

فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره پوست نارنج و تأثیر آن بر اکسیداسیون چربی گوشت خام و

پخته ماهی *Hypophthalmichthys molitrix*

زهرا گلی^۱، مصطفی لکزایی^۱، مهدی پور امیر^۲

۱- کارشناس ارشد بیوشیمی، گروه بیوشیمی بیوفیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی باهنر

۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه بیوشیمی بیوفیزیک، مرکز تحقیقات سلولی- ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی باهنر

پست الکترونیکی: Pouramir@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۸۹/۱/۲۹

تاریخ دریافت: ۸۸/۷/۱

چکیده

سابقه و هدف: پوست مرکبات، محصول فرعی صنایع آبمیوه، یک منبع آنتیاکسیدانی طبیعی است. نیاز به آنتیاکسیدان‌های طبیعی در صنایع غذایی، آرایشی و دارویی باعث تحقیقات علمی گسترده‌ای در این زمینه در دهه‌های اخیر شده است. هدف از این پژوهش، بررسی فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره پوست داخلی (مزوکارپ) نارنج و تعیین پایداری آن با روش FRAP و اثر حفاظتی آن بر اکسیداسیون لیپیدی گوشت خام و پخته ماهی با استفاده از آزمایش TBARS بود.

مواد و روش‌ها: پوست داخلی (مزوکارپ) نارنج با حلال آتانول عصاره‌گیری و محلول آبی عصاره در شرایط متفاوت (روشنایی، تاریکی آزمایشگاه، یخچال و فریزر) و به مدت یک ماه ذخیره شد. میزان فعالیت آنتیاکسیدانی و دوام این فعالیت در محلول آبی عصاره در شرایط متفاوت ذخیره‌سازی با روش FRAP (Ferric reducing antioxidant power) و اثر حفاظتی آن بر اکسیداسیون چربی با آزمایش TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) در کوتاه مدت (۰-۹۰ دقیقه) و بلند مدت (۴ روز) بررسی شد.

یافته‌ها: مقدار FRAP محلول آبی $1/1$ درصد عصاره در زمان صفر ۵۷۰ میکرومولار بود که این مقدار در دمای آزمایشگاه و طی یک ماه در حدود ۱۴٪ کاهش یافت ($p=0.007$). مقدار FRAP محلول آبی $0/005$ درصد ویتامین C در زمان صفر ۵۴۱ میکرومولار بود که این مقدار در دمای آزمایشگاه و پس از یک ماه در حدود ۷۷٪ کاهش یافت ($p<0.001$). مقدار TBARS در نمونه ماهی خام فاقد عصاره، در زمان صفر ۱/۳۲ میکرومولار بود که پس از طی ۱۴ روز به $3/173$ میکرومولار افزایش یافت؛ در حالی که در نمونه حاوی محلول آبی ۵٪ عصاره این مقدار از $0/92$ میکرومولار در زمان صفر به $1/09$ میکرومولار افزایش یافت ($p<0.05$). مقدار TBARS در نمونه ماهی پخته فاقد عصاره، در زمان صفر $2/28$ میکرومولار بود که پس از طی ۱۴ روز به $5/85$ میکرومولار افزایش یافت ($p<0.001$) در حالی که در نمونه حاوی محلول آبی ۵٪ عصاره این مقدار از $1/77$ میکرومولار در زمان صفر به $3/11$ میکرومولار طی این مدت رسید ($p<0.001$).

نتیجه گیری: نتایج حاصل نشان دهنده وجود فعالیت آنتیاکسیدانی با دوام بالا در مدت ذخیره سازی و اثر حفاظتی عصاره مزوکارپ نارنج بر اکسیداسیون چربی بود.

واژگان کلیدی: پوست نارنج، آنتیاکسیدان، اکسیداسیون چربی، FRAP، TBARS، گوشت ماهی

۰ مقدمه

بین مصرف بالای میوه و کاهش نرخ مرگ و میر و شیوع بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان پی بردہ‌اند^(۳). از یک سو، در صنعت غذا و مصارف خانگی، مقدار زیادی محصول فرعی تولید می‌شود که خواستار حذف آن هستند. مواد گیاهی که به عنوان مواد زائد در این صنعت تولید می‌شود، میزان بالایی ترکیبات فلی دارند که برای محیط زیست مضر است^(۴)، ولی از سوی دیگر، اثرات مثبت آنها

RNS و ROS به ترتیب گونه‌های فعل اکسیژنی و نیتروژنی هستند که نقش آنها در بسیاری از فرایندهای پاتولوژیک و بیماری‌ها مشخص شده است^(۱). میوه‌ها برای سلامتی بدن مفید هستند و در سال‌های اخیر توجه بیشتری به محتوا و فعالیت آنتیاکسیدانی میوه‌ها و اثر آنها در کاهش تخریب ملکول‌های بیوشیمیایی شده است^(۲). زیرا محققان در مطالعات اپیدمی شناسی به رابطه

شد. سپس توسط دستگاه آسیاب کننده (TEAFALL) پودر و از غربال با مش $80\text{ }\mu\text{m}$ عبور داده شد.

آماده‌سازی عصاره: طبق روش Li و همکاران (۱۴) ۴۰ گرم پودر مزوکارپ نارنج، در 320 ml اتانول 72 % (Merck آلمان) مخلوط شد و به مدت 3 ساعت در بن ماری 80°C قرار داده شد. سوسپانسیون حاصل در لوله‌های آزمایش ریخته شد و به مدت 10 دقیقه در 3000 rpm 3000 rpm سانتریفیوژ شد. مایع رویی با کاغذ صافی واتمن شماره 42 صاف شد و تفاله باقیمانده تحت شرایط ذکر شده دوباره عصاره‌گیری شد. در مرحله بعد، محلول‌های حاصل از صاف کردن با یکدیگر مخلوط شد و با استفاده از دستگاه تبیخیر کننده چرخان (IKA-Werk) تغليظ شد. ماده تغليظ شده، در زیر هود و در دمای اتاق خشک شد و سپس تا زمان مصرف در فریزر 20°C - 20°C -نگهداری شد.

سنچش FRAP: روش شرح داده شده توسط Benzie و Strain (۱۵) مورد استفاده قرار گرفت. معرف TPTZ 10 mM حاوی $2/5\text{ ml}$ از محلول FRAP 40 mM در HCl (۲,4,6-tripyridy- s- triazin) به اضافه $2/5\text{ ml}$ از 20 mM FeCl_3 و 25 ml از بافر استات 0.3 M با $\text{pH}=3/6$ تازه تهیه شد و به دمای 37°C رسانده شد. برای انجام این آزمایش ابتدا محلول آبی 0.025 M و 0.005 M درصد (w/v) عصاره و محلول آبی 0.005 M درصد (w/v) اسید آسکوربیک به عنوان کنترل مثبت تهیه شد و از صافی استریل و سرسه قرار گرفت. ظرف‌ها در 4°C مکان، روشنایی (دمای آزمایشگاه)، در تاریکی (دمای آزمایشگاه) یخچال (4°C) و فریزر (-20°C) قرار گرفتند.

محلول‌ها در زمان‌های مشخص شده (زمان صفر، روزهای 3 ، 7 ، 14 و 30) آزمایش شدند. به این صورت که $1/5\text{ ml}$ از محلول تازه تهیه شده FRAP (به نسبت $1:10$) از بافر استات، کلرید آهن و معرف TPTZ (شرکت Sigma آمریکا) درون لوله‌های آزمایش ریخته شد و به مدت 5 دقیقه در بن ماری 37°C قرار داده شد. سپس 1 ml نمونه به لوله مربوطه اضافه شده و به مدت 10 دقیقه در بن ماری 37°C قرار داده شد. جذب در طول موج 593 nm با دستگاه اسپکتروفوتومتر در مقابل شاهد ($1/5\text{ ml}$ محلول FRAP و 1 ml آب مقطر) خوانده شد.

بر سلامتی انسان و خاصیت آنتیاکسیدانی آنها ثابت شده است (۵) نکته جالب اینکه دانه و پوست برخی میوه‌ها فعالیت آنتیاکسیدانی بیشتری نسبت به گوشت (Pulp) آنها دارند (۳). نارنج از گونه مركبات است و طی تحقیقات به عمل آمده، پوست آن را می‌توان یک منبع مناسب آنتیاکسیدان دانست (۶) که سطح بالایی فلاوانون دارد (۷). به علاوه، انواع گوناگونی از فلاوانوئیدها با غلظت‌های متفاوت در پوست نارنج وجود دارند (۸).

تغییرات اکسیداتیو علاوه بر اثرات نامطلوب در سیستم‌های بیولوژیک، مسئول ایجاد طعم و پایین آمدن کیفیت غذا و فساد مواد غذایی است (۴). در ماهی، هیدرولیز و اکسیداسیون، هر دو باعث فساد و ایجاد طعم و بوی بد و تغییر در رنگ گوشت می‌شود (۹). هیدرولیز به وسیله لیپازها و فسفولیپازها القا می‌شود و اسید چرب آزاد می‌کند که تحت اکسیداسیون، ترکیباتی با وزن ملکولی کم تولید می‌کند (۱۰). این فرایند با حضور رادیکال‌های آزاد همراه است و به تولید آبدیدهایی مانند مالون دی‌آلدیید منجر می‌شود که مسئول پیشرفت فساد و ایجاد طعم و بوی بد و تغییر در رنگ گوشت می‌شوند (۱۱). اکسیداسیون لیپیدی در ماهی می‌تواند تحت تأثیر عوامل بیرونی و درونی از قبیل ترکیب اسید چرب، غلظت پرواکسیدان‌ها، آهن فررو (Fe^{+2}) انوژن، میوگلوبین، آنزیم‌ها، pH، دما، اکسیژن و نیروی یونی قرار گیرد (۱۲).

برای مهار این تغییرات از آنتیاکسیدان‌ها استفاده می‌شود. بیشتر آنتیاکسیدان‌هایی که در صنعت به کار می‌روند، مانند: BHA (بوتیلید هیدروکسی آنیزول) و BHT (بوتیلید هیدروکسی تولوئن) مصنوعی هستند. در مطالعات انجام شده، اثرات سمی و سرطان‌زاوی برخی آنتیاکسیدان‌های مصنوعی نشان داده شده است (۱۳)

هدف از انجام این مطالعه، بررسی فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره پوست داخلی (مزوکارپ) نارنج و بررسی پایداری آن با روش FRAP و اثر حفاظتی اش بر اکسیداسیون لیپیدی گوشت خام و پخته ماهی با استفاده از آزمایش TBARS بود.

• مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه: نارنج (*Citrus aurantium*, L.) از باغ‌های منطقه واجارگاه (رودسر) تهیه شد. پوست داخلی (مزوکارپ) نارنج محلی جدا و در دمای حدود 30°C خشک

دقیقه در ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ و جذب مایع رویی در طول موج ۵۳۲ nm با دستگاه اسپکتروفوتومتر در مقابل شاهد خوانده شد. اندازه‌گیری با سه بار تکرار انجام شد.

آنالیز داده‌ها: نتایج به صورت Mean \pm SD گزارش شد و با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) از نظر آماری بررسی و $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

• یافته‌ها

در عصاره‌گیری از ۴۰ g پودر، g ۱۰/۲ عصاره حاصل شد که راندمانی برابر با ۰/۲۶٪/۰/۲۵٪ داشت.

سنچش FRAP: مقادیر FRAP حاصل از آزمایش روی محلول آبی ۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۰ درصد عصاره مزوکارپ نارنج نشان دهنده افزایش خاصیت آنتی‌اسیدانی با افزایش غلظت عصاره است ($p < 0.001$) (شکل ۱).

مقدار FRAP محلول آبی ۰/۱ درصد عصاره در زمان صفر برابر ۵۷۰ μ M بود. مقایسه مقادیر FRAP در طول زمان در هر سری از نمونه‌های مربوط به روشنایی، تاریکی، یخچال و فریزر نشان داد که در هر چهار شرایط با افزایش زمان، مقادیر FRAP با کمی نوسان کاهش یافت؛ ولی این کاهش فقط در شرایط تاریکی آزمایشگاه معنی دار بود ($p < 0.05$). حداقل این کاهش در روز ۱۴ و در حدود ۱۴٪ بود ($p = 0.007$). (شکل ۲).

ویتامین C: مقدار FRAP محلول آبی ۰/۰۰۵ درصد ویتامین C در زمان صفر برابر ۵۴۱ μ M بود. مقادیر FRAP حاصل از آزمایش بر روی نمونه‌ها (غیر از شرایط فریزر) طی یک ماه نشان دهنده کاهش در طول زمان بود. به طوری که نمونه‌های روشنایی، تاریکی و یخچال پس از یک ماه به ترتیب ۷۴٪/۷۷٪ (۰/۰۰)، ۷۷٪ (۰/۰۰) و ۷۲٪ (۰/۰۰۱) کاهش یافته‌ند. اما در مورد نمونه‌های فریزر، پس از یک ماه افزایش ۱۵ درصدی مشاهده شد (۰/۰۰۲)، (شکل ۳).

TBARS کوتاه مدت: غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵٪ عصاره، TBARS را در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه نسبت به کنترل کاهش داد ($p < 0.05$). بیشترین کاهش مربوط به غلظت ۰/۵٪ عصاره بود که تغییرات TBARS آن در طول زمان معنی دار نبود. (شکل ۴)

غلظت آنتی‌اسیدانی نمونه‌های آزمایش با استفاده از نمونه‌های استاندارد $FeSO_4$ در غلظت‌های ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار) و رسم منحنی استاندارد محاسبه شد.

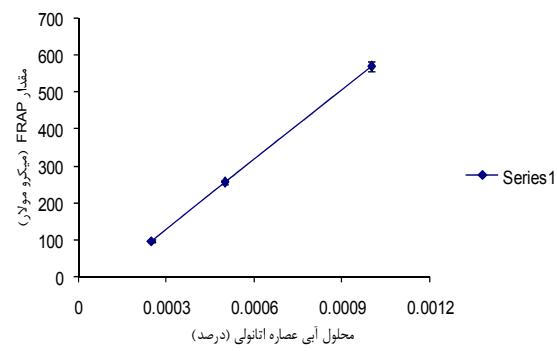
TBARS کوتاه مدت: روش Ahn و همکاران (۱۶) با کمی تغییرات (جاگزینی BHT ۰/۰۱ درصد با ۷/۲ درصد) مورد استفاده قرار گرفت. برای تهیه محلول TBARS، محلول TBA/TCA (۲۰ mM) (تیوبارتیتوريک اسید در تری کلرواستیک اسید ۱۵٪) و محلول BHT ۰/۰۱ درصد اتانولی تهیه شد.

برای سنجش فعالیت آنتی‌اسیدانی در سیستم گوشتی، روش Moller و همکاران (۱۷) به کار رفت. ماهی Hypophthalmichthys molitrix خردباری شد. گوشت همگن ماهی (۰/۱٪ w/v در آب مقطر) و محلول آبی ۰/۱، ۱ و ۵٪ عصاره (w/v) آماده شد. ابتدا ۴ ml از گوشت همگن به همه لوله‌های آزمایش اضافه شد. به لوله‌های آزمایش ۱ ml ۵۰۰ از عصاره و به لوله کنترل منفی ۶۰ ml آب مقطر افزوده شد. لوله‌ها به مدت صفر، ۳۰، ۴۰ و ۹۰ دقیقه در بن ماری ۳۷°C قرار داده شدند. سپس ۴ ml محلول TBA(Merck)/TCA و ۱ ml ۵۰۰ محلول ۰/۰۱ BHT در درصد اتانولی به همه لوله‌ها اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری جوش قرار داده شد. لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ و جذب مایع رویی در طول موج ۵۳۲ nm با دستگاه اسپکتروفوتومتر در مقابل شاهد خوانده شد. اندازه‌گیری با سه بار تکرار انجام شد.

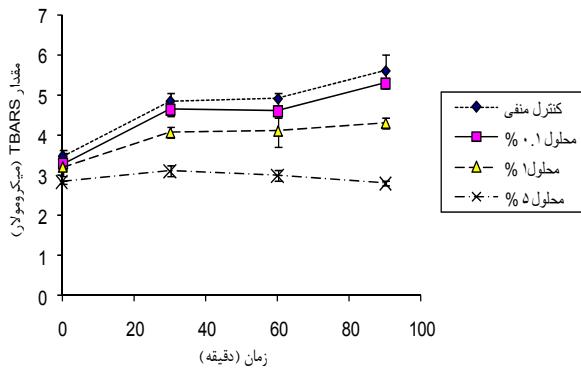
TBARS بلند مدت: ابتدا ۴ ml از گوشت همگن به همه لوله‌های آزمایش اضافه شد. نیمی از لوله‌های آزمایش ۱۵ دقیقه در بن ماری جوش قرار داده شد. سپس به لوله‌های آزمایش ۱ ml ۵۰۰ از عصاره و به لوله کنترل منفی ۱ ml ۵۰۰ آب مقطر و به لوله کنترل مثبت ۱ ml ۵۰۰ محلول ۰/۰۱ BHT در درصد اتانولی اضافه شد. همه لوله‌ها تا زمان معین در شرایط تاریکی در یخچال (۴°C) قرار داده شدند. لوله‌ها در ۴ نقطه زمانی (صفر، روزهای ۳، ۷ و ۱۴) آزمایش شدند. به طوری که پس از خروج از یخچال و رسیدن دمای لوله‌ها به دمای آزمایشگاه ۴ ml محلول TBA/TCA و ۱ ml ۵۰۰ محلول BHT ۰/۰۱ درصد اتانولی به همه لوله‌ها اضافه شد. لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری جوش قرار داده شد. بعد به مدت ۱۵



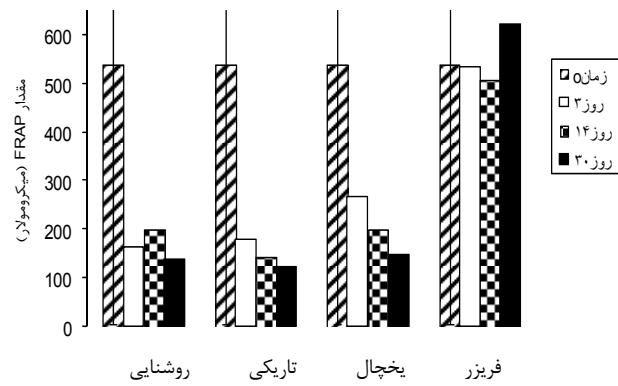
شکل ۲- مقادیر FRAP (میکرو مولار) محلول آبی ۰/۰ درصد عصاره اتانولی مزوکارپ نارنج در طول زمان و در شرایط متفاوت نگهداری



شکل ۱- مقادیر FRAP (میکرو مولار) غلظت‌های محلول آبی عصاره اتانولی مزوکارپ نارنج



شکل ۴- مقادیر TBARS (میکرو مولار) کوتاه مدت گوشت ماهی آزاد در دوره صفر تا ۹۰ دقیقه در نمونه‌های کنترل منفی و نمونه‌های دارای عصاره اتانولی مزوکارپ نارنج

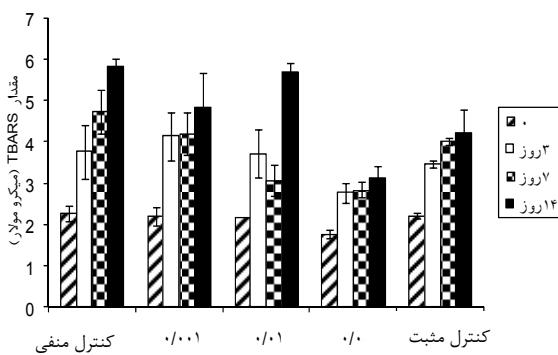


شکل ۳- مقادیر FRAP (میکرو مولار آبی ۰/۰۰۵ درصد ویتامین C در طول زمان و در شرایط متفاوت نگهداری

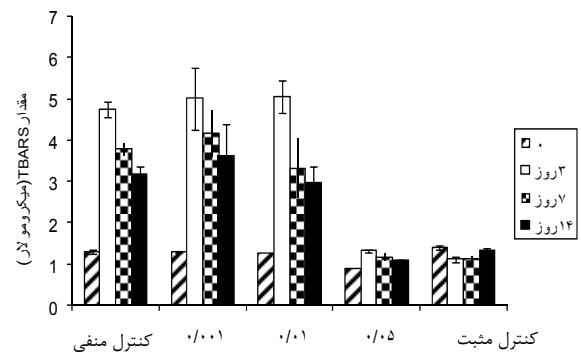
در نمونه‌های مربوط به ماهی خام، اختلاف مقدار TBARS عصاره ۰/۵٪ و اتانولی ۰/۰۱ درصد (۳ تا ۱۴ روز) معنی‌دار نبود. در کنترل منفی و نمونه حاوی عصاره‌های ۰/۱٪ و ۰/۱٪، یک پیک در مقادیر TBARS روز سوم مشاهده شد که در روز هفتم و سپس چهاردهم مقادیر کاهش یافت (شکل ۵).

مقدار TBARS در نمونه‌های ماهی پخته دارای عصاره ۰/۱٪ و کنترل مثبت در زمان‌های ۳ تا ۱۴ روز نسبت به زمان شروع آزمایش افزایش یافت ($p < 0/05$) ولی تفاوت بین روزهای ۳، ۷ و ۱۴ معنی‌دار نبود. در مورد عصاره ۰/۱٪ بیشترین مقدار TBARS در روز ۱۴ مشاهده شد ($p < 0/05$). (شکل ۶).

TBARS بلند مدت: با افزایش غلظت عصاره، میزان جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدی گوشت ماهی خام افزایش یافت ($p < 0/05$) و محلول آبی عصاره با غلظت ۰/۵٪ کمترین مقادیر TBARS در ماهی خام و پخته را نشان داد. مقدار TBARS در نمونه ماهی خام فاقد عصاره، در زمان صفر ۱/۳۲ μM بود که پس از ۱۴ روز به ۰/۳۱۷ μM یافت؛ در حالی که در نمونه حاوی محلول آبی ۰/۵٪ عصاره، این مقدار از ۰/۹۲ μM در زمان صفر به ۰/۱۰۹ μM طی ۱۴ روز رسید. مقدار TBARS در نمونه ماهی پخته فاقد عصاره، در زمان صفر ۰/۲۸۸ μM بود که پس از طی ۱۴ روز به ۰/۲۸۸ μM افزایش یافت ($p < 0/05$). در حالی که در نمونه حاوی محلول آبی ۰/۵٪ عصاره این مقدار از ۰/۱۷۷ μM در زمان صفر به ۰/۱۱۱ μM طی این مدت رسید ($p < 0/05$).



شکل ۶ - مقادیر TBARS بلند مدت گوشت پخته ماهی، در کنترل منفی، کنترل مثبت و نمونه‌های دارای عصاره اتانولی مزوکارپ نارنج



شکل ۵ - مقادیر TBARS بلند مدت گوشت خام ماهی، در کنترل منفی، کنترل مثبت و نمونه‌های دارای عصاره اتانولی مزوکارپ نارنج

• بحث

می‌توان به پایداری بیشتر فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره و وجود آنتیاکسیدان‌های دیگر (علاوه بر ویتامین C) در آنها پی برد.

Goristein و همکاران اعلام کردند که فعالیت آنتیاکسیدانی نشان داده شده به وسیله عصاره میوه مرکبات ممکن است به دلیل حضور فلاونوئیدها، کاروتونوئیدها و آسکوربیک اسید باشد(۲۱). محققان دیگر در اجزای غیر فرار عصاره مтанولی پوست مرکبات، ترکیبات آنتیاکسیدانی فلاونوئیدی و فنلی را شناسایی کردند(۲۲).

ترکیبات فلاونوئیدی بافت‌های نارنج از جمله پوست آن با روش HPLC مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که پوست نارنج دارای مقادیر بسیار بالای NER (Neoeriocitrin) ۲۲۰ mg در ۱۰۰ گرم وزن میوه تازه) و NRG (Naringin) ۱۴۷۰ mg در ۱۰۰ گرم وزن میوه تازه (Poncirus) PON، (Neohesperidin) NHP و (Hesperidin) HSP و RFN (Rhoifolin) NDM و (Neodiosmin) (Heptamethoxyflavone) HPM بالاست در حالی که فاقد (Sinensetin) SNT و (Hesperidin) HSP با اینکه عدم تطابق در یافته‌های مطالعات گوناگون را می‌توان به تفاوت در روش سنجش مورد استفاده نسبت داد، درباره سنجش فعالیت آنتیاکسیدانی، و با فرض استفاده از یک روش، فعالیت آنتیاکسیدانی میوه‌ها می‌تواند تحت تأثیر منشاء جغرافیایی، خاک‌های زراعی، شرایط کاشت و برداشت

نتایج آزمایش FRAP نشانگر وجود فعالیت آنتیاکسیدانی در عصاره و پایداری آن طی یک ماه در شرایط متفاوت نگهداری است. به طوری که حداقل ۱۴٪ کاهش در محیط آزمایشگاه (تاریکی) مشاهده شد. این نتایج با یافته‌های مطالعات پیشین منطبق است. گزارشاتی مبنی بر کاهش فعالیت آنتیاکسیدانی در طول زمان و با افزایش دما منتشر شده است که با روند نزولی مشاهده شده در این تحقیق انطباق دارد (Klimczak ۱۸، ۱۹) و همکاران نشان دادند که با گذشت زمان به دلیل کاهش پلی‌فنل‌ها و ویتامین C ظرفیت آنتیاکسیدانی نیز کم می‌شود(۱۸) در خلال فرایند، ویژگی‌های آنتیاکسیدانی غذاها می‌توانند بدون تغییر باقی بمانند یا دچار افزایش یا کاهش شوند. این تغییر به شکل‌گیری ترکیبات جدیدی نسبت داده می‌شود که توانایی آنتیاکسیدانی یا پروآکسیدانی بیشتری دارند (۲۰).

نتایج حاصل از آزمایش روی ویتامین C که یک آنتیاکسیدان مهم محلول در آب است، کاهش معنی‌دار و چشمگیری در مقادیر FRAP از آزمایش روز سوم تا آزمایش یک ماه در محیط آزمایشگاه و یخچال نشان داد. کاهش مشاهده شده با یافته‌های مطالعات گذشته منطبق است. تحقیقاتی هم نشان داده‌اند که مقدار ویتامین C طی زمان و با افزایش دما کاهش می‌یابد(۱۸). با مقایسه نتایج حاصل از نمونه‌های عصاره با ویتامین C به عنوان کنترل مثبت

زمان ذخیره سازی، هیدرولیز و اکسیداسیون لیپیدهای ماهی نیز بیشتر شده، هیدروپراکسیدها و دی ان های مذووج تولید می شود و زمان برای تولید محصولات واکنش ثانویه اکسیداسیون لیپیدی که با ماده واکنشگر TBA واکنش می دهد، افزایش می یابد (۲۶).

در مطالعه ای روی گوشت گاو و خوک مشخص شد که مقادیر TBARS گوشت پخته از روند صعودی منظمی پیروی می کند، در حالی که گوشت خام روال منظمی در افزایش مقادیر خود نسبت به زمان صفر ندارد (۲۵). Widayaka و همکاران گزارش کردند که میزان اکسیداسیون لیپیدی در گوشت پخته بیشتر از گوشت خام است (۲۷).

قابل ذکر است که روش پختن نیز می تواند در مقدار TBARS مؤثر باشد. آب پز کردن و تنوری کردن (Baking) مقادیر TBARS را افزایش می دهد و کباب کردن و سرخ کردن تغییری در مقادیر آن ایجاد نمی کند (۲۸). فرایند پختن، ترکیبات آنتی اکسیدانی را دچار تغییر کرده، به ساختار سلول آسیب وارد می کند و غشای لیپیدی را در معرض محیط قرار می دهد. گوشت خام دارای اثرات آنتی اکسیدانی است، مگر آنکه حرارت بیند یا دناتوره شود یا پرو اکسیدان ها به آن اضافه شوند (۲۹). افزایش مقادیر TBARS در گوشت پخته می تواند به وسیله تولید میو گلوبین اکسید شده که آمادگی بیشتری برای اکسیداسیون دارد، توجیه شود (۲۶). اسیدهای چرب با چند پیوند دو گانه از قبیل (Eicosapentaenoic) EPA و DHA (Decosahexaenoic) برای اکسیداسیون در طول حرارت دادن، مهم و مستعد هستند (۳۰).

استفاده از عصاره مزو کارپ نارنج به عنوان یک منبع طبیعی آنتی اکسیدانی به جای آنتی اکسیدان های مصنوعی برای کاهش اثرات مضر آنتی اکسیدان های مصنوعی بر سلامتی به بررسی و تحقیقات گستره تر و شناسایی مواد مؤثر در عصاره پوست نارنج نیاز دارد.

و زمان ذخیره سازی قرار بگیرد (۲۳). Garau و همکاران گزارش کردند که دمای هوای خشک کننده نیز بر ظرفیت آنتی اکسیدانی محصولات فرعی نارنج اثر دارد (۶). اثر آنتی اکسیدان ها یا مکانیسم آنتی اکسیدانی به عوامل واقعی یا مدل از قبیل قطبیت محیط، دما، نوع سوبسترا، شرایط اکسیداسیون و وضعیت فیزیکی محیط اکسیداسیون (امولسیون، مایع، جامد) وابسته است و این موضوع ممکن است عامل اختلاف در قدرت آنتی اکسیدانی برای یک ملکول در آزمایش های متفاوت باشد (۲۴).

نتایج حاصل از آزمایشات TBARS در کوتاه مدت نشان داد که اثر عصاره به غلظت وابسته است و عصاره ۵٪ اثر قوی حفاظتی بر اکسیداسیون چربی دارد که مقدار TBARS آن مستقل از زمان (در ۹۰ دقیقه) است. این یافته با یافته های مطالعات پیشین منطبق است. Kang و همکاران گزارش کردند که نمونه های دارای محلول آبی پودر پوست مرکبات به طور معنی داری، محافظت از اکسیداسیون لیپیدی را نشان می دهد (۴).

بررسی نتایج حاصل از آزمایشات TBARS در بلند مدت نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، میزان جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدی افزایش می یابد و مشخص شده که عصاره ۵٪ توانایی زیادی برای حفاظت از اکسیداسیون لیپیدی ماهی خام و پخته دارد.

سنحش میزان اکسیداسیون چربی در ماهی مشخص کرد که با افزایش زمان، اکسیداسیون چربی افزایش می یابد. در مطالعه حاضر، مقادیر TBARS در نمونه های ماهی پخته، در طول زمان، روندی صعودی داشت. این یافته ها با نتایج مطالعه Fasseas مطابقت دارد (۲۵).

در تحقیق Ahn و همکاران که مقادیر TBARS در طول زمان (تا ۸ روز) افزایش یافت (۱۶). افزایش اکسیداسیون لیپیدی در طول زمان می تواند به علت رهایی بیشتر آهن آزاد و پرو اکسیدان های دیگر در اثر تجزیه بیشتر در طول ذخیره سازی از ماهیچه باشد (۲۶) در هر صورت با افزایش

• References

1. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39(1): 44-84.
2. Therond P, Bonnefont – Rousselot D, Davit-Spraul A, Conti M, Legrand A. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Curr opin Clin Nutr Metab Care* 2000; 3 (5): 373-84.
3. Guo C, Yang J, Wei J, Li Y, Xu J, Jing Y. Antioxidant activities of peel, pulp, and seed fraction of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutr Res* 2003; 23:1719-26
4. Kang HJ, Chawla SP, Jo C, Kwon JH, Byun MW. Studies on the development of functional powder from citrus peel. *Bioresour Technol* 2006; 97: 614-20
5. Maeda-Yamamoto M, Kawahara H, Tahara N, Tsuji K, Hara Y, Isemura M. Effect of tea polyphenols on the invasion and matrix metalloproteinases activities of human fibrosarcoma HT 1080 cells. *J Agric Food Chem*. 1999; 47: 2350 –54.
6. Garau MC, Simal S, Rosselló C, Femenia A. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. *Canoneta*) by-products, *Food Chem* 2007; 104(3):1014-24.
7. Peterson JJ, Dwyer JT, Beecher GR, Bhagwat SA, Gebhardt SE, Haytowitz DB, et al. Flavanones in orange, tangerines(mandarins), tangors, and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature. *J Food Compost Anal* 2006; 19: S66-S73.
8. Nogata Y, Sakamoto K, Shiratsuchi H, Ishii T, Yano M, Ohata H. Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006; 70(1):178-192.
9. Pacheco-Aguilar R, Lugo-Sanchez M.E, Robles-Burgueno MR. Postmortem biochemical characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0°C . *J Food Sci* 2000 ,65:40-47.
10. Toyomizu M, Hanaoka k, Yamaguchi K. Effect of release of free fatty acids by enzymatic hydrolysis of phospholipids on lipid oxidation of fish muscle during storage at -05°C. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 1981. 47:605-610
11. Guillen MD, Cabo N. Infrared spectroscopy in the study of edible oils and fats. *J Sci Food Agric* 1997; 75:1-11.
12. Renerre M, Labas R. Biochemical factors influencing metmyoglobin formation in beef muscle . *Meat Sci* 1987; 19: 151-165.
13. Ito N, Fukushima S, Hasegawa A, Shibata M, Ogiso T. Carcinogenicity of butylated hydroxy anizole in F₃₄₄ rats. *J Nat Cancer Inst* 1983; 70: 343 – 44.
14. Li BB, Smith B, Hossain MdM. Extraction of phenolics from citrus peels: I. Solvent extraction method . *Separ Purif Tech* 2006; 48: 182-88.
15. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma as a measure of " antioxidant power " : the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996; 239: 70-76
16. Ahn DU, Olson DG, Jo C, Love J, Jin SK. Volatiles production and lipid oxidation on irradiated cooked sausage as related to packaging and storage. *J Food Sci* 1999; 64: 226-29.
17. Moller JKS, Madsen HL, Aaltonen T, Skibsted LH. Dittany (*Origanum dictamnus*) as source of water extractable antioxidant. *Food Chem* 1999; 64: 215-19.
18. Klimczak I, Malecka M, Szlachta M, Gliszczynska-Swiglo A. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *J Food Compost Anal* 2007; 20(3-4): 313-22.
19. Anese M, Manzocco L, Nicoli MC, Lerici CR. Antioxidant properties of tomato juice as affected by heating. *J Sci Food Agric* 1999; 79: 750-54.
20. Nicole MC, Anese M, Parpinal M. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends Food Sci Technol* 1999; 10: 94-100.
21. Gorinstein S, Milena C, Machackova I, Haruenkit R, Park YS, Jung ST, et al. Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweeties and white grapefruits. *Food Chem* . 2004; 84: 503-10.
22. Guo CJ, Cao GH, Sofic E, Prior RL. High-performance liquid chromatography coupled with coulometric array detection of electroactive components in fruits and vegetables: relationship to oxygen radical absorbance capacity. *J Agric Food Chem* 1997; 45: 1787- 96.
23. Van der Sluis AA, Dekker M, de Jager A, Jongen WMF. Activity and concentration of polyphenolic antioxidant in apple : effect of cultivar, harvest year and storage conditios. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 3606-13.
24. Laguerre M, lecomte J, Villeneuve P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges . *Prog Lipid Res* 2007; 46(5): 244-82.
25. Fasseas MK, Mountzouris KC, Tarantilis PA, Polissiou M, Zervas G. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. *Food Chem* 2007; 106: 1188-94.

26. Chaijan M, Benjakul S, Visessanguan W, Faustman C. Changes of lipids in sardine (*Sardinella gibbosa*) muscle during iced storage. Food Chem 2006; 99: 83-91.
27. Widayaka K, Setyawardani T, Sumarmono J. The effect of storage and cooking on lipid oxidation of raw and cooked beef and goat meat. Asia Pac J Clin Nutr 2001; 10(suppl): S48
28. Weber J, Bochi VC, Ribeiro CP, Victorio AM, Emanuelli T. Effect of different cooking methods on the oxidation, proximate and fatty acid composition of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fillets. Food Chem 2008; 106: 140-46.
29. Ahn DU, Ajuyah A, Wolfe FH, Sim JS. Oxygen availability effects in prooxidant-catalyzed lipid oxidation of cooked turkey patties. J Food Sci 1993; 58: 278-82.
30. Sant ANA LS, Mancini-Fi ho J. Influence of the addition of antioxidants in vivo on the fatty acid composition of fish fillet. Food Chem 2000; 68: 175-78.