Archive of SID

12th July 2017
۲۱ تیرماه ۱۳۹۶
3rd. International Conference on
Agricultural Engineering and Natural Resources
سومین کنفرانس بین المللی
مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی

بررسی خواص آنتی اکسیدانی عصاره های متانولی و اتانولی پوست درخت اکالیپتوس و کاربرد آن روی روغن آفتابگردان

زهرا رضاخانی[1*] ، اعظم مهدی نیا[2]

۱*- نویسنده مسئول دانش آموخته کارشناسی ارشد شیمی دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان وکارشناس آزمایشگاه تحقیقات شرکت فرآورده های روغنی فریکو
پست الکترونیک :Z.rezakhani@yahoo.com
۲- اعظم مهدی نیا ، مدیر کنترل کیفیت و آزمایشگاهها در شرکت فرآورده های روغنی ایران فریکو

چکیده :

زمینه و هدف:گیاهان منبع غنی از ترکیبات فنولی هستند که مهم ترین آنتی اکسیدان های طبیعی بشمار می آیند ، آنتی اکسیدان ها از عوامل اصلی خنثی کننده رادیکال های آزاد می باشند ،که از شیوع بیماری های مزمن و تخریب بسیاری از مواد غذایی جلوگیری می کنند.

این ترکیبات از پوست درخت اکالیپتوس نیز قابل استخراج هست برای این منظور از حلال های اتانول و متانول با نسبت اختلاط یک واحد پودر (پوست درخت اکالیپتوس) و ۵ واحد حلال و به روش خیساندن برای استخراج عصاره استفاده گردید.

هدف این مطالعه ، ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و میزان فنول و فلاونوئید تام پوست درخت اکالیپتوس و بررسی خواص آنتی اکسیدانی عصاره ی متانولی و اتانولی بر پایداری اکسایش روغن آفتابگردان با اندازه گیری دوفاکتور اندیس پراکسید واسیدیته مورد مطالعه قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری Spss به روش آنالیز واریانس یکطرفه (در سطح معنی دار $p<0.05$) و رسم نمودارها با نرم افزار Excel صورت گرفت .نتایج آزمایش به دام اندازی رادیکال های آزاد نشان داد غلظت مهار 50% در عصاره های اتانولی و متانولی پوست درخت اکالیپتوس به ترتیب ۳/۰۲ و ۸/۹۶ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد.

نتیجه گیری : نتایج نشان داد عصاره های متانولی واتانولی پوست درخت اکالیپتوس می تواند به عنوان آنتی اکسیدان های طبیعی عمل نموده و پس از آزمایشهای تکمیلی در صنایع دارویی و غذایی به کار روند.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدان ،درخت اکالیپتوس ، دای فنیل پیکریک هیدرازیل ،عصاره

.

۱- مقدمه

همه ی چربی ها و روغن در طی مراحل استفاده دچار اکسایش می شوند[1]. محصولات اولیه ی اکسیداسیون چربی ها پراکسیدها هستند که بعد از تجزیه آنها به ترکیبات با وزن مولکولی پائین تر تبدیل می شوند(آلدهیدها و کتون ها ،اسیدها و غیره) از این مواد برای اندازه گیری کمی چربی ها استفاده می شود[1]. صنعت روغن توجه ویژه ای به این موضوع دارد مسئله پایداری برای روغن ها وچربی ها وغذاهای چرب از اهمیت ویژه ای برخوردار است.برای بالا بردن مقاومت روغن ها و چربی ها آنتی اکسیدان های سنتزی مانند تولوئن هیدروکسی بوتیل (BHT) و کوئینین هیدروکسی تربوتیل (TBHQ) به طور گسترده ای به کار می روند.

اما گزارشات اخیر نشان می دهد که آنتی اکسیدان های سنتزی می توانند خطرات زیادی برای سلامتی داشته باشند مسبب بیماری های همچون سرطان باشند ،پس محدود کردن مصرف آنتی اکسیدان های سنتزی باید محدود شود[2].بایستی بتوان آنتی اکسیدان های جایگزین آنتی اکسیدان سنتزی پیدا کرد، در بین آنتی اکسیدان های طبیعی در دسترس عصاره های روغنی بسیار مورد توجه قرار گرفته اند و منبع غنی از مولکول های آنتی اکسیدانی طبیعی هستند.این آنتی اکسیدان های طبیعی جای بحث و مطالعه برای کاربرد در چربی ها و روغن ها برای حفاظت آنها از اکسیداسیون دارد[3,4].

روغن ها و جربی ها که تجارت می شوند مخلوطی از لیپیدها هستند که عمدتا تری گلیسریدها (۹۵٪) به همراه سیلژلیسرول ها و مونو ای سیل ژلی سرول ها و اسیدهای چرب آزاد اماآنها ممکنه شامل فسفولیپیدها و استرول های آزاد و استرهای استرول و توکول ها (توکوفرول ها و توکوترینول ها) و الکل های تری تر پن ،هیدروکربن ها و ویتامین های محلول در چربی ها نیز می باشند[5].روغن آفتاب گردان یکی از مهم ترین روغن های متداول است که در بعضی کشورها نسبت به روغن سویا دانه کتان و پالم ارجحیت دارد .روغن آفتاب گردان چهارمین منبع عظیم روغن

www.SID.ir

Archive of SID

بعد از روغن سویا ،پالم و کانولا در جهان به شمار می رود.تقاضا برای روغن آفتاب گردان از اواسط قزن هجدهم سریعا افزایش پیدا کرد.روغن آفتابگردان متداول برای پخت وپز و پوشش دادن سالاد و مارگارین بسیار عالی است.اما برای تولید مواد غذایی با پایداری بالا نمی توانند به کار بروند چون که پایداری اکسایشی ضعیفی دارند.چربی ها و روغن ها و لیپیدها در اثر حرارت یا ذخیره ای طولانی تخریب می شوند اساسی ترین فرایند تخریب واکنش های اکسیداسیون می باشد[6] .به تعویق انداختن این فرایند اکسیداسیون برای حفاظت مواد غذایی برای تمام اشخاصی که به نحوی در این زنجیره غذایی دخیل هستند (از کارخانه تا مشتری)مهم است. فرایند اکسیداسیون با کمک روش های مختلفی محدود می شود از جمله به کاربردن اکسیژن اضافی ، به کار بردن دماهای پائین تر و غیرفعال سازی آنزیم های دخیل در اکسیداسیون و احیا فشار اکسیژن اضافه در برابر اکسیداسیون اضافه کردن مواد ویژه ای برای جلوگیری از این فرایند است این مواد بازدارنده های اکسیداسیون نامیده می شود اما امروز عمدتا آنتی اکسیدان نامیده می شوند[7]. طبق تعریف هالی ول و گاتریدج عبارت آنتی اکسیدان به موادی گفته می شود به طور قابل توجهی فرایند اکسیداسیون به تعویق می اندازد از این فرایند اکسیداسیون در مقابل سوبسترا جلوگیری می کند.توجهات برای استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی مانند توکوفرول ها و فلاونوئیدها افزایش پیدا کرده است ،عصاره ی رزماری برای حفاظت مواد غذایی در سال های اخیر مورد استفاده قرار گرفته است[8-11]. زیرا که این آنتی اکیدان های طبیعی مشکل سمیت را ندارند در مقابل آنتی اکسیدا ن های سنتزی همچون BHT و پروپیل گالات مسئله ی سمی بودن بسیارمشکل ساز شده است[12-13]. گزارشات نشان داده داست که BHA, BHT می توانند سمی باشند و قیمت تولید بالاتر و بازدهی کمتر آنتی اکسیدان های طبیعی همچون توکروفرول و بالا رفتن آگاهی مشتریان برای مواد محافظت کننده ی اضافه شده به مواد غذایی یک نیاز برای شناسایی منابع طبیعی و ایمن تر به عنوان آنتی اکسیدان درمواد غذایی را فراهم کرده است[14-15]. آنتی اکسیدان های طبیعی گزینه ی بسیار ایده الی برای اضافه کردن به غذاها هستند نه فقط به خاطر خاصیت به دام اندازی رادیکال های آزاد بلکه معتقد هستند که آنتی اکسیدان های طبیعی سالم تر و ایمن تر از آنتی اکسیدان های سنتزی هستند و قابل پذیرش تر از سوی مشتریان می باشد[16].

۲-مواد و روش ها:

روغن آفتابگردان بی بو بدون اضافه کردن هرگونه محافظت کننده از کارخانه فریکو تهیه شد. همه مواد شیمیایی از شرکت مرک گرفته شده است، ۲و۲ دای فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما – آلدریچ تهیه شده است.دستگاه اسپکتروسکوپی استفاده شده مدل Unicam GENESYS 10uvبرای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی به کار برده شد. آنتی اکسیدان های طبیعی نیز از عصاره ی به دست آمده از پوست درخت اکالیپتوس از کارخانه ی فریکو فراهم شد.

۳-تهیه وآنالیز آنتی اکسیدان های طبیعی:

آنتی اکسیدانهای طبیعی با بکار بردن پوست درخت اکالیپتوس بدست آمد پوست درخت اکالیپتوس خشک شده و سپس برای تهیه نمونه های مورد آزمایش نهایی مورد استفاده قرار گرفت حلال های متانول و اتانول برای استخراج عصاره های پوست درخت اکالیپتوس به کار رفت.یک محلول با مخلوط کردن ۱۰گرم پودر پوست اکالیپتوس با ۱۰۰میلی لیتر حلال مخلوط می شود و به مدت ۲۴ ساعت با همزن هم می خورد.به محلول اجازه می دهیم دو فاز شود و بعد با کاغذ واتمن صاف می کنیم این محلول را یک شب تا صبح در آون در دمای 40^0C میگذاریم تا حلال آن کاملا حذف شود.

۳-۱-محتوای تام فنول:

محتوای تام فنول عصاره ی گیاهان با به کار بردن روش فولین سیو کالتیو (FCR) طبق روش کار گزارش شده [17] با برخی اصلاحات انجام شد . برای اندازه گیری محتوای تام فنولی محلول استاندارد گالیک اسید در غلظت های مختلف ۵-۸۰ تهیه شد و منحنی استاندارد محتوای تام فنولی در اکی والان های گالیک اسید(GAE) تهیه شد. ۰,۰۵ تا ۰,۱گرم از نمونه وزن شد و در الکل حل شده در بالن ۲۵میلی لیتر به حجم می رسانیم از این محلول نمونه ۱,۸ میلی لیتر محلول به بالن ته گرد دیگر منتقل کردیم با ۳۰۶ میلی لیتر محلول ۱۰٪ آبی FCR و ۱۴۰۶ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۱۰۰ میلی مولار مخلوط می شود .برای ۲ ساعت در دمای اتاق برای رشد قرار می گیرد بعد۲ ساعت جذب در برابر بلانک (الکل) در طول موج ۷۶۵ نانو متر خوانده می شود.

۳-۲-اندازه گیری فعالیت به دام اندازی رادیکال DPPH:

روش دای فنیل پیکریل هیدرازیل به عنوان یک روش ساده و سریع و راحت براساس قطبیت نمونه ها برای به دام اندازی این رادیکال برای بسیاری از نمونه ها به کار می رود.(Kolev etai,.2001)

DPPH یک رادیکال آزاد مناسب در محلول متانولی و به فرم اکسید می باشد این رادیکال در طول موج ۵۲۰ نانومتر حداکثر جذب را دارد.(Molyneux-2004).هنگامی محلول دای فنیل پیکریل هیدرازیل با ماده ای مخلوط شود که اتم هیدروژن را در اختیار این رادیکال قرار

www.SID.ir

Archive of SID

دهد این رادیکال تبدیل به فرم احیا شده می شود و رنگ بنفش کاهش پیدا می کند.قدرت به دام اندازی این رادیکال با روش Shimada محاسبه می شود [18]. قدرت به دام اندازی آنتی اکسیدان عصاره های روغنی با روش دای فنیل پیکریل هیدرازیل اندازه گیری می شود ،۲۰تا ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره ی روغنی خالص با ۵ میکرو لیتر محلول ۰/۴۰۰٪ متانولی DPPH مخلوط می شود و۳۰ دقیقه بعد از مخلوط شدن جذب آن را درطول موج ۵۱۷ نانومتر با اسپکترفتومتر GENESYS اندازه گیری می شود .درصد بازدارندگی از فرمول زیر محاسبه می شود:

$$\%inhibition=(1-A/A_0)*100$$

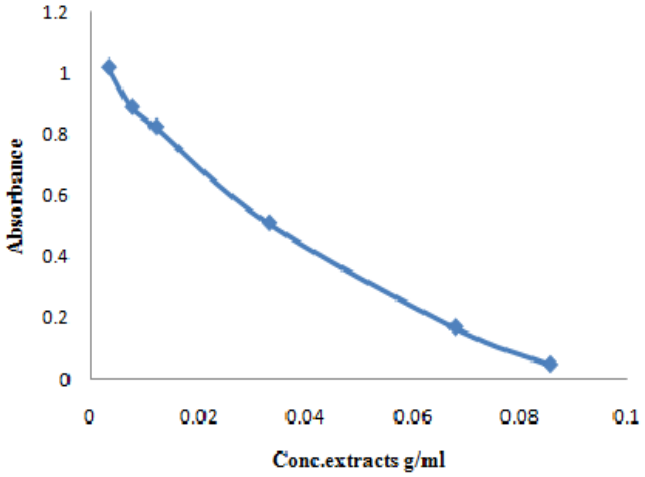
A_0 جذب محلول DPPH بدون عصاره روغنی

A: جذب محلول DPPH با عصاره روغنی بعد از ۳۰ دقیقه

فعالیت به دام اندازی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل به طور گسترده ای برای فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های گیاهی به کار می رود. جدول ۱ و ۲ قدرت آنتی اکسیدانی عصاره ها ی متانولی و اتانولی پوست درخت اکالیپتوس با به کار بردن دای فنیل پیکریل هیدرازیل(DPPH) نشان می دهد.

جدول ۱: قدرت به دام اندازی دای فنیل پیکریل هیدرازیل برای پوست سبزیجات در عصاره ی متانولی

جذب	غلظت عصاره گرم /میلی لیتر
۱,۰۲۰	۰,۰۰۳۲
۰,۸۸۹	۰,۰۰۷۵
۰,۸۲۴	۰,۰۱۲۰
۰,۵۱۰	۰,۰۳۳۱
۰,۱۶۹	۰,۰۶۷۸
۰,۰۴۷	۰,۰۸۵۶

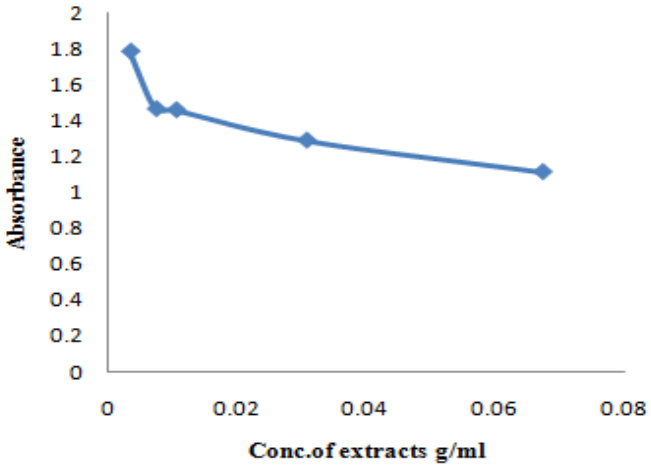


شکل ۱: قدرت به دام اندازی دای فنیل پیکریل هیدرازیل برای پوست سبزیجات در عصاره ی متانولی

جدول ۲: قدرت به دام اندازی دای فنیل پیکریل هیدرازیل برای پوست سبزیجات در عصاره ی اتانولی

www.SID.ir

جذب	غلظت عصاره گرم/میلی لیتر
۱,۷۸۹	۰,۰۰۳۵
۱,۴۶۶	۰,۰۰۷۵
۱,۴۶۰	۰,۰۱۰۶
۱,۲۸۹	۰,۰۳۰۸
۱,۱۱۲	۰,۰۶۷۴



شکل ۲: قدرت به دام اندازی دای فنیل پیکریل هیدرازیل برای پوست سبزیجات در عصاره ی اتانولی

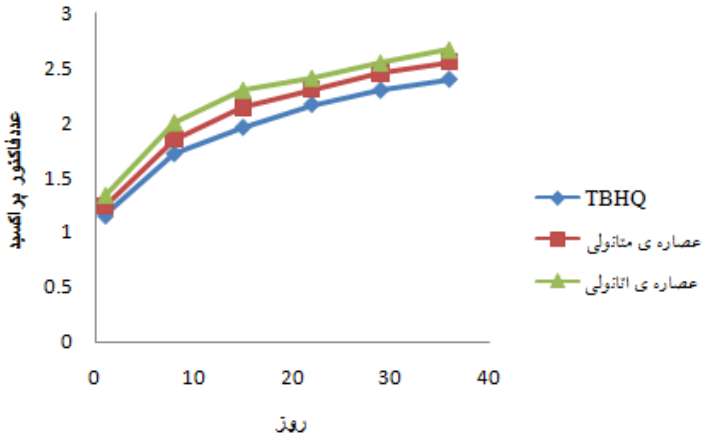
۳-۳-تاثیر روی مقدار پراکسید:

با اندازه گیری پراکسیدها و هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در طی مراحل اولیه اکسیداسیون چربی مقدار پراکسید اندازه گیری می شود. مقدار پراکسید یکی از متداول ترین تست ها برای اندازه گیری اکسیداسیون روغن ها وچربی ها است. برای این درجه اکسیداسون روی نمونه های روغن آفتابگردان اندازگیری اندیس پراکسید در عدم حضور و حضور آنتی اکسیدان ها در دمای محیط در ۳۶ روز اندازه گیری می شود. اثر آنتی اکسیدانهای مختلف به ترتیب در جدول و شکل ۳ آورده شده است.

جدول۳: مقایسه اعداد پراکسید عصاره های اتانولی و متانولی اکالیپتوس با TBHQ

روز	۱	۸	۱۵	۲۲	۲۹	۳۶
TBHQ ۱۰۰پی پی ام	۱/۱۵	۱/۷۲	۱/۹۶	۲/۱۷	۲/۳	۲/۴
عصاره ی متانولی اکالیپتوس ۲۰۰۰پی پی ام	۱/۲۴	۱/۸۵	۲/۱۴	۲/۳۰	۲/۴۵	۲/۵۵
عصاره ی اتانولی اکالیپتوس ۲۰۰۰پی پی ام	۱/۳۳	۲	۲/۳	۲/۴۱	۲/۵۵	۲/۶۷

www.SID.ir



شکل۳: مقایسه اعداد پراکسید عصاره های اتانولی و متانولی اکالیپتوس با TBHQ

۳-۴-تاثیر روی اسیدیته (اسیدهای چرب آزاد):

اسیدهای چرب آزاد یکی از مهم ترین معیارهای کیفیت روغن ها و چربی ها در هر مرحله از فرایند می باشد . بازده روغن های بی بو اندازه گیری شده و به عنوان معیاری برای کنترل سایر فرایندها به کار می رود. در چربی خام مقدار اسیدهای چرب آزاد از روی میزان روغنی که در طی مراحل تصفیه طراحی شده برای رفع اسیدهای چرب از دست می رود تخمین زده می شود.

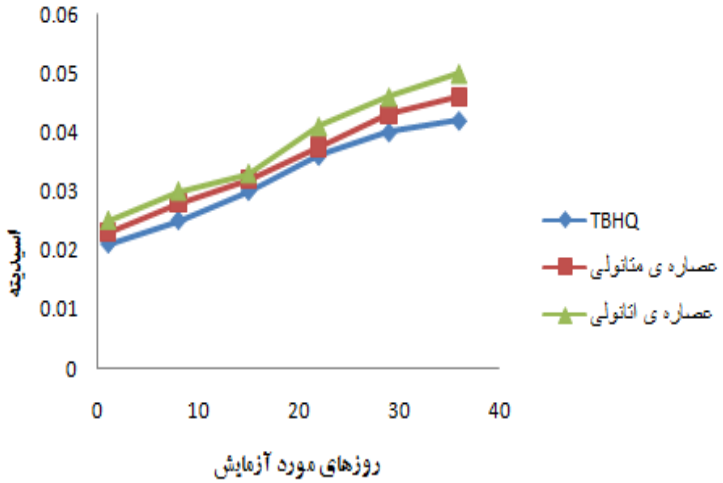
در چربی های تصفیه شده سطح بالای اسیدیته به معنی تصفیه ی ضعیف چربی یا شکست چربی بعد از ذخیره یا استفاده است. در جدول و شکل ۴ کنترل اسیدیته روغن آفتابگردان در حضور TBHQ به عنوان آنتی اکسیدان سنتزی و عصاره ی متانولی و اتانولی پوست درخت اکالیپتوس میبا شد.

جدول۴: مقایسه اعداد اسیدیته عصاره های اتانولی و متانولی اکالیپتوس با TBHQ

روز	۱	۸	۱۵	۲۲	۲۹	۳۶
TBHQ ۱۰۰پی پی ام	۰/۰۲۱	۰/۰۲۳	۰/۰۲۵	۰/۰۲۷	۰/۰۳۲	۰/۰۳۷
عصاره ی متانولی اکالیپتوس ۲۰۰۰پی پی ام	۰/۰۲۳	۰/۰۲۸	۰/۰۳۲	۰/۰۳۷۵	۰/۰۴۳	۰/۰۴۶
عصاره ی اتانولی اکالیپتوس ۲۰۰۰پی پی ام	۰/۰۲۵	۰/۰۳۰	۰/۰۳۳	۰/۰۴۱	۰/۰۴۶	۰/۰۵

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۴: مقایسه اعداد اسیدیته عصاره های اتانولی و متانولی اکالیپتوس با TBHQ

۴-نتیجه گیری و اظهار نظر های آینده:

تفکراتی در مورد عوارض آنتی اکسیدان های سنتزی در غلظت های بالا و مقاومت حرارتی پایین آنها در فرایندهای حرارتی و سرخ کردن محصولات غذایی بوده و استدلال های منطقی برای جایگزینی آنتی اکسیدانهای سنتزی با طبیعی وجود دارد. در طی مطالعات زیادی که در دو دهه ی گذشته صورت گرفته است آنتی اکسیدانهای طبیعی زیادی موجود است که می تواند با منابع ارزان استخراج شود که دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و مقاومت گرمایی بالاتر از نوع سنتزی در روغن های خوراکی مختلف باشند. برای مثال عصاره ی چای سبز که از بقایای چای سبز استخراج می شود که می تواند شروعی برای استفاده از آن به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی مناسب در صنعت غذایی باشد.همچنین عصاره ی رزماری و عصاره های روغنی و بتاکاروتن و توکوفرول ها می توانند بیشتر در آینده استفاده شوند. بسیاری از این مطالعات نشان می دهد که امکان استخراج و کاربرد آنتی اکسیدانهای طبیعی به جای نوع سنتزی در صنایع روغن خوراکی امکان پذیر است.

در مطالعه Yanishieva,marinova(2001) عصاره های چای سبز و رزماری به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی پیشنهاد شده است. محققان به این نتیجه رسیدند که احتمال کم شدن سرطان با به کار بردن آنتی اکسیدانها ی طبیعی وجود دارد .در دهه ی گذشته تمرکز عمده ی مطالعات در این زمینه برای مقدمات ورود آنتی اکسیدان های طبیعی بوده که از منابع گیاهی استخراج می شوند و ایمن هستند.

به عنوان مثال اگر عصاره ی زیتون در غلظت های پایین به کار برده شود نیازی به تحقیقات در مورد اثر سمی بودن این عصاره در بدن نیست. اما در مورد برخی آنتی اکسیدانهای طبیعی که برای اولین بار مورد استفاده قرار می گیرد حتما بایستی از نظر اثرات سمی در بدن مورد آزمایشات متعددی قرار بگیرند.

ممکن است آنتی اکسیدانها ی جانوری هم باشد که آنتی اکسیدانهای مناسبی باشند و بتوانند موثرتر از آنتی اکسیدانهای گیاهی و سنتزی مورد استفاده قرار بگیرند. هنوز مطالعات بیشتری در مورد این آنتی اکسیدانها ی حیوانی و فعالیت آنتی اکسیدانی و مقاومت حرارتی روی روغن های خوراکی بایستی صورت گیرد. اثرات کمک کننده این آنتی اکسیدانهای طبیعی هنوز نیاز به آزمون های بسیاری دارد.

۵-مراجع:

[1]. Péririn JL : Détermination de l'Altération. In : Karleskind A Ed Lavoisier Manuel des corps gras 1992,1015.
[2] Thyrion F.C, CRC press, Boca Raton, 1999, 268.
[3] Oussalah M, Caillet S, Salmiéri S, Saucier L, Lacroix M, Journal of food Protection, 2006, 69 (10), 2364.
[4] Burt, S, a review. International Journal of Food Microbiology, 2004, 94, 223-253.
[5] Thyrion F.C, CRC press, Boca Raton, **1999**, 268.
[6]. Gunstone F D (2004) Vegetable Oils In Food Technology: Composition, Properties and Uses. (2nd ed.). USA
[7]. Yanishlieva N, Pokorny J, Gordon M (2001) Antioxidants in Food: Practical Applications. (1st edn), Cambridge, USA.
[8]. Bruni R, Muzzoli M, Ballero M, Loi MC, Fantin G, et al. (2004) Tocopherols, fatty acids and sterols in seeds of four Sardinian wild Euphorbia species. Fitoterapia

www.SID.ir

Archive of SID

75: 50-61.
[9]. Frutos MJ, Hernandez-Herrero JA (2005) Effects of rosemary extract (Rosmarinus officinalis) on the stability of bread with an oil, garlic and parsley dressing. Food Science and Technology-LWT 38: 651–655.
[10]. Hras AR, Hadolin M, Knez Z, Bauman D (2000) Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α-tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. Food Chem 71: 229-233.
[11]. Williams RJ, Spencer JPE, Rice-Evans C (2004) Flavonoids: Antioxidants or signalling molecules? Free Radical Biology and Medicine 36: 838–849.
[12]. Amarowicz R, Naczk M, Shahidi F (2000) Antioxidant activity of various fractions of non-tannin phenolics of canola hulls. J Agri Food Chem 48: 2755–2759.
[13]. Aruoma OI, Halliwell B, Aeschbach R, Loligers J (1992) Antioxidant and prooxidant properties of active rosemary constituents: Carnosol and carnosic acid. Xenobiotica 22: 257–268
[14]. Sherwin ER (1990) Antioxidants. In A. L. Branen, P. M. David- son & S. Salminen, Food antioxidants. New York: Marcel Dekker Inc.
[15]. Wanasundara UN, Shahidi F (1998) Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. Food Chem 63: 335-342.
[16] Chu YH, Hsu HF (1999) Effects of antioxidants on peanut oil stability. Food Chem 66: 29-34.
[17] Singleton VL. Orthofer R. lamuela-Raventos RM (1999) Analysis of total phenols and 260 other oxidation substrates and antioxidants by mean of Folin – Ciocalteu reagent . Methods in Enzymology 299 ;152-178
[18] K. Schimada, K. Fujikawa, K. Yahara, T. Nakamura, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40, 945–948.
[19] .Mede A,Lamen C.E, Romito M, millogo J,Nacoulma O.G food Chem ,2005 ,91.571

www.SID.ir