JRIFST
مقالهٔ کامل پژوهشی

www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۹، جلد ۹، شماره ۲، صفحات ۱۸۸-۱۷۵
DOI:10.22101/jrifst.2020.191025.1097

تأثیر کیتوزان و روش‌های پخت در تشکیل آمین‌های آروماتیک حلقوی فیلهٔ فیل‌ماهی

حجت میرصادقی[1*]، علیرضا عالیشاهی[2]، مهدی اجاق[2]، پرستو پورعاشوری[2]

۱- دانش‌آموختهٔ دکتری، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
* نویسندهٔ مسئول (hojatmirsadeghi@yahoo.com)
۲- دانشیار، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۰۳

واژه‌های کلیدی
ترکیبات آمین‌های آروماتیک حلقوی
اُفت پخت
فیلهٔ فیل‌ماهی
کیتوزان

چکیده

در این پژوهش از کیتوزان و روش‌های پخت روی شکل‌گیری آمین‌های آروماتیک حلقوی در فیلهٔ فیل‌ماهی (*Huso huso*) برای حفظ کیفیت ماهی و جلوگیری از تشکیل ترکیبات مضر بعد از پخت استفاده گردید. لذا اثر کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد و کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد در روزهای صفر، ۸ و ۱۶ برای تعیین pH، تیوباربیتوریک اسید، عدد پراکسید، بازهای نیتروژن فرار و بار میکروبی کل در فیلهٔ فیل‌ماهی بررسی شد. کمترین میزان تغییرات در نمونهٔ حاوی کیتوزان محلول در اسید مشاهده گردید ($P\leq$۰/۰۵). همچنین در بررسی ترکیبات آمین‌های آروماتیک حلقوی (HAAs) در نمونه‌های پخته‌شده، مقادیر HAAs و اُفت پخت در همهٔ تیمارها طی طبخ در روز صفر، ۸ و ۱۶ افزایش یافت ($P\leq$۰/۰۵). نمونهٔ حاوی کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد و کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد سرخ‌شده کمترین و نمونه‌های کبابی بیشترین میزان HAAs و اُفت پخت را نشان داد. مطالعهٔ حاضر نشان‌داد که کیتوزان می‌تواند در کاهش فساد در فیلهٔ فیل‌ماهی طی نگهداری در یخچال و تولید ترکیبات مضر و جهش‌زا حاصل از پخت، مؤثر باشد.

مقدمه

ماهی منبع غنی از اسیدهای چرب غیراشباع امگا-۳، خصوصاً دوکوزاهگزاانوئیک اسید[1] (DHA)، اکوزاپنتاانوئیک اسید[2] (EPA) و فسفاتیدیل کولین[3] می‌باشد، همچنین دارای پروتئین با اسیدآمینه‌های ضروری (متیونین، تریپتوفان، لیزین و آرژنین)، ویتامین (A، D و B) و مواد معدنی (کلسیم، فسفر، آهن، منیزیم، منگنز، پتاسیم، مس و روی) می‌باشد که در کاهش کلسترول و فشارخون نقش دارد (Gladyshev, Sushchik, Gubanenko, Demirchieva, & Kalachova, 2006). صید، آماده‌سازی و فراوری نامناسب ماهی منجربه تغییراتی می‌شود که بر کیفیت خوراکی و درجهٔ پذیرش محصول عرضه‌شده اثرات فراوان داشته و ارزش کیفی و اقتصادی آن را کاهش می‌دهد. آبزیان به‌دلیل داشتن چربی‌های غیراشباع، ترکیبات ازت‌دار و پروتئین، فسادپذیرترین مواد غذایی محسوب می‌شوند (رضوی‌شیرازی، ۱۳۸۱). نگهداری آبزیان تحت‌تأثیر واکنش‌های آنزیمی، شیمیایی و تعداد و نوع میکروارگانیسم‌ها می‌باشد که سبب ایجاد طعم و بوی نامطلوب، تغییر رنگ و بافت و کاهش ارزش غذایی می‌شوند (Huss, Jeppesen, Johansen, & Gram, 1995; Lin & Lin, 2005). همچنین طبخ غذا با دمای بالا و مدت کوتاه و برعکس، منجربه‌تولید

[1] Docosahexaenoic acid
[2] Eicosapentaenoic acid
[3] Phosphatidylcholin

مواد شیمیایی با وزن مولکولی پایین مانند آمین‌های آروماتیک حلقوی (HAAs[1]) و ترکیبات جانبی حاصل از واکنش‌های قهوه‌ای‌شدن می‌شوند. این ترکیبات در حالت سرخ‌شده و کبابی بیشتر خود را نشان می‌دهند (ur Rahman, Sahar, Khan, & Nadeem, 2014). آمین‌های آروماتیک حلقوی جهش‌زا و سرطان‌زا بوده که باعث ایجاد تومورهایی در کبد، پانکراس، رودهٔ بزرگ و کوچک، پوست و ریه می‌گردند (Sugimura, Wakabayashi, Nakagama, & Nagao, 2004). این ترکیبات طی پخت در غذاهای پروتئینی به‌ویژه گوشت‌قرمز، مرغ و ماهی در دمای بالای ۱۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد تشکیل می‌شوند. جهش‌زایی آنها ۱۰۰ برابر آفلاتوکسین و ۲۰۰۰ برابر بنزوپیرن در مواد غذایی می‌باشد (Oz & Kaya, 2011). آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان در سال ۱۹۹۳ بیش از ۲۵ نوع از ترکیبات مهم آمین‌های آروماتیک حلقوی که عامل جهش در سلول‌های انسان هستند را در مواد پروتئینی پخته‌شده شناسایی کرد. رایج‌ترین آنها در پروتئین حیوانی پخته‌شده در ۲-آمینو-۳و۴-دی‌متیل‌امیدازو ۴و۵-اف کوینولون[2] (MeIQ)، ۲-آمینو-۳و۸-دی‌متیل‌امیدازو ۴و۵-اف کوینوگزالین[3] (MeIQx)، ۲-آمینو-۳و۴و۸-تری‌متیل‌امیدازو ۴و۵-اف کوینوگزالین[4] (4,8-DiMeIQx)، ۲-آمینو-۱-متیل-۶-فنیل‌امیدازو ۴و۵-بی پریدین[5] (PhIP)، ۲-آمینو-۳-متیل‌امیدازو ۴و۵-اف کوینولین[6] (IQ)، ۲-آمینو-۹ اچ-پریدو ۲و۳-بی ایندول[7] (AaC)، ۲-آمینو-۳-متیل-۹ اچ-پریدو ۲و۳-بی ایندول[8] (MeAaC) و ۳-آمینو-۱و۴-دی‌متیل-۵ اچ-پریدو ۴و۳-بی ایندول[9] (Trp-P-1) می‌باشند.

تنوع و کیفیت این ترکیبات به فاکتورهایی مانند نوع و وزن گوشت، روش، زمان و دمای پخت بستگی دارد (Oz, Kızıl, Zaman, & Turhan, 2016). غلظت HAAs تحت‌تأثیر عواملی ازجمله فعالیت آبی، pH، کراتین، آمینواسیدهای آزاد، چربی، اکسیداسیون چربی، کربوهیدرات و مواد آنتی‌اکسیدانی تغییر می‌نماید و میزان مصرف روزانهٔ HAAs در مواد غذایی را بین صفر تا ۱۵ میکروگرم در روز بیان کردند (Oz *et al.*, 2016). برای حفظ خواص تغذیه‌ای ماهی از روش کنترل در محل فراوری، بسته‌بندی تحت‌خلأ و اتمسفر اصلاح‌شده و همچنین افزودن نگهدارنده‌های طبیعی و ترکیبات کاروتنوئیدی و پلی‌فنولی مثل رزماری، زنجبیل، چای، سیر، فلفل، پیاز، گوجه‌فرنگی، جعفری، هویج، ادویه‌جات، الیگوساکاریدها و ترشی‌جات، برخی ویتامین‌های محلول در آب و چربی (B، C و E)، اینولین[10] (روغن‌زیتون) و ترکیبات بیوپلیمری[11] (کیتوزان[12]) و مصنوعی مثل نیتریت، سدیم‌بنزوات و سدیم متابی‌سولفیت، بوتیلیت‌هیدروکسی آنیزول[13] (BHA)، بوتیلیت‌هیدروکسی تولوئن[14] (BHT)، پروپیل‌گالات[15] (PG)، ترت بوتیل‌هیدروکینون[16] (TBHQ) که علاوه‌بر خواص نگهدارندگی، برای مهار HAAs در گوشت و محصولات گوشتی استفاده می‌شوند (Johansson & Jägerstad, 1996; Oz *et al.*, 2016; ur Rahman *et al.*, 2014; Zeng *et al.*, 2018). مطالعه‌های محققین نشان‌داد که مصرف طولانی‌مدت از نگهدارنده‌های شیمیایی دارای عوارض گوناگونی ازجمله ایجاد سلول‌های سرطانی بوده که امروزه برخی از نگهدارنده‌های شیمیایی منسوخ و یا به مقدار بسیار کم مورداستفاده قرار می‌گیرند. یک روش مناسب برای رفع این مشکل، استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی و زیستی بوده که بدون عوارض جانبی، باعث بهبود طعم، بو و مزهٔ مادهٔ غذایی شده و زمان ماندگاری محصول را نیز افزایش می‌دهند. از نگهدارنده‌های طبیعی و زیستی می‌توان به کیتوزان اشاره نمود که یک پلی‌ساکارید طبیعی حاصل از استیل‌زدایی کیتین موجود در اسکلت خارجی حشرات و سخت‌پوستانی مانند خرچنگ‌ها، میگوها و لابسترها تولیدشده و از واحدهای بتا-(۱و۴)-ان-استیل-دی-گلوکز آمین[17] و بتا-(۱و۴)-دی-گلوکز آمین[18] تشکیل شده است (Sathivel, Liu, Huang, & Prinyawiwatkul, 2007; Shahidi, Arachchi, & Jeon, 1999). مصرف

[1] Heterocyclic aromatic amines
[2] 2-amino-3, 4-dimethylimidazo[4,5-f]quinolone
[3] 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline
[4] 2-amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline
[5] 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine
[6] 2-amino-3-methyl-imidazo [4,5-f] quinoline
[7] 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole
[8] 2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole
[9] 3-amino-1,4-dimethyl -5H-pyrido[4,3-b]indole
[10] Inulin
[11] Biopolymer
[12] chitosan
[13] Butylated hydroxyanisole
[14] Butylated hydroxytoluene
[15] Propyl gallate
[16] Tert butylhydroquinone
[17] β-(1,4)-N-acetyl-D-glucos amine
[18] β-(1,4)-D-glucos amine

کیتوزان در صنایع غذایی به‌علت زیست‌سازگاری بالا، غیرسمی‌بودن، تجزیه‌پذیری زیستی و بی‌طعم‌بودن به‌عنوان فیبر رژیمی روبه‌افزایش است. وجود گروه آمینی در کربن شمارهٔ ۲ کیتوزان خواص منحصربه‌فردی به آن داده است (Dutta, Dutta, & Tripathi, 2004; No, Meyers, Prinyawiwatkul, & Xu, 2007). لذا پژوهش حاضر به مطالعهٔ اثر کیتوزان محلول در اسید و الیگوساکارید کیتوزانی در حفظ و نگهداری فیلهٔ خام فیل‌ماهی‌پرورشی و به‌عنوان یک مادهٔ مهارکنندهٔ ترکیبات مضر عامل سرطان (HAA) تولیدشده در ماهی پخته پرداخته است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی فیلهٔ فیل‌ماهی

فیل‌ماهی[1] تازه‌صیدشده به وزن ۱۰ کیلوگرم از شرکت آبزی‌گستران‌ساعی در شهرستان ساری خریداری گردید. بعد از جداسازی سر و شکم، با آب بهداشتی شسته شد. نمونه در جعبهٔ حاوی یخ قرارداده‌شده و در کوتاه‌ترین زمان به آزمایشگاه فرآوری آبزیان منتقل گردید. ماهی‌ها در محیطی کاملاً بهداشتی با دمای ۲±۱۸ درجهٔ سانتی‌گراد به روش دستی فیله شد. دراین‌تحقیق نمونه‌ها از قسمت پشتی (حدفاصل بالهٔ شکمی و بالهٔ سینه‌ای) انتخاب گردید. سپس نمونه‌ها به وزن ۱۰۰۰ گرم به‌صورت تصادفی به ۳ تیمار تقسیم شدند.

تیماربندی نمونه‌ها

۳ تیمار (شاهد بدون افزودن کیتوزان، نمونهٔ حاوی ۱ درصد کیتوزان محلول در اسید سیتریک و نمونهٔ حاوی ۱ درصد کیتوزان الیگوساکاریدی) در ۳ زمان (۰، ۸ و ۱۶ روز) و در ۳ تکرار بعد از آماده‌سازی در بسته‌های پلی‌اتیلنی توسط دستگاه بسته‌بندی در خلأ بسته‌بندی‌شده و به مدت ۱۲ ساعت در یخچال نگهداری شد و شاخص‌های pH، رطوبت، چربی، پروتئین، پراکسید (PV[2])، تیوباربیتوریک اسید (TBA[3])، مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N[4])، بار میکروبی کل (TVC[5]) آزمایش گردید. سپس به ۲ روش (کباب‌شده روی ذغال و سرخ‌شده در روغن آفتاب‌گردان) طی ۵ دقیقه طبخ گردید و میزان اُفت پخت[6] و آمین‌های آروماتیک حلقوی (HAAs) آزمایش شد. آزمایش روز صفر بعد از ۱۲ ساعت از آماده‌سازی اولیه طی نگهداری در یخچال انجام شد (Oz *et al.*, 2016).

آنالیز تقریبی فیلهٔ فیل‌ماهی

چربی کل به روش سوکسله، پروتئین به روش کجلدال و میزان رطوبت با استفاده از روش AOAC (۲۰۰۵) محاسبه گردید. به‌منظور اندازه‌گیری pH، ۵ گرم از نمونهٔ ماهی هموژن‌شده با ۱۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر مخلوط گردید (Sallam, 2007) و درنهایت pH نمونه با دستگاه pHمتر (مدل ۸۲۷ متروم، ساخت سوئیس) که در pH ۴ و ۷ با محلول‌های بافری کالیبره‌شده بود، اندازه‌گیری شد.

آزمون‌های شیمیایی

اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید (TBA) و اندازه‌گیری شاخص پراکسید (PV) به روش Egan و Sawyer (۱۹۹۷) صورت گرفت. مجموع بازهای نیتروژن فرار (TVN-B) طبق روش Jeon، Kamil و Shahidi (۲۰۰۲) سنجش شد. بار باکتریایی کل (TVC) بر مبنای ۱۰ لگاریتم واحد تشکیل کلنی بر گرم به روش Sallam (۲۰۰۷) بیان گردید. اُفت پخت به روش Chantarasataporn، Yoksan، Visessanguan و Chirachanchai (۲۰۱۳) محاسبه گردید (رابطهٔ ۱).

رابطهٔ (۱)

$$\text{اُفت پخت (درصد)} = [(B-C)/B]\times 100$$

در رابطهٔ (۱)، B: وزن نمونه قبل از پختن برحسب گرم و C: وزن نمونهٔ پخته ۴ ساعت بعداز سردشدن در دمای اتاق برحسب گرم می‌باشد.

آنالیز HAAs فیلهٔ فیل‌ماهی

مقادیر HAAs نمونه‌ها براساس روش Oz و همکاران (۲۰۱۶) تعیین گردید. مقادیر HAAs با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مجهز به آشکارساز ماوراءبنفش (HPLC- UV) با دستگاه (Agilent 1260 Series، ساخت

[1] *Huso huso*
[2] Peroxid values
[3] Thiobarbituric acid
[4] Total volatile basic nitrogen
[5] Total viable count
[6] Cooking loss

آمریکا) و ستون (VDSsper PUR C18-M-SE volume، ۲۵۰میلی‌متر×۴/۶ میلی‌متر×۵ میکرومتر) با طول موج ۲۶۴ نانومتر با فاز متحرک به‌عنوان حلال ۱ (متانول، استونیتریل[1]، آب و اسید استیک) با نسبت حجمی (۲/۷۶/۱۴/۸) در pH، ۵ با هیدروکسید آمونیوم تنظیم گردید و استونیتریل به‌عنوان حلال ۲ با سرعت ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه با حجم تزریق ۱۰ میکرولیتر استفاده شد (Oz *et al.*, 2016). درصد بازدارندگی آمین‌های آروماتیک حلقوی (HAAs) به روش Lu، Kuhnle و Cheng (۲۰۱۷) و با استفاده از رابطهٔ (۲) محاسبه گردید.

رابطهٔ (۲)

درصد بازدارندگی= [(Ac-At)/Ac]×۱۰۰

در رابطهٔ (۲)، Ac: میزان کل آمین‌های آروماتیک حلقوی در نمونهٔ پخته‌شده بدون افزودنی و At: میزان کل آمین‌های آروماتیک حلقوی در نمونهٔ پخته‌شده حاوی افزودنی می‌باشد.

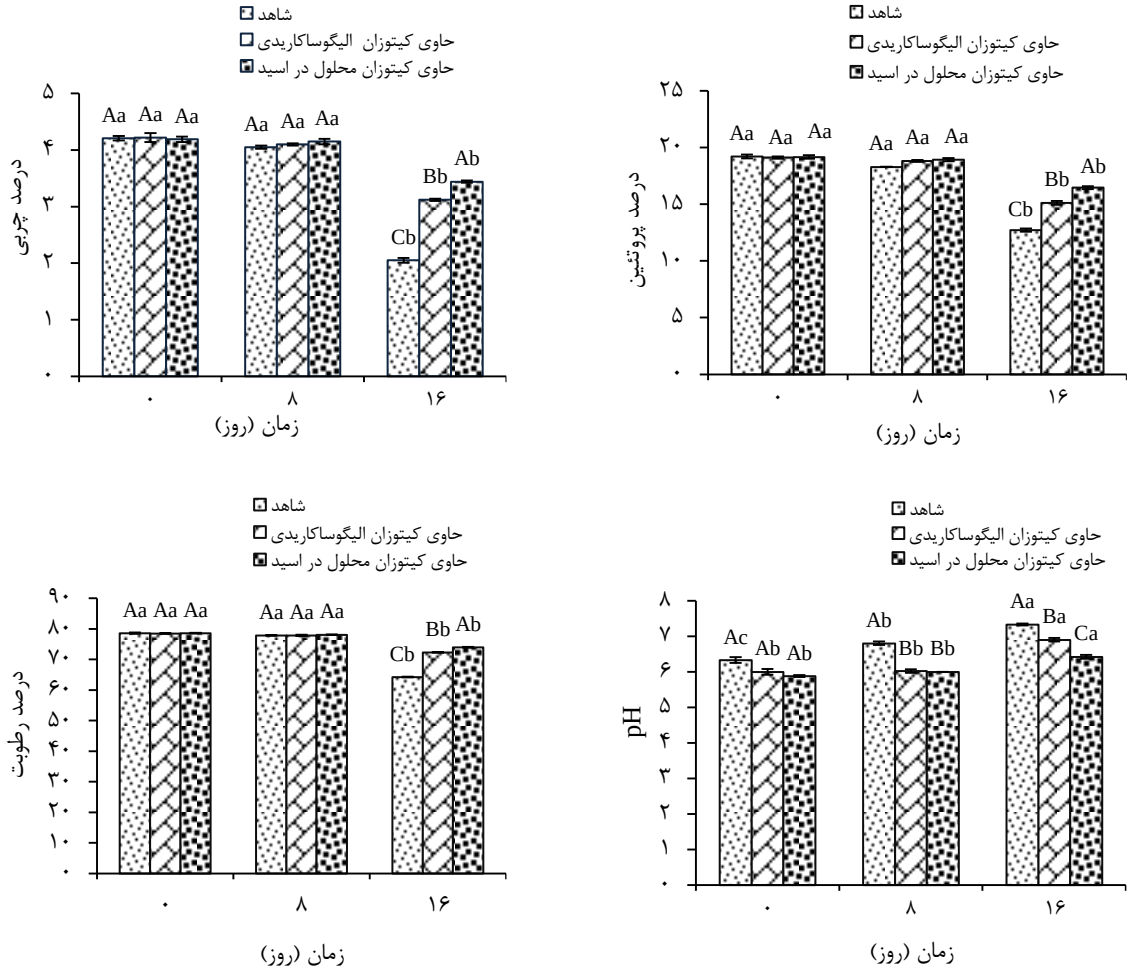
تجزیه‌وتحلیل آماری

نتایج در قالب طرح کاملاً تصادفی اسپلیت پلات در زمان و مقایسهٔ میانگین از آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده گردید. تجزیه‌وتحلیل آماری با نرم‌افزار SAS (نسخهٔ ۹) انجام گرفت.

نتایج و بحث

مطبق شکل (۱) نتایج بررسی میزان pH فیلهٔ فیل‌ماهی، میان تیمارهای مختلف و طی زمان‌های مختلف نگهداری تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P\leq$۰/۰۵). میزان pH بعد از افزودن نگهدارنده در تیمارهای کیتوزان الیگوساکاریدی و کیتوزان محلول در اسید نسبت به تیمار شاهد کاهش داشت ($P\leq$۰/۰۵) که احتمالاً به‌دلیل خاصیت اسیدی کیتوزان که این وابسته به حلال کیتوزان (اسید استیک) می‌باشد (Lin & Chao, 2001). Alimentarius Codex (۲۰۰۳) pH قابل‌مصرف برای محصولات دریایی را ۷/۵-۷ نشان دادند که در این تحقیق فقط تیمار شاهد در روز ۱۶ به این میزان رسید. مقادیر pH مشاهده‌شده طی زمان نگهداری در تمامی تیمارها به‌طور معنی‌دار روند افزایشی داشت ($P\leq$۰/۰۵). با گذشت زمان نگهداری افزایش فعالیت آنزیمی و باکتری‌های مولد فاسد در فیلهٔ ماهی باعث افزایش pH شده که می‌تواند کیفیت محصول را کاهش دهد (Kilincceker, Dogan, & Kucukoner, 2009; Souza *et al.*, 2010). نتایج مشابهی توسط Fan و همکاران (۲۰۰۹) و Ojagh، Rezaei، Razavi و Hosseini (۲۰۱۰) بود. براساس شکل (۱) میزان پروتئین فیلهٔ ماهی تا روز ۸ تغییر نکرد و اختلاف معنی‌دار نبود، ولی در روز ۱۶ میزان پروتئین کاهش یافت به‌طوری‌که در تیمارها اختلاف معنی‌دار بود ($P\leq$۰/۰۵). لذا کیتوزان باعث کمتر دناتوره‌شدن ساختار پروتئین‌ها طی دورهٔ نگهداری شده است. نتایج مطالعهٔ حاضر با مطالعه‌های Chantarasataporn و همکاران (۲۰۱۳) و Sayas-Barberá و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد. نتایج بررسی میزان چربی فیلهٔ فیل‌ماهی میان تیمارهای مختلف و طی مدت نگهداری در شکل (۱) آورده شده است. میزان چربی فیلهٔ فیل‌ماهی تا روز ۸ تغییر نیافت و در تیمارهای مختلف اختلاف‌ها معنی‌دار نبود، ولی با گذشت زمان میزان چربی کاهش یافت به‌طوری‌که در تیمارها کاهش معنی‌دار بود ($P\leq$۰/۰۵). مقادیر چربی مشاهده‌شده طی مدت نگهداری در تیمارها کاهش داشت که ناشی از هیدرولیز چربی توسط فعالیت‌های آنزیمی است (Yanar, Celik, & Akamca, 2006)، اما کیتوزان مانع از تغییرات چربی طی دورهٔ نگهداری شده است. نتایج مطالعهٔ حاضر با مطالعه‌های Chantarasataporn و همکاران (۲۰۱۳) و Sayas-Barberá و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد. میزان رطوبت در تمام تیمارها تا روز ۸ اختلاف معنی‌داری نداشتند. رطوبت تیمارهای مختلف با زمان کاهش یافت به‌طوری‌که تیمار شاهد در مقایسه با سایر تیمارها کاهش رطوبت بیشتری را نشان داد ($P\leq$۰/۰۵). اُفت تدریجی رطوبت تیمارهای موردمطالعه در طول زمان نگهداری ناشی از دهیدراسیون اسمزی و دناتوره‌شدن پروتئین‌ها، توانایی نگهداری آب ازدست‌رفته و بنابراین مقدار رطوبت در طول زمان نگهداری کم می‌گردد (Shabbir, Raza, Anjum, Khan, & Suleria, 2015)، اما خاصیت نگهدارندگی و پوششی کیتوزان در تیمارهای کیتوزانی طی دورهٔ نگهداری مانع از تخریب بافت و تغییرات رطوبت می‌گردد. نتایج مطالعهٔ حاضر با مطالعه‌های Chantarasataporn و همکاران (۲۰۱۳) و Sayas-Barberá و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد.

[1] Acetonitrile



شکل ۱- نتایج حاصل از آنالیز تقریبی تیمارهای مختلف فیلهٔ فیل‌ماهی طی نگهداری در یخچال (۱±۴ درجهٔ سانتی‌گراد)

حروف کوچک مقایسهٔ تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسهٔ تیمار به تیمار، نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار در سطح ($P\leq$۰/۰۵) می‌باشد.

مطابق شکل (۲) پراکسید در تیمارها طی مدت نگهداری افزایش یافت، در بین تیمارهای موردمطالعه تیمار شاهد بیشترین افزایش در عدد پراکسید را نشان داد ($P\leq$۰/۰۵) و در روز ۱۶ نگهداری کمترین میزان پراکسید در تیمار کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد مشاهده شد ($P\leq$۰/۰۵). پراکسید فاکتور مهمی از اکسیداسیون لیپیدها می‌باشد و برای اندازه‌گیری محصولات اولیهٔ اکسیداسیون یعنی هیدروپراکسیدها استفاده می‌شود. در تیمارهای کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد و کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد تا روز ۸ تفاوت معنی‌داری دیده نشد. پوشش کیتوزانی که روی سطح فیلهٔ ماهی به‌کار می‌روند به‌صورت یک مانع بین گوشت ماهی و محیط اطراف عمل‌کرده و نفوذ اکسیژن به سطح فیلهٔ ماهی را کم‌کرده و از سرعت اکسیداسیون اولیهٔ چربی‌ها و متعاقب آن با اهدای یک اتم هیدروژن یا الکترون آزاد باعث تشکیل ترکیبات پایدار از هیدروپراکسیدها و یا با شلاته‌کردن یون‌های فلزی و فرونشاندن اکسیژن یگانه با حذف پراکسید، باعث جلوگیری از فساد می‌شود (Mohan, Ravishankar, Lalitha, & Gopal, 2012). در بین تیمارها، کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد کمترین و شاهد بیشترین میزان پراکسید را نشان دادند ($P\leq$ ۰/۰۵). نتایج مشابهی پیرامون کاهش تولید پراکساید در نمونه‌های حاوی پوشش کیتوزانی در مطالعه‌های نقیبی، احسانی، تاجیک، طالبی و دلیرژ (۱۳۹۵)، Farajzadeh، Motamedzadegan، Shahidi و Hamzeh (۲۰۱۶) و کلته، دوغی‌کلائی و یوسف‌الهی (۱۳۹۳) بیان گردید. در شکل (۲) تیوباربیتوریک اسید[1] برای اندازه‌گیری

[1] Thiobarbituric acid

اکسیداسیون ثانویهٔ چربی‌ها براساس مالون‌دی‌آلدهید می‌باشد. مالون‌دی‌آلدهید به‌واسطهٔ اکسیدشدن هیدروپراکسیدها به محصولات ثانویهٔ اکسیداسیون شامل آلدهیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، هیدروکربن‌ها، اسیدهای آلی و ترکیبات اپوکسی، تشکیل می‌شود (Kostaki, Giatrakou, Savvaidis, & Kontominas, 2009). میزان تیوباربیتوریک اسید در تیمارهای مختلف با گذشت زمان افزایش یافت به‌طوری‌که تیمار شاهد بیشترین میزان را نشان داد ($P\leq۰/۰۵$). روز ۱۶ نگهداری در تیمار کیتوزان محلول در اسید سیتریک ۱ درصد کمترین میزان تیوباربیتوریک اسید مشاهده شد ($P\leq۰/۰۵$). نتایج این تحقیق مشابه با مطالعه‌های Jeon و همکاران (۲۰۰۲) و Sathivel و همکاران (۲۰۰۷) بود. افزایش تیوباربیتوریک اسید با آب‌زدایی نسبی ماهی و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع با واکنش رادیکال آزاد ازطریق حملهٔ اکسیژن به باندهای دوگانه در اسیدهای چرب غیراشباع آغاز می‌گردد و کیتوزان با ممانعت از ورود اکسیژن همانند سدی میان سطح ماهی و محیط اطراف آن عمل‌نموده و موجب کاهش نفوذ اکسیژن به سطح فیله و کاهش اکسیداسیون می‌شود (Kilincceker *et al.*, 2009; Sathivel *et al.*, 2007)، باتوجه‌به نتایج این مطالعه، این خاصیت در کیتوزان محلول در اسید سیتریک بهتر از کیتوزان الیگوساکاریدی بود. مطابق شکل (۲) در تیمارهای مختلف با گذشت زمان میزان بازهای ازتهٔ فرار افزایش یافت. بازهای نیتروژنی فرار (TVN[1]) فیلهٔ فیل‌ماهی تا روز ۸ تغییر نیافت و در تیمارهای مختلف اختلاف‌ها معنی‌دار نبود، ولی با گذشت زمان بازهای نیتروژنی فرار TVN افزایش یافت، به‌طوری‌که در تیمارها کاهش معنی‌دار بود ($P\leq۰/۰۵$). فعالیت باکتریایی و آنزیم‌های درونی خود ماهی باعث تولید بازهای ازتهٔ فرارشده که نشانگر میزان فساد، تجزیه و شکستن پروتئین‌هاست. ارزیابی بازهای ازتهٔ فرار کل به‌عنوان یک سنجش شیمیایی جهت تعیین بهداشت و سلامتی ماهی انجام می‌گردد. Fan و همکاران (۲۰۰۹) میزان قابل‌قبول بازهای ازتهٔ فرار برای ماهیان خام را ۳۰ تا ۳۵ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم عضله بیان داشتند که این مقدار در ماهیان تازه‌صیدشده بین ۲۰-۵ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم عضله می‌باشد. در مطالعهٔ حاضر مقدار بازهای ازتهٔ فرار در تیمارها در روز صفر، ۷ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم بافت ماهی دیده شد که مشابه با نتایج گزارش‌شده توسط سایر محققان بود (Jeon *et al.*, 2002; Mexis, Chouliara, & Kontominas, 2009).

ماهی کربوهیدرات پایینی دارد، لذا اسید لاکتیک ناچیزی در طی جمود نعشی تولید می‌شود، درنهایت pH بیشتر از ۶ بوده که عامل تأثیرگذار در رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد است، علاوه‌برآن، ترکیبات نیتروژنی غیرپروتئینی مانند اسیدهای آمینهٔ آزاد و نوکلئوتید[2] ماهی را به بستری مناسب برای رشد میکروارگانیسم‌ها تبدیل کرده است، لذا وجود میکروارگانیسم‌های عامل فساد از مهم‌ترین دلایل فساد ماهی می‌باشند. حد مجاز برای بار باکتریایی کل در ماهی خام ۲-۶ لگاریتم واحد تشکیل کلنی می‌باشد (Gram & Huss, 1996). طبق شکل (۲) بار باکتریایی کل برای نمونه‌های موردبررسی در روز صفر پایین (کمتر از ۶ لگاریتم واحد تشکیل کلنی) بود که نشان‌دهندهٔ کیفیت مناسب ماهی‌ها به‌خاطر رعایت نکات بهداشتی طی تهیهٔ فیله‌ها می‌باشد. بار باکتریایی کل در تیمار شاهد و تیمارهای کیتوزانی افزایش یافت، به‌طوری‌که در پایان دورهٔ نگهداری در تیمار شاهد، مقدار آن از حد مجاز گذشته بود. کمترین تعداد باکتری‌های کل در تیمار کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد مشاهده شد ($P\leq۰/۰۵$) که ناشی از خواص ضدمیکروبی خوب کیتوزان می‌باشد. نتایج مطالعه‌های Jeon و همکاران (۲۰۰۲)، Fan و همکاران (۲۰۰۹) و Mohan و همکاران (۲۰۱۲) مشابه نتایج مطالعهٔ حاضر بود.

[1] Total volatile nitrogen

[2] Nucleotide

شکل ۲- نتایج حاصل از آنالیز شیمیایی و میکروبی تیمارهای مختلف فیلهٔ فیل‌ماهی طی نگهداری در یخچال (۱±۴ درجهٔ سانتی‌گراد)

حروف کوچک مقایسهٔ تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسهٔ تیمار به تیمار، نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار در سطح (P≤۰/۰۵) می‌باشد.

طبق جدول (۱) میزان PhIP بعد از طبخ در همهٔ تیمارها در روز صفر، ۸ و ۱۶ افزایش یافت (P≤۰/۰۵). در بین تیمارها تا روز ۸ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. کمترین میزان PhIP همهٔ تیمارها طی طبخ در روز صفر و بیشترین میزان آن در روز ۱۶ بود. در بین تیمارها، کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد سرخی کمترین میزان افزایش و تیمارهای کبابی بخصوص شاهد کبابی بیشترین میزان PhIP را طی پخت نشان داد. کاهش تولید PhIP در نمونه‌های پخته‌شده حاوی کیتوزان در روز صفر به خاصیت پوششی کیتوزان که مانع از تخریب بافت طی پخت به روش سرخی می‌باشد و این کاهش در روز ۱۶ علاوه‌بر خاصیت پوششی می‌تواند به اثر نگهدارندگی کیتوزان نسبت داده شود که باعث کندشدن فساد و درنهایت تخریب کمتر بافت ماهی و تولید PhIP کمتر گردد. Oz ، Kaban و Kaya (۲۰۱۰) در ماهی قزل‌آلای کبابی و سرخی، PhIP را شناسایی نکردند، ولی در مطالعهٔ Costa و همکاران (۲۰۰۹) در ساردین کبابی میزان PhIP بیشتر از سایر نمونه‌ها دیده شد. Oz و همکاران (۲۰۱۶) اثر پوششی کیتوزان را در فیلهٔ گوساله بررسی کردند و PhIP را در هیچ‌یک از تیمارهای طبخ‌شده در دمای ۱۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد شناسایی نشد، ولی در نمونه‌های طبخ‌شده در دمای ۲۰۰ و ۲۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد در تیمارهای حاوی کیتوزان تولید PhIP کمتر از نمونهٔ شاهد بود و تشکیل آمین آروماتیک حلقوی (PhIP) در تیمارهای حاوی افزودنی ازجمله فلفل و روغن‌های گیاهی را کمتر از نمونهٔ شاهد نشان دادند (Lu *et al.*, 2017; Zeng *et al.*, 2018).

جدول ۱- میزان آمین آروماتیک حلقوی PhIP (نانوگرم بر گرم) در تیمارهای مختلف فیلهٔ فیل‌ماهی (کبابی و سرخی)

تیمار	زمان (روز)		
	صفر	۸	۱۶
شاهد کبابی	۲/۵۱±۰/۰۱^{Ab}	۱/۸۰±۰/۰۱^{Ac}	۳/۶۰±۰/۰۲^{Aa}
شاهد سرخی	۰/۸۳±۰/۰۵^{Db}	۰/۸۰±۰/۰۵^{Db}	۳/۱۰±۰/۰۱^{Ba}
کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد کبابی	۱/۴۴±۰/۰۲^{Bb}	۱/۳۰±۰/۰۵^{Bb}	۲/۹۰±۰/۱۱^{Ca}
کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد سرخی	nd	۰/۹۰±۰/۰۱^{CDb}	۱/۹۰±۰/۱۱^{Da}
کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد کبابی	۱/۰۱±۰/۰۲^{Cb}	۱/۰۰±۰/۰۱^{Cb}	۲/۸۰±۰/۰۴^{Ca}
کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد سرخی	nd	nd	۱/۳۰±۰/۲۵^{Ea}

داده‌ها به‌صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

حروف کوچک متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هر سطر و حروف بزرگ متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هر ستون می‌باشد. ($P\leq$۰/۰۵) معرف وجود تفاوت معنی‌داربودن در سطح ۹۵ درصد می‌باشد.

nd: شناسایی‌نشده

طبق جدول (۲) مقادیر IQ در همهٔ تیمارها طی طبخ در روز صفر، ۸ و ۱۶ افزایش یافت ($P\leq$۰/۰۵). کمترین میزان IQ همهٔ تیمارها طی طبخ در روز صفر و بیشترین میزان آن در روز ۱۶ بود ($P\leq$۰/۰۵). تولید میزان IQ در تیمارهای کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد سرخی و الیگوساکارید ۱ درصد سرخی در روز صفر، ۸ و ۱۶ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. بین تیمارها، کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد سرخی و الیگوساکارید ۱ درصد سرخی کمترین میزان IQ و تیمارهای کبابی بخصوص شاهد کبابی بیشترین میزان IQ را طی پخت نشان داد. IQ طی پخت در اثر دناتوره‌شدن پروتئین و تغییر ساختار اسیدهای آمینه از واکنش بین سراتنین[1] و رادیکال‌های پیریدین[2] و فرمالدیید[3] ایجاد می‌گردد (Shabbir *et al.*, 2015). کاهش تولید IQ در نمونه‌های پخته‌شده حاوی کیتوزان در روز صفر به خاصیت پوششی کیتوزان که مانع از تخریب بافت طی پخت به روش سرخی می‌باشد و این کاهش در روز ۱۶ علاوه‌بر خاصیت پوششی می‌توان به اثر نگهدارندگی کیتوزان اشاره کرد که باعث کندشدن فساد و درنهایت تخریب کمتر بافت ماهی و تولید IQ کمتر گردد. برعکس مطالعهٔ حاضر، Oz و همکاران (۲۰۱۶) اثر پوششی کیتوزان را در فیلهٔ گوساله بررسی و IQ در هیچ‌یک از تیمارها شناسایی نشد. مشابه مطالعهٔ حاضر، Costa و همکاران (۲۰۰۹) در ساردین کبابی میزان IQ بیشتر از سایر نمونه‌ها نشان دادند. برخلاف مطالعهٔ حاضر Viegas، Novo، Pinto، Pinho و Ferreira (۲۰۱۲) در سالمون کبابی IQ تولید نشد. اختلاف‌های تولید و عدم شکل‌گیری آمین‌های آروماتیک حلقوی به نوع و اندازهٔ مادهٔ غذایی، دمای پخت، نوع پخت در گوشت‌قرمز، مرغ و ماهی وابسته می‌باشد.

جدول ۲- میزان آمین آروماتیک حلقوی IQ (نانوگرم بر گرم) در تیمارهای مختلف فیلهٔ فیل‌ماهی (کبابی و سرخی)

تیمار	زمان (روز)		
	صفر	۸	۱۶
شاهد کبابی	۰/۶۲±۰/۰۵^{Ac}	۱/۳۰±۰/۰۲^{Db}	۴/۰۰±۰/۰۵^{Aa}
شاهد سرخی	۰/۵۰±۰/۰۵^{Ac}	۱/۹۰±۰/۰۱^{ABb}	۳/۰۰±۰/۰۱^{Ba}
کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد کبابی	۰/۴۴±۰/۰۱^{Ac}	۱/۸۰±۰/۰۵^{Bb}	۲/۷۰±۰/۰۳^{Ca}
کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد سرخی	nd	۱/۶۰±۰/۰۱^{Cb}	۲/۱۰±۰/۰۲^{Da}
کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد کبابی	۰/۶۰±۰/۰۲^{Ac}	۲/۰۰±۰/۰۱^{Ab}	۲/۶۰±۰/۰۲^{Ca}
کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد سرخی	nd	۱/۰۰±۰/۰۲^{Eb}	۲/۱۰±۰/۰۳^{Da}

داده‌ها به‌صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

حروف کوچک متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هر سطر و حروف بزرگ متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هر ستون می‌باشد. ($P\leq$۰/۰۵) معرف وجود تفاوت معنی‌داربودن در سطح ۹۵ درصد می‌باشد.

nd: شناسایی‌نشده

[1] Creatinine
[2] Pyridine
[3] Formaldehyde

طبق جدول (۳) میزان تولید آمین آروماتیک حلقوی (MeIQ) در همهٔ تیمارها طی طبخ افزایش یافت ($P\leq$۰/۰۵). کمترین میزان تولید MeIQ در همهٔ تیمارها طی طبخ در روز صفر و بیشترین میزان آن در روز ۱۶ بود. این کاهش در روز ۱۶ را می‌توان علاوه‌بر خاصیت پوششی به اثر نگهدارندگی کیتوزان نسبت داد که باعث کندشدن فساد و درنهایت تخریب کمتر بافت ماهی و تولید MeIQ کمتر گردد. مشابه مطالعهٔ حاضر Oz و همکاران (۲۰۱۶) در ماهی سرخ‌شده MeIQ را شناسایی کردند ولی برخلاف مطالعهٔ حاضر Oz و همکاران (۲۰۱۰) در ماهی سرخ‌شده MeIQ را نیافتند که اختلاف‌های تولید و عدم شکل‌گیری آمین آروماتیک حلقوی به نوع و اندازهٔ مادهٔ غذایی، دمای پخت، نوع پخت در گوشت‌قرمز، مرغ و ماهی وابسته می‌باشد. دناتوره‌شدن پروتئین در اثر حرارت طی پخت که باعث تغییر در ساختار اسیدهای آمینه بخصوص آلانین می‌شود که عامل اصلی در تولید MeIQ است (Milić, Djilas, & Čanadanović-Brunet, 1993; Shabbir *et al.*, 2015). کاهش تولید MeIQ در نمونه‌های سرخ‌شده حاوی کیتوزان در روز صفر به خاصیت پوششی کیتوزان نسبت داده می‌شود که مانع از تخریب بافت می‌گردد، مشابه مطالعهٔ حاضر، Oz و همکاران (۲۰۱۶) اثر پوششی کیتوزان را در فیلهٔ گوساله بررسی و به خاصیت بازدارندگی خوب آن اشاره نمودند.

جدول ۳- میزان آمین آروماتیک حلقوی MeIQ (نانوگرم بر گرم) در تیمارهای مختلف فیلهٔ فیل‌ماهی (کبابی و سرخی)

تیمار	زمان (روز)		
	صفر	۸	۱۶
شاهد کبابی	۰/۸۰±۰/۰۳^{Ac}	۱/۵۰±۰/۰۵^{Cb}	۴/۵۰±۰/۰۱^{Aa}
شاهد سرخی	۰/۳۰±۰/۰۱^{Cc}	۱/۷۰±۰/۰۲^{Bb}	۴/۱۰±۰/۰۱^{Ba}
کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد کبابی	۰/۸۵±۰/۱۵^{Ac}	۲/۱۰±۰/۰۱^{Ab}	۳/۹۰±۰/۰۳^{Ca}
کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد سرخی	۰/۷۰±۰/۱۵^{Bc}	۱/۵۰±۰/۱۱^{Cb}	۳/۱۰±۰/۰۳^{Da}
کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد کبابی	۰/۸۱±۰/۰۱^{Ac}	۲/۱۰±۰/۰۲^{Ab}	۴/۰۰±۰/۲۵^{BCa}
کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد سرخی	۰/۸۰±۰/۰۱^{Ab}	۰/۸۰±۰/۰۳^{Db}	۱/۷۰±۰/۳۳^{Ea}

داده‌ها به‌صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

حروف کوچک متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هر سطر و حروف بزرگ متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هر ستون می‌باشد. ($P\leq$۰/۰۵) معرف وجود تفاوت معنی‌داربودن در سطح ۹۵ درصد می‌باشد.

nd: شناسایی‌نشده

طبق جدول (۴) مقادیر MeIQx در همهٔ تیمارها طی طبخ در روز صفر، ۸ و ۱۶ افزایش یافت ($P\leq$۰/۰۵). کمترین میزان MeIQx همهٔ تیمارها طی طبخ در روز صفر و بیشترین میزان آن در روز ۱۶ بود. تولید میزان MeIQx در تیمارهای کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد سرخی و الیگوساکارید ۱ درصد سرخی در روز صفر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. بین تیمارها، کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد سرخی کمترین میزان MeIQx و تیمارهای کبابی بخصوص شاهد کبابی بیشترین میزان MeIQx را در روز ۱۶ طی پخت نشان داد.

دناتوره‌شدن پروتئین در اثر حرارت طی پخت عامل اصلی در تولید MeIQx می‌باشد که واکنش اسیدآمینهٔ ترونین با گلیسین و سراتنین و هگزوز طی عمل میلارد انجام می‌گیرد (Milić *et al.*, 1993). بالارفتن فساد شیمیایی و میکروبی در روز ۱۶ نگهداری باعث دناتوره‌شدن پروتئین طی فساد که نقش بسزایی در تولید MeIQx در نمونه‌های طبخ‌شده دارد. کیتوزان در تشکیل آمین آروماتیک حلقوی (MeIQx) در تیمارهای کبابی کمتر از تیمارهای سرخی بود که نوع پخت به روش سرخی اثر تخریبی کمتری روی پوشش کیتوزان بافت ماهی داشته است و درنهایت اثر مهارکنندگی کیتوزان نمایان‌تر بود. Oz و همکاران (۲۰۱۶) تولید آمین آروماتیک حلقوی (MeIQx) در تیمارهای حاوی کیتوزان را کمتر از نمونهٔ شاهد نشان دادند و همین‌طور شکل‌گیری MeIQx در تیمارهای حاوی افزودنی ازجمله فلفل و روغن‌های گیاهی را کمتر از نمونهٔ شاهد نشان دادند (Lu *et al.*, 2017; Zeng *et al.*, 2018).

جدول ۴- میزان آمین آروماتیک حلقوی MeIQx (نانو گرم بر گرم) در تیمارهای مختلف فیلهٔ فیل‌ماهی (کبابی و سرخی)

تیمار	زمان (روز)		
	صفر	۸	۱۶
شاهد کبابی	۰/۹۱±۰/۰۵^{Bc}	۱/۴۰±۰/۰۲^{Eb}	۴/۸۰±۰/۰۲^{Aa}
شاهد سرخی	۰/۵۰±۰/۰۵^{Cc}	۲/۲۰±۰/۱۵^{Cb}	۴/۰۰±۰/۰۲^{Ca}
کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد کبابی	۰/۲۵±۰/۰۵^{Dc}	۲/۸۰±۰/۰۲^{Ab}	۳/۲۰±۰/۱۵^{Ea}
کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد سرخی	۰/۹۲±۰/۰۵^{Bc}	۱/۶۰±۰/۰۲^{Db}	۳/۵۰±۰/۱۵^{Da}
کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد کبابی	۱/۲۰±۰/۰۲^{Ac}	۲/۵۰±۰/۰۲^{Bb}	۴/۲۰±۰/۰۲^{Ba}
کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد سرخی	nd	۰/۵۰±۰/۰۵^{Fb}	۱/۶۰±۰/۰۱^{Fa}

داده‌ها به‌صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

حروف کوچک متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هر سطر و حروف بزرگ متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هر ستون می‌باشد. ($P\leq$۰/۰۵) معرف وجود تفاوت معنی‌داربودن در سطح ۹۵ درصد می‌باشد.

nd: شناسایی‌نشده

طبق جدول (۵) مقادیر کل HAAs در همهٔ تیمارها طی طبخ در روزهای صفر، ۸ و ۱۶ افزایش یافت. ۰/۸ نانوگرم بر گرم در روز صفر کمترین و ۱۶/۹ نانوگرم بر گرم در روز ۱۶ بیشترین میزان HAAs در تیمارها بود. تیمارهای کباب‌شده نسبت به سرخ‌شده میزان کل تولید ترکیبات آمین‌های آروماتیک حلقوی (HAAs) بیشتری داشتند. بالاترین درصد بازدارندگی HAAs در همهٔ تیمارهای حاوی کیتوزان طبق جدول (۵) در روز صفر بود. کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد سرخی بیشترین و کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد کبابی کمترین قدرت بازدارندگی در شکل‌گیری آمین‌های آروماتیک حلقوی را نشان دادند.

HAAs جهش‌زا و سرطانی بوده که باعث ایجاد تومورهایی در کبد، پانکراس، رودهٔ بزرگ و کوچک، پوست و ریه می‌گردند (ur Rahman *et al.*, 2014). این ترکیبات طی پخت در غذاهای پروتیئنی به‌ویژه گوشت‌قرمز، مرغ و ماهی در دمای بالای ۱۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد تشکیل می‌شوند. تنوع و کیفیت این ترکیبات به فاکتورهایی مانند نوع و وزن گوشت، روش، زمان و دمای پخت بستگی دارد و غلظت HAAs تحت‌تأثیر عواملی ازجمله فعالیت آبی، pH، کراتین، آمینواسیدهای آزاد، چربی، اکسیداسیون چربی، کربوهیدرات و مواد آنتی‌اکسیدانی تغییر می‌نماید (Oz *et al.*, 2016). Oz و همکاران (۲۰۱۶) میزان مصرف روزانهٔ HAAs در مواد غذایی را بین صفر تا ۱۵ میکروگرم در روز بیان کردند. Lu و همکاران (۲۰۱۷) و Zeng و همکاران (۲۰۱۸) میزان کل تولید HAAs در تیمارهای حاوی افزودنی ازجمله فلفل، روغن‌های گیاهی و ویتامین E را کمتر از نمونهٔ شاهد نشان دادند. Oz و همکاران (۲۰۱۶) تولید HAAs در تیمارهای حاوی کیتوزان را کمتر از نمونهٔ شاهد نشان دادند. اُفت پخت یک فاکتور مهم قابل‌بررسی از شاخص‌های پخت‌وپز می‌باشد که در اثر تغییرات رطوبت، چربی و پروتئین محصول طی حرارت حاصل از پخت ایجاد می‌گردد. برای داشتن محصول خوشمزه و ایمن، پخت‌وپز بسیار مهم است (Chantarasataporn *et al.*, 2013; Oz *et al.*, 2016). باتوجه‌به نتایج حاصل از فساد شیمیایی و میکروبی و تغییرات رطوبت، چربی و پروتئین تیمارهای فیلهٔ فیل‌ماهی، تا روز ۸ نگهداری اختلاف معنی‌داری دیده نشد، ولی در روز ۱۶ از دورهٔ نگهداری اختلاف‌ها معنی‌دار بود ($P\leq$۰/۰۵).

جدول ۵- مقدار کل (نانوگرم بر گرم) و درصد بازدارندگی آمین‌های آروماتیک حلقوی در تیمارهای مختلف فیلهٔ فیل‌ماهی (کبابی و سرخی)

تیمار/زمان (روز)	مقدار کل آمین‌های آروماتیک حلقوی			درصد بازدارندگی		
	صفر	۸	۱۶	صفر	۸	۱۶
شاهد کبابی	۴/۸۴	۶/۰۰	۱۶/۹۰	-	-	-
شاهد سرخی	۲/۵۷	۷/۲۰	۱۴/۲۰	-	-	-
کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد کبابی	۳/۰۵	۸/۴۰	۱۲/۷۰	۳۶/۰۰	-۴۰/۰۰	۲۴/۰۰
کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد سرخی	۱/۳۳	۵/۸۰	۱۰/۶۰	۴۸/۰۰	۱۹/۰۰	۲۵/۰۰
کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد کبابی	۳/۶۲	۷/۹۰	۱۳/۶۰	۲۵/۰۰	-۳۱/۰۰	۱۹/۰۰
کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد سرخی	۰/۸۰	۲/۳۲	۶/۷۰	۶۸/۰۰	۶۷/۰۰	۵۲/۰۰

طبق جدول (۶) اُفت پخت تیمارهای فیلهٔ فیل‌ماهی تا روز ۸ نگهداری مربوط به نوع پخت و کیتوزان بوده و کمترین اُفت طی پخت در تیمارهای کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد و کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد سرخی دیده شد که ناشی از اثر پوششی و قدرت نفوذ کیتوزان است. این خصوصیات از کیتوزان باعث تأخیر در تولید ژل ماتریکس ماهیچه، چروکیدگی میوفیبریل و خروج رطوبت از سطح بافت می‌شود. اُفت پخت بالا در روز ۱۶ از دورهٔ نگهداری در تیمارهای پخته‌شده به‌غیراز تیمارهای کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد و کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد سرخی به‌دلیل عدم وجود کیتوزان و نوع پخت و درنهایت فساد ناشی از دورهٔ نگهداری در این تیمارها دانست (Kachanechai, Jantawat, & Pichyangkura, 2008; Shabbir *et al.*, 2015).

جدول ۶- اُفت پخت تیمارهای مختلف فیلهٔ فیل‌ماهی (کبابی و سرخی)

تیمار	زمان (روز)		
	صفر	۸	۱۶
شاهد کبابی	۳۲/۶۱±۰/۰۷^{Ab}	۳۳/۴۰±۰/۵۵^{Ab}	۵۳/۰۷±۰/۷۸^{Aa}
شاهد سرخی	۲۹/۵۲±۰/۲۳^{Bb}	۳۰/۰۴±۰/۳۷^{Bb}	۴۶/۶۴±۱/۰۶^{Ba}
کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد کبابی	۲۲/۷۶±۰/۰۱^{Db}	۲۳/۰۶±۰/۱۲^{Db}	۳۴/۰۹±۱/۲۵^{Da}
کیتوزان الیگوساکاریدی ۱ درصد سرخی	۲۱/۱۵±۰/۲۱^{Eb}	۲۱/۳۰±۰/۷۵^{Eb}	۳۲/۱۰±۰/۳۶^{Ea}
کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد کبابی	۲۴/۳۷±۰/۰۲^{Cb}	۲۴/۶۱±۰/۰۷^{Cb}	۳۵/۹۱±۰/۵۵^{Ca}
کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد سرخی	۲۱/۲۵±۰/۰۷^{Eb}	۲۱/۵۷±۰/۶۳^{Eb}	۳۲/۲۱±۰/۲۷^{Ea}

داده‌ها به‌صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

حروف کوچک متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هر سطر و حروف بزرگ متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هر ستون می‌باشد. ($P\leq$۰/۰۵) معرف وجود تفاوت معنی‌داربودن در سطح ۹۵ درصد می‌باشد.

نتیجه‌گیری

درحال‌حاضر اثرات تخریبی حرارت طی پختن مواد غذایی در تشکیل آمین‌های آروماتیک حلقوی بیشتر معطوف به مطالعه‌های روی گوشت دام و فراورده‌های آنها می‌باشد و کمتر به آبزیان پرداخته شده است. باتوجه‌به افزایش آگاهی مردم نسبت به خواص ماهی و فراورده‌های آن ضرورت وجود آن در جیرهٔ غذایی بیش‌ازپیش موردتوجه مردم قرار گرفته است. اگر تازگی ماهی برای مصرف‌کنندگان مهم تلقی می‌گردد، حفظ کیفیت ماهی و جلوگیری از تشکیل ترکیبات مضر حاصل از پخت به اندازهٔ تازگی اولیهٔ ماهی مهم و ضروری است. در این مطالعه آمین‌های آروماتیک حلقوی و مهار این ترکیبات را در گوشت ماهی، که به شکل رایج (سرخ‌شده در روغن و کبابی) در ایران طبخ می‌شود، بررسی گردید. نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد که استفاده از پوشش‌های کیتوزانی از شدت فعالیت آنزیمی و باکتری‌های موجود در فیلهٔ ماهی کاسته و موجب افزایش زمان ماندگاری فیلهٔ ماهی گردید، تیمار کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد نسبت به سایر تیمارها نتایج بهتری نشان داد. لذا کیتوزان به‌عنوان افزودنی می‌تواند تقاضای مصرف‌کنندگان به مواد غذایی عاری از مواد شیمیایی را تأمین‌نموده و نیاز آنها به مواد غذایی با کیفیت بالاتر و ایمن را تأمین نماید.

تشکر و قدردانی

نگارنده از همکاری صمیمانه گروه فرآوری شیلاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و انستیتو تحقیقات علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی نهایت امتنان را دارد.

منابع

رضوی‌شیرازی، ح. (۱۳۸۱). تکنولوژی فرآورده‌های دریایی: علم فرآوری (جلد دوم): انتشارات نقش مهر.

کلته، ص.، دوغی‌کلائی، ا. ع.، و یوسف‌الهی، م. (۱۳۹۳). تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان-ژلاتین برخصوصیات کیفی و زمان ماندگاری فیش فینگر کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) طی نگهداری در یخچال. *علوم و فنون شیلات*، ۳(۱)، ۴۵-۵۵.

نقیبی، س. س.، احسانی، ع.، تاجیک، ح.، طالبی، ع.، و دلیرژ، ن. (۱۳۹۵). تأثیر پوشش کیتوزان غنی‌شده با لیکوپن بر پروفایل اسیدهای چرب و پارامترهای اکسیداسیون چربی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طول دوره نگهداری در یخچال. *بهداشت مواد غذایی*، ۶(۱)، ۲۹-۴۴.

Alimentarius Codex. (2003). Code of practice for fish and fishery products. CAC/RCP 52. In: Rome: FAO/WHO.

AOAC. (2005). Association of Official Agricultural Chemists Official. Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists. In: AOAC Arlington

Chantarasataporn, P., Yoksan, R., Visessanguan, W., & Chirachanchai, S. (2013). Water-based nano-sized chitin and chitosan as seafood additive through a case study of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei). *Food Hydrocolloids, 32*(2), 341-348. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.01.011

Costa, M., Viegas, O., Melo, A., Petisca, C., Pinho, O., & Ferreira, I. M. (2009). Heterocyclic aromatic amine formation in barbecued sardines (Sardina pilchardus) and Atlantic salmon (Salmo salar). *Journal of agricultural and food chemistry, 57*(8), 3173-3179. doi:https://doi.org/10.1021/jf8035808

Dutta, P. K., Dutta, J., & Tripathi, V. (2004). Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *Journal of Scientific and Industrial Research, 63*(1), 20-31

Egan, H., & Sawyer, R. (1997). *Pearsons Chemical Analysis of Foods* (9 ed.)

Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y., & Chi, Y. (2009). Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food chemistry, 115*(1), 66-70. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.060

Farajzadeh, F., Motamedzadegan, A., Shahidi, S.-A., & Hamzeh, S. (2016). The effect of chitosan-gelatin coating on the quality of shrimp (Litopenaeus vannamei) under refrigerated condition. *Food Control, 67*, 163-170. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.02.040

Gladyshev, M. I., Sushchik, N. N., Gubanenko, G. A., Demirchieva, S. M., & Kalachova, G. S. (2006). Effect of way of cooking on content of essential polyunsaturated fatty acids in muscle tissue of humpback salmon (Oncorhynchus gorbuscha). *Food chemistry, 96*(3), 446-451. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.034

Gram, L., & Huss, H. H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *International journal of food microbiology, 33*(1), 121-137. doi:https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)01134-8

Huss, H. H., Jeppesen, V. F., Johansen, C., & Gram, L. (1995). Biopreservation of fish products—a review of recent approaches and results. *Journal of Aquatic Food Product Technology, 4*(2), 5-26. doi:https://doi.org/10.1300/J030v04n02_02

Jeon, Y.-J., Kamil, J. Y., & Shahidi, F. (2002). Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. *Journal of agricultural and food chemistry, 50*(18), 5167-5178. doi:https://doi.org/10.1021/jf011693l

Johansson, M., & Jägerstad, M. (1996). Influence of pro-and antioxidants on the formation of mutagenic-carcinogenic heterocyclic amines in a model system. *Food chemistry, 56*(1), 69-75. doi:https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)00160-3

Kachanechai, T., Jantawat, P., & Pichyangkura, R. (2008). The influence of chitosan on physico-chemical properties of chicken salt-soluble protein gel. *Food Hydrocolloids, 22*(1), 74-83. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.04.010

Kalte, S., Alizadeh Doghikolaee, E., & Yousef Elahi, M. (2014). Effect of edible chitosan-gelatin coating on the quality characteristics and shelf life of fish finger of *Hypophthalmichthys molitrix* during refrigerated storage. *Fisheries Science and Technology, 3*(1), 45-55 . (in Persian)

Kilincceker, O., Dogan, I. S., & Kucukoner, E. (2009). Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets. *LWT-Food science and Technology, 42*(4), 868-873. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.11.003

Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I. N., & Kontominas, M. G. (2009). Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (Dicentrarchus labrax) fillets. *Food microbiology, 26*(5), 475-482. doi:https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.02.008

Lin, C.-C., & Lin, C.-S. (2005). Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. *Food Control, 16*(2), 169-175. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.01.007

Lin, K.-W., & Chao, J.-Y. (2001). Quality characteristics of reduced-fat Chinese-style sausage as related to chitosan's molecular weight. *Meat Science, 59*(4), 343-351. doi:https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00084-5

Lu, F., Kuhnle, G. K & ,Cheng, Q. (2017). Vegetable oil as fat replacer inhibits formation of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in reduced fat pork patties. *Food Control, 81*, 113-125. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.05.043

Mexis, S., Chouliara, E., & Kontominas, M. (2009). Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4 C. *Food microbiology, 26*(6), 598-605. doi:https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.04.002

Milić, B. i. L ,Djilas, S. M., & Čanadanović-Brunet, J. M. (1993). Synthesis of some heterocyclic aminoimidazoazarenes. *Food chemistry, 46*(3), 273-276. doi:https://doi.org/10.1016/0308-8146(93)90118-Y

Mohan, C., Ravishankar, C., Lalitha, K., & Gopal, T. S. (2012). Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (Sardinella longiceps) during chilled storage. *Food Hydrocolloids, 26*(1), 167-174. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.05.005

Naghibi, S. S., Ehsani, A., Tajik, H ,.Talebi, A., & Delirezh, N. (2016). Effect of chitosan enriched with lycopene coating on fatty acid profile and fat oxidation parameters of rainbow trout fillet during refrigerated storage. *Food Hygiene, 6*(1 (21)), 29-44 .(in Persian)

No, H., Meyers, S. P., Prinyawiwatkul, W., & Xu, Z. (2007). Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: a review. *Journal of food science, 72*(5), R87-R100. doi:https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00383.x

Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food chemistry, 120*(1), 193-198. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.006

Oz, F., Kaban, G., & Kaya, M. (2010). Effects of cooking methods and levels on formation of heterocyclic aromatic amines in chicken and fish with Oasis extraction method. *LWT-Food science and Technology, 43*(9), 1345-1350. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.04.014

Oz, F., & Kaya, M. (2011). The inhibitory effect of black pepper on formation of heterocyclic aromatic amines in high-fat meatball. *Food Control, 22*(3-4), 596-600. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.10.010

Oz, F., Kızıl, M., Zaman, A., & Turhan, S. (2016). The effects of direct addition of low and medium molecular weight chitosan on the formation of heterocyclic aromatic amines in beef chop. *LWT-Food science and Technology, 65*, 861-867. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.023

Razavi shirazi, H. (2006). *Seafood technology :Principles handeling and processing* (Vol. 2): Nagsh mehr, Tehran.(in Persian)

Sallam, K. I. (2007). Prevalence of Campylobacter in chicken and chicken by-products retailed in Sapporo area, Hokkaido, Japan. *Food Control, 18*(9), 1113-1120. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.07.005

Sathivel, S., Liu, Q., Huang, J., & Prinyawiwatkul, W. (2007). The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (Oncorhynchus gorbuscha) fillets during frozen storage. *Journal of Food Engineering, 83*(3), 366-373. doi:https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.03.009

Sayas-Barberá, E., Quesada, J., Sánchez-Zapata, E., Viuda-Martos, M., Fernández-López, F., Pérez-Alvarez, J., & Sendra, E. (2011). Effect of the molecular weight and concentration of chitosan in pork model burgers. *Meat Science, 88*(4), 740-749. doi:https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.03.007

Shabbir, M. A., Raza, A., Anjum, F. M., Khan, M. R., & Suleria, H. A. R. (2015). Effect of thermal treatment on meat proteins with special reference to heterocyclic aromatic amines (HAAs). *Critical reviews in food science and nutrition, 55*(1), 82-93. doi:https://doi.org/10.1080/10408398.2011.647122

Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., & Jeon, Y.-J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in food science & technology, 10*(2), 37-51. doi:https://doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00017-5

Souza, B. W., Cerqueira, M. A., Ruiz, H. c. A., Martins, J. T., Casariego, A., Teixeira, J. A., & Vicente, A. A. (2010). Effect of chitosan-based coatings on the shelf life of salmon (Salmo salar). *Journal of agricultural and food chemistry, 58*(21), 11456-11462. doi:https://doi.org/10.1021/jf102366k

Sugimura, T., Wakabayashi, K., Nakagama, H., & Nagao, M. (2004). Heterocyclic amines: Mutagens/carcinogens produced during cooking of meat and fish. *Cancer science, 95*(4), 290-299. doi:https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2004.tb03205.x

ur Rahman, U., Sahar, A., Khan, M. I., & Nadeem, M. (2014). Production of heterocyclic aromatic amines in meat: Chemistry, health risks and inhibition. A review. *LWT-Food science and Technology, 59*(1), 229-233. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.005

Viegas, O., Novo, P., Pinto, E., Pinho, O., & Ferreira, I. (2012). Effect of charcoal types and grilling conditions on formation of heterocyclic aromatic amines (HAs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in grilled muscle foods. *Food and Chemical Toxicology, 50*(6), 2128-2134. doi:https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.03.051

Yanar, Y., Celik, M., & Akamca, E. (2006). Effects of brine concentration on shelf-life of hot-smoked tilapia (Oreochromis niloticus) stored at 4 C. *Food chemistry, 97*(2), 244-247. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.043

Zeng, M., Wang, J., Zhang, M., Chen, J., He, Z., Qin, F., . . . Chen, J. (2018). Inhibitory effects of Sichuan pepper (Zanthoxylum bungeanum) and sanshoamide extract on heterocyclic amine formation in grilled ground beef patties. *Food chemistry, 239*, 111-118. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.097

The Effect of Chitosan and Cooking Methods on Heterocyclic Aromatic Amines Formation of Beluga Fillet

Hojat Mirsadeghi[1*], Alireza Alishahi[2], Mahdi Ojagh[2], Parastoo Pourashouri[2]

1- PhD. Graduated, Department of Seafood Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
* Corresponding author (hojatmirsadeghi@yahoo.com)
2- Associate Professor, Department of Seafood Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Abstract

The purpose of this study was to use the effectiveness of different chitosan's and cooking methods on the formation of heterocyclic aromatic amines in fish fillet of Beluga (*Huso huso*). For this purpose, the natural preservative effect of 1% acid-soluble chitosan and 1% oligosaccharide chitosan on days 0, 8 and 16 was used to determine the proximate composition, pH, PV, TBA, TVN and the total TVC microbial load in the *Huso huso*. The sample containing 1% acid-soluble chitosan showed the least change and the differences among treatment were significant ($P \leq 0.05$). Also, in evaluating the heterocyclic amines (HAAs) in cooked samples , HAAs and cooking loss changes in all treatments increased during cooking at 0, 8, and 16 days after refrigerated storage ($P \leq 0.05$). The fried samples with 1% oligosaccharide and acid soluble chitosan had the least amount of HAAs and cooking loss. The results of this study showed that chitosan 1% could prevent corruption in the fish fillet during storage in the refrigerator and could prevent the production of harmful and mutagenic compounds during cooking.

Keywords: Beluga fillet, Chitosan, Cooking loss, Heterocyclic aromatic amines