



## اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی و استونی برگ زیتون بر ماندگاری روغن سویا

حسین جلالی<sup>۱</sup>، سیدحمیدرضا ضیاءالحق<sup>۲\*</sup>، عبدالرضا محمدی نافچی<sup>۳</sup>،  
محمد کاظمی الموتی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>استادیار، گروه صنایع غذایی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران  
<sup>۲</sup>استادیار، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی  
استان سمنان، شاهرود، ایران  
<sup>۳</sup>دانشیار، گروه صنایع غذایی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران  
<sup>۴</sup>دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه صنایع غذایی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۰۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۲۲

### چکیده

**سابقه و هدف:** اکسایش چربی‌ها تحت تاثیر عوامل داخلی و خارجی متعددی صورت می‌گیرد. محصولات اولیه حاصل از اکسید شدن چربی‌ها فاقد مزه و بو بوده و تجزیه شدن این ترکیبات و تولید محصولات ثانویه حاصل از اکسایش باعث ایجاد عطر و طعم نامطلوب در روغن‌ها می‌گردد. این مسئله در صنعت غذا بسیار مورد توجه است، زیرا باعث کاهش مدت ماندگاری و غیر قابل مصرف شدن این محصولات می‌شود. در اثر اکسایش چربی‌ها در طی واکنش‌های زنجیره‌ای، رادیکال‌های آزاد تولید می‌شوند و از این رو برای جلوگیری از ایجاد رادیکال‌های آزاد، از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی استفاده می‌شود که فرار و حساس به گرما بوده و استفاده از آن‌ها سلامتی انسان را تهدید کرده و باعث بروز سرطان می‌شوند. پلی‌فنول‌ها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند و قادرند رادیکال‌های آزاد را جذب نمایند. با توجه به فوایدی که پلی‌فنول‌ها در سلامتی انسان دارند، روغن‌های گیاهی غنی از پلی‌فنول‌ها می‌توانند در افزایش سلامت بشر نیز تاثیر گذار باشند. لذا در این پژوهش، هدف بررسی امکان استفاده از عصاره طبیعی استخراج شده از برگ زیتون به منظور جلوگیری از اکسایش روغن سویا و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش ترکیبات فنولی برگ دو واریته زیتون ماری و زرد با استفاده از دو حلال متانول و استون و به کمک دستگاه فراصوت استخراج شدند. محتوای ترکیبات فنولی با روش فولین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به روش DPPH و قدرت احیاکنندگی اندازه‌گیری شد. برای بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره‌ها بر پایداری اکسایشی روغن سویا، از اندازه‌گیری عدد پراکسید و شاخص مواد واکنش دهنده با اسید تیوباربیتوریک استفاده گردید.

**یافته‌ها:** بیشترین مقدار ترکیبات فنولی از زیتون ماری استخراج گردید (۱۰۱/۳۸۲ میلی‌گرم در گرم عصاره). نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره متانولی واریته ماری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به سایر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد مطالعه در این پژوهش دارد، همچنین مشاهده شد که قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH با افزایش غلظت ارتباط مستقیم دارد. در مرحله بعد

\* نویسنده مسئول: [hziaolhagh@gmail.com](mailto:hziaolhagh@gmail.com)

عصاره متانولی واریته ماری، در سه سطح ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ پی.پی.ام. و آنتی‌اکسیدان‌های BHT و TBHQ در دو سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ پی.پی.ام. به نمونه روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان افزوده شدند.

**نتیجه‌گیری:** بیشترین بازده استخراج ترکیبات فنولی مربوط به واریته ماری با حلال متانول می‌باشد. عصاره متانولی واریته ماری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به سایر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی دارد. همچنین نتایج نشان داد که قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد با افزایش غلظت عصاره‌ها ارتباط مستقیم دارد. عصاره متانولی واریته ماری در غلظت ۵۰۰ پی.پی.ام. در بازه‌های زمانی نگهداری، قابلیت رقابت با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ پی.پی.ام. را دارد.

**واژه‌های کلیدی:** برگ زیتون، ترکیبات فنولی، روغن سویا، فراصوت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

## مقدمه

اکسایش، یکی از واکنش‌های مهم در کاهش ارزش تغذیه‌ای و کیفیت چربی‌ها می‌باشد. اکسایش چربی‌ها می‌تواند تحت تاثیر عوامل داخلی و خارجی متعددی مانند نوع اسید چرب، مقدار و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نور، دما، فشار اکسیژن، تماس با اکسیژن و فعالیت آبی قرار گیرد. اکسایش چربی‌ها در حین نگهداری و فراوری غذا نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه‌ای غذا می‌شود، بلکه محصولات حاصل از اکسایش همانند رادیکال‌های آزاد می‌توانند منجر به واکنش‌های نامطلوب شیمیایی نیز شوند. آنتی‌اکسیدان‌ها از ویتامین‌های محلول در چربی، کاروتنوئیدها و سایر اجزای مغذی موجود در غذاها محافظت می‌نمایند (۲۱). روغن‌های گیاهی نقش مهمی در تغذیه بشر بر عهده دارند. برای جلوگیری از اکسایش این روغن‌ها معمولاً از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مثل TBHQ<sup>۱</sup>، BHT<sup>۲</sup> و BHA<sup>۳</sup> استفاده می‌شود. این آنتی‌اکسیدان‌ها فرار و حساس به گرما بوده و استفاده از آن‌ها سلامتی انسان را تهدید کرده و باعث بروز سرطان می‌شوند (۱۷). استفاده از این ترکیبات در مواد غذایی روز به روز محدودتر شده و بررسی جایگزین‌های طبیعی منجر به شناسایی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی شده است (۵).

پلی‌فنول‌ها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند و قادرند رادیکال‌های آزاد را جذب نمایند (۱۸). با توجه به فوایدی که پلی‌فنول‌ها در سلامتی انسان دارند، روغن‌های گیاهی غنی از پلی‌فنول‌ها می‌توانند در افزایش سلامت بشر نیز تاثیر گذار باشد (۸، ۱۰ و ۲۲).

برگ زیتون حاوی ترکیبات فنولی، تربنی و ترکیبات محلول در چربی، کربوهیدرات‌ها، پروتئین، مواد معدنی و غیره است. برگ‌های زیتون بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت گیرندگی رادیکال‌های آزاد را در بین بخش‌های مختلف درخت زیتون دارند. ترکیبات موجود در برگ‌های زیتون شامل ترکیبات سکوریدویدی، ترکیبات فلاونوئیدی و ترکیبان فنولی می‌باشند (۱۱). سالتا و همکاران (۲۰۰۷) چهار روغن گیاهی تجاری (آفتابگردان، پالم، زیتون و شورتینگ‌های گیاهی) را با عصاره برگ زیتون غنی سازی نموده و مشخص کردند که با افزودن عصاره، فعالیت آنتی‌اکسیدانی تمام نمونه‌ها افزایش می‌یابد (۱۸). محمد و همکاران (۲۰۰۷) در پژوهش خود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مناطق مدیترانه‌ای از جمله برگ زیتون را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها نشان دادند که بلوط اروپایی و برگ زیتون بیشترین مقدار آلفا توکوفرول را دارند (۱۳).

در مورد اثر عصاره برگ زیتون بر پایداری اکسایشی روغن‌های خوراکی، بوعزیز و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که غنی‌سازی روغن زیتون با عصاره برگ زیتون موجب کاهش شاخص پراکسید و پایداری اکسایشی نسبت به نمونه شاهد می‌شود (۲). رفیعی و همکاران (۲۰۱۱) ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون در روغن آفتابگردان را بررسی نمودند. آن‌ها در این بررسی نشان دادند که عصاره متانولی برگ زیتون در سطح ۱۰۰۰ پی.پی.ام. به خوبی توانست شاخص پراکسید و اسید تیوباربیتوریک را کنترل کرده و جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و BHA شود (۱۶). مهدویان مهر و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که عصاره برگ زیتون منبع مناسبی از پلی‌فنول‌ها، به‌خصوص الثورپین، هیدروکسی تیروزول و کوئرستین می‌باشد که سبب افزایش پایداری روغن‌ها

1. Tertiary-Butylhydroquinone
2. Butylated Hydroxytoluene
3. Butylated hydroxyanisole

به منظور افزایش راندمان استخراج، محلول‌ها به مدت ۵ دقیقه درون حمام فراصوت مدل Super RK 510 ساخت شرکت Sonorex آلمان (با توان ۳۲۰ وات و فرکانس ۳۵ کیلوهرتز) با دمای ۲۵ درجه قرار داده شد. سپس محلول با کاغذ صافی واتمن ۴۰ صاف گردید و در نهایت حلال با استفاده از دستگاه تبخیرکننده تحت خلا چرخان مدل HS-2001NS از نمونه جدا شده و عصاره برجای مانده برای آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی از روش فولین-سیوکالتیو<sup>۱</sup> استفاده شد. در این روش ۵۰۰ میلی‌گرم از عصاره خشک شده در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول حل شد و ۰/۵ میلی‌لیتر از این محلول با ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین ۱۰٪ مخلوط و ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵٪ به آن اضافه گردید. سپس نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری و جذب آن در ۷۶۵ نانومتر با استفاده از طیف سنج نوری مدل HACH DR5000 قرائت شد (۱۴).

**بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها:** برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از دو روش DPPH<sup>۲</sup> و ظرفیت احیاکنندگی استفاده شد. در روش DPPH محلول‌های متانولی وارپته ماری با غلظت‌های ۵۰، ۱۵۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۷۰۰ و ۱۰۰۰ پی.پی.ام. از عصاره تهیه شد. برای تهیه محلول DPPH ۰/۱۳۲ مولار، ۵/۲ گرم از آن در ۱۰ میلی‌لیتر متانول حل شده و به حجم ۱۰۰ رسانیده شد. ۱/۵ میلی‌لیتر از هر یک از غلظت‌های عصاره متانولی به ۱/۵ میلی‌لیتر از DPPH اضافه شد و پس از ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در محیط تاریک، جذب در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری گردید (۱۴). درصد مهار کنندگی از رابطه ۱ محاسبه شد.

(رابطه ۱)

$$IC \% = ((A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank}) \times 100$$

می‌شوند (۱۲). پرپیزن و همکاران (۲۰۱۱) فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ سنا را بر پایداری روغن سویا بررسی کرده و نشان دادند که غلظت ۷۵۰ پی.پی.ام. عصاره متانولی برگ سنا کارایی خوبی در کند نمودن روند اکسایش روغن سویا دارد (۱۴). صمدلویی و همکاران (۱۳۸۶) اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی هسته انار را بر روغن سویا مورد مطالعه قرار داده و نشان دادند که غلظت ۳۵۰ پی.پی.ام. عصاره هسته انار دارای اثر آنتی‌اکسیدانی مشابه غلظت ۲۰۰ پی.پی.ام. آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA می‌باشد (۱۹). با توجه به بررسی صورت گرفته، این پژوهش به جهت مشخص کردن روش استخراج ترکیبات فنولی برگ زیتون و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصله و اثر آن‌ها بر پایداری اکسایشی روغن سویا انجام شد.

### مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش، روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان از شرکت فرجام پژوه قزوین تهیه گردید. برگ زیتون دو وارپته ماری و زرد در فصل تابستان از شرکت کشت و صنعت اشرفیه واقع در قزوین، طارم روستای سیاهپوش برداشت شد. تمام مواد شیمیایی مورد استفاده و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی از شرکت‌های سیگما آلدیچ و مرک خریداری شدند.

**آماده سازی برگ درخت زیتون و استخراج ترکیبات فنولی:** برگ‌های زیتون، پس از برداشت به مدت ۱۴ روز در سایه قرار داده شدند تا کاملاً خشک گردند. سپس برگ‌ها با آسیاب (مدل N-376-J-M ساخت شرکت ناسیونال ژاپن) پودر گردیده و از الک با مش ۸۰ عبور داده شده و تا زمان آزمایش در دمای ۱۸<sup>۰</sup>- نگهداری شدند (۱۶). جهت استخراج ترکیبات فنولی، ۵ گرم از هر نمونه برداشته شد و ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ و ۱۰۰ میلی‌لیتر استون به آن افزوده گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط مخلوط گردید (۱۶).

1. Folin-ciocalteu

2. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

اندازه‌گیری شاخص پراکسید، ۵ گرم از نمونه را در یک ارلن مایر درب‌دار وزن کرده و ۳۰ میلی‌لیتر از محلول اسید استیک-کلروفرم به آن افزوده شد. سپس به آن ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع اضافه شده و بعد از یک دقیقه با محلول هیوسولفیت ۰/۱ نرمال تیترا گردید تا رنگ زرد از بین رود. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر معرف نشاسته به آن اضافه و عمل تیتراسنجی تا زایل شدن کامل رنگ موجود ادامه یافت (۱۵). عدد پراکسیداز رابطه ۳ به دست آمد:

(رابطه ۳)

$$POV=(N \times t \times 1000)/M$$

که در این رابطه POV عدد پراکسید بر حسب میلی‌اکی‌والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم روغن، N نرمالیت تیوسولفات سدیم، t حجم تیترا مصرفی برای نمونه و M وزن نمونه است.

عدد اسید تیوباریتوریک مقدار مالئون دی‌آلدئید موجود در ۱۰۰۰ گرم چربی است و به عنوان یک روش کمکی برای سایر روش‌ها محسوب می‌شود. در اثر واکنش اسید تیوباریتوریک با مالون‌آلدئید رنگ قرمزی تولید می‌شود که با دستگاه طیف سنج نوری اندازه‌گیری می‌گردد (۱۹). اندازه‌گیری عدد اسید تیوباریتوریک به این صورت انجام شد که ابتدا ۰/۵ گرم روغن در ۱۰ میلی‌لیتر تتراکلریدکربن حل شده و به آن ۱۰ میلی‌لیتر مخلوط ۲ به ۱ اسید استیک-اسید تیوباریتوریک اضافه شد. نمونه به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد. فاز بالایی جدا شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از سرد کردن جذب نمونه در ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید. عدد اسید تیوباریتوریک از رابطه ۴ محاسبه شد (۳).

$$TBA=e/(d.m) \quad (\text{رابطه ۴})$$

که TBA عدد اسید تیوباریتوریک، e جذب نوری اندازه‌گیری شده، d ضخامت سل و m وزن نمونه بر حسب گرم می‌باشند.

در این رابطه  $A_{blank}$  جذب کنترل و  $A_{sample}$  جذب نمونه می‌باشند. IC نیز فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال بوده و بیان‌گر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد مهارکنندگی DPPH است.

در روش ظرفیت احیاکنندگی، ۰/۵ میلی‌لیتر از هر غلظت به لوله آزمایش درب‌دار منتقل و ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با  $pH=6/6$  و ۲/۵ میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید ۱٪ به آن اضافه شده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد درون حمام آب قرار گرفت. سپس لوله‌ها بلافاصله سرد و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک ۱۰٪ به لوله‌ها اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. در پایان، ۵ میلی‌لیتر از لایه بالایی با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر محلول کلرید فریک ۰/۱٪ مخلوط و جذب آن در ۷۰۰ نانومتر خوانده شد (۱۶). درصد مهارکنندگی از رابطه ۲ محاسبه شد.

(رابطه ۲)

$$IC \% = ((A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank}) \times 100$$

در این رابطه  $A_{blank}$  جذب کنترل و  $A_{sample}$  جذب نمونه می‌باشند. IC نیز فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال بوده و بیان‌گر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد مهارکنندگی است.

برای تعیین اثر عصاره برگ زیتون در به تاخیر انداختن اکسایش روغن سویا از دو آزمون عدد پراکسید و اسید تیوباریتوریک استفاده شد. عصاره متانولی واریته ماری در سه غلظت ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ پی.پی.ام. و آنتی‌اکسیدان‌های BHT و TBHQ در دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ پی.پی.ام. به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شدند و به همراه یک نمونه شاهد برای مدت ۱۲ روز در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه قرار داده شدند. طی فواصل زمانی صفر، سه، شش، نه و دوازده روز، عدد پراکسید و اسید تیوباریتوریک این نمونه‌ها اندازه‌گیری گردیدند. برای

## تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل نتایج در قالب طرح کاملاً تصادفی و تمامی آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (توکی) در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید. جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار (۲۰۱۰) Excel استفاده شد.

## نتایج و بحث

مقدار کل ترکیبات فنولی برگ زیتون: مقدار کل

ترکیبات فنولی عصاره‌ها با استفاده از روش فولین-سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. در این روش از معرف فولین-سیوکالتیو که مخلوطی از فسفومولیدات و فسفوتنگستات است، استفاده شد. در محیط قلیایی ملایم و پس از افزایش  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ۷٪، مولیدن (VI) موجود در معرف فولین، به مولیدن (V) کاهش داده و این کاهش با تغییر رنگ معرف از زرد به آبی همراه است (۱). نتایج حاصل از انجام این آزمون در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: میزان ترکیبات فنولی عصاره‌ها (میلی گرم معادل اسید گالیک در گرم عصاره)

Table 1. The amount of phenolic compounds of the extracts (mg Galic acid/g extract)

میزان ترکیبات فنولی (phenolic content)	عصاره‌ها (extracts)
$90.325 \pm 0.309^c$	Acetonic extract/yellow variety (عصاره استونی وارپته زرد)
$93.557 \pm 0.466^b$	Methanolic extract/yellow variety (عصاره متانولی وارپته زرد)
$93.659 \pm 0.305^b$	Acetonic extract/Mary variety (عصاره استونی وارپته ماری)
$101.382 \pm 0.176^a$	Methanolic extract/Mary variety (عصاره متانولی وارپته ماری)

حروف مشابه نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشند (در سطح ۵٪)

نمودند که عصاره متانولی سیر بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بازده استخراج را نسبت به سایر حلال‌ها از جمله استون داشت (۲۰). این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه ما مطابقت دارد. همچنین میزان ترکیبات فنولی وارپته ماری از وارپته زرد بیشتر می‌باشد. اما بین تیمارهای عصاره متانولی وارپته زرد و عصاره استونی وارپته ماری تفاوت معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) مشاهده نشده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این پژوهش می‌توان استنباط کرد که درصد استخراج متانول هم در وارپته زرد و هم در وارپته ماری بیشتر از درصد استخراج استون می‌باشد. با توجه به این‌که میزان ترکیبات فنولی عصاره متانولی وارپته ماری از سایر عصاره‌ها بیشتر بود، از این عصاره به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در روغن سویا استفاده شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی متانولی وارپته ماری: DPPH یک رادیکال آزاد پایدار با اتم نیتروژن

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس نشان دادند که اثر نوع حلال به کار رفته بر روی بازده استخراج ترکیبات فنولی مؤثر و معنی‌دار بوده است. در بین تیمارها، عصاره متانولی بیشترین بازده استخراج را داشت. در بین حلال‌ها، بیشترین میزان استخراج مربوط به عصاره متانولی وارپته ماری ( $101.382 \pm 0.176$ ) معادل اسید گالیک در گرم عصاره) و کمترین میزان استخراج مربوط به عصاره استونی وارپته زرد ( $90.325 \pm 0.309$ ) بود (جدول ۲-۴). اما در تیمارهای عصاره‌ی متانولی وارپته زرد و عصاره‌ی استونی وارپته ماری، از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. با توجه به نتایج آماری، می‌توان بیان کرد که میزان استخراج حلال متانول از حلال استون بیشتر می‌باشد که با نتایج رفیعی و همکاران (۲۰۱۱) و پریزن و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد (۱۴) و (۱۶). در پژوهشی، شهید و اقبال (۲۰۰۷) گزارش

میکروگرم در میلی لیتر نشان می دهد.  $IC_{50}$  بیانگر غلظتی از عصاره است که برای مهار ۵۰ درصد رادیکال های آزاد DPPH مورد نیاز می باشد.  $IC_{50}$  کمتر نشان دهنده قدرت آنتی اکسیدانی بالای عصاره مربوطه می باشد.

در مرکز است که وقتی توسط مکانیسم الکترون گیری یا هیدروژن گیری کاهیده می شود از ارغوانی به زرد، تغییر رنگ می دهد. جذب رادیکال در طول موج ۵۱۷ نانومتر قابل رؤیت است. جدول ۲،  $IC_{50}$  غلظت ۱۰۰ پی.پی.ام. عصاره ها در آزمون های مختلف را بر حسب

جدول ۲:  $IC_{50}$  عصاره های مختلف در آزمون DPPH

Table 2.  $IC_{50}$  of different extracts in DPPH test

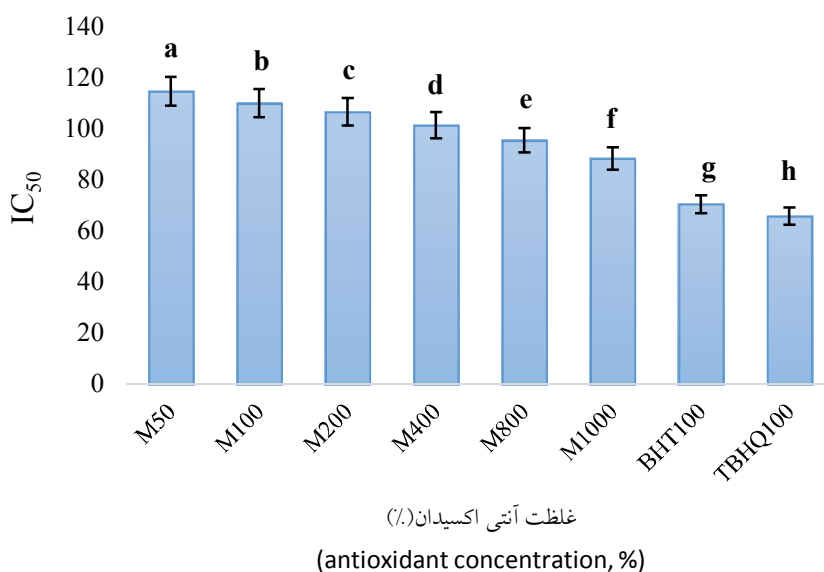
$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	DPPH	عصاره ها (extracts)
431.139±0.003 <sup>a</sup>	189.663±0.456 <sup>a</sup>	Acetonic extract/yellow variety (عصاره استونی وارپته زرد)
389.385±0.552 <sup>b</sup>	142.684±0.517 <sup>b</sup>	Acetonic extract/Mary variety (عصاره استونی وارپته ماری)
263.209±0.799 <sup>c</sup>	125.834±0.917 <sup>c</sup>	Methanolic extract/yellow variety (عصاره متانولی وارپته زرد)
230.886±0.365 <sup>d</sup>	109.825±0.841 <sup>d</sup>	Methanolic extract/Mary variety (عصاره متانولی وارپته ماری)
190.197±0.426 <sup>e</sup>	70.307±0.136 <sup>e</sup>	BHT
142.167±0.388 <sup>f</sup>	65.583±0.108 <sup>f</sup>	TBHQ

حروف مشابه نشانگر عدم وجود اختلاف معنی دار می باشند (در سطح ۵ درصد)

فنولی، شرایط اقلیمی و همچنین تفاوت در روش استخراج عصاره نسبت داد. علاوه بر این، آن ها در تحقیق خود پلی فنول های با وزن مولکولی پایین را جدا کرده و تنها آن ها را به روش کروماتوگرافی مورد سنجش قرار دادند (۲).

شکل ۱،  $IC_{50}$  عصاره متانولی وارپته ماری با غلظت های مختلف و غلظت ۱۰۰ پی.پی.ام. آنتی اکسیدان های BHT و TBHQ را نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود، با افزایش غلظت عصاره ها قدرت مهار رادیکال های آزاد نیز افزایش می یابد. به طوری که بیشترین قدرت مهارکنندگی مربوطه به غلظت ۱۰۰۰ پی.پی.ام. عصاره متانولی رقم ماری می باشد. البته در بین آنتی اکسیدان های سنتزی غلظت ۱۰۰ پی.پی.ام. آنتی اکسیدان TBHQ بیشترین قدرت مهارکنندگی را داشته است.

نتایج جدول ۲ نشان می دهد در بین آنتی اکسیدان های طبیعی، عصاره متانولی وارپته ماری با  $IC_{50}$  برابر ۰/۸۴۱ ± ۱۰۹/۸۲۵ میکروگرم در میلی لیتر بهترین عصاره در مهار این رادیکال بود. به طور کلی از نظر مهار رادیکال DPPH، عصاره های متانولی بیشترین و عصاره های استونی کمترین قدرت آنتی اکسیدانی را دارا بودند که با نتایج رفیعی و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد (۱۶). در مقایسه با آنتی اکسیدان های سنتزی، همه ی عصاره های مورد آزمون  $IC_{50}$  بیشتری نسبت به BHT و TBHQ داشتند. در پژوهش بوعزیز و همکاران (۲۰۰۵)،  $IC_{50}$  عصاره هیدرولیزی، عصاره اتیل استات و عصاره متانولی وارپته های تونسوی برگ زیتون به ترتیب، برابر با ۰/۶۵، ۱/۲۵ و ۱/۷۵ میکروگرم در هر میلی لیتر گزارش شد که با داده های این پژوهش متفاوت است. دلیل این اختلاف را می توان به تفاوت در نوع وارپته و ترکیبات



شکل ۱: IC<sub>50</sub> (میکروگرم در میلی‌لیتر) غلظت‌های مختلف عصاره متانولی برگ زیتون رقم ماری در آزمون DPPH  
حروف مشابه نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشند (در سطح ۰/۰۵)

Figure 1. IC<sub>50</sub> of different concentrations of methanolic extract of the Mary olive leaves in DPPH test

TBHQ داشتند که با نتایج رفیعی و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت داشت (۱۶).

بررسی اثر عصاره برگ زیتون در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا: روند افزایش عدد پراکسیدو اسید تیوباربیتریک نشان دهنده کارایی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و عصاره‌ها در به تاخیر انداختن اکسیداسیون است. بررسی نتایج آنالیز واریانس و نیز مقایسه میانگین اعداد پراکسید تیمارهای مختلف نشان داد که اثر تیمار و زمان نگهداری بر عدد پراکسید در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار می‌باشد (P < ۰/۰۵). با توجه به جدول ۳، بیشترین میزان عدد پراکسید به دست آمده در روز سوم مربوط به نمونه شاهد بود که حاوی هیچ گونه آنتی‌اکسیدانی نبوده است. همچنین کمترین مقدار اکسیداسیون و بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی مربوط به تیمار TBHQ200 بود. در میان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی استفاده شده در روغن سویا، کمترین مقدار اکسایش و بیشترین اثر

آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند به عنوان عوامل احیا کننده و غیر فعال کننده اکسیدان‌ها به کار روند. به این صورت که در یک واکنش اکسایشی-کاهشی، عوامل اکسید کننده موجود در محیط به وسیله آنتی‌اکسیدان‌ها احیا شده و خود آنتی‌اکسیدان اکسید می‌شود. روش‌های توسعه یافته برای سنجش قدرت احیاکنندگی آنتی‌اکسیدان‌های غذایی، بر مکانیسم‌های مختلفی متمرکز شده‌اند، از جمله غیر فعال کردن اکسیژن‌های فعال، رادیکال‌های هیدروکسیل، جلوگیری از پراکسیداسیون چربی، یا چلات کردن یون فلزات سنگین. در این آزمون منظور از IC<sub>50</sub> غلظتی از عصاره است که برای مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH مورد نیاز است. با توجه به جدول ۲، بالاترین قدرت احیاکنندگی مربوط به عصاره متانولی واریته ماری به میزان ۲۳۰/۸۸۶±۰/۳۶۵ بود. همچنین تمامی عصاره‌ها IC<sub>50</sub> بیشتری نسبت به دو آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT و



(۴) و تنها غلظت ۵۰۰ پی.پی.ام. عصاره متانولی وارسته ماری قابل قیاس با آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHT و TBHQ در غلظت ۱۰۰ پی.پی.ام.، از نظر میزان عدد پراکسید و اثر آنتی اکسیدانی بود. دلیل بالا بودن اثر آنتی اکسیدانی عصاره متانولی را می‌توان به بالا بودن میزان ترکیبات فنولی آن و انحلال بهتر عصاره متانولی در روغن سویا دانست. پرین و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی و کنترل تغییرات پراکسید روغن سویا حاوی عصاره برگ سنا به‌عنوان آنتی اکسیدان، بیان کردند که سرعت اکسیداسیون در نمونه شاهد بالاترین مقدار را دارد، همچنین تمامی نمونه‌های حاوی آنتی اکسیدان در برابر اکسیداسیون، پایدارتر از نمونه‌ی شاهد بودند (۱۴). با توجه به نتایج بدست آمده از آزمون پراکسید، نتایج آن با نتایج پرین و همکاران (۲۰۱۱) و قره خانی و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد (۴ و ۱۴).

نتایج آنالیز واریانس و مقایسه میانگین عدد اسید تیوباربتوریک تیمارهای مختلف نشان داد که اثر تیمار و زمان بر عدد اسید تیوباربتوریک در سطح احتمال  $p < 0.05$  معنی‌دار بوده است. با توجه به جدول ۳، مشاهده می‌شود که بیشترین میزان عدد اسید تیوباربتوریک به دست آمده در روز سوم مربوط به نمونه شاهد بود که حاوی هیچ گونه آنتی اکسیدانی نبوده است. همچنین کمترین مقدار شاخص اسید تیوباربتوریک مربوط به تیمار TBHQ در غلظت ۲۰۰ پی.پی.ام. بود. در میان آنتی اکسیدان‌های طبیعی استفاده شده در روغن سویا، کمترین مقدار شاخص اسید تیوباربتوریک در تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. مشاهده شد. همچنین با بررسی این جدول می‌توان دریافت که تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. حاوی عصاره‌ی متانولی وارسته ماری با BHT و TBHQ در غلظت ۱۰۰ پی.پی.ام. قابلیت رقابت را دارد. همچنین آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHT و TBHQ در غلظت ۲۰۰ پی.پی.ام. از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

آنتی اکسیدانی مربوط به تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. بود. تیمار ۱۰۰ و ۲۰۰ پی.پی.ام. از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد ( $P < 0.05$ ) با یکدیگر تفاوت معنی‌داری از نظر میزان عدد پراکسید نشان ندادند و در مقایسه با آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHT و TBHQ و همچنین تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. عدد پراکسید بیشتری داشتند. تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. با آنتی اکسیدان‌های BHT و TBHQ در غلظت ۱۰۰ پی.پی.ام. از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری از نظر عدد پراکسید نشان نداد، ولی با آنتی اکسیدان‌های BHT و TBHQ در غلظت ۲۰۰ پی.پی.ام. از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را نشان داد. تغییرات میزان عدد پراکسید در روز ششم نشان دهنده این مطلب بود که روند تغییرات در شاخص پراکسید از لحاظ آماری مشابه با نتایج روز سوم می‌باشد، با این تفاوت که شاخص پراکسید در تمامی تیمارها نسبت به روز سوم روند افزایشی داشته است (جدول ۳). در بررسی نتایج روزهای ۹ و ۱۲ مشاهده شده است که بر خلاف روزهای ۳ و ۶ تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ پی.پی.ام. از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را نشان دادند، اما همچنان تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. با غلظت ۱۰۰ پی.پی.ام. آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHT و TBHQ از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشتند. با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها، میزان پراکسید تیمارها افزایش یافته است. تفاوت بین عصاره‌ها و غلظت‌های مختلف عصاره‌ها در مقایسه با آنتی اکسیدان‌های سنتزی (BHT و TBHQ) بیان‌گر آن است که با افزایش غلظت، توان آنتی اکسیدانی افزایش داشته است. در همه روزها غلظت‌های ۵۰۰ پی.پی.ام. عصاره در به تاخیراندازی اکسایش مؤثر بوده و اثر آنتی اکسیدانی مشابهی با غلظت‌های ۱۰۰ پی.پی.ام. آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHT و TBHQ داشتند. در روزهای پایانی، به دلیل مصرف و تخریب آنتی اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی در اثر گذشت زمان، تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ ( $P > 0.05$ ) با یکدیگر پیدا کردند

جدول ۳: اثر تیمارها بر عدد پراکسید (POV) و عدد اسید تیوباربیتریک (TBA)

Table 3. The effect of treatments on peroxide (POV) and thiobarbituric acid values (TBA)

نمونه (sample)	روز سوم (day 3)			روز ششم (day 6)			روز نهم (day 9)			روز دوازدهم (day 12)		
	POV	TBA	POV	TBA	POV	TBA	POV	TBA	POV	TBA	POV	TBA
M100	45.120±2.330 <sup>b</sup>	0.064±0.001 <sup>b</sup>	50.890±0.440 <sup>b</sup>	0.129±0.003 <sup>b</sup>	77.190±0.580 <sup>b</sup>	0.294±0.001 <sup>b</sup>	16.867±0.34 <sup>b</sup>	0.514±0.012 <sup>b</sup>	45.120±2.330 <sup>b</sup>	0.064±0.001 <sup>b</sup>	50.890±0.440 <sup>b</sup>	0.129±0.003 <sup>b</sup>
M200	42.920±0.830 <sup>b</sup>	0.063±0.001 <sup>b</sup>	49.110±0.990 <sup>b</sup>	0.122±0.001 <sup>c</sup>	75.070±0.490 <sup>c</sup>	0.271±0.002 <sup>c</sup>	15.440±0.540 <sup>c</sup>	0.463±0.002 <sup>c</sup>	42.920±0.830 <sup>b</sup>	0.063±0.001 <sup>b</sup>	49.110±0.990 <sup>b</sup>	0.122±0.001 <sup>c</sup>
M500	39.830±0.740 <sup>c</sup>	0.052±0.001 <sup>c</sup>	45.450±0.340 <sup>c</sup>	0.112±0.003 <sup>de</sup>	70.620±0.430 <sup>d</sup>	0.254±0.002 <sup>de</sup>	14.290±0.390 <sup>d</sup>	0.460±0.001 <sup>d</sup>	39.830±0.740 <sup>c</sup>	0.052±0.001 <sup>c</sup>	45.450±0.340 <sup>c</sup>	0.112±0.003 <sup>de</sup>
BHT100	37.970±0.440 <sup>c</sup>	0.049±0.002 <sup>cd</sup>	43.870±0.160 <sup>c</sup>	0.114±0.001 <sup>d</sup>	73.590±0.990 <sup>cd</sup>	0.255±0.002 <sup>d</sup>	14.590±0.330 <sup>d</sup>	0.461±0.001 <sup>d</sup>	37.970±0.440 <sup>c</sup>	0.049±0.002 <sup>cd</sup>	43.870±0.160 <sup>c</sup>	0.114±0.001 <sup>d</sup>
BHT200	34.820±0.960 <sup>d</sup>	0.047±0.001 <sup>de</sup>	38.120±0.910 <sup>d</sup>	0.111±0.003 <sup>de</sup>	66.630±2.560 <sup>e</sup>	0.253±0.001 <sup>de</sup>	12.830±0.620 <sup>e</sup>	0.451±0.003 <sup>de</sup>	34.820±0.960 <sup>d</sup>	0.047±0.001 <sup>de</sup>	38.120±0.910 <sup>d</sup>	0.111±0.003 <sup>de</sup>
TBHQ100	36.790±0.170 <sup>cd</sup>	0.051±0.001 <sup>c</sup>	43.630±0.250 <sup>c</sup>	0.115±0.001 <sup>d</sup>	71.680±0.200 <sup>cd</sup>	0.255±0.002 <sup>d</sup>	14.890±0.850 <sup>d</sup>	0.461±0.002 <sup>d</sup>	36.790±0.170 <sup>cd</sup>	0.051±0.001 <sup>c</sup>	43.630±0.250 <sup>c</sup>	0.115±0.001 <sup>d</sup>
TBHQ200	28.400±0.680 <sup>c</sup>	0.045±0.001 <sup>c</sup>	33.140±0.520 <sup>c</sup>	0.107±0.001 <sup>e</sup>	63.740±1.670 <sup>e</sup>	0.249±0.001 <sup>e</sup>	12.700±0.150 <sup>e</sup>	0.436±0.003 <sup>e</sup>	28.400±0.680 <sup>c</sup>	0.045±0.001 <sup>c</sup>	33.140±0.520 <sup>c</sup>	0.107±0.001 <sup>e</sup>
Blank	75.370±0.390 <sup>a</sup>	0.069±0.001 <sup>a</sup>	106.330±1.640 <sup>a</sup>	0.159±0.001 <sup>a</sup>	198.450±1.570 <sup>a</sup>	0.312±0.002 <sup>a</sup>	465.980±2.330 <sup>a</sup>	0.622±0.009 <sup>a</sup>	75.370±0.390 <sup>a</sup>	0.069±0.001 <sup>a</sup>	106.330±1.640 <sup>a</sup>	0.159±0.001 <sup>a</sup>

حروف مشابه در هر ستون نشانگر عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

Different letters in each column shows significant difference.

به طوری که این فعالیت با افزایش غلظت عصاره‌ها به طور معنی داری افزایش و میزان شاخص اسید تیوباریتوریک کاهش یافت که این، به تجمع ترکیبات فنولی نسبت داده می‌شود. در نهایت می‌توان گفت که عصاره متانولی واریته ماری با غلظت ۵۰۰ پی.پی.ام. از نظر حفظ اثر آنتی‌اکسیدانی به خوبی توانسته با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی رقابت کند. مطالعه‌ای در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس شوید، توسط پریزن و همکاران (۲۰۱۱)، در روغن سویا انجام گرفت. آن‌ها نشان دادند که سرعت اکسایش در نمونه‌ی شاهد بالاترین مقدار را داشته و هر چه غلظت اسانس بیشتر بود، قدرت آنتی‌اکسیدانی آن هم بیشتر بود (۱۴).

نتایج به دست آمده در تحقیق جاری نیز با نتایج به دست آمده از پژوهش پریزن و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد (۱۴). پژوهش‌های زیادی در مورد پایداری روغن‌های خوراکی با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی مختلف صورت گرفته است. گلی و همکاران (۲۰۰۵)، غلظت‌های مختلف ترکیبات فنولی موجود در پوست پسته را در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در روغن سویا بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که غلظت‌های مختلف ترکیبات فنولی قادرند به خوبی روند اکسایش را کند نمایند (۷). ابوطالبیان (۲۰۰۶) گزارش کرد که اثر آنتی‌اکسیدانی نعناع، پونه و ریحان در روغن آفتابگردان به عنوان آنتی‌اکسیدان در غلظت ۶۰۰ پی.پی.ام. با اثر آنتی‌اکسیدانی BHT با غلظت ۲۰۰ پی.پی.ام. قابل قیاس می‌باشد (۱).

نتایج تحقیق جاری نیز از نظر روند تغییرات اعداد پراکسید و اسید تیوباریتوریک در طی دوره نگهداری در شرایط اکسایش و تأثیر غلظت عصاره‌های افزوده شده به روغن در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مشابه نتایج محققان بالا بوده است.

در بررسی نتایج شاخص اسید تیوباریتوریک روزهای ۶ و ۹، نمونه شاهد همانند روز سوم بیشترین شاخص اسید تیوباریتوریک را داشت. با بررسی داده‌های جدول ۳ مشاهده می‌شود که در بین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، با افزایش غلظت عصاره، میزان شاخص اسید تیوباریتوریک کاهش می‌یابد، به طوری که تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. بهترین عملکرد را در کاهش شاخص اسید تیوباریتوریک از خود نشان داده است و از لحاظ آماری قابلیت جایگزینی با تمامی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در غلظت‌های ذکر شده را دارد. همچنین تغییرات شاخص اسید تیوباریتوریک در تیمارهای مختلف در روز دوازدهم باز هم بیان‌گر این مطلب بود که نمونه شاهد به علت نداشتن آنتی‌اکسیدان، بالاترین شاخص اسید تیوباریتوریک را داشت. تیمار TBHQ در غلظت ۲۰۰ پی.پی.ام. در بین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی بهترین عملکرد را در جلوگیری از افزایش شاخص اسید تیوباریتوریک داشت. برخلاف نتایج حاصله از روزهای ۶ و ۹، تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. عصاره متانولی واریته ماری از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار با تیمار TBHQ در غلظت ۲۰۰ پی.پی.ام. نداشت؛ ولی در روز دوازدهم از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را با تیمار مذکور پیدا کرد که احتمالاً این تغییرات می‌تواند به این علت باشد که در روزهای پایانی، مصرف و تخریب آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در اثر گذشت زمان بیشتر از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بوده است (۴).

با توجه به نتایج، یک افزایش مداوم در میزان شاخص اسید تیوباریتوریک با افزایش دوره نگهداری در شرایط اکسایش، برای همه نمونه‌ها مشاهده شد. نمونه‌ی شاهد بیشترین شاخص اسید تیوباریتوریک را در همه مراحل آزمایش در طی نگهداری نشان داد. در این روش نیز مشابه روش عدد پراکسید، شدت بروز خاصیت آنتی‌اکسیدانی به غلظت عصاره‌ها وابسته بود.

## نتیجه‌گیری کلی

احیاکنندگی استفاده شد که نتایج حاصله بیان‌گر این بود که عصاره متانولی وارپته ماری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به سایر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی دارد. همچنین نتایج نشان داد که قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد با افزایش غلظت عصاره ارتباط مستقیم دارد. عصاره متانولی وارپته ماری در غلظت ۵۰۰ پی.پی.ام. در بازه‌های زمانی نگهداری، قابلیت رقابت با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ پی.پی.ام. را دارد.

برگ زیتون حاوی ترکیبات فنولی، تربنی و ترکیبات محلول در چربی، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، مواد معدنی و غیره است. با توجه به نتایج به‌دست آمده از استخراج ترکیبات فنولی دو وارپته ماری و زرد با حلال‌های متانولی و استونی، بیشترین بازده استخراج مربوط به وارپته ماری با حلال متانول می‌باشد. سپس برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از دو روش DPPH و نیروی

## منابع

1. Abutalebian, M. 2006. The extraction of phenolic compounds from peppermint, pennyroyal and sweet basil and comparison of their antioxidative effect insunflower oil, M.Sc. Thesis of food science and technology. Isfahan University of Technology.
2. Bouaziz, M., and Sayadi, S. 2005. Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree, European Journal of Lipid Science and Technology, 107:7-8, 497-504.
3. Ghaderi ghahfarokhi, M., Alami, M., Sadeghi Mahoonak, A.R., Azizi, M.H., and Ghorbani, M. 2012. Effects of phenolic compounds extraction from acorn fruit's (quercus branti var persica lindl.) With different solvents on antioxidant activity in oxidative stability of sunflower oil. Iranian journal of medicinal and aromatic plants. 28:1(55), 52-79. (In Persian)
4. Gharakhani, M., Ghorbani, M., Ebrahimzadeh, M., Jafari, S., and Sadeghmahoonak, A. 2009. Effect of nettle (*Urtica dioica*) leaves extract on the inhibition of soybean oil oxidation. Electronic journal of food processing and preservation. 1:2, 85-102. (In Persian)
5. Giese, J. 1996. Antioxidants. Tools for preventing lipid oxidation. Food Technology. 50: 73-81.
6. Guinda, A. 2006. Use of solid residue from the olive industry. Grasas y aceites. 51(1): 107-115
7. Goli, AH., Barzegar, M., and Sahari, M.A. 2005. Antioxidant activity and totalphenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. Food Chemistry. 92: 521-525.
8. Kris-Etherton, P.M., Hecker, K.D., Bonanome, A., Coval, S.M., Binkoski, A.E., Hilpert, K.F., Griel, A.E., and Etherton, T.D. 2002. Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. The American Journal of Medicine. 113:9B, 71-88.
9. Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., and Milos, M. 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food chemistry. 85(4): 633-640.
10. Lolos, M., Oreopoulou, V., and Tzia, C. 1999. Oxidative stability of potato chips: effect of frying oil type, temperature and antioxidants. Journal of the Science of Food and Agriculture. 79(11): 1524-1528.
11. Lujan, R., and Castro, M.D. 2006. Superheated liquid extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. Journal of Chromatography A. 1136(2): 185-191.
12. Mahdavian Mehr, H., and Hadadkhodaparast, M. 2008. Evaluating the use of olive leaves extract as a source of poly phenols on the oxidative stability and antioxidant activity of commercial vegetable oils. First symposium on olive oil. Tehran. Iran. P. 224-229 (In Persian)

13. Mohamed, R., Pineda, M., and Aguilar, M. 2007. Antioxidant capacity of extracts from wild and crop plants of mediterranean region. *Journal of Food Science*. 72, 59-63.
14. Parizan, T., Elhamirad, A.H., Estiri, S.H., and Armin M. 2011. Assessing antioxidant activity methanol extract of senna leaf and its effect on the stability of soybean oil. *Inovations in fod science and technology*. 3:1(7): 51-59. (in Persian)
15. Parvaneh, V. 2010. Quality control and chemical analysis of foods. Tehran university press. 325p. (in Persian)
16. Rafieil, 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 (university of tabriz)*. 21:1, 11-23. (In Persian)
17. Ryan, D., and Robards, K. 1998. Phenolic compounds in olives. *Analyst*. 123, 31-44.
18. Salta, F.N., Mylona, A., Chiou, A., Boskou, G., and Andrikopoulos, N.K. 2007. Oxidative Stability of Edible Vegetable Oils Enriched in Polyphenols with Olive Leaf Extract. *Food Science and Technology International*. 13(6): 413-421.
19. Samad Louei, H.R., Azizi, M.H., and Barzegar, M. 2007. Antioxidative effect of pomegranate seed phenolic componends on soybean oil. *Journal of agricultural sciences and natural resources*. 14:4, 193-200. (In Persian)
20. Shahid, I., and Bhanger, M. 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*. 100 (1): 246-254.
21. Sikorski, P.E. 2003. Chemical and functional properties of food components, 2thED, CRC Press LLC, New York.
22. Trichopoulou, A., and Lagiou, P. 1997. Healthy traditional Mediterranean diet: Anexpression of culture, history and lifestyle. *Nutrition Reviews*. 55(11): 383-389.



## Effect of the antioxidant activity of methanolic and acetonic extracts of olive leaves on the shelf life of soybean oil

H. Jalali<sup>1</sup>, S.H.R. Ziaolhagh<sup>2\*</sup>, A. Mohamadi Nafchi<sup>3</sup>, M.K. Alamooti<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

<sup>2</sup>Assistant Professor, Agricultural Engineering Research Department, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Semnan Province (Shahrood), AREEO, Shahrood, Iran.

<sup>3</sup>Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

<sup>4</sup>M.Sc. Graduate, Department of Food Science and Technology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

Received: 2017/04/22; Accepted: 2017/11/13

### Abstract

**Background and objectives:** Different intrinsic and extrinsic factors may initiate the oxidation of lipids. The initial products of oxidation are tasteless and odorless and after degradation and production of secondary products, the off-flavors and off-odors will appear in edible oils. This is a great concern in food industry, because it decreases the shelflife of food products. Free radicals are produced during chain reactions in lipid oxidation process. To avoid this, synthetic antioxidants are usually used which are sensible to heat and are hazardous to human health and may cause cancer. Polyphenols have antioxidant activity and absorb free radicals. Thus, the vegetable oils rich in polyphenols can affect human health. In this research, we aimed to investigate the application of natural extract of olive leaves as a natural antioxidant to avoid soy oil oxidation and to compare it with synthetic antioxidants.

**Matherials and Methods:** In this project, methanol and acetone solvents in an ultrasonic apparatus were used to extract the phenolic compounds of the leaves of Mary and Yellow varieties of olive. The amount of phenolics, as well as their antioxidant effect on the oxidation of crude soybean oil, was investigated. The phenolic contents were measured by Folin–Ciocalteu method and the antioxidant activities of the extracts were determined by two controlling methods of DPPH radical-scavenging activity and Ferric reducing power, and then the results were compared with antioxidant activities of synthetic antioxidants. The antioxidant effects of different concentrations of the extracts on delaying the oxidation of crude oil were studied by determining their peroxide and thiobarbitoric acid values.

**Results:** The leaves of Mary variety showed the highest amount of phenolics (101.382mg/g), as determined by measuring the phenolic contents. The results suggested that the methanolic extract of Mary variety had a better antioxidant activity than the other natural antioxidants, compared to synthetic antioxidants BHT and TBHQ. In addition, it was shown that the radical scavenging activity was directly correlated with the increase of the extract concentration. Then the methanolic extract of Mary variety at three levels 100, 200 and 500 ppm and BHT and TBHQ antioxidants at 100 and 200 ppm were added to antioxidant-free soy oil. The control oil, which lacked antioxidants, showed the highest peroxide and thiobarbitoric acid values.

\*Corresponding author; [hziaolhagh@gmail.com](mailto:hziaolhagh@gmail.com)

**Conclusion:** The methanolic extract of the Mary variety showed the highest extraction efficiency as well as the most antioxidant activity. In addition, it was shown that the radical scavenging activity was increased by the increase of extract concentration. The methanolic extract of Mary variety at the concentration of 500 ppm was comparable with the synthetic antioxidants at the levels of 100 and 200ppm.

**Keywords:** Antioxidant activity, Olive leaf, Phenolic compounds, Soybean oil; ultrasonic

