مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر / ISSN: 2008-0026 سال نهم، شماره سوم، پاییز ۹۴ / صفحات: ۹۶-۹۱

ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره بیلهر (*Dorema aucheri*) و کاربرد آن در روغن ماهی

*نرگس محمدی[۱]، سیدمهدی اجاق[۲] و آریا باباخانی‌لشکان[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران، [۲]استادیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران، [۳]استادیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه گیلان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۲۵

چکیده

بسیاری از گیاهان دارای خواص دارویی بوده و دارای اثر آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدمیکروبی و ضدسرطانی می‌باشند. اخیراً توجه به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی به‌منظور استفاده در صنایع دارویی و غذایی به‌دلیل عوارض ناخواسته آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی افزایش یافته است. ترکیبات پلی‌فنل از جمله ترکیبات بسیار مهم گیاهان بوده که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. این ترکیبات در تمام اندام‌های گیاهان یافت‌شده و بنابراین جزء مهمی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند. در این مطالعه، شرایط استخراج شامل استفاده از سه حلال آب، اتانول و آب/ اتانول به نسبت ۱ به ۱۵ حلال به نمونه به‌مدت ۲٤ ساعت بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل با دو روش قدرت کاهندگی آهن و خاصیت آنتی‌اکسیدانی کل مورد سنجش قرار گرفت. مقادیر تیوباربیتوریک اسید و اسیدهای چرب آزاد برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی این عصاره به‌کار رفت. اثرات آنتی‌اکسیدانی بیلهر در سیستم روغن ماهی نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین مقادیر تیوباربیتوریک اسید و اسیدهای چرب آزاد با نمونه شاهد وجود دارد و توانست به‌خوبی در طی نگهداری از روغن ماهی محافظت کند. بنابراین عصاره بیلهر می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب با خواص کاربردی دارای اهمیت می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب آزاد، تیوباربیتوریک اسید، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، نگهداری

مقدمه

اکسایش عامل اصلی فساد چربی‌ها و روغن‌ها محسوب می‌شود. به همین دلیل آنتی‌اکسیدان‌ها برای جلوگیری از بدطعمی ناشی از اکسایش به این محصولات اضافه می‌شود. روغن ماهی یک منبع غنی از اسیدهای چرب امگا- ۳ به‌ویژه ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکزاهگزانوئیک اسید می‌باشد که دریافت کافی آن‌ها در رژیم غذایی روزانه، به‌دلیل اثرات مفید تغذیه‌ای و جلوگیری و درمان احتمالی بسیاری از بیماری‌ها و اختلالات به‌ویژه بیماری‌های قلبی و عروقی اخیراً مورد توجه و توصیه بسیاری از کارشناسان و پژوهشگران قرار گرفته است (Kaitaranta، ۱۹۹۲؛ Yue و همکاران، ۲۰۰۷). افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها به محصولات شیلاتی از جمله روش‌های متداول در نگهداری بعضی از محصولات آبزیان می‌باشد که به تنهایی یا به‌صورت مکمل با سایر روش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد و از جمله محصولاتی که پس از تولید به آن آنتی‌اکسیدان اضافه می‌شود روغن ماهی است (Fazel و همکاران، ۲۰۰۹). TBHQ، BHT، BHA از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های فنولی سنتزی هستند (Eskin و

* مسئول مکاتبه: narges.mohammadi91@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

Przybylski، ۲۰۰۱) این ترکیبات فرار و حساس به گرما بوده و برای پایداری مواد غذایی مطلوب نیستند. از طرفی استفاده از آن‌ها سلامتی انسان را تهدید می‌کند (X Hou، ۲۰۰۳) همچنین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی ذکر شده دارای خاصیت سرطان‌زایی بوده به همین دلیل در سال‌های اخیر به دلایل مربوط به سلامتی توجه زیادی به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی (به‌ویژه در منابع گیاهی) معطوف گردیده است و پژوهش‌های گسترده‌ای به‌منظور به‌کارگیری این ترکیبات به‌جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به انجام رسیده است (Pratt و Hudson، ۱۹۹۹؛ Rajaii، ۲۰۰۵؛ Wanasundara و Shahidi، ۱۹۹۸). گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) از گیاهان تیره چتریان است که در اوایل فصل بهار در برخی از استان‌های غرب و جنوب‌غرب رویش دارد و به‌طورکلی ساکنان مناطق جنوبی کشور از این گیاه استفاده غذایی می‌نمایند برخی نیز عقیده دارند عصاره این گیاه در پایین آوردن فشار خون مفید است (Zargari، ۱۹۹۷؛ Wollen Weber و همکاران، ۱۹۹۵). بیلهر گیاهی سرشار از فلاونوئید و کومارین‌ها است و اولین گیاه از خانواده چتریان است که این مواد را تراوش می‌کنند (Hsiao و همکاران، ۲۰۰۳). پژوهش‌ها نشان می‌دهد مصرف گیاه بیلهر تری‌گلیسرید و کلسترول خون را پایین می‌آورد (Sadeghi و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین دارای اثرات محافظتی بر آسیب‌های کبدی نیز می‌باشد (Germano و همکاران، ۲۰۰۵). بنابراین هدف این پژوهش، بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره بیلهر، کاربرد آن در روغن ماهی و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی عصاره: برای تهیه عصاره، بخش هوایی گیاه بیلهر که مصرف خوراکی دارد از رویشگاه‌های طبیعی آن‌ها واقع در شهرستان یاسوج در فروردین ۱۳۹۲ جمع‌آوری شدند و در شرایط مناسب و دور از آفتاب در دمای اتاق خشک شدند. نمونه‌های خشک‌شده بیلهر با استفاده از آسیاب (Mulinex, 320, Spain) پودر شدند و تا زمان انجام آزمایش‌ها در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

استخراج ترکیبات فنولی با روش غوطه‌وری: پودر بیلهر با نسبت ۱:۱۵ با سه حلال آب، اتانول و آب/ اتانول به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای محیط به خوبی مخلوط شد. پس از پایان زمان استخراج، عصاره‌ها با کاغذ صافی (واتمن، شماره ٤٢) فیلتر شدند و تا زمان انجام آزمایش در ظروف شیشه‌ای تیره و در دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های بیلهر با آزمون‌های قدرت احیاکنندگی آهن (Chu و همکاران، ۲۰۰۰) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل (Prieto و همکاران، ۱۹۹۹) مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی بیلهر در روغن ماهی: روغن ماهی بدون آنتی‌اکسیدان از کارخانه تولیدکننده پودر و روغن ماهی نگین پودر واقع در شهرک صنعتی بهشهر تهیه شد و تا زمان انجام آزمایش‌ها در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. عصاره هیدروالکلی بیلهر در ۲ سطح غلظت (۲۵۰ ppm و ۵۰۰ ppm) به روغن ماهی افزوده شد. آنتی‌اکسیدان مصنوعی BHT به‌میزان ۲۰۰ ppm به روغن ماهی اضافه گردید و یک نمونه روغن ماهی بدون افزودن آنتی‌اکسیدان به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. تمام نمونه‌های تیمار شده درون ظروف شیشه‌ای ریخته شدند و به‌مدت ۳۰ روز در تاریکی در دمای محیط نگهداری شد. و اندازه‌گیری اندیس میزان اسیدهای چرب آزاد (Zhang و همکاران، ۲۰۱۰) و اسید تیوباربیتوریک (Egan

Archive of SID

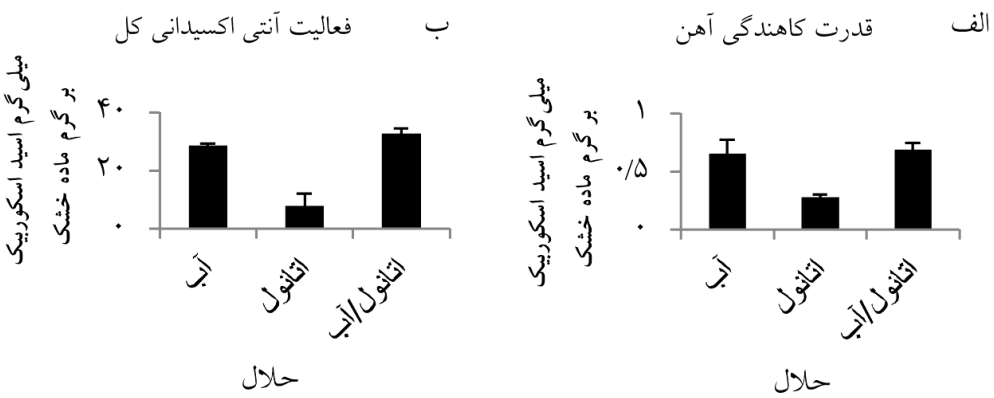
www.SID.ir

و همکـاران، ۱۹۹۷). در روزهـای ۰، ۱۵، ۳۰ مـورد سنجش قرار گرفت.

تجزیه تحلیل آماری: نتایج به‌دست آمده با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOWA) واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال (P<۰/۰۵) صورت گرفت. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS صورت گرفت.

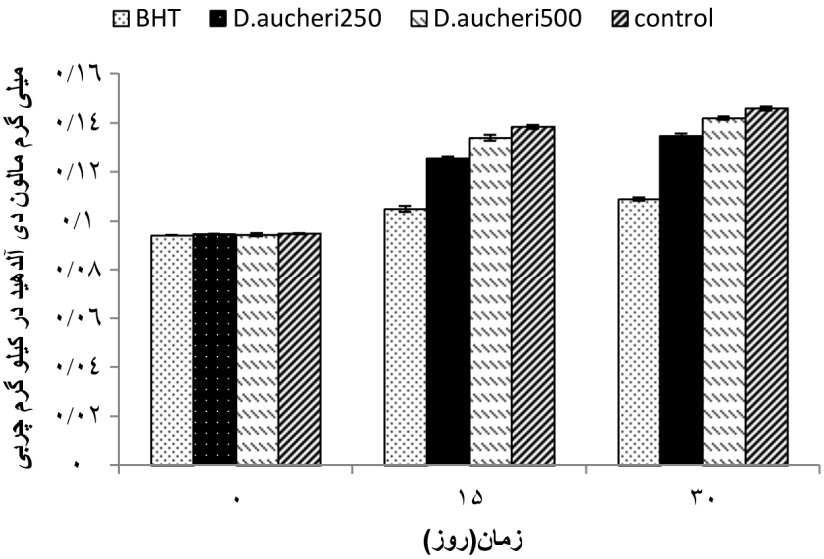
نتایج

اثر حلال بر میزان قدرت کاهندگی آهن و قدرت آنتی‌اکسیدانی کل: قدرت کاهندگی آهن و قدرت آنتی‌اکسیدانی کل در استخراج با ۳ حلال (آب، اتانول و آب/ اتانول) در شکل ۱ آورده شده است. با توجه به شکل ۱، قدرت کاهندگی آهن و قدرت آنتی‌اکسیدانی کل در عصاره هیدروالکلی به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از عصاره‌های آبی و اتانولی بود (P<۰/۰۵). و عصاره آبی نیز به مراتب نسبت به عصاره اتانولی بهتر بود. در شکل ۲ تغییرات میزان تیوباربیتوریک اسید تیمارهای مختلف در دمای محیط مشاهده می‌شود. با توجه به شکل ۲، میزان تیوباربیتوریک اسید بین ۰/۱-۰/۰۹ میلی‌گرم مالون دی‌آلدهید بر کیلوگرم چربی بود. با گذشت زمان میزان تیوباربیتوریک اسید در همه تیمارها افزایش پیدا کرد و تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری با هم بودند (P<۰/۰۵) و میزان تیوباربیتوریک اسید در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها بیش‌تر بود. در شکل ۳ تغییرات میزان اسیدهای چرب آزاد روغن ماهی در حضور مقادیر مختلف عصاره بیلهر (*D. aucheri*)، آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) و نمونه شاهد (Control) در دمای محیط مشاهده می‌شود. با توجه به شکل ۳، میزان اسیدهای چرب آزاد بین ۵/۸۷-۵/۶۵ بر حسب گرم اولئیک اسید چرب در ۱۰۰ گرم چربی بود. با گذشت زمان میزان اسیدهای چرب آزاد افزایش پیدا کرد. در روز پانزدهم و ۳۰ تیمار حاوی BHT و تیمار حاوی عصاره بیلهر (۲۵۰ppm) با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند (P>۰/۰۵). اما دارای اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد و تیمار حاوی عصاره (۵۰۰ ppm) بودند (P<۰/۰۵). به‌طورکلی در همه دوره‌ها تیمار شاهد دارای میزان اسیدهای چرب آزاد بیش‌تری بودند.

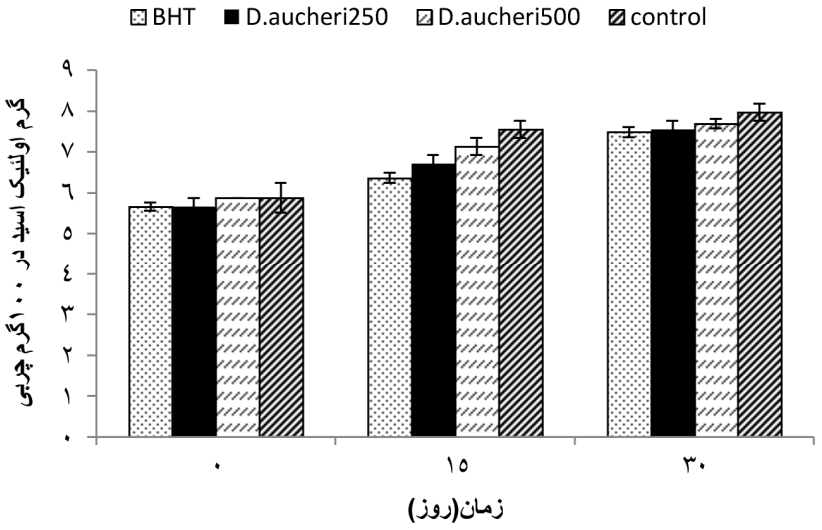


شکل ۱- اثر نوع حلال بر؛ الف؛ قدرت کاهندگی آهن (بر حسب میلی‌گرم اسید اسکوربیک بر حسب گرم ماده خشک)، ب؛ قدرت آنتی‌اکسیدانی کل (بر حسب میلی‌گرم اسید اسکوربیک بر حسب گرم ماده خشک) عصاره بیلهر در استخراج با روش غوطه‌وری.

www.SID.ir



شکل ۲- میزان عدد تیوباربیتوریک اسید روغن ماهی در حضور مقادیر مختلف عصاره بیلهر (*D. aucheri*)، آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) و نمونه شاهد (Control) در دمای محیط.



شکل ۳- میزان اسیدهای چرب آزاد روغن ماهی در حضور مقادیر مختلف عصاره بیلهر (*D. aucheri*)، آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) و نمونه شاهد (Control) در دمای محیط.

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به شکل ۱، قدرت کاهندگی آهن و قدرت آنتی‌اکسیدانی کل در عصاره هیدروالکلی به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از عصاره‌های آبی و اتانولی بود ($P<0/05$) و عصاره آبی نیز به مراتب نسبت به عصاره اتانولی بهتر بود (Chirinos و همکاران، ۲۰۰۷) بیان نمود از دلایل کم‌تر بودن ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های آبی این است که آب به‌عنوان یک حلال استخراج، ایجاد یک محیط قطبی می‌کند که در این محیط ترکیباتی با قطبیت پایین، کم‌تر استخراج می‌گردند و به همین علت میزان ترکیبات فنولی استخراج‌شده با آب کاهش می‌یابد اما با افزودن آب به

www.SID.ir

حلال‌های آلی یک محیط به نسبت قطبی تشکیل می‌گردد که می‌تواند مقادیر و انواع بیش‌تری از ترکیبات فنولی با قطبیت متوسط را استخراج کند (Arabshahi و Urooj، ۲۰۰۷). استخراج ترکیبات فنولی از برگ *Limoniustrum monopetalum* با حلال‌های اتانول، متانول، استون و در حالی‌که این حلال‌ها با آب مخلوط می‌شوند (۲۰ درصد) در مقایسه با حالت خالص حلال‌ها، میزان ترکیبات فنولی عصاره ۱۶-۱٤ برابر افزایش یافت (Trabelsi و همکاران، ۲۰۱۰). Spigno و همکاران (۲۰۰۷) در یک پژوهش، تأثیر میزان حلال آب بر بازده ترکیبات فنولی و عصاره کل مورد بررسی قرار دادند. افزایش درصد آب از ۱۰ تا ۳۰ درصد در بهبود بازده استخراج از نظر آماری مؤثر بود اما با افزایش بیش از ۵۰ درصد میزان آب با کاهش این ترکیبات مواجه بود. با توجه به شکل ۲، میزان تیوباربیتوریک اسید در روز صفر بین ۰/۱-۰/۰۹ میلی‌گرم مالون دی‌آلدهید بر کیلوگرم چربی بود. همان‌طورکه مشاهده می‌شود ترکیبات ثانویه اکسیداسیونی از روز صفر در نمونه‌ها وجود داشت. یک دلیل مهم وجود این ترکیبات در روز صفر، می‌تواند به‌دلیل روش استخراج روغن از ماهی باشد که طی مدت چرخ کردن و اضافه کردن عصاره‌ها امکان ایجاد ترکیبات اکسیداسیونی اولیه و تبدیل آن به ترکیبات ثانویه وجود دارد (Kindleysides و همکاران، ۲۰۱۲). با گذشت زمان نگهداری میزان تیوباربیتوریک اسید تیمارهای حاوی آنتی‌اکسیدان به‌طور معنی‌داری کم‌تر از تیمار شاهد مشاهده شد. با گذشت زمان نگهداری میزان تیوباربیتوریک اسید در همه تیمارها افزایش پیدا کرد و تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری باهم بودند (P<۰/۰۵). میزان تیوباربیتوریک اسید در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها بیش‌تر بود روند افزایشی این شاخص به‌دلیل افزایش آهن آزاد از دیگر پراکسیدان‌ها و همچنین تولید آلدهیدها محصولات ثانویه حاصل از شکست هیدروپراکسیدها است (Gomez و همکاران، ۲۰۰۳). با توجه به شکل ۳، میزان اسیدهای چرب آزاد بین ۵/۸۷-۵/٦۵ بر حسب گرم اولئیک اسید چرب در ۱۰۰ گرم چربی بود. در طول دوره نگهداری تیمار حاوی BHT و تیمار حاوی عصاره بیلهر (۲۵۰ ppm) با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند (P>۰/۰۵). اما دارای اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد و تیمار حاوی عصاره (۵۰۰ ppm) بودند (P<۰/۰۵). اختلاف معنی‌دار نمونه شاهد با تیمار حاوی عصاره بیلهر (۲۵۰ ppm) را می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها مربوط دانست که فعایت آنزیم‌های کاتالیزکننده هیدرولیز چربی را محدود می‌کنند (Fan و همکاران، ۲۰۰۸؛ Vidya و Srikar، ۱۹۹٦) همچنین دلیل پایین‌تر بودن اسیدهای چرب آزاد در تیمارهای حاوی آنتی‌اکسیدان نسبت به تیمار شاهد را شاید بتوان به فعالیت ضدباکتریایی آن‌ها و در نتیجه کاهش فعالیت میکروبی و متعاقباً آنزیم‌های مترشحه آن‌ها در روغن ماهی نسبت داد.

منابع

Arabshahi, D.S., and Urooj, A., 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry. 102, 1233-1240.

Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R., and Larondelle, Y., 2007. Optimization of extraction of antioxidant phenolic compounds from mashua (Tropaeolum Tuberosum Raizand paron) tubers. Separation and purification Tecnology. 55, 217-225.

Chu, Y.H., Chang, C.L., and Hsu, H.F., 2000. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. J. Sci. Food Agric. 80, 561-566.

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

Archive of SID
www.SID.ir

Eskin, N.A.M., and Przybylski, R., 2001. Antioxidants and shelf life of foods. In: Food shelf life stability: chemical, biochemical, and microbiological changes. Eds. DS. Robinson and NAM Eskin. CRC Press.

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, *Food Chemistry.* 108, 148-153.

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, Inter. J. Food Sci. Nutr. 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). J. Ethnopharmacol. 96, 227-232.

Gomez, F., Meghraoui, M., Darkal, A.N., Hijazi, F., Mouty, M., Suleiman, Y., Sbeinati, R., Darawcheh, R., Al-Ghazzi, R., and Barazangi, M., 2003. Holocene faulting and earthquake recurrence along the Serghaya branch of the Dead Sea fault system in Syria and Lebanon. Geophysical J. Inter. 153, 658-674.

Hsiao, G., Shen, M.Y., Lin, K.H., Lan, M.H., Wu, L.Y., Chou, D.S., Lin, C.H., Su, C.H., and Sheu, J.R., 2003. Antioxdant and hepatoproteceiv effect of antrodia camphorate extract. J. Agric. Food Chem. 21; 51 (11), 3302-3308.

Kaitaranta, J.K., 1992. Control of lipid oxidation in fish oil with various antioxidative compounds. JAOCS, 69, 8.

Kindleysides, S., Quek, S.Y., and Miller, M.R., 2012. Inhibition of fish oil oxidation and the radical scavenging activity of New Zealand seaweed extracts. Food Chemistry. 133, 1624-1631.

Pratt, E., and Hudson, V., 1999. Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (*Punica Granatum* L.) grown in Turkey. J. Food Comp. Anal. 15, 567-575.

Prieto, P., Pineda, M., and Aguilar, M., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry. 269, 337-341.

Rajaii, A., 2005. Comparing method of super critical fluid whit method of soxhelt in extracting of tea oil and comparing the effect of antioxidation properties of tea oil whit sesame oil. A thesis of Master of Science in food science and technology, Tarbiat Modares University, agriculture faculty. 90p. (Translated in Persian)

Sadeghi, H., Ghaitasi, I., Mazrooghi, N., and Sabzali, S., 2007. The hepatoprotective effects of Dorema auchri on carbon tetrachloride induced liver damage in rats. J. Shahrekord Univ. Med. Plants Sci. 6 (1), 38-43.

Spigno, G., Tramelli, L., and De Faveri, D.M., 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. J. Food Engin. 81, 200-208.

Trabelsi, N., Meydiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Queslatis, S., Soumaya, B., Hajluoui, H., and Abdelly, C., 2010. Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte Limoniastrum monopetalum leares. LWT-Food Science and Tecnology. 43, 632-639.

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 Fisher Sci. 9: 109-114.

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

Wollen Weber, E., Dor, M., and Rostaiyan, A., 1995. Dorema aucheri the first Umbelliferous plant found to produce exudates flavonods. J. Phytochem. 38 (6), 1411-27.

X Hou, D., 2003. Potential mechanisms of cancer chemoprevention by anthocyanins. Current Molecular Medicine. 3, 149-159.

Yue, X., Xu, Z., Prinyawiwat Kul, 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. J. Food Chem.

Zargari, A. 1997. Pharmaceutical plants. Tehran University Press, pp. 212-221.

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. Food Chemistry, 118, 656-662.

Archive of SID

www.SID.ir