

ارزیابی اثر تخم‌ریزی بر تغییرات کیفیت چربی فیله ماهی کپور معمولی پرورشی (*Cyprinus carpio*) در طول انجماد

سکینه یگانه^{۱*}، بهاره شعبانپور^۲، هدایت حسینی^۳، محمدرضا ایمانپور^۴ و علی شعبانی^۵

^۱ دانشجوی دکترای شیلات، دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

^۲ دانشیار دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

^۳ دانشیار انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، ایران

^۴ دانشیار دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

^۵ استادیار دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

(تاریخ دریافت: ۸۸/۳/۲، تاریخ تصویب: ۸۸/۱۲/۲۵)

چکیده

در این مطالعه اثر تخم‌ریزی بر فساد اکسیداتیو و هیدرولیتیک فیله ماهی کپور معمولی پرورشی (*Cyprinus carpio*)، قبل و پس از تخم‌ریزی مورد بررسی قرار گرفت. بنابراین ماهی کپور با دو مرحله گنادی در زمان‌های مختلف (قبل از تخم‌ریزی در ۲۱ خرداد و پس از تخم‌ریزی در ۲۷ مرداد ۱۳۸۶) تهیه و جهت آزمایشات مورد نظر به مدت ۶ ماه در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد نگهداری شد. آزمایشات مربوط به اکسیداسیون و هیدرولیز چربی بر روی فیله منجمد در ماه‌های صفر، ۱، ۳ و ۶ انجام شد. شاخص ثانویه اکسیداسیون چربی^۱ (TBA) در طول انجماد در ماهی قبل از تخم‌ریزی بیشتر از ماهی پس از تخم‌ریزی بود ($P < 0/05$). فساد هیدرولیتیک^۲ (FFA) در ماهی قبل از تخم‌ریزی کمتر از ماهی پس از تخم‌ریزی بود ($P < 0/05$). باندهای دوگانه^۳ (CD) در ماهی قبل از تخم‌ریزی افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$)، در حالیکه در ماهی پس از تخم‌ریزی تغییر معنی‌داری نشان نداد ($P > 0/05$). شکل‌گیری ترکیبات فلورسنس در ماهی قبل از تخم‌ریزی کمتر از ماهی پس از تخم‌ریزی بود ($P < 0/05$). تغییرات ترکیبات فلورسنس در ماهی قبل از تخم‌ریزی پس از ۶ ماه نگهداری معنی‌دار نبود ($P > 0/05$). اندازه‌گیری آهن هم در ماهی پس از تخم‌ریزی در طول انجماد کاهش معنی‌داری نشان نداد ($P > 0/05$)، اما در ماهی قبل از تخم‌ریزی روند مشخصی نداشت. بنابراین بر اساس برخی از شاخص‌های بررسی کیفیت چربی مورد استفاده در پژوهش حاضر (اندازه‌گیری TBA، CD)، تغییرات کیفی چربی ماهیان پیش از مرحله تخم‌ریزی بیشتر از ماهیان تخم‌ریزی‌کرده می‌باشد.

کلمات کلیدی: کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، تخم‌ریزی، انجماد، کیفیت چربی

E-mail: skyeganeh@gmail.com

فکس: ۰۱۵۱-۳۸۲۲۵۶۵

تلفن: ۰۱۵۱-۳۸۲۲۵۶۵

* نویسنده مسئول:

سمت فعلی: استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۱- TBA: Thiobarbituric acid

۲- Free fatty acid

۳- Conjugated diene

مقدمه

ماهی هیک (*Merluccius hubbsi*) در دو مرحله قبل و پس از تخم‌ریزی نشان داد که سیکل تخم‌ریزی بر رفتار پروتئین‌های مایوفیبریل در فیله‌های منجمد موثر است (Roldán *et al.*, 2005). مقدار چربی در گونه‌های با چربی بالا در فصل‌های مختلف تغییر می‌کند (Viviani *et al.*, 1968; Bandarra *et al.*, 2001) اما در فصل صید (یعنی مقدار چربی) را بر توسعه فساد ماهی ماکرل (*Scomber scombrus*) در طول انجماد بررسی کرده و بیان کردند که شاخص‌های اکسیداسیون چربی در نمونه‌های صید شده در فصول مختلف تفاوت دارد.

ماهی کپور معمولی از جمله ماهیانی است که پرورش آن قدمتی چند هزار ساله داشته و در ایران نیز به سهولت پرورش می‌یابد و به دلیل فراوانی و قیمت مناسب در طول سال مصرف می‌شود. تفاوت‌های موجود در ترکیب شیمیایی فیله ماهیان در مرحله قبل و پس از تخم‌ریزی و امکان تاثیر آن بر کیفیت ماهی در طول انجماد، سبب شد که در این مطالعه اثر تخم‌ریزی بر کیفیت چربی ماهی کپور معمولی در طول انجماد با استفاده از شاخص‌های اکسیداسیون (باند دوگانه پیوسته، تیوباربتوریک اسید، آهن هم (heme iron) و ترکیبات فلورسنس) و هیدرولیز چربی (اسیدهای چرب آزاد) مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

شش ماهی کپور پرورشی ماده (با طول ۵۴-۵۱ سانتیمتر و وزن ۴۹۱۳-۳۸۵۰ گرم) در دو مرحله قبل و پس از تخم‌ریزی (در هر مرحله ۳ ماهی به ترتیب ۲۱ خرداد و ۲۷ مرداد سال ۱۳۸۶) از استخر تکثیر و پرورش رحمتیان (ساری، ایران) تهیه شده و درون یخ به آزمایشگاه ماهی‌شناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شد (انتقال ماهی، یک ساعت و نیم به طول انجامید). محتویات شکم ماهیان در دمای اتاق (۲۴-۲۰ درجه سانتیگراد)، پس از بیومتری تخلیه شده، فلس‌کنی و

گونه‌های آبزی، منبعی از مواد غذایی مختلف مانند پروتئین با قابلیت هضم بالا، ویتامین‌های محلول در چربی (به خصوص ویتامین‌های A و D)، میکروالمنت‌ها (روی، مس و ...) و اسیدهای چرب چندغیراشباعی^۱ هستند که در تغذیه بشر حائز اهمیت زیادی می‌باشند (Piclet, 1987; Simopoulos, 1997). اگرچه وجود اسیدهای چرب چندغیراشباعی در چربی فرآورده‌های دریایی، در جلوگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی نقش موثری دارد (Carlier *et al.*, 1991)، وجود این اسیدهای چرب، سبب شده است که چربی ماهی، مستعد واکنش‌های اکسیداسیونی عامل فساد باشد، اکسیداسیون اسیدهای چرب موجب تولید فرآورده‌های اولیه و ثانویه‌ای می‌شود که در نهایت کیفیت مغذی و خواص حسی ماهیان را تغییر می‌دهند (Hsieh & Kinsella, 1989; Harris & Tall, 1994; Garcia *et al.*, 2003). به منظور کاهش اثرات نامطلوب از روش‌های متفاوتی مانند کاهش درجه حرارت، بسته بندی مناسب، یخ‌پوشی با مواد شیمیایی نگهدارنده و آنتی‌اکسیدان‌ها استفاده می‌شود (Toledo-Flores & Zall, 1992; Richards *et al.*, 1998; Lin & lin, 2005).

نگهداری در فریزر (به صورت منجمد) جهت حفظ خواص مغذی و حسی ماهی متداول می‌باشد اما به هر حال در طول انجماد وجود اسیدهای چرب چندغیراشباعی و پرواکسیدان‌ها موجب توسعه فساد^۲ آنزیمی (عامل موثر در تشکیل اسیدهای چرب آزاد) و غیرآنزیمی می‌شود که بر کیفیت فرآورده موثر می‌باشند (Hsieh & Kinsella, 1989; Richards & Haltin, 2002; Aubourg *et al.*, 2005). برخی از محققان بیان کردند که خواص بیوشیمیایی و فیزیکیوشیمیایی پروتئین‌های عضله در ارتباط با سیکل تولیدمثلی تغییر می‌کند (Beas *et al.*, 1988; Crupkin *et al.*, 1988; Roura *et al.*, 1990; Pagano *et al.*, 2001). مطالعه گذشته در مورد انجماد

۱- PUFA: Polyunsaturated fatty acid

۲- Rancidity

ایزوآکتان، w : وزن نمونه عضله) (Lugasi *et al.*, 2007).

مقدار تیوباربتوریک اسید^۴ (میلی گرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم عضله ماهی) بر طبق روش Kirk (1991) & Sawyer در ۵٪ عصاره تری کلرواستیک اسید اندازه گیری شد. آهن هم محتوای گوشت بر اساس روش Clark *et al.*, (1997) تعیین شد. در این روش ۲ گرم گوشت ماهی در ۹ میلی گرم اسید استن (۹۰٪ استن، ۸٪ آب مقطر، ۲٪ اسید کلریدریک) هموژنیزه شده، پس از نگهداری در کابینت تاریک (به مدت نیم ساعت) با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۴۲ صاف شده و ضریب جذب محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160, Japan) در طول موج ۶۴۰ نانومتر قرائت شد. مقدار رنگدانه کل و آهن هم با استفاده از فرمول های زیر محاسبه شد:

$$\text{قسمت در هزار} \text{ رنگدانه کل } A = 640 \times (\text{نانومتر}) \times 680$$

$$640 \text{ (نانومتر): } A \text{ مقدار جذب خوانده شده در } 640 \text{ نانومتر (قسمت در هزار) آهن هم} = \text{رنگدانه کل} \times 8.82 \div 100$$

اندازه گیری ترکیبات فلورسنس^۵ در ماکزیمم جذب و نشر^۶ طول موج های ۳۲۷.۴۱۵ و ۳۹۳.۴۶۳ نانومتر با استفاده از اسپکترومتر فلورسنس^۷ (کمپانی Perkin-elmer، محصول مشترک آلمان و آمریکا) انجام شد، که در آن مقادیر فلورسنس فاز آبی^۸ حاصل از استخراج چربی به روش Bligh & Dyer (1959) تعیین و فلورسنس نسبی^۹ به صورت $RF = F/F_{st}$ محاسبه گردید که در آن F : فلورسنس نمونه در ماکزیمم جذب و نشر، F_{st} : فلورسنس محلول کینون سولفات (۱ میکروگرم بر میلی لیتر

شستشو انجام و سپس فیله شدند (این کار تقریباً نیم ساعت به طول انجامید). سپس به مدت ۷۲-۴۸ ساعت جهت عبور از مرحله جمود نعشی در یخچال نگهداری شدند. براساس تحقیق (Roldán *et al.*, 2005) فیله های ماهیان به بلوک های تقریباً برابر (۷۰۰ گرم) تقسیم شده، در ۱۸- درجه سانتیگراد فریز شدند. در هر زمان (ماه های ۳ و ۶، ۱، ۰) سه بلوک فیله پس از انجمادزدایی در دمای اتاق (انجمادزدایی به مدت حدود ۲۰ تا ۳۰ دقیقه) به طور تصادفی با هم آسیاب شده و آزمایش های مورد نظر با سه تکرار بر روی آن انجام شد.

آزمایش های شیمیایی

فیله های فریز شده ماهی، در هنگام شب در یخدان با یخ پوشی کامل (به طوریکه پس از انتقال هیچ تغییری در فیله منجمد ایجاد نشده بود) در مدت تقریبی ۷ ساعت به اداره کل آزمایشگاه های کنترل غذا و داروی وزارت بهداشت (تهران، ایران)، جهت انجام آزمایش های شیمیایی انتقال یافت. مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت Merck با حداکثر درجه خلوص تهیه گردید.

هیدرولیز چربی (اسیدهای چرب آزاد^۱) با روش Egan *et al.*, (1997) انجام و مقدار اسیدهای چرب آزاد به صورت میلی گرم و اولئیک اسید در هر کیلوگرم^۲ چربی بیان شد. تشکیل باند دوگانه پیوسته^۳ برطبق روش AOAC (1984) تعیین شد، برای این آزمایش ۱ گرم نمونه از فیله ماهی چرخ شده با ۱۰ میلی لیتر ایزوآکتان مخلوط شده و سپس عصاره حاصل به وسیله کاغذ واتمن شماره ۴۲ صاف و مقدار جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160, Japan) در طول موج ۲۳۳ نانومتر، در مقابل شاهد ایزو آکتان یادداشت گردید. مقدار باند دوگانه پیوسته از طریق فرمول مقابل محاسبه شد: $CD = BV/w$ (B: مقدار جذب قرائت شده در ۲۳۳ نانومتر، V: مقدار

۴- thiobarbituric acid index

۵- Fluorescence formation

۶- excitation/emission

۷- Perkin-Elmer Ls5B

۸- $\delta F(aq)$

۹- Relative fluorescence (RF)

۱- FFA: Free fatty acids

۲- Grams of oleic fatty acid per Kg lipids

۳- CD: Conjugated diene

ارزیابی اثر تخم‌ریزی بر تغییرات کیفیت چربی ...

افزایش آن تا ماه ۶ معنی‌دار نبود (ماه ۳، 0.1 ± 0.4 ؛ ماه ۶، 0.09 ± 0.6 میلی گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم عضله). در نمونه پس از تخم‌ریزی مقدار این شاخص تا ماه ۱ ثابت بود ($P > 0.05$ ؛ ماه صفر، 0.2 ± 0.2 ؛ ماه ۱، 0.2 ± 0.2 ؛ ماه ۳، 0.1 ± 0.4)؛ پس از آن تا ماه ۳ (0.1 ± 0.4) افزایش یافت. نگهداری نمونه تا ماه ۶ (0.2 ± 0.4 میلی گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم عضله) تغییری در تیوباربیتوریک اسید ایجاد نکرد ($P > 0.05$ ؛ شکل ۲).

تغییرات آهن هم در دو گروه تفاوت داشت ($P < 0.05$). در فیله ماهی پس از تخم‌ریزی نگهداری نمونه تا ماه ۶ تغییر زیادی در آهن هم نشان نداد ($P > 0.05$ ؛ ماه صفر، 0.1 ± 0.5 ؛ ماه ۱، 0.1 ± 0.4 ؛ ماه ۳، 0.1 ± 0.4 ؛ ماه ۶، 0.4 ± 0.4 ؛ (شکل ۳). در نمونه قبل از تخم‌ریزی تغییرات آهن هم روند مشخصی نداشت، اگرچه مقدار آهن هم فیله تا ماه ۱ به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$)، اما پس از آن تغییرات آهن هم خلاف انتظار بود (ماه صفر، 0.8 ± 0.4 ؛ ماه ۱، 0.3 ± 0.2 ؛ ماه ۳، 0.6 ± 0.9 ؛ ماه ۶، 0.6 ± 0.9).

نرخ فلورسنس فاز آبی (FR = $\frac{RF_{393.463nm}}{RF_{327.415nm}}$) در نمونه پس از تخم‌ریزی در طول انجماد افزایش یافت ($P < 0.05$ ؛ ماه صفر، 0.4 ± 0.8 ؛ ماه ۱، 0.4 ± 0.63 ؛ ماه ۳، 0.5 ± 0.79 ؛ ماه ۶، 0.7 ± 0.74)، اما در نمونه قبل از تخم‌ریزی به جز ماه ۳ در سایر زمان‌های آزمایش تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$ ؛ ماه صفر، 0.5 ± 0.1 ؛ ماه ۱، 0.2 ± 0.1 ؛ ماه ۳، 0.1 ± 0.7 ؛ ماه ۶، 0.7 ± 0.9 ؛ (شکل ۴).

اسید سولفوریک 0.05 مولار) می‌باشد. نرخ فلورسنس^۱ از فرمول $FR = \frac{RF_{393.463nm}}{RF_{327.415nm}}$ (RF_{393.463}): فلورسنس نسبی در جذب و نشر طول موج $393/463$ و $RF_{327.415}$: فلورسنس نسبی در جذب و نشر طول موج $327/415$ تعیین شد (Lugasi et al., 2007). داده‌های بدست آمده از آزمایش‌های شیمیایی مختلف بر روی فیله منجمد در ماه‌های ۰، ۱، ۳، ۶ در نرم‌افزار SPSS 11.5 آنالیز شد. میانگین و انحراف معیار محاسبه و جهت تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و آزمون دانکن استفاده شد و با استفاده از روش فاکتوریل (2×4) دو گروه قبل و پس از تخم‌ریزی در چهار زمان آزمایش مورد مقایسه قرار گرفتند.

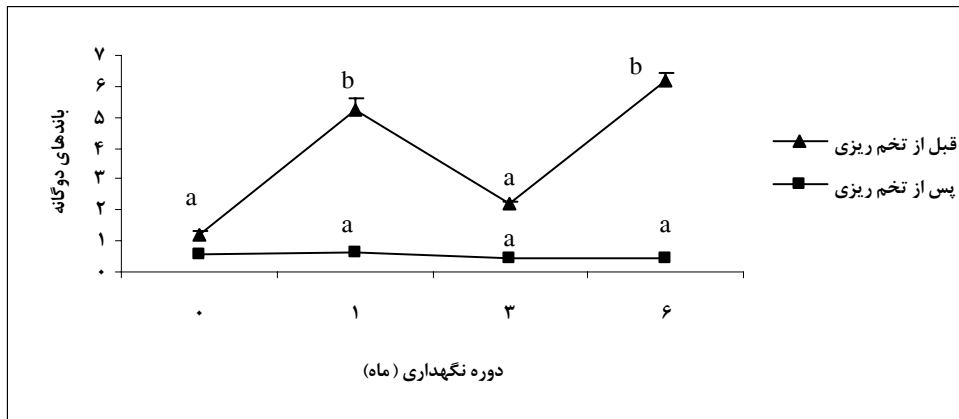
نتایج

اکسیداسیون چربی

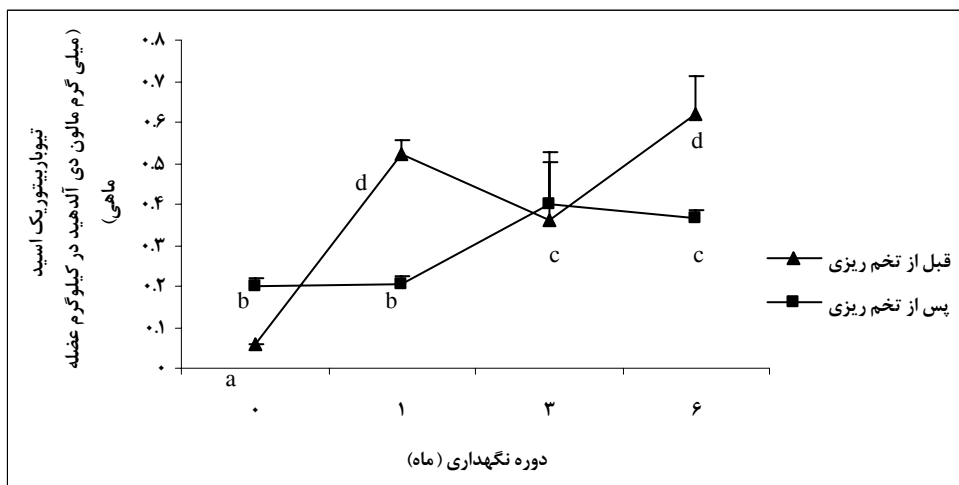
اندازه‌گیری ترکیبات اولیه ناشی از اکسیداسیون چربی توسط تشکیل باندهای دوگانه پیوسته نشان داد که دو گروه قبل و پس از تخم‌ریزی با هم تفاوت دارند ($P < 0.05$ ؛ شکل ۱). در فیله‌های ماهی پس از تخم‌ریزی مقدار باندهای دوگانه پیوسته در طول انجماد تقریباً ثابت بود ($P > 0.05$ ؛ ماه صفر، 0.1 ± 0.5 ؛ ماه ۱، 0.3 ± 0.6 ؛ ماه ۳، 0.8 ± 0.5 ؛ ماه ۶، 0.3 ± 0.4)، اما در نمونه‌های قبل از تخم‌ریزی مقدار آن تا ماه ۱ افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0.05$ ؛ ماه صفر، 0.4 ± 0.2 ؛ ماه اول، 0.3 ± 0.5)؛ نگهداری نمونه به مدت ۳ ماه روند کاهشی داشته و سپس تا پایان آزمایش مجدداً افزایش یافت ($P < 0.05$ ؛ ماه ۳، 0.6 ± 0.2 ؛ ماه ۶، 0.4 ± 0.2).

تعیین تیوباربیتوریک اسید به عنوان شاخص اندازه‌گیری محصولات ثانویه اکسیداسیون در دو گروه اختلاف داشت که این تفاوت در طول ۶ ماه نگهداری در هر گروه و بین گروه‌ها معنی‌دار بود ($P < 0.05$). در نمونه قبل از تخم‌ریزی مقدار تیوباربیتوریک اسید از ماه صفر تا ماه ۱ افزایش معنی‌داری داشت (ماه صفر، 0.6 ± 0.1 ؛ ماه ۱، 0.3 ± 0.5)، اما

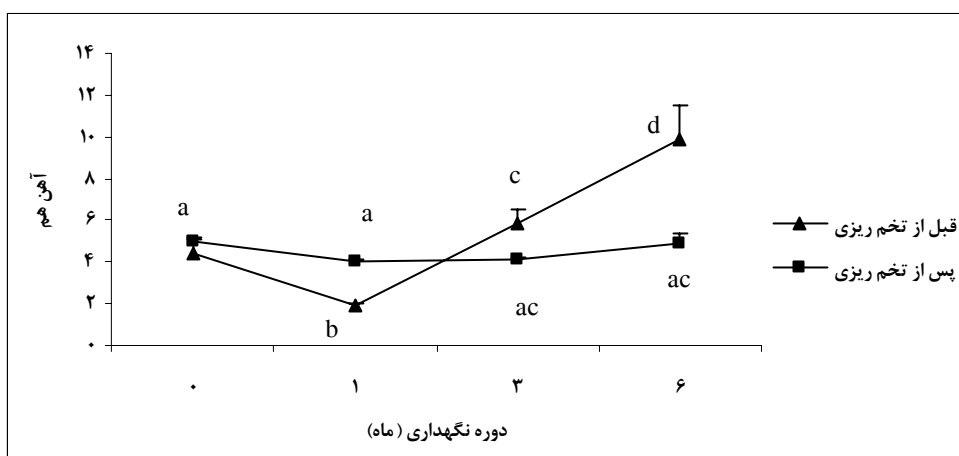
1- Fluorescence ratio (FR)



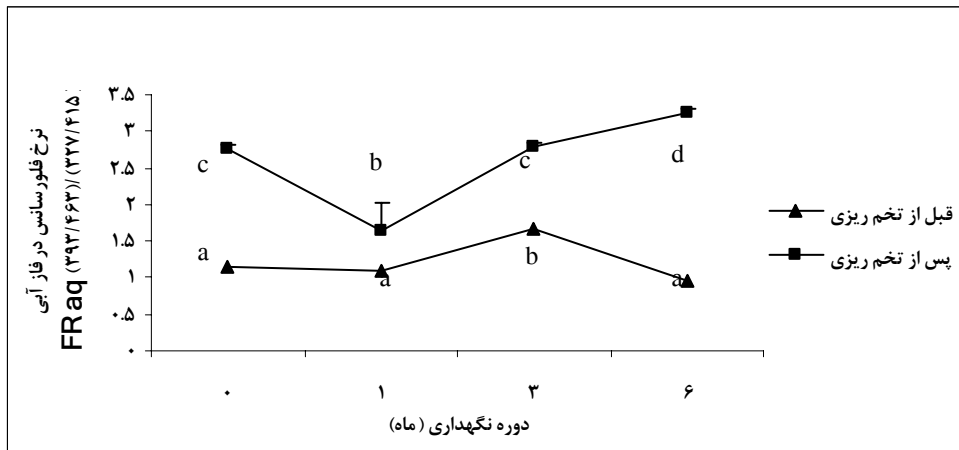
شکل ۱- باندهای دوگانه پیوسته در فیله کپور معمولی پرورشی (*Cyprinus carpio*) قبل و پس از تخم‌ریزی در طول انجاماد. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار استاندارد می‌باشند. حروف نامشابه نشان می‌دهند که داده‌ها معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).



شکل ۲- تیوباربتوریک اسید در فیله کپور معمولی پرورشی (*Cyprinus carpio*) قبل و پس از تخم‌ریزی در طول انجاماد. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار استاندارد می‌باشند. حروف نامشابه نشان می‌دهند که داده‌ها معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).



شکل ۳- آهن هم در فیله کپور معمولی پرورشی (*Cyprinus carpio*) قبل و پس از تخم‌ریزی در طول انجاماد. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار استاندارد می‌باشند. حروف نامشابه نشان می‌دهند که داده‌ها معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

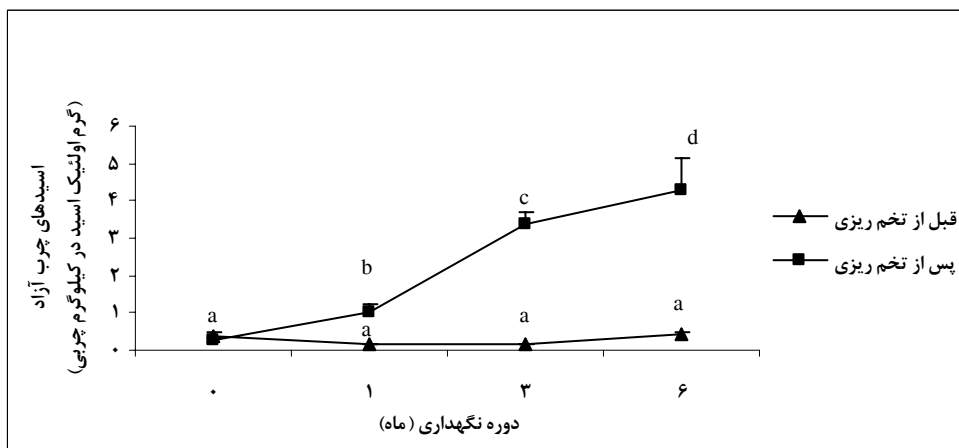


شکل ۴- نرخ فلورسنس فاز آبی در فیله کپور معمولی پرورشی (*Cyprinus carpio*) قبل و پس از تخم‌ریزی در طول انجماد. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار استاندارد می‌باشند. حروف نامشابه نشان می‌دهند که داده‌ها معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

۴.۲۷ \pm گرم اولئیک اسید در کیلوگرم چربی بود (شکل ۵). در ابتدای آزمایش میزان اسیدهای چرب آزاد در دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت، اما با افزایش مدت نگهداری تا ۳ ماه، میزان آن در نمونه پس از تخم‌ریزی افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$; $0.3/4 \pm 0.4$). در نمونه قبل از تخم‌ریزی اسیدهای چرب آزاد تقریباً ثابت بوده و به تدریج کمی افزایش یافت ($P > 0.05$).

هیدرولیز چربی

فساد هیدرولیتیک فیله در فیله ماهی پس از تخم‌ریزی در طول انجماد صورت گرفت. اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد به عنوان شاخص هیدرولیز چربی نشان داد که مقدار آن در نمونه‌های پس از تخم‌ریزی بیشتر بود ($P < 0.05$). از ماه صفر تا ماه ۶ در نمونه قبل و پس از تخم‌ریزی به ترتیب 0.38 ± 0.095 به 0.44 ± 0.02 ؛ 0.29 ± 0.05 به 0.85



شکل ۵- اسیدهای چرب آزاد در فیله کپور معمولی پرورشی (*Cyprinus carpio*) قبل و پس از تخم‌ریزی در طول انجماد. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار استاندارد می‌باشند. حروف نامشابه نشان می‌دهند که داده‌ها معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

اکسیداسیون چربی

تناقض‌های موجود در برخی اندازه‌گیری‌های مربوط به تشکیل باندهای دوگانه پیوسته (مانند ماه ۳ در فیله ماهی کپور پرورشی قبل از تخم‌ریزی) ممکن است به تفاوت‌های فردی موجود در ماهیان مربوط باشد. در تحقیق‌های گذشته نیز عدم وجود روند مشخص در میزان باند دوگانه پیوسته مشاهده شده است (Aubourg et al., 2005). برخی از محققان بیان کرده‌اند که تعیین باندهای دوگانه پیوسته، شاخص خوبی جهت ارزیابی کیفی نیست زیرا باندهای دوگانه ناپایدار بوده و با سایر ترکیبات واکنش می‌دهند (Shimasaki et al., 1997; Cho et al., 1989; Aubourg et al., 1995). به هر حال برای تغییرات اولیه، اندازه‌گیری باندهای دوگانه پیوسته می‌تواند به طور رضایت‌بخشی استفاده شود (Sergent et al., 1993; Vossen et al., 1993). زیرا هنوز باند دوگانه پیوسته ناشی از اکسیداسیون با سایر ترکیبات واکنش نداده است. در مطالعه حاضر، افزایش باندهای دوگانه پیوسته طی نگهداری فیله ماهی کپور پرورشی قبل از تخم‌ریزی به صورت منجمد می‌تواند بیانگر اکسیداسیون اولیه بیشتر در این گروه نسبت به فیله پس از تخم‌ریزی باشد.

تعیین تیوباربتوریک اسید به عنوان شاخص اندازه‌گیری محصولات ثانویه اکسیداسیون می‌باشد. افزایش تیوباربتوریک اسید در فیله ماهی تون (*Thunnus thynnus*) در طول ۱۸ روز نگهداری به شکل سردشده (در صفر درجه سانتیگراد) (Selmi & Sadok, 2008)، در ماهی ساردین (*Sardinella gibbosa*) پس از ۱۵ روز نگهداری در یخ (Chaijan et al., 2006) و در ماهی کیلکای منجمد (*Clupeonella engrauliformis*) در طول ۱۸ ماه (Rezaei et al., 2007) نیز مشاهده شده است. افزایش این شاخص نتیجه افزایش محصولات ثانویه اکسیداسیون مانند آلدئیدها و سایر بازهای فرار می‌باشد (Selmi & Sadok, 2008). تیوباربتوریک اسید در فیله کپور پرورشی در دو مرحله قبل و پس از تخم‌ریزی افزایش یافت. تناقض موجود در

اندازه‌گیری این شاخص در ماه ۳ (در کپور پرورشی قبل از تخم‌ریزی) مانند تناقض مربوط به باند دوگانه پیوسته، ممکن است به تفاوت نمونه مرتبط باشد. محصولات ثانویه اکسیداسیون ممکن است با انواع ترکیبات واکنش داده و از مقدار آن کاسته شود (Namulema, 1999). Aubourg (1999) بیان کرد که مقدار TBA در فیله منجمد ماهی (*Micromesistius Blue whiting poutassou*) در دمای ۱۰- و ۳۰- درجه سانتیگراد تا ماه ۵ افزایش و پس از آن تا ماه ۱۲ کاهش می‌یابد و عدم وجود روند مشخص در مقدار TBA را به امکان ترکیب محصولات ثانویه اکسیداسیون با پروتئین و تشکیل پلیمر نسبت داد. مقدار TBA در ماهی منجمد Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)، که از جیره محتوی آنتی‌اکسیدان تغذیه کرده بود از ماه صفر تا ماه ششم تفاوت معنی‌داری نداشت، در حالیکه پس از آن تا ماه ۱۲ افزایش یافت (Ortiz et al., 2009). در میان انواع مختلف مولکول‌های حاصل از اکسیداسیون چربی، تیوباربتوریک اسید به عنوان ترکیب موثر بر طعم ناشی از اکسیداسیون شناخته شده است (Kurade & Roura et al., 1987; White, 1995). Baranowski (2000) گزارش کرده‌اند که ۱۵ روز پس از نگهداری به صورت منجمد، اکتومیوزین فیله ماهی هیک (*Merluccius hubbsi*) در مرحله قبل از تخم‌ریزی برای دناوره‌شدن حساس‌تر از نمونه پس از تخم‌ریزی می‌باشد (Roldán et al., 2005). نتایج این محققین شاید بتواند مقادیر بیشتر تیوباربتوریک اسید را در فیله کپور پرورشی قبل از تخم‌ریزی توضیح دهد. تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که عمل‌آوری مواد غذایی و تیمارهای شیمیایی سبب تبدیل آهن هم به آهن غیرهم می‌گردند (Chaijan et al., 2005; Turhan et al., 2004; Schricker & Miller, 1983; Benjakul, 2001) & Bauer بیان کردند که محتوای آهن هم و غیر هم رابطه معکوس دارند. آهن غیر هم به عنوان یکی از عوامل اصلی اکسیداسیون چربی گزارش شده است (Hsieh & Kinsella, 1989; Huang et al., 2004).

پرورشی پس از تخم‌ریزی موثر باشد. یکی از ترکیبات آمینه، پروتئین‌ها می‌باشند که در عضله ماهی کپور در مرحله قبل از تخم‌ریزی کاهش می‌یابند (Yeganeh, 2009) که شاید بتواند مقدار کمتر ترکیبات فلورسنس را در این مرحله توضیح دهد.

هیدرولیز چربی

مطالعات قبلی نیز افزایش اسیدهای چرب آزاد را در گونه‌های مختلف ماهی در طول انجماد نشان داده‌اند (Aubourg et al., 2002, 2005; Pourashouri et al., 2009). در ماهی کیلکا (*Clupeonella engrauliformis*) در طول ۱۸ ماه انجماد نیز مقدار اسیدهای چرب آزاد افزایش یافت (Rezaei et al., 2007). Aubourg (1999) نیز افزایش اسیدهای چرب آزاد را در فیله ماهی Blue whiting (*Micromesistius poutassou*) در طول انجماد در دمای 10°C - نشان داده است. استفاده از آنتی اکسیدان در رژیم غذایی ماهی Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) در جلوگیری از فعالیت آنزیم هیدرولتیک در دمای 18°C - موثر نبود و میزان اسیدهای چرب آزاد در این ماهی در طول انجماد افزایش یافت (Ortiz et al., 2009). گزارش‌های موجود اسیدهای چرب آزاد را به عنوان عامل مستقیم افت کیفیت ذکر نکردند اما افزایش مقدار آن سبب افزایش اکسیداسیون چربی، توسعه طعم نامطلوب و تغییرات بافتی ناشی از دناتوره شدن پروتئین می‌گردد (Refsgaard et al., 2000; Aubourg et al., 2002).

محققان مختلف در مورد منشا اسیدهای چرب آزاد اختلاف نظر دارند برخی از محققان کاهش فسفولیپیدها را عامل افزایش اسیدهای چرب آزاد دانسته‌اند و برخی هر دو گروه اسیدهای چرب خنثی و قطبی را در تشکیل اسیدهای چرب موثر دانسته‌اند. از سوی دیگر در استخراج اسیدهای چرب و اسیدهای چرب آزاد حلال مشابهی به کار می‌رود لذا به نظر می‌رسد اسیدهای چرب پیوندیافته با پروتئین‌های میوفیبریل در طول انجماد به دلیل دناتوره شدن

(1993). مقدار کمتر آهن غیر هم سبب پایداری بیشتر محصول در مقابل اکسیداسیون چربی و در نتیجه افزایش مدت ماندگاری می‌گردد. تغییرات آهن هم در طول انجماد در فیله کپور پرورشی پس از تخم‌ریزی معنی‌دار نبود. در فیله ماهی قبل از تخم‌ریزی مقدار آهن هم تا ماه ۱ کاهش نشان داد که می‌تواند نشان‌دهنده پیشرفت روند اکسیداسیون باشد. روند نامشخص موجود در محتوای آهن هم فیله در طول انجماد ماهی کپور پرورشی قبل از تخم‌ریزی ممکن است به تفاوت‌های فردی موجود در ماهیان (Aubourg et al., 2005) مربوط باشد. نوع عضله (عضله تیره یا روشن) (Chaijan et al., 2005) یا خون باقیمانده در بین عضله روشن و تیره (Schricker & Miller, 1982) در مقدار آهن غیر هم اثر می‌گذارد. افزایش محتوای آهن هم در طول ۳ روز ابتدایی نگهداری ماهی در یخ توسط (Chaijan et al., 2005) گزارش شده است.

نرخ فلورسنس در ماهی Blue whiting (*Micromesistius poutassou*) در طول انجماد افزایش یافت (Aubourg, 1999). افزایش نرخ فلورسنس نتیجه واکنش بین ترکیبات کربونیل ناشی از اکسیداسیون چربی (مولکول‌های الکتروفیل) و ترکیباتی مانند پروتئین‌ها، پپتیدها، اسیدهای آمینه آزاد و فسفولیپیدها (مولکول‌های نوکلئوفیل) می‌باشد که نشانه‌ای از افت کیفی ماهی در طول نگهداری به صورت منجمد می‌باشد (Aubourg, 1999; Aubourg et al., 2002). بر اساس نظر Aubourg & Gallardo (1997)، تشکیل ترکیبات فلورسنس، علاوه بر ترکیبات اولیه و ثانویه ناشی از اکسیداسیون چربی، به وجود ترکیبات نوکلئوفیل وابسته است. در تحقیقی بر روی ماهی ماکرل (*Scomber scombrus*) صید شده در دو فصل مختلف، تفاوت میزان ترکیبات فلورسنس در دو نمونه به محتوای ترکیبات نوکلئوفیل نسبت داده شده است (Aubourg et al., 2005). بنابراین تفاوت در ترکیب اجزاء نوکلئوفیل عضله ماهی قبل و پس از تخم‌ریزی، ممکن است در توسعه بیشتر فلورسنس در نمونه کپور

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که انجماد فیله در شرایط متفاوت بلوغ جنسی بر کیفیت فیله اثر مشابهی ندارد به طوریکه اکسیداسیون چربی (شاخص محصولات اولیه و ثانویه) در طول انجماد در نمونه کیپور پرورشی قبل از تخم‌ریزی بیشتر می‌باشد. اگرچه شاخص مربوط به هیدرولیز چربی و ترکیبات فلورسنس نتیجه دیگری را نشان داد. این موضوع احتمالاً می‌تواند به تفاوت محتوای چربی، پایداری پروتئین فیله و ... مرتبط باشد.

سپاسگزاری

از خانم‌ها مهدیه عباسی و فرزانه فکری کارشناسان آزمایشگاه غذا و دارو برای همکاری در اجرای پروژه تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

پروتئین، همراه با اسیدهای چرب آزاد استخراج می‌شوند و این موضوع می‌تواند عامل افزایش اسیدهای چرب آزاد در نمونه پس از تخم‌ریزی باشد (Roldán *et al.*, 2005). Aubourg *et al.*, (2005) در تحقیق خود در مورد اثر فصل بر توسعه اکسیداسیون چربی در طول انجماد، مشاهده کردند که فیله ماهی ماکرل (*Scomber scombrus*) در فصلی که دارای چربی بیشتری بود در طول انجماد اسیدهای چرب آزاد کمتری تولید کرد. افزایش اسیدهای چرب آزاد در فیله ماهی پس از تخم‌ریزی در طول انجماد می‌تواند نشان‌دهنده کمتر بودن چربی در آن باشد، زیرا کیپور پرورشی از طریق مصنوعی تکثیر شده و پس از عمل تکثیر مجدداً در استخر رها می‌شود. علی‌رغم وجود مقادیر فراوان غذای در دسترس ممکن است به دلیل استرس وارد شده به ماهی در طول تکثیر مصنوعی تغذیه این ماهی اندکی با تاخیر انجام شود.

منابع

- AOAC. 1984. *Official methods of analysis* (28.054) (14th ed.). Arlington, VA, USA: AOAC.
- Aubourg, S., 1999. Lipid damage detection during the frozen storage of an underutilized fish species. *Food Research International*, 32, 497-502.
- Aubourg, S. & Gallardo, J., 1997. Fluorescence changes in amine model systems related to fish deterioration. *International Journal of Food Science. & Technology*, 32, 153-158.
- Aubourg, S., Lehmann, I. & Gallardo, J., 2002. Effect of previous chilled storage on rancidity development in frozen horse mackerel (*Trachurus trachurus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 1764-1771.
- Aubourg, S., Medina, I. & Pérez-Martín, R., 1995. A comparison between conventional and fluorescence detection methods of cooking induced damage to tuna fish lipids. *Zeitschrift für Lebensmittel- Untersuchung und - Forschung*, 200, 252-255.
- Aubourg, S., Rodríguez, A. & Gallardo, J. M., 2005. Rancidity development during frozen storage of mackerel (*Scomber scombrus*): Effect of catching season and commercial presentation. *European Journal of Lipid Science & Technology*, 107, 316-323.
- Bandarra, N., Batista, I., Nunes, M. & Empis, J., 2001. Seasonal variations in the chemical composition of horse mackerel (*Trachurus trachurus*). *European Food Research and Technology* 212, 535-539.
- Beas, V.E., Crupkin, M. & Trucco, R.E., 1988. Gelling properties of actomyosin from pre- and post-spawning hake (*Merluccius hubbsi*). *Journal of Food Science*, 53, 1322-1326.
- Benjakul, S., & Bauer, F., 2001. Biochemical and physicochemical changes in catfish (*Silurus glanis* Linne) muscle as influenced by different freeze-thaw cycles. *Food chemistry*, 72, 207-217.

- Bligh, E. & Dyer, W. 1959. A rapid method of total extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911–917.
- Carlier, H., Bernard, A. and Casellic, C., 1991. Digestion and absorption of polyunsaturated fatty acids. *Reproduction Nutrition Development*. 31, 475-500.
- Chaijan, M., Benjakul, S., Visessanguan, W. & Faustman, C., 2005. Changes of pigments and color in sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagartha*) muscle during iced storage. *Food Chemistry*, 93, 607–617.
- Chaijan, M., Benjakul, S., Visessanguan, W. & Faustman, C. 2006. Changes of lipids in sardine (*Sardinella gibbosa*) muscle during iced storage. *Food Chemistry*, 99, 83-91.
- Cho, S-Y, Endo, Y., Fujimoto, K. & Kaneda, T., 1989. Autoxidation of ethyl eicosapentaenoate in a defatted fish dry model system. Nippon Suisan Gakkaishi, published by The Japanese Society of Fisheries science. 55, 545-552.
- Clark, E., Mahoney, A. & Carpenter, C. 1997. Heme iron and total iron in ready-to-eat chicken. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45, 124–126.
- Crupkin, M., Montecchia, C.L. and Trucco, R. E., 1988. Seasonal variations in gonadosomatic index, liver-somatic index, and myosin/actin ratio in actomyosin of mature hake (*Merluccius hubbsi*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 89(1), 7–10.
- Egan, H., Kirk, R. & Sawyer, R. 1997. Pearson's Chemical Analysis of Foods, 9th ed. Pp. 609–634. Edinburgh, Scotland, UK: Churchill Livingstone.
- Garcia, A., Alvarez, E. and Garcia, E., 2003. Cooking-freezing-reheating of sardine fillets. Effects of different cooking and reheating procedures on the proximate and fatty acid composition. *Food Chemistry*. 83, 349-356.
- Harris, P. & Tall, J., 1994. Substrate specificity of mackerel flesh lipopolygenase. *Journal of Food Science*, 59, 504–506, 516.
- Hsieh, R. & Kinsella, J., 1989. Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. *Advances in Food Research and Nutrition*, 33, 233–341.
- Huang, C.-H., Hultin, H. & Jafar, S., 1993. Some aspects of Fe²⁺-catalyzed oxidation of fish sarcoplasmic reticular lipid. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 41, 1886–1892.
- Kirk, R. & Sawyer, R. 1991. Pearson's Composition and Analysis of Foods, 9th ed. Pp. 642–643. Singapore: Longman Scientific and Technical.
- Kurade, S. & Baranowski, J., 1987. Prediction of shelf-life of frozen minced fish in terms of oxidative rancidity as measured by TBARS number. *Journal of Food Science*, 52, 300–302.
- Lugasi, A., Losada, V., Hóvári, J., Lebovics, V., Jakóczy, I. & Aubourg, S., 2007. Effects of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. *Lebensmittel Wissenschaft Technologie (LWT, Swiss Society of Food Science and Technology)*, 40, 930-936.
- Lin, C. & Lin, C., 2005. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. *Food Control*, 16, 169–175.
- Namulema, A., Muyonga, J. H. & Kaaya, A. N., 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at -13 and -27 °C. *Food Research International*, 32, 151-156.
- Ortiz, J., Larraín, M. A., Vivanco, J. P. and Aubourg, S., 2009. Rancidity development during the frozen storage of farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): Effect of antioxidant composition supplied in the diet. *Food Chemistry*, 115, 143-148.

- Pagano, M.R., Paredi, M.E. and Crupkin, M., 2001. Influence of gonadal stage of hake (*Merluccius hubbsi* Marini) on biochemical properties of myofibrils stored at 2–4°C. *Journal of Food Science*, 66(2), 252–256.
- Piclet, G., 1987. Le poisson aliment. Composition– interest nutrition-nel. *Notebooks Nutritionist and Dietetics*, XXII, 317–335.
- Pourashouri, P., Shabanpour, B., Aubourg, S., Daghigh Rohi, J. & Shabani, A., 2009. 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 and Technology*, 44(8), 1503-1509.
- Refsgaard, H., Brockhoff, P. & Jensen, B., 2000. Free polyunsaturated fatty acids cause taste deterioration of salmon during frozen storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 3280–3285.
- Rezaei. M., Sahari, M. A. & Moeini. S., 2007. Quality assessment of lipid in Anchovy kilka (*Clupeonella engrauliformis*) during frozen storage at different temperature rates. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 10 (4b), 435-444.
- Richards, M. & Haltin., 2002. Contributions of blood and blood components to lipid oxidation in fish muscle. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 555-564.
- Richards, M., Kelleher, S. & Hultin, H., 1998. Effect of washing with or without antioxidants on quality retention of mackerel fillets during refrigerated and frozen storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46, 4363–4371.
- Roldán, H. A., Roura, S. I., Montecchia, C. L., Borla, O. P. and Crupkin, M., 2005. Lipid changes in frozen stored fillets from pre and post spawned hake (*Merluccius hubbsi* marrini). *Journal of Food Biochemistry* 29, 187-204.
- Roura, S.I., Montecchia, C.L., Goldemberg, A.L., Trucco, R.E. and Crupkin, M., 1990. Biochemical and physico-chemical properties of actomyosin from pre- and post- spawned hake (*Merluccius hubbsi* Marrini) stored on ice. *Journal of Food Science*, 55, 688–692.
- Roura, S. I., Montecchia, C. L., Roldán, H. Pérez, H., Borla, O. & Crupkin, M., 2000. Ultrastructure of actomyosin in pre- and post- spawning hake (*Merluccius hubbsi* Marini) during frozen storage. *Journal of Aquatic Food Production and Technology*, 9(4), 85-94.
- Selmi, S. & Sadok, S., 2008. The effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris* Linnaeus) on flesh quality of tuna (*Thunnus thynnus* Linnaeus) during chilled storage. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3 (1), 36-45
- Sergeant, O., Morel, I., Cogrel, P., Chevanne, M., Beaugendre, M., Cillard, P. & Cillard, J., 1993. Ultraviolet and infrared spectroscopy for micro determination of oxidized and unoxidized fatty acid esters in cells. *Analytical Biochemistry*, 211, 219-223.
- Shimasaki, H., Privett, O. and Hara, I., 1997. Studies of the fluorescent products of lipid oxidation in aqueous emulsion with glycine and on the surface of silica gel. *Journal of American oil chemistry society*, 54, 119-123.
- Schricker, B. & Miller, D., 1983. Effects of cooking and chemical treatment on heme and non-heme iron meat. *Journal of Food Science*, 48, 1340–1349.
- Schricker, B. & Miller, D., 1982. Measurment and content of non-heme and total iron in muscle. *Journal of Food Science*, 47, 473-740.

- Simopoulos, A., 1997. Nutritional aspects of fish. In: *Seafood from producer to consumer: Integrated approach to quality* (edited by J. Lutten, T. Borrensen & J. Oehlenschläger). Pp. 589–607. London, UK: *Elsevier Science*.
- Toledo-Flores, L. & Zall, R., 1992. Methods for extending the storage life of fresh tropical fish. In: *Advances in seafood biochemistry* (edited by G. Flick & R. Martin). Pp. 233–243. Lancaster, PA, USA: *Technomic Publishing*.
- Turhan, S., Ustun, N. & Altunkaynak, T., 2004. Effect of cooking methods on total and heme iron contents of anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Food Chemistry*, 88, 169–172.
- Viviani, R., Cotesi, P., Crisetig, G., Mancini, L., Poletti, R. & Borgatti, A., 1968. First observations on seasonal changes of the lipids in the tissues of some Adriatic clupeids. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 45, 779-790.
- Vossen, R., van Dam-Mieras, M., Hornstra, G. & Zwaal, R., 1993. Continuous monitoring of lipid per oxidation by measuring conjugated diene formation in an aqueous liposome formation. *Lipids*, 28, 857-861.
- White, P., 1995. Conjugated diene, anisidine value and carbonyl value analyses. In: *Methods to assess quality and stability of oils and fat-containing foods* (edited by K. Warner & M. Eskin). Champaign, AOCS Press, Pp. 159–178.
- Yeganeh, S., 2009. Comparison of seasonal changes in chemical composition of fillet and gonad of wild and farmed female Common carp (*Cyprinus carpio*) and effect of spawning on quality of fish fillet stored in -18°C. Ph.D Thesis. Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources. Faculty of Fisheries Sciences. Page 50.

An investigation of spawning effect on lipid quality changes of cultured Common carp (*Cyprinus carpio*) fillet during frozen storage

S. Yeganeh^{*1}, B. Shabanpour², H. Hosseini³, M. R. Imanpour⁴ and A. Shabani⁵

¹ Ph. D. Student, Department of Fishery, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, I.R.Iran

² Associate Prof, Department of Fishery, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, I.R.Iran

³ Associate Prof, Food Science & Technology Dept. National Nutrition & Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences & Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical science, I.R.Iran

⁴ Associate Prof, Department of Fishery, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, I.R.Iran

⁵ Assistant Prof, Department of Fishery, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, I.R.Iran

(Received: 23 May 2009, Accepted: 12 April 2010)

Abstract

This study is aimed to investigate the effect of spawning on hydrolytic and oxidative rancidity development in fish fillet (pre- and post-spawned cultured common carp). Thus cultured common carp prepare at two different gonadal stages at two different times of the year (pre- and post-spawned fish in 11 June and 18 August 2007, respectively) was studied during frozen storage (-18°C, up to 6 months). Oxidative and hydrolytic analyses were performed in frozen fillet at months 0, 1, 3 and 6. Pre-spawned samples showed a higher second lipid oxidation index (Thiobarbituric acid index) than its post-spawned counterparts during frozen storage. Pre-spawned common carp showed a lower ($p < 0.05$) hydrolysis development (FFA) than its counterpart from post-spawned. Conjugated diene increased during storage in pre-spawned samples significantly ($P < 0.05$) but in post-spawned fillets did not show any significant difference. Results of fluorescence assessment proved to be lower ($p < 0.05$) in fillets from Pre-spawned samples than its in fillets from Post-spawned samples. Fluorescence formation in pre-spawned samples did not show any significant differences during frozen storage. Heme iron measurements decreased in post-spawned fillets insignificantly ($P > 0.05$), but in pre-spawned samples did not show a clear trend during frozen storage. According to some indices of lipid quality (such as TBA and CD measurements), pre-spawned common carp fillets showed a higher variation during frozen storage.

Keywords: Common carp (*Cyprinus carpio*); spawning; freezing; lipid quality

*Corresponding author: Tel: +98 151 3822565 , Fax: +98 151 3822565 , E-mail: skyeganeh@gmail.com