(مقاله پژوهشی)

تاثیر کیتوزان روی شکل‌گیری ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین در فیله فیل‌ماهی(*Huso huso*) سرخ شده

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

۱- دانشجوی دکتری شیلات، گروه فرآوری محصولات شیلاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان،ایران.
۲- گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲۳

چکیده

هدف از این تحقیق استفاده از تاثیر کیتوزان روی شکل‌گیری ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین(HAAs) در فیله فیل ماهی (*Huso huso*)سرخ شده به‌منظور جلوگیری از تشکیل ترکیبات مضر بعداز پخت بود. استفاده از افزودنی طبیعی مانند کیتوزان محلول در اسید(۱و ۰/۵) درصد در محتوی رطوبت، pH و تغییرات وزنی طی پخت (سرخ شده) اثر معنی‌داری داشت($p\leq$۰/۰۵).در فیله سرخ شدهمقادیرHAAsاز جمله PhIP (Nd -۰/۸۳ نانوگرم در گرم)،IQ (Nd - ۰/۵۰ نانوگرم در گرم)، MeIQ (۰/۷۱ – ۰/۸۲نانوگرم در گرم) و MeIQx(Nd - ۰/۹۰ نانوگرم در گرم) شناسایی شدند. میزان کل HAAs بین ۰/۸۲ نانوگرم در گرم تا ۲/۵۷ نانوگرم در گرم بود. میزان بازدارندگی کیتوزان محلول در اسیددر شکل‌گیری این ترکیبات هتروسایکلیک در فیله سرخ شدهفیل ماهی بین ۳۷/۳۵ تا ۶۸/۰۹ درصد بود. نتایج این تحقیق بیانگر آن است که کیتوزان محلول در اسید می‌تواند از تولید ترکیبات مضر و جهش زا حاصل از پخت ممانعت نماید.

واژه های کلیدی: کیتوزان، فیله فیل‌ماهی، هتروسایکلیک آروماتیک آمین، تغییرات وزنی طی پخت

[*] مسؤول مکاتبات: hojatmirsadeghi@yahoo.com

۱- مقدمه

ماهی منبع غنی از اسیدهای چرب غیراشباع امگا-۳، خصوصا دوکوزا هگزاانوئیک اسید (DHA)، اکوزا پنتاانوئیک اسید(EPA) و فسفاتیدیل کولین می‌باشد همچنین دارای پروتئین با اسید آمینه‌های ضروری (متیونین، تریپتوفان، لیزین، آرژنین)، ویتامین(A، D، B) و مواد معدنی (کلسیم، فسفر، آهن، منیزیم، منگنز، پتاسیم، مس و روی) می‌باشد که امروزه مصرف آن رو به افزایش است. وجود هرگونه عدم تعادل در مراحل آماده‌سازی و فرآوری و طبخ ماهی منجر به تغییرات بدون بازگشت می‌شود، تغییراتی که می‌تواند بر کیفیت خوراکی و درجه مقبولیت محصول عرضه شده اثرات فراوان داشته و ارزش اقتصادی و غذایی آن را کاهش دهد. به‌همین جهت کنترل این تغییرات (حفظ خواص‌کاری پروتئین‌های ماهی) در جهت حفظ و بهبود کیفیت محصول از جمله نکاتی است که باید همواره مورد توجه تولیدکنندگان و مصرف کنندگان قرار داشته باشد (۲۳، ۲۷، ۲۹). طبخ غذا با دمای بالا و مدت کوتاه و برعکس، منجر به تولید ترکیبات جانبی حاصل از واکنش‌های قهوه‌ای شدن که باعث ایجاد مواد شیمیایی با وزن مولکولی پایین مانند هتروسایکلیک آروماتیک آمین‌ها (HAAs) می‌شوند. این ترکیبات در حالت سرخ شده و کبابی بیشتر خود را نشان می‌دهند (۹، ۲۶). هتروسایکلیک آروماتیک آمین‌ها (HAAs) جهش‌زا و سرطانی بوده که باعث ایجاد تومورهایی در کبد، پانکراس، روده بزرگ و کوچک، پوست و ریه می‌گردند (۲۶، ۳۲). این ترکیبات طی پخت در غذاهای پروتیینی به ویژه گوشت قرمز، مرغ و ماهی در دمای بالای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد تشکیل می‌شوند. جهش‌زایی آنها ۱۰۰ برابر آفلاتوکسین و ۲۰۰۰ برابر بنزوپریندر مواد غذایی می‌باشد (۱۹) آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (۱۹۹۳) بیش از ۲۵ نوع از ترکیبات مهم هتروسایکلیک آروماتیک آمین که عامل جهش در سلول‌های انسان هستند را در مواد پروتیینی پخته شده شناسایی کرد که رایج‌ترین آن‌ها در پروتیین حیوانی پخته شده نمونه‌های زیر می‌باشند:

(IQ, IQx, MeIQ, MeIQx, PhIP, 4,8- DiMeIQx, 7,8-DiMeIQx, 4,7,8-Tri DiMeIQx, AαC, MeAαC, TrP-P-1)

تنوع و کیفیت این ترکیبات به فاکتورهایی مانند نوع و وزن گوشت، روش و دمای پخت بستگی دارد (۲۴). غلظت HAAs تحت تاثیر عواملی از جمله: فعالیت آبی، pH، کراتین، آمینواسیدهای آزاد، چربی، اکسیداسیون چربی، کربوهیدراتو مواد آنتی اکسیدانی تغییر می‌نماید (۲۱، ۲۴) به ترکیبات مهم هتروسایکلیک آروماتیک آمین در ماهی طبخ شده به موارد زیر اشاره نمودند(۲۹).

IQ (۲-amino-۳-methylimidazo[۴,۵-f]quinolone)

IQx (۲-amino-۳-methylimidazo[۴,۵-f]quinoxaline)

MeIQ (۲-amino-۳, ۴-dimethylimidazo [۴,۵-f]quinolone)

MeIQx (۲-amino-۳, ۸-dimethylimidazo[۴,۵-f] quinoxaline)

PhIP (۲-amino-۱-methyl-۶phenylimidazo[۴,۵-b] pyridine)

برای حفظ خواص حسی و تغذیه‌ای ماهی از روش نگه‌داری مانند کنترل درجه حرارت و کاهش آن، کنترل در محل فرآوری، بسته بندی تحت خلاء، بسته بندی در اتمسفر اصلاح شده و همچنین افزودن آنتی اکسیدان اشاره نمود. تحقیقات نشان داده که استفاده از افزودنی به شکل مصنوعی ({(BHA) بوتیلیت هیدروکسی‌آنی‌زول، (BHT) بوتیلیت هیدروکسی‌تولوئن، (PG) پروپیل‌گالات، (TBHQ) ترت بوتیل هیدرو کویین}وافزودنی‌های طبیعی (ترکیبات کارتنوئیدی و پلی‌فنولیکی(رزماری، زنجبیل، چای، سیر، فلفل، پیاز، گوجه‌فرنگی، جعفری، هویج، ادویه‌جات، الیگوساکاریدهاو ترشی‌جات)، برخی ویتامین‌های محلول در آب و چربی(B,C,E)، آلفا توکوفرول، اینولین (روغن زیتون) و ترکیبات بیوپلیمری (کیتوزان) با خواص ضداکسیداسیونی و ضد میکروبی علاوه بر خواص نگه‌دارندگی، برای مهار HAAs در گوشت و محصولات گوشتی مناسب هستند ودر کاهش شکل‌گیریHAAs تاثیر قابل قبولی دارند(۶، ۷، ۱۱، ۱۵، ۲۲، ۲۴، ۳۶). کیتوزان یک پلی‌ساکارید طبیعی حاصل از استیل‌زدایی کیتین، دومین پلیمر فراوان طبیعت پس از سلولز، می‌باشد که به صورت یک زیست-پلیمر خطی از واحدهای بتا-(۱و۴)-ان-استیل-دی-گلوکز آمین و بتا- (۱و۴)- دی-گلوکز آمین نتشکیل

شده است (۲۵). کیتوزان از کیتین موجود در اسکلت خارجی بندپایانی مانند حشرات، سخت‌پوستانی مانند خرچنگ‌ها، میگوها و لابسترها و نیز دیواره سلولی نوع خاصی از جلبک‌ها تولید می‌شود. کاربرد کیتوزان در صنایع غذایی به‌ویژه به علل زیست سازگاری بالا، غیرسمی بودن، تجزیه‌پذیری زیستی و بی‌طعم بودن به عنوان یک عامل عایق، جاذب سطحی، شفاف کننده و فیبر رژیمی رو به افزایش است (۱۶). سازمان FDA(غذا و داروی آمریکا)در سال ۲۰۰۱ طی پیشنهاد شرکت پریمکس(۱۹۹۷) برای استفاده عمومی از کیتوزان در مواد غذایی، کیتوزان را تایید نمود. همچنین در ژاپن، ایتالیا، فنلاند و کره نیز از کیتوزان به عنوان افزودنی خوراکی استفاده می‌شود. در این کشورها، کیتوزان به خاطر اتصال به چربی، اغلب برای تهیه غذاهای رژیمی با کالری پایین استفاده می‌شود.به‌طور کلی استفاده از کیتوزان به عنوان نگهدارنده در مطالعات مختلف مورد توجه قرار گرفته است درحالی‌که توجه به قدرت مهار ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین در ماهی طبخ شده مطالعه نشده است. لذا تحقیق حاضر به مطالعه اثر کیتوزان محلول در اسید افزوده شده روی فیله خام فیل ماهی پرورشی، به عنوان یک ماده مهار کننده ترکیبات مضر عامل سرطان (HAAs) شکل گرفته در ماهی سرخ شدهپرداخته شد.

۲- مواد و روش

۲- ۱- مواد

۲- ۱- ۱- مواد مصرفی مورد استفاده در تحقیق

فیل ماهی، کیتوزان محلول در اسید، استونیل، سود، متانل، آب مقطر ،نشاسته، تیوسولفاتسدیم، ۱- بوتانول به حجم رسانده شد. اتیل استات، اسید کلریدریک، اسیداستیک، یخ، کاغذ صافی واتمن شماره۳، یونولیت، دستکش استریل، فویل استریل، پنبه، مواد ضدعفونی‌کننده، ظروف بسته‌بندی (پلی اتیلنی)تمام مواد مصرفی دارای درجه آزمایشگاهی بوده و از شرکت‌های مرک، تیتراکمو دکتر مجللی تهیه گردیدند. استانداردهای ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین(HAAs) شامل:IQ (2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinolone), MeIQ (2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinolone), MeIQx (2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f] quinoxaline), PhIP (2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b] pyridine)

از سانتاکروز بیوتکنولوژی (۱۰۴۱۰-۷۵۲۲۰ TX) توسط شرکت آریا کیمیا گستر جهان خریداری گردید.

۲-۱-۲- مواد و دستگاه های غیر مصرفی مورد استفاده در تحقیق

ترازو با دقت ۰/۰۰۱g (Testo 206 pH2, Germany)، دستگاه اسپکتروفتومتر (JENWAY 6100, England)، دستگاه هموژنایزر (IKA Ultra trux, Germany)، دستگاه سانتریفوژ (GmbH Z206A)، شیکر (Labo shake, Gerhardt)، ، انکوباتور (Binder 7200, Germany)، اتوکلاو (ریحان طب، ایران)، آون (WTI brinder 7200, Germany)، هیتر (Lab line 2093, USA)، ترمومتر، یخچال (هیمالیا، ۳۰۵ f، ایران)، قابلمه (تفلون، ایران)، سمپلر، بوته چینی، هاون چینی، غربال، ظرف و چاقوی استیل، شعله (چراغ گازسوز)، پنس گیره‌دار، شیشه‌آلات آزمایشگاهی. دستگاه (HPLC-UV)کروماتوگرافی مایع با اشعه یووی (Agilent 1260 Series, USA).

۲- ۲- روش

۲- ۲- ۱- آماده‌سازی فیله فیل ماهی(*Huso huso*)

فیل ماهی نر باوزن ۵ کیلوگرم از شرکت آبزی گستران ساعی در شهرستان ساری خریداری گردید. بعد از جداسازی سر و شکم، با آب بهداشتی شسته شد. نمونه در جعبه حاوی یخ به نسبت (۲:۱) قرار داده شده و در کوتاه‌ترین زمان به آزمایشگاه فرآوری آبزیان واقع در دانشگاه علوم‌کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردید. ماهی در محیطی کاملا بهداشتی به روش دستی فیله شد. در این تحقیق نمونه‌ها از قسمت پشتی (حدفاصل باله شکمی و باله سینه‌ای) انتخاب گردید. سپس نمونه‌ها به وزن ۱۰۰۰ گرم به صورت تصادفی به ۶ تیمار تقسیم می‌گردند.

T_1 (شاهد خام بدون افزودن کیتوزان) ،T_2 (شاهد سرخ شده بدون افزودن کیتوزان) ، T_3 (نمونه خام حاوی ۰/۵درصد کیتوزان محلول در اسید) ،T_4 (نمونه حاوی ۰/۵ درصد کیتوزان محلول در اسید برای طبخ به روش سرخ

کردن)، T_5 (نمونه خام حاوی ۱ درصد کیتوزان محلول در اسید) و T_6(نمونه حاوی ۱ درصد کیتوزان محلول در اسید برای طبخ به روش سرخ کردن) لازم به ذکر است که نمونه‌های(T_3 ، T_4 ، T_5 و T_6) در کیتوزان محلول در اسید غوطه‌ور شده و به مدت ۱۲ ساعت در یخچال با دمای ۱± ۴درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد (۲۴). نمونه‌های T_2 ، T_4 و T_6 در ظرف تفلون حاوی روغن مایع سرخ شده و سپس در دمای اتاق سرد گردید.وزن نمونه‌ها قبل و بعد از غوطه‌وری در کیتوزان و بعد از پخت، و اندازه نمونه‌ها قبل و بعد از پخت برای تعیین فاکتورهای پخت و پز اندازه‌گیری شدند .نمونه‌های طبخ شده برای آنالیز ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین (HAAs) به وسیله میکسر برقی هموژن گردیده و در دمای منفی ۱۸درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

۲- ۲- ۲- آنالیز تقریبی فیله فیل ماهی (*Huso huso*)

۲- ۲- ۲- ۱- اندازه‌گیری رطوبت

۵ گرم از هر تیمار قبل از خشک شدن وزن شده وداخل آون با دمای ۲± ۱۰۳ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت پس از سرد شدن مجدداً وزن گردید و میزان رطوبت با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۱).

وزن اولیه نمونه/[۱۰۰ (وزن ثانویه نمونه- وزن اولیه نمونه)] = میزان رطوبت (درصد)

۲- ۲- ۲- ۲- اندازه‌گیری چربی

چربی کل به روش سوکسله اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها در بالن مخصوص دستگاه سوکسله قرار گرفت. بالن در دمای ۶۰-۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۸ ساعت حرارت داده شد. پس از این مدت بالن استخراج از دستگاه جدا گردید و باقیمانده حلال در بالن جهت تبخیر تا رسیدن به وزن ثابت داخل آون با دمای ۲± ۱۰۳ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت سپس درون دسیکاتور قرار داده شد و وزن آن به طور دقیق توزین گردید. تفاوت وزن اولیه بالن از وزن ثانویه میزان چربی نمونه را بر حسب درصد نشان داد که از رابطه زیرمحاسبه گردید (۱).

وزن نمونه/[۱۰۰ (وزن ثانویه بالن- وزن اولیه بالن)] = میزان چربی (درصد)

۲- ۲- ۲- ۳- اندازه‌گیری پروتئین

اندازه‌گیری پروتئین به روش کجلدالانجام شد. مقدار یک گرم نمونه دقیقا توزین و در بالن هضم ریخته شد. سپس ۲۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ و ۸ گرم از مخلوط کاتالیزور (۹۶ درصد سولفات‌سدیم خشک، ۳/۵ درصد سولفات‌مس و ۰/۵ درصد دی اکسیدسلنیوم) به آن افزوده گردید و بالن در دستگاه مخصوص هضم کلدال قرار داده شد و حرارت‌دهی آغاز گردید. پس از سرد شدن، بالن در دستگاه تقطیر قرار داده شد. عمل تقطیر برای هر نمونه حدود ۵ دقیقه به طول انجامید. پس از آن محلول به وسیله اسید هیدروکلریک ۰/۱ نرمال خنثی گردید (۱).مقدار درصد ازت و مقدار درصد پروتئین از رابطه زیر محاسبه گردید.

وزن نمونه/[۱۰۰ (حجم تیترات مصرفی نمونه -حجم تیترات مصرفی شاهد) نرمالیته تیترات ۱/۴۰۰۷]= میزان ازت (درصد)

۶/۲۵ درصد ازت = میزان پروتئین (درصد)

۲- ۲- ۲- ٤- اندازه‌گیری pH

۵ گرم از نمونه ماهی هموژن شده و با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و در نهایت pH نمونه با دستگاه pH متر که در pH ۴ و ۷ استاندارد شده بود، اندازه‌گیری شد (۲۷).

۲- ۲- ۳- فاکتورهای حاصل از پخت و پز

۲- ۲- ۳- ۱- تغییرات وزنی طی سرخ شدن

(Cooking loss) به روش (۳، ۲۰) محاسبه گردید.

Cooking loss (%) = [(B-C)/B] * ۱۰۰

B= وزن نمونه بعداز ۱۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بعداز افزودنی (gr)

C= وزن نمونه پخته ۴ ساعت بعداز سرد شدن در دمای اتاق (gr)

۲- ۲- ۳- ۲- بازده نمونه سرخ شده

(Cooking yield) به روش (۲۰) محاسبه گردید.

Cooking yield (%) = (C/A)/ * ۱۰۰

A = وزن نمونه بدون افزودنی (gr) و C= وزن نمونه پخته ۴ ساعت بعداز سرد شدن در دمای اتاق (gr)

۲-۲-۳-۳- میزان چروکیدگی نمونه پخته (Shrinkage)
این کار به روش (۲۸) محاسبه گردید.

Shrinkage = [(اندازه نمونه قبل از پخت (cm) – اندازه نمونه بعد از پخت (cm)) / اندازه نمونه قبل از پخت (cm)] × 100

۲-۲-٤-آنالیز ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین (HAAs) فیله فیل ماهی (*Huso huso*)

مقادیر HAAs نمونه‌ها بر اساس روش‌کار (۲۵) تعیین گردید. بعداز استخراج فاز جامد مقادیر HAAs بوسلیه کروماتوگرافی مایع با اشعه یووی(UV HPLC) با دستگاه (Agilent 1260 Series, USA) با VDSsper PUR C18-M-SE volume (250 mm× 4.6 mm×5 µm). با شناسگراشعه یووی AG1314B با طول موج ۲۶۴ نانومتر با فاز متحرک به عنوان حلال ۱ (متانل، استونیتریل، آب و اسید استیک) با وزن حجمی (۲/۷۶/۱۴/۸ ، v/v/v/v)در pH= ۵ با هیدروکسید آمونیوم تنظیم گردید و استونیتریل به عنوان حلال ۲ با با جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه با حجم تزریق ۱۰ میکرولیتر اجرا شد.میزان HAAs در نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (۲۴).

درصد بازدارندگی ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین(HAAs) به روش (۱۳) محاسبه گردید.

Inhibitory rate (%) = [(Ac - At)/Ac] *۱۰۰

Ac= میزان کل ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین(HAAs) در نمونه پخته بدون افزودنی

At = میزان کل ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین(HAAs) در نمونه پخته حاوی افزودنی

۲- ۵- تجزیه و تحلیل آماری

نتایج در قالب طرح کاملا تصادفی با استفاده از تجزیه واریانس یکطرفه و جهت مقایسه میانگین از آزمون توکی در سطح معنی داری ۵ درصد استفاده گردید. اطلاعات و نتایج جمع‌آوری شده از آزمایش‌ها با استفاده از نرم افزار SAS(version 9.0) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

۲-٦-نتایج

جدول۱ - تغییرات میزان چربی تیمارهای مختلف فیله فیل ماهی

تیمار/ فاکتور	pH	پروتئین	چربی	رطوبت
T_1	٦/۰±۲۰/۰۸ ^{a}	۱۹/۰±۲/۱٦ ^{a}	٤/۰±۲۱/۰٤ ^{a}	۷۳/۰±۱۳/۲۳ ^{a}
T_2	٦/۰±۸٤/۰۲ ^{b}	۱٦/۰±۳۲/۱۲ ^{b}	٥/۰±٤۰/۰٤ ^{b}	٦۷/۰±۷٥/۱۸ ^{b}
T_3	٦/۰±۰٥/۰۳ ^{c}	۱۹/۰±۲٥/۱۰ ^{a}	٤/۰±۲٥/۰٥ ^{a}	۷۸/۰±۱۰/۱۳ ^{c}
T_4	٦/۰±۷٤/۰٤ ^{b}	۱۷/۰±۰۷/۰۷ ^{c}	٤/۰±۹۰/۷ ^{c}	٦۹/۰±۰٥/۱۸ ^{d}
T_5	٥/۰±۸۸/۰۳ ^{c}	۱۹/۰±۲/۱٥ ^{a}	٤/۰±۱۹/۰٥ ^{a}	۷۸/۰±۱۹/۱۳ ^{c}
T_6	٦/۰±٥۰/۰٥ ^{d}	۱۸/۰±۰۲/۰۸ ^{d}	٤/۰±٦۲/۰۷ ^{d}	۷۰/۰±۹۰/۱۱ ^{d}

T_1 (شاهد خام بدون کیتوزان) ،T_2 (شاهد سرخ شده بدون کیتوزان) ، T_3 (نمونه خام حاوی ۰/۵درصد کیتوزان محلول در اسید) ،T_4 (نمونه سرخ شده حاوی ۰/۵ درصد کیتوزان محلول در اسید) ،T_5 (نمونه خام حاوی ۱ درصد کیتوزان محلول در اسید) وT_6 (نمونه سرخ شده حاوی ۱ درصد کیتوزان محلول در اسید). داده‌ها بهصورتمیانگینسهتکرار±انحرافمعیاربیان شده‌اند. حروف کوچک بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هرستون می‌باشد.($p\leq$ ۰/۰۵).

جدول۲ - تغییرات شاخص‌های حاصل از پخت در تیمارهای فیله فیل ماهی

تیمار/ فاکتور	Cooking yield	Cooking loss	Shrinkage
T_1	-	-	-
T_2	۷۶/۱±۱۸/۰۲^a	۲۳/۰±۸۱/۲۳^a	۱۷/۱±۷۱/۰٤^a
T_3	-	-	-
T_4	۷۹/۱±۳۵/۲۲^b	۲۰/۰±٦٤/٤۲^b	۱۳/۰±۱٦/۵٤^b
T_5	-	-	-
T_6	۸۰/۰±۵۳/۱۸^c	۱۹/۰±٦٤/۱۵^c	۹/۰±۳۵/٦۳^c

T_1 (شاهد خام بدون کیتوزان)، T_2 (شاهد سرخ شده بدون کیتوزان)، T_3 (نمونه خام حاوی ۰/۵درصد کیتوزان محلول در اسید)، T_4 (نمونه سرخ شده حاوی ۰/۵ درصد کیتوزان محلول در اسید)، T_5 (نمونه خام حاوی ۱ درصد کیتوزان محلول در اسید) و T_6 (نمونه سرخ شده حاوی ۱ درصد کیتوزان محلول در اسید). میزان هدر رفت آب(Cooking loss) ، بازده نمونه پخته(Cooking yield) ، میزان چروکیدگی نمونه پخته (Shrinkage) . داده‌ها بصورتمیانگینسهتکرار±انحرافمعیاربیان شده‌اند. حروف کوچک بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هرستون می-باشد.($p\leq$ ۰/۰۵).

جدول۳ - تغییرات میزان ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین(HAAs) تیمارهای مختلف فیله فیل ماهی

تیمار/ فاکتور	PhIP	IQ	MeIQ	MeIQx	مقدار کل HAAs	درصد بازدارندگی
T_1	-	-	-	-	-	-
T_2	۰/۰±۸۳/۰۵^a	۰/۰±۵/۰۵^a	۰/۰±۷٤/۰۱^a	۰/۰±۵۰/۰۵^a	۲/۵۷	-
T_3	-	-		-	-	-
T_4	nd	nd	۰/۰±۷۱/۰۱^a	۰/۰±۹۰/۰۳^b	۱/٦۱	۳۷/۳۵
T_5	-	-	-	-	-	-
T_6	nd	nd	۰/۰±۸۲/۰۳^a	nd	۰/۸۲	٦۸/۰۹

T_1 (شاهد خام بدون کیتوزان)، T_2 (شاهد سرخ شده بدون کیتوزان)، T_3 (نمونه خام حاوی ۰/۵درصد کیتوزان محلول در اسید)، T_4 (نمونه سرخ شده حاوی ۰/۵ درصد کیتوزان محلول در اسید)، T_5 (نمونه خام حاوی ۱ درصد کیتوزان محلول در اسید) و T_6 (نمونه سرخ شده حاوی ۱ درصد کیتوزان محلول در اسید).nd (شناسایی نشده). داده‌ها بصورتمیانگینسهتکرار±انحرافمعیاربیان شده‌اند. حروف کوچک بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هرستون می‌باشد.($p\leq$ ۰/۰۵).

۳- نتایج و بحث

حداکثر میزان pH برای محصولات قابل مصرف ۷/۵-۷ عنوان‌شده است (۱۶)که نتایج بررسی میزان pH فیله فیل ماهی، میان تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p\leq$۰/۰۵). طبق جدول۱ میزان pH در تیمارهای خام (T_1 ، T_3 و T_5) بین ۶/۲۰ تا ۵/۸۸ درصد و در تیمارهای سرخ شده (T_2 ، T_4 و T_6)بین (۶/۸۴ تا ۶/۵۰) بود. طبق جدول۱ میزان pH در تیمارT_5 بعداز افزودنکیتوزان محلول در اسید کم‌ترین میزان pH را نشان دادند که احتمالا بدلیل خاصیت اسیدی کیتوزان که این وابسته به حلال کیتوزان (اسید استیک) می‌باشد (۱۲). حلال آبی نسبت به حلال اسیدی، محیط قلیایی بهتری ایجاد می‌کنند (۳۰). از و همکاران (۲۰۱۶) درتیمارهای فیله گوساله خام حاوی کیتوزان محلول درآب میزانpHرا بالاتر از نمونهشاهد خام فاقد کیتوزان نشان دادند که این نتایج متفاوت با نتایج این تحقیق می‌باشد. دراین تحقیق نمونه‌های پخته میزانpHرا بالاتر از نمونه‌هایخام بود به طوری‌کهتیمار T_2 بیشترین میزان pH را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد که ناشی از حرارت حاصل از پخت می‌باشد که مشابه نتایج (۲۴، ۳۵، ۳۶)بود.طبق جدول ۱در تیمارهای مختلف فیلهفیل ماهی میزان رطوبتبین ۶۷/۷۵ درصد تا۷۸/۱۹ درصد و میزان چربی بین ۴/۱۹ تا ۵/۴۰ میزان پروتئینبین ۱۶/۳۲ درصد تا۱۹/۲۰

درصد بود.اختلافات میزان چربی، رطوبت و پروتئین بین نمونه‌های خام (T_1 ، T_3 و T_5) معنی‌دار نبود($p\geq0/05$). تیمارهای سرخ شده (T_2 ، T_4 و T_6)دارای اختلافات معنی‌دار بود($p\leq0/05$).طبق جدول۱ در تیمارهای مختلف فیلهفیل ماهی میزان پروتئینبین ۱۹/۲۰ درصد تا۱۶/۳۲ درصد بود. نمونه‌های خام (T_1 ، T_3 و T_5) معنی‌دار نبود($p\geq0/05$). تیمارهای سرخ شده (T_2 ، T_4 و T_6)دارای اختلافات معنی‌دار بود($p\leq0/05$).در نمونه‌های سرخ شدهمیزان پروتئینکاهش یافت به طوری که میزان پروتئیندر تیمار T_2 کم‌تر ازT_4 و T_6 بود. کیتوزان در نمونه T_4 و T_6، تغییرات نامطلوب حرارت در کاهش پروتئین و تغییر ساختار میوفیبریل را مانع گردید به طوریکه با افزایش کیتوزان در T_6کاهش پروتئین کم‌تر بود.نتایج مطالعه حاضر با مطالعات (۴، ۲۴، ۲۸) مطابقت دارد. علاوه بر کیتوزان می‌توان به استفاده از افزودنی مانند فلفل در مطالعه زنگ و همکاران (۲۰۱۷، ۲۰۱۸) و روغن های گیاهی در مطالعه لو و همکاران(۲۰۱۷)اشاره کرد که نتایج مشابه مطالعه حاضر داشتند.نتایج میزان چربی(جدول۱) در تیمارهای مختلف فیلهفیل ماهی بین ۴/۱۹ تا ۵/۴۰ بود($p\leq0/05$). بعداز افزودن کیتوزان بین نمونه‌های خام اختلافات معنی‌دار نبود($p\geq0/05$) که نتایج مشابه سایر مطالعات بود(۱۳، ۳۵، ۳۶). بعداز سرخ کردن میزان چربی در تیمارهای(T_2 ، T_4 و T_6) افزایش یافت ($p\leq0/05$) به طوری که در تیمار T_2 میزان چربی افزایش بیشتری داشت. کیتوزان در نمونه T_4 و T_6 ورود روغن به داخل بافت را طی مدت طبخ کم کردکه این خاصیت در T_6 بدلیل افزایش درصد کیتوزان نمایان‌تر بود (۲۸). طبق جدول ۱ میزان رطوبت در تیمارهای مختلف فیله فیل ماهی بین ۶۷/۷۵ درصد تا۷۸/۱۹ درصد بود($p\leq0/05$). ساختار پروتئین طی حرارت حاسل از پخت دناتوره شده و خاصیت نگه دارندگی آب پروتئین‌از دست رفته،لذا مقدار رطوبت در طول زمان طبخ کم می‌گردد (۲۹).کاهش میزان رطوبتدر نمونه‌های (T_2 ، T_4 و T_6) به دلیل حرارت حاصل از سرخ شدن ،بیشتراز نمونه‌های (T_1 ، T_3 و T_5) بود به طوریکه در T_2 کم‌ترین میزان رطوبت دیده شد. بین نمونه‌های T_2 وT_4 وجود خاصیت پوششی کیتوزان در سطح فیله ماهی در نمونه T_4 و T_6 ،بخصوص در T_6 اثر تخریبی حرارت را کم کرده و مانع از خروج رطوبت از سطح بافت می‌شود. نتایج مطالعه حاضر با نمونه‌های طبخ شده درمطالعات (۳، ۲۴، ۲۸) مطابقت دارد و کاهش میزان رطوبت وابسته به نوع و اندازه ماده اولیه، روش و زمان طبخ و نوع و میزان کیتوزان داشت. تغییرات وزنی طی سرخ کردن (Cooking Loss)، بازده نمونه سرخ شده (Cooking yield) و میزان چروکیدگی نمونه سرخ شده (Shrinkage) از شاخص‌های مهم قابل بررسی در پخت و پز می‌باشد که در اثر تغییرات رطوبت، چربی و پروتیین محصول طی حرارت حاصل از پخت ایجاد می‌گردد. برای داشتن محصول خوشمزه و ایمن، پخت و پز بسیار مهم است (۳، ۲۴) .طبق جدول۲ شاخص‌های حاصل از پخت در تیمارهای سرخ شده (T_2 ، T_4 و T_6)قابل بررسی می‌باشد($p\leq0/05$). T_6 کم‌ترین و T_2 بیشترین تغییرات وزنیو چروکیدگی را نشان دادند و همینطور در T_6 بیشترین و T_2 کم‌ترین بازده نمونه سرخ شده دیده شد. کاهش تغییرات وزنی و چروکیدگی و افزایش بازده نمونه سرخ شدهدر T_6 ناشی از اثر پوششی و قدرت نفوذ کیتوزان است این خصوصیات از کیتوزان باعث تاخیر در تولید ژل ماتریکس و خروج رطوبت از سطح بافت می‌شود (۱۰، ۲۹). همانند مطالعه حاضر، سایاس- باربرا و همکاران(۲۰۱۱) و از و همکاران (۲۰۱۶) در نمونه‌های حاوی کیتوزان تغییرات وزن کمتری را مشاهده نمودند. چروکیدگی نمونه سرخ شده ارتباط نزدیکی با میزان رطوبت محصول دارد. حرارت حاصل از طبخ ماده غذایی ساختار میوفیبریل پروتیین را تخریب نموده و باعث خروج رطوبت ماده غذایی می‌گردد(۲۹) .نتایج ارزیابی PhIP بعد از سرخ کردن تیمارهای فیله فیل‌ماهی (Nd -۰/۸۳نانوگرم در گرم) در جدول ۳ نشان داده شده است. مقادیرPhIP در تیمارها طی سرخ شدن افزایش یافت ($p\leq0/05$). کمترین میزانPhIP طی سرخ شدن درT_4 و T_6 و بیشترین میزان آن درT_2 بود. کاهش تولید PhIP در T_4 و T_6 بدلیل وجود

خاصیت پوششی کیتوزان که مانع از تخریب بافت طی پخت می‌باشد. کیتوزان به عنوان مانع بین نمونه و هوای اطراف عمل می‌کند و انتشار حرارت را در سطح محصول کاهش می‌دهد و از تغییرات اسیدآمینه‌ها می‌کاهد. از و همکاران (۲۰۱۶) اثر پوششی کیتوزان را در فیله گوساله بررسی و PhIP در هیچ یک از تیمارها ی طبخ شده در دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد شناسایی نشد ولی در نمونه‌های طبخ شده در دمای ۲۰۰ و ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد در تیمارهای حاوی کیتوزان تولید PhIP کم‌تر از نمونه شاهد بود همین طور شکل‌گیری ترکیب هتروسایکلیک آروماتیک آمین(PhIP) در تیمارهای حاوی افزودنی از جمله فلفل و روغن‌های گیاهی را کم‌تر از نمونه شاهد در مطالعه (۱۳، ۳۶) نشان داده شد. برخلاف نتایج حاضر، مطالعه از و همکاران (۲۰۰۷)در ماهی قزل آلای سرخ شده، PhIP شناسایی نشد.IQ طی پخت در اثر دناتوره شدن پروتئین و تغییر ساختار اسیدهای آمینه از واکنش بین سراتنین و رادیکال‌های پیریدین و فرمالدیید ایجاد می‌گردد (۳۰) نتایج ارزیابی IQ بعداز سرخ کردن تیمارهای فیله فیل‌ماهی (Nd – ۰/۵۰ نانوگرم در گرم) در جدول ۳ نشان داده شده است. مقادیرIQ در تیمارها طی سرخ شدن افزایش یافت ($p\leq ۰/۰۵$). کمترین میزان IQ طی طبخ در $T_۴$ و $T_۶$ و بیشترین میزان آن در$T_۲$ بود کاهش تولید IQ در نمونه پخته شده حاوی کیتوزان به خاصیت پوششی کیتوزان که مانع از تخریب بافت طی پخت به روش سرخی می‌باشد. برعکس مطالعه حاضر، از و همکاران (۲۰۱۶) اثر پوششی کیتوزان را در فیله گوساله بررسی و IQ در هیچ یک از تیمارها شناسایی نشد. مشابه مطالعه حاضر، از و کتان(۲۰۱۶) در ماهی قزل آلای کبابی و کاستا و همکاران (۲۰۰۹) در ساردین کبابی میزان IQ بیشتر از سایر نمونه‌ها نشان دادند. برخلاف مطالعه حاضر ونگ و همکاران (۲۰۰۵) در ماهی سرخ شده و ویگس و همکاران (۲۰۱۲) در سالمون کبابی و از و همکاران (۲۰۰۷) در ماهی قزل آلای کبابی و سرخی، IQ شناسایی نشد. اختلافات تولید و عدم شکل‌گیری ترکیب هتروسایکلیک آروماتیک آمین به نوع و اندازه ماده غذایی، دمای پخت، نوع پخت در گوشت قرمز، مرغ و ماهی وابسته می‌باشد. دناتوره شدن پروتئین در اثر حرارت طی پخت که باعث تغییر در ساختار اسیدهای آمینه بخصوص آلانین، عامل اصلی در تولید MeIQ می‌باشد(۲۹) طبق جدول۳ میزان تولید ترکیب هتروسایکلیک آروماتیک آمین(MeIQ) بین۰/۷۱ تا ۰/۸۲نانوگرم در گرم در تیمارهای سرخ شده نشان داده شد ($p\geq ۰/۰۵$). مشابه مطالعه حاضر(۷، ۲۳) در ماهی سرخ شده MeIQ را شناسایی کردند ولی برخلاف مطالعه حاضر (۱۷، ۱۸، ۳۴) در ماهی سرخ شده MeIQ را نیافتن که اختلافات تولید و عدم شکل‌گیری ترکیب هتروسایکلیک آروماتیک آمین به نوع و اندازه ماده غذایی، دمای پخت، نوع پخت در گوشت قرمز، مرغ و ماهی وابسته می‌باشد. برخلاف مطالعه حاضر، از و همکاران (۲۰۱۶) اثر پوششی کیتوزان را در فیله گوساله طبخ شده بررسی و به خاصیت بازدارندگی خوب آن اشاره نمودند.تولید و شکل‌گیری ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین به توجه به نوع و اندازه ماده غذایی، دمای پخت، نوع پخت در گوشت قرمز، مرغ و ماهی متفاوت می‌باشدو دناتوره شدن پروتئین در اثر حرارت طی پخت عامل اصلی در تولید MeIQx می‌باشد که واکنش اسیدآمینه ترونین با گلیسین و سراتنین و هگزوز طی عمل میلارد ودر مدت عملیات استریکر انجام می‌گیرد (۱۴). میزان MeIQx بین Nd تا۰/۹۰ نانوگرم در گرمطبق جدول۳ نشان داده شد. کمترین میزان MeIQx در $T_۶$ و بیشترین میزان آن در$T_۴$ بود.طبخ به روش سرخ کردن اثر تخریبی کم‌تری روی پوشش کیتوزان ۱ درصد در بافت ماهی داشته و در نهایت اثرمهار کنندگی کیتوزان در شکل‌گیری MeIQx در $T_۶$ نمایان‌تر بود.مشابه نتایج مطالعه حاضر، از و همکاران (۲۰۱۶) MeIQx در تیمارهای حاوی کیتوزان را کم‌تر از نمونه شاهد نشان دادند و همین طور زنگ و همکاران (۲۰۱۸) و لو و همکاران (۲۰۱۷) شکل‌گیری ترکیب MeIQx در تیمارهای حاوی افزودنی از جمله فلفل و روغن‌های گیاهی را کم‌تر از نمونه شاهد نشان دادند هتروسایکلیک آروماتیک آمین‌ها (HAAs)

جهش‌زا و سرطانی بوده که باعث ایجاد تومورهایی در کبد، پانکراس، روده بزرگ و کوچک، پوست و ریه می‌گردند (۲۶، ۳۲). این ترکیبات طی پخت در غذاهای پروتیینی به ویژه گوشت قرمز، مرغ و ماهی در دمای بالای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد تشکیل می‌شوند. تنوع و کیفیت این ترکیبات به فاکتورهایی مانند نوع و وزن گوشت، روش، زمان و دمای پخت بستگی دارد (۲۴). غلظت HAAs تحت تاثیر عواملی از جمله: فعالیت آبی ، pH، کراتین، آمینواسیدهای آزاد، چربی، اکسیداسیون چربی، کربو هیدرات و مواد آنتی اکسیدانی تغییر می‌نماید (۲۴). اسکوگ (۲۰۰۲) میزان مصرف روزانه HAAs برای هر شخص را بین ۰ تا ۱۵ میکروگرم در روز بیان نمودند که در مطالعه حاضر میزان کل HAAs تولید شده کمتر از ۱ میکروگرم بود که مشابه مطالعه از و همکاران (۲۰۱۶) بود.میزان کل و درصد بازدارندگی ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین(HAAs) در جدول ۳ نشان داده شد. میزان کل HAAs بین ۰/۸ نانوگرم در گرم تا ۲/۵۷ نانوگرم در گرم بود. میزان بازدارندگی کیتوزان محلول در اسیددر شکل‌گیری ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین (HAAs) در فیله فیل ماهی (*Huso huso*)سرخ شده بین ۳۷/۳۵ تا ۶۸/۰۹ درصد بود. با افزایش میزان کیتوزان از ۰/۵ به ۱ درصد در فیله فیل ماهی سرخ شده، میزان کل HAAs کاهش ومیزان بازدارندگی افزایش بافت. مشابه مطالعه حاضر از و همکاران (۲۰۱۶) میزان کل در تیمارهای حاوی کیتوزان را کم‌تر از نمونه شاهد نشان دادند و همینطور مشابه نتایج مطالعه حاضر، از و همکاران (۲۰۱۶) در تیمارهای حاوی کیتوزان میزان کل HAAs کمتر و درصد بازدارندگی HAAs بیشتر از نمونه شاهد نشان دادند و همین طور زنگ و همکاران (۲۰۱۸) ، لو و همکاران (۲۰۱۷) و و بالوق و همکاران (۲۰۰۰) با استفاده از فلفل و روغن‌های گیاهی وویتامین E ، میزان کل HAAs را کمتر و درصد بازدارندگی HAAs را بیشتراز نمونه شاهد نشان دادند.کیتوزان و سایر افزودنی‌ها قادر به کاهش میزان کل HAAs در گوشت ، مرغ و ماهی می‌باشند.

٤- نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، کیتوزان محلول در اسید اثر معنی‌دار روی شاخص‌های پخت و پز و میزان ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین (HAAs) روی فیله فیل ماهی سرخ شده داشت. چهار ترکیب (PhIP، IQ، MeIQ، MeIQx) شناسایی شدند.کیتوزان محلول در اسید (۱ درصد) کم‌ترین میزان تولید HAAs و بالاترین بازدارندگی در شکل‌گیری HAAs را نشان داد.

٥- سپاسگزاری

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.

٦- منابع

1. AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18thed. p.20 Arlington, Virginia.
2. Balogh, Z., Gray, J. I., Gomaa, E. A.and Booren, A. M. 2000. Formation and inhibition of heterocyclic aromatic amines in fried ground beef patties. *Food and Chemical Toxicology*, 38(5): 395-401.
3. Chantarasataporn, P., Yokan, R., Visessanguan, W. and 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: 341-348.
4. Chantarasataporn, P., Tepkasikul, P., Kingcha, Y., Yoksan, R., Pichyangkura, R., Visessanguan, W. and Chirachanchai, S. 2014. Water-based oligochitosan and nanowhisker chitosan as potential food Preservatives for shelf-life extension of minced pork. *Food Chemistry*, 159: 463-470.
5. Costa, M., Viegas, O., Melo, A., Petisa, C., Pinho, O. and Ferreira, I. M. P. L. V. O. 2009. Heterocyclic aromatic amine formation in barbecued sardines (Sardina

pilchardus) and Atlantic salmon (Salmo salar). *Agricultural and Food Chemistry*, 57: 3173-3179.

6. Jinap, S., Hasnol, N. D. S., Sanny, M. and Jahurul, M.H.A. 2018. Effect of organic acid ingredients in marinades containing different types of sugar on the formation of heterocyclic amines in grilled chicken. *Food Control*, 84: 478-484.
7. Johansson, M.A. E. and Jagerstad, M. 1996. Influence of pro- and antioxidants on the formation of mutagenic carcinogenic heterocyclic amines in a model system. *Food Chemistry*, 56: 69-75.
8. International Agency for Research on Cancer (IARC). 1993. Some Natural Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic amines and mycotoxins. In Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. *International Agency for Research on Cancer*, 56: 163-242.
9. Iwasaki, M., Kataoka, H., Ishihara, J., Takachi, R., Hamada, G. S. and Sharma, S. 2010. Heterocyclic amines content of meat and fish cooked by Brazilian methods. *Food Composition and Analysis*, 23: 61-69.
10. Kachanechai, T., Jantawat, P. and Pichyangkura, R. 2008. The influence of chitosan on Physicochemical properties of chicken salt-soluble protein gel. *Food Hydrocolloids*, 22: 74-83.
11. Lan, C. M., Kao, T. H. and Che, B. H. 2004. Effects of heating time and antioxidants on the formation of heterocyclic amines in marinated foods. *Chromatography B*, 802: 27-37.
12. Lin, K. W. and Chao, J. Y. 2001. Quality characteristics of reduced-fat Chinese-style sausage as related to chitosan's molecular weight. *Meat Science*, 59: 343-351.
13. Lu, F., Gunter, K. and 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.
14. Milic, B. L., Djilas S. M. and Canadanovic-Brun, J. M. (1993). Synthesis of some heterocyclic amino imiazoazarenes. *Food Chemistry*, 46: 273-276.
15. Murkovic, M., Steinberger, D. and fannhauser, W. 1998. Antioxidant spices reduce the formation of heterocyclic amines in fried meat. *Food Research and Technology*, 207: 477-480.
16. Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H. and Hosseini, S.M.H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120: 193-198.
17. Oz, F., Kaban, G. and Kaya, M. 2007. Effects of cooking methods on the formation of heterocyclic aromatic amines of two different species trout. *Food Chemistry*, 104: 67-72.
18. Oz, F., Kaban, G. and Kaya, M. 2010. Effects of cooking methods and levels on formation of heterocyclic aromatic amines in chicken and fish with Oasis extrac tion method. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 1345-1350.
19. Oz, F. and Kaya, M. 2011. The inhibitory effect of black pepper on formation ofheterocyclic aromatic amines in high-fat meatball. *Food Control*, 22: 596-600.
20. Oz, F. and Kizil, M. 2013. Determination of heterocyclic amines in cooked commercial frozen meat products by ultra-fast liquid chromatography. *Food Analytical Methods*, 6: 1370-1378.
21. Oz, F., Cakmak, I. H., Zikirov, E., Kizil, M. and Turhan, S. 2015. Heterocyclic aromatic amine contents of kavurma commercially cooked in steam and copper cauldron. *Food Processing and Preservation*, 39: 583-590.
22. Oz, F., Kızıl, M., Zaman, A. and 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.
23. Oz, F. and Cakmak, I.H. 2016. The effects of conjugated linoleic acid usage in meatball production on the formation of heterocyclic aromatic

amines. *LWT - Food Science and Technology*, 65: 1031-1037.
24. Oz, F. and Kotan, G. 2016. Effects of different cooking methods and fat levels on the formation of Heterocyclic aromatic amines in various fishes. *Food Control*, 67: 216-224.
25. Pereda, M., Ponce, A. G., Marcovich, N. E., Ruseckaite, R. A. and Martucci, J. F. 2011.Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. *Food hydrocolloids*, 25: 1372-1381.
26. Rahman, U., Sahar, A., Khan, M. I. and Nadeem, M. 2014. Production of heterocyclic aromatic amines in meat: Chemistry, health risks and inhibition. *Food Science and Technology*, 59: 229-233.
27. Sallam, K. I. 2007. Prevalence of campylobacter in chicken and chicken by-products retailed in Sapporo area, Hokkaido, Japan. *Food Control*, 18: 1113-1120.
28. Sayas-Barber, E.,Quesada, J,. Sanchez-Zapata, E., Viuda-Martos, M., Fernandez-Lopez, F., Perez-Alvarez, J.A. and Sendra, E. 2011. Effect of the molecular weight and concentration of chitosan in pork model burgers. *Meat Science*, 88: 740-749.
29. Shabbir, M. A., Raza, A., Anjum, F. M., Khan, M. R. and Suleria, H. A. R. 2015. Effect of Thermal Treatment on Meat Proteins with Special reference to Heterocyclic Aromatic Amines (HAAs). *Science & Nutrition*, 55: 82-93.
30. Shahidi, F., Arachchi, J. K. V. and Jeon, Y. J. 1999. Food applications of chitin and chitosan's. *Food Science and Technology*, 10: 37-51.
31. Skog, K. 2002. Problems associated with the determination of heterocyclic amines in cooked foods and human exposure. *Food and Chemical Toxicology*, 40: 1197–1203.
32. Sugimura, T., Wakabayashi, K., Nakagama, H. and Nagao, M. 2004. Heterocyclic amines: Mutagens, carcinogens produced during cooking of meat and fish. *Cancer Science*, 95: 290-299.
33. Viegas, O., Novo, P., Pinto, E., Pinho, O. and Ferreira, I. M. P. L. V. O. 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: 2128-2134.
34. Wong, K. Y., Su, J., Knize, M. G., Koh, W. P. and Seow, A. 2005. Dietary exposure to heterocyclic amines in a Chinese population. *Nutrition and Cancer*, 52: 147-155.
35. Zeng, M. M., Zhang, M. R., He, Z. Y., Qin, F., Tao, G. J., Zhang, S., Gao, Y. H. and Chen, J. 2017. Inhibitory profiles of chilli pepper and capsaicin on Heterocyclic amine formation in roast beef patties. *Food Chemistry*, 221: 404-411
36. Zeng, M., Wang, J., Zhang, M., Chen, J., He, Z., Qin, F., Xu, Z., Cao, D. and 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.

(Original Research Paper)

The Effect of Chitosan on Heterocyclic Aromatic Amines Formations in Fried Fillet of Huso(*Huso huso*)

Hojjat Mir Sadeghi[1*], Alireza Alishahi[2], Mahdi ojagh[2] , Paratoo Pour Ashouri[2]

1-Phd Student of fisheries, Department of Fishery Products Processing, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
2- Department of Fishery Products Processing, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Received:12/12/2018 Accepted:12/02/2019

Abstract

The aim of this study was to investigate the addition of chitosan in fish fillet of huso (Huso Huso) in order to prevent the formation of heterocyclic aromatic amines (HAAs) after cooking. The use of natural additive such as acid-soluble chitosan on moisture, pH and cooking loss contentof huso fillet had a significant effect ($p \leq 0.05$). The values of HAAs identified in fried samples PhIP (Nd -0.83 ng / g), IQ (Nd-0.50 ng / g), MeIQ (0.71-0.82 ng / g) and MeIQx (Nd – 0.90 ng / g). The total HAAs were between 0.82 ng / g and 2.7 ng / g. The inhibitory effect of acid-soluble chitosan on the formation of heterocyclic aromatic amine compounds in fish fillet of huso was between 37.35 to 68.09%. The results of this study indicated that acid-soluble chitosan could prevent the production of harmful and mutagenic compounds during fried.

Keywords: Chitosan, Huso Fillet, Heterocyclic Aromatic Amines, Cooking Loss.

* Corresponding author:Hojatmirsadeghi@yahoo.com