فصلنامه علمی ـ پژوهشی

دورهٔ ٤، شمارهٔ ١، بهار ١٣٩٤، صفحه ٨٣- ٩٢

بررسی پایداری اکسیداتیو روغن ماهی با استفاده از عصاره‌ی هیدروالکلی بیلهر (*Dorema aucheri*): تحت حرارت مایکروویو

نرگس محمدی[1*]، سید مهدی اجاق[2]، آریا باباخانی لشکان[3]

۱ـ دانشجوی کارشناسی ارشد فراوری محصولات شیلاتی ، دانشکده شیلات ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲ـاستادیار فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳ـاستادیار فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان

تاریخ دریافت:۹۳/۵/۱ تاریخ پذیرش:۹٤/۱/۱٦

*نویسنده مسئول مقاله : narges.mohammadi91@yahoo.com

چکیده

پایداری اکسیداتیو روغنها، چربیها و فراوردههای غذایی پرچرب می‌تواند تحت تاثیرعوامل مختلفی مانندا‌کسیژن، نور، حرارت، یون‌های فلزی و آنزیم‌ها قرارگیرد ودرنهایت فساد اکسیداتیو را در پی داشته باشد. این تحقیق به منظور بررسی نقش عصاره‌ی بیلهر در پایداری اکسیداتیو روغن ماهی (تحت حرارت مایکروویو) و مقایسه آن با آنتی اکسیدان سنتزیBHTانجام شده است. غلظت‌های ۲۵۰ppmو ۵۰۰ ppm عصاره‌ی بیلهر و ۲۰۰ ppm BHT به روغن ماهی افزوده شدو یکنمونهروغنماهیبدونافزودنآنتی‌اکسیدانبهعنوانشاهددرنظرگرفتهشد، سپس در دوره‌های زمانی۰، ۳، ٦، ۹ و ۱۲دقیقه پس از قرار گرفتن در مایکروویو از آنها نمونه‌برداری شد. شاخص‌های اکسیداتیوشیمیایی (پراکسید، اسیدهای چرب آزاد و تیوباربیتوریک اسید) مورد بررسی قرار گرفت.با توجه به نتایج، در تمام زمان‌های قرارگیری در مایکروویو میزان پراکسید، اسید های چرب آزاد و تیوباربیتوریک اسید تیمارهای حاوی عصاره نسبت به تیمار شاهد کمتر بود اما نسبت به تیمار حاوی BHT بیشتر بود. بین تیمار حاوی ۲۵۰ppm عصاره و تیمار حاوی BHT اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. باتوجه به نتایج، به دلیل تفاوت معنی‌دار نمونه‌های حاوی عصاره با نمونه شاهد و عدم تفاوت معنی‌دار نمونه‌ی حاوی ۲۵۰ ppm عصاره باBHT, می‌توان انتظار داشت که عصاره‌ی بیلهر به عنوان آنتی اکسیدان در صنایع غذایی در حفظ و نگهداری روغن ماهی قابل استفاده باشد.

کلید واژگان: مایکروویو، روغن ماهی، عصاره بیلهر، پایداری اکسیداتیو

مقدمه

روغن ماهی یک منبع غنی از اسیدهای چرب امگا- ۳ به‌ویژه ایکوزاپنتانوئیک‌اسید (EPA[1]) و دوکزاهگزانوئیک‌اسید (DHA[2]) است که دریافت کافی آنها در رژیم غذایی روزانه، به‌دلیل اثرهای مفید تغذیه‌ای، جلوگیری و درمان احتمالی بسیاری از بیماری‌ها و اختلالات به‌ویژه بیماری‌های قلبی و عروقی مورد توجه و توصیه بسیاری از کارشناسان و محققان قرار گرفته است (Yue et al., 2007; Kaitaranta, 1992). اما با وجود این ویژگی‌های مهم و منحصر به‌فرد، یکی از مهم‌ترین مشکلات مصرف روغن ماهی حساسیت اکسیداسیون بالای آنها به‌دلیل داشتن مقادیر بالایی از اسیدهای چرب چند غیراشباعی و کمبودآنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است که منجر به فساد اکسیداتیو و ایجاد بد طعمی و در نتیجه کاهش تمایل به مصرف روغن ماهی می‌شود (Wanasundara and Shahidi, 1998). در فرایند اکسیداسیون چربی‌ها در غذاها، اسیدهای چرب غیراشباع و اکسیژن موجود در هوا، دو عامل مهم و اساسی هستند. در این فرایند، اکسیژن هوا به اسیدهای چرب اضافه می‌شود و تولید مواد واسطه ناپایداری می‌کند که در نهایت این مواد ترکیباتی با طعم‌ها و بوهای نامطبوع را ایجاد می‌کنند. هرچند اکسیداسیون آنزیمی و پاتوژنی نیز در اکسیداسیون چربی نقش دارند، ولی مهم‌ترین عامل آن وجود اسیدهای چرب غیراشباع و اکسیژن است (Erickson, 2008). روش‌های متعددی از قبیل خشک‌کردن، انجماد، بسته‌بندی، افزودن آنتی‌اکسیدان، نگهداری تحت شرایط خلأ و نگهداری در فشار بالا (Gómez-Estaca et al., 2009) ، برای کاهش فساد و افزایش دوره ماندگاری محصولات دریایی استفاده شده‌اند. همچنین افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها به محصولات شیلاتی از جمله روش‌های متداول در نگهداری بعضی از محصولات آبزیان است که به‌تنهایی یا به‌صورت مکمل با سایر روش‌ها به‌کار می‌رود و از جمله محصولاتی که پس از تولید به آن آنتی‌اکسیدان اضافه می‌شود، روغن ماهی است (Fazel et al., 2009). اما استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در برخی از کشورها به‌دلیل اثر نامطلوب آنها روی سلامت انسان محدود شده است (Hrasia et al., 2000). همچنین وجود خواص سرطانزایی خفیف در آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مورد استفاده در صنعت مانند بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT[3])، بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA[4])، ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ[5]) سبب شده تا محققان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را جایگزین این ترکیبات با روی آورند (Sakanaka et al., 2005). گیاهان منبع اصلی آنتی‌اکسیدان‌ها در طبیعت هستند و مواد اصلی‌ای مانند ترکیبات فنولی، کاروتنوئیدها و توکوفرول دارای این ویژگی‌ها هستند (Mendiola et al., 2008). گیاه بیلهر *(Dorema aucheri)* از گیاهان تیرهٔ چتریان است که در اوایل فصل بهار در برخی از استان‌های غرب و جنوب غرب رویش دارد و به‌طور کلی ساکنان مناطق جنوبی کشور از این گیاه استفادهٔ غذایی می‌کنند. برخی عقیده دارند که عصارهٔ این گیاه در پایین‌آوردن فشار خون مفید است (Zargari, 1997; Wollen et al., 1995; Weber). بیلهر گیاهی سرشار از فلاونوئید و کومارین‌ها است و اولین گیاه از خانوادهٔ چتریان است که این مواد را تراوش می‌کند (Hsiao et al., 2003). فلاونوئیدها دارای خواص ضد تومور، ضد سرطان و استروژن و همچنین فلاونوئیدها برخی از ترکیبات پلی فنولیک با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا هستند که فعالیت رادیکال‌های آزاد را مهار کرده و از گسترش فعالیت آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند

1. Eicosapentaenoic acid
2. Docosahexaenoic acid
3. Butylated hydroxyl toluene
4. Butylated hydroxyl anisole
5. Tert butylated hydroqinoon

(Abbasi et al., 2008). تحقیقات نشان می‌دهد مصرف گیاه بیلهر تری‌گلیسرید و کلسترول خون را پایین می‌آورد (Sadeghi et al., 2007). همچنین دارای اثرهای محافظتی بر آسیب‌های کبدی نیز است (Germano et al., 2005). از مایکروویو به‌طور گسترده‌ای در بسیاری از فرایندهای غذایی، مانند پختن، انجماد زدایی، رنگ بری یا سفیدشدن، هیدرولیزشدن، استریلیزاسیون، پاستوریزاسیون و مخلوط‌کردن استفاده می‌شود (Rosenberg and Bogl, 1987). با توجه به افزایش روز افزون استفاده از روغن ماهی در غذاها و همچنین افزایش استفاده از مایکروویو در طبخ غذا باید اثرهای مایکروویو بر روغن ماهی را تا حد امکان کاهش داد. بنابراین هدف تحقیق حاضر، بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ هیدروالکلی بیلهر در پایداری اکسیداتیو روغن ماهی، تحت حرارت مایکروویو و مقایسه آن با آنتی اکسیدان سنتزیBHT است.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره

در این پژوهش بخش هوایی گیاه بیلهر که مصرف خوراکی دارد از اطراف شهرستان یاسوج در فروردین ۱۳۹۲ جمع‌آوری و در شرایط مناسب در دمای اتاق خشک و سپس با استفاده از آسیاب (Mulinex, 320, Spain) پودر شدند. برای تهیه عصاره هیدروالکلی از حلال آب و اتانول (با نسبت ۱ : ۱) استفاده شد. افزودن حلال به نمونه‌ها با توجه به نسبت حلال به بیلهر۱۵ به ۱ انجام و به مدت۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. پس از این مرحله، بخش جامد به‌وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ٤٢ جدا گردید. عصاره به‌دست آمده به‌وسیله روتاری اواپراتور تحت خلأ (IKA RV 05 basic, Germany) در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و در نهایت توسط فریز درایر (Alpha 1 – 2 Ld plus، Germany) در دمای۵۰- درجه سانتی‌گراد، خشک و به پودر تبدیل شدند (Roy,1990). پودرهای به‌دست آمده تا زمان استفاده در ظروف غیرقابل نفوذ به هوا و رطوبت در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. همه مواد شیمیایی از شرکت‌های مرک، سیگما و حلال‌های مورد استفاده در این پژوهش با درجه خلوص بالا از شرک‌های مرک، سیگما و دکتر مجللی تهیه شدند.

آماده‌سازی روغن در مایکروویو

عصاره بیلهر در ۲ سطح۲۵۰ و ۵۰۰ ppm و آنتی‌اکسیدان مصنوعی BHT به‌میزان ۲۰۰ ppm به روغن ماهی کیلکا در دمای آزمایشگاه اضافه و یک نمونه روغن ماهی بدون افزودن آنتی‌اکسیدان به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. سپس تمام نمونه‌ها درون ظروف شیشه‌ای تیره (۱۲۵میلی‌لیتر) ریخته شد و در صفحه چرخشی مایکروویو (۲٤٥٠Hz و ۷۲۰w) قرار گرفتند (ابتدا روغن ماهی اندازه‌گیری و درون ظروف شیشه‌ای تیره ریخته شد و سپس عصاره بیلهر در ۲ سطح اندازه‌گیری و به ظروف حاوی روغن اضافه گردید (پس از همزدن با دست در مایکروویو قرار گرفتند) و برای ارزیابی پایداری اکسیداتیو، در زمان‌های ۰، ۳، ٦، ۹ و ۱۲ دقیقه آزمون‌های پراکسید، TBA و اسیدهای چرب آزاد بر روی نمونه‌ها انجام شد (Chiavaro et al., 2009).

پایداری اثر مهارکنندگی آنتی‌اکسیدان‌ها در هنگام نگهداری روغن ماهی در مایکروویو

اندازه‌گیری پراکسید(PV [1])

در این آزمایش، ۲ گرم روغن به ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل و حدود ۳۰ میلی‌لیتر از محلول اسیداستیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۲: ۳) به

1. Peroxide value

محتویات ارلن اضافه شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول یدید پتاسیم اشباع به محلول افزوده و به مدت ۳۰ ثانیه هم زده شد و محلول به مدت ۵ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. سپس ۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید؛ پس از این مرحله، ۰/۵ میلی‌لیتر نشاسته (٪۰/۰۵) به محلول اضافه و محلول با تیوسولفات سدیم (۰/۱مولار) تا زمانی‌که رنگ آبی از بین برود تیتر شد. میزان پراکسید برحسب میلی اکی والان اکسیژن در ۱۰۰۰ گرم نمونه از رابطه زیر به‌دست آمد (AOCS, 1990).

C= غلظت سدیم تیوسولفات مصرفی (مول/ لیتر)

$$PV(meq/Kg) = C \times V \times 12.69 \times 78.8/m$$

V= حجم سدیم تیوسولفات مصرفی (میلی‌لیتر)

m= میزان روغن (گرم)

اندازه‌گیری میزان تیوباربیتوریک اسید (TBA[1])

اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید به‌وسیله روش رنگ‌سنجی انجام گرفت. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه به یک بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتری انتقال یافته و با ۱-بوتانول به حجم رسانده شد. سپس بالن‌ها به مدت ۱ دقیقه هم زده شد و پنج میلی‌لیتر از محلول فوق به لوله‌های خشک درب‌دار منتقل شد و به آن ۵ میلی‌لیتر معرف TBA افزوده شد. معرف TBA با استفاده از حل کردن ۲۰۰ میلی‌گرم پودر TBA در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال ۱-بوتانول آماده شد. لوله‌های درب‌دار در حمام آبی با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفتند. سپس مقدار جذب نمونه‌ها در ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر خوانده شد. مقدار TBA بر حسب میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید در کیلوگرم بافت ماهی و بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید (Egan et al., 1997).

As = میزان جذب نمونه در طول موج ۵۳۰

$$TBA = \frac{50 \times (AS.AB)}{200.}$$

Ab = میزان جذب شاهد در طول موج ۵۳۰

مقادیر اسیدهای چرب آزاد (FFA[2])

به ۵۰ میلی‌لیتر مخلوط اتر و اتانول (۱:۱)، ۰/۵ میلی‌لیتر فنل‌فتالئین افزوده شد. سپس چند قطره پتاسیم هیدروکسید (۰/۱ مولار) تا پیدا شدن رنگ پوست پیازی به محلول اضافه و سپس محلول به روغن اضافه گردید. پس از حرارت دادن با اولین جوش محلول برداشته و در دمای اتاق سرد شد. دوباره به محلول ۰/۵ میلی‌لیتر فنل‌فتالئین اضافه گردید و محلول تا پیدا شدن رنگ صورتی با پتاسیم هیدروکسید (۰/۰۱ مولار) تیتر شد. میزان اسیدیته بر حسب درصد اولئیک اسید از رابطه زیرمحاسبه گردید (Zhang et al., 2010).

C= غلظت پتاسیم هیدروکسید مصرفی (مول/ لیتر)

$$\%FFA(mg/g)) = (V \times C \times 56.11/m)$$

V= حجم پتاسیم هیدروکسید مصرفی (میلی لیتر)

m= وزن روغن ماهی (گرم)

نتایج

در شکل ۱ تغییرات میزان پراکسید تیمارهای مختلف در طی زمان نگهداری در مایکروویو مشاهده می‌شود. براساس شکل ۱، از زمان صفر تا ٦ دقیقه، شاخص پراکسید در تمام نمونه‌ها افزایش پیدا کرده و یک روند صعودی داشته است. بین میانگین شاخص پراکسید در نمونه شاهد و تمام نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان اختلاف آماری معناداری مشاهده گردید ($p<0/05$). در زمان ۹ دقیقه میزان پراکسید

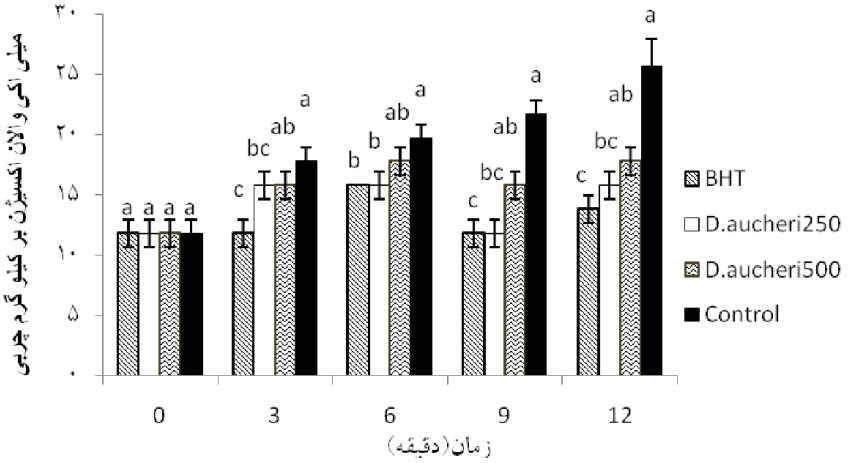
1. Thiobarbituric acid

2. Free fatty acid

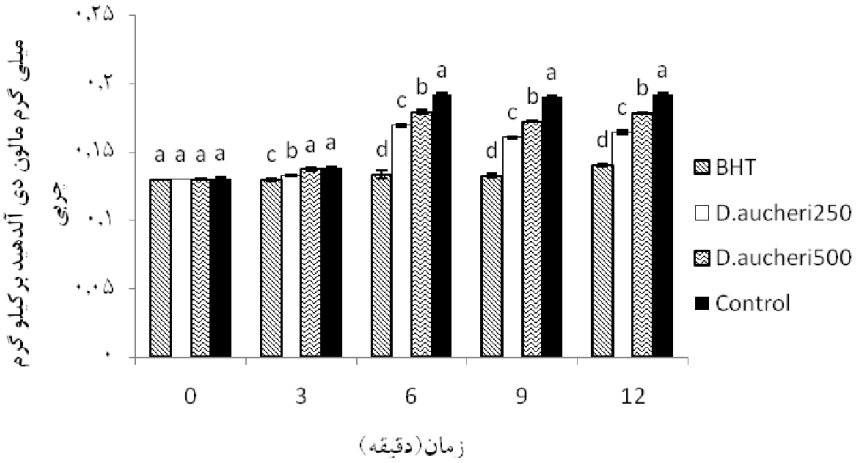
همهٔ تیمارها به غیر از تیمار شاهد کاهش پیدا کرد (p<۰/۰۵). بین تیمار حاوی ۲۵۰ ppm عصاره و ۲۰۰ ppm BHT در تمام زمان‌های نگهداری اختلاف معناداری مشاهده نشد (p>۰/۰۵) به‌طور کلی تیمارهای حاوی عصاره و BHT در مقایسه با تیمار شاهد تا زمان آخر نگهداری مقادیر پراکسید کمتری داشتند که این میزان در تیمار حاوی BHT نسبت به تیمار حاوی عصاره بیلهر کمتر بود و اختلاف معناداری با تیمار حاوی عصاره بیلهر ۵۰۰ ppm داشت (p<۰/۰۵).

در شکل ۲ تغییرات میزان تیوباربیتوریک اسید تیمارهای مختلف در طی زمان نگهداری در مایکروویو مشاهده می‌شود. مطابق نتایج به‌دست آمده، میزان تیوباربیتوریک اسید تا زمان ٦ دقیقه روند افزایشی داشت. سپس در زمان ۹ دقیقه کاهش یافت و در زمان ۱۲ دقیقه میزان تیوباربیتوریک اسید در همهٔ تیمارها افزایش پیدا کرد (p<۰/۰۵). تیمار حاوی BHT و تیمارهای حاوی عصاره به‌طور معناداری، دارای میزان تیوباربیتوریک اسید کمتری نسبت به تیمار شاهد بودند (p<۰/۰۵). بین میانگین شاخص TBA در نمونه شاهد و تمام نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان تفاوت معناداری مشاهده شد (p<۰/۰۵). پایین‌ترین میزان TBA در تیمار حاوی BHT و پس از آن در نمونه حاوی ۲۵۰ ppm عصاره مشاهده شد.

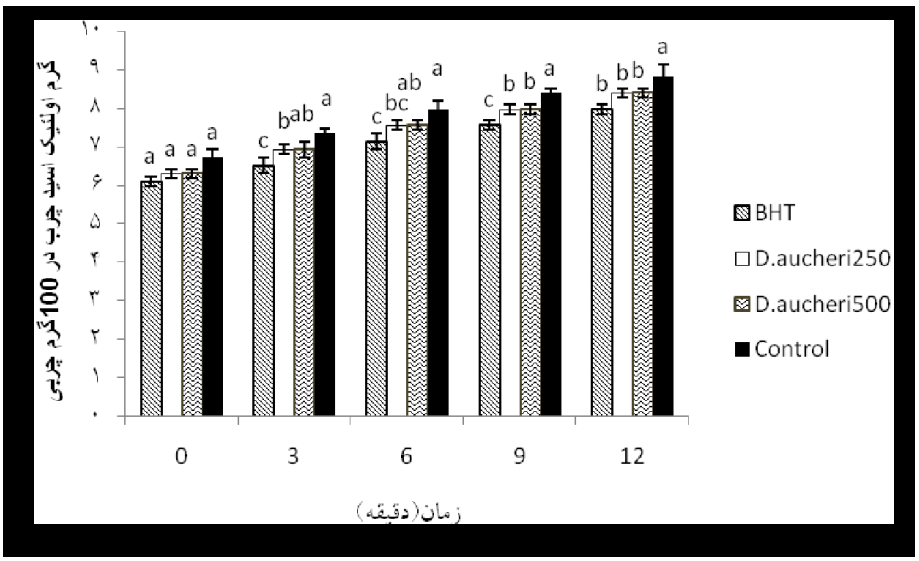
در شکل ۳، تغییرات میزان اسیدهای چرب آزاد تیمارهای مختلف در طی زمان نگهداری در مایکروویو مشاهده می‌شود. با توجه به نتایج، میزان اسیدهای چرب آزاد در طول مدت زمان نگهداری در همهٔ تیمارها افزایش پیدا کرد. به‌طور کلی تیمار حاوی BHT در طول مدت زمان نگهداری دارای میزان اسید چرب آزاد کمتری نسبت به بقیه تیمارها بود که این میزان تا زمان ۹ دقیقه معنادار بود (p<۰.۰۵). در زمان ۱۲ دقیقه بین تیمارهای حاوی عصاره و تیمار حاویBHT اختلاف معناداری مشاهده نشد (p>۰/۰۵).



شکل ۱ میزان پراکسید روغن ماهی در حضور مقادیر مختلف عصاره بیلهر(*D.aucheri*)، BHT و نمونه شاهد (Control) در زمان‌های مختلف نگهداری (مایکروویو). حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار است (p<۰/۰۵).



شکل۲ میزان تیوباربیتوریک اسید روغن ماهی در حضور مقادیر مختلف عصاره بیلهر(*D.aucheri*)، BHT و نمونه شاهد (Control) در زمان‌های مختلف نگهداری (مایکروویو). حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار است (p<۰/۰۵).



شکل۳ میزان اسیدهای چرب آزاد روغن ماهی در حضور مقادیر مختلف عصاره بیلهر (*D.aucheri*)، BHT و نمونه شاهد (Control) در زمان‌های مختلف نگهداری (مایکروویو). حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار است (p<۰/۰۵).

بحث

تأثیر انرژی مایکروویو بر تغییر پایداری اکسایشی گرمایی روغن‌ها و چربی‌ها تأیید شده است (Cerretani et al., 2009). روغن‌های خوراکی متفاوتی در مایکروویو تولید رادیکال‌های آزاد کرده که در واکنش با اکسیژن هوا باعث تولید هیدروپر اکسیدها و ترکیبات اکسیداسیونی ثانویه می‌شود (Albi et al., 1997; Farag et al., 1992; Hassanein et al., 2003). تشکیل پراکسید تنها به‌عنوان مشکل کیفی در روغن‌های خوراکی و صنایع غذایی محسوب نمی‌شود، بلکه باعث مشکلات بهداشتی نیز می‌گردد. پراکسید سبب

افزایش لخته در خون بر اثر تحریک تولید ترومبولین می‌شود (Desrumaux et al., 2010). از دیگر تأثیرات مشاهده شده می‌توان افزایش نسبی اسیدهای چرب آزاد به‌دلیل هیدرولیز چربی‌ها و همچنین کاهش میزان توکوفرول (Farag et al., 1997; al., 1992; Hassanein et al., 2003; Yoshida et al., Albi et 1990) طی اثر مایکروویو را در روغن‌ها دانست. در روغن دانه کتان، سویا، ذرت، زیتون و خرما پس از ۱۰ دقیقه قرار گرفتن در مایکروویو میزان توکوفرول کاهش و میزان پر اکسید، TBA و میزان کربونیل افزایش پیدا کرد. نتایج میزان پراکسید در روغن‌های زیتون و آفتاب‌گردان (Albi et al., 1997) پس از اینکه در مایکروویو قرار گرفتند، افزایش محسوسی نشان نداد که احتمالاً به‌دلیل ناپایداری هیدروپراکسیدها در دماهای بالا بود(Mishra et al., 2012). مطابق شکل ۱، با گذشت زمان میزان پراکسید همه تیمارها تا زمان ٦ دقیقه روند صعودی داشت و پراکسید تیمارهای حاوی آنتی‌اکسیدان دارای اختلاف معناداری با تیمار شاهد بودند. بعضی از محققان گزارش کردند با گذشت زمان سرعت تشکیل هیدروپراکسیدها افزایش یافته و بیش از سرعت تجزیه آنهاست، بنابراین شاخص پراکسید افزایش می‌یابد (Armando et al., 1998). همچنین اگر در سیستم ترکیبات با گروه‌های OH^-، مانند الکل‌های چرب، اسیدهای چرب آزاد یا اسید آسکوربیک وجود داشته باشد، ممکن است واکنشی متقابل بین این ترکیبات و مولکول‌های توکوفرول رخ دهد و کمپلکس‌هایی تشکیل شود که آنتی‌اکسیدان را به دام انداخته و سرعت اکسایش را افزایش دهد (Cho et al., 1990). همچنین با توجه به نتایج، میزان پراکسید در غلظت ppm ۵۰۰ عصاره در همهٔ زمان‌های نگهداری نسبت به غلظت ppm ۲۵۰ عصاره بیلهر بیشتر بود. براساس تحقیقات، از بین ۲ غلظت ppm ۲۰۰ و ppm ۵۰۰ عصاره چای نمونه‌های حاوی غلظت کمتر دارای توانایی بیشتری برای جلوگیری از اکسیداسیون بود (et al., 2008 Alghazeer). همچنین استفاده بیش از حد رزماری باعث تولید رادیکال‌های آزاد آنتی‌اکسیدانی می‌شود که به شکل یک پرواکسیدان عمل می‌کند (Halliwell and Chirico, 1993). در زمان ۹ دقیقه میزان پراکسید همه تیمارهای حاوی آنتی‌اکسیدان کاهش پیدا کرد، اما مقدار پراکسید تیمار شاهد روند صعودی داشت. این کاهش احتمالاً به‌دلیل تجزیه سریع هیدرو پراکسیدها به مولکول‌های کوچک‌تر بود که محققان دیگر نیز در برخی از مطالعات به آن اشاره کرده‌اند (Cho et al., 1990; Melton, 1983). بین تیمار حاوی ppm ۲۵۰ عصاره بیلهر وppm ۲۰۰ BHT در تمام زمان‌های نگهداری اختلاف معناداری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). مطابق نتایج شکل ۲، با اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید، شاخص تیوباربیتوریک اسید مانند شاخص پراکسید در همه نمونه‌ها با گذشت زمان افزایش یافت. از آنجا که مالون آلدهید از تجزیه هیدروپراکسیدها به‌دست می‌آید، در روزهای ابتدایی نگهداری مقدار آن پایین است. اما پس از گذشت زمان که مقدار محصولات اولیه اکسیداسیون افزایش پیدا کردند، شروع به تجزیه شدن می‌کنند و مقدار تیوبابیتوریک اسید افزایش می‌یابد. افزایش میزان تیوباربیتوریک اسید در طول دوره را می‌توان به‌دلیل اکسیداسیون لیپیدها و تولید ترکیبات فرار در حضور اکسیژن نسبت داد (Chidanandaiah and Sanyal, 2007). پایین‌بودن میزان تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان احتمالاً به‌دلیل اثر آنتی‌اکسیدان‌ها در کاهش پراکسید باشد، زیرا براساس مکانیسم یک مولکولی و دو مولکولی، زمانی که مقادیر هیدروپراکسید کم باشد، سرعت تشکیل این ترکیبات سریع‌تر از شکستگی آنهاست. در این حالت براساس مکانیزم یک مولکولی، میزان هیدروپراکسیدها شروع به بالارفتن می‌کند. با گذشت زمان و افزایش غلظت هیدروپراکسیدها، بر اساس مکانیزم دومولکولی این ترکیبات

به‌سرعت شکسته می‌شوند و به‌دنبال چنین مکانیسمی مقادیر تیوباربیتوریک اسید افزایش می‌یابد (Ben-Gigirey et 2002; Rezaei et al., al., 1999). از این‌رو بر اساس نتایج این تحقیق، روغن‌های حاوی عصاره و BHT موجب کاهش سرعت تشکیل پراکسید شدند، ولی در تیمار شاهد به‌دلیل بالا رفتن میزان پراکسید، واکنش‌های دو مولکولی با سرعت بیشتری انجام شده و به همین دلیل میزان تیوباربیتوریک اسید تیمار شاهد بیشتر از سایر تیمارهاست. فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی موجود در بیلهر دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند (Khan et al., 2014). برخی از محققان نقش پایدار کنندگی فلاونوئیدها را در مقایسه با چند آنتی اکسیدان سنتزی در روغن ماهی مطالعه کردند. بررسی‌های آنها نشان داد که فلاونوئیدهای کاتشین، کوئرستین و مورین نسبت بهBHT و BHA، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری هستند (Nieto et al., 1993). وجود FFA در روغن‌ها و چربی‌ها سبب بروز بوهای نامطبوع و تغییرات در بافت‌ها می‌شود (Barthet et al., 2008). اگرچه تشکیل اسیدهای چرب آزاد به‌تنهایی منجر به کاهش ارزش تغذیه‌ای نمی‌شود، به نظر می‌رسد ارزیابی آن به‌ویژه در زمان توسعه فساد مهم باشد. اثر پراکسیدانی اسیدهای چرب آزاد نیز بر روی مواد لیپیدی گزارش شده است. در واقع گروه‌های کربوکسیلی این اسیدها به‌صورت کاتالیزور عمل کرده و منجر به تشکیل رادیکال‌های آزاد از طریق تجزیه هیدروپراکسیدها می‌شوند (Aubourg et al., 2001). در مطالعه حاضر، براساس نتایج به‌دست آمده، میزان اسیدهای چرب آزاد نیز طی نگهداری در مایکروویو افزایش نشان داد و در تیمار شاهد از ٦/٥٠در زمان صفر به ٨/٧٤ در زمان ١٢رسید (شکل ٣). دلیل پایین‌تر بودن اسیدهای چرب آزاد در تیمارهای حاوی آنتی‌اکسیدان نسبت به تیمار شاهد را می‌توان به فعالیت ضدباکتریایی آنها و در نتیجه کاهش فعالیت میکروبی و به‌دنبال آن آنزیم‌های ترشح شدهٔ آن‌ها در روغن ماهی نسبت داد(Khezri-Ahmadabad, 2012). نتایج بررسی اثرهای ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی گیاه بیلهر بر روی برخی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را نشان داد که عصاره هیدروالکلی گیاه بیلهر در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد اثر ضدمیکروبی قابل قبولی بر باکترهای استافیلوکوکوس اورئوس واستافیلوکوکوس اپیدرمیس دارد (Sharifi et al., 2010). همچنین اختلاف معنادار نمونه شاهد با نمونه‌های تیمار شده با عصاره را می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی آنها مربوط دانست که فعایت آنزیم‌های کاتالیز کننده هیدرولیز چربی را محدود می‌کنند (Srikar and Vidya, 1996; Fan et al., 2007).

بر اساس نتایج این تحقیق، استفاده از عصارهٔ بیلهر توانست به‌طور معناداری از اکسیداسیون این تیمارها در مقایسه با تیمار شاهد جلوگیری کند ($p<0/05$). به‌طور کلی از بین تیمارهای حاوی عصاره تیمار با ٢٥٠ ppm عصاره نتایج بهتری نشان داد؛ همچنین بین تیمار حاوی ٢٥٠ ppm عصاره و تیمار حاویBHT در بعضی از زمان‌های نگهداری در رابطه با شاخص‌های پراکسید و اسیدهای چرب آزاد اختلاف معناداری مشاهده نشد.

منابع

Abbasi, H., Rezaei, K., Emamdjomeh, Z. and Ebrahimzadeh - Mousavi, S.M. 2008. Effect of various extraction conditions on the phenolic contents of pomegranate seed oil. *Journal of Lipid Science and Technoligy*. 110: 435-440.

Albi, T., Lanzon, A., Guinda, A., Leon, M. and Perez-Camino, M. C. 1997. Microwave and conventional heating effects on thermo oxidative degradation of edible fats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 3795–3798.

Alghazeer, R., Saeed, S. and Howell, N. K. 2008. Aldehyde formation in frozen mackerel (*Scomber scombrus*) in the presence and absence of instant green tea. *Journal of Food Chemistry*, 108: 801-810.

Armando, C., Maythe, S. and Beatriz, N. P. 1998. Antioxidant activity of Grapefruit seed extract on vegetable oils. *Journal of food Science and Agriculture,* 463 – 467.

AOCS. 1990. Official methods and recommended practice of the American Oil Chemist's Society. 4th Ed. *Journal of the American Oil Chemists' Society,* Champaign, IL,

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

Barthet, V. J., Gordon, V. and Daun, J. K. 2008. Evaluation of a colorimetric method for measuring the content of FFA in marine and vegetable oils. *Journal of Food Chemistry*, 111: 1064-1068.

Ben-Gigirey, B., De- Sousa, J. M., Villa, T. G. and Barros-Velazqezm , J. 1999. Chemical changes and visual appearance of *albacore tuna* as related to frozen storage. *Journal of food Science*, 64: 20-24.

Cerretani, L., Bendini, A., Rodrigues-Estrad, M. T., Vittadini, E. and Chiavaro, E. 2009. Microwave heating of different commercial categories of olive oil: Part I. Effect on chemical oxidative stability indices and phenolic compounds. *Journal of Food Chemistry*, 115: 1381–1388.

Chiavaro, E., Barnaba, C., Vittadini, E., Rodriguez-Estrada, M. T., Cerretani, L. and Bendini, A. 2009. Microwave heating of different commercial categories of olive oil: Part II. Effect on thermal properties. *Journal of Food Chemistry*, 115 (4): 1393–1400

Chidanandaiah, K. R. C. and Sanyal, M. K. 2007. Effect of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat patties during refrigerated (4± 1 C) storage. *Journal of Muscle Foods*, 20: 275-292.

Cho, S., Seo, I., Choi, J. and Joo, I. 1990. Antimicrobial and antioxidant activity of Grapefruit seed extract on fishery products. *The Bulletin of the Korean Fishery Society,* 23 (4): 289-295.

Desrumaux, C., Deckert, V., Lemaire-Ewing, S., Mossiat, C., Athias, A., Vandroux, D., Dumont, L., Monier, S., Pais De Barros, J.P., Klein, A., De Maistre, E., Blache, D., Beley, A., Marie, C., Garnier, P. and Lagrost, L. 2010. Plasma phospholipid transfer protein deficiency in mice is associated with a reduced thrombotic response to acute intravascular oxidative stress. *Arteriosclerosis thrombosis and Vascular Biology*. 30: 2452–2457.

Egan, H., Kirk, R. S. and Sawyer, R. 1997. Pearson's Chemical Analysis of Food. 9th Edition. *Longman Scientific and Technical*, 609-634.

Erickson, M. A. 2008. Lipid oxidation of muscle foods. In: Akoh, C.C., Min, D.B. (3rd Eds.), Food Lipids, Marcel Dekker. *New York*. 299–320.

Fan, W., Chi, Y. and Zhang, S. 2008. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmicthys molitrix*) during storage in ice, *Journal of Food Chemistry,* 108: 148-153.

Farag, R. S., Hewedi, F. M., Abu-Raiia, S. H. and El-Baroty, G. S. 1992. Comparative study on the deterioration of oils by microwave and conventional heating. *Journal of Food Protection*, 55: 722 -727.

Fazel, M., Sahari, M. A. and Barzegar, M. 2009. Comparison of tea and sesame seed oils as two natural antioxidants in a fish oil model system by radical scavenging activity. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60: 567–576.

Germano, M. P., D Angelo, V., Sanogor, R., Cataina, S., Alma, R., De Pasquale, R. and Bisignano, G. 2005. Hepatoprotective and antibacterial effects of extracts from *Trichilia emetic Vahl*. (*Meliaceae*). *Journal of Ethnopharmacology,* 96: 227-232.

Gómez-Estaca, J., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., López de-Lacey, A. and Montero, P. 2009. High pressure technology as a tool to obtain high quality carpaccio and carpaccio-like products from fish. *Journal of Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10: 148-154.

Halliwell, B. and Chirico, S.1993. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition,* 57: 715-724

Hassanein, M. M., El-Shami, S. M. and El-Mallah, M. H. 2003. Changes occurring in vegetable oils composition due to microwave heating. *Grasas y Aceites*, 54: 343–349.

Hrasia, A. R., Hadolin, M., Knez, Z. and Bauman, D. 2000. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with a-tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sun flower oil. *Journal of Food Chemistry*, 71: 229–233.

Hsiao, G., Shen, M. Y., Lin, K. H., Lan, M. H., Wu, L. Y., Chou, D. S., Lin,C. H., Su, C. H. and

Sadeghi, H., Ghaitasi, I., Mazrooghi, N. and Sabzali, S. 2007. The hepatoprotective effects of *Dorema auchri* on carbon tetrachloride induced liver damage in rats. *Journal of shahrekord University of Medical plants Sciences,* 6 (1): 38-43. (In Persian).

Sakanaka, S., Tachibana, Y. and Okada, Y. 2005. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea of Japanese persimmon leaf tea (*kakinoha-cha*). *Journal of Food Chemistry*, 89: 569-575.

Sharifi, A., Naghmachi, M. and Bahrami, S. 2010. Antimicrobial Activities of *Dorema Auchri*. *Journal of Armaghan danesh,* 15(4): 378-386. (Abstract in English).

Vidya, S.R.G . and Srikar, L.N. 1996. Effect of preprocess ice storage on the lipid chenges of Japanese hreadfin bream (*Nemipterus japonicus*) mince during frozen. *Asian Journal of Fisher Sciences*, 9: 109-114.

Wanasundara, U. N. and Shahidi, F. 1998. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extract in marine oils. *Journal of Food Chemistry*, 63 (3): 335-342.

WollenWeber, E., Dor, M. and Rostaiyan, A. 1995. *Dorema aucheri* the first Umbelliferous plant found to produce exudates flavonods. *Journal of Phytochemistry*, 38 (6): 1411-27.

Yoshida, H., Nobuhisa, H. and Kajimoto, G. 1990. Microwave energy effects on quality of some seed oils. *Journal of Food Science*, 55: 1412–1416.

Yue, X., Xu, Z., PrinyawiwatKul, W. Losso, J. N., King, J. M. and Godber, J. S. 2007. Comparsion of soybean oils, gum and defatted soy flour extraction stabilizing menhaden oil during heating. *Journal of food chemistry*, 73 (1): 19-23.

Zargari, A. 1997. Pharmaceutical plants. *Tehran University Press*, 212-221. (In Persian)

Zhang, Y., Yang, L., Zu, Y. G., Chen, X. Q., Wang, F. J. and Liu, F. 2010. Oxidative stability of sunflower oil by carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Journal of Food Chemistry*, 118: 656–66.

Sheu, J. R. 2003. Antioxdant and hepatoproteceiv effect of *antrodia camphorate* extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 21;* 51 (11): 3302-3308

Kaitaranta, J. K. 1992. Control of lipid oxidation in fish oil with various antioxidative compounds. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69: 810–813.

Khan, A., Farooq, U., Ullah, F., Iqbal, J., Khan, A.F., Zaib, S., Khan, A. R. and Azarpira, A. 2014. Determination of Biological Activities and Total Phenolic Contents of Flowers of Jasminum humile and roots of *Dorema aucheri*. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 36 (2): 291-295.

Khezri Ahmadabad, M., Rezaei, M., Ojagh, S.M. and Babakhani Lashkan, A. 2012. The Increase of shelf-life of frozen Kilka (*Clupeonella cultriventiris*) using natural antioxidants. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics,*1(1): 27-39. (Abstract in English).

Melton, S. L. 1983. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. *Journal of Food Technology*, 37: 105-111.

Mendiola, J. A., Rodríguez-Meizoso, I., Señoráns, F. J., Reglero, G., Cifuentes, A. and Ibáñez, E. 2008. Antioxidants in plant foods and microalagae extracted using compressed fluids. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 7: 3301-3309.

Mishra, R., Harish, K., Sharma, B., Sarkar, C. and Singh, C. 2012. Thermal oxidation of rice bran oil during oven test and microwave heating. *Journal of Food Science and Technology*, 49: 221–227.

Nieto, S., Gorrido, A., Sanhueza, J., Loyola, L.A., Morales, G., Leighton, F. and Valenzuela, A. 1993. Flavonoids as stabilizers of fish oil: An alternative to synthetic antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70: 773-78.

Rezaei, M., Sahari, M. A., Safari, M., Rezaeian, M. and Ghafari, F. 2002. Evaluation of some qualitative characteristics of fat (*Clupeonella engrauliformis*) During frozen storage. *Iranian Journal of Marine Sciences*, 4: 55-64.

Rosenberg, U. and Bogl, W. 1987. Microwave thawing, drying and baking in the food industry. *Journal of Food Technology*, 6: 85–94.

Roy, R.K. 1990. A primer on the taguchi method. New York, NY (USA), Van nostrand reinhold, 255p.

Evaluation of oxidative stability of fish oil using *Dorema auchri* hydroethanolic extract:under microwave heating

Narges Mohammadi[1*], Seyed Mehdi Ojagh[2], Aria Babakhani Lashkan[3]

1- M.Sc. student, Faculty of Fisheries, Agricultural Sciences and Natural Resources –Gorgan University

2- Assistant of processed fishery products, Faculty of Fisheries, Agricultural Sciences and Natural Resources –Gorgan University

3- Assistant processed fishery products, Faculty of Natural Resources, Guilan University

Received: 23.07.2014 Accepted: 05.04.2015

* Corresponding author: narges.mohammadi91@yahoo.com

Abstract

Oxidative stability of oils, fats and fatty food products can be affected by many factors such as oxygen, light, heat, metal ions and enzymes used and finally it brings about oxidative corruption. This study has been done to survey the role of *Dorema aucheri* extract in oxidative stability of fish oil (under microwave heating) and comparising that with BHT synthetic antioxidant. Concentrations of 250 and 500 ppm extracts of *Dorema auchri* and BHT 200 ppm were added to fish oil and a fish oil sample without the addition of antioxidant was considered as control, Then they were sampled after putting in microwave at time periods 0, 3, 6, 9, and 12 minutes. Chemical oxidative indicators (peroxide, free fatty acids and thiobarbituric acid) were surveyed. According to the results, in all times putting in microwave the amount of peroxide, free fatty acids and thiobarbituric acid in the treatments that contained extract, were lower than the control treatment, but were higher than the treatment that contained BHT. A significant difference wasn't seen among the treatment that contained 250 ppm of extract and the treatment that contained BHT (p>0/05). According to the results, because of significant difference of samples contained extract with control sample and the lack of significant difference sample containd 250 ppm extract with BHT, it would be expected that *Dorema aucheri* extract as antioxidant can be used in food industry in maintenace of fish oil.

Keywords: Microwave, Fish oil, *Dorema aucheri* extract, Oxidative stability