بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد دوم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۲
http://japu.gau.ac.ir

بررسی برخی اثرات آنتی‌اکسیدانی روغن هسته انار (*Punica granatum*) بر روند اکسیداسیونی روغن ماهی حاصل از کیلکای معمولی (*Clupeonella cultriventris caspia*)

مریم رئوفی‌راد[۱]، *مسعود رضایی[۲] و امیررضا شویکلو[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه تربیت مدرس واحد نور، [۲]استاد گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه تربیت مدرس واحد نور، [۳]استادیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه تربیت مدرس واحد نور

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۱۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۱۸

چکیده

در این پژوهش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن هسته انار بر روغن ماهی کیلکای معمولی (*Clupeonella cultriventris caspia*) بررسی شد. برای طراحی تیمارها از نرم‌افزار Design-Expert®version 6 و مدل D-optimal Mixture Design استفاده شد. اثر روغن هسته انار در غلظت‌های ۰/۰۰، ۰/۰۷، ۰/۱۵، ۰/۲۲ و ۰/۳۰ درصد در به تأخیر انداختن فرآیند اکسایش در روغن ماهی خام تعیین شد. با اندازه‌گیری شاخص‌های پراکسید، تیوباربیتوریک اسید، اسید چرب آزاد و دی‌ان کنژوگه در یک هفته دوره نگهداری روغن ماهی کیلکا در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد مشخص گردید که با افزایش غلظت روغن هسته انار از ۰/۰۷ به ۰/۲۲ درصد میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت و غلظت ۰/۲۲ درصد بالاترین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در روغن ماهی کیلکا از خود نشان داد. براین اساس می‌توان نتیجه گرفت که روغن هسته انار به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی توانایی پایدارسازی و حفظ کیفیت روغن ماهی را دارا است و می‌تواند به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی جهت پایداری روغن ماهی در صنعت فرآوری آبزیان مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: روغن ماهی، کیلکای معمولی، روغن هسته انار، اکسایش، آنتی‌اکسیدان

*مسئول مکاتبه: rezai_ma@modares.ac.ir

مقدمه

براساس آخرین آمار رسمی، مقدار صید ماهی کیلکا در سال ۱۳۹۰ در کشور حدود ۲۱ هزار تن بوده (شیلات ایران، ۲۰۱۲) که بخش زیادی از آن به مصرف تولید پودر ماهی رسیده است. پیش‌بینی می‌شود که از این میزان سالانه ٦٠ تا ۷۰ تن روغن ماهی کیلکا تولید گردد (حق‌نظر کوچکسرائی و همکاران، ۲۰۰۸). روغن ماهی یک منبع غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ به‌ویژه ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکزا هگزانوئیک 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 (کایتارانتا، ۱۹۹۲؛ یو و همکاران، ۲۰۰۷). با وجود این مزایا یکی از مهمترین مشکلات مصرف روغن ماهی حساسیت بالای آن به اکسیداسیون به‌دلیل داشتن مقادیر بالایی از اسیدهای چرب چند غیراشباع و کمبود آنتی‌اکسیدان طبیعی می‌باشد که منجربه فساد اکسیداتیو و ایجاد بد طعمی نامطلوب و در نتیجه کاهش تمایل به مصرف روغن ماهی می‌شود (واناسوندارا و شهیدی، ۱۹۹۸).

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که گسترش بد طعمی و تندی را با توسعه زمان پایداری به تأخیر می‌اندازند (پوکورنی و همکاران، ۲۰۰۱). در سال‌های اخیر تلاش برای یافتن منابع جدید آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌دلیل مشکلات و اثرات سوء ناشی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی گسترش یافته است.

امروزه رویکرد جدیدی برای استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از جمله روغن‌های گیاهی در مواد خوراکی به‌وجود آمده است. روغن‌های گیاهی دارای ویژگی‌های ضدباکتریایی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی هستند که برای افزایش ماندگاری مواد خوراکی، حفظ کیفیت چربی‌ها و روغن‌های سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع، کند کردن روند پیری و درمان بیماری‌هایی مانند آترواسکلروز و سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرند (باراتا و همکاران، ۱۹۹۸).

از جمله گیاهانی که خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است انار *Punica granatum* می‌باشد. به‌طور گسترده‌ای در کشورهای گرمسیری و نیمه‌گرمسیری رشد می‌کند. ایران سرزمینی مادری برای انار است. ۲۲ درصد دانه‌های انار متشکل از پوشش‌هایی است که دارای مقدار زیادی روغن می‌باشد. خواص آنتی‌اکسیدانی روغن دانه انار از چای سبز و BHA[1] به‌طور قابل توجهی بیشتر است. این روغن

1- Butylated hydroxyanisole

دارای حدود ۸۰ درصد از یک اسید چرب ۱۸ کربنه ترانس نادر (Punicic acid) است (عباسی و همکاران، ۲۰۰۸). ترکیبات فنولی مواد مهم دیگری است که در هسته انار وجود دارند. فلاونوئیدها برخی از ترکیبات پلی فنولی هستند که فعالیت رادیکال‌های آزاد را مهار و از گسترش فعالیت آنزیم‌ها جلوگیری می‌کنند (عباسی و همکاران، ۲۰۰۸). در پژوهشی که توسط اسچوبرت و همکاران (۱۹۹۹) انجام گرفت وجود یا عدم وجود آنتی‌اکسیدان‌ها در هسته انار مورد بررسی قرار گرفت. آن‌ها روغن هسته انار را با روش پرس سرد استخراج کردند و ویژگی آنتی‌اکسیدانی روغن هسته انار را سنجیدند و دریافتند که فعالیت آن نزدیک به آنتی‌اکسیدان BHA است. میزان ترکیبات فنولیک در روغن هسته انار ۰/۰۱۵ درصد گزارش شده است (اسچوبرت و همکاران، ۱۹۹۹). اثر آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی از ترکیبات فنولیک هسته انار بر روی روغن سویا توسط صمدلویی و همکاران گزارش شده است (صمدلویی و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین در پژوهشی مشابه اثر آنتی‌اکسیدانی پوست انار رقم پوست سیاه بر روغن سویا انجام گرفت که اثر آنتی‌اکسیدانی پوست انار را قابل توجه گزارش کرده‌اند (یعثوبی، ۲۰۰٦).

از آن‌جا که حدود نیمی از انار تولیدی به کارخانجات فرآوری، جهت تولید آب میوه و کنسانتره فرستاده می‌شوند و ١٤ درصد از تفاله انار را هسته تشکیل می‌دهد که می‌تواند منبع مناسبی برای تهیه روغن باشد (میرجلیلی، ۲۰۰۳) و مشکلات پیش روی در اکسایش روغن ماهی را تا حدی حل کند. هدف از این پژوهش، تعیین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن هسته انار در روغن ماهی کیلکای معمولی و معرفی آن به صنایع شیلاتی کشور به‌عنوان یک آنتی‌آکسیدان طبیعی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

روغن هسته انار از شرکت مگنولیا (تهران) تهیه و تا زمان انجام آزمایش در تاریکی و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. روغن ماهی کیلکا به‌صورت تصفیه نشده (خام) از شرکت نوش دارو دریا (میرود، بابلسر) تهیه و در یخچال آزمایشگاه دانشگاه تربیت مدرس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. مواد شیمیایی مورد استفاده در این بررسی ساخت شرکت مرک (آلمان) و شارلو (اتحادیه اروپا) بودند.

طراحی تیمارها و آماده‌سازی نمونه‌ها: برای طراحی تیمارها از نرم‌افزار Design-Expert®version 6 (Stat-Ease Inc., MN/USA) و مدل D-optimal Mixture Design استفاده گردید. نسبت ۲ جز اصلی این طراحی یعنی درصد روغن هسته انار به درصد روغن کیلکا

عبارت بود از: (۰/۰۰ به ۱۰۰/۰۰)، (۰/۰۷ به ۹۹/۹۳)، (۰/۱۵ به ۹۹/۸۵)، (۰/۲۲ به ۹۹/۷۸) و (۰/۳۰ به ۹۹/۷۰). همه نمونه‌ها به‌طور جداگانه در لوله‌های آزمایش درپوش‌دار ریخته و به‌مدت یک هفته در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در روز صفر، سوم و هفتم، آزمون‌های پر اکسید، تیوباربیتوریک اسید، اسید چرب آزاد و دی ان کنژوگه جهت ارزیابی پایداری اکسیداتیو روغن بر روی نمونه‌ها انجام گرفت و با نمونه شاهد مقایسه گردید.

آزمون پراکسید: عدد پراکسید به روش متداول اندازه‌گیری و با استفاده از محلول اسید استیک‌کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۲:۳) و تیتراسیون آن با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال انجام شد و بر حسب میلی‌اکی‌والان پراکسید در ۱۰۰۰ گرم روغن بیان گردید (ایگان و همکاران، ۱۹۹۷).

$$PV = \frac{\text{۱۰۰} \times \text{نرمالیته} \times \text{حجم مصرفی تیوسولفات}}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

آزمون تیوباربیتوریک اسید: یک گرم روغن در تترا کلرید کربن حل شده و به آن محلول اسید تیوباربیتوریک اضافه گردید سپس سانتریفوژ شده و قسمت آبی آن جدا شد و در حمام آب جوش قرار گرفت و پس از آن میزان جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید. اندیس اسید تیوباربیتوریک براساس رابطه زیر بیان شد (سایدول و همکاران، ۱۹٥٤):

$$E_{1cm}^{1g} = \frac{e}{d.a}$$

e: جذب نوری اندازه‌گیری شده

d: ضخامت سل نوری

a: وزن نمونه بر حسب گرم

آزمون اسیدهای چرب آزاد (FFA): ۲۵ سی‌سی از الکل اتیلیک خنثی شده به‌وسیله سود ۰/۱ نرمال به نمونه روغن اضافه شد. در مراحل بعدی با کمک ۲ تا ۳ قطره معرف فنل فتالئین و میزان مصرفی سود نرمال مقدار اسیدیته بر حسب درصد اسید اولئیک برطبق رابطه ذیل مشخص گردید (ایگان و همکاران، ۱۹۹۷).

$$FFA = \frac{\text{۲۸/۲} \times \text{حجم مصرفی سود} \, (N \div \text{۱۰})}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

N = نرمالیته سود

آزمون دی‌ان کنژوگه: دی‌ان‌های کنژوگه هیدروکربن‌های مارپیچی هستند که در ساختار مولکولی‌شان دو پیوند دوگانه کربن-کربن توسط یک پیوند یگانه از هم جدا می‌شوند که نسبت به اکسیداسیون حساس و در طیف نوری فرابنفش قابل شناسایی هستند. اندازه‌گیری دی‌ان کنژوگه به‌وسیله روش رنگ‌سنجی در طول موج ۲۳۳ نانومتر صورت گرفت. رنگ موردنظر زرد متمایل به نارنجی بود. ۲ میلی‌لیتر از روغن ماهی به سل اسپکتروفتومتر منتقل و میزان جذب آن در طول موج ۲۳۳ نانومتر قرائت شد. سپس با استفاده از رابطه زیر میزان دی ان کنژوگه به‌دست آمد (کیم و لابلا، ۱۹۸۷). در این رابطه B عدد جذب قرائت شده، V حجم چربی و W وزن چربی به‌کار گرفته شده است.

$$CD = B\frac{V}{W}$$

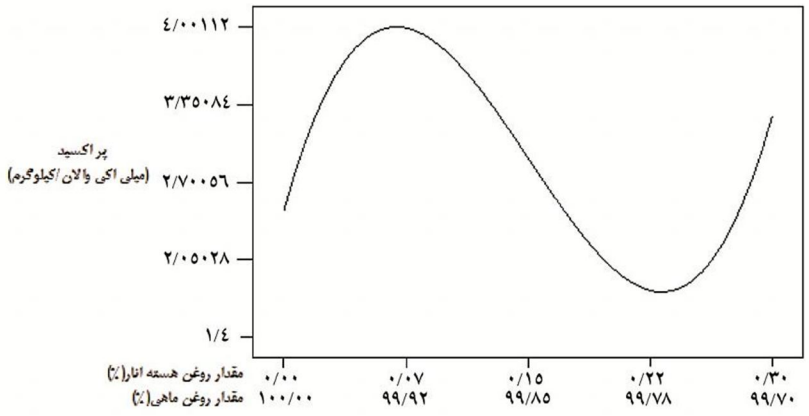
ارزیابی حسی: برای تعیین و اندازه‌گیری شدت ویژگی‌های حسی (بو و رنگ) نمونه‌ها از روش آنالیز توصیفی کمی (QDA)[1] و مقیاس خطی استفاده شد (ویلارینو و همکاران، ۲۰۰۷). در این روش ۷ تن ارزیاب آموزش دیده (۵ تن زن) با میانگین سنی ۲۸ سال، ویژگی‌های حسی هر نمونه را شناسایی کردند. نمونه‌ها برای ارزشیابی حسی در پلیت‌های پلاستیکی شماره‌گذاری شده ۳ رقمی در ۲ نوبت به ارزیاب‌ها ارائه شدند. مقدار نمونه در هر پلیت ۵ سی‌سی و روغن ماهی هم‌دمای محیط بود. تغییرات حسی نمونه‌ها هنگام یک هفته نگهداری در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد در روزهای ۰، ۳ و ۷ بررسی شد.

تجزیه و تحلیل آماری: پس از انجام آزمایش‌ها، داده‌های موردنظر ابتدا وارد نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۰ گردید. پس از میانگین‌گیری، داده‌ها وارد نرم‌افزار (Version 7.0.0, State-Ease, Design Expert Minneapolis, MN, USA) شدند تا تجزیه و تحلیل‌های نرم‌افزار بر داده‌ها اعمال گردد که شامل آنالیز واریانس (ANOVA)، محاسبه درجه آزادی و نمودارهای حاصل از تأثیر شاخص‌های اولیه بر پاسخ‌های گرفته شده بود. برای تجزیه و تحلیل داده‌های حسی و شناخت اختلاف میان میانگین‌ها از نرم‌افزار NCSS 2007 (NCSS, UT, USA) و آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و دانکن استفاده شد. تمام اختلاف‌ها در سطح ($P<۰/۰۵$) معنی‌داری درنظر گرفته شد.

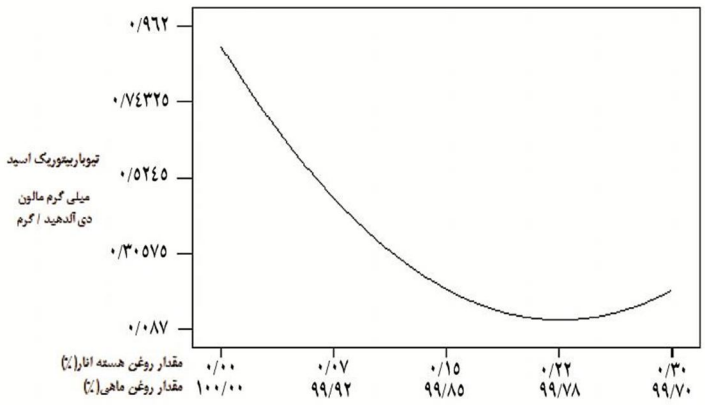
1- Quantitative descriptive analysis

نتایج و بحث

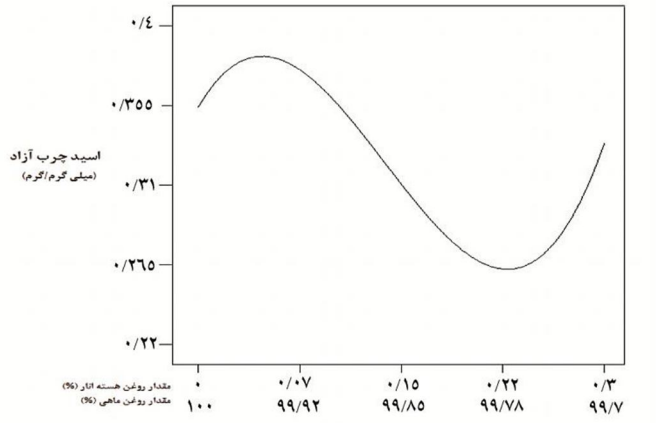
بین میانگین شاخص پراکسید، تیوباربیتوریک اسید، اسید چرب آزاد و دی‌ان کنژوگه در روز صفر در نمونه‌های تیمار شده اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). بر اساس شکل ۱، بعد از ۳ روز نگهداری در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد، اندیس پراکسید از غلظت ۰/۰۷ تا ۰/۲۲ درصد روغن هسته انار کاهش یافت ولی در غلظت ۰/۳۰ درصد این مقدار افزایش یافت و بین میانگین شاخص پراکسید در تمام نمونه‌های دارای آنتی‌اکسیدان اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵). پایین‌ترین میزان میانگین شاخص پراکسید در روغن ماهی دارای ۰/۲۲ درصد روغن هسته انار به‌دست آمد. در روز سوم بالاترین میزان میانگین شاخص پراکسید در تیمار با غلظت ۰/۰۷ درصد روغن هسته انار به‌دست آمد که میزان پراکسید را به بیش از نمونه شاهد نشان داد. براساس شکل ۲، اندیس تیو باربیتوریک اسید با افزایش غلظت روغن هسته انار از ۰/۰۷ تا ۰/۳۰ درصد بعد از یک هفته نگهداری در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت. در روز هفتم بالاترین میزان میانگین شاخص تیوباربیتوریک اسید را نمونه فاقد روغن هسته انار به خود اختصاص داد.



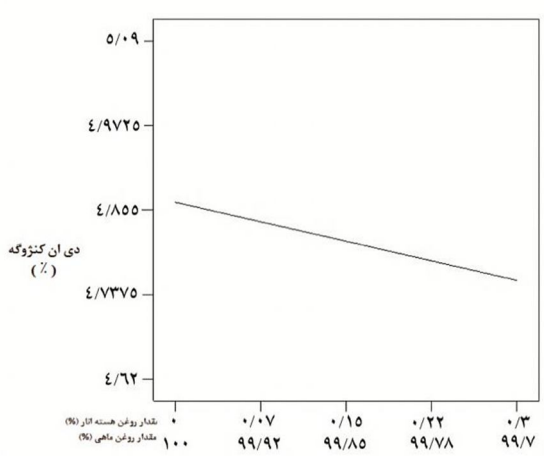
شکل ۱- میزان پراکسید در روغن ماهی کیلکا دارای روغن هسته انار بعد از ۳ روز نگهداری در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد (P<۰/۰۱).



شکل ۲- میزان تیوباربیتوریک اسید در روغن ماهی کیلکا دارای روغن هسته انار بعد از ۷ نگهداری در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد (P<۰/۰۵)



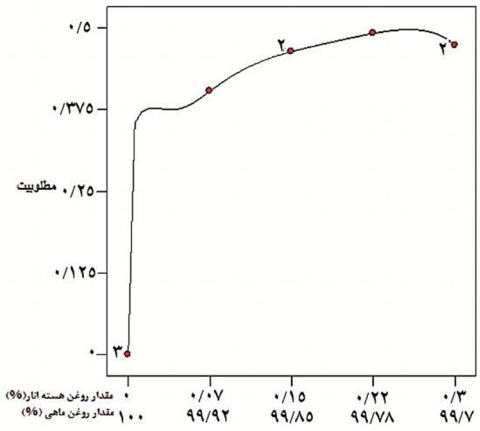
شکل ۳- میزان اسیدچرب آزاد در روغن ماهی کیلکا دارای روغن هسته انار بعد از ۷ روز نگهداری در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد (P>۰/۰۱)



شکل ٤- میزان دی ان کنژوگه در روغن ماهی کیلکا دارای روغن هسته انار بعد از ۷ روز نگهداری در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد ($P<٠/٠١$)

با توجه به شکل‌های ۳ و ٤ مقدار شاخص‌های اسید چرب آزاد و دی‌ان کنژوگه اندازه‌گیری شده در غلظت ۰/۲۲ درصد کم‌تر از دیگر غلظت‌ها بود ولی این اختلاف‌ها معنی‌دار نبود ($P>٠/٠٥$).

با توجه به داده‌های آزمایش‌های شیمیایی تیمارهای مختلف می‌توان نتیجه گرفت که روغن هسته انار در سطح ۰/۲۲ درصد بیشترین اثر مهارکنندگی اکسایش روغن کیلکا را داشت و از این‌رو مطلوب‌ترین تیمار برای رسیدن به هدف موردنظر این پروژه است (شکل ۵).



شکل ٥- نمودار مطلوبیت برای شناخت تیمار بهینه

نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های حسی در جدول ۱ آورده شده است. همان‌طور که دیده می‌شود اختلاف معنی‌داری در ویژگی‌های بوی ماهی و بوی سبزیجات دریایی بین تیمارها وجود نداشت و این ویژگی‌ها در طول نگهداری نیز پایدار بودند. بوی ترشیدگی در روغن کیلکای فاقد روغن هسته انار و نمونه دارای ۰/۰۷ درصد روغن هسته انار در روزهای نگهداری افزایش معنی‌داری داشت. اگرچه بوی ترشیدگی بین تیمارها در روز صفر یکسان بود ولی این ویژگی‌ها در روزهای سوم و هفتم نگهداری در روغن‌های دارای ۰/۱۵، ۰/۲۲ و ۰/۳۰ درصد روغن هسته انار کم‌تر از دیگر تیمارها بود. رنگ روغن‌ها در طول نگهداری در همه تیمارها به‌جز نمونه دارای ۰/۲۲ درصد روغن هسته انار افزایش معنی‌داری داشت. اگرچه این ویژگی در نمونه‌ها در روزهای صفر و هفتم یکسان بود ولی در روز سوم اختلاف معنی‌داری بین نمونه دارای ۰/۲۲ درصد روغن هسته انار و دیگر تیمارها دیده شد. رنگ این تیمار در طول نگهداری پایدار بود.

بیش‌ترین تغییرات حسی در فرآورده‌های شیلاتی به‌دلیل اکسایش چربی‌هاست (شویک‌لو و همکاران، ۲۰۱۰). فرآورده‌های حاصل از اکسایش اولیه روغن‌ها و چربی‌ها (پراکسیدها) بی‌بو و طعم هستند و در ارزشیابی‌های حسی مواد خوراکی درک نمی‌شوند. در حالی‌که فرآورده‌های ثانویه اکسایش مانند آلدهیدها و کتون‌ها ترکیبات بدبو و بدطعم هستند که بر رنگ و بافت فرآورده‌ها نیز اثر منفی دارند و در ارزشیابی‌های حسی به راحتی شناسایی می‌شوند (هاس، ۱۹۹۵). همین موضوع سبب تغییرات حسی ایجاد شده در روغن کیلکا شد.

جدول ۱- تأثیر مقدار روغن هسته انار و مدت نگهداری در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد بر ویژگی‌های حسی روغن کیلکا (مقیاس ۱۰۰-۰)

شاخص‌ها		روز صفر	روز سوم	روز هفتم
بوی ماهی				
روغن کیلکا فاقد روغن هسته انار	NS	۳۰	۲٦	۲٤
روغن کیلکا دارای ۰/۰۷ درصد روغن هسته انار	NS	۳٤	۲۷	۳۰
روغن کیلکا دارای ۰/۱۵ درصد روغن هسته انار	NS	۳۲	۳۳	۳۲
روغن کیلکا دارای ۰/۲۲ درصد روغن هسته انار	NS	۳٦	۲٥	۲٦
روغن کیلکا دارای ۰/۳۰ درصد روغن هسته انار	NS	۳۱	۳٤	۲۸
		NS	NS	NS
بوی ترشیدگی				
روغن کیلکا فاقد روغن هسته انار	*	٥٦^{c}	۷۲ ^{bA}	۸۷ ^{aA}
روغن کیلکا دارای ۰/۰۷ درصد روغن هسته انار	*	٥٥ ^{b}	٥۱ ^{bB}	۷٤ ^{aB}
روغن کیلکا دارای ۰/۱۵ درصد روغن هسته انار	NS	٥٤	٥۸^{B}	٥٤^{C}
روغن کیلکا دارای ۰/۲۲ درصد روغن هسته انار	NS	٥۳	٥۱^{B}	٤٥^{C}
روغن کیلکا دارای ۰/۳۰ درصد روغن هسته انار	NS	٥٤	٥٥^{B}	٤۷^{C}
		NS	*	*
بوی سبزیجات				
روغن کیلکا فاقد روغن هسته انار	NS	۲۳	۲۸	۱٦
روغن کیلکا دارای ۰/۰۷ درصد روغن هسته انار	NS	۳٤	۲٤	۱۸
روغن کیلکا دارای ۰/۱۵ درصد روغن هسته انار	NS	۲٦	۲۱	۲۱
روغن کیلکا دارای ۰/۲۲ درصد روغن هسته انار	NS	۲۷	۲۰	۲۰
روغن کیلکا دارای ۰/۳۰ درصد روغن هسته انار	NS	۲٥	۲۱	۱۸
		NS	NS	NS
شفافیت رنگ				
روغن کیلکا فاقد روغن هسته انار	*	۲٦^{b}	٤۷^{aA}	۲۷^{b}
روغن کیلکا دارای ۰/۰۷ درصد روغن هسته انار	*	۲٦ ^{b}	٤٦ ^{aA}	۲۸^{b}
روغن کیلکا دارای ۰/۱۵ درصد روغن هسته انار	*	۲۷^{b}	٤٥ ^{aA}	۳۱^{b}
روغن کیلکا دارای ۰/۲۲ درصد روغن هسته انار	NS	۲٦	۳٤^{B}	۲٦^{b}
روغن کیلکا دارای ۰/۳۰ درصد روغن هسته انار	*	۲٥^{b}	٤٤ ^{aA}	۳۱^{b}
		NS	*	NS

حروف انگلیسی بالانویس کوچک و بزرگ مختلف نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح به‌ترتیب در میانگین عددهای یک ردیف و یک ستون است.

(NS= Not significant, *<0.05)

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود در تیمارهای دارای ۰/۱۵ درصد و ۰/۲۲ درصد روغن هسته انار پس از گذشت ۷۲ ساعت میزان شاخص پراکسید را به کمتر از میزان این شاخص در نمونه فاقد روغن هسته انار کاهش داده است ولی سایر غلظت‌ها باعث افزایش اکسایش در روغن ماهی شده‌اند. این موضوع را می‌توان به اثر پراکسیدانی روغن هسته انار در غلظت‌های بالاتر (۰/۳۰ درصد) و خاصیّت آنتی‌اکسیدانی کم در غلظت‌های پایین‌تر (۰/۱۵ درصد) و همچنین طول دوره نگهداری مرتبط دانست. این احتمال وجود دارد که آنتی‌اکسیدان فنلی روغن هسته انار از طریق یک مکانیسم غیررادیکالی، هیدرو پراکسیدهای لیپید را به مواد غیررادیکالی تخریب می‌کند و بنابراین میزان هیدروپراکسیدها و متعاقباً شاخص پراکسید را کاهش می‌دهند. ضمن این‌که میزان رادیکال‌های آزاد نیز دراین حالت کاهش می‌یابد (پوکورنی و همکاران، ۲۰۰۱). بنابراین می‌توان این‌گونه استنباط کرد که روغن هسته انار دارای آن دسته از آنتی‌اکسیدان‌هایی است که نحوه عملکرد آنتی‌اکسیدانی آن‌ها از طریق تجزیه ترکیبات هیدروپراکسید به مواد غیررادیکالی می‌باشد (پوکورنی و همکاران، ۲۰۰۱). با گذشت زمان سرعت تشکیل هیدروپراکسیدها افزایش می‌یابد و بیش از سرعت تجزیه آن‌هاست. بنابراین شاخص پراکسید افزایش می‌یابد (آرماندو و همکاران، ۱۹۹۸). همچنین اگر در سیستم ترکیبات دارای گروه‌های OH^- وجود داشته باشد مثل الکل‌های چرب، اسیدهای چرب آزاد یا اسید آسکوربیک، ممکن است یک واکنش متقابل بین این ترکیبات و مولکول‌های توکوفرول رخ دهد و کمپلکس‌هایی تشکیل شود که آنتی‌اکسیدان را به دام اندازد و سرعت اکسایش را افزایش دهد (آرماندو و همکاران، ۱۹۹۸). افزایش سرعت اکسیداسیون در دماهای بالا به‌این علت است که دما سرعت تشکیل این کمپلکس را افزایش می‌دهد. در دماهای پایین این اثر یا وجود ندارد و یا ناچیز است (آرماندو و همکاران، ۱۹۹۸). به‌علاوه در روغن ماهی نیز مقداری ویتامین E یا آلفا توکوفرول وجود دارد که در روغن خام نسبت به روغن تصفیه شده میزان آن بیشتر است (آرماندو و همکاران، ۱۹۹۸). یک فرضیه احتمالی این است که این توکوفرول نیز می‌تواند با ترکیبات دارای عامل OH^- موجود در روغن هسته انار تشکیل کمپلکس دهد، به‌این ترتیب با غیرفعال شدن گروه فنولیک و به دام افتادن آنتی‌اکسیدان سرعت اکسایش افزایش می‌یابد. دمای بالا به‌این مکانیسم کمک می‌کند (آرماندو و همکاران، ۱۹۹۸).

در بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک، اندازه‌گیری عدد پراکسید به تنهایی نمی‌تواند نشان‌دهنده واقعی اثر آنتی‌اکسیدانی باشد. میزان عدد پراکسید همواره در حال افزایش نمی‌باشد بلکه تا

مدتی افزایش می‌یابد و بعد از این‌که به سطح مشخصی رسید شکسته می‌شود و ترکیبات جانبی ایجاد می‌گردد. به‌همین دلیل در بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی علاوه‌بر اندازه‌گیری روند افزایش پراکسید روند افزایش تیوباربیتوریک اسید نیز بررسی می‌گردد. مطابق نمودار ۲ کمترین مقدار تیوباربیتوریک اسید مربوط به غلظت ۰/۲۲ درصد در روز هفتم است. با گذشت ۱٦۸ ساعت از دوره نگهداری ترکیبات آلدهیدی در تمام نمونه‌های تیمار شده نسبت به نمونه فاقد روغن هسته انار کاهش یافته است ولی در غلظت ۰/۳۰ درصد نسبت به سایر تیمارها نتیجه عکس داشته است و این ترکیبات افزایش یافته‌اند. از آن‌جا که در این غلظت هیدروپراکسیدها افزایش یافته‌اند پس متعاقباً تبدیل آن‌ها به ترکیبات آلدهیدی نیز بیشتر می‌شود. هرچند روند افزایش پراکسید با روند افزایش تیوباربیتوریک اسید هماهنگی ندارد که می‌توان نتیجه گرفت روند رشد تیوباربیتوریک اسید تحت تأثیر شاخص‌های دیگری علاوه‌بر پراکسید نیز می‌باشد.

کار مشابهی در زمینه اثر آنتی‌اکسیدانی روغن هسته انار بر روند اکسیداسیونی روغن ماهی در منابع یافت نشد تا بتوان نتایج را با آن مقایسه نمود. در موارد مشابهی ترکیبات فنولیک هسته انار با حلال استون استخراج شد و در سه سطح ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به روغن سویا افزوده شد و اثر آنتی‌اکسیدانی آن‌ها بر روغن سویا براساس روند افزایش پراکسید و تیوباربیتوریک اسید بررسی شد. نتایج آماری نشان داد که اولا ترکیبات فنولیک هسته انار اثر آنتی‌اکسیدانی دارند و ثانیاً با افزایش میزان ترکیبات فنولیک هسته انار افزوده شده به روغن سویا، اثر آنتی‌اکسیدانی آن افزایش می‌یابد (صمدلوئی و همکاران، ۲۰۰۷). کار مشابه دیگری در زمینه اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک پوست انار بر روغن سویا صورت گرفت که سطح ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از این ترکیبات اثری برابر با سطح ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آنتی‌اکسیدان BHA در روغن سویا داشت (یعثوبی، ۲۰۰٦).

نتایج به‌دست آمده دلیل براین مطلب است که روغن هسته انار خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد و محدوده غلظت ۰/۲۲ درصد می‌تواند به‌عنوان غلظت بحرانی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی روغن هسته انار درنظر گرفته شود. هر چند بررسی‌های بیش‌تر در این باره می‌تواند نتایج کاربردی تری را به‌دست آورد. از روغن ماهی و فرآورده‌های آن استفاده‌های خوراکی (دارویی) و صنعتی می‌شود و این فرآورده‌ها را اغلب در دمای اتاق نگهداری می‌کنند. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی همواره با انتقاد سازمان‌ها و مراجع بهداشتی همراه بوده است. بنابراین برای حفظ کیفیت روغن ماهی، روغن هسته انار می‌تواند آنتی‌اکسیدان مناسب و جایگزین خوبی برای این نوع افزودنی‌ها باشد.

سپاسگزاری

از همکاری مسئولان و کارکنان آزمایشگاه مرکزی و گروه ارزشیابی حسی دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس و از راهنمایی‌ها و پشتیبانی‌های آقای مهندس حسین اصغری (شیلات استان مازندران) و آقای مهندس یعقوبیان (شرکت نوش دارو دریا) سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1.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. J. Lipid Science and Technology. 110: 435-440.
2.Armando, C., Maythe, S. and Beatriz, N.P. 1998. Antioxidant activity of grapefruit seed extract on vegetableb oils. J. the Science of Food and Agriculture. 77: 463-467.
3.Baratta, M.T., Dorman, H.J.D., Deans, S.G., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G. and Ruberto, G. 1998. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils, J. Flavour and Fragrance. 13: 235-244.
4.Egan, H., Krik, R.S., and Sawyer, R. 1981. Oil and fat in Pearsons chemical analysis of foods. 9th ed. New York: Longman Scientific and Technical Press. 353p.
5.Haghnazar Kochaksaraei, A.R., Irani. M., Jafari Ahangri. Y., and Rahimi, G. 2008. Effects of different levels of kilka fish oil on egg yolk omega-3 fatty acids, serum cholesterol and triglyceride concentration of laying hens. J. Agricultural Sciences and Natural Resources. 1: 62-72. [In Persian].
6.Huss, H.H. 1995. Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper 348, Chapter 5.
7.Iran Fisheries Organization. 2012. Statistical yearbook of Iran fisheries organization. Tehran. Office of Budget and Planning of Iran Fisheries Organization. 60p. [In Persian].
8.Kaitaranta, J.K. 1992. Control of lipid oxidation in fish oil with various antioxidative compounds. J. the American Oil Chemist's Society. 69: 810-813.
9.Kim, R., and Labella, F. 1987. Comparison of analytical methods for monitoring autoxidation profiles of authentic lipids. The J. Lipid Research. 28: 1110 -1117.
10.Mir jalili, A. 2003. Pomegranate recognizing. Karaj: Agricultural Education Press. 236p. [in Persian].
11.Pokorny, J., Yanishlieva, N., and Gordon, M. 2001. Antioxidants in food, Practical applications. Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC. 380p.
12.Samadloiy, H.R., Azizi, M.H., and Barzegar, M. 2007. Antioxidative effect of pomegranate seed phenolic componends on soybean oil. J. Agricultural Sciences and Natural Resources. 14: 4. [In Persian]

13. Schubert, S., Lansky, E., and Neeman, I. 1999. Antioxidant and eicosanoid enzyme in habitation properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. J. Ethnpharmacology. 66: 11-17.
14. Shaviklo, G.R., Arason, S., Thorkelsson, G., Sveinsdottir, K., and Martinsdottir, M. 2010. Sensory attributes of haddock balls affected by added fish protein isolate and frozen storage. J. Sensory Studies. 3: 316-331.
15. Sidwell, G.G., Salwin, H., Benca, M., and Mitchel, A.J. 1954. The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. J. American Oil Chemists Society. l31: 603-606.
16. Villarino, B.J., Dy, L.M., and Lizada, C.C. 2007. Descriptive sensory evaluation of virgin coconut oil and refined, bleached and deodorized coconut oil. J. LWT-Food Science and Technology. 40: 193-199.
17. Wanasundara, N.U. and Shahidi, F. 1998. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. J. Food Chemistry. 63: 335-342.
18. Yasoubi, M., Barzegar, M., Sahari, M.A., and Azizi, M.H. 2006. Total phenolic contents and antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extracts. J. Agriculture Science and Technology. (In Press).
19. 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. J. Food Chemistry. 73: 19-23.