استخراج ترکیبات فنولی و توکوفرولی گیاه متکا و بررسی تأثیر عصاره آن در پایداری روغن آفتابگردان بعنوان جایگزین آنتی اکسیدان سنتزی

بهناز مهدی‌نیا لیچایی [a]، رضا اسماعیل‌زاده کناری [b]*، غلامرضا دین‌پناه [c]

[a] *دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران*
[b] *دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران*
[c] *استادیار گروه ترویج و آموزش کشاورزی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران*

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۸/۰۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۱۱/۱۱

چکیده

مقدمه: افزودن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی یکی از راه‌های محافظت روغن در برابر اکسیداسیون می‌باشد. هدف از این پژوهش، استخراج عصاره گیاه متکا با روش سیال فوق بحرانی و اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و توکوفرولی عصاره گیاه متکا، و همچنین بررسی تأثیر آن بر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان طی شرایط نگهداری در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی یا مصنوعی TBHQ است.

مواد و روش‌ها: ابتدا عصاره اتانولی استخراج شده با استفاده از سیال فوق بحرانی در غلظت‌های مختلف (۱۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰و ۲۵۰۰ پی پی ام) تهیه گردید. سپس میزان کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره با روش فولین سیوکالتو و ترکیبات توکوفرولی با روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شدند. در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، غلظت ppm ۲۵۰۰ عصاره گیاه متکا مناسب ترین غلظت با بالاترین اثر آنتی اکسیدانی نسبت به سایر غلظت‌ها بود. لذا غلظت ppm ۲۵۰۰ عصاره متکا به منظور ارزیابی پایداری اکسایشی به روغن آفتابگردان اضافه شد. این روغن در دمای محیط طی ۶۰ روز نگهداری شد و عدد پراکسید، عدد کربونیل، شاخص پایداری اکسایشی، مقدار کل ترکیبات قطبی و عدد اسیدی هر ۱۵ روز اندازه گیری شده و با ppm ۱۰۰ آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ مقایسه گردید.

یافته‌ها: مقدار ترکیبات فنولی و توکوفرولی در عصاره اتانولی به ترتیب برابر با ۱۴۹۵/۸۱ برحسب میلی‌گرم گالیک اسید موجود بر ۱۰۰ گرم عصاره و ۵۸/۶ میلی‌گرم آلفا توکوفرول بر ۱۰۰ گرم عصاره بود.

نتیجه‌گیری: عصاره متکا در غلظت ppm ۲۵۰۰ به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و توکوفرولی، در روغن آفتابگردان اثر آنتی اکسیدانی داشته و توانایی رقابت با TBHQ را دارا می‌باشد که منجر به افزایش پایداری اکسیداتیو روغن گردیده است. لذا عصاره متکا می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ باشد. عصاره متکا کاملاً طبیعی بوده و مشکلاتی از قبیل سرطان‌زایی آنتی‌اکسیدان های سنتزی را ندارد.

واژه‌های کلیدی: *آنتی اکسیدان سنتزی، روغن آفتابگردان، سیال فوق بحرانی، گیاه متکا*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: Reza_kenari@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

روغن و چربی از اجزاء اصلی غذا هستند که یک گرم آن حدود ۹/۲ کیلوکالری انرژی در بدن ایجاد کرده و در غذا طعم و مزه مطلوبی ایجاد می‌کند. اخیراً با رشد دانش عمومی، تقاضای مردم برای مصرف روغن‌هایی که علاوه بر تأمین انرژی و ایجاد طعم، در سلامتی هم مفید باشد، افزایش یافته است (گلی و همکاران، ۱۳۸۶). روغن‌های خوراکی حاوی مقادیر بالایی از اسید های چرب غیراشباع (به ویژه اسیدهای چرب چند غیراشباعی) می‌باشند که بسیار مستعد اکسیداسیون هستند. اکسیداسیون لیپیدها طی دوره نگهداری و یا فراوری مواد غذایی، نه تنها منجر به ایجاد مزه تند، بوی نامطبوع و تغییرات رنگی نامطلوب در آن‌ها می‌گردد بلکه ارزش تغذیه‌ای و ایمنی آن‌ها را نیز کاهش می‌دهد علاوه بر این، ترکیبات حاصل از اکسیداسیون لیپیدها سمی بوده و موجب به خطر افتادن سلامتی و بروز بیماری‌هایی نظیر سرطان می‌گردند (Zhang *et al.*, 2010).

یکی از راه‌های جلوگیری از اکسیداسیون روغن‌ها و مواد غذایی، افزودن آنتی اکسیدان ها[1] است (اسماعیل زاده کناری، ۱۳۹۰). آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در مرحله آغازین و یا رادیکال پراکسی ایجاد شده در مرحله انتشار، هیدروژن داده و آن را از فرم رادیکالی خارج می‌کنند و به این ترتیب طول دوره اکسیداسیون کند را افزایش می‌دهند (Brewer, 2011). افزودن آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند بوتیلات هیدروکسی آنیزول (BHA)[2]، بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT)[3]، ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ)[4] می‌تواند اکسیداسیون چربی را در مواد غذایی کنترل کند و در حال حاضر به‌صورت گسترده در صنایع روغن استفاده می‌شوند (Khalil & Mansour, 1998). علیرغم اینکه آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی طی فرایندهای حرارتی و نگهداری روغن مؤثر عمل می‌کنند اما استفاده نمودن از این آنتی‌اکسیدان‌ها از جنبه سمیت و ایمنی مواد غذایی بحث برانگیز است، بنابراین پژوهش بر روی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Lee & Shibamoto, 2002; Iqbal & Bhanger, 2007).

گیاهان دارای ترکیبات با ارزشی هستند که علاوه بر مصارف غذایی برای تامین انرژی، برای مصارف دیگر از استخراج رنگ، تولید مواد آرایشی و دارویی و درمانی نیز استفاده می‌گردند. برخی از آن‌ها دارای میزان قابل توجهی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند که در این میان ترکیبات فنولی عمده‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که تا کنون شناسایی شده اند (Brewer, 2011). گیاه متکا با نام علمی فرولا پرسیکا (*Ferula persica*) در منطقه شهمیرزاد شهرستان سمنان به‌صورت گسترده رویش دارد و بنام محلی متکا معروف است (جدیدی و همکاران، ۱۳۸۹). جنس *Ferula* (آنغوزه) از خانواده چتریان نمایانگر بیش از ۱۵۰ گونه بوده و بومی آسیای مرکزی است که ۵۳ گونه به‌صورت خودرو در ایران می‌روید و به‌عنوان غذا و نیز در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Javidnia *et al.*, 2005; Iranshahi *et al.*, 2008). از گونه‌های بومی ایران می‌توان به آنغوزه (*Ferula asafetida*)، باریجه (قاسنی) (*Ferula gummosa Bioss*) و فرولا پرسیکا[5] اشاره کرد (Zargari, 1988; Akhondzadeh, 2000). اکثر گونه‌های فرولا دارای فعالیت ضد اکسایشی و فعالیت ضد میکروبی بوده (Barthomeufa *et al.*, 2008) و همچنین دارای ترکیباتی از قبیل آلکالوییدها، کارتنوئیدها و فلاونوئیدها (Iranshahi *et al.*, 2003) می‌باشند.

Dehpour و همکاران (۲۰۰۹) به بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی عصاره گیاه آنغوزه (*Ferula asafetida*) پرداختند. آن‌ها اعلام نمودند خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره با سیستم های مختلف مورد بررسی قرار گرفت و خواص خنثی کنندگی نیتریک اکسید و چلاته کنندگی خوب Fe^{2+} را نشان دادند. میزان ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی این عصاره به ترتیب معادل ۹۴/۸ میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم و معادل ۹۰/۹ میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره گزارش شد. این مطالعه با هدف استخراج عصاره گیاه متکا با روش سیال فوق بحرانی و اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و توکوفرولی عصاره گیاه متکا، و همچنین بررسی تأثیر آن بر پایداری اکسایشی

[1] Antioxidants [2] Butylated Hydroxyl Anisole [3] *Ferula Persica* [4] Butylated Hydroxyl Toluene
[5] Tert-butyl Hydro Quinone

Archive of SID

www.SID.ir

روغن آفتابگردان طی شرایط نگهداری در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ است.

مواد و روش‌ها

- مواد

روغن آفتابگردان بدون آنتی اکسیدان از مجتمع کشت و صنعت شمال تهیه گردید و تا زمان انجام آزمایش در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده است. گیاه متکا در شهرستان ساری خریداری شده است. این گیاه را پس از تمیز نمودن، به دور از نور آفتاب خشک شده و سپس به وسیله آسیاب (Molinex-684-French) کاملا به صورت پودر در آمدند. تمامی مواد شیمیایی و آنتی-اکسیدان سنتزی ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ) از شرکت‌های مرک و سیگما آلدریچ خریداری شدند.

- آماده سازی عصاره

۲۰ گرم پودر متکا با ۱۰۰ میلی لیتر حلال اتانول ترکیب شد، سپس عصاره‌گیری توسط CO_2 فوق بحرانی (Suprex MPS/225 Multipurpose system) در دمای ۳۵ درجه و فشار ۱۰۰ بار به مدت ۳۰ دقیقه صورت گرفت. پس از پایان عمل استخراج محلول توسط دستگاه سانتریفیوژ مدل (HERMLE z200A – Germany) به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰ rpm و در هر مرحله فاز رویی جمع‌آوری شد تا دیگر رسوبی در ته لوله دیده نشود سپس فاز رویی جمع آوری شده با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد. در ادامه توسط اواپراتور تحت خلاء (TAM 2times – Iran) در دمای ۵۰ درجه حلال تبخیر شده و عصاره به دست آمده را به منظور جلوگیری از نور، با فویل آلومینیوم پوشانده و تا زمان انجام آزمایش درفریزر دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگهداری شد (Delfanian *et al.*, 2014).

- اندازه‌گیری ترکیبات فنولی

مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره از طریق روش طیف سنجی با معرف فولین - سیوکالتو[1] مورد بررسی قرار گرفت (Esmaeilzadeh kenari *et al.*, 2014). در این روش معرف فولین در حضور ترکیبات فنولی در محلول قلیایی، احیا و رنگ آبی در محلول تولید می‌شود (Pourmorad *et al.*, 2006). ۵۰ میکرولیتر از نمونه با ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین - سیو کالتو که به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر رقیق شده مخلوط گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات (۷/۵ درصد وزنی حجمی) به آن اضافه شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شد تا فاز آبی گسترش یابد و سپس جذب آن در ۷۶۵ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتری UV -Vis خوانده شد و نتایج بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره بیان شد. در این روش معرف فولین- سیو کالتو در حضور ترکیبات فنولی در محلول قلیایی، احیا و رنگ آبی در محلول تولید می‌شود (Capannesi *et al.*, 2000).

- اندازه‌گیری ترکیبات توکوفرولی

میزان کل ترکیبات توکوفرولی عصاره بر مبنای α - توکوفرول اندازه‌گیری شد در این آزمون، ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره بدقت داخل بالن ژوژه ۱۰ میلی لیتری وزن شد. ۵ میلی لیتر تولوئن به نمونه اضافه و به خوبی مخلوط شد. سپس۳/۵ میلی‌لیتر محلول ۲،۲'- بی پیریدین [2] (۰/۰۷ درصد وزنی حجمی در اتانول آبی ۹۵ درصد) و ۰/۵ میلی لیتر کلرید آهن III شش آبه (۰/۲ درصد وزنی حجمی در اتانول آبی ۹۵ درصد) اضافه و مخلوط گردید. سرانجام حجم محلول با اتانول آبی ۹۵ درصد به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت یک دقیقه در حال سکون قرار گرفت و جذب آن در ۵۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتری UV-Vis خوانده شد. مقدار ترکیبات توکوفرولی براساس میلی‌گرم در کیلوگرم نمونه روغن بر طبق رابطه ۱ محاسبه گردید:

$$T = \frac{A-B}{M \times W} \qquad (۱)$$

که A و B به ترتیب جذب نمونه و شاهد در سل ۱۰ میلی‌متری هستند. M شیب منحنی استاندارد جذب در برابر غلظت آلفا – توکوفرول و W وزن نمونه به گرم می‌باشد (Wong & timms, 1998).

[1] Folin-Ciocalteu

[2] 2,2́ Bipyridine

Archive of SID

www.SID.ir

- بررسی پایداری روغن آفتابگردان در شرایط نگهداری

عصاره استخراجی گیاه متکا در غلظت ppm ۲۵۰۰ به روغن فاقد آنتی اکسیدان افزوده شد و به مدت ۶۰ روز در دمای محیط دور از نور نگهداری گردید. هر ۱۵ روز (زمان‌های ۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز) از روغن فوق نمونه برداری شد. نمونه‌ها در فریزر و در دمای ۱۸ – درجه سانتی گراد تا شروع آزمایشات نگهداری شد. برای نمونه شاهد و نمونه حاوی آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ همین مراحل طی شد، به استثنای اینکه در نمونه شاهد هیچ عصاره ای استفاده نشد، در حالیکه که برای نمونه دیگر ppm ۱۰۰ ضد اکسایش سنتزی TBHQ استفاده شد (Zia-ur *et al.*, 2004). ارزیابی پایداری طی دوره نگهداری روغن شامل آزمون‌های عدد پر اکسید، عدد کربونیل، پایداری اکسایشی، ترکیبات قطبی و عدد اسیدی بود که به ترتیب از روش‌های موجود در منابع زیر (Farhoosh, 2007; Endo *et al.*, 2001; AOCS, 1990 AOCS, 1993; Schulte, 2004) مورد ارزیابی قرار گرفت. در کلیه آزمایشات نمونه‌ها با نمونه روغن آفتابگردان حاوی ppm ۱۰۰ آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ و روغن آفتابگردان بدون آنتی اکسیدان (نمونه شاهد) مورد مقایسه قرار گرفت.

- تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق از طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار با نرم‌افزار MSTAT-C استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون‌های دانکن و T-Test در سطح معنی‌داری ۵ درصد صورت گرفت. همچنین برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsaft excel استفاده گردید.

یافته‌ها

- ترکیبات فنولی و توکوفرولی

نتایج حاصل از بررسی ترکیبات فنولی و توکوفرولی عصاره نشان داد میزان ترکیبات فنولی ۱۴۹۵/۸۱ میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم عصاره و توکوفرولی ۵۸/۶ میلی‌گرم آلفا – توکوفرول در ۱۰۰ گرم عصاره گیاه متکا بوده است.

- تغییرات عدد پراکسید نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

در جدول ۱ مقادیر عدد پراکسید نمونه‌های روغن در دوره نگهداری نشان داده شده است. روند تغییرات ترکیبات پراکسید در هر سه نمونه مورد بررسی افزایشی است. در نمونه‌های شاهد و نمونه‌های حاوی TBHQ مقادیر عدد پراکسید با یکدیگر اختلاف معنی‌دار آماری داشتند ولی در نمونه‌های حاوی عصاره تا روز ۱۵ نگهداری از نظر میزان عدد پراکسید اختلاف معنی‌دار آماری دیده نشد هرچند که دارای روند آن افزایشی بود. نمونه شاهد بیشترین میزان عدد پراکسید و نمونه حاوی عصاره کمترین میزان عدد پراکسید را داشت. نمونه حاوی عصاره در روز ۴۵ و ۶۰ نگهداری به مقدار معنی‌داری عدد پراکسید کمتری نسبت به نمونه حاوی TBHQ نشان داد اما در سایر زمان‌ها بین آن‌ها اختلافی دیده نشد.

- تغییرات عدد کربونیل نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

شکل ۱ نتایج تغییرات عدد کربونیل نمونه‌های مختلف طی دوره نگهداری را نشان می‌دهد. با گذشت زمان نگهداری عدد کربونیل در تمام نمونه‌ها افزایش یافت و با زمان‌های قبل از خود اختلاف معنی‌دار آماری ($P<۰/۰۵$) داشت. نمونه‌های حاوی عصاره کمترین میزان کربونیل را

جدول ۱ – مقایسه متوسط عدد پراکسید روغن در طی نگه داری (میلی اکی والان گرم پراکسید در کیلوگرم روغن)

تیمار	۰	۱۵ روز	۳۰ روز	٤٥ روز	٦٠ روز
نمونه شاهد	۰/۵۴ ± ۰/۰۵^{Aa}	۰/۸۵ ± ۰/۰۶^{Bb}	۱/۴۴ ± ۰/۰۷^{Cb}	۲/۴۸ ± ۰/۰۸^{Dc}	۳/۶۱ ± ۰/۱۴^{Ec}
نمونه حاوی TBHQ	۰/۴۶ ± ۰/۰۵^{Aa}	۰/۶۵ ± ۰/۰۶^{Ba}	۰/۹۱ ± ۰/۰۸^{Ca}	۱/۵۱ ± ۰/۰۴^{Db}	۲/۰۲ ± ۰/۱۰^{Eb}
نمونه حاوی عصاره	۰/۵۳ ± ۰/۰۷^{Aa}	۰/۶۴± ۰/۰۵^{Aa}	۰/۸۴ ± ۰/۰۵^{Ba}	۱/۰۸ ± ۰/۰۶^{Ca}	۱/۲۷ ± ۰/۰۵^{Dc}

حروف بزرگ غیر مشابه در یک ردیف و حروف کوچک در یک ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی دار آماری در سطح ۵ درصد است ($P<۰/۰۵$).

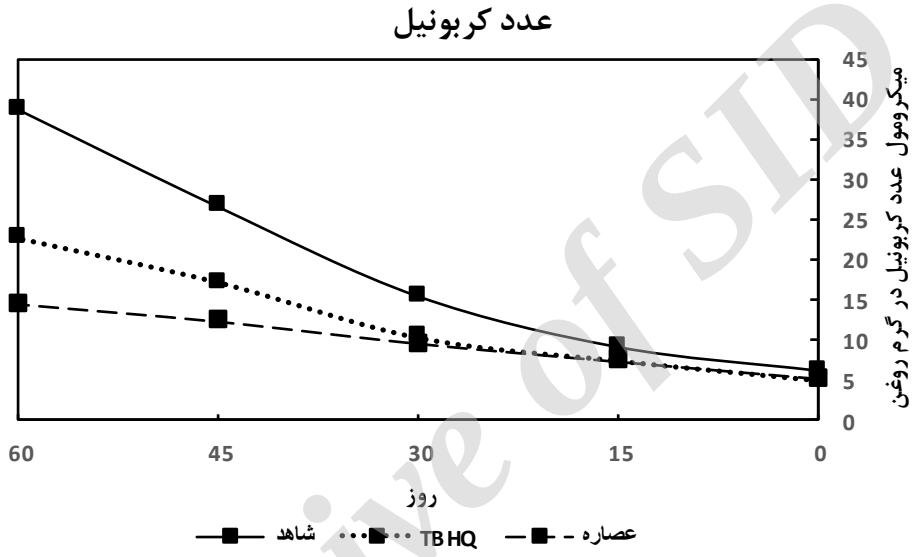
Archive of SID

www.SID.ir

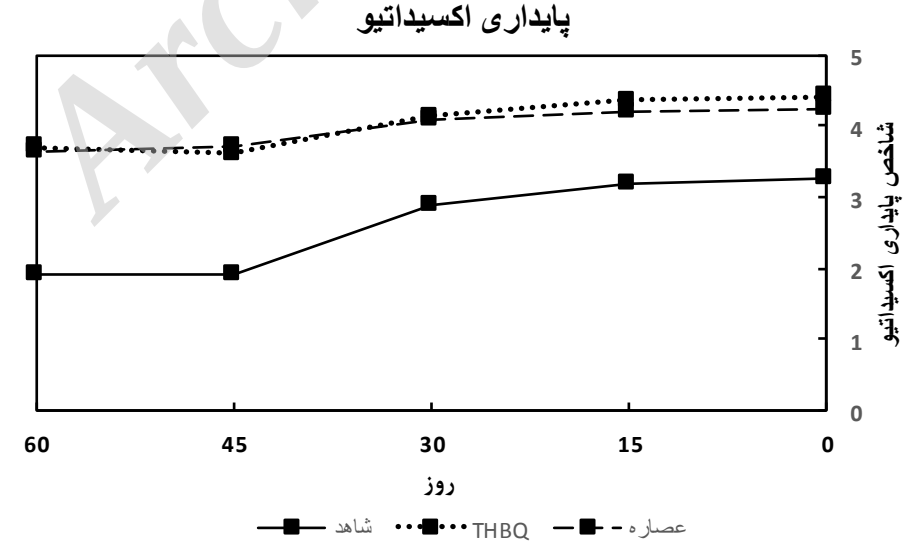
داشتند. تا روز ۳۰ نگهداری نمونه‌های حاوی TBHQ و عصاره با یکدیگر اختلاف معنی‌دار آماری (P<۰/۰۵) نداشتند. در سایر روزهای نگهداری بین نمونه‌ها اختلاف معنی‌دار آماری (P<۰/۰۵) وجود داشت.

- تغییرات پایداری اکسایشی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

شکل ۲ مقادیر پایداری اکسایشی نمونه‌های روغن در دوره نگهداری را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود پایداری اکسایشی تمام نمونه‌ها باگذشت زمان کاهش یافت. در تمام نمونه‌ها پایداری اکسایشی در روزهای ۰ و ۱۵ و همچنین در روزهای ۴۵ و ۶۰ باهم اختلاف معنی‌دار آماری (P<۰/۰۵) نداشتند. نمونه‌های شاهد کمترین پایداری اکسایشی را داشت. تا روز ۳۰ نگهداری هر سه نمونه باهم اختلاف معنی‌دار آماری (P<۰/۰۵) داشتند. در سایر روزها بین نمونه‌های حاوی آنتی اکسیدان سنتزی و عصاره اختلاف معنی‌دار آماری (P<۰/۰۵) دیده نشد.



شکل ۱- تغییر در عدد کربونیل نمونه روغن در طی نگهداری



شکل ۲- تغییر پایداری اکسیداتیو نمونه‌های روغن در طی نگهداری

Archive of SID
www.SID.ir

- تغییرات ترکیبات قطبی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

شکل ۳ میزان ترکیبات قطبی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود در تمام نمونه‌ها ترکیبات قطبی افزایش یافت و اختلاف معنی‌دار آماری ($P<۰/۰۵$) با زمان‌های قبل از خود داشت. نمونه‌های شاهد بیشترین ترکیبات قطبی را داشتند. به جز لحظه شروع نگهداری در سایر زمان‌ها بین هر سه نمونه اختلاف معنی‌دار آماری ($P<۰/۰۵$) دیده شد. در نمونه‌های حاوی عصاره و TBHQ که به مدت طولانی نگهداری شده بودند به‌جز روز صفر در سایر روزها اختلاف معنی‌دار آماری ($P<۰/۰۵$) دیده شد.

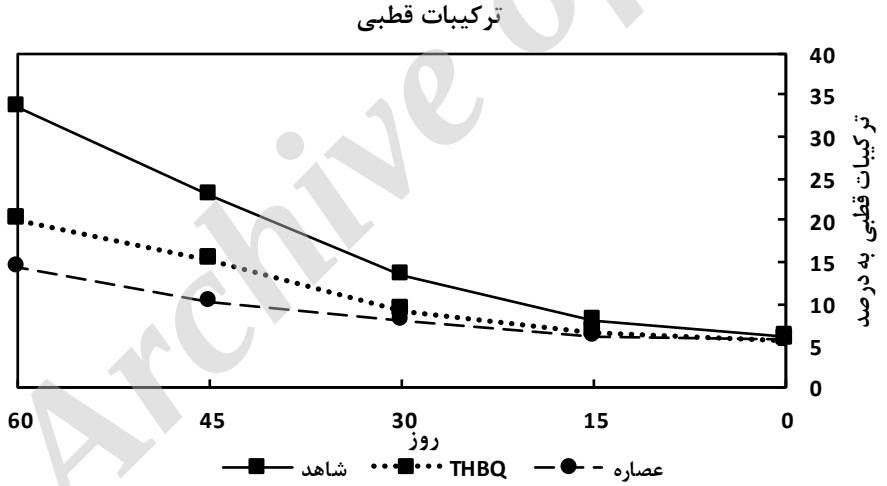
- تغییرات عدد اسیدی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

جدول ۲ مقادیر عدد اسیدی برای نمونه‌های روغن که طی ۶۰ روز نگهداری شده بودند را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود باگذشت زمان نگهداری، عدد اسیدی در تمام نمونه‌ها افزایش یافت و با زمان‌های قبل از خود اختلاف معنی‌دار آماری ($P<۰/۰۵$) داشت. نمونه شاهد بیشترین عدد اسیدی را داشت بعد از آن نمونه TBHQ قرار داشت و نمونه حاوی عصاره که کمترین عدد اسیدی را داشت. این نمونه‌ها از نظر عدد اسیدی با یکدیگر اختلاف معنی‌دار آماری ($P<۰/۰۵$) داشتند. در روز ۱۵ نگهداری بین نمونه‌های حاوی عصاره و TBHQ اختلاف معنی‌دار آماری دیده نشد.

بحث

- ترکیبات فنولی و توکوفرولی

ترکیبات فنولی تقریبا در تمام بخش‌های گیاه وجود دارند و در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک مانند رشد سلولی، جوانه‌زنی دانه و رسیدن میوه نقش دارند.



شکل ۳- تغییر در ترکیبات قطبی در نگهداری روغن

جدول ۲- مقایسه میانگین عدد اسیدی در طی نگهداری (میلی‌گرم KOH به ازای کیلوگرم روغن)

تیمار	۰	۱۵ روز	۳۰ روز	۴۵ روز	۶۰ روز
نمونه شاهد	۰/۱۳ ± ۰/۰۱^{Aa}	۰/۲۱ ±۰/۰۲^{Ba}	۰/۳۵ ± ۰/۰۳^{Ca}	۰/۶۱ ±۰/۰۵^{Dc}	۰/۸۸± ۰/۰۷^{Ec}
نمونه حاوی TBHQ	۰/۱۵± ۰/۰۱^{Ab}	۰/۱۶ ± ۰/۰۲^{Ba}	۰/۲۲ ± ۰/۰۲^{Bb}	۰/۳۷ ± ۰/۰۲^{Cb}	۰/۴۹ ±۰/۰۳^{Db}
نمونه حاوی عصاره	۰/۱۴ ± ۰/۰۱^{Aa}	۰/۱۴ ± ۰/۰۲^{Ba}	۰/۱۹ ± ۰/۰۲^{Ba}	۰/۲۴ ± ۰/۰۳^{Ca}	۰/۲۹ ± ۰/۰۱^{Da}

حروف بزرگ غیر مشابه در یک ردیف و حروف کوچک در یک ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی دار آماری در سطح ۵ درصد است ($P<۰/۰۵$).

Archive of SID

www.SID.ir

توکوفرول‌ها ترکیبات ضد اکسایشی موجود در عصاره‌ها هستند که به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا و خاصیت ویتامینی مورد توجه هستند (Wong & Timms, 1998). بررسی مقدار ترکیبات فنولی و توکوفرولی عصاره‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است، چرا که ویژگی آنتی اکسیدانی عصاره‌های به دست آمده از حلال‌های مختلف، عمدتاً ناشی از قدرت احیا کنندگی ترکیبات فنولی موجود در آن هست. این ترکیبات، عصاره‌ها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش‌کردن مولکول‌های اکسیژن می‌سازد. ترکیبات فنولی همچنین از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند (میراحمدی و همکاران، ۱۳۸۴). روند استخراج ترکیبات فنولی یک فاکتور مهم درتعیین خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره است. دما، حلال، زمان عصاره‌گیری، قدرت استخراج و روش استخراج تأثیر چشم گیری روی ترکیبات عصاره خواهد گذاشت. این تفاوت‌ها وابسته به تمایل این ترکیبات به حلال مورد نظر برای عصاره گیری و مخصوصاً قطبیت آن است (Yung-(shin *et al.*, 2009. طبق نتایج حاصل عصاره‌های استخراج شده با هر دو روش با یکدیگر اختلاف معنی‌دار آماری داشتند و میزان این ترکیبات در روش فوق بحرانی بیشتر بود.

- تغییرات عدد پراکسید نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسیداسیون چربی‌ها هستند و یکی از شاخص‌های تعیین کننده فساد روغن‌ها هست. همچنین شاخصی برای ارزیابی تازگی و کیفیت روغن هست (Farhoosh & Moosavi, 2009). به طور کلی هر قدر که درجه غیراشباعی روغن‌ها و چربی‌ها افزایش یابد حساسیت اکسیداتیو بیشتر می‌شود. گرما، نور، اکسیژن و فلزات از جمله عوامل تشدید کننده اکسیداسیون هستند. تجزیه هیدروپراکسیدها باعث تولید آلدهید و کتون می‌شود. این شاخص در روغن‌های مختلف تحت تأثیر نوع روغن و میزان سیرناشدگی آن، مدت زمان نگهداری روغن و مناسب بودن ظروف بسته‌بندی قرار می‌گیرد (Albu *et al.*, 2004). همانطور که در جدول ۱ نشان داده شد عدد پراکسید نمونه‌های مختلف طی دوره نگهداری روند افزایشی داشته است. نمونه شاهد بیشترین میزان عدد پراکسید را به خود اختصاص داد. روند تغییرات عدد پراکسید در نمونه‌های حاوی آنتی اکسیدان به طور منظم افزایش یافت. این نتایج با نتایج خرمی و همکاران (۱۳۹۲) که اثرات آنتی اکسیدانی عصاره ترب در دو غلظت ppm ۴۰۰ و ppm۸۰۰ را در روغن آفتابگردان که به مدت ۶۰ روز نگهداری شده بود، مورد بررسی قرار دادند مطابقت داشت.

- تغییرات عدد کربونیل نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

کربونیل‌ها یکی از اصلی‌ترین ترکیبات ثانویه حاصل از تجزیه هیدروپراکسیدهای چربی هستند. از آنجایی که عدد پراکسید شاخص مناسبی برای بررسی کیفیت روغن در دماهای بالا نمی‌باشد می‌توان با استفاده از عدد کربونیل روند تغییرات فساد و کیفیت روغن را مورد بررسی قرار داد. چراکه کربونیل‌ها ترکیبات پایدارتری می‌باشند (Farhoosh & Esmaeilzadeh Kenari, 2009). این ترکیبات با ایجاد بوهای نامطبوع و کاهش ارزش تغذیه‌ای روغن‌ها منجر به کاهش عمر ماندگاری روغن‌های خوراکی می‌شوند (Aladedunye & Matthaus, 2014). همانطور که در شکل ۱ نشان داده شد روند تغییرات عدد کربونیل در تمام نمونه‌های مورد بررسی طی دوره نگهداری افزایشی بود و با زمان قبل از خود اختلاف معنی‌دار آماری ($P<۰/۰۵$) داشت. بیشترین مقادیر عدد کربونیل مربوط به نمونه شاهد بود. نمونه‌های حاوی عصاره کمترین میزان عدد کربونیل را داشتند. نتایج حاصل با نتایج توکلی و همکاران (۱۳۹۲) مطابقت دارد. آن‌ها ضمن بررسی تغییرات عدد کربونیل در نمونه‌های روغن آفتابگردان حاوی عصاره متانولی پوست ازگیل اعلام نمودند این عصاره مانع رسیدن عدد کربونیل به حد بحرانی شده است و عملکرد مناسبتری نسبت به TBHQ داشته است.

- تغییرات پایداری اکسایشی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

یکی دیگر از معیارهای شناسایی فساد و اندازه‌گیری کیفیت روغن‌های خوراکی بررسی پایداری اکسایشی می‌باشد. پایداری اکسایشی مدت زمان لازم جهت گسترش تندی قابل اندازه‌گیری در روغن‌ها و چربی‌های خوراکی

Archive of SID
www.SID.ir

تعریف می‌شود (اسماعیل زاده کناری و فرهوش،۱۳۸۷). همانطور که در شکل ۲ نشان داده شد در نمونه ها طی دوره نگهداری شده به مدت طولانی با گذشت زمان پایداری اکسایشی نمونه‌های مختلف کاهش یافت و نمونه شاهد کمترین میزان پایداری اکسایشی را داشت. تیموری و همکاران (۱۳۹۰) عصاره رزماری، برگ زیتون و سیر را به روغن کلزا اضافه نمودند و اثر آنتی‌اکسیدانی این عصاره‌های طبیعی را با اثر آنتی‌اکسیدان TBHQ در کاهش اکسایش روغن مقایسه نمودند. نتایج نشان داد که بعضی از مخلوط-های آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را می‌توان در روغن کلزا به عنوان جانشین آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ به کار برد و علاوه بر حذف آنتی اکسیدان های سنتزی که در بافت‌ها و اندام‌ها تجمع یافته و احتمال دارد باعث ایجاد سرطان و تومور گردند، پایداری حرارتی روغن را افزایش داد.

- تغییرات ترکیبات قطبی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

ترکیبات قطبی یکی دیگر از شاخص‌های سنجش کیفیت روغن‌ها می‌باشند. سمیت ترکیبات قطبی در موش‌های آزمایشگاهی به اثبات رسیده است (Farhoosh & Moosavi, 2006). این ترکیبات از تجزیه تری گلیسیریدهای چربی طی فرآیند سرخ کردن ایجاد می‌شود. روغن‌های غنی از اسیدهای چرب غیراشباع مانند روغن کانولا و یا آفتابگردان نسبت به روغن‌های اشباع مقادیر ترکیبات قطبی بیشتری طی فرآیند حرارت‌دهی آزاد می‌کنند (Farhoosh & Tavassoli-kafrani, 2010). همانطور که در شکل ۳ نشان داده شد میزان ترکیبات قطبی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری در تمام نمونه‌ها افزایشی بود. نمونه‌های شاهد بیشترین ترکیبات قطبی را داشتند. و بجز لحظه شروع در تمام زمان‌های نگهداری بین هر سه نمونه اختلاف معنی‌دار آماری دیده شد. سلطان تویه و همکاران (۱۳۹۲) دو غلظت ppm ۴۰۰ و ppm ۸۰۰ از عصاره متانولی پوست سیب‌زمینی را به روغن آفتابگردان افزوده و اثرات آن بر ترکیبات قطبی روغن طی ۶۰ روز نگهداری را با ppm ۱۰۰ از آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ مقایسه نمودند. نتایج نشان داد ترکیبات قطبی با افزایش زمان افزایش یافت و عصاره نقش مؤثری در کاهش این ترکیبات داشت.

- تغییرات عدد اسیدی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

عدد اسیدی شاخصی برای تعیین فساد روغن‌ها و میزان خاصیت اسیدی آن‌ها هست. هیدرولیز تری آسیل گلیسرول‌ها به گروه‌های کربونیل که درنتیجه فرآیند اکسیداسیون چربی اتفاق می‌افتد منجر به افزایش عدد اسیدی و افزایش نقطه دود روغن می‌شود (Khraisha, 2000). همانطور که در جدول ۲ نشان داده شد عدد اسیدی نمونه های مختلف در طول دوره نگهداری افزایش یافت و با زمان های بعد از خودش اختلاف معنی دار آماری ($P<۰/۰۵$) داشت. نمونه شاهد بیشترین مقادیر عدد اسیدی و نمونه‌های حاوی عصاره کمترین مقادیر عدد اسیدی را داشتند. این نتایج همچنین با نتایج توکلی و همکاران (۱۳۹۲) مطابقت دارد. آن‌ها ضمن بررسی تغییرات عدد اسیدی در نمونه‌های روغن آفتابگردان حاوی عصاره متانولی پوست ازگیل اعلام نمودند این عصاره در کاهش عدد اسیدی مؤثر بوده است و حتی مؤثرتر از TBHQ عمل نموده است.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که عصاره استخراجی گیاه متکا با استخراج‌کننده سیال فوق بحرانی به علت داشتن ترکیبات فنولی به میزان ۱۴۹۵/۸۱ میلی‌گرم اسید گالیک بر ۱۰۰ گرم عصاره و ترکیبات توکوفرولی ۵۸/۶ میلی‌گرم آلفا - توکوفرول بر ۱۰۰ گرم عصاره، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی است. این فعالیت آنتی-اکسیدانی بالا ممکن است به دلیل حضور هم‌زمان آلفا - توکوفرول و پلی‌فنول‌ها به‌صورت هم‌زمان و اثر تشدیدکنندگی آن‌ها روی هم باشد. نتایج آزمون‌های اندازه‌گیری عدد پراکسید، عدد کربونیل، پایداری اکسایشی و ترکیبات قطبی نشان دادند در نمونه‌های حاوی عصاره متکا، میزان اکسیداسیون روغن کمتر از ترکیبات حاوی آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ و نمونه شاهد بود. لذا عصاره متکا به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و توکوفرولی توانایی رقابت با آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ را داشته و می‌تواند جایگزین مناسبی برای این آنتی اکسیدان سنتزی در تأخیر اکسیداسیون روغن آفتابگردان باشد و باعث افزایش ماندگاری روغن شود. همچنین گرایش به ترکیبات

Archive of SID

www.SID.ir

طبیعی به دلیل ایمنی بیشتر و نهایتا خطرات بالقوه آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی خصوصا TBHQ، باعث می‌شود جایگزین‌های طبیعی آن مانند عصاره گیاه متکا ارجحیت پیدا کنند.

منابع

اسماعیل زاده کناری، ر. و فرهوش، ر. (۱۳۸۷). بررسی پایداری اکسایشی روغن کانولا و روش های پایداری آن. پایان نامه دکترای تخصصی، دانشگاه فردوسی مشهد.

اسماعیل زاده کناری، ر. (۱۳۹۰). تکنولوژی پیشرفته در صنایع غذایی. نشر علوم کشاورزی، صفحات ۲۲۵-۲۲۰.

توکلی، خ.، اسماعیل‌زاده کناری، ر. و ناهیدی، ف. (۱۳۹۲). تاثیرآنتی اکسیدانی عصاره متانولی پوست ازگیل درپایدارسازی روغن آفتابگردان طی شرایط حرارتی. دومین همایش ملی علوم و صنایع غذایی.

تیموری، ر.، علیزاده خالدآباد، م. و جعفریان، پ. (۱۳۹۰). اثر غنی سازی با عصاره متانولی سیر، رزماری و برگ زیتون بر برخی ویژگیهای شیمیایی روغن کلزا. نشریه پژوهشهای صنایع غذایی، جلد ۲۱، شماره ۴. صفحات ۴۱۰-۴۰۱.

جدیدی، م.، وفایی، ع.، میلادی گرجی، ح. و بابایی سعیدآبادی، ا .(۱۳۸۹). بررسی اثر عصاره گیاه سکبینه (*Ferula persica*) بر علایم ناشی از قطع مرفین و دوره خواب در موش سوری. پژوهش در پزشکی، دوره ۳۴، شماره ۴ ، صفحات ۲۳۰-۲۲۵.

خرمی، س. م.، اسماعیل زاده کناری، ر. و عطای صالحی، ا. (۱۳۹۲). ارزیابی اثر انتی اکسیدانی عصاره برگ ترب بر پایدارسازی روغن آفتابگردان در شرایط نگهداری. دومین همایش ملی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، صفحات ۱۲-۱.

سلطان تویه، س. ط.، اسماعیل زاده کناری، ر. و ناهیدی، ف. (۱۳۹۲). اثر آنتی اکسیدانی عصاره متانولی پوست سیب زمینی در پایدار سازی روغن آفتابگردان طی شرایط ذخیره سازی. دومین همایش ملی علوم و صنایع غذایی، ۹ و ۱۰ اردیبهشت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان.

گلی، ا. ح.، کدیور، م.، بهرامی، ب. و سبزعلیان، م. ر. (۱۳۸۶). خصوصیات فیزیکو شیمیایی روغن دانه ماریتیغال. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران، دوره ۴، شماره ۱۵، صفحات ۲۵۴-۲۴۱.

میر احمدی، ف.، فاطمی، ح. و سحری، م. (۱۳۸۴). اثر پلی‌فنول‌های موجود در عصاره برگ سبز چای در جلوگیری از اکسیداسیون روغن آفتابگردان. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران، دوره ۲، شماره ۴، صفحات ۷۰-۶۱.

Akhonzadeh, S. (2000). Encyclopedia of Iranian medicinal plants. Tehran: Arjmand Press. pp. 76-77.

Aladedunye, F. & Matthäus, B. (2014). Phenolic extracts from Sorbus aucuparia (L.) and Malus baccata (L.) berries: Antioxidant activity and performance in rapeseed oil during frying and storage, Food Chemistry, 159, 273–281.

Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, P. & Mason, J. (2004). Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from Rosmarinusofficinalis for the food and pharmaceutical industry. Ultrasonics Sonochemistry, 11, 261–265.

AOCS. (1990). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Champaign. IL.

AOCS. (1993). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. AOCS Press. Champaign. IL.

Barthomeufa, C., Lima, S., Iranshahi, M. & Chollet, P. (2008). Umbelliprenin from Ferula szowitsiana inhibits the growth of human M4Beu metastatic pigmented malignant melanoma cells through cell-cycle arrest in G1 and induction of caspase-dependent apoptosis. Phytomedicine, 15, 103–111.

Brewer, M. (2011). Natural antioxidants sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. Comperhensive Reviews in Food Science and Food Safety, 10(4), 221-247.

Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M. & parenti, A. (2000). Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. Food Chemistry, 71, 553-562.

Dehpour, A. A., Ebrahimzadeh, M. A., Fazel, N. & Nabavi, M. (2009). Antioxidant activity of the methanol extract of Ferula assafoetida and its essential oil composition, Grasas Y Aceites, 60 (4), 405-412.

Delfanian, M., Esmaeilzadeh Kenari, R. & Sahari, M. A. (2014). Antioxidative effect of loquat (*Eriobotrya japonica Lindl.*) fruit skin

Archive of SID

www.SID.ir

extract in soybean oil. Food science & Nutrition, 3(1): 74–80.

Endo, Y., Li, C. M., Tagiri-Endo, M. & Fugimoto, K. (2001). A modified method forthe estimation of total carbonyl compounds in heated and frying oils using 2- propanol as a solvent. Journal of the American Oil Chemists' Society, 10, 1021-1024.

Esmaeilzadeh Kenari, R., Mohsenzadeh, F. & Amiri, Z. (2014). Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-assisted extraction methods. Food Science & Nutriation, 2, 426–435.

Farhoosh, R. & Moosavi, S. M. R. (2006). Determination of carbonyl value in rancid oils: a critical reconsideration. Journal of Food Lipids, 13, 298-305.

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(3), 205-209.

Farhoosh, R. & Moosavi, S. M. R. (2009). Evaluating the Performance of Peroxide and Conjugated Diene Values in Monitoring Quality of Used Frying Oils. Journal of Agriculture Science and Technology, 11, 173-179.

Farhoosh, R. & Esmaeilzadeh kenari, R. (2009). Anti-rancidity of sesame and rice bran oils on canola oil during deep frying. Journal of the American Oil Chemists' Society, 86, 539-544.

Farhoosh, R. & Tavassoli-Kafrani, M. H. (2010). Polar compounds distribution of sunflower oil as affected by unsaponifiable matters of Bene hull oil (BHO) and tertiary-butylhydroquinone (TBHQ) during deep-frying. Food Chemistry, 122, 381-385.

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

Iranshahi, M., Amin, G., Amini, M. & Shafiee, A. (2003). Sulfur containing derivatives from Ferula persica var. latisecta. Phytochemistry, 63, 965–966.

Iranshahi, M., Mojarab, M., Sadeghian, H., Hanafi-Bojd, M. Y. & Schneider, B. (2008). Polar secondary metabolites of Ferula persica roots. Phytochemistry, 69, 473–478.

Javidnia, K., Miri, R., Kamalinejad, M. & Edraki N. (2005). Chemical composition of Ferula persica Wild.essential oil from Iran. Flavour and Fragrance Journal, 20, 605–606.

Khalil, A. H. & Mansour, E. M. (1998). Control of lipid oxidation in cooked and Uncooked refrigerated crap fillets by antioxidant and packaging combinations. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 1158-1162.

Khraisha, Y. H. (2000). Retorting of oil shale followed by solvent extraction of spent shale: Experiment and kinetic analysis, Journal of Energy Sources, 22, 347-355.

Lee, K. & Shibamoto, T. (2002). Determination of Antioxidant Potential of Volatile Extracts Isolated from Various Herbs and Spices. Agricultural and Food Chemistry, 50, 4947 – 4952.

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J. & Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology. 5, 1142– 1145.

Schulte, E. (2004). Economical micromethod for determination of polar components in frying fats. European Journal of Lipid Science and Technology, 106, 772-776.

Wong, M. L. & Timms, R. E. (1998). Colorimetric determination of total tocopherols in palm oil. Olein and Stearin. Journal of the American Oil Chemists' Society, 65, 258-261.

Yung-Shin, S., Jau-Tien, L., Yuan-Tsung, C., China-Jung, C. & Deng-Jue, Y. (2009). Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (*Anethum graveolens L.*) flower. Food Chemistry, 115 (2), 515-521.

Zargari, A. ed. (1988). Medicinal plants. 4th ed. Tehran: Tehran University Publications. pp. 592-602.

Zhang, Y., Yang, L., Zu, Y., Chen, X., Wang, F. & Liu, F. (2010). Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. Food Chemistry, 118, 656 – 662.

Zia-ur, R., 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.

Archive of SID

www.SID.ir