

ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی ماهی سوف و کپور رودخانه ارس و اثرات سلامتی بخش آن‌ها در انسان

آفاقان خیری^۱، جواد علی اکبرلو^{۲*}، راحله طهماسبی^۳

تاریخ دریافت ۱۳۹۸/۰۷/۱۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۸/۰۹/۳۰

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: از آنجایی که آنتی اکسیدان‌های طبیعی موجود در ماهی‌ها نقش مهمی در مهار رادیکال‌های آزاد و پیشگیری از بیماری‌ها مانند سرطان، آترواسکلوئوزیس، دیابت و غیره در انسان دارند، این مطالعه به منظور سنجش خاصیت آنتی اکسیدانی ماهی سوف و کپور رودخانه ارس جهت بررسی اثرات سلامتی بخش آن‌ها در انسان واقع در شمال غرب ایران انجام گردید.

مواد و روش کار: در این پژوهش پس از تهیه عصاره آبی و الکلی گوشت ۲ گونه از ماهیان پرمصرف مورد مطالعه صیدشده در حوزه رودخانه ارس (سوف و کپور)، خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره آن‌ها با استفاده از روش‌های DPPH، ABTS و RP در مقایسه با BHT مورد بررسی قرار گرفت. نتایج با آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی دانکن بررسی شد.

یافته‌ها: طبق نتایج به‌دست‌آمده در عصاره‌های آبی و الکلی، گوشت ماهی سوف به‌طور معناداری دارای خواص آنتی اکسیدانی و قدرت احیاکنندگی بالاتری نسبت به ماهی کپور دارا بود. تفاوت معنی‌داری بین خاصیت آنتی اکسیدانی گوشت دو گونه ماهی وجود داشت ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که گوشت ماهی سوف خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری را دارا می‌باشد. این نتایج با توجه به اثرات مفید آنتی اکسیدان‌ها برای سلامتی انسان، مصرف ماهی به‌ویژه ماهی‌ها با خواص آنتی اکسیدانی و احیاکنندگی بالا مانند ماهی سوف را توصیه می‌کند.

کلیدواژه‌ها: سلامتی بخش، سوف، کپور، رودخانه ارس، خاصیت آنتی اکسیدانی

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی‌ام، شماره دوازدهم، ص ۹۹۳-۹۸۱، اسفند ۱۳۹۸

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، شماره تماس: ۰۹۱۴۱۶۰۰۸۴۷

Email: Jaliakbarlu@yahoo.com

مقدمه

تغذیه انسان یکی از مهم‌ترین مسائلی است که در دنیای کنونی با توجه به افزایش روزافزون جمعیت و نیاز افراد به مواد غذایی با آن دست‌به‌گریبان است. نوع تغذیه تأثیر مهمی در سلامت یا بیماری انسان دارد. در سال‌های اخیر ماهی به‌عنوان یک منبع تغذیه‌ای باارزش در رژیم غذایی انسان، به دلیل داشتن پروتئین با کیفیت بالا، اسیدهای چرب غیراشباع، عناصر معدنی ضروری و ویتامین شناخته شده است (۱). مطابق گزارش انجمن قلب آمریکا (AHA) اسیدهای چرب ماهی در کاهش بیماری‌های قلبی و عروقی (CVD) بسیار مؤثر بوده و این انجمن مصرف دو وعده ماهی (به‌خصوص ماهی چرب) در هفته

یا یک گرم EPA+DHA در روز را در راستای حفظ سلامتی در کودکان، زنان باردار و افراد مسن پیشنهاد می‌دهد (۲). ازجمله مزایای مصرف ماهی می‌توان به پیشگیری از ابتلا به انواع سرطان، آسم، اختلالات سیستم ایمنی و بیماری‌های التهابی، جلوگیری از پیری مغز و آلزایمر، دیابت و رشد و عملکرد سیستم عصبی (مغز)، چشم (بینایی) و سیستم تولیدمثل اشاره کرد (۳، ۴). از دیگر مزایای گزارش شده مصرف ماهی اثرات کاهش‌دهنده چربی خون، آنتی آتروژنیک، آنتی آریتماتیک، آنتی ترومبوتیک، کاهش‌دهنده‌ی بروز کار سینومای کلیوی و کاهش‌دهنده LDL می‌باشد (۵، ۶).

^۱ دانشجوی دکتری تخصصی گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۲ دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

^۳ استادیار مجتمع آموزشی و پژوهشی جهاد دانشگاهی ارومیه، ارومیه، ایران

^۱ American Heart Association

دو دسته آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی یا متا بولیت ها و سیستم آنزیمی تعلق دارند. متا بولیت ها خود به دو دسته آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی محلول در آب مانند ویتامین C و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی محلول در چربی مانند ویتامین A، ویتامین E، کوآنزیم Q و کاروتن ها تقسیم می‌شوند (۱۴). لذا ما در این تحقیق جهت بررسی آنتی‌اکسیدان‌های یاد شده از عصاره‌های آبی والکلی استفاده کردیم.

انواع مختلفی از تکنیک‌ها در شرایط آزمایشگاهی برای تشخیص وجود آنتی‌اکسیدان‌ها بر اساس مکانیسم‌های اکسایشی مختلف تحت شرایط متغیر وجود دارد که همگی منعکس کننده ویژگی‌های عملکردی چند گانه آنتی‌اکسیدان‌ها در شرایط فیزیولوژیکی و نیز فرآیندهای اکسیداسیون موجود در مواد غذایی می‌باشد. هر کدام از روش‌ها اهداف خاص خود را داشته و همه آن‌ها دارای مزایا و معایب می‌باشند. به هر حال در انجام آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی بایستی چند موضوع را در نظر داشت: اول اینکه برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نباید تنها به یک روش اکتفا نمود و معمولاً از چند آزمون تواما برای این منظور استفاده می‌شود. دوم اینکه از آنجایی که مکانیسم عمل در روش‌های مختلف متفاوت است معمولاً نمی‌توان نتایج حاصل از این بررسی‌ها را با یکدیگر مقایسه نمود (۱۵).

بعلاوه تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مواد غذایی با پیچیدگی‌های بیشتری همراه است مانند خصوصیات کلونیدی نمونه، شرایط و مرحله اکسیداسیون، ویژگی‌های طبیعی ماده مانند رنگ و pH و محل حضور آنتی‌اکسیدان (فاز آبی یا روغنی) که این خود باعث عدم نتیجه‌گیری از یک روش می‌گردد (۱۶). بنابراین اغلب به منظور اعتبار بخشی به نتایج یک مطالعه از چندین روش برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های خوراکی استفاده می‌شود.

اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH یکی از روش‌های معتبر، دقیق، آسان و مقرون به صرفه با قابلیت تکرار پذیری بالا می‌باشد که در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مختلف در شرایط آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۷).

اگر چه روش DPPH روشی معمول در اندازه‌گیری فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد در محصولات طبیعی و مواد غذایی است اما دارای یک محدودیت قابل توجه بوده و قادر به اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌های هیدروفیل نمی‌باشد. این به آن علت است که DPPH فقط در مواد آلی به خصوص در الکل‌ها قابلیت حل دارد و در ترکیبات آب دوست حل نمی‌شود. این در حالی است که ABTS در محلول‌های آب دوست و آلی قابلیت حل

آنتی‌اکسیدان ماده‌ای است که بطور قابل توجهی از اکسیداسیون ممانعت می‌کند و یا آن را به تأخیر می‌اندازد. مواد آنتی‌اکسیدانی موجود در غذاها نقش مهمی بعنوان فاکتورهای مؤثر بر سلامت ایفا می‌کنند و از بدن در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است در غذاها به عنوان فاکتورهای درونی موجود باشند و یا برای حفظ کیفیت ترکیبات آن به‌طور مصنوعی اضافه شوند. آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مانند BHT، BHA، PG و TBHQ معمولاً در ترکیبات غذاها استفاده می‌شوند. با این حال، به علت نگرانی‌های روزافزون مربوط به ترکیبات شیمیایی صنعتی، امروزه علاقه به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شدت یافته است (۷، ۸).

در گوشت ماهی ترکیبات طبیعی مختلف به عنوان مکانیسم دفاع آنتی‌اکسیدانی وجود دارد که پیشرفت اکسیداسیون را مهار کرده و با رادیکال‌های آزاد واکنش می‌دهند (۹)، که اینها شامل آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، گلوکاتایون، سوپراکسید دیسموتاز کاراتونوئید ها، پپتیدها، آمینو اسیدها و ترکیبات فنولیک، توکوفرول‌ها (ویتامین E) و اوبی کینون‌ها می‌باشند. این ترکیبات در پلاسما سل و سلول‌های غشا میتوکندری یافت می‌شوند. ویتامین E یک ویتامین محلول در چربی و یک آنتی‌اکسیدان اصلی و مهم غیر آنزیمی در جلوگیری از فرایند پراکسیدان لیپید است که با استقرار در غشا سلولی وظیفه‌ی حفاظت این ساختار مهم در برابر رادیکال‌های آزاد پراکسیل تولید شده از اکسیداسیون چربی‌ها را بر عهده دارد. ویتامین E به عنوان یک آنتی‌اکسیدان میزان فعالیت آنزیم کاتالاز که یک آنزیم آنتی‌اکسیدانی قوی برای مقابله با رادیکال‌های آزاد می‌باشد را افزایش می‌دهد. کاتالاز آنزیمی است که تقریباً در همه موجودات زنده و در اکثر ارگان‌های بدن یافت می‌شود و یک مولکول کاتالاز قادر به تجزیه میلیون‌ها مولکول پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن در هر ثانیه می‌باشد (۱۰، ۱۱). تغییرات فصلی در مقدار توکوفرول (ویتامین E) در گونه‌های مختلف ماهیان قابل توجه است (۱۲). ماهیانی که در بهار و فصل تخم‌ریزی صید می‌شوند، درصد توکوفرول بالا و چربی کمتری نسبت به ماهیانی که در فصل پاییز صید می‌شوند دارد. کاهش میزان چربی و افزایش توکوفرول در دوره‌ای از ماه اکتبر تا مارس مشاهده می‌شود (۱۳). در فصل بهار مقدار توکوفرول افزایش و در پاییز کاهش می‌یابد. دلیل تغییرات فصلی ویتامین E می‌تواند ناشی از یک توالی رسیدگی جنسی ماهیان برای رساندن آن‌ها به پیک در طی فصل تخم‌ریزی باشد.

مجموعه پیچیده‌ای از آنتی‌اکسیدان‌ها، موجودات زنده را از صدمات اکسیداسیون رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند و به

شدن دارد و پتانسیل آنتی اکسیدانی هر دو نوع آنتی اکسیدان هیدروفیل و لیپوفیل را اندازه گیری می کند (۱۸). DPPH یکی از رادیکال های لیپوفیل آزاد و پایدار با رنگ بنفش تیره بوده که حداکثر جذب آن در محدوده ۵۱۵ تا ۵۱۷ نانومتر است. هنگام دریافت الکترون از ترکیبات احیا کننده نظیر فنل ها این رادیکال به فرم هیدرا زین بی رنگ تبدیل می شود که این تغییر ساختاری با کاهش میزان جذب همراه است (۱۹).

در روش RP توانایی عصاره ها برای احیای آهن سه ظرفیتی و تبدیل آن به آهن دو ظرفیتی سنجیده می شود. اساس این روش افزایش در میزان جذب مخلوط واکنش می باشد. افزایش میزان جذب نشان دهنده افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی است. آنتی اکسیدان ها موجب احیا کمپلکس های فری سیانید و تبدیل آن به فرم فروس می گردند. در واقع ترکیبات آنتی اکسیدان کمپلکس رنگی با پتاسیم فری سیانید، تری کلرو استیک اسید و فریک کلرید تشکیل می دهند که بسته به ظرفیت احیا کنندگی نمونه های مورد بررسی با تغییر رنگ محلول از زرد به درجات مختلفی از رنگ های سبز و آبی همراه است. (واکنش اکسیداسیون و احیا) از آنجایی که این کمپلکس در طول موج ۷۰۰ نانومتر دارای حداکثر میزان جذب است، لذا می توان غلظت یون های آهن دو ظرفیتی را با اندازه گیری میزان جذب محلول تعیین نمود (۲۰). واکنش RP به pH حساس بوده و برای بدست آوردن نتایج صحیح تر باید از pH های اسیدی و خنثی استفاده نمود (۲۱). در حالی که روش DPPH فقط در محدوده PH ۴-۸ و RP در محدوده PH ۸-۱ کاربرد دارد.

از نظر کاربرد تحقیق حاضر، در کشور با وجود دریای خزر در شمال، خلیج فارس و دریای عمان در جنوب و هم چنین وجود مراکز متعدد پرورش ماهی در داخل کشور، هنوز میزان استفاده از ماهی در رژیم غذایی افراد جامعه پایین است. از طرفی از آنجا که ماهیان صید شده از رودخانه ارس ایران از اهمیت خاصی در برنامه غذایی ساکنین منطقه شامل استان های هم جوار و حتی کشورهای همسایه نظیر آذربایجان برخوردار بوده و دارای تنوع خاص می باشد. نتایج این تحقیق از نظر کاربردی می تواند بیش از پیش ارزش تغذیه ای ماهیان یاد شده در استان ما را آشکار کرده و منجر به تشویق مردم به استفاده بیشتر از ماهی و برخورداری از مزایای سلامتی آن گردد.

همچنین نظر به اینکه یکی از مراحل اصلی برای ثبت جهانی ماهی، تولید مقالات تخصصی در خصوص این ماهیان و انتشار آن در مجلات علمی همچون «Vertebrate Zoology»، «FishTaxa» و «Iranian Journal of Ichthyology» است که

ادامه کار سایر پژوهشگران در خصوص تحقیق حاضر، می توانند آن ها را در زوبانک (بانک جانوری) جهانی ثبت کند. با توجه به اهمیت وضعیت آنتی اکسیدانی غذاهای مختلف از جمله ماهی ها در تغذیه و سلامتی انسان، در این پژوهش مزایای سلامتی بخش استفاده از ماهیان صید شده در حوزه رودخانه ارس شامل ماهی سوف و کپور بوسیله ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی آن ها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

مواد شیمیایی و تجهیزات:

مواد بکار رفته در این پژوهش عبارت بودند از: پودر DPPH، پودر ABTS، بافر فسفات، فریک کلراید، تری کلرو استیک اسید (TCA) و فری سیانید پتاسیم که از شرکت سیگما آلدریج (امریکا) خریداری شد. متانول و اتانول نیز از شرکت MERK (آلمان) تهیه شدند.

تجهیزات آزمایشگاهی بکار رفته عبارتند از:

هموژنیزاتور (IKA) ساخت کشور آلمان

اسپکتروفتومتر (pharmacia) ساخت کشور انگلستان

سانتریفیوژ (FRR-TEST) ساخت شرکت فرزانه آرمان

ایران

ترازوی دیجیتالی (Sartorius) ساخت کشور آلمان با دقت

۰/۰۰۱ گرم

ترازوی دیجیتالی (KERN) ساخت کشور آلمان با دقت

۰/۰۰۰۱ گرم

بن ماری جوش (WNB-14 memmert) ساخت شرکت

Memmert آلمان

شیکر شرکت Labino

سمپلر شرکت Brand

PH متر شرکت Hunna

نمونه برداری:

از ماهیان رودخانه ارس شامل سوف معمولی (نام علمی: *Sander Lucioperca*) و ماهی کپور معمولی (نام علمی: *Cyprinus carpio*) بطور کاملاً تصادفی از هر کدام ۱۰ نمونه (هم جنس، هم وزن و هم اندازه به وزن تقریبی یکسان ۸۰۰-۷۰۰ گرم) در فصل صید از منطقه پلدشت واقع در شمال استان آذربایجان غربی) در شهریور ماه سال ۹۷ صید گردید و پس از بریدن سر و دم، تخلیه محتویات شکمی و شستشو با آب سرد در کیسه های پلی اتیلنی زیپ پک قرار داده شده و بلافاصله در

مجاورت یخ و حفظ زنجیره سرما به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه منتقل شد.

استخراج عصاره‌های آبی:

جهت استخراج عصاره آبی، ۵ گرم نمونه فیله میانی بدن ماهی به همراه ۲۵ میلی لیتر آب مقطر سرد داخل فالكون ۵۰ میلی لیتری توسط هموژنایزر (IKA) در دور ۱۳۵۰۰ rpm و مدت زمان ۲ دقیقه هموژن گردیده، سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. مایع رویی برای تست‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده گردید (۲۲).

استخراج عصاره الکلی:

برای استخراج عصاره الکلی، ۵ گرم از نمونه هموژن شده با ۷ قسمت هگزان / اتانول (به نسبت ۵ قسمت هگزان و ۲ قسمت اتانول) به مدت ۱ دقیقه ورتکس گردیده و سپس به مدت ۵ دقیقه در دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. بعد از سانتریفیوژ دو فاز تشکیل گردید، فاز بالایی حاوی هگزان و فاز پایینی اتانولی و حاوی چربی که برای تست‌های آنتی‌اکسیدانی از این فاز استفاده شد (۲۳).

ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH:

اولین بار به دست بلیوس در سال ۱۹۵۸ انجام شد. و یکی از روش‌های معمول برای ارزیابی پتانسیل مهار رادیکال آزاد مولکول‌های آنتی اکسیدان استفاده از رادیکال آزاد DPPH است. زمانی که این رادیکال توسط آنتی‌اکسیدان‌ها به دام انداخته می‌شود احیا و به فرم پایدار DPPH₂ تبدیل می‌شود. رادیکال آزاد DPPH⁰ رنگ بنفش (ارغوانی) تیره دارد که در طول موج ۵۱۷ نانومتر قدرت جذب بالا داشته و وقتی احیا می‌شود به رنگ زرد تغییر یافته و از قدرت جذب آن کاسته می‌شود.

برای انجام این تست، ۲ میلی لیتر از محلول DPPH (با غلظت ۰/۰۲۴ میلی گرم در متانول ۹۶ درصد) به ۵۰ میکرو لیتر از عصاره الکلی و ۲۰۰ میکرو لیتر از عصاره آبی اضافه گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در مکان تاریک و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفته و بعد از ۳۰ دقیقه میزان جذب آن‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر قرائت گردید. برای تهیه نمونه شاهد به جای عصاره آبی ۵۰ میکرو لیتر آب مقطر و به جای عصاره الکلی از ۲۰۰ میکرو لیتر

آب مقطر استفاده شد. برای هر نمونه سه تکرار در نظر گرفته شد. برای کنترل مثبت به جای عصاره از محلول BHT (با غلظت ۰/۱ میلی گرم در اتانول) استفاده شد. از فرمول زیر برای محاسبه درصد حذف رادیکال آزاد استفاده گردید (۲۴).

$$RSA\% = [(Ab_{blank} - Ab_{sample}) / Ab_{blank}] \times 100$$

روش DPPH در ظاهر در عصاره‌های طبیعی ساده به نظر می‌آید، ولی با توجه به وجود نیتروژن پایدار مولکول DPPH و دیگر آنتی اکسیدان‌های موجود در ترکیبات ممکن است میل ترکیبی متفاوت یا فاقد واکنش با DPPH باشند. علاوه بر این برگشت واکنش بین DPPH و آنتی اکسیدان وجود دارد که ممکن است پتانسیل آنتی اکسیدانی را کم نشان دهد. این موضوع در مطالعات مختلفی بیان شده است. بنابراین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به درستی برآورد نمی‌شود.

در این فرمول A_{blank} میزان جذب نوری کنترل (که حاوی تمام مواد به استثنای عصاره می‌باشد) را نشان می‌دهد و A_{sample} بیانگر قدرت جذب نوری غلظت عصاره می‌باشد. در این تست از آنتی‌اکسیدانت سنتزی BHT به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی به روش ABTS³:

رادیکال $ABTS^{0+}$ یک رادیکال پایدار صناعی بوده که حساسیت بالا برای ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات مختلف بکار می‌رود.

برای تهیه کاتیون $ABTS^{0+}$ از واکنش محلول استوک ۷ میلی مولار $ABTS$ و ۲/۴۵ میلی مولار پتاسیم پرسولفات استفاده شد. مخلوط به مدت ۱۲ تا ۱۶ ساعت قبل از مصرف تهیه شده و در محل تاریک در دمای اتاق نگهداری می‌شود. محلول کاتیون $ABTS^{0+}$ با اتانول رقیق شده تا جذبی حدود ۰/۸۰ در طول موج ۷۳۴ نانومتر پیدا کند. و ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول نمونه به محلول رقیق شده از $ABTS$ اضافه شده و جذب مجموعه پنج دقیقه بعد قرائت می‌شود. در مجاورت آنتی اکسیدان، میزان رادیکال $ABTS^{0+}$ کاهش یافته و به $ABTS$ تبدیل می‌شود و شدت رنگ نیز کاهش می‌یابد.

برای انجام این آزمایش از روش Re و همکاران استفاده شد (۲۵). در این آزمایش ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره آبی و ۵۰ میکرو لیتر از عصاره چربی به لوله‌های آزمایش منتقل شده و سپس ۲ میلی لیتر از محلول $ABTS$ تهیه شده به لوله‌های حاوی عصاره اضافه گردید. بعد از گذشت ۵ دقیقه لوله‌ها در دور 4000 rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. در نهایت

³ 2,2 – azinobis-3-ethylbenzothiazoline- 6-sulphonate

² 1,1 – diphenyl -2-picryl hydrazyl

میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۳۴ نانومتر قرائت شده و برای گزارش نتایج از فرمول زیر استفاده گردید:

$$RSA\% = [(Ab_{blank} - Ab_{sample}) / Ab_{blank}] \times 100$$

آنالیز آماری:

به منظور اطمینان از روایی نتایج حاصل از انجام تحقیق حاضر تمام آزمایشها در سه تکرار انجام و نتایج ثبت گردید. برای تجزیه و تحلیل مقادیر کمی داده‌ها از روش آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA ONE WAY) و جهت تعیین وجود تفاوت معنی دار بین مقادیر میانگین تیمارها از تست تعقیبی دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. میانگین مقادیر و انحراف معیار در نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ محاسبه شد. از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۸ برای آنالیز داده‌ها و از نرم افزار Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

یافته‌ها

نتایج میزان جذب رادیکال آزاد DPPH در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی بر اساس درصد جذب رادیکال آزاد DPPH در عصاره‌های آبی بیشتر از عصاره‌های الکلی می‌باشد. در بین دو گونه سوف و کپور، ماهی سوف با اختلاف معناداری دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری می‌باشد.

نتایج میزان جذب سوبسترای ABTS نیز در نمودارهای ۳ و ۴ نشان داده شده است. بر خلاف DPPH، در این آزمایش، میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های الکلی بیشتر از عصاره‌های آبی می‌باشد. در عصاره‌های الکلی کپور و در عصاره‌های آبی ماهی سوف دارای بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی بودند.

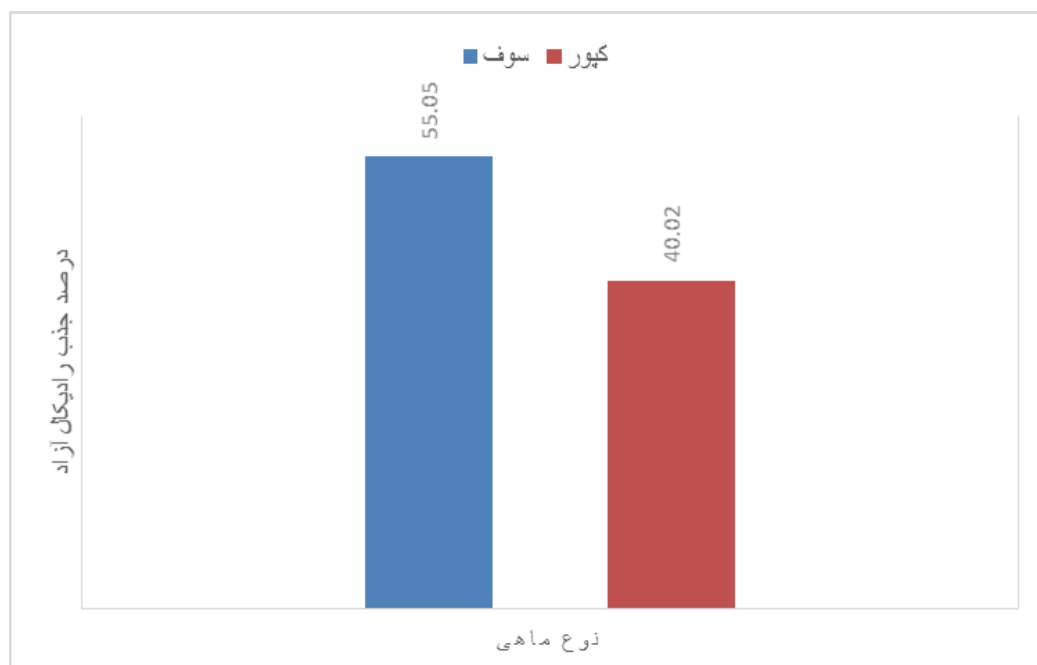
نتایج حاصل از مطالعه میزان قدرت احیاکنندگی نشان می‌دهد (نمودارهای ۵ و ۶) که در هر دو نوع عصاره‌های آبی و الکلی ماهی سوف به طور معناداری داری ($p < 0/05$) خاصیت احیاکنندگی بیشتری نسبت به ماهی کپور می‌باشد.

ارزیابی قدرت احیاکنندگی RP^۴:

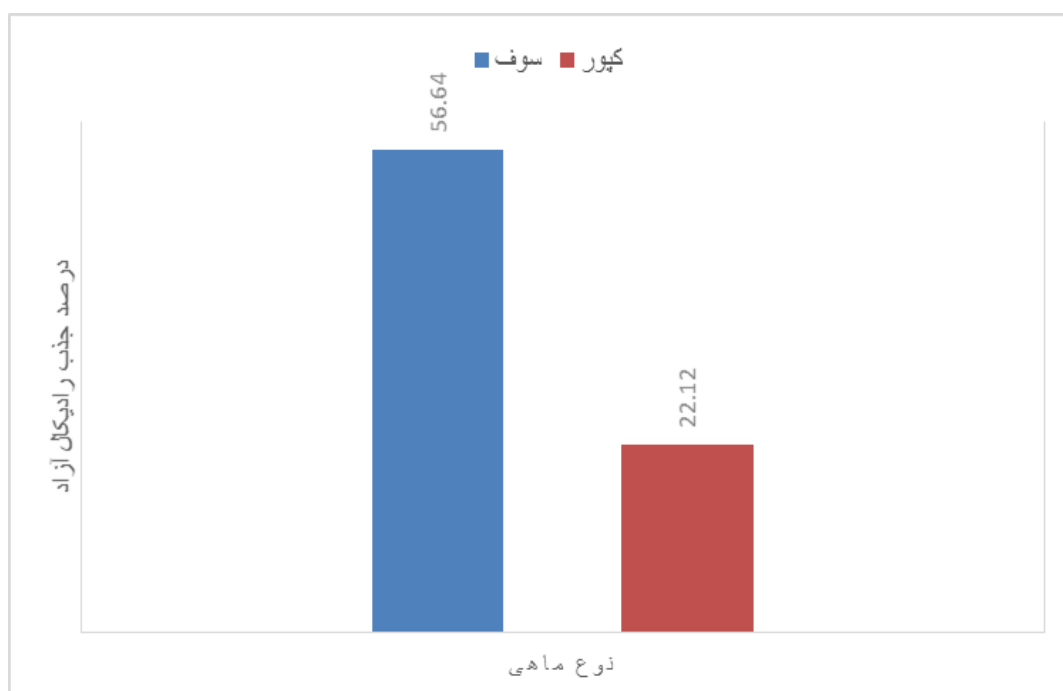
روش RP روش ساده‌ای است که نتایج سریع و تکرارپذیری را ایجاد می‌کند و زمان کمی از عمر این روش می‌گذرد این روش در ابتدا برای تعیین میزان آنتی اکسیدان ها در عصاره‌های میوه‌ها به کار برده می‌شد، این روش به سهولت برای عصاره‌های آبی و الکلی گیاهان مختلف قابل بکارگیری است. گرچه در ابتدا برای ارزیابی فعالیت تام آنتی اکسیدانی نمونه‌های بیولوژیک مطرح شده، اما امروزه این روش بهینه سازی شده و به طور موفقیت آمیزی در بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات خالص شیمیایی و عصاره‌های گیاهی بکار می‌رود. در این روش توانایی آنتی اکسیدان در احیاء آهن مورد سنجش قرار می‌گیرد.

برای انجام این تست، ۲ سی سی عصاره آبی و ۲۵۰ میکرولیتر عصاره الکلی بطور جداگانه به لوله‌های آزمایش ریخته شده، سپس یک میلی لیتر بافر فسفات با $PH=6/6$ و همزمان یک میلی لیتر محلول فری سیانید پتاسیم (۱٪) به لوله‌ها افزوده شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده شده و پس از خارج شدن لوله‌ها از حمام آب گرم یک میلی لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰٪ به مخلوط یاد شده اضافه، سپس با دور 4000 rpm به مدت ۵ دقیقه سانتیفریوژ گردیدند. سپس ۱ میلی لیتر از محلول بالایی را بر داشته و با ۵/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی لیتر فریک کلراید (۱/۰ درصد در آب مقطر) به طور کامل مخلوط کرده و بعد از ۱۰ دقیقه نگهداری در ۲۵ درجه سانتیگراد و سانتیفریوژ به مدت ۲ دقیقه در دور ۲۰۰۰ rpm میزان جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. ایزوربنس بیشتر یعنی قدرت احیاکنندگی بیشتر می‌باشد. در این آزمایش

⁴ - Reducing power



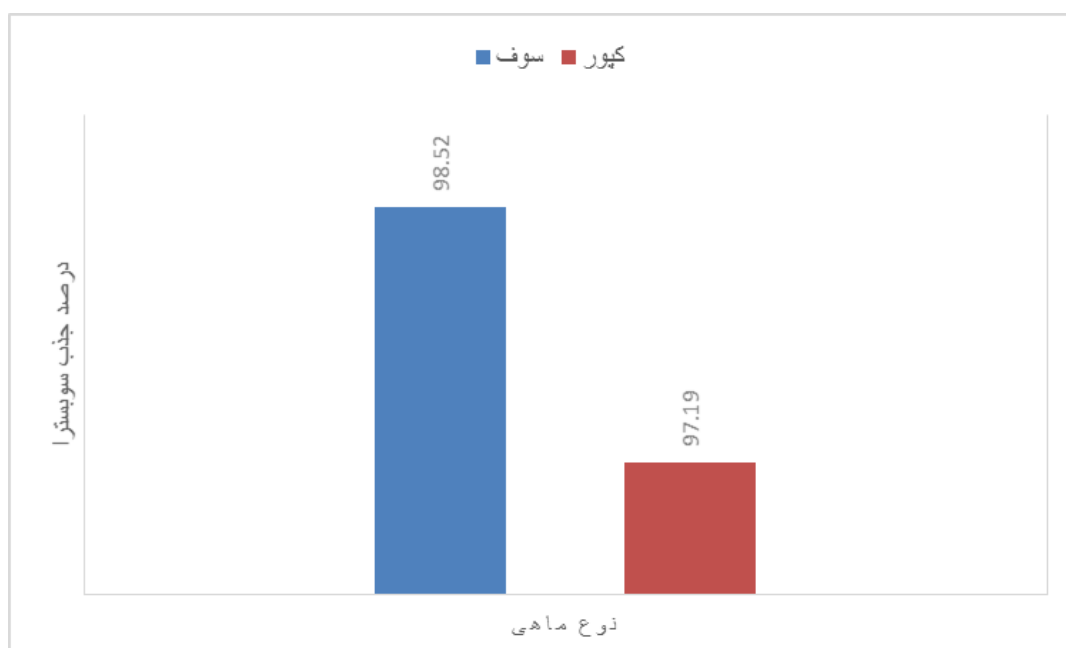
نمودار (۱): درصد جذب رایکال آزاد DPPH در عصاره‌های آبی، مقادیر عددی با لای ستون‌ها نشان دهنده اختلاف معنی دار است ($P < 0.05$).



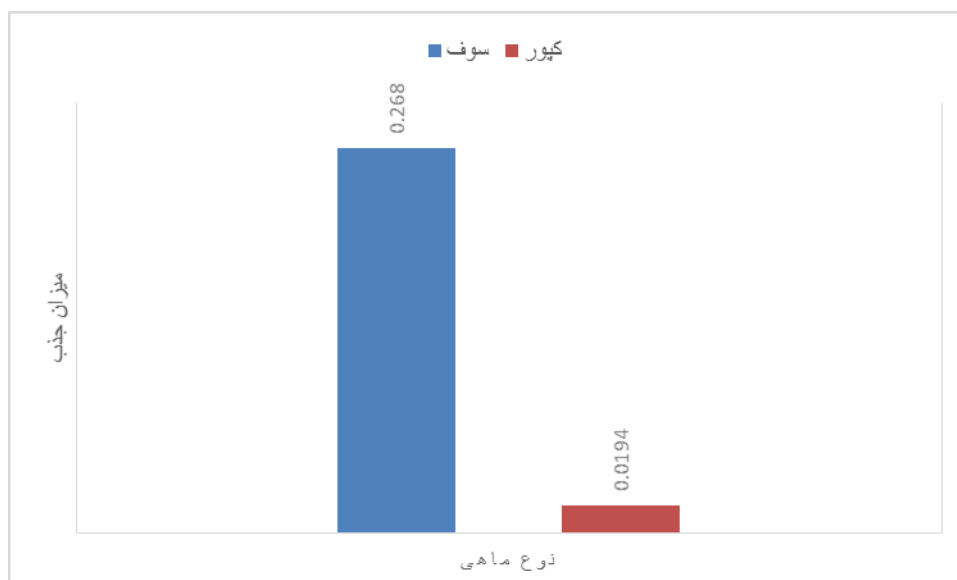
نمودار (۲): درصد جذب رایکال آزاد DPPH در عصاره‌های الکلی، مقادیر عددی با لای ستون‌ها نشان دهنده اختلاف معنی دار است ($P < 0.05$).



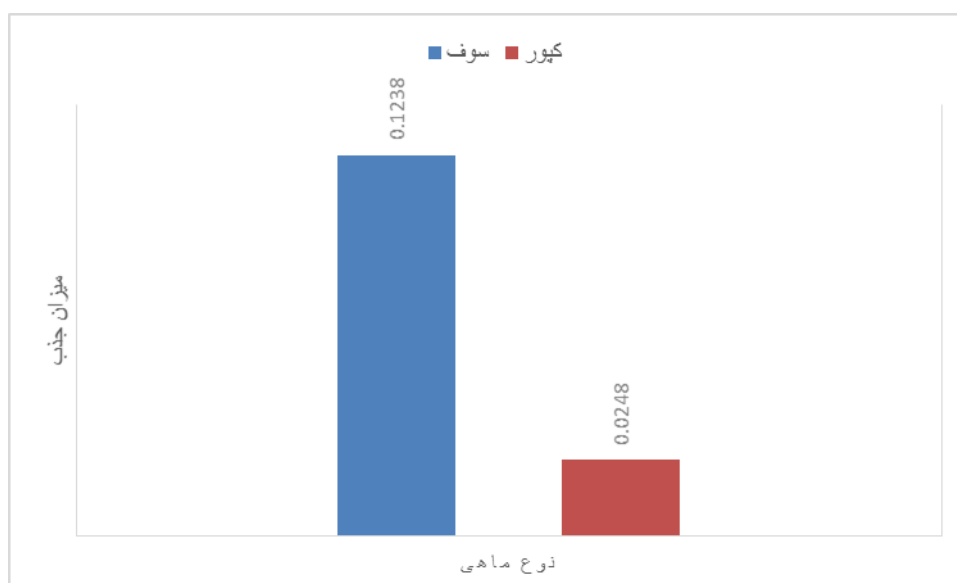
نمودار (۳): درصد جذب سوپسترای ABTS در عصاره‌های آبی، مقادیر عددی با لای ستون‌ها نشان دهنده اختلاف معنی دار است ($P < 0.05$).



نمودار (۴): درصد جذب سوپسترای ABTS در عصاره‌های الکلی، اختلاف معنی دار مشاهده نگردید.



نمودار (۵): میزان قدرت احیاء کنندگی در عصاره‌های آبی، مقادیر عددی بالای ستون‌ها نشان دهنده اختلاف معنی دار است ($P < 0.05$).



نمودار (۶): میزان قدرت احیاء کنندگی در عصاره‌های الکلی، مقادیر عددی بالای ستون‌ها نشان دهنده اختلاف معنی دار است ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

این پژوهش به‌منظور سنجش خاصیت آنتی اکسیدانی گوشت دو گونه از ماهیان پرمصرف رودخانه ارس و بررسی اثرات سلامت بخشی آن‌ها در انسان انجام گرفت. در ایران راجع به وضعیت آنتی اکسیدانی گونه‌های مورد نظر مطالعه‌ای صورت نگرفته است. از طرف دیگر، در مورد وضعیت آنتی اکسیدانی گوشت ماهی در خارج از کشور هم تحقیق مشابهی انجام نشده است که این موضوع می‌تواند جنبه نوآوری پژوهش حاضر باشد.

بیشتر مطالعات توسط محققین روی خواص آنتی اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده ماهی متمرکز بوده است. امروزه آنتی اکسیدان‌ها به علت توانایی محافظت از مواد غذایی و به تأخیر انداختن تخریب، تند شدگی و یا تغییرات رنگ ناشی از اکسیداسیون بسیار مورد توجه هستند (۲۷). در سیستم‌های بیولوژیکی، آنتی اکسیدان‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت نموده و از بروز بیماری‌های قلبی عروقی، عصبی و یا بیماری‌های سرطانی جلوگیری می‌نمایند (۲۸).

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که پروتئین هیدرولیز شده ماهی منبع بالقوه پپتیدهای آنتی‌اکسیدانی است. این پپتیدها در ساختار اولیه مولکول پروتئین به صورت غیر فعال هستند اما می‌توانند بعد از هیدرولیز آنزیمی فعال گردند. طی هیدرولیز، زنجیره پپتیدی شکافته شده و پپتیدهای فعال آزاد می‌گردند و پراکسیداسیون چربی را در سیستم‌های غذایی متوقف می‌کنند (۲۹).

قابلیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیز شده ماهی به تاثیرات چند گانه ای نسبت داده شده است. برخی از این ویژگی‌ها شامل شامل توانایی آن‌ها در زدودن رادیکال‌های آزاد، عمل به عنوان شلاته کننده فلزات، خاموش کننده اکسیژن یا دهنده هیدروژن و امکان جلوگیری از نفوذ آغاز کننده‌های اکسیداسیون چربی بوسیله تشکیل لایه‌ای در اطراف قطرات روغن می‌باشد (۳۰).

خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیز شده گوشت ماهی به عنوان آنتی‌اکسیدان غذایی به علت نگرانی‌هایی که در مورد آثار نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی وجود داشت اهمیت ویژه‌ای بدست آورده‌اند (۳۱).

در اوایل سال ۱۹۹۰، هاتا و همکاران (۳۲) وجود خواص آنتی‌اکسیدانی در پروتئین هیدرولیز شده گوشت ماهی ساردین را نشان دادند.

در سال ۲۰۱۲ شیلجا و همکاران گزارش کردند که پروتئین هیدرولیز شده گوشت ماهی SEER از خانواده اسکمبروئید خواص آنتی‌اکسیدانی بالا دارد (۳۳).

مطالعات دیگر توسط سایر محققین نشان داد که پروتئین هیدرولیز شده گوشت ماهی می‌تواند به عنوان آنتی‌اکسیدان در سیستم‌های غذایی عمل کند (۳۴).

مطالعه‌ای در سال ۱۳۹۷ توسط احمدی تحت عنوان "بررسی و مقایسه اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف ماهی سرخو (Lutjanus malabiricus) خلیج فارس با استفاده از تست‌های مختلف" انجام شد. نتایج نشان داد که عصاره‌های استونی، آبی و الکلی ماهی دارای درجات مختلف توان آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (۳۵).

تمام مطالعات یاد شده فوق توسط محققین محترم نشان می‌دهد که نتایج مطالعه ما با نتایج آن‌ها کاملاً همسو می‌باشد. که البته نباید مزایا و معایب روش‌های ارزیابی آنتی‌اکسیدانی بکار رفته در این پژوهش را از نظر دور داشت.

طبق نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، گوشت هر دو گونه ماهی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قابل قبولی بودند که در بین ۲ گونه یاد شده گوشت ماهی سوف دارای بیشترین خواص

در نمودار ۱ و ۲ درصد جذب رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره‌های آبی و الکلی گوشت ماهی سوف و کپور آورده شده است. درصد جاروب کنندگی رادیکال آزاد ماهی سوف و کپور در عصاره آبی به ترتیب ۵۵،۰۵ و ۴۰،۰۲ و در عصاره الکلی ۵۶،۶۴، ۲۲،۱۲ می‌باشد که اختلاف معنی دار را نشان داد ($P<0/05$). همچنین درصد خاصیت جاروب کنندگی عصاره آبی و الکلی ماهی سوف تفاوت چندانی نشان نداد که احتمالاً به درصد توزیع یکسان آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب و چربی در ماهی سوف می‌باشد. ولی درصد خاصیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره آبی کپور بیشتر از عصاره الکلی می‌باشد که نشان دهنده درصد بیشتر آنتی‌اکسیدان‌های هیدروفیل در گوشت ماهی کپور می‌باشد.

در نمودار ۳ و ۴ درصد جذب رادیکال آزاد ABTS توسط عصاره‌های آبی و الکلی گوشت ماهی سوف و کپور آورده شده است. این رادیکال توسط هر دو نوع آنتی‌اکسیدان هیدروفیل و لیپوفیل جاروب می‌گردد. خاصیت آنتی‌اکسیدانی ماهی سوف و کپور در عصاره آبی به ترتیب ۴۷،۵۶، ۶۵،۶۴ و در عصاره الکلی ۹۸،۵۲، ۹۷،۱۹ درصد می‌باشد که حکایت از بالا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی ماهی کپور نسبت به ماهی سوف در عصاره آبی می‌باشد. ولی در عصاره الکلی خاصیت آنتی‌اکسیدانی ماهی سوف اندکی نسبت به ماهی کپور بالاتر بود که زیاد تفاوت معنی‌داری نشان نداد. و دلیل پایین بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی ماهی سوف نسبت به کپور در عصاره آبی احتمالاً به علت پایین بودن آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب در گوشت ماهی سوف می‌باشد.

در نمودار ۵ و ۶ نتایج قدرت احیا کنندگی ماهی سوف و کپور در عصاره آبی و الکلی نشان داده شده است. این تست غیر اختصاصی بوده و هر واکنشگری که قابلیت احیا یون آهن سه ظرفیتی را داشته باشد در این واکنش شرکت می‌کند زمانی که آنتی‌اکسیدانها در محیط حضور داشته باشند شدت رنگ آبی در محیط بیشتر می‌شود که از روی اندازه گیری شدت رنگ می‌توان به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پی برد این سیستم به غلظت آنتی‌اکسیدان غیر وابسته بوده و تفاوت‌های مشاهده شده به فاکتورهای استوکیومتری و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی باز می‌گردد. به این دلیل که در دز پاسخ برای آنتی‌اکسیدان‌های مختلف رفتار خطی دیده شده است یعنی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی غیر وابسته به غلظت می‌باشد (۲۹). در عصاره آبی، قدرت احیا کنندگی ماهی سوف و کپور به ترتیب ۰،۲۶۸۰، ۰،۰۱۹۴ و در عصاره الکلی ۰،۱۲۳۸، ۰،۰۲۴۸ که نشان دهنده قدرت احیا کنندگی بالای ماهی سوف نسبت به کپور می‌باشد.

به پروتئین‌های دست نخورده برخورد دارند، استفاده از سایر روش‌های تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی نظیر ظرفیت مهار کنندگی رادیکال هیدروکسیل، روش ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس رنگ بری بتا کاروتن و کرونین، روش FTC روش Follic ciocalteu و نیز تغذیه دورهای انسان‌ها با گوشت ماهی‌های یاد شده، بررسی و مقایسه نتایج عملی آن‌ها در طول زمان می‌تواند موضوع تحقیقات آینده پژوهشگران محترم باشد.

در پایان یاد آور می‌شود این پژوهش از نظر ملاحظات اخلاقی با موازین دینی و فرهنگی آزمودنی و جامعه هیچ گونه مغایرتی ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از مسئولین محترم دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه و مجتمع تحقیقات، فناوری و آموزش عالی جهاد دانشگاهی استان آذربایجان غربی به خاطر حمایت مادی و معنوی از این تحقیق که قسمتی از پایان نامه دکترای تخصصی می‌باشد تشکر و قدر دانی می‌نمایند.

References:

- 1-Sidhu KS. Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. Regul Toxicol Pharmacol 2003;38(3): 336-44.
- 2-Domingo JL. Omega-3 fatty acids and the benefits of fish consumption: is all that glitters gold? Environ Int 2007;33(7): 993-8.
- 3-Tokur B. The effect of different cooking methods on proximate composition and lipid quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Int J Food Sci Tech 2007;42(7): 874-9.
- 4-Cunnane S, Plourde M, Pifferi F, Bégin M, Féart C, Barberger-Gateau P. Fish, docosahexaenoic acid and Alzheimer's disease. Prog Lipid Res 2009;48(5): 239-56.
- 5-Weber J, Bochi VC, Ribeiro CP, Victório AdM, Emanuelli T. Effect of different cooking methods on the oxidation, proximate and fatty acid composition of silver catfish (*Rhamdia quelen*) filets. Food Chem 2008;106(1): 140-6.
- 6-Ahmadzadeh J, Mansorian B, Attari MM-A, Mohebbi I, Naz-Avar R, Moghadam K, et al. The association between hematological parameters and metabolic syndrome in Iranian men: A single center large-scale study. Diabetes Metab Syndr 2018;12(1): 17-21.
- 7-Shahidi F. Antioxidants in food and food antioxidants. Food/nahrung 2000;44(3): 158-63.
- 8-Rezaeian S, Ahmadzadeh J. Assessment of food habits and their association with cardiovascular risk factors in employees. Int J Collab Res Intern Med Public Health 2012;4(4): 339-43.
- 9-Hultin H. Trimethylamine-N-oxide (TMAO) demethylation and protein denaturation in fish muscle. Technomic Publishing, Lancaster, Pennsylvania; 1992. p. 25-42.
- 10-Arockiaraj J, Easwvaran S, Vanaraja P, Singh A, Othman RY, Bhassu S. Molecular cloning, characterization and gene expression of an antioxidant enzyme catalase (MrCat) from *Macrobrachium rosenbergii*. Fish Shellfish Immunol 2012;32(5): 670-82.

- 11-Nathan C, Cunningham-Bussel A. Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive oxygen species. *Nat Rev Immunol* 2013;13(5): 349.
- 12-Syväoja EL, Salminen K, Piironen V, Varo P, Kerojoki O, Koivistoinen P. Tocopherols and tocotrienols in Finnish foods: Fish and fish products. *J Am Oil Chem Soc* 1985;62(8): 1245-8.
- 13-Hardy R, Mackie P. Seasonal variation in some of the lipid components of sprats (*Sprattus sprattus*). *J Sci Food Agr* 1969;20(4): 193-8.
14. Sam S.S, Rasmi Y. free radicals, antioxidants and their role in human health. Urmia: Shahed Publications Urmia University of Medical Sciences; 2014.
- 15 -Alam MN1, Bristi NJ1, Rafiquzzaman M1. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm J* 2013;21(2): 143-52.
- 16- Edwin N, Frankel N, Meyer S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *JSCI* 2000; 80(13): 1823-991.
- 17- Singh S, Singh R. In vitro methods of assay of antioxidants an overview. *Food Rev Int* 2008; 24: 392-415.
- 18-Tang X, He Z, Dai Y.L, Xie M, Chen J. Peptide fractionation and free radical scavenging activity of zein hydrolysate. *J Agric Food Chem* 2009; 58: 587-93.
- 19-Zhou K, Yu L. 2004. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *LWT-FOOD SCI TECHNOL*.37: 717-721
- 20- Aloglu H.S, Oner Z. Determination of antioxidant activity of bioactive peptide fractions obtained from yogurt. *J Dairy Sci* 2011; 94: 5305-14.
- 21-Berker K, Guclu K, Tor I, Apak R. Comparative evaluation of Fe (III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. *Talanta* 2007. 72, 1157-65.
- 22-Simitzis P, Deligeorgis S, Bizelis J, Dardamani A, Theodosiou I, Fegeros K. Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. *Meat Sci* 2008;79(2): 217-23.
- 23-Cabrini L, Landi L, Stefanelli C, Barzanti V, Maria SA. Extraction of lipids and lipophilic antioxidants from fish tissues: A comparison among different methods. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 1992;101(3): 383-6.
- 24-Hou W-C, Lee M-H, Chen H-J, Liang W-L, Han C-H, Liu Y-W, et al. Antioxidant activities of dioscorin, the storage protein of yam (*Dioscorea batatas* Decne) tuber. *J Agric Food Chem* 2001;49(10): 4956-60.
- 25-Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 1999;26(9-10): 1231-7.
- 26-Siahpoosh A, Alikhani K. Evaluation of antioxidant capacity and free radical scavenging activities of pepsin extract of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) from Persian Gulf. *Indian J Tradit Know* 2016;15(4): 604-10.
- 27-Saad B, Sing YY, Nawi MA, Hashim N, Ali ASM, Saleh MI, et al. Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed-phase HPLC. *Food Chem* 2007;105(1): 389-94.
- 28-Sçahin S, Demir C, Güçer S. Simultaneous UV-vis spectrophotometric determination of disperse dyes in textile wastewater by partial least squares and principal component regression. *Dyes Pigm* 2007;73: 368e76.
- 29-Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 1841-56.
- 30-Chalamaiah M, Hemalatha R, Jyothirmayi T. Fish protein hydrolysates: proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and

- applications: a review. Food Chem 2012;135(4): 3020-38.
- 31-Mehregan NA, Sadeghi MA, Ghorbani M, Taheri A, Alami M. Optimization of different factors affecting antioxidant activity of crucian carp (*Carassius carassius*) protein hydrolysate by response surface methodology. 2013.
- 32-Frankel EN. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. Food Chem 1996;57(1): 51-5.
- 33-Hatate H, Numata Y, Kochi M. Synergistic effect of sardine myofibril protein hydrolysates with antioxidants. Nippon Suisan Gakk 1990; 56: 10-1.
- 34- Shailaja C, Chellaram M, Chandrika C, Gladis Rajamalar T. Prem Anand antioxidant Properties Of Seer Fish Meat. Int J Pharm Bio Sci 2012; 3(3): B 173 - 8.
- 35- Shahidi F, Han X-Q, Synowiecki J. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). Food Chem 1995;53(3): 285-93.
- 36-Ahmady N. Determination and comparison of antioxidant effect of different extracts of *Lutjanus malabaricus* in Persian Gulf using different tests. (Dissertation). Ahwaz: Ahwaz Jondishapur University of Medical Sciences, School of Pharmacy; 2018.

EVALUATION OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF PERCH AND CARP FISH OF ARAS RIVER AND THEIR HEALTH EFFECTS IN HUMANS

Aghakhan kheiri¹, Javad AliakbarLu^{2}, Raheleh Tahmasebi³*

Received: 12 Oct, 2019; Accepted: 20 Dec, 2019

Abstract

Background & Aims: The natural antioxidants in fish play an important role in inhibiting free radicals and preventing diseases such as cancer, atherosclerosis, diabetes, and so on. This study was conducted to evaluate the health effects of eating perch and carp fish meat of Aras River in humans in the North West of Iran.

Materials & Methods: In this research, after the preparation of aqueous and alcoholic meat extracts of 2 species of fish caught in the Aras river in the northwest of Iran, their antioxidant activity was compared with synthetic antioxidant BHT using DPPH, ABTS, and RP methods. Results were analyzed by one-way ANOVA and Duncan's post hoc test.

Results: According to the results obtained in the aqueous and alcoholic extracts, perch fish meat had significantly higher antioxidant properties and regenerative capacity than carp fish meat. There was a significant difference between the 2 species ($p < 0.05$).

Conclusion: These results, considering the beneficial effects of antioxidants on human health, recommend the consumption of fish, especially fish with antioxidant properties and high levels of remission, such as perch fish.

Keywords: Healthy, perch, carp, Aras River, Antioxidants properties

Address: Department of Health Food, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Tel: +989141600847

Email: Jaliakbarlu@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2020; 30(12): 993 ISSN: 1027-3727

¹ Ph.D. student of Food Quality and Quality Control Department, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

² Associate Professor, Department of Health Food, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding Author)

³ Professor of Educational and Research Complex Urmia University of Urmia, Urmia, Iran