Archive of SID

نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد دهم، شماره دوم، ۹۷
۱۹-۳۲
http://ejfpp.gau.ac.ir
DOI:10.22069/EJFPP.2019.13307.1432

بررسی اثر عصاره غلاف نخود فرنگی بر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان تحت شرایط تسریع شده

علی گنجلو*[۱]، ماندانا بی مکر[۱]، مسعود قربانی[۲]

[۱]استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
[۲]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد تکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۲۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۱۸

چکیده

سابقه و هدف: اکسایش لیپیدها یکی از مهم‌ترین دلایل افت کیفیت تغذیه‌ای و ویژگی‌های ارگانولپتیک مواد غذایی و همچنین ایجاد و پیشرفت بیماری‌های مختلف از طریق تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌باشد. از این رو استفاده از ترکیبات ضد اکسایش به منظور حفاظت از مواد غذایی در برابر اکسایش ضروری است. امروزه نگرانی‌های مصرف کنندگان در مورد ایمنی ترکیبات سنتزی باعث شده پژوهش‌های گسترده‌ای در زمینه کشف ترکیبات زیست فعال طبیعی و ایمن صورت گیرد. لذا در این پژوهش توانایی حفاظت کنندگی عصاره غلاف نخود فرنگی به‌عنوان یک عامل ضد رادیکال گیاهی در برابر اکسایش روغن آفتابگردان مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: در ابتدا، عصاره غلاف نخود فرنگی توسط حلال‌های مختلف شامل آب، اتانول، استون و هگزان به دست آمد. میزان ترکیبات فنولی کل و فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌ها به ترتیب با روش رنگ سنجی و دو روش مهار رادیکال‌های آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) مورد ارزیابی قرار گرفتند. در ادامه، تاثیر عصاره غلاف نخود فرنگی حاوی بالاترین میزان ترکیبات فنولی کل و بیشترین توانایی ضد رادیکالی بر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان تحت شرایط تسریع شده در دمای ۶۵ درجه سلسیوس طی ۲۴ روز با تعیین عدد پراکسید، عدد پارا- آنیزیدین و عدد توتوکس مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور عصاره غلاف نخود فرنگی در پنج سطح (۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام) و ضد اکسایندە سنتزی BHT (۲۰۰ پی پی ام) به روغن آفتابگردان افزوده شدند.

یافته‌ها: بیشترین میزان ترکیبات فنولی کل (۱۴۰/۰۴ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم عصاره) و فعالیت مهار کنندگی رادیکال-های آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (۸۲/۴۷ درصد) و هیدروژن پراکسید (۱۰/۶۳ درصد) در عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی به‌دست آمد. پس از گذشت ۲۴ روز تحت شرایط تسریع شده حداکثر اعداد پراکسید، پارا-آنیزیدین و توتوکس برای نمونه کنترل به ترتیب معادل ۱۸۵ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن، ۳۷ و ۴۰۷ به دست آمد. درحالی‌که برای نمونه روغن حاوی عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی با حداقل غلظت این اعداد معادل ۱۲۸/۲ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن ، ۲۸ و ۲۶۰ بود. نتایج حاکی از آن است که افزودن عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی با غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام به روغن آفتابگردان در مقایسه با ضد اکسایندە سنتزی BHT در مقدار بیشینه مجاز (۲۰۰ پی پی ام) موثرتر است.

*مسئول مکاتبه: aganjloo@znu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری: نتایج به‌دست آمده تایید کننده فعالیت ضدرادیکالی مطلوب عصاره غلاف نخود فرنگی خصوصا عصاره اتانولی می‌باشد. از طرفی پایداری روغن آفتابگردان به علت مقدار بالای لینولئیک اسید مشکل به‌نظر می‌رسد اما نتایج حاکی از آن است که عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی به‌خوبی قادر به حفاظت از روغن آفتابگردان در برابر فرایند اکسایش می‌باشد. در نتیجه عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی را می‌توان به عنوان جایگزین طبیعی و موثر برای ضد اکساینده سنتزی BHT به‌منظور افزایش پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان پیشنهاد نمود.

واژه‌های کلیدی: غلاف نخود فرنگی، روغن آفتابگردان، فعالیت ضد رادیکالی، پایداری اکسایشی.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

امروزه استفاده از روغن‌های گیاهی به‌عنوان یک منبع غنی و ارزشمند از لحاظ تغذیه‌ای در رژیم غذایی انسان‌ها بسیار متداول است. روغن آفتابگردان حاوی تقریبا ۶۵ درصد اسیدهای چرب چند غیراشباعی و ۲۱ درصد اسیدهای چرب تک غیراشباعی است. به‌دلیل مقادیر بالای چربی‌های چند غیراشباعی در روغن آفتابگردان، این روغن در مقابل اکسایش آسیب‌پذیر است. اکسایش لیپیدها یکی از مهم‌ترین دلایل افت کیفیت تغذیه‌ای و ویژگی‌های ارگانولپتیک مواد غذایی نظیر فراورده‌های گوشتی، لبنی و روغن‌های خوراکی و همچنین ایجاد و پیشرفت بیماری‌هایی نظیر سرطان، تصلب شرایین و فرآیند پیری از طریق تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌باشد (۱).

عوامل ضد اکسایش ترکیباتی هستند که بسته به نوع ساختمان‌شان در واکنش‌های مختلفی نظیر کند کردن مرحله آغاز و انتشار، مهار کاتالیزورها، پایدار ساختن هیدروپراکسیدها، تخریب یا ترکیب شدن با رادیکال‌های آزاد شرکت می‌کنند لذا در جلوگیری یا به تاخیر انداختن اکسایش موثر می‌باشند و سبب افزایش پایداری اکسایشی که همان مقاومت چربی به اکسایش است می‌گردند (۲). استفاده از ترکیبات ضد اکسایش سنتزی نظیر بوتیلات هیدروکسی آنیزول[1]، بوتیلات هیدروکسی تولوئن[2] و ترشیو بوتیل هیدروکوینون[3] به‌عنوان یک ماده افزودنی به‌منظور حفاظت از روغن‌های خوراکی در برابر اکسایش بسیار موثر می‌باشد. اما امروزه عدم پذیرش این ترکیبات سنتزی از سوی مصرف کنندگان به‌دلیل اثرات نامطلوب آنها بر سلامت از قبیل سرطان‌زایی، سمیت احتمالی و همچنین فرار بودن و حساسیت آنها به گرما باعث شده پژوهش‌های گسترده‌ای در زمینه کشف ترکیبات زیست فعال طبیعی دارای فعالیت ضد اکسایشی و ایمن به‌منظور یافتن جایگزینی مناسب برای انواع سنتزی صورت گیرد (۳). نتایج مطالعات متعدد حاکی از توانایی عصاره‌های طبیعی به‌دست آمده از منابع مختلف گیاهی نظیر گیاه رزماری (۴)، برگ زیتون (۵)، شوید (۶)، برگ توت فرنگی (۷) و پوست کیوی (۸) جهت کاهش واکنش‌های اکسایشی در مواد غذایی حاوی چربی به‌دلیل وجود ترکیبات توکوفرولی و فنولی می‌باشد.

نخود فرنگی یا نخود سبز (*Pisum sativum* L.) گیاه علفی، یک ساله و بومی جنوب غرب آسیا (سوریه، عراق و ایران) می‌باشد. طبق گزارش سازمان غذا و کشاورزی سازمان ملل متحد[4] سطح زیر کشت این گیاه در جهان در سال ۲۰۱۳ بالغ بر ۶/۳۸ میلیون هکتار با تولید دانه به مقدار ۱۸/۵میلیون تن بوده است. در سراسر جهان نخود فرنگی پس از غلاف‌گیری به بازار عرضه و مورد مصرف واقع می‌شود. در نتیجه، دفع مواد زائد تولید شده پس از فراوری آن، یک مسیر معمول در صنعت بشمار می‌آید. مطالعات صورت گرفته نشان می‌دهد که این ماده منبع مهمی از فیبرهای خوراکی، پلی‌ساکاریدها و ترکیبات زیست فعال هستند که می‌توانند خواص تکنولوژیکی و یا تغذیه‌ای را بهبود بخشند (۱۱-۹). در این پژوهش با توجه به اهمیت یافتن جایگزین طبیعی برای عوامل ضد اکسایش سنتزی خصوصا از منابع طبیعی و ارزان قیمت، تاثیر عصاره حاوی ترکیبات زیست فعال غلاف نخود فرنگی بر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان در مقایسه با عامل ضد اکسایش سنتزی بوتیلات هیدروکسی تولوئن تحت شرایط تسریع شده بررسی گردید.

1. BHA
2. BHT
3. TBHQ
4. Food and Agriculture Organization (FAO)

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

مواد: نخود فرنگی مورد استفاده در این پژوهش در خردادماه سال ۱۳۹۴ از مزارع شهرستان طارم در استان زنجان برداشت شد. پس از جداسازی دانه‌ها، غلاف‌ها شسته و در سایه خشک شدند. غلاف‌های خشک شده تا قبل از انجام عصاره‌گیری (روز بعد) در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. روغن آفتابگردان تصفیه شده فاقد ترکیبات ضد اکسایش از واحد صنعتی بهشهر واقع در استان تهران تهیه و تا زمان استفاده در محیط تاریک و دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش نیز از شرکت‌های مرک و سیگما خریداری شدند.

استخراج عصاره غلاف نخود فرنگی: غلاف‌های نخود فرنگی به‌منظور تهیه ترکیبات زیست فعال توسط دستگاه آسیاب آزمایشگاهی پودر و از الک با مش ۳۵ عبور داده شدند. پودر غلاف نخود فرنگی تا زمان انجام آزمون در فریزر با دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شدند. به منظور استخراج عصاره به‌روش خیساندن ۵ گرم پودر غلاف نخود فرنگی با ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال‌های مختلف نظیر آب، استون، اتانول و هگزان مخلوط شد و به مدت ۲۴ ساعت در ظروف درب‌دار تیره و در محیط تاریک (۲۵ درجه سلسیوس) قرار گرفت. پس از سپری شدن زمان مذکور مخلوط‌های فوق را با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف کرده و سپس بخش مایع حاوی عصاره با دستگاه تبخیر کننده چرخشی تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سلسیوس تغلیظ گردید. در نهایت عصاره تغلیظ شده با خشک کن انجمادی، خشک و به پودر تبدیل شد. پودر به‌دست آمده پس از تزریق گاز نیتروژن تا زمان آزمون در فریزر با دمای ۱۸- درجه سلسیوس (حداکثر ۲۴ ساعت) نگهداری شد (۱۰).

اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی کل: محتوای فنولی کل عصاره غلاف نخود فرنگی با استفاده از روش رنگ سنجی و بر اساس واکنش معرف فولین با گروه‌های هیدروکسی فعال موجود در ترکیبات فنولی مورد بررسی قرار گرفت (۱۲). ۱۰۰ میکرولیتر عصاره با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ۰/۷۵ میلی‌لیتر شناساگر فولین (که قبلا با نسبت ۱ به ۱۰ با آب دیونیزه شده رقیق شده است) اضافه و مخلوط گردید. پس از گذشت ۵ دقیقه، ۰/۷۵ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۶ درصد (وزنی- حجمی) به مخلوط اضافه و به آرامی بهم‌زده شد. پس از نگهداری مخلوط نهایی به‌مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق میزان جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف سنج فرابنفش- مرئی (Specord 250, ANALYTIK JENA, Germany) قرائت گردید. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد و نتایج بر حسب معادل میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم عصاره بیان شد.

اندازه‌گیری فعالیت ضدرادیکالی عصاره زیست فعال غلاف نخود فرنگی

اندازه‌گیری فعالیت ضد رادیکالی به روش دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH): برای انجام این آزمایش ابتدا ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره‌های غلاف نخود فرنگی با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۲ میلی‌لیتر محلول DPPH (۰/۵میلی‌مولار) به آن اضافه شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و محیط تاریک قرار گرفت. در نهایت میزان جذب توسط دستگاه طیف سنج فرابنفش- مرئی (Specord 250, ANALYTIK JENA, Germany) در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید (۱۳). درصد رادیکال‌های به‌دام انداخته شده DPPHبا استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد.

رابطه ۱:

$$\text{درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH} = \left(\frac{A_t - A_i}{A_t}\right) \times 100$$

www.SID.ir

Archive of SID

در این رابطه A_i میزان جذب نمونه حاوی عصاره غلاف نخود فرنگی و رادیکال‌های آزاد DPPH و A_t میزان جذب محلول DPPH خالص است.

اندازه‌گیری فعالیت ضدرادیکالی به روش هیدروژن پراکسید (H_2O_2): برای تعیین توانایی به‌دام انداختن هیدروژن پراکسید توسط عصاره غلاف نخود فرنگی محلول هیدروژن پراکسید (۴۰ میلی‌مولار) در بافر فسفات (۵۰ میلی‌مولار، ۷/۴pH) تهیه گردید. عصاره‌های زیست فعال غلاف نخود فرنگی با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به محلول هیدروژن پراکسید اضافه شد و پس از ۱۰ دقیقه میزان جذب در طول موج ۲۳۰ نانومتر در مقایسه با نمونه شاهد که حاوی بافر فسفات بدون هیدروژن پراکسید است، قرائت گردید (۱۴). درصد به‌دام اندازی هیدروژن پراکسید از طریق رابطه ۲ به‌دست آمد:

رابطه ۲:

درصد بازدارندگی به روش هیدروژن پراکسید = $\left(\frac{A_i - A_t}{A_t}\right) \times 100$

در این رابطه A_i میزان جذب نمونه شاهد و A_t میزان جذب نمونه مورد آزمایش است.

بررسی توانایی عصاره غلاف نخود فرنگی در به تاخیر انداختن اکسایش روغن آفتابگردان: در این آزمون، مقدار مشخصی از عصاره خشک و پودر شده غلاف نخود فرنگی به منظور ایجاد غلظت‌های نهایی ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی ام در ۱۵۰ میکرولیتر حلال اتانول (۹۹ درصد) حل و به روغن آفتابگردان تصفیه شده و فاقد عامل ضد اکسایش در دمای ۵۰ درجه سلسیوس اضافه شد. ضد اکساینده سنتزی بوتیلات هیدروکسی تولوئن نیز با غلظت مجاز ۲۰۰ پی پی ام به عنوان نمونه شاهد طبق روش ارائه شده در بالا به روغن اضافه گردید. سپس نمونه‌ها تحت شرایط تسریع شده در دمای ۶۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ روز قرار گرفتند (۱۵). میزان پیشرفت اکسایش در فواصل منظم (هر ۸ روز یکبار) از طریق سنجش اندیس‌های پراکسید، پارا-آنیزیدین و توتوکس تیمارها مورد بررسی قرار گرفت. در تمام مراحل نمونه‌ها درون ظروف شیشه‌ای تیره رنگ نگهداری شدند. نمونه روغن آفتابگردان فاقد ترکیبات ضد اکسایش به‌عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد.

بررسی شاخص‌های اکسایش روغن آفتابگردان

اندازه‌گیری عدد پراکسید: عدد پراکسید نمونه‌ها براساس روش AOCS cd 8-53 اندازه گیری شد. در این آزمون، ۵ گرم روغن آفتابگردان در ۳۰ میلی‌لیتر حلال استیک اسید-کلروفرم (نسبت حجمی ۱/۵ به ۱) حل شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر محلول اشباع یدید پتاسیم اضافه شد و مخلوط به‌مدت یک دقیقه در محل تاریک قرار گرفت. در ادامه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مخلوط اضافه شد و سپس با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تا از بین رفتن رنگ زرد تیتر شد. در نهایت ۰/۵ میلی‌لیتر معرف نشاسته ۱۰ درصد اضافه شد و تیتراسیون تا جایی‌که رنگ آبی از بین رفت ادامه یافت. عدد پراکسید با استفاده از رابطه ۳ زیر محاسبه و بر حسب میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم روغن بیان شد (۱۶).

رابطه ۳ : $\text{عدد پراکسید} = \frac{N \times V \times 1000}{m}$

در این رابطه، V حجم تیتر شده از سدیم تیوسولفات (میلی‌لیتر)، N: نرمالیته تیوسولفات سدیم و m جرم روغن آفتابگردان است.

اندازه‌گیری عدد پارا-آنیزیدین[1]: عدد پارا-آنیزیدین براساس روش AOCS- cd 18-90 اندازه‌گیری شد. در ابتدا ۲ گرم نمونه توزین و با ایزواکتان به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسید. سپس ۵ میلی‌لیتر از محلول فوق با یک میلی‌لیتر محلول پارا-آنیزیدین (۰/۲۵ درصد وزنی-حجمی) تهیه شده در استیک اسید مخلوط شد و به

1. *p*-anisidine

www.SID.ir

Archive of SID

مدت ۱۰ دقیقه در محل تاریک نگهداری می‌شود. در نهایت میزان جذب در طول موج ۳۵۰ نانومتر قرائت شد. محلول شاهد که حاوی ۵ میلی‌لیتر ایزواکتان است تحت شرایط مشابه اندازه‌گیری می‌شود. عدد پارا- آنیزیدین با استفاده از رابطه ۴ محاسبه شد (۱۶).

رابطه ۴ : $AnV= 25 \times (1.2A_s\text{-}Ab)/m$

در این رابطه، A_s جذب روغن پس از واکنش با پارا- آنیزیدین، A_b جذب نمونه شاهد و m وزن روغن بر حسب گرم است.

اندازه‌گیری عدد اکسایش کل[1]: عدد اکسایش کل نمونه روغن با استفاده از عدد پارا- آنیزیدین و پراکسید از طریق رابطه ۵ محاسبه گردید.

رابطه ۵: $TOTOX = 2PV + AV$

تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش در قالب طرح کاملا تصادفی و در ۳ تکرار انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. از نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ برای رسم نمودارها استفاده گردید. تمامی داده‌ها به صورت میانگین± انحراف معیار گزارش شده است.

نتایج و بحث

میزان ترکیبات فنولی کل عصاره‌های غلاف نخود فرنگی:

ترکیبات فنولی، گروه مهمی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که در پاسخ به تنش‌های محیطی ایجاد می‌شوند. این ترکیبات به‌دلیل دارا بودن گروه‌های هیدروکسیل می‌توانند به‌عنوان دهنده هیدروژن یا الکترون عمل کنند و با خنثی سازی رادیکال‌های آزاد و یا چلاته کردن فلزات منجر به قطع واکنش‌های زنجیره‌ای اکسایش می‌شوند (۱۷). از این‌رو، به‌دلیل وجود ارتباط مستقیم بین ترکیبات فنولی در منابع گیاهی با فعالیت ضد رادیکالی ترکیبات به‌دست آمده از آن‌ها میزان کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره غلاف نخود فرنگی اندازه گیری شد. نتایج تجزیه و تحلیل واریانس نشان داد، نوع حلال مورد استفاده جهت استخراج، تاثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بر میزان ترکیبات کل فنولی عصاره‌ها داشت. براساس جدول ۱ بیشترین میزان کل ترکیبات فنولی در عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی (۱/۰۰±۱۴۰/۰۴ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره) به‌دست آمد. نتایج مطالعات مختلف نشان می‌دهند که عوامل مختلفی از جمله قطبیت و گرانروی حلال، نوع و ساختار شیمیایی ترکیبات بر قابلیت استخراج ترکیبات فنولی و فعالیت ضد رادیکالی آن‌ها تاثیرگذار است (۱۸). در استخراج ترکیبات فنولی برخی از میوه‌های گرمسیری با حلال‌های مختلف نتایج حاکی از آن بود که اتانول موثرترین سیستم حلال برای استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی است (۱۹).

فعالیت ضدرادیکالی عصاره‌های غلاف نخود فرنگی بر مبنای آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) و هیدروژن پراکسید (H_2O_2):

از آنجا که خصوصیات شیمیایی، قطبیت و گروه‌های عملکردی ترکیبات زیست فعال متفاوت می‌باشند معمولاً از چند روش برای بررسی اثرات ضد رادیکالی استفاده می‌شود تا معایب روش‌های مختلف پوشانده شود. بررسی فعالیت به‌دام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH توسط ترکیبات زیست فعال یکی از روش‌های ساده و با حساسیت بالا برای تعیین میزان فعالیت ضد رادیکالی است که در این روش رنگ ارغوانی رادیکال‌های آزاد DPPH در طول موج ۵۱۷ نانومتر، توسط ترکیبات ضد رادیکال کاهش می‌یابد و به رنگ زرد تبدیل می‌شود.

1. Total oxidation (TOTOX) value

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: میزان ترکیبات کل فنولی عصاره غلاف نخود فرنگی استخراج شده با حلال‌های مختلف.

Table 1. Total phenolic content of green pea pod extract obtained using different solvents.

نوع حلال Solvent type	میزان ترکیبات فنولی کل (میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره) Total phenolic content (mgGAE/g extract)
آب Water	17.5±0.50 C
استون Acetone	115.80±1.12 B
اتانول Ethanol	140.4± 1.00 A
هگزان Hexane	13.50±0.2 D

داده‌های جدول به‌صورت میانگین± انحراف معیار سه تکرار است. حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میانگین داده‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد است.

Values are means ± standard deviation of three replicate. Different capital letters represent significantly deference of means at P<0.05.

درجه بی‌رنگ شدن این ترکیب بیانگر قدرت به‌دام اندازی رادیکال‌های آزاد توسط ترکیبات ضد رادیکال مورد مطالعه می‌باشد. جدول ۲ توانایی مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH توسط عصاره‌های زیست فعال غلاف نخود فرنگی را نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود بالاترین فعالیت ضد رادیکالی به ترتیب مربوط به عصاره اتانولی (۰/۴۵±۸۲/۴۷ درصد)، استونی (۱/۸۲±۷۵/۴۸ درصد)، آبی (۰/۹۹±۶۳/۷۰ درصد) و هگزانی (۰/۶۹±۵۳/۶۷ درصد) است. تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش دانکن نشان داد که بین فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌ها اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) وجود دارد.

در بررسی فعالیت ضد رادیکالی به روش مهار رادیکال‌های آزاد هیدروژن پراکسید نیز مشاهده شد (جدول ۲) که بالاترین فعالیت ضد رادیکالی به ترتیب مربوط به عصاره اتانولی (۰/۰۷±۱۰/۶۳ درصد)، استونی (۰/۲۳±۴/۷۴ درصد)، آبی (۰/۳۴±۲/۱۲ درصد) و هگزانی (۰/۱۳±۱/۲۰ درصد) است. تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش دانکن نشان داد که بین فعالیت ضد رادیکالی بررسی شده به این روش نیز بین عصاره‌ها اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) وجود دارد. مقایسه فعالیت ضد رادیکالی عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی با ضد اکسایندهٔ مصنوعی BHT حاکی از آنست قدرت ضد اکسایشی عصاره اتانولی قابل رقابت با ضد اکسایندهٔ مصنوعی مورد مطالعه می‌باشد. در نتیجه می‌توان ادعا نمود عصاره زیست فعال اتانولی غلاف نخود فرنگی توانایی مطلوبی برای الکترون‌دهی دارد و از آن می‌توان برای پایان دادن به زنجیره الکترونی جهت تبدیل گونه‌های فعال رادیکال آزاد به انواع غیر رادیکالی پایدارتر استفاده نمود. نتایج تحقیق حاضر با نتایج به دست آمده توسط دو و همکاران (۲۰)، سوارس و همکاران (۲۱) و اسماعیلی و همکاران (۲۲) همخوانی داشت. براساس نتایج به‌دست آمده، حلال اتانول قدرت بالایی در استخراج ترکیبات زیست فعال از منابع گیاهی در مقایسه با سایر حلال‌ها دارد. البته نوع حلالی که بالاترین درصد ترکیبات فنولی را استخراج می‌کند همیشه معلولی از نوع و ماهیت نمونه است و به نوع ترکیبات موثره موجود در نمونه و قطبیت آن نیز بستگی دارد. رابطه بین میزان ترکیبات فنولی کل و فعالیت ضد رادیکالی در شکل (۱) نشان داده شده است. وجود رابطه خطی به معنای ارتباط بین فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌های غلاف نخود فرنگی و میزان بالای فنول‌های موجود در عصاره‌ها است. با توجه به معادلات ارائه شده در شکل (۱)، ۹۴ درصد فعالیت ضد رادیکالی در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ۸۰ درصد فعالیت ضد

www.SID.ir

Archive of SID

رادیکالی در مهار رادیکال‌های آزاد H_2O_2 مربوط به ترکیبات فنولی است. وجود چنین ارتباطی توسط عربشاهی و عروج (۲۳)، ساحرین و همکاران (۲۴) و سان و همکاران (۲۵) نیز گزارش شده است.

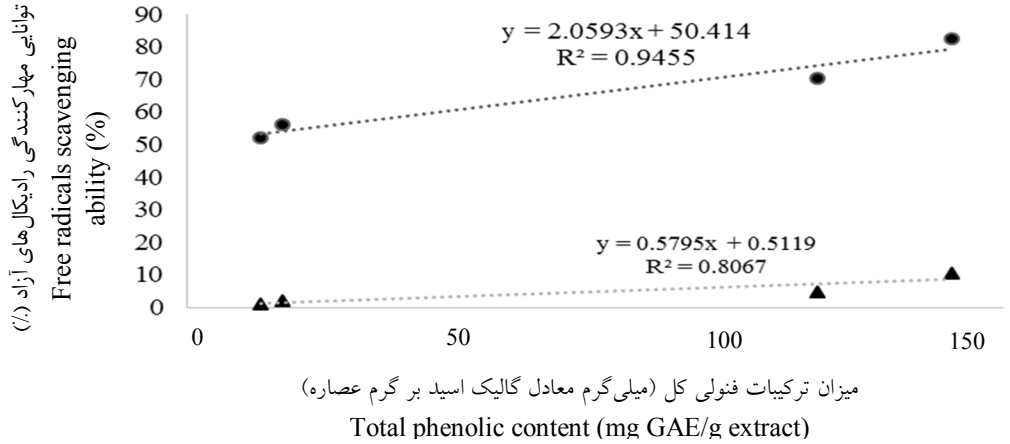
جدول ۲: مقایسه میزان فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌های غلاف نخود فرنگی استخراج شده با حلال‌های مختلف

Table 2. Comparison of antiradical activity of green pea pod extracts obtained using different solvents

بازدارندگی رادیکال هیدروژن پراکسید (٪) Inhibition of hydrogen peroxide radical (%)	بازدارندگی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل (٪) Inhibition of DPPH radical (%)	نوع حلال Solvent type	
2.12 ± 0.34^{C}	56.12 ± 0.60^{C}	Water	آب
4.74 ± 0.23^{B}	70.28 ± 1.53^{B}	Acetone	استون
10.63 ± 0.07^{A}	82.47 ± 0.45^{A}	Ethanol	اتانول
1.20 ± 0.13^{D}	51.93 ± 1.43^{D}	Hexane	هگزان

داده‌های جدول بصورت میانگین ± انحراف معیار سه تکرار است. حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میانگین داده‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد است.

Values are means ± standard deviation of three replicate. In each column, different capital letters represent significantly deference of means at $P<0.05$.



شکل ۱: ارتباط بین محتوای فنولی کل و فعالیت ضد رادیکالی به روش‌های DPPH (●) و هیدروژن پراکسید (▲).

Figure 1. Correlation between total phenolic content and antiradical activity in DPPH (●) and H_2O_2 (▲) assays.

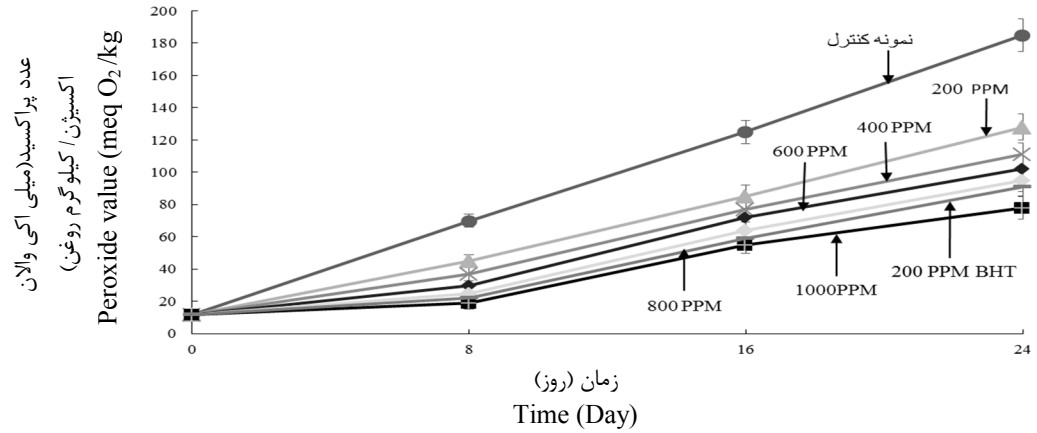
اثر عصاره غلاف نخود فرنگی بر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان: در این مطالعه با توجه به میزان محتوای فنولی کل و درصد مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد از عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی جهت بررسی اثر آن بر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان استفاده گردید. مقادیر پراکسید، پارا- آنیزیدین و توتوکس در فواصل زمانی ۸ روز به مدت ۲۴ روز در شرایط اکسایش تسریع شده (۶۵ درجه سلسیوس) تعیین شدند.

ارزیابی عدد پراکسید روغن آفتابگردان طی مدت نگهداری تحت شرایط تسریع شده: عدد پراکسید معیاری از پراکسیدها و هیدروپراکسیدهای ایجاد شده در مرحله آغازین تغییرات اکسایشی است. هیدروپراکسیدها به عنوان محصول اولیه اکسایش روغن‌ها می‌توانند به محصولات فرار و یا غیر فرار ثانویه تبدیل شوند که سبب از بین رفتن روغن خواهند شد. در این پژوهش، عدد پراکسید روغن آفتابگردان در حضور ترکیبات ضد اکساینده سنتزی و طبیعی با غلظت‌های مختلف و نیز در نمونه کنترل (نمونه فاقد هرگونه ترکیب ضد اکسایش) در دمای

www.SID.ir

Archive of SID

۶۵ درجه سلسیوس طی ۲۴ روز تعیین شد (شکل ۲). حداکثر عدد پراکسید برای نمونه کنترل معادل ۱۸۵ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن پس از گذشت ۲۴ روز به دست آمد. مقادیر عدد پراکسید پس از گذشت ۲۴ روز برای روغن‌های پایدار شده با عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی با غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام به ترتیب معادل ۱۲۸/۲، ۱۱۱/۸، ۱۰۲/۱، ۹۵/۶ و ۷۸/۸ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن و برای روغن پایدار شده با ضد اکسایندە مصنوعی BHT در حد بیشینه مجاز این مقدار معادل ۹۱/۴ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن بود. نتایج تجزیه و تحلیل آماری وجود تفاوت معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) در عدد پراکسید روغن آفتابگردان را بین تیمارها و زمان‌های مختلف نگهداری تایید می‌نماید. همان‌طور که در شکل ۲ ملاحظه می‌شود عدد پراکسید تمام نمونه‌ها با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها افزایش یافت به‌طوری که نمونه کنترل بیشترین مقدار پراکسید را در تمام روزها داشت. اگرچه در روزهای نخست اختلاف بین غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی مورد استفاده چندان محسوس نبود اما با گذشت زمان نمونه‌های روغن حاوی مقادیر بیشتری از عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی ثبات اکسایشی بیشتری نشان دادند. زیرا که با افزایش غلظت مقدار ترکیبات فنولی افزایش یافته که منجر به ایجاد گروه‌های فعال بیشتر برای مهار رادیکال آزاد می‌گردد (۲۶). همان‌طور که ملاحظه می‌گردد عدد پراکسید نمونه حاوی عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی با غلظت ۶۰۰ پی پی ام تفاوت معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) با نمونه حاوی ضد اکسایندە سنتزی نداشت در حالی‌که نمونه حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام از عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی عملکرد بهتری نسبت به ضد اکسایندە سنتزی BHT از خود نشان داد که بیانگر کارآمدی این غلظت جهت کاهش تشکیل هیدروپراکسیدها و در نتیجه به تاخیر افتادن اکسایش چربی‌ها است. دهله‌ای و همکاران (۱۳۹۵) کاهش عدد پراکسید را به ترکیبات فنولی و سایر ترکیبات ضد رادیکالی نسبت داده‌اند (۲۷). در مطالعات پیشین نیز افزودن عصاره گیاه رزماری (۴)، عصاره برگ توت فرنگی(۷) و عصاره برگ زیتون (۲۸) در روغن آفتابگردان سبب کاهش عدد پراکسید و افزایش پایداری روغن آفتابگردان در برابر واکنش‌های اکسایشی می‌شود.



شکل ۲: عدد پراکسید روغن آفتابگردان حاوی عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی و ضد اکسایندە سنتزی BHT نگهداری شده تحت شرایط تسریع شده در دمای ٦٥ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ روز.

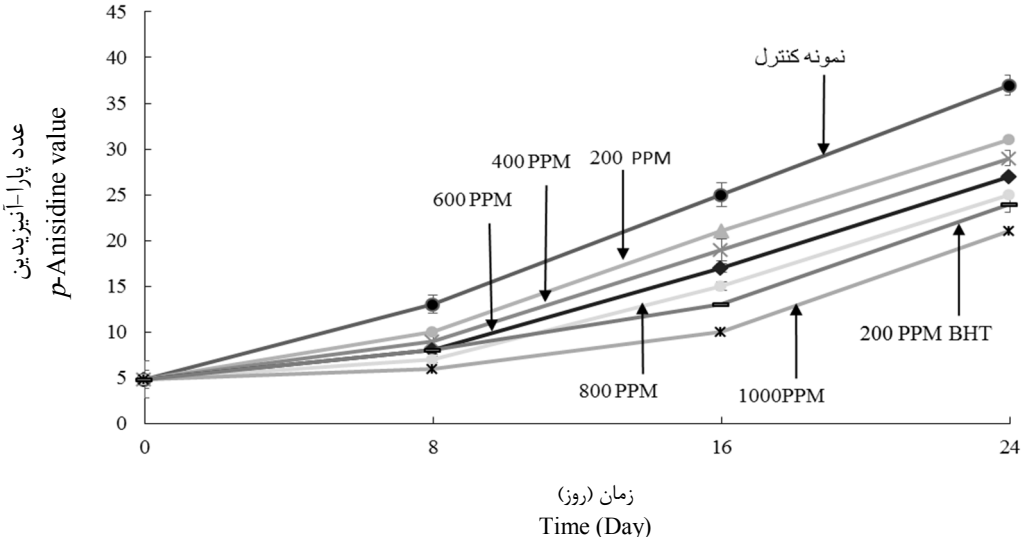
Figure 2. Peroxide value of sunflower oil containing ethanolic extract of green pea pod and BHT synthetic antioxidant during accelerated storage conditions at 65 ºC for 24 day.

www.SID.ir

Archive of SID

ارزیابی عدد پارا-آنیزیدین روغن آفتابگردان طی مدت نگهداری تحت شرایط تسریع شده:

عدد پارا-آنیزیدین معیار تولید محصولات ثانویه اکسایش چربی‌ها و روغن‌های خوراکی است که به‌هنگام تجزیه هیدروپراکسیدها به کربونیل، آلدهیدها و کتون‌ها ایجاد می‌شوند که این محصولات در نهایت سبب ایجاد عطر تند شدگی در روغن می‌گردند (۲۹). نتایج تجزیه و تحلیل آماری بیانگر تاثیر معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) تیمارها و مدت زمان نگهداری تحت شرایط تسریع شده بر عدد پارا-آنیزیدین روغن آفتابگردان بود. به‌طور کلی افزودن عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی در مقایسه با نمونه کنترل سبب کاهش معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) عدد پارا-آنیزیدین روغن آفتابگردان طی مدت نگهداری گردید. با توجه به نتایج به‌دست آمده اختلاف معنی داری بین غظت‌های ۶۰۰ و ۸۰۰ پی پی ام در مقایسه با ضد اکسایندهٔ سنتزی BHT مشاهده نگردید در حالی‌که عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی با غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام در مقایسه با ضد اکسایندهٔ سنتزی مورد مطالعه در جلوگیری از تولید محصولات ثانویه اکسایش موثرتر عمل نموده است. بر این اساس استفاده از عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی با غلظت‌های ۸۰۰-۶۰۰ پی پی ام در مقایسه با حداکثر مقدار مجاز استفاده از ضد اکسایندهٔ سنتزی BHT برای حفاظت از روغن آفتابگردان در مقابل تولید محصولات ثانویه فرایند اکسایش کافی به‌نظر می‌رسد. نتایج مطالعات پیشین نیز حاکی از آنست که استفاده از عصاره گیاه رزماری (۴) و پوست منگوستین (۲۹) در روغن آفتابگردان می‌تواند سبب کاهش عدد پارا-آنیزیدین و افزایش پایداری روغن آفتابگردان در برابر محصولات ثانویه اکسایش گردد.

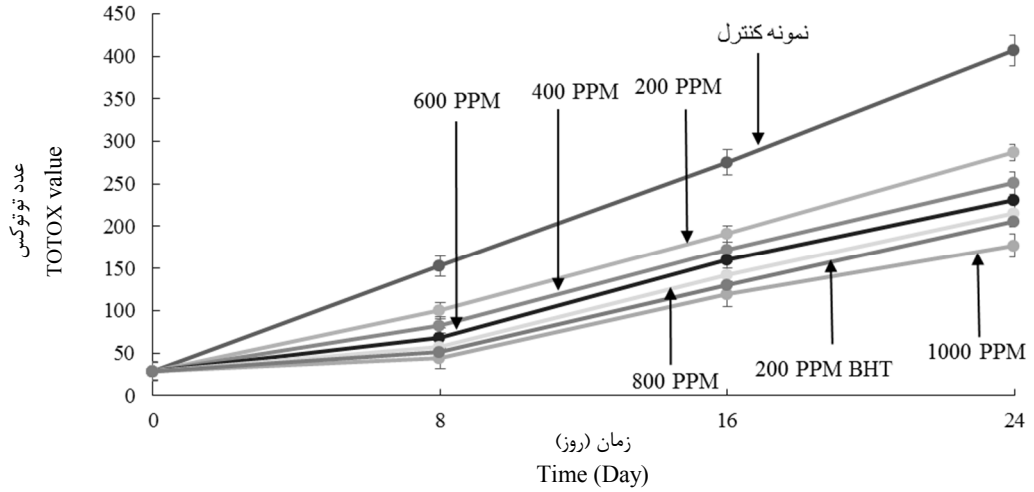


شکل ۳: عدد پارا- آنیزیدین روغن آفتابگردان حاوی عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی و ضد اکسایندهٔ سنتزی BHT نگهداری شده تحت شرایط تسریع شده در دمای ٦٥ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ روز.

Figure 3. *p*-Anisidine value of sunflower oil containing ethanolic extract of green pea pod and BHT synthetic antioxidant during accelerated storage conditions at 65 ºC for 24 day.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ٤: عدد توتوکس روغن آفتابگردان حاوی عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی و ضد اکسایندە سنتزی BHT نگهداری شده تحت شرایط تسریع شده در دمای ٦٥ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ روز.

Figure 4.TOTOX value of sunflower oil containing ethanolic extract of green pea pod and BHT synthetic antioxidant during storage at 65 ºC for 24 day.

ارزیابی عدد توتوکس روغن آفتابگردان طی مدت نگهداری تحت شرایط تسریع شده: عدد توتوکس معیاری از مجموع محصولات اولیه و ثانویه فرایند اکسایش روغن‌ها و چربی‌های خوراکی است به‌طوری که عدد توتوکس پایین‌تر نشان‌دهنده پایداری بیشتر روغن در برابر اکسایش است (۳۰). مقادیر به‌دست آمده برای عدد توتوکس طی نگهداری نمونه‌های روغن آفتابگردان تحت شرایط تسریع شده به مدت ۲۴ روز در شکل (۴) نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود عدد توتوکس تمام نمونه‌های روغن آفتابگردان حین مدت زمان نگهداری به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) افزایش یافته است. بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل آماری عدد توتوکس نمونه‌های روغن آفتابگردان حاوی غلظت‌های ۸۰۰-۶۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی هیچ تفاوت معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) با نمونه روغن حاوی ضداکسایندە سنتزی BHT نداشت البته نمونه روغن حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی پایداری بهتری نسبت به سایر تیمارها از خود نشان داد. این امر می‌تواند به‌دلیل کارآیی بالاتر عصاره اتانولی غلاف نخود فرنگی در غلظت مورد مطالعه در به تاخیر انداختن تشکیل هیدروپراکسیدها باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش تایید کننده فعالیت ضدرادیکالی مطلوب ترکیبات زیست فعال استخراجی از غلاف نخود فرنگی می‌باشد. از طرفی پایداری روغن آفتابگردان به علت مقدار بالای لینولئیک اسید مشکل به‌نظر می‌رسد اما نتایج حاصل از افزودن عصاره اتانولی حاوی غلاف نخود فرنگی به‌خوبی بیانگر توانایی آن در جهت حفاظت از روغن آفتابگردان در برابر فرایند اکسایش است. بر اساس نتایج به‌دست آمده از آزمون‌های پراکسید، پارا-آنیزیدین و توتوکس، عصاره غلاف نخود فرنگی در غلظت‌های ۲۰۰ -۴۰۰ پی پی ام ضعیف‌تر، ۶۰۰-۸۰۰ پی پی ام معادل و غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام قوی‌تر از ضد اکسایندە سنتزی BHT در جهت حفاظت از روغن آفتابگردان در برابر فرایند اکسایش عمل کرده

www.SID.ir

Archive of SID

است. بنابراین عصاره غلاف نخود فرنگی را می‌توان به عنوان یک منبع طبیعی از ترکیبات ضد رادیکالی به‌منظور جلوگیری یا به تاخیر انداختن اکسایش در روغن آفتابگردان در سطح تجاری معرفی نمود.

منابع

1. Barros, L., Heleno, S.A., Carvalho, A.M., and Ferreira, I.C.F.R. 2009. Systematic evaluation of the antioxidant potential of different parts of *Foeniculum vulgare* Mill. from Portugal. Food and Chemical Toxicology. 47: 2458–2464.
2. Mohammadi, A., and Arabshahi-Delouee, S. 2017. Evaluation of active components and antioxidant activity of essential oil of *Boswellia serrata.* Journal of Food Science and Technology. 14(63): 107-117. (In Persian)
3. Park, T.D., Adams, D.A., Zhou, K., Harris, M., and Yu, L. 2000. Fatty acid composition and oxidative stability of cold-pressed edible seed oils. Journal of Food Science. 68: 1240–1243.
4. Yang, Y., Song, X., Sui, X., Qi, B., Wang, Z., Li, Y., and Jiang, L. 2016. Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. Industrial Crops and Products. 80: 141–147.
5. Jafarian, P., Asefi, N., and Teimori, R. 2014. Phenolic compounds content in leaf of different varieties of olive and its effect on stability of rapeseed oil. Journal of Food Research. 42(3): 307-314. (In Persian)
6. Hasannia, M., Ariaii, P., and Fattahi, E. 2016. The effect of extraction methods on phenolic and tocophorol content and antioxidant properties of dill extracts (*Anethum graveolens*). Journal of Food Science and Technology. 13 (57): 109-119. (In Persian)
7. Roshan, M., and Esmaeel-zade Kenari, R. 2017. Antioxidant Effect of Strawberry Leave Extracts on Stabilization of Sunflower Oil during Storage Condition. Journal of Food Science and Technology. 14 (65): 301-309. (In Persian)
8. Esmaeilzadeh Kenari, R., Mehdipour, S.Z., and Razavi, R. 2017. Investigate the changes in fatty acid and antioxidant properties of Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) peel extract on stability of sunflower oil in thermal conditions. Journal of Food Science and Technology. 14(68): 125-135. (In Persian)
9. Jalili Safaryan, M., Ganjloo, A., Bimakr M., and Zarringhalami, S. 2016. Optimization of ultrasound-assisted extraction, preliminary characterization and in vitro antioxidant activity of polysaccharides from green pea pods. Foods. 5:78; doi: 10.3390/ foods5040078.
10. Ghorbani, M., Ganjloo, A., and Bimakr, M. 2017. Evaluation the effect of different solvents on total phenolic content and antioxidant activity of pea (*Pisum sativum* L.) pod extract. Journal of Food Science and Technology 14 (64): 83-92. (In Persian)
11. Kamarudin, F., and Gan, C.-Y. 2016. Molecular structure, chemical properties and biological activities of Pinto bean pod polysaccharide. International Journal of Biological Macromolecules. 88: 280–287.
12. Amin, I., Zamaliah, M. M., and Chin, W.F. 2004.Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. Food Chemistry. 87: 581–586.
13. Manzocco, L., Anese, M., and Nicoli, M.C. 1998. Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing. Lebensmittel - Wissenschaft Und-Technologie. 31: 694–698.
14. Ruch, R.J., Cheng, S.J., and Klaunig, J. E. 1989. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. Carcinogensis. 10: 1003–1008.
15. Iqbal, S., and Bhanger, M.I. 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. Food Chemistry. 100: 246–254.

www.SID.ir

Archive of SID

indica L.) leaves. Food Chemistry. 102: 1233-1240.

24. 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.
25. 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.
26. Maqsood, S., Benjakul, S., Abushelaibi, A., and Alam, A. 2014. Phenolic compounds and plant phenolic extracts as natural anti-oxidant sin prevention of lipid oxidation in sea food: A detailed review. Comprehensive Reviews Food Science and Food Safety. 13(6): 1125-1140.
27. Dehlei, Z., Fahim Danesh, M., and Sahari, M.A. 2016. Comparative investigation of red pepper (*Capsicum annuum* L.) extraction by ultrasonic and thermal methods and effect of it's extract on oxidative stability of virgin olive oil. Journal of Food Science and Technology. 13(52): 173-184. (In Persian)
28. Rafiei, Z., Jafari, S.M., Alami, M., and Khomeiri, M. 2011. Antioxidant Properties of Olive Leaf Extract and its Application in Sunflower Oil. Journal of Food Research. 21(1): 11-23. (In Persian)
29. Yee Mun, C., SuiKiat, C., Winne Chiaw, M.S., and Hip Seng, Y. 2015 .Antioxidant efficacy of mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) peel extracts in sunflower oil during accelerated storage. Food Bioscience. 12: 18–25.
30. Shahidi, F., and Wanasundara, U.N. 2002. Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils In: C.C. Akoh & D.B. Min (Eds.), Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology (2nd ed.). New York: Marcel Dekker, Inc.
16. Official Methods and Recommended Practices of American Oil Chemists' Society.1990. Edited by David

Firestone, Vol. 1, Method Cd 8-53. 15th ed., Washington, DC, USA.

17. Frankel, E.N. 2012. Lipid oxidation, 2nd ed., Cambridge, UK, Woodhead Publishing Limited. Pp: 165-168.
18. Antolovich, M., Prenzler, P., Robards, K., and Ryan, D. 2000. Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruit. Analyst. 125: 989–1009.
19. Alothman, M., Bhat, R., and Karim, A.A. 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. Food Chemistry. 115: 785–788.
20. Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetaredjo, F.E., Ismadji, S., and Yi-Hsu, J. 2013. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoids content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. Journal of Food and Drug Analysis. 1-7.
21. Soares, M.O., Alves, R.C., Pires, P.C., Oliveira, M.B.P.P., and Vinha, A.F. 2013. Angolan Cymbopogon citratus used for therapeutic benefits: Nutritional composition and influence of solvents in phytochemicals content and antioxidant activity of leaf extracts. Food and Chemical Toxicology. 60: 413–418.
22. Esmaeili, A.K., Taha, R.M., Mohajer, S., and Banisalam, B. 2015. Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Content of Various Solvent Extracts from In Vivo and In Vitro *Grown Trifolium pratense* L. (Red Clover). BioMed Research International. 1-11. doi:http://dx.doi.org/10.1155 /2015/643285.
23. Arabshahi, D.S., and Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus*

www.SID.ir

Arch

EJFPP, Vol. 10 (2): 19-32
http://ejfpp.gau.ac.ir

Evaluation the effect of green pea pod extract on oxidative stability of sunflower oil under accelerated conditions

A. Ganjloo[1*], M. Bimakr[1], M. Ghorbani[2]
[1]Assistant Professor, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
[2] M.Sc Graduate, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
Received: 2017/05/12; Accepted: 2017/12/09

Abstract

Background and objectives: Lipid oxidation is one of the most important reasons for decrease in nutritional quality and organoleptic properties of foods as well as the development and progression of various diseases through the formation of free radicals. Hence, the use of antioxidant compounds to protect foods against oxidation is essential. Nowadays, extensive studies were carried out on exploration of natural and safe antioxidant compounds due to consumers concerns about safety of synthetic ones. Therefore, in this study, the protective ability of green pea pod extract as a plant antiradical agent against oxidation of sunflower oil was investigated.

Materials and methods: At first, green pea pod extracts were obtained using water, ethanol, acetone and hexane. Total phenolic content (TPC) and antiradical activities of extracts were assessed using colorimetric method, and DPPH and H_2O_2 radical scavenging activity test, respectively. Then, the effect of green pea pod extract containing the highest amount of total phenolics and maximum antiradical ability on oxidative stability of sunflower oil under accelerated conditions at 65 ºC for 24 days were evaluated through peroxide, *p*-anisidine and TOTOX values. For this purpose, green pea pod extract at five different concentrations (200, 400, 600, 800 and 1000 ppm) and the synthetic antioxidant of BHT (200 ppm) were added to sunflower oil.

Results: The highest TPC (140.4 mg GAE/g) and DPPH and H_2O_2 radicals scavenging activity (82.47 and 10.63%, respectively) was obtained for ethanolic bioactive extract from green pea pod. For control sample, the maximum values of peroxide, *p*-anisidine and TOTOX were 185 meq O_2/kg oil, 37 and 407 after 24 days under accelerated conditions. While these values were 128.2 meq O_2/kg oil, 28 and 208 for the oil containing the lowest concentration of green pea pod ethanolic extract. The results revealed that addition of green pea pod ethanolic extract at a concentration of 1000 ppm in sunflower oil was more effective than BHT (200 ppm).

Conclusion: The results obtained confirmed the suitability of green pea pod bioactive compounds antiradical activity especially for ethanolic extract. On the other hand, stability of sunflower oil seems to be difficult due to the high amount of linoleic acid but the results revealed that ethanolic extract of green pea pod was able to protect sunflower oil against oxidation as well. As a result, green pea pod ethanolic extract could be suggested as a natural and effective alternative for BHT in order to increase oxidative stability of sunflower oil.

***Keywords*:** Green pea pod, Sunflower oil, Antiradical activity, Oxidative stability.

*Corresponding author; aganjloo@znu.ac.ir

www.SID.ir