

اثرات آنتی‌اکسیدانی α -توکوفرول استات، پوست و عصاره پوست انار در جیره‌های حاوی روغن ماهی بر کیفیت گوشت ران و سینه جوجه‌های گوشتی

حسن صالح^{1*} - ابولقاسم گلیان² - حسن کرمانشاهی² - رضا فرحوش³ - پوران ابریشمی⁴

تاریخ دریافت: 1391/11/09

تاریخ پذیرش: 1392/08/14

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی α -توکوفرول استات، پوست و عصاره پوست انار در جیره‌های حاوی روغن ماهی بر درصد چربی، الگوی اسید چرب، اکسیداسیون و میزان ترکیبات فنلی گوشت‌های ران، سینه جوجه‌های گوشتی، انجام شد. تعداد 384 قطعه جوجه گوشتی نر یک‌روزه سویه راس 308 در قالب طرح کاملاً تصادفی، با 8 تیمار غذایی و 4 تکرار 12 جوجه‌ای در هر واحد آزمایشی، به مدت 42 روز تغذیه شدند. جهت غنی‌سازی گوشت، 2 درصد روغن ماهی به همه جیره‌ها افزوده شد. هشت تیمار غذایی شامل: جیره شاهد فاقد آنتی‌اکسیدان، جیره شاهد حاوی 200 میلی‌گرم در کیلوگرم α -توکوفرول استات، جیره‌های حاوی 100، 200 و 300 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره پوست انار و جیره‌های حاوی 10، 20 و 30 گرم در کیلوگرم پوست انار بودند. همه جیره‌ها دارای غلظت انرژی قابل متابولیسم و درصد مواد مغذی یکسان و براساس راهنمای پرورش راس 308 تنظیم شدند. در سن 42 روزگی از هر تکرار یک قطعه جوجه انتخاب و پس از ذبح، گوشت ران و سینه به طور جداگانه 2 بار چرخ و به دو زیر نمونه تقسیم که یکی در دمای 4°C و دیگری در دمای 20°C جداگانه نگهداری شدند. آنالیز ترکیب اسید چرب، با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی از نمونه‌های نگهداری شده در دمای 20°C انجام شد. جهت بررسی پایداری اکسیداتیو هر نمونه گوشت، میزان مالون‌دی‌آلدهاید (MDA) و فعالیت خنثی‌سازی رادیکال آزاد DPPH در طی روزهای 0، 7 و 11 بعد از آزمایش با استفاده از نمونه‌های نگهداری شده در دمای 4°C ، اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری ترکیبات فنلی عضلات با استفاده از روش فولین-سیکالتو انجام گردید. نتایج نشان داد که، میزان ذخیره اسیدهای چرب: اسید ایکوزاپنتانویک (EPA)، اسید دوکوزا پنتانویک (DPA)، اسید دوکوزا هگزانویک (DHA) و ترکیبات فنلی، در هر دو نمونه گوشت در جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی α -توکوفرول استات و عصاره پوست انار، افزایش نشان داد ($p < 0/05$). میزان MDA و درصد خنثی‌سازی رادیکال آزاد DPPH در گوشت سینه و ران تحت تاثیر نوع مکمل جیره‌های تغذیه شده قرار گرفت ($p < 0/05$). افزودن انواع مکمل آنتی‌اکسیدانی به جیره‌ها اثر معنی‌داری بر درصد چربی نمونه‌های گوشت نداشت ($p > 0/05$). اثرات آنتی‌اکسیدانی سطوح 200 و 300 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره پوست انار قدرت آنتی‌اکسیدانی مشابه با افزودن 200 میلی‌گرم در کیلوگرم α -توکوفرول استات به جیره در گوشت‌های غنی شده تولیدی نشان داد.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب، آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فنلی، پوست انار، گوشت مرغ.

مقدمه

در حال حاضر با افزایش میزان تولید گوشت طیور، شاخص‌هایی مانند ترکیب لاشه و الگوی اسید چرب مورد توجه قرار گرفته است. مهمترین اسیدهای چرب امگا-3 در تغذیه انسان، اسیدهای چرب غیر

اشباع با زنجیره بلند⁵ (LC-PUFA: n-3)، اسید ایکوزاپنتانویک⁶ (EPA)، اسید دوکوزا پنتانویک⁷ (DPA) و اسید دوکوزا هگزانویک⁸ (DHA) هستند (23 و 24). اسیدهای چرب EPA، DPA و DHA باعث کاهش بیماری‌های قلبی-عروقی به وسیله کنترل سطح لیپید خون و کاهش تجمع پلاکت‌ها می‌شود (22 و 23). با تغییر اسیدهای چرب جیره، حیوانات تک معده‌ای می‌توانند بدون تغییر قابل

1- استادیار گروه علوم دامی، مجتمع آموزش عالی سراوان،

2- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی،

3- دانشیار گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی،

4- مربی گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی.

* نویسنده مسئول: (saleh_tmu@yahoo.com)

5- Long Chain Polyunsaturated Fatty Acid n-3

6- Eicosa pantadocanoic acid

7- Docosa pantadocanoic acid

8- Docosa hexaenoic acid

مهمترین ترکیبات فنلی موجود در پوست انار شامل: اسید گالیک، الایجیک اسید، پونی کالین، پونی کالاجین، آنتوسانیدین و فلاوانول می‌باشند (25). فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست از روش‌های مختلفی خنثی‌سازی رادیکال با استفاده از روش‌های DPPH¹ و محاسبه اکسیداسیون چربی با استفاده از TBARS²، به اثبات رسیده است (6). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی، می‌تواند به صورت خام یا عصاره استخراجی آنها باشد. عصاره‌گیری مهم‌ترین مرحله برای بدست آوردن آنتی‌اکسیدان به میزان قابل قبول می‌باشد. عصاره‌گیری با حلال به میزان قابل ملاحظه‌ای برای جداسازی ترکیبات فعال مورد استفاده قرار می‌گیرد. استخراج با حلال متانول بیشترین مقدار استخراج عصاره و همچنین بالاترین مقدار قدرت آنتی‌اکسیدانی را نشان می‌دهد (6 و 28).

هدف از این آزمایش، بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی α -توکوفرول استات، پوست و عصاره انار، در جیره‌های حاوی روغن ماهی بر روی الگوی اسید چرب عضلات ران و سینه و پراکسیداسیون گوشت ذخیره شده، جوجه‌های گوشتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

استخراج عصاره

در ابتدا پوست انار بعد از جمع‌آوری در دمای محیط خشک و با استفاده از آسیاب (مش 40) خرد و به دلیل محافظت ترکیبات فنلی موجود در آن، در دمای 20- تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. جهت عصاره‌گیری پوست، از حلال متانول/آب (60/40) استفاده شد. 4 لیتر از حلال به یک کیلوگرم پوست انار افزوده و به مدت 6 ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید. سپس محلول به مدت 30 دقیقه، در دستگاه اولتراسونیک قرار داده شد. محلول با کاغذ واتمن شماره 42 فیلتر تا ذرات درشت به خوبی جدا گردند. عصاره‌گیری مجدداً با ذرات درشت تکرار گردید. بعد از عصاره‌گیری، محلول با استفاده از روتاری اوپریاتور (تحت شرایط خلاء و 30 درجه سانتیگراد) تغلیظ و در شرایط انجماد نگهداری شد (9).

حیوانات و جیره‌های آزمایشی

تعداد 384 قطعه جوجه گوشتی نر یکروزه سویه راس 308 در قالب طرح کاملاً تصادفی با 8 تیمار غذایی و 4 تکرار 12 جوجه‌ای به مدت 42 روز تغذیه شدند. جهت غنی‌سازی گوشت، 2 درصد روغن ماهی به همه جیره‌ها افزوده شد.

ملاحظه‌ای، آنها را در بافت‌های خوراکی جذب و ذخیره نمایند. تجمع اسیدهای چرب امگا-3 در داخل گوشت و تخم‌مرغ بوسیله تغذیه جیره‌های غنی از n-3 در تغذیه طیور امکان پذیر می‌باشد (8، 18، 24 و 26). روغن ماهی منبع سرشار از اسیدهای چرب EPA، DPA و DHA می‌باشد. ریمر و گیون (23) گزارش کردند، افزودن 40 گرم در کیلوگرم روغن ماهی به جیره سبب ذخیره حدود 1000 و 1500 میلی‌گرم در کیلوگرم LC-PUFA: n-3 در گوشت سینه و ران جوجه‌های گوشتی می‌شود.

یکی از مهم‌ترین مشکلات جهت محقق شدن غنی‌سازی گوشت طیور، کنترل اکسیداسیون چربی ذخیره شده طی زمان مصرف یا ذخیره‌سازی می‌باشد. با افزایش درجه غیر اشباع بودن اسیدهای چرب در گوشت‌های غنی شده در جیره‌های حاوی روغن ماهی، آنها را به محصولی با قابلیت بالای اکسیداسیون تبدیل می‌کند. چربی‌های غیراشباع به سرعت دستخوش فساد اکسیداتیو شده و تولید رادیکال‌های آزاد از جمله پراکسیداز و آلدئید می‌کنند که این محصولات از یک طرف باعث کاهش زمان ذخیره‌سازی چربی‌ها می‌شوند و از طرفی دیگر این رادیکال‌های آزاد توانایی تخریب محتویات سلولی از قبیل پروتئین، DNA، چربی، کربوهیدرات را دارند (32). همچنین، اکسیداسیون گوشت سبب طعم و مزه نامطلوب گوشت مصرفی می‌گردد. از روش‌های کاهش اکسیداسیون چربی، استفاده از آنتی‌اکسیدان می‌باشد. علاقمندی به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌هایی با منشاء طبیعی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌هایی سنتتیک به دلیل امنیت و سلامت غذایی، خوشمزه‌گی و پایداری در داخل گوشت، طی سالیان اخیر افزایش یافته است (14 و 21). فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان به دلیل ترکیبات فنلی موجود در آنها که به صورت ترکیبات فرار وجود دارد، می‌باشد. مطالعات قبلی نشان داده است که اثرات منفی حاصل از اکسیداسیون چربی در گوشت و تخم مرغ با استفاده از جیره‌های حاوی مخلوط گیاهان دارویی، قاله انگور و گیاهان بومی که آنتی‌اکسیدان‌هایی طبیعی حاوی پلی‌فنلی غنی می‌باشند، کاهش یافته است (4، 10 و 33). لویز-بتو و همکاران (16)، نشان داد، رزماری و اولئورزین اثرات آنتی‌اکسیدانی در گوشت خوک ندارند. با توجه به نتایج متناقض گزارش شده، استفاده از منابع جدید نیاز به بررسی دارد.

ایران به عنوان اولین و بزرگترین تولید کننده و صادرکننده انار در جهان شناخته شده است به طوری که در سال 1385 میزان تولید میوه انار در ایران تقریباً 670 هزار تن بوده است (34). پوسته انار یکی از فرآورده‌های فرعی کارخانجات تهیه آبمیوه و رب انار می‌باشد. سالیانه هزاران تن محصول جانبی (پوست و دانه) این میوه در کارخانجات فرآوری بدون استفاده دور ریخته می‌شود. پوست به همراه دانه انار در مقایسه با سایر میوه‌ها دارای ترکیبات فنلیکی بالاتر می‌باشد (11). پوست انار حاوی منابع غنی آنتی‌اکسیدان‌های پلی‌فنلی می‌باشد.

1- 1, 1-Diphenyl-2-picryl hydrazyl, Fluka

2 - Trichloroacetic acid, 91232, >98%, Fluka

جدول 1- ترکیب جیره های آزمایشی (%)¹
Table1- Composition of experimental diets (%)¹

اجزای جیره Ingredient of diet	دوره آغازین (0-7) Starter (0-7)	دوره رشد (8-24) Grower (8-24)	دوره پایانی (25-42) Finisher (25-42)
ذرت Corn	50.50	50.40	52.92
سویا Soybean	35.50	56.31	86.33
گلوتن Gluten	5.00	4.00	2.40
چربی حیوانی Animal Fat	2.00	3.50	5.00
روغن ماهی Fish Oil	2.00	2.00	2.00
آنتی‌اکسیدان Antioxidant	0.00	0.00	0.00
خاک اره Sawdust	0.30	0.30	0.30
دی‌کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.77	1.60	1.40
سنگ آهک Lemeston	0.38	1.07	1.05
نمک Salt	0.35	0.47	0.41
دی ال ترئونین DL-Treonin	0.08	0.06	0.00
دی ال متیونین DL-Met	0.32	0.26	0.18
ال لایزین L-Lys	0.38	0.28	0.00
مکمل مواد معدنی - ویتامینی Vitamin-mineral premix ²	0.50	0.50	0.50
انرژی قابل متابولیسمی ظاهری (کیلو کالری/کیلوگرم) AME(kcal/kg)	3025.00	3150.00	3200.00
پروتئین خام (%) Crude Portion (%)	23.50	21.43	21.00
چربی خام (%) Ether Extract (%)	4.32	5.90	5.90
فیبر خام (درت) Crude Fibre (%)	5.72	5.51	5.59
کلسیم Ca	1.05	0.90	0.85
فسفر قابل دسترس Available P	0.50	0.45	0.63
لایزین L-Lys	1.43	1.24	1.060.
متیونین DL-Met	0.70	1.24	1.06
متیونین +سیستئین Met-Sys	0.52	0.55	0.70

¹هشت تیمار غذایی شامل: جیره شاهد فاقد آنتی‌اکسیدان، جیره شاهد حاوی 200 میلی‌گرم در کیلوگرم α -توکوفرول استات، جیره‌های حاوی 100، 200 و 300 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره پوست انار و جیره‌های حاوی 10، 20 و 30 گرم در کیلوگرم پوست انار بودند.

²Vitamin-mineral mix supplied the following per kilogram of diet: 30 mg α -tocopherol, 4.82 mg all trans retinol acetate, 62.5 mg cholecalciferol, 3 mg menadione sodium bisulphite, vitamin 1 mg thiamine hydrochloride, 5 mg riboflavin, 3 mg pyridoxine hydrochloride, 0.02 mg cyanocobalamin, 30 mg niacin, 10 mg pantothenic acid, 0.8 mg folic acid, 0.05 mg biotin, 10 mg ascorbic acid, and 480 mg choline chloride. Mn, 55 mg; Zn, 50 mg; Fe, 85 mg; Cu, 5 mg; Se, 0.1 mg; I, 0.18 mg.

280 درجه سانتی‌گراد، دمای محل تزریق⁵ 240 درجه سانتی‌گراد و فشار سر ستون 20 psi بود. مقدار نمونه تزریق شده نیز حدود 0/2 تا 0/3 میکرولیتر بود. هر یک از پیک‌های منحنی رسم شده توسط دستگاه مربوط به یکی از اسیدهای چرب است که بر اساس زمان ابقاء و مقایسه آنها با استاندارد به هر یک از اسیدهای چرب، نوع آن اسید چرب مشخص شد.

اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی

3 گرم از نمونه همگن عضلات ران و یا سینه با 15 میلی‌لیتر آب مقطر بوسیله هموژن برقی با دور *g 1130 به مدت 1 دقیقه یکنواخت گردید. سپس 10 میلی‌لیتر کلروفرم به آن افزوده و با قدرت 2-3 تکان داد شد. چربی و مایع رویی با استفاده سانتریفیوژ با دور *g 2090 به مدت 15 جداسازی شد. مایع رویی جهت اندازه‌گیری محتوی کل فنل و فعالیت خنثی‌سازی رادیکال DPPH مورد استفاده قرار گرفت (13).

محتوی کل فنل

محتوی کل فنل به روش فولین-سیکالتو برآورد شد. 0/1 میلی‌لیتر از ماده‌رویی به معرف فولین-سیکالتو (0/2 مولار) افزوده و سپس با 3 میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم (5%) مخلوط گردید. در ادامه به مدت 30 ثانیه ورتکس انجام شد. مخلوط به مدت یک ساعت در دمای اتاق باقی ماند و جذب در 765 نانومتر با استفاده از دستگاه‌های اسپکتوفتومتری قرائت گردید. از اسید گالیک با غلظت‌های 10 تا 200 میکروگرم در میلی‌لیتر برای رسم منحنی استاندارد و محاسبه نتایج استفاده شد و نتایج به صورت معادل اسیدگالیک در 100 میلی‌لیتر بیان گردید (31).

فعالیت خنثی‌سازی رادیکال DPPH

فعالیت خنثی‌سازی رادیکال DPPH در نمونه‌های گوشت ذخیره شده در یخچال (4 °C) در روزهای 0، 7 و 11 بر اساس روش بلوس (1958) با کمی تغییرات (13) مورد آزمایش قرار گرفت. 200 میکرولیتر از مایع‌رویی جدا شده از مرحله قبلی، به 800 میکرولیتر آب مقطر افزوده و سپس 1 میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (0/2 میلی‌مولار) به آن افزوده شد. در ادامه به مدت 30 ثانیه ورتکس انجام شد. مخلوط به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق باقی ماند. برای شاهد نیز از 1000 میکرولیتر آب مقطر بعلاوه 1 میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (0/2 میلی‌مولار) استفاده گردید. جذب محلول با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری در طول موج 517 نانومتر قرائت شد. نتایج به

هشت تیمار غذایی شامل: جیره شاهد فاقد آنتی‌اکسیدان، جیره شاهد حاوی 200 میلی‌گرم در کیلوگرم α-توکوفرول استات، جیره‌های حاوی 100، 200 و 300 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره پوست انار و جیره‌های حاوی 10، 20 و 30 گرم در کیلوگرم پوست انار بودند. مقدار 3 گرم در کیلوگرم خاک اره در همه جیره‌ها به جزء جیره‌های حاوی پوست انار مورد استفاده قرار گرفت. همه جیره‌ها دارای غلظت انرژی قابل متابولیسم و درصد مواد مغذی یکسان و بر اساس راهنمای پرورش راس 308 تنظیم شدند (جدول 1). جوجه‌ها در کل دوره پرورش به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند.

نمونه‌برداری

در پایان دوره پرورش در سن 42 روزگی از هر تکرار یک جوجه کشتار و یک ران و سینه بعد از جدا کردن پوست و استخوان، برداشته و با استفاده از چرخ گوشت (چرخ گوشت خانگی)، به صورت جداگانه 2 بار چرخ شدند. دو زیر نمونه از هر نمونه تهیه که یکی در دمای 4 °C و دیگری در 20 °C- نگهداری شدند. برای تعیین محتوی کل فنل، فعالیت خنثی‌سازی رادیکال DPPH و اکسیداسیون گوشت از نمونه ذخیره شده در دمای 4 °C جهت ترکیب اسیدهای چرب گوشت از نمونه ذخیره شده در دمای 20 °C- بعداً استفاده گردید.

ترکیب اسیدهای چرب گوشت و جیره‌های آزمایشی

استخراج چربی از نمونه‌های چرخ شده با استفاده از کلروفرم و متانول (2 به 1) به وسیله روش فولچ (1957) انجام گردید. متیل استر کردن اسیدهای چرب، با استفاده متالول - بُر تری فلورید¹ (BF₃) انجام گردید جداسازی اسیدهای چرب با دستگاه گاز کروماتوگرافی (UNICAM، آمریکا) صورت گرفت. دستگاه مجهز به آشکار ساز یونیزه کننده شعله‌ای² و ستون موئین³ با طول 30 متر و قطر 0/22 میلی‌متر بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل استفاده شد. دمای آون و ستون دستگاه نیز مطابق برنامه دمایی داده شده به این صورت تنظیم شده بود که زمان اولیه 70 درجه سانتی‌گراد بود و با افزایش 5 درجه‌سانتی‌گراد در هر دقیقه به 150 درجه سانتی‌گراد می‌رسید و از 150 تا 160 با 2/5 درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه افزایش یافت و از 160 به 220 درجه سانتی‌گراد با 6 درجه‌سانتی‌گراد در هر دقیقه افزایش یافت. کل زمان شناسایی 30 دقیقه بود. دمای آشکار ساز⁴

- 1 - Boron trifluoride methanol complex (20% Solution in methanol), Merck
- 2 - Flame Ionization Detector (FID)
- 3 - Capillary column
- 4 - Detector

استفاده از جیره‌های حاوی آنتی‌اکسیدان در مقایسه با جیره فاقد آنتی‌اکسیدان باعث تأثیرات معنی‌داری در میزان ذخیره شدن اغلب اسیدهای چرب، در هر دو نمونه گوشت شده است. اسیدهای چرب اشباع SFA (C 14، C 16:0 و C 18:0) در گوشت ران و سینه تحت تأثیر آنتی‌اکسیدان‌های مختلف قرار نگرفت ($P > 0/05$). اسیدهای چرب در طیور به میزان آنها در جیره و تولیدشان در کبد بستگی دارد. اسیدهای چرب اشباع نسبت به اسیدهای چرب غیر اشباع بیشتر تحت تأثیر تولید آنها در کبد، قرار می‌گیرند. طیور توانایی بسیار کمی برای تغییر در میزان ذخیره این اسیدهای چرب به خصوص در عضله سینه، بر اساس تغییر اسید چرب جیره را دارند (29).

میزان اسیدهای چرب غیر اشباع با یک باند دوگانه (MUFA) در هر دو نمونه گوشت تغذیه شده با جیره‌های شاهد و سطوح پوست انار در مقایسه با جیره‌های حاوی α -توکوفرول استات و سطوح مختلف عصاره، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0/05$). افزایش ذخیره اسیدهای چرب غیر اشباع با چند باند دوگانه (PUFA) به دلیل ممانعت‌کنندگی که بر روی آنزیم 9-دی‌سچوراز دارند، سبب کاهش تولید MUFA می‌گردد. این آنزیم نقش مهمی در تبدیل SFA به MUFA ایفا می‌کند (7).

اسیدهای چرب غیر اشباع n-6 (C 18:2، C 20:3 و C 20:4) موجود در گوشت سینه و ران نگهداری شده در دمای یخچال در جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی آنتی‌اکسیدان‌های مختلف، تغییرات معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0/05$). گوشت جوجه‌های تغذیه شده با جیره فاقد آنتی‌اکسیدان، کمترین میزان این اسیدهای چرب را در مقایسه با آنهايي که با جیره‌های حاوی آنتی‌اکسیدان تغذیه شده بودند، داشت. همچنین، پوست انار توانایی کمتری در مهار اکسید شدن این اسید چرب طی نگهداری در یخچال در مقایسه با α -توکوفرول استات و سطوح عصاره از خود نشان داد و میزان اسیدهای چرب n-6 گوشت ران و سینه آن کمتر بود. علی‌رغم کم بودن اسیدهای غیر اشباع n-6 در روغن ماهی، اما میزان این اسیدهای چرب در سایر اقلام جیره مانند: ذرت و سویا بالا می‌باشد و به همین دلیل ذخیره این اسیدهای چرب در گوشت ران و سینه زیاد می‌باشد.

افزودن آنتی‌اکسیدان به جیره، سبب افزایش ذخیره اسیدهای چرب n-3 PUFA (C 18:3، EPA، DPA، DHA) در گوشت ران و سینه گردید و میزان این اسیدهای چرب در گوشت جوجه‌های تغذیه شده با این جیره‌ها، افزایش قابل ملاحظه‌ای نسبت به آنهايي که با جیره شاهد تغذیه شده بودند، نشان دادند ($P < 0/05$). اگرچه این افزایش، در گوشت جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی پوست و سطح پائین عصاره، کمتر بود. با توجه به غنی بودن اسیدهای چرب EPA، DPA و DHA در روغن ماهی، استفاده از روغن ماهی در جیره سبب افزایش اسیدهای چرب امگا-3 گوشت طیور می‌گردد (18).

صورت درصد مهار خنثی سازی رادیکال DPPH توسط نمونه مورد نظر، با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$100 \times \left\{ \frac{\text{ جذب در کنترل / جذب نمونه} - 1}{\text{ جذب در کنترل / جذب نمونه}} \right\} = \text{خنثی‌سازی رادیکال آزاد} \%$$

اکسیداسیون گوشت

در این روش مالون‌دی‌آلدهاند (MDA) به عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون، توسط شاخص اسید تیوباربیتریک TBARS که به وسیله آن و همکاران (1) شرح داده شده، اندازه گیری شد. نمونه ذخیره شده در یخچال ($+4^\circ\text{C}$) در روزهای 0، 7 و 11 مورد آزمایش قرار گرفت. 5 گرم از نمونه همگن، عضلات ران و سینه با 15 میلی‌لیتر آب مقطر بوسیله هموژن برقی با دور $1130 \times \text{g}$ به مدت 1 دقیقه یکنواخت گردید. سپس یک میلی‌لیتر از نمونه هموژن به داخل لوله آزمایش 25 میلی‌لیتری درپوش دار منتقل گردید. به طور خلاصه، 50 میکرولیتر هیدروکسی زانویل بوتیله (BHA^1) 7/5% و 2 میلی‌لیتر محلول اسید تیوباربیتریک-تری کلرو استواستیک (TCA^2) (20 میلی‌مولار TBA در داخل 15% TCA) به نمونه افزوده شد. مخلوط فوق به مدت 30 دقیقه در حمام آب گرم 90 درجه سانتی گراد انکوبه شد و سپس خنک شد و در ادامه جذب نوری مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج 532 نانومتر خوانده شد. از 1، 3، 3، 1-تترا اتوکسی پروپان (TEP) به عنوان پیش ساز MDA در تنظیم منحنی استاندارد استفاده شد. میزان TBA به صورت میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهاند در کیلوگرم گوشت گزارش گردید.

آنالیز آماری

داده‌های حاصله با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (27) در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری 0/05 استفاده گردید. مدل ریاضی این طرح در حالت کلی به صورت زیر می‌باشد:

$$X_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

X_{ij} = مقدار هر مشاهده، μ = میانگین جمعیت، t_i = اثر تیمار i ام،

e_{ij} = اثر خطا

نتایج و بحث

ترکیب اسید چرب

تأثیر آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در جیره بر ترکیب اسید چرب گوشت سینه و ران به ترتیب در جدول 2 و 3 نشان داده شده است.

1 - Butylated Hydroxytoluene, ICN Biomedical Inc.
2 - Trichloroacetic acid, 91232, >98%, Fluka

جدول ۲ - ترکیب اسید چرب گوشت سینه جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با منابع مختلف آنتی‌اکسیدانی (میلی گرم به ازای هر کیلو گرم گوشت)^۱
Table 2- Fatty acid composition of breast meat in broilers fed with various sources of antioxidants (mg/kg meat)¹

اسید چرب Fatty Acid	جبردهای آزمایشی Experimental diets										P-value	SEM
	Control	α-Toc ^۵ (mg/kg)			PPE ^۶ (mg/kg)			PP ^۷ (g/kg)				
		200	100	300	200	100	300	1	1	3		
C14:0	84.0	82.6	83.0	82.8	82.3	82.3	82.3	82.3	82.3	83.3	0.66	1.30
C 16:0	2687	2624	2675	2643	2617	2706	2644	2646	2646	2646	0.49	93.03
C 16:1	348	340	342	343	344	344	345	344	344	344	0.56	27.24
C 18:0	1138	1142	1144	1138	1154	1138	1157	1142	1142	1142	0.58	58.13
C 18:1	3302 ^a	3264 ^b	3282 ^{ab}	3263 ^b	3258 ^b	3202 ^c	3278 ^b	3280 ^{ab}	3278 ^b	3280 ^{ab}	0.01	239.67
C 18:2	2423 ^d	2517 ^a	2473 ^{bc}	2494 ^b	2493 ^b	2454 ^c	2460 ^c	2475 ^{bc}	2460 ^c	2475 ^{bc}	0.01	197.57
C 18:3	123 ^c	143 ^a	131 ^b	139 ^{ab}	143 ^a	127 ^b	130 ^b	129 ^b	130 ^b	129 ^b	0.01	38.24
C 20:3	51.8	53.8	53	53.0	53.0	52.0	52.0	52.0	52.0	52.0	0.38	9.11
C 20:4	77.6	78.8	77.3	78.0	78.0	77.0	77.0	77.8	77.0	77.8	0.41	7.27
C 20:5	109 ^d	140 ^a	117 ^c	129 ^b	133 ^{ab}	116 ^c	120 ^c	119 ^c	120 ^c	119 ^c	0.02	68.25
C 22:5	359	410 ^a	376 ^c	390 ^b	398 ^{ab}	373 ^c	377 ^c	376 ^c	377 ^c	376 ^c	0.01	120.36
C 22:6	107 ^c	120 ^a	115 ^{ab}	118 ^a	119 ^a	113 ^b	113 ^b	113 ^b	113 ^b	113 ^b	0.01	38.27
SFA ^۲	3909	3849	3927	3865	3853	3926	3884	3872	3884	3872	0.08	135.26
MUFA ^۳	3651 ^a	3604 ^c	3623 ^b	3606 ^c	3602 ^c	3623 ^b	3623 ^b	3624 ^b	3623 ^b	3624 ^b	0.01	143.26
PUFA ^۴	3251 ^e	3461 ^a	3442 ^a	3401 ^b	3442 ^a	3311 ^{ed}	3329 ^c	3325	3329 ^c	3325	0.01	391.06
n-3	699 ^c	813 ^a	739 ^c	776 ^b	793 ^{ab}	728 ^{cd}	740 ^c	738	740 ^c	738	0.01	256.90
LC n-3	576 ^e	670 ^a	608 ^d	637 ^{bc}	650 ^b	602 ^d	610 ^d	609 ^d	610 ^d	609 ^d	0.01	295.12
n-6	2553 ^d	2649 ^a	2603 ^e	2625 ^b	2624 ^b	2589 ^c	2589 ^c	2587 ^c	2589 ^c	2587 ^c	0.01	302.26
n-6/n-3	3.65 ^a	3.26 ^d	3.52 ^b	3.38 ^c	3.31 ^{ed}	3.54 ^b	3.49 ^{bc}	3.51 ^b	3.49 ^{bc}	3.51 ^b	0.01	0.87

^۱میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

^۲Means with no common superscript within the same rows differ significantly (P<0.05).

^۳SFA (Saturated fatty acid), ^۴MUFA (monounsaturated fatty acid), ^۵PUFA (poly unsaturated fatty acid), n-3(C 18:3+ C 20:5+ C 22:5+ C 22:6), LC n-3 (C 20:5+ C 22:5+ C 22:6), n-6 (C 18:2+ C 20:3+ C 20:4), ^۶α-TOC, α-tocopheryl acetate ^۷PP, pomegranate peel.

جدول ۳- ترکیب اسید چرب گوشت ران جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با منابع مختلف آنتی‌اکسیدانی (میلی گرم به ازای هر کیلو گرم گوشت)
Table 3- Fatty acid composition of thigh meat of broiler chickens fed with α -tocopherol, pomegranate peel extract and pomegranate peel¹

اسید چرب Fatty Acid	جیره‌های آزمایشی Experimental diets										P-value	SEM
	Control	Control + α -Toc ⁵ (mg/kg)			Control +PPE ⁶ (mg/kg)			Control + PP ⁷ (g/kg)				
		200	100	300	200	100	300	1	2	3		
C14:0	109.72	107.64	108.87	107.55	108.55	106.92	107.90	107.90	107.90	107.90	0.96	9.30
C 16:0	3088.90	3088.90	3087.75	3089.19	3086.60	3090.34	3091.77	3091.77	3091.77	3091.77	0.99	193.03
C 16:1	513.52 ^a	460.56 ^c	483.35 ^b	481.95 ^b	461.60 ^c	498.45 ^{ab}	479.15 ^b	477.75 ^b	477.75 ^b	477.75 ^b	0.04	127.24
C 18:0	1238.48	1370.08	1342.15	1323.05	1350.47	1339.65	1358.37	1344.92	1344.92	1344.92	0.58	158.13
C 18:1	3490.34 ^a	3513.35 ^c	3503.72 ^b	3520.03 ^b	3519.50 ^c	3514.52 ^b	3540.63 ^b	3509.60 ^{bc}	3509.60 ^{bc}	3509.60 ^{bc}	0.01	239.67
C 18:2	2931.09 ^c	3119.53 ^a	2971.79 ^b	3098.99 ^{ab}	3100.52 ^{ab}	3021.49 ^b	3044.25 ^b	3034.72 ^b	3034.72 ^b	3034.72 ^b	0.01	397.57
C 18:3	161.39 ^c	194.40 ^a	172.26 ^b	185.69 ^{ab}	194.53 ^a	167.68 ^{bc}	171.94 ^b	162.44 ^c	162.44 ^c	162.44 ^c	0.01	68.18
C 20:3	160.85 ^b	171.37 ^a	163.11 ^b	169.80 ^a	169.73 ^a	162.38 ^b	163.30 ^b	164.16 ^b	164.16 ^b	164.16 ^b	0.03	24.96
C 20:4	186.05	197.43	184.70	189.39	192.43	185.58	188.34	189.19	189.19	189.19	0.09	11.77
C 20:5	160.66 ^d	197.12 ^a	164.26 ^d	181.30 ^b	185.15 ^b	165.60 ^{cd}	168.19 ^c	171.91 ^c	171.91 ^c	171.91 ^c	0.02	48.90
C 22:5	461.82 ^c	529.67 ^a	488.59 ^b	520.51 ^a	519.87 ^a	489.94 ^b	488.40 ^b	493.10 ^b	493.10 ^b	493.10 ^b	0.01	120.36
C 22:6	195.46 ^c	239.94 ^a	207.76 ^c	217.41 ^{bc}	226.54 ^{ab}	205.49 ^c	211.42 ^c	211.90 ^c	211.90 ^c	211.90 ^c	0.01	78.47
SFA ²	4537.10	4533.62	4539.49	4528.81	4545.62	4536.91	4558.70	4544.59	4544.59	4544.59	0.67	311.45
MUFA ³	3968.86 ^a	3960.19 ^c	3997.50 ^b	4001.45 ^b	3961.63 ^c	4032.17 ^b	4012.50 ^b	3987.35 ^{bc}	3987.35 ^{bc}	3987.35 ^{bc}	0.01	292.14
PUFA ⁴	4257.31 ^c	4443.46 ^a	4422.49 ^c	4563.10 ^b	4588.78 ^b	4398.17	4436.32	4426.95	4426.95	4426.95	0.01	385.96
n-3	979.33 ^d	1155.41 ^a	1022.88 ^c	1104.92 ^b	1126.09 ^{ab}	1028.71 ^c	1040.43 ^c	1038.87 ^c	1038.87 ^c	1038.87 ^c	0.01	387.77
LC n-3	817.94 ^d	960.73 ^a	860.62 ^c	919.23 ^b	931.56 ^b	861.03 ^c	868.49 ^c	876.43 ^c	876.43 ^c	876.43 ^c	0.01	267.12
n-6	3277.98 ^d	3488.32 ^a	3389.60 ^c	3458.18 ^b	3462.68 ^b	3369.46 ^d	3395.89 ^c	3369.46 ^c	3369.46 ^c	3369.46 ^c	0.01	393.61
n-6/n-3	3.35 ^a	3.02 ^d	3.28 ^{ab}	3.13 ^c	3.07 ^{cd}	3.27 ^{ab}	3.26 ^{ab}	3.23 ^b	3.23 ^b	3.23 ^b	0.01	0.96

در هر ردیف حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P < 0.05).

¹Means with no common superscript within the same rows differ significantly (P<0.05).

²SFA (Saturated fatty acid), ³MUFA (monounsaturated fatty acid), ⁴PUFA (polyunsaturated fatty acid), n-3 (C 18:3+ C 20:5+ C 22:6), LC n-3 (C 20:5+ C 22:5+ C 22:6), n-6 (C 18:2+ C 20:3+ C 20:4); ⁵ α -TOC, α -tocopheryl acetate; ⁶PPE, pomegranate peel extract; ⁷PP, pomegranate peel.

ذخیره بیشتر α -توکوفرول استات در گوشت‌های نگهداری شده برای مدت طولانی، گردید (3). میزان ترکیبات فنلی در گوشت سینه در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره حاوی آنتی‌اکسیدان اسید گالیک افزایش معنی‌داری در مقایسه با جیره فاقد آنتی‌اکسیدان نشان داده است (13). کیم و همکاران (15) گزارش کردند که احتمالاً اسید گالیک به طور مستقیم با رادیکال آزاد واکنش داده و آن را به صورت غیر فعال در می‌آورد.

فعالیت خنثی‌سازی رادیکال DPPH

میزان درصد خنثی‌سازی رادیکال DPPH توسط گوشت ران و سینه در جدول 4 و 5 نشان داده شده است. درصد خنثی‌سازی رادیکال DPPH در گوشت جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی آنتی‌اکسیدان در مقایسه با جوجه‌های فاقد آنتی‌اکسیدان، افزایش نشان داد که درصد آن در جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی پوست انار کمتر بود ($P < 0/05$). با افزایش زمان نگهداری گوشت، درصد خنثی‌سازی رادیکال DPPH در گوشت ران و سینه کاهش نشان داد. گوشت سینه در مقایسه با گوشت ران درصد بالاتری از درصد خنثی‌سازی را نشان داد. DPPH به طور گسترده‌ای به عنوان روشی جهت بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. محلول DPPH به عنوان یک رادیکال آزاد پایدار با آنتی‌اکسیدان ترکیب و اتم هیدروژن از آن گرفته و به شکل مولکول DPPH-H پایدار تبدیل می‌شود. ترکیبات فنلی عصاره پوست انار ممکن است با دادن یک الکترون و واکنش با رادیکال آزاد منجر به محصول پایدار و پایان زنجیره رادیکال آزاد گردد (31). میزان درصد خنثی‌سازی رادیکال DPPH در طی ذخیره‌سازی گوشت کاهش سریعتری را در عضله ران نسبت به سینه به دلیل چربی و PUFA بیشتر دارد (مین و همکاران، 2008). استفاده از 150 و 200 میلی‌گرم α -لیپوئیک¹ و α -توکوفرول به جیره باعث بهبود درصد خنثی‌سازی رادیکال DPPH شده است (19). چیریان و همکاران (5) گزارش کردند که استفاده از سورگوم در جیره که حاوی ترکیبات فنلی (تانن متراکم و قابل هیدرولیز) می‌باشد باعث بهبود روند اکسیداسیون در عضله سینه می‌گردد. گزارش شده است که ذخیره اسانس گیاهی در بافت‌های مختلف به میزان و مدت استفاده آنها در جیره بستگی دارد (3). نتایج حاصل از آزمایش ما نیز نشان می‌دهد که افزودن سطوح بالا عصاره توانایی مشابه با α -توکوفرول در خنثی‌سازی رادیکال DPPH دارد که احتمالاً به دلیل ذخیره بیشتر ترکیبات فنلی در گوشت نسبت به سطوح پائین و پوست انار، باشد.

جانگ و همکاران (13)، میزان ذخیره DHA بیشتری را در گوشت سینه جوجه‌های تغذیه شده با جیره تجاری حاوی آنتی‌اکسیدان اسیدگالیک گزارش کردند. با توجه به حساسیت بالای اسیدچرب امگا-3 به اکسیداسیون، جلوگیری از اکسیده شدن آنها یکی که نقش فیزیولوژیکی در تغذیه انسان دارند، امری ضروری محسوب می‌گردد. به نظر می‌رسد که α -توکوفرول استات و سطوح 200 و 300 میلی‌گرم عصاره در کیلوگرم جیره، باعث کاهش اکسیداسیون اسیدچرب امگا-3 شده‌اند.

مجموع ذخیره اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلند امگا-3 (PUFA Lc n-3)، در گوشت ران و سینه تحت تاثیر انواع آنتی‌اکسیدان‌های افزودن شده به جیره‌های مختلف قرار گرفت ($P < 0/05$). میزان این اسیدهای چرب در گوشت سینه در مقایسه با گزارش ریمر و گیونز (24) که سطوح 4 و 8 درصد روغن ماهی مورد استفاده قرار داده بودند، کمتر بود. افزایش میزان اسیدهای چرب زنجیره بلند امگا-3 در جیره باعث افزایش ذخیره آن در گوشت ران و سینه می‌گردد که این سبب افزایش آنها نسبت به اسیدهای چرب زنجیره بلند امگا-6 در بافت می‌شود که در نتیجه منجر به کاهش نسبت n-6/n-3 می‌گردد. نتایج مشابه توسط عبید و همکاران (19) و کورتیناس و همکاران (7) گزارش شده است.

اندازه گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی

میزان ترکیبات فنلی

میزان ترکیبات فنلی گوشت سینه و ران به ترتیب در جدول 4 و 5 آورده شده است. تفاوت معنی‌داری در میزان ترکیبات فنلی گوشت جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی منابع مختلف آنتی‌اکسیدان وجود داشت ($P < 0/05$). جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی α -توکوفرول استات و سطوح 200 و 300 میلی‌گرم عصاره در کیلوگرم جیره، ترکیبات فنلی بیشتری را در گوشت ران و سینه را در مقایسه با جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های فاقد آنتی‌اکسیدان و پوست انار داشتند. افزودن آنتی‌اکسیدان به جیره سبب ذخیره بیشتر ترکیبات پلی‌فنلی می‌گردد که این ترکیبات با رادیکال‌های آزاد از قبیل هیدروکسی، سوپراکساید و پروکسیل واکنش نشان داده و آنها را غیر فعال می‌کنند که ممکن است باعث کاهش غلظت رادیکال آزاد سلول و در نتیجه پایداری بیشتر محصول گردد (12 و 22). نگیندرا پراساد و همکاران (20) در شرایط برون‌تنی همبستگی بالایی بین ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل ($R^2 = 0/977$) گزارش کردند. جیره‌های حاوی پونه‌کوهی، رزماری و تفاله انگور که حاوی ترکیبات فنلی می‌باشند، فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در گوشت بره و طیور افزایش می‌دهد (10 و 30). مکمل کردن جیره بوقلمون با عصاره پونه‌کوهی که حاوی ترکیبات فنلی می‌باشد، باعث افزایش پایداری اکسیداتیو و

1 alpha lipoic acid

جدول ۴- چربی خام (درصد)، میزان ترکیبات فنلی (میکرو گرم گالیک اسید اکی والان/گرم)، میزان اسید تیو بار بیوتریک، فعالیت خنثی‌سازی رادیکال آزاد عضله گوشت سینه جوجه‌های گوشتی تقذیه شده با منابع مختلف آنتی‌اکسیدانی

Table 4—Crud fat (%), total phenolic contents (mg gallic acid equivalent/g meat), TBARS Values and, DPPH activity antioxidant potential of breast meat from chickens fed with various sources of antioxidants

جیره‌های آزمایشی Experimental diet	DPPH Assay Free radical scavenging			میزان میلی‌گرم MDA در کیلوگرم گوشت			میزان کل فنلی Total Phenolic (درصد)	چربی (درصد)
	0 day	7 day	11 day	0 day	7 day	11 day		
Control	46.28 ^d	42.43 ^c	39.82 ^d	0.110 ^{ab}	0.191 ^a	0.296 ^a	37.60 ^d	2.12
Control + α -Toc (mg/kg)								
200	57.58 ^a	53.68 ^{ab}	52.58 ^a	0.097 ^c	0.136 ^c	0.175 ^f	48.00 ^a	2.18
Control +PPE (mg/kg)								
100	55.97 ^b	52.57 ^c	49.76 ^b	0.113 ^a	0.168 ^b	0.232 ^b	44.64 ^c	2.13
200	58.64 ^a	55.67 ^a	51.94 ^{ab}	0.108 ^b	0.159 ^c	0.201 ^d	47.21 ^b	2.15
300	60.60 ^a	57.06 ^a	52.16 ^a	0.107 ^b	0.151 ^d	0.192 ^{de}	47.64 ^a	2.15
Control + PPE (g/kg)								
1	49.10 ^c	44.27 ^d	43.07 ^c	0.113 ^a	0.168 ^b	0.232 ^b	44.05 ^e	2.14
2	50.07 ^c	46.16 ^d	44.17 ^c	0.108 ^b	0.162 ^{bc}	0.228 ^b	45.01 ^c	2.15
3	55.99 ^b	45.32 ^d	44.92 ^c	0.107 ^b	0.158 ^c	0.221 ^{bc}	45.97 ^c	2.15
P-Value	0.01	0.01	0.01	0.08	0.01	0.01	0.05	0.12
S EM	2.206	3.120	4.825	0.034	0.085	0.096	15.240	0.153

در هر ردیف حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($P < 0.05$).

Means with no common superscript within the same rows differ significantly ($P < 0.05$).

SEM: Standard errors of mean; PPE, pomegranate peel extract; PP, pomegranate peel; α -TOC, α -tocopherol acetate; DPPH, 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl; MDA, malondialdehyde

جدول 5 - چربی خام (درصد)، میزان ترکیبات فنلی (میکرو گرم گالیک اسید اکی والان گرم)، میزان اسید تیو بار نیوتریک، فعالیت خنثی‌سازی رادیکال آزاد عضله گوشت ران جوجه‌های تغذیه شده با منابع مختلف آنتی‌اکسیدانی

Table 5- Crud fat (%), total phenolic contents (mg gallic acid equivalent/g meat), TBARS Values and, DPPH activity antioxidative potential of breast meat from chickens fed with various sources of antioxidants

جیره‌های آزمایشی Experimental diet	میزان درصد فعالیت خنثی‌سازی رادیکال DPPH DPPH Assay Free radical scavenging			میزان میلی‌گرم MDA در کیلوگرم گوشت TBARS Values mg of Malondialdehyde			میزان کل فنلی Total Phenolic	چربی (درصد) Fat (%)
	0 day	7 day	11 day	0 day	7 day	11 day		
Control	46.28 ^d	32.64 ^c	35.90 ^c	0.176 ^a	0.254 ^a	0.386 ^a	37.60 ^c	3.17
Control + α -Toc (mg/kg)								
200	47.22 ^a	42.00 ^a	40.18 ^a	0.094 ^d	0.143 ^c	0.205 ^d	47.00 ^a	3.27
Control +PPE (mg/kg)								
100	42.72 ^c	41.07 ^c	37.70 ^b	0.118 ^c	0.190 ^c	0.294 ^b	41.65 ^{cd}	3.19
200	44.64 ^b	43.20 ^{ab}	39.54 ^{ab}	0.095 ^c	0.178 ^d	0.247 ^{cd}	44.42 ^c	3.21
300	45.22 ^b	43.22 ^{ab}	40.12 ^a	0.099 ^d	0.169 ^d	0.237 ^d	44.47 ^b	3.22
Control + PPE (g/kg)								
1	37.20 ^e	34.43 ^d	32.87 ^c	0.165 ^a	0.214 ^b	0.318 ^b	40.80 ^{cd}	3.21
2	38.22 ^e	34.97 ^d	33.12 ^c	0.147 ^b	0.204 ^b	0.296 ^b	39.80 ^d	3.20
3	39.22 ^e	33.53 ^d	34.32 ^c	0.149 ^b	0.189 ^c	0.308 ^b	41.80 ^c	3.20
P-Value	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.08	0.05	0.19
S EM	12.206	13.120	12.206	0.034	0.085	0.096	15.240	0.192

^{a-c}در هر ردیف حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P < 0.05).

Means with no common superscript within the same rows differ significantly (P<0.05).

SEM: Standard errors of mean; PPE, pomegranate peel extract; PP, pomegranate peel; α -TOC, α -tocopheryl acetate; DPPH, 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl; MDA, malondialdehyde.

اکسیداسیون گوشت

در جدول 4 و 5 میزان شاخص TBARS گوشت سینه و ران جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی آنتی‌اکسیدان، نشان داده شده است. در شاخص TBARS مالون‌دی‌آلدئید MDA به عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون اندازه‌گیری می‌شود. نتایج نشان می‌دهد که میزان MDA در گوشت سینه جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی آنتی‌اکسیدان به جزء در روز اول نگهداری در یخچال، اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0/05$). جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی 300 میلی‌گرم عصاره پوست انار در جیره و α -توکوفرول استات کمترین میزان اکسیداسیون را نشان دادند. افزودن روغن ماهی به جیره، منجر به افزایش شاخص TBARS در گوشت ران و سینه در طی زمان نگهداری شده که این افزایش در گوشت ران مقدار بیشتری را در مقایسه با گوشت سینه نشان داده است (12 و 26)، که در توافق با نتایج پژوهش حاضر است.

افزودن آنتی‌اکسیدان به جیره، علی‌رغم افزایش ذخیره میزان اسیدهای چرب PUFA LC n-3 در گوشت ران و سینه، پیشرفت اکسیداسیون را با کندی مواجه کرد. تعادل پرواکسیداسیون و آنتی‌اکسیدان‌ها موجود در گوشت بعد از کشتار، در شروع اکسید شدن گوشت موثر می‌باشد. میزان اکسیداسیون اولیه گوشت وابسته عوامل برون‌زادی و درون‌زادی می‌باشد. عوامل درون‌زادی شامل میزان چربی، ترکیب اسید چرب، میزان آهن، آنتی‌اکسیدان موجود (کارنوزین و α -توکوفرول) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و غیره) می‌باشند. عوامل برون‌زادی شامل اکسیژن، گرما، افزودن نمک و مدت نگهداری می‌باشند (17). بیشتر بودن مجموع PUFA در گوشت ران نسبت به سینه و همچنین میزان بیشتر عوامل پرواکسیداسیون از قبیل مایوگلوبین و پروتئین‌های حاوی آهن، سبب افزایش MDA در عضله ران می‌باشد (10). کورتیناس و همکاران (7)، گزارش کردند که علی‌رغم افزایش ذخیره α -توکوفرول در گوشت ران نسبت به سینه به دلیل بیشتر بودن مجموع PUFA و چربی ران میزان MDA آن بیشتر می‌باشد. این گزارشات با نتایج بدست آمده در این تحقیق مشابه می‌باشند.

کورتیناس و همکاران (7) و جانگ و همکاران (13) نشان دادند که افزودن α -توکوفرول استات به جیره سبب کاهش میزان شاخص TBARS می‌گردد که در توافق با نتایج حاصل از افزودن 200 میلی‌گرم در کیلوگرم α -توکوفرول استات به جیره در این آزمایش

می‌باشد. ترکیبات فنلی موجود در عصاره پوست انار ممکن است فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشابه α -توکوفرول استات را در گوشت سینه و ران ایفا کنند و سبب کاهش میزان اکسیداسیون گردند. اگرچه مکانسیم عمل در آنها ممکن است متفاوت باشد. در این آزمایش افزودن ترکیبات فنلی 200 و 300 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره انار به جیره عملکردی مشابه با α -توکوفرول در جلوگیری از اکسیداسیون نشان داد که با نتایج گونی و همکاران (10) که نشان دادند ترکیبات فنلی تفاله انگور به میزان تقریباً مشابه با α -توکوفرول استات موثر می‌باشند، مطابقت دارند. افزودن عصاره حاصل از قسمت‌های داخلی انار¹ در مقایسه با BHT به گوشت پخته شده در طی نگهداری، باعث عملکرد بهتری در کاهش TBARS به دلیل شکستن زنجیره رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسیداسیون بوسیله دادن هیدروژن توسط ترکیبات فنلی و تشکیل محصول پایدار، می‌گردد (19). کاهش تشکیل MDA در جیره‌های حاوی عصاره پونه‌کوهی به دلیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در آن می‌باشد که ممکن است جذب و در داخل ماهیچه و دیگر بافت‌ها ذخیره گردد (3 و 30). با وجود این، هنوز مشخص نشده است که آیا آنتی‌اکسیدان مصرفی می‌توانند وارد سیستم بافت چربی گردند یا نه؟ همچنین روشی مشخصی برای شناسایی قابلیت دسترسی ترکیبات فنلی در بدن هنوز گزارش نشده است.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که افزودن 2 درصد روغن ماهی به جیره، باعث غنی‌سازی گوشت مرغ از نظر اسیدهای چرب امگا-3 می‌گردد. استفاده از آنتی‌اکسیدان α -توکوفرول و سطوح 200 و 300 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره پوست انار منجر به افزایش ترکیبات فنلی در گوشت ران و سینه شد که احتمالاً سبب ممانعت از اکسیداسیون گوشت ران و سینه غنی شده با اسیدهای چرب امگا-3 در طی نگهداری در یخچال می‌شود. همچنین این نتایج نشان می‌دهد که سطوح 200 و 300 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره پوست انار قدرت آنتی‌اکسیدانی مشابه با 200 میلی‌گرم در کیلوگرم α -توکوفرول استات در گوشت‌های غنی شده را دارند.

منابع

1. Ahn, D. U., D. G. Olson., C. Jo., J. Love, and S. K. Jin. 1999. Volatiles production and lipid oxidation on

- irradiated cooked sausage as related to packaging and storage. *Journal Food Science*, 64(2), 226–229.
2. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199–1200.
 3. Botsoglou, N.A., E. Christaki., D.J. Fletourisb., P. Florou-Paneri, and A.B. Spaisa. 2002. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Meat Science*, 62:259–265
 4. Brenes, A., A. Viveros., I. Gon., C. Centeno., S. G. Sayago-Ayerdy., I. Arija, and F. Saura-Calixto. 2008. Effect of Grape Pomace Concentrate and Vitamin E on Digestibility of Polyphenols and Antioxidant Activity in Chickens. *Poultry Science*, 87:307–316
 5. Cherian G. R. K. Selvaraj, M. P. Goeger, and P. A. Stitt. 2002. Muscle Fatty Acid Composition and Thiobarbituric Acid-Reactive Substances of Broilers Fed Different Cultivars of Sorghum. *Poultry Science*, 81:1415–1420
 6. Chidambara Murthy K. N., G. K Jayaprakasha, and R. P Singh. 2002. Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract using in vivo models. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 14:50(17):4791-5.
 7. Cortinas, L., C. Villaverde., J. Galobart., D. Baucells, and A. Barroeta. 2004. Fatty acid content in chicken thigh and breast as affected by dietary polyunsaturated level. *Journal Poultry Science*, 83: 1155-1164.
 8. Farhoomand, P and S. Checaniazer. 2009. Effects of graded levels of dietary fish oil on the yield and fatty acid composition of breast meat in broiler chickens. *Journal Applied Poultry Research*, 18 :508–513
 9. Goli, A. H., M. Barzegar, and M. A. Sahari. 2005. Antioxidant Activity and Total Phenolic Compounds of Pistachio (*Pistachia vera*) Hull Extracts. *Food Chemistry*, 92: 521-525.
 10. Gon, I., A. Brenes., C. Centeno., A. Viveros., F. Saura-Calixto., A. Rebole., I. Arija, and R. Estevez . 2007. Effect of Dietary Grape Pomace and Vitamin E on Growth Performance, nutrient Digestibility, and Susceptibility to Meat Lipid Oxidation in Chickens. *Poultry Science*, 86:508–516
 11. Guo,C., J. Yang., J. Wei., Y. Li., J. Xu, and Y. Jiang. 2003. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nature Research*, 23: 1719–1726
 12. Hogan, S., L. Zhang., J. Li., B. Zoecklein, and K. Zhou. 2009. Antioxidant properties and bioactive components of Norton (*Vitis aestivalis*) and Cabernet Franc (*Vitis vinifera*) wine grapes. *LWT-Food Science and Technology*, 42(7), 1269–1274.
 13. Jung S, J. H., B. Kim., H. Yun., Z. A Kruk, and C. Jo . 2010. Effect of dietary mixture of gallic acid and linoleic acid on anti oxidative potential and quality of breast meat from broiler. *Meat Science*, 86(2):520-6
 14. Kang, H. K., K. H. Kang, J. C. Na, D. J., Yu, D. U. Kim, S. J. Lee, and S. H. Kim. 2008. Effects of feeding *Rhus verniciflua* extracts on egg quality and performance of laying hens. *Korean Journal Food Science*, 28:610-615.
 15. Kim, S. H., C. D. Jun., K. Suko., B. J Choi., H, and S. Park Lim. 2006. Gallic acid inhibits histamine release and pro-inflammatory cytokine production in mast cells. *Toxicology Science*, 91(1), 123–131.
 16. Lopez-Bote, C. J., J. K. Gray., E. A. Gomaa, and C. J. Flegal. 1998. Effect of dietary administration of oil extracts from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat. *British Poultry Science*, 39(2), 235–240.
 17. Min, B. R., K. C. Nam., J. C. Cordray, and D. U. Ahn. 2008. Factors Affecting Oxidative Stability of Pork, Beef, and Chicken Meat," *ANIMAL INDUSTRY REPORT: AS 654, ASL R2257*. Available at: http://lib.dr.iastate.edu/ans_air/vol654/iss1/6
 18. Mirghelenj S. A., A. Golian, and V. Taghizadeh. 2009. Enrichment of chicken meat with long chain omega-3 fatty acids through dietary fish oil. *Research Journal Biology Science*, 4:604–608.
 19. Muhammad. S., F. M. Anjum., M. I. Khan., M. S. Arshad, and M. Shahi. 2012. Enhancement of lipid stability of broiler breast meat and meat products fed on alpha lipoic acid and alpha tocopherol acetate supplemented feed. *Lip. Health and Disease*, 11:57
 20. Nagendra Prasad, K., B. Yang., S. Yang., Y. Chen., M. Zhao, and M. Ashraf. 2009. Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityr-osinase activities from litchi (*Litchi sinensis* Sonn.) seeds. *Food Chemistry*, 116(1) 1–7.
 21. Park, C. I. and Y. J. Kim. 2008. Effects of dietary mugwort powder on the VBN, TBARS, and fatty acid composition of chicken meat during refrigerated storage. *Korean Journal Food Science Animal*, 28:505-511.
 22. Priscilla, D. H, and P. S. Prince. 2009. Cardio protective effect of gallic acid on cardiac troponin-T, cardiac marker enzymes, lipid peroxidation products and antioxidants in experimentally induced myocardial infarction in Wistar rats. *Chemico-Biolo intera*, 179(2–3), 118–124.
 23. Rymer. C and D. I. Givens. Effect of species and genotype on the efficiency of enrichment of poultry meat with n-3 polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, 41:445–451 (2006).
 24. Rymer. C and D. I. Givens. 2010. Effects of vitamin E and fish oil inclusion in broiler diets on meat fatty acid composition and on the flavour of a composite sample of breast meat. *Journal Science Food Agriculture*, 90: 1628–163
 25. Santhini. E., R. Balwas, and V. V. Padma. 2011. Gallic Acid Isolated from Pomegranate Peel Extract Induces Reactive Oxygen Species Mediated Apoptosis in A549 Cell Line . *Journal Cancer Therapy*, 2, 638-645

26. Saleh, H., Sh. Rahimi., M. A. Karimi Torshizi, and Abo. G, Golian. 2010. Omega-3 enrichment Broiler of Meat Using Oil. *Journal of animal and veterinary advance*, 9(22): 2877-2882-1010.
27. SAS Institute Inc. (2004). SAS User's Guide. Cary, NC: SAS institute Inc.
28. Sáyago-Ayerdi, S.G., A. Brenes., A. Viveros and I. Goñi. 2009. Antioxidative effect of dietary grape pomace concentrate on lipid oxidation of chilled and long-term frozen stored chicken patties. *Meat Science*, 83:528–533
29. Sim, J. S, and G. H Q. 1995. Designing poultry products using flaxseed. In L. U. Thompson, & S. Cunnane (Eds.), *Flaxseed in human nutrition* (pp. 315–333). Champaign: American Oil Chemist's Society Press.
30. Simitzis, P. E., S. G. Deligeorgis., J. A .Bizelis., A. Dardamani., I.Theodosiou, and K, Fegeros. 2008. Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. *Meat Science*, 79(2), 217–223.
31. Singh, R. P., Murthy, K. N. C. and Jayaprakasha, G. K. 2002. Studies on the Antioxidant Activity of pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extracts Using in vitro Models. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 50: 81-86.
32. Spolare, P., C. Joannis-Cassan, and E. Duran. 2005. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(2):87-96.
33. Wang. L., X. L. Piao., S. W. Kim., X. S. Piao., Y. B. Shenb and H. S. Lee. 2008. Effects of *Forsythia suspensa* Extract on Growth Performance, Nutrient Digestibility, and Antioxidant Activities in Broiler Chickens under High Ambient Temperature. *Poultry Science*, 87:1287–1294
34. Yasoubi, P., M. Barzegar., M. A. Saha, and M. H. Azizi. 2007. Total Phenolic Contents and Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peel Extracts. *Journal Agriculter Science Technology*, 9: 35-42