

بررسی برهم‌کنش ضداکسایشی ترکیب عصاره‌های چای سبز و بلوط

الهام رنجبر ندامانی^۱، علیرضا صادقی ماهونک^{۲*}، محمد قربانی^۳، مهدی کاشانی‌نژاد^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد شیمی مواد غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۴- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۲/۴/۸)

چکیده

هدف از مطالعه حاضر مقایسه ویژگی‌های ضداکسایشی و بررسی امکان وجود اثرات هم‌افزایی یا هم‌ستیزی بین عصاره‌های چای سبز و بلوط بود. عصاره چای سبز در دو آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH و ظرفیت ضداکسایشی کل در تمامی غلظت‌ها و در آزمون قدرت احیاءکنندگی در دو غلظت به شکل معنی‌داری ($P < 0.05$) عملکرد بهتری از BHT نشان داد و در تمامی آزمون‌ها برتر از بلوط بود. اما عصاره بلوط تنها در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH بهتر از BHT عمل نمود. از بین حالات مختلف ترکیب این دو عصاره، در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH در سه حالت، ظرفیت ضداکسایشی کل در ۴ حالت و در تمامی حالات آزمون قدرت احیاءکنندگی اثر هم‌افزایی مشاهده شد. در آزمون روغن، عصاره ترکیبی منتخب اثر هم‌ستیزی نشان داد، گرچه این عصاره ترکیبی با وجود بروز اثر هم‌ستیزی عملکرد بهتری نسبت به BHT نشان دادند. نهایتاً این عصاره‌های طبیعی را می‌توان به عنوان جایگزین مناسب برای BHT معرفی نمود.

کلید واژگان: چای سبز، بلوط، هم‌افزایی، هم‌ستیزی

*مسئول مکاتبات: Sadeghiaz@yahoo.com

۱- مقدمه

هدف از این مطالعه، مقایسه فعالیت ضداکسایشی چای سبز، بلوط و ضداکساینده سنتزی BHT و شناسایی نوع برهم‌کنش ضداکسایشی بین این دو عصاره طبیعی و توانایی آنها در جلوگیری از اکسایش روغن سویا است.

۲- مواد و روش‌ها

چای سبز از مزارع رامسر و بلوط از دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه شد. نمونه‌ها پس از خشک شدن در دمای محیط (برای حفظ حداکثر ترکیبات فنلی)، پودر شده و از الک با مش ۶۰ عبور داده شدند. استخراج نمونه‌های چای سبز توسط اتانول، در دمای محیط، به روش غرقابی و به مدت ۲۴ ساعت [۱]، و بلوط توسط متانول، در دمای محیط، به روش غرقابی و به مدت ۴ ساعت [۹] انجام شد. عصاره‌های حاصل پس از صاف شدن، توسط دستگاه تبخیرکننده چرخان تحت خلاء (مدل IKA RV05 Basic) در دمای ۴۰°C تغلیظ شده و با دستگاه خشک‌کن انجمادی (مدل Operun, FDB550) خشک شدند. نمونه‌های خشک‌شده تا زمان مصرف در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. روغن سویا بدون ضداکساینده از کارخانه عالیا گلستان کردکوی تهیه شد.

۲-۱- آماده سازی عصاره‌ها

نمونه‌های مورد آزمون به شرح زیر تهیه شدند. عصاره‌های انفرادی: چای سبز، بلوط و ضداکساینده سنتزی BHT در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر.

عصاره‌های ترکیبی چای سبز و بلوط: ترکیب عصاره‌ها در حالات مختلف برای دستیابی به غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر. نسبت‌های ترکیبی برای ترکیب دو عصاره به صورت ۱:۱، ۲:۱، ۱:۲، ۱:۳، ۲:۳، ۳:۱، ۱:۴ و ۴:۱ بودند.

۲-۲- آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH

توانایی مهار رادیکال آزاد توسط عصاره‌ها بر اساس روش عربشاهی و همکاران [۱۰] انجام شده و درصد مهار رادیکال از معادله زیر محاسبه شد:

$$\text{مهار رادیکال آزاد (\%)} = \frac{\text{جذب نمونه شاهد} - \text{جذب نمونه شاهد}}{\text{جذب نمونه شاهد}} \times 100$$

روغن‌ها و چربی‌های خوراکی و محصولات پرچرب طی فرآوری و نگهداری دستخوش فرآیندهای اکسایشی می‌شوند. اکسایش مواد غذایی منجر به تغییرات نامطلوب طعمی، کاهش ارزش غذایی، ایجاد ترکیبات ضدتغذیه‌ای و ... می‌شود. استفاده از ضداکساینده‌ها منجر به تأخیر در تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه افزایش پایداری اکسیداتیو محصول می‌شود [۱]. استفاده از ضداکساینده‌های سنتزی به دلیل اثرات سرطانزایی محدود شده و تمایل به یافتن ضداکساینده‌های طبیعی عاری از اثرات زیانبار رو به افزایش است [۲].

هم‌افزایی، برهم‌کنش چند جزء در یک سیستم برای ایجاد اثر بیشتر نسبت به حالت انفرادی این اجزاء است. تحقیقات متعددی پیرامون خواص هم‌افزایی ضداکساینده‌های طبیعی انجام شده است [۳، ۴، ۵، ۶، ۷]، اما اکثر آنها بر ترکیبات خالص (مانند آسکوربیک اسید) استوار بوده و برهم‌کنش ضداکسایشی عصاره‌های گیاهی کمتر مورد بررسی قرار گرفته‌است. ایمن و طبیعی بودن ضداکساینده‌های طبیعی بر اساس این حقیقت است که این ترکیبات در مقادیر اندک در مواد گیاهی وجود دارند و اگر قرار است به مواد غذایی اضافه شوند باید جنبه‌های ایمنی آنها مد نظر قرار گیرد. با دستیابی به اثرات سینرژیستی در فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های گیاهی می‌توان از مقادیر کمتری از هر عصاره استفاده نموده و از اثرات زیانبار استفاده از مقادیر زیاد یک عصاره به تنهایی جلوگیری نمود [۳].

گیاه چای (*Camellia sinensis*) از خانواده تیاسه‌آ (Theaceae) بوده و پلی‌فنل‌های موجود در آن به دلیل وجود گروه هیدروکسیل دارای خاصیت به دام‌اندازی رادیکال آزاد هستند. پلی‌فنل‌های عمده موجود در چای عبارتند از کاتچین‌ها، تئافلاوین‌ها و تئاروبیگن‌ها [۱].

بلوط (*Quercus branti*) از خانواده فاگاسه (Fagaceae) و حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فعال بیولوژیکی مانند تانن، گالیک اسید، الاجیک اسید و مشتقات گالویل یا هگزاهیدروکسی دی فنوئیل است که تمامی آنها دارای خواص ضداکسایشی می‌باشند [۸].

۲-۳- ظرفیت ضداکسایشی کل

ظرفیت ضداکسایشی کل روشی برای ارزیابی ظرفیت ضداکسایشی ترکیبات محلول در آب و محلول در چربی است. عصاره‌هایی با فعالیت دهنده‌گی الکترون می‌توانند زنجیره رادیکالی را پایان داده و رادیکال‌های آزاد فعال را به محصولات پایدارتر تبدیل کنند [۱۱]. ۰/۱ میلی‌لیتر محلول نمونه با ۱ میلی‌لیتر محلول معرف (سولفوریک اسید ۰/۶ مولار، سدیم فسفات ۲۸ میلی‌مولار و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی‌مولار) ترکیب شده و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت. جذب نمونه‌ها پس از سرد شدن در ۶۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد [۱۲].

۲-۴- قدرت احیاءکنندگی

این آزمون برای بررسی قدرت احیاء اتم آهن سه ظرفیتی توسط عصاره‌ها انجام شد. ۱ میلی‌لیتر از محلول نمونه با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (۰/۲ مولار، pH ۶/۶) و ۲/۵ میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید ($10 \text{ g l}^{-1} \text{ K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) ترکیب شد و به مدت ۳۰ دقیقه در ۵۰ درجه سانتیگراد حرارت دید. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (100 g l^{-1}) اضافه شده و به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ شد. نهایتاً ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول فوقانی با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر کلرید آهن (1 g l^{-1}) ترکیب شده و جذب نمونه‌ها در ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۱۳].

۲-۵- اثر هم‌افزایی بین عصاره‌ها

برای مقایسه قدرت ضداکسایشی عصاره‌های ترکیبی با عصاره‌های انفرادی، فاکتور SE که از تقسیم مقادیر تجربی حاصل از آزمون‌ها (آزمون عصاره‌های ترکیبی) بر مقادیر محاسبه شده برای ویژگی‌های ضداکسایشی عصاره‌ها به‌دست‌می‌آید مورد بررسی قرار گرفت.

مقادیر SE بیشتر از ۱ نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی، مقادیر برابر با ۱ نشان‌دهنده اثر افزایشی و مقادیر کمتر از ۱ نشان‌دهنده اثر هم‌ستیزی است [۱۴].

$$\text{Syn\%} = \frac{(\text{IP}_m - \text{IP}_c) - (\text{IP}_1 - \text{IP}_c) - (\text{IP}_2 - \text{IP}_c)}{(\text{IP}_m - \text{IP}_c)}$$

۲-۶- آنالیز ترکیبات روغن توسط GC

برای تعیین پروفایل اسیدچربی روغن سویا از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC Agilent Technology 6890N) با ستون به طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر و از نوع Agilent Technology DB-23 استفاده شد. برنامه دمایی نیز به این ترتیب بود: دمای ابتدایی ۱۸۰ درجه سانتیگراد، توقف در این دما ۲۰ دقیقه، افزایش دما تا ۲۲۰ درجه سانتیگراد با شیب دمایی ۴ درجه سانتیگراد در دقیقه، افزایش دما تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد با شیب دمایی ۳ درجه سانتیگراد در دقیقه و توقف در این دما ۸ دقیقه. از گاز نیتروژن با خلوص ۹۹/۹۹۹٪ به عنوان فاز متحرک استفاده شد [۱۵].

۲-۷- فعالیت ضداکسایشی در روغن سویا

بر اساس نتایج مراحل قبل، تأثیر افزودن یک نمونه ترکیبی که در تمامی آزمون‌های گذشته اثر هم‌افزایی نشان داده بود (غلظت ترکیبی ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) به همراه نمونه‌های انفرادی مربوط به این نمونه ترکیبی منتخب (چای سبز ۲۵ و بلوط ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) به همراه ضداکساینده سنتزی BHT در جلوگیری از اکسایش روغن سویا مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها به مدت ۲۰ روز در دمای ۶۰ درجه قرار گرفتند (اکسایش تسریع شده). عدد پراکسید هر ۵ روز یکبار اندازه‌گیری شد [۱۶].

۲-۸- اندازه‌گیری عدد پراکسید در روغن سویا

این آزمون برای اندازه‌گیری محصولات اولیه اکسایش روغن بر اساس روش (2003) AOCS انجام شد [۱۷]. دوره القاء به عنوان تعداد روزهای مورد نیاز برای رسیدن عدد پراکسید به ۲۰ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم (با توجه به اصل عمومی فساد روغن در این نقطه) محاسبه شد [۱۸].

مقدار تجربی = SE

مقدار محاسبه شده

۲-۹- اثر هم‌افزایی در سیستم روغن

درصد هم‌افزایی به صورت زیر محاسبه شد [۱۹]:
 IP_m و IP_c به ترتیب دوره القاء روغن حاوی ترکیب ضداکساینده‌ها و دوره القاء نمونه کنترل فاقد ضداکساینده و IP_1 و IP_2 دوره القاء روغن حاوی یک نوع ضداکساینده است. مقادیر

بالتر ارتباط معنی‌داری ($P < 0/05$) بین غلظت و توانایی مهار رادیکال آزاد مشاهده نشد. نتایج به دست آمده در مورد چای سبز مشابه نتایج گرامزا [۲۱] بود. تا غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، فعالیت ضدرادیکالی عصاره متانولی بلوط بیشتر از BHT بود اما در سایر غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری در این زمینه مشاهده نشد. مهار رادیکال آزاد توسط نمونه‌های ضداکساینده به دلیل فعالیت هیدروژن دهنده‌گی آنان است [۲۲].

محاسبات اثر هم‌افزایی بین این دو عصاره، در سه حالت ترکیبی، $SE > 1$ را نشان داد (غلظت‌های ترکیبی ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) که به معنی وجود اثر هم‌افزایی است (شکل ۲) و در دو حالت هم‌افزایی، نسبت عصاره‌ها در ترکیب برابر بود. مطالعه برهم‌کنش‌ها نشان‌دهنده ارتباط بین غلظت ترکیبات انفرادی در SE بودند اما ارتباط خطی بین افزایش غلظت یک عصاره در ترکیب و ایجاد اثر هم‌افزایی مشاهده نشد [۹ و ۱۴]. مکانیسم پیشنهاد شده برای اثرات هم‌افزایی مشاهده شده عبارت است از انتقال الکترون از ترکیب دارای فعالیت ضداکسایشی ضعیف‌تر به ترکیب دارای فعالیت ضداکسایشی قوی‌تر و در نتیجه احیاء مجدد ترکیب قوی‌تر که هیدروژن خود را به رادیکال آزاد محیطی داده و در نتیجه ادامه روند مهار رادیکال آزاد توسط این ضداکساینده قوی‌تر. افزایش یا کاهش غلظت یک یا چند ترکیب ممکن است بر چنین برهم‌کنش‌هایی مؤثر بوده و فعالیت ضداکسایشی را کاهش دهد [۲۳].

مثبت نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی و مقادیر منفی نشان‌دهنده اثر هم‌ستیزی است.

۲-۱۰- فاکتور پایداری

ارزیابی فاکتور پایداری نمونه‌های ضداکساینده انفرادی و ترکیب آنها از رابطه ۴ محاسبه شد [۲۰]:

$$\text{دوره الفاء در حضور آنتی‌اکسیدان} = \text{فاکتور پایداری}$$

$$\text{دوره الفاء بدون حضور آنتی‌اکسیدان}$$

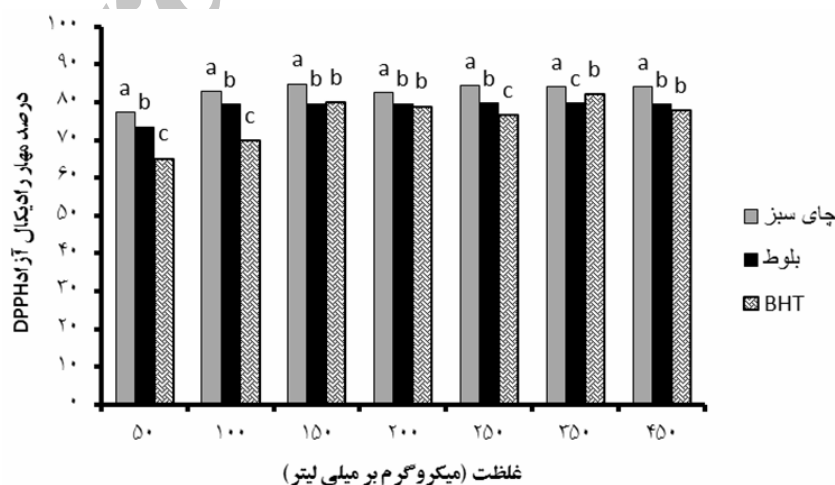
۲-۱۱- آنالیز آماری

آزمون‌ها در سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی و به روش آزمون فاکتوریل، آنالیز واریانس ANOVA و مقایسه میانگین دانکن انجام شد.

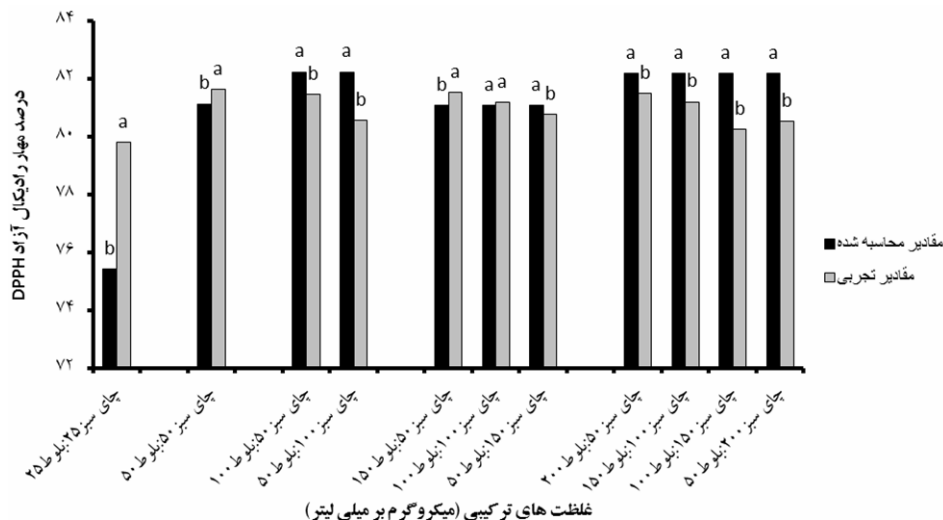
۳- نتایج و بحث

۳-۱- مهار رادیکال آزاد DPPH

شکل ۱ نشان‌دهنده توانایی غلظت‌های مختلف عصاره‌ها در مهار رادیکال آزاد DPPH است. توانایی عصاره‌های طبیعی مورد آزمون به شکل معنی‌داری ($P < 0/05$) بیشتر از BHT بود. همچنین در این آزمون عصاره چای سبز به شکل معنی‌داری ($P < 0/05$) عملکرد بهتری از عصاره بلوط نشان داد. تا غلظت ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، توانایی عصاره چای سبز در مهار رادیکال آزاد وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت عصاره توانایی مهار رادیکال آزاد در آن افزایش یافت؛ اما در غلظت‌های



شکل ۱ مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت‌های مختلف عصاره‌های چای سبز، بلوط و BHT (حروف غیرمشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است)



غلظت های ترکیبی (میکروگرم بر میلی لیتر)

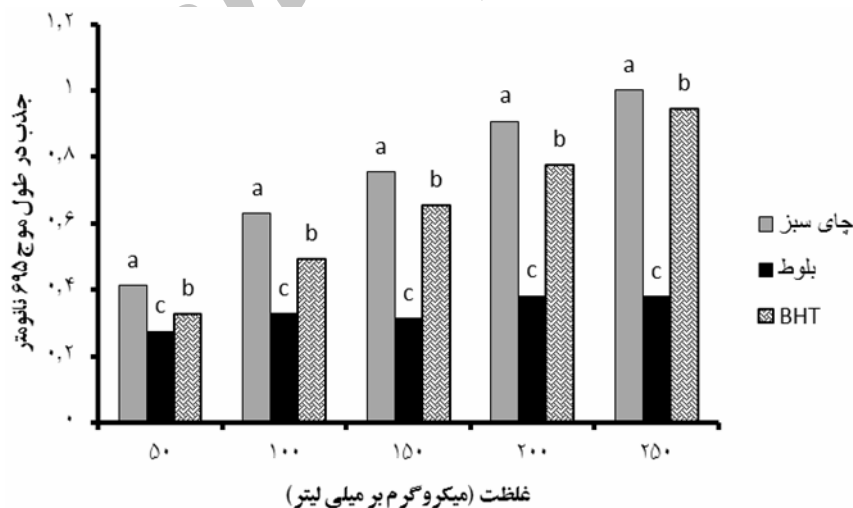
شکل ۲ مقایسه میانگین مقادیر محاسبه شده و مقادیر تجربی برای درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در نمونه های ترکیبی (حروف غیرمشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است)

بر میلی لیتر) که در دو حالت ترکیب دو عصاره به نسبت مساوی و در دو حالت دیگر نسبت چای سبز به بلوط ۴:۱ و ۳:۲ بود به این معنی که در این مورد افزایش غلظت چای سبز منجر به تغییر وضعیت برهم کنش شد. مواد غذایی مختلف دارای ترکیبات زیست فعال مختلف با ظرفیت های ضد اکسایشی متفاوت هستند. زمانیکه این مواد غذایی با هم مصرف شوند، ظرفیت ضد اکسایشی کل ممکن است تحت تأثیر هم افزایی یا هم ستیزی قرار گرفته و ویژگی های فیزیولوژیکی جدیدی ایجاد کند [۲۴].

۳-۲- ظرفیت ضد اکسایشی کل

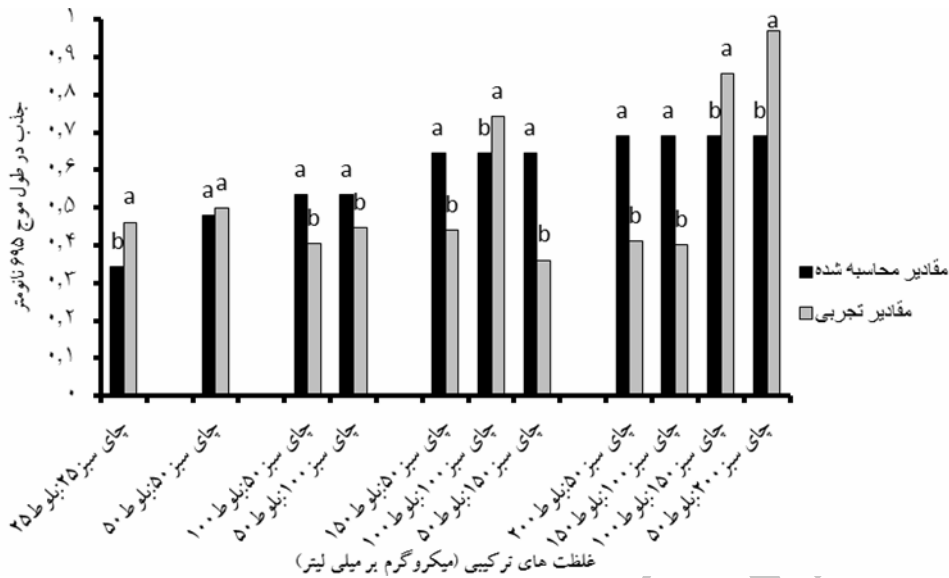
ظرفیت ضد اکسایشی کل عصاره چای سبز به شکل معنی داری بیشتر از BHT بود ($P < 0.05$); همچنین در مورد این عصاره ارتباط مستقیمی بین غلظت و ظرفیت ضد اکسایشی عصاره وجود داشت. اما عصاره بلوط در تمامی غلظت ها ظرفیت ضد اکسایشی کمتری از BHT و چای سبز داشت و افزایش غلظت نیز تأثیری در میزان ظرفیت ضد اکسایشی این عصاره نداشت.

از بین حالات مختلف ترکیب دو عصاره، در ۴ حالت اثر هم افزایی معنی دار مشاهده شد (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم



غلظت (میکروگرم بر میلی لیتر)

شکل ۳ مقایسه میانگین ظرفیت ضد اکسایشی کل غلظت های مختلف عصاره های چای سبز، بلوط و BHT (حروف غیرمشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است)

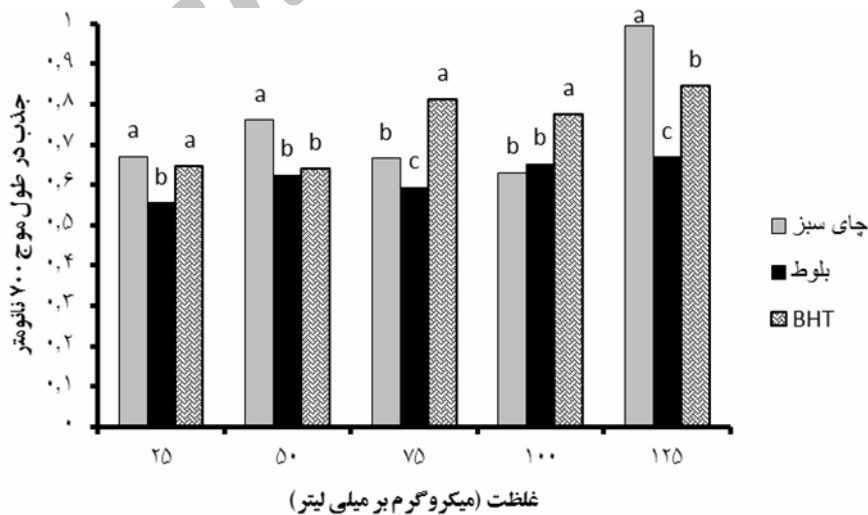


شکل ۴ مقایسه میانگین مقادیر محاسبه شده و مقادیر تجربی برای ظرفیت ضد اکسایشی کل در نمونه های ترکیبی (حروف غیر مشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است)

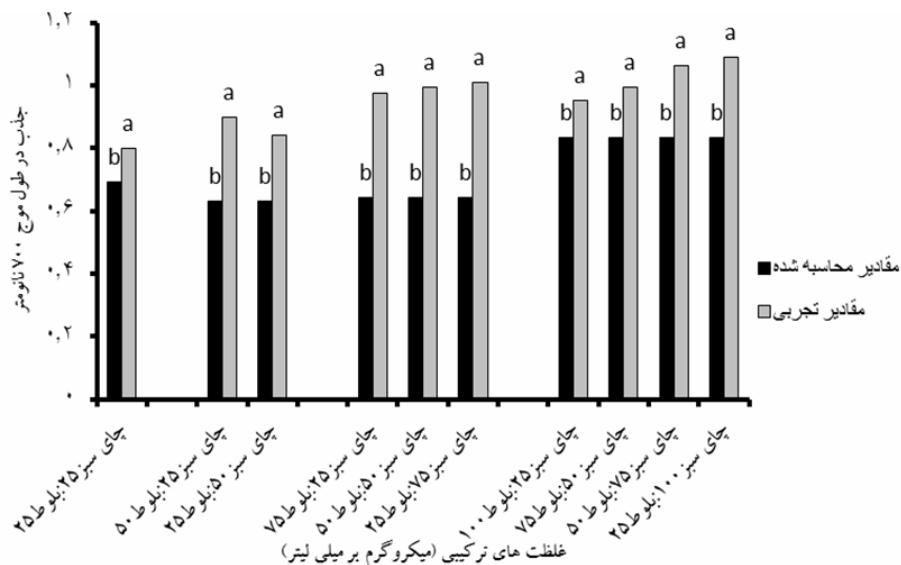
۳-۳- قدرت احیاءکنندگی

(شکل ۶). هیدالگو و همکاران [۶] به بررسی برهم کنش های ترکیبات فلاونوئیدی پرداختند و تفاوت نتایج را با طبیعت شیمیایی و واکنش پذیری ترکیبات و طبیعت حلال ها مرتبط دانسته و محل قرار گرفتن گروه هیدروکسی و باندهای دوگانه، طبیعت رادیکال و مکانیسم واکنش ویژه آن، حضور گلیکوزیدها، تعداد و موقعیت گروه های هیدروکسیل و متوکسیل و واکنش های تغییر دهنده ساختار را در تعیین نوع برهم کنش ها مؤثر دانستند.

همانگونه که در شکل ۵ مشاهده می شود، عصاره چای سبز در دو غلظت ۵۰ و ۱۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر به شکل معنی داری ($P < 0.05$) قدرت احیاءکنندگی بیشتری از BHT داشته و بلوط در هیچ کدام از غلظت ها توان رقابت با قدرت احیاءکنندگی BHT را نداشت، اما پس از ترکیب عصاره ها اثر هم افزایی معنی دار ($P < 0.05$) در تمامی حالات ترکیبی مشاهده شد.



شکل ۵ مقایسه میانگین قدرت احیاءکنندگی غلظت های مختلف عصاره های چای سبز، بلوط و BHT (حروف غیر مشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است)



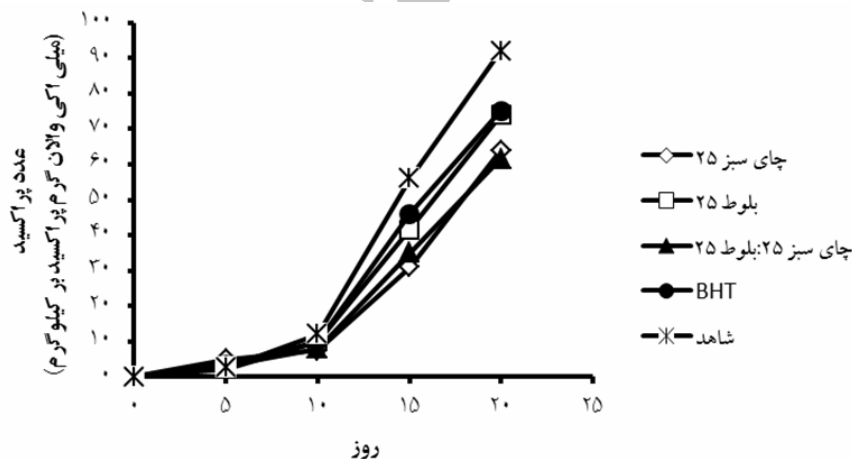
شکل ۶ مقایسه میانگین مقادیر محاسبه شده و مقادیر تجربی برای قدرت احياء‌کنندگی در نمونه‌های ترکیبی (حروف غیرمشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است)

پالمیتیک اسید، ۲/۱٪ استئاریک اسید، ۲۲/۳۵٪ اولئیک اسید، ۵۳/۱۱٪ لینولئیک اسید، ۶/۷۳٪ لینولنیک اسید و ۴/۸۵٪ سایر اسیدهای چرب است.

۳-۴- آنالیز ترکیبات روغن توسط GC

این آزمون برای آگاهی از پروفایل اسیدچربی روغن مورد آزمون و اطمینان از ترکیبی نبودن روغن (مخلوط نبودن روغن سویا با سایر روغن‌ها) انجام شد. نتایج حاصل از کروماتوگرافی گازی نشان داد که پروفایل اسیدچربی روغن سویا شامل ۱۰/۸۶٪

۳-۵- اندازه‌گیری عدد پراکسید در روغن سویا



شکل ۷ تغییرات عدد پراکسید تیمارهای منتخب در روغن سویا طی زمان نگهداری

حاوی BHT و یک نمونه شاهد فاقد ضداکسایند مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که عصاره‌های مورد آزمون (انفرادی و ترکیبی) به شکل معنی‌داری ($P < 0/05$) عملکرد بهتری نسبت به BHT در جلوگیری از اکسایش روغن سویا داشتند. اما

برای ارزیابی کارایی عصاره‌ها در جلوگیری از اکسایش روغن سویا در یک دوره ۲۰ روزه، بر اساس نتایج حاصل از آزمون‌های مراحل پیشین، حداقل غلظت ترکیبی دارای اثر هم‌افزایی معنی‌دار به همراه نمونه‌های انفرادی مربوط به این تیمار در مقایسه با نمونه

انفرادی و ترکیبی در جلوگیری از اکسایش روغن به عنوان یک آزمون مجزا و در کنار سایر آزمون‌ها بررسی شود.

۳-۶- فاکتور پایداری

فاکتور پایداری محاسبه شده برای تیمارهای منتخب در جدول ۱ آمده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، بیشترین پایداری مربوط به عصاره ترکیبی منتخب با فاکتور پایداری ۱۹/۱ بوده است.

جدول ۱ دوره القاء، فاکتور پایداری و نوع برهم کنش عصاره‌ها

نوع برهم کنش	فاکتور پایداری	دوره القاء	
	۱/۱۶ ^b	۱۲/۶ ^b	چای سبز ۲۵
	۱/۰۶ ^c	۱۱/۶ ^c	بلوط ۲۵
هم‌ستیزی	۱/۱۹ ^a	۱۳ ^a	چای سبز ۲۵: بلوط ۲۵
	۱/۰۶ ^c	۱۱/۵ ^d	BHT
	-	۱۰/۹ ^e	شاهد

حروف غیرمشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

۴- نتیجه‌گیری

در این مطالعه، عصاره چای سبز در دو آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH و ظرفیت ضد اکسایشی کل در تمامی غلظت‌های مورد آزمون عملکرد بهتری را نسبت به بلوط و BHT نشان داد اما عصاره بلوط تنها در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH اثرات بهتری نشان داد. عصاره‌های ترکیبی در آزمون‌های مختلف رفتار متفاوتی را نشان دادند. به طوریکه از بین حالات مختلف ترکیب، در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH در سه حالت، ظرفیت ضد اکسایشی کل در ۴ حالت و در تمامی حالات آزمون قدرت احیاءکنندگی اثر هم‌افزایی مشاهده شد. اندازه‌گیری دوره القاء در آزمون پراکسید نشان دهنده اثر هم‌ستیزی بین عصاره منتخب بود، گرچه این عصاره ترکیبی با وجود بروز اثر هم‌ستیزی عملکرد بهتری نسبت به BHT نشان دادند. علت این رفتار متفاوت با توجه به طبیعت و واکنش‌پذیری ترکیبات موجود در عصاره‌ها (مشابه مطالعات کوئیپروس و همکاران [۷] و ویرا و همکاران [۲۴]) و پلیمریزاسیون بین ترکیبات مجزا [۲۶]، همچنین ساختار شیمیایی و شکل فضایی مولکول‌ها در محیط واکنش [۷] توجیه می‌شود. نتایج این مطالعه نشان‌دهنده توانایی رقابت مناسب عصاره‌های مورد آزمون به عنوان جایگزین BHT برای جلوگیری از تولید پراکسید در روغن سویا بود.

۵- منابع

- [1] Gramza, A. 2006. Antioxidant activity of tea extracts in lipids and correlation with polyphenol content. *Europe Journal of Lipid Science and Technology* 108: 351-362.
- [2] Sheng, Z.W., Ma, W.H., Gao, J.H., Bi, Y., Zhang, W.M., Duo, H.T. and Jin, Z.Q. 2011. Antioxidant properties of banana flower of two cultivars in China using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH,) reducing power, 2, 2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate (ABTS) and inhibition of lipid peroxidation assays. *African Journal of Biotechnology* 10(21): 4470-4477.
- [3] Jain, D. P., Pancholi, H. S., and Patel R. 2011. Synergistic antioxidant activity of green tea with some herbs 2(3): 177-183.
- [4] Yin, J.I.E., Becker, E., Andersen, M., and Skibsted, L. 2012. Green tea extract as food antioxidant. Synergism and antagonism with α -tocopherol in vegetable oils and their colloidal systems. *Food Chemistry* 135: 2195-2202.
- [5] Kotikova, Z., Lachman, J., Hejmankova, A., and Hejtemkova, K. 2011. Determination of antioxidant activity and antioxidant content in tomatovarieties and evaluation of mutual interactions between antioxidants. *LWT - Food Science and Technology* 44: 1703-1710.
- [6] Hidalgo, M., Sanchez-Moreno, C., and Pascal-Teresa, S. 2010. Flavonoid-flavonoid

- [17] American Oil Chemists' Society. 2003. AOCS. Official method C-d 8-53. Peroxide value. In Official Methods and Recommended Practices of the American Oil.
- [18] Economou, K.D., Oreopoulou, V., and Thomopoulos, C. D. 1991. Antioxidant activity of some plant extracts of the family Labiatae. Journal of American Oil Chemists' Society 68: 109-113.
- [19] Bishov, S.J., Masuoka, Y., and Kapsalis, J.G. 1977. Antioxidant effect of spices, herbs and protein hydrolyzates in freeze-dried model systems: synergistic action with synthetic phenolic antioxidants. Journal of Food Processing and Preservation 1: 153-166.
- [20] Yanishlieva, N. V., and Marinova, E. M., (1996). Antioxidative effectiveness of some natural antioxidants in sun flower oil. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung 203: 220-223.
- [21] Gramza-Michałowska, A. 2007. Antioxidant potential and radical scavenging activity of different fermentation degree tea leaves extracts. International Journal of Tea Science 6(4):15-28.
- [22] Bidchol, A. M., Wilfred, A., Abhijna, P and Harris R. 2011. Free Radical Scavenging Activity of Aqueous and Ethanolic Extract of Brassica oleracea L. var. italica. Food Bioprocess Technology 4: 1137-1143.
- [23] Young, A. J., & Lowe, G. M. 2001. Antioxidants and prooxidants properties of carotenoids. Archives of Biochemistry and Biophysics 385: 20-27.
- [24] Wang, S., Meckling, K. A., Marcone, M. F., Kakuda, Y. and Tsao R. 2011. Synergistic, additive, and antagonistic effects of food mixtures on total antioxidant capacities. Journal of Agriculture and food Chemistry. 59(3): 960-968. (Abstract)
- [25] Viera, V., Marques, A., Barros, L., Barriera, J., and Ferreira, I. 2012. Insights in the antioxidant synergistic effects of combined edible mushrooms: phenolic and polysaccharidic extracts of *Boletus edulis* and *Marasmius oreades*. Journal of Food and Nutrition Research 51(2): 109-116.
- [26] Pinelo, M., Manzocco, L., Nunez, M.J., and Nicoli, M.C. 2004. Interaction among phenols in food fortification: Negative synergism on antioxidant capacity. Journal of Agriculture and Food Chemistry 52: 1177-1180.
- interaction and its effect on their antioxidant activity. Food Chemistry 121: 691-696.
- [7] Queirós, B., Barreira, J. C. M., Cristina, S., and Ferreira, I. C. F. R. 2009. In search of synergistic effects in antioxidant capacity of combined edible mushrooms. International Journal of Food Science and Nutrition 10: 1-13.
- [8] 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.
- [9] Liu, Q. and Yao, H. 2007. Antioxidant activities of barley seeds extracts. Food Chemistry 102: 32-737.
- [10] Arabshahi, S. and Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry 102: 1233-1240.
- [11] Pan, M., Jiang, T. and Pan J. 2011. Antioxidant Activities of Rapeseed Protein Hydrolysates. Food Bioprocess Technology 4: 1144- 1152.
- [12] Prieto, P., Pineda, M., and Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry 269: 337-341.
- [13] Yildirim, A., Mavi, A., and Kara, A. A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex crispus extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 4083-4089.
- [14] Fuhrman B., Volkova N., Rosenblat M. and Aviram M. 2000. Lycopene synergistically inhibits LDL oxidation in combination with vitamin E, glabridin, Rosmarinic acid, carnosic acid, or garlic. Antioxidant and Redox Signaling 2: 3.
- [15] Official Methods and Recommended Practices of American Oil Chemists' Society 1989. AOCS, 4th edn., Champaign.
- [16] Azizkhani, M., and Zandi, P. 2009. Effects of Some Natural Antioxidants Mixtures on Margarine Stability. World Academy of Science, Engineering and Technology 49: 93-96.

Antioxidant interactions in green tea and oak extracts combination

Ranjbar Nedamani, E. ¹, Sadeghi Mahoonak, A. R. ^{2*}, Ghorbani, M. ³,
Kashaninejad, M. ⁴

1. M.Sc. student, Dept. of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran.
2. Associate Professor, Dept. of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran.
3. Associate Professor, Dept. of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran.
4. Associate Professor, Dept. of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran.

(Received: 91/10/23 Accepted: 92/4/8)

The aim of present study was to compare antioxidant properties and investigate the possibility of synergism or antagonism interaction between green tea and oak extracts. Green tea extract in all concentrations had a significant ($p < 0.05$) higher effect than BHT in DPPH free radical scavenging assay and total antioxidant capacity, and in two concentration in reducing power, and in all of the assays was better than oak extract; While only in DPPH free radical scavenging assay the oak extract was better than BHT. Among different combinations of these two extracts, synergism was found in three combination according to DPPH free radical scavenging assay, four combination in total antioxidant capacity assay and all combination in reducing power assay. In the peroxide value assay, the chosen combination showed antagonism, although it was significantly ($p < 0.05$) more effective than BHT in soy bean oil stability. The result shows that it is possible to use these natural antioxidant as substitute of synthetic antioxidant BHT.

Key words: Green tea, Oak, Synergism, Antagonism

* Corresponding Author E-Mail Address: Sadeghiaz@yahoo.com