اثر افزودنی کیتوزان و روش‌های پخت بر میزان شکل‌گیری ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین در فیله فیل‌ماهی (*Huso huso*)

سیده مریم دانشور*، علیرضا عالیشاهی، سید مهدی اجاق، حجت میرصادقی

گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

*نویسنده مسئول: mastermaryam@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۸/۵/۲ تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۱۶

چکیده

هدف از این تحقیق اثر افزودنی کیتوزان و روش‌های پخت (سرخ کردن ماهی تابه‌ای و ماکروویو) در میزان تشکیل ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین (HAAs) در فیله فیل‌ماهی (*Huso huso*) بود. این آزمایش در ۶ تیمار طراحی شامل T_1 (شاهد خام بدون کیتوزان)، T_2 (شاهد سرخ شده بدون کیتوزان)، T_3 (نمونه خام حاوی یک درصد کیتوزان محلول در اسید)، T_4 (نمونه سرخ شده حاوی یک درصد کیتوزان محلول در اسید)، T_5 (نمونه پخته شده در ماکروویو بدون کیتوزان) و T_6 (نمونه پخته شده در ماکروویو حاوی یک درصد کیتوزان محلول در اسید) بود. استفاده از کیتوزان محلول در اسید (۱ درصد) در محتوای رطوبت، pH و تغییرات وزنی طی پخت اثر معنی‌داری داشت ($P\leq$۰/۰۵). در فیله طبخ شده مقادیر HAAs از جمله PhIP (Nd-۵/۶۸)، IQ (Nd-۱/۱۶)، MeIQ (Nd-۱/۶۶) و MeIQx (۰/۷-۶/۴۷) نانو گرم در گرم شناسایی شدند. میزان بازدارندگی کیتوزان در شکل‌گیری ترکیبات هتروسایکلیک در فیله طبخ شده ۵۷/۴۴ تا ۶۳/۹۸ درصد بود. نتایج نشان داد که کیتوزان محلول در اسید اثر معنی‌داری روی شاخص‌های پخت و پز و کاهش تولید ترکیبات HAAs در فیله فیل ماهی پخته شده داشت.

واژگان کلیدی: کیتوزان، فیله فیل‌ماهی، هتروسایکلیک آروماتیک آمین.

مقدمه

آبزیان از منابع مهم تأمین پروتئین برای انسان بوده و حاوی مقادیر قابل توجهی ویتامین‌های محلول در آب و چربی، مواد معدنی و اسیدهای چرب غیراشباع هستند که ضرورت وجود آن‌ها در جیره غذایی انسان مورد توجه قرار گرفته است (Shabbir *et al.*, 2015). فیل ماهی (*Huso huso*) با توجه به کیفیت مطلوب گوشت و خاویاری که دارد، یکی از مهم‌ترین ماهیان پرورشی در ایران است (هدایتی و باقری، ۱۳۸۹).

نوع پخت (سرخ کردن، کبابی و ماکروویو) و مدت زمان پخت عواملی هستند که در تشکیل ترکیبات آمین دخالت دارند. پخت غذا با دمای بالا و مدت کوتاه و برعکس، منجر به تولید مواد شیمیایی با وزن مولکولی پایین مانند هتروسایکلیک آروماتیک آمین‌ها می‌شود، این ترکیبات در حالت سرخ شده بیش‌تر خود را نشان می‌دهند (Rahman *et al.*, 2014). آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان بیش از ۲۵ نوع از ترکیبات مهم هتروسایکلیک آروماتیک آمین که عامل جهش در سلول‌های انسان هستند را در مواد پروتئینی پخته شده شناسایی کرده است که رایج‌ترین آن‌ها در پروتئین حیوانی پخته شده IQ، 4,8-DiMeIQx، PhIP، MeIQx، MeIQ، IQx، 7,8-DiMeIQx، 4,7,8-Tri DiMeIQx، AαC، MeAαC و TrP-P-1 می‌باشند (IARC, 1993). از ترکیبات مهم هتروسایکلیک آروماتیک آمین در ماهی طبخ شده به IQ (۲-amino-۳-methylimidazo[۴,۵-f]quinolone)، IQx (۲-amino-۳,۸-dimethylimidazo[۴,۵-f]quinoxaline)، MeIQ (۲-amino-۳,۴-dimethylimidazo[۴,۵-f]quinoline)، MeIQx (۲-amino-۳,۸-dimethylimidazo[۴,۵-f]quinoxaline)، PhIP (۲-amino-۱-methyl-۶-phenylimidazo[۴,۵-b] pyridine) می‌توان اشاره نمود (Shabbir *et al.*, 2015).

هتروسایکلیک آروماتیک آمین‌ها حداقل دارای یک اتم نیتروژن در حلقه سایکلیک خود هستند. جهش، تغییر یا حذف سلول هدف از نتایج تخریبی آن‌ها بوده که در این حالت با دخالت در کار آنزیمی باعث شکسته شدن هیدروژن در زنجیره DNA می‌شوند. این ترکیبات سبب ایجاد تومورهایی در پوست، کلیه، کبد، روده بزرگ، روده کوچک و پانکراس می‌شوند (Szterk and Jesionkowska,

2014).

برای جلوگیری و کاهش در شکل‌گیری این ترکیبات مضر می‌توان از یک‌سری ترکیبات طبیعی و شیمیایی به‌عنوان پوشش، قبل پخت استفاده کرد. پوشش‌ها و فیلم‌های بسته‌بندی به‌صورت تجاری مورد مصرف قرار می‌گیرند و سبب کاهش از دست رفتن رطوبت، ممانعت از آسیب فیزیکی، بهبود ظاهر محصول و حمل مواد سازنده غذا می‌شوند.

کیتوزان یک کوپلیمر است که با استیل‌زدایی کیتین به‌دست می‌آید. کیتوزان یک ماده غیرسمی، زیست‌تجزیه‌پذیر و زیست‌سازگار است (Coma *et al.*, 2002) که خاصیت ضداکسیداسیونی، ضدمیکروبی و ضدالتهابی دارد (Shahidi *et al.*, 1999; Jayakumar *et al.*, 2007). کیتوزان به عنوان افزودنی در تولید فیلم‌های خوراکی و به‌عنوان نگه‌دارنده در آبزیان و فرآورده‌های آبزیان کارکرد مناسبی داشته است (Ojagh *et al.*, 2010; Oz and Kaya, 2011) و هم‌چنین نتایج استفاده از کیتوزان با وزن‌های مولکولی متفاوت برای مهار HAAs در گوشت قرمز پخته شده مفید ارزیابی شده است (Oz *et al.*, 2016). از این‌رو تحقیق حاضر با هدف مطالعه اثر کیتوزان محلول در اسید افزوده شده بر فیله خام فیل‌ماهی پرورشی، به‌عنوان یک ماده مهار کننده ترکیبات مضر عامل سرطان (HAAs) شکل گرفته در پخت ماهی به روش سرخ شده و ماکروویو انجام شد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی فیله: فیل ماهی نر با وزن ۵ کیلوگرم از شرکت آبزی گستران ساعی در شهرستان ساری خریداری گردید. بعد از جداسازی سر و شکم، با آب شسته شد. نمونه در جعبه حاوی یخ به نسبت (۲:۱) طی مدت ۲ ساعت به آزمایشگاه فرآوری آبزیان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردید. ماهی در محیطی کاملاً بهداشتی به‌روش دستی فیله شد. در این تحقیق نمونه‌ها از قسمت پشتی (حد فاصل باله شکمی و باله سینه‌ای) انتخاب گردید. سپس نمونه‌هایی به وزن ۱۰۰۰ گرم به صورت تصادفی به ۶ تیمار T_1 (شاهد خام بدون کیتوزان)، T_2 (شاهد سرخ شده بدون کیتوزان)، T_3 (نمونه خام حاوی ۱ درصد کیتوزان محلول در اسید)، T_4 (نمونه سرخ شده حاوی ۱ درصد کیتوزان محلول در اسید)، T_5 (نمونه ماکروویو شده بدون کیتوزان) و T_6 (نمونه ماکروویو شده حاوی ۱ درصد کیتوزان محلول در اسید) تقسیم شدند. تیمارهای T_2 و T_4 در ظرف تفلون حاوی روغن مایع سرخ شدند و سپس در دمای اتاق سرد گردیدند. نمونه‌های T_5 و T_6 در ظرف مخصوص ماکروویو در دستگاه ماکروویو پخته شده و سپس در دمای اتاق سرد شدند. وزن نمونه‌ها قبل و بعد از غوطه‌وری در کیتوزان و بعد از پخت برای تعیین فاکتورهای پخت و پز اندازه‌گیری شدند. نمونه‌های طبخ شده برای آنالیز ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین (HAAs) به‌وسیله مخلوط کن برقی همگن گردیده و در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

آنالیز تقریبی فیله

اندازه‌گیری رطوبت: ۵ گرم از هر تیمار قبل از خشک شدن، وزن شدند و داخل آون با دمای ۱۰۳±۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از سرد شدن مجدداً وزن گردیدند و میزان رطوبت با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (میرصادقی و همکاران، ۱۳۹۷):

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

اندازه‌گیری چربی: چربی کل به روش سوکسله اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها در بالن مخصوص دستگاه سوکسله قرار گرفتند. بالن در دمای ۶۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۸ ساعت حرارت داده شد. پس از این مدت بالن استخراج از دستگاه جدا گردید و باقی-مانده حلال در بالن جهت تبخیر تا رسیدن به وزن ثابت داخل آون با دمای ۱۰۳±۲ درجه سانتی‌گراد قرارگرفت، سپس درون دسیکاتور قرار داده شد و وزن دقیق آن محاسبه گردید. تفاوت وزن اولیه بالن از وزن ثانویه میزان چربی نمونه را بر حسب درصد نشان داد که از رابطه زیر محاسبه گردید (میرصادقی و همکاران، ۱۳۹۷):

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

اندازه‌گیری پروتئین: اندازه‌گیری پروتئین به روش

کجلدال انجام شد. مقدار یک گرم نمونه دقیقاً توزین و در بالن هضم ریخته شد. سپس ۲۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ و ۸ گرم از مخلوط کاتالیزور (۹۶ درصد سولفات‌سدیم خشک، ۳/۵ درصد سولفات‌مس و ۰/۵ درصد دی اکسید سلنیوم) به آن اضافه گردید و بالن در دستگاه مخصوص هضم کجلدال قرار داده شد و سپس حرارت‌دهی آغاز گردید. پس از سرد شدن، بالن در دستگاه تقطیر قرار داده شد. عمل تقطیر برای هر نمونه حدود ۵ دقیقه به‌طول انجامید. پس از آن محلول به‌وسیله اسید هیدروکلریک ۰/۱ نرمال خنثی گردید (میرصادقی و همکاران، ۱۳۹۷). مقادیر درصد ازت و پروتئین از روابط زیر محاسبه گردید:

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

میزان پروتئین (درصد) = ۶/۲۵ × درصد ازت

اندازه‌گیری pH: ۵ گرم از نمونه ماهی همگن 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 (میرصادقی و همکاران، ۱۳۹۷).

فاکتورهای حاصل از پخت و پز: تغییرات وزنی طی سرخ شدن (Cooking loss) به روش Oz و Kizil (۲۰۱۳) محاسبه گردید.

Cooking loss (%) = [(B-C)/B] * ۱۰۰

که در آن B = وزن نمونه بعد از ۱۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بعد از افزودنی (gr) و C = وزن نمونه پخته ۴ ساعت بعد از سرد شدن در دمای اتاق (gr) است. بازده نمونه سرخ شده (Cooking yield) نیز به روش Oz و Kizil (۲۰۱۳) محاسبه گردید.

Cooking yield (%) = (C/A)/ * ۱۰۰

که در آن A = وزن نمونه بدون افزودنی (gr) و C= وزن نمونه پخته ۴ ساعت بعد از سرد شدن در دمای اتاق (gr) می‌باشد.

آنالیز ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین (HAAs) فیله: مقادیر HAAs نمونه‌ها براساس روش میرصادقی و همکاران (۱۳۹۷) تعیین گردید. بعد از استخراج فاز جامد مقادیر HAAs به‌وسیله 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 شناسگر اشعه یووی AG1314B با طول موج ۲۶۴ نانومتر با فاز متحرک به‌عنوان 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 به‌عنوان حلال ۲ با جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه با حجم تزریق ۱۰ میکرولیتر اجرا شد. میزان HAAs در نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (Oz *et al.*, 2016). درصد بازدارندگی ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین (HAAs) به روش Lu و همکاران (۲۰۰۷) محاسبه گردید.

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

که در آن Ac = میزان کل ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین (HAAs) در نمونه پخته بدون افزودنی و At = میزان کل ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین (HAAs) در نمونه پخته حاوی افزودنی می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری: نتایج در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه و جهت مقایسه میانگین از آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (Version 9.0) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

نتایج در میزان pH فیله بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). میزان pH در تیمارهای خام ۶/۱۹-۵/۷ و در تیمارهای سرخ شده ۶/۱۲-۶/۴۷ و در تیمارهای پخته شده به روش ماکروویو ۷/۱۸-۶/۹۶ بود. در تیمارهای مختلف میزان رطوبت ۷۸/۱۹-۴۹/۹۹ درصد، میزان چربی ۵/۸۶-۲/۲۵ درصد و میزان پروتئین ۱۹/۹۶-۱۰/۳۱ درصد بود. تفاوت میزان چربی، رطوبت و پروتئین بین نمونه‌های خام (T_1، T_3 و T_5) معنی‌دار نبود (P≥۰/۰۵). در T_5 کم‌ترین میزان رطوبت ثبت شد. بعد از سرخ کردن میزان چربی در تیمارهای T_2 و T_4

جدول ۱ - تغییرات آنالیز تقریبی فیله فیل ماهی تازه.

تیمار/فاکتور	pH	پروتئین	چربی	رطوبت
T_1	۶/۱۹±۰/۰۱^a	۱۹/۹۶±۰/۰۵^a	۴/۳۵±۰/۰۱^a	۷۷/۲۳±۰/۱^a
T_2	۶/۴۷±۰/۰۳^b	۱۵/۹۸±۰/۰۶^b	۵/۸۶±۰/۰۵^b	۶۵/۲۵±۰/۰۵^b
T_3	۵/۷±۰/۰۴^c	۱۹/۹۰±۰/۰۵^a	۴/۴۰±۰/۰۴^a	۷۸/۱۹±۰/۰۴^a
T_4	۶/۱۲±۰/۰۲^a	۱۷/۴۶±۰/۰۲^c	۴/۷۵±۰/۰۱^c	۶۸/۲۹±۰/۰۸^c
T_5	۶/۹۶±۰/۰۷^d	۱۰/۳۱±۰/۰۷^d	۲/۲۵±۰/۰۴^d	۴۹/۹۹±۰/۰۹^d
T	۷/۱۸±۰/۰۶^e	۱۱/۶۸±۰/۰۳^e	۲/۷۹±۰/۰۴^e	۵۴/۲۹±۰/۲۱^e

T_1 (شاهد خام بدون کیتوزان) ، T_2 (شاهد سرخ شده بدون کیتوزان) ، T_3 (نمونه خام حاوی ۱ درصد کیتوزان محلول در اسید) ، T_4 (نمونه سرخ شده حاوی ۱ درصد کیتوزان محلول در اسید) ، T_5 (نمونه ماکروویو شده بدون کیتوزان) وT_6 (نمونه ماکروویو شده حاوی ۱ درصد کیتوزان محلول در اسید). داده‌ها به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف کوچک بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هر ستون می‌باشد ($P\leq$ ۰/۰۵).

جدول ۲ - تغییرات شاخص‌های حاصل از پخت در تیمارهای فیله فیل ماهی.

تیمار / فاکتور	Cooking yield	Cooking loss
T_1	-	-
T_2		
T_3	-	-
T_4	۸۲/۲۲ ±۰/۵۰^a	۲۰/۴۴ ±۰/۵۱^a
T_5	-	-
T_6	۸۷/۴۹ ±۷/۱۲^b	۱۵/۹۹ ±۷/۱۵^b

داده‌ها به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف کوچک بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هر ستون می‌باشد ($P\leq$ ۰/۰۵).

افزایش یافت ($P\leq$۰/۰۵)، به‌طوری‌که در تیمار T_2 میزان چربی افزایش بیش‌تری داشت. کیتوزان در نمونه‌های T_4 و T_6 ورود روغن به داخل بافت را طی مدت طبخ کم کرد که این خاصیت در T_6 نمایان‌تر بود (جدول ۱).

نتایج نشان داد که تغییرات وزنی طی پخت در حالت سرخی بیش‌تر از حالت ماکروویو بود، اما بازده پخت در حالت سرخی کم‌تر از حالت ماکروویو بود. شاخص‌های حاصل از پخت در تیمارهای پخته شده (T_2، T_4، T_5 و T_6) تفاوت معنی‌داری داشتند ($P\leq$۰/۰۵). T_6 کم‌ترین و T_4 بیش‌ترین تغییرات وزنی را نشان دادند و همچنین در T_6 بیش‌ترین و T_4 کم‌ترین بازده وزنی مشاهده شد (جدول ۲).

نتایج همچنین نشان داد که در حالت ماکروویو نسبت به حالت سرخی ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین بیشتر تشکیل می‌شوند. افزودن کیتوزان در هر دو حالت پخت اثر مثبتی در کاهش تشکیل این ترکیبات داشت، به‌ویژه در حالت سرخی اثر مهارکننده‌ای نشان داد. براساس نتایج PhIP بعد از پخت تیمارها Nd (بدون تشخیص)-۳/۵ نانوگرم در گرم بود و مقادیر PhIP در تیمارها طی پخت به هر دو روش افزایش یافت ($P\leq$۰/۰۵). کم‌ترین میزان PhIP بعد از پخت در T_4 و بیش‌ترین میزان آن در T_5 مشاهده شد. IQ بعد از سرخ کردن تیمارهای فیله مشاهده نشد. مقادیر IQ در تیمارها طی پختن افزایش یافت ($P\leq$۰/۰۵). کم‌ترین میزان IQ طی طبخ در T_4 و T_2 و بیش‌ترین میزان آن در T_6 مشاهده شد. میزان تولید ترکیب هتروسایکلیک آروماتیک آمین MeIQ بین Nd تا ۱/۶۶ نانوگرم در گرم در تیمارهای پخته شده بود ($P\geq$۰/۰۵). میزان MeIQxبین ۰/۷۰ تا ۶/۴۷ نانوگرم در گرم بود که کم‌ترین میزان آن در T_4 و بیش‌ترین میزان آن در T_5 ثبت شد. میزان کل HAAs بین ۰/۸ تا ۱۱/۶۹ نانوگرم در گرم بود. میزان بازدارندگی کیتوزان محلول در اسید در شکل‌گیری ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین (HAAs) در فیله سرخ شده ۵۷/۴۴ درصد و در فیله ماکروویو شده ۶۳/۹۸ درصد بود (جدول ۳).

بحث

حداکثر میزان pH برای محصولات قابل مصرف ۷/۵-۷ می‌باشد (Ojagh *et al.*, 2010). براساس نتایج میزان pH در تیمار T_3 بعد از افزودن کیتوزان محلول در اسید کم‌ترین مقدار بود که احتمالاً به‌دلیل

جدول ۳ - 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	±۰/۰۱^a	nd	۰/۲۵ ±۰/۰۱^a	۰/۸۲ ±۰/۱^a	۱/۸۸	-
T_3	-	-	-	-	-	-
T_4	nd	nd	nd	۰/۷۰ ±۰/۱^a	۰/۸۰	۵۷/۴۴
T_5	۳/۵±۰/۱^b	۰/۰۴±۰/۰۱^a	۱/۶۶±۰/۰۱^b	۶/۴۷±۰/۰۱^b	۱۱/۶۹	-
T_6	۱/۶۸±۰/۱^c	۱/۱۶±۰/۰۱^b	۰/۱۵ ±۰/۰۱^a	۱/۲۳±۰/۰۱^c	۴/۲۱	۶۳/۹۸

داده‌ها به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف کوچک بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار میان داده‌ها در هر ستون می‌باشد ($P\leq$ ۰/۰۵).

خاصیت اسیدی کیتوزان است که این وابسته به حلال کیتوزان (اسید استیک) می‌باشد (میرصادقی و همکاران، ۱۳۹۷). حلال آبی نسبت به حلال اسیدی، محیط قلیایی بهتری ایجاد می‌کند (Shahidi *et al*., 1999). در تحقیقی در تیمارهای فیله گوساله خام حاوی کیتوزان محلول در آب میزان pH بالاتر از نمونه شاهد خام فاقد کیتوزان بود (Oz *et al*., 2016) که این نتایج متفاوت با نتایج تحقیق حاضر می‌باشد.

در نمونه‌های سرخ شده میزان پروتئین کاهش یافت به‌طوری‌که میزان پروتئین در تیمار T_5 کم‌ترین مقدار بود. نتایج نشان داد که کیتوزان در نمونه T_4 تغییرات نامطلوب حرارت در کاهش پروتئین و تغییر ساختار میوفیبریل را مانع گردید که مطابق نتایج مطالعات قبلی در این زمینه می‌باشد (Sayas-Barber *et al*., 2011; Oz *et al*., 2016). علاوه بر کیتوزان می‌توان به استفاده از افزودنی مانند فلفل (Zeng *et al*., 2017; Zeng *et al*., 2018) و روغن‌های گیاهی (Lu *et al*., 2017) اشاره کرد که نتایج مشابهی داشتند. ساختار پروتئین طی حرارت حاصل از پخت دناتوره شده و خاصیت نگه‌دارندگی آب پروتئین از دست می‌رود، بنابراین مقدار رطوبت در طول زمان طبخ کم می‌گردد (Shabbir *et al*., 2015). بین نمونه‌های T_2 و T_4 وجود خاصیت پوششی کیتوزان در سطح فیله ماهی در نمونه T_4 و T_6، به خصوص در T_6 اثر تخریبی حرارت را کم کرده و مانع از خروج رطوبت از سطح بافت می‌شود. این نتایج در مورد نمونه‌های طبخ شده مشابه مطالعات قبلی بود (Shahidi *et al*., 1999; Wong *et al*., 2005) و کاهش میزان رطوبت وابسته به نوع و اندازه ماده اولیه، روش و زمان طبخ و نوع و میزان کیتوزان داشت (میرصادقی و همکاران، ۱۳۹۷).

تغییرات وزنی طی پخت و بازده نمونه پخته شده از شاخص‌های مهم در پخت و پز می‌باشد که در اثر تغییرات رطوبت، چربی و پروتئین محصول طی حرارت حاصل از پخت ایجاد می‌گردد. برای داشتن محصول خوش‌مزه و ایمن، پخت و پز بسیار مهم است (Oz *et al*., 2016). کاهش تغییرات وزنی و افزایش بازده نمونه سرخ شده در T_4 و T_6 ناشی از اثر پوششی و قدرت نفوذ کیتوزان بود. این خصوصیت کیتوزان باعث تاخیر در تولید ژل ماتریکس و خروج رطوبت از سطح بافت می‌شود (Shabbir *et al*., 2015). همانند مطالعه حاضر، در مطالعات دیگر نیز نمونه‌های حاوی کیتوزان تغییرات وزنی کمتری داشتند (میرصادقی و همکاران، ۱۳۹۷ -Sayas Barber *et al*., 2011; Oz *et al*., 2016).

به علاوه کاهش تولید PhIP در T_4 و T_6 به‌دلیل وجود خاصیت پوششی کیتوزان بود که مانع از تخریب بافت طی پخت می‌گردد. کیتوزان به‌عنوان مانع بین نمونه و هوای اطراف عمل می‌کند و انتشار حرارت را در سطح محصول کاهش می‌دهد و از تغییرات اسیدآمینه‌ها می‌کاهد. Oz و همکاران (۲۰۱۶) اثر پوششی کیتوزان را در فیله گوساله بررسی و PhIP در هیچ یک از تیمارهای طبخ شده در دمای ۱۵۰ درجه‌سانتی‌گراد شناسایی نشد ولی در نمونه‌های طبخ شده در دمای ۲۰۰ و ۲۵۰ درجه‌سانتی‌گراد در تیمارهای حاوی کیتوزان تولید PhIP کم‌تر از نمونه شاهد بود. همین‌طور شکل‌گیری ترکیب هتروسایکلیک آروماتیک آمین (PhIP) در تیمارهای حاوی افزودنی‌هایی از جمله فلفل و روغن‌های گیاهی نیز کم‌تر بودند (Lu *et al*., 2017; Zeng *et al*., 2018). برخلاف نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه Oz و همکاران (۲۰۱۰ و ۲۰۰۷) برروی 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 فرمالدئید ایجاد می‌گردد (Shahidi *et al*., 1999). کاهش تولید IQ در نمونه پخته شده حاوی کیتوزان به خاصیت پوششی کیتوزان که مانع از تخریب بافت طی پخت به روش سرخی می‌باشد. برخلاف مطالعه حاضر، در تحقیق Oz و همکاران (۲۰۱۶) اثر پوششی کیتوزان را در فیله گوساله بررسی و IQ در هیچ یک از تیمارها شناسایی نشد. مشابه مطالعه حاضر، در تحقیق Oz و Kotan (۲۰۱۶) در ماهی قزل آلای کبابی و در تحقیق Costa و همکاران (۲۰۰۹) در ساردین کبابی میزان IQ بیش‌تر از سایر نمونه‌ها بود. برخلاف مطالعه حاضر، در تحقیق Wong و همکاران (۲۰۰۵) در ماهی سرخ شده و در تحقیق Viegas و همکاران (۲۰۱۲) در سالمون کبابی و در تحقیق Oz و همکاران (۲۰۰۷) در ماهی قزل آلای کبابی و سرخی، IQ شناسایی نشد. مشابه مطالعه حاضر در ماهی سرخ شده بدون افزودنی کیتوزان با دو تیمار پخت با ماکروویو MeIQ شناسایی شد (Oz *et al*., 2016)، ولی برخلاف مطالعه حاضر، در مطالعه Oz و همکاران (۲۰۱۰ و ۲۰۰۷) در ماهی سرخ شده MeIQ مشاهده نشد. در این تحقیق نیزدر فیله فیل ماهی حاوی کیتوزان MeIQ در تیمار سرخ شده مشاهده نشد. اختلافات تولید و عدم شکل‌گیری ترکیب هتروسایکلیک آرورماتیک 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 به‌خصوص آلانین می‌گردد، عامل اصلی در تولید MeIQ می‌باشد (Shabbir *et al*., 2015). واکنش اسیدآمینه ترونین با گلیسین و سراتنین و هگزوز طی عمل میلارد و در مدت عملیات استریکر انجام می‌گیرد (میرصادقی و همکاران، ۱۳۹۷). در نهایت اثر مهار کنندگی کیتوزان در شکل‌گیری MeIQx در T_4 نمایان‌تر بود. مشابه نتایج مطالعه حاضر، در تحقیق Oz و همکاران (۲۰۱۶)، MeIQx در تیمارهای حاوی کیتوزان کم‌تر بود و در مطالعات دیگر نیز شکل‌گیری ترکیب MeIQx در تیمارهای حاوی افزودنی از جمله فلفل و روغن‌های گیاهی کم‌تر بود (Lu *et al*., 2017; Zeng *et al*., 2018).

هتروسایکلیک آروماتیک آمین‌ها (HAAs) جهش‌زا و سرطانی بوده که باعث ایجاد تومورهایی در کبد، پانکراس، روده بزرگ و کوچک، پوست و ریه می‌گردند (Rahman *et al*., 2014). این ترکیبات طی پخت در غذاهای پروتئینی به‌ویژه 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 (Oz *et al*., 2016). غلظت HAAs تحت تاثیر عواملی از جمله فعالیت آبی، pH، کراتین، آمینواسیدهای آزاد، چربی، اکسیداسیون چربی، کربوهیدرات و مواد آنتی اکسیدانی تغییر می‌نماید (Oz *et al*., 2016). در مطالعه حاضر میزان کل HAAs تولید شده کم‌تر از ۱ میکروگرم مشابه مطالعه Oz و همکاران (۲۰۱۶) بود. مشابه نتایج مطالعه حاضر، در تحقیق Oz و همکاران (۲۰۱۶) در تیمارهای حاوی کیتوزان میزان کل HAAs کم‌تر و درصد بازدارندگی HAAs بیش‌تر بود و همچنین در استفاده از فلفل و روغن‌های گیاهی و ویتامین E، میزان کل HAAs کم‌تر و درصد بازدارندگی HAAs بیش‌تر گزارش شده‌اند (Balogh *et al*., 2000; Lu *et al*., 2017).

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، کیتوزان محلول در اسید اثر معنی‌داری بر روی شاخص‌های پخت و پز و میزان ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین (HAAs) بر روی فیله فیل ماهی پخته شده به هر دو روش سرخی و ماکروویو شده داشت. چهار ترکیب PhIP، IQ، MeIQ و MeIQx شناسایی شدند. کیتوزان محلول در اسید یک درصد کم‌ترین میزان تولید HAAs و بالاترین بازدارندگی در شکل‌گیری HAAs را نشان داد.

سپاسگزاری

صمیمانه از همکاری گروه فرآوری محصولات شیلاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و انستیتو تحقیقات علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه

علوم پزشکی شهید بهشتی تشکر می‌گردد.

منابع

میرصادقی ح.، عالیشاهی ع.ر.، اجاق س.م.، پورعاشوری پ. ۱۳۹۷. تاثیر کیتوزان روی شکل‌گیری ترکیبات هتروسایکلیک آروماتیک آمین در فیله فیل‌ماهی (*Huso huso*) سرخ شده. فصانامه نوآوری در علوم و فناوری غذایی، کد JFST-1812-1451.

هدایتی ع.، باقری ط. ۱۳۸۹. بررسی شاخص‌های طول و وزن فیل ماهیان (*Huso huso*) پرورشی در شرایط آب لب‌شور. نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران، ۱: ۱۱۳-۱۲۴.

Balogh Z., Gray J.I., Gomaa E.A., Booren A.M. 2000. Formation and inhibition of heterocyclic aromatic amines in fried ground beef patties. *Food Chemisty and Toxicology* 38(5), 395-401.

Coma V., Martial G.A., Garreau S., Copinet A., Salin, F., and Deschamps, A. 2002. Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *Journal of Food Science* 67, 1162-1169.

Costa M., Viegas O., Melo A., Petisa C., Pinho O., 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.

Fan W., Sun J., Chen Y., Qui J., Zhang Y., Chi Y. 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Journal of Food Chemistry* 115, 66-70.

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.

Jayakumar R., Nwe N., Tokura S., Tamura, H. 2007. Sulfated chitin and chitosan as novel biomaterials. *International Journal of Biological Macromolecules* 40, 175-181.

Latou E., Mexis S.F., Badeka A.V., Kontakos S., Kontominas, M. G. 2014. Combined effect of chitosan and modified atmosphere packaging for shelf life extension of chicken breast fillets. *Journal of LWT – Food Science and Technology* 55, 263-268.

Lu F., Gunter, K., Cheng Q. 2017. Vegetable oil as fat replacer inhibits formation of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in reduced fat pork patties. *Food Control* 81, 113-125.

Ojagh S.M., Rezaei M., Razavi S.H., Hosseini, S.M.H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry* 120, 193-198.

Oz F., 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.

Oz F., Kaya M. 2011. The inhibitory effect of black pepper on formation of heterocyclic aromatic amines in high-fat meatball. *Food Control* 22, 596-600.

Oz F., Kizil M. 2013. Determination of heterocyclic amines in cooked commercial frozen meat products by ultra-fast liquid chromatography. *Food Analytical Methods* 6, 1370-1378.

Oz F., 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.

Oz F., Kaban G., Kaya M. 2007. Effects of cooking methods on the formation of heterocyclic aromatic amines of two different species trout. *Food Chemistry* 104, 67-72.

Oz F., Kaban G., Kaya M. 2010. Effects of cooking methods and levels on formation of heterocyclic aromatic amines in chicken and fish with Oasis extraction method. *LWT - Food Science and Technology* 43, 1345-1350.

Oz F., Kizil M., Zaman A., Turhan S. 2016. The effects of direct addition of low and medium molecular weight chitosan on the formation of heterocyclic aromatic amines in beef chop. *LWT - Food Science and Technology* 65, 861-867.

Rahman U., Sahar A., Khan M.I., Nadeem M. 2014. Production of heterocyclic aromatic amines in meat: Chemistry, health risks and inhibition. *Food Science and Technology* 59, 229-233.

Sayas-Barber E., Quesada J., Sanchez-Zapata E., Viuda-Martos M., Fernandez-Lopez F., Perez-Alvarez J.A., Sendra E. 2011. Effect of the molecular weight and concentration of chitosan in pork model burgers. *Meat Science* 88, 740-749.

Shabbir M. A., Raza A., Anjum F. M., Khan M.R., Suleria H.A.R. 2015. Effect of Thermal Treatment on Meat Proteins with Special reference to Heterocyclic Aromatic Amines (HAAs). *Science and Nutrition* 55, 82-93.

Shahidi F., Arachchi J.K.V., Jeon Y.J. 1999. Food applications of chitin and chitosan's. *Food Science and Technology* 10, 37-51.

Szterk A., Jesionkowska K. 2014. Influence of the cold storage time of raw beef meat and grilling parameters on sensory quality and content of Heterocyclic Aromatic Amines. *Journal of LWT Food Science and Technology* 61, 299-308.

Viegas O., Novo P., Pinto E., Pinho O., 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.

Wong K.Y., Su J., Knize M.G., Koh W.P., Seow A. 2005. Dietary exposure to heterocyclic amines in a Chinese population. *Nutrition and Cancer* 52, 147-155.

Zeng M.M., Zhang M.R., He Z.Y., Qin F. Tao G.J., Zhang S., Gao Y.H., Chen J. 2017. Inhibitory profiles of chilli pepper and capsaicin on Heterocyclic amine formation in roast beef patties. *Food Chemistry* 221, 404-411.

Zeng M., Wang J., Zhang M., Chen J., He Z., Qin F., Xu Z., Cao D., 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.

The effect of chitosan and cooking methods on the rate of heterocyclic aromatic amine compounds formation in Beluga sturgeon (*Huso huso*) fillet

Seyyedeh Maryam Daneshvar*, Alireza Alishahi, Seyed Mahdi Ojagh, Hojat Mirsadeghi

Fisheries Department, Faculty of Fisheries and Enviroment, Gorgan university of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
*Corresponding author: mastermaryam@yahoo.com
Received: 2019/7/24 Accepted: 2019/10/8

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of chitosan and cooking methods (pan-frying and microwave) on the rate of heterocyclic aromatic amine compounds formation in the fillet of Beluga sturgeon. The experiment was designed in 6 treatments, including T_1 (control without chitosan), T_2 (fried treatment without chitosan), T_3 (sample containing 1% acid soluble chitosan), T_4 (fried sample containing 1% acid-soluble chitosan), T_5 (sample cooked in microwave without chitosan) and T_6 (sample cooked in microwave containing 1% acid-soluble chitosan). The use of acid-soluble chitosan (1%) had a significant effect on moisture content, pH and weight changes during cooking (P<0.05). In the cooked fillet, the HAAs values including PhIP (-5.68-Nd), IQ (-1.16-Nd), MeIQ (-1.66-Nd), and MeIQx (0.7-6.47) were detected. The inhibition rate of chitosan for the heterocyclic compounds in cooked fillet was 57.44 to 63.98%. The results showed that acid-soluble chitosan had a significant effect on cooking indices and reduced production of the heterocyclic aromatic amine compounds on cooked huso fillets.

Keywords: Chitosan, Beluga sturgeon, Fillet, Heterocyclic aromatic amine.