Archive of SID

بررسی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی اسانس پوست پرتقال (*Citrus Sinesis*) در پایدارسازی روغن سویا طی شرایط نگهداری

بهاره دهقان[a]، رضا اسماعیل‌زاده کناری[b]*، زینب رفتنی امیری[b]

[a]دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی ساری، ساری، ایران
[b]دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۸/۱۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۱۲/۲۲

چکیده

مقدمه: هدف از این پژوهش بررسی نوع و میزان ترکیبات فنولیک موجود در اسانس پوست پرتقال به عنوان منبع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی و تاثیر آن بر پایداری اکسایشی روغن سویا می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ترکیبات موجود در اسانس پوست پرتقال با استفاده از GC/MS تعیین شد. بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی به روش آزمون قدرت احیاکنندگی آهن و DPPH صورت گرفت و در ادامه اسانس در چهار غلظت (۲، ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد) و آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در محدوده مجاز (۰/۰۱ درصد) به روغن سویای بدون آنتی اکسیدان اضافه و عدد پراکسید، تیوباربیتوریک اسید و دی ان مزدوج اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: دی لیمونن، عمده‌ترین ترکیب موجود در اسانس پوست پرتقال بود. یک گرم اسانس حاوی ۰/۱۶ میلی‌گرم ترکیبات فنولیک بر مبنای اسیدگالیک بر حسب ماده خشک بود. طبق سنجش DPPH و قدرت احیاءکنندگی، اسانس پوست پرتقال از خود فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد، هر چند فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری نسبت به TBHQ داشت به این علت که کمترین EC_{50} در آزمون DPPH (۰/۰۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و بیشترین قدرت احیاءکنندگی آهن (۰/۹ میلی مول آهن (II) در میلی‌گرم نمونه) مربوط به TBHQ بود. طبق نتایج آزمون آون، با افزایش غلظت اسانس از ۲ درصد به ۵ و ۱۰ درصد فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری حاصل شد. هر چند بر اساس آزمون آماری، بین نمونه‌های ۵ و ۱۰ درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. ولی با افزایش بیشتر غلظت تا ۲۰٪، اسانس از خود فعالیت پرواکسیدانی نشان داد ($P<0.05$).

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که اسانس پوست پرتقال دارای فعالیت ضد رادیکالی بوده و نسبت به نمونه کنترل (فاقد آنتی اکسیدان)، باعث پایداری اکسایشی روغن سویا در طی شرایط حرارتی شد. در نتیجه می‌توان از اسانس پوست پرتقال به عنوان ضد اکساینده طبیعی در مواد غذایی، به ویژه حاوی روغن‌های خوراکی، استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: *اسانس پوست پرتقال، روغن سویا، فعالیت آنتی اکسیدانی، TBHQ*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: reza_kenari@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

چربی‌ها و روغن‌ها ترکیبات غذایی با ارزشی هستند که علاوه بر تامین انرژی، نقش مهمی در سلامت و ادامه حیات انسان داشته و در گروه مواد غذایی جای دارند (قره خانی و همکاران، ۱۳۸۸). روغن‌ها، مصرف بالایی در رژیم غذایی روزانه دارند (کبیری و سیدالنگی، ۱۳۹۴). روغن سویا، مهم‌ترین روغن نباتی است که در جهان تولید می‌شود، این اهمیت به دلیل فراوانی، ارزانی و بازده بالای آن می‌باشد که روغن سویا را روغنی با ارزش در بازارهای محلی و بین المللی کرده است. روغن سویا در محدوده نسبتا وسیع حرارتی به‌صورت مایع بوده و ترکیبات غیراشباع زیادی دارد. در واقع حضور اسیدهای چرب غیراشباع اسیدلینولئیک و اسیدلینولنیک در روغن سویا، پایداری روغن را در مقابل اکسیداسیون کاهش داده و از طرفی برگشت طعم و بوی روغن پس از تصفیه و بی بوکردن روغن را به لینولنات‌ها (نمک‌های اسیدلینولنیک) نسبت می‌دهند (Bachari-Saleh et al., 2013; منصوری و همکاران، ۱۳۹۵). اکسیداسیون چربی‌ها و روغن‌ها طی فرآوری و نگهداری غذاها نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه‌ای و هضمی غذا می‌شود، بلکه ترکیباتی مانند رادیکال‌های آزاد نیز تولید می‌کند (قره‌خانی و همکاران، ۱۳۸۸). رادیکال‌های آزاد، اتم‌ها یا مولکول‌های با الکترون جفت نشده هستند که قادرند به مولکول‌های سامانه‌های زیستی بدن آسیب وارد کرده و باعث بروز بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان، پیری زودرس، تصلب شرائین، آب مروارید، آرتروز، دیابت و ... می‌شوند (Mostaf *et al.*, 2015 ؛ طاهانژاد و همکاران، ۱۳۹۰). اثرات زیان بخش رادیکال‌های آزاد را می‌توان توسط مواد آنتی‌اکسیدانی کاهش داد. چون این مواد، باعث به‌دام انداختن و مهار تولید رادیکال‌های آزاد می‌شوند (شهسواری و همکاران، ۱۳۸۷؛ طاهانژاد و همکاران، ۱۳۹۰). امروزه در صنعت از آنتی اکسیدان‌های سنتزی مانند BHA[1]، BHT[2]، TBHQ[3] برای به تاخیر انداختن اکسیداسیون چربی‌ها استفاده می‌شود، اما به دلیل اثرات بد تغذیه‌ای و سرطان‌زا بودن این ترکیبات و نیز تمایل مصرف کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی، کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه محققین قرار گرفته است (Beyki *et al.*, 2014).

یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ترکیبات فنلی موجود در نمونه‌های گیاهی است (Bulmer *et al.*, 2012; Cho *et al.*, 2013). که در مورد اثر بخشی ترکیبات آنتی اکسیدان‌های فنلی از منابع گیاهی در کاهش اکسیداسیون روغن‌ها گزارشات فراوانی شده است (Arawande & Komolafe, 2010; Arawande & Ogunyemi, 2012; Rehab, 2010). در این بین، مرکبات نیز به‌عنوان ذخایر مهم فلاونوئید، دارای فعالیت ضداکسیدانی خوبی می‌باشند (Gil *et al.*, 2002; Khan *et al.*, 2012; Matasyoh *et al.*, 2007; Sharma & Tripathi, 2006). مرکبات، یکی از مهمترین محصولات میوه تجاری هستند که در سراسر جهان رشد می‌کنند. تولید اسانس از پوست مرکبات ارزش اقتصادی قابل توجهی دارد. اسانس روغنی پوست پرتقال یکی از متداول‌ترین و مهم‌ترین اسانس‌های تولید شده در سراسر جهان می‌باشد، که شهرت زیاد آن به دلیل عطر بسیار مطبوع و خوشایند آن است که معطر بودن آن، پذیرش و در نتیجه بهره مندی افراد را از خواص درمانی آن آسان کرده است. اسانس پوست پرتقال دارای ویژگی‌هایی همچون شفافیت، دلپذیر و معطربودن، تازگی زیاد مانند میوه پرتقال می‌باشد. از ترکیبات عمده اسانس روغنی پوست پرتقال می‌توان به لیمونن[4]، میرسن[5]، لینالول[6]، اکتانال[7]، دکانال[8] و ... اشاره کرد (Mercy Nisha Pauline *et al.*, 2015; Teixeira *et al.*, 2004). همچنین بسیاری از خانوارها اسانس پرتقال را با توجه به ویژگی‌های دل انگیز آن و توانایی ترکیب شدن آن با دیگر ترکیبات آروما و هزینه کم و در دسترس بودن آن به کار می‌برند (Mercy Nisha Pauline *et al.*, 2015). به طور کلی، اسانس پوست پرتقال در صنایع غذایی، دارویی، قنادی، لوازم آرایشی و بهداشتی، و به‌عنوان طعم دهنده محصولات کاربرد دارد (Aberoomand Aazar *et al.*, 2011). مهمترین کاربرد اسانس پوست پرتقال، حضور ترکیبات فعال زیستی در آن می‌باشد، که اسانس پوست پرتقال را جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی کرده است. در مورد خاصیت

[1] Butylated Hydroxyl Anisole [2] Butylated Hydroxyl Toluene [3] Tert-Butyl Hydro Quinone [4] Limonene [5] Myrcene [6] Linalool [7] Octanal [8] Decanal

www.SID.ir

Archive of SID

آنتی‌اکسیدانی اسانس پوست پرتقال گزارشات فراوانی شده است (Al- Juhaimi & Ghafoor, 2013; Frassinetti *et al*., 2011; Jorge *et al*., 2016; Kammal *et al*., 2013; Singh *et al*., 2010; Trabelsi *et al*., 2014). در زمینه کاربرد اسانس پوست پرتقال در روغن سویا گزارشی در منابع علمی یافت نشد.

از این رو با توجه به اثبات مزایای گوناگون دارویی و صنعتی این گیاه، مطالعه در مورد سایر خواص آن نیز می‌تواند مفید باشد. در این پژوهش فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس پوست پرتقال در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

- مواد

روغن سویای تصفیه شده بدون هیچ گونه افزودنی و آنتی‌اکسیدان، از کارخانه روغن غنچه خریداری شد (کشت و صنعت شمال – غنچه، ساری).

- استخراج اسانس پوست پرتقال به روش کلونجر (تقطیر با آب)

پرتقال تازه و کاملا رسیده از یک نوع واریته (رقم تامسون) به اندازه لازم از باغ مرکبات شهرستان آمل فراهم گردید. پرتقال‌ها پس از شست و شو، پوست‌گیری شده و سپس پوست پرتقال در هوای آزاد با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و به دور از نور خورشید خشک شده و توسط خردکن کاملا پودر شد و اسانس‌گیری با روش تقطیر با آب به وسیله دستگاه کلونجر به مدت ۴ ساعت (تا زمانیکه کلیه اسانس از نمونه خارج شود) انجام شد، سپس اسانس حاصل تا زمان آنالیز در فریزر در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Nikkhah *et al*., 2009).

- اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی اسانس پوست پرتقال توسط کروماتوگرافی گازی–طیف‌سنج جرمی

برای آنالیز اسانس، دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل Agilent Technologies 7890A، ساخت کشور آمریکا) و طیف‌سنج جرمی (مدل Agilent Technologies 5975C، ساخت کشور آمریکا) با ستون دستگاه (Agilent Technologies Inc.HP-5MS، ساخت کشور آمریکا) که از نوع مویینه با طول ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرون می‌باشد مورد استفاده قرار گرفت. برنامه‌ریزی حرارتی از ۵۰ تا ۲۷۰ درجه سانتی گراد با افزایش دمای ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه بود. درجه حرارت محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و درجه حرارت ترانسفرلاین ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با درجه خلوص بالا مورد استفاده قرار گرفت. انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بود. شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با استفاده از شاخص‌های بازداری[1] و بررسی طیف‌های جرمی ترکیبات و مقایسه آن‌ها با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه‌های رایانه‌ای و مراجع معتبر صورت گرفت (میرزا و باهرنیک، ۱۳۸۵).

- تعیین محتوای فنل کل

محتوای فنل کل اسانس پوست پرتقال از طریق رنگ سنجی به روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد. ابتدا محلول یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از اسانس در اتانول تهیه و سپس ۱۵ میکرولیتر از هر نمونه را با ۱۱۸۵ میکرولیتر آب مقطر و ۷۵ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو[2] مخلوط کرده و به مدت ۲ تا ۳ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. در مرحله بعد ۲۲۵ میکرولیتر سدیم کربنات ٪۲۰ به محلول اضافه شد. پس از تکان دادن محلول موردنظر، مخلوط حاصل برای انجام واکنش به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. در پایان جذب نوری نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر (T80+ UV/VIS spectrophotometer) در محدوده ۷۶۰ نانومتر خوانده و به صورت میلی‌گرم گالیک اسید در گرم اسانس بیان شد (Asikn *et al*., 2012).

- ارزیابی فعالیت ضداکسایشی به روش DPPH[3]

در این بررسی فعالیت ضد رادیکالی اسانس مورد مطالعه و TBHQ با استفاده از رادیکال‌های پایدار DPPH مطابق با روش ابراهیم زاده و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام گرفت. در ابتدا اسانس پوست پرتقال با غلظت‌های ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه

[1] Retention Time [2] Folin Ciocalteu [3] 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

www.SID.ir

Archive of SID

شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از اسانس با ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی (۱۰۰ میکرومولار) DPPH مخلوط گردید. برای شاهد نیز ۲ میلی لیتر متانول خالص با ۲ میلی‌لیتر محلول DPPH مخلوط گردید. برای صفر کردن دستگاه هم از متانول خالص استفاده شد. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی و در دمای محیط، جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد و در نهایت غلظتی از اسانس که دارای درصد مهار رادیکالی ۵۰ درصد بود یا (EC_{50}) توسط نمودار محاسبه گردید. بدیهی است هر چه این عدد کوچکتر باشد، قدرت آنتی اکسیدانی یا مهار رادیکال‌های آزاد بیشتر می‌باشد (Ebrahimzadeh *et al.*, 2012).

معادله (۱)

$$I\ \% = (Ablank - Asample\ /Ablank) \times 100$$

در این فرمول A_{blank} میزان جذب نوری نمونه شاهد (تمامی موارد بدون اسانس) و A_{sample} بیانگر جذب نوری نمونه‌های حاوی اسانس می‌باشد.

- ارزیابی فعالیت ضداکسایشی به روش قدرت احیا کنندگی آهن

در ابتدا اسانس پوست پرتقال با غلظت‌های ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از اسانس با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفاته ۰/۲ مولار با pH برابر با ۶/۶ و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۱ درصد پتاسیم فری سیانید مخلوط شد. در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شد، سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول تری کلرواستیک اسید به نمونه‌ها اضافه شد تا واکنش متوقف شود. سپس نمونه‌ها به مدت ۸ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. پس از اتمام این مرحله ۵ میلی لیتر از قسمت بالای محلول با ۵ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد و ۱ میلی لیتر محلول ۰/۱ درصد فریک کلراید به آن اضافه شد. سپس جذب محلول در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد (Esmaeilzadeh Kenari *et al.*, 2014).

- بررسی کاربرد اسانس پوست پرتقال به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی در روغن

با توجه به نتایج حاصل از آزمون DPPH و قدرت احیاکنندگی، اسانس پوست پرتقال (آنتی‌اکسیدان طبیعی) در چهار سطح ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (اگر غلظت را به جای میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به صورت درصد بیان کنیم به ترتیب ۲، ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد ذکر می‌شود) و TBHQ (آنتی‌اکسیدان سنتزی) با توجه به محدوده مجازشان در سطح ۰/۰۱ درصد یا ۱۰۰ پی پی ام به روغن سویای تصفیه شده بدون آنتی‌اکسیدان افزوده و روغن سویا بدون هیچ گونه آنتی‌اکسیدان نیز به عنوان نمونه کنترل شناخته شد و سپس همه نمونه‌ها در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ روز نگهداری شدند و سپس اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس با غلظت‌های مختلف را با شاخص‌های پراکسید، تیوباربیتوریک اسید، دی ان مزدوج سنجیده و بهترین غلظت با نمونه TBHQ مورد مقایسه قرار گرفت (عیوقی و همکاران، ۱۳۸۸).

- اندازه گیری عدد پراکسید[1] (PV)

اندازه‌گیری عدد پراکسید به روش یدومتری برای ارزیابی محصولات اولیه اکسیداسیون، مطابق با روش AOAC به شماره Cd 8b– 90 انجام شد. ابتدا ۵ گرم روغن در داخل ارلن مایر توزین گردید و سپس ۳۰ میلی لیتر مخلوط اسیداستیک – کلروفرم (با نسبت ۲:۳) به آن افزوده، ۰/۵ میلی لیتر یدور پتاسیم اشباع روی آن ریخته و یک دقیقه در تاریکی قرار داده شد. سپس ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و در نهایت ۰/۵ میلی‌لیتر معرف چسب نشاسته اضافه گردید. تیتراسیون نمونه با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تا بی‌رنگ شدن نمونه انجام شد. عدد پراکسید با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

معادله (۲)

$$PV = \frac{(V2-V1)\times N\times 1000}{m}$$

که دراین رابطه V_1،V_2 به ترتیب عدد تیتراسیون نمونه و شاهد، N نرمالیته تیوسولفات سدیم و m وزن نمونه برحسب گرم می‌باشد.

- اندازه‌گیری عدد تیوباربیتوریک اسید[2] (TBA)

اندازه‌گیری TBA به وسیله رنگ سنجی برای ارزیابی محصولات ثانویه اکسیداسیون، مطابق با روش AOAC به

[1] Peroxide Value [2] Thiobarbituric Acid

www.SID.ir

Archive of SID

شماره Cd 19-90 انجام شد. ابتدا مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه روغن به یک بالن ۲۵ میلی‌لیتری انتقال یافت و سپس با ۱- بوتانل به حجم رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر از محلول فوق به لوله‌های خشک درب دار وارد شد و به آن ۱۰ میلی‌لیتر از معرف TBA ٪ ۰/۲ (معرف TBA به وسیله حل شدن ۲۰۰ میلی‌گرم از TBA در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال از ۱- بوتانل پس از فیلتر شدن به دست می‌آید) اضافه شد. لوله‌های دربدار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفت و پس از آن در جریان آب سرد به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت تا به دمای محیط برسد. سپس مقدار جذب نمونه (A) و شاهد (B) در محدوده ۵۳۲ نانومتر در مقابل آب مقطر خوانده شد. مقدار TBA (میلی گرم مالون دی آلدهید در کیلوگرم روغن) براساس رابطه زیر محاسبه گردید:

معادله (۳) $TBA=\frac{50\times(A-B)}{m}$

- اندازه گیری دی ان مزدوج [1](CD)

برای این منظور نمونه‌های روغن با هگزان رقیق شدند (به نسبت ۱:۶۰۰ gr/ml). سپس جذب نمونه‌های رقیق شده (A) در طول موج ۲۳۴ نانومتر در برابر هگزان به عنوان شاهد اندازه‌گیری شد. برای تعیین غلظت دی ان مزدوج شکل گرفته طی اکسیداسیون از ضریب ثابت ۲۹۰۰۰ مول بر لیتر مطابق فرمول زیر استفاده شد (Saguy *et al.*, 1996).

معادله (۴) $CD=\frac{A\times600\times1000}{29000}$

- اندازه‌گیری رنگ با روش پردازش تصویر

ارزیابی رنگ نمونه‌ها به روش L*a*b* و اختلاف رنگ هر کدام از نمونه‌ها با استفاده از دستگاه رنگ سنج مدل IMG-Pardazesh Cam-Systerm بررسی شد (جعفرپور، ۱۳۹۵).

در این سیستم سه بعد L*، a* و b* ارزیابی شد. L* شدت روشنایی یا ارزش رنگ (سفیدی- سیاهی)، a* قرمزی - سبزی و b*, زردی - آبی را مشخص می‌کند. فاکتور ΔE (تغییر رنگ کلی) برای مقایسه رنگ بین نمونه‌ها به‌کار می‌رود، در واقع برای بدست آوردن همبستگی بهتر تفاوت‌های کالریمتریک و دیداری، رنگ سنجی ΔE برای هر نمونه از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

معادله (۵)

$$\Delta E=\sqrt{(\Delta L*)^2+(\Delta a*)^2+(\Delta b*)^2}$$

که در آن: ΔL^*= تفاوت L* نمونه حاوی آنتی اکسیدان با نمونه کنترل و Δa^*= تفاوت a* نمونه حاوی آنتی اکسیدان با نمونه کنترل و Δb^*= تفاوت b* نمونه حاوی آنتی اکسیدان با نمونه کنترل می‌باشد .

- تعیین شاخص رنگی با دستگاه اسپکتروفتومتری

شاخص رنگی نمونه‌های روغن سویا با اندازه گیری جذب در محدوده ۴۲۰ نانومتر در مقابل آب مقطر به عنوان بلانک تعیین شد (Saguy et al., 1996).

- تجزیه و تحلیل آماری

بررسی آماری داده‌های حاصل از آزمایش توسط نرم افزار spss نسخه ۲۱ و توسط طرح کامل تصادفی و آنالیز واریانس یک طرفه انجام شد. مقایسه میانگین‌های حاصل از سه تکرار، توسط آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام پذیرفت.

یافته‌ها

- ترکیبات استخراجی اسانس پوست پرتقال

در این تحقیق بازده استخراج اسانس پوست پرتقال حاصل از روش تقطیر با آب، ۲/۵ درصد حجمی به وزنی بود. ۲۷ ترکیب شیمیایی که در مجموع ۹۸/۸ درصد ترکیبات موجود در اسانس پوست پرتقال را شامل می‌شدند، توسط کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی شناسایی شد و به همراه درصد ترکیب و زمان بازداری در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده در اسانس پوست پرتقال، مونو ترپن هیدروکربنی (دی لیمونن) بود.

[1] Conjugated Diene

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی اسانس پوست پرتقال استخراج شده به روش تقطیر با آب

ردیف	نام ترکیب	درصد ترکیب	زمان بازداری (دقیقه)
	Monoterpene Hydrocarbons		
۱	alpha.- Pinene	۱/۰۶	۵/۹۹
۲	Camphene	۰/۰۱	۶/۴۲
۳	Sabinene	۱/۲۱	۷/۲۱
۴	beta.-Myrcene	۲/۳۶	۷/۸۳
۵	**D-Limonene**	۸۶/۵۸	۹/۶۷
۶	DELTA. 3 CARENE	۰/۴۲	۱۰/۱۱
۷	ALPHA.-TERPINOLENE	۰/۱۴	۱۱/۵۲
۸	gamma.-Terpinene	۰/۱۷	۱۵/۲۴
۹	BETA.-PINENE	۰/۰۸	۱۷/۶۶
	Oxygenated Monoterpene Hydrocarbons		
۱۰	Octanal	۲/۳۶	۷/۸۳
۱۱	1-Octanol	۰/۲۲	۱۱/۰۰
۱۲	Linalool	۲/۰۵	۱۲/۰۹
۱۳	CITRONELLAL	۰/۱۴	۱۴/۳۳
۱۴	Decanal	۰/۸۵	۱۶/۵۲
	Sesquiterpene hydrocarbons		
۱۵	beta.-Phellandrene	۰/۲۹	۱۵/۸۴
۱۶	2,6-Octadiena	۰/۲۹	۱۹/۴۲
۱۷	alpha.-Cubebene	۰/۰۷	۲۳/۶۶
۱۸	beta.-Cubebene	۰/۱۱	۲۴/۳۱
۱۹	trans-.beta.-Farnesene	۰/۰۴	۲۷/۲۴
۲۰	Valencene	۰/۱۴	۲۸/۴۹
۲۱	alpha.-Farnesene	۰/۰۳	۲۹/۴۱
۲۲	beta.-cadinene	۰/۰۷	۲۹/۷۷
	Amine compounds		
۲۳	Phenylpropanolamine	۰/۰۱	۳۰/۶۳
۲۴	Cathine	۰/۰۱	۳۹/۹۶
۲۵	Phenethylamine	۰/۰۱	۵۱/۵۷
	Other compounds		
۲۶	Phenol	۰/۰۳	۲۳/۱۷
۲۷	Acetamide	۰/۰۵	۳۶/۷۶

- میزان فنل کل اسانس پوست پرتقال

این روش به‌طور مستقیم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را بررسی نمی‌کند بلکه همیشه مکمل روش‌های بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد در واقع تعیین کننده ترکیبات فنلی کل می‌باشد. ترکیبات فنلی، گروه مهمی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی می‌باشند که در پاسخ به استرس‌های محیطی ایجاد می‌شوند. این مواد به دلیل دارا بودن گروه‌های هیدروکسیل قادرند به عنوان دهنده هیدروژن یا الکترون عمل نمایند، بطوری که با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و یا با چلات کنندگی فلزات منجر به قطع واکنش‌های زنجیری اکسیداسیون می‌شوند. نتایج نشان داد که هر گرم اسانس پوست پرتقال حاوی ۰/۱۶ میلی گرم ترکیبات فنولیک بر مبنای اسیدگالیک بر حسب گرم ماده خشک بوده است.

- قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH

مهار رادیکال‌های آزاد یکی از شناخته شده‌ترین مکانیسم‌هایی است که به‌واسطه آن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی

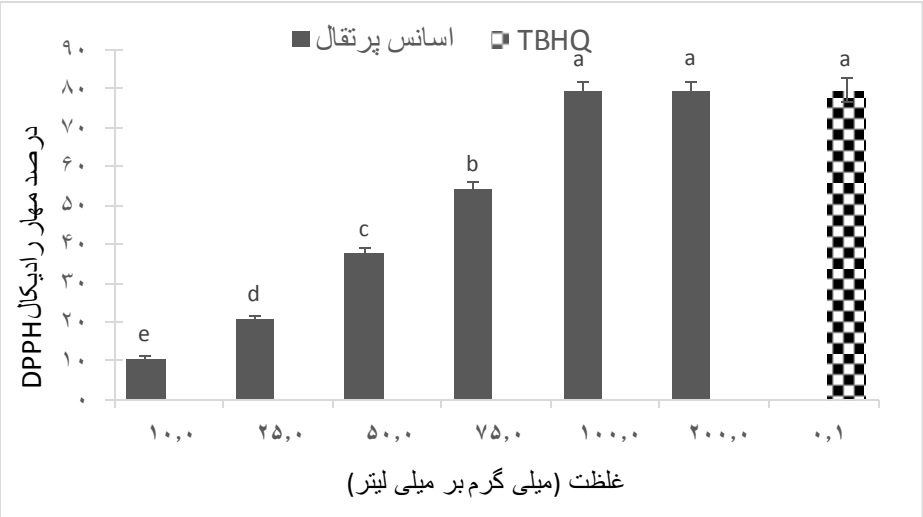
www.SID.ir

Archive of SID

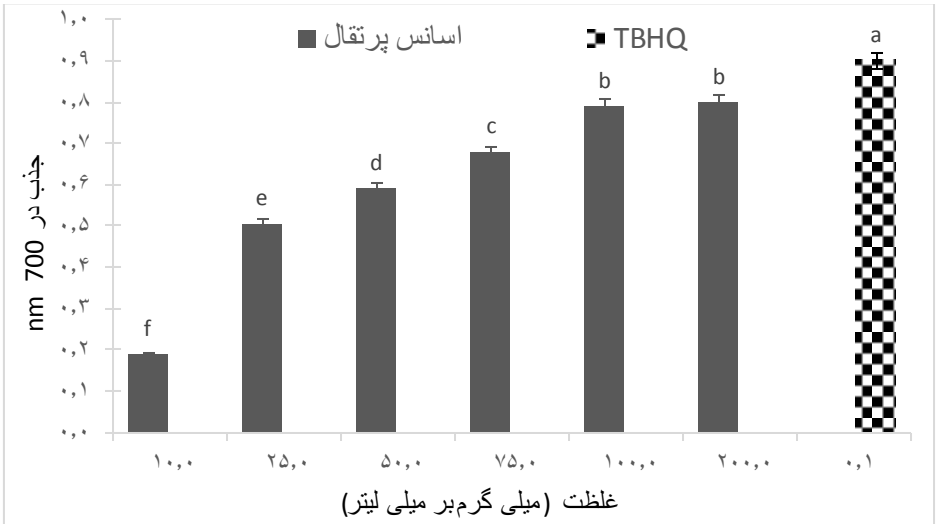
می‌توانند اکسیداسیون چربی‌ها را مهار نمایند. قدرت اسانس پوست پرتقال در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در نمودار ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که از نمودار مشخص است با افزایش غلظت اسانس، فعالیت ضد رادیکالی آن به طور معنی داری افزایش یافت ($P<0.05$). در این پژوهش میزان EC_{50} برای اسانس پوست پرتقال برابر با ۶۷/۹۷ میلی‌گرم بر میلی لیتر و برای TBHQ برابر با ۰/۰۹ میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه شد.

- قدرت احیاءکنندگی آهن

روش احیاء آهن به عنوان معیاری برای قابلیت الکترون دهی به کار می‌رود. این امر مکانیسم مهمی را در فرایند اکسیداسیون ترکیب‌های فنلی توجیه می‌نماید، به طوری که ظرفیت دهندگی الکترون (نیروی احیاءکنندگی) مرتبط با فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات زیستی می‌باشد (محمدی و عربشاهی، ۱۳۹۶). نمودار ۲، مقایسه میانگین میزان جذب غلظت‌های مختلف اسانس پوست پرتقال را به عنوان شاخصی از قدرت احیاءکنندگی در طول موج ۷۰۰ نانومتر نشان می‌دهد. در محدوده غلظت ۲۰۰-۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، میزان فعالیت احیاءکنندگی اسانس در محدوده ۰/۸-۰/۱۹ تعیین گردید. در نتیجه با افزایش غلظت اسانس پوست پرتقال، فعالیت آنتی اکسیدانی نیز افزایش یافت. در این روش فعالیت ضد اکسایشی آنتی‌اکسیدان مصنوعی TBHQ برابر با ۰/۹ تعیین شد که نسبت به آنتی اکسیدان طبیعی (اسانس پوست پرتقال) بیشتر بود ($P<0.05$).



نمودار ۱- تغییرات فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH در غلظت‌های مختلف اسانس پوست پرتقال و مقایسه آن با TBHQ



نمودار ۲- مقایسه میانگین قدرت احیاءکنندگی بین غلظت‌های مختلفی از اسانس پوست پرتقال و مقایسه آن با TBHQ

www.SID.ir

Archive of SID

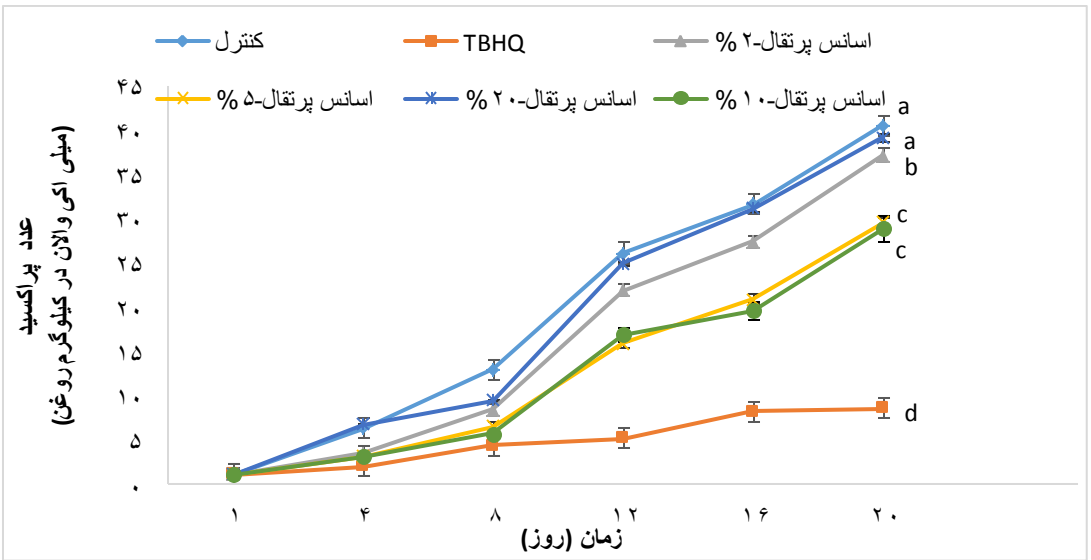
- اندیس پراکسید

اکسیداسیون چربی‌ها، عامل اصلی فساد آن‌هاست و هیدروپراکسیدهای تشکیل شده از واکنش بین اکسیژن و اسیدهای چرب غیراشباع محصولات اولیه این واکنش هستند. اندیس پراکسید یکی از متداولترین آزمون‌های شیمیایی برای تعیین کیفیت چربی‌ها و روغن‌هاست (Aryee *et al.*, 2011). در مراحل ابتدایی فرایند اکسایش، میزان این ترکیبات کم است اما در مرحله انتشار، میزان هیدروپراکسیدها به سرعت افزایش می‌یابد (منصوری اطمینان و همکاران، ۱۳۹۵). همانطور که در نمودار ۳ مشاهده می‌شود، میزان پراکسید نمونه‌های روغن سویا در روز اول، یکسان و حدود یک بود ولی عدد پراکسید تمامی نمونه‌ها با افزایش مدت زمان نگهداری در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد، افزایش یافت، به طوری که از روز هشتم به بعد سرعت تشکیل این محصولات افزایش بیشتری یافت. نمونه حاوی اسانس ۵٪، ۱۰٪ و TBHQ در غلظت ۰/۰۱٪ با شیب کمتری نسبت به نمونه کنترل اکسید شدند ($P<0.05$). با افزایش غلظت اسانس از ۲٪ به ۵٪، میزان اندیس پراکسید و سرعت اکسایش کاهش یافت، به عبارتی با افزایش غلظت اسانس اثر آنتی اکسیدانی بیشتر شد، اما با افزایش غلظت از ۵٪ به ۱۰٪، افزایش آنتی اکسیدانی مشاهده نشد به طوری که بین نمونه اسانس ۵ و ۱۰ درصد اختلافی مشاهده نشد. در غلظت‌های بالاتر از میزان ذکر شده یعنی در غلظت ۲۰٪ به‌علت افزایش اثرات پرواکسیدانی سرعت اکسایش افزایش یافت. هر چند نمونه کنترل بیش‌ترین میزان اندیس پراکسید را نسبت به کلیه تیمارها از خود نشان داد ولی بین نمونه کنترل با نمونه حاوی اسانس ۲۰٪ اختلافی مشاهده نشد.

- اندیس تیوباربیتوریک اسید (TBA)

عدد پراکسید به تنهایی 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 (مقدار مالون آلدهید موجود در یک کیلوگرم روغن) که شاخصی از میزان توسعه اکسیداسیون و تولید محصولات ثانویه این واکنش می‌باشد، ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین در روزهای ابتدایی مقدار تیوباربیتوریک اسید پایین است، اما بعد از گذشت زمان که مقدار محصولات اولیه اکسیداسیون افزایش یافته است و شروع به تجزیه شدن کردند مقدار این اندیس افزایش یافته است و آلدهیدهای فرار عامل اصلی بد طعمی روغن می‌باشد (کبیری و سیدالنگی، ۱۳۹۴).

همانطور که در نمودار ۴ مشاهده می‌شود، بالاترین مقدار اندیس TBA مربوط به نمونه کنترل، و پایین‌ترین مقدار آن مربوط به روغن سویای حاوی TBHQ بود که با بقیه نمونه‌ها اختلاف معنی داری داشت ($P<0/05$).



نمودار ۳- تغییر عدد پراکسید نمونه‌های روغن سویای حاوی غلظت‌های مختلف اسانس پوست پرتقال و آنتی اکسیدان سنتزی (TBHQ) طی فرایند حرارتی در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و مدت زمان نگهداری ۲۰ روز می‌باشد.

www.SID.ir

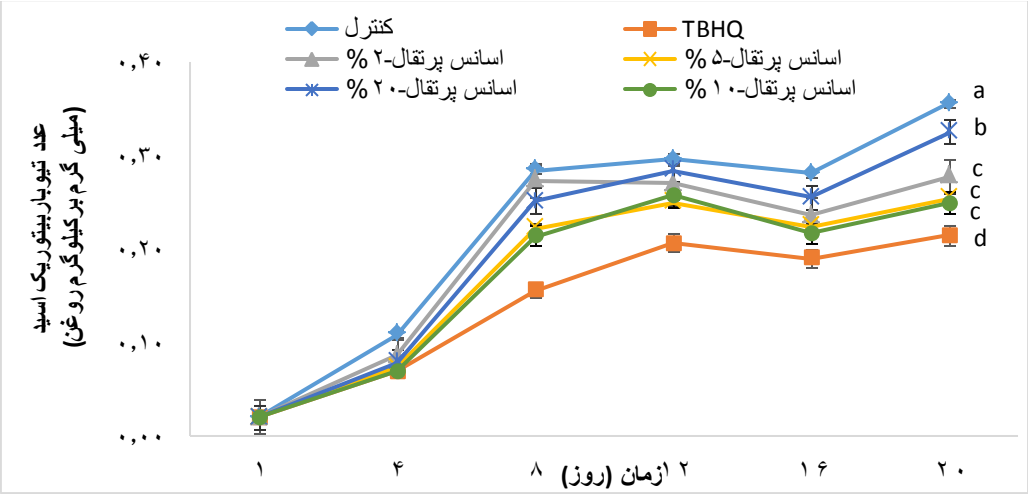
Archive of SID

- ارزیابی دی ان مزدوج

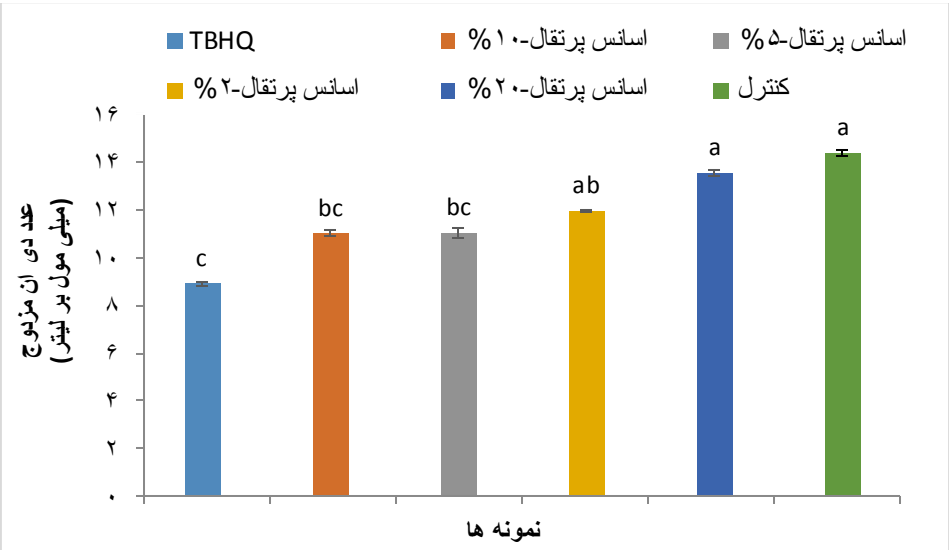
یکی دیگر از روش‌هایی که جهت بررسی مراحل اولیه اکسیداسیون می‌توان از آن استفاده کرد، تعیین میزان دی ان‌های مزدوج تولید شده است. در واقع طی فرایند اکسیداسیون، موقعیت باند دو گانه چربی‌های حاوی دی ان یا پلی ان جابجا شده، که این جابجایی باعث افزایش عدد دی ان مزدوج می‌گردد. هر چه اکسیژن دریافتی بیشتر، عدد دی ان مزدوج نیز افزایش می‌یابد (حقیقت خرازی و همکاران، ۱۳۹۲). مطابق نمودار ۵، کمترین عدد دی ان مزدوج مربوط به نمونه حاوی TBHQ بود که با نمونه اسانس ۵ و ۱۰ درصد اختلاف آماری نداشت. بیشترین عدد دی ان مزدوج در نمونه کنترل مشاهده شد.

- ارزیابی رنگ

نتایج مربوط به مقادیر شاخص رنگی در طی فرآیند حرارتی درنمودار ۶ نشان داده شده است. نتایج آنالیز آماری نشان داد مقدار شاخص رنگی در تمام نمونه‌ها با افزایش زمان حرارت دهی افزایش یافت. از لحاظ آماری، اختلاف معنی داری بین تمام نمونه‌ها مشاهده نشد. نتایج مشابه با روش رنگ سنجی با دستگاه پردازش تصویر بود، چرا که طبق جدول ۲ مشاهده می‌گردد از لحاظ آماری، بین مقدار L* و ΔE نمونه‌ها اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت.



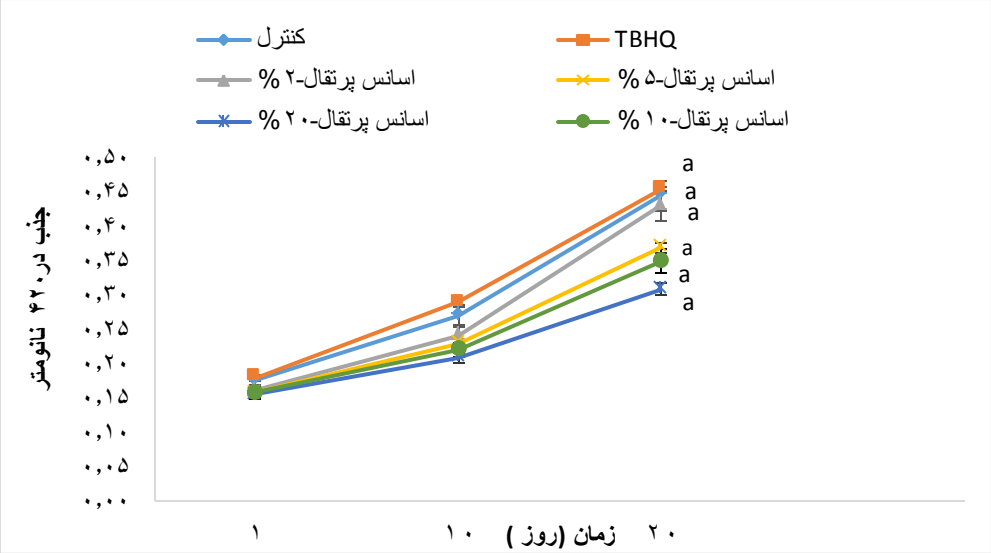
نمودار٤- تغییر عدد تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های روغن سویای حاوی غلظت‌های مختلف اسانس پوست پرتقال و آنتی‌اکسیدان سنتزی (TBHQ) طی فرایند حرارتی در دمای ٦٠ درجه سانتی گراد و مدت زمان نگهداری ۲۰ روز می‌باشد.



نمودار٥- میانگین عدد دی ان مزدوج نمونه های روغن سویای حاوی غلظت‌های مختلف اسانس پوست پرتقال و آنتی‌اکسیدان سنتزی (TBHQ) طی فرایند حرارتی در دمای ٦٠ درجه سانتی گراد و مدت زمان نگهداری ۲۰ روز می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار۶- تغییر شاخص رنگی نمونه های روغن سویای حاوی غلظت‌های مختلف اسانس پوست پرتقال و آنتی‌اکسیدان سنتزی (TBHQ) طی فرایند حرارتی در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و مدت زمان نگهداری ۲۰ روز می‌باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین تاثیر افزودن آنتی اکسیدان طبیعی (اسانس پوست پرتقال) و سنتزی (TBHQ) بر رنگ روغن سویا

نمونه	اختلاف رنگ (ΔE)	روشنایی (L*)
کنترل	۳/۱۷± ۰/۸۲^{a}	۴۰/۸۵± ۴/۶۰ ^{a}
TBHQ	۳/۲۴± ۱/۰۶^{a}	۴۰/۱۷± ۲/۵۳^{a}
اسانس پرتقال – ۲٪	۳/۴۴± ۰/۶۱^{a}	۴۱/۴۵± ۲/۱۰^{a}
اسانس پرتقال – ۵٪	۳/۵۸± ۰/۶۲^{a}	۴۲/۰۴± ۱/۲۰^{a}
اسانس پرتقال – ۱۰٪	۳/۶۷± ۰/۷۲^{a}	۴۲/۶± ۱/۰۱^{a}
اسانس پرتقال – ۲۰٪	۳/۹۳± ۱/۰۴^{a}	۴۳/۰۸± ۰/۵۴^{a}

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده و اعداد دارای حروف بالا نویس یکسان از نظر آماری اختلاف معنی داری با هم ندارند ($P>0.05$).

بحث

- تجزیه اسانس

بازده اسانس مورد نظر ۲/۵ درصد حجمی به وزنی محاسبه شد. با توجه به این که پوست پرتقال، بخش عمده از ضایعات صنایع فرآوری مرکبات را شامل می‌شود، صنایع فرآوری و تبدیلی مواد غذایی در جست و جوی راهی برای تولید محصولی با ارزش افزوده از پسماندهای پایین دستی خود هستند. یکی از گزینه‌ها به منظور بهبود مدیریت این پسماندها اجرای فرآیندهای برای بازیابی آن‌ها به عنوان مثال از طریق تولید اسانس و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. در میان تنوع زیاد روغن‌های اساسی، اسانس مرکبات به ویژه اسانس پوست پرتقال و اجزای اصلی آن‌ها در صنعت مواد غذایی مقبولیت بالایی به دست آورده‌اند و از آنجایی که آن‌ها توسط FDA از سال ۲۰۰۵ میلادی به عنوان GARS به رسمیت شناخته شده‌اند، همین امر حضور آن‌ها را در بسیاری از غذاها میسر می‌سازد (Espinosa-Pardoa *et al.*, 2016). امروزه برای جداسازی و تشخیص اجزاء موجود در اسانس از دو دستگاه کروماتوگرافی گازی و طیف سنجی جرمی استفاده می‌شود. در مطالعه حاضر، دی لیمونن با ۸۶/۵۸ ٪ فراوان‌ترین ترکیب موجود در اسانس پرتقال بود. Khan و همکاران (۲۰۱۲)، گزارش کردند که دی لیمونن ترکیب عمده موجود در اسانس پوست پرتقال می‌باشد، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. طبیعت آنتی‌اکسیدانی اسانس ممکن است به علت وجود دی لیمونن باشد که اجزای عمده اسانس می‌باشد (جونیور و همکاران، ۲۰۰۹).

- میزان فنل کل اسانس پوست پرتقال

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج نشان داد که هر گرم اسانس پوست پرتقال حاوی ۰/۱۶ میلی گرم ترکیبات فنولیک بر مبنای اسیدگالیک بر حسب گرم ماده خشک بوده است. در مقایسه با مطالعه انجام شده توسط Khan و همکاران (۲۰۱۲)، که محتوای فنل تام برای مرکبات یافا، پرتقال خونی، موسامبی، کینو و گریپ فروت در محدوده ۵/۲ تا ۸/۵۸ میلی‌گرم بر گرم اسانس گزارش شد فنل موجود در اسانس مورد نظر در این مطالعه، از مقادیر گزارش شده در مطالعات پیشین به مراتب کمتر بود. مطالعه محمدی و عربشاهی (۱۳۹۶)، مشخص ساخت که میزان ترکیبات ترکیبات فنلی اسانس کندر ۰/۹۴ میلی‌گرم اسید گالیگ در هر گرم اسانس می‌باشد. در مطالعه انجام شده توسط امینی و همکاران (۱۳۹۴)، مقدار کل ترکیبات فنلی در اسانس مرزه زراعی توسط روش فولین سیوکالتو، ۰/۷۳ میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی لیتر تعیین شد. عوامل متعددی مقدار ترکیبات فنلی موجود در بافت‌های گیاهی را تحت تاثیر قرار می‌دهند که از آن جمله می‌توان به فاکتورهای ژنتیکی، گونه و واریته، میزان تابش نورخورشید، شرایط خاک، درجه رسیدگی در زمان برداشت، شرایط محیطی و آب و هوایی، عملیات پس از برداشت و شرایط نگهداری اشاره کرد. علاوه بر این روش‌های استخراج و اندازه‌گیری متابولیت‌های ثانویه، کیفیت مواد گیاهی نیز می‌توانند بر محتوای فنل تام تاثیرگذار باشند. Unver و همکاران (۲۰۰۹) میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی چند گونه گیاهی را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که رابطه مستقیمی بین میزان فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان وجود دارد.

- قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH و قدرت احیاءکنندگی آهن

قدرت اسانس پوست پرتقال در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت احیاء کنندگی آهن به ترتیب در نمودار ۱ و۲ نشان داده شده است. گستره غلظت‌های اسانس مورد استفاده در این آزمون بین ۱۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود و قدرت مهار رادیکالی اسانس پوست پرتقال با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ مورد مقایسه قرار گرفت. همان‌طور که از هر دو نمودار مشخص است با افزایش غلظت اسانس، اثر آنتی‌رادیکالی آن به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0.05$). که این امر می‌تواند ناشی از تاثیر افزایش درصد مواد موثره و نیز افزایش میزان فنل کل آن باشد، چرا که ثابت شده ترکیبات فنولی دارای فعالیت ضداکسایشی قابل ملاحظه‌ای می‌باشند. بیش‌ترین خاصیت آنتی اکسیدانی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر مشاهده شد، ولی با افزایش غلظت اسانس پوست پرتقال از ۱۰۰ به ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، تفاوت معنی‌داری در قدرت آنتی‌اکسیدانی آن مشاهده نشد. این نتایج می‌تواند ناشی از ماهیت شیمیایی و نوع فعالیت ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی باشد، چرا که ترکیبات با خاصیت آنتی‌اکسیدانی، در ابتدا با افزایش غلظت، با شدت و سرعت بیش‌تری قادر به جذب رادیکال‌های آزاد موجود در محیط بوده و از حمله این رادیکال‌ها به سایز اجزاء مستعد اکسیداسیون از جمله چربی‌ها جلوگیری می‌کنند، ولی در صورتی که غلظت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در محیط از حدی بیش‌تر باشد، دیگر رابطه مستقیمی را با قدرت مهار رادیکالی بروز نمی-دهند و حتی در غلظت‌های بالا ممکن است از خود خاصیت پرواکسیدانی نشان دهند (هاشمی و همکاران، ۱۳۹۳). مقایسه درصد بازدارندگی اسانس پوست پرتقال با ضد اکسیدان TBHQ نشان داد، میزان EC_{50} برای اسانس پوست پرتقال به طور معنی داری در سطح ۰/۰۵ بالاتر از TBHQ می‌باشد که نشان دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر TBHQ نسبت به اسانس پوست پرتقال می‌باشد. در واقع شاخص EC_{50} نسبت معکوسی با فعالیت آنتی اکسیدانی دارد (Molyneux, 2004). در نتیجه اسانس پوست پرتقال در غلظت بالای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قدرت بازدارندگی معادل ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی لیتر آنتی اکسیدان TBHQ دارد. در مطالعه‌ای که Kammal و همکاران (۲۰۱۳) انجام دادند، درصد مهار رادیکال‌های آزاد را برای ۱۰۰ پی پی ام اسانس نارنگی، پرتقال و گریپ فروت به ترتیب ۲۴/۰۸، ۱۴/۰۵، ۱۸/۴۷ درصد گزارش دادند که بسیار کمتر از مقدار مشاهده شده در تحقیق حاضر بود. در واقع چندین عامل مانند شرایط محیطی، نحوه نگهداری و حفاظت از ماده اولیه استخراج، درجه رسیدگی میوه، عوامل ژنتیکی و همچنین بسیاری از پارامترهای مربوط به روش استخراج (دما، زمان تماس، نوع حلال و غیره ...) می‌تواند کمیت و کیفیت ترکیبات فنلی را تحت تاثیر قرار دهد. همان طور که در بخش قبلی ذکر شد،

www.SID.ir

Archive of SID

با بررسی نتایج مقدار فنل اسانس پوست پرتقال با سایر گیاهان می‌توان گفت که هر چه مقادیر فنل بیشتر باشد، اسانس خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری نشان می‌دهد. بر همین اساس می‌توان گفت میزان فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی موجود در اسانس پوست پرتقال و سایر گیاهان نامبرده را توجیه می‌کند (محمدی و همکاران، ۱۳۹۵). در مطالعه Mercy Nisha Pouline و همکاران (۲۰۱۵) فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس *Chaerophyllum libanoticum* از تیره چتریان را با آزمون DPPH ارزیابی نموده و EC_{50} را حدود ۳۰ mg/ml گزارش کردند. در مطالعه دیگر، Zhang و همکاران (۲۰۰۶)، مقدار EC_{50} اسانس *Petroselinum crispum* را ۸۰/۲۱ mg/ml گزارش کردند که بیانگر فعالیت پایین این اسانس است.

در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس پوست پرتقال علاوه بر روش DPPH از روش قدرت احیاء کنندگی آهن هم استفاده شد. در واقع به دلیل تنوعی که در ترکیبات گیاهان مختلف وجود دارد، معمولا از چندین روش برای بررسی اثرات آنتی اکسیدانی استفاده می‌شود تا معایب روش‌های مختلف پوشانده شود. با مقایسه نتایج این دو روش طبق نمودار ۱ و ۲ ارتباط مستقیمی بین آن‌ها مشاهده می‌گردد و اسانسی که در آزمون DPPH ، درصد مهار رادیکال بیشتری داشت، قدرت احیاء کنندگی بیشتری هم از خود نشان داد. علت این موضوع را می‌توان این گونه بیان کرد، اسانس‌های گیاهی حاوی مقادیر بالایی از ترکیبات فنولیک، از فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی تری برخوردار هستند. در نتیجه ظرفیت دهندگی الکترون (نیروی احیاءکنندگی) مرتبط با فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات زیست فعال است (محمدی و همکاران، ۱۳۹۵). طبق نتایج حاصل از آزمون DPPH و قدرت احیاءکنندگی، TBHQ نسبت به اسانس پوست پرتقال فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری از خود نشان داد، چرا که کمترین EC_{50} در آزمون DPPH (۰/۰۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و نیز بیشترین قدرت احیاءکنندگی آهن (۰/۹ میلی مول آهن (II) در میلی‌گرم نمونه) مربوط به TBHQ بود. به طوری که این اختلاف معنی‌دار بود ($P<0.05$)، هر چند نتایج حاصل از آزمون قدرت احیاءکنندگی، نتایج حاصل از آزمون DPPH را تا حدود زیادی تایید می‌کند با این تفاوت که در آزمون DPPH برخلاف قدرت احیاکنندگی بین TBHQ با اسانس ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. عوامل مختلفی می‌تواند علت این اختلاف باشد، در واقع به تفاوت در نوع آزمون بر می‌گردد، مثلا واکنش رادیکال آزاد و DPPH برگشت پذیر بوده که این قابلیت بازگشت باعث می‌شود که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بسیاری از آنتی اکسیدان‌ها معمولا کمتر از حد مشخص خوانده شود و یا ساختار شیمیایی آنتی اکسیدان و قطبیت محیط که در واکنش با DPPH ایجاد تداخل می‌نماید (حسینی و همکاران، ۱۳۹۳).

- تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس پوست پرتقال روی عدد پراکسید روغن سویا

با توجه به نمودار ۳ می‌توان استنباط کرد که با افزایش زمان نگهداری نمونه‌های روغن در شرایط اکسیداسیون، میزان عدد پراکسید افزایش یافت. این افزایش در میزان عدد پراکسید را می‌توان به تشکیل هیدروپراکسیدها یعنی محصولات اولیه اکسیداسیون نسبت داد. در روزهای آغازین همه تیمارهای حاوی آنتی‌اکسیدان طبیعی و سنتزی توانسته بودند توان آنتی‌اکسیدانی خود را حفظ کنند بنابراین تفاوت بین تیمارها در روزهای آغازین آشکار نبود ولی 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 تاثیر آن‌ها کاسته می‌شود تا زمانی که کاملا بی‌اثر شوند (محمدی و همکاران، ۱۳۹۵). طبق نمودار در همه روزهای مورد مطالعه، با افزایش غلظت اسانس پوست پرتقال از ۲٪ به ۵٪، میزان عدد پراکسید کمتر افزایش یافته بود به بیان دیگر به تاخیر اندازی اکسیداسیون و اثر آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. در غلظت‌های بالاتر ترکیب‌های فنلی به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی اسانس افزایش می‌یابد (محمدی و همکاران، ۱۳۹۵). ولی با افزایش غلظت اسانس از ۵٪ به ۱۰٪ اختلات آماری معنی‌داری مشاهده نشد و با افزایش بیش‌تر اسانس در غلظت بالاتر (۲۰٪) اثر عکس نشان داد. هر چند در آزمون DPPH و قدرت احیاءکنندگی اسانس پوست پرتقال در غلظت ۲۰٪ یا ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر از خود

www.SID.ir

Archive of SID

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد ولی با افزودن این غلظت از اسانس به روغن از خود فعالیت پراکسیدانی نشان داد. چرا که ترکیبات موجود در اسانس با رادیکال‌ها و محصولات اکسیداسیون در طول نگهداری ترکیب و کمپلکس‌هایی را ایجاد می‌کند که خود می‌تواند به عنوان پراکسیدان عمل کند و اکسیداسیون را افزایش دهد (صداقت بروجنی و همکاران، ۱۳۹۳). نمونه کنترل که حاوی هیچ آنتی‌اکسیدانی نبود در مقایسه با بقیه تیمارها بیشترین مقدار عدد پراکسید را در همه روزها داشت ($P<0.05$). ولی بین نمونه کنترل با نمونه حاوی اسانس ۲۰٪ اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشد. در فرضیه‌ای که توسط آرماندو و همکاران (۱۹۹۸) در مورد اثر پراکسیدانی عصاره دانه رازیانه با غلظت بالا بیان شد، علت این پدیده را مربوط به اثر بلوکه کننده آلفاتوکوفرول موجود در روغن سویای تصفیه شده روی ترکیبات دارای گروه‌های هیدروکسیل در عصاره دانه رازیانه دانستند که منجر به دام انداختن ضد اکسایندها و به دنبال آن افزایش سرعت اکسایش، به خصوص در غلظت‌های بالای عصاره و دماهای بالای نگه‌داری به طور همزمان می‌شود.

- تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس پوست پرتقال روی عدد تیوباربیتوریک اسید روغن سویا

با توجه به نمودار ۴، مقدار تیوباربیتوریک اسید در روزهای ابتدایی پایین است، اما با گذشت زمان وقتی میزان پراکسید به حد معینی افزایش یافت از آن جا که هیدروپراکسید ناپایدار بوده، به راحتی به مولکول‌های کم وزن ترکیبات اکسیژنی مانند: الکل‌ها، آلدئیدها، اسیدهای چرب آزاد، کتون‌ها شکسته می‌شود و در نتیجه عدد TBA افزایش می‌یابد (Mohammadi *et al.*, 2016). طبق نمودار اندیس TBA در همه نمونه‌ها صعودی بوده و مقدار این اندیس بعد گذشت زمان افزایش یافت. ولی در روز شانزدهم مقدار TBA کاهش یافت که کاهش در تیوباربیتوریک اسید ممکن است به علت اکسید شدن آلدهیدها به کربوکسیلیک اسید باشد (Taghvaei *et al.*, 2014). نمونه کنترل بیش‌ترین میزان عدد TBA را نسبت به کلیه تیمارها از خود نشان داد. پایین‌ترین مقدار آن مربوط به روغن سویای حاوی TBHQ بود که با بقیه نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت ($P<0.05$). با افزایش غلظت اسانس از ۲٪ به ۵٪ و سپس به ۱۰٪ مقدار اندیس TBA کاهش یافت هر چند از لحاظ آماری بین این سه نمونه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. ولی با افزایش غلظت اسانس به ۲۰٪ اندیس TBA افزایش یافت که از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P<0.05$). مطابق با نتایج تحقیق حاضر، مظاهری کلهرودی و همکاران (۱۳۹۳)، نشان دادند با افزایش غلظت عصاره دانه رازیانه در روغن سویا تا محدوده ۴۰۰ mg/l، میزان تولید محصولات ثانویه اکسایش و هم‌چنین شدت اکسایش کاهش یافته اما در غلظت‌های بالاتر از میزان ذکر شده به علت افزایش اثرات پرواکسیدانی سرعت اکسایش افزایش می‌یابد.

- تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس پوست پرتقال روی عدد دی ان مزدوج روغن سویا

به طور کلی، سطوح بیشتر عدد دی ان مزدوج نشان دهنده پایداری کمتر روغن به اکسیداسیون می‌باشد. بر اساس نمودار ۵، نمونه کنترل بیش‌ترین میزان عدد دی ان مزدوج را نسبت به کلیه تیمارها از خود نشان داد که ناشی از عدم افزوده شدن ضداکساینده بود. پایین‌ترین مقدار آن مربوط به روغن سویای حاوی TBHQ بود که با نمونه حاوی اسانس ۵٪ و ۱۰٪ اختلاف معنی‌داری نداشت ولی با بقیه نمونه‌ها دارای اختلاف آماری بود ($P<0.05$). با افزایش غلظت اسانس از ۲٪ به ۵٪ و ۱۰٪ مقدار دی ان مزدوج کاهش یافت، هرچند اختلاف آماری معنی داری بین این سه نمونه دیده نشد. اما در غلظت‌های بالاتر از میزان ذکر شده یعنی در غلظت ۲۰٪ به علت افزایش اثرات پرواکسیدانی سرعت اکسایش افزایش یافت به طوری که با نمونه کنترل اختلاف آماری نداشت که مطابق با دو آزمون قبلی بود. مطابق با یافته‌های این تحقیق، عیوقی و همکاران (۱۳۸۸)، نشان دادند که با افزایش غلظت اسانس شوید تا ۰/۶ mg/ml در روغن سویا، فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت ولی در غلظت بالاتر از میزان ذکر شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن کاسته و با توجه به افزایش ناخالصی‌های موجود در اسانس و به علت وجود ترکیبات فنولیک بیشتر، بر اثرات پرواکسیدانی آن افزوده شد (Kammal-Eldin & Appelqvist, 1996 : عیوقی و همکاران، ۱۳۸۸).

www.SID.ir

Archive of SID

طبق نتایج، بالاترین پایداری اکسایشی به آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ و سپس به اسانس پوست پرتقال با غلظت ۵٪ و ۱۰٪ تعلق گرفت اما قابل ذکر است که اسانس پوست پرتقال در این دو غلظت فعالیت آنتی‌اکسیدانی نزدیک به یک‌دیگر داشتند و در نتایج حاصل از هر سه آزمون آون، بین این دو غلظت اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. بنابراین اسانس پوست پرتقال با غلظت ۵٪ نسبت به بقیه غلظت‌ها، عملکرد بهتری داشت. چرا که در غلظت کم ۵٪، فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر و یا برابر با غلظت ۱۰٪ از خود نشان داد.

در تحقیق انجام گرفته توسط Fazel و همکاران (۲۰۰۸)، اثرات آنتی اکسیدانی روغن بذر چای در دو سطح ۵٪ و ۱۰٪ در روغن ماهی کیلکا، با استفاده از آزمون آون بررسی شد. تغییرات عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۳ روز، نشانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مورد نظر بود (Fazel *et al.*, 2008).

Ozkan و همکاران (۲۰۰۷)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس *Satureja Cilicica* را در سه غلظت ۱،۰/۵ و ۲ درصد در کره بررسی کردند، ارزیابی عدد پراکسید نشان دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای این اسانس در کره بود و با افزایش غلظت تا ۲٪ اثر آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش می‌یافت (Ozkan *et al*, 2007).

محققین نشان دادند که پایین‌ترین میزان شاخص پراکسید و به دنبال آن بالاترین درصد فعالیت ضداکسایشی در روغن، در حضور غلظت‌های معینی از ضداکساینده‌های طبیعی به کار رفته، به دست می‌آید بنابراین درصد فعالیت ضداکسایشی با شدت اکسایش لیپید اثر معکوسی دارد (Yekrang & Javanmard, 2009). قابل ذکر است که آنتی اکسیدان TBHQ قوی‌ترین آنتی اکسیدان سنتزی در صنعت روغن محسوب می‌شود، چرا که به علت ساختار مولکولی ویژه‌اش و با در اختیار داشتن دو گروه هیدروکسیل در موقعیت پارا، به راحتی می‌تواند اتم هیدروژن را در اختیار رادیکال‌های آزاد قرار داده و به واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون سریع‌تر خاتمه دهد (محمدی و عربشاهی دلویی، ۱۳۹۶).

- تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس پوست پرتقال روی رنگ روغن سویا

رنگ یک عامل مهم در کیفیت روغن‌های خوراکی است. طبق نمودار ۶، مقدار شاخص رنگی در تمام نمونه‌ها با افزایش زمان حرارت‌دهی افزایش یافت. افزایش شاخص رنگی به انجام فرایند اکسایشی نسبت داده می‌شود که به طور معمول به تولید هیدروپراکسیدها، اسیدهای دی ان مزدوج، اپوکسیدها، هیدروکسیدها و کتون‌ها منجر می‌گردد. این ترکیبات ممکن است متحمل اکسایش بیشتری شده، به ترکیبات کوچک‌تری تجزیه شوند یا آنکه متصل به بخش تری‌گلیسرید باقی بماند و بر اثر ایجاد اتصلات عرضی، تری‌گلیسریدها دیمری و پلیمری را پدید آورند (Logani & Davies, 1980). هر چند بیشترین مقدار شاخص رنگی مربوط به نمونه حاوی TBHQ و کمترین آن مربوط به نمونه حاوی اسانس ۲۰٪ بود ولی از لحاظ آماری، بین نمونه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج مشابه با روش رنگ سنجی با دستگاه پردازش تصویر بود، چرا که طبق جدول ۲ مشاهده می‌گردد از لحاظ آماری، بین مقدار L* و ΔE نمونه‌ها اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت. فاکتور ΔE نشان دهنده کاهش کیفیت رنگ می‌باشد و در حقیقت تفاوت رنگ تیمارها را با نمونه کنترل نشان می‌دهد، نتایج نشان داد، تفاوت رنگ روغن حاوی آنتی اکسیدان سنتزی کمتر از آنتی‌اکسیدان طبیعی بود، و آن هم به علت افزایش در مقدار L* روغن حاوی اسانس و افزایش روشنایی روغن می‌باشد. در واقع اسانس پوست پرتقال، مایع روغنی شفاف و بی رنگ می‌باشد که افزودن آن به روغن سویا باعث شد تا رنگ روغن سویا کم رنگ شده و میزان روشنایی بیشتر شود. ولی از لحاظ آماری، هیچ اختلافی وجود نداشت و به طور کلی ظاهر نمونه‌ها شبیه هم بود و هیچ تفاوت مشهودی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری

طبق نتایج این تحقیق، اسانس پوست پرتقال، فعالیت آنتی اکسیدانی مناسبی در روغن سویا از خود نشان داد. همچنین با افزایش غلظت اسانس تا ۵٪، فعالیت ضداکسیدانی اسانس افزایش یافت و نسبت به نمونه کنترل (فاقد آنتی‌اکسیدان) ماندگاری روغن سویا افزایش یافت. ولی با دو برابر شدن غلظت از ۵٪ تا ۱۰٪، در فعالیت آنتی‌اکسیدانی اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ثابت ماند. در غلظت‌های خیلی بالاتر

www.SID.ir

Archive of SID

(۲۰٪)، اسانس به جای نقش آنتی‌اکسیدانی به عنوان نقش پراکسیدان یا تشدید کننده اکسیداسیون عمل کرد. هر چند فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس پوست پرتقال در آزمون پراکسید و تیوباربیتوریک اسید کمتر از TBHQ بود ولی طبق آزمون دی ان مزدوج بین اسانس پوست پرتقال در سطح ۵٪ و ۱۰٪ با TBHQ اختلافی مشاهده نشد ($P<0.05$). در نتیجه عوارض مضر ناشی از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، باعث می‌شود که از آنتی اکسیدان‌های طبیعی مانند اسانس پوست پرتقال در مواد غذایی، جهت به تاخیر انداختن پراکسیداسیون لیپید می‌توان استفاده نمود.

منابع

امینی، ب.، کرامت، ج.، حجت الاسلامی، م.، جهادی، م. و محمودیان، ک. (۱۳۹۴). ارزیابی اثرات آنتی اکسیدانی گیاه مرزه زراعی در روغن کلزا و روغن ماهی کیلکا، علوم غذایی و تغذیه، سال دوازدهم، شماره ۳، ۳۸-۲۹.

جعفرپور، س. ع. (۱۳۹۵). برآورد مقایسه‌ای پارامترهای L*a*b* از داده‌های RGB عکس دیجیتالی با استفاده از دستگاه سنجش رنگ IMG-Pardazesh، نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، سال دوازدهم، شماره ۵، صفحات ۵۶۴-۵۵۶.

حسینی، س.، قراچورلو، م.، غیاثی طرزی، ب. و قوامی، م. (۱۳۹۳). مروری بر روش‌های تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (اساس واکنش، روش کار، نقاط قوت و ضعف)، علوم غذایی و تغذیه، سال یازدهم، شماره ۴، ۱۱۲-۸۹.

حقیقت خرازی، س.، اسماعیل زاده کناری، ر. و رفتنی امیری، ز. (۱۳۹۲). اثر تیمار حرارتی بر تغییرات شیمیایی و پایداری اکسایشی روغن زیتون بکر ارقام رایج ایرانی منطقه رودبار: مطالعه ای بر زرد، ماری وفیشمی. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، سال نهم، شماره ۴، صفحات ۳۳۹-۳۳۰.

شهسواری، ن.، برزگر، م.، سحری، م.ح. و نقدی بادی، ح. (۱۳۸۷). بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora Boiss.*) در روغن سویا. فصلنامه گیاهان دارویی، سال هفتم، شماره ۴، صفحات ۶۸-۵۶.

صداقت بروجنی، ل.، حجت الاسلامی، م.، کرامت، ج. و قاسمی پیربلوطی، ع. (۱۳۹۳). مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس برگ مورد (*Myrtus communis*) و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بر خواص فیزیکوشیمیایی چیپس سیب زمینی و روغن حاصل از آن طی زمان ماندگاری. نشریه نوآوری در علوم و فناوری غذایی، سال ششم، شماره ۴، صفحات ۷۴-۶۸.

طاهانژاد، م.، برزگر، م.، سحری، م.ع. و نقدی بادی.ح. (۱۳۹۰). ارزیابی فعالیت ضداکسایشی اسطوخودوس (*Lavandulaangustifolia*) در سامانه روغن خام سویا. فصلنامه گیاهان دارویی، سال یازدهم، شماره ۱، صفحات ۱۴۰-۱۲۷.

عیوقی، ف.، برزگر، م.، سحری، م. ع. و نقدی بادی، ح. (۱۳۸۸). بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس شوید (*Anethumgraveolens*) در روغن سویا و مقایسه آن با آنتی اکسیدان های شیمیایی. فصلنامه گیاهان دارویی، سال دوم، شماره ۳۰، صفحات ۸۳-۷۱.

قره خانی، م.، قربانی، م.، ابراهیم زاده، م.ع.، جعفری، س.م. و صادقی ماهونک، ع. (۱۳۸۸). اثر عصاره برگ گیاه گزنه (*Urtica dioica*) در جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا. مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری مواد غذایی، سال اول، شماره ۲، صفحات ۱۰۲-۸۵.

کبیری، س. و سیدالنگی، س. ز. (۱۳۹۴). مقایسه ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف برگ گیاه بادرنجبویه (*Melissaofficinalis*) حاصل از دو روش استخراج غرقابی و استخراج به کمک امواج مایکروویو و تاثیر آن بر پایداری اکسایشی روغن سویا. فصلنامه فناوری‌های نوین غذایی، سال دوم، شماره ۸، صفحات ۳۸-۲۳.

محمدی، ر. فاضل، م. و خسروی، ا. (۱۳۹۵). بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) بر پایداری روغن سویا، علوم غذایی و تغذیه، سال چهاردهم، شماره ۱، ۸۸-۷۷.

محمدی، ع. و عربشاهی دلویی، س. (۱۳۹۶). ارزیابی ترکیبات موثره و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس الئوگم رزین کندر (*Boswellia serrata*)، علوم و صنایع غذایی، سال چهاردهم، شماره ۶۳، ۱۱۷-۱۰۷.

www.SID.ir

Archive of SID

مظاهری کلهرودی، م.، بصیری، ع. و جلالی، ح. (۱۳۹۳). بررسی اثر ضداکسایشی عصاره دانه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) در روغن سویا و مقایسه آن با ضداکساینده های سنتزی BHA وBHT. فصلنامه علوم و فناوری های نوین غذایی، سال اول، شماره ۳، صفحات ۱۵-۲۷.

منصوری اطمینان، س.، الهامی راد، ا.ح. و حداد خداپرست، م. ح. (۱۳۹۵). ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برگ گیاه پنج انگشت (*Vitexagnuscastus*) بر پایداری اکسیداتیو روغن سویا طی نگهداری. نشریه نوآوری در علوم و فناوری غذایی، سال هشتم، شماره ۲، صفحات ۳۴-۲۲.

میرزا، م. و باهرنیک، ز. (۱۳۸۵). نقش ترپن زدایی در ترکیب اسانس پوست پرتقال. فصلنامه علمی- پژوهشی گیاهان معطر و دارویی، سال بیست و دوم، شماره ۳، صفحات ۲۵۵-۲۵۰.

هاشمی، ز.، حجتی، م. وطاهانژاد، م. (۱۳۹۳). بررسی فعالیت ضداکسیدانی اسانس برگ نارنج (*Citrus aurantium L.*) در مقایسه با ضد اکسیدان سنتزی TBHQ در روغن خوراکی، فصلنامه فناوری‌های نوین غذایی، سال دوم، شماره ۶، صفحه ۵۷-۴۳.

Aberomand Aazar, P., Nekoei, M., Larijani, K. & Bahraminasab, B. (2011). Chemical composition of the essential oils of Citrus sinensis cv. Valencia and a quantitative structure–retention relationship study for the prediction of retention indices by multiple linear regression, Journal of the Serbian Chemical Society, 76 (12), 1627–1637.

Al- Juhaimi, F. & Ghafoor, K. (2013). Bioactive compounds, antioxidant and physico-chemical properties of juice from lemon, mandarin and orange fruits cultivated in Saudi arabia, Pakistan Journal of Botany., 45(4): 1193-1196.

AOAC. (2005). Official methods of Analysis, 15th Edition. Association of official analytical chemist.

AOCS. (2007). Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society (7th ed). Champaign: American Oil Chemists-Society.

Arawande, J. O., & Kom olafe, E. A. (2010). Antioxidative potentials of banana and plantain peel extracts on crude palm oil. Ethnobotanical Leaflets, 14, 559–569.

Arawande, J. O. & Ogunyemi, O. Y. (2012). Effect of methanol and water extracts of African lettuce (Lactuca taraxacifolia) on staility of refined palm kernel oil. Nigerian Food Journal, 30(2), 1–7.

Armando, C., Maythe, S. & Beatriz, N. P. (1998). Antioxidant activity of Grapefruit seed extract on vegetable oils. Journal of the Science of Food and Agricalture, 77(4): 463-467.

Aryee, A. N. A., Simpson. B. K., Phillip, L.E. & Cue, R. l. (2011). Effect of Temperature and Time on the Stability of Salmon Skin Oil During Storage. Journal of the American Oil Chemistry' Society, 45, 3244-3249.

Asikn, Y., Taira, I. K., Inafuku, S. A., Umi, H. S., Sawamura, M., Takara, K. & Wada, K. (2012). Volatile Aroma Components and Antioxidant Activities of the Flaveo Peel Exract of Unripe Shiikuwasha (Citrus depressa Hayata). Journal of Food Science, 77 (4), 469-475.

Bachari-Saleh, Z., Ezzatpanah, H., Aminafshar, M. & Safafar, H. (2013). The Effect of Refining Process on the Conjugated Dienes in Soybean Oil. Journal of Agricultural Science and Technology, 15: 1185-1193.

Beyki, M., Zhaveh, S., Khalili, S. T., Rahmani-Cherati, T., Abollahi, A., Bayat, M., Tabatabaei, M. & Mohsenifar, A. (2014). Encapsulation of Mentha piperita Essential Oils in Chitosan-cinnamic Acid Nanogel with Enhanced Antimicrobial Activity against Aspergillus flavus. Industrial crops and products, 54**,** 310–319.

Bulmer, C., Margaritis, A. & Xenocostas, A. (2012). Production and Characterization of Novel Chitosan Nanoparticles for Controlled Release of rHu-Erythropoietin. Biochemical Engeering Journal, 68**,** 61-69.

Cho, E. G., Holback, H., Liu, K. C., Abouelmagd, S. A., Park, J. & Yeo, Y. (2013). Nanoparticle Characterization: State of the Art, Challenges and Emerging Technologies. Molecular Pharmaceutics Journal, 10, 2093-2110.

Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. M., Nabavi, S. F., Bahramian, F. & Bekhradnia, A. R. (2010). Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of H. Officinalis L. Var. Angustifolius, V. Dorata, B. Hyrcana and C.

www.SID.ir

Archive of SID

Logani, M. K. & Davies, R. E. (1980). Lipid oxidation: biological effects and antioxidans. Journal of Lipids. Review, 15, 485- 495.

Matasyoh, J. C., Kiplimo, J. J., Karubiu, N. M. & Hailstorks, T. P. (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of Tarchonanthus camphorates. Food Chemistry,101, 1183-1187.

Mercy Nisha Pauline. J, Nithyalakshmi. B. & Aadhithiya Lakshmi. R. (2015). Extraction of Orange Oil by Improved Steam Distillation and its Characterization Studies, International Journal of Engineering Technology, Management and Applied Sciences, 3(2), 198-205.

Mohammadi, A., Jafari, S. M., Esfanjani, A. F. & Akhavan, S. (2016). Application of nano-encapsulated olive leaf extract in controlling the oxidative stability of soybean oil, Food Chemistry, 190, 513-519.

Mostafa, D. M., Kassem, A. A., Asfour, M. H., Al Okbi, S. Y., Mohamed, D. A. & Hamed, T. E. S. (2015). Transdermal cumin essential oil Nano Emulsions with potent antioxidant and Hepato protective activities: In-vitro and in-vivo evaluation, Journal of Molecular Liquids, 212, 6–15.

Nikkhah, F., Sefidkon, F. & Sharifi Ashoorabadi, E. (2009). The effect of distillation methods and plant growth stages on the essential oil content and composition of Thymus vulgaris L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 25(3), 309-320.

Ozkan, G., Simsek, B. & Kuleasan, H. (2007). Antioxidant activities of Satureja cilicica essentialoil in butter and in vitro. Journal of Food Engineerind, 79, 1391 - 6.

Rajaei, A., Barzegar, M. & Yamini, Y. (2005). Supercritical fluid extraction of tea seed oil and its comparison with solvent extraction. Eur. European Food Research and Technology, 220, 401 – 405.

Rehab, F. M. A. (2010). Improvement the stability of fried sunflower oil by using different levels of Pomposia (Syzyyium Cumini). Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemisrty, 9(2), 396–403.

Saguy, I. S., Shani, A., Weinberg, P. & Garti, N. (1996). Utilization of jojoba oil for deep-fat frying of food, LWT-Food Science and Technology, 29, 573-577.

Speciosum, Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 23(1), 29-34.

Esmaeilzadeh Kenari, R., Mohsenzadeh, F. & Raftani Amiri, Z. (2014). Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-assisted extraction methods. Food Science & Nutrition, 2(4), 426–435.

Espinosa-Pardoa, F. A., Nakajimab, V. M., Alves Macedob, G., Macedob, J. A. & Martíneza, J. (2016). Extraction of phenolic compounds from dry and fermented orange pomace using supercritical CO2 and co solvents. food and Bioproducts processing, 1-10.

Fazel, M., Sahari, M. A. & Barzegar. M. (2008). Determination of main tea seed oil antioxidant and their effects on common kilka oil. International Food Research Journal, 15, 209 - 217

Frassinetti, S., Caltavuturo, L., Cini, M. & Della Croce, C. M. (2011). Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oils from Citrus spp, Journal of Essential Oil Research, 23, 27-31.

Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B. & Kader, A. A. (2002). Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 4976-4982.

Jorge, N., Silva, C. D. & Aranha, C. P. M. (2016). Antioxidant activity of oils extracted from orange (Citrus sinensis) seeds, Anais da Academia Brasileira de Ciências, 88(2), 951-958.

Kammal-Eldin, A. & Appelqvist, L. (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. Lipids; 31, 671–701

Kammal, GH. M., Ashraf, M. Y., Hussain, A. I., Shahzadi, A. & Chughtal, M. I. (2013). Antioxidant potential of peel essential of three Pakistani citrus spcies: citrus reticulate, citrus sinensis and citrus paradisii, Pakistan Journal of Botany, 45(4), 1449-1454.

Khan, M. M., Iqbal, M., Hanif, M. A., Mahmood, M. S., Naqvi, S. A., Shahid, M. & Jaskani, M. J. (2012). Antioxidant and Anti Pathogenic Activities of Citrus Peel Oils, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 15 (6), 972 – 979.

www.SID.ir

Archive of SID

Sahari, M. A., Ataii, D. & Hamedi, M. (2004). Characteristics of tea seed oil in comparison with sunflower and olive oils and its effect as a natural antioxidant. Journal of the American Oil Chemists' Society، 81, 585 - 8.

Saricoban, C. & TahsinYilmaz, M., (2010), Modelling the Effects of Processing Factors on the Changes in Colour Parameters of Cooked Meatballs Using Response Surface Methodology, World Applied Sciences Journal, 9 (1), 14-22.

Sharma, N. & Tripathi, A. (2006). Fungi toxicity of the essential oil of Citrus sinensis on postharvest pathogens. World Journal Microbiology and Biotechnolology, 22, 587-593.

Singh, P., Shukla, R., Prakash, B., Kumar, A., Singh, S., Mishra, P. K. & Dubey, N. K. (2010). Chemical profile, antifungal, anti Aflatoxigenic and antioxidant activity of Citrus maxima Burm and Citrus sinensis (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene, Food and Chemical Toxicology, 48, 1734–1740.

Taghvaei, M., Jafari, S. M., Sadeghi Mahoonak, A. R., Mehregan Nikoo, A., Rahmanian, N. & Hajitabar, J. (2014). The effect of natural antioxidants extracted from plant and animal resources on the oxidative stability of soybean oil. LWT – Food Science and Technology, 56, 124–130.

Teixeira, M. I., Andrade, L. R., Farina, M. & Rocha-Leao, M. H. M. (2004). Characterization of short chain fatty acid microcapsules produced by spray drying. Materials Science and Engineering: C, 24, 653–658.

Trabelsi, D., Ammar, A. H., Bouabdallah, F. & Zagrouba, F. (2014). Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils and Methanolic Extracts of Tunisian Citrus aurantium L., IOSR. Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology, 8(5), 18-27.

Yekrang, A. & Javanmard, M. (2009). Evaluation of antioxidant activity of grape fruit seed extract on the stability of anchovy oil. Journal of Food Technology and Nutrition, 9(1), 49-60.

Zhang, H, Feng, C. & Xi, W. (2006). Evaluation of antioxidant activity of parsley (Petroselinum crispum) essential oil and identification of its antioxidant constituents. Food Chemistry, 39, 833 - 9.

www.SID.ir

Archive of SID

Investigate the Antioxidant Properties of Orange Peel Essential Oil *(Citrus sinesis)* on the Stability of Soybean Oil During Storage Conditions

B. Dehghan[a], R. Esmaeilzadeh Kenari[b*], Z. Raftani Amiri[b]

[a] M. Sc. Student of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

[b] Associate Professor of the Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

Received: 7 November 2017 Accepted: 12 March 2018

Abstract

Introduction: The aim of this study is to investigate the type and amount of phenolic compounds in orange peel essential oil as a source of natural antioxidant and its effect on the oxidative stability of soybean oil.

Materials and Methods: The compounds in orange peel essential oil were determined using GC / MS. The antioxidant activity was evaluated by the method of iron regeneration test and DPPH and then the essential oil in four different concentrations (2%, 5%, 10% and 20%) and the synthetic antioxidant TBHQ in the permissible range (0.01%) were added to soybean oil. Finally, the peroxide and thiobarbituric acid and conjugate diene values were determined.

Results: D-Limonene was the predominant compound in orange peel essential oil. One gram of essential oil of orange peel contains 0.16 mg phenolic compounds based on dry galic acid. According to DPPH and regenerative power, orange peel essential oil showed antioxidant activity, although it was less active than TBHQ. Based on the oven test results as the concentration of essential oil is increased, higher antioxidant activity was observed. There was no significant difference between 5% and 10% concentrations based on the statistical tests, but with an increase in concentration up to 20%, the essential oil was acting as pro-oxidant ($P < 0.05$). The result indicated that essential oil had the highest antioxidant activity at 5% concentration.

Conclusion: The result indicated that the essential oil of orange peel had stabilising effect on soybean oil during thermal conditions as compared to control sample ($P < 0.05$). Therefore, it might be employed as a natural antioxidant in foods, particularly those containing edible oils.

Keywords: *Antioxidant Activity, Orange Peel Essential Oil, Soybean Oil, TBHQ.*

* Corresponding Author: reza_kenari@yahoo.com

www.SID.ir