بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) بر پایداری روغن سویا

راضیه محمدی[a]، محمد فاضل[b*]، الهام خسروی[c]

[a] عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

[b] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

[c] مربی گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۳/۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۸/۲۷

چکیده

مقدمه: به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی شناخته شده ترکیبات گیاهی و مشتقات آن‌ها، افزودن آن‌ها به سامانه‌های غذایی بسیار مورد توجه واقع شده است. هدف از این پژوهش بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی گیاه بیلهر و همچنین کاربرد عصاره اتانولی آن در میزان به تأخیراندازی اکسیداسیون روغن سویا می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در ابتدا تأثیر دو حلال آب و اتانول ۹۶٪ بر راندمان استخراج، ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی، به دام اندازی رادیکال DPPH و قدرت احیاءکنندگی آهن بررسی شد و در ادامه عصاره اتانولی در چهار سطح (۲۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ppm) و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و TBHQ در محدوده مجازشان (۲۰۰ ppm) به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان اضافه و اندیس پراکسید و اندیس تیوباربیتوریک اسید اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره آبی بیشترین بازده استخراج را نسبت به عصاره اتانولی دارد ولی بیشترین میزان ترکیبات فنولیک (۰/۸۹±۲۱/۷۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم بیلهر)، فلاونوئیدی (۰/۶۰±۱۴/۹۹ میلی‌گرم کوئرستین در گرم بیلهر) و کمترین IC_{50} در آزمون DPPH (۲/۰۵ میلی‌گرم عصاره در میلی‌گرم DPPH) و نیز بیشترین قدرت احیاءکنندگی آهن (۰/۰۶±۱۴/۱۳ میلی‌مول آهن (II) در میلی‌گرم نمونه) مربوط به عصاره اتانولی بود. نتایج آزمون آون نیز نشان داد که عصاره اتانولی در سطوح ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ppm به خوبی توانسته اندیس پراکسید و اسید تیوباربیتوریک را کنترل کند.

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های این بررسی عصاره اتانولی بیلهر می‌تواند به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در سطح ppm ۲۰۰ استفاده شوند و به این ترتیب می‌توان گیاه بیلهر را به عنوان منبعی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی معرفی نمود که این اثر ناشی از حضور ترکیبات فنولیک موجود در گیاه است.

واژه‌های کلیدی: *آزمون آون، ترکیبات فنولیک، روغن سویا، عصاره گیاه بیلهر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: mfazeln@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

اکسیداسیون لیپیدها از مهم‌ترین دلایل فساد مواد غذایی است که روی رنگ، طعم، بافت و ارزش تغذیه‌ای مؤثر است (Chan *et al.*, 1993; Yin & Cheng, 1997). به منظور غلبه بر مشکلات پایداری روغن‌ها و چربی‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها استفاده می‌شوند (Sanchez-Moreno *et al.*, 1999). آنتی‌اکسیدان‌ها به دو دسته شیمیایی و طبیعی تقسیم‌بندی می‌شوند (Velioglu *et al.*, 1998). آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی که بیشترین استفاده را در صنعت غذا دارند، شامل BHA، BHT، TBHQ و پروپیل گالات بوده که سرطان‌زایی و اثرات منفی این ترکیبات برسلامت انسان مشخص شده است (Namiki, 1990). به همین جهت تمایل به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در سال‌های اخیر افزایش یافت (Kahl & Kappus, 1993).

بیلهر (*Dorema aucheri*) گیاهی بوته‌ای از خانواده چتریان است. در منابع گیاه‌شناسی و علمی معتبر پراکندگی زیستگاه این گروه از گیاهان در مناطق شرق آسیا، ایران تا افغانستان و پاکستان و به عنوان بومی آسیای مرکزی، ایران و روسیه شمالی ذکر شده است. مناطق پراکنش این گیاه در مرکز، غرب، و جنوب شرق ایران است (قهرمان، ۱۳۷۲). در طب سنتی از گیاه مذکور به عنوان مقوی، قاعده‌آور، خلط‌آور، ضدمیکروب، کاهش دهنده تری‌گلیسرید و کلسترول خون، پایین‌آوردنده فشارخون، دافع سنگ کلیه و مسکن دردهای احشابی و نیز جهت درمان بیماری‌های تنفسی استفاده می‌شود (صادقی و همکاران، ۱۳۸۶؛ شفیع‌زاده، ۱۳۸۱). عصاره هیدروالکلی بیلهر در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد اثر ضدمیکروبی قابل قبولی بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیس*، *استرپتوکوکوس پنومونیه* و *اشیرشیاکولی* دارد، ولی هیچ گونه تأثیری در کشندگی میکروارگانیسم‌های *سراشیا*، *پسودوموناس* و *شیگلا* ندارد (شریفی و همکاران، ۱۳۸۸).

Wollenweber و همکاران (۱۹۹۵) با آنالیز آزمایشگاهی قسمت هوایی گیاه بیلهر به این نتیجه دست یافتن که این گیاه سرشار از فلاونوئیدها است. مهمترین فلاونوئیدهای یافت شده توسط این گروه پژوهشگر شامل سالویژنین، نپتین، کرزیولیول و یوپاتورین بود. میزان ترکیبات فنولیک عصاره آبی گیاه بیلهر ۶۵ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره گزارش شده است (Mirzaee *et al.*, 2013). در یک مطالعه اثرات محافظت کبدی گیاه بیلهر بر سمیت القا شده توسط تتراکلرید کربن در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که عصاره بیلهر در برابر آسیب‌های کبدی ایجاد شده توسط تتراکلرید کربن دارای اثرات محافظتی است (صادقی و همکاران، ۱۳۸۶).

Shah و همکاران (۱۹۹۱) در بررسی خواص توکسیکولوژیک عصاره رازیانه که جزء خانواده چتریان می‌باشد نشان دادند که عصاره اتانولی رازیانه (*Foeniculum Vulgare Mill*) به صورت خوراکی در دوزهای مختلف و زمان‌های متفاوت، فاقد اثرات سمی و تغییرات مرفولوژیکی خارجی و هماتولوژیکی در موش است. در مطالعه‌ای دیگر بر روی عصاره گشنیز (*Coriandrum sativum*) مشخص شد که این گیاه هیچ گونه سمیت حادی در موش سوری ندارد (طاهریان و همکاران، ۱۳۸۳). در زمینه کاربرد عصاره‌های گیاه بیلهر در روغن‌ها گزارشی در منابع علمی یافت نشد.

هدف از انجام این تحقیق، استخراج عصاره گیاه بیلهر با دو حلال اتانول ۹۶٪ و آب به روش خیساندن و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها با دو روش DPPH و FRAP و در ادامه بررسی اثر عصاره اتانولی گیاه بیلهر بر پایداری اکسایشی روغن سویا است.

مواد و روش‌ها

گیاه بیلهر از کوه‌های اطراف یاسوج جمع‌آوری و پس از تمیز کردن و شستن، در سایه خشک و توسط آسیاب پودر گردید. روغن سویا تصفیه شده و فاقد آنتی‌اکسیدان از کارخانه روغن نباتی ناز اصفهان تهیه شد. حلال‌های مورد استفاده و دیگر مواد شیمیایی با بالاترین درجه خلوص از شرکت مرک آلمان و سیگما تهیه شدند.

– استخراج عصاره بیلهر

تهیه عصاره به روش خیساندن انجام گرفت. به منظور استخراج عصاره بیلهر از دو حلال اتانول ۹۶٪ و آب به طور جداگانه استفاده شد به این ترتیب که پودر گیاه بیلهر و حلال به نسبت ۱:۱۰ با هم مخلوط شدند اختلاط به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق روی شیکر (IKA. KS 260

Archive of SID

www.SID.ir

control ساخت آلمان) انجام شد، محلول توسط کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر گردید. این عمل تا بیرنگ شدن تفاله‌های گیاه بیلهر انجام شد. سپس حلال‌های موجود در عصاره با استفاده از دستگاه روتاری (۴۰۰۰. Heidolph Laborota ساخت آلمان) در دمای ۴۰ °C تبخیر شد و عصاره‌های خشک در ظروف شیشه‌ای استریل در دمای ۴ °C نگهداری شدند (Rehman *et al.*, 2004).

– تعیین محتوای فنول کل

میزان کل ترکیبات فنولیک عصاره‌های بیلهر با روش فولین سیوکالتیو در طول موج ۷۶۵nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدلLKB.Novaspec II Pharmacia ساخت انگلستان) تعیین گردید مقادیر فنول تام در نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک (بیلهر) بیان گردید) (McDonald *et al.*, 2001.

– تعیین محتوای فلاونوئید عصاره‌های بیلهر

برای اندازه‌گیری مقدار فلاونوئید کل از نوع کوئرستین از روش کالریمتری آلومینیوم کلراید استفاده شد. جذب نمونه در طول موج ۴۱۵nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدلLKB.Novaspec II Pharmacia ساخت انگلستان) قرائت شد. میزان فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم ماده خشک (بیلهر) گزارش شد (Chang *et al.*, 2002).

– سنجش قدرت مهارکنندگی رادیکالDPPH[1]

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های عصاره توسط روش Von Gadow و همکاران (۱۹۹۷) ارزیابی شد. بر طبق این روش، ۲/۴ میلی‌گرم پودر DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول خالص حل شد. به ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های متفاوت عصاره (۱mg/ml، ۲/۵mg/ml و ۵mg/ml)، ۱ میلی‌لیتر محلول اتانولی DPPH اضافه و مخلوط شد. همچنین از محلول DPPH به عنوان کنترل استفاده گردید. بعد از ۳۰ دقیقه قرار دادن در تاریکی و دمای محیط، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷nm توسط اسپکتوفتومتر (مدلLKB.Novaspec II Pharmacia ساخت انگلستان) در برابر سل حاوی اتانول قرائت شد. درصد فعالیت خنثی‌سازی رادیکال‌های DPPH توسط فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{Inhibition } \% = \frac{(A_C - A_S)}{A_C} \times 100$$

که در این فرمول A_C: میزان جذب کنترل و A_S: میزان جذب نمونه است.

– بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی با آزمونFRAP [2]

این آزمون بر طبق روش Benzie & Strain (۱۹۹۶) انجام شد. محلول استوک شامل ۳۰۰ mM بافر استات pH ۳/۶، ۱۰ mM از محلول TPTZ[3] در ۴۰mM از اسید کلریدریک و ۲۰ mM محلول کلرید فریک ۶ آبه می‌باشد. محلول تازه FRAP برای کارکردن، بوسیله مخلوط کردن ۲۵ml بافر استات، ۲/۵ml محلول TPTZ و ۲/۵ml محلول کلرید فریک ۶ آبه تهیه شد. ۲۰۰ میکرو-لیتر از عصاره ۱۰۰۰ ppm اتانولی به ۱/۸ میلی‌لیتر از محلول TPTZ اضافه شد و بعد از ۳۰ دقیقه قرار دادن در انکوباتور (IPP 400 Memmert ساخت آلمان) جذب در۵۹۵ nm خوانده شد. از $FeSO_4.7H_2O$ به عنوان استاندارد استفاده شد و از آسکوربیک اسید به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

– بررسی کاربرد عصاره بیلهر به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در روغن

عصاره اتانولی بیلهر در چهار سطح ۲۰۰ppm، ۵۰۰ppm، ۱۰۰۰ppm و ۲۰۰۰ppm و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و TBHQ، هر دو در سطح ۲۰۰ppm به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شد. آنگاه نمونه‌ها به همراه شاهد (روغن سویا فاقد آنتی‌اکسیدان)، به مدت ۱۶ روز در دمای ۶۰ °C قرارداده شد (سلمانیان و همکاران، ۱۳۹۲) و در نهایت، عدد پراکسید به روش یدومتری و طبق استاندارد AOCS به شماره-8b 90 Cd (Firestone, 1994) و تیوباربیتوریک اسید (Sidwell *et al.*,1954) طی روزهای صفر، چهار، هشت، دوازده و شانزده

[1] 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
[2] Ferric Reducing Ability of Plasma
[3] 2,4,6-Tris (2-pyridyl) -s-triazine

Archive of SID
www.SID.ir

اندازه‌گیری شد.

– تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام شد. در کاربرد عصاره روی روغن سویا از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون دانکن و نرم افزار SPSS استفاده شد.

یافته‌ها

– تعیین بازده استخراج، مقدار ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی

عصاره‌های گیاهان غنی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها است که تأثیرات آنتی‌اکسیدانی بسیار بالایی دارند (Serrano *et al.*, 2007). در این پژوهش نوع حلال مورد استفاده جهت استخراج تأثیر معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بر بازده استخراج، مقدار ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی عصاره‌ها دارد. نتایج جدول ۱ بیانگر این مطلب است که اگر چه بازده استخراج عصاره آبی بیشتر است ولی میزان فنول کل و فلاونوئید در عصاره اتانولی بیشتر است.

– فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH

مهار رادیکال‌های آزاد یکی از شناخته شده‌ترین مکانیسم‌هائی است که به واسطه آن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند اکسیداسیون چربی‌ها را مهار نمایند. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که غلظت عصاره‌ها تأثیر معنی‌داری بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد داشتند ($p<۰/۰۵$). به بیان دیگر، توانایی عصاره‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت فعالیت ضد رادیکالی آن‌ها افزایش می‌یابد. در تمامی غلظت‌های مورد بررسی فعالیت مهارکنندگی عصاره اتانولی بالاتر از عصاره آبی بیلهر بود. همانطور که در جدول ۱ دیده می‌شود در بین عصاره‌های بیلهر، کمترین مقدار IC_{50} متعلق به عصاره اتانولی بود.

– قدرت احیاءکنندگی (آزمون FRAP)

در این روش احیا آهن III به عنوان معیاری برای قابلیت الکترون‌دهی ترکیبات فنولیک به کار می‌رود. این مسئله، مکانیسم مهمی را در فرایند اکسیداسیون ترکیب‌های فنولیک تشکیل می‌دهد. ظرفیت دهندگی الکترون (نیروی احیاءکنندگی) مرتبط با فعالیت آنتی-اکسیدانی ترکیبات زیستی می‌باشد (Arabshahi & Urooj, 2007). نتایج آنالیز واریانس حاکی از آن بود که عصاره‌ها از نظر قدرت احیاءکنندگی اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) با یکدیگر دارند. با توجه به جدول ۱ قدرت احیاءکنندگی عصاره اتانولی بیلهر بیشتر از عصاره آبی آن است.

– تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی بیلهر روی عدد پراکسید روغن سویا

پراکسید محصول اولیه اکسیداسیون مواد چرب است. وجود پراکسید در روغن به عنوان کاتالیزور اکسیداسیون را تسریع می‌نماید، از این رو اندازه‌گیری اندیس پراکسید از تست‌های شاخصی است که برای تعیین میزان فساد روغن استفاده می‌شود. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار × زمان بر میزان عدد پراکسید نمونه‌ها در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار است. لازم به ذکر این مطلب است که میزان عدد پراکسید نمونه‌های روغن

جدول ۱- مقایسه میانگین بازده استخراج، مقدار کل ترکیبات فنولیک، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های بیلهر

تیمار	بازده استخراج (درصد)	فنول کل (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم بیلهر)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین در گرم بیلهر)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی		
				IC_{50} DPPH		FRAP (mmol Fe^{2+}/ mg sample)
				TE (Trolox Equivalent)	mg extraction/ mg DPPH	
عصاره آبی	۲۶/۰±۰/۹[a]	۱۶/۴۴±۰/۵۷[b]	۳/۰۰±۰/۱۲[b]	۰/۵۶[a]	۳/۸۴[a]	۱۱/۱۷±۰/۰۴[b]
عصاره اتانولی	۱۰/۰±۰/۴[b]	۲۱/۷۳±۰/۸۹[a]	۱۴/۹۹±۰/۶۰[a]	۰/۹۳[a]	۲/۰۵[a]	۱۴/۱۳±۰/۰۶[a]

حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۵ درصد است ($p<۰/۰۵$).

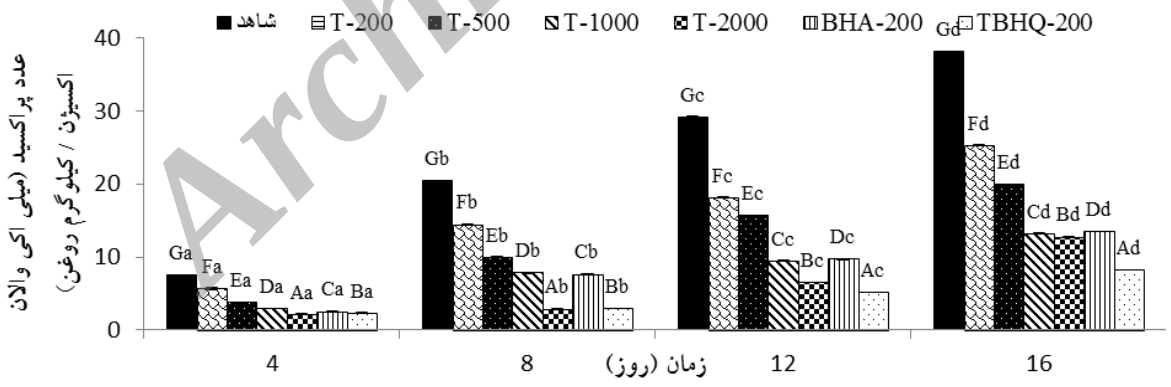
Archive of SID

www.SID.ir

سویا در روز صفر، صفر بود. در نمودار ۱ عدد پراکسید تمامی نمونه‌ها با افزایش مدت زمان نگهداری در دمای ۶۰°C افزایش داشته است. به طوری‌که از روز چهارم به بعد سرعت تشکیل این محصولات افزایش بیشتری یافت، همچنین عدد پراکسید روغن به غلظت تیمارها نیز وابسته است و با افزایش غلظت تیمارها، عدد پراکسید کمتر افزایش یافت (p<۰/۰۵). ولی یک رابطه خطی بین غلظت تیمارها و عدد پراکسید روغن دیده نشد (نمودار ۱)، با بررسی تغییرات پراکسید در نمودار ۱ می‌توان این‌گونه استنباط کرد که روغن سویا حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ و نمونه شاهد به ترتیب کمترین و بیشترین میزان عدد پراکسید را به خود اختصاص داده است همچنین عدد پراکسید غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm عصاره اتانولی بیلهر نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی (۲۰۰ ppm) BHA کمتر است ولی نسبت به (۲۰۰ ppm) TBHQ بیشتر بود.

– تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی بیلهر روی عدد تیوباربیتوریک اسید روغن سویا

عدد پراکسید به‌تنهایی مشخص کننده اکسیداسیون روغن نمی‌باشد زیرا این عدد شاخصی از وجود محصولات اولیه اکسیداسیون است و تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون را مشخص نمی‌کند. لذا وجود آزمونی نظیر تعیین عدد TBA که شاخصی از میزان توسعه اکسیداسیون و تولید محصولات ثانویه این واکنش می‌باشد، ضروری به نظر می‌رسد. 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 تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های روغن سویا معنی‌دار است. پس از نمونه شاهد بیشترین مقدار عدد تیوباربیتوریک متعلق به تیمارهای T-۲۰۰ وT-۵۰۰ بود که از این نظر اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (p<۰/۰۵). و کمترین مقدار عدد تیوباربیتوریک اسید مربوط به۲۰۰ TBHQ- بود. با توجه به مقادیر اندیس تیوباربیتوریک اسید ارائه شده در نمودار ۲ با گذشت زمان عدد تیوباربیتوریک اسید افزایش می‌یابد، به طوری‌که در روزهای پایانی آزمایش با سرعت بیشتری انجام می‌شد، عددTBA روغن، همانند عدد پراکسید، وابسته به غلظت تیمارها است ولی همانند آنچه در مورد عدد پراکسید مشاهده شد در این جا نیز یک رابطه خطی میان افزایش غلظت عصاره مورد ارزیابی با میزان عدد TBA مشاهده نمی‌شود. در نمودار ۲ مشخص است که عملکرد غلظت‌های ۱۰۰۰ppm و ۲۰۰۰ppm عصاره اتانولی بیلهر در جلوگیری از تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون تقریباً معادل با۲۰۰ -BHA بود.



نمودار ۱- مقایسه تأثیر غلظت آنتی اکسیدان‌های سنتزی و عصاره بیلهر بر عدد پراکسید روغن سویا

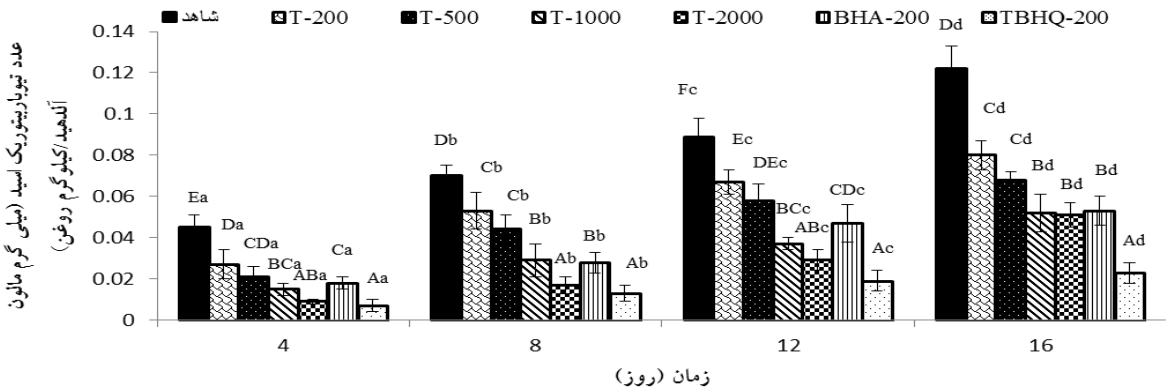
* حروف متفاوت بزرگ در هر زمان برای تیمارهای مختلف بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در یک زمان و در سطح احتمال ۰/۰۵ است (p<۰/۰۵).

** حروف متفاوت کوچک برای هر تیمار در طی زمان‌های مختلف بیانگر تفاوت معنی‌دار بین زمان‌های آون گذاری در یک تیمار و در سطح احتمال ۰/۰۵ است (p<۰/۰۵).

*** نتایج میانگین سه تکرار± انحراف معیار است.

****T-۲۰۰: روغن سویا حاوی ۲۰۰ppm عصاره اتانولی بیلهر، T-۵۰۰: روغن سویا حاوی ۵۰۰ppm عصاره اتانولی بیلهر، T-۱۰۰۰: روغن سویا حاوی ۱۰۰۰ppm عصاره اتانولی بیلهر، T-۲۰۰۰: روغن سویا حاوی ۲۰۰۰ppm عصاره اتانولی بیلهر، BHA-۲۰۰: روغن سویا حاویBHA ۲۰۰ppm، TBHQ -۲۰۰: روغن سویا حاوی ۲۰۰TBHQ ppm

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۲- مقایسه تأثیر غلظت آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و عصاره بیلهر بر عدد تیوباربیتوریک اسید روغن سویا

* حروف متفاوت بزرگ در هر زمان برای تیمارهای مختلف بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در یک زمان و در سطح احتمال ۰/۰۵ است (p<۰/۰۵).

** حروف متفاوت کوچک برای هر تیمار در طی زمان‌های مختلف بیانگر تفاوت معنی‌دار بین زمان‌های آون گذاری در یک تیمار و در سطح احنمال ۰/۰۵ است (p<۰/۰۵).

*** نتایج میانگین سه تکرار± انحراف معیار است.

****T-۲۰۰: روغن سویا حاوی ۲۰۰ppm عصاره اتانولی بیلهر، T-۵۰۰: روغن سویا حاوی ۵۰۰ppm عصاره اتانولی بیلهر، T-۱۰۰۰: روغن سویا حاوی ۱۰۰۰ppm عصاره اتانولی بیلهر، T-۲۰۰۰: روغن سویا حاوی ۲۰۰۰ppm عصاره اتانولی بیلهر، BHA-۲۰۰: روغن سویا حاویBHA ۲۰۰ppm، TBHQ-۲۰۰: روغن سویا حاوی ۲۰۰TBHQ ppm

بحث

- تعیین بازده استخراج

قابلیت استخراج ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی-اکسیدانی این ترکیبات در عصاره به فاکتورهای زیادی از جمله قطبیت و pH حلال‌ها، زمان و دمای استخراج و نیز نوع و ساختار شیمیایی ترکیبات فنولیک بستگی دارد(Antolovich *et al.*, 2000) .

Peschel و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی اثر پنج حلال آب، متانول، اتانول، استون و هگزان در استخراج عصاره از ۱۳ نوع ضایعات میوه و سبزی و واحدهای فرآوری مواد گیاهی نشان دادند حلال‌های قطبی آب و متانول بیشترین بازده استخراج را به بار آوردند. در پژوهش دیگری که توسطDo و همکاران (۲۰۱۴) بر روی گیاه *لیمنوفیلا آروماتیکا*[1] صورت گرفت مشخص شد که بازده استخراج حلال‌های قطبی بیشتر است در این مطالعه نیز عصاره آبی بیلهر بیشترین راندمان استخراج را نسبت به عصاره اتانولی آن دارد (جدول ۱). علت این امر ناشی از تفاوت قطبیت حلال‌های مورد استفاده می‌باشد، چون حلال‌های قطبی مثل آب بیشترین بازده استخراج را به بار می‌آورد (محققی ثمرین و همکاران،. ۱۳۹۰) این موضوع با یافته‌هایی که بر روی ضایعات میوه و سبزی (Peschel *et al.*, 2006) و گیاه *لیمنوفیلا آروماتیکا* (Do *et al.*, 2014) صورت گرفت مطابقت دارد. پس قطبیت حلال‌های مورد استفاده نقش کلیدی را در افزایش حلالیت ترکیبات گیاهی بازی می‌کند.

- تعیین مقدار ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی

با توجه به اطلاعات بدست آمده از جدول ۲ عصاره اتانولی گیاه بیلهر میزان ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی بیشتری نسبت به عصاره آبی آن دارد. نتایج این پژوهش تقریباً مشابه با نتایج بررسی Mirzaee و همکاران (۲۰۱۳) است که خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه بیلهر را مورد مطالعه قرار داده بودند. در این پژوهش با توجه به اینکه عصاره آبی نسبت به عصاره اتانولی بازده استخراج بیشتری داشت ولی میزان فنول کل و فلاونوئید آن نسبت به عصاره اتانولی کم بود. به بیان دیگر بین بازده استخراج و میزان ترکیبات فنولیک یا فعالیت آنتی‌اکسیدانی رابطه معکوس وجود داشت که این موضوع با یافته‌های Hinneburg و همکاران (۲۰۰۶) که گزارش کردند بین بازده استخراج و میزان ترکیبات فنولیک رابطه معکوس وجود دارد، هم سو است. مسئله ذکر شده را می‌توان بدین‌گونه توجیه و تفسیر کرد

[1] *Limnophila aromatica*

Archive of SID

www.SID.ir

که عصاره آبی حاوی مقادیر زیادی از ناخالصی‌هایی نظیر اسیدهای آلی، پروتئین‌ها و قندهای محلول می‌باشد که می‌توانند در تشخیص و تعیین مقدار ترکیب‌های فنولی و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها تداخل ایجاد نمایند (Chirinos *et al.*, 2007). از طرفی ترکیبات فنولیک موجود در عصاره که ساختار پیچیده دارند، در اتانول حل می‌شوند، که این ترکیبات فنولیک ممکن است گروه‌های فنول بیشتر یا وزن مولکولی بالاتر نسبت به ترکیبات فنولیک موجود در آب داشته باشد. پس با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش اتانول نسبت به آب بهترین حلال جهت استخراج ترکیبات فنولیک است و این موضوع با نتایج Do و همکاران (۲۰۱۴) که عصاره اتانولی و آبی گیاه *لیمنوفیلا آروماتیکا* را مورد بررسی قرار داده بودند، مطابقت دارد (جدول ۲).

– فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH

معمولاً برای مقایسه فعالیت ضدرادیکالی عصاره‌های مختلف از فاکتوری تحت عنوان IC_{50} استفاده می‌شود. طبق تعریف IC_{50} به غلظتی از عصاره اطلاق می‌گردد که در آن ۵۰٪ از رادیکال‌های آزاد DPPH موجود در محیط واکنش مهار شوند. بنابراین هر چه این غلظت کمتر باشد، نشان دهنده این است که عصاره مورد نظر فعالیت ضد رادیکالی بیشتری دارد. همان طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی بیلهر بیشتر از عصاره آبی است. همچنین با مقایسه IC_{50} عصاره‌های بیلهر با IC_{50} تعدادی از گیاهان دارویی که در جدول ۲ قید شده، این نتایج حاصل می‌شود که عصاره اتانولی لیمنوفیلا *آروماتیکا*، عصاره متانولی برگ آویشن و عصاره پترولیوم اتر

جدول ۲- مقادیر فنول کل، فلاونوئید، IC_{50} DPPH و FRAP عصاره اتانولی و آبی بیلهر (*Dorema aucheri*)و مقایسه آن با برخی از عصاره‌های گیاهان دارویی

نمونه	فنول کل (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم نمونه)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین در گرم نمونه)	IC_{50} (mg extraction/mg DPPH)	FRAP (mmol Fe (II) / mg sample)	منابع
عصاره اتانولی بیلهر (*Dorema aucheri*)	۲۱/۷۳ ± ۰/۸۹	۱۴/۹۹ ± ۰/۶۰	۲/۰۵	۱۴/۱۳ ± ۰/۰۶	پژوهش حاضر
عصاره آبی بیلهر (*Dorema aucheri*)	۱۶/۴۴ ± ۰/۵۷	۳/۰۰ ± ۰/۱۲	۳/۸۴	۱۱/۱۷ ± ۰/۰۴	پژوهش حاضر
عصاره اتانولی *لیمنوفیلا آروماتیکا* (*Limnophila aromatica*)	۴۰/۵۰ ± ۰/۸۸	۳۱/۱۱ ± ۰/۴۳	۰/۵۸	–	Do و همکاران (۲۰۱۴)
عصاره آبی *لیمنوفیلا آروماتیکا* (*Limnophila aromatica*)	۶/۲۵ ±۰ /۲۴	۴/۰۴ ± ۰/۸	۵/۶۶	–	Do و همکاران (۲۰۱۴)
عصاره متانولی برگ آویشن (*Thymus numidicus*)	۹۸/۶۶ ± ۳/۱۷	۵۴/۲۸ ± ۱/۱۶	۰/۰۰۶	–	Hadj Ali و همکاران (۲۰۱۴)
عصاره استونی *لیمونسترام مونوپتالم* (*Limoniastrum monopetalum*)	۹/۴۷	۲/۹۳	۴/۰۵	–	Trabelsi و همکاران (۲۰۱۰)
عصاره پترولیوم اتر برگ لگجی (*Meyna spinosa*)	۳۶/۸۳ ± ۱/۰۲	۱۸/۰۹ ± ۰/۰۸	۱/۶۹	–	Sen و همکاران (۲۰۱۳)
عصاره آبی *لیمونسترام مونوپتالم* (*Limoniastrum monopetalum*)	۲/۶	۱/۰۷	۸/۸۶	–	Trabelsi و همکاران (۲۰۱۰)
عصاره متانولی مریم گلی (*S. argentea*)	۷۲/۰۲	–	۰/۹۸	۸۱/۵۶ ± ۲/۵۳	Farhat و همکاران (۲۰۱۳)
عصاره استونی جاتروفا (*Jatropha curcas*)	–	–	۶/۲۹	۲/۸۶ ± ۱۲۱/۶۰	Nithiyanantham و همکاران (۲۰۱۳)

Archive of SID
www.SID.ir

برگ لگجی قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره‌های بیلهر دارند ولی عصاره آبی *لیمنوفیلا آروماتیکا* و عصاره استونی و آبی *لیمونسترام مونوپتالم* قدرت آنتی‌اکسیدانی کمتری دارند.

با بررسی نتایج مقادیر فنول گیاه بیلهر و سایر گیاهان دارویی که در جدول ۲ ذکر شده، می‌توان گفت که هر چه مقادیر فنول بیشتر باشد، عصاره خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نشان می‌دهد. بر همین اساس می‌توان گفت میزان فنول کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره‌های گیاه بیلهر و سایر گیاهان نامبرده را توجیه می‌کند. نتایج حاصل از مطالعات صورت گرفته نشان داد که ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنولیک و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاهان وجود دارد (Fang *et al.*, 2009; Unver *et al.*, 2009). بنابراین نتایج این تحقیق با گزارشات یاد شده مطابقت دارد.

لازم به توضیح است که در این پژوهش با افزایش غلظت عصاره‌ها، مهار رادیکال با سرعت بیشتری صورت گرفت پس نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های Young Kil و همکاران (۲۰۰۹)، Shukla و همکاران (۲۰۰۹) و Sun و همکاران (۲۰۱۱) همسو است. این مسئله بدین صورت قابل توجیه است که پتانسیل آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک موجود در عصاره‌های گیاهی ناشی از نوع و غلظت این ترکیبات و نیز تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل موجود در حلقه آروماتیک این ترکیبات است. در کل، افزایش غلظت ترکیبات فنولیک به طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال آزاد افزایش می‌دهد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولیک، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهار کنندگی عصاره افزایش می‌یابد (Sanchez-Moreno *et al.*, 1999).

– قدرت احیاءکنندگی (آزمون FRAP)

به دلیل تنوعی که در ترکیبات گیاهان مختلف وجود دارد، معمولاً از چند روش برای بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌شود تا معایب روش‌های مختلف پوشانده شود. روش FRAP که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را بر اساس توانایی احیاءکنندگی آهن می‌سنجد در حقیقت تخمین خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات قابل حل درآب را نشان می‌دهد (Deepa *et al.*, 2007). در این تحقیق عصاره اتانولی بیلهر نسبت به عصاره آبی آن قدرت احیاءکنندگی بیشتری دارد. با توجه جدول ۲ این اطلاعات بدست می‌آید که مریم گلی در مقایسه با عصاره اتانولی و آبی بیلهر قدرت احیاءکنندگی بالایی دارد در حالی که گیاه *جاتروفا* نسبت به عصاره‌های مورد مطالعه از قدرت احیاء-کنندگی ضعیفی‌تری برخوردار است.

با مقایسه نتایج دو روش DPPH IC_{50} و FRAP در جدول ۲ ارتباط نسبتاً مناسبی بین آن‌ها مشاهده می‌گردد و گیاهانی که دارای فعالیت FRAP بالا هستند IC_{50} آن‌ها نیز کم می‌باشند و یا 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 می‌توان این‌گونه بیان کرد که عصاره‌های گیاهی حاوی مقادیر بالایی از ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی، از فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری برخوردار هستند. در نتیجه ظرفیت دهندگی الکترون (نیروی احیاءکنندگی) مرتبط با فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات زیست فعال است (Sun *et al.*, 2007; Sahreen *et al.*, 2010). پس توضیحات فوق دلیل بالا و یا پایین بودن قدرت احیاءکنندگی عصاره‌های بیلهر را نسبت به دو گیاه مریم گلی و *جاتروفا* توجیه می‌کند.

بنابراین با توجه به ارتباط مثبت بین سنجش FRAP و محتوای فنولیک و فلاونوئیدی، احتمالاً سطح بالای این ترکیبات در عصاره اتانولی گیاه بیلهر می‌تواند علت اصلی برای قدرت احیاءکنندگی بالای این عصاره نسبت به عصاره آبی باشد. نتایج این پژوهش با گزارش‌های Kim و همکاران، (۲۰۰۴) که اعلام کردند بین محتوی فنولیک و قدرت احیاءکنندگی رابطه مستقیم وجود دارد، مطابقت دارد.

– بررسی کاربرد عصاره اتانولی بیلهر به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در روغن سویا

با توجه به نمودار ۱ می‌توان استنباط کرد که با افزایش زمان نگهداری نمونه‌های روغن در شرایط اکسیداسیون، میزان عدد پراکسید افزایش یافته بود و نمونه شاهد که حاوی هیچ آنتی‌اکسیدانی نبوده در مقایسه با بقیه تیمارها

Archive of SID

www.SID.ir

بیشترین مقدار عدد پراکسید را در همه روزها داشت. این افزایش در میزان عدد پراکسید را می‌توان به تشکیل هیدروپراکسیدها یعنی محصولات اولیه اکسیداسیون نسبت داد (Laguerre *et al.*, 2007). در همه روزهای مورد مطالعه، با افزایش غلظت عصاره (آنتی‌اکسیدان طبیعی) میزان عدد پراکسید کمتر-افزایش یافته بود به بیان دیگر به تأخیراندازی اکسیداسیون و اثر آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. علت این مسئله را می‌توان بدین صورت توجیه و تفسیر کرد که توانایی آنتی‌اکسیدان‌ها در مهار اکسیداسیون وابسته به غلظت است. در کل افزایش غلظت ترکیب‌های فنولی به طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد. در غلظت‌های بالاتر ترکیب‌های فنولی به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و بدنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. قدرت مهارکنندگی عصاره‌های مختلف به میزان زیادی به تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیب‌های فنولی بستگی دارد. در ترکیب‌های فنولی با وزن مولکولی پایین‌تر گروه‌های هیدروکسیل راحت‌تر در دسترس قرار می‌گیرند (Sanchez-Moreno. *et al.*, 1999) در روزهای آغازین همه تیمارهای حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی و طبیعی توانسته بودند توان آنتی‌اکسیدانی خود را حفظ کنند و اثر آنتی‌اکسیدانی بهتری از نمونه شاهد داشته باشند بنابراین تفاوت بین تیمارها در روزهای آغازین آشکار نبود ولی با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون و حرارت‌دهی، تفاوت بین تیمارها بیشتر مشهود شد، زیرا آنتی‌اکسیدان‌ها طی مدت زمان خاصی فعال باقی مانده و با گذشت زمان به تدریج از درجه تأثیر آن‌ها کاسته می‌شود تا زمانی که کاملاً بی‌اثر شوند.

آنچه که از بررسی نمودار ۲ می‌توان استنباط کرد این است که تشکیل مالون دی آلدهید در همه نمونه‌ها با گذشت زمان افزایش داشته است. چون که مالون آلدهید از تجزیه هیدروپراکسیدها حاصل می‌گردد، بنابراین در روزهای ابتدایی مقدار تیوباربیتوریک اسید پایین است. اما بعد از گذشت زمان که مقدار محصولات اولیه اکسیداسیون افزایش و شروع به تجزیه شدن کردند مقدار این اندیس افزایش می‌یابد. در این روش نیز مشابه عدد پراکسید، شدت بروز خاصیت آنتی‌اکسیدانی به غلظت عصاره وابسته بود، به طوری که این فعالیت با افزایش غلظت عصاره به طور معنی‌داری افزایش و میزان اندیس تیوباربیتوریک اسید کاهش یافت.

Pan و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی توان آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی *کورتکس فراکسینی* در روغن بادام زمینی، غلظت‌های مختلف عصاره (۲۰۰،۱۰۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ppm) را با آنتی‌اکسیدانی سنتزی BHT در مدت ۲۴ ساعت در شرایط اکسیداسیون روغن (آون دمای ۶۰°C) مقایسه کردند و نتیجه گرفتند که با افزایش غلظت، میزان اکسیداسیون کاهش یافت و عصاره اتانولی در همه غلظت‌ها اثر آنتی‌اکسیدانی بهتری از BHT نشان داد.

در مطالعه‌ای که بر روی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره سیر در پایداری روغن آفتابگردان در دمای تسریع شده (۶۵°C)، در طول ۲۴ روز انجام دادند به فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی عصاره در غلظت ۱۰۰۰ppm در مقایسه با BHA وBHT در غلظت ۲۰۰ppm پی‌بردند (Iqbal & Bhanger, 2007).

Abdalla & Roozen در سال ۱۹۹۹، اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره مریم گلی را در روغن آفتابگردان بررسی کردند و گزارش کردند که عصاره مریم گلی در غلظت ۱۲۰۰ppm بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد و فعالیت آن قابل مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۳۰۰ppm بود.

شهسواری و همکاران (۱۳۸۷) فعالیت ضد اکسایشی اسانس آویشن شیرازی را در روغن سویای خام، در شرایط دمایی تسریع شده (۶۰°C) ، به مدت ۳۲ روز، با کنترل دو عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید بررسی کردند. نتایج نشان داد که این اسانس در سطح غلظتی ۱۰۰۰ppm، دارای اثر ضداکسایشی معادل با ضداکساینده شیمیایی BHA در غلظت۲۰۰ ppm است و توانایی کاهش سرعت اکسیداسیون در روغن را دارد.

Sikwese & Duodu در سال ۲۰۰۷ قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره فنولیک سورگوم را با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در روغن آفتابگردان مقایسه کردند و گزارش کردند که قدرت TBHQ در مهار محصولات اولیه اکسیداسیون در روغن نسبت به‌عصاره سورگوم بالاتر است.

با بررسی کلی نتایج می‌توان گفت که عصاره اتانولی

Archive of SID
www.SID.ir

بیلهر در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ppm به خوبی توانسته بود عملکردی شبیه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در غلظت ppm ۲۰۰ داشته باشد و در روزهای پایانی اثر آنتی‌اکسیدانی بهتری از خود نشان دهد. در حالی که نسبت به TBHQ در غلظت ۲۰۰ppm اثرات آنتی‌اکسیدانی کمتری داشت. نتایج این تحقیق نیز از نظر روند تغییرات اعداد پراکسید و اسید تیوباربیتوریک در طی دوره نگهداری در شرایط اکسیداسیون و تأثیر غلظت‌های افزوده شده به روغن در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی، مشابه نتایج پژوهش‌های است که بر روی عصاره اتانولی *کورتکس فراکسینی* (Pan *et al.*, 2007)، سیر (Iqbal & Bhanger, 2007)، مریم گلی (Abdalla & Roozen, 1999) آویشن شیرازی (شهسواری و همکاران، ۱۳۸۷) و سورگوم (Sikwese & Duodu, 2007) صورت گرفته بود.

نتیجه‌گیری

همان طور که پیش‌تر مطرح شده هدف از این پژوهش بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه بیلهر و کاربرد آن در روغن سویا بود. با مرور بر نتایج بدست آمده طی این تحقیق مشخص شد که ویژگی‌های حلال مورد استفاده جهت استخراج ترکیبات فنولیک به میزان زیادی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را تحت تأثیر قرار داد به‌طوری که از بین حلال اتانول و آب، اتانول به عنوان بهترین حلال از لحاظ استخراج بیشترین ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی شناخته شد. و در هر دو آزمون آنتی‌اکسیدانی (FRAP, DPPH) عصاره اتانولی دارای بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود. پس فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره، رابطه مستقیم با مقدار ترکیبات فنولی کل دارد. همچنین مشخص شد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بیلهر در روغن سویا، وابسته به غلظت بوده و در محدوده تحت بررسی، با افزایش غلظت افزایش می‌یابد. به طور کلی عصاره اتانولی بیلهر فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی را در غلظت‌های ۱۰۰۰ppm و ۲۰۰۰ppm در روغن سویا نشان می‌دهد. پس عصاره بیلهر می‌تواند در غلظت‌های مناسب، به عنوان جایگزین طبیعی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در روغن سویا به کار برده شود.

در نهایت می‌توان بیان کرد که عصاره اتانولی بیلهر دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. این خاصیت به دلیل وجود ترکیبات فنولی و سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در آن است. بنابراین، می‌تواند به عنوان منبعی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد پژوهش بیش‌تر قرار گیرد.

منابع

سلمانیان، ش.، صادقی ماهونک، ع.، اعلمی، م. و قربانی، م. (۱۳۹۲). فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه ولیک در پایدارسازی روغن سویا. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۲۳، شماره ۲، صفحات ۲۰۹-۲۰۰.

شریفی، ا.، نغماچی، م. و بهرامی، س. (۱۳۸۸). مطالعه خواص ضدمیکروبی عصاره هیدروالکلی گیاه بیلهر. مجله ارمغان دانش، دوره ۱۵، شماره ۴، صفحات ۳۸۴-۳۷۸.

شفیع‌زاده، ف. (۱۳۸۱). گیاهان دارویی لرستان، جلد اول، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی لرستان، ۲۵۴ صفحه.

شهسواری، ن.، برزگر، م.، سحری، م. ع. و نقدی بادی، ح. (۱۳۸۷). بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) در روغن سویا. مجله گیاهان دارویی، سال هفتم، شماره ۲۸، صفحات ۶۸-۵۶.

صادقی، ه.، قیطاسی، ا.، خادم‌زاده، ر.، مهربان، ز. و افشون، ا. (۱۳۸۶). بررسی اثر گیاه بیلهر بر روی فاکتورهای بیوشیمیایی مهم در موش. سومین کنگره بین‌المللی دارو و طب سنتی، کوالالامپور، مالزی، ۲۸-۲۶ تیرماه، صفحات ۲۱-۱۵.

صادقی، ه.، قیطاسی، ا.، مزروقی، ن. و سبز علی، س. (۱۳۸۶). بررسی اثرات محافظت کبدی گیاه بیلهر بر سمیت القا شده توسط تتراکلرید کربن در موش صحرایی. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، دوره ۹، شماره۱، صفحات ۴۳-۳۸.

طاهریان، ع.، وفایی، ع.، رشیدی‌پور، ع.، امامی ابرقویی، م.، میلادی گرجی، ح.، جراحی، م. و صادقی، ح. (۱۳۸۳). بررسی اثر عصاره آبی گیاه گشنیز بر تعدیل درد حاد در مدل Tail flick و Hot plate در موش سوری. فصلنامه گیاهان دارویی، سال چهارم، شماره سیزدهم، صفحات ۳۵-۳۰.

قهرمان، ا. (۱۳۷۲). کروموفیت‌های ایران. جلد دوم، انتشارات مرکزی دانشگاه تهران، صفحات ۷۶۸-۶۶۸.

محققی ثمرین، آ.، پورآذرنگ، ه.، الهامی‌راد، ا. ح.،

Archive of SID

www.SID.ir

دزاشیبی، ز. و همت‌یار، ن. (۱۳۹۰). استخراج ترکیبات فنولیک پوست سیب زمینی راموس با دو روش اولتراسوند و پرکولاسیون و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آن در روغن سویا. مجله علوم و صنایع غذایی، دوره ۸، شماره ۱، صفحات ۹۱-۸۱.

Abdalla, A. E. & Roozen, J. P. (1999). Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. Food Chemistry, 64(3): 323-329.

Antolovich, M., Prenzler, P., Robards, K. & Ryan, D. (2000). Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruit. Analyst, 125(5): 989–1009.

Arabshahi-Delouee, S. & Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry, 102(4): 1233-1240.

Benzie, I. F. & 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.

Chan, K. M., Decker, E. A. & Means, W. J. (1993). Extraction and activity of carnosin. a naturally occurring antioxidant in beef muscle. Journal of Food Science, 58(1): 1-4.

Chang, C., Yang, M., Wen, H. & Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10(3): 178-182.

Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R. & Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz and Pavon*) tubers. Separation and Purification Technology, 55(2): 217-225.

Deepa, N., Kaura, C. h., Georgea, B., Singhb, B. & Kapoor, H. C. (2007). Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genotyps during maturity. LWT- Food Science and Technology, 40(1): 121-129.

Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S. & 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, 22(3): 296-302.

Fang, Z., Zhang, Y., Lu, Y., Ma, G., Chen, J., Lin, D. & Ye, X. (2009). Phenolic cpmpounds and antioxidant capacities of bayberry juice. Journal of Food Chemistry, 113(4): 884-888.

Farhat, M. B., Landoulsi, A., Chaouch-Hamada, R., Sotomayor, J. A. & Jordan, M. J. (2013). Industrial Crops and Products, 49: 904-914.

Fireston, D. (1994). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, 4 th edn, AOCS Press, Champaing, IL.

Hadj Ali, I.B.E., Bahri, R., Chaouachi, M., Boussaïd, M. & 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.

Hinneburg, I., Damien Dorman, H. J. & Hiltunen, R. (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. Food Chemistry, 97(1): 122-129.

Iqbal, S. & Bhanger, M. I. (2007). Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. Food Chemistry, 100(1): 246-254.

Kahl, R. & Kappus, H. (1993). Toxicity of synthetic antioxidants BHT and BHA in comparison with natural antioxidants vitamin E. Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung, 196(4): 329-338.

Kim, D. O., Padilla-Zakour, O. I. & Griffiths, P. D. (2004). Flavonoids and antioxidant capacity of various cabbage genotypes at juvenile stage. Journal of Food Science, 69(9): 685-689.

Laguerre, M., Lecomte, J. & 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.

McDonald, S., Prenzler, P. D., Autolovich, M. & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry, 73(1): 73-84.

Mirzaee, A., Mirzaei, N. & Ghavamizadeh, M. (2013). Antioxidant activity and cytotoxicity of *Dorema aucheri* by *Artemia urmiana*: a brine shrimp lethality test. Life Science Journal, 10(12): 8-12.

Namiki, M.(1990). Antioxidants/ antimutagens in food. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 29(4): 273-300.

Nithiyanantham, S., Siddhuraju, P. & Francis, G. (2013). A promising approach

Archive of SID

www.SID.ir

toenhance the total phenolic content and antioxidant activity of raw and processed *Jatropha curcas* L. kernel meal extracts. Industrial Crops and Products, 43: 261-269.

Pan, Y., Zhu, J., Wang, H., Zhang, X., Zhang, Y., He, C., Ji, X. & Li, H. (2007). Antioxidant activity of ethanolic extract of *Cortex fraxini* and use in peanut oil. Food Chemistry, 103(3): 913-918.

Pescheln, W., Rabaneda, F., Diekmann, W., Plescher, A., Gartza, I., Jimenez, D., Raventos, L., Buxaderas, S. & Codina, C. (2006). An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. Food Chemistry, 97(1): 137-150.

Rehman, Z., Habib, F. & Shah, W. H. (2004). Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. Food Chemistry, 85(2): 215-220.

Sahreen, S., Rashid Khan, M. & Ali Khan, R. (2010). Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. Food Chemistry, 122(4): 1205-1211.

Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A. & Saura-Calixto, F. (1999). Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. Food Research International, 32(6): 407-412.

Sen, S., De, B., Devanna, N. & 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.

Serrano, J., Goni, I. & Saura-Calixto, F. (2007). Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. Food Research International, 40(1): 15–21.

Shah, A.H., Qureshi, S. & Ageel, A.M. (1991). Toxicity studies in mice of ethanol extracts of Foeniculum vulgare fruit and Ruta chalepensis aerial parts. Journal of Ethnopharmacology, 34(2-3): 167-172.

Shukla, S. H., Mehta, A., Bajpai, V. K. & Shukla, S. (2009). In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of *Stevia rebaudiana* bert. Food and Chemical Toxicology, 47(9): 2338-2343.

Sidwell, C. G., Salwin, H., Benca, M. & Mitchell, J. H. (1954). The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. Journal of American Oil Chemists Society. 31(12): 603–606.

Sikwese, F. E. & Duodu, K. G. (2007). Antioxidant effect of a crude phenolic extract from sorghum bran in sunflower oil in the presence of ferric ions. Food Chemistry, 104(1): 324–331.

Sun, T., Powers, J. R. & Tang, J. (2007). Evaluation of the antioxidant activity of asparagus, broccoli and their juices. Food Chemistry, 105(1): 101-106.

Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L. & Zhang, Y. (2011). Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. Food and Chemical Toxicology, 49(10): 2689-2696.

Trabelsi, N., Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Oueslati, S., Soumaya, B., Hajlaoui, H. & Abdelly, C. (2010). Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. LWT-Food Science and Technology, 43(4): 632-639.

Unver, A., Arslan, D., Ozcan, M. M. & Akbulut, M. (2009). Phenolic content and antioxidant activity of some spices. World Applied Sciences Journal, 6(3): 373-377.

Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L. & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(10): 4113-4117.

Von Gadow, A., Joubert, E. & Hansmann, C. F. (1997). Comparison of antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Rooibosed tea (*Aspalathon linearis*), α-tocopherol, BHT, and BHA. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45(3): 632-638.

Wollenweber, E., Dorr, M. & Rustiyan, A. (1995). Dorema aucheri the first umblliffer plant found to produce exudate flavonoids. Phytochemistry, 38(6): 1417-1418.

Yin, M. C. & Cheng, W. S. (1997). Oxymyoglobin and lipid oxidation in phosphatidylcholine liposomes retarded by α-tocopherol and β-caroten. Journal of Food Science, 62(6): 1095-1097.

Young Kil, H., Seong, E. S., Ghimire, B. K., Chung III, M., Kwon, S. S., Goh, E. J., Heo, K., Kim, M. J., Lim, J. D., Lee, D. & Yeon, Ch. Y. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of crude sorghum extract. Food Chemistry, 115(4): 1234-1239.

Archive of SID

www.SID.ir