Archive of SID

نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۶ شماره ۳/ سال ۱۳۹۵

مقایسه اثر افزودن مستقیم عصاره و استفاده از فیلم فعال آنتی اکسیدانی حاوی عصاره برگ‌های گزنه در پایداری اکسیداتیو روغن سویا

هادی الماسی[*1]

[1] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

[*] مسئول مکاتبه: Email: h.almasi@urmia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹٤/۷/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹٤/۹/۳۰

چکیده

استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی به‌جای آنتی اکسیدان‌های سنتزی، یکی از رویکردهای نوین در فراوری و نگهداری مواد غذایی محسوب می‌شود. هدف از این پژوهش، مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی برگ‌های گزنه (*Urtica dioica L.*) در پایدارسازی روغن سویا به دو شکل افزودن مستقیم عصاره به روغن و استفاده از فیلم فعال نشاسته حاوی این عصاره می‌باشد. ابتدا میزان ترکیبات فنولی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گزنه ارزیابی شد و در ادامه تأثیر عصاره و فیلم فعال نشاسته در افزایش پایداری اکسیداتیو روغن سویا با اندازه‌گیری مقادیر عدد پراکسید، ظرفیت احیاکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و شاخص پایداری اکسیداتیو (OSI) طی ٦۰ روز نگهداری در دمای ۲۵ °C تعیین شد و با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ مقایسه گردید. قدرت مهارکنندگی DPPH و OSI در نمونه روغن حاوی عصاره گزنه در غلظت ۸۰۰ppm در روز شصتم نگهداری، اختلاف معناداری با مقادیر این پارامترها در نمونه حاوی ۱۰۰ppm TBHQ نداشت. نتایج این آزمون‌ها در نمونه‌های روغن در تماس با فیلم‌های فعال، نشان داد که با گذشت زمان و افزایش میزان آنتی اکسیدان مهاجرت کرده، فعالیت آنتی اکسیدانی و شاخص پایداری اکسیداتیو روغن افزایش می‌یابد. عدد پراکسید روغن سویا در طول زمان افزایش یافت اما افزودن مستقیم عصاره و استفاده از فیلم فعال، هردو قادر به کنترل میزان افزایش در عدد پراکسید روغن بودند و در زمان‌های طولانی مدت نگهداری، تأثیر فیلم فعال بیشتر از افزودن مستقیم عصاره بود. با این وجود، افزودن عصاره گزنه اثرات نامطلوبی روی شاخص‌های رنگی در روغن سویا داشت و با افزایش غلظت عصاره افزوده شده و همچنین افزایش میزان مهاجرت از فیلم فعال، شدت رنگ سبز در روغن بیشتر شد. نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از فیلم فعال حاوی عصاره گزنه قادر است پایداری اکسیداتیو روغن سویا را در طول نگهداری در حد مطلوبی حفظ کند.

واژگان کلیدی: پایداری اکسیداتیو، خواص رنگی، روغن سویا، عصاره گزنه، فیلم فعال آنتی اکسیدانی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

چربی‌ها و روغن‌های خوراکی بخش مهمی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند. روغن‌های گیاهی به علت داشتن میزان بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع نسبت به اکسیداسیون که عامل اصلی فساد آنها طی نگهداری و فرآیند حرارتی است، حساس هستند (چو و مین ۲۰۰۶). روغن سویا یکی از پرمصرف ترین روغن‌های خوراکی در ایران محسوب شده و بدلیل دارا بودن درجه غیراشباعیت بالا حساسیت زیادی به فساد اکسیداتیو دارد. آنتی اکسیدان‌ها عوامل اصلی ممانعت از اکسیداسیون روغن‌ها و چربی‌ها می‌باشند. امروزه به دلیل عوارض آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی از جمله احتمال سرطان‌زایی و ایجاد آسیب‌های کبدی، تمایل به سمت مصرف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی افزایش یافته است (گوستون ۲۰۱۱). بخش‌های مختلف گیاهان نظیر میوه، برگ، دانه و روغن، منبع سرشاری از ترکیبات پلی-فنولیک نظیر انواع فلاوونوئیدها، تانن، کومارین، کورکومانوئید، زانتون، فنولیک، لیگنین، ترپنوئید و آنتوسیانین بوده که جزء آنتی‌اکسیدان‌های مهم محسوب می‌شوند (آلزاندرو و همکاران ۲۰۱۱). تأثیر منابع طبیعی مختلف در پایدارسازی روغن‌های گیاهی طی پژوهش‌های مختلف بررسی شده است (یانیشلیوا و همکاران ۲۰۰۶ و موره و همکاران ۲۰۱۱ و اوزکان و ارسلان ۲۰۱۱ و مارتینز و همکاران ۲۰۱۳ و کاتارجی و باتاچارجی ۲۰۱۳ و اورتگا-رامیرز و همکاران ۲۰۱۴).

گزنه گیاهی چندساله با نام علمی *Urtica dioica L.* و از تیره *Urticaceae* بوده، که با کرک‌های گزنده روی ساقه و برگ مشخص می‌گردد. این گیاه عمدتاً در کشور ایران و ترکیه رشد کرده و برگ‌های آن با اهداف مختلف دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد (یانیشلیوا و همکاران ۲۰۰۶ و کوکریک و همکاران ۲۰۱۲). اثرات آنتی‌اکسیدانی (چهاردهی و همکاران ۲۰۰۹ و گودر و کورکماز ۲۰۱۲) و آنتی‌میکروبی (اردوگرول ۲۰۰۲ و گولچین و همکاران ۲۰۰۴) عصاره گزنه طی پژوهش‌های مختلفی مورد بررسی قرار گرفته است. خاصیت آنتی‌اکسیدانی برگ‌های گزنه عمدتاً ناشی از حضور ترکیبات فنولی نظیر مشتقات کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، ۲-O-کافئیل مالیک، روتین، کوئرستین، ۳-O-گلیکوزید، ایزورامنتین، ۳-O-روتینوزید می‌باشد (پینلی و همکاران ۲۰۰۸). مطالعات مختلفی در مورد کاربرد عصاره گزنه در محصولات گوشتی صورت گرفته است (آلپ و آکسو ۲۰۱۰ و سغیر و تورهان ۲۰۱۳ و اوز ۲۰۱۴). اما تاکنون پژوهشی در رابطه با اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی برگ‌های گزنه در روغن‌های گیاهی گزارش نشده است. در این پژوهش عصاره گزنه به عنوان منبع آنتی‌اکسیدانی طبیعی جهت افزایش پایداری اکسیداتیو روغن سویا در نظر گرفته شده است.

یک روش جایگزین برای کاهش میزان استفاده از آنتی اکسیدان‌ها در فرمولاسیون روغن، تهیه بسته بندی‌های فعال آنتی اکسیدانی[1] می‌باشد. بسته بندی فعال آنتی اکسیدانی نوعی سیستم نگهداری مواد غذایی است که در آن، یک یا مخلوطی از چند آنتی اکسیدان در داخل شبکهٔ پلیمر ماده بسته بندی قرار گرفته و در طول مدت نگهداری مادهٔ غذایی، بصورت کنترل شده به داخل آن آزاد شده و با افزایش پایداری اکسیداتیو محصول غذایی، ماندگاری آن را افزایش می‌دهد. افزودن مستقیم آنتی اکسیدان به داخل روغن موجب می شود در ابتدا که غلظت آنتی اکسیدان بالاست پایداری اکسیداتیو روغن بالا باشد ولی بخش عمده‌ای از آنتی اکسیدان در زمان‌های اولیه نگهداری غیر فعال گشته و پایداری کاهش یابد و از طرفی، محدودیت در مقدار آنتی اکسیدان افزوده شده به روغن وجود دارد چراکه غلظت بالای آنتی اکسیدان های سنتزی سلامتی مصرف کننده را به مخاطره می‌اندازد و آنتی اکسیدان‌های طبیعی نیز در غلظت‌های بالا معمولاً اثر پراکسیدانی از خود نشان

1. Antioxidant active packaging

www.SID.ir

Archive of SID

می‌دهند. درحالیکه افزودن آنتی اکسیدان به ماده پایه بسته بندی موجب می‌شود که بتوان مقادیر بالاتری ماده آنتی اکسیدان را مورد استفاده قرار داد بدون اینکه مشکلات فوق پیش آید و از طرفی به علت مهاجرت تدریجی و پیوسته، همواره مقادیر کافی آنتی اکسیدان در سطح روغن که محل اصلی شروع اکسیداسیون می‌باشد وجود داشته و بنابراین ماندگاری روغن افزایش می‌یابد (الماسی و همکاران ۲۰۱٤). در طی سالهای اخیر، فیلم‌های سنتزی و بیوپلیمری فعال آنتی اکسیدانی مختلفی حاوی انواع آنتی اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی طراحی شده و تأثیر آنها بر روی افزایش پایداری اکسیداتیو محصولات غذایی مختلف به اثبات رسیده است (گمیلی و همکاران ۲۰۱۰ و بیون و همکاران ۲۰۱۰ و دکاستیلو و همکاران ۲۰۱۰ و سوزا و همکاران ۲۰۱۱).

به دلیل تعامل و برهمکنش نزدیک بسته بندی‌های فعال با ماده غذایی، امروزه استفاده از فیلم‌های خوراکی و زیست تخریب پذیر در تولید این نوع مواد بسته بندی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. برای تولید فیلم‌های خوراکی از پروتئین‌ها، پلی ساکاریدها، چربی‌ها و یا ترکیبی از این مواد استفاده می‌شود. نشاسته از جمله پلی ساکاریدهایی است که به فراوانی و با هزینهٔ کم قابل تولید است. نشاسته به‌علت داشتن ماهیت پلیمری، از قابلیت فیلم سازی خوبی برخوردار بوده و فیلم‌هایی با خواص مکانیکی خوب و ویژگی های بازدارندگی قابل قبول نسبت به سایر بیوپلیمرها تولید می‌کند (الماسی و همکاران ۲۰۱۰).

با وجود مطالعاتی که در زمینه استفاده از فیلم نشاسته در تولید بسته بندی‌های فعال آنتی اکسیدانی وجود دارد، تاکنون پژوهشی در زمینه استفاده از عصاره گزنه در تهیه فیلم‌های فعال آنتی اکسیدانی از نشاسته یا هر نوع فیلم پلیمری و بیوپلیمری دیگر صورت نگرفته و تأثیر آن در افزایش پایداری اکسیداتیو مواد غذایی بررسی نشده است. هدف از این پژوهش، در وهله اول ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گزنه و مقایسه تأثیر آن با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و TBHQ بود. در ادامه، اثر افزودن مستقیم عصاره گزنه بر روی پایداری اکسیداتیو روغن سویا با تأثیر استفاده از فیلم فعال نشاسته حاوی این عصاره مورد مقایسه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

مواد

حلال‌ها و مواد شیمیایی شامل BHT، متانول، اتانول، معرف فولین سیوکالتو، سدیم کربنات بی آبه، محلول آلومینیوم کلراید ٦ آبه، سدیم استات، اسید استیک، کلروفرم، پتاسیم یدید، گالیک اسید، کوئرستین، ۱و۱-دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، ۲-تیوباربیتوریک اسید و گلیسرول از شرکت مرک آلمان خریداری شدند و TBHQ (۹۹٪) از شرکت Yasho (هند) و روغن سویای تصفیه شده و بدون آنتی‌اکسیدان از شرکت روغن ماهک (آذران پیه) تبریز تهیه شدند. نشاسته ذرت (۱۲٪ رطوبت) نیز از شرکت گلوکوزان قزوین تهیه شد.

تهیه عصاره گزنه

جهت تهیه عصاره گزنه، اندام‌های هوایی گیاه از روستای قامت واقع در آذربایجان غربی (ارومیه) چیده شد. برگ‌های گیاه پس از شست و شو در سایه خشک شده و سپس آسیاب گردید. استخراج عصاره به روش سوکسله[1] و با استفاده از حلال اتانول انجام یافت. بدین ترتیب که ۱۰۰ گرم از پودر گیاه داخل کارتوش پیچیده شده و داخل محفظه استخراج قرار گرفت. سپس ٤۰۰ میلی لیتر حلال داخل بالون ته‌گرد ریخته شده و به مدت ۲-۳ روز تحت دمای ٤۰-٤٥ $^{\circ}C$ حرارت دید. عصاره حاصل به کمک اواپراتور چرخشی تحت خلأ و دمای ٤۰ $^{\circ}C$ تغلیظ شد و تا زمان مصرف در ظروف

1.Soxhelet extraction

www.SID.ir

Archive of SID

تیره و دمای $4\ ^{\circ}C$ نگهداری شد (گودر و کورکماز، ۲۰۱۲).

بررسی خواص عصاره گزنه

اندازه‌گیری فنول کل

محتوای فنول کل عصاره گزنه به روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد (مهدالی و همکاران ۲۰۱۱) به‌طوریکه µ۲۰l از محلول ۷۰٪ عصاره با ml ۱/۱۶ آب مقطر و µ ۱۰۰l معرف فولین سیوکالتو مخلوط شده و سپس µ ۳۰۰l سدیم کربنات ۲۰٪ اضافه گردید. محلول به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور با دمای $40\ ^{\circ}C$ هم زده شده و جذب آن در طول موج ۷۶۰nm اندازه‌گیری شد. جهت رسم منحنی کالیبراسیون، گالیک اسید مورد استفاده قرار گرفت. محتوای فنول کل بر اساس میلی گرم بر گرم گالیک اسید و با استفاده از معادله خطی ذیل محاسبه گردید:

$A = 0.94C + 8.525 \times 10^{-3}$ $(R^2 = 0.9986)$ [۱]

A: جذب

C: غلظت (mg gallic acid/g dry weight)

اندازه گیری فلاوونوئید کل

جهت اندازه‌گیری فلاوونوئید کل از روش اوردن و همکاران (۲۰۰۶) استفاده شد. ml ۰/۵ محلول اتانولی ۲٪ آلومینیوم کلراید با ml ۰/۵ از عصاره مخلوط شده و جذب نمونه‌ها پس از یک ساعت نگهداری در دمای اتاق در nm ۴۲۰ اندازه‌گیری شد. ظهور رنگ زرد نشانگر حضور فلاوونوئیدهاست. نمونه‌های عصاره در غلظت نهایی mg/ml ۰/۱ ارزیابی شدند. محتوای فلاوونوئید کل بر اساس میلی گرم بر گرم کوئرستین و با استفاده از معادله خطی زیر اندازه‌گیری شد:

$y = 0.0345x$ $(R^2 = 0.9912)$ [۲]

X: جذب

Y: غلظت (mg Quercetin/g dry weight)

اندازه گیری فلاوونول کل

محتوای فلاوونول کل با استفاده از روش کوماران و ژوئل (۲۰۰۷) ارزیابی شد. ۲ml محلول اتانولی ۲٪ آلومینیوم کلراید و ml ۳ محلول سدیم استات (۵۰ g/L) با ml ۲ از محلول عصاره مخلوط شدند. جذب نمونه‌ها پس از نگهداری به مدت ۲/۵ ساعت در دمای $20\ ^{\circ}C$ اندازه‌گیری شد. نمونه‌های عصاره در غلظت نهایی mg/ml ۰/۱ ارزیابی شدند. محتوای فلاوونول کل بر اساس میلی گرم بر گرم کوئرستین و با استفاده از معادله خطی زیر اندازه‌گیری شد:

$y = 0.0345x$ $(R^2 = 0.9912)$ [۳]

X: جذب

Y: غلظت (mg Quercetin/g dry weight)

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گزنه با استفاده از ظرفیت احیاکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH اندازه‌گیری شد. µl ۵۰ از غلظت‌های مختلف عصاره گزنه (۵۰-۲۰۰ ppm) با ml ۵ محلول متانولی DPPH (۰/۰۰۴ درصد) مخلوط شده و جذب نمونه‌ها پس از ۳۰min نگهداری در دمای اتاق در nm ۵۱۷ ارزیابی گردید. همچنین فعالیت آنتی-اکسیدانی محلول‌های اتانولی BHT و TBHQ نیز در غلظت‌های مختلف بررسی شد. درصد کاهش ظرفیت رادیکالی[1] رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از رابطه ۴ محاسبه گردید (الماسی و همکاران، ۲۰۱۴):

[۴]

$$DPPH\ \ scavenging\ activity\ (\%) = \frac{Abs_{control} - Abs_{sample}}{Abs_{control}} 100$$

$Abs_{control}$ میزان جذب نمونه‌ی متانولی DPPH فاقد نمونه روغن و Abs_{sample} میزان جذب نمونه‌ی روغن در طول موج ۵۱۷nm می‌باشد.

1 .DPPH radical scavenging effect

www.SID.ir

Archive of SID

تیمار روغن سویا با عصاره گزنه

عصاره گزنه (NE) با غلظت‌های ۲۰۰، ٤۰۰ و ۸۰۰ ppm به روغن سویای تصفیه شده و بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شد. جهت مقایسه خاصیت آنتی‌اکسیدانی از آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ، با غلظت مجاز ۱۰۰ ppm استفاده شد. روغن سویای عاری از هر گونه آنتی‌اکسیدان به عنوان نمونه شاهد مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه فیلم فعال نشاسته

برای تهیه فیلم نشاسته از روش قالبگیری محلول[1] استفاده شد (الماسی و همکاران ۲۰۱۰). بدین صورت که ٥ گرم نشاسته در آب مقطر پخش شده و در ۹۰°C به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آبی همراه با هم زدن حرارت دهی شد تا نشاسته بصورت کامل ژلاتینه شود. در ادامه، این محلول تا دمای اتاق خنک شده و سپس ۲ml گلیسرول (٤۰٪ وزن نشاسته) به‌عنوان نرم کننده به آن اضافه شد. سپس این محلول جهت خروج حباب‌های هوا به آرامی هم زده شد. در ادامه، حدود ٥۰ml از محلول، داخل سینی نچسب تفلونی ریخته شد تا پس از خشک شدن، فیلمی با ضخامت حدود ۰/۰±٥/۰۱ mm تولید شود. در ادامه، این سینی‌ها در آون در دمای ٦۰°C به‌مدت ۱۸ ساعت خشک شدند و سپس فیلم خشک شده، به آرامی از سطح سینی جدا شد تا در نهایت پس از خشک شدن، فیلم پیوسته و شفاف نشاسته بدست آید. برای تهیه‌ی فیلم‌های فعال حاوی عصاره گزنه، پس از ژلاتینه شدن نشاسته و افزودن گلیسرول، درصدهای مختلف ۲/٥، ٥ و ۷/٥ درصد وزنی ماده خشک از عصاره اتانولی گزنه، به محلول نشاسته اضافه شده و به آرامی هم زده شد. سپس این محلول به‌مدت ٦۰ دقیقه جهت خروج حباب‌های هوا هم زده شد. در ادامه، ۵۰ ml از محلول، روی سینی نچسب تفلونی پخش شده و مانند فیلم‌های خالص نشاسته خشک گردید. دلیل استفاده از غلظت بیشتر عصاره در فیلم فعال در مقایسه با افزودن مستقیم آن به داخل روغن، این بود که مطابق قوانین انتشار، تمامی عصاره افزوده شده به داخل بستر فیلم قادر به مهاجرت به داخل روغن نبوده و بنابراین لازم است از مقادیر بیشتر آنتی اکسیدان در فیلم فعال استفاده گردد.

آماده سازی نمونه‌های روغن سویا جهت تعیین پایداری اکسیداتیو

جهت اندازه‌گیری پایداری اکسیداتیو نمونه‌های روغن طی نگهداری، مقدار ۱۰ میلی لیتر از نمونه‌های روغن درون ویال‌های شیشه‌ای دربسته ریخته شده و به مدت ٦۰ روز در دمای $^{\circ}C$ ۲٥ نگهداری شد و پایداری اکسیداتیو نمونه‌ها در دوره‌های زمانی صفر، ۱٥، ٤٥ و ٦۰ روز ارزیابی شد.

به منظور تعیین کارایی فیلم‌های فعال نشاسته، فیلم‌های تولید شده در تماس با روغن سویای بدون آنتی اکسیدان قرار گرفته و پارامترهای کیفی مربوط به فساد اکسیداتیو آن بررسی شد. مقدار ml ۱۰ روغن سویای تصفیه شده و بدون آنتی اکسیدانِ افزوده شده، درون یک ویال شیشه‌ای به حجم ml ۱۰ منتقل شده و $۱۲\ cm^2$ از فیلم‌های فعال حاوی درصدهای مختلف عصاره گزنه بریده شده و درون روغن غوطه‌ور گردید. درب ویال بصورت درزبندی شده سفت گردید و به مدت ٦۰ روز در دمای $^{\circ}C$ ۲٥ قرار داده شد. در طول دو ماه نگهداری، هر ۱٥ روز یکبار سه عدد از هر کدام از ویال‌ها برداشته شده و پایداری اکسیداتیو روغن درون آن مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور مطالعه‌ی دقیق‌تر تأثیر عصاره گزنه در طول یک ماه و مقایسه‌ی آن با روغن مایع معمولی موجود در بازار، دو نمونه‌ی شاهد نیز در نظر گرفته شد: روغن سویای تصفیه شده‌ی حاوی ۰/۰۱٪ TBHQ (روغن معمولی ماهک ارائه شده به بازار) و روغن سویای تصفیه شده‌ی فاقد آنتی اکسیدان سنتزی.

1 . Solution casting method

www.SID.ir

Archive of SID

تعیین پایداری اکسیداتیو روغن سویا

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

جهت ارزیابی فعالیت احیاکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH، روش الماسی و همکاران (۲۰۱٤) مورد استفاده قرار گرفت. در ابتدا ٤ml از نمونه روغن با ٤ml متانول مخلوط شده و پس از هم‌زدن به مدت ۳min، عمل سانتریفوژ نمونه‌ها به مدت ۱۰min با دور ۸۰۰۰rpm انجام یافت. سپس از محلول رویی برای اندازه‌گیری فعالیت احیاکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH استفاده شد. بدین منظور ۸۰۰µl محلول متانولی حاصل از سانتریفوژ با ۱ml متانول و ۲ml محلول متانولی DPPH (۰/۰٦ mM) مخلوط شده و عمل اختلاط به مدت ۱min انجام یافت. در نهایت، جذب نمونه‌ها پس از ۳۰min نگهداری در تاریکی و دمای اتاق در ۵۱۷ nm اندازه‌گیری شد. فعالیت احیاکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH بر اساس معادله ٤ محاسبه گردید.

عدد پراکسید

عدد پراکسید (میلی‌اکی‌والان اکسیژن/کیلوگرم روغن) در نمونه‌های روغن سویای نگهداری شده بر اساس روش AOAC 965/33 تعیین شد (AOAC, 1990). حدود ۲ گرم نمونه روغن سویا در یک ظرف ۲۵۰ml وزن شده و ۳۰ml مخلوط اسید استیک و کلروفرم (v/v ۳:۲) اضافه شده و محتوای نمونه‌ها جهت انحلال کامل روغن بطور مداوم هم زده شد. ۱ml محلول اشباع پتاسیم یدید به نمونه افزوده شده و عمل اختلاط به مدت ۱min انجام یافت. درنهایت ۳۰ml آب مقطر اضافه شده و با سدیم تیوسولفات ۰/۰۲ N تیتر شد. نشاسته ۱٪ (۰/۵ml) به عنوان معرف مورد استفاده قرار گرفت. عدد پراکسید بر اساس رابطه ۵ محاسبه گردید:

$$PV(meqO_2\ .kg\ oil^{-1}) = (S-B)\times N\times 1000/\ sample\ \ weight$$

[۵]

S: حجم مصرف شده طی تیتراسیون (ml).

B: حجم مصرف شده طی تیتراسیون نمونه شاهد (ml).

N: نرمالیته محلول سدیم تیوسولفات

وزن نمونه: وزن روغن (g).

شاخص پایداری اکسیداتیو (OSI)

شاخص پایداری اکسیداتیو به عنوان نقطه حداکثر تغییر سرعت اکسیداسیون تعریف شده و از نظر ریاضی به عنوان ماکسیمم مشتق دوم ضریب هدایت حرارتی در زمان می‌باشد. این اندیس در واحد زمان بیان شده و از حرارت دادن ۲/۵g نمونه در دمای $^{\circ}C$ ۱۱۰ و جریان هوای L/h ۱۸-۲۰ در دستگاه اندازه‌گیری OSI (Rancimat)، تا زمانی که پیک هدایت ثبت شود، حاصل می‌گردد (AOCS, 1993).

تعیین پارامترهای رنگ روغن سویا

محتوای کلروفیل و کارتنوئید

محتوای کلروفیل و کارتنوئید نمونه‌های روغن بر اساس روش جبری کوری و مرزوک (۲۰۱٤) اندازه‌گیری شد. ۷/۵g نمونه روغن با ۲۵ ml سیکلوهگزان مخلوط شده و جذب نمونه‌ها برای اندازه‌گیری کلروفیل و کارتنوئید به ترتیب در ٦۷۰nm و ٤۷۰ اندازه‌گیری شد. محتوای رنگیزه‌ها از طریق روابط ٦ و ۷ ارزیابی گردید:

[کلروفیل] (mg/kg oil) = Abs (٦۷۰nm) × ۱۰٦/

دانسیته روغن×۱۰۰×٦۱۳ (mg/kg) [٦]

[کارتنوئید] (mg/kg oil) = Abs (٤۷۰nm) × ۱۰٦/

دانسیته روغن× ۱۰۰ × ۲۰۰۰ (mg/kg) [۷]

رنگ سنجی هانترلب (CIE L*, a*, b*)

برای اندازه‌گیری رنگ نمونه‌های روغن از رنگ سنج Minolta CT-310 استفاده شد. نتایج به صورت L*، a^* و b^* نمایش داده شده است که به ترتیب مربوط به روشنایی، اجزای سبز-قرمز و اجزای آبی-زرد می‌باشد. ابزار مورد استفاده قبل از آنالیز توسط صفحه استاندارد سفید کالیبره شده و تمامی اندازه‌گیری‌ها در دمای اتاق و در لوله‌ای به قطر ۲۰mm انجام گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری با استفاده از طرح کاملاً تصادفی از طریق آنالیز واریانس (ANOVA) توسط نرم افزار SPSS (Version 21, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) صورت گرفت. همچنین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P<0.05$) جهت تشخیص اختلاف بین مقادیر میانگین خواص روغن سویا استفاده شد. تمامی آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد.

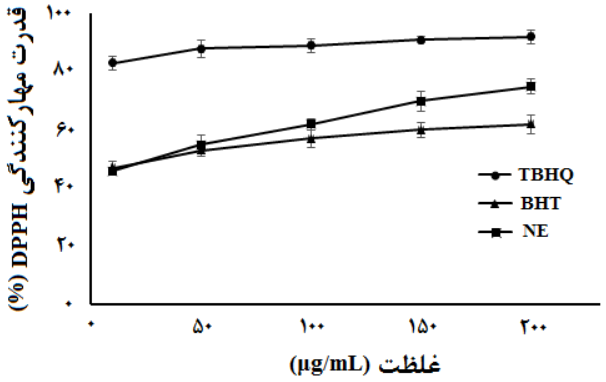
نتایج و بحث

محتوای فنول، فلاوونوئید و فلاوون کل

ترکیبات پلی‌فنولیک به عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاهان، عموماً مسئول خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهان دارویی هستند. بر اساس مقادیر جذب پس از واکنش با معرف فولین سیوکالتو، میزان محتوای فنول، فلاوونوئید و فلاوون کل به ترتیب ۱۴/۰۳±۱/۰، ۶۵/۰۲±۰/۰ و ۰/۲۱±۰/۰۳ (میلی گرم معادل کوئرستین بر گرم ماده خشک (mg/g)) حاصل شد. مقادیر گزارش شده توسط ساغیر و تورهان (۲۰۱۳) در عصاره گزنه (۰/۷۶ mg/g) با نتایج این تحقیق متفاوت بودند، که این تفاوت می‌تواند مربوط به دوره بلوغ، گونه‌ها، شرایط آب و هوایی و روش استخراج باشد. در مطالعه حاضر، فنول کل عصاره گزنه کمتر از مورد سبز (۵/۲۰ mg/g)، عصاره رزماری(۳/۴۲ mg/g) (ساغیر و تورهان ۲۰۱۳) و عصاره پوست مرکبات تونس(۱/۳۳ mg/g) (جبری کوری و مرزوک ۲۰۱۴) بوده، اما بیشتر از عصاره برگ‌های زیتون (۰/۳۴mg CAE/g) و عصاره جوانه گندم (۱mg/g) (سالتا و همکاران ۲۰۰۷) گزارش شد.

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

قابلیت کاهش رادیکال‌های آزاد DPPH از طریق کاهش جذب در ۵۱۷ nm اندازه‌گیری می‌شود. فعالیت احیاکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره گزنه و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی TBHQ و BHT در شکل ۱ نشان داده شده است. این فعالیت در تمامی نمونه‌ها وابسته به غلظت بوده اما مقدار آن در عصاره گزنه از BHT بیشتر و از TBHQ کمتر بوده و با افزایش غلظت عصاره فعالیت آن افزایش یافت ($P<0.05$). در غلظت‌های بالاتر (۱۰۰µg/ml)، فعالیت مهارکنندگی عصاره گزنه بالاتر از BHT و کمتر از TBHQ بود. طبق نتایج، فعالیت احیاکنندگی عصاره گزنه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی قابل مقایسه بود. پژوهش‌های قبل ثابت کرده که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهان بطور عمده به غلظت ترکیبات فنولیک آن‌ها وابسته است (آلزاندرو و همکاران ۲۰۱۱). نتایج نشان داد که عصاره گزنه دارای اثر قابل توجهی بر مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد است. بنابراین می‌توان از عصاره این گیاه به عنوان عامل آنتی‌اکسیدانی مناسب جهت به تأخیر انداختن فرآیند اکسیداسیون در غذاهای حساس نظیر روغن‌های گیاهی استفاده کرد.



شکل ۱- قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط غلظت‌های مختلف عصاره گزنه (NE) و آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHT و TBHQ

تأثیر عصاره گزنه و فیلم فعال روی پارامترهای اکسیداتیو روغن سویا

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

به منظور بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی روغن سویا از روش مبتنی بر کاهش رادیکال آزاد DPPH استفاده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۲، فعالیت احیاکنندگی روغن سویای تیمار شده عصاره گزنه و آنتی اکسیدان TBHQ را طی ٦٠ روز نگهداری در°C ۲۵ نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود نمونه‌ی شاهد فاقد آنتی اکسیدان سنتزی نیز مقادیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهد که دلیل آن باقی ماندن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی نظیر توکوفرول‌ها در روغن سویای تصفیه شده است (الماسی و همکاران، ۲۰۱٤).

نمونه TBHQ در غلظت ۱۰۰ppm بیشترین میزان فعالیت احیاکنندگی رادیکال‌های آزاد را نشان داد (۸٦٪/٦) و در طول زمان نگهداری نیز بیشترین میزان فعالیت را حفظ کرد. این نتایج بطور آشکاری اشاره بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی TBHQ در این غلظت دارد. همان‌طور که مشاهده می‌شود در طی ٤٥ روز نگهداری، بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی TBHQ 100 و عصاره گزنه در غلظت‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت اما در روز ٦٠، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره حفظ شده و از میزان TBHQ کاسته شد و اختلاف معنادار بین قدرت مهارکنندگی DPPH در آنها مشاهده نشد. اثر هم افزایی احتمالی بین عصاره گزنه و آنتی اکسیدان‌های طبیعی روغن مانند توکوفرول‌ها را می‌توان دلیل حفظ قدرت آنتی اکسیدانی آن در طول ٦٠ روز دانست. فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن سویا با افزایش مقادیر عصاره گزنه به ppm ۸۰۰ افزایش یافت اما این افزایش مخصوصاً در روزهای پایانی معنادار نبود. با توجه به دو برابر شدن غلظت عصاره از ٤٠٠ به ۸۰۰ ppm انتظار افزایش بیشتری در قدرت آنتی اکسیدانی می‌رفت. این امر نشان می‌دهد که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گزنه وابستگی کمتری به غلظت داشته و بیشتر به زمان نگهداری وابسته است و با افزایش زمان آزمایش، قدرت احیاکنندگی تمامی نمونه‌ها کاهش یافت. نتایج مشابهی در مورد فعالیت احیاکنندگی رادیکال‌های DPPH روغن پالم، آفتابگردان و زیتون غنی شده با عصاره برگ زیتون (سالتا و همکاران ۲۰۰۷) و روغن آفتابگردان غنی شده با عصاره سیر (ایکبال و بهانگر ۲۰۰۷) گزارش شده است.

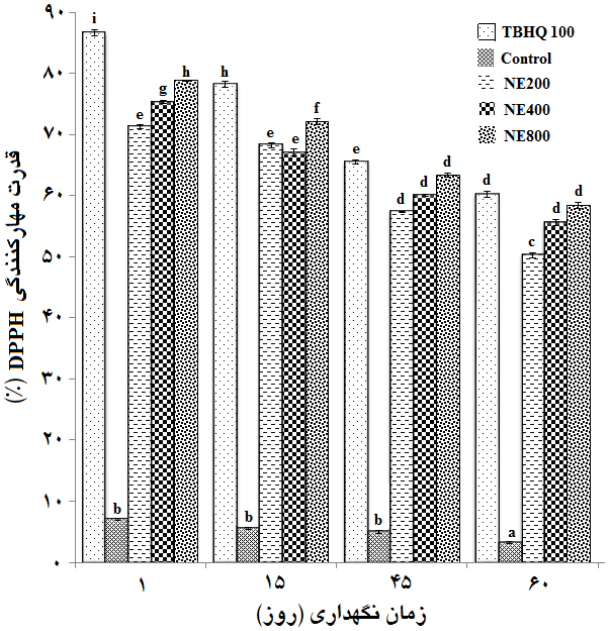
شکل ۳ فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های روغن در تماس با فیلم‌های فعال نشاسته را نشان می‌دهد. همان طور که مشخص است، قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد روغن‌های در تماس با فیلم‌های فعال با افزایش زمان نگهداری بطور معناداری ($p<۰/۰۵$) افزایش می‌یابد. این افزایش قدرت مهار کنندگی، به مهاجرت آنتی اکسیدان از فیلم به داخل روغن مربوط می‌شود. با افزایش غلظت عصاره در فیلم، نرخ افزایش قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد در روغن بیشتر شده و در نمونه روغن در تماس با فیلم حاوی ۷/۵ ٪ عصاره گزنه، بیشترین شیب افزایش قدرت مهارکنندگی DPPH از روز پانزدهم تا روز شصتم مشاهده می‌شود. دلیل این پدیده را می‌توان افزایش گرادیان غلظت و در نتیجه افزایش ضریب انتشار آنتی اکسیدان در حضور غلظت‌های بالاتر عصاره گزنه دانست که باعث می‌شود رسیدن به حالت تعادلی دیرتر اتفاق بیافتد.

این نتایج نشان می‌دهد که رهایش عصاره گزنه از فیلم نشاسته به داخل روغن سویا حتی پس از گذشت دو ماه نیز متوقف نمی‌شود. مانزانارز لوپز و همکاران (۲۰۱۱) بیان نمودند که احتمالاً روغن قادر است آنتی اکسیدان موجود در لایه‌های سطحی فیلم را حل نماید اما قدرت نفوذ به بخش‌های داخلی بستر پلیمر و تشدید سرعت انتشار را نداشته و همین امر می‌تواند دلیل کاهش سرعت مهاجرت آنتی اکسیدان از فیلم PLA به داخل سیمولانت‌های روغنی[1] محسوب گردد.

1 . Oil simulants

www.SID.ir

Archive of SID

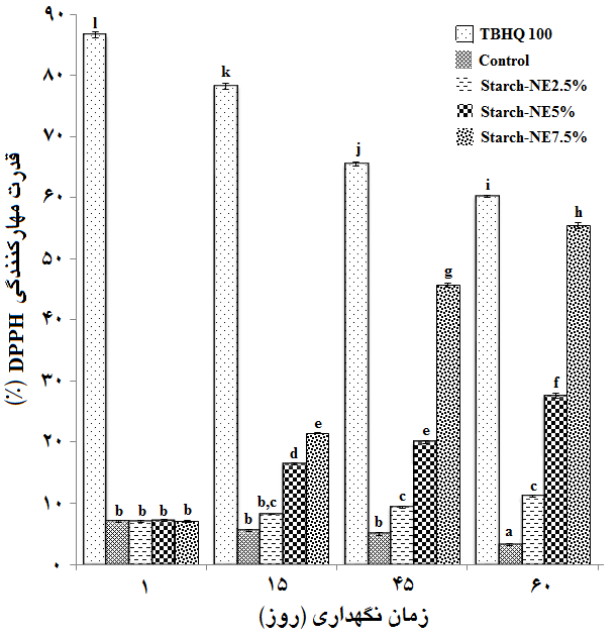


شکل ۲- قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در روغن سویای حاوی غلظت‌های مختلف عصاره گزنه (NE).

حروف غیرمشابه نشان دهندهٔ وجود اختلاف در سطح ٥٪ است.

اورتیز-وازکوز و همکاران (۲۰۱۱) عنوان کردند که مهاجرت BHT به داخل روغن نارگیل در دمای ۲۳°C حتی پس از گذشت ۱۰۰ روز نیز متوقف نمی‌شود. چونگجارنراک و همکاران (۲۰۰۸) فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم فعال ژلاتین ماهی حاوی BHT و آلفاتوکوفرول را با استفاده از روش قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH مورد بررسی قرار داده و به نتایج مشابهی دست یافتند.

به منظور مقایسه بهتر، قدرت مهارکنندگی DPPH روغن حاوی ppm ۱۰۰ TBHQ و نمونه شاهد در شکل ۳ نیز ارائه شده‌اند. مقایسه میزان مهارکنندگی DPPH در نمونه حاوی ppm ۱۰۰ TBHQ با قدرت مهارکنندگی روغن‌های در تماس با فیلم‌های فعال نشان می‌دهد که میزان TBHQ در نمونه‌ی روغن معمولی ارائه شده به بازار رفته رفته کاهش یافته و احتمال فساد اکسیداتیو روغن افزایش می‌یابد درحالیکه در روغن‌های در تماس با فیلم‌های فعال، غلظت آنتی اکسیدان رفته رفته افزایش می‌یابد. درواقع، با گذشت زمان نگهداری، تازگی روغن سویا در بسته بندی معمولی کاهش می‌یابد اما در حالت استفاده از بسته بندی فعال این امر رخ نمی‌دهد و حتی فعالیت آنتی اکسیدانی روغن افزایش نیز می‌یابد. این یکی از مزایای بسته بندی‌های فعال است که می‌تواند تازگی و کیفیت ماده غذایی را در کل زمان نگهداری محصول حفظ نماید.



شکل ۳- قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH نمونه‌های روغن در تماس با فیلم‌های فعال آنتی اکسیدانی حاوی عصاره گزنه (NE).

حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف در سطح ٥٪ است.

عدد پراکسید

عدد پراکسید یا مقادیر هیدروپرکسید تشکیل یافته به عنوان محصولات اولیه اکسیداسیون تعریف می‌شود. شکل ٤ و ٥ بترتیب نشانگر تأثیر افزودن مستقیم آنتی‌اکسیدان و استفاده از فیلم فعال آنتی اکسیدانی روی عدد پراکسید روغن سویا طی نگهداری در دمای ۲۵ °C به مدت ٦٠ روز می‌باشند. همان طور که در شکل ٤ مشاهده می‌شود، به جز نمونه حاوی ppm ۸۰۰ عصاره گزنه، بین مقادیر اولیه عدد پراکسید نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. این مسئله ممکن است ناشی از ترکیبات عصاره گزنه باشد که در غلظت‌های

www.SID.ir

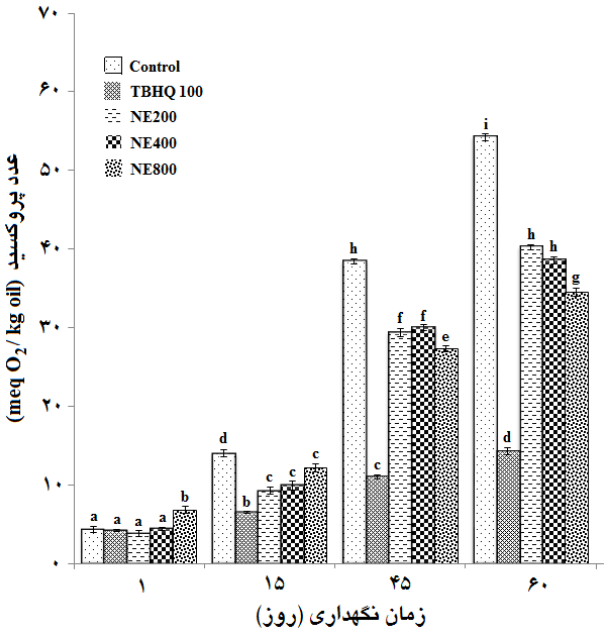
Archive of SID

بالا از خود خاصیت پراکسیداتیو نشان داده و مربوط به اثر کاتالیتیک از طریق تشکیل رادیکال‌های آزاد و هیدروژن پرکسید می‌باشد. نتایج این پژوهش مطابق نتایج کاترجی و باتاچارجی (۲۰۱۳) بود که فعالیت پراکسیداتیو عصاره غیر کپسوله میخک را در مقایسه با روغن حاوی عصاره آزاد نشان دادند.

همان‌طور که مشخص است در تمامی نمونه‌ها عدد پراکسید از ابتدا تا انتهای زمان آزمایش افزایش یافت. در این شرایط، عدد پراکسید نمونه‌های شاهد پس از ۶۰ روز نگهداری به ٥٤/٢٢meq/kg رسید. پس از ۳۰ روز نگهداری، عدد پراکسید در نمونه‌های حاوی ۲۰۰ppm عصاره گزنه بطور معنی‌داری بالاتر از سایر نمونه‌ها بود ($p<0.05$). احتمالاً حضور کلروفیل در داخل عصاره گزنه نیز میتواند به تشدید اکسیداسیون و افزایش عدد پراکسید منجر شود. هر چند که با افزایش غلظت عصاره گزنه، عدد پراکسید بطور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. نتایج عدد پراکسید در ۲۵ °C نشان داد افزودن مستقیم عصاره گزنه در غلظت ۸۰۰ppm، تأثیر بیشتری در جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا در مدت زمان طولانی نگهداری دارد. بطوریکه در روز ششتم، بین نمونه روغن حاوی ۱۰۰ TBHQ ppm و نمونه روغن حاوی ۸۰۰ppm عصاره گزنه اختلاف معناداری مشاهده نگردید. این امر نشان می‌دهد که عصاره گزنه در غلظت‌های بالا قادر است در حد آنتی اکسیدان سنتزی مانع اکسیداسیون روغن و تولید محصولات اولیه اکسیداسیون در طول مدت نگهداری شود.

همان‌طور که در شکل ٥ مشاهده می‌شود، عدد پراکسید نمونه‌های روغن در تماس با فیلم‌های فعال نیز با افزایش زمان نگهداری افزایش یافت. اما روند این افزایش مشابه تغییر در قدرت مهارکنندگی DPPH بود و با افزایش میزان آنتی اکسیدان مهاجرت کرده به داخل روغن، شدت اکسیداسیون آن کاهش یافت بطوریکه در روز ٤٥ و ٦٠، بدلیل حضور غلظت کافی آنتی اکسیدان، اختلاف معناداری ($p<۰/۰۵$) در عدد پراکسید روغن در تماس با فیلم‌های فعال حاوی ۷/۵ ٪ عصاره گزنه و نمونه حاوی ۱۰۰ppm آنتی اکسیدان TBHQ مشاهده نگردید.

نتایج این آزمون همچنین نشان داد که با افزایش زمان نگهداری، تفاوت در عدد پراکسید نمونه‌های در تماس با فیلم‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره بیشتر می‌شود. این امر نشان دهندهٔ این حقیقت است که نفوذ روغن به داخل بستر بیوپلیمر و انتشار آنتی اکسیدان از آن به داخل روغن، در مدت زمان‌های کوتاه رخ نداده و به حداقل ۱۵ روز زمان نیاز دارد. بنابراین استفاده از فیلم فعال می‌تواند آنتی اکسیدان را نه در مراحل اولیه نگهداری بلکه پس از گذشت زمان‌های طولانی‌تر که احتمال فساد اکسیداتیو افزایش پیدا می‌کند آزاد کرده و بنابراین ماندگاری روغن را برای مدت زمان بیشتری افزایش دهد.

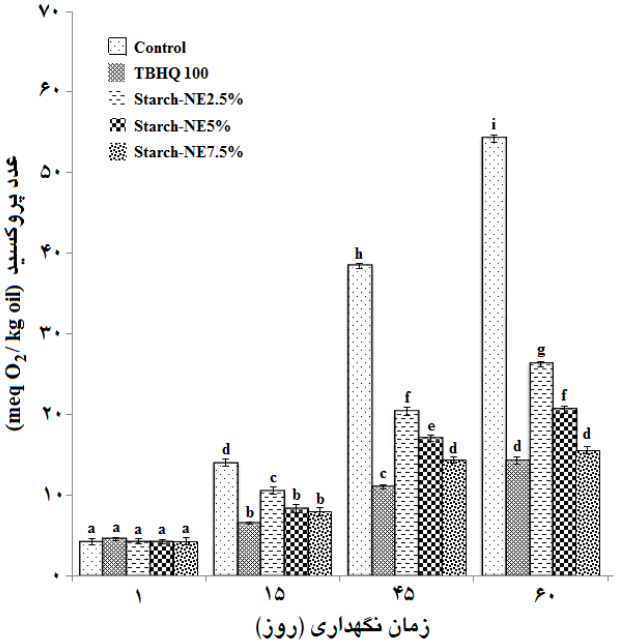


شکل ۴- عدد پراکسید روغن سویای حاوی غلظت‌های مختلف عصاره گزنه (NE) طی ۶۰ روز نگهداری در ۲۵C°.

حروف غیرمشابه نشان دهندهٔ وجود اختلاف در سطح ٥٪ است.

www.SID.ir

Archive of SID

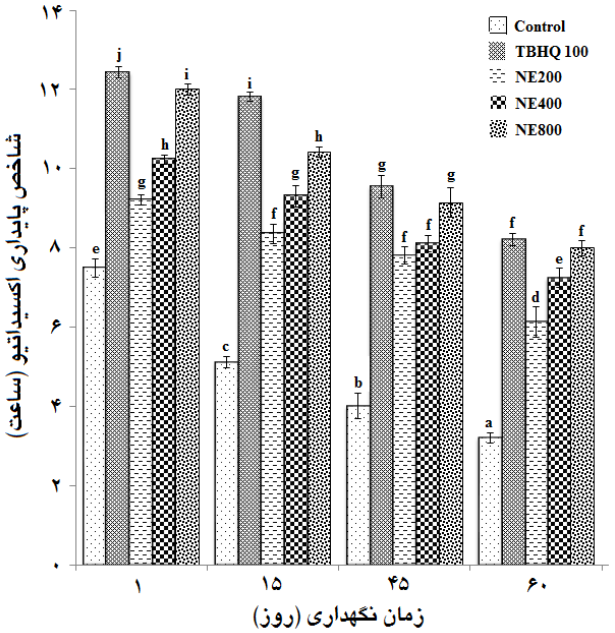


شکل ۵- عدد پراکسید نمونه‌های روغن در تماس با فیلم‌های فعال آنتی اکسیدانی حاوی عصاره گزنه (NE) طی ۶۰ روز نگهداری در ۲۵°C.

حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف در سطح ٪۵ است.

شاخص پایداری اکسیداتیو (OSI)

پایداری اکسیداتیو روغن توسط روش Rancimat ارزیابی می‌گردد. این روش اغلب برای ارزیابی پایداری روغن‌های خوراکی در دمای بالا نظیر $^{\circ}C$ ۱۲۰-۱۰۰ مورد استفاده است که بیشتر برای واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون ترجیح داده می‌شود. همانطور که در شکل ٦ نشان داده شده است، روند OSI شبیه به فعالیت به دام انداختن رادیکال DPPH بوده و این مسئله نشانگر ارتباط مستقیم بین محتوای آنتی اکسیدانی و پایداری اکسیداتیو روغن سویا است. دوره القا در روغن تیمار شده با TBHQ (۱۲/٤۳ h) بطور معنی‌داری از نمونه شاهد (۷/٤۸ h) بالاتر بود. همچنین TBHQ در غلظت ۱۰۰ppm بیشترین میزان OSI را در طول آزمایش نشان داد. همان‌طوری که مشاهده می‌شود، OSI تمامی نمونه‌ها بطور معنی‌داری طی زمان نگهداری کاهش یافت. مشابه روند فعالیت آنتی‌اکسیدانی، OSI نمونه‌های حاوی عصاره گزنه نسبت به TBHQ در تمام فواصل زمانی کمتر بود. در نمونه‌های حاوی عصاره گزنه بعلت وارد شدن ترکیبات پلی‌فنولی به روغن، با افزایش غلظت عصاره، دوره القا افزایش پیدا کرد. مطابق شکل ٦ در تمامی زمان‌های آنالیز، بین مقادیر OSI عصاره گزنه با غلظت ۸۰۰ppm و TBHQ با غلظت ۱۰۰ppm اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. این نتایج نشان می‌دهد عصاره گزنه می‌تواند در دماهای بالا در افزایش پایداری اکسیداتیو روغن سویا با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی رقابت نماید.



شکل ۶- شاخص پایداری اکسیداتیو روغن سویای حاوی غلظت‌های مختلف عصاره گزنه (NE) طی ۶۰ روز نگهداری در ۲۵°C

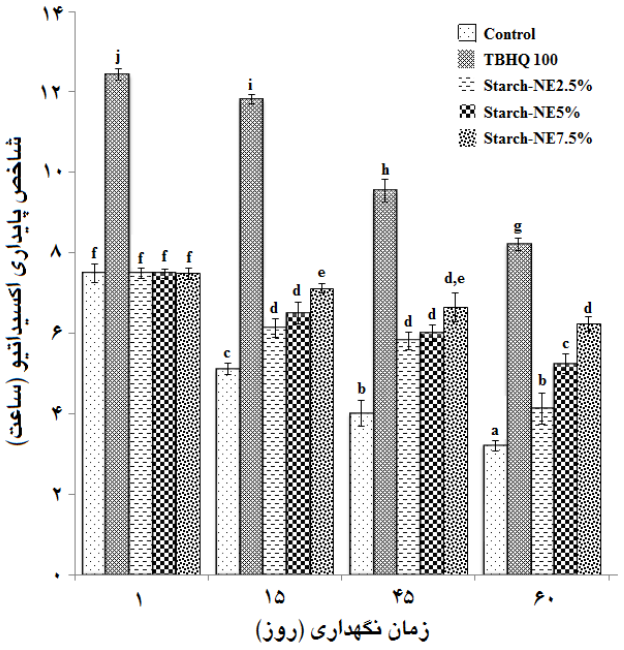
حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف در سطح ٪۵ است.

شکل ۷ شاخص پایداری اکسیداتیو روغن‌های در تماس با فیلم‌های فعال نشاسته را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است، OSI برای نمونه‌های روغن در تماس با فیلم‌های فعال نیز، روندی مشابه با قدرت مهار کنندگی DPPH نشان داد و با افزایش میزان عصاره گزنه در داخل روغن، این پارامتر نیز افزایش یافت. درحالیکه بیشترین میزان افزایش در OSI در نمونه‌های حاوی ۵ و ۷/۵ ٪ عصاره و آن هم در روز ٤۵ به بعد آزمون

www.SID.ir

Archive of SID

اتفاق افتاد. در پایان مدت زمان آزمون، OSI نمونه‌ی حاوی TBHQ۱۰۰ppm اندکی بیشتر از نمونه‌های در تماس با فیلم‌های فعال حاوی ۷/۵ ٪ عصاره گزنه بود درحالیکه در حالت استفاده مستقیم از عصاره، تفاوت معناداری بین این دو نمونه مشاهده نگردید. همان‌طور که از مقایسه دو شکل مشخص است، شاخص پایداری اکسیداتیو در نمونه روغن حاوی TBHQ ۱۰۰ppm در روز شصتم برابر ۸/۲۱ ساعت و در نمونه حاوی ppm ۸۰۰ عصاره در همان روز برابر ۸ ساعت می‌باشد و در نمونه روغن در تماس با فیلم حاوی بیشترین غلظت عصاره، تنها با ۲۲ درصد کاهش به ۶/۲۳ ساعت رسیده است. این نتایج نشان داد که با تولید فیلم فعال نشاسته، می‌توان فعالیت آنتی اکسیدانی موجود در داخل روغن را برای مدت طولانی‌تری افزایش داد بدون اینکه در ماندگاری روغن تغییر قابل توجهی ایجاد شود و نیازی به استفاده از مقادیر زیاد آنتی اکسیدان در ترکیب روغن باشد.



شکل ۷- شاخص پایداری اکسیداتیو نمونه‌های روغن در تماس با فیلم‌های فعال آنتی اکسیدانی حاوی عصاره گزنه (NE) طی ۶۰ روز نگهداری در °C۲۵

حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف در سطح ٥٪ است.

اثر عصاره گزنه روی ویژگی‌های رنگ روغن سویا

رنگ یکی از پارامترهای مهم روغن‌های خوراکی است. جدول ۱ غلظت کلروفیل، کارتنوئید و جدول ۲ ویژگی‌های رنگ نمونه‌های شاهد، نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان و نمونه‌های در تماس با فیلم فعال را در روز اول و روز شصتم نگهداری نشان می‌دهد. در نمونه‌های حاوی TBHQ میزان کلروفیل تقریباً mg/kg oil ۲/۱۱ بود. اما زمانی که روغن با ۲۰۰ppm عصاره گزنه تیمار شد، نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری ($P<0.05$) نشان دادند و میزان کلروفیل به mg/kg oil ٤/۲۱ رسید. میزان کلروفیل با افزایش غلظت عصاره گزنه افزایش یافت. دلیل این امر استخراج کلروفیل ضمن استخراج برگ‌های گزنه بوده که باعث افزایش رنگ سبز روغن شد. افزودن آنتی‌اکسیدان‌های مورد بررسی به جز بالاترین غلظت عصاره گزنه، تأثیر معنی‌داری بر محتوای کاروتنوئید روغن نداشت. بطوری که نمونه حاوی ۸۰۰ppm عصاره گزنه دارای بیشترین غلظت کارتنوئید نسبت به سایر نمونه‌ها بود ($P<0.05$). TBHQ تأثیر معنی‌داری روی مقادیر رنگ هانترلب نداشت (جدول ۲). اما افزودن عصاره گزنه باعث کاهش مقادیر L*, a* و b* شد. روغن حاوی ۸۰۰ppm عصاره گزنه دارای کمترین مقدار a* و b* بود (به ترتیب ۱۹/۲٤ و ٤۷/۲۳). کاهش مقادیر b* نشان داد که رنگ روغن سویا نسبت به زرد، بیشتر به رنگ آبی تغییر یافت. بعلاوه کاهش میزان a* نشانگر افزایش رنگ سبز نمونه‌های روغن بود. عصاره گزنه اثرات مشابهی روی مقادیر رنگ روغن سویا و مقادیر a* و b* داشت. بطور کلی افزودن عصاره گزنه باعث کاهش رنگ زرد و افزایش رنگ سبز روغن تازه شد. همان‌طور که در جداول مشخص است، گذشت زمان نگهداری، تأثیر قابل توجهی بر مقادیر رنگدانه ها و پارامترهای رنگی نمونه‌های روغن حاوی عصاره گزنه نداشت و تنها اندکی کاهش در مقادیر کلروفیل و به تبع آن افزایش در

www.SID.ir

Archive of SID

مقادیر *a مشاهده شده که در نمونه روغن حاوی ppm ۸۰۰ عصاره گزنه این تغییرات بیشتر بود.

جدول ۱- میزان کلروفیل و کارتنوئید نمونه‌های روغن حاوی عصاره گزنه (NE) و نمونه‌های در تماس با فیلم‌های فعال در روز اول و شصتم نگهداری

نمونه	کلروفیل (mg/kg)		کاروتنوئید (mg/kg)	
	روز اول	روز شصت	روز اول	روز شصت
شاهد	۲/۱۲±۰/۰۳^{a}	۲/۱۰±۰/۰۶^{a}	۱/۱۶±۰/۰۳^{a}	۱/۱٤±۰/۰۱^{a}
TBHQ100	۲/۱۱±۰/۰٤^{a}	۲/۱۱±۰/۰۰^{a}	۱/۱٦±۰/۰۳^{a}	۱/۱٦±۰/۰٥^{a}
NE200	٤/۲۱±۰/۰۲^{c}	٤/۱۱±۰/۰۳^{c}	۱/۰۰±۰/۰۲^{a}	۱/۰۰±۰/۰۷^{a}
NE400	٤/۸۷±۰/۰۳^{d}	٤/۷۲±۰/۰٦^{d}	۱/۲۱±۰/۰٤^{a}	۱/۲۰±۰/۰۰^{a}
NE800	٥/۱۷±۰/۰۳^{e}	٤/٦۸±۰/۰٤^{d}	۲/۰٤±۰/۰۱^{c}	۱/۹٤±۰/۰۳^{c}
Starch-NE2.5%	۲/۱۲±۰/۰۱^{a}	۳/۲۱±۰/۰۲^{b}	۱/۱٦±۰/۰۳^{a}	۱/۲۳±۰/۰٦^{a,b}
Starch-NE5%	۲/۱٤±۰/۰۳^{a}	٤/۱۱±۰/۰٤^{c}	۱/۱۷±۰/۰۳^{a}	۱/٤٦±۰/۰۳^{b}
Starch-NE7.5%	۲/۱٤±۰/۰٥^{a}	٥/۰٥±۰/۰۷^{e}	۱/۱٦±۰/۰۳^{a}	۱/۷۷±۰/۰۳^{b}

حروف غیرمشابه در هر دو ستون مربوط به یک رنگدانه نشان دهندهٔ وجود اختلاف در سطح ۵٪ است.

جدول ۲- نتایج ارزیابی رنگی نمونه‌های روغن حاوی عصاره گزنه (NE) و نمونه‌های در تماس با فیلم‌های فعال در روز اول و شصتم نگهداری

نمونه	*L		*a		*b	
	روز اول	روز شصت	روز اول	روز شصت	روز اول	روز شصت
شاهد	٦۳/۲۱±۲/۰۳^{c}	٦۳/۱۲±۱/۲۳^{c}	۳٤/۵۷±۱/۰٦^{d}	۳٤/۳٤±۱/۰۰^{d}	۵۷/۲۳±۱/۰۳^{c}	۵۷/۱۱±۱/۰۰^{c}
TBHQ100	٦۳/۰۰±۲/۰۷^{c}	٦۲/۸۷±۰/۹۳^{c}	۳٤/۰۹±۰/٤٥^{d}	۳٤/۲۱±۱/۰٥^{d}	۵۷/۱۱±۱/۲۳^{c}	۵۷/۰۰±۱/۱۱^{c}
NE200	۵۸/۱۱±۱/۲۲^{b}	۵۷/۳۲±۲/۰۳^{b}	۲٦/٤۳±۰/۷٥^{c}	۲٦/۸۹±۱/۰۰^{c}	۵۱/۳٤±۱/٤٥^{a,b}	۵۱/۰۲±۱/۰۰^{a}
NE400	۵۷/۰۸±۲/۱۲^{b}	۵٦/۰۰±۱/۰۸^{b}	۲۱/۸۷±۱/٤٥^{b}	۲۲/۰۰±۱/۱۱^{b}	٤۸/۳۲±۱/۰۰^{a}	٤۹/۵٥±۰/٤٥^{a}
NE800	۵٥/۲۱±۱/۱۳^{b}	۵۳/۰۷±۰/۰۳^{a}	۱۹/۳٤±۰/۰٥^{a}	۲۳/۵٤±۱/۵٦^{b}	٤۷/۲۳±۰/۹۸^{a}	٤۸/۱۳±۱/۰٥^{a}
Starch-NE2.5%	٦۳/۲۱±۰/۰۹^{c}	۵۷/۵٥±۱/٤٥^{b}	۳٤/۱۱±۱/۰٥^{d}	۲۹/۱٤±۱/۷۸^{c}	۵۷/۲۳±۱/٦٥^{c}	۵٥/٦۷±۱/۰۹^{c}
Starch-NE5%	٦۳/۰۰±۱/۱۲^{c}	۵۳/٦۷±۱/۲۲^{a}	۳٤/۰۹±۱/٤٥^{d}	۲۲/۵٦±۱/۰۰^{d}	۵۷/۱۱±۱/٦٥^{c}	۵۲/۸۱±۱/۰۰^{b}
Starch-NE7.5%	٦۳/۱۱±۱/۰۵^{c}	۵۰/۹٦±۱/۰۰^{a}	۳٤/۵۱±۱/۳۲^{b}	۱۹/۰۳±۱/۱۸^{a}	۵۷/۱۸±۰/٤٥^{c}	٤۹/۸۸±۱/۰۰^{a}

حروف غیرمشابه در هر دو ستون مربوط به یک پارامتر رنگی نشان دهندهٔ وجود اختلاف در سطح ۵٪ است.

در مورد تأثیر فیلم فعال بر روی ویژگی‌های رنگی روغن، نتایج متفاوتی مشاهده شد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، در روز اول آزمون، تفاوتی بین مقادیر کلروفیل و کاروتنوئید و خواص رنگی نمونه‌های روغن با نمونه شاهد وجود ندارد. دلیل این امر این است که آنتی اکسیدان طبیعی در بستر بیوپلیمر مورد استفاده قرار گرفته و هیچگونه افزودنی در روز اول در داخل روغن وجود ندارد. اما مشاهده می‌شود که در روز شصتم نگهداری، مقادیر کلروفیل در روغن در تماس با فیلم‌های فعال بطور معناداری ($P<0.05$) افزایش یافته و همچنین مقادیر *a و *b بطور چشمگیری کاهش می‌یابند. دلیل این امر، مهاجرت عصاره در طول ٦۰ روز

www.SID.ir

Archive of SID

و تأثیر آن بر روی خواص رنگی می‌باشد. مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت در فیلم فعال، میزان کلروفیل در روغن در روز شصتم افزایش می‌یابد که دلیل این امر، افزایش گرادیان غلظت بدلیل افزایش میزان عصاره و درنتیجه مهاجرت مقادیر بیشتر عصاره به داخل روغن می‌باشد. بنابراین بعنوان نتیجه گیری کلی می‌توان چنین بیان نمود که در حالت استفاده از فیلم فعال، تغییرات رنگی در روغن بصورت تدریجی بوده و با گذشت زمان، ویژگی‌های رنگی روغن تغییر می‌یابد.

نتیجه‌گیری

طبق نتایج پژوهش حاضر، عصاره اتانولی برگ‌های خشک گزنه فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی نشان داد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گزنه در غلظت ۲۰۰µg/ml بالاتر از BHT و کمتر از TBHQ بود. افزودن عصاره گزنه باعث ایجاد ویژگی‌های نامطلوبی در رنگ روغن سویا شد. بطوری که با افزودن عصاره از میزان رنگ زرد روغن کاسته شده و بر سبزی آن افزوده شد. اما در حالت استفاده از فیلم فعال، روند تغییرات در میزان کلروفیل و خواص رنگی روغن کمتر بوده و به مرور زمان افزایش یافت. با افزودن عصاره، میزان اکسیداسیون روغن سویا کاهش و پایداری اکسیداتیو آن افزایش یافت. افزودن ۸۰۰ppm از عصاره گزنه بطور معنی‌داری، مقادیر عدد پراکسید را کاهش و فعالیت احیاکنندگی رادیکال‌های آزاد و شاخص پایداری اکسیداتیو را افزایش داد. هنگامیکه از فیلم فعال نشاسته حاوی عصاره گزنه در تماس با فیلم فعال استفاده شد، قدرت احیا کنندگی رادیکال آزاد و پایداری اکسیداتیو روغن، به مرور زمان و با مهاجرت عصاره افزایش یافته و در روز شصتم نگهداری، قابل مقایسه با نمونه روغن حاوی TBHQ و روغن حاوی ۸۰۰ppm عصاره گزنه بود. بطور کلی نتایج این پژوهش نشان داد پایداری اکسیداتیو ایجاد شده توسط عصاره گزنه در روغن سویا با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ قابل مقایسه بوده و بنابراین عصاره گزنه می‌تواند به عنوان منبع بالقوه آنتی‌اکسیدان طبیعی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین مشخص گردید که استفاده از فیلم فعال حاوی عصاره گزنه قادر است به اندازه افزودن مستقیم عصاره، در افزایش ماندگاری روغن موثر باشد. درحالیکه اثرات منفی افزودن مستقیم عصاره بر روی خواص رنگی روغن، در حالت استفاده از فیلم فعال، بسیار کمتر بوده و تغییرات در رنگ روغن با گذشت زمان و بصورت تدریجی ظاهر می‌شود.

سپاسگزاری

مقاله حاضر، برگرفته از نتایج حاصل از طرح پژوهشی (کد ۹۳/ک/۰۰۹) می‌باشد که در معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه به تصویب رسیده است. نویسنده‌ی این مقالـه، بـه دلیل حمایت‌های مالی از معاونت پژوهشی این دانشگاه کمـال تشکر را دارد.

منابع مورد استفاده

Alezandro MR, Lui MCY, Lajolo FM and Genovese MI, 2011. Commercial spices and industrial ingredients: evaluation of antioxidant capacity and flavonoids content for functional foods development. Ciência e Tecnologia de Alimentos 31: 527–533.

Almasi H, Ghanbarzadeh B and Entezami AA, 2010. Physicochemical properties of starch – CMC– nanoclay biodegradable films. International Journal of Biological Macromolecules 46: 1-5.

Almasi H, Ghanbarzadeh B, Dehghannya J, Entezami AA and Khosrowshahi Asl A, 2014. Development of a novel controlled-release nanocomposite based on poly(lactic acid) to increase the oxidative stability of soybean oil. Food Additives and Contaminants, Part A 31(9): 1586-1597.

Alp E and Aksu MI, 2010. Effects of water extract of *Urtica dioica* L. and modified atmosphere packaging on the shelf life of ground beef. Meat Science 86: 468–473.

www.SID.ir

Archive of SID

AOAC 1990. Peroxide value of oils and fats. Method 965.33. In: Williams S, editor. Official methods of analysis. Washington (DC): AOAC.

AOCS 1993. Official methods and recommended practices of the American oil chemists society, Oil stability index (Cd 12–92). Champaign (IL): AOCS Press.

Byun Y, Kim YT and Whiteside S, 2010. Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α-tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. Journal of Food Engineering 100: 239-244.

Chahardehi AM, Ibrahim D and Sulaiman SF, 2009. Antioxidant activity and total phenolic content of some medicinal plants in Urticaceae family. Journal of Applied Biology Science 2: 1-5.

Chatterjee D and Bhattacharjee P, 2013. Comparative evaluation of the antioxidant efficacy of encapsulated and un-encapsulated eugenol-rich clove extracts in soybean oil: Shelf-life and frying stability of soybean oil. Journal of Food Engineering 117: 545–550.

Choe E and Min DB 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. Comprehensive Reviews in Food Science and Nutrition 5: 169–186.

Decastillo CL, Alonso JM, Catala R, Gavara R and Munoz PH, 2010. Improving the antioxidant protection of packaged food by incorporating natural flavonoids into ethylene-vinyl alcohol copolymer (EVOH) films. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58: 10958-10964.

Erdogrul Ö, 2002. Antibacterial activities of some plant extracts used in folk medicine. Pharmacy Biology 40: 269-73.

Gemili S, Yemenicioglu A and Altınkaya SA, 2010. Development of antioxidant food packaging materials with controlled release properties. Journal of Food Engineering 96: 325-332.

Güder A and Korkmaz H, 2012. Evaluation of in-vitro antioxidant properties of hydroalcoholic solution extracts of *Urtica dioica* L. and *Malva neglecta Wallr* and their mixture. Iranian Journal of Pharmacology Research 11: 913-923.

Gülchin I, Küfrevioglu Öİ, Oktay M and Büyükokuroglu ME, 2004. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle ("*Urtica dioica*" L.). Journal of Ethnopharmacology 90(2): 205-215.

Gunstone DF, 2011. Vegetable oils in food technology: Composition, properties and uses. 2nd edition pp. 125-136. John Wiley & Sons, Chichester.

Iqbal S and Bhanger MI, 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. Food Chemistry 100: 246–254.

Jabri-Karoui I and Marzouk B, 2014. Bioactive Compounds, Antioxidant Activities and Heat Stability of Corn Oil Enriched with Tunisian *Citrus aurantium* L. Peel Extract. Journal of American Oil Chemists Society 91(8): 1367-1375.

Jongjareonrak A, Benjakula S, Visessanguan W and Tanaka J, 2008. Antioxidative activity and properties of fish skin gelatin films incorporated with BHT and a-tocopherol. Food Hydrocolloids 22: 449–458.

Kukric Z, Topalic-Trivunovic L, Kukavica B, Matos S, Pavicic S and Boroja M, 2012. Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.). Acta periodica technologica 102: 257-72.

Kumaran A and Joel KR, 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India. LWT-Food Science & Technology 40: 344–352.

Manzanarez-López F, Soto-Valdez S, Auras R and Peralta E, 2011. Release of a Tocopherol from Poly(lactic acid) films, and its effect on the oxidative stability of soybean oil. Journal of Food Engineering 104: 508–517.

Martinez ML, Penci MC, Ixtaina V, Ribotta PD and Maestri D, 2013. Effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of walnut oil under different storage conditions. LWT - Food Science & Technology 51: 44-50.

Mohdaly AA, Smetanska I, Ramadan MF, Sarhan MA and Mahmoud A, 2011. Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. Industrial Crops and Products 34: 952– 959.

www.SID.ir

Archive of SID

Moure A, Cruz JM, Franco D, Dominguez JM, Sineiro J and Dominguez H, 2001. Natural antioxidants from residual sources. Food Chemistry 72: 145–171.

Ordon JD, Gomez MA and Vattuone MI, 2006. Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. Food Chemistry 97: 452–458.

Ortega-Ramirez L, Rodriguez-Garcia I, Leyva JM, Cruz-Valenzuela MR, Silva-Espinoza BA, Gonzalez-Aguilar GA, 2014. Potential of Medicinal Plants as Antimicrobial and Antioxidant Agents in Food Industry: A Hypothesis. Journal of Food Science 79(2): 129-137.

Ortiz-Vazquez H, Shin J, Soto-Valdez H and Auras R, 2011. Release of butylated hydroxytoluene (BHT) from Poly(lactic acid) films. Polymer Testing 30: 463-471.

Oz F, 2014. Effects of water extract of *Urtica Dioica* L. on the quality of meatballs. Journal of Food Processing and Preservation 38(3): 1356-1363.

Ozcan MM and Arslan D, 2011. Antioxidant effect of essential oils of rosemary, clove and cinnamon on hazelnut and poppy oils. Food Chemistry 129: 171–174.

Pinelli P, Ieri F, Vignolini P, Bacci L, Baronti S and Romani A, 2008. Extraction and HPLC analysis of phenolic compounds in leaves, stalks, and textile fibers of *Urtica dioica* L. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56: 9127-9132.

Sagir I and Turhan S, 2013. The effect of ethanol extracts from nettle, rosemary and myrtle leaves on lipid oxidation and microbial growth of kavurma during refrigerated storage. Food Science and Technology Research 19(2): 173-180.

Salta FN, Mylona A, Chiou A, Boskou G and Andrikopoulos NK, 2007. Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract. Food Science and Technology International 13(6): 413–421.

Souza CO, Silva LT, Silva JR, Lopez JA, Veiga-Santos P and Druzian JI, 2011. Mango and acerola pulps as antioxidant additives in cassava starch bio-based Film. Journal of Agricultural and Food Chemistry 59: 2248-2254.

Yanishlieva NV, Marinova E and Pokorny J, 2006. Natural antioxidants from herbs and spices. European Journal of Lipid Science and Technology 108: 776–793.

www.SID.ir

Archive of SID

Comparison of direct addition and using of antioxidant active film containing nettle leaves extract in oxidative stability of soybean oil

H Almasi[*1]

Received: October 20, 2015 Accepted: December 21, 2015
[1]Assistant Professor of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[*]Corresponding author: Email: h.almasi@urmia.ac.ir

Abstract

Using of natural antioxidants instead of synthetic compounds is a novel approach in food processing and preservation. The aim of this work was to compare the antioxidant activities of ethanol extracts of nettle (*Urtica dioica L.*) in stabilizing soybean oil in two forms of direct addition to oil and using of extract loaded starch based active film. At first, the phenolic composition and antioxidant capacity of nettle extract (NE) were measured. Afterward, protective effects of NE and active film in stabilizing soybean oil were compared to synthetic antioxidant (tert-butyl hydroquinone, TBHQ), by measuring their peroxide values, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and oxidative stability index (OSI) during 60 days storage at 25°C. DPPH radical scavenging activity and OSI of oils enriched with 800 ppm of NE at day 60 had not significant difference with those of sample containing 100 ppm TBHQ. Results of these experiments in the oils contacted with active films revealed that the increasing of migrated antioxidant during storage time, caused to increase of antioxidant activity and OSI. Peroxide value (PV) of soybean oil increased by increasing storage time, but the both of direct addition and using of active film were able to control the increasing rate of PV in oil and in the long storage periods, the effect of active film was more than direct addition of NE. Nevertheless, NE exhibited negative effects on color properties of soybean oil and green color of oil was increased by increasing of loaded NE and also increasing of migration rate from active films. The results of this research indicated that the using of active film containing nettle extract is able to preserve the oxidative stability of soybean oil during storage.

Keywords: Antioxidant active film, Color properties, Nettle extract, Oxidative stability, Soybean oil

www.SID.ir