Archive of SID

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره بادیان رومی (*Pimpinella anisum*) در سیستم های روغنی و امولسیونی

مهدی سعیدی فر[1*], امیر حسین الهامی راد[1], محمد حسین حداد خداپرست[2], هاشم اخلاقی[3]

۱- گروه علوم و صنایع غذایی،واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی ،سبزوار،ایران
۲- گروه علوم و صنایع غذایی،دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد , مشهد ،ایران
۳- گروه شیمی ،واحدسبزوار ، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۲/۰۱ تاریخ پذیرش:۹۵/۰۹/۰۹

چکیده

این تحقیق با هدف ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و حملی عصاره اتانولی بادیان رومی و بررسی عملکرد آن در سیستم های روغنی و امولسیونی، به اجرا درآمد .فعالیت آنتی اکسیدانی با اندازه گیری مقدارترکیبات فنلی عصاره اتانولی وآزمون فعالیت گیرندگی رادیکال DPPH ارزیابی شد. همچنین بررسی خواص حملی با استفاده ازآزمون رنسیمت و عملکرد آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی درسیستم های روغنی و امولسیونی، با استفاده ازآزمون گرمخانه گذاری و با بررسی تغییرات عدد پراکسید و شاخص تیوباربیتوریک اسید نمونه ها، انجام پذیرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که عصاره اتانولی بادیان رومی دارای قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد و دارای خواص حملی نسبتا خوبی می باشد. در شرایط حاکم در آزمون گرمخانه گذاری، غلظت های عصاره اتانولی به کار گرفته شده درنمونه های روغنی و امولسیونی، به طور معنی داری پایداری اکسایشی روغن سویا را نسبت به نمونه شاهد، افزایش دادند. ترکیبات آنتی اکسیدانی بادیان رومی در سیستم روغنی عملکرد بهتری نسبت به سیستم امولسیونی داشتند و بر این اساس نتیجه گیری شد که این ترکیبات به طور نسبی ترکیبات قطبی و آب دوست می باشند.

واژه های کلیدی : امولسیون، بادیان رومی، خاصیت آنتی اکسیدانی ، رنسیمت .

* **مسئول مکاتبات**: mahdi_msf19@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

۱- مقدمه:

اکسایش چربی ها و روغن ها در غذا ها می تواند منجر به توسعه فاکتورهای ضدتغذیه‌ای و عطر و طعم نامطلوب در غذا ها بشود (۲) و به علاوه ممکن است در اثر ایجاد مواد مضر و نامطلوب در اثر اکسایش چربی ها و روغن ها(۳)، سلامت انسان به خطر بیفتد. از آنجایی که چربی ها و روغن ها از نظر تغذیه ای و انرژی زایی، جایگاه ویژه ای در رژیم غذایی دارند، دانش کنترل اکسایش چربی ها و روغن ها، پایه ای برای محافظت کیفیت حسی و تغذیه ای غذا محسوب می شود و از این رو می توان گفت توانایی محدود کردن یا به تاخیر انداختن شروع اکسایش چربی ها و روغن ها، در صنعت غذا می تواند حائز اهمیت باشد. یکی از موثرترین و رایج ترین راه های کاهش اکسایش چربی ها و روغن ها استفاده از آنتی اکسیدان ها است. استفاده ازآنتی اکسیدان ها، هدر رفت مواد مغذی را کاهش می دهد و دامنه استفاده چربی ها را گسترش می دهد تا این که بتوانند در محصولات خاص استفاده بشوند و بدین ترتیب، می توان گفت آنتی اکسیدان ها، مواد افزودنی مفیدی هستند که به تولید کنندگان غذا این مجال را می دهند تا چربی ها و روغن ها را به طور تجاری در فرمولاسیون محصولاتشان به کار برند(۴). آنتی اکسیدان هایی که عموما در غذاها استفاده می شوند، سنتزی (مولکول های تهیه شده به صورت شیمیایی) و یا طبیعی (منشا گرفته از موادغذایی) هستند. آنتی اکسیدان سنتزی عمدتا شامل هیدروکسی تولوئن بوتیله (BHT)، هیدروکسی آنیزول بوتیله (BHA)، پروپیل گالات (PG) و ترسیوبوتیل هیدروکینون (TBHQ) می‌باشند که به طور گسترده در فرآورده های غذایی استفاده می شوند و از آنتی اکسیدان های طبیعی می توان به اسید اسکوربیک و استرها و نمک های آن، کاروتنوئیدها، توکوفرول ها، توکوتری ال ها، لیگنان ها، استرول ها، فلاوونوئیدها و اسیدهای فنلی اشاره کرد. نگرانی ناشی از مصرف آنتی اکسیدان های سنتزی به لحاظ مسایل مربوط به سلامت وایمنی ونیز محدودیت مصرف درحدود مجاز،مصرف کنندگان مواد غذایی را به استفاده از فرآورده های طبیعی در مواد غذایی ترغیب نموده است (۵). اخیرا تایید شده است که تاثیر مفید بسیاری از خوراکی ها و نوشیدنی ها شامل میوه ها، سبزی ها، چایی، قهوه وکاکائو روی بدن انسان از فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها منشا می گیرد (۶). در کنار چای، روغن ها، دانه ها، غلات، میوه ها و سبزی ها و بعضی مواد دیگر، ادویه ها و گیاهان معطر نیز از منابع اصلی آنتی اکسیدان های طبیعی به شمار می آیند.

بادیان رومی، از تیره چتریان، یک گیاه معطر یکساله و گیاهی علفی با گل های سفید و دانه های سبز متمایل به زرد است که در ایران، ترکیه، هند، مصر و بسیاری دیگر از نواحی گرم جهان یافت می شود (۷). بادیان رومی اساسا به خاطر میوه هایش که در تجارت به آن ها دانه بادیان رومی گفته می شود، کشت می شود. به بادیان رومی، آنیسون، رازیانه رومی و در زبان محلی(سبزوار) به آن شیرین بادیان هم گفته می‌شود. از این گیاه در صنایع غذایی به عنوان طعم دهنده و معطر کننده استفاده می شود(۸) و خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره آن توسط مقالات متعددی به اثبات رسیده است.

نیک آور و همکاران (۹) ، فعالیت گیرندگی رادیکال آزاد هفت دانه از خانواده چتریان از جمله آنیسون را با روش DPPH ارزیابی کردند. مقدار کل فلاوونوئید در عصاره ها به وسیله روش آلومنیوم کلرید ($AlCl_3$) تعیین و بر حسب فلاوونوئید روتین[1] گزارش شدند. نتایج نشان داد که همه عصاره ها دارای فعالیت رباییش گری رادیکال آزاد هستند. در این مطالعه بالاترین فعالیت رباییش گری به عصاره بادیان رومی نسبت داده شد. گولسین و همکاران (۸) خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره های آبی و اتانولی آنیسون را بررسی کردند. خواص آنتی اکسیدانی با استفاده از آزمون های مختلفی ارزیابی شد. فعالیت های گوناگون آنتی اکسیدانی باآنتی اکسیدان های سنتزی مانند BHA، BHTو آلفا توکوفرول مقایسه شدند. عصاره آبی آنیسون توانایی آنتی اکسیدانی بزرگتری نسبت به عصاره اتانولی داشت. ال اسماعیل و همکاران (۱۰) فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های آبی و الکلی دانه های آنیسون را بررسی

[1] Rutin

www.SID.ir

Archive of SID

کردند. درآن مطالعه عصاره ها فعالیت آنتی اکسیدانی چشمگیری در سیستم های مدل لینولئیک اسید و لیپوزوم داشتند. این نتیجه نشان دادکه عصاره ها می توانند به عنوان آنتی اکسیدان در غذاهای دارای چربی استفاده شوند. توپال وهمکاران (۱۱) ترکیب شیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس های روغنی نه گونه مختلف از جمله آنیسون را مطالعه کردند. اسانس های روغنی گونه ها به دو روش تقطیر بخاری و حلال دی اکسید کربن فوق بحرانی تهیه و به وسیله گاز کروماتوگرافی جرمی آنالیز شدند و فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها، با استفاده از آزمون DPPH آزمون شد. در این تحقیق، ترکیب اسانس های روغنی گونه های مختلف در دو روش متفاوت بود.

فعالیت آنتی اکسیدانی یک ترکیب، به میزان زیادی متاثر از سوبسترای لیپیدی استفاده شده برای ارزیابی آن ترکیب و همچنین طبیعت هیدروفیلیک/هیدروفوبیک آن ترکیب است. حلالیت و ویژگی های پخش شدن آنتی اکسیدان ها در محیط، فعالیت آن ها را در سیستم های لیپیدی توده ای، تحت تاثیر قرار می دهد. آنتی اکسیدان ها برای این که موثر باشند، باید در سیستم های روغنی توده ای، بین سطوح روغن- هوا و یا در سیستم های امولسیونی بین سطوح روغن-آب پخش شوند. یک آنتی اکسیدان کارا باید تحت شرایط فرایند، مخصوصا در دماهای بالا پایدار باشد و دارای ویژگی حملی خوبی باشد(۴). از این رو مهم است که مخصوصا در ارزیابی ترکیبات طبیعی به عنوان آنتی اکسیدان، چندین روش را تحت شرایط گوناگون که شامل سیستم های چند فازی باشد، برای اندازه گیری محصولات مختلف اکسیداسیون استفاده کنیم. این تحقیق با هدف ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و حملی عصاره اتانولی بادیان رومی و بررسی عملکرد آن در سیستم های روغنی و امولسیونی، به اجرا درآمد .

۲- مواد و روش ها :

۲-۱-مواد شیمیایی :

دانه های بادیان رومی از مزارع واقع در سبزوار (داورزن) تهیه گردید و بعد از تمیز شدن تا حد ممکن، تا زمان عصاره گیری در فریزر در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. معرف DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)، معرف فولین سیوکالچو، گالیک اسید، معرف تیوباربیتوریک اسید، تری کلرواستیک، هیدروکسی تولوئن بوتیله (BHT)، آمونیوم تیوسیونات، پتاسیم هیدراکسید ، سدیم کربنات ، باریم کلرید دوآبه، آهن سولفات هفت آبه، پودر آهن، آهنII کلرید، آهن III کلرید، پلی اکسی اتیلن سوربیتان مونولورات (توین ۲۰)، از شرکت سیگما تهیه شدند. هیدرژن پراکسید، کلریدریک اسید ، اتانول وکلیه حلال های مورد استفاده درآزمون های شیمیایی بادرجهHPLC ازشرکت مرک آلمان خریداری شدند. روغن سویای تصفیه شده و بدون آنتی اکسیدان نیز از کارخانه سه گل نیشابور تهیه گردید.

۲- ۲- روش ها:

۲-۲-۱- روش استخراج:

دانه های بادیان رومی به وسیله یک خرد کن برقی به مدت ۲۰ ثانیه خرد و در مرحله بعد از درون الک دارای مش ۴۰ گذرانده شدند. برای عصاره گیری، از روش خیساندن همراه با همزدن استفاده شد و از امواج ماکروویو به عنوان روش کمکی استخراج استفاده شد، به طوری که سیستم استخراج به مدت طولانی در معرض حرارت قرار نمی گرفت(۱۲). در ابتدا ۱۰ گرم دانه خرد شده با اتانول خالص، به نسبت ۱ به ۱۰ در ظروف شیشه ای به قطردهانه ۵ و ارتفاع۱۰ سانتی متری، مخلوط و سپس ظروف در یک آون مایکروویو خانگی (فرکانس ۲٤٥۰MHz، مدلpanasonic NN-S651WF) که در توان ۲۰۰ وات تنظیم شده بود، به مدت ۱۲۰ ثانیه در معرض امواج ماکروویو قرار می گرفتند و در ادامه به مدت ۸ ساعت روی یک همزن مغناطیسی، به صورت ملایم هم زده می شدند. بعد از پایان عصاره گیری، عصاره های به دست آمده با

www.SID.ir

Archive of SID

کاغذ صافی واتمن شماره یک و تحت خلا فیلتر شدند. مخلوط عصاره و حلال توسط تبخیرکننده دوار مدل laborota4001-efficient (Germany) ، در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و تحت خلاء تغلیظ و در ادامه حلال باقیمانده در عصاره، توسط آون تحت خلا مدل memmert Vo200 (Germany) ، در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد گرفته شد. عصاره گیری برای هر تیماردر سه تکرار انجام شد و عصاره های خشک شده در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد در فریزر نگهداری شدند(۱۲).

۲-۲-۲-آزمون فعالیت ربایش رادیکال DPPH :

محلول ۰/۰۰۶ درصد رادیکال آزاد DPPH در متانول تهیه گردید. سپس به لوله های حامل یک میلی لیتر عصاره با غلظت های مختلف، یک میلی لیتر از محلول DPPH اضافه شد. لوله های آزمایش بعد از ورتکس شدن به مدت ۱۵ ثانیه، به مدت یک ساعت در جای تاریک نگهداری شدند و سپس جذب آن ها در طول موج ۵۱۲ نانومتر توسط اسپکتوفتومتر uv-vis مدل England T70+ اندازه گیری شد. درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد بر حسب رابطه ۱ محاسبه شد:

$$\%A = \frac{Ac-As}{Ac} \times 100$$

$\%A$ درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و A_c و A_s به ترتیب جذب نمونه شاهد و جذب نمونه ها با غلظت های مختلف هستند. پس از ترسیم نمودار درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد در برابر غلظت ترکیب آنتی اکسیدانی، منحنی مناسب روی داده ها برازش شد و سپس غلظتی که در آن ترکیب آنتی اکسیدانی، قادر به مهار کردن ۵۰ درصد رادیکال های آزاد بود، تحت عنوان IC_{50} گزارش شد(۱۳). محاسبات برای هر تیمار در سه تکرار انجام شد.

۲-۲-۳ -اندازه گیری مقدارترکیبات فنلی عصاره اتانولی :

مقدار ۳ میلی گرم عصاره در متانول حل شد و ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالچو به آن اضافه گردید و در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری به حجم رسید. پس از اختلاط، مخلوط به مدت سه دقیقه در حالت سکون قرار داده شد تا واکنش صورت پذیرد. در ادامه ۵ میلی لیتر سدیم کربنات ۷/۵ درصد به فاز آبی اضافه و بعد از یک دقیقه با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد. نمونه در طول شب نگهداری و سپس جذب آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون از محلول های استاندارد اسید گالیک در متانول با غلظت های مختلف استفاده و منحنی میزان جذب در برابر غلظت اسید گالیک (میلی گرم به میلی لیتر) رسم شد. مقدار ترکیبات فنلی بر حسب میلی گرم در گرم عصاره بر طبق رابطه ۲ محاسبه گردید. آزمایشات در سه تکرار انجام شد.

$$P = \frac{Y}{W} \times 1000$$

که Y مقدار ترکیبات فنلی نمونه بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر و W وزن نمونه عصاره است (۱۴).

۲-۲-٤- آزمون رنسیمت

به منظور اندازه گیری این شاخص، از دستگاه رنسیمت مدل ۷۴۳ ساخت شرکت Metrohm Ltd. Herisau, (Switzerland) استفاده شد. جریانی از هوای خشک و تمیز با سرعت ۲۰ لیتر بر ساعت به درون ظروف حاوی ۳ گرم نمونه روغن حاوی مقادیر مختلف عصاره (۸۰۰،۴۰۰، ۲۰۰، ۱۶۰۰، ۲۰۰۰ پی پی ام) و شاهد دمیده شد و هوای حامل ترکیبات فرار ناشی از اکسایش نمونه به ظرف اندازه گیری هدایت الکتریکی (حاوی ۶۰ میلی لیتر آب دیونیزه) هدایت گردید. شاخص پایداری به صورت خودکار در دمای ۱۱۰ سانتی گراد اندازه گیری شد (۱۵).

www.SID.ir

Archive of SID

۲-۲-۵- تهیه امولسیون ۵۰ درصد :

برای تهیه امولسیون ۵۰ درصد، در مرحله اول مخلوطی از روغن تصفیه شده حاوی درصدهای مورد نظر از عصاره اتانولی،BHT، توین[1] ۲۰ و آب مقطر به نسبت ۴۹ ،۲ و۴۹ (وزنی/وزنی/وزنی) همگن شدند و سپس با استفاده از دستگاه فراصوت (فرکانس KHz ۲۴ , مدل Germany،Dr.hielscherup200H)، در دمای ۴ درجه سانتیگراد و با حداکثر قدرت دستگاه به مدت ۳ دقیقه سیستم امولسیونی را شکل دادند. نمونه امولسیونی شاهد نیز که حاوی هیچ ترکیب افزودنی نبود به همین طریق تهیه شد (۱).

۲-۲-۶- آزمون گرمخانه گذاری :

۲۰ گرم نمونه های روغن سویا و امولسیون آن ها محتوی ۵۰۰ ،۱۰۰۰ ،۲۰۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی وBHT (۱۰۰پی پی ام) و نمونه شاهد، در ظروفی به قطر۵۰ میلی متر و ارتفاع ۱۰۰ میلی متر تهیه و درآون در دمای ۱ ± ۶۰ درجه سانتی گراد قرارداده شدند. روزانه مقادیر مورد نیاز از نمونه های روغن یا نمونه های امولسیونی از ظروف برداشته وعدد پراکسید و شاخص تیوباربیتوریک اسید آن ها اندازه گیری می شد. عدد پراکسید بر مبنای روش شرح داده شده توسط شانتا و دکر(۱۶) و شاخص تیوباربیتوریک اسید بر مبنای روش شرح داده شده توسط مکدونالد و هولتین (۱۷) اندازه گیری شدند.

برای مقایسه تیمارها از نظر پایداری در برابر اکسیداسیون از رابطه ۳ استفاده شد.

رابطه ۳ :

$$SI_{X100} = \frac{1000}{Xsamtn/Xsamt0}$$

که در اینجا X_{samt0} ، مقدار عدد پراکسیدیا شاخص تیوباربیتوریک نمونه در زمان شروع گرمخانه گذاری ، X_{samtn} ، عدد پراکسید یا شاخص تیوباربیتوریک نمونه پس از زمان معین و SI_{X100} ، شاخص پایداری نمونه در برابر اکسیداسیون است. در واقع حاصل ضرب عکس نسبت افزایش مقدار عدد پراکسید یا شاخص تیوباربیتوریک نمونه ها پس از ۵ روز گرمخانه گذاری در ۱۰۰۰، به عنوان شاخص پایداری در نظر گرفته شد.

۲-۲-۷- آنالیز آماری:

میانگین ها در قالب طرح کاملا تصادفی با استفاده از نرم افزار MStatC و بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد (p <۰/۰۵) مقایسه شدند. نمودارها با نرم افزار Microsoft Excel ترسیم گردیدند.

۳- بحث و نتایج:

۳-۱- میزان ترکیبات فنلی عصاره اتانولی و قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH

ترکیبات فنلی با دارا بودن گروه های هیدروکسیلی، در ربایش رادیکال توانا هستند، به همین دلیل، جزء ترکیبات پراهمیت گیاهی محسوب می شوند (۱۸). آن ها فعالیت های بیولوژیکی مهمی در موجودات دارند و ممکن است حائز آثار سودمندی در مبارزه با بیماری های مرتبط با تولید رادیکال اکسیژن با غلظت های بیش از ظرفیت دفاع آنتی اکسیدانی بدن انسان باشند(۱۹) .

میزان ترکیبات فنلی عصاره اتانولی ۶ /۹۷ میلی گرم بر گرم عصاره بر حسب اسید گالیک براورد شد. گولسین و همکاران (۸) میزان ترکیبات فنلی عصاره اتانولی بادیان رومی را ۷۷/۵ میکروگرم بر میلی گرم عصاره بر حسب اسید گالیک گزارش کردند که این تفاوت ها در مقادیر گزارش شده، احتمالاً به دلیل تفاوت در شرایط اقلیمی کاشت، برداشت و انبارداری (۲۰) و شرایط حاکم بر استخراج عصاره ها بوده است. عصاره اتانولی بادیان رومی در غلظت های آزمایش شده دارای قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH بود و IC_{50} برابر ۲۲۸/۹ میکروگرم بر میلی لیتر برای آن براورد شد

۳-۲- آزمون رنسیمت :

ترکیباتی با خواص حملی خوب شناخته می شوند که در برابر تجزیه حرارتی مقاوم و دچار افت مقدار در اثر تبخیر نشوند و نیز ویژگی های موثرشان را در شرایط دشوار آزمون رنسیمت حفظ کنند (۲۱). برای ارزیابی خواص

www.SID.ir

Archive of SID

حملی عصاره اتانولی، از روغن سویای بدون آنتی اکسیدان سنتزی و دارای عدد اسیدی۰/۵۷ میلی گرم برگرم و عدد پراکسید کمتر از ۱/۱ میلی اکی والان گرم بر کیلوگرم روغن استفاده شد. همان طور که در جدول ۱ مشاهده می شود، در تمام غلظت ها، پایداری اکسایشی روغن ها نسبت به نمونه شاهد به طور معنی دار افزایش یافت، ولی نسبت به نمونه حاوی BHT ، تنها در غلظت های بالاتر از ۸۰۰ پی پی ام ، افزایش معنی دار پایداری اکسایشی روغن ها مشاهده شد. افزایش غلظت از ۱۶۰۰ به ۲۰۰۰ پی پی ام موجب کاهش ثبات اکسایشی روغن سویا گردید که البته از نظر آماری معنی دار نبود که این می تواند به دلیل افزایش غلظت ترکیبات پراکسیدان در عصاره باشد. نمونه هایی که دارای بیشترین پایداری اکسایشی با فاکتور حمایتی بیشتر از ۱ هستند، در برابر اتواکسیداسیون لیپیدی دارای بیشترین اثر حفاظتی می باشند. بنابراین، بیشترین پایداری اکسایشی، در غلظت ۱۶۰۰ پی پی ام با شاخص پایداری ۷/۹۸ و فاکتور حمایتی ۱/۲۷ به دست آمد.

جدول۱: شاخص پایداری (OSI , h) و فاکتور حمایتی (PF) نمونه های روغنی حاوی غلظت های مختلف عصاره اتانولی بادیان رومی.

غلظت (پی پی ام)	شاخص پایداری اکسایشی(OSI)	فاکتور حمایتی
۰ (شاهد)	۶/۲۸ E	۱
۱۰۰ (BHT)	۷/۴۲ C	۱/۱۸
۲۰۰	۷/۳۸ D	۱/۱۷
۴۰۰	۷/۵۴ C	۱/۲۰
۸۰۰	۷/۸۸ B	۱/۲۵
۱۶۰۰	۷/۹۸ A	۱/۲۷
۲۰۰۰	۷/۹۲ AB	۱/۲۶

میانگین ها با حروف مشابه در هر ستون، در سطح پنج درصد (p <۰/۰۵) اختلاف معنی داری ندارند.

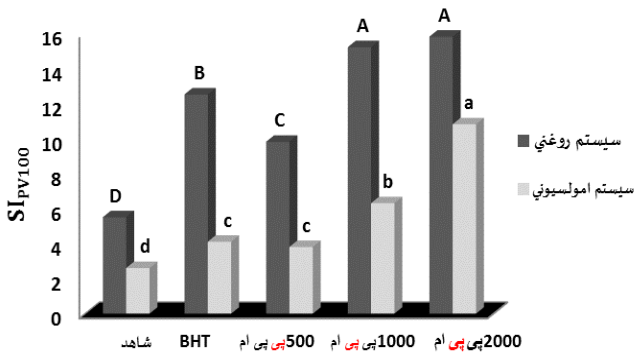
www.SID.ir

Archive of SID

۳- ۳- عملکرد آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی در سیستم های روغنی و امولسیونی با آزمون گرمخانه گذاری :

۳-۳-۱- تغییرات عدد پراکسید در نمونه های روغنی و امولسیونی :

پراکسیدها جزء محصولات اولیه اکسیداسیون تلقی می شوند و اندازه گیری عدد پراکسید یکی از راه های پیشرفت فساد در روغن ها و چربی ها در مراحل اولیه اکسیداسیون محسوب می شود. عدد پراکسید روغن طی اکسایش به حداکثر مقدار خود می رسد و سپس در مراحل بعدی به دلیل تبدیل شدن پراکسیدها به محصولات ثانویه، مقدار آن کاهش می یابد . حداکثر عدد پراکسید در روغن هایی که دارای پایداری کمتری هستند طی مراحل اولیه اکسایش روی می دهد زیرا که تجزیه هیدروپراکسیدها سریعتر انجام می شود (۲۱). طی۵ روز گرمخانه گذاری، عدد پراکسید همه تیمارها به طور نمایی افزایش یافت. عدد پراکسید روغن سویای بدون آنتی اکسیدان سنتزی (نمونه شاهد)، در پایان گرمخانه گذاری، حدود ۱۸۰ برابر افزایش داشت که با حاصل ضرب عکس این عدد در ۱۰۰۰، شاخص پایداری روغن سویای بدون آنتی اکسیدان سنتزی برابر ۵/۵ تعیین شد. در شرایط حاکم در آزمون گرمخانه گذاری، تمامی غلظت های عصاره اتانولی، پایداری اکسایشی روغن سویا را نسبت به نمونه شاهد به طور معنی داری افزایش دادند؛ هرچند اثر بازدارندگی غلظت ۵۰۰ پی پی ام (SI_{PV100}=۹/۸) در تشکیل هیدروپراکسیدها نسبت به BHT (SI_{PV100}=۱۲/۵) به طور معنی دار کمتر بود، ولی با افزایش غلظت عصاره اتانولی به ۱۰۰۰ پی پی ام (۱۵/۲ =SI_{PV100}) و ۲۰۰۰ پی پی ام (SI_{PV100}=۱۵/۸)، اثر بازدارندگی به طور معنی دار افزایش یافت. نمونه روغن حاوی ۲۰۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی، دارای بالاترین پایداری اکسایشی بود، هرچند این برتری نسبت به نمونه روغن حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی، از نظر آماری معنی دار نبود (شکل۱). در نمونه های امولسیونی نیز تمام غلظت های عصاره اتانولی، به طور معنی داری پایداری اکسایشی روغن سویا را نسبت به نمونه شاهد (۲/۶ =SI_{PV100}) افزایش دادند، اما در این جا بین اثر بازدارندگی غلظت ۵۰۰ پی پی ام (SI_{PV100}=۳/۸) و BHT (۴/۱ =SI_{PV100}) در تشکیل هیدروپراکسیدها، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نمونه امولسیونی حاوی ۲۰۰۰ پی پی ام (۱۰/۸ =SI_{PV100}) عصاره اتانولی و نمونه امولسیونی حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام (SI_{PV100}=۶/۳) عصاره اتانولی، به ترتیب دارای بالاترین پایداری اکسایشی بودند (شکل۲). همان طور که از نتایج مشاهده می شود، میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی غلظت های عصاره اتانولی در سیستم روغنی، حدود ۲ برابر سیستم امولسیونی است که این موضوع می تواند به دلیل تفاوت حلالیت و ویژگی های پخش شدن ترکیبات آنتی اکسیدانی عصاره در سیستم های مختلف باشد . بر پایه نظریه فرانکل و میر (۲۲)، ترکیبات قطبی در سیستم های روغنی و انواع غیر قطبی در سیستم های آبی حامل ذرات چربی معلق موثر هستند. براین اساس انتظار می رود عصاره اتانولی بادیان رومی دارای ترکیبات قطبی تری باشد که در سیستم های روغنی بهتر عمل می کند.



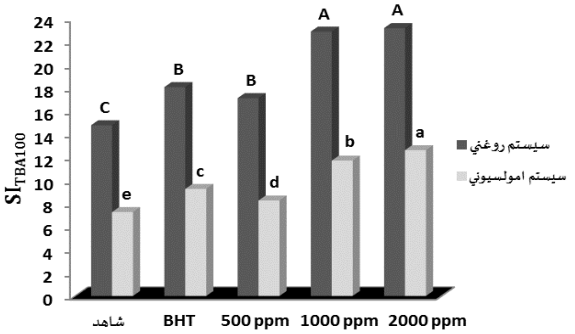
شکل۱: میزان افزایش عدد پراکسید (میلی اکی والان پراکسید در کیلوگرم روغن) نمونه های روغنی و امولسیونی حاوی عصاره های اتانولی بادیان رومی و BHT (۱۰۰پی پی ام)، پس از ۵ روز نگهداری در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد. میانگین ها با حروف بزرگ مشابه در سیستم روغنی و حروف کوچک در سیستم امولسیونی، در سطح پنج درصد (p <۰/۰۵) اختلاف معنی داری ندارند.

www.SID.ir

Archive of SID

۳-۳-۲-تغییرات شاخص تیوباربیتوریک اسید در نمونه های روغنی و امولسیونی :

پراکسیدها به عنوان محصولات اولیه اکسیداسیون، بعدا به محصولات ثانویه ای حاوی گروه های کربونیل، تبدیل می شوند (۲۳). از جمله ترکیبات ثانویه، محصولات آلدئیدی هستند که می توانند با معرف تیوباربیتوریک اسید کمپلکس رنگی تشکیل دهند. این ترکیبات از پراکسیدها پایدارتر هستند و با پیشرفت فساد و اکسیداسیون روغن ها، غلظت آن ها افزایش می یابد. تغییرات شاخص تیوباربیتوریک اسید روغن سویای بدون آنتی اکسیدان سنتزی و امولسیون آن که حاوی عصاره اتانولی بادیان رومی بود، در۶۰ درجه سانتی گراد بررسی شد. طی ۵ روز گرمخانه گذاری، شاخص تیوباربیتوریک اسید همه تیمارها به طور نمایی افزایش یافت (شکل ۲). شاخص تیوباربیتوریک اسید روغن سویای بدون آنتی اکسیدان سنتزی (نمونه شاهد) در پایان گرمخانه گذاری، حدود ۶۸ برابر افزایش داشت که با حاصل ضرب عکس این عدد در ۱۰۰۰، شاخص پایداری روغن سویای بدون آنتی اکسیدان سنتزی برابر ۱۴/۷۵ تعیین شد. در شرایط حاکم در این آزمون گرمخانه گذاری، روند تغییرات شاخص تیوباربیتوریک اسید مشابه عدد پراکسید بود و در نمونه های روغنی، تمام غلظت های عصاره اتانولی مورد آزمایش، باعث افزایش معنی دار پایداری اکسایشی روغن سویا، نسبت به نمونه شاهد شدند. اثر بازدارندگی غلظت ۵۰۰ پی پی ام (SI_{TBA100}=۱۷/۱) در تشکیل محصولات ثانویه اکسایش نسبت به BHT (SI_{TBA100}=۱۸/۰۵) کمتر بود، ولی این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. با افزایش غلظت عصاره اتانولی به ۱۰۰۰ پی پی ام (SI_{TBA100}=۲۲/۸۵) و ۲۰۰۰ پی پی ام (SI_{TBA100}=۲۳/۱۵)، اثر بازدارندگی نسبت به BHT، به طور معنی دار افزایش یافت. در این آزمون، از نظر آماری بین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی در غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام و عصاره اتانولی در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام اختلاف معنی داری وجود نداشت. در نمونه های امولسیونی نیز تمام غلظت های عصاره اتانولی، به طور معنی داری پایداری اکسایشی روغن سویا را نسبت به نمونه شاهد (SI_{TBA100}=۷/۲۵) افزایش دادند، اما در این جا اثر بازدارندگی غلظت ۵۰۰ پی پی ام (SI_{TBA100}=۸/۲۵) در تشکیل محصولات ثانویه اکسایش نسبت به BHT (۹/۲۵ =SI_{TBA100}) به طور معنی دار کمتر بود، ولی اثر بازدارندگی نمونه امولسیونی حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام (۱۱/۷ =SI_{TBA100}) عصاره اتانولی و نمونه امولسیونی حاوی ۲۰۰۰ پی پی ام (SI_{TBA100}=۱۲/۶) عصاره اتانولی نسبت به نمونه حاویBHT ، به طور معنی دار بیشتر بود. در سیستم امولسیونی، عصاره اتانولی در غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام ، به طور معنی دار بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی را دارا بود. در این آزمون نیز فعالیت آنتی اکسیدانی غلظت های عصاره اتانولی در سیستم روغنی بالاتر از سیستم امولسیونی بود و عصاره ها به طور میانگین در تشکیل محصولات ثانویه اکسایش حدود ۱/۹ برابر موثرتر عمل کردند. در این جا هم نتیجه به دست آمده می تواند به دلیل قطبی بودن ترکیبات آنتی اکسیدانی عصاره ها باشد و به این صورت توضیح داده شود که در سیستم روغنی، این ترکیبات در اثر نامحلول بودن در روغن، در سطح روغن و هوا متراکم می شوند و حفاظت بیشتری را برای روغن فراهم می کنند و بر عکس در سیستم امولسیونی این ترکیبات در فاز آبی بسیار رقیق می شوند و حفاظت کمتری را برای روغن فراهم می کنند.



شکل ۲ : میزان افزایش شاخص تیوباربیتوریک اسید نمونه های روغنی و امولسیونی حاوی عصاره های اتانولی بادیان رومی و **BHT** (۱۰۰پی پی ام) ، پس از ۵ روز نگهداری در دمای۶۰ درجه سانتی گراد. میانگین ها با حروف بزرگ مشابه در سیستم روغنی و حروف کوچک در سیستم امولسیونی، در سطح پنج درصد (۰/۰۵ ***p*** >)اختلاف معنی داری ندارند.

www.SID.ir

Archive of SID

٤-نتیجه گیری :

عصاره استخراجی بادیان رومی با استفاده از اتانول دارای ترکیبات فنلی و قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد می باشد. بررسی خواص حملی عصاره اتانولی بادیان رومی با استفاده از آزمون رنسیمت نشان داد که ترکیبات آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی بادیان رومی، دارای خواص حملی نسبتا خوبی هستند. در تمام غلظت های به کارگرفته شده در نمونه های روغنی، پایداری اکسایشی روغن ها نسبت به نمونه شاهد، به طور معنی دار افزایش یافت، ولی نسبت به نمونه حاوی BHT، تنها در غلظت های بالاتر از ۸۰۰ پی پی ام ، افزایش معنی دار در پایداری اکسایشی روغن ها مشاهده شد. عملکرد آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی، درسیستم های روغنی و امولسیونی، با استفاده از آزمون گرمخانه گذاری و با بررسی تغییرات عدد پراکسید و شاخص تیوباربیتوریک اسید نمونه ها انجام پذیرفت. در شرایط حاکم در آزمون گرمخانه گذاری، تمام غلظت های عصاره اتانولی، در نمونه های روغنی و امولسیونی، به طور معنی داری پایداری اکسایشی روغن سویا را نسبت به نمونه شاهد افزایش دادند. با مقایسه نمونه ها در دو سیستم روغنی و امولسیونی، مشاهده شد که عملکرد ترکیبات آنتی اکسیدانی بادیان رومی در سیستم روغنی بیشتر از سیستم امولسیونی است و بر این اساس نتیجه گیری شد که این ترکیبات به طور نسبی ترکیبات قطبی و آب دوست می باشند.

٥- سپاسگزاری:

این پروژه توسط گروه صنایع غذایی دانشگاه آزادسبزوار(ایران)حمایت شده است. مولفین برخود واجب می دانند از تمام کسانی که در این پروژه یاریشان نموده اند کمال تشکر را داشته باشند.

٦- منابع:

1-Einafshar, S. Poorazrang,H., Farhoosh,R.and Seiedi, S.M.,2012. Antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of cumin seed(*Cuminum cyminum*). *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 114: 168–174.

2-Fisk ,I. D., White,D. A., Lad, M.and Gray, D. A.,2008. Oxidative stability of sunflower oil bodies. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, *110:* 962–968.

3-Guillen, M. N., Cabo, N., Ibargoitia, M. L.and Ruiz, A. , 2005. Study of both sunflower oil and its headspace throughout the oxidation process. Occurrence in the headspace of toxic aldehydes. *J Agric Food Chem*, 53: oxygenated 1093–1101.

4-Wanasundara, P.K. J. P. D.and Shahidi, F. and 2005. Antioxidants: science, technology, industrial oil and fat applications. In: Bailey's ,Sixth Edition ,Six products . Shahidi, F. (Ed.) Volume Set. *John Wiley & Sons, Inc*. New Jersey.

5-Frankel, E. N. 1998. Lipid Oxidation, *The* Oily Press, Dundee, U.K.

6-Gulcin, I. 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview.Archives of 86: 345-391. *Toxicology*,

7-Pourgholami, M. H., Majzoob, S., Javadi, M., Kamalinejad, M.,Fanaee, G. H. R.and essential oil of Sayyah, M. ,1999. The seeds *Pimpinella anisum* exerts anticonvulsant effects in mice.*Journal Ethnopharmacology*, 66: 211–215.

8-Gulcin, I.,Oktay, M., Kirecci, E.and Kufrevioglu, O.I.,2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83: 371–382.

9-Nickavar, B.and Abolhasani, F.A.S . 2009. Screening of antioxidant properties of seven *Pak. Journal* umbelliferae fruits from Iran. Pharmacology Science, 22: 30-35.

10-Al-Ismail, K.M. , and Aburjai ,T.2004. Antioxidant activity of water and alcohol extracts of chamomile flowers, anise seeds and dill seeds. *Journal of the Science of Food and* Agriculture, 84:173–178.

11-Topal ,U., Sasaki ,M., Goto, M.and Otles,S. 2008. Chemical compositions and antioxidant properties of essential oils from nine species of Turkish plants obtained by supercritical carbon dioxide extraction and steam distillation

www.SID.ir

Archive of SID

12-saeidifar,M.,Elhami Rad .A.H.,Haddad Khodaparast.M.H.and Akhlaghi,H.2014.Comparison of novel assisted extraction techniques of antioxidants in Pimpinella anisum seed. International Journal of Biosiences,5:194-202.

13-Siger,A.,Nogala-Kalucka,M.and Lampart-Szczapa, E ., 2008. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils .Journal of Food Lipids,15:137-149.

14-Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M.and Parenti, A. 2000. Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. Food Chem., 71, 553–562.

15-Farhoosh, R. 2007. The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. Journal of the American Oil Chemists Society, 84: 205–209.

16-Shantha, N.C., and Decker E.A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. Journal of the American Oil Chemis'Society, 77: 21–424.

17-McDonald, R. E.and Hultin, H. O. 1987. Some characteristics of the enzymatic lipid peroxidation system in the microsomal fraction of flounder skeletal muscle.Journal of Food Science, 52: 15–21.

18-Hatano, T., Edamatsu, R., Mori, A., Fujita, Y.and Yasuhara, E.1989. Effect of interaction of tannins with co-existing related substances.VI. Effects of tannins and radical and polyphenols on superoxide anion Chemical and on DPPH radical. Pharmaceutical Bulletin,37: 2016–2021.

19-Thippeswamy, N. B. and Naidu, K. A. 2005. Antioxidant potency of cumin varieties (cumin, black cumin and bitter cumin) on antioxidant systems. European food research technology. 220:472–476.

20-Proestoes, C., Boziaris, I.S., Nychas, G.J.E .and Komaiti, M. 2006. Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. Food Chemistry. 95: 664–671.

21-Farhoosh, R. ,Niazmand. R. , Rezaei. M. and Sarabi. M.2008.Kinetic parameter determination of vegetable oil oxidation under rancimat test conditions. European Journal of Lipid Science and Technology ,110:587-592.

22-Frankel , E. N. and Meyer, A. S. 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80(13) :1925-1941.

23-Woyewoda, A.D., Shaw, S.J., Ke, P.J.and Burns, B.G. 1986. Recommended laboratory method for assessment of fish quality. and Canadian Technical Report Fisheries Aquatic Sciences. 198

www.SID.ir