ارزیابی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره فنلی هسته گریپ فروت در روغن ماهی کیلکا

آزاده یکرنگ صفاکار[a]، مجید جوانمرد[b*]

[a] *دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران*
[b] *استادیار گروه صنایع غذایی و تبدیلی، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران*

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۱۰/۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۱/۱۴

چکیده

مقدمه: هدف از این پژوهش بررسی نوع و میزان ترکیبات فنولیک موجود در هسته گریپ فروت به عنوان منبع ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی و همچنین تعیین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات استخراج شده در روغن ماهی کیلکا بود.

مواد و روش ها: در این پژوهش ترکیبات فنولیک آزاد و متصل هسته گریپ فروت طی دو مرحله استخراج متانولی و هیدرولیز قلیایی جداسازی شده و نوع و میزان این ترکیبات به روش HPLC تعیین گردید. اثرات آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف عصاره هسته گریپ فروت در مقایسه با نمونه شاهد و آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ و با ارزیابی شاخص های پراکسید، تیوباربتیوریک اسید (TBA) و آزمون رنسیمت در روغن ماهی کیلکا مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: میزان کل ترکیبات فنولیک موجود در هسته گریپ فروت ppm ۴۸۵ تعیین شد. اسیدهای فنولیک شامل کوماریک، فرولیک، کافئیک، سیناپیک اسید و فلاونوئیدها بویژه دو فلاوانون لوتئولین و نارینجین به عنوان ترکیبات فنولیک اصلی، با روش HPLC در هسته گریپ فروت شناسایی شدند. با افزایش غلظت عصاره هسته گریپ فروت درصد فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت. غلظت ppm۲۰۰۰ عصاره هسته گریپ فروت بالاترین درصد فعالیت آنتی اکسیدانی و بهترین اثر را در جلوگیری از افزایش شاخص پراکسید و اثری بمراتب بهتر از آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ (ppm۱۰۰) در روغن ماهی از خود نشان داد. دمای بالای رنسیمت باعث بروز اثرات پرواکسیدانی عصاره هسته گریپ فروت و کاهش زمان پایداری گردید.

نتیجه گیری: بر اساس یافته های این بررسی عصاره هسته گریپ فروت یک آنتی اکسیدان طبیعی مناسب و جایگزین خوبی برای TBHQ جهت پایدارسازی و حفظ کیفیت روغن ماهی در دماهای پایین می باشد. این عصاره برای روغن هایی که به مدت طولانی در دمای اتاق نگهداری می شوند به عنوان جایگزین مناسب آنتی اکسیدان های مصنوعی توصیه می گردد.

واژه های کلیدی: *ترکیبات فنولیک، روغن ماهی کیلکا، فعالیت آنتی اکسیدانی، عصاره هسته گریپ فروت*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: javanmard@irost.ir

jift.srbiau.ac.ir

مقدمه

فرایند اکسیداسیون و تخریب اکسیداتیو که منجر به ایجاد بدطعمی و کاهش کیفیت و افت ارزش تغذیه ای روغن ها چربیها می شود یکی از اساسی ترین مشکلات صنعت روغن محسوب می شود. آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که گسترش بدطعمی و رنسیدیته را با توسعه زمان پایداری به تاخیر می اندازند (Yanishlieva, 2001). در سالهای اخیر تلاش برای یافتن منابع جدید آنتی اکسیدان های طبیعی بدلیل مشکلات و اثرات سوء ناشی از مصرف آنتی اکسیدان های مصنوعی گسترش یافته است.

روغن ماهی یک منبع غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ بویژه ایکوزاپنتانوئیک اسید[۱] و دوکزاهگزانوئیک اسید[۲] می‌باشد که دریافت کافی آنها در رژیم غذایی روزانه، بدلیل اثرات مفید تغذیه ای و جلوگیری و درمان احتمالی بسیاری از بیماریها و اختلالات بویژه بیماریهای قلبی و عروقی اخیرا مورد توجه و توصیه بسیاری از کارشناسان و محققین قرار گرفته است(Kaitaranta, 1992; Yue *et al.*, 2007). با وجود این مزایا و خصوصیات منحصر بفرد یکی از مهمترین مشکلات مصرف روغن ماهی حساسیت اکسیداتیو بسیار بالای آن بدلیل داشتن مقادیر بالایی از اسیدهای چرب چند غیراشباع و کمبود آنتی اکسیدان های طبیعی می باشد که منجر به فساد شدید اکسیداتیو و ایجاد بدطعمی نامطلوب و در نتیجه کاهش تمایل به مصرف روغن ماهی می شود (Wanasundara & Shahidi, 1998). آنتی اکسیدان های مصنوعی از قبیل TBHQ[۳], BHT[۴] ، BHA[۵] ، آلفاتوکوفرول استات و EDTA برای جلوگیری از اکسیداسیون روغن ماهی استفاده می شوند. ولی استفاده از این مواد شیمیایی مصنوعی بوسیله سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) محدود شده است که علت آن خطراتی است که بر ایمنی و سلامتی غذایی دارد. سمیّت احتمالی و جهش زایی این آنتی اکسیدان ها سالهای زیادی است که مورد بررسی قرار گرفته است. بنابراین تلاش برای یافتن آنتی اکسیدان های طبیعی و استفاده از آن در روغن ماهی امری ضروری می باشد (Yue *et al.*, 2007). با توجه به پتانسیل بالای کشورمان در صید ماهی کیلکا[۶] و با توجه به کیفیت تغذیه ای بسیار بالای روغن ماهی و اثرات مفید آن بر سلامتی با پایدارسازی روغن این ماهی توسط آنتی‌اکسیدان های طبیعی می توان به نحو بهینه ای از روغن این ماهی در مصارف و صنایع مختلف غذایی از قبیل انواع فرمولاسیون های غذایی و کنسروهای ماهی علاوه بر مصارف دارویی استفاده کرد.

گریپ فروت (Citruse paradise macfard) یکی از مهمترین مرکبات ارگانیک جهان است. ضایعات هسته و پوست گریپ فروت منبع با ارزشی از ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدان‌های طبیعی می‌باشد. هر چند در رابطه با خصوصیات آنتی اکسیدانی هسته گریپ فروت مطالعه چندانی صورت نگرفته و بیشتر مطالعات موجود در ارتباط با محتوای روغن و خصوصیات ضد میکروبی آن می باشد.

Armando و همکاران (۱۹۹۸) فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هسته گریپ فروت را که محتوی توکوفرول ها، اسید سیتریک و اسید اسکوربیک می باشد در مخلوطی از روغن سویا- آفتابگردان ارزیابی کردند (Armando *et al.*, 1998). Cho و همکاران (۱۹۹۰) اظهار داشتند که عصاره هسته گریپ فروت اثرات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی را در فراورده های ماهی ایجاد می‌کند (Cho *et al.*, 1990). Bocco و همکاران (۱۹۹۸) فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هسته و پوسته تعدادی از مرکبات را در یک سیستم مدل، بر پایه اکسیداسیون تسریع شده سیترونلال[۷] ارزیابی کردند. آنها دریافتند که هسته‌های مرکبات مورد مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به پوسته ها دارند (Bocco *et al.*,1998).

هدف از این پژوهش، شناسایی و تعیین کمی و کیفی ترکیبات فنولیک آزاد و متصل موجود در عصاره هسته گریپ فروت و همچنین ارزیابی قدرت آنتی اکسیدانی این ترکیبات در پایداری اکسیداتیو روغن ماهی کیلکا بود.

مواد و روش ها

هسته های میوه گریپ فروت از شرکت تولید کنسانتره آب میوه گریپ فروت سنوس کرمان به صورت خشک تهیه شد. روغن ماهی تصفیه شده، رنگبری و بو گیری شده و خالص (فاقد هرگونه افزودنی و آنتی اکسیدان) از شرکت نوش دارو دریا خریداری شد. آنتی اکسیدان مصنوعی

[1]- Eicosapentaenoic acid
[2]- Docosahexaenoic acid
[3]- Tertiary butylated hydroxyquinole
[4]- Butylated hydroxyanisole
[5]- Butylated hydroxytoluene
[6]- Anchovy
[7]- Citronellal

ifrt.srbiau.ac.ir

TBHQ ساخت شرکت Sigma-Aldrich و سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در این بررسی ساخت شرکت Merck آلمان بودند.

- آماده سازی نمونه هسته گریپ فروت

نمونه های هسته پس از شستشو در هوای گرم ۴۰ درجه سانتی گراد خشک شدند تا مقدار رطوبت آنها به ۱۰-۷ درصد برسد. مقدار مشخصی از هسته کامل و خشک شده، به صورت کاملا ریز آسیاب شد.

- استخراج ترکیبات فنولیک آزاد

حدود ۱۰ گرم از پودر آسیاب شده هسته گریپ فروت در یک بالن ریخته شد و ۱۰۰ میلی لیتر متانل خالص به آن افزوده گردید. محتویات بالن توسط کندانسور رفلاکس در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به آرامی حرارت داده شد تا بجوشد. عمل استخراج به مدت حدود ۱/۵ ساعت تحت رفلاکس صورت گرفت. سپس این عصاره متانلی توسط کاغذ صافی واتمن نمره ۱ صاف شد و عصاره متانلی صاف شده در دکانتور ریخته شد. این عصاره متانلی سه بار، هر بار با ۴۰ میلی لیتر هگزان شستشو داده شد. در نهایت فاز متانلی جدا گردید و در یک روتاری اواپراتور تحت خلاء در دمای حدود۵۰-۴۵ درجه سانتی گراد تا حد ممکن تغلیظ شد. باقیمانده حلال توسط گاز ازت جدا شد. در نهایت عصاره کاملا خشک بدست آمد. جهت حل کردن این عصاره خشک و سهولت استفاده از آن در شناسایی ترکیبات فنولی و نیز انحلال بهتر آن در روغن طبق روش Bocco و همکاران در سال ۱۹۹۸ از دی متیل فرمامید[1] به عنوان حلال استفاده شد. عصاره پس از انحلال در ۴ میلی لیتر از این حلال توسط کاغذ صافی واتمن نمره ۱ صاف شد. به این ترتیب عصاره متانلی هسته گریپ فروت بدست آمد (Bocco *et al.*, 1998).

- استخراج ترکیبات فنولیک متصل

به تفاله حاصل از مرحله قبل تحت خلاء۱۴۰ میلی متر جیوه، ۲۰۰ میلی لیتر سود ۲ مولار افزوده شد. واکنش هیدرولیز به مدت ۴ ساعت در دمای اتاق و تحت خلاء کامل شد. بعد از سپری شدن این مدت، محلول توسط قیف بوخنر و کاغذ صافی، تحت خلاء صاف شد. محلول صاف شده باقیمانده با اسید هیدروکلریک غلیظ اسیدی شد تا pH آن به ۱ برسد. سپس این محلول اسیدی تحت خلاء توسط قیف بوخنر و کاغذ صافی مجدداً صاف گردید تا هیچ ناخالصی نداشته و کاملاً شفاف شود. در نهایت محلول حاصل به دکانتور منتقل شد. سه بار، هر بار با ۲۰۰ میلی لیتر اتیل استات شستشو داده شد. در نهایت فاز اتیل استات جدا گردیده و در روتاری اواپراتور تحت خلاء در دمای حدود ۵۰-۴۵ درجه سانتی گراد تا حد ممکن تغلیظ شد. باقیمانده حلال توسط گاز ازت کاملاً جدا گردید. در نهایت عصاره خشک در ۴ میلی لیتر دی متیل فرمامید کاملا حل شده و توسط کاغذ صافی نمره ۱ صاف شد. به این ترتیب عصاره حاصل از هیدرولیز قلیایی هسته گریپ فروت بدست آمد (Bocco *et al.*, 1998). هر دو عصاره حاصل با هم مخلوط شد. عصاره نهایی برای ارزیابی قدرت آنتی اکسیدانی، شناسایی و تعیین کمی ترکیبات فنولیک کل هسته گریپ فروت مورد استفاده قرار گرفت. فرایند استخراج در ۳ بار تکرار انجام گرفت.

- شناسایی و تعیین کمی ترکیبات فنولیک عصاره هسته گریپ فروت[2]

شناسایی و تعیین مقدار ترکیبات فنولیک، در دستگاه HPLC مدل Young-Lin ACME 9000 مجهز به یک دتکتورUV و یک ستون Spherisorb RP-18 (طول ستون ۲۵۰ میلی متر، قطر ستون ۴/۶ میلی متر، اندازه ذرات پرشده در ستون ۵ میکرون) و در طول موج ۲۸۵ nm صورت گرفت. دمای آون ۲۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. آنالیز HPLC طبق روش Bocco و همکاران (۱۹۹۸) انجام گرفت (Bocco *et al.*, 1998). از سیستم گرادیان حلال استفاده شد. حلال مورد استفاده در این دستگاه شامل حلال A = اسید استیک ۱ درصد در آب، حلال B = متانول و اسید نیتریل (۵۰:۵۰) بود. نمونه به نسبت ۱ به ۵ رقیق شد و پس از عبور از فیلتر سلولز، با لوپ ۲۰ میکرولیتر، به دستگاه تزریق شد. شناسایی و تعیین مقدار ترکیبات فنولیک، در مقابل استاندارد خارجی سرینجیک اسید با غلظتppm ۶۶۶ در شرایط مشابه انجام گردید (Bocco *et al.*, 1998) و محاسبه نهایی بر

[1]- Dimethylformamide

[2]- Grapefruit Seed Extract (GFSE)

ifrn.srbiau.ac.ir

اساس وزن خشک اولیه انجام شد.

- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره فنلی هسته گریپ فروت

برای این منظور عصاره هسته گریپ فروت در ۳ سطح غلظت (مقادیر ۵۰۰ ، ۱۰۰۰ ، ۲۰۰۰ ppm) به روغن ماهی افزوده شد. آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ به میزان مجاز ۱۰۰ ppm به روغن ماهی اضافه گردید. یک نمونه روغن ماهی بدون افزودن آنتی اکسیدان به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. تمام نمونه های تیمار شده در لوله‌های آزمایش در پیچ دار ریخته شدند و پس از پیچیدن در ورق آلومینیومی (جهت جلوگیری از تابش نور) به مدت ۹ روز در آون ۷۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و هر ۴۸ ساعت یکبار آزمون های پراکسید و TBA[1] برای ارزیابی پایداری اکسیداتیو روغن بر روی نمونه ها انجام گرفت. در روز صفر و پس از ۴۸، ۹۶، ۱۴۴ و ۱۹۲ ساعت، اندیس پراکسید و TBA در تمام نمونه ها ارزیابی و با نمونه شاهد و نمونه حاوی آنتی اکسیدان مصنوعی مقایسه گردید.

- آزمون پراکسید

این آزمون به روش یدومتری مطابق با استاندارد AOCS به شماره cd8b-90 با سه تکرار برای نمونه روغن انجام شد (Firestone, 1994).

- ارزیابی درصد فعالیت آنتی اکسیدانی

فعالیت آنتی اکسیدانی در تمام نمونه ها طبق فرمول زیر محاسبه شد :

[۱۰۰× (افزایش اندیس پراکسید شاهد/ افزایش اندیس پراکسید نمونه)] – ۱۰۰ = درصد فعالیت آنتی اکسیدانی (قنبری و همکاران، ۱۳۸۵).

- آزمون TBA

شاخص TBA به روش Pegg (۲۰۰۲) اندازه گیری شد (Yue *et al.*, 2007). در این بررسی اندیس TBA به صورت شدت جذب در ۵۲۳ نانومتر بیان شد (Fasseas *et al.*, 2007). پیشرفت اکسیداسیون روغن بوسیله افزایش شدت جذب TBA مشخص شد.

- ارزیابی زمان پایداری اکسیداتیو نمونه های روغن ماهی توسط آزمون رنسیمت

تمام نمونه های روغن ماهی شامل شاهد، نمونه های روغن تیمارشده با غلظت های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm عصاره هسته گریپ فروت و نمونه روغن تیمارشده با ۱۰۰ pm TBHQ برای ارزیابی پایداری اکسیداتیو مورد آزمون رنسیمت قرار گرفتند. در این آزمون از دستگاه رنسیمت مدل metrohm743 استفاده شد. دمای مورد استفاده برای آزمون رنسیمت روغن ماهی ۹۰ درجه سانتیگراد (بدلیل حساسیت حرارتی بالای روغن ماهی) و سرعت جریان هوا ۲۰ لیتر در ساعت بود. مدت زمان پایداری نمونه های روغن بر حسب ساعت بیان شد. این آزمون طبق روش استاندارد شماره ۳۷۴۴ ایران با ۲/۵ گرم نمونه روغن، طی دو بار تکرار انجام گرفت.

- تجزیه و تحلیل آماری

آزمون های پراکسید و TBA با ۳ تکرار و آزمون رنسیمت با ۲ تکرار انجام گرفت و داده های حاصل از تاثیر ترکیبات فنلی بر روی شاخص های شیمیایی، توسط نرم افزار آماری SPSS با آنالیز واریانس (ANOVA) بصورت طرح کاملا تصادفی CRD[2] بررسی شدند. از آزمون Duncan برای تعیین تفاوت بین میانگین ها در سطح اطمینان ۵ درصد استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از بررسی پایداری اکسیداتیو روغن نیز با آنالیز واریانس (AVONA) بصورت طرح کاملا تصادفی CRD انجام شد. برای بررسی اختلاف ها از آزمون T- test استفاده شد.

یافته ها

- ترکیبات فنولیک عصاره هسته گریپ فروت

شکل ۱، کروماتوگرام HPLC ترکیبات فنولیک هسته گریپ فروت را همراه با زمان تاخیر (RT) نشان می دهد. مقدار کل ترکیبات فنولیک عصاره هسته گریپ فروت توسط آنالیز HPLC، ۴۸۵ppm (میکروگرم در هر گرم ماده خشک اولیه) تعیین شد. کروماتوگرام HPLC دو دسته ترکیبات فنولیک را در هسته گریپ فروت نشان می دهد که شامل فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک می‌باشد.

[1]- Thiobarbituric acid

[2]- Completely Randomized Design

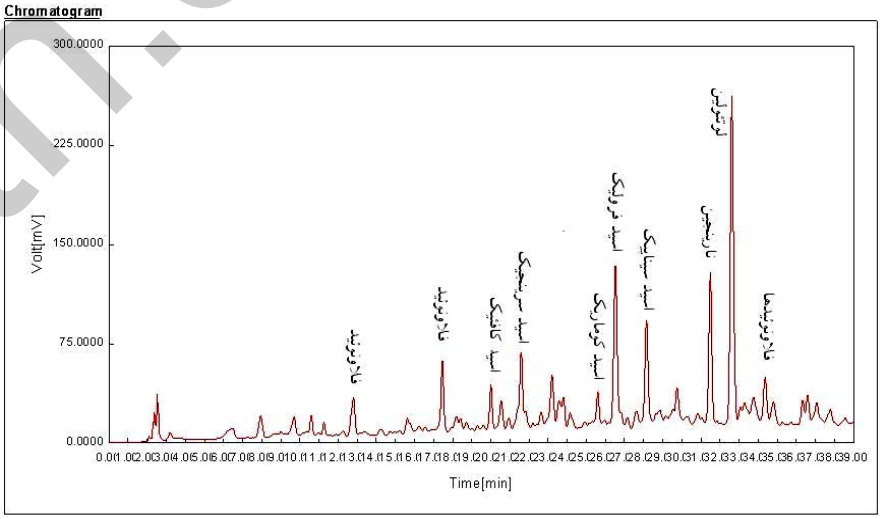
jftn.srbiau.ac.ir

فلاونوئیدها و بویژه لوتئولین از ترکیبات عمده فنولیک موجود در هسته گریپ فروت تعیین گردیدند. مقدار کل فلاونوئیدها در هسته گریپ فروت جمعا به میزان ۰/۳۰۸ میلی گرم در گرم تعیین شد. مجموع میزان فلاونوئیدها (۶۳/۵ درصد) خیلی بیشتر از میزان کل اسیدهای فنولیک (۳۶/۵ درصد) تخمین زده شد. در این بررسی بیشترین مقادیر شناسایی شده متعلق به پیک های لوتئولین (۲۴/۹۱ درصد)، کوماریک اسید (۱۳/۹ درصد) و نارینجین (۱۰/۱۶ درصد) می باشد. لوتئولین فراوانترین ترکیب شناسایی شده در هسته گریپ فروت بود که به میزان ۰/۱۲۱ میلی گرم در گرم تعیین شد. نارینجین دیگر فلاونوئید اصلی هسته گریپ فروت بود که به میزان ۰/۰۴۹ میلی گرم در گرم تعیین شد. در این بررسی ۴ اسید فنولیک شناسایی و تعیین مقدار شدند که به ترتیب مقدار شامل کوماریک اسید (۰/۰۶۷ میلی گرم در گرم)، فرولیک اسید (۰/۰۳۶ میلی گرم در گرم)، کافئیک اسید (۰/۰۲۶ میلی گرم در گرم) و سیناپیک اسید (۰/۰۱۷ میلی گرم در گرم) می باشند.

بین میانگین شاخص پراکسید در روزهای مختلف اختلاف آماری معنی داری در سطح $P\leq0.05$ وجود داشت. بر اساس نمودار ۱ از زمان صفر تا ۱۹۲ ساعت، اندیس پراکسید در تمام نمونه ها روز به روز افزایش یافته و یک روند صعودی داشته است. بین میانگین شاخص پراکسید در نمونه شاهد و تمام نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان اختلاف آماری معنی داری در سطح $P\leq0.05$ وجود داشت. پایین ترین میزان میانگین اندیس پراکسید در روغن ماهی حاوی غلظت ۲۰۰۰ ppm عصاره فنلی و پس از آن با TBHQ بدست آمد. بالاترین میزان میانگین شاخص پراکسید با غلظت ۵۰۰ ppm عصاره فنلی به دست آمد که میزان پراکسید را به بیش از نمونه شاهد افزایش داد و در واقع می توان گفت که غلظت ppm عصاره فنلی روی روغن ماهی اثر پرواکسیدانی معنی داری در سطح $P\leq0.05$ داشته است. بعلاوه نمودار ۱ نشان می‌دهد با افزایش غلظت عصاره فنلی میزان اندیس پراکسید و سرعت اکسیداسیون در روغن ماهی کاهش یافته است.

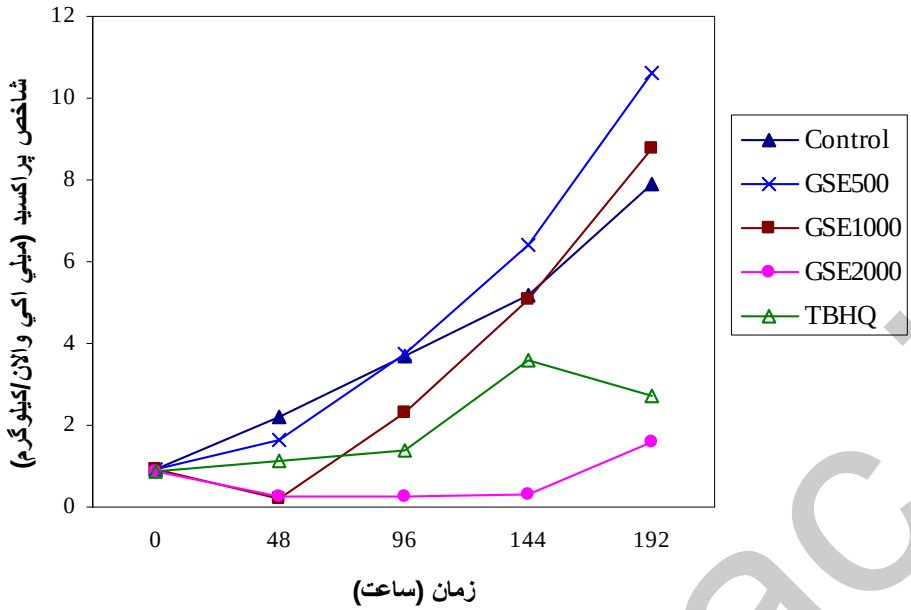
نمودار۲ درصد فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های تیمار شده روغن ماهی با مقادیر مختلف عصاره هسته گریپ فروت و TBHQ را در مقایسه با نمونه شاهد نشان می‌دهد. با گذشت زمان بتدریج در تمام نمونه ها میزان فعالیت آنتی اکسیدانی کاهش یافت. مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن نیز کاهش میانگین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را با گذشت زمان نشان داد که این بیانگر شدت گسترش واکنش اتواکسیداسیون و افزایش شدید تولید هیدروپراکسیدها با گذشت زمان در روغن ماهی می باشد.

بررسی های آماری اختلاف معنی داری را در سطح $P\leq0.05$ بین میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف عصاره هسته و TBHQ نشان داد. بالاترین میزان میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی (۹۸/۷۵ درصد) با غلظت ۲۰۰۰ppm عصاره فنلی بدست آمد. پس از آن TBHQ از لحاظ میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در رتبه دوم قرار داشت.

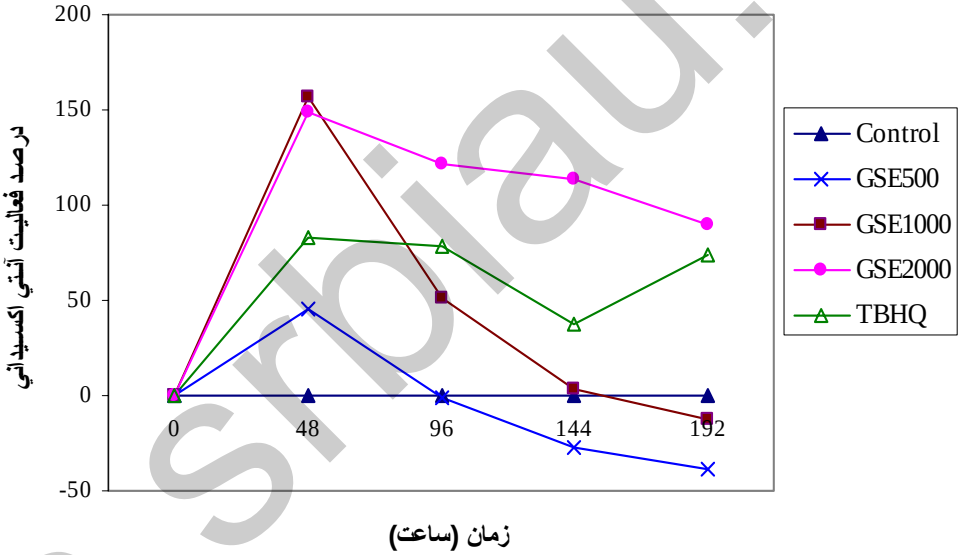


شکل ۱- کروماتوگرام HPLC ترکیبات فنولیک عمده موجود در هسته گریپ فروت

jftn.srbiau.ac.ir



نمودار ۱- میزان شاخص پراکسید روغن ماهی در حضور مقادیر مختلف عصاره هسته گریپ فروت (GSE) و آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ (۱۰۰ ppm) در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد در زمان های مختلف نگهداری



نمودار ۲- درصد فعالیت آنتی اکسیدانی مقادیر ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm عصاره هسته گریپ فروت (GSE) در مقایسه با TBHQ (۱۰۰ ppm) در روغن ماهی در زمان های مختلف نگهداری

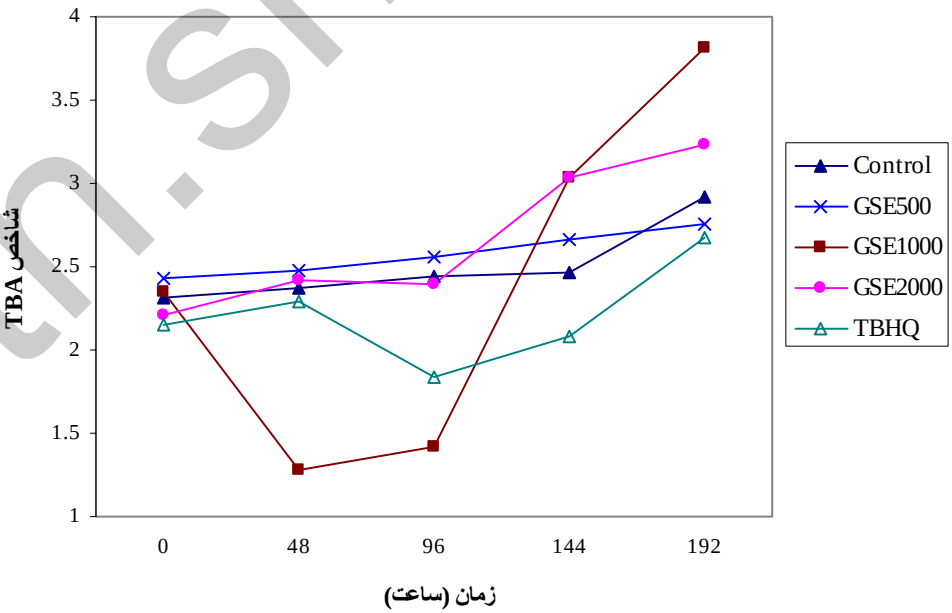
بر اساس نمودار ۲ غلظت ppm۱۰۰۰ عصاره فنلی پس از ۴۸ ساعت بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را به میزان ۱۵۷ درصد در روغن ماهی داشته است. ولی با گذشت زمان این فعالیت کم شده، بطوریکه پس از ۱۹۲ ساعت اثر پرواکسیدانی داشته است. غلظت ppm۵۰۰ عصاره فنلی نه تنها هیچ اثر آنتی اکسیدانی روی روغن ماهی نداشت، بلکه حتی اثر پرواکسیدانی معنی داری در سطح $P\leq0.05$ نشان داد. با افزایش غلظت عصاره فنلی میزان میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی آن بطور معنی داری در سطح $P\leq0.05$ افزایش یافت. نمودار ۲ این افزایش را در تمام زمان ها به خوبی نشان می دهد.

در این مطالعه اندیس TBA بصورت شدت جذب در ۵۲۳nm بیان شده است (Fasseas *et al.*, 2007). میانگین شاخص TBA از ۹۶ ساعت به بعد شدیدا افزایش یافت (نمودار ۳). بین میانگین شاخص TBA در زمان های مختلف تفاوت معنی داری در سطح $P\leq0.05$ وجود

jftn.srbiau.ac.ir

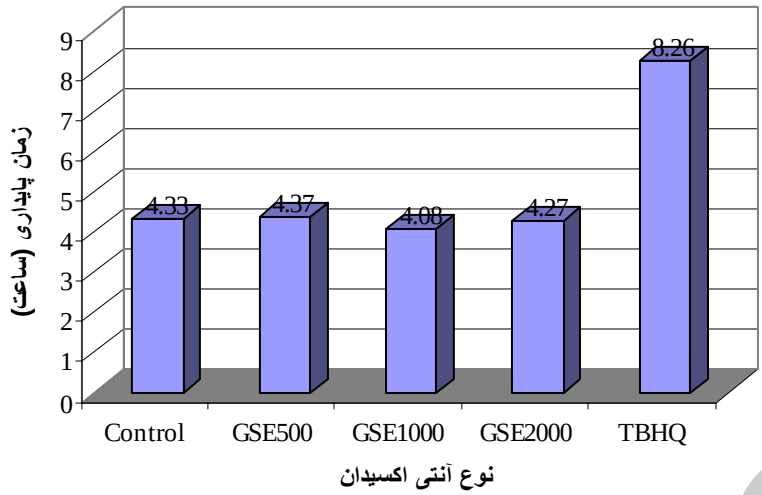
داشت. همچنین اختلاف معنی داری در سطح $P\leq0.05$ بین میانگین شاخص TBA در نمونه شاهد و تمام نمونه های حاوی آنتی اکسیدان مشاهده شد. پایین ترین میزان میانگین شاخص TBA با TBHQ و پس از آن با غلظت ppm۱۰۰۰ عصاره فنلی بدست آمد. بالاترین میزان میانگین شدت جذب با غلظت ppm۲۰۰۰ عصاره فنلی مشاهده شد و پس از آن غلظت ppm۵۰۰ در رتبه دوم قرار داشت. نمونه های حاوی غلظت های ppm ۲۰۰۰ و ppm۵۰۰ عصاره فنلی، شدت جذبی بیش از نمونه شاهد نشان دادند. در این آزمون هیچ رابطه مشخص و روند ثابتی بین غلظت و شدت جذب مشاهده نشد. نمودار ۳ نشان می دهد علیرغم اینکه در روزهای ابتدایی انجام آزمون غلظت ppm ۱۰۰۰ عصاره فنلی پایین ترین شدت جذب و در واقع بهترین اثر آنتی اکسیدانی را داشته، در روزهای انتهایی همین غلظت بالاترین شدت جذب را نشان داده است. بر اساس این نمودار TBHQ در تمام زمان ها شاخص TBA را نسبت به شاهد کاهش و غلظت ppm ۵۰۰ عصاره فنلی در تمام زمان ها شاخص TBA را در مقایسه با شاهد افزایش داد.

مقایسه میانگین ها به روش دانکن در سطح $P\leq0.05$ نشان می دهد که بالاترین زمان پایداری مربوط به نمونه تیمار شده با TBHQ (ppm۱۰۰) بود که زمان پایداری را از ۴/۳۳ ساعت در نمونه شاهد به ۸/۲۶ ساعت افزایش داد. بررسی های آماری نشان داد که TBHQ با اختلاف معنی داری در سطح $P\leq0.05$ زمان پایداری روغن ماهی را نسبت به نمونه شاهد و تمام نمونه های تیمار افزایش داده است و این با نتایج آزمون TBA مطابقت دارد. غلظت ppm۵۰۰ عصاره فنلی زمان پایداری را نسبت به شاهد به میزان کمی افزایش داد اما این افزایش در سطح $P\leq0.05$ معنی دار نبود. غلظت ppm۲۰۰۰ عصاره فنلی زمان پایداری را نسبت به شاهد کاهش داد اما بین نمونه تیمار شده با غلظت ppm۲۰۰۰ عصاره فنلی و نمونه شاهد نیز اختلاف آماری معنی‌داری در سطح $P\leq0.05$ وجود نداشت. کمترین زمان پایداری را غلظت ppm۱۰۰۰ عصاره فنلی در روغن ماهی ایجاد کرد و زمان پایداری را از ۴/۳۳ ساعت در نمونه شاهد به ۴/۰۸ ساعت رساند. بین نمونه تیمار شده با غلظت ppm ۱۰۰۰ و تمام نمونه ها اختلاف معنی‌داری در سطح $P\leq0.05$ وجود داشت. بنابراین براساس داده‌های آزمون رنسیمت غلظت ppm۱۰۰۰ عصاره فنلی روی روغن ماهی اثر پرواکسیدانی معنی داری داشته است. اما سایر غلظت های عصاره هسته گریپ فروت روی زمان پایداری روغن ماهی تاثیر معنی داری در سطح $P\leq0.05$ نداشته است. در نمودار ۴ زمان پایداری نمونه های روغن ماهی حاوی انواع آنتی‌اکسیدان‌ها و نمونه شاهد با یکدیگر مقایسه شده است.



نمودار ۳- میزان شاخص تیوباربیتوریک اسید (TBA) روغن ماهی در حضور مقادیر مختلف عصاره هسته گریپ فروت (GSE) و آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ (ppm ۱۰۰) در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد در زمان های مختلف نگهداری

jftn.srbiau.ac.ir



نمودار ۴- زمان پایداری روغن ماهی در حضور مقادیر مختلف عصاره هسته گریپ فروت (GSE) و آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ (۱۰۰ ppm) در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد (آزمون رنسیمت)

بحث

همانطور که مشاهده شد در این مطالعه ۴ اسید فنولیک شناسایی و تعیین مقدار شدند که به ترتیب مقدار شامل کوماریک اسید، فرولیک اسید، کافئیک اسید و سیناپیک اسید می باشند. Bocco و همکاران (۱۹۹۸) نیز این ۴ اسید فنولیک را در عصاره هیدرولیز شده پوسته و هسته تعدادی از مرکبات به عنوان ترکیبات فنولیک متصل شناسایی کردند. در مطالعه آنها روی عصاره هیدرولیز شده هسته لیمو ۴ اسید فنولیک شناسایی شده به ترتیب مقدار شامل کوماریک، سیناپیک، فرولیک و کافئیک اسید بودند. در عصاره هسته لیمو نیز همانند عصاره هسته گریپ فروت، فراوان ترین اسید فنولیک شناسایی شده کوماریک اسید به میزان ۰/۰۷۲ میلی گرم در گرم بود. در عصاره هسته لیمو، کافئیک اسید (دارای بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی) کمترین مقدار را داشت (۰/۰۱۹ میلی گرم در گرم) ، در حالیکه در بررسی حاضر کافئیک اسید در هسته گریپ فروت به میزان بیشتری تعیین شد (۰/۰۲۶ میلی گرم در گرم). مقدار کل اسیدهای فنولیک در عصاره هسته گریپ فروت ۰/۱۷۷ میلی گرم در گرم تعیین شد. در بررسی Bocco و همکاران مقدار کل اسید های فنولیک در هسته لیمو و پرتقال شیرین به ترتیب ۰/۱۸۳ و ۰/۱۴۴ میلی گرم در گرم اندازه گیری شد (Bocco *et al.*, 1998).

در بررسی حاضر لوتئولین فراوانترین ترکیب شناسایی شده در عصاره هسته گریپ فروت بود. این فلاون با دو عامل OH در حلقه B ساختار شیمیایی می تواند فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی داشته باشد (Yanishlieva & Heinonen, 2001). در تحقیقات Bocco، Peleg و دیگر محققین این ترکیب در هسته مرکبات مورد مطالعه شناسایی نشد. این احتمال وجود دارد که لوتئولین خاص واریته گریپ فروت مورد استفاده در بررسی حاضر باشد و بنابراین از ترکیبات شاخص این واریته محسوب می شود. بعلاوه در بررسی حاضر نارینجین که یک فلاوانون گلیکوزیل شده می باشد در هسته گریپ فروت مقدار نسبتا بالایی داشت (۰/۰۴۹ میلی گرم در گرم). نارینجین یک ترکیب عمده و اصلی در گریپ فروت است. این ترکیب مسئول بیشتر فعالیت رباینده‌گی رادیکال هیدروکسیل در گریپ فروت می باشد (Yanishlieva & Heinonen, 2001).

Gorinstein و همکاران (۲۰۰۴) نیز نشان دادند که در میان فلاونوئیدهای گریپ فروت و پرتقال بیشترین آنها را نارینجین تشکیل می دهد (Gorinstein *et al.*, 2004). Bocco و همکاران (۱۹۹۸) میزان نارینجین عصاره هسته لیمو و پرتقال شیرین را به ترتیب ۰/۰۴ و ۰/۰۱ میلی گرم در گرم تعیین نمودند (Bocco *et al.*, 1998). در مطالعه Cvetnic و همکاران (۲۰۰۴) نیز حضور فلاوانون های نارینجین و هسپریدین در عصاره اتانولی خام هسته و پالپ گریپ فروت بوسیله آنالیز TLC تایید شد (Cvetnic & Vladimir, 2004).

نتایج نشان داد که پایین ترین میزان شاخص پراکسید و متعاقبا بالاترین درصد فعالیت آنتی اکسیدانی در روغن

jftn.srbiau.ac.ir

ماهی با غلظت ۲۰۰۰ppm عصاره فنلی و پس از آن با آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ بدست آمد. بنابراین عصاره هسته گریپ فروت با غلظت ۲۰۰۰ppm بهترین فعالت آنتی اکسیدانی و اثری بمراتب بهتر از آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ در روغن ماهی و در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد داشته است.

بر اساس یافته های این بررسی در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد غلظت عصاره هسته گریپ فروت با میزان فعالیت آنتی اکسیدانی آن رابطه مستقیم و بنابراین روی شدت اکسیداسیون لیپید اثر معکوسی داشته است. این نتایج با نتایج حاصل از بررسی Armando و همکاران (۱۹۹۸) مطابقت دارد. زیرا آنها نیز نشان دادند که در دمای ۶۶/۵ درجه سانتیگراد، غلظت عصاره هسته گریپ فروت اثر معکوسی روی سرعت اکسیداسیون لیپید دارد (Armando *et al*., 1998). در مطالعه Jayaprakasha و همکاران (۲۰۰۷) فراکسیون آب- متانولی گریپ فروت قرمز بالاترین فعالیت ربایش رادیکال را به میزان ۴۲/۵، ۷۸/۵ و ۹۲/۱ درصد به ترتیب در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ppm بطور نسبی نشان داد.

همانطور که نمودار ۱ نشان می دهد غلظت های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm عصاره فنلی پس از ۴۸ ساعت میزان شاخص پراکسید را به کمتر از میزان این شاخص در روز صفر کاهش داده اند. این احتمال وجود دارد که آنتی اکسیدان فنلی هسته گریپ فروت از طریق یک مکانیسم غیررادیکالی،هیدروپراکسیدهای لیپید را به مواد غیررادیکالی تخریب کرده و بنابراین میزان هیدروپراکسیدها و متعاقبا شاخص پراکسید را کاهش می دهد. ضمن اینکه میزان رادیکال های آزاد نیز در این حالت کاهش می یابد. بنابراین می‌توان اینگونه استنباط کرد که عصاره هسته گریپ فروت جزء آندسته از آنتی اکسیدان هایی است که نحوه عملکرد آنتی‌اکسیدانی آنها از طریق تجزیه ترکیبات هیدروپراکسید به مواد غیر رادیکالی می‌باشد (Yanishlieva, 2001). پس از ۴۸ ساعت سرعت تشکیل هیدروپراکسیدها کمتر از سرعت تجزیه آنهاست. بنابراین شاخص پراکسید در مقایسه با روز صفر کاهش می یابد. ولی با گذشت زمان سرعت تشکیل هیدروپراکسیدها افزایش یافته و بیش از سرعت تجزیه آنهاست. بنابراین شاخص پراکسید افزایش می یابد. این افزایش در غلظت ۱۰۰۰ppm با شدت بیشتری مشاهده شد. در حالیکه در غلظت ۲۰۰۰ppm افـزایـش شاخـص پراکسید با گذشـت زمان شیب ملایمی داشت.

نتایج نشان داد که غلظت ۱۰۰۰ppm عصاره فنلی پس از ۴۸ ساعت بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را به میزان ۱۵۷ درصد در روغن ماهی داشته است. ولی با گذشت زمان این فعالیت کم شده، بطوریکه پس از ۱۹۲ ساعت اثر پرواکسیدانی داشته است. بعلاوه نتایج آزمون TBA نیز نشان داد علیرغم اینکه در روزهای ابتدایی انجام آزمون غلظت ۱۰۰۰ppm عصاره فنلی پایین ترین شدت جذب و در واقع بهترین اثر آنتی اکسیدانی را داشته، در روزهای انتهایی همین غلظت بالاترین شدت جذب را نشان داده است. این موضوع بیانگر اینست که غلظت ۱۰۰۰ ppm عصاره فنلی به عنوان آنتی اکسیدان روغن ماهی در زمان های نگهداری طولانی مناسب نیست.

Cho و همکاران (۱۹۹۰)، هنگامیکه غلظت ۵۰۰ppm عصاره هسته گریپ فروت را روی ساردین، ماکرل و میگو در دمای اتاق بکار بردند، فعالیت های آنتی اکسیدانی مشاهده کردند. درحالیکه در مطالعه حاضر نتایج هر دو آزمون پراکسید و TBA در روغن ماهی، اثرات پرواکسیدانی غلظت ۵۰۰ppm عصاره هسته گریپ فروت را در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد نشان داد. این موضوع بیانگر اینست که دما و سایر شرایط بکار رفته در انجام آزمون و نیز نوع بستر چربی روی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی یک عصاره بطور چشمگیری موثر است.

افزایش شدید شاخص TBA از ۹۶ ساعت به بعد بیانگر گسترش شدید واکنش اتواکسیداسیون و افزایش محصولات ثانویه بویژه مالون آلدهید و ترکیبات کربونیل با گذشت زمان می باشد.

با مقایسه نتایج حاصل از بررسی اندیس پراکسید و TBA مشاهده می شود که اثر غلظت ۲۰۰۰ppm عصاره فنلی در این دو آزمون عکس یکدیگر می باشد. علیرغم اینکه در بررسی اندیس پراکسید غلظت ۲۰۰۰ppm عصاره فنلی بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در روغن ماهی داشته است، در بررسی اندیس TBA این غلظت بالاترین میزان شدت جذب را در روغن ماهی نشان داد.

اندیس TBA بیانگر میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون و محصولات حاصل از تجزیه هیدروپراکسید

ifrn.srbiau.ac.ir

بویژه مالون آلدهید می باشد. اما مشخص شده که معرف ۲- تیوباربتیوریک اسید اختصاصی نیست و هر عاملی که بتواند با این معـرف واکنـش داده و در ۵۲۳ نانـومتر جـذب نشان دهد می تواند روی شدت جذب و اندیس TBA اثر بگذارد (Gordon, 2001). این احتمال وجود دارد که ذرات معلق و تا حدودی تغییر رنگ روغن حاوی غلظت ۲۰۰۰ppm عصاره، بتواند در میزان شدت جذب در ۵۲۳ نانومتر مداخله و ایجاد خطا کند. یکی دیگر از دلایل احتمالی نتایج حاصل می تواند انجام واکنش میلارد یا شبه میلارد باشد. عصاره هسته گریپ فروت حاوی میزان بالایی مواد قندی است. بطوریکه حتی پس از انجام مراحل خالص سازی نیز همچنان حاوی مقداری مواد قندی و چسبندگی بود. ضمن اینکه اغلب ترکیبات فنولیک هسته گریپ فروت بفرم گلیکوزیدی بوده که می توانند در اثر دما به آگلیکون و قند مربوطه تجزیه شوند (Shahidi, 2003). عامل آلدهید قند می تواند با ترکیبات آمین دار هسته گریپ فروت واکنش میلارد انجام دهد. مسلما در غلظت های بالا، میزان مواد قندی و ترکیبات آمین دار و متعاقبا احتمال واکنش میلارد بیشتر است. بنابراین انجام واکنش میلارد در اثر دما بویژه در زمانهای طولانی و با غلظت های بالای عصاره هسته گریپ فروت دور از انتظار نیست. مشاهده رنگ تیره و حتی رنگدانه های قهوه ای رنگ بخصوص در قسمت تحتانی لوله آزمایش و بویژه در غلظت های بالا می تواند با انجام این فرایندها در ارتباط باشد. واکنش میلارد ترکیبات کربونیل تولید می کند که این ترکیبات می توانند با معرف ۲-تیوباربتیوریک اسید واکنش داده و در ۵۲۳ نانومتر جذب دهند (Gordon, 2001). این پدیده می تواند باعث افزایش غیرعادی شدت جذب شود. ضمن اینکه ثابت شده که محصولات تخریب قند نیز روی اندازه گیری شاخص TBA اثر می گذارند (Gordon, 2001). این احتمال وجود دارد که ترکیبات قندی این عصاره در اثر دما تخریب شده و در اندازه گیری جذب ایجاد اختلال کنند. در غلظت بالای عصاره میزان مواد قندی و احتمال تخریب آنها بیشتر است. بعلاوه ترکیبات آلدهیدی که بخشی از محصولات ثانویه اکسیداسیون لیپید هستند و در روغن ماهی بدلیل غیر اشباعیت بالا با شدت بیشتری تولید می‌شوند نیز می‌تـوانند با عـوامل آمین مـوجود در عصـاره هسته گریـپ فروت واکنش میلارد انجام دهند.

بنابراین افزایش شدت جذب با غلظت ۲۰۰۰ppm عصاره فنلی و بویژه افزایش شدت جذب پس از ۱۴۴ و ۱۹۲ ساعت در غلظت های بالا یعنی ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm عصاره فنلی را شاید بتوان به وقوع رخدادهای احتمالی ذکر شده در بالا نسبت داد.

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که همانطور که اخیراً نیز توسط محققین به اثبات رسیده است، اندیس TBA معیار دقیقی برای ارزیابی محصولات ثانویه اکسیداسیون لیپید نمی باشد. چون هر عاملی که بتواند روی جذب TBA اثر بگذارد می تواند در نتایج آزمون ایجاد خطا کند و هر شدت جذبی که مشاهده شود الزاماً بیانگر محصولات ثانویه اکسیداسیون نمی‌باشد (Gordon, 2001).

علیرغم اینکه در روزهای ابتدایی انجام آزمون غلظت ۱۰۰۰ppm عصاره فنلی پایین ترین شدت جذب و در واقع بهترین اثر آنتی اکسیدانی را داشته، در روزهای انتهایی همین غلظت بالاترین شدت جذب را نشان داده است. این موضوع بیانگر اینست که غلظت ۱۰۰۰ppm عصاره فنلی جهت حفظ کیفیت روغن ماهی در زمان های نگهداری طولانی مناسب نیست و این با نتایج آزمون پراکسید مطابقت دارد.

در آزمون رنسیمت بالاترین زمان پایداری در روغن ماهی با آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ بدست آمد. به استثناء غلظت ۱۰۰۰ppm عصاره فنلی که زمان پایداری روغن ماهی را نسبت به شاهد کاهش داده و در واقع اثر پرواکسیدانی معنی داری نشان داد، سایر غلظت‌های عصاره فنلی روی زمان پایداری روغن ماهی تقریبا بی اثر بوده اند.

این نتایج با نتایج حاصل از تحقیقات Armando و همکاران (۱۹۹۸) مطابقت دارد. آنها فعالیت آنتی اکسیدانی پودر عصاره هسته گریپ فروت را با غلظت های مختلف روی مخلوطی از روغن سویا – آفتابگردان در سه دمای مختلف ارزیابی و توسط اندیس پراکسید مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که در دماهای ۹۷/۸ و ۷۵ درجه سانتیگراد این ماده اثر پراکسیدانی دارد. در حالیکه در دمای ۶۶/۵ درجه سانتیگراد این عصاره اثر آنتی اکسیدانی داشت و سرعت اکسیداسیون عکس غلظت عصاره بود. این محققین اثرات پراکسیدانی عصاره هسته گریپ فروت در دماهای بالا را به یک اثر بلوکه کننده روی مولکولهای

ift.srbiau.ac.ir

آنتی اکسیدان در دماهای بالا نسبت می‌دهند (Armando *et al.*, 1998). طیف مادون قرمز عصاره هسته گریپ فروت که توسط Cho و همکاران (۱۹۹۰) گزارش شد نشان داد که در این طیف سیگنال های گروه هیدروکسیل وجود دارد که مربوط به حضور توکوفرول ها، اسید اسکوربیک و اسیدهای چرب آزاد می باشد (Cho *et al.*, 1990). اگر در سیستم ترکیبات دارای گروههای OH^- وجود داشته باشد مثل الکلهای چرب، اسیدهای چرب آزاد یا اسید اسکوربیک، ممکن است یک واکنش متقابل بین این ترکیبات و مولکول های توکوفرول رخ دهد.و کمپلکس هایی تشکیل شود که آنتی اکسیدان را بدام انداخته و سرعت اکسیداسیون را افزایش دهد. Armando و همکاران (۱۹۹۸) معتقدند که افزایش سرعت اکسیداسیون در دماهای بالا به این علت است که دما سرعت تشکیل این کمپلکس را افزایش می دهد. در دماهای پایین این اثر بلوکه کننده یا وجود ندارد و یا ناچیز است (Armando *et al.*, 1998).

با توجه به اینکه در آزمون رنسیمت از دمای بالا (۹۰ درجه سانتیگراد) استفاده شده است وقوع احتمالی مکانیسم شرح داده شده و اثرات بلوکه کننده و ایجاد کمپلکس در دمای بالا باعث شد که در روغن ماهی عصاره هسته گریپ فروت جز در غلظت ۱۰۰۰ ppm که اثر پرواکسیدانی معنی داری نشان داد نتواند هیچ تاثیر معنی داری روی زمان پایداری نمونه های روغن ماهی داشته باشد.

بعلاوه در روغن ماهی نیز مقداری ویتامین E یا آلفاتوکوفرول وجود دارد که البته در روغن تصفیه شده میزان آن تا اندازه ای کاهش می یابد و حدودا به ۱۵ – ۱۰ درصد خواهد رسید. یک فرضیه احتمالی این است که این توکوفرول نیز می تواند با ترکیبات دارای عامل OH^- موجود در عصاره هسته همانند اسید اسکوربیک تشکیل کمپلکس داده، بدین ترتیب با غیر فعال شدن گروه فنولیک و بدام افتادن آنتی‌اکسیدان سرعت اکسیداسیون افزایش می‌یابد. دمای بالای رنسیمت به این مکانیسم کمک می‌کند.

عدم تطابق نتایج حاصل از آزمون رنسیمت با تست پراکسید و درصد فعالیت آنتی اکسیدانی را نیز با همین فرضیه می توان توجیه کرد. چون بر خلاف آزمون رنسیمت، ارزیابی اندیس پراکسید روی روغن هایی انجام شده که در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد نگهداری شده اند و اثرات آنتی اکسیدانی عصاره هسته در این دما با ارزیابی اندیس پراکسید و درصد فعالیت آنتی اکسیدانی کاملاً محسوس و قابل ملاحظه می باشد و این با نتایج کار Armando و همکاران (۱۹۹۸) نیز مطابقت دارد. در حالیکه دمای بالای رنسیمت می تواند باعث وقوع مکانیسم شرح داده شده، بلوکه شدن آنتی اکسیدان و حتی اثرات پرواکسیدانی گردد.

نتیجه گیری

ترکیبات خام فنلی جدا شده از هسته گریپ فروت دارای‌ویژگی آنتی‌اکسیدانی بودند. این ویژگی باعث می‌گردد که بتوان از آن در جهت جلوگیری از رنسیدیته اکسیداتیو روغن های خوراکی از جمله روغن ماهی کیلکا استفاده نمود. مجموع یافته های بررسی حاضر غلظت ppm ۲۰۰۰ عصاره هسته گریپ فروت را جهت پایدارسازی و حفظ کیفیت روغن ماهی پیشنهاد می کند. نتایج نشان داد که عصاره هسته گریپ فروت برای حفظ کیفیت روغن در دماهای بالا مناسب نیست. بنابراین نباید در روغنهای سرخ کردنی استفاده شود. توصیه می شود که این محصول، برای روغن هایی که به مدت طولانی در دمای اتاق نگهداری می شوند بکار گرفته شود. از آن جایی که روغن ماهی بدلیل چند غیراشباعیت و حساسیت اکسیداتیو بالا به عنوان روغن سرخ کردنی استفاده نمی شود و معمولا در دمای اتاق نگهداری می شود، بنابراین عصاره هسته گریپ فروت می‌تواند آنتی اکسیدان مناسبی در این روغن باشد. جداسازی ترکیبات فعال زیستی ارزش اقتصادی و صنعتی ضایعات صنایع آب میوه را افزایش می‌دهد. این ویژگی راه را جهت جایگزینی آنتی اکسیدان های مصنوعی با آنتی‌اکسیدان های طبیعی از جمله ترکیبات مشتق شده از هسته مرکبات هموار می سازد.

بطور کلی مجموع یافته ها در این پژوهش نشان داد که عصاره هسته گریپ فروت آنتی اکسیدان مناسب و جایگزین خوبی برای آنتی اکسیدان های مصنوعی جهت حفظ کیفیت روغن ماهی در دماهای پایین می باشد.

سپاسگزاری

نویسـندگان از زحمـات آقای مهندس صفافـر در انجام

jfn.srbiau.ac.ir

آزمون های مربوطه و جناب آقای دکتر الهامی راد به سبب راهنمایی های ارزنده قدردانی می نمایند.

منابع

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۸۴). روش های اندازه گیری پایداری روغن ها و چربی های خوراکی در برابر اکسید شدن. استاندارد ملی ایران، شماره ۳۷۴۴.

قنبری، ر.، قوامی، م. و صفافر، ح. (۱۳۸۵). بررسی امکان تولید آنتی اکسیدان طبیعی از گیاه مریم گلی و تاثیر آن در افزایش زمان ماندگاری روغن دنبه، کانولا، پنبه دانه، مجله علوم غذایی و تغذیه، سال سوم، شماره ۳، صفحات ۲۶-۱۸.

Armando, C., Maythe, S. & Beatriz, N. P. (1998). Antioxidant activity of Grapefruit seed extract on vegetableb oils. J. Sci. Food Agric., 463-467.

Bocco, A., Cuvelier, M. E., Richard, H. & Berset, C. (1998). Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. J.Agric.Food chem., 2123-2129.

Cho, S., Seo, I., Choi, J. & Joo, I. (1990). Antimicrobial and antioxidant activity of Grapefruit seed extract on fishery products. Bull Korean Fisheries. Soc., 23(4) 289-295.

Cvetnic, Z. & Vladimir Knezevic, S. (2004). Antimicrobial activity of grapefruit seed and pulp ethanolic extract. Acta Pharm., 54, 243-250.

Fasseas, M. K., Mountzouris, K. C., Tarantilis, P. A., Polissiou, M. & Zervas, G. (2007). Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. Food Chemistry, 106, 1188-1194.

Firestone, D. (1994). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 4th edn., AOCS Press,Champaign, IL.

Firestone, D. (1990). Official Methods of Analysis of Association of Official AnalyticalChemists, 15th edn., Arlington, USA.

Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Katrich, E. & Pawelzik, E. (2004). Comparison of the contents of the main antioxidant compounds and the antioxidant activity of white grapefruit and his new hybrid. Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 37, 337-343.

Hamilton, R. J. & Rice, R. D. (1995). Fish oil, technology, nutrition and marketing. P J Barnes and Assocates. Bridgwater, UK. PP:28, 95-107.

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

Mendez, E., Sanhueza, J., Speisky, H. & Valenzuela, A. (1996). Validation of the rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils. JAOCS. 73, 8, pp: 1033.

Nieto, S., Garrido, A., Sanhueza, J., Loyola, L. A., Morales, G., Leighton, F. & Valenzuela, A. (1993). Flavonoids as stabilizers of fish oil: An alternative to synthetic antioxidant. JAOCS. 70, 8, 773-777.

Peleg, H., Naim, M,. Rouseff, R. L. & Zehavi, U. (1991). Distribution of bond and free phenolic acids in oranges (citrus sinensis) and grapefruit (citrus paradisi). J Sci Food Agric., 57, 417-426.

Pokorny, J., Yanishlieva, N. & Gordon, M. (2001). Antioxidants in food. Practical applications. Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC. pp: 17-18, 46-47, 78, 218-219

Shahidi, F. (2005). Baileys industrial oil and fat products. Jhon wiley & sons, Inc., Publication. Hoboken, New Jersy. PP: 279-284.

Shahidi, F. & Naczk, M. (2003). Phenolics in food and nutraceuticals. CRC Press. 2003. pp: 403-426.

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

Yue, X., Xu, Z., PrinyawiwatKul, W., Losso, J. N., King, J. M. & Godber, J. S. (2007). Comparsion of soybean oils, gum and defatted soy flour extraction stabilizing menhaden oil during heating. journal of food chemistry.

jfn.srbiau.ac.ir

Evaluation of Antioxidant Activity of Grapefruit Seed Extract on the Stability of Anchovy Oil

A. Yekrang[a], M. Javanmard [b*]

[a] M. Sc. Research Student, Department of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[b] Department of Food Science, Institute of Chemical Technologies, Iranian Research Organization for Science & Technology, Iran.

Received: 29 December 2009 Accepted: 3 April 2010

Abstract

Introduction: The aim of this study was to determine the types and amounts of phenolic compounds present in the grapefruit seeds as a source of natural antioxidant and to examine the antioxidant activity of grapefruit seed extract (GSE) in anchovy oil.

Materials and Methods: Free and bound phenolic compounds of grapefruit seeds were extracted by methanol and alkaline hydrolysis respectively and then were measured by HPLC method. Antioxidant activities of GSE at different concentrations were compared with the synthetic antioxidant; TBHQ.The antioxidant activity was assessed by determination of peroxide value (PV), Thiobarbitoric Acid value (TBA) and induction periods (IP) measurements using Rancimat apparatus.

Results: Phenolic acids (Coumaric, Ferulic, Caffeic and Sinapic) and lutein, naringin and flavonoids were identified as the main phenolic compounds in grapefruit seeds. Total amount of phenolic compounds in grapefruit seeds was 485 ppm. The antioxidant activity increased with the increase in GSE level. GSE at 2000 ppm exhibited the highest antioxidant activity and the activity was better than TBHQ at 100 ppm.

Conclusion: This study indicated that GSE is an antioxidant which might be used as an alternative to TBHQ to preserve the oil at low temperature. GSE might be suggested as a substitute for synthetic antioxidants for oils stored for a long time at room temperature.

Keywords: *Antioxidant Activity, Anchovy Oil, Grapefruit Seed Extract, Phenolic Compounds.*

* Corresponding Author: javanmard@irost.ir

ifrt.srbiau.ac.ir