

ارزیابی اثرات آنتی اکسیدانی اسانس گیاه مرزه زراعی در روغن کلزا و روغن ماهی کیلکا

بهاره امینی^{a*}، جواد کرامت^b، محمد حجت الاسلامی^c، مهشید جهادی^d، کیوان محمودیان^e

^a دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

^b دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

^c استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

^d استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد خوراسگان (اصفهان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

^e دانش آموخته کارشناسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد خوراسگان (اصفهان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۱۰/۱۷

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۹/۹

چکیده

مقدمه: امروزه، تمایل مصرف کنندگان به مصرف غذاهایی با ارزش تغذیه‌ای بالا و عاری از مواد شیمیایی افزودنی افزایش پیدا کرده است. در همین زمینه تلاش‌های متعددی برای یافتن آنتی اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی صورت گرفته است. اسانس مرزه، مایعی بی رنگ یا متمایل به زرد است. این اسانس حاوی ترکیبات فنلی نظیر کارواکرول، سیمول و تیمول است و خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی بالایی دارد. هدف از این پژوهش، بررسی میزان ترکیبات فنولیک موجود در اسانس مرزه زراعی به عنوان منبع ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی و هم چنین تعیین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات استخراج شده در روغن کلزا و ماهی کیلکا بود.

مواد و روش‌ها: ابتدا گیاه مرزه زراعی جمع‌آوری و سپس در سایه خشک شد. اسانس گیاه با استفاده از روش کلونجر استخراج و توسط دستگاه GC/MS تجزیه و شناسایی شد. سپس میزان کل ترکیبات فنولیکی موجود در آن با استفاده از روش فولین سیوکالتو سنجیده شد. اثرات آنتی اکسیدانی غلظت‌های ۰/۰۵٪، ۰/۱٪، ۰/۲٪ و ۰/۳٪ اسانس مرزه زراعی در مقایسه با نمونه شاهد و آنتی اکسیدان مصنوعی بوتیل هیدروکسی آنیزول (۰/۰۲٪) و با ارزیابی شاخص‌های پراکسید، تیوباربیتوریک اسید و آزمون رنسیمت در روغن کلزا و ماهی کیلکا مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: کارواکرول، گاما ترپینن، آلفا ترپینن و پاراسیمین به عنوان ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس مرزه زراعی شناسایی شدند. میزان کل ترکیبات فنولیک موجود در اسانس مرزه زراعی $0/279 \pm 0/739$ میلی گرم گالیک اسید/میلی لیتر تعیین شد. اسانس مرزه زراعی در سطح غلظت ۰/۳٪ بهترین اثر آنتی اکسیدانی را در جلوگیری از افزایش شاخص پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نشان داد.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که اسانس مرزه زراعی یک آنتی اکسیدان طبیعی مناسب و جایگزین خوبی برای آنتی اکسیدان مصنوعی بوتیل هیدروکسی آنیزول جهت پایدارسازی و حفظ کیفیت روغن ماهی و روغن کلزا می باشد.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنولیک، روغن ماهی کیلکا، روغن کلزا، رنسیمت، مرزه زراعی

مقدمه

یکی از راه‌های جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها و یا حفاظت در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها است. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که با جذب رادیکال آزاد و در نتیجه ممانعت از اکسیداسیون، از فساد، تغییر رنگ و یا تند شدن چربی‌ها جلوگیری می‌کنند و نقش مهمی در پیش‌گیری از اکسیداسیون چربی دارند (Fennema, 1996). آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی زیادی وجود دارند که معمولاً برای حفاظت از چربی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. اما در دوزهای بالا خاصیت کارسینوژنیک داشته و سبب دید منفی از طرف مصرف‌کننده می‌شوند (Fan et al., 2009; Hosseini et al., 2008; Capecka et al., 2005). امروزه در راستای حذف و یا کاهش افزودنی‌های شیمیایی در مواد غذایی، تحقیقات زیادی برای جایگزین کردن مواد شیمیایی با مواد طبیعی انجام شده است. در همین زمینه تلاش‌های متعددی برای یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی صورت گرفته است (Milan, 2006). مرزه، گیاهی است از خانواده نعناعیان که در ایران ۱۲ گونه علفی یک ساله و چند ساله دارد (Fathi et al., 2011). اسانس مرزه، مایعی بیرنگ یا متمایل به زرد است که حاوی ترکیبات فنلی نظیر کارواکرول، سیمول و تیمول است (Ghasemi Dehkordi, 2002; Omidbaigi, 2000) و در صنایع کنسروسازی و نوشابه‌سازی استفاده می‌شود. اسانس این گیاه، خاصیت آنتی‌اکسیدانی وضد میکروبی بالایی داشته و مانع از رشد برخی باکتری‌ها می‌شود (Hajhashemi et al., 2000). نتایج تحقیقات Mhir و همکاران نشان داد که با افزودن اسانس گیاهان معطر به غذاهای فساد پذیر پرچرب، عمر ماندگاری غذا افزایش می‌یابد و اسانس‌های گیاهی می‌توانند به عنوان افزودنی‌های غذایی مورد استفاده قرار گیرند و جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی شوند (Mhir et al., 2012). Barakat و همکاران نشان دادند که افزودن ترکیب نمک طعام به همراه کارواکرول و تیمول موجب افزایش زمان نگهداری فیله ماهی کپور می‌شود (Barakat et al., 2006). چربی ماهیان، منبع مهمی از اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه و

ارزیابی اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه مرزه زراعی

امگا ۳ (به طور عمده دکوزاهگزانوئیک اسید^۱ و اکوزاپنتانوئیک اسید^۲) می‌باشد (Lin & Lin, 2004)، که دارای نقش حیاتی و مهمی در توسعه و عملکرد سیستم عصبی، بینایی و سیستم تناسلی می‌باشند (Navarro-Garcia et al., 2004; Pirestani et al., 2010). یازده گونه‌ی ماهی شامل ساردین‌ها^۳، انواع گونه‌های شیر و قباد^۴، هرینگ^۵، قزل‌آلا^۶، ماهی آزاد^۷، کیلکا^۸، ماهی سابل^۹ و ماهی آبی^{۱۰} مقادیر کافی از امگا ۳ و اسیدهای چرب چند غیر اشباعی را تأمین می‌کنند (۲/۷-۷/۵ درصد) و در دستور غذایی انجمن قلب آمریکا قرار دارند (Kripal, 2003). ماهی کیلکا یکی از مهم‌ترین ماهیان اقتصادی دریای خزر محسوب می‌شود. این ماهی نقش بسیار مهمی در اقتصاد کشورهای حاشیه دریای خزر و به خصوص ایران دارد (Motalebi & Seyfzadeh, 2011)، ولی متأسفانه به دلیل ریز بودن و عدم امکان عمل‌آوری با دست برای مصارف انسانی کمتر مورد توجه قرار گرفته است (Abourg et al., 1998). با توجه به پتانسیل بالای کشورمان در صید ماهی کیلکا و کیفیت تغذیه‌ای بسیار بالای روغن ماهی کیلکا، پایداری روغن ماهی فوق توسط آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌تواند محصولی با ارزش غذایی بالا را به مصرف‌کنندگان معرفی کند.

روغن کلزا، به عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی در سطح جهان مطرح می‌باشد. به طوریکه پس از سویا و نخل روغنی سومین منبع تولید روغن نباتی جهان به شمار می‌رود (Niyazmand et al., 2011). مزایای سلامتی بخش روغن کلزا مربوط به وجود نسبت‌های بالایی از اولئیک و لینولنیک اسید می‌باشد (Eskin & McDonald, 1991). روغن کلزا در مقایسه با روغن‌های حاصل از دانه‌های روغنی نظیر آفتاب‌گردان، ذرت و سویا به دلیل دارا بودن اسیدهای چرب غیر اشباع و فاقد کلسترول، از کیفیت تغذیه‌ای بالایی برخوردار است (Arntfield & Khattab, 2009).

این تحقیق با هدف بررسی ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه مرزه زراعی در پایداری اکسیداتیو روغن کلزا و ماهی کیلکا در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل هیدروکسی‌آنیزول انجام گرفت.

¹ Docosahexaenoic acid ² Eicosapentaenoic acid
⁶ Lake Trout ⁷ Salmon ⁸ Anchovy

³ sardines ⁴ Mackerel ⁵ Herring
⁹ Sablefish ¹⁰ Bluefish

مواد و روش ها

(UV- 2100) و در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Choe & Min, 2007).

- **ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مرزه زراعی** - اسانس مرزه زراعی در چهار سطح غلظت (۰/۰۵٪، ۰/۱٪، ۰/۲٪ و ۰/۳٪) (وزنی/وزنی) به روغن کلزا و روغن ماهی کیلکا افزوده شد. آنتی‌اکسیدان مصنوعی BHA در سطح غلظت ۰/۰۲٪ (حداکثر میزان مجاز) به روغن کلزا و روغن ماهی کیلکا اضافه گردید. یک نمونه روغن کلزا و روغن ماهی بدون افزودن آنتی‌اکسیدان به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. تمام نمونه‌های تیمار شده در لوله‌های آزمایش در پیچ‌دار ریخته شدند و پس از پیچیدن در ورق آلومینیومی به مدت ۹ روز در آن ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و سپس آزمون‌های پراکسید (Egan *et al.*, 1997) و تیوباریتوریک اسید (TBA) (Sidewell *et al.*, 1954) برای ارزیابی پایداری اکسیداتیو روغن بر روی نمونه‌ها انجام گرفت.

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

برای تعیین کارایی آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها از دستگاه رنسیمت مدل Metrohm 743 به منظور اندازه‌گیری شاخص پایداری اکسایشی^۳ استفاده شد. به این منظور ۳ گرم نمونه روغن کلزا و ۳ گرم نمونه روغن ماهی تصفیه، رنگبری و بوگیری شده عاری از آنتی‌اکسیدان در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس مورد آزمایش قرار گرفتند. اسانس مرزه زراعی در غلظت‌های (۰/۰۵٪، ۰/۱٪، ۰/۲٪ و ۰/۳٪) به روغن کلزا و ماهی اضافه شد. سرعت جریان هوا ۲۰ لیتر بر ساعت تنظیم شد. برای مقایسه از ۰/۰۲٪ آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA استفاده شد.

- **تجزیه و تحلیل آماری**

در این تحقیق، آزمایش‌ها در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. هم چنین آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 20 و نیز آزمون مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح احتمال ۹۵٪ انجام شد.

روغن ماهی تصفیه شده، رنگبری، بوگیری شده و خالص (فاقد هر گونه افزودنی و آنتی‌اکسیدان) از شرکت نوشدارو دریا و روغن کلزای تصفیه شده، رنگبری و بوگیری شده و بدون آنتی‌اکسیدان از کارخانه روغن نباتی ناز اصفهان خریداری شد.

- **استخراج اسانس**

گیاه مرزه زراعی^۱ در منطقه یاسوج در اطراف شهر سی‌سخت، در سال دوم رشد و در مرحله شروع گلدهی، برداشت گردید. به منظور اسانس‌گیری اندام هوایی گیاه در سایه و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و به مدت ۱۵ روز کاملاً خشک گردید. عمل اسانس‌گیری به روش تقطیر و با استفاده از دستگاه کلونینجر مدل بریتانیایی صورت گرفت. در هر بار اسانس‌گیری صد گرم از بخش‌های هوایی گیاه، به صورت نیم کوب شده در بالون یک لیتری دستگاه کلونینجر ریخته شد و ۵ برابر وزن گیاه، به آن اضافه گردید. سپس اسانس‌گیری به مدت ۲ ساعت در دستگاه کلونینجر انجام پذیرفت (Zambonelli *et al.*, 2004).

- **آنالیز ترکیبات اسانس**

برای بررسی ترکیبات فیتو شیمیایی گیاه مرزه زراعی از دستگاه Younglin Acme 6000 GC/MS با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی ستون شامل دمای ابتدایی آن ۵۰°C و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳°C در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰°C با سرعت ۱۵°C در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰°C و ۳ دقیقه توقف در این دما بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰°C بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید (Sahidhara *et al.*, 2006).

- **اندازه گیری میزان فنل تام^۲**

ترکیبات فنولیک اسانس‌های گیاهی به روش استاندارد فولین - سیوکالتو توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر

¹ *Satureja hortensis L.*

² Total Phenolic Content

³ Oil/ Oxidative Stability Index

یافته‌ها

– بازده اسانس و شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس گیاه مرزه زراعی

بازده اسانس مرزه زراعی نسبت به وزن خشک گیاه ۰/۷۵٪ به دست آمد و ۱۰ ترکیب در مجموع ۹۵/۱۵٪ در اسانس مرزه شناسایی شد. کارواکرول^۱ (۳۸/۹۹٪)، گامترپینن^۲ (۳۵/۵۲٪)، آلفا ترپینن^۳ (۶/۹۳٪) و پاراسیمین^۴ (۵/۵۸٪) بیشترین ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس مورد نظر بود.

– میزان فنل تام در اسانس مرزه زراعی

مقدار کل ترکیبات فنلی در اسانس مرزه زراعی توسط روش فولین سیوکالتو، ۰/۷۳۹±۰/۲۷۹ میلی گرم گالیک اسید/میلی لیتر تعیین شد.

– اثر افزودن اسانس مرزه زراعی بر پایداری روغن کلزا و روغن ماهی کیلکا

اسانس مرزه زراعی در سطوح غلظت ۰/۰۵٪، ۰/۱٪، ۰/۲٪ و ۰/۳٪ و آنتی اکسیدان سنتزی BHA در سطح غلظت ۰/۰۲٪ (حداکثر میزان مجاز) به روغن‌ها اضافه شدند. افزودن آنتی اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی به روغن‌ها سبب بروز تغییراتی در اعداد پراکسید و تیوباربتوریک اسید در طی مدت نگهداری آن به مدت ۹ روز در دمای ۷۰ درجه سلسیوس گردید (نمودارهای ۱ و ۲). اثر متقابل غلظت اسانس و زمان بر عدد پراکسید و تیوباربتوریک اسید، از نظر آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). طبق نمودارهای ۱ و ۲ با گذشت زمان طی ۱۹۲ ساعت در تمامی نمونه‌ها عدد پراکسید و تیوباربتوریک اسید افزایش یافت. در تیمارهای روغن کلزا و روغن ماهی کیلکا، حاوی اسانس مرزه زراعی، با افزایش غلظت اسانس، عدد پراکسید و تیوباربتوریک اسید این تیمارها در همه روزها مقاومت بیشتری در مقابل افزایش نشان داد. در بین همه تیمارهای روغن کلزا و روغن ماهی کیلکا، در تمام روزها، نمونه روغن‌های کیلکا و کلزا حاوی ۰/۳٪ اسانس مرزه زراعی کمترین عدد پراکسید و تیوباربتوریک اسید را

داشت. نمونه شاهد بالاترین عدد پراکسید و تیوباربتوریک اسید را در تمام روزها دارا بود.

در روغن کلزا و کیلکا، در تمام روزها اثر آنتی اکسیدانی غلظت ۰/۲٪ اسانس مرزه زراعی با غلظت ۰/۰۲٪ آنتی اکسیدان سنتزی BHA قابل مقایسه است و از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار فوق الذکر وجود ندارد (p<0.05).

– ارزیابی پایداری اکسیداتیو توسط آزمون رنسیمت

در آزمون رنسیمت، اسانس مرزه زراعی از اکسیداسیون روغن کلزا و کیلکا ممانعت نمود و طول دوره القا پراکسیداسیون روغن را افزایش داد. بیش‌تر بودن طول دوره القا نشان دهنده بالاتر بودن فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس می‌باشد. همانطور که در نمودار ۳ ملاحظه می‌شود نمونه شاهد دارای پایین‌ترین زمان القا می‌باشد (p<۰/۰۵). در این آزمون، اسانس‌های گیاهی حاصل از روش کلوینجر، در چهار سطح غلظتی مورد بررسی آزمون رنسیمت قرار گرفتند.

سطوح مختلف غلظت به منظور دانستن نحوه‌ی تابعیت اثر آنتی اکسیدانی اسانس‌ها از غلظت به کار رفت. همانطور که نتایج نشان می‌دهد در آزمون رنسیمت روغن ماهی کیلکا، در زمان القای مربوط به نمونه حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHA (۰/۰۲٪) با نمونه حاوی ۰/۳٪ اسانس مرزه زراعی تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (p<۰/۰۵).

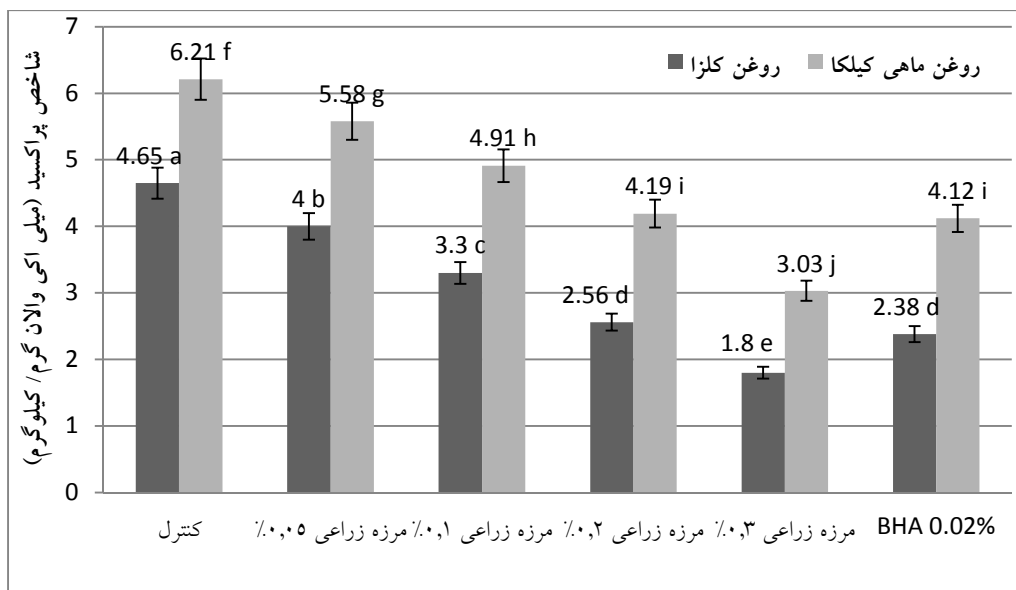
در حالیکه در آزمون رنسیمت روغن کلزا زمان القای مربوط به نمونه حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHA (۰/۰۲٪) با نمونه‌های حاوی اسانس مرزه زراعی ۰/۱٪، ۰/۲٪ و ۰/۳٪ تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (p<۰/۰۵). اما زمان القاء در تیمار حاوی ۰/۰۵٪ اسانس مرزه و نمونه شاهد به طور معناداری کمتر از نمونه حاوی آنتی اکسیدان سنتزی است.

¹ Carvacrol

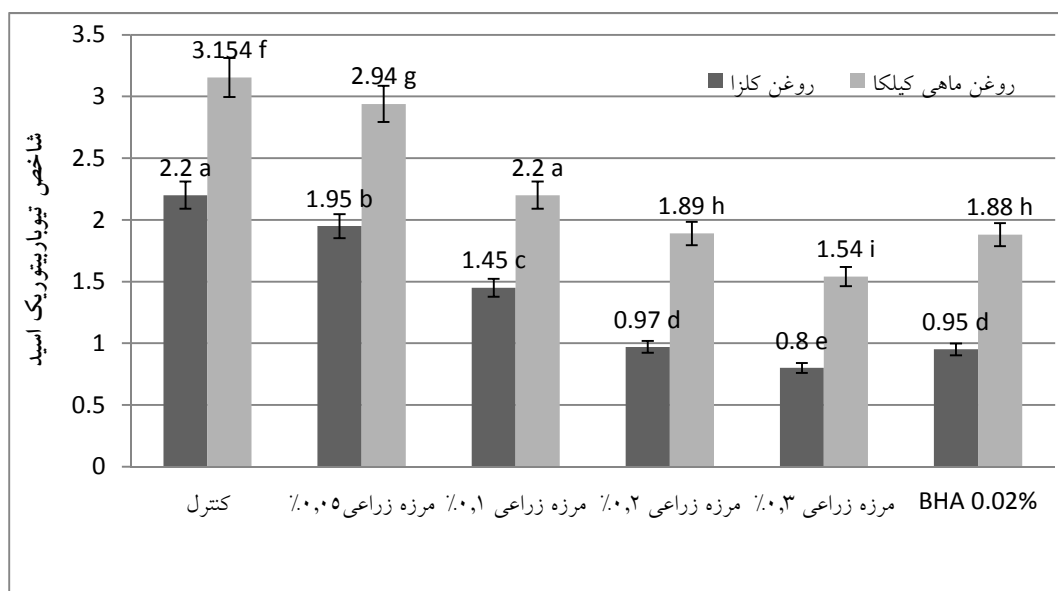
² Gamma-Terpinene

³ Alpha-Terpinene

⁴ P-Cymene



نمودار ۱- عدد پراکسید در روغن کلزا و کیلکای نگهداری شده در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۹ روز
* عدد پراکسید روغن کلزا اولیه ۰/۴۲ و پراکسید روغن ۷ میلی‌اکی‌والان گرم بر کیلوگرم



نمودار ۲- عدد تیوباربتوریک اسید در روغن کلزا و کیلکای نگهداری شده در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۹ روز
* عدد تیوباربتوریک اسید روغن کلزا اولیه ۰/۰۸ و عدد تیوباربتوریک اسید روغن کیلکا اولیه ۰/۱۷

مرزه زراعی متفاوت است.

این تفاوت می‌تواند مربوط به اختلاف شرایط رویشگاهی محل جمع‌آوری نمونه و یا احتمال وجود کموتایپ^۱ در این گونه گیاهی باشد (Sefidkon et al., 2004; EbrahimiNejad et al., 2008). پلی‌فنل‌ها، انواعی از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که در

بحث

کارواکرول، یکی از اجزای اصلی اسانس گیاه مرزه زراعی کشت شده در بیشتر نقاط جهان معرفی شده است (Asekun et al., 2007). مقایسه ترکیبات اصلی اسانس مورد آزمایش با تحقیق‌های قبلی نشان می‌دهد میزان اجزاء اصلی تشکیل دهنده در نمونه‌های مختلف اسانس گیاه

¹ Comotype

ارزیابی اثرات آنتی اکسیدانی اسانس گیاه مرزه زراعی

جلوگیری از بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان نقش دارند. ترکیبات فنلی شامل ویتامین‌ها، رنگدانه‌ها و فلاونوئیدها، ویژگی‌های ضد جهشی و در نتیجه ضد سرطانی دارند و همچنین در کاهش قند خون نقش موثری ایفا می‌کنند (Shun *et al.*, 2003). نتایج تحقیقات علیزاده نشان داد مرحله برداشت مرزه زراعی بر میزان ترکیبات فنولیک موثر است و بیش‌ترین مقدار آن را در مرحله گلدهی و معادل ۲۵/۱۵ میلی گرم گالیک اسید/گرم وزن خشک گیاه می‌باشد (Alizade, 2011). عدد پراکسید ترکیبات اولیه و عدد تیوباربیتوریک اسید ترکیبات ثانویه اکسیداسیون را نشان می‌دهند (Shahidi, 2002; Lin & Lin, 2004) افزایش میزان TBA تیمارها در طول دوره را می‌توان به اکسیداسیون لیپید و تولید متابولیت‌های فرار در حضور اکسیژن مربوط دانست (Chidanandaiah *et al.*, 2007). عدد تیوباربیتوریک اسید نسبت به هیدروپراکسید، شاخص بهتری در خصوص تغییرات اکسایشی روغن‌ها تلقی می‌گردد. زیرا این ترکیبات حائز پایداری بیش‌تری نسبت به هیدروپراکسیدها هستند (Woyewoda *et al.*, 1986) و نیز سهم عمده‌ای در بروز طعم‌های تند و ناخوشایند روغن‌های اکسیده دارند (Endo *et al.*, 2001). آزمون دستگاهی رنسیمت در بین روش‌های تسریع شده اندازه گیری اکسایش لیپیدی، به واسطه سهولت کار و تکرار پذیری بسیار خوب داده‌ها، در حال حاضر به شدت مورد توجه قرار گرفته است. اساس این آزمون بر اندازه گیری اسیدهای آلی سبک استوار است. روند واکنش‌های اکسایشی چربی‌ها به دوره القای آنتی اکسیدان موجود در سیستم بستگی دارد که تا چه مدت بتواند ۹۰ درصد کارایی خود را حفظ کند (Farhoosh, 2007). معمولاً ایجاد شرایط تسریع کننده در تعیین زمان القاء لیپیدها، در تست رنسیمت، از دماهای ۱۰۰ درجه سلسیوس تا ۱۳۰ درجه سلسیوس و جریان هوای ۲۰ لیتر در ساعت استفاده می‌شود. با توجه به اینکه روغن‌های دریایی نسبت به روغن‌های گیاهی سریع‌تر اکسید می‌شوند (Kulisic *et al.*, 2005) و به اکسیداسیون، حساسیت زیادی دارند، برای آزمون رنسیمت روغن ماهی از رنج دمایی کمتری استفاده می‌شود (Vasantharupasinghe *et al.*, 2010). در آزمون رنسیمت روغن ماهی کیلکا (نمودار ۳) با افزایش غلظت اسانس، زمان القاء و در نتیجه

خاصیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت که این نتیجه با نتایج تحقیقات Kulisic و همکاران (۲۰۰۵) و Mohagheghi Samarini و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت داشت (Mohagheghi Samarini *et al.*, 2012; Kulisic *et al.*, 2005).

نتایج نشان می‌دهد که در تست رنسیمت روغن کلزا، افزایش غلظت اسانس تأثیری بر افزایش زمان القا نداشته است که مشابه نتایج Leonardis و Macciola (۲۰۰۳) می‌باشد. در تحقیقی که Leonardis و Macciola (۲۰۰۳) بر روی روغن جگر ماهی کاد انجام دادند نشان دادند که با افزایش غلظت عصاره کافئیک اسید از ۶۰۰ppm به ۸۰۰ppm و همچنین افزایش سطوح غلظت آنتی اکسیدان سنتزی BHA (۳۰۰ppm، ۶۰۰ppm و ۸۰۰ppm) تفاوت آماری معنی داری در افزایش زمان القا مشاهده نشد (Leonardis & Macciola, 2003).

در پژوهشی که توسط Mhir و همکاران در ارتباط با اثر آنتی اکسیدانی اسانس آویشن، مریم گلی و رزماری بر ثبات اکسیداتیو روغن‌های تصفیه شده انجام گرفت نشان داده شد که هرکدام از اسانس‌ها در پایداری اکسیداتیو روغن‌های مختلف، فاکتور اثر بخشی متفاوتی را نشان دادند (Mhir *et al.*, 2012).

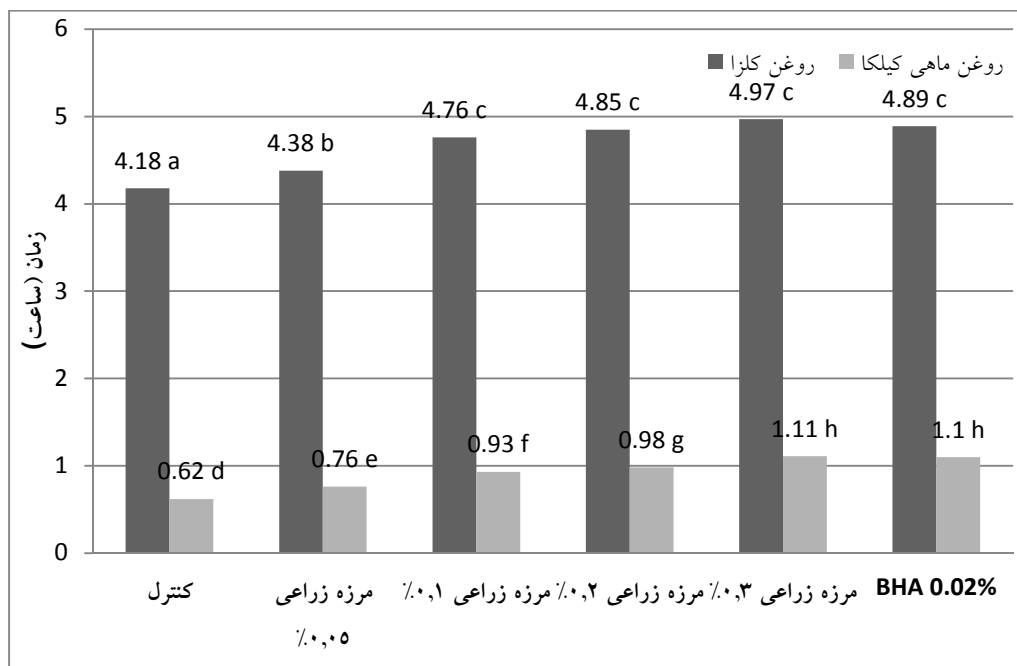
مقایسه میانگین نتایج حاصل از اندازه‌گیری اندیس‌های پراکسید در نمودار ۱ و تیوباربیتوریک اسید در نمودار ۲ نشان می‌دهد که بالاترین میزان این شاخص‌ها، مربوط به نمونه کنترل است که حاوی هیچ گونه آنتی اکسیدانی نبود. با افزایش غلظت اسانس مرزه زراعی، در روغن‌های کلزا و کیلکا اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید به طور معناداری کاهش یافته‌است ($p < 0.05$). لذا می‌توان ادعان داشت که اسانس قادر به کاهش سرعت اکسیداسیون، در شرایط تسریع شده است. اثر آنتی اکسیدانی اسانس مرزه زراعی ۲٪ معادل اثر آنتی اکسیدان سنتزی BHA ۰.۲٪ ارزیابی شد. Shahidi و همکاران، گزارش کردند که اثر آنتی اکسیدانی گیاهان معطر به دلیل حضور گروه‌های هیدروکسیل در ترکیبات فنولیکی آن‌ها می‌باشد (Shahidi *et al.*, 1992). در سال ۱۹۹۹، Yanishlieva و همکاران نشان دادند افزودن غلظت‌های مختلف تیمول و کارواکرول به روغن آفتاب‌گردان روند اکسیداسیون را کند می‌کند و اثر آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی یاد شده وابسته به غلظت بود

مستقیم توسط اکسیژنی که در فازهای لیپیدی و آبی حل شده یا از طریق هوا جذب شده اکسیده می‌شوند (Pokorny *et al.*, 2001). به طور کلی، در خلال فرایند حرارت دهی، ویژگی‌های آنتی اکسیدانی غذاها می‌توانند بدون تغییر باقی بمانند یا دچار افزایش یا کاهش شوند. این تغییرات به تشکیل ترکیبات جدیدی نسبت داده می‌شود که توانایی آنتی اکسیدانی یا پرواکسیدانی بیشتری دارند (Nicole *et al.*, 1999). از دیگر تغییراتی که در این مطالعات ممکن است نادیده گرفته فرایندهایی مانند تبخیر آنتی‌اکسیدان‌های فرار یا به وجود آمدن پرو اکسیدان‌ها می‌باشد (Pokorny *et al.*, 2001). این عامل می‌تواند بر مقاومت غذا حتی بیش‌تر از اکسیده شدن آنتی اکسیدان‌ها تاثیر گذار باشد.

(Yanishlieva *et al.*, 1999).

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که، اسانس مرزه زراعی در سطح غلظت ۰/۳٪ در مقایسه با سایر تیمارها، در خلال واکنش‌های اکسیداسیونی و تبخیر ناشی از فرایند حرارت‌دهی، به طور مناسبی فعالیت آنتی اکسیدانی خود را حفظ کرده است. به طور کلی، مهم‌ترین عامل مؤثر بر کاهش فعالیت آنتی اکسیدان‌ها در نتیجه تغییرات شیمیایی است که در ساختار آن‌ها رخ می‌دهد.

بیش‌ترین تغییرات شیمیایی آنتی‌اکسیدان‌ها، در نتیجه اکسیده شدن آن‌ها در طول حرارت دادن و یا نگهداری محصول رخ می‌دهد. البته تاثیر حرارت دادن بسیار سریع ولی تاثیر نگهداری محصول در دمای پایین کند می‌باشد. در هر دو حالت، آنتی اکسیدان‌ها توسط محصولات حاصل از اکسیداسیون لیپیدها (عمدتاً هیدروپراکسیدها) یا به طور



نمودار ۳- مقایسه میانگین دوره القا در تیمارهای مختلف آنتی‌اکسیدانی در آزمون رنسیتمت

اسانس مرزه زراعی وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت، خاصیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت. نتایج این تحقیق حاکی از جایگزینی مناسب اسانس گیاه مرزه زراعی برای آنتی اکسیدان سنتزی BHA (۲۰۰ ppm) می‌باشد. از آنجائیکه بر طبق استاندارد ملی ایران (۴۱۵۲) حداکثر میزان مجاز پراکسید در روغن سرخ کردنی ۲ میلی اکی والان در کیلوگرم (ISIRI, 4179; 1999) و برطبق کدکس، حداکثر

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که اسانس مرزه زراعی، فعالیت آنتی اکسیدانی مناسبی را در روغن کلزا و روغن ماهی کیلکا نشان می‌دهد. وجود کارواکرول و تیمول (دو ترکیب عمده موجود در اسانس مرزه زراعی) با فعالیت آنتی اکسیدانی بالا بر ویژگی‌های اکسیداسیونی روغن ماهی کیلکا و روغن کلزا تاثیر گذار است. فعالیت آنتی اکسیدانی

during refrigerated storage. *Journal of Muscle Foods*. 20: 275-292.

Choe, E. & Min, D. B. (2007). Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of Food Science*. 72(5): 77-86.

Codex Stan166-1989. (1989). Codex standard for fishoils. Page 7.

EbrahimiNejad, S., Hadian, J., Mirjalili, M. H., Sonboli, A & Yousefzadi, M. (2008). *Journal of Food Chemistry*. 110: 927-931.

Egan, H., Krik, R. S. & Sawyer, R. (1997). *Persons chemical Analysis of food*. ninth edition. pp: 609-634.

Endo, Y., Li, C. M., Tagiri-Endo, M. & Fugimoto, K. (2001). A modified method for the estimation of total carbonyl compounds in heated and frying oils using 2-propanol as a solvent. *Journal of American Oil Chemists Society*. 10: 1021-1024.

Eskin, N. A. M & McDonald, B. E. (1991). Canola oil. *Nutrition Bulletin*. 16(3): 138-146.

Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. & Chi, Y. (2009). Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Journal of Food Chemistry*. 115: 66-70.

Farhoosh, R. (2007). The effect of operational parameters of the rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. *Journal of the American oil Chemists Society*. 84: 205-209.

Fathi, A., Sahari, M. A., Zangiabadi, M. & Barzegar, M. (2011). Application of *Saturejahortensis* L and *ZatariamultifloraBoiss*. Essential oils as two natural antioxidants in soybean oil during microwave heating. *Journal of Medicinal Plants*. 10(39): 13-20.

Fennema, O. R. (1996). *Food chemistry*. New York: MrcelDekker U.S.A.

GhasemiDehkordi, N. (2002). *Iranian Herbal Pharmacopoeia*. Ministry of Health Publisher. Tehran. Pp:795-796.

Hajhashemi, V., Sadraei, H., Ghannadi, A. R. & Mohseni, S. (2000). Antispasmodic and antidiarrhoeaeffect of *Saturejahortensis* L. essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*. 71: 1-2.

Hosseini, M. H., Razavi, S. H. & Mousavi, M. A. (2008). Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal of Food Processing and*

میزان مجاز پراکسید در روغن ماهی ۵ میلی اکی والان گرم در کیلوگرم است (Codex, 1989)، لذا در روغن کلزای حاوی اسانس مرزه زراعی در سطح غلظت ۰/۳٪ میزان پراکسید کمتر از این مقدار می باشد بنابراین می توان از روغن کلزای حاوی ۰/۳٪ اسانس مرزه زراعی در فرآیند سرخ کردن استفاده کرد. نتایج این تحقیق نشان می دهد که میزان اندیس پراکسید در روغن ماهی حاوی اسانس مرزه زراعی در سطوح ۰/۱٪، ۰/۲٪ و ۰/۳٪ و روغن حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHA در سطح غلظت ۰/۰۲٪ پایین تر از ۵ میلی اکی والان گرم در کیلوگرم (حداکثر میزان مجاز) می باشد. بنابراین اسانس مرزه زراعی در سطوح غلظت ۰/۱٪، ۰/۲٪ و ۰/۳٪، اثر آنتی اکسیدانی مناسبی را در روغن ماهی نشان داده است. نتایج نشان می دهند که روغن ماهی کیلکا نسبت به روغن کلزا، حساسیت بیش تری به اکسیداسیون دارد و این به دلیل میزان بالای اسیدهای چرب غیر اشباع در روغن ماهی است.

منابع

Abourg, S. P., Sotelo, C. G. & Perez-Martin, R. (1998). Assessment of quality changes in frozen sardine (*SardinaPilcardus*) by fluorescence detection. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 75(5): 575-580.

Alizade, O. (2011). The effect of harvesting time on total phenolic content and antioxidant activity of five plants of the family labiatae. *Planta Medica*. 77-81.

Asekun, O. T., Grierson, D. S. & Afolayan, A. J. (2007). *Effects of drying methods on the quality and quantity of the essential oil of Menthalongifolia L. subsp. Capensis*. *Journal of Food Chemistry*. 101: 995-998.

Barakat, S. M., Yamazaki, K., Miyashita, K., Shin, I. L. & Suzuki, T. (2006). A new technology for fish preservation by combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds. *Journal of Food Chemistry*. 99: 656-662.

Capecka, E., Mareczek, A. & Leja, M. (2005). Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. *Journal of Food Chemistry*. 93:223-226.

Chidanandaiah Keshri, R. C. & Sanyal, M. K. (2007). Effect of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat paties

Preservation. 33:727-743.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran, *Frying oil for food industries specifications*. ISIRI no 4152, Karaj: ISIRI; 1999 [in Persian].

Khattab, R. Y. & Arntfield, S. D. (2009). Functional properties of raw and processed canola meal. *LWT-Food Science and Thechnology*. 42(6): 1119-1124.

Kripal S, S. (2003). Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. *Journal of Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 38(3): 336-344.

Kulisic, T., Radonic, A. & Milos, M. (2005). Inhibition of lard oxidation by fractions of different essential oils. *Journal of Grass y Aceites*. 56(4): 284-291.

Leonardis, A. & Macciola, V. (2003). Effectiveness of caffeic acid as an antioxidant for cod liver oil. *International Journal of Food Science and Technology*. 38: 475-480.

Lin, C. C. & Lin, C. S. (2004). Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea extracts. *Journal of Food Chemistry*. 16(2): 169-175.

Mhir, S., Sifi, S., Chammem, N., Sifaoui, I., Mejri, A., Hamdi, M. & Abderrabba, M. (2012). Antioxidant effect of essential oils of Thymus, salvia and Rosemarinus on the stability to autoxidation of refined oils. *Annals of Biological Research*, 3(9): 4259-4263

Milan, S. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19:531-537.

MohagheghiSamarin, A., Poorazarazng, H., Hematyar, N. & Elhamirad, A. (2012). *World Applied Sciences Journal*. 18(2): 191-195.

Motalebi, A. A. & Seyfzadeh, M. (2011). Effects of whey protein edible coating on bacterial, chemical and sensory characteristics of frozen common kilka (*clupenelliadelitula*). *Iranian journal of Fisheries Sciences*. 11(1): 132-144.

Navarro-Garcia, G., Pacheco-Aguilar, R., Bringas-Alvaradol, L. & Ortega-Garcia, J. (2004). Characterization of the lipid composition and natural antioxidants in the liver of *dasyaticbrevis* and *gymnuramarmorata* rays. *Journal of Food Chemistry*. 87: 89-96.

Nicole, M. C., Anese, M. & Parpinal, M. (1999). Influence of processing on the oxidant properties of fruit and vegetables. *Trends Food Science Technology*. 10: 94-100.

Niyazmand, R., Farhoosh, R., Razavi, S. M. A., Mousavi, S. M. & ShahidiNoghabi, M. (2011). Investigation of quality and stability of canola oil refined by adding chemical agents and memberan processing. *Procedia Food Science*. 1: 90-94.

Omidbaigi, R. (2000). *Production and processing of medicinal plants*. AstanQuds Publication. Tehran. Pp:397.

Pirestani, S., Sahari. M. A. & Barzegar, M. (2010). Fatty acids changes during frozen storage in several fish species from south Caspian sea. *Journal of Science Technology*. 12: 321-329.

Pokorny, J., Yanishlieva, N. & Gordon, M. (2001). *Antioxidants in food*. 1thed. New York. CRC. Press, USA. pP:107.

Sefidkon, F., Kalvamdi, R., Atri, M. & Barazandeh, M. M. (2004). Essential oil variability of *Thymus eriocalyx*(Ronniger) jalas. *Flavour and Fragrance Journal*. 63: 52-58.

Shahidi, F., Janitha, P. K. & Wanasundara, P. D. (1992). *Journal of Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 32: 67-103.

Shahidi, F. (2002). Meat processing improving quality. Memorial university of Newfoundland. Pp:56.

Shun, Y. M., Wen, Y. H., Yong, C. Y. & Jian, G. S. (2003). Two benzyl dihydroflavones from *phellinusigniarius*. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 40(3): 157-162.

Sidewell, G. G., Salwin, H., Benca, M. & Mitchel, J. A. (1954). The use of tiobarbitoric acid as a measure of fat oxidation. *Journal of the American Oil Chemistry Society*. 31: 603-606.

VasanthaRupasinghe, H. P., Erkan, N. & Yasmin, A. (2010). Antioxidant protection of eicosapentaeonic acid and fish oil oxidation by poly phenolic-enriched apple skin extract. *Journal of Agriculture Food Chemistry*. 58: 1233-1239.

Woyewoda, A. D., Shaw, S. J., Ke, P. J. & Burns, B. G. (1986). Recommended laboratory method for assessment of fish quality. Canadian Technical Report Fisheries and Aquatic Sciences. 1448: 28-36.

Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M., Gordon, M. H. & Raneva, V. G. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Journal of Food Chemistry*. 64: 59-66.

Zambonelli, A., Daulerio, A. Z., Severi, A., Benvenuti, S. & Maggi, L. (2004). *Chemical composition and fungicidal activity*

of commercial essential oils of Thymus vulgaris L. Journal of Essential oil Research. 16(1):69-74.