۰۸a
n-6 PUFA	۱۰/٤۵±۰/۰۲ b	۱۰/٤۷±۰/۰۲ b	۱۰/۸±۰/۰۱ a	۱۰/۸۵±۰/۰۳a
n-3 PUFA	۱۷/۵۵±۰/۰۲ b	۱۷/٦±۰/۰٤ b	۱۸/۲۹±۰/۰٤ a	۱۸/۳۳±۰/۰۵a
SFA	۲۲/٦٤±۰/۰۵ a	۲۲/۵٤±۰/۰۲a	۲۱/۷۵±۰/۰٤b	۲۱/٦٦±۰/۰۵b
MUFA	٤٦/۳۱±۰/۰۳ a	٤٦/۲٤±۰/۰۳a	٤۵/۷±۰/۰۳b	٤۵/٦±۰/۰۵b

a, b,c: وجود حروف متفاوت در هر ردیف، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (p≤۰/۰۵).

نتایج اندازه‌گیری میزان پراکسید: جدول ٤ بیانگر مقادیر پراکسید (PV) تیمارهای آزمایشی مختلف در طول دوره نگهداری در یخچال می‌باشد. در مطالعه حاضر، میزان PV ابتدایی نمونه‌ها بر حسب میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم چربی در محدوده ۱/۳۱–۱/۳٤ متغیر بود. نتایج نشان داد که در روز ۸ نگهداری کاهش مقدار پراکسید مشاهده گردید و در ادامه تا پایان دوره مجددا افزایش یافت (p≤۰/۰۵). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه، فیله‌های غوطه‌ورشده در محلول‌های کیتوزان سطوح بالای لیکوپن، دارای میزان PV به مراتب کمتری بودند (p≤۰/۰۵).

جدول (٤)- تغییرات میزان پراکسید (میلی‌اکی‌والان اکسیژن فعال/کیلوگرم چربی) در تیمارهای مختلف فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روزهای مختلف نگهداری در دمای یخچال

تیمار	زمان نگهداری (روز)		
	۰	۸	۱٦
فیله	**۱/۳٤±۰/۱۱a**	**۳/۳۲±۰/۰۳a**	**۹/۸٦±۰/۰٤a**
فیله+کیتوزان	**۱/۳۱±۰/۰۲a**	**۲/۰۲±۰/۰۲b**	**۸/۹٦±۰/۰۳b**
فیله+کیتوزان+ لیکوپن ۱/۵٪	**۱/۳٤±۰/۰۷a**	**۱/۸۸±۰/۱۸b**	**۷/۲۳±۰/۰۸c**
فیله+کیتوزان+ لیکوپن ۳٪	**۱/۳۱±۰/۰۳a**	**۱/٦۲±۰/۰۵c**	**٦/۵۲±۰/۰۲d**

a, b, c: **وجود حروف متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است** (p≤۰/۰۵).

نتایج اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد (FFA): جدول ۵ بیانگر میزان تغییرات مقدار اسیدهای چرب آزاد (FFA) محاسبه شده در تیمارهای مختلف در طی دوره نگهداری در یخچال می‌باشد. به‌طورکلی میزان FFA در آغاز دوره در محدوده ۱/۵۶-۱/۵ درصد بود و تیمارهای مختلف با یکدیگر اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. میزان FFA در طول دوره نگهداری تغییرات گسترده‌ای را نشان داد.

براساس نتایج این مطالعه، میزان FFA تا پایان دوره نگهداری افزایش یافت. نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن لیکوپن به فیله در کاهش میزان FFA در مقایسه با گروه کنترل مؤثر بود ($p\leq ۰/۰۵$). هم‌چنین میان میزان لیکوپن پوشش و مقدار FFA فیله‌ها رابطه عکس برقرار بود. یعنی با افزایش میزان لیکوپن، مقدار FFA کاهش یافت.

جدول (۵)- تغییرات درصد اسید چرب‌های آزاد در تیمارهای مختلف فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روزهای مختلف نگهداری در دمای یخچال

تیمار	زمان نگهداری (روز)		
	۰	۸	۱۶
فیله	**۱/۵۲±۰/۲۲^{a}**	**۲/۵۱±۰/۲۵^{a}**	**۵/۰۸±۰/۲۷^{a}**
فیله+کیتوزان	**۱/۵±۰/۱۳^{a}**	**۲/۳۲±۰/۱^{a}**	**٤/۸٦±۰/۰۹^{a}**
فیله+کیتوزان+ لیکوپن ۱/۵%	**۱/۵٦±۰/۰۸^{a}**	**۱/۸۳±۰/۰۳^{b}**	**٤/۲۳±۰/۰۸^{b}**
فیله+کیتوزان+ لیکوپن ۳%	**۱/۵۳±۰/۰۷^{a}**	**۱/۷۲±۰/۰۵^{b}**	**٤/۰۸±۰/۰۲^{c}**

وجود حروف متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است.

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر فعالیت آنتی‌اکسیدانی لیکوپن ابتدا توسط روش DPPH اندازه‌گیری شد و سپس در غلظت‌های مناسب به عنوان یک آنتی‌اکسیدان به فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تیمار با کیتوزان اضافه گردید و شاخص‌های پراکسید (PV) و اسیدهای چرب آزاد (FFA) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. سپس روند تغییرات پروفایل اسیدهای چرب آن مورد ارزیابی قرار گرفت. تست آنتی‌اکسیدان، غلظت‌های مختلف محلول لیکوپن را از نظر خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار قدرت‌مند ارزیابی نمود. بر اساس نتایج حاصل از تست DPPH و ارزیابی حسی نمونه‌های تهیه شده بصورت پایلوت، غلظت‌های ۱/۵ و ۳٪ به عنوان غلظت‌های مناسب جهت تهیه پوشش به‌کار گرفته شدند. در نهایت بر طبق نتایج مطالعه حاضر مقادیر PV و FFA با گذشت زمان در تمامی تیمارها افزایش یافت. مقایسه نتایج تیمارها با نمونه کنترل نشان داد که لیکوپن سبب کاهش نرخ اکسیداسیون در نمونه‌ها گردید.

ویژگی آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها به پیوندهای دوگانه مزدوج کربن- کربن مربوط می‌شود و

کاروتنوئیدهای با بیش از ۹ پیوند دوگانه مزدوج خاصیت آنتی‌اکسیدانی را از خود بروز می‌دهند. لیکوپن با داشتن ۱۱ پیوند دوگانه مزدوج از قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی محسوب می‌گردد (Paiva and Russell, 1999). به‌طوری‌که قدرت آنتی‌اکسیدانی آن ۲ برابر بتاکاروتن و ۱۰ برابر آلفا-توکوفرول استات برآورد شده است (Rao and Agarwal, 1999; Shi and Maguer, 2000).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میزان پراکسید در کلیه نمونه‌ها تا پایان دوره در حال افزایش بود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از تیمار کنترل، افزودن لیکوپن به صورت مجزا و یا در ترکیب با کیتوزان در کاهش میزان PV بافت عضله کارایی بالایی داشت، اما در این بین فیله‌های غوطه‌ورشده در محلول‌های کیتوزان و سطوح بالای لیکوپن، دارای میزان PV به مراتب کمتری بودند. محدوده قابل‌پذیرش مقدار اندیس پراکسید در حدود ۲۰-۱۰ میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم چربی بود (Huss, 1995). بر اساس نتایج این مطالعه، در تمام دوره نگهداری کلیه تیمارها از نظر اندیس پراکسید در محدوده قابل‌قبول بودند.

در فرآیند پیچیده اکسیداسیون چربی اسیدهای چرب غیراشباع با اکسیژن مولکولی واکنش داده و تولید رادیکال‌های آزاد می‌کنند. رادیکال پراکسی چربی (ROOo) با مولکول‌ها دیگر اسید چرب ترکیب‌شده و تشکیل هیدروپراکساید و رادیکال‌های آزاد دیگر می‌نماید، تکرار این واکنش‌ها در نهایت باعث ایجاد تجمعی از هیدروپراکسیدها خواهد شد (Simic and Taylor, 1987). هیدروپراکسید محصول اولیه اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFA) است، به‌همین‌خاطر اکسیداسیون اولیه چربی با استفاده از اندازه‌گیری میزان پراکسید ارزیابی می‌شود (Lin and Lin, 2005). از آنجا که پراکسیدها ترکیبات بدون طعم و بو می‌باشند، نمی‌توانند به‌وسیله مصرف‌کنندگان تشخیص داده شوند. ولی این ترکیبات سبب به‌وجود آمدن ترکیبات ثانویه مثل آلدئیدها و کتون‌ها می‌شوند که سبب تشخیص تندشدن اکسیداسیونی می‌شوند (Ozyurt *et al.*, 2007). آنتی‌اکسیدان‌ها با اهدای هیدروژن با لیپیدهای اکسیدنشده رقابت می‌کنند (Lin and Liang, 2002)، بنابراین با اهدای یک اتم هیدروژن یا الکترون آزاد باعث تشکیل ترکیبات پایدار می‌شوند (Mahdavi *et al.*, 1995)، یا ممکن است از طریق شلاته‌کردن یون‌های فلزی (عوامل پرواکسیداسیون) یا فرونشاندن اکسیژن یگانه با حذف پراکسید، اثر مثبت خود را در جلوگیری از فساد اعمال کنند (Bellus, 1979; Diplock, 1994; Mahdavi *et al.*, 1995).

همچنین نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر نشان داد که میزان FFA تا پایان دوره نگهداری افزایش می‌یابد. بر اساس این نتایج، افزودن لیکوپن به فیله در کاهش میزان FFA در مقایسه با گروه کنترل مؤثر بود. همچنین میان میزان لیکوپن پوشش و مقدار FFA فیله‌ها رابطه

عکس برقرار بود. یعنی با افزایش میزان لیکوپن، مقدار FFA کاهش یافت.

تشکیل FFA به‌تنهایی باعث کاهش ارزش تغذیه‌ای نمی‌شود، با این وجود ارزیابی آن در بررسی فساد ماهی مهم می‌باشد (Lugasi *et al*., 2007; Losada *et al*., 2007). این امر بر اساس اثر کاتالیزی گروه کربوکسیل بر تشکیل رادیکال‌های آزاد به واسطه تجزیه هیدروپراکسیدها قابل توجیه می‌باشد. به علاوه FFA در مقایسه با مولکول‌های چربی بزرگتر (یعنی تری‌گلیسرید و فسفولیپید) دارای اندازه مولکولی کوچکتری بوده و سرعت اکسیداسیون آن بیشتر است (Lugasi *et al*., 2007; Losada *et al*., 2007). شکل‌گیری FFA طی نگهداری کوتاه‌مدت به‌علت کاتالیزشدن چربی‌ها توسط آنزیم‌های داخلی (عمدتاً لیپاز و فسفولیپاز) صورت می‌گیرد (Losada *et al*., 2007). البته رشد برخی از باکتری‌های ویژه فساد نیز به دلیل تولید آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز اغلب مسئول افزایش FFA محصولات غذایی می‌باشند (Kykkidou *et al*. 2009).

در بین کاروتنوئیدها، لیکوپن کارآمدترین دهنده اکسیژن است. به‌طور کلی واکنش کاروتنوئیدها، به ویژه لیکوپن، در سیستم‌های بیولوژیکی به ساختار فیزیکی و مولکولی آن‌ها، محل و یا محل عمل در داخل سلول، توانایی ارتباط برقرارکردن با دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها، غلظت و فشار اکسیژن وابسته است. تخریب لیکوپن در اثر مواجهه با رادیکال‌های آزاد و یا عوامل اکسیدکننده ممکن است، منجر به کاهش رنگ محصول شود. این امر به دلیل واکنش با رادیکال‌های آزاد رخ می‌دهد و ممکن است سبب قطع زنجیره پلی‌ان گردد. پیوندهای دوگانه کونژوگه لیکوپن مهم‌ترین نقش را در انتقال انرژی بازی می‌کنند (Rao and Agarwal, 1999; Shi and Maguer, 2000).

محتوای چربی و تغییرات اسیدهای چرب در ماهیان نه‌تنها در گونه‌های مختلف بلکه در افراد یک گونه نیز دارای تغییرات قابل ملاحظه‌ای است. ترکیب اسیدچرب فیله علاوه بر آن می‌تواند تحت تأثیر فاکتورهای متابولیکی مانند بتا-اکسیداسیون، فعالیت لیپوژنیک، غیراشباع‌سازی اسیدهای چرب از طریق طولانی‌کردن زنجیره کربنی و تلفیق اسیدهای چرب قرار گیرد (Linares and Henderson, 1991; Kiessling and Kiessling, 1993). هم‌چنین اندازه، سن و جنس گونه، فاکتورهای محیطی مانند دما، شوری، تغییرات فصلی جاندار نیز می‌تواند بر روی ترکیب اسیدچرب فیله ماهی تأثیرگذار باشند. علاوه بر آن در گونه‌های مختلف ماهیان، نسبت عضلات تیره و روشن با توجه به وضعیت فیزیولوژیکی جانور متفاوت می‌باشد که این نیز می‌تواند از عوامل تأثیرگذار بر میزان تغییرات اسیدهای چرب در فیله باشد، چرا که میزان و نوع چربی این عضلات با هم متفاوت می‌باشد و عضلات تیره بیشتر دچار تغییرات می‌شوند (Kolakowska, 1991).

در زمینه افزودن لیکوپن به فیله ماهیان به‌عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدان، این مطالعه می‌تواند به عنوان مطالعات اولیه محسوب گردد. اما گزارش اثر افزودن سطوح مختلف سایر آنتی‌اکسیدان‌ها به فیله ماهیان

توسط بسیاری از محققان انجام شده است. نتایج این تحقیقات که در مورد گونه‌های مختلف ماهیان مطالعه نموده‌اند، نیز مؤید و تاییدی بر نتایج تحقیق حاضر است. برای مثال زکی پور و همکاران با افزودن سطوح مختلف آلفا-توکوفرول به جیره و فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، نتایج مشابهی را گزارش نموده‌اند (Zakipour *et al*., 2012). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن سطوح مختلف لیکوپن به فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی شانزده روز نگهداری در دمای یخچال، باعث بروز تغییراتی در ترکیب کلی اسیدهای چرب فیله تیمارهای مختلف آزمایشی گردید. از آن‌جایی که در مطالعه حاضر تیمارها تنها از لحاظ تفاوت در مقادیر افزوده‌شده لیکوپن به فیله (نه جیره) با یک‌دیگر اختلاف داشتند، لذا در پایان دوره مطالعه اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین ترکیبات کلی اسیدچرب تیمارهای مختلف مشاهده نگردید.

جهت بررسی مستقیم وضعیت ثبات چربی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شرایط نگهداری می‌توان به بررسی و بیان تغییرات ترکیب اسیدهای چرب ماهی پرداخت، در این بین توجه به نقش آنتی‌اکسیدان‌های به کار رفته نیز مهم است. چون ثبات چربی وابسته به حضور و عدم حضور آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد (Kolakowska *et al*., 2006). به‌طورکلی، میزان اکسیداسیون چربی در فرآورده‌های گوشتی بستگی به نسبت اسیدهای چرب غیراشباع از کل اسیدهای چرب و وجود آنتی‌اکسیدان‌ها دارد (Chen *et al*., 2007).

با بررسی تغییرات ترکیب اسیدهای چرب فیله ماهیان قزل‌آلای تیمارشده با سطوح مختلف لیکوپن، نتایج مطالعه حاضر گویای این مسئله است که سطوح مختلف لیکوپن اضافه‌شده به فیله قزل‌آلا در طول دوره نگهداری در یخچال بر روی تغییرات ترکیب اسیدهای چرب تاثیرگذار می‌باشد. علاوه بر آن در پایان دوره نگهداری، میزان اسیدهای چرب اشباع در فیله تیمارشده با این افزودنی نسبت به گروه کنترل تغییرات اندکی را شامل شده بود و مقدار آن نیز طی نگهداری در یخچال کمتر از گروه‌های کنترل و فیله تیمارشده با کیتوزان بود. در مطالعه حاضر اگر چه در طول دوره نگهداری در یخچال اسیدچرب‌های اشباع و تک غیراشباع افزایش و اسیدچرب‌های غیراشباع کاهش مقدار را نشان دادند، اما نرخ تغییرات در اثر افزودن لیکوپن بسیار کمتر بود.

از آن‌جایی که لیکوپن یک ترکیب محلول در چربی می‌باشد، لذا در طول دوره نگهداری در قسمت چربی‌های غشایی ذخیره می‌گردد. غشای سلولی و اندام‌های درون سلولی دارای لیپوپروتئین می‌باشد، که به‌صورت خودبخودی اکسید می‌گردند. اکسیداسیون چربی در دیواره سلولی سبب آزادسازی رادیکال‌های آزاد گردیده و در نتیجه باعث تخریب و آزادسازی آنزیم‌های درون سلولی می‌گردد و باعث بروز پدیده خودهضمی می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌های محلول در چربی سبب جلوگیری از اکسیداسیون لیپید غشای سلولی می‌گردند (Nachbar and Korting, 1995). بر طبق نظر آجویا و همکاران، افزایش اکسیداسیون رخ‌داده در ماهی

قزل‌آلای رنگین‌کمان طی دوره نگهداری ناشی از کاهش سطوح آنتی‌اکسیدان‌ها در بافت است. اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFA) خیلی آسان‌تر از اسیدهای چرب اشباع اکسیدشده و بنابراین محصولات غذایی که در آن‌ها میزان اسیدهای چرب چند غیراشباع امگا-۳ بالا است، بیش‌تر در معرض اکسیداسیون هستند (Ajuyah *et al*., 1993). ماهی‌ها و بالاخص ماهیان چرب مثل قزل‌آلای رنگین‌کمان از این قاعده مستثنی نیستند (Chen *et al*., 2007). پارامترهای تغذیه‌ای، فصل صید، سیکل تخم‌ریزی، تفاوت‌های جنسی، اندازه ماهی، ناحیه زندگی و سایر پارامترهای محیطی از سایر عوامل تأثیرگذار بر روی کیفیت چربی ماهیان می‌باشد (Pacheco-Aguilar *et al*., 2000). از آن‌جایی که هنوز مطالعات گسترده‌ای در زمینه ترکیبات اسید چرب فیله ماهیان تیمارشده با لیکوپن انجام نشده است، مکانیسم دقیقی جهت توضیح این تغییرات وجود ندارد.

بر اساس نتایج این تحقیق، لیکوپن فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی دارد، که سبب ممانعت از تغییرات نامطلوب در پروفایل اسیدهای چرب ماهی قزل‌آلا طی دوره نگهداری می‌گردد. هم‌چنین در این پژوهش تیمار محتوی لیکوپن با غلظت ۳٪ شرایط بهتری را نسبت به سایر تیمارها از خود نشان دادند، ولی تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار حاوی ۱/۵٪ لیکوپن نداشت. بنابراین، لیکوپن در غلظت‌های پایین نیز می‌تواند به‌عنوان یک ماده نگهدارنده مناسب در ماهی استفاده شود.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند تا از زحمات کارشناسان آزمایشگاه پژوهشکده آرتمیای دانشگاه ارومیه به‌منظور همکاری در عملیات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

- Ajuyah, A.O., Ahn, D.U., Hardin, R.T. and Sim, J.S. (1993). Dietary antioxidants and storage affect chemical characteristics of x-3 fatty acid enriched broiler chicken meats. Journal of Food Science, 58: 43–46.
- Bellus, D. (1979). Physical quenchers of molecular oxygen. adv. Photochemistry, 11:105-205.
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. Journal of Biochemistry and Physiology, 37: 911–917.
- Chen, Y., Nguyen, J., Semmens, K., Beamer, S. and Jaczynski, J. (2007). Effects of dietary alpha-tocopheryl acetate on lipid oxidation and alpha-tocopherol content of novel omega-3-enhanced farmed rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fillets. Learning with Technologies- Food Science and Technology, 41: 244–253.

- Cho, S., Endo, Y., Fujimoto, K. and Kaneda T. (1989). Oxidative deterioration of lipids in salted and dried sardines during storageat 5 ℃. Nippon Suisan Gakkaishi, 55:541–544.
- Chouliara, I., Savvaidis, I.N., Panagiotakis, N. and Kontominas, M.G. (2004). Preservation of salted, vacuum-packaged, refrigerated sea bream (Sparus aurata) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. Food Microbiology, 21: 351–359.
- Clinton, S.K. (1998). Lycopene: Chemistry, Biology, and Implications for Human Health and Disease. Nutrition Reviews, 1:35–51.
- Diplock, A.T. (1994). Antioxidants and free radical scavengers. In"Free Radical Damage and Its Control. Rice C.A., Burdon R.H. eds. Elsevier Science, 392.
- Egan, H., Kirk, R. S. and Sawyer, R. (1981). Pearson's chemical analysis of foods. Churchill Livingstone: UK, Edinburgh, 535–536.
- Erkan, N., Ayranci G. and Ayranci, E. (2008). Antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) extract, blackseed (Nigella sativa L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol, Food Chemistry, 110: 76-82.
- Foegeding, E.A., Lanier, T.C. and Hultin, H.O. (1996). Characteristics of edible muscle tissues. Food Chemistry, 880–942.
- Holub, D.J. and Holub, B.J. (2004). Omega-3 fatty acids from fish oils and cardiovascular disease. Molecular and Cellular Biochemistry, 263: 217-225.
- Huss, H.H. (1995). Quality and quality changes in fres. FAO Fisheries Technical Paper No. 348, Foodand Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Rome, Italy.
- Ichihara, K., Shibahara, A., Yamamoto, K. and Nakayama, T. (1996). An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids. Lipids 31: 535–539.
- Kiessling, K.H. and Kiessling, A. (1993). Selective utilization of fatty acids in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss Walbaum) red muscle mitochondria. Canadian Journal of Zoology, 71: 248-251.
- Kolakowska, A. (1991). The influence of sex and maturity stage of krill (Euphausia superba Dana) upon the content and composition of its lipids. Polish Polar Research, 12: 733-745.
- Kolakowska, A., Zienkowicz, L., Domiszewski, Z. and Bienkiewicz, G. (2006): Lipid changes and Quality of whole of whole and gutted Rainbow trout during storage in ice. Acta Ichthyologicaet Piscatoria, 36(1): 39-47.
- Kykkidou, S., Giatrakou, V., Papavergou, A. (2009). Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4^{oC}. Food Chemistry, 115:169-175.
- Lee, S.M. (2001). Review of the lipid and essential fatty acid requirements of rockfish (Sebastes schlegeli). Aquaculture Research, 32(1): 8-17.
- Lin C.C. and Liang J.H. (2002). Effect of antioxidants on the oxidative stability of chicken breast meat in a dispersion system. Journal of Food Science, 67: 530-533.
- Lin, C.C. and Lin, C.S. (2004). Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea. Food Chemistry, 16(2): 169-175.
- Linares, F. and Henderson, R.J. (1991). Incorporation of 14C-labelled polyunsaturated fatty acids by juvenile turbot, Scophthalmus maximus (L.) in vivo. Journal of Fish Biology, 38: 335–347.
- Losada, V., Barros-Velazquez, J., Gallardo, J.M. and Aubourg, S.P. (2004). Effect of advanced chilling methods on lipid damage during sardine (Sardine pilchardus) storage. The European Journal of Lipid Science and Technology, 106: 844-850.

- Lugasia, A., Losadab, V., Hovari, J., Lebovicsa, V., Jakoczic, I. and Aubourg, S. (2007). Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. Learning with Technologies, 40: 930-936.
- Mahdavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K. (1995). Food Antioxidant. 1st edn. New York: Marcel Dekker, Inc, USA. 378.
- Nachbar, F. and Korting, H.C. (1995). The role of vitamin E in normal and damaged skin. Journal of Molecular Medicine, 73(1):7-17.
- Ojagh, S.M., Masoud, R., Razavi, S.H. and Hosseini, S.M.H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry, 120: 193–198.
- Ozyurt, G., Kuley, E., Ozkutuk, S. and Ozogul, F. (2009). Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (Mullus barbatus) and goldband goatfish (Upeneus moluccensis) during storage in ice. Food Chemistry, 114: 505–510.
- Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sanchez, M.E. and Robles-Burgueno, M.R. (2000). Post-mortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0 °C. Journal of Food Science, 65(1): 40–47.
- Paiva, S.A. and Russell, R.M. (1999). Betacarotene and other carotenoids as antioxidants. Journal of the American College of Nutrition, 18(5):426-433.
- Rao, A.V., Agarwal, S. (1999). Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. Nutrition Research, 19(2):305- 23.
- Sakanaka, S., Tachibana, Y. and Okada, Y. (2005). Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (Kakinoha-cha). Food Chemistry, 89(4): 569-575.
- Sargent, J.R., Tocher, D.R. and Bell, J.G. (2002). In: J.E. Halver, and R.W. Hardy (Editors.), The lipids. Fish Nutrition, 3th Edition. Elsevier, USA. 181– 257.
- Shi, J., and Maguer, M. (2000). Lycopene in Tomatoes: Chemical and Physical Properties Affected by Food Processing. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 40(1):1–42.
- Simic, M. G., and Taylor, K. A. (1987). Freeradical mechanisms of oxidation reaction. In A. Angelo, J. St. and Bailey, M. E. (Editors.), Warmed-over flavor of meat. Orlando, FL: Academic Press. 69-72.
- Simopoulos, A.P. (2000). Human Requirements for n-3 polyunsaturated fatty acids. Poultry Science, 79(7): 961-970.
- Wilson, C.M., Friesen, E.N., Higgs, D.A. and Farrell, A.P. (2007). The effect of dietary lipid and protein source on the swimming performance, recovery ability and oxygen consumption of Atlantic salmon (Salmo salar). Aquaculture, 273: 687–699.
- Zakipour Rahimabadi, E., Jasour, M.S., Ehsani, A., Rahnama, M. and Arshadi, A. (2012). Dietary supplementation versus direct postmortem addition of α-tocopherol acetate on fatty acid composition of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fillets during refrigerated storage. International Food Research Journal, 19(3): 1145-1151.

Effect of chitosan enriched with lycopene coating on fatty acid profile and fat oxidation parameters of rainbow trout fillet during refrigerated storage

Naghibi, S.[1], Ehsani, A.[2*], Tajik, H.[3], Talebi, A.[4], Delirezh, N.[5]

1. PHD Student of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
2. Associate Professor of Department of Food Science and Technology, Faculty of Nutrition, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran
3. Professor of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
4. Professor of Department of Clinical Sciences, Poultry Diseases Division, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
5. Associate Professor of Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

[*]Corresponding author email: ehsaniali@yahoo.com
(Received: 2015/9/29 Accepted: 2016/6/17)

Abstract

Fish are the major dietary source of the polyunsaturated fatty acid for humans. Therefore, protection of fish against all types of oxidative corruption seems to be necessary. Lycopene is the source of natural antioxidant. The present study was conducted to evaluate antioxidant properties of lycopene (using the method of DPPH) and the combined effect of its various doses (1.5 and 3%) and chitosan on fat oxidation parameters and fatty acids composition of Rainbow trout fillet. The analysis was performed after 0, 8 and 16 days of storage of the samples at 4°C to determine peroxide value (PV) and free fatty acid content (FFA). In addition, fatty acid compositions was determined by Gas chromatography assay. In control treatment, the fatty acid composition of Rainbow trout fillet was consisted of %20.6±0.03 saturated fatty acids (SFA), %43.81±0.04 monounsaturated fatty acid (MUFA) and %32.83±0.03 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in 0 day. Statistical analysis showed that there were fewer changes in PV, FFA and proportion of fatty acids between chitosan and lycopene-chitosan treatment in regard to control sample during 16 days of refrigeration storage. Chitosan coated samples enriched with lycopene exhibited less rapidly lipid damages than all the other samples ($p<0.05$). In conclusion, the study indicated that lycopene has a good antioxidant activity that caused in favorable changes in the profile of fatty acids. Therefore, it can be used as a preservative in fish.

Keyword: Lycopene, Fatty Acid, Oxidation parameters, Trout