نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ٦٦، شماره ۱، بهار ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۲/٤
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۷/۱۷

استفاده از عصارهٔ جلبک قهوه‌ای سارگاسوم (*Sargassum angustifolium*) به‌منزلهٔ آنتی‌اکسیدان در نگهداری گوشت چرخ‌شدهٔ ماهی کیلکای معمولی (*Clupeonella cultiventris*) در یخچال

آریا باباخانی لشکان؛ گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکدهٔ علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
مسعود رضائی*؛ گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکدهٔ علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
کرامت ا... رضایی؛ گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکدهٔ بیوسیستم، دانشگاه تهران، کرج، ایران
سیدجعفر سیف‌آبادی؛ گروه بیولوژی دریا، دانشکدهٔ علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی امکان استفاده از عصاره‌های جلبکی، به‌منزلهٔ آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، در گوشت چرخ‌شدهٔ ماهی کیلکای معمولی انجام شد. گوشت چرخ‌شده شامل تیمارهایی با دو غلظت ppm ۳۰۰ و ppm ٦۰۰ از عصاره‌های آبی استخراج‌شده با مایکروویو و یک تیمار حاوی ۰/۵ درصد اسید اسکوربیک و یک تیمار شاهد بدون استفاده از هیچ افزودنی بود. نمونه‌ها به مدت ۸ روز در دمای یخچال (٤ درجهٔ سلسیوس) نگهداری شدند و نمونه‌برداری در روزهای صفر، ۲، ٤، ٦ و ۸ انجام شد. نتایج میزان پراکسید[1]، اسیدهای چرب آزاد[2]، تیوباربیتوریک اسید[3] و ترکیب اسیدهای چرب نمونه‌ها نشان داد که نمونه‌های حاوی عصارهٔ جلبکی و غلظت ppm ۳۰۰ به فساد اکسیداسیونی کمتری نسبت به سایر تیمارها دچار شدند ($P<0.05$). نتایج نشان داد که این جلبک گونهٔ مناسبی برای استفاده به‌منزلهٔ نگهدارندهٔ طبیعی است.

واژگان کلیدی: استخراج، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، اکسیداسیون چربی، جلبک‌های دریایی، ماهی کیلکا.

* نویسنده مسئول تلفن: ۰۹۱۱۱۲۵۲۱۵۹
E. mail: rezai_ma@modares.ac.ir

1. Peroxide Value (PV)
2. Free fatty acids (FFA)
3. Thiobarbituric acid (TBA)

۱. مقدمه

ماهیان حاوی مقادیر بالایی از اسیدهای چرب امگا ۳ مثل ایکوزاپنتاانوئیک اسید و دوکوزاهگزاانوئیک اسید هستند. مصرف این اسیدهای چرب در توسعه و رشد مغز کودک و جلوگیری از بیماری‌های قلبی و برخی از سرطان‌ها مؤثر است (Shahidi and Miraliakbari, 2004; Shahidi and Miraliakbari, 2005). از طرفی، وجود چربی‌های غیر اشباع زیاد، میوگلوبین‌ها و آنزیم‌های گوشت ماهی سبب تشدید اکسیداسیون می‌شود (Hultin, 1994). افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها در مراحل فراوری را می‌توان استراتژی موفقی برای جلوگیری از فساد در فیله و ماهیان چرخ‌شده به شمار آورد (Kellehr *et al.,* 1994; Richards *et al.,* 1998)، اما استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی دارای محدودیت‌هایی بهداشتی است که محققان را بر آن داشته است تا به دنبال آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برای جانشینی با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی باشند (Shahidi, 2008؛ Gordon, 1996). دربارهٔ آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی که از رزماری (Kahkonen *et al*., 1999)، مریم گلی (Lu and Yeap Foo, 2001)، عصارهٔ چای سبز (Khokhar and Magnusdottir, 2002; Wansundara and Shahidi, 1998)، انگور (Pazos *et al.,* 2005)، شنبلیله (Hettirachchy *et al*., 1996) و برخی دیگر از منابع گیاهی استخراج شده‌اند و دربارهٔ کاربردهای آنها در سیستم‌های غذایی مطالعات زیادی انجام شده است. علاوه بر آن، به جلبک‌های دریایی نیز به‌منزلهٔ آنتی‌اکسیدان‌ها توجه شده است. تحقیقات نشان داده است که ماکروجلبک‌های دریایی منبع غنی آنتی‌اکسیدان‌های مختلف مثل پلی‌فنول‌اند که می‌توانند نقش مهمی در پیشگیری از اکسیداسیون داشته باشند. فنول‌ها گروه مهمی از ترکیبات طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی و دیگر خواص بیولوژیکی‌اند (Onofrejova *et al.,* 2010). خاصیت آنتی‌اکسیدان‌های چند کاربردی پلی‌فنول‌ها به حلقه‌های فنولی، که الکترون‌ها را جذب می‌کنند، و ازبین‌بردن پروکسی، آنیون سوپر اکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل مربوط است. با توجه به خواص چند کاربردی گزارش‌شده از عصارهٔ جلبک‌های دریایی، بهره‌برداری از آن به‌منزلهٔ یک منبع طبیعی آنتی‌اکسیدانی در سیستم‌های غذایی کمپلکس مثل گوشت ماهی بسیار حائز اهمیت است (Wang *et al.,* 2009).

یکی از روش‌های بررسی قدرت و مکانیسم تأثیرات آنتی‌اکسیدان‌ها کاربرد آنها در سیستم‌های مدل غذایی است. سیستم‌های مدل برای استفاده در تحقیقات پرواکسیدان و آنتی‌اکسیدان‌ها بر اساس واقعی‌بودن و در عین حال، ساده‌بودن آنها انتخاب می‌شوند. در این سیستم‌ها سوبسترای اکسیداسیون، ماتریکس دربرگیرنده و شرایط نگهداری می‌بایست تا حد امکان به سیستم واقعی شبیه باشد. با این حال سیستم می‌بایست ساده هم باشد تا بتوان دربارهٔ مکانیسم‌های تأثیرات پرو و آنتی‌اکسیدان‌ها بحث کرد. در تحقیقات دربارهٔ غذاهای دریایی نمونه‌هایی از مدل‌ها مانند روغن ماهی، امولسیون، سیستم‌های میسلی (مانند اسید لینولئیک)، ساختارهای دو لایهٔ ایزوله‌شده (میکروزوم‌های ماهی، لیپوزوم‌های فسفولیپیدی دریایی) و گوشت چرخ‌شدهٔ ماهی (شسته‌شده یا شسته‌نشده) استفاده می‌شوند (Larsson *et al*., 2007).

ماهی کیلکای معمولی دریای خزر از گونه‌های مهم دریای خزر محسوب می‌شود که دارای ارزش‌های تغذیه‌ای و اکولوژیکی بالایی است (Mamedov, 2006). متأسفانه به دلایل مختلف از پتانسیل این ماهی به نحو مطلوب استفاده نشده و بیشترین کاربرد آن به‌منزلهٔ مادهٔ اولیه کارخانه‌های تولید خوراک دام و طیور است. یکی از مشکلات اصلی این ماهی فساد اکسیداسیونی بسیار سریع آن است، که بررسی دلایل این امر و راهکارهای کاهش آن می‌تواند در حل این معضل مؤثر باشد. هدف از این تحقیق استفاده از عصاره‌های جلبک سارگاسوم استخراج‌شده با مایکروویو به منظور تعیین کارامدی آنها، برای پیشگیری از اکسیداسیون چربی در گوشت چرخ‌کردهٔ ماهی کیلکای معمولی دریای خزر به‌منزلهٔ مدل، است.

۲. مواد و روش کار

۱.۲. عصاره‌گیری

نمونه‌های جلبک از منطقهٔ ساحلی شهرستان بوشهر در آذر سال ۱۳۸۹ جمع‌آوری شدند. شست‌وشوی نمونه‌ها نخست، با آب دریا سپس، با آب شیرین صورت پذیرفت و گل‌ولای و اپی‌فیت‌های متصل به آنها نیز زدوده شدند. سپس، نمونه‌ها در سایه و در دمای ١٤–١٦ درجهٔ سلسیوس به مدت ۱۰ روز خشک شدند. نمونه‌های خشک‌شده با خردکن (مولینکس، AR۱۰، ساخت فرانسه) به صورت پودر درآورده شدند. سپس، ۵ گرم از پودر در ظرف مرتبط با استخراج ریخته شد. با توجه به نسبت حلال به جلبک (۲۰ به ۱)، به نمونه‌ها ۱۰۰ میلی‌لیتر آب افزوده شد. استخراج با روش مایکروویو (Golmakani and Rezaei, 2008) انجام شد. ظرف حاوی نمونه‌ها از بالا به یک مبرد آبی متصل شد تا بخارهای متصاعدشده از عصاره پس از میعان در اثر برخورد با دیوارهٔ خنک مبرد، مجدداً به داخل ظرف اصلی بازگردد. مدت زمان استخراج ۳۰ دقیقه بود. پس از اتمام زمان استخراج، عصاره‌ها با کاغذ صافی (واتمن ٤) فیلتر و تا هنگام آزمایش‌ها (حداکثر ٢٤ ساعت) در ظروف شیشه‌ای تیره و در دمای ٤ درجهٔ سلسیوس قرار داده شدند.

۲.۲. آماده‌سازی نمونه

ماهی کیلکای معمولی صیدشده از بندر بابلسر با جعبه‌های یونولیت حاوی یخ (با نسبت یخ به ماهی ۳ به ۱) به دانشکدهٔ منابع طبیعی و علوم دریایی مدرس (شهرستان نور، استان مازندران) انتقال یافت. پس از شست‌وشو و سر و دم‌زنی، شکم نمونه‌ها خالی شد و به همراه پوست و استخوان با دستگاه چرخ‌گوشت (مدل سایا، ساخت ایران)، چرخ شدند. نمونه‌های چرخ‌شده در ظرف‌های جدا ریخته شدند و عصاره‌های جلبکی با غلظت‌های ۳۰۰ ppm و ٦٠٠ ppm به آنها افزوده و مجدداً هموژن شد. یک تیمار شاهد بدون افزودنی و یک تیمار شاهد حاوی ۰/۵درصد اسید اسکوربیک برای آزمایش در نظر گرفته شد. عصاره‌ها و اسید اسکوربیک در میزان معین آب مقطر (نسبت حجمی آب به گوشت چرخ‌شده: ۱ به ۱۰) حل شدند و در تیمار فاقد افزودنی نیز به میزان مشابه سایر تیمارها به نمونه‌ها آب مقطر افزوده شد (Maqsood *et al.*, 2010). سپس، نمونه‌ها در ظروف پلی‌اتیلنی دردار قرار گرفتند و برای آنالیزهای اکسیداسیونی به مدت ۸ روز در دمای یخچال (٤ درجهٔ سلسیوس) نگهداری شدند. آنالیزها در روزهای صفر، ۲، ٤، ٦ و ۸ انجام شد. در انجام‌دادن آزمایش‌های شیمیایی برای اندازه‌گیری شاخص پراکسید (PV)، اسیدهای چرب آزاد (FFA) و تیوباربیتوریک اسید (TBA) از روش Egan و همکاران (1997) استفاده شد.

۳.۲. شناسایی اسیدهای چرب

نخست، روغن ماهی کیلکا با حلال کلروفرم و متانول (نسبت ۱ به ۱) استخراج شد (Folch *et al*., 1951) سپس، نمونه‌ها استری[1] شدند (Metcalfe *et al*., 1961) و در ویال‌های ۱ میلی‌لیتری قرار گرفتند و تا هنگام انجام‌دادن تعیین ترکیب اسیدهای چرب در دمای ۸۰– درجهٔ سلسیوس نگهداری شدند. برای بررسی و شناسایی اسیدهای چرب موجود در نمونه از دستگاه گاز کروماتوگرافی[2] مدل Varian CP–۳۸۰۰ مجهز به ستون کاپیلاری از نوع (120 m× 0.25 mm SGE BPX70) و ردیاب یونیزاسیون شعله‌ای (FID) استفاده شد. دمای آشکارساز و محل تزریق به ترتیب بر روی ۲۳۰ و ۲٦٠ درجهٔ سلسیوس تنظیم شد. یک میکرولیتر از نمونهٔ استری با استفاده از سرنگ میکرولیتری به دستگاه گاز کروماتوگراف تزریق شد. دمای اولیهٔ ستون روی ١٦٠ درجهٔ سلسیوس تنظیم شد. بعد از مدت ۱۰ دقیقه، دمای ستون با میزان افزایش ۲ درجهٔ سلسیوس

1. Sterification
2. Gas chromatography

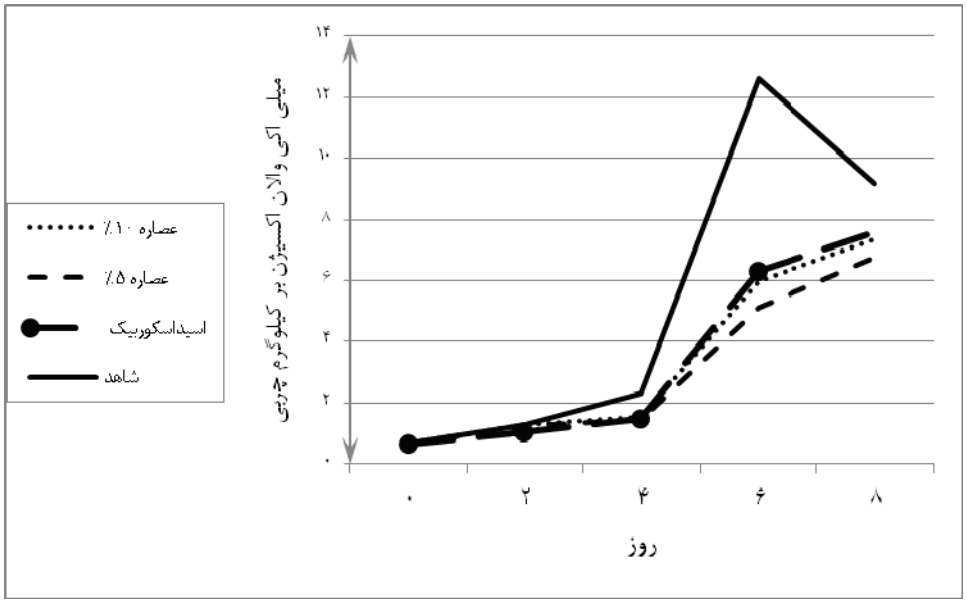
در دقیقه به دمای ۱۸۰ درجه رسانده شد. به مدت ۸۵ دقیقه دما در این درجه باقی ماند. در این روش از گاز هلیم (با خلوص ۹۹/۹۹ درصد) به‌منزلهٔ گاز حامل، از گاز هیدروژن به‌منزلهٔ سوخت و از ازت (با خلوص ۹۹/۹۹ درصد) به‌منزلهٔ گاز کمکی و هوای خشک استفاده شد. کل دورهٔ بازداری پیک‌ها ۴۳ دقیقه بود. با مقایسهٔ پیک‌های استاندارد تزریق‌شده و پیک‌های نمونه به صورت خودکار، با استفاده از نرم‌افزار Star Varian, (Chromatography Worksatation) ، نوع و میزان هر اسید چرب به صورت درصد سطح زیر پیک هر اسید چرب به کل اسیدهای چرب موجود در نمونه بیان شد.

۳. تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۵ تجزیه و تحلیل شدند. برای بررسی نرمال‌بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف–اسمیرنوف و برای بررسی همگنی از آزمون Leven استفاده شد. برای مقایسهٔ کلی پارامترهای اکسیداسیون چربی همچنین، اسیدهای چرب از آزمون تجزیهٔ واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و برای مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون دانکن (در سطح ۵ درصد) و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel ۲۰۰۷ استفاده شد.

٤. نتایج و بحث

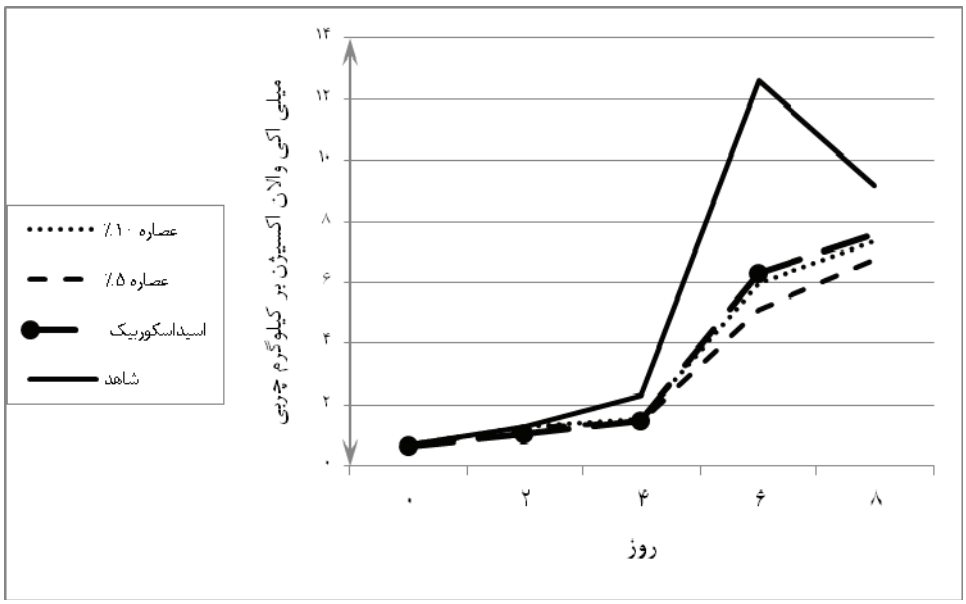
یکی از راه‌های مناسب و کارامد در بررسی روند اکسیداسیون چربی در گوشت ماهی استفاده از گوشت چرخ‌شده، به صورت شسته‌شده یا شسته‌نشده، به‌منزلهٔ مدل اکسیداسیون، است. از مزایای استفاده از گوشت چرخ‌شدهٔ شسته‌نشده به شسته‌شده، حصول نتایج واقعی اثر آنتی‌اکسیدان‌ها و پروکسیدان‌ها، به‌منزلهٔ عوامل خارجی مؤثر، در گوشت ماهی است (Larsson *et al.*, 2007). هیدرو پراکسیدها ترکیبات واسطه‌ای‌اند که به ترکیبات ثانویهٔ اکسیداسیون تبدیل می‌شوند (Undeland *et al*., 1999) یا با پروتئین‌ها، رنگدانه‌ها و سایر ترکیبات گوشت ماهی واکنش می‌دهند و سبب تولید بوی نامطبوع و ازبین‌رفتن رنگ گوشت می‌شوند (Li *et al*.,1998). در این تحقیق، میزان پراکسید گوشت چرخ‌شدهٔ ماهی کیلکا در روز



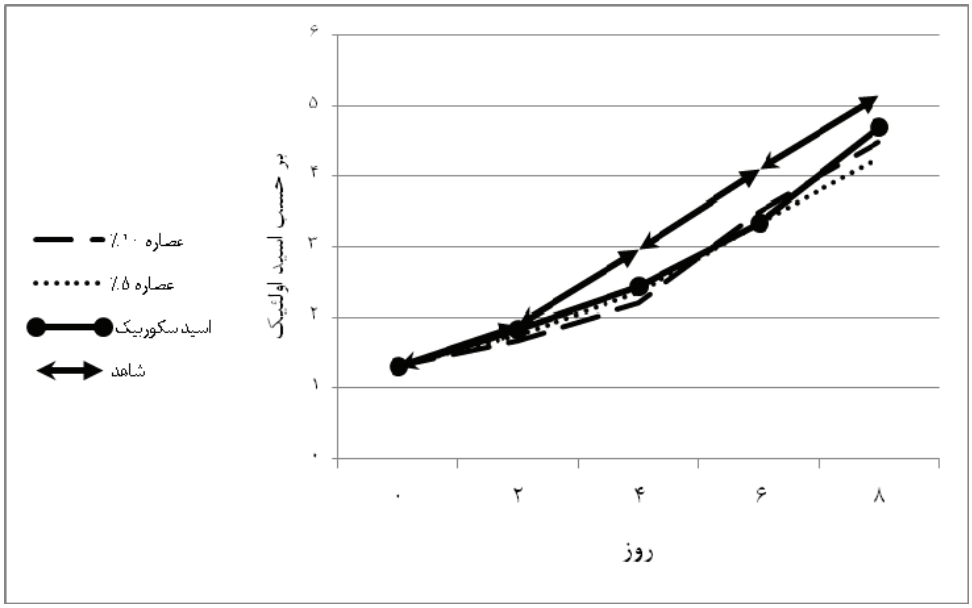
شکل ۱. میزان شاخص پراکسید (میلی اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی) گوشت چرخ‌شدهٔ

صفر حدود ۰/٦٦ (میلی اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی) بود (شکل ۱). با افزایش روزهای نگهداری این میزان روندی افزایشی داشت و بین تیمارهای مختلف اختلاف‌هایی در میزان پراکسید مشاهده شد. هر چند در روزهای اولیهٔ نگهداری این اختلاف معنی‌دار نبود (۰/۰۵)، پس از روز چهارم نگهداری روند افزایشی شدت بیشتری یافت و در روز ششم در بیشتر تیمارها به بالاترین حد خود رسید. میزان پراکسید در تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت و تیمار عصارهٔ ppm ۳۰۰ به طور معنی‌داری از سایر تیمارها کمتر بود (۰/۰۵). در ادامه، تیمار شاهد در روز ششم نگهداری دارای بالاترین میزان پراکسید در بین تیمارها بود و تیمارهای حاوی عصاره‌های ppm ۳۰۰ و ppm ٦۰۰ دارای کمترین میزان پراکسید در بین سایر تیمارها بودند. میزان پراکسید در تیمار ppm ۳۰۰ از ppm ٦۰۰ کمتر بود که نشان می‌دهد با افزایش غلظت عصاره در این تیمارها تأثیرات آنتی‌اکسیدانی کمتر شده است. در مطالعه‌ای که روی تأثیر عصاره‌های مختلف مستخرج پوست سیب‌زمینی با غلظت‌های متفاوت در جلوگیری از فساد پروتئین و چربی گوشت چرخ‌کردهٔ ماهی ماکرل انجام شد، عصارهٔ آبی پوست سیب‌زمینی نیز در غلظت‌های بالاتر دارای خواص پروکسیدانی بود (Farvin et al., 2012). در مطالعهٔ Alghazeer و همکاران (2008) نیز از بین دو غلظت ppm ۲۰۰ و ppm ۵۰۰ عصارهٔ چای استفاده‌شده در نگهداری ماهی ماکرل منجمد، نمونه‌های حاوی عصاره‌های کمتر دارای قدرت بیشتر جلوگیری از اکسیداسیون بودند. استفادهٔ بیش از حد از رزماری نیز باعث تولید رادیکال‌های آزاد آنتی‌اکسیدانی می‌شود که به شکل یک پروکسیدان عمل می‌کند (Halliwell and Chirico, 1993). محققان دیگر نیز غلظت‌های بالای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را دارای قدرت پروکسیدانی دانستند (Honglian and Etsuo, 2001; Sakardei and Howell, 2008). در روز آخر نگهداری در تیمار شاهد کاهش در میزان پراکسید مشاهده شد. این کاهش به علت تجزیهٔ سریع هیدرو پراکسیدها به ترکیبات ثانویهٔ اکسیداسیون بود که محققان دیگر نیز در برخی از مطالعات به آن اشاره کرده بودند (Undeland *et al*., 2001). از سرعت افزایش PV از روز ششم به بعد در اکثر تیمارها کاسته شد. بر اساس گزارش Warner و همکاران (1989) میزان پراکسید بین ۳-۵ میلی اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی در روغن‌های آفتاب‌گردان، سویا و کلزا نشان‌دهندهٔ اکسیداسیون کم، ۱۰-۱۲ متوسط و ۱٦-۱۸ اکسیداسیون شدید است. میزان مجاز پراکسید ماهی برای مصرف انسانی ۵ است (Yanar, 2007). در روز ششم میزان پراکسید همهٔ تیمارها از ۵ گذشت، ولی تیمار حاوی عصارهٔ با غلظت ppm ۳۰۰ حدود ۵/۱ بود و بقیهٔ تیمارها افزایش بیشتری داشتند. در این روز تیمار شاهد (۱۲/٦۳) به بالاترین حد در بین کل تیمارها و در کل دوره رسید. پلی‌فنول‌ها توانایی به دام‌انداختن رادیکال‌های آزاد را دارند، خصوصاً رادیکال‌های پروکسی که یکی از کلیدی‌ترین واکنش‌دهنده‌های زنجیرهٔ میانی‌اند، در نتیجه باعث خاتمه‌دادن چرخهٔ واکنش‌های فساد اکسیداسیونی می‌شوند (Shahidi and Naczk, 2004). ترکیبات فنولی می‌توانند به‌راحتی یک اتم هیدروژن را به رادیکال‌های پروکسیل چربی انتقال دهند و رادیکال‌های پایدار فنوکسیل و هیدرو پرکسیدهای سیس و ترانس چربی را که کم‌اثرترند تولید کنند. همچنین، مشخص شده است که ترکیبات فنولی می‌توانند رادیکال‌های پروکسیل چربی را با انتقال الکترون منفرد بی‌اثر کنند (Qu et al., 2002).

ترکیب سه کربنهٔ مالون دی آلدئید (MDA) مهم‌ترین کربونیل تولیدشده از اتوکسیداسیون چربی‌های با زنجیره‌های بلند چنداشباعی است (Tamura *et al*., 1991). اندازه‌گیری میزان TBA بر اساس واکنش یک مولکول مالون دی آلدئید و دو مولکول TBA است که باعث ایجاد رنگ صورتی می‌شود و با روش اسپکتروفتومتری سنجیده می‌شود (Giera et al., 2012). در فراوری ماهیان پرچرب، میزان ترکیبات ثانویهٔ اکسیداسیون تا هنگامی‌که هیدرو پراکسیدها وجود دارند رو به افزایش است. میزان TBA در روز صفر



شکل ۲. تغییرات میزان TBA در گوشت چرخ‌شدهٔ ماهی کیلکای معمولی (Clupeonella cultiventris) حاوی عصاره‌های جلبک سارگاسوم (Sargassum angustifolium) در غلظت‌های ppm ۳۰۰ و ppm ۶۰۰ و تیمارهای حاوی اسید اسکوربیک و شاهد (فاقد افزودنی) (n=۳)



شکل ۳. تغییرات اسیدهای چرب آزاد در گوشت چرخ‌شدهٔ ماهی کیلکای معمولی (Clupeonella cultiventris) حاوی عصاره‌های جلبک سارگاسوم (Sargassum angustifolium) در غلظت‌های ppm ۳۰۰ و ppm ۶۰۰ و تیمارهای حاوی اسید اسکوربیک و شاهد (فاقد افزودنی) (n=۳)

۰/۰٤٤ میلی‌گرم مالون دی آلدئید بود (شکل ۲) و پس از گذشت دو روز به ۰/۰٦۲ در تیمار شاهد رسید. در روز دوم کمترین میزان تیوباربیتوریک در عصارهٔ ppm ۳۰۰ مشاهده شد. در روز چهارم نیز بیشترین میزان تیوباربیتوریک اسید در تیمار شاهد و کمترین میزان در تیمار ppm ۳۰۰ مشاهده شد. در روزهای ششم و هشتم نیز بیشترین میزان تیوباربیتوریک در بین تیمارها در تیمار شاهد مشاهده شد (P<۰,۰۵). میزان مجاز این شاخص برای ماهی ۲ میلی‌گرم مالون دی آلدئید است (Connell, 1990)، که نمونهٔ شاهد در روز ششم و بقیهٔ تیمارها در روز هشتم از این حد مجاز گذشتند. همان طور که در بخش اکسیداسیون اولیه ذکر شد، میزان بیش از حد ترکیبات فنولی می‌تواند تأثیرات پروکسیدانی داشته باشد (Howell, 2008 Honglian and Etsuo, 2001; Sakardei and). از طرف دیگر، استفادهٔ بیش از حد از ترکیبات فنولی، به‌منزلهٔ نگهدارنده، حتی در سلول‌های انسانی تأثیرات نامطلوبی می‌گذارد (Chen et al., 2002; John and Razat, 2005). به همین علت، انتخاب غلظت مناسب عصاره‌های حاوی ترکیبات فنولی به منظور حفظ سلامتی نیز لازم است.

ماهی‌ها به علت داشتن میزان اسیدهای بلندزنجیره به لیپولیز همچنین، اکسیداسیون حساس‌اند (Aryee *et al*., 2009). وجود FFA در روغن‌ها و چربی‌ها سبب بروز بوهای نامطبوع و تغییرات در بافت‌ها می‌شود (Barthet *et al*., 2008). میزان FFA در روز صفر، ۱/۳۱٦ بر حسب اسید اولئیک بود (شکل ۳). در روز دوم میزان اسیدهای چرب آزاد در تیمار شاهد به طور معنی‌داری افزایش داشت و کمترین میزان در گوشت چرخ‌شدهٔ حاوی ppm ٦۰۰ عصاره گزارش شد. در ادامه، همهٔ تیمارها روند افزایشی در میزان FFA داشتند. محققان دیگر نیز گزارش کرده‌اند که طی زمان نگهداری میزان FFA افزایش پیدا می‌کند و ارتباط مستقیمی بین کاهش تازگی ماهی و افزایش میزان FFA برقرار است (Ozogul, 2005). این روند تا حدودی با یک شیب برابر در روزهای مختلف ادامه یافت و بیشترین تغییرات در تیمار شاهد مشاهده شد. تیمار شاهد دارای اسیدهای چرب آزاد بالا در مقایسه با سایر تیمارها بود، ولی تیمار گوشت چرخ‌شدهٔ حاوی عصارهٔ ppm ۳۰۰ با کمترین میزان FFA در بین تیمارها شناخته شد (۰/۰۵).

نتایج آنالیز و شناسایی اسیدهای چرب چرخ‌شدهٔ ماهی کیلکای معمولی تحت تیمارهای مختلف نگهدارنده‌های استخراج‌شده از جلبک سارگاسوم در جدول ۱ آورده شده است.

کیفیت و میزان اسیدهای چرب ماهی با شاخص‌های مختلفی بررسی می‌شود. یکی از مهم‌ترین شاخص‌های کیفی اسیدهای چرب ماهی، میزان ایکوزاپنتاانوئیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزاانوئیک (DHA) اسید است. اهمیت این شاخص به خواص دارویی و سلامتی‌بخش آنها مرتبط است (Sidhu, 2003). کیلکای معمولی با داشتن میزان بالای (EPA+DHA)، ۲۱/۰۷ درصد، یکی از ماهیان مناسب از نظر این فاکتور تغذیه‌ای محسوب می‌شود. از طرفی این اسیدهای چرب نسبت به سایر اسیدها به اکسیداسیون حساس‌ترند و معمولاً میزان آنها طی فرایندهای مختلف نگهداری و فراوری‌های گوناگون کاهش پیدا می‌کند (Candela *et al*., 1998; Sant' ana et al., 2000; Tarely *et al*., 2004).

طی دورهٔ نگهداری در یخچال، بیشترین کاهش در میزان این اسیدهای چرب در گوشت چرخ‌شدهٔ شاهد و کمترین کاهش در کیلکای چرخ‌شدهٔ حاوی عصارهٔ ppm ۳۰۰ مشاهده شد و پس از آن، کیلکای چرخ‌شدهٔ حاوی عصارهٔ ppm ٦۰۰ از وضعیت بهتری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بود.

نسبت n-۳/n-٦ به‌منزلهٔ یک شاخص زیست‌دارویی (بیومدیکال) استفاده می‌شود (Yanar *et al*., ۲۰۰۷). اسیدهای چرب مهم گروه n-۳ شامل اسید لینولنیک (C۱۸:۳)، اسید ایکوزاپنتاانوئیک (C۲۰:۵) و اسید دوکوزاهگزاانوئیک (C۲۲:٦) و اسیدهای چرب مهم گروه n-٦ نیز شامل اسید لینولئیک (C۱۸:۲) و اسید آراشیدونیک (C۲۰:٤) هستند (Belitz and Grosch, 1999). میزان n-۳/n-٦ از ۱:۱ تا ۵:۱ در غذاهای

جدول ۱. اسیدهای چرب گوشت چرخ‌شدهٔ ماهی کیلکای معمولی (Clupeonella cultiventris)
در روز صفر و ۸ نگهداری حاوی عصاره‌های جلبک سارگاسوم (Sargassum angustifolium)
در غلظت‌های ppm ۳۰۰ و ppm ۶۰۰ و تیمارهای حاوی اسید اسکوربیک و شاهد (فاقد افزودنی) (n=۳)

اسیدهای چرب	روز صفر	اسکوربیک روز ۸	شاهد روز ۸	عصارهٔ روز ۸	
				۶۰۰ppm	۳۰۰ ppm
اسید پنتادکانوئیک (C15:0)	۰	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱
اسید پالمیتیک (C16:0)	۲۰/۰۶	۲۱/۰۰	۲۰/۲۳	۲۱/۲۷	۲۱/۴۸
اسید پالمیتولئیک (C16:1)	۵/۶۳	۸/۲۵	۸/۸۷	۷/۲۶	۷/۲۴
اسید هپتادکانوئیک (C17:0)	۰/۹۱	۱/۴۲	۱/۶۱	۱/۳۶	۱/۳۵
اسید هپتادکنوئیک (C17:1)	۰/۱۳	۰/۲۳	۰/۱۱	۰/۲۱	۰/۱۷
اسید اولئیک (C18:1n9)	۲۸/۵۳	۳۳/۱۲	۳۳/۷۲	۳۲/۵۰	۳۲/۲۳
اسید لینولئیک (C18:2n6)	۳/۲۴	۴/۱۲	۵/۹۵	۳/۸۱	۳/۷۷
اسید گامالینولئیک (C18:3n6)	۲/۰۵	۱/۹۹	۲/۳۹	۲/۱۰	۲/۱۹
اسید ایکوزنویک (C20:1)	۰/۱۸	۰	۰	۰/۲۱	۰/۲۳
اسید آلفالینولنیک (C18:3n3)	۲/۱۴	۲/۵۹	۲/۵۹	۲/۵۵	۲/۵۴
اسید ایکوزادی‌انوئیک (C20:2)	۰/۳۶	۰/۲۵	۰/۲۳	۰/۲۷	۰/۲۸
اسید بهنیک (C22:0)	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۰۴	۰/۰۷	۰/۰۶
اسید ایکوزاتری‌انوئیک (C20:3n6)	۰/۴۳	۰/۵۴	۰/۴۵	۰/۵۰	۰/۵۱
دی هوموگامالینولنیک (C20:3n3)	۰/۳۱	۰/۰۹	۰/۰۵	۰/۱۳	۰/۱۷
اسید آراشیدونیک (C20:4n6)	۰/۱۶	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۱۲	۰/۱۲
اسید ایکوزاپنتاانوئیک (C20:5n3)	۵/۷۴	۵/۸۵	۵/۳۵	۵/۶۷	۵/۷۴
اسید تتراکوزنوئیک (C24:1)	۰/۶۴	۰/۲۶	۰/۱۹	۰/۳۱	۰/۲۸
اسید دوکوزاهگزاانوئیک (C22:6n3)	۱۵/۳۳	۱۲/۱۶	۱۰/۵۶	۱۲/۹۷	۱۳/۴۰
اسیدهای چرب اشباع‌شده (SFA)	۲۱/۰۴	۲۲/۴۸	۲۱/۸۹	۲۲/۷۱	۲۲/۹۰
اسیدهای چرب تک غیراشباع (MUFA)	۳۵/۱۲	۴۱/۸۷	۴۲/۸۹	۴۰/۴۹	۴۰/۱۵
اسیدهای چند غیراشباع (PUFA)	۲۹/۳۹a	۲۷/۴۱ ab	۲۷/۳۹ ab	۲۷/۸۵ ab	۲۸/۴۴ ab
اسیدهای چرب n3	۲۳/۵۲ a	۲۰/۷۰ bc	۱۸/۵۵ e	۲۱/ ۳۲ bc	۲۱/۸۵ ab
اسیدهای چرب n6	۵/۸۸	۶/۷۲	۸/۸۳	۶/۵۴	۶/۵۹
نسبت n3/n6	۴/۰۲ a	۳/۰۸ bc	۲/۱۶ d	۳/۲۷ b	۳/۳۳ b
EPA+DHA	۲۱/۰۷ a	۱۸/۰۱ bc	۱۵/۹۲e	۱۸/۶۴ bc	۱۹/۱۴ b

- نتایج اسیدهای چرب بر اساس درصد گزارش شده است (n=3).
- حروف کوچک لاتین نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست. معنی‌داری در سطح ۵ درصد گزارش شده است.

انسان نشان‌دهندهٔ جیرهٔ سالم برای غذای انسان است (Zuraini *et al*., 2006). بررسی میزان این نسبت نشان داد که تیمار شاهد کمترین میزان n-۳/n-۶ را دارا بود و گوشت چرخ‌شدهٔ حاوی عصارهٔ ppm ۳۰۰ دارای بالاترین میزان بود. در این فاکتور نیز مانند میزان EPA و DHA بیشترین تغییرات در تیمار شاهد بود.

کیلکای چرخ‌شدهٔ حاوی عصارهٔ ppm ۳۰۰ دارای بالاترین میزان اسیدهای چرب چند غیراشباعی پس از دورهٔ نگهداری بود. میزان اسیدهای چرب اشباع پس از گذشت ۸ روز در همهٔ تیمارها افزایش داشت (P>۰,۰۵). میزان اسیدهای چرب تک غیراشباعی نیز در همهٔ تیمارها نسبت به روز صفر افزایش نشان داد و میزان

آن در تیمار شاهد از همهٔ تیمارها بیشتر بود. مشاهدهٔ تغییر در ترکیب اسیدهای چرب نشان‌دهندهٔ نوعی تبدیل اسیدهای چرب بلندزنجیرهٔ غیراشباع به اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیره‌تر است. داشتن میزان بالای ترکیبات PUFA در جلبک‌ها را می‌توان یکی از دلایل عملکرد خوب این گونه‌ها در پیشگیری از اکسیداسیون دانست (Kindleysides et al., 2012)، زیرا این موجودات در شرایط زیستی می‌بایست ترکیبات نگهدارنده‌ای را نیز برای جلوگیری از اکسیداسیون ترکیبات PUFA داشته باشند.

۵. نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی حاصل از جلبک سارگاسوم توانایی ممانعت از اکسیداسیون چربی ماهی کیلکا را دارند و در این پژوهش تیمارهای محتوی عصاره‌های حاصل از مایکروویو با غلظت ppm ۳۰۰ شرایط بهتری از سایر تیمارها از خود نشان دادند. از آنجایی که در تیمار ppm ۶۰۰ تأثیرات آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به تیمار ppm ۳۰۰ مشاهده شد، این تفاوت در میزان پیشگیری را شاید بتوان به غلظت ترکیبات فنولی مرتبط دانست.

تقدیر و تشکر

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند تا از زحمات آقایان اسماعیلی و طالب‌پور در هماهنگی برای تهیهٔ ماهی از بندر صیادی بابلسر و از آقایان محمد خضری و مهدی عبدالهی به منظور همکاری در عملیات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی کنند.

References

[1]. Alghazeer, R., Saeed, S., Howell, N.K., 2008. Aldehyde formation in frozen mackerel (Scomber scombrus) in the presence and absence of instant green tea. Food Chemistry 108, 801-810.

[2].Barthet, V.J., Gordon, V., Daun, J.K., 2008. Evaluation of a colorimetric method for measuring the content of FFA in marine and vegetable oils. Food Chemistry 111, 1064-1068.

[3].Belitz, H. D., Grosch, W., 1999. Lipids . In "Food Chemistry". Springer Verlag, Heidelberg, Germany, pp. 184-185.

[4].Ben-Giglrey, B., Baptista de Sousa, V., Tomas, M., Barros-Velazquez, V., 1998. Changes in Biogenic Amines and Microbiological Analysis in Albacore (Thunnus alalunga) Muscle during Frozen Storage. Journal of Food Protection 61, 608-615.

[5].Bligh, E.C., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and physiology 37, 913-917.

[6].Broadhurst, C.L., Wang, Y., Crawford, M.A., Cunnane, S.C., Pakigton, J.E., Schmidt, W.F., 2002. Brain-specific lipids from marine, lacustrine, or terrestrial food resources: potential impact on early African Homo sapiens. Comparative Biochemistry and Physiology 131, 635-673.

[7].Candella, M., Astiasaran, I., Bello, J., 1998. Deep-fat frying modifies high-fat fish lipid fraction. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46, 2793-2796.

[8].Chandini, S. K., Ganesan, P., Bhaskar, N., 2008. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. Food Chemistry 107, 707-713.

[9].Chew, Y.L., Lim, Y.Y., Omar, M., Khoo, K.S., 2008. Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. LWT- Food Science and Technology 41, 1067-1072.

[10].Connell, J.J., 1990. Control of Fish Quality. London: Fishing News Book. 3rd ed, pp. 122-150.

[11].Crawford, D.L., Yu, T.C., Sinnhuber, R.O., 1966. Reaction mechanism, reaction of malonaldehyde with glycine. Journal of Agricultural and Food Chemistry 14, 175-184.

[12].Egan, H., Kirk R.S., Sawyer, R., 1997. Pearson's Chemical Analysis of Food. 9th Edition. Longman Scientific and Technical, 609-634.

[13].Erickson, M.A., 2008. Lipid oxidation of muscle foods. In: Akoh, C.C., Min, D.B. (3rd Eds.), Food Lipids, Marcel Dekker, New York pp. 299–320.

[14].Farvin. S. K. H., Grejsen, H.D., Jacobsen, C., 2012. Potato peel extract as a natural antioxidant in chilled storage of minced horse mackerel (Trachurus trachurus): Effect on lipid and protein oxidation. Food Chemistry 131, 843-851.

[15].Golmakani. M., Rezae, K., 2008. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation withthe traditional hydrodistillation method in the extractionof essential oils from Thymus vulgaris L. Food chemistry 109, 925–930.

[16].Gomez-Basauri, J.V., Regenstein, J.M., 1992. Vacuum packaging, ascorbic acid and frozen storage effects on heme and non-heme iron content of mackerel, Journal of Food Science 57, 1337–1339.

[17]. Gordon, M.H., 1996. Dietary antioxidants in disease prevention', Natural Product Report 14, 265–73.
[18]. Gutteridge, J.M., 1981. Thiobarbituric acid-reactivity following iron- dependent free-radical damage to amino acids and carbohydrates. FEBS Letter 128, 343-346.
[19]. Halliwell, B., Chirico, S., 1993. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. The American Journal of Clinical Nutrition 57, 715-724.
[20]. Honglian, N., & Etsuo, N., 2001. Introducing natural antioxidants. In J. Pokorny, N. Yanishlieva, & M. Gordon (Eds.), Antioxidants in foodpractical applications Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited, pp. 147–155.
[21]. Hultin, HO., 1994. Oxidation of lipids in seafoods, in Seafoods: Chemistry, Processing, Technology and Quality, ed by Shahidi F and Botta JR. Blackie Academic and Professional, Glasgow, UK, pp. 49–74.
[22]. Jacobsen, Ch., Let M. B., Nielsen N.S., and Meyer, A.S., 2008. Antioxidant strategies for preventing oxidative flavour deterioration of foods enriched with n-3 Polyunsaturated lipids: a comparative evaluation. Trends in Food Science & Technology 19, 76-93.
[23]. Kamran Khan. M., Abert-Vian. M., Fabiano-Tixier. A., Dangles. O., Chemat. F., 2010. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (Citrus sinensis L.) peel 119, 851–858.
[24]. Kelleher, S. D., Hultin, H. O., Wilhelm, K. A. 1994. Stability of mackerel surimi prepared under lipid stabilizing processing solution. Journal of Food Science 59, 269–271.
[25]. Kim, H. J and Min, David., B., 2008. Chemistry of Lipid Oxidation 299-320. In: Akoh, C.C., Min, D.B. (3rd Eds.), Food Lipids, Marcel Dekker, New York, pp. 321–364.
[26]. Kindleysides, S., Quek, S.-Y., Miller, M.R., 2012. Inhibition of fish oil oxidation and the radical scavenging activity of New Zealand seaweed extracts. Food Chemistry 133, 1624-1631.
[27]. Kinsella, J., 1987. Dietary fats and cardiovascular disease. In: Seafoods and Fish Oils In Hunan Health and Disease edited by R. Lees & M. Karel). New York & Basel: Marcel Dekker, Inc, pp. 1-23.
[28]. Larsson, K., Almgren, A., Undeland, I., 2007. Hemoglobin-mediated lipid oxidation and compositional characteristics of washed fish mince model systems made from cod (Gadus morhua), herring (Clupea harengus), and salmon (Salmo salar) muscle. Journal of Agricultural and Food Chemistry 22, 9027-9035.
[29]. Li, S.J., Seymour, T.A., King, A.J., Morrissey, M.T., 1998. Color stability and lipid oxidation of Rockfish as affected by antioxidant from shrimp shell waste. Journal of Food Science 63, 438-441.
[30]. Lu, Y., Yeap Foo, L., 2001. Antioxidant activities of polyphenols from sage (Salvia officinalis). Food Chemistry 75, 197-20.
[31]. Mamedov. E. V., 2006. The biology and abundance of kilka (Clupeonella spp.) along the coast of Azerbaijan, Caspian Sea. ICES Journal of Marine Science 63, 1665-1673.
[32]. Melton, S.L., 1983. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. Food Technology 7,105-111.
[33]. Metcalfe, L.D., Schmitz, A.A., 1961. The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. Analytical Chemistry 33, 363–364.

[34]. Onofrejova, L., vasickova, J. V., Klejdus, B., Stratil, P., Misurcova, L., Kracmar, S., Kopecky, J., Vacek, J., 2010 . Bioactive phenols in algae: The application of pressurized-liquid and solid-phase extraction techniques. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 51, 464-470.

[35]. Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., Deemer, E.K., 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50, 3122-3128.

[36]. Ozogul, Y., Ozyurt, G., Ozogul, F., Kuley, E. Polat, A. 2005. Freshness assessment of European eel (Anguilla anguilla) by sensory, chemical and microbiological methods. Food Chemistry 92, 745–751.

[37]. Pazos, M., Gallardo J., M., Torres, J, L., Medina, I., 2005. Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. Food Chemistry 92, 547-557.

[38]. Richards, M. P., Kelleher, S. D., Hultin, H. O. 1998. Effect of washing with or without antioxidants on quality retention of mackerel fillets during refrigerated and frozen storage. Journal of Agriculture an Food Chemistry 46, 4363–4371.

[39]. Sánchez-Alonso, I., Jiménez-Escrig, A., Saura-Calixto F., Borderías A.J., 2008. Antioxidant protection of white grape pomace on restructured fish products during frozen storage. LWT - Food Science and Technology 41, 42-50.

[40]. Sant›Ana, L.S., Mancini-Filho, J., 2000. Influence of the addition of antioxidants in vivo on the fatty acid composition of fish fillets. Food Chemistry 68, 175-178.

[41]. Sarkardei, S., Howell, N.K., 2008. Effect of natural antioxidants on stored freeze-dried food product formulated using horse mackerel (Trachurus trachurus). International Journal of Food Science and Technology 43, 309-315.

[42]. Shahidi, F., Miraliakbari, H., 2004. Omega-3 (n-3) fatty acids in health and disease: Part 1 - Cardiovascular disease and cancer. Journal of Medicinal Food 4, 387-401.

[43]. Shahidi, F., Miraliakbari, H., 2005. Omega-3 fatty acids in health and disease: Part 2 - Health effects of omega-3 fatty acids in autoimmune diseases, mental health, and gene expression. Journal of Medicinal Food 2, 133-148.

[44]. Siddaiah, D., Vidya Sagar Reddy, G., Raju, C.V., Chandrasekhar, T.C., 2001. Changes in lipids, proteins and kamaboko forming ability of silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) mince during frozen storage. Food Research International 34, 47-53.

[45]. Sidhu, K.S., 2003. Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. Regulatory Toxicology and Pharmacology 38, 336-344.

[46]. Tamura, H.,K. Kitta, T.Shibamoto., 1991. Formation of reactive aldehydes from fatty acids in a Fe+2/H2O2 oxidation system. J. Agric. Food Chemistry 39, 439-442.

[47]. Tarley, C.R.T., Visentainer, J. V., Matsushita, M., de Souza, N. E., 2004. Proximate composition, cholesterol and fatty acids profile of canned sardines (Sardinella brasiliensis) in soybean oil and tomato sauce. Food Chemistry 88, 1–6.

[48]. Undeland, I., Hall, G., Lingnert, H., 1999. Lipid oxidation in fillets of herring (Clupea harengus) during ice storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47, 524-532

[49]. Wanasundara, N.U., Shahidi, F., 1998. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. Food Chemistry 63, 335-342.

[50]. Wang, B., Zhang, W., Duan, X., Li, X., 2009. In vitro antioxidative activities of extract and semi-purified fractions of the marine red alga, Rhodomela confervoides (Rhodomelaceae). Food Chemistry 113, 1101–1105.

[51]. Warner, K., Frankel, E.N., Mounts, T.L. 1989. Flavor and oxidative stability of soybean, sunflower and low erucic acid rapeseed oils. Journal of the American Oil Chemists› Society 66, 558-564.

[52]. Yanar, Y., 2007. Quality Changes of Hot Smoked Catfish (Clarias Gariepinus) During Refrigerated storage. Journal of Muscle Foods 18, 391-400.

[53]. Yanar, Y., Kucukgulmez, A., Ersoy, B., Celik, M., 2007.Cooking effects on fatty acid composition of cultured sea bass (Dicentrarchus labrax) fillets. Journal of Muscle Foods 18, 88-94.

[54]. Zuraini, A., Somchit, M. N., Solihah, M.H., Goh, Y. M., Arifah, A. K. Zakaria, M. S., Somchit, N., Rajion, M. A., Zakaria, Z. A. Mat Jais, A. M., 2006. Fatty acid and amino acid composition of three local Malaysian Channa spp.fish. Food Chemistry 97, 674-678.