

مقایسه کارایی آنتی اکسیدانی کورکومین زردچوبه با آنتی اکسیدان های طبیعی و سنتزی در سیستم مدل غذایی (روغن سویا)

نعمه عشقی^۱، محمد حسین حدادخداپرست^۲، فرشته حسینی^{۳*}، شادی بلوریان^۴

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، سبزوار، ایران

^۲ استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

^۳ دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

^۴ عضو هیات علمی پژوهشکده علوم و فرآوری مواد غذایی، جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۷/۱۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۵

چکیده

امروزه تقاضای روزافزون برای گسترش و توسعه ترکیبات طبیعی در تولید مواد غذایی، توجه به عصاره های گیاهی را برای تولید موادی نظیر آنتی اکسیدان ها افزایش داده است. در سال های اخیر به دنبال اثبات آثار سوء آنتی اکسیدان های سنتزی، تحقیقات بسیاری پیرامون جایگزین کردن آن ها با آنتی اکسیدان های طبیعی صورت گرفته است. زردچوبه از جمله رستنی هایی است که به سبب ویژگی های منحصر به فرد سلامتی زایی اش به عنوان یک ماده غذایی عمل گرا شناخته شده و به صورت سنتی در صنایع غذایی و دارویی کاربردهای فراوانی دارد. در این پژوهش با هدف معرفی یک آنتی اکسیدان طبیعی جدید به صنعت غذا، ماده مؤثره موجود در ریزوم زردچوبه (کورکومین) به روش ماسراسیون استخراج شد و با روش های کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) و رزونانس مغناطیسی هسته (NMR) شناسایی و تعیین ویژگی گردید. سپس تأثیر غلظت های مختلف کورکومین بر روند اکسیداسیون روغن سویا در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی رایج (TBHQ) و آنتی اکسیدان طبیعی آلفاتوکوفرول طی سه ماه در شرایط دمایی ۲۵ و ۵۵ درجه سانتی گراد و دو محیط نور و تاریکی مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کورکومین میزان اکسیداسیون به طور معنی دار کاهش می یابد. همچنین عدد پراکسید روغن حاوی کورکومین با غلظت ۰/۰۲ درصد، در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد مشابه آلفاتوکوفرول با غلظت ۰/۰۲ درصد و TBHQ با غلظت ۰/۰۱۲ درصد بود. در بررسی تأثیر نور، داده های به دست آمده نشان دادند که در روغن حاوی ۰/۰۲ درصد کورکومین، در صورت عدم حضور نور، میزان اکسیداسیون با غلظت مشابه آلفاتوکوفرول و TBHQ با غلظت ۰/۰۱۲ یکسان می باشد. همچنین در کلیه نمونه ها میزان عدد پراکسید با افزایش دما و حضور نور به طور معنی داری افزایش نشان داد اما تیمار نور بر اسیدیته و عدد یدی تأثیر معناداری نداشت ($p < 0.05$).

واژه های کلیدی: زردچوبه، کورکومین، آنتی اکسیدان طبیعی، روغن سویا.

۱- مقدمه

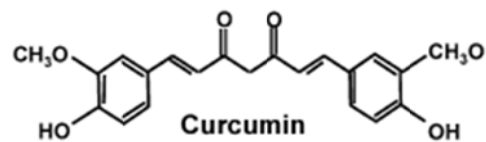
ویژگی‌های عملکردی چشمگیری است و در تحقیقات خواص متعددی از این ترکیب از جمله فعالیت ضد تومور و ضد سرطان (۱۷ و ۲۰)، کاهش سطح کلسترول خون و کبد (۱۷)، افزایش عملکرد ایمنی بدن (۹)، بازدارندگی از بیماری‌های قلبی-عروقی (۲۰)، جلوگیری از آسیب غشاهای زیستی در مقابل پراکسیداسیون (۱۴)، خاصیت ضد التهاب و کاهش آرتروز روماتیسمی (۱۹)، حفاظت در مقابل بیماری آلزایمر (۱۹)، اثرات حفاظتی در مقابل آفلاتوکسین B₁ (۱۰) و خاصیت آنتی‌اکسیدانی (۱۵) گزارش شده است.

از نظر ساختاری، کورکومین دارای دو حلقه فنولی در مولکول خود است در حالی که BHA و BHT تنها یک حلقه فنولی دارند، بنابراین کورکومین می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری نسبت به آن‌ها داشته باشد (۹). کورکومین به عنوان یک ترکیب سلامتی بخش^۷ نیز شناخته می‌شود. همچنین این ترکیب می‌تواند از ایجاد تندی در مواد دارای اسیدهای چرب چند غیر اشباعی (PUFA) و فراورده‌های امگا ۳ ممانعت نموده و به عنوان نگه‌دارنده در برابر اکسیداسیون کاربرد داشته باشد (۱۴). تحقیقات نشان داده است که کورکومینوئیدها رادیکال‌های آزاد و انواع اکسیژن فعال (ROS) نظیر رادیکال‌های هیدروکسیل، رادیکال‌های سوپراکسید، اکسیژن نوزاد، رادیکال‌های پروکسیل و پروکسی نیتريت که محصولات آن‌ها در القاء و ایجاد اکسیداسیون موثرند را به دام می‌اندازند. کورکومینوئیدها به طور موثر رادیکال آزاد پایدار ۱ و ۱-دی فنیل-۲-پیکریل-هیدرازیل (DPPH) را خنثی می‌کنند و این واکنش اغلب برای مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ترکیبات مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳).

محققین معتقدند که کورکومین از طریق به دام اندازی و پایدار کردن انواع رادیکال‌های آزاد نظیر رادیکال‌های پراکسیل چربی، می‌تواند از گسترش اکسیداسیون جلوگیری نماید و این عمل از طریق در اختیار گذاشتن اتم هیدروژن قابل انجام است. کورکومین به دلیل این که هم دارای حلقه فنولی و هم بخش β-دی کتون بر روی یک مولکول می‌باشد، منحصر به فرد است زیرا هر دوی این گروه‌ها سبب ایجاد قابلیت فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شوند. برخی محققان ادعا می‌کنند که کورکومین اتم‌های هیدروژن را از گروه‌های فنولی می‌دهد در حالی که دیگران بر این باورند که هیدروژن از گروه متیلن مرکزی منشأ دارد. همچنین اثرات

زردچوبه^۱، ساقه زیرزمینی گیاهی از خانواده زنجبیل^۲ می‌باشد که در انگلیسی به آن *Curcuma* و *Turmeric* می‌گویند (۲). زردچوبه گیاهی علفی، پایا، به ارتفاع یک تا یک و نیم متر و دارای ریزوم متورمی است که از آن ساقه‌ی هوایی خارج می‌شود. این گیاه در نواحی شرقی هندوستان و چین می‌روید ولی در بسیاری از نقاط حاره ای مانند مالزی، پاکستان، اندونزی، آفریقا و آمریکای جنوبی نیز پرورش می‌یابد و تکثیر آن مانند زنجبیل از طریق کاشتن قطعات ریزوم جوانه دار گیاه صورت می‌گیرد و به سبب ویژگی‌های منحصر به فرد سلامتی‌زایی‌اش در سراسر جهان به عنوان یک ماده غذایی عمل‌گرا^۳ شناخته شده است. گیاه زردچوبه به صورت سنتی در صنایع غذایی و دارویی کاربردهای فراوانی دارد. خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد تورم و ضد سرطان ریزوم زردچوبه به اثبات رسیده است (۲۳).

کورکومین^۴ یا دی فرولیل متان (C₁₂H₂₀O₆)، یک پلی فنول هیدروفوب مشتق شده از ریزوم گیاه زردچوبه است. ریزوم زردچوبه محتوی سه آنالوگ مهم است: کورکومین، دمتوکسی کورکومین^۵ و بیس دمتوکسی کورکومین^۶ که در مجموع کورکومینوئیدها نامیده می‌شوند. این ترکیبات در موقعیت گروه متوکسی بر روی حلقه آروماتیک با یکدیگر متفاوتند.



شکل ۱- ساختمان شیمیایی کورکومین (17)

در میان این سه کورکومینوئید، کورکومین در زردچوبه از همه فراوان‌تر است. کورکومین رنگ زرد مناسبی دارد که امکان استفاده از آن به عنوان عامل رنگ دهنده در صنایع غذایی را مطرح می‌سازد (17). کورکومین به صورت خالص، پودری کریستالی و نامحلول در آب بوده و به راحتی در حلال‌هایی مانند استون، اتانول و متانول حل می‌شود (۱۵ و ۲۷). کورکومین دارای

1 - Curcuma Longa
2 - Zingiberacea
3 - Functional
4 - Curcumin
5 - Demethoxycurcumin
6 - Bisdemethoxycurcumin

7 - Functional Food

در پژوهش انجام شده توسط ونکاتسان^۲ و همکاران در سال ۲۰۰۰، خواص آنتی اکسیدانی ترکیبات سنتزی متناظر با کورکومین با استفاده از سه مدل ممانعت از پراکسیداسیون چربی، جذب رادیکال DPPH و رادیکال ABTS مطالعه شد. در این مطالعه چندین ترکیب متناظر حلقوی به صورت متناظر تهیه شده و خاصیت آنتی اکسیداسیونی آنها تعیین گردید. بر اساس نتایج، آنالوگ های فنولی بسیار فعال تر از آنالوگ های غیر فنولی هستند و حتی برخی از غیر فنولی ها، غیر فعال می باشند. این ترکیبات بسیار فعال تر از آنتی اکسیدان های استاندارد آلفاتوکوفرول و ترولوکس هستند. این مطالعه نشان داد که گروه فنولی برای فعالیت کورکومین بسیار مهم است (۲۶).

جایپراکاشا و همکاران در سال ۲۰۰۲، در بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی موتاژنی روغن تورمریک^۳ گزارش دادند فراکسیون از روغن که دارای ترکیبات فنولی بالاتری بوده است با ایجاد اثرات سینرژیستی توانسته است بالاترین ظرفیت آنتی اکسیدانی را نشان دهد (۱۶).

در پژوهش حاضر، تأثیر غلظت های مختلف کورکومین استخراج شده از ریزوم زردچوبه بر میزان پایداری اکسیداتیو نمونه های روغن سویای بدون آنتی اکسیدان تحت نگهداری در دماهای مختلف و شرایط نور و تاریکی به مدت ۹۰ روز مورد بررسی قرار گرفت و با آنتی اکسیدان های طبیعی آلفاتوکوفرول و سنتزی TBHQ مقایسه گردید تا استفاده از این ترکیب طبیعی برای صنایع روغن امکان سنجی گردد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد اولیه

ریزوم زردچوبه هندی، روغن سویای تصفیه و بو گیری شده بدون آنتی اکسیدان از شرکت دامون فریمان و مواد شیمیایی مورد نیاز از دو شرکت مرک آلمان و سیگمای آمریکا تهیه شد.

۲-۲- استخراج کورکومین

ریزوم زردچوبه با استفاده از آسیاب پودر شده و سپس ۵۰۰ گرم از پودر ریشه گیاه زردچوبه که توسط الک با مش ۳۰ الک گردیده، به مدت یک شبانه روز در حلال هگزان خیسانده شد.

کورکومین می تواند به وسیله چلات کنندگی فلزات توسط گروه β -دی کتون مرکزی و یا از طریق تغییرپذیری هیدروژن های موجود روی گروه متیلن مرکزی در کورکومین توضیح داده شود. دیگر پژوهشگران بر این باورند که قابلیت آنتی اکسیدانی کورکومین ناشی از گروه CH_2 مرکزی نبوده بلکه به دلیل گروه های فنولی موجود در هر دو طرف مولکول است (۹، ۲۳، ۲۶).

یکی از سامانه های غذایی روغن ها می باشند که مصرف بسیار زیادی در زندگی روزمره دارند. از آنجا که پایداری اکسیداتیو روغن ها و چربی ها تحت تأثیر فاکتورهای متعددی نظیر نور، یون های فلزی، اکسیژن، دما و آنزیم ها قرار می گیرد، افزودنی های غذایی نظیر آنتی اکسیدان ها به منظور افزایش زمان ماندگاری، حفظ ایمنی و کیفیت تغذیه ای، خواص عملکردی و مطلوبیت فراورده، در انواع روغن به کار گرفته می شوند. آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که به طرق مختلف از واکنش رادیکال های آزاد به شکل های اکسیژن و نیتروژن فعال با بیومولکول هایی نظیر پروتئین، آمینو اسید، لیپید و DNA، جلوگیری کرده و منجر به کاهش آسیب و یا مرگ سلولی، بیماری های قلبی - عروقی و سرطان ها می شوند (۲۵). در کنار نقش آن ها در سامانه های زیستی، در مواد غذایی سرشار از چربی های غیر اشباع نیز از کاهش کیفیت تغذیه ای، ایمنی، بدطعمی و بی رنگ شدن به علت ایجاد ترکیبات سمی جلوگیری می کنند.

جایپراکاشا^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۶ در بررسی ظرفیت و فعالیت آنتی اکسیدانی کورکومین، دمتوکسی کورکومین و بیس دمتوکسی کورکومین به ترتیب با استفاده از روش های فسفو مولیبدونیوم و پراکسیداسیون اسید لینولئیک گزارش دادند که ظرفیت آنتی اکسیدانی کورکومینوئیدها به این صورت است: کورکومین < دمتوکسی کورکومین < بیس دمتوکسی کورکومین. همچنین ثابت شد که در مقایسه با BHT، فعالیت آنتی اکسیدانی در مورد کورکومین بالاترین و سپس دمتوکسی کورکومین و بیس دمتوکسی کورکومین دیده می شود. در این پژوهش پیشنهاد شد که این سه ترکیب می توانند در سیستم های غذایی برای افزایش زمان ماندگاری استفاده شوند (۱۵).

^۲ - Venkatesan
^۳ -Turmeric Oil

^۱ - Jayaprakasha

دقیقه به شدت هم زده شد. بعد از گذشت این مدت گلیسرول ته نشین شد و لایه رویی آن که همان استرهای متیله شده محلول در هپتان بود جدا شد و به مقدار ۱ میکرو لیتر جهت تعیین نوع و میزان اسیدهای چرب به دستگاه گاز کروماتوگراف تزریق شد. پس از تزریق نمونه به دستگاه گاز کروماتوگراف، منحنی رسم شده و زمان بازداری^۲ مربوط به هر اسید چرب با منحنی مربوط به اسید چرب استاندارد و زمان بازداری آن مقایسه گردید که به این ترتیب نوع و میزان اسیدهای چرب موجود در نمونه مورد آزمایش مشخص شد. در این پژوهش دستگاه کروماتوگراف مدل A ۱۷ ساخت شرکت shimadzu ژاپن مورد استفاده قرار گرفت. گاز حامل هلیوم بوده که با فشار ۱۰۰ KPa و شدت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه استفاده شد. در این تحقیق از ستون کاپیلاری BD-23 با ماهیت قطبی به طول ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۳۲ میلی متر استفاده شد. دستگاه کروماتوگرافی مجهز به آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای^۳ با دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود. برنامه دمایی به صورت هم دما^۴، در دمای ۱۹۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد و دمای قسمت تزریق ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد بود (۲۱).

۲-۵- آماده سازی نمونه‌های روغن حاوی آنتی‌اکسیدان

کروماتوگرافی در سه غلظت $C_1=0/012$ ، $C_2=0/016$ و $C_3=0/02$ درصد، آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ ($0/012=B$ درصد) و آنتی‌اکسیدان طبیعی آلفاتوکوفرول ($0/02=A$ درصد) در ۳-۵ میلی لیتر اتانول حل شد و به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان افزوده گردید و روی همزن مغناطیسی با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. نمونه‌های تولید شده به شیشه‌های تیره (D) و روشن (L) اضافه گردید. سپس نمونه‌ها به همراه شاهد (روغن سویا بدون افزودن آنتی‌اکسیدان) $F=$ در دو دمای ۲۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتورهای مجهز به سیستم نوری ساخت شرکت Binder آلمان نگهداری شده و در روزهای ۰، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۶۰ و ۹۰ اعداد پراکسید، اسیدیته و عدد یدی نمونه‌های روغن اندازه‌گیری گردید.

اندازه‌گیری عدد پراکسید به روش یدومتری طبق استاندارد AOCS با شماره cd 8b-90 بر حسب $meqO_2/Kg$ اندازه

سپس مخلوط حاصل فیلتر شده و توسط دستگاه روتاری اواپراتور، حلال هگزان حذف گردید. حاصل این مرحله تولید نوعی روغن زردرنگ^۱ بود. سپس عملیات استخراج با استفاده از اتانول به مدت یک شبانه روز ادامه یافت و این مرحله چند بار تکرار شد (۵). عصاره الکلی حاصل تغلیظ شده و پس از حذف باقی‌مانده حلال در دمای محیط، به نسبت ۱:۵ اتانول و آب افزوده شد تا رسوب تشکیل شود. رسوب بدست آمده در مجاورت هوا خشک شد و پودر کورکومین بدست آمد.

۲-۳- روش‌های شناسایی ترکیب کورکومین استخراج شده

۲-۳-۱- کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)
کورکومین استخراج شده محلول در متانول، بر روی کاغذ TLC نقطه گذاری شد. جداسازی ایزومرهای موجود به وسیله حلال‌های دی کلرومتان و متانول به نسبت ۹/۹ : ۰/۱ حجمی انجام گرفت (۴).

۲-۳-۲- رزونانس مغناطیسی هسته (NMR)

جهت شناسایی ساختمان شیمیایی کورکومین، دستگاه NMR ساخت شرکت bruker آلمان مدل Ac80 مورد استفاده قرار گرفت. کورکومین محلول در متانول دوتره (در متانول دوتره برای جلوگیری از ایجاد پیک‌های مزاحم پروتون در طیف NMR، ۹۹/۵٪ از پروتون‌های متانول با دوتریوم جایگزین شده است) در لوله مخصوص NMR قرار گرفت و سپس در محل میدان مغناطیسی دستگاه NMR قرار داده شد.

۲-۴- تعیین ترکیب اسیدهای چرب روغن سویا به روش گاز کروماتوگرافی (GC)

برای تعیین پروفیل اسیدهای چرب روغن سویای مورد آزمون، از استرهای متیلک آن‌ها استفاده شد که نقطه جوش پایین‌تری دارند (۱).

جهت متیله کردن اسیدهای چرب موجود در روغن، ابتدا ۱۰-۷ قطره نمونه روغن را با ۷ میلی لیتر هپتان نرمال و ۲ میلی لیتر محلول پتاس متانولی ۲ مولار مخلوط نموده، محلول را به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۵۵-۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و هر ۵

² - Retention time

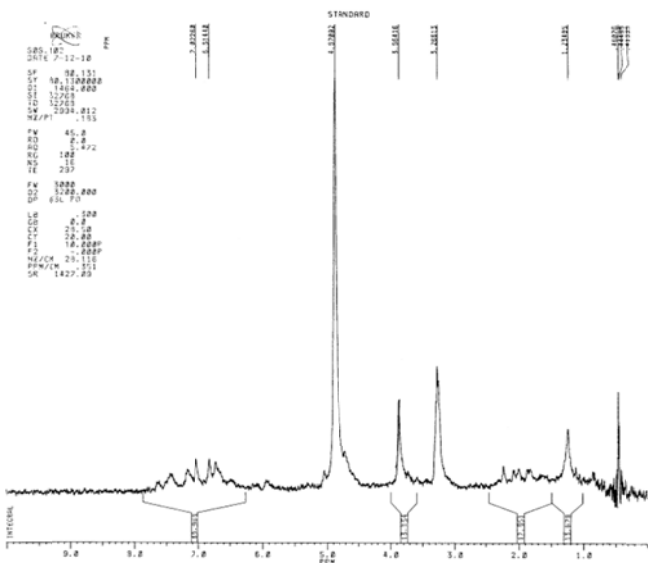
³ - Flame Ionization Detector

⁴ - Isothermal

¹ - Turmeric Oil

۲-۳- شناسایی کورکومین توسط NMR

طیف بدست آمده از NMR ساختار شیمیایی کورکومین که دارای گروه های فنولی است را تایید نمود (شکل ۳).



شکل ۳- طیف NMR کورکومین

۳-۳- تعیین اسیدهای چرب نمونه روغن سویای بدون آنتی اکسیدان با استفاده از GC

نتایج آزمون GC روغن سویای بدون آنتی اکسیدان نشان داد که اسید چرب غالب آن اسید لینولئیک است و سایر اسیدهای چرب در دامنه استاندارد روغن سویا قرار دارند (جدول ۱).

جدول ۱- اسیدهای چرب نمونه روغن سویا در مقایسه با روغن سویای استاندارد (درصد)

روغن استاندارد	روغن مورد آزمایش	اسید چرب
۸-۱۳/۵	۱۰/۵۰۳	C16:0
۲-۵/۴	۴/۷۲۴	C18:0
۱۷/۷-۲۸	۲۳/۸۴۳	C18:1
۴۹/۸-۵۹	۵۲/۳۸	C18:2
۵-۱۱	۵/۶۶۳	C18:3
۰/۱-۰/۶	۰/۳۸۴	C20:0

گیری اسیدیته به روش تیتراسیون بر حسب mg/g اسید چرب غالب طبق استاندارد AOCS یا شماره 40-5a ca و اندازه گیری عدد یدی به روش هانوس بر حسب ۱۲٪ طبق استاندارد AOCS با شماره 15-1 cd انجام شد (۶).

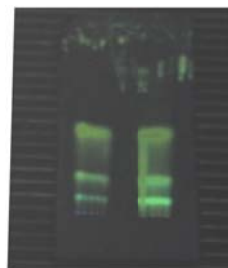
۲-۶- روش آماری

آزمایشات در قالب طرح آماری فاکتوریل با سه تکرار انجام شده و با استفاده از نرم افزار MINITAB آنالیز واریانس گردید و سپس مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار MSTATC و با آزمون LSD صورت گرفت و رسم نمودارها با کمک نرم افزار Excell انجام شد.

نتایج و بحث

۳-۱- شناسایی و تعیین ایزومرهای کورکومین توسط TLC

نتایج آزمون TLC حاکی از آن بود که نمونه استخراج شده حاوی سه ترکیب کورکومین، دمتوکسی کورکومین و بیس دمتوکسی کورکومین می باشد که به صورت سه نقطه مجزا قابل رویت است و با نمونه شاهد استاندارد مطابقت دارد (شکل ۲).



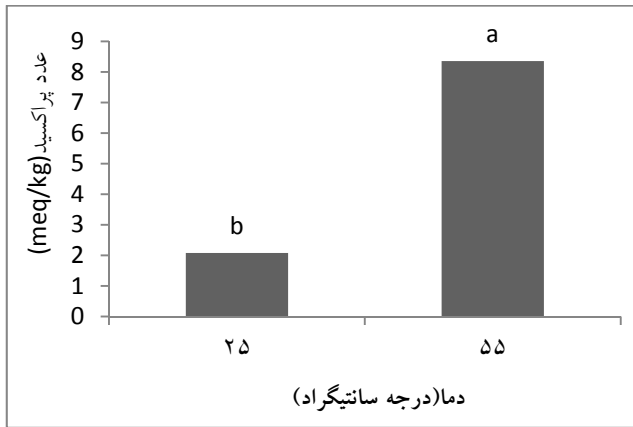
شکل ۲- تصویر UV کروماتوگرافی لایه نازک کورکومین

در پژوهش انجام شده توسط آلمیدا^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۵ و روحانی و همکاران در سال ۱۳۸۵ بر روی کورکومین استخراج شده از زردچوبه با استفاده از روش شناسایی کروماتوگرافی لایه نازک، ایزومرهای آن ترکیب به این ترتیب جداسازی شدند: کورکومین، دمتوکسی کورکومین و بیس دمتوکسی کورکومین (۲ و ۴).

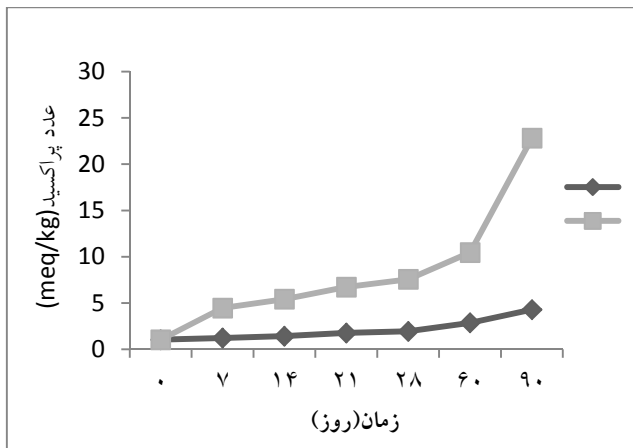
¹ - Almeida

۳-۴- ارزیابی تأثیر آنتی‌اکسیدانی عصاره زردچوبه

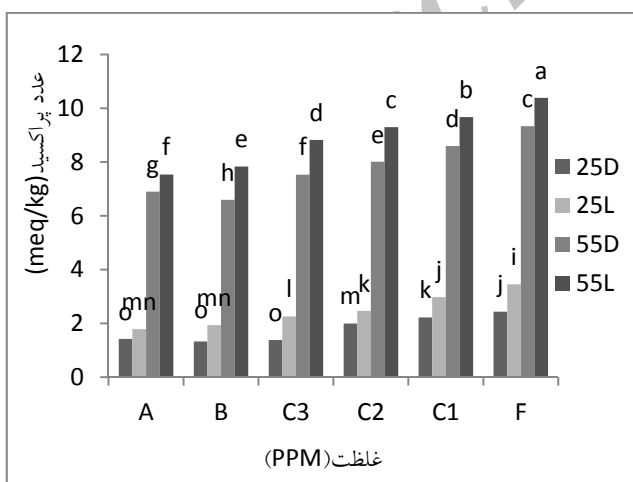
مطابق شکل ۴، می‌توان این‌گونه استنباط کرد که اکسیداسیون در نمونه شاهد بالاترین مقدار را دارد، بنابراین تمامی نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان در برابر اکسیداسیون پایدارتر از نمونه شاهد می‌باشند و همچنین مشاهده شد که عدد پراکسید در نمونه‌های روغن وابسته به غلظت کورکومین است بطوریکه با افزایش غلظت کورکومین اثر آنتی‌اکسیدانی افزایش و در نتیجه عدد پراکسید کاهش نشان می‌دهد (۱۸).



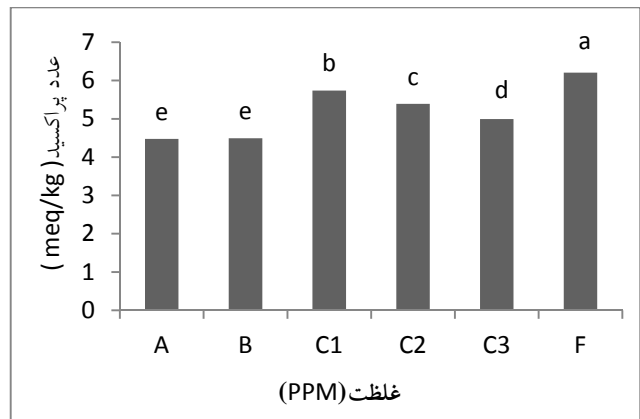
شکل ۵- تأثیر دمای نگهداری بر میانگین عدد پراکسید روغن سویا



شکل ۶- تأثیر دمای نگهداری بر میانگین عدد پراکسید روغن سویا طی زمان نگهداری



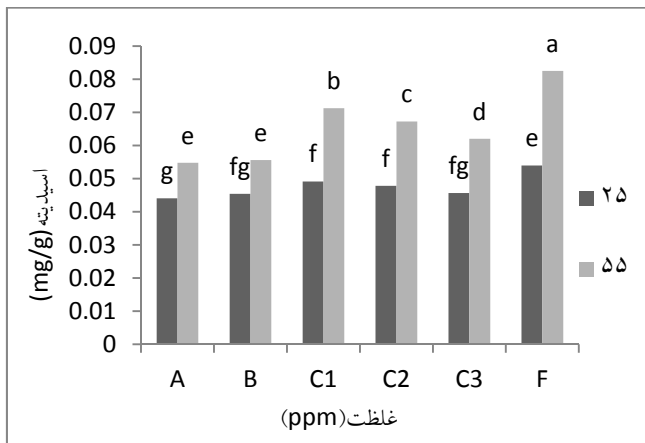
شکل ۷- تأثیر دمای نگهداری، نور و غلظت‌های مختلف کورکومین بر میانگین عدد پراکسید روغن سویا



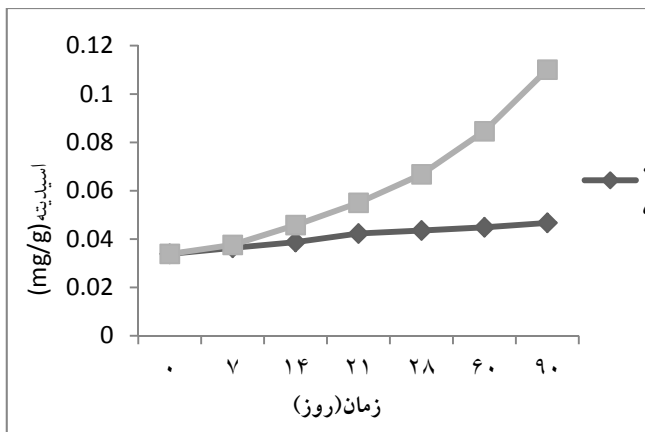
شکل ۴- تأثیر غلظت‌های مختلف کورکومین بر میانگین عدد پراکسید روغن سویا

در شکل ۵ تأثیر دمای نگهداری بر میانگین عدد پراکسید نمونه‌های روغن نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میانگین عدد پراکسید کلیه تیمارها در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بوده است ($p < 0.05$). در نمونه‌های روغن حاوی کورکومین، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد میزان عدد پراکسید تا پایان ماه اول نگهداری تغییر معناداری نشان نداد اما بعد از آن به تدریج افزایش یافت، اما در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد در تمام بازه‌های زمانی، اکسیداسیون افزایش معنی‌دار داشته است (شکل ۶) یعنی دما به عنوان یک پراکسیدان اکسیداسیون را سرعت بخشیده است.

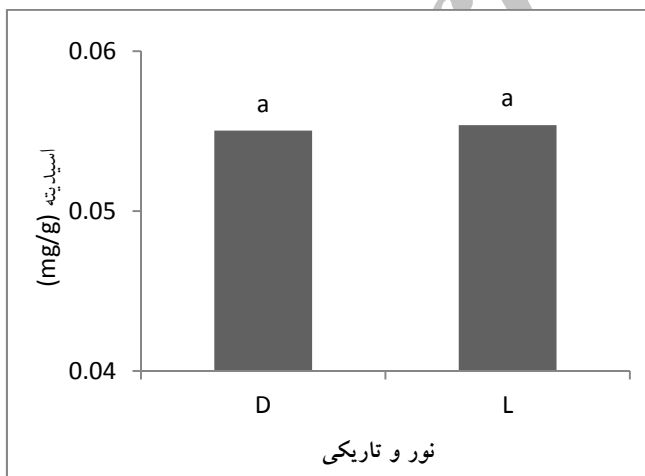
میانگین عدد پراکسید کلیه تیمارهای روغن در شرایط نور به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از شرایط تاریکی بوده است ($p < 0.05$). در شکل ۷ مشاهده می‌شود که کورکومین در بالاترین غلظت خود و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شرایط تاریکی فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشابه آلفاتوکوفرول و TBHQ را داشته است.



شکل ۹ - تأثیر دمای نگهداری و غلظت های مختلف کورکومین بر میانگین اسیدیته روغن سویا



شکل ۱۰ - تأثیر دمای نگهداری بر اسیدیته روغن سویا طی زمان نگهداری

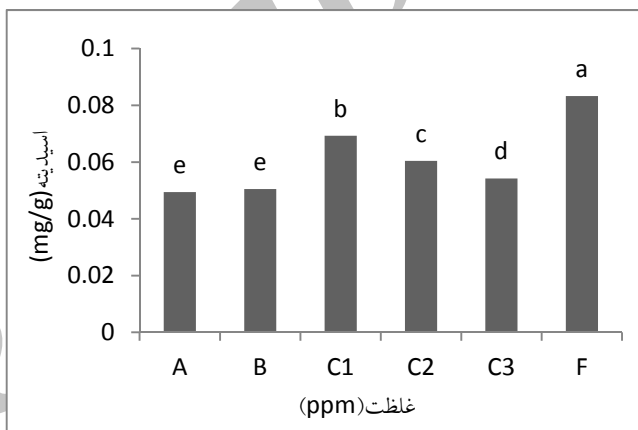


شکل ۱۱ - تأثیر نور بر تغییرات اسیدیته روغن سویا

میانگین عدد یدی کلیه تیمارها در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد کمتر از دمای ۲۵ درجه سانتی گراد بوده است ($p < 0.05$) که می تواند به دلیل نقش دما در واکنش پیوندهای دو گانه و در نتیجه

نور می تواند انرژی لازم برای افزایش سرعت اکسیداسیون را تأمین کند و به عنوان یک عامل پراکسیدان باعث افزایش روند تولید محصولات اولیه اکسایش (هیدروپراکسیدها) و محصولات ثانویه اکسیداسیون (آلدئیدها) شود و یا اینکه موجب تحریک حساس کننده شده، از طریق واکنش های فتو اکسیداسیون (نوع اول یا دوم) فساد روغن را تسریع کند.

همان گونه که در شکل ۸ مشاهده می شود تمام غلظت های کورکومین در جلوگیری از افزایش اسیدیته نسبت به نمونه شاهد بدون آنتی اکسیدان مؤثرتر عمل کردند و با افزایش غلظت کورکومین اسیدیته نمونه های روغن کاهش و در نتیجه اثر آنتی اکسیدانی افزایش یافته است.

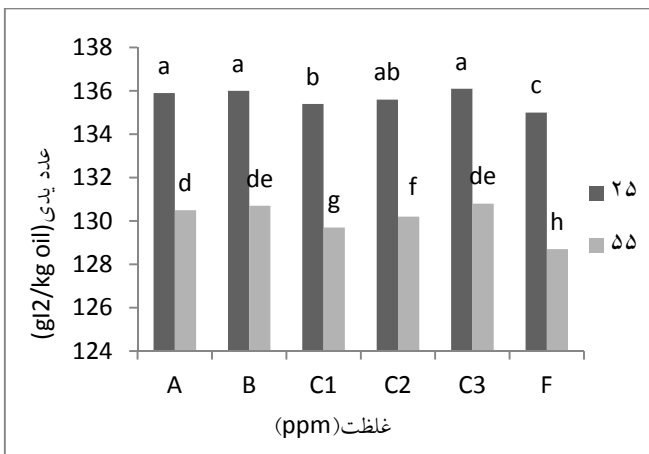


شکل ۸ - تأثیر غلظت های مختلف کورکومین بر اسیدیته روغن سویا

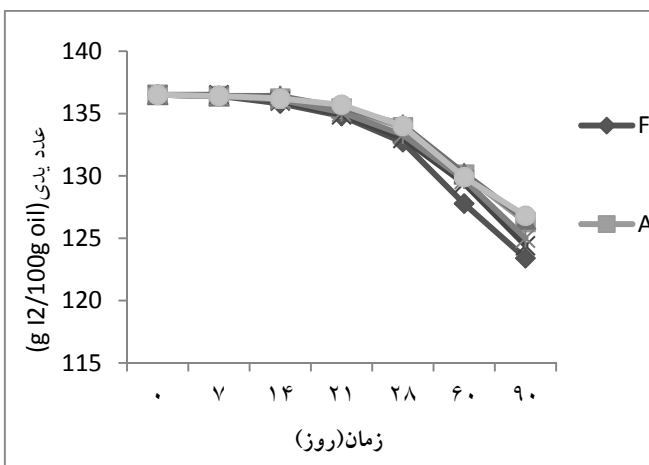
در شکل ۹ تأثیر دمای نگهداری بر اسیدیته نمونه های روغن حاوی غلظت های کورکومین نشان داده شده است. همان گونه که مشاهده می شود اسیدیته تمام نمونه های حاوی غلظت های کورکومین در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد مشابه یکدیگر بود اما در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد کورکومین در بالاترین غلظت خود کم ترین میزان اسیدیته را داشت.

در بررسی اسیدیته نمونه های روغن حاوی آنتی اکسیدان (شکل ۱۰) مشاهده شد که اسیدیته در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در طول زمان نگهداری تغییر معناداری نداشت اما در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد از روز بیست و یکم افزایش نشان داد.

در شکل ۱۱ تأثیر شرایط نور و تاریکی بر میانگین اسیدیته نمونه های روغن نشان داده شده است. همان گونه که مشاهده می شود میانگین اسیدیته کلیه تیمارها در شرایط نور در مقایسه با شرایط تاریکی تفاوت معناداری ندارد ($p < 0.05$).



شکل ۱۲- تأثیر دمای نگهداری و غلظت‌های مختلف کورکومین بر میانگین عدد یدی روغن سویا



شکل ۱۳- تأثیر غلظت‌های مختلف کورکومین بر میانگین عدد یدی روغن سویا طی زمان نگهداری

در تحقیق انجام شده در سال ۲۰۰۵ توسط ناز^۳ و همکاران مشاهده شد که اسید وانیلیک^۴، اسید کافئیک^۵ و اسید فرولیک^۶ (فنول‌های باز دارنده) و ۰/۰۲٪ عصاره چای، اندیس پراکسید و آنزیدین روغن‌های زیتون، ذرت و سویای مورد مطالعه را کاهش دادند (عصاره برگ زردچوبه شامل اسید پروتوکاتچوئیک^۷، اسید سینرجیک^۸ و اسید وانیلیک می‌باشد) (۲۲).

در بررسی انجام شده در سال ۲۰۰۱ توسط پالما^۹ و همکاران مشاهده شد که عصاره برگ زردچوبه با غلظت ۰/۰۱٪ در شرایط دمایی تسریع شده OSI بیشتری را نسبت به BHT با غلظت ۰/۰۲٪

اشباعیت آن‌ها باشد که موجب کاهش اندیس یدی شده است. بر اثر واکنش‌های باند‌های دوگانه ۱ و ۲ دی‌ال تشکیل می‌شود و همچنین بر اثر واکنش‌های زنجیره‌ای مجاور باند‌های دوگانه، محصولات تجزیه‌ای فرار تشکیل می‌شود که موجب کاهش اندیس یدی می‌گردند (۲۳).

مطابق شکل ۱۲، عدد یدی تمام نمونه‌های روغن حاوی غلظت‌های کورکومین در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشابه یکدیگر بود اما در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد کورکومین در بالاترین غلظت خود بیشترین میزان عدد یدی و بیشترین میزان غیر اشباعیت را نشان داد.

در بررسی میزان غیر اشباعیت نمونه‌های روغن حاوی آنتی‌اکسیدان (شکل ۱۳)، مشاهده شد که عدد یدی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در طول زمان نگهداری تغییر معناداری نداشت اما در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد از پایان ماه اول کاهش نشان داد. کورکومین در هر سه غلظت خود در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با نمونه شاهد فاقد کورکومین، کاهش کمتری در عدد یدی نشان داد. ترکیبات فنولیک طبیعی در گیاهان تشکیل‌دهنده‌ی کتوگه را به تعویق انداخته و از تجزیه اسید لینولئیک جلوگیری می‌کنند. این ترکیبات اتم‌های هیدروژن را به رادیکال‌های پراکسیل حمل نموده و بنابراین آریل‌اکسیل را به وجود می‌آورند و سپس با رادیکال‌های دیگر جفت شده تا فرایند رادیکالی را فرو بنشانند (۲۳).

در پژوهش انجام شده توسط نور^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۸، مشاهده شد که اندیس یدی روغن پالم حاوی عصاره برگ زردچوبه در مقایسه با روغن حاوی BHT در طی مدت زمان سرخ کردن اندیس یدی بالاتری را نشان می‌دهد (۲۳).

در تحقیق انجام شده در سال ۲۰۰۰ توسط مان^۲ و همکاران مشاهده شد که سطح اسیدهای چرب در نمونه‌های روغن حاوی ۰/۰۲٪ عصاره برگ زردچوبه مشابه روغن حاوی ۰/۰۴٪ رزماری و عصاره مریم‌گلی می‌باشد (۸).

3 - Naz
4 - Vanillic Acid
5 - Caffeic Acid
6 - Ferulic Acid
7 - Protocatechuic Acid
8 - Syringic Acid
9 - Palma

1 - Nor
2 - Man

4. Almeida, L.P., Cherubino, A.P.F., Alves, R.J., Dufosse, L., and Gloria, M.B.A. 2005. Separation and determination of the physico-chemical characteristics of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Food Research international*. 38. 1039-1044.
5. Apisarnyakul, A., Vanittanakom, B.N., Buddhasukh D. 1995. Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 49. 163-169.
6. AOCS. 1993. Official methods and recommended practices of the American oil chemists society, 4th edition. Champaign, IL: AOCS Press
7. Che Man Y, Tan CP. 1999. Effects of rosemary and sage extracts on frying performance of refined, bleached and deodorized (RBD) palm olein during deep-fat frying. *Food Chem* 69:379-383
8. Che Man YB, Jaswir I. 2000. Effect of rosemary and sage extracts on frying performance of refined, bleached and deodorized (RBD) palm olein during deep-fat frying. *Food Chem* 69:301-307
9. Cleary, K. 2004. Effects of oxygen and turmeric on the formulation of oxidative aldehyde in fresh-pack dill pickles. A Thesis submitted to the Graduate Faculty of North Carolina State University.
10. Gowda, N. K. S., Ledoux, D. R., Rottinghaus, G. E., Bermudez, A. J. and Chen, Y. C. 2008. Efficacy of Turmeric (*Curcuma longa*), Containing a Known Level of Curcumin, and a Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate to Ameliorate the Adverse Effects of Aflatoxin in Broiler Chicks. *Poult Sci* 87:1125-1130.
11. Guttierrez R, Gonzalez O, Dobarganes MC. 1988. Analytical procedures for the evaluation of used frying fats. In: Varela G, Bender AE, Morton ID (eds) *Frying food: principles, changes, new approaches*. VCH Publishers Ltd, London, pp 141-154
12. Hatcher, H., Planalp, R., Cho, J., Torti, F.M. and Torti, S.V. 2008, curcumin : from ancient medicine to current clinical trials, cellular and molecular life science, pages 1631-1652.
13. Henglein, A. 1987. Sonochemistry: historical developments and modern aspects. *Ultrasonics* 25: 6-15
14. Indira Priyadarsini. K. 1997. Free radical reactions of curcumin in membrane models. *Free Radical Biology & Medicine*. Vol 23. No 6. 838-843
15. Jayaprakasha, G.K., Jaganmohan Rao, L. and Sakariah, K.K. 2006. Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Food Chemistry* 98, Issue 4, Pages 720-724.

نشان داد که احتمالاً به دلیل فراریت بیشتر BHT نسبت به ترکیبات فنولی در دماهای بالا می باشد (۲۴).

در بررسی انجام شده توسط گوردن^۱ در سال ۱۹۹۵ بر روی بازده آنتی اکسیدانی رزماری، مریم گلی و آنتی اکسیدان های سنتزی BHA و BHT نتیجه زیر حاصل شد: BHT < مریم گلی < BHA < رزماری (۷).

۴- نتیجه گیری

نتایج نشان داد که افزایش دمای نگهداری و حضور نور روند اکسیداسیون روغن سویا را تسریع می کند و اثر آنتی اکسیدانی غلظت ۰/۰۲ درصد کورکومین با غلظت ۰/۰۱۲ درصد آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ و غلظت ۰/۰۲ درصد آنتی اکسیدان طبیعی آلفاتوکوفرول در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و در تاریکی مشابه است. در نتیجه دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و شرایط تاریکی بهترین حالت نگهداری روغن حاوی کورکومین با غلظت ۰/۰۲ درصد می باشد. از آنجائیکه هر سه آزمون عدد پراکسید، عدد یدی و عدد اسیدی، خاصیت آنتی اکسیدانی کورکومین را تایید نمود، می توان نتیجه گرفت که کورکومین به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی، توانایی واکنش با رادیکال های حاصل از اکسیداسیون لیپیدها (O₂•, OH•, LO•, LOO•, L• و...) را داشته و موجب کاهش سرعت اکسیداسیون خودبخودی می شود و می توان کورکومین را پس از انجام آزمایش های تکمیلی به مواد غذایی اضافه کرد.

۵- منابع

۱. دستپاک، آ، ۱۳۸۰. تعیین قرابت و بررسی شیمیو تاکسونومی چند رقم کدو (Cucurbita)، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه
۲. روحانی، ش. ۱۳۸۵. استخراج و آنالیز رنگدانه های موجود در ریشه گیاه زردچوبه، شانزدهمین کنگره ملی صنایع غذایی ایران، گرگان.
۳. سالاری، ا. ۱۳۸۵. استخراج عصاره هسته انگور با سیستم های مختلف حلال و ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی آن. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

¹ - Gordon

16. Jayaprakasha, G.K. and Jena, B.S., 2002, Evaluation of antioxidant activities and antimutagenicity of turmeric oil: a by product from curcumin production. Human resonance development, central. *Food Technological Research institute*, pages 828-835.
17. Joe, B. Vijaykumar, M. and Lokesh, B.R. 2004. Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanism of action. *Food Science and Nutrition*. 44:97-111.
18. Kammal-Eldin A and Appelqvist L. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids* 1996, 31: 671 - 701.
19. Kiani, L. Natural Miracles: What functional foods can do for you. Discovery Guides.
20. Lopez-Lazaro, M. 2008. Anticancer and carcinogenic properties of curcumin: Considerations for its clinical development as a cancer chemopreventive and chemotherapeutic agent. *Mol. Nutr. Food Res.*, 52, S103–S127.
21. Naz S, Siddiqi R, Sheikh H, Sayeed SA. 2005. Deterioration of olive, corn and soybean oils due to air, light, heat and deepfrying. *Food Res Intern* 38:127–134
22. Metcalf, L. C., Schmitz, A. F. and Pellca, J. R. 1996. Rapid preparation of methyl esters from lipid for chromatography analysis. *Analytical Chemistry*, 38 : 514-415.
22. Nor, F.M., Mohamed, S., Idris, N.A., and Ismail, R. 2008. Antioxidative properties of curcuma longa leaf extract in accelerated oxidation and deep frying studies. 2009. *J Am Oil Chem Soc.* 86:141-147.
23. Palma M, Pinero Z, Barroso CG. 2001. Stability of phenolic compounds during extraction with superheated solvents. *J Chromatogr A* 921(2) :169–174
24. Shrififar F, Moshafi MH and Mansouri S.H. 2007. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control* 18: 800 - 5.
25. Venkatesan, P. and Rao, M.N. 2000. Structure-activity relationships for the inhibition of lipid peroxidation and the scavenging of free radicals by synthetic symmetrical curcumin analogues. *J Pharm Pharmacol.* 52(9) :1123-8.
26. Wang, F. and Huang, W. 2007. Determination of curcumin by its quenching effect on the fluorescence of Eu³⁺-tryptophan complex. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 43: 393-398