



مقایسه عصاره برگ گیاه گزنه (*Urtica dioica*) و آنتی‌اکسیدان بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) بر زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در شرایط نگهداری در دمای 4 ± 1 درجه سانتی‌گراد

زینب نوری هاشم آباد^{۱*}، سیدحمید حسینی پور^۲ و سید مهدی اجاق^۳

۱- کارشناس ارشد، فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
۲- استادیار، فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
۳- استادیار، فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

پذیرش: ۱۳۹۲/۰۷/۲۳

دریافت: ۱۳۹۲/۲/۱۴

* نویسنده مسئول: royanoori.1366@yahoo.com

چکیده:

تأثیر عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی در رابطه با زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) بررسی شد. بدین منظور فیله در ۳ تیمار نمک سود در آب نمک ۱۰ درصد، تیمار نمک سود به همراه ۱ درصد عصاره برگ گزنه و تیمار نمک سود به همراه آنتی‌اکسیدان بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) در تناوب زمانی ۳ روزه بررسی شد که شاخص‌های پراکسید (PV)، اسیدهای چرب آزاد (FFA)، اسید تیوباربتوریک (TBA)، رطوبت، میزان pH و ویژگی‌های حسی طی ۱۵ روز نگهداری در یخچال ارزیابی شدند. نتایج نشان داد مقادیر TBA و FFA به شکل معناداری ($p < 0.05$) در تمامی تیمارها افزایش یافت، اگرچه مقادیر پراکسید نیز در تمام تیمارها با گذشت زمان به شکل معناداری ($p < 0.05$) روند نزولی داشت. نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان در مقایسه با نمونه شاهد در همه تیمارها به شکل معناداری ($p < 0.05$) TBA، PV و FFA کم‌تری داشت. همچنین عصاره متانولی برگ گزنه در سطح ۱ درصد به‌خوبی توانست شاخص‌های TBA، PV و FFA را کنترل کرده و جایگزین آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل هیدروکسی تولوئن در سطح ۱ درصد شود. با توجه به نتایج حاصل از ارزیابی حسی (رنگ، بو، بافت، طعم و پس طعم) و نبود تفاوت معنادار میان دو آنتی‌اکسیدان می‌توان استفاده از هر دو نوع آنتی‌اکسیدان را در نگهداری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان توصیه کرد. طبق نتایج این تحقیق عصاره برگ گزنه تأثیر بیش‌تری بر ماندگاری قزل‌آلای رنگین‌کمان دارد.

کلید واژگان: عصاره گزنه، BHT، آنتی‌اکسیدان، فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، زمان ماندگاری

مقدمه

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه محققان قرار گرفته است (Frankel, 1991).

اقداماتی در جلوگیری یا به تعویق انداختن فساد ماهیان و فراورده‌های آن گزارش شده که می‌توان به کنترل‌های لازم در محل فراوری، کنترل درجه حرارت، سرد کردن و انجماد، بسته‌بندی تحت خلأ، بسته‌بندی در اتمسفر اصلاح شده^۶ و همچنین افزودن آنتی‌اکسیدان اشاره کرد (Lin and Lin, 2004; Tall and Harris, 1995; He and Shahidi, 1997).

همان‌طور که اشاره شد، با توجه به مضراتی همچون سرطان‌زایی و آثار سرطان‌زایی نگهدارنده‌های شیمیایی و همچنین افزایش آگاهی مردم، امروزه تصویری منفی از نگهدارنده‌های شیمیایی به مواد غذایی در مصرف کنندگان ایجاد شده و افزایش استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی برای زمان ماندگاری مواد غذایی افزایش یافته است. به همین دلیل به‌تازگی استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به‌عنوان نگهدارنده مورد توجه قرار گرفته است (Omidbeygi et al., 2007). اضافه کردن آنتی‌اکسیدان به مواد غذایی یکی از مؤثرترین شیوه‌های کاهش سرعت اکسایش چربی‌هاست. این شیوه به طرز فراگیری برای افزایش میزان ماندگاری مواد غذایی و بهبود پایداری چربی‌ها و غذاهای حاوی چربی و به تبع آن جلوگیری از افت خصوصیات حسی و ارزش تغذیه‌ای آن‌ها به‌کار می‌رود (Ojagh et al., 2004). مرحله شروع و انتشار اکسیداسیون منجر به تشکیل یک سری واکنش رادیکال آزاد می‌شود، در نتیجه استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها برای کاهش سرعت اکسیداسیون معمول است (Vicetti et al., 2003). اگرچه آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی در مقادیر کم استفاده

ماهیان با وجود ارزش غذایی بالایی که دارند در برابر فساد اکسیداتیو بسیار حساس هستند و ویژگی‌های کیفی آن‌ها در طول نگهداری در اثر فساد باکتریایی و اکسیداتیو کاهش می‌یابد (Mexis et al., 2009). چربی ماهی دارای منابع مهمی از اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه و امگا ۳ است که به‌طور عمده^۱ DHA و EPA^۲ را در بر می‌گیرد (Lin and Lin, 2004). نقش DHA در افزایش سلول‌های مغز و سلول‌های شبکه چشم در دوره بارداری خانم‌ها و EPA که مانع بروز بیماری‌های قلبی در انسان می‌شود به اثبات رسیده است (Navarro-Garcia et al., 1992; Kaltaranta, 2004). چربی ماهیان به دلیل داشتن اسیدهای چرب (PUFA) در مقابل فسادهای ناشی از اکسیداسیون بسیار حساس بوده و دچار آسیب‌دیدگی می‌شود (Vicetti et al., 2003; Viscidi et al., 2004).

ترکیبات فرار حاصل از شکستن، اکسیداسیون و هیدرولیتیک چربی‌ها (آلدئیدها، هیدروپراکسیدها، اسیدهای چرب، کتون‌ها و...) کیفیت ماهی را تغییر می‌دهد و باعث می‌شود مصرف کنندگان این منبع با ارزش غذایی را نپذیرند (Tall and Harris, 1995; Hras et al., 2000; Sakanaka et al., 2005).

آنتی‌اکسیدان‌ها به دو دسته عمده سنتزی و طبیعی تقسیم می‌شوند. امروزه در صنعت از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند BHT^۳، BHA^۴ یا TBHQ^۵، برای به تأخیر انداختن اکسیداسیون چربی‌ها استفاده می‌شود، اما به دلیل آثار بد تغذیه‌ای و سرطان‌زا بودن این ترکیبات و نیز تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی، کاربرد

1. Docosahexaenoic acid
2. Eicosapentaenoic acid
3. Butylated hydroxyanisole
4. Butylated hydroxytoluene
5. Tert-butyl hydroquinone

6. Vacuum packaging

7. Modify atmosphere packaging

پیاز و کاکوتی کوهی بر زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که غلظت ۱ درصد عصاره‌های استفاده شده می‌تواند بیش‌ترین تأثیر را داشته باشد. در مطالعه‌ای دیگری که Gharekhani و همکاران (2009) روی اثر عصاره برگ گزنه (*Urita dioica*) در جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که غلظت ۸۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌ها نسبت به ۲۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام می‌تواند بیش‌ترین تأثیر را روی کندی روند اکسیداسیون داشته باشد. همچنین Jayaprakasha و همکاران (2001) در مطالعه‌ای که روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی هسته انگور بر روغن آوند انجام دادند، از غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام استفاده کردند. در این مطالعه از غلظت ۱ درصد عصاره استفاده شد. هدف از تحقیق حاضر افزایش مدت ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلا در دمای یخچال بود و با توجه به کاربردی بودن مقاله بهترین غلظت‌ها انتخاب شد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

حلال مصرفی از شرکت مجللی تهران و دیگر مواد شیمیایی مصرفی از نمایندگی‌های مرک آلمان و تیتراکم تهیه شدند.

آماده‌سازی برگ‌های گزنه

گیاه گزنه (*Urita dioica*) در زمستان سال ۱۳۹۰ از منطقه جنگل گلستان واقع در شهرستان مینودشت برداشت شد. پس از برداشت، برگ‌های آن از ساقه جدا و تحت شرایط محیطی و با استفاده از جریان هوای خشک در سایه خشک شدند. سپس با استفاده از دستگاه آسیاب، ساخت شرکت ایران خودساز پودر و از الک با منافذ ۴۰ میکرون عبور داده

می‌شوند، ولی نیاز به انواع آنتی‌اکسیدان‌های بدون عوارض نیز احساس می‌شود؛ زیرا نمی‌توان عوارضی که در اثر مصرف طولانی مدت این ترکیبات در انسان به‌وجود می‌آید را نادیده گرفت. بنابراین جستجو برای جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی منجر به بررسی آنتی‌اکسیدان‌های متعددی از منابع گیاهی شده است. میوه‌ها، ادویه‌ها، گیاهان دارویی، آجیل‌ها، سبزی‌ها و پوست درختان به‌عنوان منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در نظر گرفته می‌شوند (Mahdavi et al., 1995). در سال‌های اخیر مطالعات بسیاری برای بررسی و استخراج آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از گیاهان مختلف صورت گرفته است که می‌توان به استخراج ترکیبات فنولی از هسته انگور (Jayaprakasha et al., 2001)، تفاله انار (wenjuan et al., 2010)، تفاله آلو (Janja et al., 2011) و پوست درخت زرشک کره‌ای (Syed et al., 2009) اشاره کرد.

یکی از گیاهانی که امکان بررسی و مطالعه بیش‌تر از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی برای آن وجود دارد، گیاه گزنه (*Urita dioica*) است. برگ‌ها بخش دارویی این گیاه را تشکیل می‌دهند. گزنه به‌صورت خوراکی به‌عنوان پایین آورنده قند خون و اسید اوریک و به‌صورت موضعی در درمان برخی بیماری‌های پوست و مو از جمله اگزما، بیماری‌های التهابی و حتی در درمان ریزش مو استفاده می‌شود (Gharekhani et al., 2009). در ایران این گیاه در نواحی مرطوب غالب نقاط ایران به‌ویژه مناطق شمالی و کرانه خزر و شمال غربی کشور می‌روید. در این مطالعه میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ گزنه با حلال متانول بررسی شد و اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل شده با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT ارزیابی شد. همچنین با توجه به مطالعات Zolfaghari و همکاران (2010)، مقایسه تأثیر عصاره‌های آویشن شیرازی،

شد و تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

استخراج ترکیبات فنولی با روش غرقابی

در این روش ۵۰ گرم پودر برگ خشک شده گزنه با نسبت ۱:۶ (حلال: ماده گیاهی) با حلال متانول ۸۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط به‌خوبی مخلوط شد. عصاره به دست آمده پس از صاف شدن با کاغذ صافی (واتمن شماره ۴۲) از مواد گیاهی جدا شد. سپس حلال با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخان با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد از محلول عصاره جدا گردید و عصاره (ماده خشک) حاصل شده در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Ebrahimzade et al., 2008).

آماده‌سازی فیله‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از مزرعه پرورشی واقع در استان گلستان در اسفند ماه سال ۹۰ تهیه و بلافاصله همراه یخ به محل آزمایشگاه اداره کل دامپزشکی استان گلستان منتقل شد. پس از وزن کردن ماهی، سر و باله‌ها جدا و تخلیه شکمی انجام شد و در ادامه ماهیان به شکل پروانه‌ای فیله شدند. نمک سود سبک فیله قزل‌آلا بر اساس روش Goulas و kontominas (2007) صورت پذیرفت. بدین منظور از آب نمک با غلظت ۱۰ درصد استفاده شد و فیله‌ها به نسبت ۱ به ۳ (ماهی به آب نمک) به مدت ۱ ساعت در دمای محیط آزمایشگاه (۱۸ درجه سانتی‌گراد) در آب نمک قرار داده شدند. برای بررسی اثر عصاره برگ گزنه تیمار ۱ درصد عصاره (وزن فیله به وزن عصاره) در نظر گرفته شد (نسبت میزان عصاره (میلی‌لیتر) به وزن ماهی (گرم)). برای افزودن عصاره‌ها به فیله، ابتدا عصاره

با غلظت موردنظر (وزن فیله به وزن عصاره) به آب نمک تهیه شده اضافه شد و در نهایت فیله‌های موردنظر در آن غوطه‌ور شدند. فیله‌های نمک سود و حاوی عصاره در کیسه‌های پلاستیکی فریزر قرار داده شدند. پس از اتمام شور کردن، عصاره‌گذاری و قرار دادن فیله‌ها در کیسه‌های پلاستیکی، همه نمونه‌های فیله (نمک سود در آب نمک ۱۰ درصد (W)، نمک سود به همراه ۱ درصد عصاره برگ گزنه (N) و نمک سود به همراه آنتی‌اکسیدان BHT (B)) به یخچال با دمای ± 4 درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. قابل ذکر است که با توجه به تأکید بیش‌تر بر جنبه کاربردی این پژوهش، غلظت ۱ درصد قابل استفاده به‌کار رفت.

تعیین ترکیب تقریبی فیله

برای تعیین ترکیب تقریبی فیله ابتدا کل فیله با استفاده از دستگاه خردکن خانگی (مواینکس، مدل ۳۲۰، ۶۰-۵۰ هرتز، ۷۰۰ وات، اسپانیا) چرخ شده و کاملاً همگن گردید. برای تعیین رطوبت از روش خشک کردن در آون (۹۵۰، ۴۶) (AOAC) در معرض هوا در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. تمامی آزمایش‌ها انجام شده (شیمیایی و حسی) در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ با سه تکرار انجام پذیرفت.

مقدار پراکسید (PV)

میزان پراکسید گوشت ماهی به روش Egan و همکاران (1997) تعیین و به‌صورت میلی‌اکی والان گرم در کیلوگرم چربی بیان شد. نمونه‌ای از روغن استخراج شده ماهی به‌دقت در ارلن مایر ۲۵۰ mL سرسمباده‌ای وزن گردید و حدود ۲۵ mL از محلول اسیداستیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۳:۲) به محتویات ارلن اضافه شد.

اندازه‌گیری pH

۵ گرم از نمونه ماهی هموژن شد و با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و در نهایت pH نمونه با کمک دستگاه pH متر که در pH ۴ و ۷ استاندارد شده بود، اندازه‌گیری شد (Hernandez et al., 2009).

ارزیابی حسی

نمونه‌ها در هر دوره زمانی نمونه‌برداری به‌وسیله ۵ فرد آموزش دیده از نظر شاخص‌های حسی مطابق با طرح درجه‌بندی انجمن اروپا (EC (European Commission درجه‌بندی شدند. ظاهر، بافت، طعم، و همچنین بو در چهار درجه کیفی ارزیابی شد. در طرح درجه‌بندی EC به کیفیت عالی (E)، کیفیت مناسب (A)، کیفیت خوب (B)، کیفیت بد (C) به ترتیب نمرات ۴، ۳، ۲، ۱ اختصاص داده شد. نمره ۳ به‌عنوان حد قابل قبول برای مصارف انسانی در نظر گرفته شد (Howgate et al., 1992).

تجزیه آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزار SPSS ۱۵ انجام گرفت و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل مقادیر کمی به‌دست آمده از تجزیه واریانس دوطرفه در قالب طرح آماری فاکتوریل کاملاً تصادفی استفاده شد. برای تعیین دقیق وجود یا نبود تفاوت معنادار بین تیمارهای مختلف زمان‌های مورد آزمایش با تیمار شاهد، از آزمون تفاوت حداقل معنادار (LSD) و برای مقایسه میانگین‌های تیمارهای چندگانه با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. برای تجزیه آماری آزمون حسی از روش غیر پارامتری کای اسکور استفاده شد. در تمام مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد فرض صفر ۵ درصد در نظر گرفته شد.

سپس ۰/۵ mL از محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰ mL از آب مقطر و ۰/۵ mL محلول نشاسته ۱ درصد به مجموعه افزوده شد و مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیترا گردید. وزن نمونه روغن/۱۰۰۰×نرمالیتة×حجم تیوسولفات مصرفی=پراکسید

شاخص اسیدهای چرب آزاد (FFA)

برای تعیین هیدرولیز چربی‌ها از روش Egan و همکاران (1997) استفاده شد. بدین منظور ۲۵ میلی‌لیتر الکل ۹۶ درصد خشی شده با چند قطره سود ۰/۱ نرمال و افزودن چند قطره محلول فنل فتالین (۱درصد) به ۲۵ میلی‌لیتر استخراجی کلروفرم (از فیله چرخ شده و با سود ۱ درصد نرمال تیترا گردید. در زمان تیتراسیون محلول به‌طور مداوم تکان داده می‌شد و تا زمانی که رنگ صورتی ظاهر شد، تیتراسیون ادامه یافت. نتایج به‌صورت درصد اولئیک اسید در چربی کل بیان شد.

شاخص اسید تیوباربتوریک (TBA)

برای اندازه‌گیری شاخص اسید تیوباربتوریک از روش Egan و همکاران (1997) استفاده شد. این روش بر اساس مقادیر تشکیل رنگ صورتی حاصل از واکنش یک مولکول مالون دی‌آلدهید (MDA) حاصل از تقطیر، با دو مولکول اسید تیوباربتوریک (TBA) اضافه‌شده به محلول حاصل از تقطیر، بنا شده است، که با اسپکتروفتومتری قابل اندازه‌گیری است. نتایج بر اساس میلی‌گرم مالون دی‌آلدهید در کیلوگرم نمونه بیان شد.

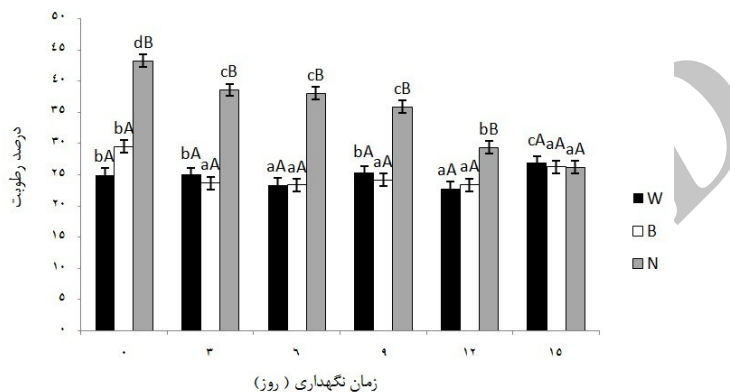
عدد جذب * ۷۸=تی بی ای

نتایج

اندازه‌گیری رطوبت

میزان رطوبت نمونه شاهد در زمان‌های مختلف با یکدیگر تفاوت معناداری داشت، برای ماهیان تیمار شده با عصاره برگ گزنه بیش‌ترین میزان رطوبت در زمان‌های صفر و ۳

و کم‌ترین آن در زمان ۱۲ مشاهده شد. همچنین برای ماهیان تیمار شده با BHT بیش‌ترین میزان رطوبت در زمان صفر و کم‌ترین آن در زمان ۱۲ مشاهده گردید. مقایسه رطوبت تیمارهای مختلف فقط در زمان‌های صفر نگهداری اختلاف معنادار ($p < 0/05$) را نشان داد (شکل ۱).



شکل ۱ تغییر در میزان رطوبت نمونه‌های ماهی در تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال.

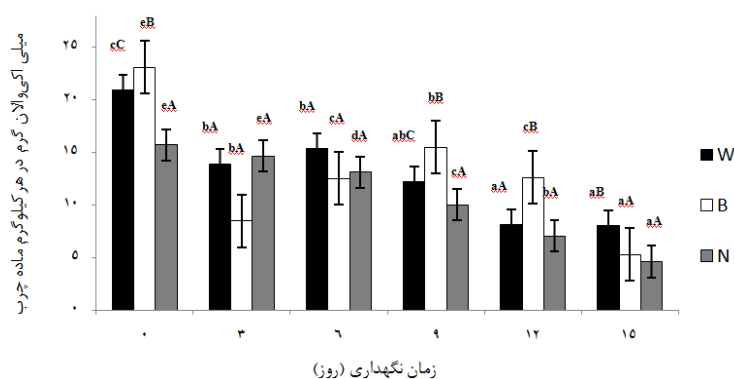
N: تیمار عصاره برگ گزنه، B: تیمار آنتی‌اکسیدانی BHT، W: تیمار شاهد

حروف بزرگ مقایسه تیمار در زمان، حروف کوچک مقایسه تیمار به تیمار، نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح $p < 0/05$.

تغییرات مقدار پراکسید (PV)

نتایج بررسی اسیدهای چرب آزاد در نمونه‌ها طی دوره نگهداری در شکل ۲ مشاهده می‌شود. تفاوت معنادار پراکسید در نمونه حاوی عصاره برگ گزنه

نسبت به نمونه‌های تیمار شده با آنتی‌اکسیدان BHT و شاهد و کاهش آن در تیمارهای حاوی آنتی‌اکسیدان، به‌خصوص تیمار عصاره برگ گزنه بیانگر تأثیر آنتی‌اکسیدان‌ها در کم کردن توسعه فساد است.



شکل ۲ تغییر در میزان PV نمونه‌های ماهی در تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال.

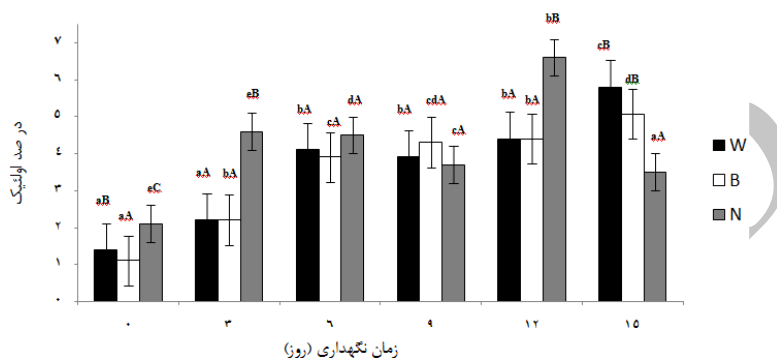
N: تیمار عصاره برگ گزنه، B: تیمار آنتی‌اکسیدانی BHT، W: تیمار شاهد

حروف بزرگ مقایسه تیمار در زمان، حروف کوچک مقایسه تیمار به تیمار، نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح $p < 0/05$.

تغییرات اسیدهای چرب آزاد (FFA)

افزایشی بوده است. نمونه‌ها در همه دوره‌های نمونه‌برداری دارای مقادیر FFA متفاوتی بودند. البته میزان اسیدهای چرب آزاد در روز صفر و ۱۲ نگهداری معنادار نبود ($p \geq 0/05$).

نتایج بررسی اسیدهای چرب آزاد در نمونه‌ها طی دوره نگهداری در شکل ۳ مشاهده می‌شود. نتایج نشان داد طی نگهداری روند تغییر میزان اسیدهای چرب آزاد نمونه‌ها



شکل ۳ تغییر در میزان FFA نمونه‌های ماهی در تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال.

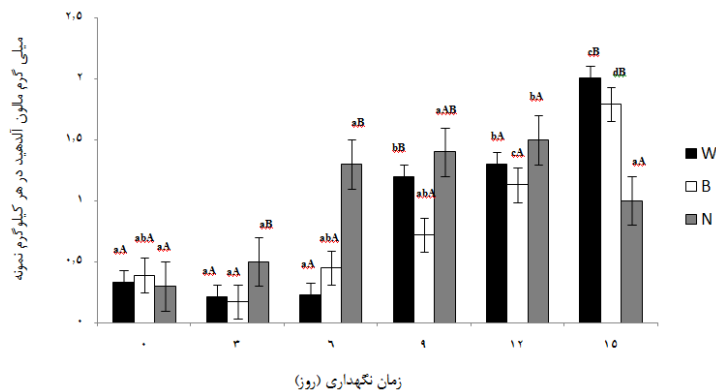
N: تیمار عصاره برگ گزنه، B: تیمار آنتی‌اکسیدانی BHT، W: تیمار شاهد

حروف بزرگ مقایسه تیمار در زمان، حروف کوچک مقایسه تیمار به تیمار، نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح $p < 0/05$.

مشاهده شد، در حالی که کم‌ترین میزان اسید تیوباربیتوریک مربوط به عصاره برگ گزنه بود. میزان TBA بجز روز صفر و روز ۱۲ بین تمام تیمارها تفاوت معناداری داشت ($p < 0/05$). تغییرات میزان شاخص TBA تیمارهای مورد آزمایش، در شکل ۴ نشان داده شده است.

بررسی تغییرات شاخص اسید تیوباربیتوریک (TBA)

بررسی تغییرات شاخص TBA طی دوره نگهداری نشان داد که میزان TBA برای تیمار شاهد و BHT در روز ۱۵ و تیمار گزنه در روز ۱۲ بیش‌ترین میزان را نشان داد. همچنین بالاترین میزان اسید تیوباربیتوریک در نمونه شاهد



شکل ۴ تغییر در میزان TBA نمونه‌های ماهی در تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال.

N: تیمار عصاره برگ گزنه، B: تیمار آنتی‌اکسیدانی BHT، W: تیمار شاهد

حروف بزرگ مقایسه تیمار در زمان، حروف کوچک مقایسه تیمار به تیمار، نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح $p < 0/05$.

ارزیابی حسی نمونه‌ها

نتایج ارزیابی حسی نمونه‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. ارزیابی حسی نمونه‌ها با چهار مشخصه بافت، بو، ظاهر و طعم فیله قزل‌آلا صورت پذیرفت. امتیاز بافت فیله در روز ۹ برای تمام تیمارها به امتیاز محدودکننده ۳ رسید. امتیاز بو در روز ۹ برای تیمار شاهد و BHT به امتیاز

محدودکننده رسید در حالی که برای تیمار گزنه به حدود روز ۱۵ رسید. همچنین امتیاز ظاهر در روز ۱۲ برای تیمار شاهد و BHT به امتیاز محدودکننده رسید، ولی برای تیمار گزنه به روز ۱۵ رسید و امتیاز طعم فیله در روز ۹ برای تیمار شاهد و روز ۱۲ برای تیمار BHT و روز ۱۵ برای تیمار گزنه به امتیاز محدودکننده رسید.

جدول ۱ نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های شاهد و تیمار شده با عصاره برگ گزنه و BHT طی دوره نگهداری (روز)

شاخص حسی	زمان (روز)						
	تیمار*	۰	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
بافت	W	E	A	A	B	B	C
	N	E	A	A	B	B	B
	B	E	A	A	B	C	C
بو	W	E	E	E	B	B	C
	N	E	E	E	E	A	B
	B	E	E	E	B	C	C
ظاهر	W	E	E	E	A	B	C
	N	E	E	A	A	A	B
	B	E	E	E	A	B	B
طعم	W	E	E	A	B	B	C
	N	E	E	A	A	A	B
	B	E	E	E	A	B	C

*N: تیمار عصاره برگ گزنه، B: تیمار آنتی‌اکسیدانی BHT، W: تیمار شاهد، C:1، B:2، A:3، E:4 امتیاز حسی از ۱ تا ۴

بحث

آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق دادن هیدروژن با لیپیدهای اکسید نشده رقابت می‌کنند (Lin and Liang, 2002). بنابراین با دادن الکترون آزاد باعث تشکیل ترکیبات پایدار شده که ممکن است از طریق شلاته کردن یون‌های فلزی (عوامل پرو-اکسیدان) (Mahdavi et al., 1995)، یا حذف پراکسید (Diplock, 1994)، یا فرونشاندن اکسیژن یگانه اثر مثبت خود را در جلوگیری از فساد اعمال کنند (Bellus, 1995). تفاوت معنادار پراکسید، اسیدهای چرب آزاد و اسید تیوباریتوریک در نمونه شاهد نسبت به نمونه‌های تیمار شده بیانگر تأثیر آنتی‌اکسیدان‌ها در کاهش توسعه فساد است. نتایج مطالعات (Wansundra and shahidi, 1998) مبنی بر اثر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره چای سبز نسبت به بوتیله هیدروکسی آنیزول، بوتیله هیدروکسی تولوئن و ترت بوتیل هیدروکینون

و آلفاتوکوفرول در روغن‌های دریایی غیراشباع با زنجیره بلند، مشابه نتایج این تحقیق بود. مقدار اسیدهای چرب آزاد در روز صفر ۱/۵۰ درصد اسید اولئیک در چربی بود که با نتایج دیگر پژوهشگران در این زمینه همخوانی دارد (Rezaei and Hosseini, 2008). اگرچه تغییرات اسیدهای چرب آزاد طی دوره نگهداری روندی افزایشی داشت، اما این روند منظم نبود. این نتایج با گزارش‌های (Jezek and Buchtova, 2007) همخوانی دارد. بررسی‌ها نشان داد که تیمار حاوی عصاره برگ گزنه اسیدهای چرب آزاد کم‌تری از تیمارهای BHT و شاهد بود ($p < 0.05$). اسیدهای چرب آزاد به‌طور مستقیم اثر منفی بر طعم گوشت ماهی دارد و بیان شده است که تشکیل اسیدهای چرب آزاد سبب تشدید پدیده اکسیداسیون چربی‌ها در ماهی می‌شود (Aubourg, 2001). البته اگر چه

مشاهده می‌کنید، میزان پراکسید در تمام نمونه‌ها طی دوره نگهداری کاهش یافت. کاهش میزان پراکسید برای تیمار شاهد در انتهای دوره را می‌توان به تجزیه پراکسیدها به ترکیبات ثانویه، مربوط دانست (Ben-Gigirey et al., 1999). کم‌ترین میزان پراکسید در انتهای دوره به تیمار حاوی ادرصد عصاره گزنه به دلیل تأثیر این آنتی‌اکسیدان طبیعی بود.

عصاره برگ گزنه بیش‌ترین اثر محافظت‌کنندگی در مقابل اکسایش چربی‌ها را در فیله قزل‌آلا داشت. البته آنتی‌اکسیدان BHT نیز به خوبی توانست اکسیداسیون چربی‌ها در فیله را کاهش دهد، اگرچه در این خصوص پژوهشی دربارهٔ عصاره برگ گزنه در دست نیست. بررسی نتایج تجزیه واریانس و نیز مقایسه میانگین تیمارهای مختلف نشان داد که اثر تیمار بر شاخص اسید تیوباربیتوریک در سطح احتمال پنج درصد معنادار نیست، ولی اثر زمان بر شاخص اسید تیوباربیتوریک در سطح احتمال پنج درصد معنادار است. بالا بودن مقدار TBA نمونه شاهد نشان از بالا بودن فساد دارد. پایین بودن میزان TBA در نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان احتمالاً به دلیل اثر آنتی‌اکسیدان‌ها در کاهش پراکسید است، چرا که براساس سازوکار یک مولکولی و دو مولکولی زمانی که مقادیر هیدروپراکسید عضلات ماهی کم باشد، سرعت تشکیل این ترکیبات سریع‌تر از شکستگی آن‌هاست. در این حالت براساس سازوکار یک مولکولی، میزان هیدروپراکسیدها در عضلات ماهی شروع به بالا رفتن می‌کند. با گذشت زمان و افزایش غلظت هیدروپراکسیدها، براساس سازوکار دو مولکولی این ترکیبات سریع شکسته می‌شوند و به دنبال آن مقادیر هیدروپراکسیدها کاهش می‌یابند. باید توجه داشت که در این حالت سرعت تجزیه آن‌ها سریع‌تر از سرعت تشکیل است (Rezaei et al., 2002; Ben-Gigirey et al., 1999). بنابراین براساس نتایج این

رابطهٔ بین لیپولیز و اکسیداسیون لیپیدها اندکی مورد مناقشه است، اما به‌طور کلی اسیدهای چرب آزاد سریع‌تر از اسیدهای چرب استریفیه شده، اکسیده می‌شوند؛ به‌خصوص وقتی آنزیم‌هایی نظیر لیپوکسیژنازاها در بافت‌های نپخته وجود داشته باشد. از طرفی واکنش اسیدهای چرب آزاد با پروتئین‌های گوشت سبب سفتی بافت و کاهش قابلیت پذیرش آن از طرف مصرف‌کننده می‌شود (Losada et al., 2004). اکسیداسیون چربی‌ها مربوط به اکسید شدن اسیدهای چرب، چند غیراشباعی در عضلات ماهی است که منجر به ایجاد بو و طعم نامطلوب در ماهی و در نتیجه کوتاه شدن زمان ماندگاری آن می‌شود (Ramanathan and Das, 1992).

شاخص TBA مربوط به اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید است که محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب چندغیراشباع است. فرآورده‌های اولیه اکسیداسیون چربی‌ها هیدروپروکسیدها هستند که ترکیباتی ناپایدارند و نقشی در طعم نامطلوب ماهی ندارند. هیدروپروکسیدها پس از شکستن، موادی نظیر آلدئیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، هیدروکربن‌ها، استرها، فوران‌ها و لاکتون‌ها را ایجاد می‌کنند (Bremner, 2002). مقادیر به‌دست آمده برای TBA در روز اول نمونه‌گیری مشابه نتایج دیگر پژوهشگران برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود (Rezaei and Hosseini, 2008; Rezaei et al., 2008).

اکسیداسیون اولیه چربی با استفاده از اندازه‌گیری میزان پراکسید ارزیابی می‌شود (Lin and Lin, 2005). از آنجا که پراکسیدها ترکیباتی بدون طعم و بو هستند، نمی‌توانند از سوی مصرف‌کنندگان تشخیص داده شوند. ولی این ترکیبات باعث به‌وجود آمدن ترکیبات ثانویه مثل آلدئیدها و کتون‌ها می‌شوند که سبب تشخیص تند شدن اکسیداسیونی می‌شوند (Ozyurt et al, 2007). همان‌طور که در شکل ۲

Diplock, A. T. 1994. Antioxidants and free radical scavengers. In *Free Radical Damage and Its Control*. Rice C. A., Burdon R. H. eds. Elsevier Science B.V, 392p.

Ebrahimzadeh, M. A., Pourmorad, F. and Hafezi, S. 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of Biology*, 32: 43-49.

Egan, H., Kirk, R. S. and Sawyer, R. 1997. Pearson's chemical Analysis of Foods. 9th edition. Churchill Livingstone, Edingburgh, Scotland, UK, pp. 609-643.

Frankel, E. N. 1991. Recent advances in lipid oxidation (review). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54: 495 – 511.

Gharekhani, M., Ghorbani, M., Ebrahimzade, M. A., Gafari, S. M. and Sadeghimahonak, A. R. 2009. Effect Nettle Leaf Extract (*Urtica dioica*) in preventing the oxidation of soybean oil. *Electronic Journal of Food Processing and Preservation*, 1(2): 85-102. (in Persian)

Goulas, A. E. and Kontominas, M. G. 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Journal Food Chemistry*, 100: 287-296.

He, Y. and Shahidi, F. 1997. Antioxidant activity of green tea and tea catechins in fish meat model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(11): 4262-4266.

Hernandez, M. D., Lopez, M. B., Alvarez, A., Ferrandini, E., Garcia Garcia, B. and Garrido, M. D. 2009. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meager (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. *Food Chemistry*, 114: 237-245.

Howgate, P., Johnston, A. and Whittle, K. J. 1992. Howgate, P., Johnston, A., Whittle, K.J., Multilingual guide to EC freshness grades for fishery products, Aberdeen, Scotland, UK: Torry Research Station, pp 32.

Hras, A. R., Hadolin, M., Knez, Z. and Bauman, D. 2000. Comparison of antioxidative and synergistic effect of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chemistry*, 71(2): 229-233.

تحقیق آنتی‌اکسیدان‌ها موجب کاهش سرعت تشکیل پراکسید شدند، اما در تیمار شاهد، به دلیل بالا رفتن بیش‌تر میزان پراکسید، واکنش‌های دو مولکولی با سرعت بیش‌تری انجام شدند و به همین دلیل میزان TBA تیمار شاهد بیش‌تر از تیمارهای دیگر شد. براساس نتایج ارزیابی حسی جدول ۱ می‌توان استفاده آنتی‌اکسیدان طبیعی را برای نگهداری این ماهی پیشنهاد کرد.

تشکر و قدردانی

در اینجا لازم است از استادان محترم گروه شیلات، سرکار خانم رستم‌زاد دانشجوی دوره دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، همچنین از ریاست محترم دامپزشکی استان گلستان که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، سپاسگزاری نمایم.

مراجع

AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, pp 1230.

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

Bellus, D. 1995. Physical quenchers of molecular oxygen. *Advances in Photochemistry*, 11:105-205.

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

Bremner, H.A. 2002. Safety and quality issues in fish processing. CRC Press, Denmark, 519p.

Chouliara, I., Savvaidis, I. N., Panagiotakis, N. and Kontominas, M. G. 2004. Preservation of salted, vacuum packaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. *Journal Food Microbiology*, 21: 351-359.

- Navarro-Garcia, G., Pacheco-Aguilar, R., Bringas- Alvaradol, L. and Ortega-Garcia, J. 2004. Characterization of the lipid composition and natural antioxidants in the liver of (*Dasyatis brevis*) and (*Gymnura marmorata*) rays. *Food Chemistry*, 87: 89-96.
- Ojagh, S.M., Sahari, M.A. and Rezaei, M. 2004. Effect of natural antioxidants on the quality of Caspian typical kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) when kept on ice. *Journal of Marine Science and Technology*, 3(4): 1-7. (in Persian)
- Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z. and Naghdibadi, H. A. 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against (*Aspergillus xavus*) in liquid medium and tomato paste. *Food Control*, 18(12): 1518-1523.
- Ramanathan, L. and Das, N. P. 1992. Studies on the control of lipid oxidation in ground fish by some polyphenolic natural products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 17-21.
- Rezaei, M., Sahari, M. A., Safari, M., Rezaeian, M. and Ghafari, F. 2002. Evaluation Some fat qualitative properties Anchovi kilka (*Clupeonella engrauliformis*) storage in freezing mode. *Journal of Marine Sciences*, 4: 55-64. (in Persian)
- Rezaei, M. and Hosseini, S. F. 2008. Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. *Journal of Food science*, 73: 93-96.
- Rezaei, M., Hosseini, S. F., Ershad Langrudi, H., Safari, R. and Hosseini, S. V. 2008. Effect of delayed icing on quality changes of iced rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Food Chemistry*, 106: 1161-1165.
- Sakanaka, S., Tachibana, Y. and Okada, Y. 2005. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (*Kakinoha-cha*). *Food Chemistry*, 89(4): 569-575.
- Syed, A. Q., Min, C. K., Jae, G. H., Ji, H. H., Hyang, S. C., Juhee, A. and Hyeon, Y. L. 2009. Effect of different extraction protocols on anticancer and antioxidant activities of *Berberis koreana* bark extracts. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 107 (3): 331-338.
- Tall, J. and Harris, P. 1995. Rancidity in frozen fish. In: Technology Nutrition and Marketing Hamilton. R j. Rice, RD. eds. P. J. Barnes and Associates. Sharnbrook, UK, p.138.
- Janja, K., Metka, S., Stanislav, T. and Tatjana, U. 2011. Extractable antioxidants and non-extractable phenolics in the total antioxidant activity of selected plum cultivars (*Prunus domestica* L.): Evolution during on-tree ripening. *Journal of Food Chemistry*, 125: 29-34.
- Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P. and Sakariah, K. K. 2001. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry*, 73: 285-290.
- Jezek, F. and Buchtova, H. 2007. Physical and chemical changes in fresh chilled muscle tissue of common carp (*Cyprinus carpio* L.) packed in a modified atmosphere. *Acta Veterinaria*, 79: 117-125.
- Kaltaranta, J.K. 1992. Control of lipid oxidation fish oil with various antioxidative compounds. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69(8): 810-813.
- Lin, C. C. and Liang, J. H. 2002. Effect of antioxidants on the oxidative stability of chicken breast meat in a dispersion system. *Journal of Food Science*, 67: 530-533.
- Lin, C. C. and Lin, C. S. 2004. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea extracts. *Food Chemistry*, 16(2):169-175.
- Lin C. C. and Lin C. S. 2005. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea extracts. *Journal of Food Chemistry*, 16:169-75.
- Ozyurt, G., Polat A. and Tokur B. Chemical and sensory changes in frozen (-18 ° C) wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) captured at different fishing seasons. *Journal of Food Science Technology*, 42: 887-93.
- Losada, V., Barrose-Velazquez, J., Gallardo, J. M. and Aubourg, S. P. 2004. Effect of advanced chilling methods on lipid damage during sardine (*Sardina pilchardus*) storage. *Journal of Food Science*, 63: 40-47.
- Mahdavi, D. L., Deshpande, S. S. and Salunkhe, D. K. 1995. Food Antioxidant. 1st edn. New York Marcel Dekker. Inc, USA, 378p.
- Mexis, S. F., Chouliara, E. and Kontominas, M. G. 2009. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf-lif extension of rainbow trout fillets stored at 4°C. *Food Microbiology*, 26: 598-605.

Wenjuan, Q. U., Zhongli, P. A. N. and Haile M. A. 2010. Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc. *Journal of Food Engineering*, 99: 16–23.

Zolfaghari, M., Shabanpour, B. and Fallahzadeh, S. 2010. Comparison of extracts of thyme, onions and Kakuty wild fish fillet on a shelf life rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 6(2): 121-129. (in Persian)

Vicetti, R., Ishittani, T., Salas, A. and Ayava. M. 2003. Use of alfa-tochopherol combined with synergists and compared to other antioxidants on the oxidative stability of sardine skin lipids. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(2-3): 131-137.

Viscidi, K., A., Dougherty, M. P., Briggs, J. and Camira, M. E. 2004. Complex phenolic compounds reduce lipid oxidation in extruded oat cereals. *Lebensmittel Wissenschaft Und-technologie*, 37(7): 789-796.

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

Archive of SID

Comparison of efficacy of nettle leaf extract (*Urtica dioica*) and BHT antioxidant on shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet during refrigerated storage $4\pm 1^{\circ}\text{C}$

Zienab Noori Hashem Abad^{*1}, Seyed Hamid Hosseinipour² and Seyed Mahdi Ojagh³

1,2- M. Sc. Student, Seafood Processing Department, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan

3- Assistant Prof., Fisheries Science Dept., Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan

Received: 04.05.2013

Accepted: 15.10.2013

*Corresponding author: royanoori.1366@yahoo.com

Abstract:

The effect of the antioxidant extracts on the quality indices of rainbow trout fillet stored at refrigerator ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) for 15 days was investigated. The fillets in 3 treatments, including salted in 10% brine, salted in 10% brine plus 1% nettle leaf extract, and salted in 10% brine plus synthetic antioxidant BHT were evaluated at every 3 days interval, using the quality indices including the free fatty acids (FFA), thiobarbituric acid (TBA), peroxide (PV), moisture content, pH levels and sensory characteristics. The results showed that TBA and FFA values increased significantly ($p<0/05$), but PV significantly decreased in all treatments during the course of storage ($p<0/05$). Samples containing antioxidants had significantly lower TBA, PV and FFA values in comparison with the control sample throughout the storage. Also, the methanol extract from nettle leaves (at 1% balance) controlled the TBA, PV and FFA indices and entirely replaced the synthetic BHT antioxidants (at 1% balance). Since the sensory evaluation (smell, texture, taste and after taste elements) showed no significant differences between the two antioxidants, both are recommended to preserve the quality of rainbow trout fillet. The nettle leaf extract was found to be more efficient on shelf life extension the fillet.

Keywords: Nettle Extract, BHT, Antioxidant, Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet, Shelf life