

فعالیت ضد اکسایشی عصاره میکروامولسیون شده چای سبز در روغن کلزا

ویدا انصاری^۱، صدیقه امیری^{۲*}، محسن رادی^۱، فرود باقری^۲

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۰۸

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۲/۰۲

چکیده

روغن‌های گیاهی در معرض اکسایش هستند که چنین واکنشی منجر به از دست رفتن کیفیت و ارزش تغذیه‌ای روغن می‌شود. به منظور مهار اکسیداسیون روغن، می‌توان از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی استفاده کرد. این تحقیق به منظور بررسی امکان استفاده از عصاره آبی چای سبز به شکل میکروامولسیون در روغن کلزا و مقایسه عملکرد آن با عصاره اتانولی چای سبز با هدف به تأخیر انداختن اکسایش روغن انجام شد. برای این منظور ابتدا تأثیر دو حلال آب و اتانول ۹۶٪ بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و به دام اندازی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل بررسی شد و در نهایت عصاره آبی [با استفاده از سامانه میکروامولسیون (به شکل کپسول‌هایی در ابعاد نانو)] و اتانولی چای سبز و همچنین آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل‌هیدروکسی‌تولون در غلظت ۲۰۰ ppm به روغن کلزا بدون افزودنی (بدون آنتی‌اکسیدان) اضافه و اندیس پراکسید، آنیزیدین و اسیدهای چرب آزاد آن اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که عصاره آبی بیش‌ترین میزان ترکیبات فنولی (۴۵۳/۳۲ میلی‌گرم بر گرم نمونه) و بالاترین درصد بازدارندگی در آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل (۹۱٪) را داشت. نتایج آنالیز آماری نشان داد که عصاره آبی چای سبز در سطح ۲۰۰ ppm و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد بالاترین تأثیر را در کنترل اندیس پراکسید، آنیزیدین و اسیدهای چرب آزاد در روغن کلزا داشت ($p < 0.05$). نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از عصاره‌ی چای سبز به شکل سامانه میکروامولسیون به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی نسبت به بوتیل‌هیدروکسی‌تولون جهت جلوگیری از اکسیداسیون روغن مناسب‌تر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: چای سبز، میکروامولسیون، ترکیبات فنولی، روغن کلزا

* مسئول مکاتبات: s.amiri@iauyasooj.ac.ir

۱- مقدمه

روغن‌های گیاهی منبع اصلی لیپید مورد استفاده در رژیم غذایی و فرایندهای آشپزی هستند. این روغن‌ها طی فرایندهای حرارتی مثل سرخ کردن، تخریب می‌شوند و ارزش کیفی و تغذیه‌ای خود را از دست می‌دهند (۱) و با پیشرفت اکسیداسیون، ترکیبات سمی و خطرناکی تولید می‌کنند که برای سلامتی انسان مضر است (۲). بنابراین ضروری است که با افزایش پایداری روغن از این فرایند جلوگیری کرد و یا شروع فرایند را به تعویق انداخت. متداول‌ترین روش جهت جلوگیری از فرایند اکسیداسیون، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها است. مطالعه‌ها نشان داده است که آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی عوارض نامطلوبی دارند و به همین دلیل امروزه سعی می‌شود که از منابع گیاهی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان استفاده کرد (۳). چای نوشیدنی محبوبی است که در سرتاسر جهان به شکل چای تخمیر نشده (چای سبز)، نیمه‌تخمیری (اولانگ^۱) و تخمیر شده (چای سیاه) مورد استفاده قرار می‌گیرد. کاتچین‌های موجود در چای سبز عمدتاً شامل چهار جزء پلی‌فنولی از جمله اپی‌کاتچین، اپی‌کاتچین گالات، اپی‌گالوکاتچین و اپی‌گالوکاتچین گالات می‌باشند. کاتچین‌های چای سبز اثر ضداکسایشی قوی را نشان داده‌اند و هم‌چنین با کاهش خطر ابتلاء به برخی از بیماری‌ها مرتبط هستند (۴). علی‌رغم این‌که عصاره‌ی چای سبز منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است اما به‌دلیل ماهیت آب‌دوستی که دارد، در روغن قابل استفاده نمی‌باشد. به‌همین دلیل در این تحقیق عصاره آبی چای سبز به‌عنوان جزیی از یک سامانه میکروامولسیون و هم‌چنین عصاره اتانولی آن، به روغن کلزا اضافه گردید. میکروامولسیون‌ها نوعی سامانه‌ی امولسیون هستند که برخلاف امولسیون‌ها از لحاظ ترمودینامیکی پایدارند و اندازه‌ی فاز پراکنده در آنها حدود ۱۰-۱۰۰ نانومتر است. برای تهیه‌ی یک سامانه‌ی

میکروامولسیون به چهار جزء اساسی شامل آب، روغن، سورفاکتانت و کوسورفاکتانت نیاز است. با مخلوط کردن نسبت‌های مناسب از این اجزاء، سامانه‌ی میکروامولسیون به‌خودی خود شکل می‌گیرد. از کاربردهای میکروامولسیون‌ها می‌توان به حمل ترکیبات دارویی و حفاظت از آنها و پایدارسازی مواد عطر و طعمی، ویتامین‌ها و رنگدانه‌های محلول در چربی اشاره کرد. در همین خصوص، کپسوله کردن علاوه بر افزایش پایداری این ترکیبات در محیط‌های غذایی، امکان استفاده از آنها را در محیط‌های دلخواه نیز فراهم می‌آورد (۵). فلاناجان و همکاران (۶) توانایی سه سورفاکتانت اتوکسیلات مونو و دی‌گلیسرید، فسفولپید و پلی‌اکسی اتیلن اولئیل اتر^۲ را برای تشکیل میکروامولسیون با استفاده از روغن سویا مورد بررسی قرار دادند. پلی‌زلی و همکاران (۷) با استفاده از روغن سویا، سورفاکتانت و آب ضمن تهیه یک سامانه میکروامولسیون دیاگرام‌های فازی مربوطه را در دمای ۲۵°C رسم کردند. سورفاکتانت‌های مورد استفاده سدیم بیس سولفوسوکسینات^۳، مونو اولئین^۴ و مخلوطی از هر دو سورفاکتانت بودند. در تحقیقات انجام شده، استفاده کاربرد ی از سامانه‌های میکروامولسیون در محیط‌های واقعی غذا چندان دیده نمی‌شود. یک تفاوت مهم این تحقیق با سایر تحقیقات موجود در این زمینه، استفاده از ترکیبات ضداکسایشی محلول در آب بصورت سامانه‌های میکروامولسیون بود که طبق جستجوهای به عمل آمده در سوابق، تاکنون تنها در یک تحقیق و در مورد افزودن اسید اسکوربیک به روغن انجام شده است (۸). بنابراین هدف از انجام این تحقیق استفاده از سامانه میکروامولسیون برای افزودن عصاره آبی چای سبز به‌عنوان یک منبع غنی ضداکسایشی به روغن کلزا بود تا امکان افزودن ترکیبات ضداکسایشی محلول در آب به یک محیط روغنی بررسی گردد.

¹ Oolong

² Ethoxylated mono and diglycerides

³ Polyoxyethylene oleyl ether

⁴ Sodium bis sulfosuccinate

⁵ Monoolein

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- نمونه و مواد مورد استفاده

روغن کلزا خام از یکی از واحدهای صنفی در سطح شهر شیراز تهیه شد و در آزمایشگاه به منظور حذف ترکیبات ضد اکسایشی توسط خاک رنگبر (در غلظت ۱ درصد) به مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد رنگبری گردید. چای سبز از یک فروشگاه محلی تهیه شد. تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق از شرکت مرک آلمان تهیه گردیدند.

۲-۲- نحوه عصاره گیری

۲-۲-۱- عصاره آبی

جهت تهیه عصاره آبی چای سبز از روش دم کردن استفاده گردید، بدین ترتیب که ۳۲ گرم از گیاه کاملاً خشک شده چای سبز توزین و ۱۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر جوشیده شده به آن اضافه گردید. سپس جهت خالص کردن مایع از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱ و دستگاه سانتریفوژ (NUVE NF 1200R, Ankara, Turkey) در ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه استفاده گردید. در نهایت عصاره به دست آمده با استفاده از دستگاه روتاری (RV8- IKA, Germany) تا غلظت ۲۲٪ تغلیظ شد (۹).

۲-۲-۲- عصاره اتانولی

تهیه عصاره اتانولی از چای سبز به روش خیساندن انجام گرفت. در این روش ۱۰ گرم از گیاه خشک شده چای سبز در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول به مدت ۵ دقیقه خیسانده شد. سپس جهت خالص کردن مایع از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱ و دستگاه سانتریفوژ (NUVE NF 1200R, Ankara, Turkey) در ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه استفاده گردید. در نهایت عصاره به دست آمده با استفاده از دستگاه روتاری کاملاً خشک شد. مقدار ۰/۴۰۱ گرم ماده خشک بدست آمد که ۱۰ میلی‌لیتر اتانول به آن اضافه گردید (۱۰).

۲-۳- آماده سازی میکرومولسیون

پس از انجام پیش‌آزمون‌های مختلف، نسبت و نوع سورفاکتانت انتخاب شد که شامل لسیتین و سدیم بیس سولفوسوکسینات در ترکیب با پروپانول بود. روغن و سورفاکتانت به نسبت ۱۰۰:۸۹۵ میکرولیتر مخلوط گردید. سپس ۵ میکرولیتر از عصاره اتانولی و یا آبی چای سبز به آن اضافه شد تا میکرومولسیون تشکیل شود.

۲-۴- تعیین محتوای فنول کل

مقادیر فنول کل عصاره چای سبز با اندکی تغییر توسط روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری گردید (۱۱). در این روش در لوله آزمایش ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره (با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر)، ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱:۱۰) و ۰/۴ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵/۷٪ اضافه و مخلوط شد و بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای آزمایشگاه، جذب نوری آن توسط طیف‌سنج نوری در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. مقادیر فنول کل در نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی درجه‌بندی استاندارد بر حسب میلی‌گرم بر گرم عصاره بیان گردید. منحنی درجه‌بندی استاندارد با استفاده از ترکیب بوتیل‌هیدروکسی‌تولونن^۱ رسم گردید.

۲-۵- بررسی خاصیت ضد اکسایشی با آزمون دی فنیل

پیکریل هیدرازیل (DPPH)

فعالیت ضد اکسایشی نمونه‌های عصاره توسط روش Lee^۲ و همکاران ارزیابی شد (۱۲). بر طبق این روش، ۲/۴ میلی‌گرم پودر دی فنیل پیکریل هیدرازیل در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول خالص حل شد. به ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های متفاوت عصاره، ۱ میلی‌لیتر محلول الکلی دی فنیل پیکریل هیدرازیل اضافه و مخلوط شد. همچنین از محلول دی فنیل پیکریل هیدرازیل^۲ به عنوان کنترل استفاده گردید. بعد از ۳۰ دقیقه قرار دادن در تاریکی و دمای محیط، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط طیف‌سنج نوری در برابر

^۱Butylated hydroxytoluene

^۲Diphenyl Pykryl Hydrazyl

اندازه گیری گردید. مهمترین نقطه قوت این تحقیق در مقایسه با سایر تحقیقات انجام شده روی روغن حاوی آنتی اکسیدان های طبیعی، استانداردسازی غلظت عصاره و به عبارتی معادل سازی میزان ترکیبات فنولی عصاره با ترکیب فنولی بوتیل هیدروکسی تولوئن به عنوان آنتی اکسیدان رایج برای روغن بود که در این حالت امکان مقایسه تاثیر نوع ترکیبات ضد اکسایشی را در غلظت فنلی معادل می توان انجام داد. این در حالیست که در سایر پژوهش های انجام گرفته، غلظت های به کار رفته بر اساس درصد وزنی کل ترکیبات موجود در عصاره خام پایه ریزی شده است؛ در صورتی که تنها بخشی از عصاره خام را ترکیبات فنلی و ضد اکسایشی تشکیل می دهند. به منظور معادل سازی غلظت ترکیبات فنولی عصاره ها و بوتیل هیدروکسی تولوئن، ابتدا غلظت کل ترکیبات فنولی در عصاره بر حسب بوتیل هیدروکسی تولوئن محاسبه و سپس با توجه به غلظت های در نظر گرفته شده در تیمارها، مقادیر مورد نیاز عصاره برای افزودن به روغن تعیین شد. مقادیر عصاره های محاسبه شده برای افزودن به روغن بصورت زیر محاسبه شد.

$$M_E = (M_O \times C_2) / C_1$$

M_E مقدار عصاره مورد نیاز، M_O مقدار روغن مورد استفاده، C_1 غلظت ترکیبات فنلی کل در عصاره و C_2 غلظت ترکیبات فنلی در روغن می باشد.

۲-۸- اندازه گیری اندازه ذرات میکرومولسیون با استفاده از تکنیک پراکنش دینامیک نوری^۱

برای تعیین توزیع اندازه ذرات از تکنیک پراکنش دینامیک نوری در دمای محیط و در طول موج ۶۳۳ نانومتر (زاویه آشکارسازی ۷۰ و ۹۰ درجه، گرانروی دینامیک نمونه ۸/۷۶ میلی پاسکال، ثانیه^۲ استفاده گردید. اندازه هیدرودینامیک ذرات، توزیع اندازه ذرات و شاخص توزیع ذرات^۳ از طریق نرم افزار (DTS 5.02 version, Malvern Instrument Ltd., UK) محاسبه شد.

سل حاوی اتانول خوانده شد. درصد فعالیت خنثی سازی رادیکال های دی فنیل پیکریل هیدرازیل توسط معادله زیر محاسبه شد:

$$\text{Inhibition\%} = \frac{(A_C - A_S)}{A_C}$$

که در این معادله

A_C : میزان جذب کنترل و A_S : میزان جذب نمونه است.

۲-۶- بررسی خواص ضد اکسایشی با آزمون توان ضد اکسایشی احیاء یون فریک (FRAP)

روش توان ضد اکسایشی احیاء یون فریک با استفاده از روش بنزای و استرین (۱۳) انجام شد. این روش بر پایه ی اندازه گیری توانایی مواد در احیاء آهن ۳ ظرفیتی به آهن ۲ ظرفیتی می باشد. از نظر طیف سنجی کمپلکس رنگی آن با ۲، ۴، و ۶ تری-۲-پیریدیل-S-تریازین^۲ اندازه گیری می شود که ماکزیمم جذب را در ۵۹۵ نانومتر دارد. از بوتیل هیدروکسی تولوئن به عنوان استاندارد استفاده شد و منحنی درجه بندی با استفاده از آن رسم گردید.

۲-۷- بررسی کاربرد عصاره چای سبز به عنوان آنتی-اکسیدان طبیعی در روغن

عصاره آبی (به شکل میکرومولسیون) و اتانولی چای سبز در سطح ۲۰۰ ppm به روغن کلزا بدون آنتی اکسیدان اضافه شدند. منظور از ۲۰۰ ppm عصاره آبی و اتانولی چای سبز این است که مقدار عصاره افزوده شده به روغن در سطح ۲۰۰ ppm ترکیبات فنولی (معادل بوتیل هیدروکسی تولوئن بنابر نتایج حاصل از تعیین غلظت ترکیبات فنولیک) تنظیم و سپس اضافه شدند. یک تیمار حاوی آنتی اکسیدان شیمیایی بوتیل هیدروکسی تولوئن در سطح ۲۰۰ ppm نیز در نظر گرفته شد. آنگاه نمونه ها به همراه شاهد (روغن کلزای خام فاقد آنتی اکسیدان)، به مدت ۷۰ روز در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد قرار داده شدند و در نهایت عدد پراکسید، پارا-آئیزیدین و اسید چرب آزاد آنها طی فواصل زمانی معین (روز صفر، بیست، سی، چهل، پنجاه، شصت و هفتاد)

¹ Dynamic Light Scattering

² Detection angles 70 and 90°, dynamic viscosity of sample 8.76 mPa.s

³ Polydispersity Index

³ Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

2,4,6-Tris (2-pyridyl) -s-triazine (TPTZ)

شد. بعد از ۱۰ دقیقه جذب این محلول در طول موج ۳۵۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت شد (۱۶). عدد آنیزیدین به صورت زیر محاسبه شد:

$$AnV = 25 * (1.2 A_s - A_b) / m$$

A_s : جذب محلول چربی بعد از واکنش با معرف آنیزیدین،
 A_b : جذب محلول چربی و m : وزن (گرم) نمونه‌های روغن کلزا

۱۰-۲- تجزیه آماری داده‌ها

در این پژوهش از طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی استفاده شد. آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام گرفت و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد و نرم افزار SPSS استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تعیین مقدار ترکیبات فنولی

عصاره‌های گیاهان، غنی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها هستند که تأثیرات ضد اکسایشی بسیار بالایی دارند (۱۷). میزان فنول استخراج شده از نمونه، توسط دو حلال آبی و اتانولی در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد مقایسه شد و مشخص گردید که میزان فنول استخراج شده توسط عصاره آبی (۴۵۴/۹۷ mg/g) نسبت به عصاره اتانولی (۱/۴۹ mg/g) بیشتر بود ($p < 0.05$). همچنین با گذشت زمان محتوای ترکیبات فنولی (شکل ۱) کاهش یافت ($p < 0.05$). خوخوار و مگنستیر (۱۸) مقدار فنول کل در برگ‌های چای سیاه و سبز را به ترتیب ۵/۸۰ و ۹/۱۳۴ mg/g و ۱۰۶/۲ - ۸۷/۰ اندازه‌گیری کردند که مشابه با نتایج تخمین زده توسط هاف و سینگلتن (۱۹۷۷) بود (۱۹). مقدار فنول کل به دست آمده برای چای سبز در این تحقیق بسیار بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط این محققین بود (mg/g) ۴۵۴/۹۷. روسکا و همکاران (۲۰) نیز گزارش کردند که آب حلال بسیار بهتری برای استخراج ترکیبات فنولیک از برگ‌های چای سبز در مقایسه با اتانول می‌باشد. این در حالی است که نوها و همکاران (۲۱) اظهار داشتند که محتوای

۹-۲- اندازه‌گیری عدد پراکسید، درصد اسیدهای

چرب آزاد و عدد آنیزیدین

اندیس پراکسید، اسید چرب آزاد و عدد آنیزیدین به ترتیب مطابق با روش AOCs (cd 8-53)، AOCs (cd 8-53)، و آیوپاک- ۲/۵۰۴ تعیین گردیدند (۱۴، ۱۵). جهت اندازه‌گیری عدد پراکسید ۵ گرم نمونه روغن در یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری توزین شده و ۳۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک: کلروفرم (۲:۳) به آن اضافه گردید و به هم زده شد تا روغن کاملاً حل گردد. سپس نیم میلی‌لیتر محلول پتاسیم یدید اشباع اضافه شده و پس از یک دقیقه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و با سدیم تیوسولفات ۰/۱ نرمال تا از بین رفتن رنگ زرد تیتراژ شد. سپس نیم میلی‌لیتر شناساگر نشاسته اضافه شده و تیتراسیون تا از بین رفتن رنگ آبی ادامه یافت. عدد پراکسید نمونه روغن بر حسب میلی‌اکی والان اکسیژن در یک کیلوگرم روغن مطابق فرمول زیر به دست آمد:

$$\text{عدد پراکسید} = (V_2 - V_1)N \times 1000 / m$$

که در این رابطه V_1 و V_2 به ترتیب عدد تیتراسیون نمونه و شاهد، N نرمالیه تیوسولفات سدیم و m وزن نمونه بر حسب گرم می‌باشد.

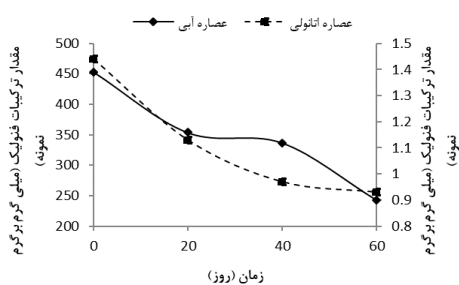
برای اندازه‌گیری درصد اسیدهای چرب آزاد ۵ گرم نمونه روغن در یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری توزین شد و ۳۰ میلی‌لیتر الکل خنثی به آن اضافه گردید. سپس با افزودن چند قطره معرف فنل فتالین، آن را با سود ۰/۱ نرمال تا ظهور رنگ صورتی کم رنگ تیتراژ و حجم مصرفی سود یادداشت و در فرمول زیر قرار داده شد:

$$\text{اسیدهای چرب آزاد بر حسب اسید اولئیک درصد گرم نمونه} = (282 \times N \times 100 \times V) / (1000 \times W)$$

که در این رابطه N نرمالیه سود مصرفی، V حجم سود مصرفی، W وزن نمونه و ۲۸۲ وزن مولکولی اسید اولئیک می‌باشد.

برای اندازه‌گیری عدد آنیزیدین، حدود ۲ گرم از نمونه‌های روغن کلزا در ۲۵ میلی‌لیتر ایزواکتان حل شد. سپس جذب این محلول چربی با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. ۵ میلی‌لیتر از مخلوط بالایی با ۱ میلی‌لیتر از آنیزیدین ۲۵٪ در اسید استیک (w/v) مخلوط

ترکیبات فنولی استخراج شده با عصاره اتانولی در مقایسه با عصاره آبی ۶۰٪ بیشتر است. قطعاً تفاوت در میزان قطبیت مختلف و در نتیجه مقدار ترکیبات فنولی در آن‌ها متفاوت باشد (۲۲).



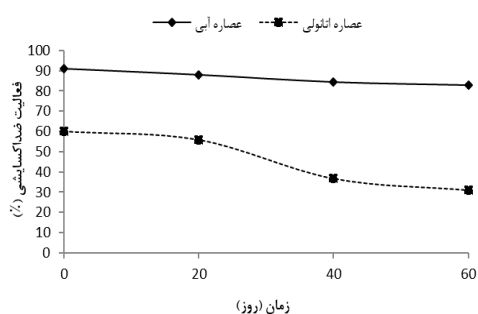
شکل ۱- میزان ترکیبات فنولی عصاره آبی و اتانولی چای سبز در دمای ۴۵°C در طول زمان (منحنی عمودی سمت راست و چپ به ترتیب مقدار ترکیبات فنولی عصاره اتانولی و آبی چای سبز را نشان می‌دهند).

جدول ۱- مقادیر فنول کل و IC₅₀ DPPH عصاره اتانولی و آبی چای سبز و مقایسه آن با برخی از عصاره‌های گیاهان دارویی

منابع	IC ₅₀ (mg extraction/mg DPPH)*	فنول کل (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم نمونه)	نمونه
پژوهش حاضر	-	۱/۴۹±۰/۰۱۸ ^A	عصاره اتانولی چای سبز (<i>Camellia Sinensis</i>)
پژوهش حاضر	-	۴۵۴/۹۷±۰/۶۰ ^B	عصاره آبی چای سبز (<i>Camellia Sinensis</i>)
دو و همکاران (۲۳)	۰/۵۸	۴۰/۵۰ ± ۰/۸۸	عصاره اتانولی لیمونفیلاروماتیکا (<i>Limnophila aromatica</i>)
دو و همکاران (۲۳)	۵/۶۶	۶/۲۵ ± ۰/۱۲۴	عصاره آبی لیمونفیلاروماتیکا (<i>Limnophila aromatica</i>)
حاج علی و همکاران (۲۴)	۰/۰۰۶	۹۸/۶۶ ± ۳/۱۷	عصاره متانولی برگ آویشن (<i>Thymus numidicus</i>)
ترابلسای و همکاران (۲۵)	۴/۰۵	۹/۴۷	عصاره استونی لیمونستران مونوپتالوم (<i>Limoniastrum monopetalum</i>)
سن و همکاران (۲۶)	۱/۶۹	۳۶/۸۳ ± ۱/۰۲	عصاره پترولیوم اتر برگ لگجی (<i>Meyna spinosa</i>)
ترابلسای و همکاران (۲۵)	۸/۸۶	۲/۶	عصاره آبی لیمونستران مونوپتالوم (<i>Limoniastrum monopetalum</i>)

× IC₅₀ غلظت مورد نیاز از آنتی‌اکسیدان جهت کاهش ۵۰ درصدی غلظت رادیکال‌های دی فنیل پیکریل هیدرازیل اولیه می‌باشد.

×× حروف مشابه بزرگ نشان دهنده عدم وجود اختلاف آماری معنی دار در هر ستون می‌باشد (P≥۰/۰۵).



شکل ۲- میزان قدرت بازدارندگی عصاره آبی و اتانولی

چای سبز در دمای ۴۵°C در طول زمان

۳-۳- قدرت احیاءکنندگی آهن

روش FRAP فعالیت ضداکسایشی عصاره‌ها را بر اساس توانایی احیاءکنندگی آهن می‌سنجد و در حقیقت خاصیت ضداکسایشی ترکیبات قابل حل در آب را نشان می‌دهد (۳۱). در این روش احیا آهن III به عنوان معیاری برای قابلیت الکترون‌دهی ترکیبات فنولی به کار می‌رود. ظرفیت دهندگی الکترون (نیروی احیاءکنندگی) مرتبط با فعالیت ضداکسایشی ترکیبات زیستی می‌باشد (۳۲). همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است، قدرت احیاءکنندگی عصاره آبی (۴۲۸/۱۸ میلی‌مول آهن بر میلی‌گرم نمونه) بیشتر از عصاره اتانولی (۴۰۳/۴۵ میلی‌مول آهن بر میلی‌گرم نمونه) چای سبز بود ($p < 0.05$) و با گذشت زمان این کمیت تغییر معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$). تحقیقات نشان داده است که عصاره متانولی مریم گلی^۱ و استونی جاتروف^۲ در مقایسه با عصاره اتانولی و آبی چای سبز از قدرت احیاء-کنندگی ضعیف‌تری برخوردار هستند (۳۳، ۳۴). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که گیاهانی که دارای فعالیت FRAP بالا هستند، IC₅₀ آن‌ها کم می‌باشد و بالعکس. این رابطه معکوس نشان‌دهنده این است که گیاهانی که فعالیت FRAP بالاتری دارند غلظتی از آن‌ها که قادر است ۵۰٪ رادیکال‌های آزاد را مهار کند، کمتر است و یک ارتباط منطقی بین دو روش وجود دارد. علت این موضوع را می

۳-۲- بررسی خاصیت ضداکسایشی (مهارکنندگی

رادیکال‌های آزاد)

مهار رادیکال‌های آزاد یکی از شناخته شده‌ترین مکانیسم‌هایی است که به واسطه آن ترکیبات ضداکسایشی می‌توانند اکسیداسیون چربی‌ها را مهار نمایند. نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره آبی و اتانولی تأثیر معنی‌داری بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد داشتند ($p < 0.05$). مقایسه میزان مهار رادیکال‌های آزاد توسط عصاره‌های آبی و اتانولی نشان داد که فعالیت مهارکنندگی عصاره آبی (حدود ۹۰ درصد) بالاتر از عصاره اتانولی (۶۰ درصد در زمان صفر) چای سبز بود ($p < 0.05$). در عین حال، قدرت ضداکسایشی عصاره آبی در طول زمان تغییر معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$), هرچند میزان مهار رادیکال‌های آزاد عصاره اتانولی با گذشت زمان کاهش یافت و به ۳۱ درصد رسید ($p < 0.05$). نومن و همکاران (۲۷) عدد IC₅₀ (غلظت مورد نیاز از آنتی‌اکسیدان جهت کاهش ۵۰ درصدی غلظت رادیکال‌های دی فنیل پیکریل هیدرازیل اولیه) را برای چای سیاه و سبز به ترتیب ۹/۷ و ۶/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر بدست آورد. در جدول ۱ مقادیر فنول کل بدست آمده از عصاره آبی و اتانولی چای سبز در این تحقیق با عصاره چند گیاه دارویی مقایسه شده است. با توجه به داده‌های جدول ۱، می‌توان دریافت که عصاره آبی چای سبز یک منبع بسیار غنی از ترکیبات فنولی در مقایسه با سایر منابع گیاهی است. نتایج حاصل از مطالعات صورت گرفته نشان داد که ارتباط مستقیمی بین میزان ترکیبات فنولی و قدرت ضداکسایشی گیاهان وجود دارد (۲۸، ۲۹ و ۳۰)، یعنی هر چه محتوای ترکیبات فنولی بیشتر باشد، عصاره خاصیت ضداکسایشی بیشتری دارد.

¹ *S. argentea*

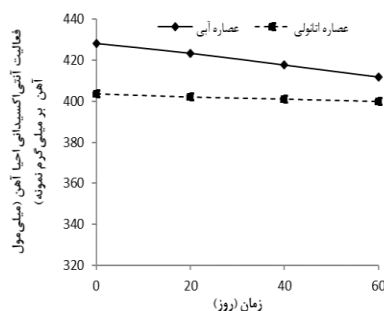
² *Jatropha curcas*

فواصل زمانی ۱۰ روزه، در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفتند.

۱-۵-۳- بررسی نتایج حاصل از اندازه گیری درصد اسیدهای چرب آزاد

تمام چربی ها و روغن های خوراکی دارای مقادیری اسید چرب آزاد هستند ولی ممکن است در اثر هیدرولیز گلیسریدها این مقدار از حد معینی تجاوز کند. بنابراین اندازه گیری درصد اسیدهای چرب آزاد یک روغن نشان-دهنده تند شدن هیدرولیتیک^۱ روغن است. وجود اسید، رطوبت، دما و آنزیم های هیدرولیز کننده لیپاز از جمله عوامل تشدید کننده هیدرولیز روغن ها و چربی ها هستند (۳۷). با توجه به نتایج آنالیز آماری، تأثیر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار × زمان بر روند تغییرات اسید چرب معنی دار بود، به طوری که درصد اسید چرب آزاد تمامی تیمارها با گذشت زمان در دمای ۴۵°C افزایش یافت (p<0.05). با توجه به شکل ۴ مشخص است که بیشترین درصد اسیدهای چرب آزاد در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد مربوط به نمونه شاهد و کمترین مربوط به آنتی اکسیدان سنتزی BHT-200 PPM بود. کارآیی WE200 PPM Dry Base و EtE200 PPM Dry Base در جلوگیری از تولید اسید-های چرب آزاد در روغن کلزا تا روز ۵۰ از آنتی اکسیدان سنتزی BHT-200 PPM کمتر بود که از این نظر اختلاف آماری معنی داری با یکدیگر داشتند (p<0.05)، هر چند بین سایر نمونه ها اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت (p>0.05). از روز ۵۰ تا ۷۰، اختلاف آماری معنی داری بین نمونه های حاوی بوتیل هیدروکسی تولوئن و عصاره آبی چای سبز وجود نداشت (p>0.05). همچنین نمونه حاوی عصاره اتانولی با نمونه شاهد (که بیشترین عدد اسیدی را داشت) از یک سمت و نمونه های حاوی عصاره اتانولی و آبی از سمتی دیگر در روزهای ۵۰ تا ۷۰ از لحاظ آماری اختلافی با همدیگر نداشتند (اما بین نمونه های شاهد و عصاره آبی اختلاف آماری وجود داشت). در مجموع

توان این گونه بیان کرد که عصاره های گیاهی حاوی مقادیر بالایی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، از فعالیت ضد اکسایشی قوی تری برخوردار هستند. در نتیجه ظرفیت دهنده گی الکترولن (نیروی احیاء کنندگی) مرتبط با فعالیت ضد اکسایشی ترکیبات زیست فعال می باشد (۳۵، ۳۶).



شکل ۳- میزان قدرت احیاء کنندگی آهن عصاره آبی و اتانولی چای سبز در دمای ۴۵°C در طول زمان

۳-۴- اندازه گیری ابعاد ذرات میکرومولسیون با استفاده از تکنیک پراکنش دینامیک نوری

ابعاد نانوکپسول های عصاره آبی چای سبز در روغن کلزا با استفاده از تکنیک پراکنش دینامیک نوری اندازه گیری شد. نتایج حاصل از اندازه گیری توزیع اندازه ذرات میکرومولسیون روغن کلزا/سورفاکتانت: پروپانل/عصاره آبی چای سبز نشان داد که دیسپرسیون تهیه شده دارای ذراتی با توزیع اندازه ذرات پایین بود. تمام ذرات دارای اندازه ای حدود ۱۵ نانومتر بودند. همچنین شاخص توزیع ذرات پایین و حدود ۰/۱۱۶ بود که نشان دهنده همگن بودن محیط میکرومولسیون بود. این نتایج نشان داد که عصاره آبی چای سبز در ابعاد بسیار کوچک در روغن کلزا در قالب میکرومولسیونی شفاف و تک فاز کپسوله شده اند و یک میکرومولسیون آب در روغن را تشکیل داده اند.

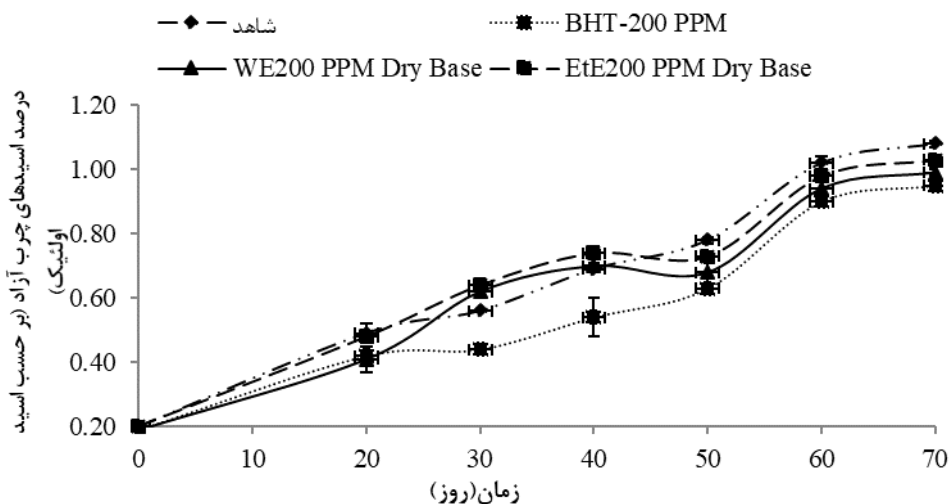
۳-۵- بررسی فعالیت ضد اکسایشی عصاره چای سبز در به تأخیر انداختن اکسیداسیون روغن کلزا

سه آزمون عدد پراکسید، آنیزیدین و اسید چرب آزاد در نمونه های روغن کلزا بدون افزودنی (بدون آنتی اکسیدان) که حاوی ۲۰۰ ppm عصاره های چای سبز و آنتی اکسیدان سنتزی بوتیل هیدروکسی تولوئن بودند، به مدت ۷۰ روز در

¹ Hydrolytic Rancidity

عوامل فساد و رخ دادن واکنش هیدرولیز، این مقدار از حد معین تجاوز نماید. بنابراین اندیس اسیدی و اسیدیته از جمله شاخص‌هایی می‌باشند که به ما در تشخیص وجود فساد در روغن‌ها و چربی‌ها کمک می‌نمایند (۳۸).

نمونه‌های حاوی بوتیل‌هیدروکسی‌تولون و عصاره آبی چای سبز بهتر از سایر تیمارها عمل کردند ($p < 0.05$). تمامی چربی و روغن‌های خوراکی دارای مقدار معین و جزئی اسید چرب آزاد هستند ولی ممکن است در اثر



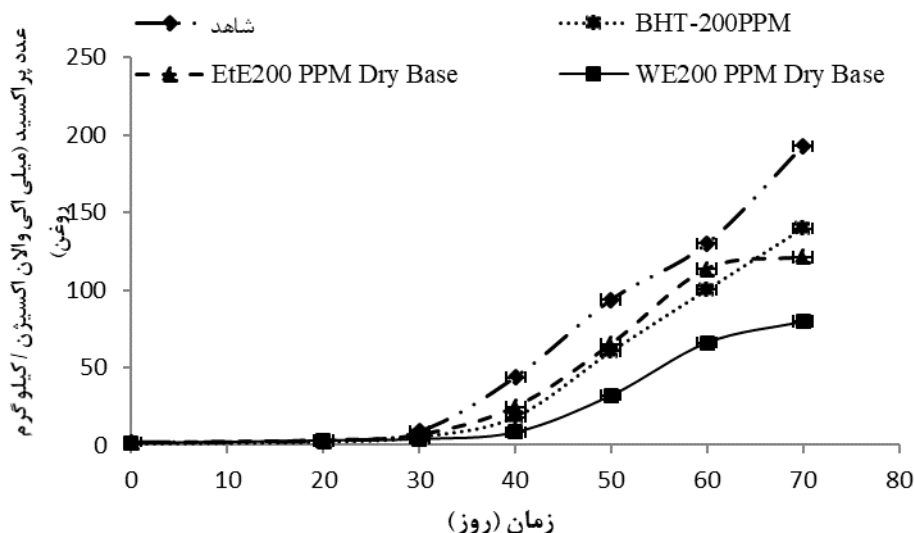
شکل ۴- مقایسه روند تغییرات درصد اسیدهای چرب آزاد تیمارهای مختلف در روغن کلزا در دمای 45°C

شاهد: روغن کلزا فاقد آنتی‌اکسیدان، WE200 PPM Dry Base: روغن کلزا حاوی ۲۰۰ ppm عصاره آبی چای سبز به شکل میکروامولسیون معادل با وزن خشک بوتیل‌هیدروکسی‌تولون، EtE200 PPM Dry Base: روغن کلزا حاوی ۲۰۰ ppm عصاره اتانولی چای سبز معادل با وزن خشک بوتیل‌هیدروکسی‌تولون، BHT-200 PPM: روغن کلزا حاوی بوتیل‌هیدروکسی‌تولون ۲۰۰ ppm.

تمامی نمونه‌ها با افزایش مدت زمان نگهداری در دمای 45°C افزایش یافته است ($p < 0.05$). سرعت تشکیل این محصولات در دمای 45°C از روز ۳۰ به بعد افزایش ناگهانی داشت ($p < 0.05$). با بررسی تغییرات پراکسید روغن کلزا در دمای 45°C می‌توان استنباط کرد که عصاره آبی چای سبز که به شکل میکروامولسیون در محیط روغن استفاده شد (WE200 PPM Dry Base) عملکرد بهتری از آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل‌هیدروکسی‌تولون داشته است ($p < 0.05$)، ولی بین عصاره اتانولی (EtE200 PPM Dry Base) و BHT-200 ppm تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). افزایش در میزان عدد پراکسید را می‌توان به تشکیل هیدروپراکسیدها یعنی محصولات اولیه اکسیداسیون نسبت داد (۲).

۲-۵-۳- بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری عدد پراکسید در روغن

پراکسید محصول اولیه‌ی اکسیداسیون مواد چرب است. وجود پراکسید در روغن به عنوان کاتالیزور، اکسیداسیون را تسریع می‌نماید. از این رو اندازه‌گیری اندیس پراکسید از آزمون‌های شاخصی است که برای تعیین میزان فساد روغن استفاده می‌شود. تغییرات عدد پراکسید روغن کلزا در همه نمونه‌های حاوی عصاره‌های چای سبز، آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل‌هیدروکسی‌تولون و نمونه شاهد در طی روزهای ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۰ در (شکل ۵) نشان داده شده است. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار \times زمان بر میزان عدد پراکسید نمونه‌ها در دمای 45°C در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود ($p < 0.05$). همان‌طور که در شکل ۵ مشخص است، عدد پراکسید



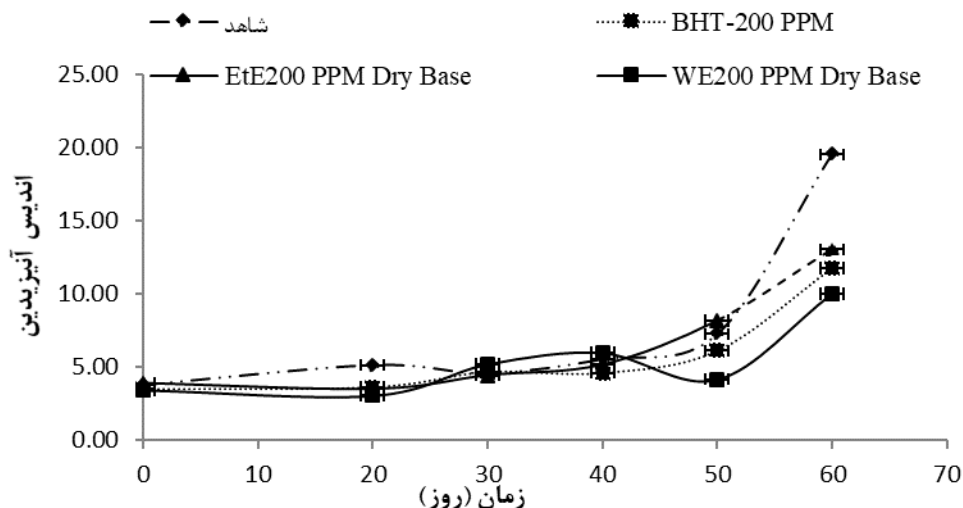
شکل ۵- مقایسه میانگین عدد پراکسید تیمارهای مختلف روغن کلزا طی ۷۰ روز گرمخانه گذاری در دمای ۴۵°C

شاهد: روغن کلزا فاقد آنتی اکسیدان، WE200 PPM Dry Base: روغن کلزا حاوی ۲۰۰ppm عصاره آبی چای سبز به شکل میکرومولسیون معادل با وزن خشک بوتیل هیدروکسی تولوئن، EtE200 PPM Dry Base: روغن کلزا حاوی ۲۰۰ppm عصاره اتانولی چای سبز معادل با وزن خشک بوتیل هیدروکسی تولوئن، BHT-200 PPM: روغن کلزا حاوی بوتیل هیدروکسی تولوئن ۲۰۰ ppm.

۳-۵-۳- بررسی نتایج حاصل از اندازه گیری عدد آنیزیدین

عدد پراکسید به تنهایی مشخص کننده ی اکسیداسیون روغن نمی باشد زیرا این عدد شاخصی از وجود محصولات اولیه اکسیداسیون است و تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون را مشخص نمی کند. لذا وجود آزمون نظیر تعیین عدد آنیزیدین که شاخصی از میزان توسعه اکسیداسیون و تولید محصولات ثانویه این واکنش می باشد ضروری به نظر می رسد (۳۸، ۳۹). از این رو در تحقیق حاضر این آزمون نیز انجام گرفت. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار × زمان بر میزان عدد آنیزیدین نمونه های روغن کلزا در دمای ۴۵°C معنی دار است ($p < 0.05$). تا روز ۵۰ تفاوت آماری معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p > 0.05$)، اما از روز ۵۰ به بعد، تفاوت بین تیمارها مشهود بود ($p < 0.05$). از روز ۵۰ به بعد، کمترین اندیس آنیزیدین مربوط به تیمار

WE200 PPM Dry Base بود و تیمارهای BHT-200 PPM و EtE200 PPM به ترتیب در رده های بعدی قرار داشتند ($p < 0.05$)، در حالی که بالاترین اندیس آنیزیدین را نمونه ی شاهد نشان داد (خصوصاً در روز آخر که نسبت به سایر تیمارها افزایش ناگهانی داشت). نتایج این آزمون به خوبی نتایج حاصل از عدد پراکسید را تایید می کند. این امر نشان می دهد مقدار زیادی از پراکسیدهای تشکیل شده در مراحل اولیه، طی روزهای پایانی آزمایش تجزیه و به آلدئید تبدیل شده اند. آنچه که از بررسی شکل ۶ می توان استنباط کرد این است که تشکیل آلدئید در همه نمونه ها با گذشت زمان افزایش داشته است ($p < 0.05$)، چون که آلدئید از تجزیه هیدروپراکسیدها حاصل می گردد. بنابراین در روزهای ابتدایی مقدار آنیزیدین پایین بود (همانطور که عدد پراکسید پایین بود). اما بعد از گذشت زمان مقدار محصولات اولیه اکسیداسیون (عدد پراکسید) افزایش یافت که با تجزیه این محصولات، اندیس آنیزیدین نیز افزایش یافت.



شکل ۶- مقایسه نتایج حاصل از اندازه گیری عدد آنیزیدین در روغن کلزا در دمای ۴۵°C

شاهد: روغن کلزا فاقد آنتی اکسیدان، WE200 PPM Dry Base: روغن کلزا حاوی ۲۰۰ ppm عصاره آبی چای سبز به شکل میکرومولسیون معادل با وزن خشک بوتیل هیدروکسی تولوئن، EtE200 PPM Dry Base: روغن کلزا حاوی ۲۰۰ ppm عصاره اتانولی چای سبز معادل با وزن خشک بوتیل هیدروکسی تولوئن، BHT-200 PPM: روغن کلزا حاوی بوتیل هیدروکسی تولوئن ۲۰۰ ppm.

نشان دهد. لی و شر (۱۱) گزارش کردند که عصاره استخراج شده از برگ چای سبز توسط اتانول دارای خاصیت آنتی اکسیدانی خوبی در مورد روغن سویا است و در غلظت یکسان با BHT (۲ درصد) اثر مشابهی با این آنتی اکسیدان را نشان می دهد. در پژوهش دیگری نیتو و همکاران (۴۰) نقش پایدار کنندگی فلاونوئیدها را در مقایسه با چند آنتی اکسیدان سنتزی در روغن ماهی مورد مطالعه قرار دادند. بررسی آن‌ها نشان داد که فلاونوئیدهای کاتچین، کوئرستین و مورین که در برگ چای وجود دارند نسبت به BHA و BHT دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری هستند. همچنین ژن یو چن و همکاران (۴۱) تحقیقاتی را با استفاده از عصاره کاتچینی چای سبز برای جلوگیری از اکسیداسیون روغن کلزا، لارد و چربی مرغ انجام دادند که نتایج به دست آمده نشان دهنده خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتر این عصاره در مقایسه با BHT و عصاره رزماری بود. نتایج این تحقیق نیز از نظر روند تغییرات اعداد پراکسید، آنیزیدین و اسید چرب در طی دوره نگهداری در شرایط اکسیداسیون، مشابه نتایج پژوهش‌های است که در بالا ذکر شده است.

با توجه به نتایج اعداد پراکسید، آنیزیدین و اسید چرب آزاد در نمونه‌های روغن کلزا می توان این گونه استنباط کرد که با افزایش زمان نگهداری نمونه‌های روغن در شرایط مناسب برای اکسیداسیون، میزان شاخص‌های اکسیداسیون افزایش یافته بود و نمونه شاهد که حاوی هیچ ضد اکسایشی نبوده در مقایسه با بقیه تیمارها بیشترین مقدار اعداد پراکسید، آنیزیدین و اسید چرب را در در دمای ۴۵°C داشت. افزایش در میزان عدد پراکسید را می توان به تشکیل هیدروپراکسیدها یعنی محصولات اولیه اکسیداسیون نسبت داد (۲). با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون و حرارت دهی، تفاوت بین تیمارها بیشتر مشهود شد، زیرا آنتی اکسیدان‌ها طی مدت زمان خاصی فعال باقی مانده و با گذشت زمان به تدریج از درجه تأثیر آن‌ها کاسته می شود تا زمانی که کاملاً بی اثر شوند. با بررسی کلی نتایج می توان گفت که در دمای ۴۵°C عصاره آبی چای سبز (روغن کلزا حاوی ۲۰۰ ppm عصاره آبی نانو کپسول شده چای سبز) به خوبی توانسته بود با آنتی-اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ ppm رقابت کند و حتی در روزهای پایانی اثر ضد اکسایشی بهتری از خود

۴- نتیجه گیری

نتایج نشان داد که ریزپوشانی عصاره آبی چای سبز با استفاده از تکنیک میکرومولسیون بهتر از عصاره اتانولی در جلوگیری از اکسیداسیون روغن کلزا عمل می کند. به طور کلی می توان گفت در صورتی که خواهان جایگزینی عصاره آبی چای سبز بابتیل هیدروکسی تولوئن هستیم، باید یک میکرومولسیون تشکیل دهیم و در این رابطه بهتر است که از غلظت های بالاتر عصاره چای سبز استفاده کنیم. همان طور که پیش تر مطرح شده، هدف از این تحقیق امکان تشکیل سامانه میکرومولسیونی و ریزپوشانی عصاره چای سبز و بررسی اثر آنتی اکسیدانی این گیاه در روغن کلزا بود. با مرور نتایج بدست آمده طی این تحقیق مشخص شد که ویژگی های حلال مورد استفاده جهت استخراج ترکیبات فنولی به میزان زیادی فعالیت ضد اکسایشی عصاره ها را تحت تأثیر قرار داد به طوری که از بین حلال اتانول و آب، آب به عنوان بهترین حلال از لحاظ استخراج بیشترین ترکیبات فنولی شناخته شد. پس عصاره چای سبز می تواند در غلظت های مناسب، جهت استفاده در روغن به عنوان آنتی اکسیدان مورد استفاده قرار گیرد. در نهایت می توان بیان کرد که عصاره آبی چای سبز عملکرد بهتری از عصاره اتانولی داشته و دارای خاصیت ضد اکسایشی بهتری است. این خاصیت به دلیل وجود ترکیبات فنولی و سایر ترکیبات ضد اکسایشی در آن است. بنابراین، می تواند به عنوان منبعی از آنتی اکسیدان های طبیعی مورد پژوهش بیش تر قرار گیرد.

۵- منابع

1. Malheiro, R., Rodrigues, N., Manzke, G., Bento, A. and Pereira, J.A. 2013. The use of olive leaves and tea extracts as effective antioxidants against the oxidation of soybean oil under microwave heating. *Industrial Crops and Products*, 44: 37-43.
2. Laguerre, M., Lecomte, J. and Villeneuve, P. 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research*, 46(5): 244-282.
3. Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F. and Hafezi, S. 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of Biology*, 32: 43-49.
4. Yin, J., Becker, E.M., Andersen, M.L. and Skibsted, L.H. 2012. Green tea extract as food antioxidant Synergism and antagonism with α -tocopherol in vegetable oils and their colloidal systems. *Food Chemistry*, 135: 2195-2202.
5. Radi, M. and Abbasi, S. 2012. Microemulsions and their applications in food industry. *NanoTechnology*, 3: 27-31 (in Persian).
6. Flanagan, J., Kortegaard, K., Pinder, D.N., Rades, T. and Singh, H. 2006. Solubilisation of soybean oil in microemulsions using various surfactants. *Food Hydrocolloid*, 20: 253-260.
7. Polizelli, M.A., Telis, V.R.N., Amaral, L.Q. and Feitosa, E. 2006. Formation and characterization of soy bean oil/surfactant/water microemulsions. *Colloids and Surfaces A*, 281: 230-236.
8. Han, D., Yi, O.S. and Shine, H.K. 2006. Antioxidative effect of ascorbic acid solubilized in oils via reversed micelles. *Journal of Food Science*, 55: 247-249.
9. Zahir, R.S., Azad, C.A.K., Rabbani, G.H., Marni, F., Shawkat, A.M. and Nahar, L. 2009. Effect of aqueous extracts of black and green teas in arsenic-induced toxicity in rabbits. *Phytother Research*, 23: 1603-1608.
10. Okore, V.C., Ugwu, C.M., Oleghe, P.O. and Akpa, P.A. 2007. Selective anti-Candidal action of crude aqueous podextract of *Lecaniodiscus cupanioides*: a preliminary study on *Candida albicans* obtained from an Aids Patient. *Scientific Research and Essays*, 2: 43-46.
11. Singh, R.P., Murthy, K.N.C. and Jayaprakasha, G.K. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 81-86.
12. Lee, S.C., Kim, J.H., Jeong, S.M., Kim, D.R., Ha, J.U. and Nam, K.C.

- Soetaredjo, F.E., Ismadji, S. and Ju, Y.H. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoids content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(3): 296-302.
24. Hadj Ali, I. B. E., Bahri, R., Chaouachi, M., Boussaïd, M. and Harzallah-Skhiri, F. 2014. Phenolic content, antioxidant and allelopathic activities of various extracts of *Thymus numidicus* Poir Organs. *Industrial Crops and Products*, 62: 188-195.
25. Trabelsi, N., Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Oueslati, S., Soumaya, B., Hajlaoui, H. and Abdelly, C. 2010. Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *Food Science and Technology*, 43(4): 632-639.
26. Sen, S., De, B., Devanna, N. and Chakraborty, R. 2013. Total phenolic, total flavonoid content, and antioxidant capacity of the leaves of *Meyna spinosa* Roxb., an Indian medicinal plant. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 11(2): 149-157.
27. Nooman, A. Kh., Ashok, K. Sh., Atif, A.O., Zaha, E.A. and Farah, H. 2008. Antioxidant Activity of some Common Plants. *Journal of Biology*, 32: 51-55.
28. Fang, Z., Zhang, Y., Lu, Y., Ma, G., Chen, J., Lin, D., et al. 2009. Phenolic compounds and antioxidant capacities of bayberry juice. *Journal of Food Chemistry*, 113(4): 884-888.
29. Bamdad, F., Kadivar, M. and Keramat, J. 2006. Evaluation of phenolic content and antioxidant activity of Iranian caraway in comparison with clove and using model systems and vegetable oil. *International Journal of Food Science and Technology*, 41 (1): 20-27.
30. Unver, A., Arslan, D., Ozcan, M. M. and Akbulut, M. 2009. Phenolic content and antioxidant activity of some spices. *World Applied Sciences Journal*, 6(3): 373-377.
31. Deepa, N., Kaura, Ch., Georgea, B., Singh, B. and Kapoor, H.C. 2007. 2003. Effect of far infrared radiation on the antioxidant activity of rice hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4400-4403.
13. Benzie, I.F. and Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1): 70-76.
14. AOCS. 1989. *Official Methods and Recommended Practices of American Oil Chemists Society*. 4th ed., Champaign, AOCS.
15. Iupac 2.504. 1987. Determination of the p-anisidine value (p-A.V.)
16. Parvane, V. 1998. *Quality Control and Food Material Chemical Analyzes*. 2nd ed., University Press, Tehran, pp 12-14 (in Persian).
17. Serrano, J., Goni, I. and Saura-Calixto, F. 2007. Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Research International*, 40: 15-21.
18. Khokhar, S. and Magnusdottir, S. G. 2002. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United kingdom. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(3): 565-570.
19. Hoff, J.E. and Singleton, K.I. 1977. A method for determination of tannins in foods by means of immobilized protein. *Journal of Food Science*, 42(6): 1566-1569.
20. Rusak, G., Komes, D.E., Likic, S., Horz, D. and Kovac, M. 2008. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. *Food Chemistry*, 110: 852-858.
21. Nwuha, V., Nakajima, M., Tong, J. and Lchikawa, S. 1999. Solubility study of green tea extracts in pure solvents and edible oils. *Journal of Food Engineering*, 40(3):161-165.
22. Wang, H., Provan, G.J. and Helliwell, K. 2000. *Tea Flavonoids: Their Functions, Utilization and Analysis*. *Trends in Food Science and Technology*, 11: 152-160.
23. Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H.,

37. Bernardini, E. 1985. Oil Seeds, Oils and Fat. Publishing House B. E Oil, Rome, pp. 89-99.
38. Rossel, J. 1989. Measurement of rancidity. Elsevier Science Publisher LTD, London, pp. 29-33.
39. Ramezani, R. and Karbasi, A. 2002. Effect of Different Packaging and Light Condition on Sunflower Oil Stability. *Journal of Agricultural Science and Thecnology*, 6(2): 139-147.
40. Nieto, S., Garrido, A., Sanhueza, J., Loyola, L. A., Morales, G., Leighton, F. and Valenzuela, A. 1993. Flavonoids as stabilizers of fish oil: An alternative to synthetic antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 70: 773-778.
41. Zhen yu, C., Li-ya, W., Ping, I. C., Zesheng, Z. and Haw, Y.C. 1998. Antioxidant activity of green tea catechin extract compared with that of rosemary extract. *Ibid*, 75: 1141-45.
- Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes during maturity. *Food Science and Technology*, 40(1): 121-129.
32. Arabshahi-Delouee, S. and Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chemistry*, 102(4): 1233-1240.
33. Farhat, M. B., Landoulsi, A., Chaouch-Hamada, R., Sotomayor, J. A. and Jordan, M. J. 2013. Characterization and quantification of phenolic compounds and antioxidant properties of *Salvia* species growing in different habitats. *Industrial Crops and Products*, 49: 904-914.
34. Nithiyantham, S., Siddhuraju, P., Francis, G. 2013. A promising approach to enhance the total phenolic content and antioxidant activity of raw and processed *Jatropha curcas* L. kernel meal extracts. *Industrial Crops and Products*, 43: 261-269.
35. Sun, T., Powers, J. R. and Tang, J. 2007. Evaluation of the antioxidant activity of asparagus, broccoli and their juices. *Food Chemistry*, 105(1): 101-106.
36. Sahreen, S., Rashid Khan, M. and Ali Khan, R. 2010. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. *Food Chemistry*, 122(4): 1205-1211.

Archive of SID