دانشکده شیلات و محیط زیست

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته
فراوری محصولات شیلاتی

استخراج عصاره‌های اتانولی و آبی‌گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) و بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی‌این عصاره‌ها در شرایط برون تنی و سیستم مدل روغن ماهی

پژوهش و نگارش:
نرگس محمدی

استاد راهنما:
دکتر سید مهدی اجاق

استاد مشاور:
دکتر آریا باباخانی لشکان

تابستان ۱۳۹۳

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه انجام فعالیت‌های پایان‌نامه‌های تحصیلی با بهره‌گیری از حمایت‌های علمی، مالی و پشتیبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صورت می‌پذیرد، به منظور رعایت حقوق دانشگاه، نسبت به رعایت موارد زیر متعهد می‌شوم:

۱. این گزارش حاصل فعالیت‌های علمی- پژوهشی و دانش و آگاهی نگارنده است مگر آنکه در متن به نویسنده یا پدید آورنده اثر ارجاع داده شده باشد.

۲. چاپ هر تعداد نسخه از پایان‌نامه با کسب اجازه کتبی از مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه خواهد بود.

۳. انتشار نتایج پایان‌نامه به هر شکل (از قبیل کتاب، مقاله و همایش) با اطلاع و کسب اجازه کتبی از استاد راهنما خواهد بود. نام کامل دانشگاه:

به فارسی: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

و به انگلیسی: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

در بخش آدرس‌دهی درج خواهد شد.

٤. در انتشار نتایج پایان‌نامه در قالب اختراع، اکتشاف و موارد مشابه، نام کامل دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به عنوان عضو حقوقی در انتهای فهرست اسامی درج گردد.

۵. تعیین ترتیب اسامی نویسندگان در انتشار نتایج مستخرج از پایان‌نامه و هر گونه تفاوت احتمالی در آن با فهرست مصوب اسامی هیات راهبری پایان‌نامه با تایید استاد راهنمای اول خواهد بود.

اینجانب **نرگس محمدی** دانشجوی رشته **فرآوری محصولات شیلاتی** مقطع **کارشناسی‌ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی نرگس محمدی

امضاء

تقدیم به

به پدر و مادر عزیزم

که سال هاست صبورانه همپایم بودند

و هر چه دارم از وجود آنهاست.

به برادرانم

همراهان همیشگی و پشتوانه های زندگیم

تشکر و قدردانی

سپاس مخصوص خداوند مهربان که به انسان توانایی بخشید تا به بندگانش شفقت ورزد، و در حل مشکلاتشان یاری شان نماید. از راحت خویش بگذرد و آسایش هم نوعان را مقدم دارد، با او معامله کند و در این خلوص انباز نگیرد و خوش باشد که پروردگار سمیع و بصیر است.

با تشکر از دو استاد بزرگوارم که شایسته ی هر نوع سپاس، تجلیل و تکریم اند؛

جناب آقای دکتر سید مهدی اجاق استاد راهنمای ارجمند که صبورانه، با ارایه ی رهنمود ها، انتقاد ها و پیشنهاد هایشان، در تمامی مراحل اجرای پایان نامه مرا حمایت و تشویق نمودند.

و جناب آقای دکتر آریا باباخانی لشکان؛ استاد مشاور محترم که به راستی پا به پای اینجانب مراحل پایان نامه را وطی نمودند، از ایشان متشکرم و راهنمایی ها و تلاش های دلسوزانه و بی دریغ شان را ارج می نهم.

با تشکر و سپاس از جناب آقای دکتر علیرضا عالی شاهی که از محضر پر فیض تدریسشان، بهره ها برده ام و زحمت داوری این پایان نامه را قبول کردند.

با تشکر و سپاس از سرکار خانم دکتر پرستو پورعاشوری که زحمت داوری این پایان نامه را قبول کردند.

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره‌ی بیلهر در روغن ماهی بود. برای استخراج عصاره‌های بیلهر (*Dorema aucheri*) از روش غوطه‌وری استفاده شد. از طرح تاگوچی با ۳ فاکتور (زمان استخراج، نوع حلال و نسبت حلال به نمونه) برای طراحی آزمایش‌ها استفاده شد. و برای استخراج عصاره‌ها از سه حلال آب، اتانول و آب/اتانول در سه زمان ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت و سه نسبت حلال به نمونه ۱ به ۵، ۱ به ۱۰ و ۱ به ۱۵ استفاده شد. میزان ترکیبات فنولی کل، قدرت کاهندگی آهن، درصد خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد و خاصیت آنتی اکسیدانی کل عصاره‌ها مورد سنجش قرار گرفت. با توجه به نتایج، استخراج با حلال آب/اتانول، زمان ۷۲ ساعت و نسبت حلال به ماده خشک ۱۵ به ۱، به عنوان تیمار بهینه انتخاب شد. عصاره‌ی استخراج شده با شرایط بهینه در ۲ غلظت ۲۵۰ppm و ۵۰۰ppm و آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ppm به روغن ماهی طی شرایط نگهداری در آون و مایکروویو افزوده شد و یک نمونه بدون افزودنی هم به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. با توجه به نتایج، میزان پراکسید، اسیدهای چرب آزاد و تیوباربیتوریک اسید در آزمایش‌های مختلف نگهداری در تیمارهای حاوی عصاره نسبت به تیمار شاهد کمتر مشاهده شد. بطور کلی، نتایج تحقیق حاضر وجود خواص آنتی اکسیدانی عصاره بیلهر بویژه در غلظت ۲۵۰ ppm را در حفظ و نگهداری روغن ماهی تایید نمود.

واژگان کلیدی: عصاره‌ی بیلهر، روغن ماهی، آنتی اکسیدان طبیعی، پایداری اکسیداتیو

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و کلیات

۱-۱ مقدمه و کلیات ۲

۱-۲ اهداف ۸

۱-۳ سوالات ۸

۱-٤ فرضیه‌ها ۸

فصل دوم: سابقه تحقیق

۲-۱ سابقه تحقیق ۱۰

۲-۱-۱ مطالعات انجام شده داخل کشور ۱۰

۲-۲-۱ مطالعات انجام شده خارج کشور ۱۱

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱ مواد و وسایل مورد استفاده ۱۸

۳-۱-۱ مواد مورد نیاز ۱۸

۳-۱-۲ وسایل و دستگاه‌ها ۱۸

۳-۲ مراحل انجام تحقیق ۱۸

۳-۲-۱ جمع‌آوری بیلهر ۱۸

۳-۲-۲ عصاره‌گیری ۱۹

۳-۲-۳ میزان فنول کل ۲۰

۳-۲-٤ فعالیت آنتی اکسیدانی کل ۲۱

۳-۲-۵ خنثی کنندگی رادیکال آزاد ۲۱

۳-۲-٦ قدرت کاهندگی آهن ۲۲

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۳-۳ آزمایش‌های مدل اکسیداسیونی ۲۲
۳-۳-۱ تهیه روغن ماهی ۲۲
۳-۳-۲ نگهداری روغن ماهی در آون ۲۳
۳-۳-۳ نگهداری روغن ماهی در مایکروویو ۲۳
۳-۳-٤ آزمایش‌های شیمیایی ۲٤
۳-۳-٤-۱ اندازه گیری عدد پراکسید ۲٤
۳-۳-٤-۲ اندازه گیری میزان تیوباربیتوریک اسید ۲٤
۳-۳-٤-۳ اندازه گیری میزان اسیدهای چرب آزاد ۲۵
۳-٤ تجزیه و تحلیل آماری ۲٦

فصل چهارم: نتایج

٤-۱ شناسایی مقدار بهینه‌ی آنتی اکسیدان گیاهی ۲۸
٤-۱-۱ اثر حلال بر میزان ترکیبات فنولی، قدرت کاهندگی آهن، رادیکال آزاد و قدرت آنتی اکسیدانی کل ۲۸
٤-۱-۲ اثر زمان بر میزان ترکیبات فنولی، قدرت کاهندگی آهن، رادیکال آزاد و قدرت آنتی اکسیدانی کل ۲۹
٤-۱-۳ اثر نسبت حلال به نمونه بر میزان ترکیبات فنولی، قدرت کاهندگی آهن، رادیکال آزاد و قدرت آنتی اکسیدانی کل ۳۰
٤-۲ پایداری اثر مهارکنندگی آنتی‌اکسیدان ها در هنگام نگهداری روغن ماهی در آون (٦۵-٦۰ درجه سانتی‌گراد) ۳۱
٤-۲-۱ میزان پراکسید ۳۱
٤-۲-۲ میزان تیوباربیتوریک اسید ۳۲

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

٤-٢-٣ میزان اسیدهای چرب آزاد ٣٢
٤-٣ پایداری اثر مهارکنندگی آنتی‌اکسیدان‌ها در هنگام نگهداری روغن ماهی در مایکروویو..... ٣٣
٤-٣-١ میزان پراکسید ٣٣
٤-٣-٢ میزان تیوباربیتوریک اسید ٣٤
٤-٣-٣ میزان اسیدهای چرب آزاد ٣٥

فصل پنجم: بحث و نتیجه‌گیری

٥-١ بحث..... ٣٨
٥-١-١ قدرت آنتی اکسیدانی عصاره‌های استخراج شده با روش غوطه‌وری..... ٣٨
٥-١-٢ نگهداری روغن ماهی در آون (٦٥-٦٠ درجه سانتی‌گراد) ٤١
٥-١-٣ نگهداری روغن ماهی در مایکروویو ٤٣
٥-٢ نتیجه‌گیری کلی ٤٦
٥-٣ پیشنهادات ٤٧
٥-٣-١ پیشنهادات پژوهشی..... ٤٧
٥-٣-٢ پیشنهادات اجرایی ٤٧

منابع ٥٠

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول (۳-۱) طراحی آزمایش‌ها برای استخراج ترکیبات فنولی به روش غوطه‌وری ۲۰
جدول (٤-۱) تغییرات مقادیر پراکسید تیمارهای مختلف نگهداری شده درآون (٦٥-٦۰ درجه سانتی‌گراد) بر حسب میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی ۳۱
جدول (٤-۲) تغییرات مقادیر تیوباربیتوریک اسید تیمارهای مختلف نگهداری شده درآون (٦٥-٦۰ درجه سانتی‌گراد) بر حسب میلی‌گرم مالون دی آلدهید در کیلوگرم چربی ۳۲
جدول (٤-۳) تغییرات مقادیر اسیدهای چرب آزاد تیمارهای مختلف نگهداری شده در آون (٦٥-٦۰ درجه سانتی‌گراد) بر حسب گرم اولئیک اسید چرب در ۱۰۰ گرم چربی..... ۳۳
جدول (٤-٤) تغییرات مقادیر پراکسید تیمارهای مختلف نگهداری شده در مایکروویو بر حسب میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلو گرم چربی..... ۳٤
جدول (٤-٥) تغییرات مقادیر تیوباربیتوریک اسید تیمارهای مختلف نگهداری شده در مایکروویو برحسب میلی‌گرم مالون دی آلدهید در کیلوگرم چربی..... ۳٥
جدول (٤-٦) تغییرات مقادیر اسیدهای چرب آزاد تیمارهای مختلف نگهداری شده در مایکروویو برحسب گرم اولئیک اسید چرب در ۱۰۰ گرم چربی ۳٥

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۳-۱ گیاه بیلهر ۱۹
شکل ۳-۲ نگهداری نمونه‌ها در آون ۲۳
شکل ٤-۱ اثر نوع حلال بر؛ الف؛ قدرت کاهندگی آهن (برحسب میلی‌گرم اسید اسکوربیک برحسب گرم ماده خشک)، ب؛ قدرت آنتی اکسیدانی کل (برحسب میلی‌گرم اسید اسکوربیک برحسب گرم ماده خشک)، ج؛ درصد خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH، و د؛ میزان فنول کل (برحسب میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم ماده خشک) عصاره بیلهر در استخراج با روش غوطه‌وری ۲۸
شکل ٤-۲ اثر زمان بر؛ الف؛ قدرت کاهندگی آهن (برحسب میلی‌گرم اسید اسکوربیک برحسب گرم ماده خشک)، ب؛ قدرت آنتی اکسیدانی کل (برحسب میلی‌گرم اسید اسکوربیک برحسب گرم ماده خشک)، ج؛ درصد خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH، و د؛ میزان فنول کل (برحسب میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم ماده خشک) عصاره بیلهر در استخراج با روش غوطه‌وری ۲۹
شکل ٤-۳ اثر نسبت حلال به نمونه بر؛ الف؛ قدرت کاهندگی آهن (برحسب میلی گرم اسید اسکوربیک بر حسب گرم ماده خشک)، ب؛ قدرت آنتی اکسیدانی کل (برحسب میلی گرم اسید اسکوربیک بر حسب گرم ماده خشک)، ج؛ درصد خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH، و د؛ میزان فنول کل (بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم ماده خشک) عصاره بیلهر در استخراج با روش غوطه‌وری ۳۰

فهرست رابطه ها

عنوان **صفحه**

رابطه ۳-۱ درصد خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد ۲۲
رابطه ۳-۲ عدد پراکسید ۲٤
رابطه ۳-۳ عدد تیوباربیتوریک اسید ۲۵
رابطه ۳-٤ اسیدهای چرب آزاد..... ۲۵

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه و کلیات

ماهی منبع عمده پروتئین ماهیچه‌ای به شمار می‌رود که در مقایسه با سایر منابع پروتئین ماهیچه‌ای ارزش بیولوژیکی بالاتری دارد. علاوه بر این ماهی حاوی مقادیر زیادی اسیدهای چرب چند غیر اشباع و مواد معدنی است که بر ارزش آن می افزاید (مام ناسینگ[1] و همکاران، ۲۰۰۵). غذاهای دریایی دارای ارزش تغذیه ای زیاد و خواص کاربردی، به دلیل هضم سریع پروتئین هستند. همچنین منبع خوبی از ویتامین‌ها و مواد معدنی هستند. ماهی‌های چرب حاوی میزان بالایی از اسیدهای چرب اشباع نشده است (آکمن[2]، ۱۹۹۹). اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلند (امگا-۳) به عنوان مواد بالقوه سالم شناخته می‌شوند و در ماهی و سایر جانوران دریایی یافت می‌شوند و به ویژه در روغن ماهی فراوان اند (جانتاکوت[3] و همکاران، ۲۰۰۷). اسیدهای چرب غیر اشباع اسیدهای چرب ضروری هستند عمده اسیدهای چرب اشباع نشده در روغن ماهی شامل ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA[4]) و دوکزاهگزانوئیک اسید (DHA[5]) می‌باشد. این اسیدهای چرب برای توسعه شبکیه چشم و مغز ضروری هستند. دوکزا هگزانوئیک اسید نقش مهمی را در رشد شبکه عصبی نوزاد در طی رشد در اوایل زندگی دارد (بوران[6] و همکاران، ۲۰۰۶). علاوه بر این، ایکوزاپنتانوئیک اسید خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی، بعضی از انواع سرطان‌ها و اختلالات ایمنی را کاهش می‌دهد (کولانووسکی[7]، ۲۰۰۸). هر دو همچنین برای رشد سلول‌ها، سوخت و ساز بدن و افزایش مقاومت در برابر استرس و تنظیم بیان ژن مهم هستند (سینگ[8] و همکاران، ۲۰۰۷). با این حال، به دلیل این محتوای زیاد چربی اشباع نشده، محصولات ماهی بسیار مستعد از دست دادن کیفیت در نتیجه اکسیداسیون چربی می‌باشند و شروع ترشیدگی به خصوص در ماهی‌های چرب و نیمه چرب سریع است (ریچارد و هالتین[9]، ۲۰۰۲). اکسیداسیون چربی یک مسئله اساسی در طی فراوری، توزیع و نگهداری مواد مغذی است (یو[10] و همکاران، ۲۰۰۲). در فرایند اکسیداسیون چربی‌ها در غذاها،

1. Mumnasinghe
2. Ackman
3. Jantacot
4. Eicosapentaenoic acid
5. Docosahexaenoic acid
6. Boran
7. Kolanowski
8. Singh
9. Richards & Haltin
10. Yue

اسیدهای چرب غیر اشباع و اکسیژن موجود در هوا دو عامل مهم و اساسی می‌باشند. در این فرایند، اکسیژن هوا به اسیدهای چرب اضافه می‌شود و تولید مواد واسطه ناپایداری می‌کند که در نهایت این مواد ترکیباتی با طعم‌ها و بوهای نامطبوع را ایجاد می‌کنند. هرچند اکسیداسیون آنزیمی و پاتوژنی نیز در اکسیداسیون چربی نقش دارند ولی مهم‌ترین عامل آن وجود اسیدهای چرب غیر اشباع و اکسیژن می‌باشد (اریکسون[1]، ۲۰۰۸). همانطورکه قبلا اشاره شد روغن ماهی یک منبع غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ بویژه ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکزاهگزانوئیک اسید می‌باشد که دریافت کافی آنها در رژیم غذایی روزانه، بدلیل اثرات مفید تغذیه ای، جلوگیری و درمان احتمالی بسیاری از بیماری‌ها و اختلالات بویژه بیماری‌های قلبی و عروقی اخیرا مورد توجه و توصیه بسیاری از کارشناسان و محققین قرار گرفته است (یو[2] و همکاران، ۲۰۰۷؛ کایتارانتا،[3] ۱۹۹۲). اما با وجود این خصوصیات مهم و منحصر به فرد یکی از مهمترین مشکلات مصرف روغن ماهی حساسیت اکسیداسیون بالای آن‌ها به دلیل داشتن مقادیر بالایی‌ازاسیدهای چرب چند غیراشباعی و کمبودآنتی‌اکسیدان طبیعی می‌باشد که منجربه فساد اکسیداتیو و ایجاد بدطعمی ودر نتیجه کاهش تمایل به مصرف روغن ماهی می‌شود (شهیدی و واناساندرا[4]، ۱۹۹۸). روش‌های متعددی از قبیل خشک کردن، انجماد، بسته بندی، افزودن آنتی اکسیدان، نگهداری تحت شرایط خلاء و نگهداری در فشار بالا (گومزاستاکا[5] و همکاران، ۲۰۰۹)، برای برای کاهش فساد و افزایش دوره ماندگاری محصولات دریایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در غذاهای حاوی چربی، آنتی‌اکسیدان‌ها سبب تاخیر در شروع اکسیداسیون و یا کاهش سرعت آن می‌شوند. آنتی‌اکسیدان به ماده‌ای اطلاق می‌شود که قادر است ازاکسیداسیون ماده اکسید شونده جلوگیری کند و یا آن را به تاخیر اندازد (پازوس[6] و همکاران، ۲۰۰۵). همچنیین آنتی اکسیدان‌ها با اهدای هیدروژن با لیپیدهای اکسید نشده رقابت می‌کنند (لاین[7] و همکاران، ۲۰۰۲). بنابراین با اهدای یک اتم هیدروژن یا یا الکترون آزاد باعث تشکیل ترکیبات پایدار می‌شوند یا ممکن است از طریق عوامل پرواکسیدان مثل کلاته کردن یون‌های فلزی (مهدوی[8] و همکاران، ۱۹۹۵) با فرونشاندن اکسیژن یگانه (بیلاس[9] و

1. Erickson
2. Yue
3. Kaitaranta
4. Shahidi & Wanasuandara
5. Gomez-Estaca
6. Pazos
7. Lin
8. Mahdavi
9. Bellas

همکاران، ۱۹۷۹) یا حذف پراکسید، اثر مثبت خود را در جلوگیری از فساد اعمال می‌کنند (دیپلاک[1] و همکاران، ۱۹۹٤). این مواد معمولا به طور طبیعی در غذاها وجود دارند، ولی طی فرایند تولید، فراوری و نگهداری مواد غذایی بخش زیادی از آنتی اکسیدان‌های داخلی‌آنها کاهش می‌یابد که باعث کاهش توانایی ماده غذایی در برابر اکسیداسیون می‌شود (مندیولا[2] و همکاران، ۲۰۰۸). افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها به محصولات شیلاتی از جمله روش‌های متداول در نگهداری بعضی از محصولات آبزیان می‌باشد که به تنهایی یا به صورت مکمل با سایرروش‌ها مورداستفاده قرار می‌گیرد و یکی از محصولاتی که پس از تولید به آن آنتی اکسیدان اضافه می‌شود روغن ماهی است (فاضل[3] و همکاران، ۲۰۰۹). در سال‌های اخیر تقاضای مصرف کنندگان برای مصرف روغن ماهی رو به افزایش است. به همین منظور تولید کنندگان نیز تلاش می کنند تا محصولات با کیفیت بالاتر تولید کنند. برای جلوگیری از فساد اکسیداسیونی در روغن ماهی نیز معمولا از BHT، BHA و استرهای اسید گالیک به عنوان آنتی‌اکسیدان استفاده می کنند (کایتارانتا، ۱۹۹۲). با توجه به نیاز اساسی استفاده از آنتی اکسیدان‌ها در برخی روش‌های نگهداری محصولات شیلاتی، هر چه از مواد طبیعی سالم‌تر و کارامدتر به عنوان آنتی‌اکسیدان استفاده شود می‌توان انتظار داشت که ارزش غذایی این محصولات کمتر دستخوش تغییرات شود. آنتی‌اکسیدان‌ها همچنین ممکن است از اکسیداسیون پروتئین در گوشت و دیگر محصولات غذایی که حاوی مقدار زیادی از پراکسیدان هایی مانند هم، فلزهای انتقال دهنده و اسیدهای چرب اشباع نشده است جلوگیری کند (ویلجانین[4] و همکاران، ۲۰۰٤). آنتی اکسیدان‌های سنتزی و طبیعی به طور گسترده‌ای در جلوگیری از تخریب اکسیداسیونی استفاده می‌شوند. اما استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در برخی از کشورها به دلیل اثرات نامطلوب آنها روی سلامت انسان محدود شده است (هراسیا[5] و همکاران، ۲۰۰۰). همچنین وجود خواص سرطان‌زایی خفیف در آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مورداستفاده در صنعت مانند بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT[6])، بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA[7]) و ترت بوتیل هیدروکسی کینون (TBHQ[8]) سبب شده تا محققین به

1. Diplock
2. Mendiola
3. Fazel
4. Viljanen
5. Hrasia
6. Butylated hydroxyl toluene
7. Butylated hydroxyl anisole
8. Tert Butylated Hydroqinoon

جایگزینی این ترکیبات با آنتی اکسیدان‌های طبیعی روی آورند (ساکاناکا[1] و همکاران، ۲۰۰۵). نکته در خور توجه در مورد آنتی اکسیدان‌های طبیعی این است که نه تنها فاقد زیان‌های آنتی اکسیدان‌های مصنوعی هستند بلکه مصرف آن‌ها می تواند به حفظ و تامین سلامت بیشتر انسان کمک کند. با توجه به پتانسیل بالای کشورمان در صید ماهی کیلکا و با توجه به کیفیت تغذیه‌ای بسیار بالای روغن ماهی و اثرات مفید آن بر سلامتی، با پایدارسازی روغن این ماهی توسط آنتی اکسیدان‌های طبیعی می‌توان به نحو بهینه‌ای ازروغن این ماهی در مصارف و صنایع مختلف غذایی از قبیل انواع فرمولاسیون‌های غذایی و کنسروهای ماهی علاوه بر مصارف دارویی استفاده کرد. گیاهان منبع اصلی آنتی‌اکسیدان‌ها در طبیعت هستند. مواد اصلی که دارای این خصوصیات هستند شامل ترکیبات فنولی،کاروتنوئیدها و توکوفرول می‌باشند (مندیولا و همکاران، ۲۰۰۸).

گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) از گیاهان تیره‌ی چتریان است که در اوایل فصل بهار در برخی از استان‌ها از جمله کردستان، چهار محال بختیاری، فارس و کهگیلویه و بویر احمد رویش دارد و به طور کلی ساکنان مناطق جنوب کشور از این گیاه استفاده‌ی غذایی می‌نمایند و بر این باورند که این گیاه خواص دارویی مفیدی نیز دارد (زرگری[2]، ۱۹۹۷). گیاهی علفی، پایا، پوشیده از تار و دارای ریشه است. دمبرگ‌ها دارای غلاف پوشاننده و ساقه و برگ‌های پایینی شامل تقسیمات سه شاخه‌ای عمیق یا سه برگچه ای هستند (قهرمان[3]، ۱۹۹۳). در گذشته از صمغ حاصل از این گیاه در طب سنتی استفاده می‌شده است. هم چنین از آن غذاهای محلی تهیه می‌نمودند ولی امروزه بیشتر از این گیاه به عنوان چاشنی استفاده می شود. برخی نیز عقیده دارند عصاره‌های این گیاه در پایین آوردن فشار خون مفید است (والن ویبر[4] و همکاران، ۱۹۹۵). بیلهر گیاهی سرشار از فلاونوئید است. اولین گیاه از خانواده‌ی چتریان است که این مواد را تراوش می کنند (سیائو[5] و همکاران، ۲۰۰۳). تحقیقات نشان می‌دهد مصرف گیاه بیلهر تری گلیسرید و کلسترول خون را پایین می‌آورد (صادقی[6]، ۲۰۰۷). این گیاه همچنین دارای اثرات محافظتی بر آسیب‌های کبدی نیز می‌باشد (گرمانو[7] و همکاران، ۲۰۰۵). فلاونوئیدها دارای خواص ضد تومور، ضد سرطان و استروژن همچنین فلاونوئیدها برخی از ترکیبات

1. Sakanaka
2. Zargari
3. Ghahraman
4. Wollen Weber
5. Hsiao
6. Sadeghi
7. Germano

پلی فنولیک با خاصیت آنتی اکسیدانی بالا هستند که فعالیت رادیکال‌های آزاد را مهار کرده واز گسترش فعالیت آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند (عباسی[1] و همکاران، ۲۰۰۸). در بین آنتی اکسیدان‌های طبیعی موجود در گیاهان، بیشتر از همه ترکیبات فنولیک وجود دارد و این ترکیبات بخاطر خصوصیت احیاکنندگی و ساختار خود نقش مهمی را در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد، فلزات واسطه و حذف اکسیژن یگانه دارند. این خصوصیات آثار مثبت زیادی بر سلامتی انسان داشته و از بروز بیماری‌های مربوط به تنش اکسیداسیون جلوگیری می‌کنند (پوکورنای[2]، ۲۰۰۱). ترکیبات فنولی را می‌توان در بسیاری از غذاها و نوشیدنی‌ها با منشأ گیاهی مانند میوه، سبزیجات، قهوه ، چای و شکلات یافت (آرتس[3] و همکاران، ۱۹۹۹؛ کلیفورد[4]، ۱۹۹۹). محتوای ترکیبات فنولی در غذاها ممکن است در طی فراوری و نگهداری به عنوان ترکیبات واسطه توسط نور و دما تغییر کند (فریدمن و کنای[5]، ۱۹۹۷) علاوه بر اینکه بطور طبیعی در مواد خام مورد استفاده برای مواد غذایی وجود دارند، همچنین بطور مشخصی به غذاها و نوشیدنی‌ها به عنوان رنگ یا به عنوان آنتی اکسیدان اضافه می شوند(اوکونل و فاکس[6]، ۲۰۰۱). مطالب فراوانی در مورد مؤثرترین روش و حلال برای استخراج ترکیبات فنولی وجود وجود دارد اما با توجه به ساختار این ترکیبات و خاصیت‌های فیزیکی و شیمیایی آن‌ها ارائه یک روش واحد غیر ممکن می‌باشد (ریبای[7] و همکاران، ۲۰۱۱). از طرفی آنالیز و بررسی همه فاکتورهای تأثیر گذار در استخراج، هزینه بر و وقت گیر می‌باشد. بدین منظور از روش‌های فاکتوریل شکسته شده می-توان برای کاستن تعداد تیمارهای تاثیر گذار استفاده نمود. بهینه سازی تاگوچی[8] یک شکل از طرح فاکتوریل شکسته شده است که به وسیله آن تأثیرات متغیرها در سطوح مختلف و در ترکیبات مختلف مورد سنجش قرار می‌گیرد (چی[9] و همکاران، ۲۰۱۰). تاگوچی یک روش منحصربه‌فرد و قدرتمند است که با کم‌ترین تعداد آزمایش، بهینه‌سازی انجام می‌شود. استفاده از این روش باعث صرفه جویی در وقت و هزینه انجام تحقیقات و بهبود عملکرد آن‌ها می‌شود (ادووی و اوینکان[10]، ۲۰۰۷). جستجو برای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به عنوان جایگزین آنتی اکسیدان‌های مصنوعی مورد توجه محققان

1. Abbasi
2. Pokorny
3. Arts
4. Clifford
5. Freedman & Keaney
6. O Connell & Fox
7. Rebey
8. Taguchi experimental degsin
9. Cheah
10. Adewuyi & Oyenekan

زیادی قرار گرفته است. عصاره‌های گیاهی غنی از پلی فنول‌ها به عنوان گزینه‌های مهمی هستند که براحتی از منابع طبیعی بدست می‌آیند و بطور موثر مانع اکسیداسیون چربی در مواد غذایی می‌شوند (شهیدی و واناساندرا، ۱۹۹۲). روش‌های مختلفی جهت ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های گیاهی و یا یک ترکیب خاص وجود دارد. از آن جا که عصاره‌های گیاهی مخلوط پیچیده ای از ترکیباتی با خصوصیات شیمیایی، قطبیت و گروه‌های عملکردی متفاوت می‌باشند، نتایج مربوط به تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های گیاهی ممکن است بسته به شرایط آزمون مورد استفاده متفاوت باشند. به همین دلیل لازم است از چندین آزمون جهت تعیین دقیق میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های گیاهی استفاده شود (اولیویرا[1] و همکاران، ۲۰۰۹). در این پژوهش، از چهار آزمون تعیین قدرت احیاکنندگی یون‌های آهن، درصد خنثی کنندگی رادیکال آزاد (DPPH[2])، تعیین میزان فنول کل و تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی کل جهت ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های اتانولی، آبی و هیدروالکلی گیاه بیلهردر شرایط آزمایشگاهی استفاده شد. علاوه بر روش‌های آزمایشگاهی یکی از روش‌های بررسی قدرت و مکانیسم اثرات آنتی اکسیدان‌ها استفاده از آن‌ها در سیستم‌های مدل غذایی می‌باشد. سیستم‌های مدل برای استفاده در تحقیقات پرو اکسیدان و آنتی‌اکسیدان‌ها بر اساس واقعی و در عین حال ساده بودن آن‌ها انتخاب می‌شوند. در این سیستم‌ها سوبسترای اکسیداسیون، ماتریکس در برگیرنده و شرایط نگهداری می‌بایست تا حد امکان به سیستم واقعی شبیه باشد. با این حال سیستم می‌بایست ساده باشد تا بتوان بر روی مکانیسم‌های اثرات پرو و آنتی اکسیدان‌ها بحث و بررسی کرد. در تحقیقات بر غذاهای دریایی نمونه‌هایی از مدل‌ها مانند روغن ماهی، امولسیون، و گوشت چرخ شده ماهی (شسته شده و یا شسته نشده) مورد استفاده قرار می‌گیرد (لارسون[3] و همکاران، ۲۰۰۷). با توجه به مجموعه مطالب فوق، وبا توجه به گزارشاتی دال بر فعالیت آنتی اکسیدانی بیلهر تحقیق حاضر ضمن تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی بیلهر به مطالعه این خواص در سیستم مدل روغن ماهی می‌پردازد لذا اهداف، سوالات و فرضیه‌های زیر را می‌توان برای تحقیق حاضر در نظر گرفت.

1. Oliveira
2. Diphenyl Picrylhydrazyl
3. Larsson

۱-۲ اهداف

- ✓ تعیین اثر مدت زمان استخراج بر قدرت آنتی اکسیدانی عصاره‌های بیلهر
- ✓ بررسی اثر نوع حلال بر خواص آنتی اکسیدانی عصاره‌های بیلهر
- ✓ بررسی اثر نسبت حلال به ماده خشک بر میزان خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های بیلهر
- ✓ بررسی جایگزینی عصاره‌های بیلهر با BHT در روغن ماهی و تعیین تغییرات شیمیایی بعد از اضافه کردن عصاره مورد نظر

۱-۳ سوالات

- ✓ مدت زمان استخراج چه‌تاثیری بر خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های بیلهرمی‌گذارد؟
- ✓ حلال‌های آب و اتانول چه تاثیری بر خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های بیلهر می‌گذارد؟
- ✓ نسبت‌های ۱ به ۵، ۱ به ۱۰ و ۱ به ۱۵ ماده خشک به حلال چه تاثیری بر میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها می‌گذارد؟
- ✓ آیا روغن‌های حاوی بیلهر توانایی کاهش اکسیداسیون را طی دوره نگهداری دارند؟

۱-٤ فرضیه‌ها

- ✓ زمان استخراج ۷۲ ساعت بیشترین قدرت آنتی اکسیدانی را دارد.
- ✓ عصاره استخراج شده با حلال اتانول دارای بالاترین قدرت آنتی اکسیدانی می‌باشد.
- ✓ نسبت حلال ۱ به ۱۵ مناسب‌ترین نسبت برای استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی‌از بیلهر می‌باشد.
- ✓ روغن‌های حاوی بیلهر توانایی کاهش اکسیداسیون روغن ماهی طی دوره نگهداری دارند.