

ارزیابی میزان ترکیبات فنلی سیب استان آذربایجان غربی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در جلوگیری از اکسیداسیون روغن کره محلی

لطیفه پوراکیبر

تاریخ دریافت ۱۳۹۲/۰۹/۱۳

تاریخ پذیرش ۱۳۹۳/۰۲/۲۰

چکیده

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که با جلوگیری از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد، مانع بروز بسیاری از بیماری‌ها می‌شوند. بدلیل اثرات سوء تغذیه‌ای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، مصرف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با منشأ گیاهی در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این مطالعه ارزیابی میزان ترکیبات فنولی کل، فلاونوئیدها و خاصیت آنتی‌اکسیدانی سیب و مقایسه کارایی آن با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی (بوتیلید هیدروکسی آنیزول، BHA و بوتیلید هیدروکسی تولون، BHT) در جلوگیری از اکسیداسیون روغن کره محلی بود. رقم‌های مختلف سیب از مناطق مختلف استان آذربایجان غربی جمع‌آوری شده و میزان ترکیبات فنولی کل، فلاونوئیدها و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آنها به ترتیب با روش‌های فولین سیو کالتو، رنگ سنجی و دی فنیل پیکریل هیدرازین (DPPH) و اندازه‌گیری عدد پراکسید و اسید تیوباربیتریک نمونه‌های روغن کره محلی حاوی غلظت‌های مختلف عصاره و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی انجام گردید. رقم‌های فوجی و شیخ احمد به ترتیب دارای بیشترین و کمترین محتوای ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود، که این مقادیر به ترتیب عبارتند از ۲۹۴۰/۲۴ و ۱۳۵۰/۲۲ میکروگرم معادل اسید گالیک به گرم عصاره خشک، ۲۵۳۰/۳۲ و ۱۲۰۰/۷۴ میکروگرم معادل کوئرستین به گرم عصاره خشک و ۹۱/۸۷ و ۳۲٪؛ بیشترین و کمترین میزان عدد پراکسید و اسید تیوباربیتریک به ترتیب مربوط به نمونه شاهد و عصاره سیب با غلظت ۴۰۰ ppm بود. همچنین غلظت عصاره عامل موثری در بازداری از اکسیداسیون بود بطوریکه با افزایش غلظت، بازداری افزایش یافت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که رقم فوجی دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود، لذا از آن در پایدارسازی روغن کره محلی استفاده شد.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنلی سیب، فعالیت آنتی‌اکسیدان، اکسیداسیون روغن کره.

مقدمه

خاصیت سرطان‌زایی بودن به همین دلیل در سال‌های اخیر به دلایل مربوط به سلامتی توجه زیادی به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی معطوف گردیده است و تحقیقات گسترده‌ای به منظور بکارگیری این ترکیبات به جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به انجام رسیده است (Zainol *et al.*, 2003). بکارگیری اسیدهای فنولیک طبیعی به عنوان ترکیبی که رادیکال‌های آزاد را درگیر می‌کنند به شدت مورد توجه محققان قرار گرفته است. رادیکال‌های آزاد نقش مهمی در بیماری‌های مزمنی مانند: تصلب شرایین، اختلالات مغزی و سرطان دارند (Gordon, 1996).

براساس مطالعات، مصرف آنتی‌اکسیدان‌های غذایی باعث پیشگیری از بسیاری آسیب‌ها شامل انواع سرطانها، بیماری‌های قلبی - عروقی و عصبی و اختلالات مربوط به افزایش سن می‌گردد (Tabart *et al.*, 2009). از بهترین روش‌های پیشگیری از بیماری‌های مذکور، استفاده از رژیم غذایی مطلوب متشکل از انواع سبزی‌ها

فرآیند اکسیداسیون و تخریب اکسیداتیو که منجر به ایجاد بد-طعمی و کاهش کیفیت و افت ارزش تغذیه‌ای روغن‌ها و چربی‌ها می‌شود یکی از اساسی‌ترین مشکلات صنعت روغن محسوب می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که گسترش بدطعمی را با توسعه زمان در پایداری به تاخیر می‌اندازند (یکرنگ و جوانمرد، ۱۳۹۰). آنتی‌اکسیدان‌ها به دو دسته سنتزی و طبیعی تقسیم می‌شوند آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی عمدتاً ترکیبات فنولیک هستند که می‌توان به بوتیلات هیدروکسی تولون (BHA)، بوتیلات هیدروکسی آنیزول (BHT)، ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ) و گالات اشاره نمود (Mahdavi *et al.*, 1995). آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی دارای

دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

*- نویسنده مسئول: (Email: l.pourakbar@urmia.ac.ir)

شده از شیر گرفته می‌شود
 کره از جمله مواد غذایی است که در طول نگهداری و فرآوری در اثر عوامل طبیعی از جمله هوا، نور و دما در آن اکسیداسیون اتفاق می‌افتد؛ که مهمترین عامل فساد و کاهش ماندگاری کره محسوب می‌شود. از این رو سالم‌سازی و پایداری کره از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از طرف دیگر روغن کره سنتی به دلیل آلودگی‌های آنزیمی و فلزی و عدم استفاده از فرایند تصفیه در حین تولید و هم چنین پائین بودن میزان آلفا توکوفرول و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مستعد اکسیداسیون بوده، پایداری کمی دارد. به همین دلیل، برای افزایش ماندگاری کره و روغن آن، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات پایدار کننده ضروری به نظر می‌رسد.

درختان سیب ۱۵ درصد از کل سطح زیر کشت درختان میوه کشور را شامل می‌شوند که در این میان استان آذربایجان غربی از نظر باغات سیب مرکزیت داشته و کانون اصلی پرورش سیب در کشور می‌باشد. این استان با در اختیار داشتن ۲۶ درصد از سطح زیر کشت (۴۵ هزار هکتار) و تولید متوسط سالانه ۵۰۰ هزار تن مقام اول را در کشور به خود اختصاص داده است. لذا به منظور مطالعه ترکیبات آنتی‌اکسیدانی سیب و تعیین بهترین رقم از این لحاظ، محتوای فنل کل و فلاونوئیدهای موجود در ۸ رقم سیب از منطقه آذربایجان غربی اندازه‌گیری گردید و سپس تأثیر غلظت‌های مختلف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی رقمی که بیشترین محتوای فنل کل و فلاونوئیدها را داشت و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی (BHT و BHA) در به تأخیر انداختن اکسیداسیون روغن کره محلی مقایسه و مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد

در پاییز سال ۱۳۹۰، ۸ رقم مختلف سیب قرمز از مناطق مختلف استان آذربایجان غربی جمع‌آوری و بعد از شناسایی (بر اساس شکل و اندازه برگ‌ها و همچنین رنگ، بو، طعم، شکل و اندازه میوه) تا زمان انجام آزمایشات مربوطه در سردخانه در دمای ۲ تا ۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۹۰ درصد نگهداری شد. ارقام شامل: فوجی، حیدرزاده، زوز، مک اینتاش، برابرن، گلاب کهنز، گالا و شیخ احمد بود.

ابتدا نمونه‌های سیب شستشو داده شده و از عرض به صورت قطعات نازک برش داده شدند و در ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان رسیدن به وزن ثابت خشک شدند. پس از سرد شدن نمونه‌ها با آسیاب خانگی آسیاب شده و با الک با مش ۱۰۰ عبور داده شد. سپس در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (وجودی مهربانی و همکاران، ۱۳۸۹).

و میوه‌های سرشار از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است که روزانه حداقل یک لی دو گرم پلی فنل وارد بدن مصرف کننده شود (Cieslik *et al.*, 2006). لذا سال‌های اخیر تلاش برای یافتن منابع جدید آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بدلیل مشکلات و اثرات سوء ناشی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی گسترش یافته است.

با این حال چربی‌ها و روغن‌ها تحت دماهای بالا و مدت زمان نگهداری طولانی تحت تأثیر واکنش‌های مختلف از جمله اکسیداسیون فاسد می‌شوند که تجزیه مواد حاصل از اکسیداسیون باعث کاهش کیفیت ارگانولپتیکی و تغذیه‌ای می‌گردد (یکرنگ و جوانمرد، ۱۳۹۰). رادیکال‌های آزاد از جمله محصولات اکسیداسیون می‌باشند که عامل بسیاری از بیماری‌ها هستند (صدیق آرا و برین، ۱۳۸۹). بمنظور افزایش مقاومت روغن نسبت به اکسیداسیون، خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی، سکنه و حفاظت غشاهای سلولی از آنتی‌اکسیدان‌ها استفاده می‌شود (صمدلویی و همکاران، ۱۳۸۶). سیب با دارا بودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی یکی از مهمترین منابع تأمین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌رود (Khanizadeh *et al.*, 2008). مصرف سیب بدلیل پیشگیری از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد، باعث جلوگیری از تعدادی بیماری‌های تحلیل‌کننده بافت‌های بدن در انسان می‌گردد (Boyer and Liu, 2004). ترکیبات فنولی موجود در سیب مسئول اغلب فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه می‌باشند. تحقیقات اخیر نشان داده است که محتوای ترکیبات فنولی در رقم‌های سیب بین گونه‌های مختلف، همچنین قسمت‌های مختلف سیب به میزان قابل توجهی متفاوت می‌باشد (وجودی مهربان و همکاران، ۱۳۸۹). علاوه بر این محتوای فنولی میوه‌ها تحت تأثیر عوامل محیطی و پس از برداشت شامل فصل میوه، رسیدگی میوه، قرار گرفتن در معرض نور، نگهداری و فرآوری تنظیم می‌گردد. در هر حال بخوبی نشان داده است که گونه نقش عمده‌ای در کنترل ترکیبات پلی‌فنولی سیب‌ها دارد (D'Abrosca *et al.*, 2007).

کره مهم‌ترین محصول چرب حاصل از شیر می‌باشد که در آن چربی شیر تغلیظ شده است. طبق استاندارد ملی کره، کره فرآورده چربی است که منحصراً از شیر به دست آمده باشد و باید دارای حداقل ۸۰ درصد چربی، حداکثر ۲ درصد ماده خشک غیر چرب و حداکثر ۱۶ درصد رطوبت باشد (استاندارد کره، ۱۳۷۴). در مقایسه با روغن‌های گیاهی هیدروژنه و به خصوص مارگارین که بعنوان جایگزین اصلی کره مطرح است، عدم وجود اسید چرب ترانس مزیت رقابتی کره محسوب می‌گردد (Hunter, 2005). نوعی کره در مناطق روستایی برخی شهرها در ایران تولید می‌شود که بر حسب منطقه به نام‌های متفاوتی عنوان می‌گردد (کره نه‌ره، در استان‌های آذربایجان شرقی، غربی و اردبیل). این نوع کره کاملاً بومی و محصولی سنتی در ایران می‌باشد که طی آن به جای کره‌گیری از خامه، کره از ماست تهیه

روش‌ها

مطالعه نشان داد در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ ppm و آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT در دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm به روغن کره محلی بدون آنتی‌اکسیدان در شیشه‌های تیره رنگ اضافه شد و برای مدت معینی در داخل آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. طی فواصل زمانی ۰، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۴ روز عدد پراکسید و اسید تیوباربیتریک نمونه‌های روغن تعیین شدند.

عدد پراکسید روغن: برای اندازه‌گیری عدد پراکسید ۵ گرم روغن در ۳۰ میلی‌لیتر محلول اسیداستیک-کلروفرم (۳:۲) حل شد و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول اشباع شده یدید پتاسیم به آن افزوده شد و به مدت یک دقیقه در تاریکی قرار گرفت. بعد از این مدت ۳۰ میلی‌لیتر آب و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول ۱ درصد نشاسته به آن اضافه گردید. یزد آزاد شده تا بیرنگ شدن با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیترا شد. عدد پراکسید برحسب میلی‌اکی والان پراکسید در ۱۰۰۰ گرم روغن محاسبه گردید (Firestone, 1994).

عدد اسید تیوباربیتریک: یک گرم روغن کره در ۱۰ میلی‌لیتر تتراکلریدکربن حل شد. پس از افزودن ۱۰ میلی‌لیتر مخلوط اسید استیک تیوباربیتریک اسید به آن، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه ساتریفوژ شدند. سپس فاز بالایی به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت (Sidewell et al., 1954). پس از سرد کردن، میزان جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Biowave S 2100 (ساخت انگلیس) اندازه‌گیری شد. عدد اسید تیوباربیتریک بر حسب میلی‌گرم مالون دی‌آلدهید در کیلوگرم روغن محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای آنالیز داده‌ها و رسم نمودارها از برنامه‌های رایانه‌ای SPSS و Excel استفاده گردید. در کلیه نمودارها بارهای عمودی نشان دهنده SE ± برای سه تکرار می‌باشد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون ANOVA و توکی در سطح ۵ درصد، در صورت معنی دار بودن اثر عوامل آزمایشی انجام شد.

نتایج و بحث

محتوای فنول کل و فلاونوئیدها

محتوای فنول کل و فلاونوئیدهای ۸ رقم سیب اندازه‌گیری گردید و نتایج آن در شکل شماره ۱ و ۲ آورده شده است. بررسی نتایج نشان داد که رقم‌های فوجی و شیخ احمد به ترتیب دارای بیشترین و کمترین محتوای ترکیبات فنولی بودند. بطوریکه محتوای ترکیبات فنولی در رقم فوجی ۵۴٪ نسبت به رقم شیخ احمد بیشتر بود. بین رقم‌های زوز، مک‌اینشاش، برابرن و گلاب کهنز تفاوت معنی‌داری در محتوای فنول کل مشاهده نگردید (شکل ۱).

تعیین محتوای فنول کل: محتوای فنولی کل با استفاده از شناساگر Folin-Ciocalteu تعیین شد (Singleton et al., 1999). طبق این روش ۱ میلی‌لیتر از معرف Ciocalteu-Folin ده برابر رقیق شده با ۱ میلی‌لیتر عصاره مخلوط شد و پس از ۳ دقیقه ۱ میلی‌لیتر کرینات سدیم ۱۰٪ به محلول اضافه شد و سپس جذب آن در طول موج ۷۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Biowave S 2100 (ساخت انگلیس) اندازه‌گیری شد. محتوای فنولی کل با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید بر حسب میکروگرم گالیک اسید در گرم وزن خشک محاسبه گردید.

تعیین میزان فلاونوئید کل: محتوای فلاونوئید کل با استفاده از روش Bonvehi و همکاران (۲۰۰۱) تعیین گردید. ۱ میلی‌لیتر عصاره سیب به ۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۲٪ (AlCl₃) حل شده در محلول متانولی اسید استیک ۵٪ افزوده شد. پس از مدت ۱۰ دقیقه میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Biowave S 2100 (ساخت انگلیس) در طول موج ۴۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین تعیین گردید.

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی با آزمون DPPH: میزان مهار کنندگی رادیکال‌های پایدار DPPH، (۲-۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) با استفاده از روش Cuendet و همکاران (۱۹۹۷) تعیین شد. ۲/۵ میلی‌لیتر از عصاره به ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول متانولی ۰/۰۰۴٪ DPPH اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه آنکوباسیون در تاریکی جذب محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری گردید. درصد جاروب کنندگی عصاره-ها طبق فرمول زیر محاسبه شد.

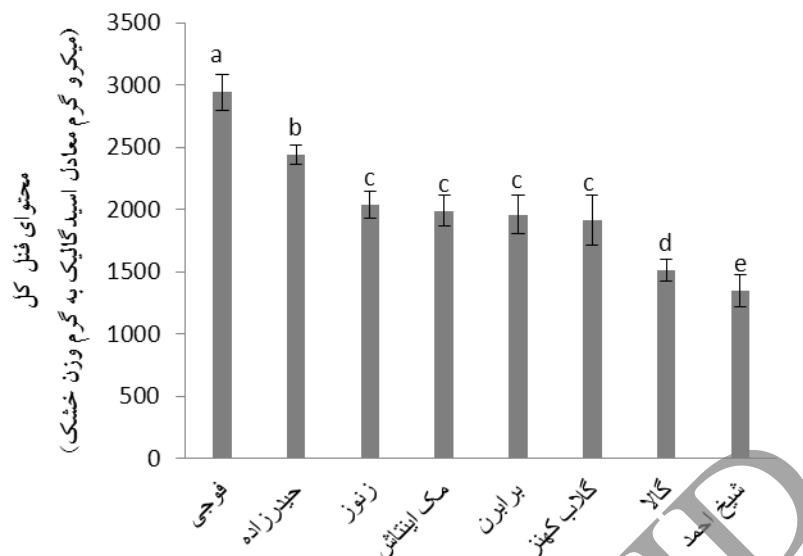
$$(1) \quad \text{درصد} = \left(\frac{A \text{ sample}}{A \text{ blank}} - 1 \right) \times 100$$

جاروب کنندگی رادیکال‌های DPPH

A sample: جذب نمونه و A blank: جذب نمونه شاهد

تهیه عصاره متانولی: به ۱۰ گرم پودر میوه سیب تهیه شده، ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول افزوده شد و مخلوط بدست آمده به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط با همزن مغناطیسی هم زده شد و سپس با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید (Kowalski, 2009). سپس عصاره حاصل به وسیله تیخیر کننده چرخان در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و در نهایت عصاره توسط خشک کن انجمادی (FDB 550، ساخت کره) در دمای ۵۰- درجه سانتی‌گراد به پودر تبدیل شد و تا زمان استفاده در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

اندازه‌گیری اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراجی از میوه سیب بر روی روغن کره محلی: عصاره متانولی سیب رقم فوجی با توجه به اینکه بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را بین ارقام مورد



شکل ۱- محتوای فنل کل هشت رقم مختلف سیب آذربایجان غربی. ستون‌ها با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$).

مطالعه ۳۳ رقم مختلف سیب بیان کرده‌اند که ارقام مختلف دارای تفاوت معنی‌داری از نظر میزان پلی‌فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند. ترکیبات فنلی موجود در ارقام مختلف سیب علاوه بر ویژگی آنتی-اکسیدانی، به خاطر تاثیر در کیفیت حسی میوه تازه و محصولات فرآوری شده از قبیل رنگ، گسی و تلخی آب میوه مورد توجه هستند (Van der Sluis et al., 2001).

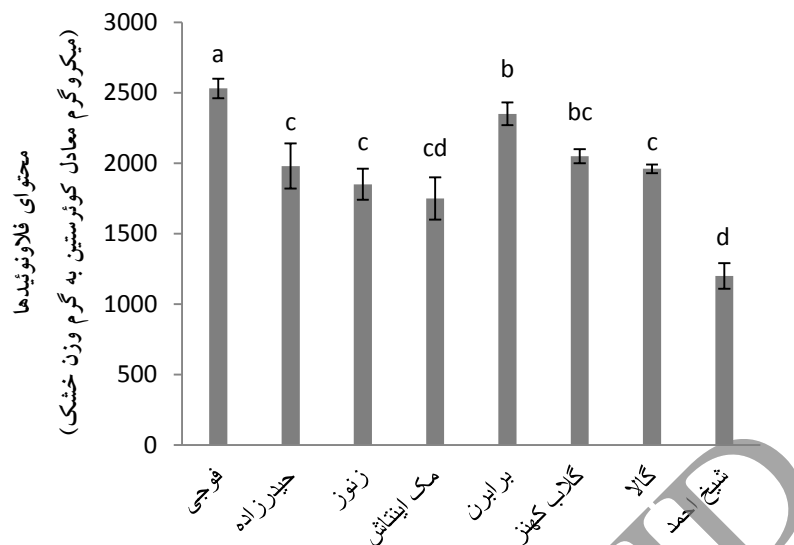
میزان محتوای فلاونوئید در شکل ۲ نشان داده شده است طبق این نمودار بیشترین و کمترین محتوای فلاونوئیدی به ترتیب در رقم فوجی و شیخ احمد مشاهده شد، بطوریکه محتوای فلاونوئیدها در رقم فوجی ۵۳٪ نسبت به رقم شیخ احمد بیشتر بود. تفاوت معنی‌داری در محتوای فلاونوئیدی رقم‌های گالا و حیدرزاده مشاهده نگردید.

فلاونول‌ها گسترده‌ترین فلاونوئید موجود در غذاها هستند که مهمترین آنها کوئرستین و کامپفرول است. میوه سیب یکی از غنی‌ترین منابع فلاونول‌ها است (رفیعی و همکاران، ۱۳۹۱). نتایج حاصل از این آزمایش و مطالعات دیگر، نقش مهم اقلیم و عوامل محیطی از قبیل نور و دما و همچنین تاثیر شرایط جغرافیایی متفاوت بر سنتز ترکیبات فلاونوئیدی بالاخص کوئرستین را پررنگ‌تر می‌کند. بر اساس گزارش Awad و همکاران (۲۰۰۱) میوه‌های سیب بخش بیرونی تاج درخت دارای کوئرستین ۵ گالاکتوزیدهای بیشتری نسبت به میوه‌های بخشهای درونی تاج درخت هستند، که بیان‌کننده نقش نور در سنتز ترکیبات کوئرستینی است. در نتیجه تفاوت بین ارقام مختلف در مقدار این ترکیبات بیان‌کننده متفاوت بودن آستانه تحریک بیان ژن‌های مربوطه است. مصرف غذاهای غنی از فلاونوئید، محافظت‌کننده‌ی انسان علیه بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو هستند (Tattini et al., 2004).

Liu و Boyer (۲۰۰۴) و رفیعی و همکاران (۱۳۹۱) طی مطالعه برخی ارقام سیب نشان داده‌اند که رقم فوجی بیشترین ترکیب فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در بین ارقام مورد مطالعه دارد که با نتایج این مطالعه همخوانی دارد.

نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر، نشان‌دهنده وجود تفاوت بین ارقام مختلف از نظر مقدار کل ترکیب‌های فنلی می‌باشد که این یافته-ها با نتایج دیگر تحقیقات مطابقت دارد (Vrhovsek et al., 2004). مطالعات متعدد بر روی ارقام مختلف سیب در دنیا نشان داده است که رقم بعنوان یک عامل ژنتیکی نقش عمده‌ای در تجمع مواد فنولی دارد (D'Ambrosca et al., 2007). Lister و همکاران (۱۹۹۴) با مطالعه میزان ترکیبات فنلی در دو رقم اسپلندور و گرانی اسمیت بیان کرده‌اند که میزان کوئرستین گلیکوزیدها و پروآنتوسیانیدین‌ها در پوست سیب‌های رقم اسپلندور بیش از گرانی اسمیت است. Markowski and Plochanski (۲۰۰۶) نیز با بررسی ترکیبات فنلی در میوه‌های ۴ رقم سیب جاناگلد، سمپیون، آیدارد و توپاز بیان کرده‌اند که تفاوت‌های بارزی بین ارقام مختلف از نظر میزان گروه-های فنولی وجود دارد.

وجود این اختلاف می‌تواند بیانگر نقش رقم و ژنتیک در سنتز و میزان ترکیب‌های فنلی باشد. Khanizadeh و همکاران (۲۰۰۸) بیان کرده‌اند که ارقام مختلف سیب منبع بسیار غنی از ترکیبات فنلی هستند و به همین سبب دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند. طبق نتایج Lee و همکاران (۲۰۰۳) مواد فنلی موجود در سیب بیش از ۶۰ درصد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه سیب را باعث می‌شوند که البته این مقدار با توجه به نوع رقم و شرایط آب و هوایی منطقه پرورش آن بسیار متفاوت است. Lachman و همکاران (۲۰۰۶) طی



شکل ۲- محتوای فلاونوئیدهای هشت رقم مختلف سیب آذربایجان غربی. ستون‌ها با حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$).

(Ebrahimzadeh *et al.*, 2008).

اساس به دام اندازی رادیکال‌های DPPH بر مبنای توانایی هیدروژن‌دهی می‌باشد. این روش به منظور ارزیابی فعالیت رادیکال آزاد به کار می‌رود. از مزایای آن عدم وابستگی به قطبیت می‌باشد (Kartal *et al.*, 2007). این روش بر پایه‌ی احیای محلول متانولی رادیکال آزاد DPPH توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله فنول‌ها استوار است، این ترکیبات دارای گروه‌های دهنده‌ی هیدروژن بوده و منجر به شکل‌گیری فرم‌های غیر رادیکالی DPPH می‌شوند (Paixao *et al.*, 2007).

مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت‌های جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد وابسته به غلظت عصاره هستند (Killicgun and Altiner, 2010). به عبارت دیگر عصاره‌ی رقیق می‌تواند میزان رادیکال‌های DPPH را کاهش دهد. قدرت مهارکنندگی عصاره‌های مختلف به میزان زیادی به تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیبات فنولی بستگی دارد. در ترکیبات فنولی با وزن مولکولی پائین‌تر گروه‌های هیدروکسیل راحت‌تر در دسترس قرار می‌گیرند (Jung *et al.*, 2006).

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراجی در به تأخیر انداختن اکسیداسیون روغن کره محلی

بر اساس نتایج بدست آمده از محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها و همچنین قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH مشخص شد که عصاره رقم فوجی قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با سایر ارقام داشته به همین دلیل جهت بررسی به تأخیر انداختن اکسیداسیون کره محلی و مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های

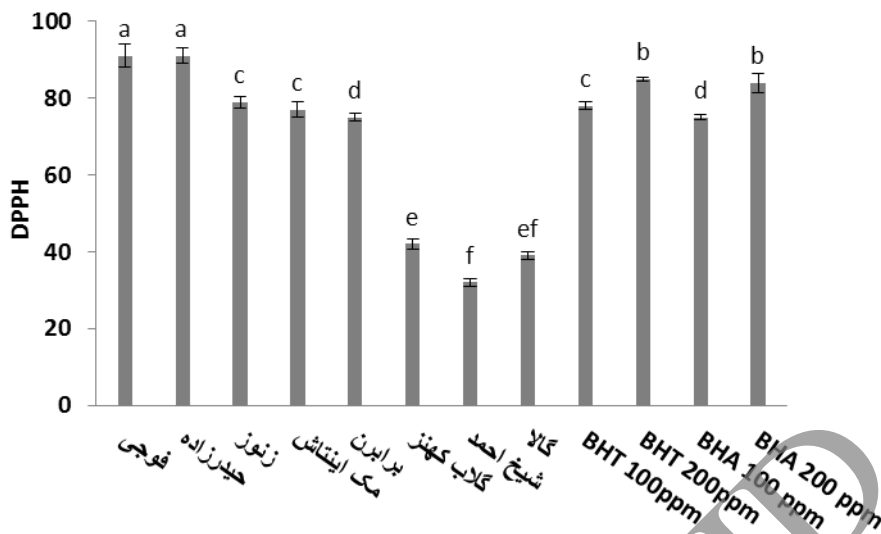
فعالیت آنتی‌اکسیدانی ارقام مختلف سیب در شکل ۳ نشان داده شده است. بیشترین و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب در رقم فوجی و شیخ احمد مشاهده شد (شکل ۳). فعالیت آنتی‌اکسیدانی در رقم فوجی ۵۹٪ بیشتر از رقم شیخ احمد بود. بین رقم‌های فوجی و حیدرزاده و همچنین زنوز و مک اینتاش تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده نشد. بررسی نتایج حاصله نشان داد که بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی BHT و BHA در غلظت ۲۰۰ ppm و همچنین BHA در غلظت ۱۰۰ ppm و برابر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

قربانی و بخشی (۱۳۹۰) با مطالعه بر روی ۱۳ رقم سیب ایرانی و خارجی نشان داده‌اند که پوست رقم دلشیز و گوشت رقم استارکان روز بیشترین و پوست رقم پاییزه زرد مشهد و گوشت رقم گراونشتاین کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارند. از طرف دیگر طی مطالعه‌ای که بر روی ۵ رقم سیب (قندک، حیدرزاده، گلدن اسپور، رد اسپور، رد دلشیز) انجام گرفته است مشخص گردیده که رقم گوشت رقم حیدرزاده بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داراست (قربانی و همکاران، ۱۳۸۹).

رفیعی و همکاران (۱۳۹۱) در طی تحقیقی ترکیبات فنولی و فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را در ۱۰ رقم سیب ایرانی و تجاری در استان آذربایجان غربی مورد مطالعه قرار داده‌اند. نتایج کار آنها نشان داده است که رقم فوجی در مقایسه با ارقام دیگر بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارد که با نتایج حاصل از این مطالعه همخوانی نشان می‌دهد.

روش DPPH به طور گسترده‌ای برای ارزیابی فعالیت آنتی-اکسیدان نمونه‌های بیولوژیک مورد استفاده قرار گرفته است

سنتری، تنها از عصاره این رقم استفاده گردید.



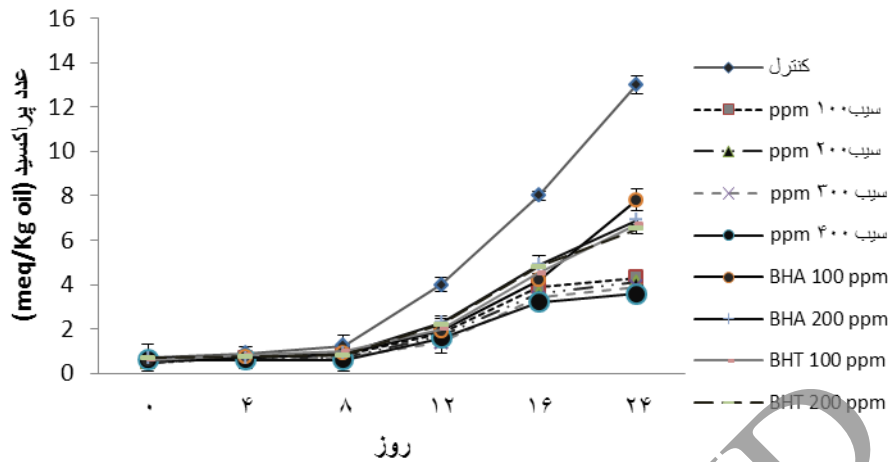
شکل ۳- درصد بدام انداختن رادیکال‌های آزاد (DPPH) عصاره هشت رقم مختلف سیب آذربایجان غربی و دو آنتی‌اکسیدان سنتری BHT و BHA با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام. ستون‌ها با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$).

(۱۳۸۵) با بررسی تاثیر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بر پایداری اکسیداتیو مارگارین به این نتیجه رسیده‌اند که مخلوط آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را می‌توان به عنوان جانشین آنتی‌اکسیدان‌های سنتری بکار برد و بهترین ترکیب در این زمینه تیمار ۲۰۰ ppm رزماری همراه با آسکوربیل پالمیتات نشان داده شده است. صمد لویی و همکاران (۱۳۸۶) نشان داده‌اند که اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک پوست نار در غلظت ۳۵۰ ppm بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی را در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتری در پایداری روغن زیتون نشان می‌دهد. از طرفی دیگر نشان داده شده است که تیمار ۶۰۰ ppm فنولیک پوست پسته با سطح ۲۰۰ ppm آنتی‌اکسیدان‌های سنتری (BHT و BHA) برابری می‌کند (Goli et al., 2004). با مقایسه این تحقیقات با تحقیق اخیر چنین می‌توان استنباط نمود که اثر آنتی‌اکسیدانی سیب مربوط به ترکیبات فنلی آن بوده که در سطح ۱۰۰ ppm اثر آنتی‌اکسیدانی آن در سطح آنتی‌اکسیدان‌های سنتری می‌باشد در صورتیکه در پوست پسته و نار این ارقام به ۶۰۰ و ۳۵۰ پی‌پی‌ام افزایش یافته است.

یکرنگ صفاکار و جوانمرد (۱۳۹۰) با بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره فنلی هسته گریپ فروت و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان سنتری TBHQ در پایداری روغن ماهی کیلکا نشان داده‌اند که غلظت عصاره در فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن موثر بوده طوریکه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره فنلی هسته گریپ فروت در غلظت ۵۰۰ ppm و ۱۰۰۰ نسبت به TBHQ (۱۰۰ ppm) کمتر بوده و با افزایش غلظت عصاره فنلی به ۲۰۰۰ ppm درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن نسبت TBHQ افزایش می‌یابد، که این نتایج با نتایج ما همسویی

بررسی نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر تیمار و زمان بر روی عدد پراکسید در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$) با توجه به نمودار بیشترین میزان عدد پراکسید بدست آمده مربوط به نمونه شاهد بود که حاوی هیچ‌گونه آنتی‌اکسیدانی نبوده است (شکل ۴). بر اساس نتایج بدست آمده از محتوای ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدها و همچنین قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH مشخص شد که عصاره رقم فوجی قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با سایر ارقام داشته به همین دلیل جهت بررسی به تاخیر انداختن اکسیداسیون کره محلی و مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتری، تنها از عصاره این رقم استفاده گردید. نتایج نشان داد که کمترین میزان اکسیداسیون مربوط به نمونه حاوی ۴۰۰ ppm از عصاره سیب بود. در میان نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بیشترین میزان اکسیداسیون مربوط به نمونه حاوی ۱۰۰ ppm از عصاره سیب می‌باشد و می‌توان چنین استنباط کرد که با افزایش غلظت عصاره‌ها در کره محلی میزان عدد پراکسید کاهش می‌یابد. بین آنتی‌اکسیدان سنتری BHT با غلظت ۲۰۰ ppm و عصاره سیب با غلظت ۱۰۰ ppm در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌دار در میان نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی وجود نداشت. از طرف دیگر بین عدد پراکسید و DPPH طبق آنالیز آماری یک همبستگی منفی ولی نسبتاً معنی‌دار مشاهده گردید ($R^2 = 0.767$).

در طی بررسی‌ها مشخص شده است که افزودن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مثل عصاره برگ زیتون به کره، در مقایسه با نوع سنتری موجب پایداری بیشتر کره و کاهش عدد اسیدی و پراکسید می‌گردد (الهامی راد و همکاران، ۱۳۹۲). همچنین عزیز خانی و همکاران



شکل ۴- عدد پراکسید در روغن کره محلی با تیمارهای مختلف ترکیبات فنلی سیب قرمز (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام)، آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT (۱۰۰ و ۲۰۰ پی پی ام) و نمونه شاهد در روزهای ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۴.

اسید تیوباربی‌توریک در تمام روزهای آزمایش در طی نگهداری نشان داد. بطوریکه در طی ۲۴ روز عدد تیوباربی‌توریک اسید ۱۳ برابر افزایش یافت که این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار بود. با افزایش غلظت عصاره‌ها مشابه آزمایش مربوط به اندازه‌گیری عدد پراکسید، خاصیت آنتی‌اکسیدانی افزایش پیدا کرد یعنی با افزایش غلظت عصاره‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش و میزان اندیس اسید تیوباربی‌توریک کاهش یافت. اندیس اسید تیوباربی‌توریک در روزهای پایانی دوره اکسیداسیون افزایش یافت بنابراین در روزهای اول اختلاف زیادی بین نمونه شاهد و بقیه تیمارها وجود نداشت ولی در روزهای پایانی بین نمونه شاهد و تیمارها اختلاف معنی‌دار بود ($p < 0.05$). بررسی نتایج نشان داد که در طی ۲۴ روز اندیس تیوباربی‌توریک اسید عصاره‌های سیب ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ به ترتیب ۷، ۴، ۱، ۰/۸۴ درصد افزایش نشان داد. آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm به ترتیب در طی ۲۴ روز ۱۰ و ۹ برابر موجب افزایش این اندیس شدند. همچنین BHT در غلظت‌های ۱۰۰ ppm و ۲۰۰ ppm موجب افزایش عدد تیوباربی‌توریک اسید به میزان ۸ و ۷ برابر شد.

افزایش اندیس اسید تیوباربی‌توریک بعد از ۹۶ ساعت به بعد بیانگر گسترش شدید واکنش اتواکسیداسیون و افزایش محصولات ثانویه به ویژه مالون دی‌آلدئید و ترکیبات کربونیل با گذشت زمان است. شاخص TBA بیانگر میزان محصولات ثانویه پراکسیداسیون و محصولات حاصل از تجزیه هیدروپراکسید (محصول اولیه پراکسیداسیون) به ویژه مالون دی‌آلدئید می‌باشد (Gordon, 1996). بررسی آنالیز آماری نشان داد که بین اندیس اسید تیوباربی‌توریک

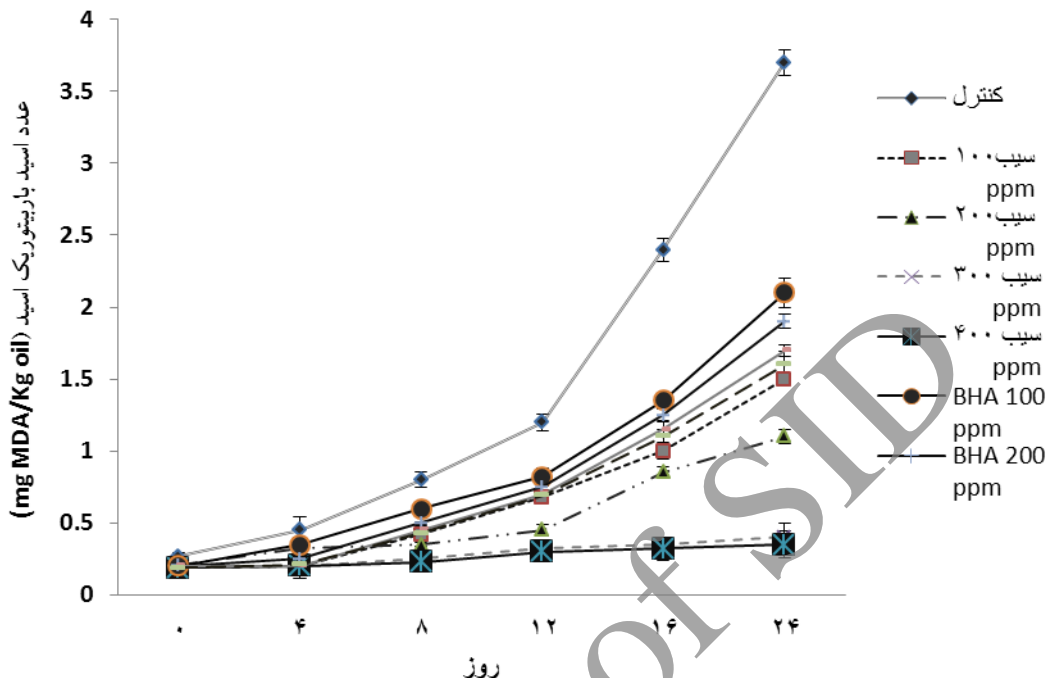
از شکل ۴ می‌توان به این نتیجه رسید که با افزایش زمان نگهداری نمونه‌های روغن کره در شرایط اکسیداسیون میزان عدد پراکسید افزایش یافت و نمونه شاهد که حاوی هیچ آنتی‌اکسیدانی نبود، در مقایسه با بقیه تیمارها بیشترین مقدار عدد پراکسید را در همه روزها داشت. می‌توان گفت علت افزایش عدد پراکسید تشکیل محصولات اولیه اکسیداسیون یعنی هیدرو پراکسیدها می‌باشد (Capannesi *et al.*, 2000). با افزایش غلظت عصاره‌ها سیب میزان عدد پراکسید کاهش و اثر آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. در روزهای اولیه بین تیمارها تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت. با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون و حرارت‌دهی تفاوت بین تیمارها بیشتر آشکار شد. در همه روزها حتی غلظت‌های پایین عصاره (۱۰۰ ppm) نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA غلظت (۱۰۰ ppm) توان آنتی‌اکسیدانی بهتری را نشان داد که این اختلافات معنی‌دار بود.

عدد پراکسید در نمونه شاهد طی ۲۴ روز ۱۷ برابر و در عصاره‌های سیب ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ ppm به ترتیب ۸، ۷، ۵/۵ و ۵ برابر افزایش یافت. در آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی عدد پراکسید در BHA در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm به ترتیب ۱۲ و ۹ برابر و در BHT در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm به ترتیب ۱۰ و ۸ برابر افزایش یافت که این افزایشات از لحاظ آماری معنی‌دار بود (شکل ۴). با توجه به نتایج حاصل عصاره‌های فنولی سیب نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی خاصیت آنتی‌اکسیدانی بهتری را نشان می‌دهند.

با افزایش دوره نگهداری میزان اندیس اسید تیوباربی‌توریک برای تمام نمونه‌ها افزایش یافت (شکل ۵). نمونه شاهد بیشترین اندیس

پیرسون این همبستگی معنی دار می‌باشد ($R^2 = ۰/۹۱$). Bakhshi and Arakawa (۲۰۰۶) با بررسی میزان فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیب رقم جاناتان بیان کرده اند که ارتباط مثبتی بین میزان فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد.

اسید و میزان DPPH یک همبستگی منفی وجود دارد ولی طبق ضریب پیرسون این همبستگی چندان معنی دار نیست ($R^2 = ۰/۶۵$). همچنین بررسی آماری نشان داد که بین عدد پراکسید و تیوباربتوریک اسید یک همبستگی مثبت وجود دارد که طبق ضریب



شکل ۵- عدد تیوباربتوریک اسید در روغن کره محلی با تیمارهای مختلف ترکیبات فنلی سیب قرمز (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام)، آنتی‌اکسیدان های سنتزی BHA و BHT (۱۰۰ و ۲۰۰ پی پی ام) و نمونه شاهد در روزهای ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۴.

گریپ فروت یک آنتی‌اکسیدان طبیعی مناسب و جایگزین خوبی جهت حفظ کیفیت روغن ماهی بود. این عصاره برای روغن‌هایی که به مدت طولانی در دمای اتاق نگهداری می‌شوند بعنوان جایگزین مناسب آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی TBHQ می‌باشد که این نتایج با نتایج این مطالعه همسویی نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری

با توجه به تحقیق انجام شده می‌توان نتیجه گرفت که میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بستگی به رقم سیب مورد مطالعه دارد. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی سیب در این مطالعه کارایی خوبی را در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی از خود نشان دادند که خود دلیل مثبت دیگری در مصرف سیب می‌باشد. با توجه به اینکه استان آذربایجان غربی یکی از استان‌هایی می‌باشد که بیشترین تولید سیب را در سطح کشور به خود اختصاص داده است، بنابراین پیشنهاد می‌گردد تا مطالعات مشابه بیشتری با تعداد نمونه‌های زیادتر و ارقام متنوع‌تر صورت گیرد تا بهترین رقم از لحاظ میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و همچنین اثر آنتی‌اکسیدانی مشخص گردد.

تحقیقات زیادی در پایداری روغن‌های خوراکی با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی مختلف صورت گرفته است. در مطالعه‌ای Goli و همکارانش (۲۰۰۴) غلظت‌های مختلف ترکیبات فنولیک موجود در پوست پسته را در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در روغن سویا بررسی کرده‌اند. نتایج آنها نشان داده است که غلظت‌های مختلف ترکیبات فنولیک قادرند به خوبی روند اکسیداسیون را کند نمایند که این نتایج با نتایج این مطالعه همسویی نشان می‌دهد.

روزبهان و همکاران (۱۳۸۷) به منظور بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراجی از تفاله انگور به روغن خام سویا اضافه کرده‌اند. نتایج آنها در گزارش اعداد پراکسید و تیوباربتوریک در مدت زمان ۱۳ روز نشان داده است که غلظت ۱۵۰ پی پی ام عصاره حاوی تانن تفاله انگور دارای فعالیت مناسبی در مهار اکسیداسیون روغن سویا می‌باشد.

صمدلوئی و همکاران (۱۳۸۶) گزارش کرده‌اند که ترکیبات فنلی عصاره هسته انار در غلظت ۳۵۰ ppm در جلوگیری از اکسیداسیون اثری مشابه آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی (BHA) در غلظت ۲۰۰ ppm دارند.

بر اساس یافته‌های یکرنگ و جوانمرد (۱۳۹۰) عصاره هسته

منابع

- Awad, M.A., Wagenmakers, P.S. & De Jager, A., 2001, Effects of light on flavonoid and chlorogenic acid levels in the skin of Jonagold apples, *Scientia Horticulturae*, 88, 289-298.
- Azizkhani, M., Zandi, P., Gaeeni, I., Safafar, H. & Akhavan-Attar, Z., 2006, The effect of natural antioxidant mixtures on the oxidative stability of margarine, *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 1 (2), 35-45.
- Bakhshi, D. & Arakawa, O., 2006, Effects of UV-B irradiation on phenolic compound accumulation and antioxidant activity in 'Jonathan' apple influenced by bagging, temperature and maturation, *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 4(1), 75-79.
- Bonvehi, J.S., Torrento, M.S. & Lorente, E.C., 2001, Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (4), 1848-1853.
- Boyer, J. & Liu, R.H., 2004, Apple phytochemicals and their health benefits, *Nutrition*, 3, 1- 5.
- Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M. & Parenti, A., 2000, Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils, *Food Chemistry*, 71, 553-562.
- Cieslik, E., Greda, A. & Adamus, W., 2006, Contents of polyphenols in fruits and vegetables, *Food Chemistry*, 94, 135-142.
- Cuendert, M., Hostettmann, K. & Potterat, O., 1997, Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagreae blumei*, *Helvetica Chimica Acta*, 80,1144-1152.
- D'Abrosca, B., Pacifico, S., Cefarelli, G., Mastellone, C. & Fiorentino, A., 2007, Limoncella apple, an Italian apple cultivar: phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity, *Journal of Food Chemistry*, 104, 1333-1337.
- Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F. & Hafezi, S., 2008, Antioxidant activities of Iranian corn silk, *Turkish Journal Biology*, 32, 43-49.
- Elhami Rad, A.H., Kooshki, E., Haddad Khodaparast. M.H. & Hooshmand Delir, M.R., 2010, Evaluation of combinatory natural and synthetic antioxidants and Citric Acid to stabilizing of butter ghee, *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 2 (2). 55-64.
- Firestone, D., 1994, Official methods and recommended practices of the American oil chemists' Society, 4th edn, *AOCS Press*, Champaign, IL.
- Goli, A.H., Barzegar, M. & Sahari, M.A., 2004, Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts, *Food Chemistry*, 92, 521 - 525.
- Ghorbani, E., Bakhshi, D., Haj Najari, H., Ghasemnejad, M. & Taghi Doost, P., 2010, Phenolic compounds and antioxidant activity of some native and imported apple cultivars in Karaj eegion, *Journal of Horticultural Science*, 24 (1), 83-90.
- Ghorbani, E. & Bakhshi, D., 2011, Evaluation of content of chlorogenic acid, flavonoids and antioxidant potential of 13 native and foreign apple cultivars, *Planet Production Technology*, 11 (2), 53-62.
- Gordon, M.H., 1996, Dietary antioxidants in disease prevention, *Natural Product Report*, 265-273.
- Hunter, J.E., 2005, Dietary levels of trans fatty acids, basis for health concerns and industry efforts to limit use, *Nutrition Research*, 25 (5), 499-513.
- Jung, C.H., Seog, H.M., Choi, I.W., Park, M.W. & Cho, H.Y., 2006, Antioxidant properties of various solvent extracts from wild ginseng leaves, *LWT- Food Science and Technology*, 39, 266-274.
- Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M. & Sokmen, A., 2007, Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure, *Food Chemistry*, 100(2), 584-589.
- Khanizadeh, S.H., Tsao, R., Rejzika, D., Yang, R., Charles, M.T. & Vasantha Rupasinghe, H.P., 2008, Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing, *Food Composition and Analysis*, 21, 396-401.
- Killicgun, H. & Altiner, D., 2010, Correlation between antioxidant effect mechanisms and polyphenols content of *Rosa canina*, *Pharmacognozy Magazine*, 6 (23), 238-241.
- Kowalski, R., 2009, Silphium L. extracts composition and protective effect on fatty acids content in sunflower oil subjected to heating and storage, *Food Chemistry*, 112, 820-830.
- Lachman, J., Sulc, M., Sus, J. & Pavlikova, O., 2006, Polyphenol content and antiradical activity in different apple varieties, *Journal of Horticultural Science* (Prague), 33, 95-102.
- Lister, C.E., Lancaster, J.E. & Sutton, K.H., 1994, Developmental changes in the concentration and composition of flavonoids in skin of a red and a green apple cultivar, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 64, 155-161.
- Lee, K. W., Kim, Y. J., Kim, D. O., Lee, H. J. & Lee, C. Y., 2003, Major phenolic in apple and their contribution to the total antioxidant capacity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6516-6520.
- Mahdavi, D.L., Deshpande, S.S. & Salunkhe, D.K., 1995, Food antioxidant, 1 edn. New York, Marcel Dekker, Inc, U.S.A. p, 378.
- Markowski, J. & Plochanski, W., 2006, Determination of phenolic compounds in apples and processed apple products,

- Fruit and Ornamental Plant Research, 14, (Suppl. 2).
- Paixao, N., Perestrelo, R., Marques, J.C. & Camara, J.S., 2007, Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose and white wines, *Food Chemistry*, 105, 204–214.
- Rafiee, M., Naseri, L., Bakhshi, D. & Alizadeh, A., 2012, Phenolic compounds and antioxidant activity of some Iranian and commercial apple varieties in West Azarbaijan province, *Journal of Crops Improvement*, 14 (2), 43-55.
- Rouzbehan, Y., Alipour, D., Barzegar, M. & Azizi, M.H., 2008, Antioxidant activity of phenolic compounds of grape pomace. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 3, 69-74.
- Sadghara, P. & Barin, A., 2010, The study of antioxidant potential of *Morus alba* L. leaves extract, *Journa of Herbal Drugs*, 3, 35-42.
- Samadloiy, H.R., Azizi, M.H. & Barzegar, M., 2007, Antioxidative effect of pomegranate seed phenolic componends on soybean oil. *Journal of Agriltur Science and Natural Resour.* 14 (4), 12-20.
- Sidewell, G.G., Salwin, H., Benca, M. & Mitchel, J.A., 1954, The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation, *Journal of American Oil Chemists Society*, 31, 603 – 606.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R.M., 1999, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Standard of butter pasteurized, Specification and Test Method, No: 132, Standard Instiute and Industrial Research Publications. Iran, Karaj.
- Tabart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J.O. & Dommes, J., 2009, Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests, *Food Chemistry*, 113, 1226-1233.
- Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Massai, R., Remorini, D. & Agati, G., 2004, Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress, *New Phytologist*, 163, 547-561.
- Van der Sluis, A., Dekker, M., De Jager, A. & Jongen, W., 2001, Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year and storage conditions, *Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3606-3613.
- Vojodi Mehrabani, L., Dadpour, M.R., Delazar, A., Movafeghi, A. & Hadjilou, J., 2010, Identification of polyphenolic and flavonoid compounds in 'Zonouz' and 'Gala' apple fruits by means of high-performance liquid chromatography *journal of Food Research*, 3 (20), 3-12.
- Vrhovsek, U., Rigo, A., Tonon, D. & Mattivi, F., 2004, Quantitation of polyphenols in different apple varieties, *Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6532-6538.
- Yekrang, A. & Javanmard, M., 2012, Evaluation of antioxidant activity of grapefruit seed extract on the stability of anchovy oil, *Food Technology and Nutrition*, 9 (1), 49-60.
- Zainol, M.K., Abd-hamid, A., Yusof, S. & Muse, R., 2003, Antioxidant activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica* (L.) urban, *Journal of Food Chemistry*, 81, 575-581.

Evaluation of the phenolic compounds of west Azerbaijan province's apples and their antioxidant activity in preventing the oxidation of local butter oil

Latifeh Pourakbar¹

Resived: 2013.12.06

Accepted: 2014.05.10

Introduction: Lipid oxidation is a major cause of food quality deterioration during storage of oils, fats and other fat-containing foods. Oxidation of lipids results in changes that may affect the nutritional quality, wholesomeness, colour, flavour and texture of food. Moreover, the products of lipid oxidation may be potentially toxic and may lead to adverse effects such as the production of carcinogens, mutagenesis and aging. Autoxidation occurs when molecular oxygen reacts with unsaturated lipids. The process involves a free radical chain reaction that is most frequently initiated by exposure of unsaturated lipids to light, heat, ionizing radiation, metal ions or metalloprotein catalysts. Free radicals are defined as any chemical species having one or more unpaired electrons. Antioxidants are a group of chemicals capable of extending the shelf life of food that contain lipids. They are used to retard the development of unpleasant flavour caused by the oxidation of unsaturated fatty acids. They retard oxidation of lipids by reacting with free radicals, chelating free catalytic metals and also by acting as oxygen scavengers. Currently the food industry uses synthetic antioxidants such as BHA, BHT and TBHQ to retard lipid oxidation. However, there is concern about the safety and toxicity of synthetic antioxidants in relation to their metabolism and accumulation in body organs and tissues. Synthetic antioxidants are known among other things to cause impairment of blood clotting, lung damage and to act as tumor promoters. As a result of this, consumers have a preference for natural ingredients and there is a growing interest in the potential use of antioxidants from natural sources. Phenolic extracts from herbs and spices, cereals and legumes have been reported to effectively retard lipid oxidation in oils and fatty foods. As a result of concern for the safety of synthetic antioxidants, there is a growing interest in the potential use of phenolic extracts from plant sources as antioxidants in lipids. The potential use of phenolic extracts from different plant sources such as sorghum, herbs and spices have been studied extensively. Extracts of spices such as rosemary and sage are now available commercially for use as natural antioxidants. Phenolic compounds are defined as substances possessing a benzene ring bearing one or more hydroxyl substituents, including their functional derivatives. There are different sources of phenols such as grapes, olive oil, sorghum, beans, spices and herbs. Phenols have many favourable effects on human health. They decrease the risk of heart diseases by inhibiting the oxidation of low-density lipoproteins (LDL). A large range of low and high molecular weight phenols exhibiting antioxidant properties have been studied and proposed to be used as antioxidants against lipid oxidation. This is particularly true for those phenolics with multiple hydroxyl groups that are generally the most efficient for preventing lipid oxidation. Phenolic compounds are also known to possess antibacterial, antiviral, antimutagenic and anticarcinogenic properties. Generally the efficacy of phenolic compounds as antioxidants depends on a number of factors such as the number of hydroxyl groups bonded to the aromatic ring, the site of bonding, mutual position of hydroxyls in the aromatic ring and their ability to act as hydrogen or electron donating agents and free radical scavengers. All polyphenols are capable of scavenging singlet oxygen and alkyl radical through electron donating properties, thus generating a relatively stable phenoxyl radical. The goals of this study were to investigate the effect of incorporation of different apple cultivars' phenolic extracts on formation of primary oxidation products in butter comparing to some of the synthetic antioxidants such as BHA and BHT

Material and methods: Different apple cultivars from different places of West Azerbaijan province had been collected and their total phenol content, flavonoids and antioxidant properties were measured according to Folin-Ciocalteu, Colorimetry and Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) methods respectively. The measurement of peroxide value and thiobarbituric acid of local butter oil samples consisting of different concentrations of extract and synthetic antioxidants was performed as well.

Discussion & Results: In conclusion, this investigation demonstrates that apple is a rich source of phenolic compounds and antioxidant capacity. Fuji and Sheikh Ahmad cultivars showed the maximum and minimum content of total phenol content, flavonoids and antioxidant activity which are 2940.24 and 1350.22 microgram equivalent gallic acid/ gram of dry extract; 2530.32 and 1200.74 microgram equivalent quercetin/ gram of dry extract and 91.87 and 32%. The maximum and minimum amount of peroxide value and thiobarbituric acid was

1 - Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Orumiyeh.
(*Corresponding Author Email: l.pourakbar@urmia.ac.ir)

reported for control and 400 ppm apple extract samples respectively. The results of this study showed that "Fuji" cultivar contained the highest antioxidant activity. The Fuji apple extract are able to reduce the formation of hydroperoxides in butter oil during storage at 60°C. The phenolic extracts from Fuji apple to be more effective than BHA in stabilising butter oil at 60°C. Apple phenolic extracts inhibited oxidation of butter oil. The extracts were able to retard oxidation because of the ability of phenolic compounds to scavenge and stabilise lipid radicals by donating hydrogen atoms. Also the concentration of the extract was an effective factor in the inhibition of oxidation; that is, as we increased the concentration, the inhibition of oxidation also increased.

Conclusion: Due to their ability to act as reducing agents, phenolic compounds in apple phenolic extracts from Fuji varieties can be used as antioxidants in butter oil to retard formation of primary oxidation products, specifically hydroperoxides.

Keywords: Apple phenolic compounds, Antioxidant activity, Butter oil oxidation

Archive of SID