JRIFST

www.rifst.ac.ir/jrifst.aspx
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال 1391، جلد 1، شماره 3، صفحات 164-153
DOI: 10.22101/JRIFST.2012.12.20.131

# تأثیر پوشش کیتوزان غنی شده با آلفاتوکوفرول بر فساد اکسایشی چربی موجود در ماهی قزل آلای پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*) طی دوره‌ی یخچال گذاری

**هانیه طلوعی[1]، جواد مهتدی نیا[2]، سید رفیع عارف حسینی[3*]، محمد اصغری جعفرآبادی[4]**

1- کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
2- دانشیار گروه تغذیه دانشگاه علوم پزشکی تبریز
3- استادیار مرکز تحقیقات تغذیه دانشگاه علوم پزشکی تبریز
* نویسنده مسئول: (srarefhosseini@gmail.com)
4- استادیار گروه آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

تاریخ دریافت: 91/01/15
تاریخ پذیرش: 91/09/25

**واژه های کلیدی**
آلفا توکوفرول
اکسایش
قزل آلا
کیتوزان

**چکیده**

اسیدهای چرب امگا-3 به عنوان بخش مهمی از رژیم غذایی جهت سلامت و پیشگیری از بیماری به کار گرفته می شوند. ماهی عمده ترین منبع این گروه از اسیدهای چرب به شمار می آید از اینرو محافظت از ماهی در برابر انواع فساد اکسایشی ضرورت می یابد. در این بررسی به منظور کاهش فساد اکسایشی روغن موجود در قزل آلای پرورشی از آنتی اکسیدان آلفا توکوفرول در پوشش استفاده شد. به این منظور محلول 2 درصد کیتوزان و کیتوزان حاوی 0/2 و 0/4 درصد از آلفا توکوفرول تهیه شد. نمونه ها طی 28روز یخچال گذاری، در دوره های 7 روزه تحت آزمون های عدد پراکسید (PV)، شاخص آنیسیدین (AV)، شاخص توتوکس (TV) و اسیدهای چرب آزاد (FFA) قرار گرفتند. همچنین ساختار اسیدهای چرب به روش کروماتوگرافی گازی تعیین گردید. براساس نتایج آنالیز آماری مقادیر عدد پراکسید، شاخص آنیسیدین، شاخص توتوکس، اسیدهای چرب آزاد، درصد کل اسیدهای چرب امگا-3 و نسبت اسید چرب دوکوزاهگزانوئیک به اسید چرب پالمتیک در تیمارهای پوشش دار در مقایسه با نمونه شاهد، تغییرات کمتری در دوره ی نگهداری از خود نشان دادند. در متغیرهای PV، AV، TV و FFA تفاوت معنی داری بین دو نوع تیمار کیتوزان و کیتوزان- آلفاتوکوفرول مشاهده شد ($p<0/05$). کمترین شدت فساد اکسایشی به قزل آلای تیمار شده با کیتوزان حاوی 0/4 درصد آلفا توکوفرول مربوط بود.

**مقدمه**

ماهی قزل آلای رنگین کمان از جمله ماهی های روغنی متعلق به خانواده ی آزاد ماهیان به شمار می‌آید. این گونه برای پرورش بسیار مناسب تشخیص داده شده است (صادقی،1380)، از اینرو در دسترس‌ترین نوع ماهی در کشور بوده که عرضه ی آن اغلب به صورت تازه و غیر منجمد می باشد. ماهی های روغنی منبع ارزشمندی از اسیدهای چرب امگا-3 به

شمار می آیند. جستجو در مکانیسم های مولکولی و سلولی تاثیر اسیدهای چرب امگا-3 بر سلامت افراد حاکی از آن است که وجود این گروه اسیدهای چرب ضروری در رژیم غذایی، فرایندهای متعددی را تنظیم می نماید (Duan et al., 2010; Hunter & Roberts, 2000). با این وجود روغن ماهی به دلیل دارا بودن مقادیر قابل توجهی از اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه فاقد پایداری اکسایشی مطلوب است (Vicetti et al., 2005; Vásconez et al., 2009). افزودن آنتی اکسیدان به مواد غذایی یکی از موثرترین شیوه های کاهش سرعت اکسایش روغن ها و چربی ها است. از سوی دیگر افزودن آنتی اکسیدان های سنتزی در محصولات غذایی ممکن است با آثار سوئی بر سلامت همراه باشد (He & Shahidi, 1997). از اینرو امروزه استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی که دارای اثرات سودمندی بر سلامت هستند، توصیه می شود. آلفاتوکوفرول آنتی اکسیدانی با منشا طبیعی است که علاوه بر خاصیت آنتی اکسیدانی دارای ارزش غذایی نیز هست (Han et al., 2004).

تاکنون مطالعاتی با هدف بررسی تاثیر افزودن آلفا توکوفرول بر پایداری اکسایشی گوشت چرخ کرده و سایر محصولات گوشتی صورت گرفته است (Mielnik et al., 2003; Georgantelis et al., 2007b; Darmadji & Izumimoto, 1994). Whang و همکاران (1986) اثر غلظت های 100 و 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم از آلفا توکوفرول را بر اکسایش چربی‌های موجود در گوشت چرخ کرده خام و پخته مورد بررسی قرار دادند، نتایج این پژوهش نشانگر کاهش سرعت فرآیند اکسایش در نمونه های حاوی آنتی‌اکسیدان در دوره ی زمانی 12 روزه در دمای 4 درجه سلسیوس بود. Georgantelis و همکاران (2007a) به مطالعه ی تاثیر حاصل از افزودن 115 میلی گرم بر کیلوگرم آلفا توکوفرول در فرمولاسیون سوسیس های تازه ی پرچرب پرداختند. نتایج نشانگر اکسایش شدید در چربی موجود در نمونه های فاقد آلفا توکوفرول بود اما در نمونه های حاوی این ترکیب، پس از 20 روز نگهداری در دمای 4 درجه سلسیوس شدت اکسایش پایین تر بود. همچنین گزارش هایی مبنی بر خاصیت آنتی اکسیدانی قوی تر آلفا توکوفرول در چربی ها و روغن های حیوانی و پایداری بیشتر این آنتی اکسیدان در روغن های حاوی اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFAs) وجود دارد (Yuki & Ishikawa, 1976; Zuta et al., 2007). در پژوهش های مذکور آلفاتوکوفرول در فرمولاسیون محصولات اضافه گردیده است که نیازمند تخریب بافت اولیه و فروپاشی ساختار در محصولات می باشد، این در حالیست که پوشش‌های خوراکی، تنها سطح محصول را پوشانده و تغییری در ظاهر محصول ایجاد نمی‌کنند.

امروزه مزایای کاربرد پوشش های خوراکی نظیر زیست تخریب پذیری، افزایش تنوع و بهبود ماندگاری محصولات سبب افزایش کاربرد آن ها در صنایع غذایی و علوم دارویی شده است (Kanatt et al., 2008). در میان پوشش ها، کیتوزان از این مزیت برخوردار است که علاوه بر ارزش غذایی، به عنوان یک ترکیب نگهدارنده و ضدمیکروبی در مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرد (Hernández-Muñoz et al., 2008; Fan et al., 2009). محدوده ی وسیعی از میکروارگانیسم ها شامل باکتری های گرم مثبت، گرم منفی و کپک ها به کیتوزان حساس هستند (Jayakumar et al., 2007; Vásconez et al., 2009). با این وجود شواهد نشان دهنده خاصیت آنتی اکسیدانی ضعیف این پلیمر کربوهیدراتی است (Kanatt et al., 2008; Ojagh et al., 2010). بنابراین در این پژوهش با هدف تهیه پوششی با هر دو ویژگی ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی، آلفا توکوفرول در ترکیب پوشش کیتوزان افزوده شد و تاثیر آن بر پایداری اکسایشی چربی موجود در ماهی قزل آلای پرورشی مورد مطالعه قرار گرفت.

## مواد و روش ها

### مواد مصرفی

پودر کیتوزان با وزن مولکولی پایین و پارا آنیسیدین سنتزی از شرکت سیگمای آمریکا تهیه گردید. آلفا توکوفرول نیز با درجه خلوص بیش از 99 درصد از شرکت مرک آلمان خریداری و مورد استفاده قرار گرفت. ایزواکتان، تیوسولفات و سایر ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش ساخت کارخانه

مرک آلمان با درجه خلوص آزمایشگاهی بودند.

**روش تهیه پوشش و پوشش دهی ماهی**

ماهی قزل آلا (*Oncorhynchus mykiss*) با وزن مشخص به صورت زنده از مزرعه پرورش ماهی در اطراف شهر مرند در استان آذربایجان شرقی خریداری گردید و پس از سرزنی، زدودن دم، باله ها و تخلیه شکمی، مجدداً با آب شستشو داده شد. محلول کیتوزان 2 درصد با انحلال کیتوزان در اسید استیک بدون آب 1 درصد حجمی/حجمی تهیه گردید (Ojagh et al., 2010). گلیسرول نیز به میزان 0/75 میلی لیتر بر گرم کیتوزان به عنوان منعطف کننده به پوشش افزوده شد. به منظور تهیه پوشش کیتوزان حاوی آنتی اکسیدان، ابتدا آلفا توکوفرول (0/2 درصد و 0/4 درصد وزنی/حجمی)، در 0/2 درصد محلول توین 80 حل شد و سپس به محلول کیتوزان اضافه گردید. هریک از پوشش ها به مدت 2 دقیقه وسیله ی هموژنایزر (Polytron، آمریکا) یکنواخت شد. سپس ماهی ها برای مدت 1 دقیقه در محلول پوشش تهیه شده غوطه ور شدند. نمونه ها در دمای 4±1 درجه سلسیوس نگهداری شدند و به صورت دوره ای در فواصل زمانی معین (در روزهای 0، 7، 14، 21 و 28) از نظر عدد پراکسید (PV)، عدد آنیسیدین (AV)، عدد توتوکس (TV) و مقدار اسیدهای چرب آزاد (FFA) مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین ساختار اسیدهای چرب به روش کروماتوگرافی گازی در نمونه‌ی ماهی روز اول و روز بیست و یکم تعیین گردید.

**استخراج روغن**

روغن موجود در ماهی مطابق روش Bligh و Dyer (1959) استخراج گردید. به این منظور ابتدا ماهی ها به قطعات کوچک تقسیم و دو مرتبه چرخ شدند تا خمیر یکنواختی از ماهی حاصل گردد. سپس حلال کلروفرم- متانول و آب (نسبت 1.1.2) به خمیر ماهی افزوده شد. به منظور افزایش تماس خمیر ماهی و حلال به مدت 1 دقیقه از همزن مغناطیسی استفاده شد در ادامه لایه کلروفرمی به وسیله دکانتور شیشه‌ای جدا گردید. روغن موجود در حلال به وسیله ی تبخیر کننده چرخان مدل Laborata 4000 ساخت کمپانی هایدولف تحت شرایط خلاء و در دمای 40 درجه سلسیوس تبخیر و جداسازی گردید.

**اندازه گیری عدد پراکسید**

در آزمون پراکسید پس از افزودن مقادیر کافی از روغن در ارلن مایر، اسید استیک کلروفرمی (نسبت 3 به2)، 0/5 میلی لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع،30 میلی لیتر آب مقطر به آن افزوده شد. محلول حاصل در حضور معرف نشاسته 1 درصد با محلول تیوسولفات سدیم 0/001 نرمال تیتر گردید (Egan et al., 1997). نتایج آزمون پراکسید بر حسب میلی اکی والان اکسیژن در هزار گرم از بافت ماهی گزارش شد.

**اندازه گیری عدد آنیسیدین**

برای سنجش عدد آنیسیدین 3-2 گرم از روغن استخراجی، در بالن حجمی 25 میلی لیتری توزین شده و با ایزواکتان به حجم رسانده شد. پس از انحلال کامل روغن، محلول به درون سل کوارتز 10 میلی-متری خشک ریخته شد و میزان جذب محلول در مقایسه با حلال به روش اسپکتروفوتومتری (Cecil، انگلستان) در 350 نانومتر تعیین گردید. به 5 میلی لیتر از محلول ذکر شده 1 میلی لیتر از معرف آنیسیدین (0/125 گرم پارا آنیسیدین در 50 میلی-لیتر از اسید استیک) افزوده شد و پس از گذشت دقیقاً 10 دقیقه، جذب محلول واکنش، در شرایطی مشابه خوانده شد و عدد آنیسیدین بر اساس فرمول $AV: QV\times [1.2\times (A1-A2-A0)]\times 100/m$ محاسبه گردید (AOCS, 1998). در این فرمول Q: میزان نمونه محلول، V: حجمی که در آن آزمونه حل شده است، A0: میزان جذب محلول آزمون واکنش نیافته، A1: میزان جذب محلول آزمون واکنش یافته، A2: میزان جذب محلول شاهد و m: وزن آزمونه بر حسب گرم می باشد.

عدد توتوکس نیز به صورت محاسبه‌ای از مجموع دو برابر اندیس پراکسید و اندیس آنیسیدین گزارش گردید.

**اندازه گیری اسیدهای چرب آزاد**

جهت اندازه گیری اسیدهای چرب آزاد، مقادیر کافی از روغن استخراج شده به ارلن مایر 250 میلی لیتری انتقال یافت و به آن حلال اسیدی (اتانول 96 درصد خنثی شده) افزوده شد. محلول در مجاورت 1 میلی لیتر از معرف فنل فتالئین با سود 0/1 نرمال تیتر شد (Kwon & Rhee, 1986). نتایج بر حسب درصد اسیداولئیک در چربی کل بیان گردید.

**تعیین ساختار اسیدهای چرب**

به این منظور ابتدا اسیدهای چرب موجود در روغن استخراجی تحت واکنش متیلاسیون به متیل استرهای اسیدهای چرب تبدیل شدند. استرهای حاصل پس از انحلال در حلال هگزان به ابتدای ستون کروماتوگرافی گازی (دستگاه کروماتوگرافی گازی Dony ساخت ایتالیا مجهز به ستون کاپیلاری-DB WAX، شناساگر یونیزاسیون شعله‌ای، دمای شناساگر 250 درجه سلسیوس) تزریق گردید و میانگین‌های به دست آمده از 3 تکرار، برحسب درصد وزنی گزارش شد (Siskos et al., 2007).

**تجزیه و تحلیل آماری**

ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف- اسمیرنوف بررسی گردید، سپس همگنی واریانس داده ها با آزمون لون تعیین شد. در این بررسی طرح بلوک های کامل تصادفی مورد استفاده قرار گرفت. جهت بررسی تاثیر همزمان دو عامل زمان و پوشش خوراکی بر شاخص های شیمیایی در تیمارهای مورد نظر و بررسی وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر حاصل از هر شاخص در هر دوره ی نمونه-گیری از تجزیه واریانس دو طرفه استفاده شد. برای مقایسه میانگین ها آزمون توکی در سطح معناداری 5 درصد مورد استفاده قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد.

**نتایج و بحث**

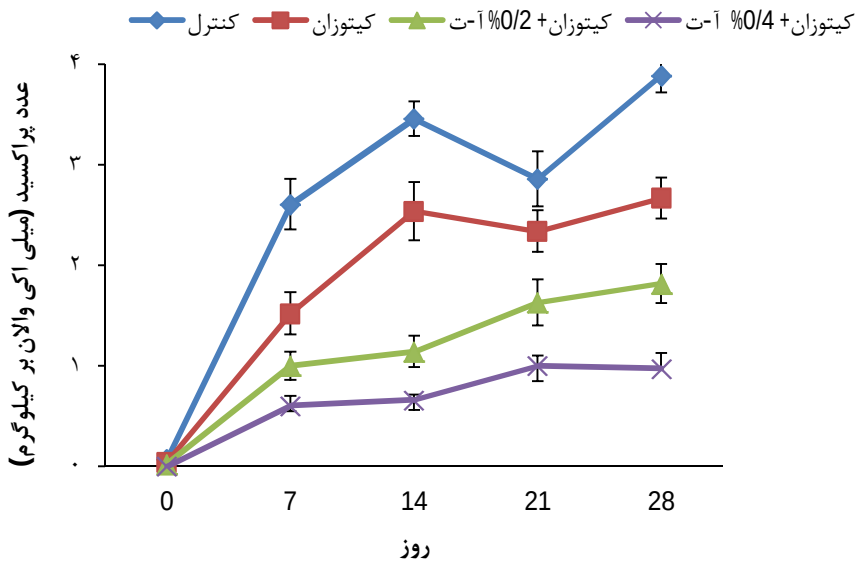
اثر اصلی متغیرها (نوع پوشش و روز) و اثر متقابل آن ها بر تمامی فاکتورها (عدد پراکسید، عدد آنیسیدین،اندیس توتوکس و اسیدهای چرب آزاد) معنی دار بود (در تمامی موارد $p<0/05$). به همین دلیل، مقایسه میانگین ها در تیمارهای مختلف طی مدت نگهداری به صورت مجزا صورت گرفت.

**عدد پراکسید**

تاثیر تیمارهای مختلف بر عدد پراکسید نمونه‌های پوشش داده شده و نمونه شاهد (بدون پوشش) در شکل 1 نشان داده شده است. هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسایش مواد چرب و نشان دهنده ی میزان پیشرفت اکسایش هستند (Lin & Lin, 2004). همان طور که مشاهده می شود پس از گذشت چهار هفته نگهداری در 4 درجه سلسیوس عدد پراکسید در نمونه های ماهی قزل آلای تازه از 0/02 تا 0/07 میلی اکی والان بر کیلوگرم به 3/89 میلی اکی والان بر کیلوگرم در نمونه شاهد و 2/67 میلی اکی والان بر کیلوگرم در نمونه های پوشش داده شده با کیتوزان رسید. کاهش ترکیبات اولیه ی حاصل از اکسایش در نمونه های پوشش داده شده با کیتوزان در مقایسه با ماهی فاقد پوشش را به علت پیوند کیتوزان با آهن موجود در پروتئین های آهندار در ماهی دانسته اند (Feng et al., 2008; Fan et al., 2009). آهن موجود در این پروتئین ها با فعال سازی اکسیژن، تولید رادیکال در مرحله ی آغازین اکسایش را سرعت می-بخشد. نتایج مشابهی در کاهش اکسایش اولیه برای فیله ی قزل آلای پوشش داده شده با کیتوزان توسط Ojagh و همکاران (2010) و همچنین توسط Jeon و همکاران (2002) برای فیله ی ماهی هرینگ نگهداری شده در دمای 4 درجه سلسیوس گزارش شده است.

مقادیر عدد پراکسید در نمونه ها وابسته به غلظت آلفا توکوفرول افزوده شده متغیر بود با افزایش غلظت اثر آنتی اکسیدانی پوشش افزایش و در نتیجه میانگین عدد پراکسید کاهش یافت. علت را می توان سرعت بسیار بالاتر واکنش رادیکال های پروکسی با آلفاتوکوفرول در مقایسه با گروه آسیل لیپیدها دانست (Kamal-Eldin & Appelqvist, 1996). همچنین مشخص شده است که توکوفرول با فرونشاندن اکسیژن یگانه، اثر مثبت خود را در جلوگیری از فساد

اعمال می کند (Eitenmiller & Lee, 2004). Zuta و همکاران (2007) بیان کردند که محصولات اولیه اکسایش در روغن ماهی ماکرل در حضور غلظت پایین از آلفا توکوفرول کاهش می یابد. همچنین افزایش خاصیت خورندگی رادیکال های آزاد پس از افزودن آلفا توکوفرول در فیلم های کیتوزانی توسط Martins و همکاران (2012) گزارش شده است.

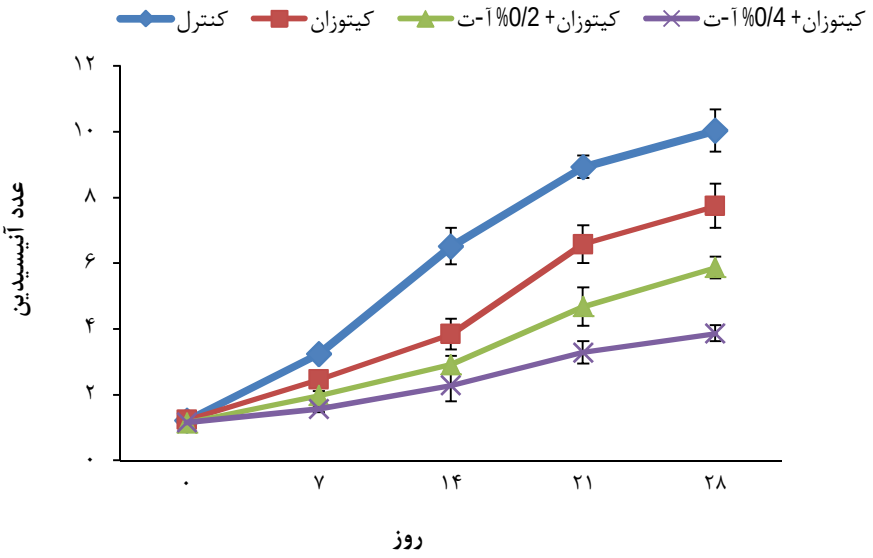



**شکل 1- تاثیر تیمارهای مختلف بر عدد پراکسید ماهی قزل آلای پرورشی. آ-ت نشان دهنده ی آلفا توکوفرول و تیرک های ترسیم شده نشان دهنده ی خطای استاندارد میانگین داده های اندازه گیری شده است.**

**عدد آنیسیدین**

همان طور که اشاره شد هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسایش به شمار می آیند که ترکیباتی ناپایدار بوده و به عواملی همچون آلدئیدها، کتون ها و هیدروپراکسیدها شکسته می شوند (Pettersen, 1994). اندیس آنیسیدین روشی استاندارد برای ارزیابی محصولات ثانویه ی اکسیداسیون (آلدئیدها و به ویژه آلدئیدهای α و β غیر اشباع) در روغن ها و چربی های گیاهی و حیوانی است که در نتیجه ی اکسایش اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در روغن تشکیل می شوند (O´Sullivan et al., 2007).

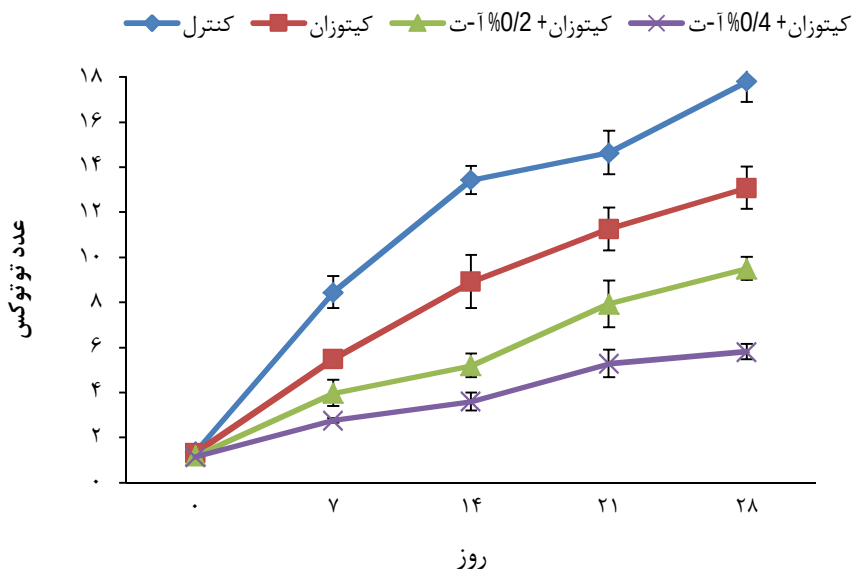
در این مطالعه اگرچه در روزهای آغازی تفاوت معنی داری میان دو پوشش کیتوزان و کیتوزان حاوی آلفا توکوفرول مشاهده نشد اما این اختلاف در روزهای پایانی معنی دار بود ($p<0/05$)، به گونه ای که در روز بیست و هشتم میانگین عدد آنیسیدین در قزل آلای فاقد پوشش به ترتیب 2/6 و 1/3 برابر این شاخص در نمونه های تیمار شده با پوشش کیتوزان-آلفاتوکوفرول 0/4 درصد و گروه تیماری کیتوزان بود (شکل2). کاهش تشکیل مالون دی آلدهید به عنوان شاخصی از محصولات ثانویه در نمونه های تیمار شده با کیتوزان توسط Mexis و همکاران (2009) برای فیله های ماهی قزل آلای رنگین کمان و توسط Goulas و Kontominas (2007) برای ماهی پورگی گزارش شده است. علت را می توان کاهش تشکیل پراکسیدها به عنوان محصولات اولیه ی اکسایش، کاهش تماس با فاکتورهای محیطی و همچنین پایداری بیشتر هیدروپراکسیدها در حضور آلفا توکوفرول دانست.




**شکل 2- تاثیر تیمارهای مختلف بر عدد آنیسیدین در ماهی قزل آلای پرورشی. آ-ت نشان دهنده ی آلفا توکوفرول و تیرک‌های ترسیم شده نشان دهنده ی خطای استاندارد میانگین داده های اندازه گیری شده است.**

**عدد توتوکس**

عدد اکسایش کل (عدد توتوکس) از مرسوم ترین پارامترهای تعیین میزان فساد اکسایشی در آزمایشگاه های مرتبط با روغن و محصولات چرب محسوب می‌شود. با توجه به این شاخص در تمامی روزهای آزمایش (به جز روز نخست) شدت اکسایش کمتری در ماهی های پوشش دیده شده در مقایسه با نمونه‌های فاقد پوشش مشاهده گردید ($p<0/05$). در این پژوهش کمترین میانگین عدد توتوکس به نمونه‌های تیمار شده در حضور 0/4 درصد آلفا توکوفرول اختصاص داشت (شکل3). برای توجیه خاصیت تقویت‌کنندگی (سینرژیستی) می‌توان مکانیزم کلی اثر آنتی اکسیدان ها را مورد توجه قرار داد. همان طور که اشاره شد خاصیت آنتی اکسیدانی کیتوزان را به دلیل قابلیت کیتوزان در چنگالی کردن یون های فلزی دانسته اند از اینرو کیتوزان آنتی اکسیدان ثانویه به شمار می آید و وجود آنتی اکسیدان توکوفرول به عنوان آنتی اکسیدان اولیه می تواند تقویت کننده ی خاصیت آنتی اکسیدانی این پلیمر باشد. Georgantelis و همکاران (2007b) گزارش کردند که استفاده ی ترکیبی از کیتوزان و آلفا توکوفرول در فرمولاسیون همبرگر گوشت گاو بیش از کاربرد هر یک به طور مجزا، فساد ناشی از اکسایش در نمونه‌های منجمد شده را به تاخیر می اندازد. Duan و همکاران (2010) پس از افزودن ویتامین E در فرم آلفا توکوفرول استات در پوشش خوراکی (پوشش کیتوزان حاوی اسیدهای چرب چند غیر اشباع) برای ماهی کم چرب لینگ کاد، افزایشی در خاصیت آنتی اکسیدانی پوشش مشاهده نکردند. این فرم از ویتامین ای به عنوان نوع مقاوم به اکسایش و فاقد خاصیت آنتی اکسیدانی گزارش شده است (Han et al., 2004).

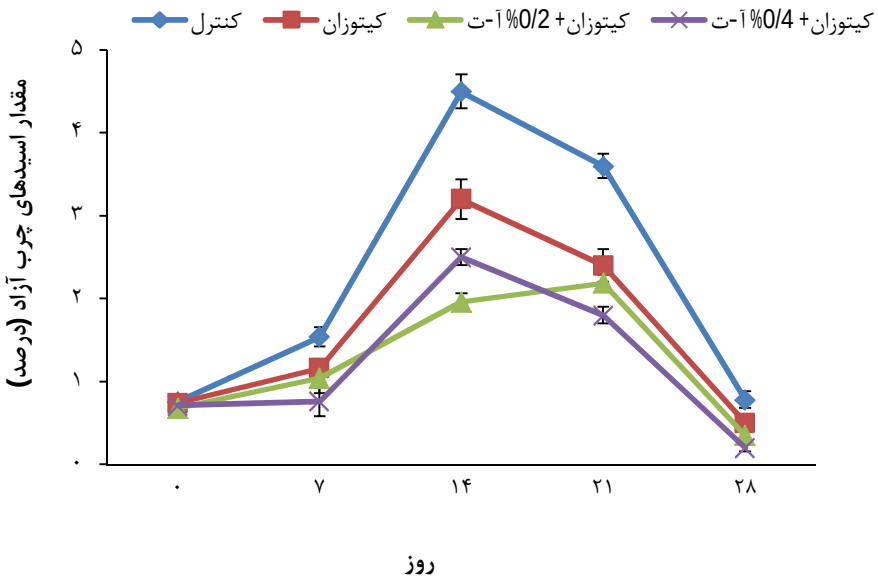



**شکل 3- تاثیر تیمارهای مختلف بر عدد توتوکس در ماهی قزل آلای پرورشی. آ-ت نشان دهنده ی آلفا توکوفرول و تیرک های ترسیم شده نشان دهنده ی خطای استاندارد میانگین داده های اندازه گیری شده است.**

**مقدار اسیدهای چرب آزاد**

مقدار اسیدهای چرب آزاد شاخص مستقیم افت کیفیت محسوب نمی شود اما افزایش مقادیر آن سبب افزایش اکسایش چربی ها و توسعه طعم نامطلوب می‌گردد، چراکه اسیدهای چرب آزاد در مقایسه با اشکال استری بیشتر مستعد به اکسایش هستند (Losada et al., 2007; Lugasia et al., 2007). تغییرات در مقادیر اسیدهای چرب آزاد در شکل 4 نمایش داده شده است. مقادیر اسیدهای چرب آزاد برای نمونه شاهد و دو گروه تیماری کیتوزان و کیتوزان حاوی 0/4 درصد تا روز چهاردهم روند افزایشی و در ادامه ی سرماگذاری تا روز پایانی روند نزولی نشان داد. کاهش در این شاخص در روزهای مذکور می تواند ناشی از افزایش انحلال پذیری اسیدهای چرب آزاد باشد. روند افزایشی در تشکیل اسیدهای چرب آزاد در دوره ی20 روزه از نگهداری در یخ برای ماهی قزل آلای رنگین کمان توسط Rezaei و همکاران (2008) نیز گزارش شده است.

در این پژوهش با افزودن آلفاتوکوفرول در پوشش، مقادیر اسیدهای چرب آزاد موجود در نمونه ها کاهش یافت. به طوری که در روزهای 7، 21 و 28 میانگین اسیدهای چرب آزاد در نمونه های تیمار شده با پوشش کیتوزان حاوی 0/4 درصد از آلفاتوکوفرول به طور معنی داری کمتر از مقادیر این شاخص در نمونه‌های تیمار شده با کیتوزان بود ($p<0/05$). در سال 2010، Pereira-de-Abreu و همکاران گزارش کردند که افزودن ترکیبات آنتی اکسیدان استخراج شده از پوسته ی جو در فیلم های پلی اتیلنی با دانسیته ی پایین اسیدهای چرب آزاد در ماهی سالمون منجمد را کاهش می دهد.




**شکل 4- تاثیر تیمارهای مختلف بر مقدار اسیدهای چرب آزاد در ماهی قزل آلای پرورشی. آ-ت نشان دهنده ی آلفا توکوفرول و تیرک های ترسیم شده نشان دهنده ی خطای استاندارد میانگین داده های اندازه گیری شده است.**

**ساختار اسیدهای چرب**

اسیدهای چرب امگا-6 و امگا-3 اسیدهای چرب غیر اشباع و ضروری هستند که بدن انسان قادر به تولید آن ها نیست دانشمندان تغذیه توصیه می کنند که نسبت دریافت امگا-6 به امگا-3، کمتر از 4 به1 (ترجیحاً 1 به1) باشد (Hoz et al., 2004). این در حالی است که در رژیم غذایی متداول در کشور ما، منابع اسیدهای چرب امگا-6 همچون روغن های گیاهی به اندازه کافی و حتی بیش از نیاز مصرف می‌شوند، از اینرو مصرف ماهی به عنوان منبع امگا-3 باید مورد توجه بیشتری قرار گیرد.

**جدول 1- مقدار اسیدهای چرب (گرم در 100 گرم) در ماهی تازه (ماهی در روز صفر) و ماهی قزل آلای فاقد پوشش (شاهد) و تیمار شده پس از 21 روز نگهداری در دمای 4 درجه سلسیوس**

| اسیدهای چرب | ماهی تازه | شاهد | کیتوزان | کیتوزان - آلفاتوکوفرول 0/2 درصد | کیتوزان - آلفاتوکوفرول 0/4 درصد |
|---|---|---|---|---|---|
| ایکوزاپنتوتنیک اسید (EPA) | 7/172 | 0/99 | 2/617 | 3/886 | 4/304 |
| دوکوزاهگزانوئیک اسید(EPA) | 9/27 | 3/63 | 4/97 | 5/21 | 5/64 |
| مجموع EPA+ DHA | 16/45 | 4/62 | 7/59 | 9/10 | 9/94 |
| نسبت اسید دوکوزاهگزانوئیک به پالمتیک | 0/584 | 0/134 | 0/237 | 0/290 | 0/426 |
| مجموع امگا-3 (Σn3) | 25/69 | 8/40 | 12/24 | 15/12 | 17/19 |
| مجموع امگا-6 (Σn6) | 9/01 | 8/23 | 8/75 | 7/69 | 7/63 |
| نسبت امگا-6 به امگا-3 | 0/35 | 0/98 | 0/71 | 0/51 | 0/44 |

مطابق نتایج جدول 1 نسبت مجموع ایکوزاپنتوتنیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) و همچنین نسبت دوکوزاهگزانوئیک اسید به پالمتیک اسید به عنوان شاخصی از پیشرفت اکسایش (Siskos et al., 2007) در نمونه های پوشش‌دار کاهش کمتری نشان داد. کمترین کاهش در مجموع ایکوزاپنتوتنیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید و مجموع امگا-3 در نمونه های تیمار شده با پوشش و به ویژه با پوشش کیتوزان - 0/4 درصد آلفاتوکوفرول مشاهده گردید. نسبت اسیدهای چرب امگا-6 ($n_6$) به امگا-3 ($n_3$) نیز پس از پوشش دهی ماهی و به ویژه در نمونه های تیمار شده با کیتوزان-آلفاتوکوفرول کاهش یافت. در این مطالعه نسبت اسیدهای چرب امگا-6 به امگا-3 در قزل آلای تازه برابر با 0/36 بود که با نتایج بررسی Kinsella (1988) بر روی ماهی قزل آلای پرورشی همخوانی داشت. بر اساس شاخص نسبت دوکوزاهگزانوئیک اسید به پالمتیک اسید نیز کمترین تغییرات اکسایشی به قزل‌آلای تیمار شده با کیتوزان حاوی 0/4 درصد آلفا توکوفرول اختصاص داشت.

## نتیجه گیری

نتایج حاصل از بررسی شاخص های اولیه و ثانویه اکسایش، اندیس توتوکس، مقادیر اسیدهای چرب آزاد و ساختار اسیدهای چرب نشان می دهد که شدت اکسایش در ماهی قزل آلا با افزودن آنتی اکسیدان طبیعی توکوفرول در فیلم کیتوزان کاهش می یابد، از اینرو پوشش کیتوزان-آلفاتوکوفرول می تواند به منظور حفظ اسیدهای چرب ارزشمند موجود در چربی ماهی و کاهش آسیب لیپیدها طی زمان توزیع و نگهداری ماهی مورد استفاده قرار گیرد.

## منابع


1- صادقی، ن. 1380. پرورش ماهی قزل آلا. انتشارات مهر. 40-39.

2- AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 4th ed., AOCS Press, Champaign, Illinois, 1998.

3- Bligh, E.G. & Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37: 911-917.

4- Darmadji, P.& Izumimoto, M. 1994. Effect of chitosan in meat preservation. Meat Science, 38(2): 243-254.

5- Duan, J., Cherian, G. & Zhao, Y. 2010. Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan coatings. Food Chemistry, 119: 524-532.

6- Egan, H., Kirk, R.S. & Sawyer, R. 1997. Pearson's chemical analysis of food. 9th ed. Harlow, P. 609-634. In Longman Scientific and Technical Inc.

7- Eitenmiller, R.R. & Lee, J. 2004. Vitamin E: food chemistry, composition, and analysis. Marcel Dekker. P. 89.

8- 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.

9- Feng, T., Du, Y., Li, J., Hu, Y. & Kennedy, J.F. 2008. Enhancement of antioxidant activity of chitosan by irradiation. Carbohydrate Polymers, 73(1): 126-32.

10- Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G. & Georgakis, S.A. 2007a. Effect of rosemary extract, chitosan and alpha±-tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. Meat Science, 76(1): 172-181.

11- Georgantelis, D., Blekas, G., Katikou, P., Ambrosiadis, I. & Fletouris, D.J. 2007b. Effect of rosemary extract, chitosan and alphatocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. Meat Science, 75(2): 256-264.

12- Goulas, A.E. & Kontominas, M.G. 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. Food Chemistry, 100(1): 287-296.

13- Guzman, J., Saucedo, I., Revilla, J., Navarro, R. & Guibal, E. 2003. Copper sorption by chitosan in the presence of citrate ions: influence of metal speciation on sorption mechanism and uptake capacities. International Journal of Biological Macromolecules, 33(1-3): 57-65.
14- Han, C., Zhao, Y., Leonard, S.W. & Traber, M.G. 2004. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). Postharvest Biology and Technology, 33(1): 67-78.
15- He, Y. & Shahidi, F. 1997. Antioxidant activity of green tea and tea catechins in fish meat model system. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45(11): 4262-4266.
16- Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., Valle, V.D., Del velez, V. & Gavara, R. 2008. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria ananassa*) quality during refrigerated storage. Food Chemistry, 110: 428-435.
17- Hoz, L., Darrigo, M., Cambero, I. & Ordóńez, J.A. 2004. Development of an n-3 fatty acid and α-tocopherol enriched dry fermented sausage. Meat Science, 67(3): 485-495.
18- Hunter, B.J. & Roberts, D.C.K. 2000. Potential impact of the fat composition of farmed fish on human health. Nutrition Research, 20(7): 1047-1058.
19- Jayakumar, R., New, N., Tokura, S. & Tamura, H. 2007. Sulfated chitin and chitosan as novel biomaterials. International Journal of Biological Macromolecules, 40(3): 175-181.
20- Jeon, Y.I., Kamil, J.Y.V.A. & Shahidi, F. 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 20: 5167–5178.
21- Kamal-Eldin, A. & Appelqvist, L. 1996. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. Lipids, 31: 671–701.
22- Kanatt, S.R., Chander, R. & Sharma, A. 2008. Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. Food Chemistry, 107(2): 845-852
23- Kinsella, J.E. 1988. Fish and seafoods: Nutritional implication and quality issues. Food Technology, 15: 146-150.
24- Kwon, D.Y. & Rhee, J.S. 1986. A simple and rapid colorimetric method for determination of free fatty acids for lipase assay. Journal of the American Oil Chemists' Society, 63: 89-92.
25- Lin, C.C. & Lin, C.S. 2004. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea extracts. Food Chemistry, 16(2): 169-175.
26- Losada, V., Barros-Velazquez, J.P. & Aubourg, S. 2007. Rancidity development in frozen pelagic fish: influence of slurry ice as preliminary chilling treatment. LWT Food Science and Technology Journal, 40: 991-999.
27- Lugasia, A., Losadab, V., Hovari, J., Lebovicsa, V., Jakoczic, I. & Aubourg, S. 2007. Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. LWT Food Science and Technology Journal, 40: 930-936.
28- Martins, J.T., Cerqueira, M.A. & Vicente, A.A. 2012. Influence of a±tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. Food Hydrocolloids, 27: 220-227.
29- Mexis, S.F., Chouliara, E. & Kontominas, M.G. 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.
30- Mielnik, M.B., Aaby, K. & Skrede, G. 2003. Commercial antioxidants control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat. Meat Science, 65(3): 1147-1155.
31- O´Sullivan, A., Mayr, A., Shaw, N.B., Murphy, S.C. & Kerry, J.P. 2005. Use of natural antioxidants to stabilize fish oil systems. Journal of Aquatic Food Product Technology, 14: 75–94.
32- 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.
33- Pereira de Abreu, D.A., Losada, P.P., Maroto, J. & Cruz, J.M. 2010. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L). Food Research International, 43(5): 1277-1282.
34- Pettersen, J. 1994. Chemiluminescence of fish oils and its flavour quality. Journal of the Science of Food Agricultur, 65: 307–313.

35- Rezaei, M., Hosseini, S.F., Langrudi, H.E., Safari, R. & Hosseini, S.V. 2008. Effect of delayed icing on quality changes of iced rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). Food Chemistry, 106: 1161-1165.
36- Sakanaka, S., Tachibana, Y. & Okada, Y. 2005. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (Kakinoha-cha). Food Chemistry, 89(4): 569-575.
37- Siskos, I., Zotos, A., Melidou, S. & Tsikritzi, R. 2007. The effect of liquid smoking of fillets of trout (*Salmo gairdnerii*) on sensory, microbiological and chemical changes during chilled storage. Food Chemistry, 101(2): 458-464.
38- Vásconez, M.B., Flores, S.K., Campos, C.A., Alvarado, J. & Gerschenson, L.N. 2009. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings. Food Research International, 42(7): 762-769.
39- Vicetti, R., Ishitani, T., Salas, A. & Ayala, M. 2005. Use of alpha-tocopherol combined with synergists and compared to other antioxidants on the oxidative stability of sardine skin lipids. Journal of Food Composition and Analysis, 18(2-3): 131-137.
40- Viscidi, K.A., Dougherty, M.P., Briggs, J. & Camire, M.E. 2004. Complex phenolic compounds reduce lipid oxidation in extruded oat cereals. LWT-Food Science and Technology, 37(7): 789-796.
41- Whang, K., Aberle, E.D., Judge, M.D. & Peng, I.C. 1986. Antioxidative activity of a±tocopherol in cooked and uncooked ground pork. Meat Science, 17: 235-249.
42- Yuki, E. & Ishikawa, Y. 1976. Tocopherol content of nine vegetable frying oils and their changes under stimulated deep-frying conditions. Journal of American Oil Chemists Society, 53: 376–673.
43- Zuta, P.C., Simpson, B.K., Zhao, X. & Leclerc, L. 2007. The effect of a±tocopherol on the oxidation of mackerel oil. Food Chemistry, 100(2): 800-807.

# The effect of chitosan coating that enriched with α-tocopherol on lipid oxidation in farmed trout (*oncorhynchus mykiss)* during refrigerated storage

**H. Tolouie[1], J. Mohtadi Niya[2], S.R. Arefhosseini[3*], M. Asghari Jafarabadi[4]**

1- MSc graduated student, Department of Food Science and Technology, Tabriz University of Medical Sciences
2- Associated professor, Department of Nutrition, Tabriz University of Medical Sciences
3- Assistant professor, Department of Nutritional Research Center, Tabriz University of Medical Sciences
* Corresponding author (srarefhosseini@gmail.com)
4- Assistant professor, Department of Biostatistics, Tabriz University of Medical Sciences

**Abstract**
Omega-3 fatty acid is used in daily healthy diet and plays an important role in prevention of disease. Being a considerably main source of Omega-3 fatty acid groups, fish preservation against oil oxidation and any other similar causatives seems quite necessary. In this study chitosan coated alpha tocopherol antioxidant was used in order to reduce oxidation corruption rate in farmed trout flesh. To meet the purpose a 2% Chitosan solution and chitosan enriched with alpha tocopherol in two concentrations (0.2% and 0.4%) were prepared for coating the trout samples. Samples were stored in fridge for 28 days and were tested every 7 days in terms of (PV), (AV), (TV) and (FFA) indexes. Fatty acid profile also determined by Gas chromatography assay in the fresh fish oil and after 3 weeks at the refrigerated FFA storage samples. Analytical results revealed that in comparison to the control samples, fewer changes were occurred in PV, AV, TV and FFA, proportion of n3 polyunsaturated fatty acids and C22:6 $n_3$/C16:0 ratio between chitosan and chitosan-alpha tocopherol treated samples during the storage time. There were significant differences between treatment with chitosan and chitosan-alpha tocopherol in trout samples ($p < 0.05$). Minimum oxidative changes were observed in 0.4% Chitosan alpha tocopherol treated samples.

**Keywords:** Chitosan; Oxidation; α-Tocopherol; Trout