نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۳ شماره ۲/ سال ۱۳۹۲

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه ولیک در پایدارسازی روغن سویا

شهلا سلمانیان[۱]، علیرضا صادقی ماهونک[*۲]، مهران اعلمی[۳] و محمد قربانی[۲]

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۳ تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۱۱

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
[۲]دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
[۳] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
[*]مسئول مکاتبه:Email: sadeghiaz@yahoo.com

چکیده

میوه دارویی ولیک بر روی برخی از سیستم‌های فیزیولوژیکی بدن مانند سیستم قلبی-عروقی اثرات سلامت بخشی دارد که این اثرات مفید با حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در میوه مرتبط است. در این پژوهش، سنجش میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل عصاره‌های استونی و اتانولی میوه ولیک به روش اسپکتروفتومتری انجام شد و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها با آزمون‌های مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و قدرت احیاءکنندگی مورد بررسی قرار گرفت و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه شد. همچنین تاثیر عصاره استونی بر پایداری اکسایشی روغن سویا با اندازه‌گیری دو فاکتور اندیس پراکسید و اسید تیوباربیتوریک بررسی شد. نتایج نشان داد که بالاترین میزان ترکیبات فنول و فلاونوئید به ترتیب ۱۰۰/۷۵ میلی‌گرم گالیک اسید برگرم عصاره و ۲/۱٤ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره و نیز بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در کلیه آزمون‌ها متعلق به عصاره استونی بود. این عصاره توانست تنها در آزمون DPPH فعالیت ضد رادیکالی بهتری نسبت به BHT نشان دهد. علاوه بر این، این عصاره در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام نسبت به BHT در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام توانست به طور موثری از تشکیل پراکسیدها در روغن سویا جلوگیری نماید. بنابراین، می‌توان میوه ولیک را منبع بالقوه‌ای از فنول‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها در نظر گرفت.

واژه‌های کلیدی: میوه ولیک، روغن سویا، آزمون DPPH، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

Antioxidant activity of hawthorn *(Crataegus elbursensis)* extract on stability of soybean oil

S Salmanian[1], AR Sadeghi Mahoonak[*2], M Alami[3] and M Ghorbani[2]

Received: July 24, 2012 Accepted: June 1, 2013
[1]MSc Student of Food Science and Technology, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, Iran
[2]Associate professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, Iran
[3]Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, Iran
[*]Corresponding Author, Email: sadeghiaz@yahoo.com

Abstract
Medicinal hawthorn fruit has health effects on certain physiological systems such as the cardiovascular that these effects are connected with the presence of antioxidants compounds. In this study, total phenolic and flavonoid contents of acetonic and ethanolic extract of hawthorn fruit were measured spectrophotometrically and antioxidant activity of the extracts were assessed by DPPH radical-scavenging activity, total antioxidant capacity and reducing power assay and compared with synthetic antioxidant namely BHT. Also, the effect of acetonic extract on oxidative stability of soybean oil was assessed using peroxide value and thiobarbituric acid index. Results showed that the highest phenolic and flavonoid content 100.75mg GA/g extract and 2.14 mg QU/g extract, respectively and also the most of antioxidant activities in whole of assays were related to the acetonic extract. This extract showed antiradical activity higher than BHT only in DPPH assay. Also, the extract at concentration of 1000 ppm effectively inhibited the formation of peroxides in soybean oil and revealed strong antioxidant activity compared with BHT at concentration of 200 ppm. Therefore, it can be concluded that hawthorn fruit is a good source of phenolic compounds and other natural antioxidants.

Keywords: Hawthorn fruit, soybean oil, DPPH assay, antioxidant activity

مقدمه

اکسیداسیون لیپید علاوه بر نقشی که در فساد موادغذایی ایفا می‌کند، اهمیت آن در سلامت انسان بویژه در ایجاد و پیشرفت بیماری‌هایی همچون سرطان، قلبی-عروقی، تصلب شرایین و فرآیند پیری بسیار مورد توجه و مطالعه قرارگرفته‌است. این پدیده نه تنها اثرات نامطلوبی بر عمر انبارداری بسیاری از فرآورده‌های غذایی دارد، بلکه در کاهش کیفیت تغذیه‌ای آن‌ها موثر است (احمدی و همکاران ۲۰۰۷ و شوکلا و همکاران ۲۰۰۹). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و یا طراحی فرمولاسیون مواد غذایی به گونه‌ای که خاصیت آنتی اکسیدانی آن مدنظر باشد بسیار مورد توجه قرارگرفته است تا بتوان بخشی از نیاز انسان امروزی را فراهم نماید. در سال های اخیر مواد غذایی طبیعی و ترکیبات آنتی اکسیدانی گیاهی مانند ویتامین‌ها و ترکیبات فنولی به دلیل عملکردهای مفید فراوان بر سلامت انسان و جلوگیری از آسیب‌های اکسیداتیو، توجه رو به رشدی را دریافت نموده‌اند (کیم و همکاران ۲۰۱۱). اخیرا استفاده از ترکیبات فنولی موجود در گیاهان به دلیل ویژگی‌های بالقوه آنتی‌اکسیدانی و اثرات سلامتی بخش، بویژه هنگامیکه این ترکیبات در مقادیر بالا در مواد غذایی حضور دارند، افزایش یافته است (آناگلوستوپولو و

همکاران ۲۰۰۶). همچنین ثابت شده است که منشا بسیاری از مواد دارویی و درمانی به دلیل متابولیسم ثانویه در گیاهان است که ترکیبات فنولی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و دارویی جزو متابولیت‌های ثانویه گیاهان به شمار می‌روند (مگانها و همکاران ۲۰۱۰ و موااندا و همکاران ۲۰۱۱).

ولیک گیاه دارویی با ارزشی از خانواده گل سرخ و جنس کراتگوس است. غالب گونه‌های تیره گل سرخ در نواحی معتدل نیمکره شمالی پراکنده‌اند. سیاه ولیک (*Crataegus elbursensis*) فراوان‌ترین گونه ولیک بومی ایران بوده که به فراوانی در جنگل‌های نواحی شمال کشور یافت می‌شود. میوه‌ها به رنگ سیاه یا آبی سیاه، بیضی یا کروی، به طول تقریبی ۱۰-۸ میلی‌متر با ۵-٤ عدد هسته می‌باشند (قهرمان، ۱۳۸٦). ولیک به دلیل برخورداری از اسیدهای فنولی، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها جایگاه ویژه‌ای در صنایع دارویی دارد که جهت درمان بیماری‌های قلبی- عروقی و نیز به عنوان منبع غنی از آنتی اکسیدان‌های طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۱ و لیو و همکاران، ۲۰۱۰). با توجه به اینکه، تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر استخراج، شناسایی و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات زیست فعال میوه ولیک ایرانی در منابع علمی ذکر نشده است، لذا معرفی و ارزیابی پتانسیل آنتی اکسیدانی این میوه دارویی بومی ایران حائز اهمیت است. هدف از این مطالعه اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استونی و اتانولی میوه با آزمون‌های مختلف و بررسی تاثیر عصاره ولیک بر پایداری اکسایشی روغن سویا است، تا بتوان از خواص دارویی و آنتی‌اکسیدانی آن در رژیم غذایی بهره برد.

مواد و روش‌ها

استخراج ترکیبات فنولی

در این تحقیق میوه‌ی ولیک (*Crataegus elbursensis*) بلافاصله بعد از جمع آوری از جنگل شصت کلاته گرگان در آذر ماه ۱۳۸۹ در آون با دمای ٤۰ درجه سانتیگراد خشک و سپس آسیاب گردید. پودر میوه با نسبت ۱:۱۰ با حلال (استون ۸۰ و اتانول ۸۰ درصد) مخلوط شد و در انکوباتور شیکردار با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸ ساعت قرار گرفت. بعد از اینکه عصاره‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره یک فیلتر شدند، عصاره‌ی اتانولی ابتدا توسط تبخیر کننده چرخشی تحت خلاء و عصاره استونی توسط آون تحت خلاء تغلیظ و سپس کلیه عصاره‌ها با خشک کن انجمادی، خشک و به پودر تبدیل شدند. پودرهای فنولی حاصل برای آزمایشات بعدی در فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتیگراد نگهداری شدند (عربشاهی و عروج ۲۰۰۷).

اندازه گیری ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل

میزان کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتو اندازه گیری شد. اساس کار در این روش، احیاء معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ با حداکثر جذب در طول موج ۷٦۰ نانومتر است. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم عصاره بیان شد (اسلینکارد و سینگلتون، ۱۹۷۷). سنجش میزان فلاونوئید کل به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید با روش چانگ و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد. از کوئرستین به منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره بیان شد.

ارزیابی فعالیت ضد رادیکالی و آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با آزمون‌های مختلف

جهت ارزیابی فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌ها با آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH (شیمادا و همکاران ۱۹۹۲) و نیز آزمون ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (پرایتو و همکاران ۱۹۹۹) محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۵۰۰-۵۰

میکروگرم در میلی‌لیتر) از پودر خشک شده و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT آماده شدند. همچنین، در بررسی توانایی عصاره‌ها برای احیاء آهن سه ظرفیتی در آزمون قدرت احیاءکنندگی، محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۹۰۰- ۱۰۰میکروگرم در میلی لیتر) از پودر خشک شده تهیه و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه گردید (یلدریم و همکاران ۲۰۰۱).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا

در این آزمون، عصاره استونی میوه در سه سطح مختلف (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در دو سطح (۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام) به روغن سویای تصفیه شده و فاقد آنتی‌اکسیدان اضافه شد و برای مدت معین (۱۶ روز) در آون با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت. طی فواصل زمانی روزهای صفر، چهارم، هشتم، دوازدهم و شانزدهم، عدد پراکسید (AOCS Cd 8-53 ۲۰۰۳) و نیز عدد اسید تیوباربیتوریک (AOCS Cd 19-90 ۲۰۰۹) نمونه‌های روغن اندازه‌گیری شد. توضیح عبارات اختصاری در جدول ۱ ارائه شده‌است.

آنالیز آماری

نتایج به دست آمده با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P< ۰/۰۵$) بر پایه طرح کاملا تصادفی صورت گرفت. آنالیزهای آماری با نرم افزار SAS انجام شد. کلیه آزمایشات در سه تکرار انجام شد.

جدول۱ - تعریف عبارات اختصاری

BHT-۱۰۰	روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام BHT
BHT-۲۰۰	روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام BHT
A -۲۵۰	روغن سویا حاوی ۲۵۰ پی‌پی‌ام عصاره استونی میوه ولیک
A-۵۰۰	روغن سویا حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره استونی میوه ولیک
A-۱۰۰۰	روغن سویا حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره استونی میوه ولیک

نتایج و بحث

میزان ترکیبات فنول و فلاونوئید

مقایسه میانگین میزان کل ترکیبات فنول و فلاونوئید استخراج شده توسط حلال های استون و اتانول (۸۰ درصد) از میوه ولیک در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج آنالیز واریانس نشان داد، نوع حلال مورد استفاده جهت استخراج، تاثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بر مقدار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌ها داشت. بالاترین مقدار ترکیبات زیست فعال قابل استخراج، توسط حلال استون استخراج گردید.

قابلیت استخراج ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات در عصاره خام به فاکتورهای زیادی از جمله قطبیت و pH حلال‌ها، زمان و دمای استخراج و نیز نوع و ساختار شیمیایی ترکیبات فنولی بستگی دارد (آنتولوویچ و همکاران ۲۰۰۰). در بررسی استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی میوه‌های آناناس، موز و گاوا با حلال‌های مختلف نتایج نشان داد، استون موثرترین سیستم حلال برای استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بود. نوع حلال مورد استفاده تاثیر معنی‌داری بر میزان استخراج ترکیبات فنولی داشت. آن‌ها تفاوت‌های مشاهده شده بین عصاره‌های مختلف را با تفاوت در قطبیت حلال مورد استفاده مرتبط دانستند و گزارش کردند حلال‌های قطبی توانایی بیشتری را در استخراج ترکیبات فنولی را دارند (آلتمن و همکاران ۲۰۰۹). گزارش شده است که مخلوط استون-آب یک سیستم حلال خوب جهت استخراج آنتی‌اکسیدان‌های

قطبی است (سان و همکاران، ۲۰۰۲؛ لوکسیمان-راما و همکاران، ۲۰۰۳). نتایج به دست آمده در بررسی‌های انجام شده توسط سایر محققین، نتایج حاضر را تایید می‌کند. همچنین میزان فنول و فلاونوئید کل در میوه ولیک مورد بررسی از بالاترین میزان فنول و فلاونوئید کل عصاره‌های میوه ولیک *Crataegus monogyna* (۱۲/۸۲ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک و ۱/۵ میلی‌گرم روتین بر گرم ماده خشک) و نیز از محتوای فنول کل میوه ولیک چینی (۹۶/۹ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره) بالاتر بود (فرولیچر و همکاران ۲۰۰۹ و لیو وهمکاران ۲۰۱۰).

جدول۲- میزان کل ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و بازده استخراج عصاره‌های میوه ولیک

نمونه	فنول کل (میلی‌گرم گالیک اسید/گرم عصاره)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین/گرم عصاره)	بازده استخراج (٪)
عصاره استونی	۱۰۰/۷۵ ± ۳/۹۶[a]	۲/۱٤ ± ۰/۰۹[a]	۱۷/۵ ± ۱/۲[a]
عصاره اتانولی	٥٤/۱۵ ± ۱/۵۲[b]	۱/۵۷ ± ۰/۰۲[b]	۱۲/۷ ± ۱/۵[b]

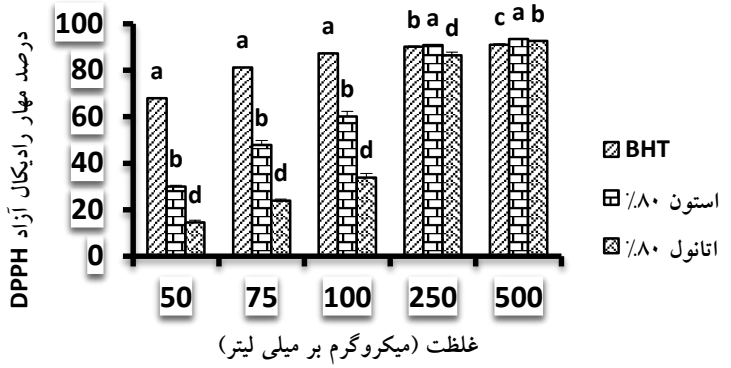
حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌ها بر مبنای آزمون DPPH

شکل ۱ میزان کاهش جذب محلول DPPH را در حضور غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که نوع و غلظت عصاره‌ها و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی تاثیر معنی داری بر مهار رادیکال آزاد DPPH دارد ($P > ۰/۰۵$). در محدوده غلظت ۵۰۰- ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، درصد مهارکنندگی آنتی‌اکسیدان سنتزیBHT ، ۹۱/۰٤- ٦۷/۹۵ درصد؛ عصاره استونی، ۹۳/۳۸- ۲۹/۹۸ درصد و عصاره اتانولی، ۹۲/۵۸- ۱٤/۵٦ درصد اندازه گیری شد. فعالیت ضدرادیکالی در هر دو عصاره و نیز در آنتی‌اکسیدان سنتزی وابسته به غلظت بود. در سه غلظت ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT فعالیت ضدرادیکالی بالاتری نسبت به عصاره‌های میوه داشت، اما در غلظت‌های بالاتر ، عصاره‌ها فعالیت ضد رادیکالی قوی‌تری نسبت به BHT نشان دادند. بالاتر بودن فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH را می توان به محتوای فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌ها نسبت داد. در کل، افزایش غلظت ترکیبات فنولی بطور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رایکال آزاد افزایش می‌دهد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد توسط فلاونوئیدها به حضور گروه‌های هیدروکسیل آزاد وابسته است (شریفی‌فر و همکاران ۲۰۰۹). نتایج تحقیق حاضر با نتایج لیو و یائو (۲۰۰۷)، آلتمن و همکاران (۲۰۰۹)، شوکلا و همکاران (۲۰۰۹) و سان و همکاران (۲۰۱۱) همخوانی داشت. این محققین گزارش نمودند که فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره‌های گیاهی وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت اثر مهارکنندگی شدت یافت. عصاره‌های میوه ولیک مورد بررسی در این مطالعه از فعالیت ضدرادیکالی بالاتری نسبت به میوه ولیک *Crataegus pentagyna* برخوردار بودند (ابراهیم زاده و بهرامیان ۲۰۰۹).

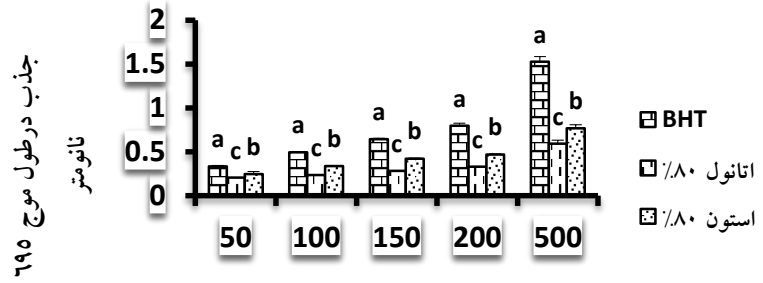
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اختلاف معنی داری بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT وجود دارد ($P<۰/۰۵$).



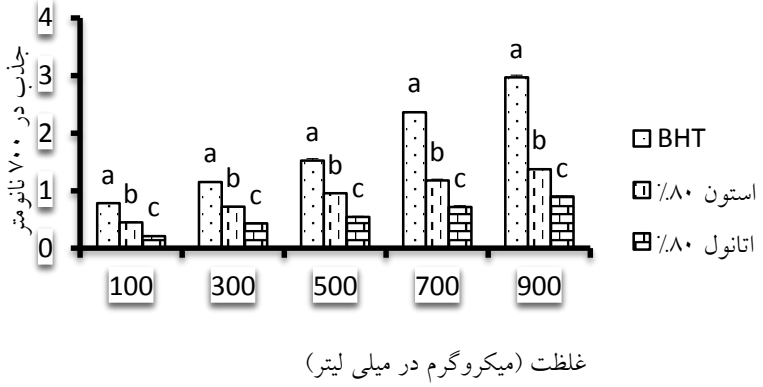
شکل۱- مقایسه میانگین درصد مهار DPPH در غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT

حروف غیر مشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.



شکل۲- مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT

حروف غیر مشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.



شکل۳- مقایسه میانگین قدرت احیاءکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT

حروف غیر مشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌های میوه ولیک و آنتی اکسیدان سنتزی BHT در شکل ۲ نشان داده شده است. در محدوده غلظتی ۵۰۰-۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، عصاره‌های اتانولی و استونی میوه ولیک به ترتیب در رنج ۱/۵۲- ۰/۳۳، ۰/۵۹- ۰/۲ و ۰/۷۶ -۰/ ۰/۲۴ تعیین شد. نتایج نشان داد که عصاره استونی با بیشترین میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی

کل بیشینه نیز بود، اما قابل‌رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT نبود. نتایج به دست آمده توسط عربشاهی و عروج (۲۰۰۷)، ساحرین و همکاران (۲۰۱۰) و سان و همکاران (۲۰۱۱) از نظر وجود ارتباط بین مقدار ترکیبات فنولی عصاره‌ها و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها، با نتایج حاصله در این پژوهش مطابقت داشت. این محققین، فعالیت آنتی اکسیدانی قوی عصاره‌های گیاهی را با میزان بالای فنول‌ها و فلاونوئیدهای موجود در عصاره-ها مرتبط دانستند.

قدرت احیاءکنندگی عصاره‌ها

شکل ۳ فعالیت احیاءکنندگی عصاره‌های میوه ولیک و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT را در محدوده غلظت ۹۰۰- ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نشان می‌دهد. افزایش در جذب مخلوط واکنش حاکی از قدرت احیاءکنندگی نمونه-ها است. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تاثیر نوع حلال و غلظت بر قدرت احیاءکنندگی عصاره‌ها و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$). افزایش قدرت احیاءکنندگی عصاره‌های استونی و اتانولی میوه ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به ترتیب از ۰/٤٥ به ۱/۳۷، ۰/۲۱ به ۰/۹ و از ۰/۷۸ به ۲/۹٦ بود. نتایج مقایسه میانگین میزان جذب در تمامی غلظت‌های مورد بررسی، نشان داد که آنتی اکسیدان سنتزی BHT دارای بیشترین قدرت احیاءکنندگی است. پس از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT ، عصاره استونی میوه ولیک بیشترین میزان قدرت احیاءکنندگی را به خود اختصاص داد. سنجش قدرت احیاءکنندگی (آنتی‌اکسیدانی) در عصاره ناشی از احیاء آهن III به آهن II با اهداء الکترون می‌باشد. بر اساس گزارش عربشاهی و عروج (۲۰۰۷) قدرت احیاءکنندگی عصاره‌ها با میزان جذب آن ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر رابطه مستقیم دارد و هر چه میزان جذب بالاتر باشد، نشان دهنده بالا بودن قدرت احیاءکنندگی است. در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل از حلال‌های مختلف از بروکلی، نتایج نشان داد که عصاره‌های استونی و متانولی نسبت به عصاره آبی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری داشتند که این فعالیت با مقدار فلاونوئیدهای آن‌ها ارتباط مستقیمی داشت (سان و همکاران ۲۰۰۷). در بررسی دیگری، عصاره اتانولی غنی از ترکیبات فلاونوئیدی از برگ‌های خرمالو، در کلیه آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی فعالیت بالایی را به خود اختصاص داد (سان و همکاران ۲۰۱۱). نتایج این محققان با نتایج این پژوهش همخوانی داشت.

تاثیر عصاره استونی میوه ولیک بر پایداری اکسایشی روغن سویا

عصاره استونی به دلیل دارا بودن بالاترین میزان ترکیبات فنول و فلاونوئید کل و نیز بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد رادیکالی، جهت بررسی بر پایداری اکسایشی روغن سویا مورد استفاده قرار گرفت. مقادیر اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید روغن‌های بدون آنتی‌اکسیدان که حاوی غلظت‌های مختلف عصاره (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) و آنتی اکسیدان سنتزی(۱۰۰و۲۰۰ پی‌پی‌ام) بودند، به مدت ۱٦ روز در فواصل زمانی ٤ روز در شرایط تسریع شده اکسیداسیون (٦۰ درجه سانتیگراد) تعیین شدند. در واقع عدد پراکسید بیانگر اکسیداسیون اولیه و عدد تیوباربیتوریک اسید بازگوی محصولات ثانویه اکسیداسیون است.

ارزیابی اعداد پراکسید روغن

شکل ٤ درجه‌ی اکسیداسیون روغن سویا را در حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی (عصاره‌ی استونی میوه‌ی ولیک با غلظت‌های مختلف) و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT و نیز در نمونه شاهد (فاقد آنتی‌اکسیدان) طی ۱٦ روز گرم‌خانه گذاری در دمای ٦۰ درجه سانتیگراد نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد، اثر تیمار و زمان بر میزان عدد پراکسید نمونه‌ها معنی دار است ($P< ۰/۰۵$) و با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون، مقادیر پراکسید نمونه‌ها افزایش یافت. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود، نمونه شاهد که حاوی هیچ آنتی‌اکسیدانی نبوده است، بیشترین

مقدار عدد پراکسید را در همه روزها دارا بود. تمامی نمونه‌های مورد بررسی از نظر عدد پراکسید اختلاف معنی‌داری با نمونه شاهد داشتند. در روزهای آغازی تفاوت چندانی بین نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی و طبیعی مشاهده نشد اما در روزهای پایانی با بالا رفتن واکنش‌های اکسیداسیون، تفاوت بین نمونه‌ها مشهود است. در واقع افزایش در مقدار پراکسید را می‌توان به تشکیل هیدروپراکسیدها یعنی محصولات اولیه اکسیداسیون نسبت داد. جدول ۳ میانگین کل مقادیر پراکسید تیمارهای مختلف را طی چهار دوره زمانی نشان می‌دهد. همانطور که در جدول مشاهده می‌شود، بیشترین و کمترین میزان عدد پراکسید به ترتیب به نمونه شاهد و A-۱۰۰۰ تعلق داشت که این عصاره قابل رقابت با BHT-۲۰۰ بود.

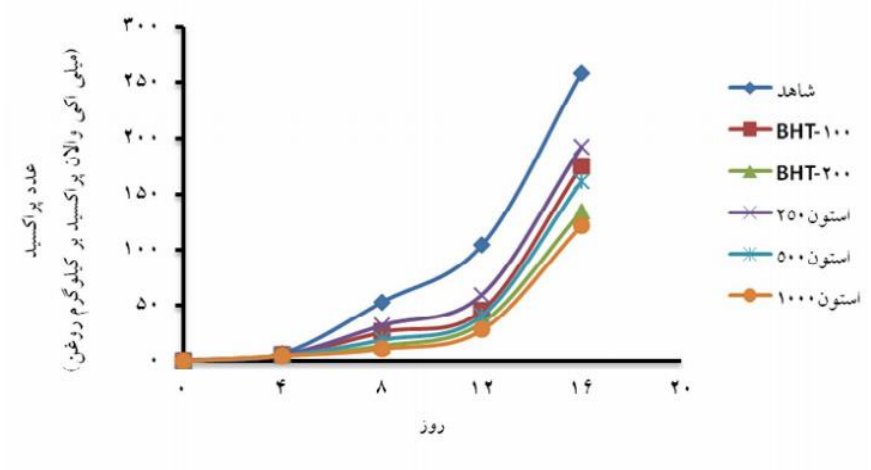
در مجموع، اعداد پراکسید کلیه غلظت‌های عصاره-های طبیعی نسبت به نمونه شاهد پایین بوده و عملکرد بهتری در کاهش روند اکسیداسیون روغن از خود نشان دادند که در این بین عملکرد A-۵۰۰ بهتر از BHT-۱۰۰ و همچنین A-۱۰۰۰ موثرتر از BHT-۲۰۰ در کاهش روند اکسیداسیون روغن بود. سیر افزایش پراکسید در تیمارها به صورت A-۱۰۰۰< BHT-۲۰۰ <A-۵۰۰ <BHT-۱۰۰ <A-۲۵۰ شاهد، مشاهده شد.

ارزیابی اندیس تیوباربیتوریک اسید (TBA)

نتایج آنالیز واریانس نشان داد اثر تیمار و زمان بر میزان عدد TBA نمونه‌ها معنی‌دار است ($P < ۰/۰۵$) و با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون، مقادیر اندیس تیوباربیتوریک اسید نمونه‌ها افزایش یافت. در همه روزها نمونه شاهد بالاترین مقدار عدد TBA را دارا بود و تیمار A-۲۵۰ در مرتبه بعدی قرار داشت. همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود در روزهای ابتدایی مقدار این اندیس بسیار پایین است، زیرا این اندیس در اثر تجزیه هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در روزهای اول و تبدیل آن‌ها به آلدئیدها و کتون افزایش می‌یابد. در نتیجه با پیشرفت روزهای آزمایش و در روزهای پایانی مقدار این اندیس بیشتر افزایش می‌یابد. همانطور که مشاهده می‌شود، اثر تیمارها نسبت به نمونه شاهد معنی‌دار بوده است. بیشترین میزان عدد تیوباربیتوریک اسید در تمامی روزها متعلق به نمونه‌ی شاهد بود. از آنجائیکه مالون آلدئید از تجزیه‌ی هیدروپراکسیدها حاصل می‌گردد، در روز چهارم آزمایش مقدار عدد پراکسید نمونه‌های روغن آنقدر بالا نرفته است، لذا در این روز اختلاف بین تیمارهای مختلف از نظر این شاخص چندان مشهود نبود. این نتایج نشان می‌دهد که در روزهای پایانی آزمایش، تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون با سرعت بیشتری صورت می‌گیرد و مقدار زیادی از پراکسیدهای تشکیل شده در مراحل اولیه طی روزهای پایانی آزمایش، تجزیه و به مالون آلدئید تبدیل شده‌اند. میانگین کل اعداد تیوباربیتوریک اسید نمونه شاهد، نمونه‌های حاوی عصاره و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در چهار دوره زمانی در جدول ۳ نشان داده‌شده است. بیشترین توانایی در جلوگیری از تشکیل محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون توسط تیمار A-۱۰۰۰ اعمال گردید. پس از نمونه‌ی شاهد بیشترین مقدار عدد تیوباربیتوریک اسید متعلق به تیمارهای A-۲۵۰ و BHT-۱۰۰ بود که از این نظر اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. همچنین اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای A-۵۰۰ و BHT-۲۰۰ از جنبه عملکرد آن‌ها در جلوگیری از تشکیل محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون مشاهده نشد.

همانطور که مشاهده شد، توانایی آنتی‌اکسیدان‌ها در مهار اکسیداسیون وابسته به غلظت بود. اگرچه در روزهای ابتدایی اختلاف بین غلظت‌های مختلف هر عصاره چندان محسوس نبود، اما با گذشت زمان نمونه های روغن حاوی مقادیر بیشتری از عصاره یا آنتی اکسیدان سنتزی ثبات اکسیداتیو بیشتری نشان دادند. افزایش قدرت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی در نتیجه‌ی افزایش غلظت را می‌توان به افزایش تعداد جایگاه‌های فعال این ترکیبات برای واکنش با رادیکال‌های آزاد نسبت

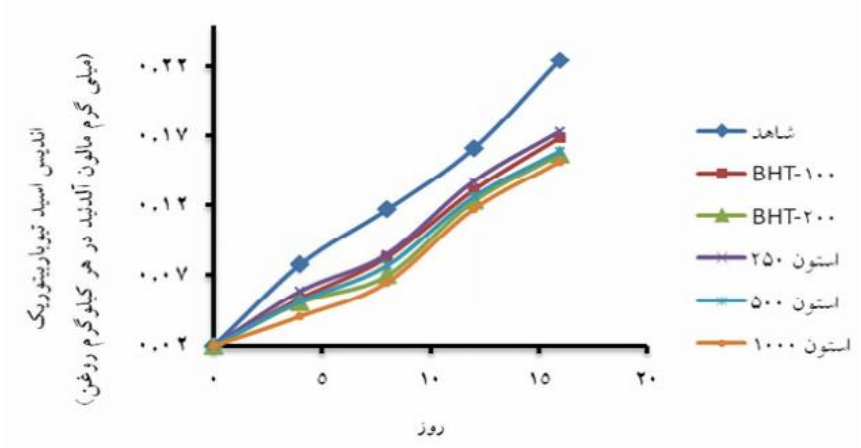
داد. نتایج به دست آمده در میزان مهار اکسیداسیون روغن با نتایج آزمون‌های مهار کنندگی رادیکال های آزاد، احیاءکنندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل مطابقت داشت. نتایج شهیدی و بهانگر (۲۰۰۷) در بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره سیر و نیز صمدلوئی و همکاران (۱۳۸٦) در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی استخراج شده از هسته انار با حلال استون در پایدارسازی روغن سویا در شرایط تسریع یافته، با نتایج این پژوهش همسو بود.



شکل۴- مقایسه میانگین اعداد پراکسید تیمارهای مختلف روغن سویا در روزهای مختلف

جدول۳- میانگین اندیس پراکسید و اسید تیوباربیتوریک تیمارهای مختلف

تیمارها	پراکسید	تیوباربیتوریک اسید
شاهد	۱۰۵/۳۱^{a}	۰/۱۵۰^{a}
BHT-۱۰۰	٦۳/۰۷^{c}	۰/۱۰۷^{b}
BHT-۲۰۰	٤٦/٥٦^{e}	۰/۰۹۷^{c}
A-۲٥۰	۷۱/۹٤^{b}	۰/۱۰۸^{b}
A-٥۰۰	٥٦/٤۳^{d}	۰/۰۹۷^{c}
A-۱۰۰۰	٤۱/۳۷^{f}	۰/۰۸٤^{d}



شکل۵- مقایسه میانگین اندیس تیوباربیتوریک اسید تیمارهای مختلف روغن سویا در روزهای مختلف

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که ویژگی‌های حلال مورد استفاده جهت استخراج ترکیبات فنولی به میزان زیادی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را تحت تاثیر قرار داد. قدرت ضد رادیکالی عصاره های میوه ولیک در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی BHT بالاتر بود. میوه ولیک به دلیل غنی بودن از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی دارای پتانسیل فعالیت آنتی اکسیدانی بالقوه ای است. همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره میوه وابسته به غلظت بود، به طوریکه در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام، این عصاره توانست به خوبی روند اکسیداسیون روغن سویا را کند نماید و از این نظر قابل رقابت با BHT در غلظت ۲۰۰ پی پی ام بود. با توجه به غنی بودن جنگل های شمال کشور از این میوه و اثرات قوی آنتی اکسیدانی آن، می توان عصاره این میوه را به عنوان منبع بالقوه ای از آنتی اکسیدان های طبیعی مورد پژوهش بیشتر قرار داد و در صنعت غذا و دارو از آن بهره برد.

منابع مورد استفاده

صمد لوئی ح ر، عزیزی م ح و برزگر م، ۱۳۸٦. اثر آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی هسته انار بر روغن سویا. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد چهاردهم، شماره ٤.

قهرمان ا، ۱۳۸٦. فلور رنگی ایران. موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع- بخش گیاه‌شناسی، ۹۲٤.

Ahmadi F, Kadivar M and Shahedi M, 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima Mozaff* in model and food systems. Food Chemistry 105:57- 64.

Alothman M, Bhat R and Karim AA, 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. Food Chemistry 115: 785–788.

American Oil Chemists' Society, 2003. AOCS. Official method Cd 8-53. Peroxide value. In Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 5thed. (D. Firestone, ed.). AOCS, Champaign, Ill.

American Oil Chemists' Society, 2009. AOCS Official method Cd 19-90. 2-Thiobarbituric acid value. Direct method. In Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 5th ed. (D. Firestone. ed.), Champaign. 111.

Anagnostopoulou MA, Kefalas P, Papageorgiou VP, Assimepoulou AN and Boskou D, 2006. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). Food Chemistry 94: 19–25.

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

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

Chang C, Yang M, Wen H and Chern J, 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. Food and Drug Analysis 10: 178-182.

Ebrahimzadeh MA, and Bahramian F. 2009. Antioxidant activity of Crataegus pentagyna subsp. elburensis fruits extracts used in traditional medicine in Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences 12(5): 413-419.

Froehlicher T, Hennebelle T, Martin-Nizard F, Cleenewerck P, Hilbert JL, Trotin F, and Grec S. 2009. Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts. Food Chemistry 115: 897–903.

Kim Il-S, Yang M, Lee OH and Kang SN, 2011. The antioxidant activity and the bioactive compound content of Stevia rebaudiana water extracts. LWT - Food Science and Technology 44: 1328-1332.

Liu P, Yang B and Kallio H, 2010. Characterization of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida Bge. var. major*) fruit by high performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. Food Chemistry 121: 1188–1197.

Liu Q and Yao H, 2007. Antioxidant activity of barley seeds extracts. Food Chemistry 102: 732-737.

Liu PZ, Kallio H, Lu DG, Zhou CS, Ou SY and Yang BR. 2010. Acids, Sugars, and Sugar Alcohols in Chinese Hawthorn (*Crataegus* spp.) Fruits. Journal of Agricalture and Food Chemistry 58: 1012–1019.

Luximon-Ramma A, Bahorun T and Crozier A, 2003. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. Science of Food and Agriculture 83: 496–502.

Muanda FN, Soulimani R, Diop B and Dicko A, 2011. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from stevia rebaudiana Bertoni leaves. LWT - Food Science and Technology 44: 1865-1872.

Maganha EG, Halmenschlager RC, Rosa RM, Henriques JAP, Ramos ALP and Saffi J, 2010. Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus Hibiscus. Food Chemistry 118: 1–10.

Prieto P, Pineda M and Aguilar M, 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry 269: 337-341.

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

Shahidi I and Bhanger M, 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. Food Chemistry 100: 246-254.

Sharififar F, Dehghn-Nudeh G and Mirtajaldini M, 2009. Major flavonoids with antioxidant activity from Teucrium polium L. Food Chemistry 112: 885–888.

Shimada K, Fujikawa K, Yahara K and Nakamura T, 1992. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Agricultural and Food Chemistry 40: 945-948.

Shukla Sh, Mehta A, Bajpai VK and Shukla S, 2009. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of Stevia rebaudiana Bert. Food and Chemical Toxicology 47: 2338–2343.

Slinkard K and Singleton VL, 1977. Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture 28: 49-55.

Sun J, Chu Y, Wu X and Liu RH, 2002. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Fruits. Agriculture and Food Chemistry 50:7449–7454.

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

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

Yildirim A, Mavi A and Kara AA, 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex crispus L. extracts. Agricultural and Food Chemistry 49: 4083-4089.

Zhang Z, Chang Q, Zhu M, Huang Y, Ho WKK and Chen ZY, 2001. Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits. Nutritional Biochemistry 12: 144–152.