

اثرات عصاره جلبک *Padina australis* بر فساد اکسایشی چربی در ماهی هامور معمولی طی نگهداری در یخچال

سراج بیتا^۱، لحاک برزگر^۲

۱- نویسنده مسئول: استادیار گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران. پست الکترونیکی: serajbitta@yahoo.com

۲- دانشجوی دکترای فراوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۴/۱۷

تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۲۵

چکیده

سابقه و هدف: اخیراً استفاده از آنتی اکسیدان‌های سنتزی به دلیل دارا بودن ترکیبات شیمیایی و سمی محدود شده است، بنابراین استفاده از ترکیبات طبیعی از جمله جلبک‌های دریایی به عنوان جایگزین ترکیبات سنتزی اهمیت ویژه‌ای در نگهداری محصولات شیلاتی دارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات عصاره جلبک *Padina australis* بر کنترل فساد اکسایشی عضله ماهی هامور معمولی طی نگهداری در یخچال انجام شد.

مواد و روش‌ها: عصاره‌گیری از جلبک با استفاده از متانول انجام شد. ماهیان در ۴ سطح مختلف عصاره شامل سطح صفر (شاهد)، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم در لیتر غوطه‌ور شده و بلافاصله در داخل کیسه‌های پلی اتیلنی در یخچال به مدت ۱۲ روز نگهداری شدند. نمونه‌برداری در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ به منظور سنجش شاخص‌های فساد اکسایشی چربی انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که مقدار عدد پراکسید، تیوباربیتوریک اسید، آنیزیدین و عدد توتوکوس در سطح ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره جلبک نسبت به تیمار شاهد از روز نهم کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). شاخص پیوندهای دوگانه مزدوج در تیمارها و روزهای مختلف بدون تفاوت معنی‌دار بود ($p > 0.05$). مقدار اسیدهای چرب آزاد فقط در تیمار ۶۰۰ میلی گرم در لیتر نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: عصاره جلبک پادینا در غلظت ۶۰۰ میلی گرم در لیتر اثر ضد اکسایشی بیشتری داشته و در این غلظت شاخص‌های فساد اکسیداتیو تا پایان دوره نگهداری در محدوده استاندارد بوده‌اند، بنابراین می‌توان از آن به عنوان جایگزین سنتزی در مواد غذایی استفاده نمود.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان، جلبک پادینا، کنترل کیفیت، هامور معمولی

• مقدمه

ماهی هامور معمولی به راسته سوف ماهیان و خانواده هامورماهیان تعلق دارد که از ماهیان مورد پسند و خوش خوراک در جنوب کشور است و طی نگهداری در یخ بعد از روز پانزدهم دچار فساد کامل می‌شود (۵). اکسیداسیون چربی‌ها در ماهیان طی نگهداری در یخچال به دلیل عدم توانایی آن برای کاهش دمای ماهی به مقدار لازم با گذشت زمان از طریق مجموعه‌ای از واکنش‌های اتوکاتالیتیک انجام می‌پذیرد که سبب تولید تعداد زیادی از ترکیبات جدید می‌شود. بنابراین، به منظور درک بهتر از میزان پیشرفت واکنش‌های اکسایشی در یک نمونه خاص نیاز به سنجش چند نوع شاخص فساد اکسایشی چربی می‌باشد (۶). با توجه به وجود منابع فراوان

ماهیان از جمله مواد غذایی دریایی بسیار فسادپذیر می‌باشند که به دلیل دارا بودن مقدار زیادی اسیدهای چرب غیر اشباع نسبت به اکسیداسیون حساس می‌باشند. بدین جهت فساد اکسیداتیو چربی‌های موجود در ماهی از واکنش‌هایی است که باعث کاهش زمان ماندگاری ماهی نگهداری شده در سرما می‌شود (۱). با توجه به نگرانی‌هایی که در استفاده از برخی افزودنی‌ها به عنوان نگهدارنده و آنتی اکسیدان وجود دارد، تمایل برای استفاده از ترکیبات طبیعی به عنوان آنتی-اکسیدان در غذاها افزایش یافته است. مطالعات انجام شده در زمینه جلبک‌های دریایی نشان می‌دهد که ترکیبات فنولیک موجود در آن‌ها مسئول فعالیت ضد اکسیدانی می‌باشند (۴-۲).

شاخص تیوباربیتوریک اسید: شاخص تیوباربیتوریک اسید طبق روش Siripatrawan و Noipha (۲۰۱۲) بر اساس واکنش بین تیوباربیتوریک اسید و آلدئیدها با استفاده از بوتانول به عنوان حلال نمونه چربی با دستگاه اسپکتروفتومتر و خواندن مقدار جذب در طول موج ۵۳۸ نانومتر اندازه‌گیری شد و میزان تیوباربیتوریک اسید به صورت میلی گرم مالون دی آلدئید بر کیلوگرم نمونه بیان شد (۱۰).

شاخص آنیزیدین، توتوکس و درصد فعالیت ضد اکسایشی: شاخص آنیزیدین طبق روش AOCS (۱۹۹۸) با شماره استاندارد ۹۰-۱۸ Cd بر اساس واکنش بین معرف آنیزیدین رقیق شده در اسید استیک گلاسیال با آلدئیدهای موجود در چربی نمونه انجام شد. در این روش از ایزواکتان به عنوان حلال چربی استخراج شده از ماهی استفاده شد و جذب آن در طول موج ۳۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید (۱۱). درصد فعالیت ضد اکسایشی و شاخص توتوکس که شاخص اکسیداسیون کل می‌باشد نیز به صورت زیر محاسبه شدند (۶).

عدد آنیزیدین + دو برابر عدد پراکسید = عدد توتوکس

$$[100 \times (\text{عدد پراکسید شاهد} / \text{عدد پراکسید نمونه})] - 100 =$$

 درصد فعالیت ضد اکسایشی

شاخص پیوندهای دوگانه مزدوج: سنجش این شاخص بر اساس روش اتحادیه بین المللی شیمی محض و کاربردی (IUPAC, ۱۹۹۲) به شماره استاندارد ۲۰۵۵ با استفاده از ایزواکتان به عنوان حلال چربی انجام شد و جذب نمونه در طول موج ۲۳۳ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (۱۲).

سنجش اسیدهای چرب آزاد: سنجش اسیدهای چرب آزاد با استخراج چربی از عضله ماهی با کمک کلروفرم/متانول با استناد به روش Cozzolino و همکاران (۲۰۰۵) و تیتراسیون محلول حاصل با سود ۰/۱ نرمال در مقابل معرف فنل فتالین انجام شد. میزان اسیدهای چرب آزاد بر اساس میزان مصرفی سود نرمال بر حسب درصد اسید اولئیک محاسبه شد (۱۳).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد. جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بین مقادیر حاصل از هر شاخص در تیمارها و زمان‌های مختلف از روش آنالیز واریانس دو طرفه و پس آزمون توکی استفاده شد.

جلبک‌های دریایی در سواحل جنوبی کشور و اثرات نامطلوب ضد اکساینده‌های مصنوعی، ضروری است که در صنعت شیلات توجه ویژه‌ای به شناسایی و جایگزین نمودن آن‌ها مبذول گردد، بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر عصاره الکلی جلبک *Padina australis* به عنوان ضد اکساینده طبیعی بر کنترل فساد اکسیداتیو و بهبود کیفیت گوشت ماهی هامور معمولی طی نگهداری در یخچال انجام شد.

• مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی نمونه‌های جلبک و ماهی: پس از جمع‌آوری جلبک *Padina australis* از ساحل چابهار، شستشوی آن‌ها چند بار با آب شیرین انجام شد و به مدت یک هفته در سایه خشک شدند (۷)، سپس با دستگاه خردکن به شکل پودر در آورده شدند. برای تهیه عصاره الکلی ۲۵ گرم پودر جلبک با ۲۵۰ میلی‌لیتر متانول ۹۵ درصد مخلوط شد (۸). عصاره حاصله با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد و عمل حلال‌پرانی در زیر هود انجام شد تا تمام متانول از عصاره جدا شود. جهت انجام این تحقیق ۶۰ عدد ماهی هامور معمولی تازه صید شده از ساحل چابهار با میانگین وزنی ($\pm$ انحراف معیار) $49/55 \pm 5/32$ گرم در فصل زمستان استفاده شد. ماهیان به صورت کامل و بدون تخلیه شکمی در ۴ سطح مختلف عصاره جلبکی شامل سطح صفر (شاهد)، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۳۰ دقیقه غوطه‌ور شده و در داخل کیسه‌های پلی‌اتیلنی در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد طی مدت ۱۲ روز نگهداری شدند. نمونه‌برداری از ماهیان جهت سنجش شاخص‌های فساد اکسایشی چربی در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ انجام شد.

شاخص‌های فساد اکسایشی چربی: تعیین عدد پراکسید: به منظور استخراج چربی به ۱۵ گرم نمونه چرخ شده گوشت ماهی ۶۰ سی‌سی متانول و ۶۰ سی‌سی کلروفرم اضافه شد و بعد از ۲۴ ساعت جهت جداسازی فازها ۳۶ سی‌سی آب مقطر به آن اضافه شد و فاز حاوی چربی از سایر مواد جداسازی شد. سنجش عدد پراکسید طبق روش یدومتری ارائه شده توسط Egan و همکاران (۱۹۷۹) انجام شد. اساس کار، تیتراسیون چربی ماهی با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال در حضور یدید پتاسیم و معرف چسب نشاسته می‌باشد. مقدار ید آزاد شده با محلول ۰/۰۱ نرمال تیوسولفات سدیم تا از بین رفتن رنگ آبی و ظهور رنگ شیری تیترا گردید (۹).

• یافته‌ها

داشت ($P < 0.05$). از نظر زمان نگهداری، میزان آن در طول زمان افزایش یافته و بین روز نهم و دوازدهم با بقیه روزهای نگهداری در تیمار شاهد و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر عصاره جلبک از تفاوت معنی داری برخوردار بود ($P < 0.05$). بالاترین میزان آن نیز مربوط به تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر عصاره جلبک و روز دوازدهم نگهداری بود (جدول ۲).

شاخص آنیزیدین: شاخص آنیزیدین عضله ماهی هامور معمولی تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره جلبک نسبت به تیمار شاهد در تمام روزهای نگهداری کاهش معنی داری داشت ($P < 0.05$), اما بین نوع عصاره مصرفی این تفاوت معنی دار نبود ($P > 0.05$). مقدار این شاخص در زمان‌های مختلف نگهداری در تیمار شاهد با گذشت زمان به‌طور معنی-داری افزایش داشته ($P < 0.05$) و در بقیه تیمارها دارای نوسانات افزایشی و کاهشی بوده است (جدول ۳).

عدد پراکسید: عدد پراکسید از روز ششم تا پایان آزمایش در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره جلبک به‌طور معنی داری نسبت به تیمار شاهد کمتر بود ($P < 0.05$), اما بین این دو غلظت اختلاف معنی داری دیده نشد ($P > 0.05$). از نظر زمان نگهداری میزان عدد پراکسید در تمام تیمارها با گذشت زمان افزایش یافت و در آخرین روز نگهداری در تمام تیمارها نسبت به روز صفر تفاوت معنی داری در مقدار آن مشاهده شد ($P < 0.05$). کمترین و بیشترین میزان عدد پراکسید نیز در پایان دوره آزمایش به ترتیب در تیمار ۶۰۰ میلی گرم در لیتر و شاهد بدست آمد (جدول ۱).

تیوباربیتوریک اسید: مقدار آن در عضله ماهی هامور معمولی در روز نهم و دوازدهم نگهداری در تیمار ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم در لیتر نسبت به سایر تیمارها کاهش معنی داری

جدول ۱. مقادیر عدد پراکسید (میلی اکی‌والان بر کیلوگرم) عضله ماهی هامور معمولی نگهداری شده در یخچال در تیمارها و روزهای مختلف

زمان/تیمار	شاهد	غلظت ۱۵۰ ppm	غلظت ۳۰۰ ppm	غلظت ۶۰۰ ppm
روز صفر	0.53 ± 0.09 Bb	0.50 ± 0.06 Bb	0.48 ± 0.03 Bb	0.45 ± 0.08 Bb
روز سوم	0.79 ± 0.05 Bb	0.64 ± 0.01 Bb	0.55 ± 0.06 Bb	0.48 ± 0.04 Bb
روز ششم	0.28 ± 0.34 Ab	3.08 ± 1.03 Ab	0.59 ± 0.05 Ba	0.53 ± 0.06 Ba
روز نهم	0.65 ± 1.02 Ab	4.17 ± 0.86 Ab	2.00 ± 0.29 Aa	1.87 ± 0.15 Aa
روز دوازدهم	7.02 ± 2.35 Ab	4.85 ± 0.98 Ab	2.17 ± 0.44 Aa	2.04 ± 0.68 Aa

حروف کوچک متفاوت هر سطر در تمام جداول نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای مختلف است ($P < 0.05$) و حروف بزرگ متفاوت هر ستون در تمام جداول نشان دهنده تفاوت معنی دار بین روزهای های مختلف است ($P < 0.05$)

جدول ۲. مقادیر تیوباربیتوریک اسید (میلی گرم مالون دی‌آلدئید در کیلوگرم) عضله ماهی هامور معمولی نگهداری شده در یخچال در تیمارها و روزهای مختلف

زمان/تیمار	شاهد	غلظت ۱۵۰ ppm	غلظت ۳۰۰ ppm	غلظت ۶۰۰ ppm
روز صفر	0.09 ± 0.00 Bb	0.88 ± 0.00 Bb	0.95 ± 0.01 Bb	0.09 ± 0.00 Bb
روز سوم	0.11 ± 0.01 Bb	0.95 ± 0.00 Bb	0.89 ± 0.00 Bb	0.10 ± 0.02 Bb
روز ششم	0.15 ± 0.03 Bb	0.13 ± 0.07 Bb	0.12 ± 0.06 Bb	0.14 ± 0.09 Bb
روز نهم	3.90 ± 0.73 Ab	3.75 ± 0.72 Ab	1.53 ± 0.29 Aa	1.70 ± 0.35 Aa
روز دوازدهم	5.12 ± 0.29 Ab	6.06 ± 2.13 Ab	1.75 ± 0.86 Aa	1.73 ± 0.73 Aa

جدول ۳. تغییرات شاخص آنیزیدین عضله ماهی هامور معمولی نگهداری شده در یخچال در تیمارها و روزهای مختلف

زمان/تیمار	شاهد	غلظت ۱۵۰ ppm	غلظت ۳۰۰ ppm	غلظت ۶۰۰ ppm
روز صفر	4.85 ± 0.03 Bb	2.84 ± 0.49 Ba	2.96 ± 0.48 Ba	2.90 ± 0.34 Ba
روز سوم	7.02 ± 0.15 Ab	2.85 ± 0.80 Ba	3.12 ± 0.53 Ba	3.10 ± 0.22 Ba
روز ششم	8.45 ± 1.00 Ab	2.99 ± 0.50 Ba	2.85 ± 0.53 Ba	3.00 ± 0.05 Ba
روز نهم	10.05 ± 0.98 Ab	3.44 ± 0.09 Ba	3.89 ± 0.10 Ba	2.95 ± 0.03 Ba
روز دوازدهم	11.94 ± 2.10 Ab	3.40 ± 0.83 Ba	3.75 ± 0.44 Ba	3.15 ± 0.23 Ba

میلی گرم در لیتر عصاره جلبک بود (جدول ۵)، اما از نظر آماری تفاوت معنی داری با تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر نداشت ($P > 0.05$).

شاخص پیوندهای دوگانه مزدوج: تغییرات این شاخص در تیمارهای مختلف با گذشت زمان منظم نبوده و تفاوت معنی داری در مقدار آن مشاهده نشد ($P > 0.05$). از نظر زمان نگهداری نیز بین روزهای مختلف در هر تیمار فاقد تفاوت معنی دار بوده است ($P > 0.05$). بیشترین میزان آن در روز ششم نگهداری و در غلظت ۱۵۰ میلی گرم در لیتر بدست آمد (جدول ۶).

اسیدهای چرب آزاد: طبق جدول ۷، میزان اسیدهای چرب آزاد در تیمار ۶۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره جلبک نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی داری داشته است ($P < 0.05$) و کمترین میزان آن نیز مربوط به همین تیمار هست. مقادیر اسیدهای چرب آزاد به جز در تیمار ۶۰۰ میلی گرم در لیتر در بقیه تیمارها، در روزهای ۶، ۹ و ۱۲ نسبت به روز صفر و ۳ به طور معنی داری افزایش یافت ($P < 0.05$).

عدد توتوکس: میزان عدد توتوکس از روز سوم نگهداری در تمام تیمارهای حاوی عصاره جلبک نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی داری داشت ($P < 0.05$)، اما در روز صفر در تمام تیمارها نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی داری نداشت ($P > 0.05$). از نظر زمان نگهداری در تمام تیمارها مقدار آن در آخرین روز نگهداری نسبت به روز صفر افزایش معنی داری داشت ($P < 0.05$). بیشترین و کمترین مقدار آن به ترتیب مربوط به روز دوازدهم تیمار شاهد و روز صفر تیمار ۶۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره بود (جدول ۴). مقدار این شاخص در تیمار ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره جلبک در روز ششم نسبت به روز سوم کمتر بود اما از روز نهم تا پایان دوره نگهداری افزایش یافت که این افزایش از روز سوم تا پایان دوره نگهداری تفاوت معنی داری را نشان نداد ($P > 0.05$).

درصد فعالیت ضد اکسایشی: فعالیت ضد اکسایشی عصاره جلبک پادینا پس از ۱۲ روز نگهداری در تیمار ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره جلبکی به طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد و غلظت ۱۵۰ میلی گرم در لیتر بود ($P < 0.05$). هر چند که بیشترین فعالیت ضد اکسایشی مربوط به تیمار ۶۰۰

جدول ۴. مقادیر شاخص توتوکس عضله ماهی هامور معمولی نگهداری شده در یخچال در تیمارها و روزهای مختلف

زمان/تیمار	شاهد	غلظت ۱۵۰ ppm	غلظت ۳۰۰ ppm	غلظت ۶۰۰ ppm
روز صفر	$5/91 \pm 0/06$ Bb	$4/04 \pm 0/28$ Bb	$3/92 \pm 0/35$ Bb	$3/80 \pm 0/21$ Bb
روز سوم	$8/60 \pm 0/1$ Bb	$4/13 \pm 0/31$ Ba	$4/22 \pm 0/057$ Ba	$4/06 \pm 0/13$ Ba
روز ششم	$17/01 \pm 0/67$ Ab	$9/15 \pm 0/76$ Aa	$4/03 \pm 0/29$ Ba	$4/06 \pm 0/055$ Ba
روز نهم	$21/35 \pm 1/0$ Ab	$11/78 \pm 0/48$ Aa	$7/89 \pm 0/196$ Aa	$6/69 \pm 0/09$ Ba
روز دوازدهم	$25/98 \pm 1/54$ Ab	$13/10 \pm 0/90$ a	$8/09 \pm 0/44$ Aa	$7/23 \pm 0/23$ Aa

جدول ۵. فعالیت ضد اکسایشی عصاره جلبک پادینا در عضله ماهی هامور معمولی پس از ۱۲ روز نگهداری در یخچال

نوع تیمار	فعالیت ضد اکسایشی (درصد)
شاهد	$0/00 \pm 0/00$ c
۱۵۰ ppm	$30/92 \pm 1/67$ b
۳۰۰ ppm	$69/09 \pm 1/40$ a
۶۰۰ ppm	$70/95 \pm 1/52$ a

جدول ۶. تغییرات شاخص پیوندهای دوگانه مزدوج (میکرومول بر میلی گرم) عضله ماهی هامور معمولی نگهداری شده در یخچال در تیمارها و روزهای مختلف

زمان/تیمار	شاهد	غلظت ۱۵۰ ppm	غلظت ۳۰۰ ppm	غلظت ۶۰۰ ppm
روز صفر	$0/25 \pm 0/07$ Bb	$0/29 \pm 0/24$ Bb	$0/28 \pm 0/03$ Bb	$0/25 \pm 0/11$ Bb
روز سوم	$0/29 \pm 0/05$ Bb	$0/24 \pm 0/052$ Bb	$0/31 \pm 0/045$ Bb	$0/28 \pm 0/063$ Bb
روز ششم	$0/28 \pm 0/24$ Bb	$0/33 \pm 0/18$ Bb	$0/22 \pm 0/15$ Bb	$0/19 \pm 0/02$ Bb
روز نهم	$0/35 \pm 0/02$ Bb	$0/30 \pm 0/06$ Bb	$0/30 \pm 0/04$ Bb	$0/26 \pm 0/12$ Bb
روز دوازدهم	$0/22 \pm 0/16$ Bb	$0/25 \pm 0/35$ Bb	$0/20 \pm 0/04$ Bb	$0/29 \pm 0/33$ Bb

جدول ۷. مقادیر اسیده‌های چرب آزاد (درصد اسید اولئیک) عضله ماهی هامور معمولی نگهداری شده در یخچال در تیمارها و روزهای مختلف

زمان/تیمار	شاهد	غلظت ppm ۱۵۰	غلظت ppm ۳۰۰	غلظت ppm ۶۰۰
روز صفر	$2/11 \pm 0/21$ Bb	$2/38 \pm 0/28$ Bb	$1/85 \pm 0/05$ Bb	$0/76 \pm 0/02$ Ba
روز سوم	$1/84 \pm 0/13$ Bb	$2/16 \pm 0/33$ Bb	$1/73 \pm 0/08$ Bb	$0/90 \pm 0/02$ Ba
روز ششم	$4/93 \pm 0/28$ Ab	$4/39 \pm 1/16$ Ab	$3/12 \pm 0/99$ Ab	$0/94 \pm 0/08$ Ba
روز نهم	$6/90 \pm 1/28$ Ab	$7/66 \pm 2/12$ Ab	$5/40 \pm 1/24$ Ab	$0/97 \pm 0/06$ Ba
روز دوازدهم	$8/02 \pm 2/37$ Ab	$7/81 \pm 2/09$ Ab	$5/69 \pm 1/16$ Ab	$0/97 \pm 0/04$ Ba

• بحث

عدد پراکسید: شاخص پراکسید میزان کل هیدروپراکسیدها را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از عدد پراکسید در تیمارهای مختلف نشان دهنده کاهش معنی‌دار آن در غلظت‌های ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره جلبکی بعد از روز سوم تا پایان دوره نگهداری می‌باشد ($P < 0/05$). احتمالاً ترکیبات فنولی موجود در جلبک پادینا مانعی در برابر اکسیداسیون اسیده‌های چرب عضله ماهی هامور شده و بنابراین سبب کاهش در مقدار عدد پراکسید نمونه‌های حاوی عصاره جلبک نسبت به تیمار شاهد شده است. همچنین کاهش پراکسید بیانگر ناپایداری بودن پراکسیدها و شکست آن‌ها به فرآورده‌های ثانویه اکسیداسیون است (۱۴). در مطالعات سایر محققین نیز کاهش در میزان عدد پراکسید در گونه‌های مختلف ماهی با استفاده از عصاره‌های طبیعی و گیاهی نسبت به تیمار شاهد گزارش شده است (۱۵، ۱۶). با توجه به نتایج مطالعه حاضر، اثرات عصاره جلبک پادینا بر تغییرات عدد پراکسید به صورت وابسته به افزایش غلظت بوده و کمترین مقدار آن در غلظت ۶۰۰ میلی گرم در لیتر و روز صفر نگهداری بدست آمد. در مطالعه Rattaya و همکاران (۲۰۱۷) نیز مطابق با نتایج مطالعه حاضر خواص ضداکسایشی عصاره الکلی جلبک‌های دریایی *Turbinaria ornate* و *Sargassum polycystum* وابسته به غلظت عصاره بود (۱۷). بر خلاف مطالعه حاضر Zuta و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که محصولات اولیه اکسایش در روغن ماهی ماکرل در حضور غلظت پایین آلفا توکوفرول کاهش یافت (۱۸). میزان عدد پراکسید در ماهی تازه نباید از ۵ میلی اکی والان در هر کیلوگرم چربی تجاوز کند (۱۹)، که در مطالعه حاضر فقط در نمونه‌های شاهد از روز نهم به بالاتر از این میزان رسید ولی در بقیه تیمارها بخصوص تیمار ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره تا پایان دوره نگهداری در حد قابل قبولی بود. عدد پراکسید در تیمار شاهد بین تمام روزها دارای افزایش معنی‌دار بوده است ($P < 0/05$). افزایش آن نشان دهنده توسعه تندی و فساد در نمونه‌های

تیمار شاهد است (۱۹). نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های Gai و همکاران (۲۰۱۴) که به بررسی تأثیر عصاره چای سبز بر میزان ماندگاری لای ماهی (*Tinca tinca*) در دمای یخچال پرداخته بودند (۲۰)، مطابقت ندارد.

تیوباریتوریک اسید: شاخصی برای نشان دادن میزان اکسیداسیون ثانویه چربی است که افزایش آن نشان دهنده پیشرفت اکسیداسیون در ماده غذایی می‌باشد. هر چند که مقدار TBA تمام تیمارها با گذشت زمان افزایش یافت، اما تغییرات آن در تیمار ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم نسبت به شاهد از روز نهم نگهداری تا پایان دوره معنی‌دار بود ($P < 0/05$) که با نتایج مطالعات سایر محققین مطابقت دارد (۲۲، ۲۱). حداکثر میزان قابل قبول پیشنهادی تیوباریتوریک اسید ماهی ۵ میلی گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم نمونه است (۲۳). که در نمونه شاهد و حاوی عصاره با غلظت ۱۵۰ میلی گرم در لیتر در روز ۱۲ اندکی بالاتر از این میزان بود که نشان دهنده کیفیت نامطلوب ماهی در روز دوازدهم در این تیمارها است. کمترین میزان آن در تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر و روز دوازدهم نگهداری بوده است. دلیل پایین بودن میزان آن در نمونه‌های حاوی عصاره نسبت به نمونه شاهد وجود ترکیبات پلی فنلی در عصاره جلبک و تجزیه مالون دی‌آلدئید به آلدئیدها یا کتون‌ها است. نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه Alipour و همکاران (۲۰۱۶) در ارتباط با افزودن عصاره نانو کپسول رازیانه بر فیله فیتوفاگ (۲۴) همخوانی دارد. افزایش TBA در نمونه‌های شاهد را می‌توان ناشی از دهیدروژن شدن چربی ماهی هامور معمولی و افزایش تجزیه هیدروپراکسیدها دانست. **شاخص آنیزیدین:** این شاخص روش اندازه‌گیری مورد استفاده برای محصولات ثانویه اکسیداسیون می‌باشد (۲۵). طبق نتایج میزان آن در تمام غلظت‌های عصاره جلبکی نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). نتایج مشابهی توسط De و Chatterjee (۲۰۱۵) در استفاده از برخی ادویه‌ها بر کیفیت چربی ماهی تیلاپیا طی نگهداری در یخچال گزارش شد (۲۶). کمترین میزان آنیزیدین در غلظت ۱۵۰

آلکالوئید، فلاونوئید، تراپونوئید و ترکیبات فنولی است که ترکیبات فنولی می‌توانند از طریق به دام انداختن رادیکال‌های آزاد خصوصاً رادیکال پروکسی سبب کند نمودن یا خاتمه چرخه واکنش‌های فساد اکسیداتیو شوند (۳۰). طبق مطالعه Rattaya و همکاران (۲۰۱۷) عصاره متانولی استخراج شده از جلبک دریایی *Turbinaria ornate* دارای فعالیت ضد اکسایشی بیشتری در مقایسه با سایر حلال‌ها بوده است (۱۷). در مطالعه غفوری و همکاران (۱۳۹۷) شدت اکسایش چربی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طی نگهداری در یخچال در نمونه‌های تیمار شده با عصاره جلبک *Chlorella vulgaris* به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود (۲۱).

شاخص پیوندهای دوگانه مزدوج: در اثر جابجایی پیوندهای دوگانه به هنگام اکسایش اسیدهای چرب چند غیراشباع تولید می‌شوند. تشکیل مقدار بالای آن ممکن است به دلیل وجود مقادیر زیاد اسیدهای چرب غیر اشباع باشد (۳۱). این شاخص در تمام تیمارها در طول زمان تغییرات منظمی نداشته و مقدار آن هم در تیمارهای مختلف و هم در زمان‌های مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0.05$). در مطالعه Siriwardhana و همکاران (۲۰۰۴) بر روی روغن ماهی تیمار شده با عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای *Hizikia fusiformis* تفاوت معنی‌داری در مقدار این ترکیبات با گروه شاهد مشاهده شد (۳۲) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت ندارد. بیشترین میزان این شاخص در روز نهم نگهداری و در تیمار شاهد به‌دست آمد که نشان دهنده فرایند اکسید شدن بیشتر عضله ماهی هامور معمولی در این تیمار است. در مطالعه Athukorala و همکاران (۲۰۰۳) بر روغن ماهی، مقدار این ترکیبات در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای حاوی عصاره جلبک قرمز و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به سرعت افزایش یافت (۳۳).

اسیدهای چرب آزاد: در مطالعه حاضر میزان اسیدهای چرب آزاد ماهی هامور معمولی در تیمار ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره جلبکی نسبت به سایر تیمارها کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0.05$) که نشان دهنده اثرات عصاره جلبک پادینا در به تأخیر انداختن و جلوگیری از هیدرولیز چربی‌های ماهی هامور معمولی است. در مطالعه اسکندری و همکاران (۱۳۹۲) اختلاف معنی‌دار میزان اسیدهای چرب آزاد ماهی فیتوفاگ در تیمار حاوی عصاره جعفری به خاصیت عصاره در محدود نمودن فعالیت آنزیم‌های کاتالیز کننده هیدرولیز چربی نسبت داده شد (۳۴). میزان اسیدهای چرب آزاد به‌جز در تیمار ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره جلبک در بقیه تیمارها بعد از روز

میلی‌گرم در لیتر عصاره جلبکی و روز صفر بدست آمد. علت کمتر بودن شاخص آنیزیدین در نمونه‌های حاوی عصاره جلبکی را می‌توان به خواص ضد اکسایشی جلبک پادینا نسبت داد که متعاقب آن سرعت تشکیل و شکسته شدن هیدروپراکسیدها کاهش یافته است. در مطالعه صادقی و همکاران (۱۳۹۷) روغن ماهی غنی شده با عصاره جلبک سارگاسوم کمترین مقادیر آنیزیدین را نشان داد (۱۶). بیشترین مقدار عدد آنیزیدین در ماهی هامور معمولی طی نگهداری در یخچال در تیمار شاهد و در روز ۱۲ نگهداری به میزان ۱۱/۹۴ بدست آمد. ماهی تازه با کیفیت بالای چربی دارای عدد آنیزیدین کمتر از ۲۰ است (۱۳) که در مطالعه حاضر تا پایان دوره نگهداری در هیچ کدام از نمونه‌ها به این میزان نرسید. در مطالعه ما با توجه به زمان نگهداری، مقدار این شاخص در تیمار شاهد با گذشت زمان افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$) که علت آن را می‌توان به پایداری کم هیدروپراکسیدها و شکسته شدن آن‌ها به ترکیبات ثانویه حاصل از اکسیداسیون مانند الکل‌ها، کتون‌ها و آلدئیدها نسبت داد (۲۷). در مطالعات Pereira و همکاران (۲۰۱۰)، و Ochrem و همکاران (۲۰۱۵) افزایش شاخص آنیزیدین در طول دوره نگهداری ماهی گزارش شد (۲۹، ۲۸).

شاخص توتوکس: به عنوان شاخص اکسیداسیون کل حاصل جمع دو برابر عدد پراکسید و آنیزیدین می‌باشد. مقدار آن در تیمارهای مختلف عصاره جلبکی نسبت به تیمار شاهد از روز سوم نگهداری کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$) که این مسئله اهمیت عصاره جلبک در به تأخیر انداختن اکسیداسیون چربی در عضله ماهی هامور معمولی را نشان می‌دهد و بنابراین محصولات اولیه و ثانویه حاصل از اکسیداسیون کمتر تشکیل شده‌اند. در تحقیق Pereira و همکاران (۲۰۱۰)، نتایج حاصل از شاخص توتوکس اثرات ضد اکسایشی عصاره گیاهان دارویی بر ماهی آزاد اقیانوس اطلس را تأیید کرد (۲۸). با توجه به زمان نگهداری، میزان عدد توتوکس در تمام تیمارها در روز آخر نگهداری نسبت به روز صفر به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0.05$) که این افزایش از نظر زمانی در تحقیق Ochrem و همکاران (۲۰۱۵) گزارش شده است (۲۹).

درصد فعالیت ضد اکسایشی: پس از پایان ۱۲ روز نگهداری بیشترین فعالیت ضد اکسایشی عصاره جلبک پادینا مربوط به بالاترین غلظت عصاره بود که نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری داشته است ($P < 0.05$). عصاره جلبک پادینا دارای مواد موثره از قبیل

بر اساس یافته‌های این تحقیق استفاده از عصاره جلبک پادینا در غلظت ۶۰۰ میلی گرم در لیتر تاثیر مهمی بر کاهش برخی از شاخص‌های فساد اکسایشی چربی این ماهی داشته و بهترین کیفیت در غلظت ۶۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره جلبکی بدست آمد.

سوم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$). افزایش در میزان اسیدهای چرب آزاد ماهی به‌واسطه هیدرولیز چربی‌ها در اثر واکنش‌های اکسایشی می‌باشد. مطابق نتایج مطالعه حاضر روند افزایشی اسیدهای چرب آزاد با گذشت زمان در ماهی شوریده نیز گزارش شده است (۳۵).

References

- Erkmen O, Bozoglu TF. Food preservation by low temperatures. Food Microbiology: Principles into Practice. John Wiley and Sons, Ltd, Chichester, UK. 2016.
- Rodrigues D, Alves C, Horta A, Pinteus S, Silva J, Culioli G, Thomas O, Pedrosa R. Antitumor and antimicrobial potential of bromoditerpenes isolated from the red alga, *Sphaerococcus coronopifolius*. Mar Drugs. 2015 Feb;13(2):713-26.
- Moubayed NM, Al Hourri HJ, Al Khulaifi MM, Al Farraj DA. Antimicrobial, antioxidant properties and chemical composition of seaweeds collected from Saudi Arabia. Saudi J Biol Sci. 2017 Jan 1;24(1):162-9.
- Silva J, Alves C, Freitas R, Martins A, Pinteus S, Ribeiro J, Gaspar H, Alfonso A, Pedrosa R. Antioxidant and Neuroprotective Potential of the Brown Seaweed *Bifurcaria bifurcata* in an in vitro Parkinson's Disease Model. Mar Drugs. 2019 Feb;17(2):85.
- Bitá S, Najafzadeh-varazi H, Kochanian P, Fazlara A, Mohammadian T. 2010. A study on histamine and bacterial changes in orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* during ice storage. Iranian Nat Res J. 2010; 63(4): 287-299. [in Persian].
- Frankel EN. Methods to determine the extent of oxidation, in Frankel EN (Ed). Lipid Oxidation, 2 nd ed vol. 18. England: The Oily Press; 2005 : 99-127.
- Singaravelu G, Arockiamary JS, Kumar VG, Govindaraju K. A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum wightii* Greville. Colloids Surf B: Biointerfaces. 2007 May 15;57(1):97-101.
- Chander MP, Veeraragavam S, Vijayachari P. Antimicrobial and hemolytic activity of seaweed *Padina gymnospora* from South Andaman, Andaman and Nicobar Islands of India. Int J Curr Microbiol App Sci. 2014;3:364-9.
- Egan H, Sawyer R. Pearson's chemical Analysis of food. 9th. Edition, Edinburgh, Scotland, Churchill. Livingstone, UK. 1997:609-34.
- Siripatrawan U, Noipha S. Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. Food Hydrocoll. 2012 May 1;27(1):102-8.
- AOCS DF. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. AOCS. 1998; 5:2-93.
- IUPAC. Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates, 7th edition, C. Paquot & A. Hautfenne (Eds.), International Union of Pure and Applied Chemistry. Blackwell Scientific Publications Inc, Oxford. 1992; 1-151.
- Cozzolino D, Murray AI, Chree A, Scaife JR. Multivariate determination of free fatty acids and moisture in fish oils by partial least-squares regression and near-infrared spectroscopy. LWT-Food Science and Technology. 2005 Dec 1;38(8):821-8.
- Morales-Medina R, García-Moreno PJ, Muñío MM, Guadix A, Guadix EM. Optimization of α -tocopherol and ascorbyl palmitate addition for the stabilization of sardine oil. Grasas Aceites. 2015 Jun 30;66(2):069.
- Jorjani S, Galichi A, Hedayati Fard M. Effect of chitosan coating enriched with rice-bran extract on the shelf-life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during cold storage. J Food Indust Res. 2018 Sep 23;28(3):153-67. [in Persian].
- Sadeghi N, Ojagh SM, Shabanpour B, Hosseini Sh. Microencapsulation of *Sargassum* sp. extract in order to improve stability and reinforcement of its antioxidant effect on fish oil. Iranian J Food Sci Tech. 2018 Dec 6; 15 (82): 201-212.[in Persian].
- Rattaya S, Benjakul S, Prodpran T. Extraction, antioxidative, and antimicrobial activities of brown seaweed extracts, *Turbinaria ornata* and *Sargassum polycystum*, grown in Thailand. Int J Aquatic Res. 2015 Mar 1;7(1):1-6.
- Zuta PC, Simpson BK, Zhao X, Leclerc L. The effect of α -tocopherol on the oxidation of mackerel oil. Food Chem. 2007 Jan 1;100(2):800-7.
- Tzikas Z, Ambrosiadis I, Soutlos N, Georgakis S. Quality assessment of Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) and blue jack mackerel (*Trachurus picturatus*) during storage in ice. Food Control. 2007 Oct 1;18(10):1172-9.
- Gai F, Gasco L, Ortoffi M, Gonzáles-Rodríguez Á, Parisi G. Effects of green tea natural extract on quality parameters and lipid oxidation during storage of tench (*Tinca tinca*) fillets. J Appl Ichthyol. 2014 Jun;30:64-71.
- Ghafari FS, Shabani Sh, Akhondzadeh Basti A. Study of the Antibacterial and Antioxidative Effects of *Chlorella vulgaris* Algae Extract on the Quality of Rainbow Trout during Storage at 4°C. Food Sci and Nutr. 2017; 15 (3): 51-64. [in Persian].
- Peiretti P, Gai F, Ortoffi M, Aigotti R, Medana C. Effects of rosemary oil (*Rosmarinus officinalis*) on the shelf-life of minced rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during refrigerated storage. Foods. 2012 Dec 4;1(1):28-39.
- Sallam KI. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in

- refrigerated sliced salmon. Food control. 2007 May 1;18(5):566-75.
24. Mazandrani HA, Javadian S, Bahram S. The effect of encapsulated fennel extracts on the quality of silver carp fillets during refrigerated storage. Food Sci Nutr. 2016 Mar;4(2):298-304.
 25. Oliveira A, Miller M. Purification of Alaskan walleye pollock (*Gadus chalcogrammus*) and New Zealand hoki (*Macruronus novaezelandiae*) liver oil using short path distillation. Nutrients. 2014 May;6(5):2059-76.
 26. De B, Chatterjee S. Impact of assorted spices on lipid quality alteration of refrigerated fish muscle. Int Food Res J. 2015 Jan 1; 22(1).
 27. Sunisa W, Worapong U, Sunisa S, Saowaluck J, Saowakon W. Quality changes of chicken frying oil as affected of frying conditions. Int Food Res J. 2011 May 1;18(2).
 28. Pereira DA, Paseiro L, Maroto J, Cruz JM. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Food Res Int. 2010;43(5):1277-82.
 29. Ochrem AS, Żychlińska-Buczek J, Zapletal P. Carp (*Cyprinus carpio* L.) lipid oxidation during cold storage. Arch Pol Fisheries. 2015 Jun 1;23(2):101-6.
 30. Thamizharasan S. Phytochemical compounds of *Padina gymnospora* and its mic effects. J Pharm Innov. 2018; 7(11): 512-515.
 31. Liu HR, White PJ. Oxidative stability of soybean oils with altered fatty acid compositions. J Am Oil Chem Soc. 1992 Jun;69(6):528-32.
 32. Siriwardhana N, Lee KW, Kim SH., Ha JH, Park GT, Jeon YJ. 2004. Lipid peroxidation inhibitory effects of Hizikia fusiformis methanolic extract on fish oil and linoleic acid. Food Sci Technol Int. 2004 Apr;10(2): 65-72.
 33. THUKORALA Y, LEE KW, SHAHIDI F, HEU MS, KIM HT, LEE JS, JEON YJ. Antioxidant efficacy of extracts of an edible red alga (*Grateloupia filicina*) in linoleic acid and fish oil. J Food Lipids. 2003 Dec;10(4):313-27.
 34. Eskandari S, Hosseini H, Hosseini E, Shiraei Kasmaei A. Antioxidant and antibacterial effects of parsley extract (*Petroselinum crispum*) on silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets during refrigeration. Iranian Nutr Sci Food Tech J. 2013 Sep 15;8(2):165-72. [in Persian].
 35. Khodanazari A, Pourashouri P. Chemical, microbiological and sensory changes in whole and gutted tiger tooth croaker (*Otolithes ruber*) during ice storage. J Vet Res Biol Products. 2017 Oct; 30 (4): 155-167. [in Persian].

Effect of *Padina australis* Alga Extract on Fat Oxidative Degradation in *Epinephelus coioides* during Refrigerated Storage

Bita S^{*1}, Barzgar L²

1-^{*}Corresponding author Assistant prof, Dept. of Fisheries Engineering, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran, Email: serajbita@yahoo.com

2- Ph.D student of Fisheries Products Processing, Agriculture and Natural Resource University of Gorgan, Gorgan, Iran

Received 8 Jul, 2019

Accepted 17 Oct, 2019

Background and Objectives: Recently, the use of synthetic antioxidants has been limited due to having chemical and toxic compounds, so the use of natural compounds such as algae, as an alternative to synthetic compounds, is important for the storage of fishery products. The aim of this study was to investigate the effect of *Padina australis* alga extract on controlling the oxidative spoilage of muscle of *Epinephelus coioides* during refrigerated storage.

Materials & Methods: Extraction of algae was performed using methanol. The fish were immersed in four different levels of the extract including 0 (control), 150, 300 and 600 mg/L, and were immediately stored in refrigerated polyethylene bags for 12 days. Sampling was carried out on days 0, 3, 6, 9 and 12 to measure lipid oxidative indices.

Results: The results showed that the amount of peroxide, thiobarbituric acid, anisidine and Totox value at 300 and 600 mg/l levels of algae extract decreased significantly from day 9 comparing to the control treatment ($p < 0.05$). There was no significant difference between the conjugated dienes' indices in different treatments and days ($p > 0.05$). The amount of free fatty acids only decreased in the 600 mg/L treatment comparing to the control treatment ($p < 0.05$).

Conclusion: Algae extract at 600 mg/L concentration had high antioxidant effect; in this concentration, oxidative degradation indicators were in the standard range until the end of the storage, so it can be used as an alternative to synthetic compounds in food.

Keywords: Antioxidant, Algae extract, Quality control, *Epinephelus coioides*