بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی دو واریته‌ی بلوط *Q.branti var* persica و *Q.castaneifolia var* castaneifolia در روغن آفتاب‌گردان

مریم قادری قهفرخی[۱]، مهران اعلمی[۱]*، علیرضا صادقی ماهونک[۱]، محمد حسین عزیزی[۱]، محمد قربانی[۱]

۱- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده صنایع غذائی، گرگان، ایران.
۲- دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذائی، تهران، ایران.
(تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۱۷ تاریخ پذیرش:۸۹/۸/۱۹)

چکیده

فعالیت آنتی اکسیدانی بسیاری از عصاره های گیاهی با میزان ترکیبات فنولی آن‌ها مرتبط است. در این تحقیق ترکیبات فنولی میوه دو واریته‌ی بلوط *Q.branti var persica (Q.b)* و *Q.castaneifolia var castaneifolia (Q.c)* با متانول (۸۰٪) استخراج گردید. پس از تغلیظ با تبخیر کننده‌ی چرخان، عصاره‌ها توسط خشک کن انجمادی به پودر خشک تبدیل شدند. مقدار ترکیبات فنولی پودر حاصله با روش فولین سیو کالتو اندازه-گیری و بر حسب میلی گرم اسید تانیک در گرم عصاره بیان گردید. واریته‌ی کاستانیفولیا حاوی مقادیر بیشتری از ترکیبات فنولی بود (۲۱۷/۶۵ میلی-گرم در هر گرم عصاره‌ی پودر شده). فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها در پایداری روغن آفتاب گردان با اندازه‌گیری اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید تحت شرایط تسریع شده مورد ارزیابی قرار گرفت و با آنتی اکسیدان‌های سنتزی مقایسه شد. برای این منظور عصاره‌ها در سه سطح غلظت (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) و آنتی اکسیدان‌های سنتزی در دو سطح غلظت (۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام) به روغن افزوده شدند. هر دو عصاره توانستند اکسیداسیون روغن را در دمای ۷۰°c به تاخیر بیاندازند. مقدار اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نمونه‌ی شاهد در روز دوازدهم به ترتیب به ۳۲۸/۸۸ میلی اکی والان پراکسید و ۰/۵۸ میلی گرم مالون آلدهید در هر کیلو گرم روغن رسید در حالیکه این مقادیر برای نمونه های روغن حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌ی متانولی Q.c، ۱۷۶/۳۶ و ۰/۳۳۲ و برای Q.b، ۱۸۳/۲ و ۰/۳۷۴ بود.

کلید واژگان: میوه بلوط، روغن آفتاب گردان، عصاره متانولی، فعالیت آنتی اکسیدانی

* نویسنده مسئول : mehranalami@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

۱- مقدمه

لیپیدها منابع ارزشمندی از انرژی می‌باشند که قادرند بیش از دو برابر کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها انرژی تولید کنند. اسیدهای چرب ضروری و نیز بخشی از ویتامین‌های مورد نیاز بدن (ویتامین‌های محلول در چربی) از طریق مصرف این منابع در رژیم غذائی تامین می‌گردند [۱]. اکسیداسیون یکی از فرآیندهائی است که به طور طبیعی بین مولکول‌های اکسیژن و چربی‌های غیراشباع رخ می‌دهد و منجر به تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌شود. رادیکال‌های آزاد ترکیبات به شدت ناپایدار، پرانرژی، فعال و دارای الکترون آزاد می‌باشند [۲]. اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع و تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسیدها، منجر به تند شدن و تخریب لیپیدهای غذائی شده که به طور معکوسی کیفیت تغذیه‌ای (اسیدهای چرب و ویتامین های محلول در چربی) و ویژگی‌های ارگانولپتیکی مواد غذائی (رنگ، بو، مزه و بافت) را تحت تاثیر قرار می‌دهند. علاوه بر این بسیاری از محصولات حاصل از اکسیداسیون لیپیدها، فاکتورهای خطرناکی برای سلامت انسان محسوب می‌شوند [۳]. آنتی اکسیدان‌ها به موادی گفته می‌شود که قادر به تاخیر، کند کردن و حتی توقف فرآیندهای اکسیداسیون می‌باشند. این ترکیبات می‌توانند به نحو مطلوبی از تغییر در رنگ و طعم مواد غذائی در نتیجه واکنش‌های اکسیداسیون جلوگیری کنند [۴]. مکانیزم اثر آنتی اکسیدان‌ها به این صورت است که با دادن اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد، از گسترش واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون جلوگیری می‌کنند [۱].

در سال‌های اخیر استفاده از آنتی اکسیدان‌های سنتزی نظیر BHA، BHT و TBHQ، همانند سایر افزودنی‌های شیمیائی، به دلیل سمیت احتمالی و سرطان‌زائی آنها، محدود شده است. امروزه بیشتر تحقیقات صورت گرفته در این زمینه بر استفاده از آنتی اکسیدان‌های جدید و بدون خطر از منابع گیاهی، حیوانی، میکروبی و غذائی، تمرکز یافته است. بیشتر آنتی اکسیدان‌های طبیعی قابل پذیرش، اجزای غذائی معمولی هستند که انسان همواره آنها را از طریق رژیم غذائی خود مصرف می‌کند. از مهمترین منابع آنتی اکسیدانی موجود در رژیم غذائی می‌توان به توکوفرول‌ها، گلوتاتیون‌ها، اسید آسکوربیک و نمک‌های آسکوربات، کاروتنوئیدها و ترکیبات فنولی اشاره کرد [۵]. ترکیبات فنولی با چندین مکانیسم مختلف، از اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری می‌کنند. مهم‌ترین عملکردهای این ترکیبات در ارتباط با اکسیداسیون، غیر فعال کردن رادیکال‌های آزاد و تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی می‌باشند [۶].

درخت بلوط متعلق به خانواده فاگاسه[1] و جنس کوئرکوس[2] می‌باشد. میوه‌ی این درخت عمدتاً از نشاسته تشکیل شده و پروتئین، روغن، فیبر، مواد معدنی و ویتامین‌هائی نظیر A، C و ویتامین‌های گروه B، سایر ترکیبات تشکیل دهنده‌ی آن می‌باشند. علاوه بر ترکیبات تغذیه‌ای، میوه بلوط حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنولی و تانن می‌باشد [۷]. در پژوهشی که توسط کانتوس و همکاران (۲۰۰۳) صورت گرفت، مشخص شد، ترکیبات فنولی میوه ۳ واریته‌ی بلوط بیشتر از نوع استرهای گالویل گلوکز یا از مشتقات الاجیک اسید بودند. نوع و میزان ترکیبات فنولی در دو گونه‌ی الیکس و روتوندیفولیا مشابه و از نوع مشتقات اسید گالیک بودند در حالیکه ترکیبات فنولی گونه سوبر از مشتقات الاجیک اسید تشخیص داده شدند. پوست گونه سوبر نیز نسبت به دو گونه دیگر مقدار بیشتری از ترکیبات فنولی را دارا بود [۸]. میوه‌ی بلوط گونه‌ی کوئرکوس روبور نیز حاوی ۱۲/۳۳٪ ترکیبات فنولی بود که به ترتیب ۹/۰۶٪، ۰/۱۴۲ و ۳/۲۶٪ از این مقدار را تانن، گالیک اسید و ترکیبات غیر تاننی تشکیل می‌دادند [۹]. با توجه به اینکه تاکنون هیچ بررسی در مورد ویژگی‌های آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی میوه‌های واریته‌های بلوط موجود در کشورمان به عمل نیامده است، هدف از انجام این تحقیق بررسی قدرت آنتی اکسیدانی میوه‌ی دو واریته‌ی بلوط ایرانی می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه عصاره

در این تحقیق از میوه‌ی بلوط دو واریته‌ی بلوط استفاده شد. واریته‌ی *Q.branti var persica* از جنگل‌های بلوط استان چهارمحال و بختیاری و واریته‌ی *Q castaneifolia var. castaneifolia* از جنگل قرق واقع در شرق شهرستان

1. *Fagaceae*
2. *Quercus*

www.SID.ir

گرگان جمع آوری گردیدند. پس از خشک کردن میوه ها در دمای محیط و جدا کردن پوست‌های چوبی و داخلی، توسط آسیاب چکشی (ایران خودساز) به صورت آرد (تا مش ۶۰) در آمدند. جهت تهیه عصاره فنولی از حلال متانول ۷۰٪ (حجمی: حجمی)استفاده شد. ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال به ۱۰ گرم پودرافزوده و مخلوط حاصله به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط با همزن مغناطیسی هم زده شد [۱۰]. پس از این مرحله، بخش جامد به وسیله کاغذ صافی معمولی جدا گردید. حلال به وسیله تبخیر کننده چرخان (مدل Laborata4000، ساخت کمپانی هایدولف) در دمای $۴۰C^{o}$ تغلیظ و در نهایت عصاره‌ها توسط خشک‌کن انجمادی (Operun- FDB550 ساخت کره جنوبی) در دمای $-۵۰C^{o}$ به پودر تبدیل شدند و تا زمان استفاده در ظروف غیر قابل نفوذ به هوا در فریزر $-۱۸C^{o}$ قرار گرفتند. تمامی مواد مورد استفاده در این پژوهش با درجه خلوص بالا و از شرکت های مرک و سیگما تهیه شدند.

۲-۲- اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره ها

مقدار کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالته با روش اسلینکارد و سینگلتون [۷] اندازه‌گیری شد. جهت رسم منحنی استاندارد، از اسید تانیک استفاده شد. مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره بر حسب معادل تانیک اسید و با استفاده از معادله به دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج بر حسب میلی‌گرم تانیک اسید در هر گرم عصاره پودر شده بیان شد.

۲-۳- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها در روغن آفتاب‌گردان

عصاره‌های متانولی (۸۰٪) در سه سطح غلظت ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT هر کدام در دو سطح مجاز ۱۰۰ و۲۰۰ پی‌پی‌ام به روغن آفتاب گردان بدون آنتی اکسیدان (تهیه شده از کارخانه پرتو دانه خزر، شهرستان بهشهر) اضافه شدند. عمل اختلاط عصاره‌ها با روغن توسط همزن مغناطیسی و به مدت ۳۰ دقیقه برای هر عصاره صورت گرفت. مقداری از روغن آفتاب‌گردان (بدون هیچ‌گونه افزودنی) نیز، به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. ظروف مورد استفاده در این بررسی، شفاف و با دهانه باز بودند که تا حجم ۸۰ میلی لیتر با روغن پر و به گرمخانه‌ی $۷۰^{o}C$ منتقل شدند. دوره‌ی آزمایش ۱۲ روز بود و طی این مدت، میزان پیشرفت اکسیداسیون روغن در روزهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ با اندازه‌گیری عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید تعیین گردید.

۲-۳-۱- اندازه‌گیری عدد پراکسید

۵ گرم روغن در یک ارلن توزین و پس از افزودن ۳۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک- کلروفرم، خوب هم زده شد تا روغن در آن حل گردد. در مرحله‌ی بعدی ۰/۵ میلی‌لیتر یدید پتاسیم اشباع به آن اضافه و به مدت ۱ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به محلول بالا اضافه و تا از بین رفتن رنگ زرد با تیوسولفات سدیم تیتر گردید. سپس با افزودن ۱ میلی‌لیتر چسب نشاسته، تیتراسیون تا از بین رفتن رنگ آبی محلول ادامه یافت. همراه با تیتراسیون نمونه‌ها، تیتراسیون نمونه شاهد نیز انجام شد و عدد پراکسید بر حسب میلی‌اکی‌والان پراکسید در کیلوگرم روغن، با رابطه زیر محاسبه گردید [۱۱].

معادله‌ی (۲-۱)

$$\text{عدد پر اکسید (میلی‌اکی والان چربی در هر گرم)} = \frac{(V_2 - V_1) \times N \times 1000}{m}$$

که در این رابطه V2 ، V1 به ترتیب عدد تیتراسیون نمونه و شاهد، N نرمالیته تیوسولفات سدیم و m وزن نمونه بر حسب گرم می باشند. برای تعیین در صد مهار اکسیداسیون توسط هر تیمار نیز از فرمول زیر استفاده شد:

معادله (۲-۲)

(عدد پر اکسید شاهد/۱۰۰ × عدد پراکسید تیمار)-۱۰۰= مهار اکسیداسیون (٪)

Archive of SID

www.SID.ir

۲-۳-۲- عدد تیوباربیتوریک اسید

یک گرم چربی در ۱۰ میلی‌لیتر تتراکلرید کربن حل شد. پس از افزودن ۱۰ میلی لیتر مخلوط اسید استیک – تیوباربیتوریک اسید به آن، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفوژ شدند. سپس فاز بالائی جدا شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. پس از سرد کردن، میزان جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری شد (PG instruments Ltd T80+، ساخت انگلیس) [۱۲]. عدد تیوباربیتوریک بر حسب میلی‌گرم مالون آلدهید در کیلو گرم روغن طبق رابطه زیر محاسبه گردید:

معادله (۲-۳) $$\text{عدد تیوباربیتوریک اسید} = \frac{e}{d.a}$$

(میلی‌گرم مالون آلدهید در کیلو گرم روغن)

که در این رابطه e میزان جذب، d ضخامت سل نوری بر حسب سانتیمتر و a وزن روغن بر حسب گرم می باشند.

۲-۴- آنالیز آماری

تمامی آزمایشات در ۳ تکرار انجام شد. جهت مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنولی از طرح کاملاً تصادفی و در آزمون گرم خانه گذاری از طرح اندازه‌گیری های تکرار شده در زمان در سطح احتمال ۵٪ استفاده گردید. رسم گراف‌ها نیز توسط نرم افزار Excell صورت گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مقدار ترکیبات فنولی کل

جدول ۱ مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره‌ها را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، مقدار این ترکیبات در عصاره‌ی متانولی واریته‌ی کاستانیفولیا بیشتر از واریته‌ی دیگر بود و دو واریته‌ی مورد بررسی از این نظر اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) با یکدیگر داشتند. در بررسی انجام شده توسط راکیک و همکاران [۱۳] مقدار ترکیبات فنولی کل و تانن عصاره متانولی میوه بلوط گونه کوئرکوس روبور به ترتیب ۰/۲۲۳ و ۰/۲۰۴ و برای گونه کوئرکوس سوبور ۰/۲۲۹ و ۰/۲۱۸ میلی‌گرم معادل اسید گالیک در میلی‌گرم عصاره گزارش شد. استخراج ترکیبات فنولی سبوس دو واریته‌ی گندم به نام‌های آکرون (Akron) و ترگو (Trego) با متانول (۷۰٪) نیز نشان داد، عصاره‌ی این دو واریته به ترتیب حاوی ۱ و ۱/۱ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم سبوس بود [۱۴].

جدول ۱ مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره‌های متانولی میوه دو واریته بلوط

واریته	مقدار کل ترکیبات فنولی (میلی گرم تانیک اسید/ گرم عصاره)
برانتی	۲۱۷/۶۵ ± ۲/۶۵[a]
کاستانیفولیا	۱۸۳/۹۶ ± ۰/۷۷[b]

نتایج عبارت است از میانگین ۳ تکرار ± S.D

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

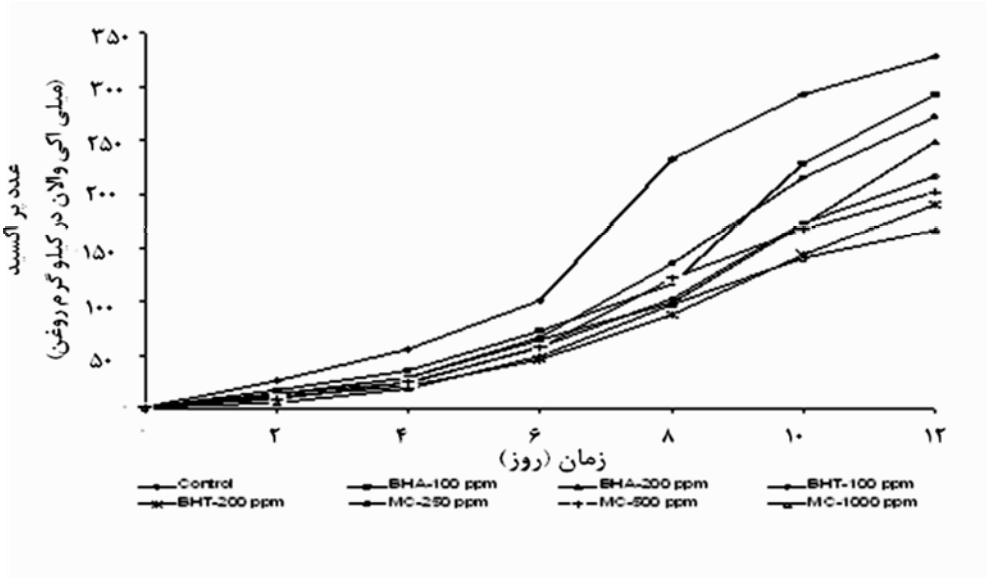
عوامل متعددی مقدار ترکیبات فنولی موجود در بافت های گیاهی را تحت تاثیر قرار می‌دهند که از آن جمله می‌توان به فاکتورهای ژنتیکی، گونه و واریته، میزان تابش نور خورشید، شرایط خاک، درجه رسیدگی در زمان برداشت، شرایط محیطی و آب و هوائی، عملیات پس از برداشت و شرایط نگهداری اشاره کرد [۱۵] مقدار ترکیبات فنولی میوه‌ی دو واریته از عصاره‌ی متانولی دانه‌های جو (۱/۳۲ میلی‌گرم در گرم آرد) نیز بیشتر بود [۱۶].

۳-۲- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها در آزمون گرم‌خانه

روغن آفتاب‌گردان به دلیل دارا بودن مقادیر زیادی از اسیدهای چرب غیر اشباع نظیر لینولئیک اسید (۵۲٪) و اولئیک اسید (۱۲٪) مستعد اکسیداسیون است و مانند سایر روغن‌ها زمانی که تحت تاثیر دماهای بالا، نور، اکسیژن و یون‌های فلزی قرار می‌گیرد با سرعت بیشتری اکسید می‌شود. نتایج آنالیز آماری نشان داد، اثر تیمار، زمان و اثرات متقابل تیمار در زمان بر میزان عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های روغن در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بوده است.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱ روند تغییرات میزان عدد پراکسید نمونه های روغن حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌ی متانولی میوه‌ی بلوط (کوئرکوس کاستانیفولیا)، آنتی اکسیدان‌های سنتزی و نمونه‌ی شاهد طی نگهداری در دمای ۷۰°C

در این بررسی عدد پراکسید تمامی نمونه‌ها با افزایش مدت زمان نگهداری در دمای ۷۰°C به تدریج افزایش یافت. افزایش عدد پر اکسید به دلیل تشکیل محصولات اولیه‌ی اکسیداسیون یعنی هیدرو پراکسیدها می‌باشد. در روزهای ابتدائی آزمایش سرعت تشکیل این محصولات پائین بود اما از روز چهارم به بعد با سرعت بیشتری ادامه یافت (شکل های ۱ و ۲). میزان عدد پر اکسید نمونه‌ی شاهد از ۱/۲۵ پس از ۲، ۴، ۶ و ۸ روز نگهداری به ترتیب به ۲۶/۲۳، ۵۵/۲۵، ۱۰۰/۶۱ و۲۳۲/۷۴ میلی‌اکی والان در کیلوگرم روغن رسید. با افزایش زمان به ۱۰ و ۱۲ روز عدد پراکسید نمونه‌ی شاهد به ترتیب به ۲۹۲/۹۸ و ۳۲۸/۸۸ میلی اکی والان افزایش یافت. بنابراین ملاحظه می‌شود که در روزهای پایانی آزمایش میزان تشکیل محصولات اولیه‌ی اکسیداسیون کاهش یافته است. احتمالاً بخشی از هیدرو پراکسیدهای تشکیل شده در مرحله‌ی انتشار شروع به تجزیه شدن نموده و به محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون نظیر آلدهیدها و کتون‌ها تبدیل می‌شوند. توانائی آنتی اکسیدان‌های سنتزی و عصاره‌ها در مهار اکسیداسیون وابسته به غلظت بود. اگر چه در روزهای ابتدائی اختلاف بین غلظت‌های مختلف هر عصاره چندان محسوس نبود اما با گذشت زمان نمونه‌های روغن حاوی مقادیر بیشتری از عصاره یا آنتی اکسیدان سنتزی ثبات اکسیداتیو بیشتری نشان دادند.

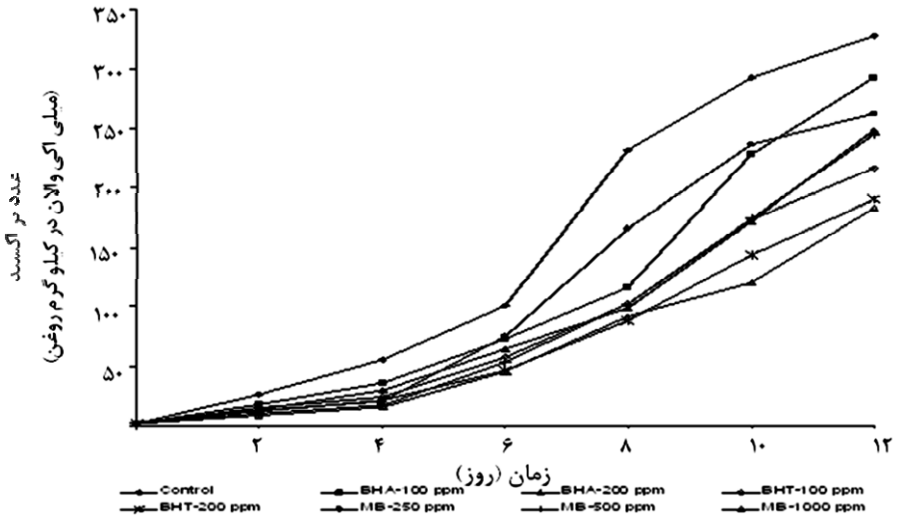
جدول ۲ در صد مهار اکسیداسیون توسط عصاره‌های متانولی دو واریته‌ی و آنتی اکسیدان سنتزی

تیمار	روز					
	۲	۴	۶	۸	۱۰	۱۲
MC- 250	۴۱/۵۴	۴۶/۵۳	۳۳/۶۹	۴۱/۸۷	۲۶/۴۶	۱۷/۳۵
MC- 500	۵۸/۹۱	۵۴/۶۹	۴۳/۲۰	۴۷/۹۴	۴۲/۹۸	۳۸/۴۳
MC- 1000	۷۴/۹۵	۶۵/۲۸	۵۱/۴۹	۶۲/۷۸	۵۸/۸۲	۴۶/۳۷
MB- 250	۴۶/۱۶	۶۲/۶۷	۲۵/۶۵	۲۸/۵۷	۱۹/۰۷	۱۹/۹۷
MB- 500	۵۹/۳۷	۶۹/۱۷	۴۶/۹۹	۵۶/۲۳	۴۰/۴۳	۲۵/۲۲
MB- 1000	۶۴/۳۳	۷۱/۵۸	۵۴/۸۱	۶۰/۵۳	۵۲/۰۲	۴۴/۲۹
BHA- 100	۲۷/۸۳	۳۵/۳۴	۲۷/۸۶	۵۰/۱۵	۲۱/۹	۱۰/۹۰
BHA- 200	۴۵/۱۶	۴۶/۷۱	۳۶/۰۵	۵۷/۶۰	۴۱/۳۳	۲۴/۲۸
BHT- 100	۳۸/۳۷	۵۶/۳۹	۴۲/۶۷	۵۶/۱۳	۴۰/۷۷	۳۳/۹۷
BHT- 200	۵۰/۷۵	۶۱/۷۹	۵۴/۰۹	۶۲/۱۸	۵۱/۱	۴۲/۰۵

MC و MB به ترتیب عصاره‌های متانولی واریته‌های کاستانیفولیا و برانتی می‌باشند.

Archive of SID
www.SID.ir

کمترین درصد مهار اکسیداسیون در روز پایانی آزمایش مربوط به BHA-۱۰۰ بود (۱۰/۹٪) و پس از آن غلظت‌های ۲۵۰ پی-پی‌ام واریته‌های برانتی (۱۹/۹۷٪) و کاستانیفولیا (۱۷/۳۵٪) در رده‌های بعدی قرار گرفتند (جدول ۲). در روز پایانی آزمایش غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌ی متانولی واریته‌ی Q.c از نظر مهار تشکیل محصولات اولیه اکسیداسیون به ترتیب بهتر از BHA-۱۰۰ ppm، BHT-۱۰۰ppm و BHT-۲۰۰ppm عمل نمودند و غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌ی Q.b نیز عملکرد بهتری نسبت به BHA-۱۰۰ppm، BHA-۲۰۰ ppm و BHT-۲۰۰ ppm داشتند (جدول ۲). در مورد آنتی اکسیدان‌های سنتزی نیز در تمامی روزهای آزمایش، عدد پراکسید BHT در دو غلظت مورد بررسی کمتر از BHA در غلظت های مشابه بود. افزایش چشمگیر عدد تیوباربیتوریک اسید در روزهای پایانی آزمایش، کاهش مشاهده شده در سرعت تشکیل هیدرو پراکسیدها را تصدیق می‌نماید. مقدار مالون آلدهید موجود در نمونه‌های روغن از روز آغاز گرم‌خانه گذاری شروع به افزایش کرد اما این افزایش به ویژه در نمونه‌های حاوی آنتی اکسیدان تا روز هشتم آزمایش با سرعت بسیار کمی انجام شد. میزان عدد تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌ی شاهد در روز هشتم آزمایش از ۰/۲۲۲ به ترتیب به ۰/۳۶۷ و ۰/۵۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در روز دهم و دوازدهم افزایش یافت.

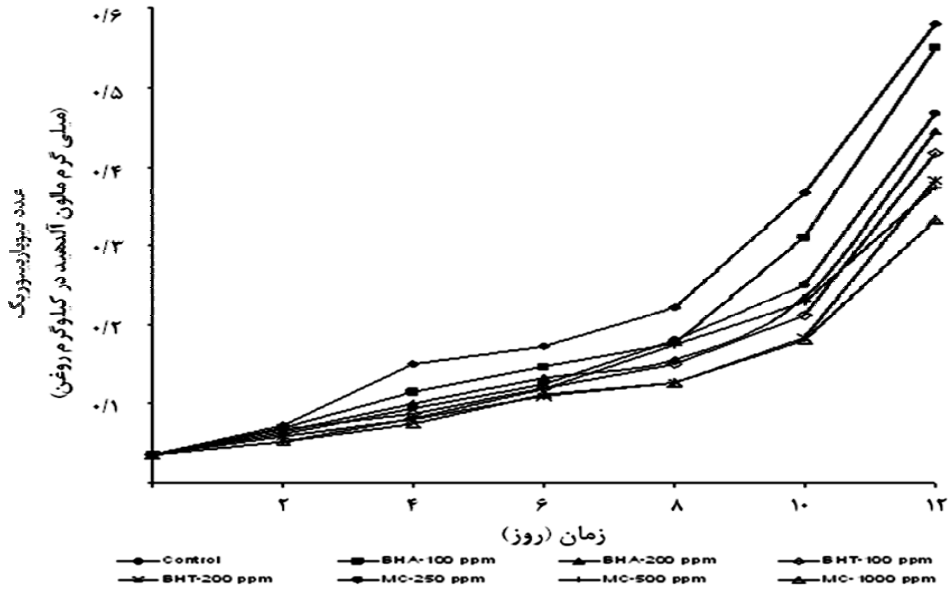


شکل۲ روند تغییرات میزان عدد پراکسید نمونه های روغن حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌ی متانولی میوه‌ی بلوط (کوئرکوس برانتی)، آنتی اکسیدان‌های سنتزی و نمونه‌ی شاهد طی نگهداری در دمای ۷۰°C

در نمونه‌های حاوی آنتی اکسیدان سرعت تشکیل محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون کمتر از نمونه‌ی شاهد بود و این به دلیل اثر آنتی اکسیدان‌ها در جلوگیری از تجزیه‌ی هیدرو پراکسیدها می‌باشد. هیدرو پراکسیدها در دماهای بالا شروع به تجزیه شدن نموده، رادیکال‌های آزاد بیشتری تولید می‌کنند و به واکنش‌های زنجیری ادامه می‌دهند. در برخی موارد نیز محصولات غیر رادیکالی پایدار نظیر آلدهید، کتون، الکل و اسید از تجزیه‌ی این ترکیبات حاصل می‌گردد. آنتی اکسیدان‌ها در این مرحله از یک طرف با اهدای الکترون به رادیکال‌های آزاد باعث شکسته شدن واکنش‌های زنجیری اکسیداسیون می-شوند و از طرف دیگر از طریق واکنش با رادیکال‌های آلکوکسیل از تجزیه‌ی پر اکسیدها به محصولات پایدار و مضر جلوگیری می‌نمایند [۱۷]. مقدار عدد تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌های روغن حاوی ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌ی

www.SID.ir

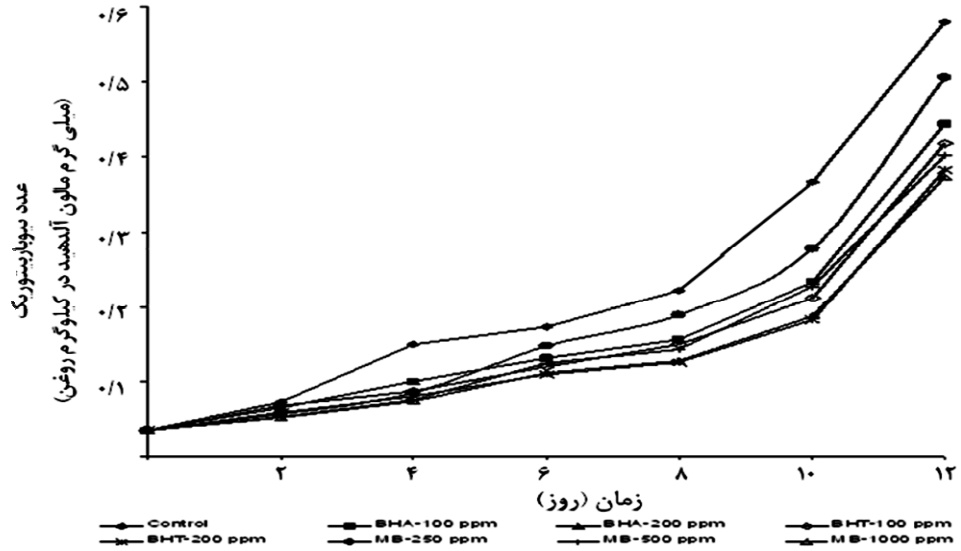
متانولی واریته‌ی Q.c به ترتیب ۰/۴۶۸، ۰/۳۷۵ و ۰/۳۳۲ میلی گرم مالون آلدهید در کیلو گرم روغن و برای غلظت‌های مشابه واریته‌ی Q.b این میزان به ۰/۵۰۶، ۰/۴۰۲ و ۰/۳۷۴ میلی گرم مالون آلدهید در کیلوگرم روغن رسید. توانائی آنتی اکسیدان-های سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام در جلوگیری از تشکیل محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون ضعیف‌تر از هر دو عصاره در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام بود (شکل های ۳ و ۴). هم چنین عدد تیوباربیتوریک غلظت‌های ۵۰۰ پی‌پی‌ام هر دو عصاره کمتر از BHA-۲۰۰ بود (۰/۴۴۵ میلی گرم مالون آلدهید در کیلوگرم روغن). عصاره‌های متانولی دو واریته در غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام ضعیف‌تر عمل نمودند و میزان مالون آلدهید واریته‌های Q.b و Q.c به ترتیب ۰/۵۰۶ و ۰/۴۶۸ بود که هر دو اختلاف معنی‌داری با BHA-۱۰۰ (۰/۵۵ میلی گرم مالون آلدهید در کیلوگرم روغن) داشتند.



شکل۳ روند تغییرات عدد تیوباربیتوریک اسید نمونه های روغن حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌ی متانولی میوه‌ی بلوط (کوئرکوس کاستانیفولیا)، آنتی اکسیدان‌های سنتزی و نمونه‌ی شاهد

آنتی اکسیدان‌ها در دوره زمانی مشخصی کارائی و تاثیر خوبی در جلوگیری و تاخیر در اکسیداسیون روغن برخوردارند و با گذشت زمان به تدریج از میزان کارائی و تاثیر آنها کاسته می‌شود تا زمانی که کلاً بی اثر شوند [۱۸] . بنابراین آنتی اکسیدان‌هائی که در دوره‌های زمانی طولانی‌تر و شرایط نامناسب می‌توانند فعالیت آنتی اکسیدانی خود را به نحو مطلوبی حفظ کنند، جهت محافظت از روغن‌ها، چربی‌ها و مواد غذائی حاوی این ترکیبات ترجیح داده می‌شوند [۱۹] . همانطور که در شکل‌های ۱ تا ۴ مشاهده می‌شود، اگر چه درصد مهار اکسیداسیون برای تمامی عصاره‌ها به تدریج کاهش یافت اما تمامی عصاره‌ها قدرت آنتی اکسیدانی خود را تا آخرین روز آزمایش حفظ کردند، بنابراین می‌توان گفت که ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در عصاره ها، از مقاومت مطلوبی در طی دوره نگهداری به ویژه در دمای $70^{\circ}C$ که محدوده دمائی پخت اکثر مواد غذائی است، برخوردار بوده اند. لذا می توان استفاده از آنها را در جلوگیری از اکسیداسیون روغن و مواد غذائی توصیه نمود. عصاره‌ی متانولی واریته‌ی کاستانیفولیا در تمامی غلظت‌ها بهتر از دیگر واریته عمل نمود هر چند در روز پایانی آزمایش در غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام اختلاف معنی‌داری بین دو عصاره مشاهده نگردید.

www.SID.ir



شکل ۴ روند تغییرات عدد تیوباربیتوریک اسید نمونه های روغن حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌ی متانولی میوه‌ی بلوط (کوئرکوس برانتی)، آنتی اکسیدان‌های سنتزی و نمونه‌ی شاه

راکیک و همکاران [۱۳] تاثیر عصاره‌ی آبی میوه بلوط گونه کوئرکوس روبور را در به تاخیر انداختن اکسیداسیون چربی خوک طی ۱۰ روز در دمای ۶۰°c مورد بررسی قرار دادند. غلظت‌های مختلف (۰/۰۲ و ۰/۰۴) این عصاره توانستند تشکیل مالون آلدهید را نسبت به نمونه‌ی شاهد به تاخیر بیندازند اما هیچ کدام از آنها با آنتی اکسیدان سنتزی BHA در غلظت ۰/۰۲٪ قابل رقابت نبودند. در زمینه‌ی کاربرد عصاره-های میوه‌ی بلوط در روغن‌های گیاهی هیچ گزارشی در منابع علمی یافت نشد اما محققین زیادی تاثیر افزودن عصاره‌های آبی و الکلی گیاهان مختلف را در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن‌های گیاهی مورد بررسی قرار دادند. در پژوهش دیگری تاثیر عصاره‌ی اتانولی پوست انار را پایداری روغن آفتاب‌گردان مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور نمونه‌های روغن محتوی ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌ی متانولی در ظروف تیره به مدت ۲۴ روز در دمای ۶۵°c قرار گرفتند. عدد پراکسید تمامی نمونه‌های حاوی عصاره از روز ۴ تا ۲۴ به تدریج بالا رفت اما در نمونه‌ی شاهد این میزان از روز ۲۰ تا ۲۴ کاهش یافت که به تجزیه‌ی هیدرو پراکسیدها در زمان‌های طولانی حرارت دهی نسبت داده شد. عصاره‌ی انار در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام اثر محافظت کنندگی بیشتری نسبت به BHT اعمال کرد اما سایر غلظت‌های عصاره با BHT قابل رقابت نبودند [۲۰].

۴- نتیجه‌گیری و پیشنهادات

نتایج نشان داد فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی متانولی میوه‌ی بلوط هر دو واریته قابل مقایسه با آنتی اکسیدان‌های سنتزی می‌باشد. عصاره‌های متانولی دو واریته حتی در غلظت‌های پائین نیز توانستند به طور قابل ملاحظه‌ای اکسیداسیون را نسبت به نمونه‌ی شاهد به تعویق بیاندازند. تفاوت بین دو واریته از نظر میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی را می‌توان به تفاوت‌های ژنتیکی و تاثیر شرایط آب و هوائی منطقه‌ی جمع‌آوری نمونه‌ها نسبت داد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که میوه‌ی بلوط به عنوان منبع ارزشمندی از ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌تواند مدت زمان ماندگاری روغن‌ها، چربی‌ها و مواد غذائی حاوی این ترکیبات را افزایش دهد. بهینه سازی شرایط استخراج ترکیبات فنولی از میوه‌ی بلوط، گامی مهم در

www.SID.ir

جلوگیری از اتلاف این محصول جنگلی ارزشمند به شمار می-آید.

۵- تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری ارزشمند جناب آقای مهندس کشمیری و کارخانه پرتودانه خزر صمیمانه تشکر و قدر دانی می‌شود.

۶- منابع

[1]Deshpande, S.S. 2002. Handbook of food toxicology. Toxicants and antinutrient in plant foods. Marcel Dekkel, New York. 920 p.

[2]Fatemi, H. 2004. Food Chemistry. Fats. Enteshar company. 4th . 480 p.

[3]Prior, R.L. and Cao, G. 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. Horticulture Science. 35: 588-592.

[4]Shahidi, F. and Wanasundara, P.K.J.P.D. 1992. Phenolic antioxidant. Critical Reviews in Food Science and Nutritions. 32: 67-103.

[5]Halliwell, B., Aeschbach, R., Loliger, J. and Arouma, O.I. 1995. The characterization of antioxidants. Food Chemistry and Toxicology. 33: 601-617.

[6]Pokorny, J. 2007. Are natural antioxidants better and safer than synthetic antioxidant? European Journal of Lipid Science and Technology. 109: 629-642.

[7]Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., and Jimenez, L. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability. American Journal of clinical nutrition. 79: 727-747.

[8]Saffarzadeh, A., Vincze, L., Csap, J. 1999. Determiniation of the chemical composition of acorn (*Quercus branti*), *Pistacia atlantica* and *Pistacia Khinjuk* seed as non-conventional feedstuff. Journal of Acta Agraria Kaposváriensis. 3: 59-69.

[9]Cantos, E., Espn, J.C., Lpez-Bote, C., Hoz, H., Ordez, J.A. and Toms-Barbern, F.A. 2003. Phenolic Compounds and Fatty Acids from Acorns (*Quercus spp*.), the Main Dietary Constituent of Free-Ranged Iberian Pigs. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51: 6248-6255.

[10]Rakic, S., Povenovic, D., Tesvic, V., Simic, M., and Maletic, R. 2006. Oak acorn, polyphenols and antioxidant activity in function food. IJFE. 74: 416-423.

[11]Kowalski, R. 2009. *Silphium L*. extracts composition and protective effect on fatty acids content in sunflower oil subjected to heating and storage. Food Chemistry. 112: 820-830.

[12]AOAC. 1990: Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Washington, DC., USA.

[13]Sidewell, G.G., Salwin, H., Benca, M. and Mitchel, J.A. 1954. The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. Journal of the American Oil Chemists' Society. 31: 603-606.

[14]Rakic, S., Petrovic, S., Kukic, J., Jadranin, M., Tesevic, V., Povrenovic, D. and Siler-Marinkovic, S. 2007. Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. Food Chemistry. 104: 830-834.

[15]Zhou, K. and Yu, L. 2004. Effects of extraction solvent on the wheat bran antioxidant activity estimation. LWT. 37: 717-721.

[16]Faller, A.L.K. and Fialho, E. 2009. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. Food Research International. 42: 210-215.

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

[18]Iqbal, S. and Bhanger, M.I. 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract

Archive of SID

www.SID.ir

during accelerated storage. Food Chemistry. 100: 246-254.

[19]Frankel, E.N. 1996. Antioxidant in food and their impact on food quality. Food Chemistry. 57: 51-55.

[20]Laandrault, N., Pouchert, P., Ravel, P., Gase, F., Cros, G. and Teissedro, P.L. 2001. Antioxidant activities and phenolic level of French wines from different varieties and vintages. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49, 3341-3343.

[21]Iqbal, S., Haleem, S., Akhtar, M., Zia-ul-Haq, M. and Akbar, J. 2008. Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions. Food Research International. 41: 194-200.

Archive of SID

www.SID.ir

Study on antioxidant activities of methanolic extracts from fruit of two variety of acorn *Q.castaneifolia var castaneifolia* and *Q.branti var persic*a in sunflower oil

Ghaderi Ghahfarokhi, M.[1], Alami, M.[1] *, Sadeghi Mahoonak, A. R.[1], Azizi, M. H.[2], Ghorbani, M.[1]

1- Faculty of Food Science && Technology, University of Agricultural sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran.

2- Department of Food Science & Technology, College of Agricultural, Tarbiat Modares , University, Tehran, Iran.

(Received:89/2/17 Accepted:89/8/19)

Antioxidant properties of plant extracts are apparently related to the content of their phenolic compounds. In this study, phenolic compounds from two acorns varieties namely *Q.branti var persica (Q.b)* and *Q.castaneifolia var castaneifolia (Q.c)* were extracted with methanol (80%). After evaporation with rotary evaporator, extracts were dried with freeze drier. The concentrations of phenolic compounds in the extracts were determined according to the Folin-Ciocalteu method, and results were expressed as tannic acid equivalents per gram of dried extract (TAE/g d.e). Castaneifolia variety had the highest phenolic content with 217.65 (TAE/g d.e). Antioxidant activity of methanolic extracts were studied in sunflower oil and compared with synthetic antioxidants, by measuring their peroxide and thiobarbituric acid values during accelerated storage. Methanolic extracts of acorns at three different concentrations (250,500 and 1000 ppm) and synthetic antioxidant at two concentrations were added to sunflower oil. Both extracts retarded the oxidation of sunflower oil at 70°c more efficiently than BHA and BHT. The peroxide and thiobarbitoric acid values of control samles were raised to 328.88 (meq peroxide/ kg oil) and 0.58 (mg malon aldehyde/kg oil) after tewelve days storage while this values were 176.36 and 0.332 for oil sample contain 1000 ppm methanilic extract of Q.c and 183.2 and for Q.b were 0.374, respectively.

Key Words: Acorn fruit, Sunflower oil, Methanolic Extract, Antioxidant activity

Archive of SID

* Corresponding author E-mail address: mehranalami@yahoo.com

www.SID.ir