

استخراج ترکیبات فنولیک پوست سیب زمینی راموس با دو روش اولتراسوند و پرکولاسیون و ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره آن در روغن سویا

آزاده محققى ثمرین^{1*}، هاشم پورآذرنگ²، امیرحسین الهامی راد³، زینب دزاشیپی¹، نیما همت یار⁴

- 1- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرقدس، گروه علوم و صنایع غذایی، شهرقدس، ایران
 - 2- دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه عاوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران
 - 3- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، گروه عاوم و صنایع غذایی، سبزوار، ایران
 - 4- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت الله آملی، گروه علوم و صنایع غذایی، آمل، ایران
- (تاریخ دریافت: 86/6/25 تاریخ پذیرش: 87/7/14)

چکیده

در این مطالعه اثر عصاره پوست سیب زمینی گونه را موس به عنوان یک منبع طبیعی آنتی اکسیدانی در روغن سویا با دو روش آزمون آن (63°C) و رنسیمت (90°C، 120، 150) مورد بررسی قرار گرفت و ترکیبات فنولیک پوست سیب زمینی با دو روش مختلف استخراج با حلال یعنی روش پرکولاسیون (با حلال متانول) و روش اولتراسوند (با 5-حلال متانول، اتانول، هگزان، استن و آب) استخراج شدند. بیشترین راندمان عصاره گیری مربوط به حلال های آب (11/2%) و متانول (7/9%) با روش اولتراسوند بود و نتایج راندمان عصاره گیری با حلال های مختلف به صورت آب < متانول < اتانول < استن < هگزان بودند. میزان کل ترکیبات فنولیک عصاره ها به روش فولین سیوکالتو و بر اساس اسید گالیک تعیین شد و نتایج نشان داد که بیشترین مقدار ترکیبات فنولیک مربوط به حلال متانول (589/2 میکرو گرم به ازاء گرم وزن خشک گیاه) و به ترتیب به صورت متانول < آب < اتانول < استن < هگزان با روش اولتراسوند بود. روش اولتراسوند میزان کل ترکیبات فنولیک استخراج شده را نسبت به روش پرکولاسیون بهبود بخشید و مدت زمان عصاره گیری را کاهش داد.

عدد پراکسید و عدد تیوباریتوریک نمونه ها به ترتیب برای ارزیابی محمولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون، اندازه گیری شدند. پس از 16 روز نگهداری در 63°C روغن های سویای حاوی 200، 800، 1600 ppm از عصاره متانولی پوست سیب زمینی را موس اعداد پراکسید کمتری را (به ترتیب 42/67، 37/35، 24/65، 19/09، PV) نسبت به نمونه روغن شاهد (PV, 64/08 meq/kg) نشان دادند که دلالت بر فعالیت آنتی اکسیدانی دارد. روغن های حاوی 200 ppm از آنتی اکسیدان های سنتزی BHT، BHA، TBHQ به ترتیب دارای اعداد پراکسید meq/kg 33/20، 28/88 و 9/96 بودند.

همچنین نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها با روش رنسیمت نشان داد که طول دوره القا در دمای 120°C در نمونه های حاوی 200، 800، 1600 ppm از عصاره پوست سیب زمینی راموس به ترتیب 3/51، 3/59، 3/98 و 4/28 ساعت نسبت به نمونه شاهد (3/20 ساعت) می باشد و در غلظت های 1600 و 2400 ppm دارای فعالیت آنتی اکسیدانی مشابه با آنتی اکسیدان های سنتزی BHT و BHA است.

کلید واژگان: پوست سیب زمینی، ترکیبات فنولیک، فعالیت آنتی اکسیدانی، روغن سویا، اولتراسوند

* مسئول مکاتبات: azadeh_mohagheghi7882@yahoo.co.in

1- مقدمه

اکسیداسیون چربی‌ها از مهمترین دلایل فساد مواد غذایی به حساب می‌آید که بر روی رنگ، طعم، بافت و ارزش تغذیه‌ای تأثیر می‌گذارد [1، 2]. در غذاها این واکنش‌ها می‌تواند منجر به فساد و از دست رفتن ارزش تغذیه‌ای (از طریق نابودی ویتامین‌های A و D و E و اسیدهای چرب ضروری) و ایجاد ترکیبات سمی و محصولات رنگی گردد. واکنش‌های اکسیداسیون متضمن مولکول‌های واکنش دهنده قوی هستند که رادیکال آزاد نامیده می‌شود. رادیکال‌های آزاد اجزایی هستند که به دلیل وضعیت خاص الکترونی در مدار خارجی خود آمادگی زیادی برای جدا کردن یک الکترون از ترکیبات دیگر - همراه با ناپایدار کردن آن‌ها - دارند. این وضع دلیل اصلی اکسیداسیون و فساد روغن‌ها می‌باشد. در بدن ما نیز چنین حالتی ممکن است یک دلیل ابتدایی برای ایجاد سرطان باشد. از این‌رو با توجه به اهمیت چربی‌ها در سیستم‌های زیستی و تغذیه‌ای و همچنین واکنش‌های نامطلوب اکسیداسیون که خواه ناخواه رخ خواهند داد، افزودن برخی آنتی‌اکسیدان‌های مناسب در روغن‌ها و چربی‌ها، فرایند اکسیداسیون را کند کرده و آن را به تعویق می‌اندازد [3]. آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است به صورت یک عامل درونی در داخل غذا وجود داشته باشند و یا آنکه برای جلوگیری از افت کیفیت ترکیبات لیپیدی غذاها به آن‌ها اضافه شوند. افزودن آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند بوتیلات هیدروکسی‌آنیزول (BHA)، بوتیلات هیدروکسی‌تولون (BHT) و ترشیری بوتیل هیدروکینون (TBHQ) می‌تواند اکسیداسیون چربی را در مواد غذایی کنترل کند [4]. اما استفاده از این آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به دلیل خطراتی که در سلامتی دارند و به دلیل سمیت احتمالی آن‌ها محدود شده است [5]. ترکیبات فنولیک که به طور معمول در منابع خوراکی و غیرخوراکی یافت می‌شوند، دارای اثرات بیولوژیکی چندگانه‌ای مانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند. عصاره‌های میوه‌ها، علف‌ها، سبزیجات و غلات و سایر مواد گیاهی که غنی از ترکیبات فنولیک هستند، در صنعت مواد غذایی بسیار قابل توجه شده‌اند به این دلیل که قادرند تغییرات اکسیداتیو چربی‌ها را آهسته کرده و بنابراین کیفیت و ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی را بهبود می‌بخشند [6].

بنابراین اهمیت جایگزین کردن مواد طبیعی بدست آمده از دانه‌های روغنی، ادویه‌جات و سایر مواد گیاهی به جای آنتی-اکسیدان‌های سنتزی بسیار افزایش یافته است [7]. تحقیقات و مطالعه‌های انجام شده نشان می‌دهند عصاره‌های بدست آمده از منابع طبیعی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشند [8]. پوست سیب‌زمینی حاوی اسیدهای فنولیک می‌باشد که بیشترین بخش شامل اسیدکلروژنیک است (CGA). سایر فنولیک‌ها نیز شامل گالیک اسید (GAC) و کافئیک اسید (CFA) و پروتوکاتکوئیک اسید (PCA) در سیب‌زمینی در مقادیر کمتری وجود دارند [9]. شناسایی و تعیین میزان اسیدکلروژنیک و سایر اسیدهای فنولیک در بیشتر گونه‌های سیب‌زمینی با HPLC گزارش شده است [10، 11، 12، 13]. به همین دلیل امکان استفاده از پوست سیب‌زمینی به عنوان منبعی مفید در صنعت غذا وجود دارد [14].

بنابراین با توجه به لزوم استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در سامانه‌های غذایی و بیولوژیکی و اثرات مضر آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، در این مطالعه استفاده از یک ماده گیاهی اقتصادی با کشت فراوان در تمام فصول و نقاط مانند پوست سیب‌زمینی که در واقع جزء ضایعات کارخانجات چیپس‌سازی و سیب‌زمینی محسوب می‌شود، به عنوان منبع طبیعی آنتی‌اکسیدانی در روغن سویا مورد بررسی قرار گرفت. اهداف ما در این مطالعه عبارتند از:

- (1) آماده کردن عصاره پوست سیب‌زمینی با استفاده از حلال‌های آبی و آلی مختلف
- (2) مطالعه استخراج فنولیک‌ها از پوست سیب‌زمینی گونه راموس با استفاده از دو روش اولتراسوند و پرکولاسیون و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن
- (3) بررسی این فعالیت در غلظت‌های مختلف عصاره
- (4) مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن با آنتی‌اکسیدان‌های تجاری موجود (TBHQ, BHT, BHA)

2- مواد و روش‌ها

2-1- مواد اولیه

روغن سویای خالص تصفیه و بوگیری شده عاری از آنتی-اکسیدان از کارخانه روغن نباتی قو تهران تهیه گردید و غده-های سیب‌زمینی راموس با رنگ پوست قهوه‌ای از منطقه فریدن

تا راندمان و محتوی کل ترکیبات فنلیک آن تعیین گردد و عملیات عصاره‌گیری با سه تکرار انجام شد.

2-4- اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلیک

عصاره‌ها

غلظت کل ترکیبات فنلیک در عصاره‌ها بر اساس روش فولین سیوکالتو [16] تعیین شد و نتایج بر اساس استاندارد اسیدگالیک بیان شد. مقدار 0/005 گرم از هریک از عصاره‌های خشک شده پوست سیب‌زمینی توزین و در 10 میلی‌لیتر مخلوط متانول و آب (4:6 حجمی/حجمی) حل شد. در یک لوله آزمایش بوسیله پیپت 0/2 میلی‌لیتر از محلول فوق وارد شد و به آن 1 میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو که به نسبت 1 به 10 رقیق شده بود و 0/8 میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم 7/5 درصد اضافه شد. سپس لوله آزمایش با چوب‌پنبه درگذاری شد. مخلوط حاصل به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق باقی ماند و پس از 30 دقیقه نمونه درون سل طیف نورسنج ریخته شد و جذب آن در طول موج 765 نانومتر خوانده شد. سپس با تطبیق دادن عدد جذب بدست آمده با منحنی استاندارد اسیدگالیک غلظت کل ترکیبات فنلیک بر مبنای اسیدگالیک بیان شد. اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلیک در عصاره‌ها با سه تکرار انجام شد و نتایج حاصل به صورت میانگین بیان شدند. به این ترتیب جهت تعیین مناسبترین حلال و روش استخراج، داده‌های حاصل از پنج نوع حلال برای گونه راموس و دو روش استخراج در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند و بر اساس مقایسه میانگین‌ها حلال متانول با داشتن راندمان بالا و همچنین بیشترین ترکیبات فنلیک به عنوان مناسبترین حلال جهت بررسی فعالیت آنتی-اکسیدانی انتخاب شد. همچنین عصاره متانولی بدست آمده از روش پرکولاسیون جهت تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ادامه آزمایش انتخاب گردید.

2-5- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

عصاره تغلیظ شده پوست سیب زمینی راموس در چهار سطح مختلف 200، 800، 1600 و 2400 ppm به روغن اضافه شد. عمل اختلاط بوسیله همزن مغناطیسی مجهز به سیستم حرارتی در دمای 60°C به مدت 15 دقیقه انجام شد. آنتی‌اکسیدان های سنتزی BHA، BHT و TBHQ در سطح 200 ppm در شرایط کاملاً مشابه به روغن اضافه شدند. همچنین مقداری از

اصفهان جمع‌آوری شدند. غده‌ها پس از برداشت چندین بار شسته شدند. سپس به صورتی که فقط پوست آن‌ها برداشته شود پوست‌گیری و پوست حاصل خشک گردید. پوست‌های خشک شده بوسیله آسیاب برقی پودر و از الکی با مش 40 عبور داده شدند. تمامی مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده از نوع آزمایشگاهی بودند و از شرکت مرک آلمان و آنتی‌اکسیدان‌های تجاری BHA، BHT و TBHQ نیز از شرکت دانیسکو دانمارک تهیه شدند.

2-2- استخراج با روش اولتراسوند

به منظور بررسی اثر حلال، عملیات استخراج با حلال‌هایی با قطبیت متفاوت انجام شد و پوست سیب‌زمینی پودر شده توسط اتانول، متانول، هگزان، استن و آب به روش اولتراسوند عصاره‌گیری شد. دستگاه اولتراسوند مدل Dr. Hielscher ساخت کشور آلمان با فرکانس 20 کیلوهرتز برای استخراج با اولتراسوند استفاده شد. در این روش مقدار 1 گرم پوست سیب‌زمینی پودر شده توسط 20 میلی‌لیتر حلال و به مدت 15 دقیقه در 25°C به کمک اولتراسوند عصاره‌گیری شد. برای حذف تفاله و مواد غیرمحلول عصاره‌ها با کاغذ واتمن شماره یک صاف شدند. بعد از این مرحله، عصاره‌ها به مدت 10 دقیقه و در دمای 5°C در 3000xg سانتریفوژ شدند [15]. سپس عصاره‌های حاصل از پنج حلال مختلف در دمای کمتر از 40°C تحت خلأ تا مرز خشکی تبخیر و وزن گردید تا راندمان و محتوی کل ترکیبات فنلیک آن‌ها تعیین گردد و عملیات عصاره‌گیری با سه تکرار انجام شد.

2-3- استخراج با روش پرکولاسیون

در این روش 10 گرم پوست سیب‌زمینی پودر شده توسط 200 میلی‌لیتر متانول طی یک شبانه‌روز با استفاده از یک دستگاه همزن مغناطیسی در دمای اتاق عصاره‌گیری شد. عصاره حاصل با کاغذ واتمن شماره یک صاف شد و رسوب حاصل تحت همان شرایط دوباره عصاره‌گیری شد. پس از مخلوط کردن عصاره‌های صاف شده، حلال با استفاده از دستگاه تبخیرگردان تحت خلأ در دمای کمتر از 40°C حذف شد و عصاره تا حد امکان تغلیظ گردید. بعد از این مرحله به منظور جداسازی مواد غیرمحلول باقیمانده، عصاره به مدت 10 دقیقه و در دمای 5°C در 3000xg سانتریفوژ شد [15]. سپس مقداری از عصاره بدست آمده از پوست راموس با حلال متانول در دمای کمتر از 40°C تحت خلأ تا مرز خشکی تبخیر و وزن گردید

0/05 مقایسه شدند. نرم افزار مورد استفاده برای تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها SPSS بود. نمودارها با نرم افزار اکسل ترسیم شدند.

3- نتایج و بحث

3-1- راندمان عصاره گیری

جدول 1 بازده استخراج عصاره های بدست آمده از پوست سیب زمینی را پس از اثر اولتراسوند بر پوست های پودر شده با حلال های متانول ، اتانول ، هگزان ، استن و آب و نیز پس از پرکوله کردن پوست های پودر شده سیب زمینی با حلال متانول نشان می دهد. از میان حلال های مورد استفاده برای پوست سیب زمینی حلال آب دارای بیشترین راندمان عصاره-گیری بود و حلال های متانول ، اتانول ، استن و هگزان به ترتیب در رتبه های بعدی قرار گرفتند. به نظر می رسد که بازده عصاره گیری با افزایش قطبیت حلال افزایش یافته است. در بین حلال های مورد استفاده آب بالاترین شاخص قطبیت را دارد که این امر ممکن است در بالابودن راندمان عصاره گیری با آب مؤثر باشد چرا که بخش عمده ای از ترکیبات پوست سیب-زمینی را مواد قطبی تشکیل می دهند. سیب زمینی دارای آنتی-اکسیدان های محلول در آب است که به عنوان پذیرنده رادیکال آزاد عمل می کنند و شامل گلوکوتایون ، اسیداسکوربیک، کوئرستین و اسیدکلروژنیک هستند [19 ، 20]. پاتانتین یک گلیکوپروتئین محلول در آب است که فعالیت آنتی اکسیدانی دارد و بیش از 40% کل پروتئین های محلول در آب سیب زمینی را تشکیل می دهد. گزارش شده که بافت کورتکس یا پوست دارای پروتئین های محلول در آب بیشتری نسبت به مغز است و این پروتئین ها دارای فعالیت آنتی اکسیدانی هستند [21]. کاتچین و اپی کاتچین نیز که در پوست سیب زمینی وجود دارند گزارش شده است که حلالیت بالایی در آب دارند. شرایط بهینه استخراج اسیدکلروژنیک از سیب زمینی با استفاده از استن، اتانول و متانول که توسط مندل فردمن در سال 1997 بررسی شد نیز ، ترتیب تأثیر را به صورت متانول < اتانول < استن نشان داد [22].

روغن سویای خالص اولیه بدون افزودن هرگونه آنتی اکسیدان توسط همزن مغناطیسی در همان شرایط هم زده شد تا شرایط برای تمامی تیمارها یکسان باشد.

2-5-1- روش آزمون آون

نمونه ها به آون Airflow در دمای 63°C به مدت 16 روز انتقال داده شدند. اکسیداسیون در فواصل زمانی معین با اندازه گیری اندیس پراکسید و اندیس تیوباربیتوریک اسید به ترتیب به روش استاندارد AOCS Cd 8-53 و AOCS Cd 19-90 تعیین گردید [17]. به این ترتیب نمونه ها در فواصل یک روز در میان در هشت نوبت با سه تکرار مورد آزمون اندیس پراکسید و در فواصل چهار روز و در چهار نوبت با سه تکرار مورد آزمون اندیس تیوباربیتوریک اسید قرار گرفتند. برای مقایسه قدرت آنتی اکسیدانی از شاخص ممانعت از اکسایش چربی ها یا IO مطابق فرمول استفاده شد [18].

$$IO = 100 - \text{عدد پراکسید شاهد} / \text{عدد پراکسید نمونه}$$

2-5-2- روش رنسیمت

برای تعیین کارایی آنتی اکسیدانی عصاره از یک دستگاه رنسیمت مدل 743 استفاده شد. به این منظور 4 گرم نمونه روغن سویا تصفیه و بوگیری شده عاری از آنتی اکسیدان در دماهای 90، 120 و 150 درجه سانتی گراد مورد آزمایش قرار گرفت. عصاره در غلظت های 200، 800، 1600 و 2400ppm به کار رفت. سرعت جریان هوا 20 لیتر بر ساعت تنظیم شد. برای مقایسه از آنتی اکسیدان های سنتزی BHA، BAT و TBHQ در سطح 200 ppm استفاده شد. داده های بدست آمده بر مبنای طول دوره القاء و فاکتور اثربخشی F مورد مقایسه قرار گرفت (فاکتور اثربخشی : طول دوره القاء در حضور آنتی اکسیدان / طول دوره القاء شاهد).

2-6- تجزیه آماری

برای بررسی اثر حلال و روش استخراج بر راندمان عصاره گیری و میزان ترکیبات فنولیک، آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. در بررسی توانایی آنتی اکسیدانی عصاره پوست راموس در روغن سویا و تعیین اثر غلظت و دما بر آن در روش آزمون آون و رنسیمت ، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. میانگین ها به روش دانکن و در سطح معنی دار

دریافت که تفاوت قابل ملاحظه‌ای در راندمان استخراج توسط حلال متانول وجود ندارد [23]. گلی و همکاران نیز در سال 2005 فعالیت آنتی اکسیدانی پوست پسته را بررسی کردند و نتایج مشابهی را در این زمینه گزارش کردند [24]. به نظر می‌رسد که تغییر شرایط استخراج با اولتراسوند (زمان، دما، حلال و ...) تأثیر زیادی در راندمان عصاره‌گیری دارد.

3-2- میزان ترکیبات فنولیک

همانطور که در جدول 2 مشاهده می‌شود نتایج حاصل از آزمایش های اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک با پنج حلال مختلف، تأثیر معنی‌دار نوع حلال و نوع روش استخراج را بر میزان ترکیبات فنولیک استخراج شده نشان داد ($P < 0/05$). عصاره متانولی دارای بیشترین مقدار ترکیبات فنولیک بود و میزان ترکیبات فنولیک اندازه‌گیری شده در عصاره‌ها به ترتیب مقابل می‌باشد: متانول < آب < اتانول < استن < هگزان. برای این اساس می‌توان نتیجه‌گیری کرد که میزان ترکیبات فنولیک عصاره‌های مذکور با افزایش قطبیت حلال افزایش می‌یابد. حلال آب علیرغم راندمان بالا ترکیبات فنولیک کمتری را نسبت به حلال متانول استخراج کرد. در واقع حلال آب مواد جامد قابل استخراج بیشتری را در خود حل کرده است اما همه این ترکیبات لزوماً ترکیبات فنولیک نیستند. در سال 1994 رد ریگر و همکاران استخراج فنولیک‌ها را از پوست سیب‌زمینی با استفاده از متانول و آب بررسی کردند و دریافتند که حلال متانول در 4°C عصاره‌گیر کارآمدتری از آب در 25°C است [15]. فنولیک‌ها به طور معمول با استفاده از حلال های آبی یا حلال های آلی ایزوله و جداسازی می‌شوند. پوست سیب‌زمینی حاوی ترکیبات فنولیک بسیار زیادی است که برخی به شکل آزاد و برخی دیگر به صورت ترکیب وجود دارند. مهمترین و اصلی‌ترین فنولیک‌ها در عصاره پوست سیب‌زمینی اسیدکلروژنیک (GCA)، اسیدگالیک (GAC)، اسیدپروتوکاتکونیک (PCA) و اسیدکافئیک (CFA) گزارش شده‌اند. مطالعه های گوناگون انجام شده در این زمینه همگی اسیدهای فنولیک را به این صورت گزارش کرده‌اند [9 - 13].

همچنین مقایسه میانگین میزان ترکیبات فنولیک استخراج شده با دو روش اولتراسوند و پرکولاسیون نشان داد که روش استخراج اولتراسوند به طور معنی‌داری سبب افزایش میزان

جدول 1 درصد راندمان عصاره های بدست آمده از پوست

سیب زمینی با حلال های مختلف	
روش استخراج - حلال	راندمان عصاره پوست سیب زمینی (%)
پرکولاسیون - متانول	8/03 ± 0/03b
اولتراسوند - آب	11/20 ± 0/01c
اولتراسوند - متانول	7/90 ± 0/04 b
اولتراسوند - اتانول	5/65 ± 0/08d
اولتراسوند - استن	2/88 ± 0/04e
اولتراسوند - هگزان	1/00 ± 0/01f

a میانگین سه تکرار با انحراف معیار
حروف مختلف f, ..., b نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح 5% می باشد.

همانطور که در جدول 1 مشاهده می‌شود، راندمان عصاره‌گیری با دو روش استخراج اولتراسوند و پرکولاسیون تفاوت قابل ملاحظه‌ای را نشان ندادند. اولتراسوند احتمالاً آسانترین روش برای تخریب سلول ها و تولید عصاره می‌باشد. روش اولتراسوند بسیار کارآمد، ایمن و قابل اعتماد است. به منظور استخراج مواد، غشاء سلول‌ها باید شکسته شود. حفره سازی اولتراسوند، نیروهای برشی را ایجاد می‌کند که دیواره‌های سلول را به طور مکانیکی می‌شکند و انتقال مواد را بهبود می‌بخشد. از این اثر در استخراج مواد از سلول ها استفاده می‌شود. به همین دلیل روش اولتراسوند سریع‌تر و کامل‌تر از روش پرکولاسیون و سایر روش های غرقابی است. اولتراسوند همچنین سبب کاهش اندازه ذرات می‌شود که سطح تماس را افزایش داده و در نتیجه انتشار حلال در بافت افزایش می‌یابد. بنابراین راندمان عصاره‌گیری در طی 24 ساعت با روش پرکولاسیون تقریباً برابر با 15 دقیقه با روش اولتراسوند است. در هر حال، روش اولتراسوند به دلیل کاستن قابل توجه زمان عصاره‌گیری و افزایش کارایی نسبت به روش پرکولاسیون ارجح می‌باشد. نتایج بدست آمده از این مقایسه با گزارش جکز و همکاران در سال 2005 مطابقت دارد. وی راندمان عصاره‌گیری از برگ بلوط را توسط حلال های متانول و هگزان با دو روش اولتراسوند و پرکولاسیون مقایسه کرد و

شدند به اين دليل كه تركيبات اخير تركيباتى خالص هستند اما عصاره مخلوطى از تركيبات مختلف استخراج شده به همراه تركيبات آنتى اكسيدانى مى باشد. افزودن آنتى اكسيدان هاى طبيعى و سنتزى به روغن سبب بروز تغييراتى در اعداد پراكسيد و تيوباريتوريك اسيد در طى نگهدارى آن به مدت 16 روز در 63°C گرديد (شكل 1 و شكل 2). عدد پراكسيد، تركيبات اوليه و عدد تيوباريتوريك، تركيبات ثانويه اكسيداسيون بويژه مالون آلديئيد را كه سبب بروز تغييراتى در طعم روغن هاى اكسيده مى شود اندازه گيرى مى كنند [26]

مقايسه ميانگين نتايج حاصل از اندازه گيرى انديس هاى پراكسيد (شكل 1) و تيوباريتوريك اسيد (شكل 2) بين چهار غلظت عصاره پوست سيب زمينى (200، 800، 1600 و ppm 2400) ، BHA ، BHT ، TBHQ و نمونه شاهد نشان دهنده وجود اثرات آنتى اكسيدانى در همه غلظت هاى مورد استفاده بود. همانطورى كه در جدول 3 مشاهده مى شود، اثر عصاره پوست سيب زمينى بر اكسيداسيون روغن سويا پس از 16 روز نگهدارى در 63°C در غلظت 800 ppm معادل BHA و در غلظت 1600 ppm معادل BHT بود و همواره TBHQ فعاليت آنتى اكسيدانى بالاترى نسبت به همه غلظت هاى عصاره سيب زمينى داشت. اين نتيجه با گزارش انينچو و هتاراجى در سال 1993 مطابقت دارد. اين محققان فعاليت آنتى اكسيدانى عصاره پوست سيب زمينى را در غلظت 500ppm با آنتى اكسيدان هاى سنتزى BHA - BHT و TBHQ در غلظت مشابه مقايسه كردند و دريافتند كه عصاره پوست سيب زمينى مساوى با BHT و BHA عمل مى كند [27]. ميراحمدى و همكاران در سال 1384 فعاليت آنتى اكسيدانى عصاره آبى خالص سازى شده برگ سبز چاى را در غلظت هاى 200 و 500ppm بيشتر از آنتى اكسيدانهاى تجارى BHA و BHT در غلظت هاى 100 و 200 ppm گزارش كردند [28]. بنا بر اين فعاليت آنتى اكسيدانى عصاره آبى خالص سازى شده برگ سبز چاى بيشتر از عصاره متانولى پوست سيب زمينى مى باشد. البته در پژوهش حاضر هيچ گونه عمليات تخليص بر روى عصاره انجام نشده و فعاليت آنتى اكسيدانى كل عصاره بررسى شد. همچنين با افزايش غلظت عصاره، فعاليت آنتى اكسيدانى نيز افزايش و هر دو انديس

تركيبات فنوليك نسبت به روش پرکولاسيون مى شود ($P < 0/05$). در واقع همان طور كه در جدول 2 مشاهده مى شود روش اولتراسوند اگرچه كه از نظر راندمان عصاره گيرى با روش پرکولاسيون برابرى كرده اما توانسته است تركيبات فنوليك بيشترى را استخراج كند. در سال 2004 اس آلبو و همكاران گزارش كردند كه روش اولتراسوند سبب افزايش ميزان كارنوسيك اسيد استخراج شده از گياه رزمارى با همه حلال هاى مورد استفاده مى شود و مدت زمان عصاره گيرى را به شدت كاهش مى دهد [25]. افزايش مقدار تركيبات فنوليك استخراج شده توسط اولتراسوند وكاهش زمان عصاره گيرى، توسط گلى و همكاران در مطالعه بر روى خواص آنتى اكسيدانى پوست پسته در سال 2005 نيز گزارش شده است [24].

جدول 2 ميزان تركيبات فنوليك استخراج شده از پوست سيب زمينى با استفاده از روش ها و حلال هاى مختلف a

روش استخراج - حلال	ميزان تركيبات فنوليك (ميگروگرم / گرم ماده خشك) b اسيد گاليك
پرکولاسيون - متانول	522/1 ± 2/14c
اولتراسوند - آب	312/2 ± 2/10e
اولتراسوند - متانول	593 /3 ± 4/2d
اولتراسوند - اتانول	280/32 ± 5/21f
اولتراسوند - استن	155/6 ± 4/20g
اولتراسوند - هگزان	0 /00 ± 0/00h

a ميانگين سه تکرار ± انحراف معيار

b استاندارد اسيد گاليك (GAC)

حروف مختلف h , ... , c نشان دهنده وجود اختلاف معنى دار در سطح 5% مى باشد.

3-3- اثر افزودن عصاره پوست سيب زمينى

بر پايدارى روغن سويا

عصاره پوست سيب زمينى در سطوح 200، 800، 1600 و ppm 2400 استفاده شد و آنتى اكسيدان هاى سنتزى BHA ، BHT ، TBHQ در غلظت 200 ppm به روغن اضافه

جدول 3 فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پوست سیب زمینی راموس، BHT، BAH و TBHQ در روغن سویا پس از 16 روز نگهداری در 63°C

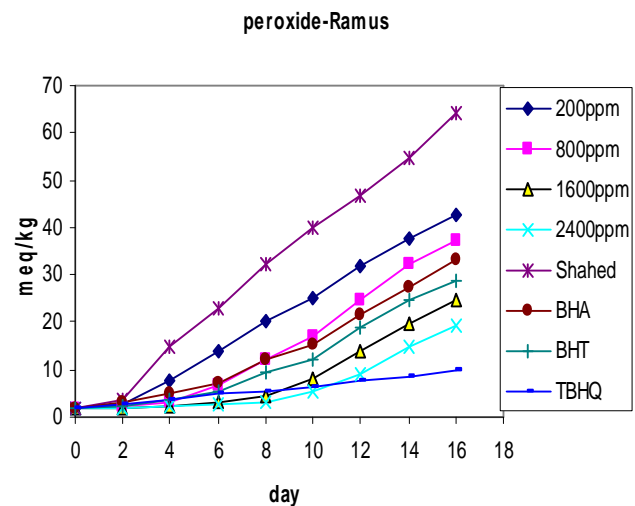
نوع تیمار	فعالیت آنتی اکسیدانی (%)
200 ppm TBHQ	84/45
عصاره پوست راموس 2400 ppm	70/20
عصاره پوست راموس 1600 ppm	61/52
200 ppm BHT	55/18
200 ppm BHA	48/12
عصاره پوست راموس 800 ppm	41/71
عصاره پوست راموس 200 ppm	33/40
شاهد	00/00

3-4- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی با آزمون رنسیمت

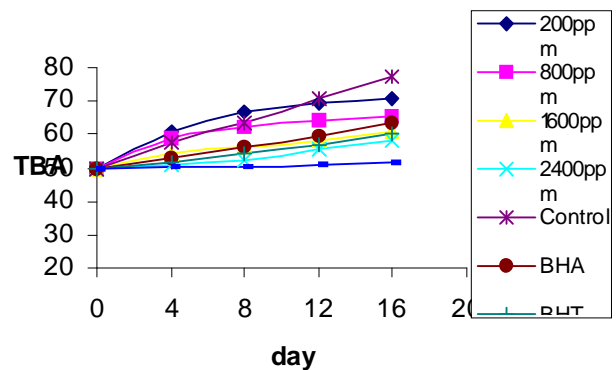
با توجه به راندمان عصاره گیری و میزان ترکیبات فنولیک بالای استخراج شده توسط عصاره متانولی، این عصاره برای ارزیابی مقاومت حرارتی با آزمون رنسیمت انتخاب شد. به این منظور عصاره متانولی پوست سیب زمینی راموس در چهار سطح غلظتی (200، 800، 1600 و 2400 ppm) و در سه دما (90، 120 و 150°C) در روغن سویا مورد بررسی آزمون رنسیمت قرار گرفت. در آزمون رنسیمت عصاره پوست سیب زمینی از اکسیداسیون روغن سویا ممانعت نمود و طول دوره القا پراکسیداسیون روغن را افزایش داد. بیشتر بودن طول دوره القا نشان دهنده بالاتر بودن فعالیت آنتی اکسیدانی می باشد. نتایج حاصل از مقایسه طول دوره القا در جدول 4 آورده شده است.

مطابق جدول 4 در بررسی نمونه های روغن سویای حاوی عصاره پوست سیب زمینی در سه دمای 90، 120 و 150°C بیشترین طول دوره القا به ترتیب مربوط به تیمارهای TBHQ < 2400 ppm پوست راموس < 1600 ppm پوست راموس < BHT < BHA < 800 ppm پوست راموس < 200 ppm پوست راموس < شاهد بود و با افزایش دما، طول دوره القا نمونه ها کاهش یافت و اختلاف میان سطوح مختلف غلظت عصاره معنی دار و بیشترین اختلاف مربوط به غلظت های 800 و 1600 ppm بود. (P < 0/05) عصاره متانولی در غلظت 2400 ppm طول دوره القا را 1/4 برابر نسبت به نمونه شاهد افزایش بخشید

پراکسید و تیوباریتوریک اسید کاهش یافتند. در این بررسی اختلاف بین غلظت های 200 و 800 ppm عصاره و نیز بین غلظت های 1600 و 2400 ppm عصاره معنی دار نبود (P > 0/05) و لیکن اختلاف معنی دار بسیار مهمی میان فعالیت آنتی-اکسیدانی عصاره ها در غلظت های 800 و 1600 ppm مشاهده شد (P < 0/05). ضیا- رحمان و همکاران نیز در سال 2004، عدم وجود رابطه خطی را میان غلظت و فعالیت آنتی-اکسیدانی عصاره پوست سیب زمینی گزارش کردند [3].



شکل 1 اثر عصاره پوست سیب زمینی بر اکسیداسیون روغن سویا با تعیین تغییرات پراکسید در 63°C



شکل 2 تغییرات عدد تیوباریتوریک روغن های حاوی عصاره پوست سیب زمینی در طی نگهداری در 63°C

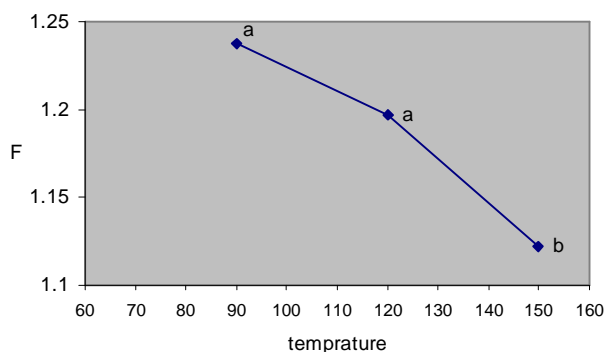
جدول 4 اثر افزودن عصاره متانولی پوست راموس TBHQ , BHT , BHA بر دوره القاء (ساعت) روغن سویا به روش رنسیمت

TBHQ	BHT	BHA	شاهد	(ppm)2400	(ppm)1600	(ppm)800	(ppm)200	دما	تیمار
6020±011	2970±012	2889±005	2570±002	3634±022	3364±018	2871±028	2848±031	90	
686±004	371±007	365±000	320±001	428±008	398±007	359±004	351±001	120	
101±002	063±000	062±000	055±000	064±000	062±000	061±000	060±000	150	

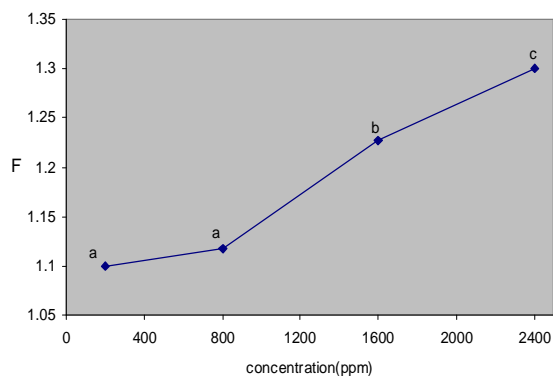
میزان فاکتور اثر بخشی F

دما	غلظت (ppm)	150	120	90
200	1/09	1/10	1/11	1/12
800	1/11	1/12	1/13	1/31
1600	1/13	1/24		

فاکتور اثر بخشی: طول دوره القاء در حضور آنتی اکسیدان / طول دوره القاء شاهد



شکل 3 اثر دما بر فاکتور اثر بخشی F عصاره متانولی پوست راموس در ممانعت از اکسایش روغن سویا در روش رنسیمت



شکل 4 اثر غلظت بر فاکتور اثر بخشی F عصاره متانولی پوست راموس در ممانعت از اکسایش روغن سویا در روش رنسیمت

مقادیر فاکتور اثر بخشی F برای غلظت های مختلف عصاره و در دماهای مختلف با استفاده از مدت زمان های القاء بدست آمده به روش رنسیمت محاسبه شد. نتایج نشان داد دما بر فاکتور اثر بخشی F تأثیرگذار است به طوری که میزان F با افزایش دما کاهش می یابد (شکل 3). همچنین اختلاف معنی داری بین دماهای 90 و 120 درجه سانتی گراد وجود نداشت اما یک اختلاف معنی دار بسیار مهمی بین دماهای 120 و 150 درجه سانتی گراد مشاهده شد که نشان دهنده آن است که این عصاره پس از دمای 120°C از مقاومت حرارتی مناسبی برخوردار نیست. علاوه بر این با افزایش غلظت فاکتور F نیز افزایش پیدا کرد (شکل 4). در گونه راموس اختلاف بین غلظت های 200 و 800 ppm معنی دار نبود اما بین غلظت های 800 و 1600 ppm و همچنین بین 1600 و 2400 ppm معنی دار بود و شاخص F افزایش یافت که به علت افزایش پلی فنل ها می باشد. مارونیوا و یانیش در سال 1997 عدم وجود رابطه خطی بین غلظت و اثر بخشی ترکیبات آنتی-اکسیدانی را گزارش کردند [29].

- [3] Zia-ur. R, Habib. F, Shah. W. H., 2004. Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. *Food Chem*, 85 (2): 215-220.
- [4] Khalil. A. H, Mansour. E. M., 1998. Control of lipid oxidation in cooked and uncooked refrigerated crap fillets by antioxidant and packaging combinations. *J Agr Food Chem*, 46: 1158-1162.
- [5] Buxiang. S, Fukuhara. M., 1997. Effects of co-administration of butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole and flavonoids on the activation of mutagens and drug-metabolizing enzymes in mice. *Toxicology*, 122: 61-72.
- [6] Kähkönen. M. P, Hopia. A. I, Vuorela. H. J, Rauha. J. P, Pihlaja. K, Kujala. T. S and Heinonen. M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agr Food Chem*, 47: 3954-3962.
- [7] Mansour. E. H, Khalil. A. H., 2000. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. *Food Chem*, 69: 135-141.
- [8] Alexander. P, Ritsuko. M, Miechal. S, Bat-Sheva. C, Fostk- Magyar. C and Dubinsley. Z., 1998. Natural antioxidant activity in some microalgal species. *J Plant Sci*, 46: 169-176.
- [9] Lisinska. G, Leszczynski. W., 1987. Potato tubers as raw material for processing and nutrition. ch.2 In potato science and technology, G. Lisinska and W. Leszczynski (Ed.): 34-38. Elsevier applied science., London, England.
- [10] Lyon. G. D, Barker. H., 1984. The measurement of chlorogenic acid in potato leaf extracts by high pressure liquid chromatography. *Potato Research*, 27: 291-295.
- [11] Malmberg. A. G, Theander. O., 1985. Determination of chlorogenic acid in potato tubers. *J Agric Food Chem*, 53: 549-551.
- [12] Kumar. A, Pundhir. V. S, Gupta. K. C., 1991. The role of phenols in potato tuber resistance against soft rot by *Erwinia carotouora* ssp. *Carotora*. *Potato. Res*, 34: 9-16.
- [13] Ramamurthy. M, Maiti. B, Thomas. P, Nair. M., 1992. High performance liquid chromatography determination of phenolic acids in potato tubers (*Solanum tuberosum*) during wound healing. *J Agric Food Chem*, 40: 569-572.

5- نتیجه گیری

ترکیبات فنولیک به طور گسترده ای در منابع طبیعی یافت می شوند و در این مطالعه پوست سیب زمینی راموس به عنوان یک منبع طبیعی ترکیبات فنولیک مورد ارزیابی قرار گرفت. بر این اساس انتخاب نوع حلال و روش استخراج تاثیر قابل ملاحظه ای بر راندمان عصاره گیری و میزان ترکیبات فنولیک استخراج شده دارد. از میان حلال های مورد استفاده حلال متانول با داشتن راندمان بالا و نیز بیشترین میزان ترکیبات فنولیک به عنوان مناسبترین حلال در نظر گرفته شد. در بین روش های استخراج روش اولتراسوند به دلیل کاستن قابل ملاحظه زمان عصاره گیری و همچنین استخراج ترکیبات فنولیک بالاتر بهترین روش استخراج تشخیص داده شد. این نتایج نشان می دهد که می توان از عصاره پوست سیب زمینی راموس به عنوان یک منبع طبیعی آنتی اکسیدانی استفاده نمود. مقاومت حرارتی عصاره حاصل از پوست سیب زمینی بالا نیست اما فعالیت بسیار مناسبی در دماهای پایین تر دارد. پیشنهاد می شود فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولیک پوست سایر گونه ها مورد ارزیابی قرار بگیرد و شرایط استخراج با اولتراسوند از نظر متغیرهایی مانند دما، زمان و نسبت ماده اولیه به حلال بهینه سازی گردد.

6- سپاسگزاری

از همکاری های جناب آقای مهندس محمد سلامی نیا در زمان انجام تحقیق تشکر می گردد. همچنین از جناب آقای مهندس حسن طاهری مسوول محترم بخش سیب زمینی دفتر سبزی و صیفی وزارت کشاورزی به جهت همکاری های ایشان سپاسگزاری می نمایم.

7- منابع

- [1] Chan. K. M, Decker. E. A, Means. W. J., 1993. Extraction and activity of carnosine. a naturally occurring antioxidant in beef muscle. *J Food Sci*, 58: 1-4.
- [2] Yin. M. C, Cheng. W. S., 1997. Oxymyoglobin and lipid oxidation in phosphatidylcholine liposomes retarded by α -tocopherol and β -caroten. *J Food Sci*, 62: 1095-1097.

- [23] Jacques. R. A, Freitas. L. S, Pérez. V. F, Dariva. C, Oliveira. A. P, Oliveira. J. V, Caramão. E. B., 2005. The use of ultrasound in the extraction of *Ilex paraguariensis* leaves: A comparison with maceration. Ultrasonics Sonochem. Article in Press, Corrected Proof.
- [24] Goli. A. H, Barzegar. M, Sahari. M. A., 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. Food chem., 92(3) :521-525.
- [25] Albu. S, Joyce. E, Paniwnyk. L, Lorime. J. P, Manson. T. J., 2004. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. Ultrasonics Sonochem, 11(3-4): 261- 265.
- [26] Rossel. J. B., 1994. Measurements of rancidity. In: J.C. Allen and R.J. Hamilton, Editors, Rancidity in foods (third ed.), Blackie, UK. 22–53.
- [27] Onyenko. S-N, Hettiarachchy. N. S., 1993. Antioxidant activity, Fatty acid and phenolic acid composition of potato peels. J Sci Food Agr, 62: 345-350.
- [28] Mir-Ahmadi. F, Fatemi. H, Sahari. M.A., 2006. Effect of green tea extract on the inhibition of sunflower oil oxidation. IJFST, 2(4) : 61-70
- [29] Marinova. E. M, Yanishlieve. N.N., 1997. Antioxidant activity of selected species of the family lamiacae in oil. Food Chem, 58: 245-248. sunflower
- [14] Sotillo. R. D, Hadley. M, Holm. E. T., 1994. Potato peel waste: Stability and antioxidant activity of a Freeze- Dried Extract. J Food Sci, 59(5): 1031-1033.
- [15] Sotillo. R. D, Hadley. M, Holm. E. T., 1994. Phenolics in aqueous potato peel extract: Extraction, identification and degradation. J Food Sci, 59(2): 649-651.
- [16] Singh. R.P, Murthy. K.N.C, Jayaprakasha. G.K., 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. J Agr Food Chem, 50: 81–86.
- [17] A.O.C.S, 1997. Official methods of analysis; Cd 8-53, Cd 19-90, American Oil Chemists Society.
- [18] Abdalla. A. E, Roozen. J. P., 1999. Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. Food Chem, 64: 323-329.
- [19] Pratt. D. E, Watts. B. M., 1964. The antioxidant activity of vegetables extracts I. flavone aglycones. J Food Sci, 29: 27-33.
- [20] Jones. D. P, Coates. R. J, Flagg. E. W, Block. G, Greenberg. R. S, Gunter. E.T, Jackson. B., 1992. Glutathione in foods listed in the national cancer Institutes health habits and history food frequency questionnaire. Nutr cancer, 17: 57-75.
- [21] Saikhan. M. S, Howard. L. R, Miller. J. C., 1995. Antioxidant activity and total phenolics in different Genotypes of potato (*solanum tuberosum*, L.). J Food Sci, 60 (2): 341-343.
- [22] Friedman. M., 1997. Chemistry, Biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. J Agric Food Chem, 45: 1523-1540.

Extraction of phenolic compounds from potato peel (*Ramus* variety) with solvent and ultrasound-assisted methods and evaluation of its antioxidant activity in soybean oil

Mohagheghi Samarin, A. ^{1*}, Poorazarang, H. ², Elhamirad, A. H. ³, Dezashibil, Z. ¹,
Hematyar, N. ⁴

1. Department of food science, Shahreghods Branch, Islamic Azad University, Shahreghods, Iran.

2. Faculty of Food Science, University of Ferdosi, Mashhad, Iran

3. Department of food science, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

4. Department of food science, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

(Received:86/6/25 Accepted: 87/7/14)

In the present study the effects of extract from the peels of *Ramus* potato variety as a natural antioxidant in refined soybean oil were investigated using the Schaal oven and Rancimat methods. Phenolic antioxidants of potato peels were extracted by two different solvent extraction methods (Solvent with methanol and ultrasound-assisted method with different solvents including methanol, ethanol, hexane, acetone and water). The total phenolic compounds were determined according to the Folin–Ciocalteu method. Maximum amount of extract was obtained with water, followed by methanol and ethanol but maximum amount of phenolics was obtained with methanol, followed by water and ethanol by ultrasound method. Sonication improved the total phenolic compounds of the potato peel extract and shortened the extraction times. After 16 days storage at 63°C, soy bean oil containing 200, 800, 1600, and 2400 ppm of methanolic extract of potato peels, attained lower peroxide values (PV , 42.67 , 37.35 , 24.65 and 19.09 meq/kg, respectively) than the control sample (PV , 64.08 meq/kg) indicating strong antioxidant activity. Oils treated with 200 ppm of BHA, BHT and TBHQ attained PVs of 33.20 , 28.88 and 9.96 meq/kg, respectively, after 16 days storage at 63°C. Also, results Rancimat (at 90,120,150°C) showed that potato peel extract, at concentrations of 1600 and 2400 ppm exhibited strong antioxidant activity which was almost equal to synthetic antioxidants (BHA & BHT).

Keywords: Potato peel, Phenolic compounds, Antioxidant activity, Soybean oil, Sonication

*Corresponding author E-mail address: azadeh_mohagheghi7882@yahoo.co.in