مقایسه اثرات زمان در عملکرد آنتی‌اکسیدان طبیعی و مصنوعی (اسید اسکوربیک و بوتیل هیدروکسی آنیزول) بر فیله ماهی خنو خاکستری (*Diagramma pictum*) در طول دوره انجماد

سحر جلیلی[1*] و معالم عربی[2]

۱) استادیار گروه شیلات و فرآوری آبزیان، واحد آبادان، دانشگاه آزاد اسلامی، آبادان، ایران. *رایانامه نویسنده مسئول: sahar.jalili2005@gmail.com

۲) دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه فرآوری آبزیان، واحد آبادان، دانشگاه آزاد اسلامی، آبادان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۱۷

چکیده

ماهیان به‌دلیل میزان بالای اسیدهای چرب چندغیراشباع در بافت چربی بسیار فسادپذیر بوده و لذا جلوگیری یا کنترل این پدیده تا زمان مصرف ضرروی است. هدف از انجام پژوهش حاضر مقایسه اثر آنتی‌اکسیدان اسید اسکوربیک و بوتیل هیدروکسی آنیزول بر شاخص‌های بیوشیمیایی فساد و شاخص‌های چشایی فیله ماهی خنوی خاکستری (*Diagramma pictum*) در شرایط انجماد (۱۸- درجه سانتی‌گراد) به مدت ۴ ماه بود. فیله ماهی در تیمار اسید اسکوربیک ۱/۵ درصد، بوتیل هیدروکسی آنیزول ۱/۵ درصد و یک تیمار ترکیبی با غلظت ۰/۵ درصد از هر دو نوع آنتی-اکسیدان آغشته گردید و شاخص‌های فساد چربی شامل پراکسید، اسید چرب آزاد، اسید تیوباربیتوریک، بازهای ازته فرار و همچنین ارزیابی حسی در زمان‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ ماه در شرایط انجماد اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که میزان پراکسید در پایان دوره در تیمار بوتیل هیدروکسی آنیزول ۱/۵ درصد و اسید اسکوربیک ۱/۵ درصد بیش از تیمار ترکیبی بود. با این وجود میزان پراکسید در تمام تیمارها به حد مجاز ۱۰ میلی‌اکی-والان بر کیلوگرم نرسید. حداقل میانگین شاخص اسید تیوباربیتوریک در تیمار ترکیبی ثبت شد و نشان داد که استفاده همزمان بوتیل هیدروکسی آنیزول و اسید اسکوربیک در کنترل این شاخص فساد معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). شاخص اسیدهای چرب آزاد در تیمار اسید اسکوربیک ۱/۵ درصد به شکل معنی‌داری بیش از سایر تیمارها بود ($p<۰/۰۵$). تیمار ترکیبی در انتهای مدت نگهداری توانست مقدار مواد ازته فرار را در سطح پایین‌تری نسبت به سایر تیمارها نگه دارد ($p<۰/۰۵$). حداکثر میزان بازهای ازته فرار در تیمار بوتیل هیدروکسی انیزول ۱/۵ درصد با ۲۱/۸۰۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ثبت شد، درحالی‌که میزان آن در تمام تیمارها به حد مجاز ۳۵-۳۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نرسید. نتایج نشان داد که تیمار ترکیبی به‌دلیل اثر سینرژیک هر دو آنتی‌اکسیدان توانسته است شاخص‌های فساد چربی را بهتر از سایر تیمارها مهار کند. همچنین بهترین تیمار در انتهای دوره نگهداری از نظر ارزیابی حسی مربوط به تیمار ترکیبی (اسید اسکوربیک ۰/۵ درصد + بوتیل هیدروکسی آنیزول ۰/۵ درصد) بود که اختلاف معنی‌داری در سه فاکتور طعم، بافت و رنگ نشان داد ($p<۰/۰۵$).

واژه‌های کلیدی: ارزیابی حسی، اکسیداسیون چربی، فساد، سنگسر ماهیان.

مقدمه

خانواده سنگسر از شناخته‌ترین و مهمترین گونه‌های ماهی در خلیج فارس و دریای عمان می‌باشد (Valinassab *et al*., 2011). خنو خاکستری با نام علمی *Diagramma pictum* و نام انگلیسی Painted sweet lips و نام‌های محلی خنو، برطام، ینم (در جنوب) از خانواده سنگسر ماهیان شناخته شده است. آبزیان سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع بوده که البته این اسیدهای

چرب ضروری بسیار مستعد اکسیداسیون و فساد هستند (قجقی و همکاران، ۱۳۹۴). فساد میکروبی و هیدرولیز چربی در ماهی به تولید مواد نامطبوع از جمله فرمالدهید، کتون و بازهای نیتروژنی فرار می‌شود (Jiang *et al*., 2010). عدم به‌کارگیری روش‌های صحیح در نگهداری ماهیان و محصولات دریایی به‌دلیل ارزش غذایی بالا منجر به تغییر سریع در فراسنجه‌های شیمیایی و بیوشیمیایی محصول می‌شود (Badii & Howell, 2001). فرآورده‌های دریایی در مقابل فساد ناشی از اسیدهای چرب غیراشباع حساس هستند که البته غلظت بالای ترکیبات هماتین و یون‌های فلزی موجود در عضله ماهی نیز این فرآیند را تسریع می‌کند (Gulzar & Zuber, 2000). انجماد یکی از روش‌های متداول جلوگیری از فساد میکروبی در بافت عضلانی ماهی محسوب می‌شود، هر چند پروتئین ماهی را دستخوش تغییراتی کرده و روی طعم و ظاهر بافت اثرگذار است (Feng *et al*., 2010). آبزیان به رغم داشتن ارزش غذایی بالا در برابر فساد اکسیداتیو بسیار حساس هستند.

اکسیداسیون چربی منجر به ایجاد طعم و رایحه نامطلوب، از دست دادن اسیدهای چرب غیراشباع، رنگدانه‌ها و ویتامین‌های محلول در چربی می‌گردد. به منظور جلوگیری از ایجاد متابولیت‌های اکسیداسیونی از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی یا طبیعی استفاده می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی به‌طور عمده شامل ترکیبات فنولیک می‌شوند که از میان آنها می‌توان به بوتیلات هیدروکسی تولوئن، بوتیلات هیدروکسی آنیزول و گالات اشاره کرد (Neveena *et al*., 2008).

اسیدهای آلی طبیعی به‌دلیل برخی خصوصیات آنتی-اکسیدانی، هزینه‌های تولید پایین در طیف گسترده‌ای از مواد غذایی به‌عنوان نگهدارنده استفاده می‌شوند (Rey *et al*., 2012). اسید اسکوربیک از جمله اسیدهای آلی بوده که علاوه بر نقش تغذیه‌ای به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی به عنوان یک ماده افزودنی و نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی استفاده می‌شود (Min & Krochta, 2007). عملکرد آنتی‌اکسیدانی ویتامین‌ها و به‌خصوص اسید اسکوربیک به واسطه حذف رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش فعالیت‌های اکسیداسیون چربی‌ها اثبات شده است (Liao & Seib, 1988; Benvenuti *et al*., 2004). اثرات مهارکنندگی اکسیداسیون چربی‌ها توسط اسید اسکوربیک و نمک‌های آن به‌عنوان یک ماده افزودنی در روغن ماهی (Osborn-Bavnes & Akon; 2003). فیله ماهی و ماهی کامل (Badii & Hawell, 2002; Pourashouri *et al.,* 2008; Aubourg *et al.,* 2002) گزارش شده است. اجاق و همکاران (۱۳۸۳) و قجقی و همکاران (۱۳۹۴) مطالعاتی را با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی اسید اسکوربیک به‌ترتیب روی ماهی کیلکا و فیله ماهی کپور معمولی انجام دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که تیمار حاوی اسید اسکوربیک بیشترین تاثیر را در تعویق فساد اکسیداسیونی ماهی به خود اختصاص داده است. امروزه تصور منفی از اضافه کردن افزودنی‌های مصنوعی به مواد غذایی در مصرف‌کنندگان ایجاد شده و تمایل به نگهدارنده‌های طبیعی جهت افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی افزایش یافته است.

اضافه کردن آنتی‌اکسیدان به طرز فراگیری برای افزایش میزان ماندگاری مواد غذایی و جلوگیری از افت خصوصیات حسی و ارزش تغذیه‌ای آنها مورد استفاده قرار می‌گیرد (حسینی‌پور و همکاران، ۱۳۹۱). هدف از این مطالعه مقایسه اثرات آنتی‌اکسیدانی اسید اسکوربیک و بوتیل هیدروکسی آنیزول بر فیله ماهی خنو خاکستری برای کنترل اکسیداسیون چربی و خواص چشایی آن در طول نگهداری در شرایط انجماد به مدت ۴ ماه بوده است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۰ عدد ماهی خنو خاکستری (میانگین وزن ۱/۹۰۰ ± ۲/۷۹۰ کیلوگرم) تازه صید شده از آب‌های

خلیج فارس در صیدگاه بندر خرمشهر خریداری شد و درون جعبه‌های حاوی یخ (نسبت ماهی به یخ برابر ۲:۱) در زمان کمتر از ۳۰ دقیقه به مرکز تحقیقات شیلات و علوم وابسته دانشگاه آبادان منتقل شدند. نمونه‌های ماهی سپس با آب شرب شستشو و تخلیه شکمی گردیدند تا در نهایت فیله‌ها به‌صورت دستی آماده شوند.

تیمارهای اسید اسکوربیک با خلوص ۹۹/۷ درصد (Merck-Germany) و بوتیلن هیدروکسی آنیزول با نسبت‌های ۱/۵ گرم در آب مقطر سرد (۴±۱ درجه سانتی‌گراد) به‌طور جداگانه تهیه گردیدند. همچنین ۰/۵ گرم اسید اسکوربیک و ۰/۵ گرم بوتیلن هیدروکسی آنیزول روی شیشه ساعتی و با استفاده از ترازوی دیجیتال وزن شده و در آب مقطر سرد حل گردیدند (جدول ۱). سپس فیله‌های ماهی خنو به نسبت ۱:۱ وزن ماهی در محلول‌های تهیه شده قرار داده شدند (Kilinic *et al.*, 2009). پس از سپری شدن ۱۰ دقیقه در دمای محیط (۲۰ درجه سانتی‌گراد)، فیله‌ها را از محلول خارج کرده و در کیسه‌های پلی اتیلنی به صورت مجزا بسته-بندی و کدگذاری گردیدند تا به فریزر با درجه برودت ۱۸- درجه سانتی‌گراد منتقل شوند. نمونه‌ها در ادامه به آزمایشگاه مرکزی واحد علوم و تحقیقات تهران منتقل گردید و در فواصل زمانی ۳۰ روز به منظور تعیین شاخص‌های کیفی (شیمیایی) و چشایی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جدول ۱. راهنمای فرمولاسیون تیمارها

نام ماده	درصد ماده مصرفی
اسید اسکوربیک	۱/۵
بوتیل هیدروکسی آنیزول	۱/۵
اسید اسکوربیک + بوتیل هیدروکسی آنیزول	۰/۵+۰/۵

آزمون‌های شیمیایی

اندازه‌گیری عدد پراکسید (PV)

ابتدا روغن از ۲۵ گرم نمونه گوشت ماهی توسط محلول‌های متانول و کلروفوم طبق روش Blight و Dyer (۱۹۵۹) استخراج و درون ارلن‌های مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد.

حدود ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسید استیک کلروفرمی (نسبت ۳:۲) به محتویات ارلن اضافه شد. میزان ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته یک درصد به مجموعه اضافه و مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیتر گردید تا میزان پراکسید به صورت میلی‌اکی‌والان در هزار گرم چربی نمونه گزارش شود (Egan *et al.*, 1997).

اندازه‌گیری شاخص تیوباربیتوریک اسید (TBA)

اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدهاید یکی از رایج ترین روش‌ها برای بررسی پراکسیداسیون لیپیدها، سلول ها و مایعات بدن است. اساس این روش در واکنش شیمیایی میان یک مولکول MDA (که به‌طور طبیعی در اثر پراکسیداسیون لیپیدها در محیط تولید و آزاد می-شوند) با دو مولکول تیوباربیتوریک اسید (TBA= 2-Thiobarbituric acid) بوده که به تشکیل کمپلکس رنگی (صورتی رنگ) MDA-TBA می‌انجامد. با استفاده از روش‌های رنگ‌سنجی می‌توان مقدار جذب نوری این کمپلکس در طول موج ۵۳۲ نانومتر را خوانده و مقدار مالون‌دی‌آلدئید را بر حسب میلی‌گرم مالون‌آلدئید به ازای هر کیلوگرم از نمونه اندازه‌گیری کرد (Egan *et al.*, 1997).

اندازه‌گیری هیدرولیز چربی‌ها (FFA)

مقدار ۲۵ میلی‌لیتر از محلول صاف شده به یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل و ۲۵ میلی‌لیتر الکل خنثی شده به آن افزوده شد. اسیدهای چرب آزاد به وسیله محلول سود سودآور ۰/۱ نرمال در برابر معرف فنل فتالین خنثی شده و اسیدهای چرب آزاد بر حسب اسید اولئیک طبق رابطه زیر محاسبه گردید. یک سانتی-مترمکعب محلول سود سودآور ۰/۱ نرمال معادل ۰/۲۷۲ گرم اسید اولئیک است. مادامی که درصد اسید آزاد در چربی استخراج شده از ۱/۲ درصد متجاوز نکرده باشد، می‌توان نمونه را قابل قبول دانست (Egan *et al.*, 1997).

$$\text{اسیدهای چرب آزاد} = \frac{\text{حجم سود} \times N \times 2.28 \times N/10}{\text{روغن نمونه وزن}}$$

اندازه‌گیری میزان بازهای ازته فرار (TVN)

مقدار ۱۰ گرم از نمونه گوشت، ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب و چند قطعه سنگ جوش به کلدال اضافه نموده و در یک ارلن مایر به ظرفیت ۵۰۰ سانتی‌مترمکعب به‌عنوان ظرف گیرنده زیر قسمت سردکننده دستگاه تقطیر قرار داده شدند. سپس ۲۵ سانتی‌مترمکعب از محلول ۲ درصد اسید بوریک و چند قطره از معرف متیل قرمز به ارلن‌ها اضافه گردید. عملیات تقطیر با حرارت‌دهی مخلوط فوق به مدت ۲۵ دقیقه ادامه یافته و محلول تقطیر شده پس از سرد شدن به وسیله اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتر گردید. مقدار مصرف اسید سولفوریک در ۱۴ ضرب شده تا مقدار ازت فرار برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده گوشتی محاسبه شود (AOAC, 1995).

ارزیابی حسی

آزمون‌های حسی مربوط به رنگ، بو، شکل ظاهری بافت و طعم مطابق جدول ۲ انجام پذیرفت (Lin & Morrissey, 1994). نمونه‌ها بعد از انجمادزدایی بخارپز شدند و میزان ۴۰ گرم نمونه برای هر نفر در اختیار گروه ارزیاب قرار داده شد. آزمون حسی با استفاده از یک گروه ارزیاب نیمه آموزش دیده متشکل از ۷ نفر انجام گرفت. این افراد نظرات خود را پس از ارزیابی رنگ، بو، طعم، مزه و بافت هر تیمار روی پرسشنامه منتقل نمودند. آزمون بر اساس مقیاس هدونیک ۵ درجه‌ای انجام شد.

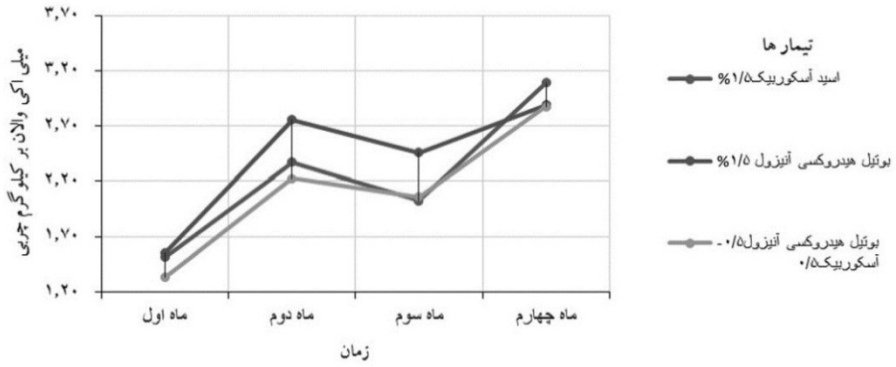
جدول ۲. امتیازات ارزیابی حسی برگرفته از Lin و Morrissey (۱۹۹۴)

طعم و مزه	بافت	بو	رنگ	امتیازات
بسیار خوب	بسیار خوب	بسیار خوب	بسیار خوب	۵
خوب	خوب	خوب	خوب	۴
قابل قبول	قابل قبول	قابل قبول	قابل قبول	۳
ضعیف	ضعیف	ضعیف	ضعیف	۲
بسیار ضعیف	بسیار ضعیف	بسیار ضعیف	بسیار ضعیف	۱

در تجزیه و تحلیل داده‌ها جهت نرمال بودن توزیع، آزمون کشیدگی و چولگی استفاده شد. تمامی آزمون‌ها در سه تکرار انجام و از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. میانگین داده‌ها توسط آزمون ANOVA در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مقایسه شدند. در زمانی که واریانس‌ها در تیمارهای مختلف از نظر آماری برابر هستند از آزمون شف برای بررسی اختلاف میانگین شاخص در ماه‌های مختلف استفاده گردید و زمانی که واریانس‌ها از نظر آماری برابر نبودند، از آزمون دانت استفاده شد.

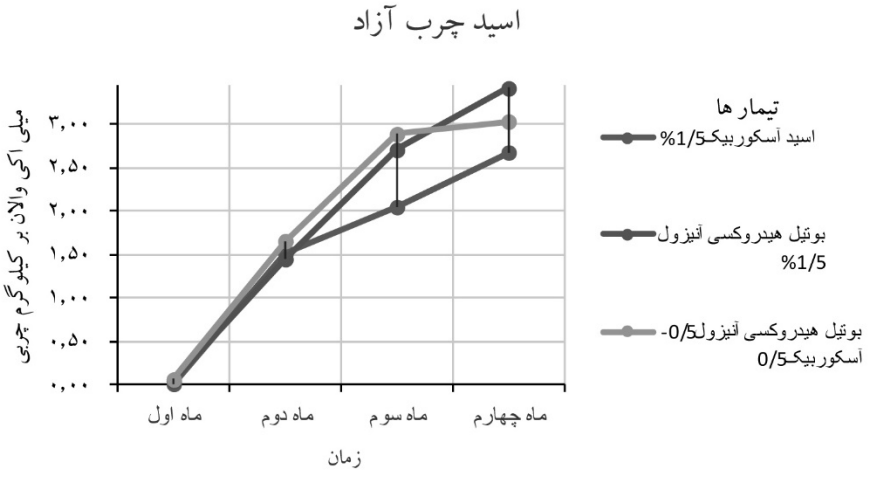
نتایج

تغییرات پراکسید تیمارهای مورد بررسی طی ماه‌های مختلف نگهداری در شکل ۱ نشان داده شده است. با گذشت زمان پراکسید در تمامی تیمارها به‌طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) افزایش داشته است. حداکثر میزان پراکسید در پایان ماه چهارم با ۳/۰۹ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم در تیمار اسید اسکوربیک ۱/۵ درصد ثبت شده (شکل ۱)، در حالی که میانگین پراکسید در تیمار ترکیبی در انتهای دوره در کمترین میزان ثبت گردید.



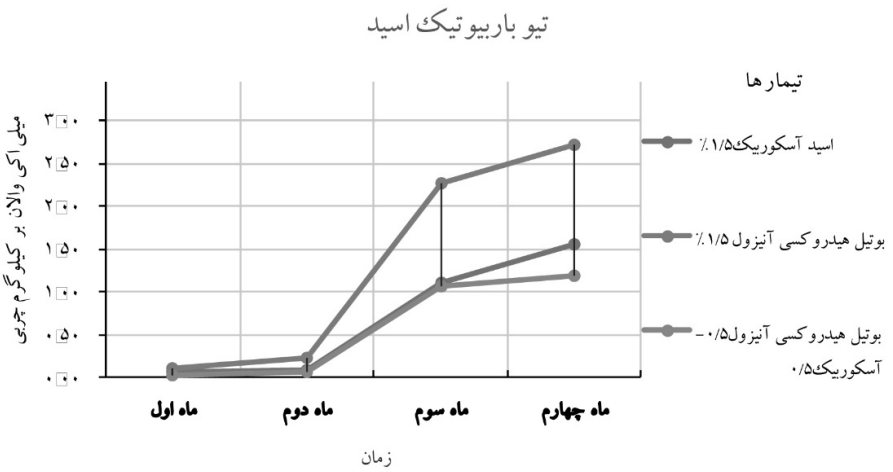
شکل ۱. مقایسه میزان *پراکسید* در بافت عضلانی ماهی خنوخاکستری (*Diagramma pictum*) در شرایط انجماد

نتایج بررسی اسیدهای چرب آزاد در سه تیمار مورد مطالعه در طول نگهداری در شرایط انجماد در شکل ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود میزان اسیدهای چرب آزاد با افزایش دوره نگهداری به‌طور معنی‌داری (p< ۰/۰۵) افزایش یافته است. در پایان ماه چهارم نگهداری تیمار بوتیل هیدروکسی آنیزول ۱/۵ درصد با ۳/۴۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم چربی دارای بالاترین اسید چرب آزاد بود، (شکل۲). میانگین اسیدهای چرب آزاد در تیمار اسید اسکوربیک ۱/۵ درصد در طول دوره با تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌دار نشان داد.



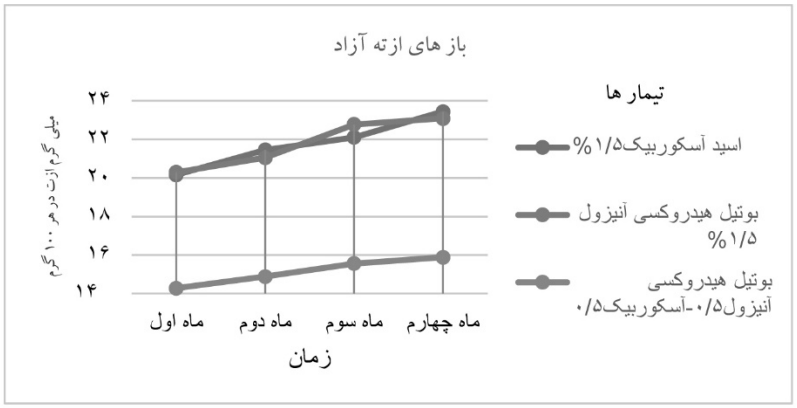
شکل ۲. مقایسه میزان اسید چرب آزاد در بافت عضلانی ماهی خنوخاکستری (*Diagramma pictum*) در شرایط انجماد

تغییرات تیوباربیتوریک اسید در تیمارهای مورد بررسی طی ماه‌های مختلف نگهداری در شکل ۳ نشان داده شده است. مقدار اسید با گذشت زمان در تمامی تیمارها به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) افزایش یافته است. بیشترین مقدار اسید مربوط به تیمار بوتیل هیدروکسی آنیزول ۱/۵ درصد بوده و کمترین میزان مربوط به فیله ماهی حاوی تیمار ترکیبی بوده است. اسید تیوباربیتوریک در تیمار ترکیبی در طول دوره با تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌دار نشان داد.



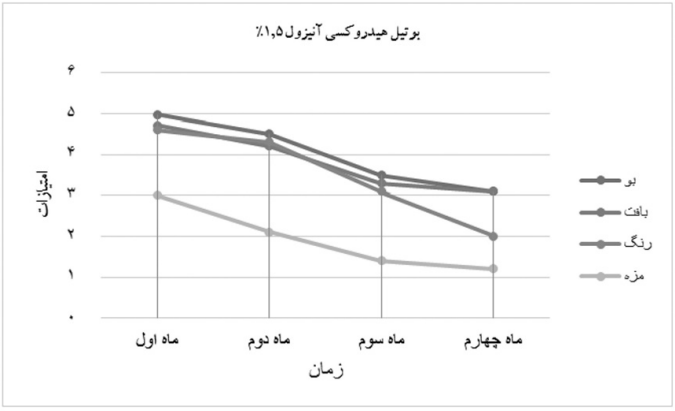
شکل ۳. مقایسه میزان تیوباربیتوریک اسید در بافت عضلانی ماهی خنوخاکستری (*Diagramma pictum*) در شرایط انجماد

میزان بازهای ازته فرار طی ماه‌های مختلف نگهداری در شکل ۴ نشان داده شده است. بازهای ازته فرار با گذشت زمان در تمامی تیمارها از روند افزایش برخوردار بوده است. حداقل میزان بازهای ازته فرار در تیمار ترکیبی با ۱۵/۱۵ میلی‌گرم ازت در ۱۰۰ گرم گوشت به‌دست آمد. همچنین بالاترین میزان بازهای ازته فرار در تیمار بوتیل هیدروکسی انیزول ۱/۵ درصد با ۲۱/۸۰ میلی‌گرم ازت در ۱۰۰ گرم گوشت به ثبت رسید.



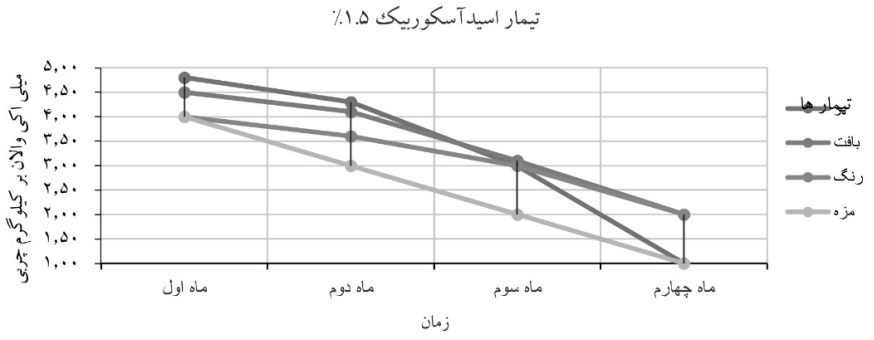
شکل ۴. مقایسه میزان بازهای ازته آزاد در بافت عضلانی ماهی خنوخاکستری (*Diagramma pictum*) در شرایط انجماد

نتایج ارزیابی حسی در مورد ۴ فراسنجه بو، بافت، رنگ و طعم در ۳ تیمار مورد مطالعه در شکل‌های ۷-۵ ارایه شده است. در طول نگهداری فیله ماهی در سردخانه (۱۸- درجه سانتی‌گراد) تغییرات قابل ملاحظه‌ای در خواص چشایی آنها ایجاد گردید. شکل ۵ اثرات تیمار بوتیل هیدروکسی آنیزول ۱/۵ درصد را بر روی فراسنجه‌های حسی نشان می‌دهد. نتایج نشان داد از ماه سوم نگهداری به بعد، امتیازات کمتری از فراسنجه‌ها توسط ارزیابان ثبت شده است. کمترین امتیاز در پایان دوره به فراسنجه مزه در این تیمار تعلق گرفت. همچنین نتایج نشان داد در حفظ فاکتور بو این تیمار تاثیر معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) داشته است.



شکل ۵. شاخص‌های ارزیابی حسی تیمار بوتیل هیدروکسی آنیزول ۱/۵ درصد در بافت عضلانی ماهی خنوخاکستری (*Diagramma pictum*)

شکل ۶ اثرات تیمار اسید اسکوربیک ۱/۵ درصد را بر روی فراسنجه‌های حسی نشان داده است. یافته‌ها نشان داد دو فراسنجه بافت و مزه در طول نگهداری دچار افت کیفیت شده‌اند و در ماه چهارم حداقل امتیاز را از ارزیابان دریافت کرده‌اند. همچنین این تیمار تاثیر معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بر فراسنجه‌های حسی نداشته است.



شکل ۶. شاخص‌های ارزیابی حسی تیمار اسید آسکوربیک ۱/۵ درصد بافت عضلانی ماهی خنوخاکستری (*Diagramma pictum*)

شکل ۷ اثرات تیمار ترکیبی را بر فراسنجه‌های حسی ارایه داده است. نتایج نشان می‌دهد که فراسنجه‌های حسی در این تیمار تا پایان ماه چهارم کاهش داشته است، اما این تیمار روی سه فاکتور رنگ،

بافت و طعم تاثیر معنی‌دار (p<۰/۰۵) نسبت به سایر تیمارها داشته است.

شکل ۷. شاخص‌های ارزیابی حسی تیمار ترکیبی (بوتیل هیدروکسی آنیزول ۰/۵ درصد + اسید آسکوربیک ۰/۵ درصد) بافت عضلانی ماهی خنوخاکستری (*Diagramma pictum*)

بحث و نتیجه‌گیری

اکسیداسیون چربی یک مشکل اصلی در ماهی و سایر فرآورده‌های دریایی است که منجر به ایجاد بو و طعم نامطلوب می‌شود. ماهیان دریایی به‌دلیل غنی بودن از اسیدهای چرب غیراشباع نسبت به اکسیداسیون چربی حساسیت بالاتری داشته و به همین دلیل زمان ماندگاری آن کوتاه است. هیدروپراکسید محصول اولیه اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای چرب چندغیراشباع (PUFA) است. به همین دلیل اکسیداسیون اولیه چربی با استفاده از اندازه‌گیری میزان پراکسید ارزیابی می‌شود (Lin & Lin, 2005). این ترکیبات باعث به‌وجود آمدن ترکیبات ثانویه مثل آلدئیدها و کتون‌ها می‌شوند که سبب تند شدن اکسیداتیو می‌گردد (Ozyurt *et al.*, 2009). پلی‌فنول‌ها توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد و به‌خصوص رادیکال‌های پراکسی را دارند که به عنوان یکی از کلیدی‌ترین واکنش‌های زنجیره میانی باعث خاتمه دادن چرخه واکنش فساد اکسیداسیونی می‌شوند (باباخانی-لشکان و همکاران، ۱۳۹۲). میزان پراکسید تمام تیمارها در همین آزمایش با گذشت زمان افزایش داشته است.

نتایج نشان داد حداکثر میزان پراکسید توسط تیمار بوتیل هیدروکسی انیزول ۱/۵ درصد ثبت شده و حداقل میزان پراکسید در پایان دوره نگهداری مربوط به تیمار ترکیبی بوده است. این یافته‌ها نشان داد که تیمار ترکیبی به‌طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) توانسته است این فراسنجه را مهار کند. لازم به ذکر است که هیچ کدام از تیمارها به حداکثر مجاز ۱۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم نرسیده‌اند (پروانه، ۱۳۷۴). آنتی‌اکسیدان‌ها با اهدای هیدروژن با لیپیدهای اکسید نشده رقابت نموده و با اهدای یک اتم هیدروژن یا الکترون آزاد باعث تشکیل ترکیبات پایدار می‌شوند. این ترکیبات همچنین ممکن است از طریق شلاته کردن یون-های فلزی (عوامل پرواکسیدان)، فرو نشاندن اکسیژن یگانه یا حذف پر اکسید، اثر مثبت خود را در جلوگیری از فساد اعمال کنند (Diplock, 1994).

میزان اسیدهای چرب آزاد با افزایش دوره نگهداری به‌طور معنی‌داری افزایش یافته و در پایان دوره نگهداری تیمار اسید اسکوربیک ۱/۵ درصد کمترین مقدار را ثبت کرده است. میزان هیدرولیز چربی‌ها و تشکیل اسیدهای

چرب آزاد در تیمار اسید اسکوربیک ۱/۵ درصد نسبت به دو تیمار دیگر کمتر بوده است. نتایج این مطالعه نشان داد که اسید اسکوربیک می‌تواند سبب کاهش اسیدهای چرب آزاد در فیله ماهی خنو خاکستری در طی دوره انجماد گردد که با نتایج قجقی و همکاران (۱۳۹۴)؛ Ramanathan و Das (۱۹۹۲)، Nazemroya و همکاران (۲۰۰۹) همخوانی دارد. تولید و رها شدن اسیدهای چرب آزاد منجر به کاهش کیفیت و ارزش غذایی محصولات و همچنین تشکیل ترکیبات ثانویه می‌شود که تاثیر منفی بر شاخص‌های حسی ماهی دارد (Losada *et al*., 2004). علاوه بر این، ترکیبات ثانویه روی پایداری ساختار پروتئین‌ها اثر گذاشته و فرآیند دناتوره شدن آنها را شدت می‌بخشد (Aubourg, 2001; Lugasi *et al.*, 2007).

شاخص اسید تیوباربیتوریک به‌طور گسترده‌ای به عنوان شاخص میزان اکسیداسیون ثانویه چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد که ناشی از به‌وجود آمدن مواد واکنش‌دهنده با اسید تیوباربیتوریک از مرحله دوم اتواکسیداسیون است که طی آن پراکسیدها به موادی چون آلدئیدها و کتون‌ها اکسید می‌شوند (Connell, 1959; Yanar, 2007). میزان اسید تیوباربیتوریک در طول نگهداریافزایش پیدا کرده که بیشترین میزان مربوط به تیمار بوتیل هیدروکسی آنیزول ۱/۵ درصد بوده و حداقل مقدار ثبت شده در پایان دوره نگهداری مربوط به تیمار ترکیبی بود. نتایج نشان داد که تیمار ترکیبی توانسته اکسیداسیون را نسبت به سایر تیمارها مهار کند. روند افزایشی این شاخص در طول دوره نگهداری ممکن است به‌دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در عضله باشد. همسو با این نتایج Rostamzad و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند اسید اسکوربیک با کاهش شاخص اسید تیوباربیتوریک روند اکسایش چربی‌ها را در بافت فیله ماهی خاویاری کنترل می‌کند. اسید اسکوربیک با جذب اکسیژن می‌تواند اکسیژن در دسترس برای فرآیند اکسایش چربی را محدود کند (Tajkarimi & Ibrahim, 2011). اکسیداسیون اولیه در آبزیان با اندیس پراکسید ثانویه و اسید تیوباربیتوریک مشخص می‌گردد. شاخص پراکسید بین صفر تا ۲ بسیار مطلوب، ۲ تا ۵ خوب، ۵ تا ۸ قابل پذیرش و بالاتر از ۱۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم چربی به علت تند شدن فیله‌ها قابل پذیرش نیست (Erkan *et al*., 2011). میزان مجاز تیوباربیوتریک اسید در گوشت ماهی بسته به نوع گونه می‌تواند بین ۴-۲ میلی‌گرم مالون آلدئید در کیلوگرم گوشت ماهی تغییر کند (Chemg & Sun, 2015).

تعیین میزان بازهای ازته فرار شاخصی برای نشان دادن فسادپذیری بافت ماهی است. این ترکیب عمدتا از تری متیل آمین، دی متیل آمین، آمونیاک و ترکیبات فرار دیگر نیتروژن تشکیل شده است. این ترکیبات در اثر فعالیت آنزیم‌ها و میکروب‌های پروتئولیک و تجزیه پروتئین‌ها به‌وجود می‌آیند (Kilinic *et al*., 2009). حداکثر مقدار قابل قبول این ترکیب طبق استانداردها ۳۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم گوشت می‌باشد (Ojagh & Rezaei, 2010). با توجه به شکل ۴ در مطالعه حاضر با افزایش دوره نگهداری، میزان بازهای ازته آزاد ناشی از فساد و تجزیه پروتئین فیله ماهی در تمام نمونه‌ها افزایش یافت ولی در پایان دوره نگهداری از حداکثر مجاز تجاوز ننمود. حداقل میزان بازهای ازته فرار در پایان دوره نگهداری در تیمار ترکیبی با ۱۵/۱۵ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم گوشت ثبت شد و نتایج نشان داد که تیمار ترکیبی توانسته این فاکتور را مهار کند. نتایج مطالعات قجقی و همکاران (۱۳۹۴) و حسینی‌پور و همکاران (۱۳۹۱) در کنترل اکسیداسیون با استفاده از آنتی‌اکسیدان اسید اسکوربیک و بوتیلن هیدروکسی تولئن با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.ارزیابی حسی در کنار آزمایش‌های شیمیایی و میکروبی (به‌عنوان روشی مکمل)

برای تعیین میزان فساد و عمر ماندگاری ماهی و محصولات آن لازم و ضروری است (Aubourg *et al.*, 2002). ارزیابی حسی نمونه‌ها با چهار مشخصه بو، طعم، بافت و رنگ فیله ماهی خنو خاکستری در سه تیمار مورد مطالعه ارایه شده است.

تیمار بوتیل هیدروکسی آنیزول ۱/۵ درصد در پایان دوره نگهداری توانست امتیاز ۳ (قابل قبول) را برای شاخص بو به‌دست آورد. این تیمار نسبت به دو تیمار دیگر در حفظ شاخص بو در ماهی خنوخاکستری تاثیر داشته است. تیمار اسید اسکوربیک ۱/۵ درصد در پایان دوره نگهداری در شاخص بو و مزه حدودا به امتیاز ۱ (بسیار ضعیف) رسید و نشان داد که این تیمار در حفظ شاخص بو و مزه بی‌تاثیر بوده است. تیمار ترکیبی در پایان دوره نگهداری در شاخص مزه و رنگ با امتیاز ۳ (قابل قبول) توانست بالاترین امتیاز را از ارزیابان دریافت کند. این تیمار در حفظ شاخص رنگ، مزه و بافت موثر بوده است.

نتایج این پژوهش نشان داد که آنتی‌اکسیدان‌های آزمایشی در کنترل فرآیند اکسیداسیون و شاخص‌های فساد چربی شامل اسیدهای چرب آزاد، اسید تیوباربیتوریک، بنزون پراکسید و بازهای آزته آزاد در فیله ماهی خنوخاکستری اثرات مثبت دارند. شاخص‌های فساد (در تمام تیمارها) به حد مجاز تعیین شده نرسید. عملکرد تیمار ترکیبی موجب کاهش سرعت تشکیل پراکسید شد و به دنبال آن میزان اسید تیوباربیتوریک (محصول ثانویه پراکسید) در این تیمار کاهش پیدا کرد. همچنین بر اساس نتایج ارزیابی حسی، تیمار ترکیبی بهترین امتیاز را در شاخص رنگ، مزه و بافت دریافت کرد. در واقع تاثیر سینرژیک این دو آنتی‌اکسیدان باعث افزایش قدرت و مهار اکسیداسیون شده است. بنابراین کیفیت ماهی فیله خنو خاکستری در زمان استفاده از دو آنتی‌آکسیدان بهبود می‌یابد.

منابع

اجاق، م.، سحری، م.ع. و رضایی، م. (۱۳۸۳) آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بر کیفیت ماهی کیلکای معمولی (*Clupeonella cultiventris*) به هنگام نگهداری در یخ. مجله علوم و فنون دریایی ایران، ۳(۴): ۱-۷.

باباخانی‌لشکان، ا.، رضایی، م. و رضایی، ک. (۱۳۹۲) استفاده از عصاره جلبک قهوه‌ای سارگاسوم (*Sargassum angustifolium*) به منزله آنتی‌اکسیدان در نگهداری گوشت چرخ شده ماهی کیلکای معمولی (*Clupeonella cultiventris*). نشریه شیلات مجله منابع طبیعی ایران، ۶۶(۱): ۱-۱۳.

پروانه، و. (۱۳۷۴) کنترل کیفی و آزمایش‌های شیمیایی مواد غذایی. تهران: انتشارات دانشگاه تهران، ۳۳۲ صفحه.

حسینی‌پور، ح.، پیغمبری، ی. و رستم‌زاد، ه. (۱۳۹۱) مقایسه عصاره برگ زیتون و آنتی‌اکسیدان بوتیله هیدروکسی تولوئن (BHT) بر زمان ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شرایط نگهداری سرد ۴ درجه سانتی‌گراد. نشریه فرآوری و نگه‌داری مواد غذایی، ۴(۲): ۶۷-۸۳.

قجقی، ف.، حسینی‌شکرآبی، پ. و محمدی، آ. (۱۳۹۴) اثر ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی اسید اسکوربیک بر فیله ماهی کپور معمولی (*Cyprinus caprio*) نگهدارس شده در یخچال. مجله میکروب‌شناسی مواد غذایی، ۲(۴): ۱۳-۲۵.

AOAC. (1995) Official methods of analysis of the association of official chemists. 15th Eds. Washington, DC, USA. 277p.

Aubourg, S. (2001) Fluorescence study of the prooxidant activity of free fatty acids on marine lipids. Journal of the Science of Food and Agriculture, 81(4): 385-390.

Aubourg, S.P., Lehmann, I. and Gallardo, M.J. (2002) Effect of previous chilled storage on rancidity development in frozen horse mackerel *(Trachurus trachurus)*. Journal of Science of Food and Agriculture, 82(15): 1764-1771.

Badii, F. and Howell, N. (2001) A comparison of biochemical changes in cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) fillets during frozen storage. Journal of Science of Food and Agriculture, 82(1): 87-97.

Badii, F. and Howell, N. (2002) Effect of antioxidants, citrate, and cryoprotectants on protein denaturation and texture of

4c. Journal of Aquatic Food Product Technology, 18(2009): 3-17.

Liao, M.L. and Seib, P.A. (1988) Chemistry of L-ascorbic acid related to foods. Journal Food Chemistry, 30(4): 289-312.

Lin, C.C. and Lin, C.S. (2005) Enhancement of storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. Food Control, 16(2): 169-175.

Lin, D. and Morrissey, M.T. (1994) Iced storage characteristics of Northen squawfish (*Ptychcheilus oregonensis*). Journal of Aquatic Food Production Technology, 3(2): 25-43.

Losada, V., Barrose-velazquez, J., Gallardo, J.M. and Abourg, S.P. (2004) Effect of advanced chilling methods on lipid damage during sardine (*Sarina pilchardus*) storage. Europian Journal of Lipid Science and Technology, 106(12): 40-47.

Lugasi, A., Lodasa, V., Hovai, J., Lebovics, V., Jakoczi, I. and Abourg, S. (2007) Effect of pre-soaking whole pelagic fish in plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. Journal Food Science Technology, 40(2007): 2946-2969.

Min, S. and Krochta, J.M. (2007) Ascorbic acid-containing wheyprotein film coatings for control of oxidation. Journal of Agriculture & Food Chemistry, 55(8): 2964-2969.

Naveena, B., Sen, A.R., Vaithiyanathan, S., Babji, Y. and Kondaiah, N. (2008) Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chichen patties. Meat Science, 80(4): 1304-1308.

Nazemroya, S., Sahari., M.A. and Rezaei, M. (2009) Effect of frozen storage on fatty acid composition and changes in lipid content of *Scomberomorous commersoni* and *Carcharinus dussumieri*. Journal of Applied Ichtiology, 25(1): 91-95.

Ojagh, S. and Rezaei, M. (2010) Effect of chitosan coating enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry, 120(1): 193-198.

Osborn-Barnes, H. and Akoh, C. (2003) Copper-catalyzed oxidation of a structured lipid-based emulsion containing α-tocopherol and citric acid: Influence of pH and NaCl. Journal of Agriculture & Food Chemistry, 51(23): 6851-6855.

Ozyurt, G., Kuley, E., Ozkutuk, S. and Ozogul, F. (2009) Sensory, microbiological and frozen cod (*Gadus morhua*). Journal Agririculture Food Chemistry, 50(7): 2053-2061.

Benvenuti, S., Pellati, F., Melegari, M. and Bertelli, D. (2004) Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. Journal Food Science, 69(3): 164-169.

Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37(8): 911-917.

Chemg, J.H. and Sun., D.W. (2015) Suitability of hyperspectral for rapid evaluation of thiobarbituric acid (TBA) value in grass carp *(Ctenopharyngodon idella*) fillet. Journal Chemistry, 171(2015): 228-256

Connell, J.J. (1959) Aggregation of cod myosin during frozen storage. Nature, 183(4662): 664-668.

Diplock, A.T. (1994) Free radical damage and its control. 1st Eds., Elsevier Science B.V., 28(chapter 4): 113-130.

Egan, H., Krik, R.S. and Sawyer, R. (1997) Pearsons chemichal analysis of foods. 9th Eds. Churchill living tone, Edinbourg, Scotland, UK. pp: 609-643.

Erkan, N., Ulsouy, S. and Tosun, S.Y. (2011) Effect of combined application of plant extract and vacume packaged treatment on quality of hot smoked rainbow trout. Journal of Consumer Protection and Food Safety, 6(4): 419-426.

Feng, Z., Ping, Z. and Chao, S. (2010) Amino acid and fatty acid composition and nutritional quality of muscle in the pomfret (*Pampus punctatissimus*). Journal of Food Chemistry, 118(2): 224-227.

Gulzar, S. and Zuber, M. (2000) Determination of omega-3 fatty acid composition in fresh water fish. International Journal Agriculture & Biology, 2(4): 342-343.

Jiang, W.D., Feng, L., Liu, Y., Jiang, J., Hu, K., Li, S.H. and Zhou, X.Q. (2010) Lipid peroxidation status of muscle, intestine and hepatopancreas for juvenile Jian carp (*Cyprinus caprio* var. jian) fed graded levels of myo-inositol. Journal Food Chemistry, 120(3): 692-697.

Kilinic, B., Calki, S., Dincer, T. and Tolsa, S. (2009) Microbiological, chemical, sensory, color, and textural changes of *rainbow trout* fillets with sodium acetat, sodium lactat, sodium citrate and stored at

Rostamzad, H., Shabanpour, B., Kashaninejad, M. and Shabani, A. (2011) Antioxidative activity of citric and ascorbic acids and their preventive effect on lipid oxidation in frozen Persian sturgeon fillets. Latin American Applied Research, 41(2): 135-140.

Tajkarimi, M. and Ibrahim, S.A. (2011) Anti-microbial activity of ascorbic acid alone or in combination with lactic acid on Escherichia coli carrot juice. Journal Food Control, 22(6): 801-804.

Valinassab, T., Jalali, S., Hafezieh, M. and Zarshenas, G.A. (2011) Evaluation of some feeding indices of Pomadasys Kaakan in the Northern Persian Gulf. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 10(3): 497-504.

Yanar, Y. (2007) Quality changes of hot smoked catfish (*Clarias gariepinus*) during refrigerated storage. Journal of Muscle Foods, 18(4): 391-400.

chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. Food Chemistry, 114(2): 505-510.

Pourashouri, P., Shabanpour, B., Aubourg, S., Rohi, J. and Shabani, A. (2008) An investigation of rancidity inhibition during frozen storage of Wels catfish (*Silurus glanis*) fillets by previous ascorbic and citric acid treatment. International Journal of Food Science Technology, 44(8): 1503-1509.

Ramanathan, L. and Das, N.P. (1992) Studies on the control of lipid oxidation in ground fish by some polyphenolic natural products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40(1): 17–21.

Rey, M.S., Garcia-Soto, B., Fuertes Gomundi, J.R. and Aubourg, S. (2012) Effects of natural organic acid-icing system on the microbiological quality of commercially relevant chilled fish species. Food Science and Technology, 46(1): 217-223.

Effect of time on performance of natural and synthetic antioxidants (ascorbic acid and butylated hydroxyanisole) of painted sweetlips (*Diagramma pictum*) fillet during the frozen period

Sahar Jalili[1*] and Maalem Arabi[2]

1) Assistant Professor, Department of Seafood Processing and Fisheries, Islamic Azad University, Abadan Branch, Iran. *Corresponding Author Email Address: sahar.jalili2005@gmail.com
2) M.Sc. Graduated, Department of Seafood Processing, Islamic Azad University, Abadan branch, Iran.

Date of Submission: 2018/12/02 Date of Acceptance: 2019/03/08

Abstract

The aim of this study was to compare the antioxidant activities of ascorbic acid and butylated hydroxyanisole on biochemical deterioration and tasting indexes of painted sweetlips, *Diagramma pictum*, fillet under frozen condition (-18 C) for a period of 4 months. The fish fillet was treated with 1.5 % ascorbic acid, 1.5% butylated hydroxyanisole and a combined treatment with their 0.5% concentrations. The fat deterioration indices including peroxide value, free fatty acids, thiobarbituric acid, volatile nitrogenous bases, and by the intuitive evaluation were monthly measured after freezing. The results indicated that the peroxide value in the treatment of 1.5% butylated hydroxyanisole and 1.5 % ascorbic acid were higher than that in the combined treatment. However, peroxide value in all treatments didn't cross the limited level of 10 meq O_2 kg^{-1}. Minimum average of thiobarbituric acid index was found in the combined treatment (0.593 mg MDA kg^{-1}) indicating the effectiveness of this treatment in controlling the deterioration index ($p<0.05$). Fatty acids index in 1.5% ascorbic acid treatment was significantly higher than other treatments ($p<0.05$). At the end of the experimental period, the combined treatment limited the amount of volatile nitrogenous bases to the lowest level compared with the other treatments ($p<0.05$). The maximum amount of volatile nitrogenous bases was recorded in 1.5% butylated hydroxyanisole treatment. However, the volatile nitrogenous bases in all treatments did not cross the limited value of 30-35 mg 100 g^{-1}. Findings of the present study indicated that the combined treatment had more ability to inhibit the deterioration indexes of fat compared with the other treatments. In case of intuitive evaluation, the combined treatment (0.5% ascorbic acid +0.5% butylated hydroxyanisole) had the best results with significant differences in three factors of taste, tissue and color compared to the other treatments ($p<0.05$).

Keywords: Haemulidae, Lipid oxidation, Organoleptic test, Spoilage.