نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۵ شماره ۴/ سال ۱۳۹۴

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تعیین کمی و کیفی ترکیبات فنولیک روغن بذر کنگر

فرهاد خانزاده[۱*]، فاطمه رحمانی[۱]، محمد حسین حداد خداپرست[۲] و امیر حسین الهامی راد[۳]

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹٤/۳/۹

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار
[۲] دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
[۳] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار
[*] مسول مکاتبه : E-mail: farhadkanzadeh63@gmail.com

چکیده

روغن بذر کنگر (*Gundelia tournefortii L.*) می‌تواند به عنوان یک روغن خوراکی با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی بالا باشد. جهت مطالعه این مورد، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن بذر کنگر تعیین گردید و اثر آن به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، روغن بذر کنگر به روش غرقابی و با استفاده از اتیل‌اتر استخراج گردید. سپس فعالیت روبش رادیکال‌های آزاد روغن بذر کنگر و فراکسیون‌های آن به روش دی‌پی‌پی‌اچ، اندیس‌های پراکسید و تیوباربیتوریک اسید روغن سویا حاوی روغن کنگر (۵ و ۱۰ درصد) از طریق گرمخانه‌گذاری و هویت کمی و کیفی ترکیبات فنولیک به روش اچ‌پی‌ال‌سی مورد بررسی و اندازه‌گیری قرار گرفتند. نتایج نشان می‌دادند که فعالیت آنتی‌رادیکالی روغن فراکسیونه نشده (TF) ۱۲۳/۲٦±۰/٤٦ µM بوده و این میزان در مورد فاز محلول در متانول (MF) (۸۵/۸۲±۰/۵۸ µM) کمتر از فاز محلول در اتانول (EF) (۵۵/۰۹±۰/۱۸ µM) می‌باشد؛ این در حالی است که این فاکتور در مورد فاز نامحلول در متانول (MLF) و اتانول (ELF) برعکس (به ترتیب ۱۰٦/۲۸±۰/٦٤ µM و ۱٤۵/۷٦±۰/۰۹) می‌باشد. تعیین کمی و کیفی ترکیبات فنولیک به روش اچ‌پی‌ال‌سی، نشان می‌داد که بیشترین ترکیبات فنولیک روغن مذکور، لوتئولین ۷-آگلیکون به میزان ۰/۱۸۷۸ میلی‌گرم/گرم روغن و کلروژنیک اسید به میزان ۰/۱۱۱۳میلی‌گرم/گرم روغن می‌باشند. میزان کل ترکیبات فنولیک روغن بذر کنگر ۰/۷۹۳۵ میلی‌گرم/گرم روغن تعیین گردید. نهایتا بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با در نظر گرفتن اندیس پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در تست گرمخانه‌گذاری به ترتیب در روزهای هشتم و نهم گزارش گردید. نتایج حاصل از این مطالعه بیان می‌کنند که بیشتر ترکیبات فنولیک روغن بذر کنگر در اتانول محلول بوده و شامل لوتئولین ۷-آگلیکون و کلروژنیک اسید می‌باشند.

واژگان کلیدی: ترکیبات فنولیک، روبش رادیکال آزاد، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، کنگر (گاندلیا تورنفورتی)

مقدمه

کنگر با نام علمی *Gundelia tournefortii L.* گیاهی گل دار، بوته مانند و پوشیده از خار است که از جنس گاندلیا و خانواده گل آفتابگردان یا *Asteraceae* (Compositae) (عسگری و همکاران ۱۳۸۷) می‌باشد. کنگر یکی از فراوان‌ترین گیاهان مناطق کوهستانی و استپی ایران است که به آسانی در طبیعت تکثیر می‌شود و تقریبا در کلیه مناطق کوهستانی ایران، به طور خودرو و به فراوانی می‌روید (کریمی و همکاران ۱۳۸۳). در طب سنتی، خواص کنگر را شبیه کنگر فرنگی ذکر نموده و معتقدند که برای کاهش چربی‌های خون به خصوص کاهش کلسترول، مفید می‌باشد (کریمی و همکاران ۱۳۸۳؛ عسگری و همکاران ۱۳۸۷). همچنین بذر خشک کنگر به جهت تاثیری که در درمان بیماری ویتیلیگو[۱] دارد، در طب سنتی شرق اناتولی شناخته شده است. بذر تازه کنگر دارای اثر مدر است (کوره و همکاران ۲۰۰۷).

تاکنون پژوهش‌های مختلفی در خصوص تعیین هویت ترکیبات فنولیک بخش‌های مختلف گیاه کنگر به انجام رسیده است؛ اما هیچکدام وجود این ترکیبات را در روغن بذر کنگر مورد بررسی قرار نداده‌اند. حقی و همکاران، مشتقات اسید کافئیک، شامل نئوکلروژنیک اسید[۲] (3-COA)، کریپتوکلروژنیک اسید[۳] (4-CQA)، کلروژنیک اسید[۴] (5-CQA) و کافئیک اسید (CA) را به روش اچ‌پی‌ال‌سی[۵] در عصاره آبی- متانولی بذر بدون پوست *Gundelia tournefortii L.* تعیین کردند. آنها اعلام نمودند که میزان کلروژنیک اسید در بذر این گیاه، حدودا دو برابر کمتر از این میزان در برگ آن می‌باشد (حقی و همکاران ۲۰۱۱). آنالیز اچ‌پی‌ال‌سی عصاره آبی- متانولی *Gundelia tournefortii L.*، نشان دهنده این بود که عصاره این گیاه فاقد ترکیبات فلاونوئیدی بوده و دو اسید فنولیک عمده آن، کلروژنیک اسید و کافئیک اسید می‌باشد (حقی و حاتمی ۲۰۱۰). همچنین کوره و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی بخش‌های هوایی و بذر *Gundelia tournefortii L.* را با استفاده از روش تعیین میزان روبش رادیکال‌های آزاد دی‌پی‌پی‌اچ[۶] ارزیابی نمودند. آنها عنوان نمودند که بذرهای این گیاه دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به بخش‌های هوایی آن بوده و میزان کل ترکیبات فنولیک عصاره‌های گیاه *Gundelia tournefortii L.*، خصوصا عصاره‌های بذر آن، دارای همبستگی زیادی با میزان بالای فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد (کوره و همکاران ۲۰۰۷). نتایج بررسی انجام شده توسط ماتئوس و ازکان (۲۰۱۱) بر روی روغن *Gundelia tourneforti L.* نشان می‌داد که میزان کل ویتامین E استخراج شده از این روغن ۵۱/۹ میلی‌گرم به ازاء ۱۰۰ گرم می‌باشد و فراوان‌ترین ایزومر آن آلفا-توکوفرول[۷] (۴۸/۹ میلی‌گرم به ازاء ۱۰۰ گرم) و گاما-توکوفرول[۸] (۱ میلی‌گرم به ازاء ۱۰۰ گرم) می‌باشد.

نقش آنتی‌اکسیدان‌ها در روغن‌ها، جهت پایدارسازی اسیدهای چرب آزاد مهم می‌باشد (سیکس ۱۹۹٤؛ اسپین و همکاران ۲۰۰۰). فعالیت آنتی‌اکسیدانی و وجود ترکیبات فنولیک در روغن‌ها قبلا به طور گسترده‌ای مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است (اسپین و همکاران ۲۰۰۰؛ کاراسکو-پانکوربو و همکاران ۲۰۰۵؛ سایگر و همکاران ۲۰۰۸).

روش‌های روبش رادیکال‌های آزاد، قابلیت نسبی ترکیبات آنتی‌اکسیدان را در روبش رادیکال‌های سنتتیک یا طبیعی در مقایسه با پتانسیل آنتی‌اکسیدانی یک ترکیب آنتی‌اکسیدان استاندارد اندازه‌گیری می‌نمایند

[۱] Vitiligo (لک و پیس: یک اختلال تولید رنگدانه است که در آن ملانوسیت‌ها در قسمت‌هایی از پوست، غشاهای مخاطی و شبیکیه تخریب می‌شوند)

[2] Neochlorogenic acid
[3] Cryptochlorogenic acid
[4] Chlorogenic Acid
[5] HPLC
[6] DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
[7] α-tocopherol
[8] γ-tocopherol

(زاپوروژتس و همکاران ۲۰۰٤). رایج‌ترین رادیکال آزاد سنتتیک مورد استفاده در این روش‌ها، رادیکال آزاد دی‌پی‌پی‌اچ می‌باشد. این روش، آسان و سریع بوده و به هیچ سوبسترای نیازمند نیست (باندونینی و همکاران ۲۰۰۲؛ ننادیس و سیمیدو ۲۰۰۲؛ ماتسورا ۲۰۰۳؛ آمارووپچ و همکاران ۲۰۰۳؛ پارک و همکاران ۲۰۰٤). با توجه به اطلاعات ما و فارغ از مطالعات انجام شده در خصوص فعالیت آنتی‌رادیکالی ترکیبات موجود در روغن‌ها، تاکنون هیچ مطالعه‌ای در خصوص تعیین خاصیت آنتی‌رادیکالی روغن بذر *Gundelia tournefortii L.* و فراکسیون‌های آن به انجام نرسیده است.

هدف مطالعه کنونی، بررسی فعالیت روبش رادیکال‌های آزاد روغن بذر کنگر (*Gundelia Tournefortii L.*) و فراکسیون‌های این روغن به عنوان معیاری از میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن به روش دی‌پی‌پی‌اچ، پایش اندیس‌های پراکسید و تیوباربیتوریک اسید از طریق گرمخانه‌گذاری، بررسی روند تاثیر مقادیر متفاوت روغن بذر کنگر در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا تصفیه شده و بدون آنتی‌اکسیدان و نهایتا تعیین هویت کمی و کیفی ترکیبات فنولیک این روغن به روش اچ‌پی‌ال‌سی می‌باشد.

مواد و روش ها

مواد شیمیایی

اتیل‌اتر، متانول، اتانول، اتیل‌استات، بی‌اچ‌تی[1]، اسید فسفریک (H_3PO_4)، کلروفرم، ۲- تیوباربیتوریک اسید[2]، اسید استیک گلایسال، ایزواکتان، یدور پتاسیم، یدات پتاسیم، تیوسولفات سدیم، نشاسته، اسید کلریدریک و استونیتریل[3] از شرکت مرک (دارمستادت، آلمان)[4]، رادیکال آزاد دی‌پی‌پی‌اچ و اسید سیرینجیک[5] از شرکت سیگما-آلدریچ (سانت لوئیس، آمریکا)[6] و روغن سویا تصفیه شده و بدون آنتی‌اکسیدان از شرکت سه‌گل تهیه گردید. در تمام مراحل آزمون‌ها از آب دوبار تقطیر استفاده شد.

روغن کشی

بذر کنگر در تیر ماه سال ۱۳۹۰ به صورت رندوم و بوسیله دست از غوزه‌های بالغ (رنگ قهوه‌ای روشن بذر نشان‌دهنده بلوغ آن می‌باشد)، در منطقه‌ای به وسعت ٤۰۰ مترمربع واقع در شهرستان گلمکان (٤۰ کیلومتری غربی مشهد، استان خراسان رضوی) جمع‌آوری گردید. سپس بذرها به مدت ٤۸ ساعت و به صورت لایه نازک، به منظور حذف مقادیر جزئی رطوبت موجود در پوسته در سایه نگهداری گردیدند. در مرحله بعد پوسته محکم بذرها به صورت دستی حذف و مغز حاصله تا زمان انجام آزمون در شیشه‌های درب بسته و در یخچال نگهداری شدند (خانزاده و همکاران ۲۰۱۲).

به منظور روغن‌کشی، ابتدا مغزها توسط آسیاب تیغه‌ای خرد شده و سپس با نسبت w/v ۱:۱۰، به مدت ۱۲ ساعت و به حالت غرقابی (به دور از نور) در حلال اتیل‌اتر قرار گرفتند (خانزاده و همکاران ۲۰۱۲). میسلا بدست آمده بوسیله قیف بوخنر و کاغذ واتمن شماره ٤۰ از کیک جداسازی گردیده و سپس حلال موجود با استفاده از تبخیرکننده چرخان تحت خلاء (Heidolph, Germany) در دمای ۳۰°C حذف شد (میسلی و لئو ۱۹۹٦). روغن‌کشی با سه تکرار انجام، راندمان روغن‌کشی به روش گراویمتری[7] (توزین) محاسبه و حذف حلال از طریق بوئیدن تایید گردید (عبدل و همکاران ۲۰۱۲).

فراکسیون‌گیری از روغن

[1] BHT
[2] 2-Thiobarbituric acid
[3] Acetonitrile
[4] Merck (Darmstadt, Germany)
[5] Syringic acid
[6] Sigma-Aldrich (Saint Louis, USA)
[7] Gravimetrically

پنج میلی‌لیتر متانول و یا اتانول به پنج گرم روغن بدست آمده اضافه شد و به مدت یک ساعت به شدت مخلوط گردید. به منظور سهولت در جداسازی متانول و یا اتانول از روغن، مخلوط حاصله را در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ (SIGMA 3-18KS, Germany) کرده و سپس در دمای ۲۵°C- به مدت یک ساعت نگهداری گردید. پس از جمع‌آوری فراکسیون‌ها، مراحل فوق مجددا در مورد باقی‌مانده حاصل از مرحله نخست تکرار و بخش باقی‌مانده نیز جداسازی شد (اسپین و همکاران ۲۰۰۰).

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

آزمون دی‌پی‌پی‌اچ

منحنی استاندارد

سه میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف (۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۵۰ و ۹۰ میکرومولار) بی‌اچ‌تی با یک میلی‌لیتر محلول ۲۰۰ میکرومولار دی‌پی‌پی‌اچ در متانول مخلوط گردید. مخلوط حاصله به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۰°C گرمخانه‌گذاری شد و جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مرئی/فرابنفش[1] (UV 120-2, Shimadzu, Kyoto, Japan) در طول موج ۵۱۷ نانومتر، در محیطی نیمه تاریک و در یک سل یک سانتی‌متری از جنس کوارتز قرائت گردید. متانول خالص به عنوان شاهد و جهت کالیبراسیون دستگاه مورد استفاده قرار گرفت. میزان فعالیت روبش رادیکال‌آزاد با استفاده از رابطه ذیل محاسبه گردید.

(معادله شماره یک)

$$\%RSA= ((OD\ Control- OD\ Sample)/OD\ Control) \times 100$$

که OD Control میزان جذب نمونه شاهد، Sample OD میزان جذب نمونه و RSA% میزان فعالیت روبش رادیکال آزاد است که بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین درصد بازدارندگی می‌باشد (شارما و بات ۲۰۰۹).

فعالیت روبش رادیکال آزاد فراکسیون‌های متانولی (MF)[2] و اتانولی(EF)

روش مورد استفاده در این بخش قبلا تشریح گردیده است (شارما و بات ۲۰۰۹). حجم‌های مختلف از فراکسیون‌های متانولی و یا اتانولی به یک میلی‌لیتر محلول ۲۰۰ میکرومولار دی‌پی‌پی‌اچ افزوده شده و حجم محلول به ترتیب با استفاده از متانول و یا اتانول به چهار میلی‌لیتر رسید. سپس مخلوط حاصل در دمای ۳۰°C به مدت ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری شده و جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مرئی/فرابنفش در طول موج ۵۱۷ نانومتر، در محیطی نیمه تاریک و در یک سل یک سانتی‌متری از جنس کوارتز قرائت گردید. متانول خالص به عنوان شاهد و جهت کالیبراسیون دستگاه مورد استفاده قرار گرفت. نمونه کنترل نیز به روش مشابه اما بدون افزودن فراکسیون متانولی و یا اتانولی تهیه گردید. میزان فعالیت روبش رادیکال آزاد به صورت اکیوالان‌های[3] بی‌اچ‌تی بیان گردید. همچنین میزان میزان آراس‌ای به صورت غلظت دی‌پی‌پی‌اچ (میکرومولار) حذف شده توسط حجم‌های مختلف (میکرولیتر) فراکسیون‌های روغن محاسبه گردید (اسپین و همکاران ۲۰۰۰).

فعالیت روبش رادیکال آزاد روغن کنگر (TF[4]) و فراکسیون‌های لیپیدی (MLF/ELF) آن

در روش‌های مرسوم دی‌پی‌پی‌اچ، عمدتا متانول به عنوان حلال مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما این حلال قادر به انحلال روغن نمی‌باشد. بدین منظور در گام نخست می‌بایست مناسبترین حلال را هم برای روغن و هم برای

[1] Spectrophotometer UV/visible

[2] Methanolic fraction

[3] Equivalent

[4] Total fat/oil

دی‌پی‌پی‌اچ انتخاب نمود. مطالعات اولیه نشان می‌دادند که دی‌پی‌پی‌اچ، روغن و فراکسیون‌های آن هر سه، در حلال اتیل‌استات حل می‌گردند (شارما و بات ۲۰۰۹). همچنین مشخص شده است که رادیکال‌های آزاد در هر دو حلال متانول و اتیل‌استات دارای جذب مولی (M^{-1} cm^{-1} ۱۲۵۰۰ در ۵۱۵ نانومتر) و پایداری یکسانی می‌باشند و رادیکال آزاد در غیاب ترکیبات آنتی‌اکسیدان به مدت بیشتر از یک ساعت پایدار می‌باشد (برند-ویلیامس و همکاران ۱۹۹۵).

حجم‌های مختلف روغن و یا فراکسیون‌های لیپیدی، به یک میلی‌لیتر محلول اتیل‌استاتی دی‌پی‌پی‌اچ با غلظت ۲۰۰ میکرومولار افزوده شد و حجم محلول با استفاده از اتیل‌استات به چهار میلی‌لیتر رسید (اسپین و همکاران ۲۰۰۰). سایر مراحل، مشابه اقدامات انجام شده در بخش فراکسیون‌های متانولی/اتانولی روغن کنگر انجام گردید. تمامی آزمون‌ها با استفاده از محلول تازه تهیه شده دی‌پی‌پی‌اچ به انجام رسید.

آنالیز کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

در ابتدا یک گرم روغن با ۲۰ میلی‌لیتر مخلوط متانول-آب ((v/v) ۷۰:۳۰) به مدت دو ساعت شدیدا مخلوط گردید. سپس یک میلی‌لیتر اسید سیرینجیک به عنوان استاندارد داخلی به آن افزوده شده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق تحت تیمار التراسوند[1] (50 KW power) قرار گرفت. در مرحله بعد، مخلوط حاصله در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ گردید و فاز رویی پس از عبور از فیلتر استات سلولزی[2] (۰.۴۵ میکرومتر) فیلتر شده و مستقیما به دستگاه اچ‌پی‌ال‌سی تزریق گردید.

دستگاه اچ‌پی‌ال‌سی Younglin Acme 9000 مجهز به ستون LiChrosphere C_{18} RP-100 (۴ µm ID mm ×۴/۶× ۲۵۰mm) در این تست مورد استفاده قرار گرفت.

فاز متحرک (A) آب حاوی ۰/۲% اسید فسفریک (H_3PO_4)، (B) متانول و (C) استونیتریل بود و شستشوی گرادیانی مطابق برنامه جدول ۱ انجام گردید. میزان تزریق ۱۰۰ میکرولیتر بود و شناسایی بوسیله دتکتور فرابنفش[3] مدل YL9120 UV/Vis در طول موج ۲۵۴ نانومتر انجام گردید (Anonymous ۲۰۰۹).

جدول ۱- برنامه شستشوی گرادیانی

ردیف	زمان (دقیقه)	شدت جریان (میلی‌لیتر/دقیقه)	فاز متحرک A %	B %	C %
۱	۰	۱	۹۶	۲	۲
۲	۴۰	۱	۵۰	۲۵	۲۵
۳	۴۵	۱	۴۰	۳۰	۳۰
۴	۶۰	۱	۰	۵۰	۵۰
۵	۷۰	۱	۰	۵۰	۵۰
۶	۷۲	۱	۹۶	۲	۲
۷	۸۲	۱	۹۶	۲	۲

اثر روغن بذر کنگر در جلوگیری از پراکسیداسیون روغن سویا

روغن بذر کنگر در دو سطح ۵ و ۱۰ درصد در داخل شیشه‌های تیره، به روغن سویا تصفیه، رنگبری شده و فاقد آنتی‌اکسیدان افزوده شد و به همراه نمونه شاهد به مدت ۱۳ روز در دمای ۶۰°C گرمخانه‌گذاری گردید. در روزهای ۰، ۴، ۸ و ۱۲ام اندیس پراکسید به عنوان شاخص محصولات اولیه اکسیداسیون و در روزهای ۰، ۵، ۹ و ۱۳ام اندیس ۲- تیوباربیتوریک اسید به عنوان شاخص محصولات ثانویه اکسیداسیون اندازه‌گیری گردیدند.

اندیس پراکسید

طبق استاندارد ایران به شماره ۴۱۷۹ تعیین گردید (موسسه استاندارد ملی ایران ۱۳۷۶).

[1] Ultrasound
[2] Cellulose acetate
[3] UV detector

اندیس تیوباربیتوریک اسید

ابتدا ۳ گرم روغن در ۱۰ میلی لیتر کلروفرم حل شده و سپس ۱۰ میلی‌لیتر محلول کار (محلول ۰/۰۷ ٪ اسید تیوباربیتوریک در آب که با هم حجمش اسید استیک گلاسیال مخلوط شده است) به آن اضافه گردید. مخلوط بدست آمده در ۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه، سانتریفوژ شد. سپس قسمت آبکی آن جدا شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفته و در پایان میزان جذب در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت شد (مهران، ۱۳۵٤). عدد TBA براساس رابطه زیر محاسبه گردید.

(معادله شماره ۲)

$$E_{1\,\mathrm{cm}}^{1\,\mathrm{g}} = \frac{\mathrm{e}}{\mathrm{d.\,a}}$$

که e: جذب نوری اندازه‌گیری شده، d: ضخامت سل نوری و a: وزن نمونه برحسب گرم است (سایدول و همکاران ۱۹۵٤).

آنالیز آماری

مقایسات میانگین با استفاده از نرم افزار IBM SPSS Statistics ۲۰/۰، از طریق آزمون آنووا[1] و تست توکی[2] انجام شد. P<۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شدند.

نتایج و بحث

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

منحنی کالیبراسیون بی‌اچ‌تی

معادله رگرسیون غیرخطی برازش داده شده بین غلظت‌های مختلف بی‌اچ‌تی و مقادیر جذب متناظر محلول دی‌پی‌پی‌اچ در متانول، تحت عنوان معادله شماره سه با ضریب تبیین ۰/۹۹٤ نمایش داده شده است. میزان فعالیت روبش رادیکال آزاد ترکیبات هدف بوسیله روش دی‌پی‌پی‌اچ با روش‌های مختلفی بیان می‌گردد که شامل IC_{50}، نرخ کاهش نسبی یا اکیوالان‌های یک ترکیب مرجع مثل ترولوکس یا بی‌اچ‌تی می‌باشد (لی و همکاران ۲۰۰٦). قبلا IC_{50} ترکیب بی‌اچ‌تی در متانول ٦۰ میکرومولار گزارش شده است (شارما و بات ۲۰۰۹). در این تحقیق میزان IC_{50} ترکیب بی‌اچ‌تی ۵۸/۹ میکرومولار محاسبه گردید که با نتایج گزارش شده قبلی انطباق دارد (رحمانی و همکاران ۱۳۹۳).

(معادله شماره ۳)

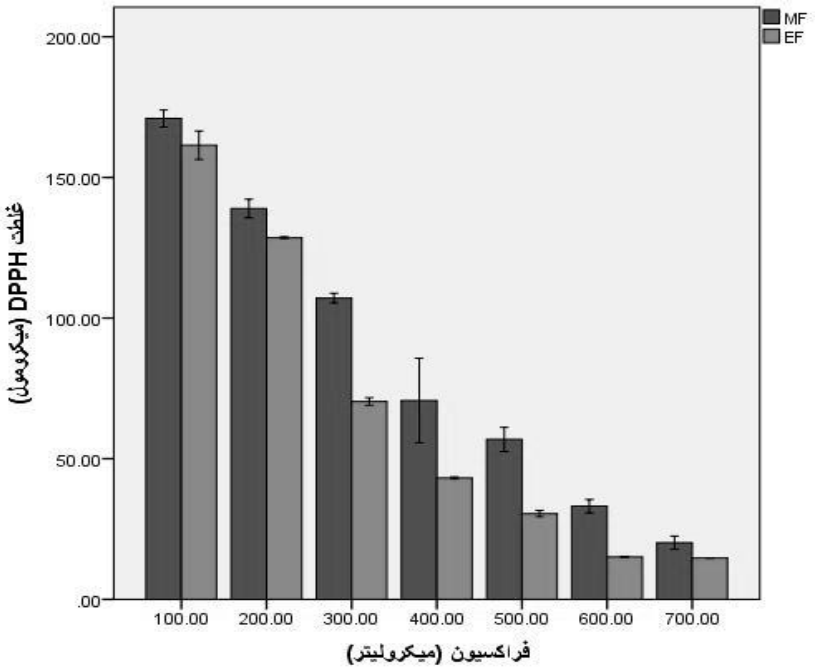
$$Y= x / (0.6243+0.0094x)$$

فعالیت آنتی‌اکسیدانی فراکسیون‌های متانولی و یا اتانولی

میزان فعالیت روبش رادیکال‌های آزاد (آراس‌ای) فراکسیون‌های متانولی و اتانولی در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج حاکی از این می‌باشند که میزان آراس‌ای عصاره اتانولی (EF) روغن بذر کنگر از عصاره متانولی (MF) بیشتر می‌باشد (به ترتیب IC_{50} ۰/۱۸±۵۵/۰۹ میکرومول و ۰/۵۸±۸۵/۸۲ میکرومول). علاوه بر این، نتایج مقایسه میانگین انجام شده نشان می‌داد که اختلاف آنها از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵). علت این پدیده را می‌توان به قطبیت متفاوت حلال‌های مورد استفاده در فراکسیون‌گیری نسبت داد. قطبیت اتانول از متانول کمتر است و این سبب خواهد شد در عصاره اتانولی ترکیباتی با قطبیت‌های کمتر استخراج گردند (نجف‌آبادی ۱۳۸٦).

نجف‌آبادی (۱۳۸٦)، میزان فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره‌های متانولی و اتانولی روغن بذر چای و کنجد را تعیین نمود. وی نتیجه گرفت که میزان فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره اتانولی هر دو روغن از مقدار متناظر عصاره متانولی بیشتر بوده و همچنین این میزان برای هر دو عصاره متانولی و اتانولی روغن کنجد از روغن بذر چای بیشتر می‌باشد (نجف‌آبادی ۱۳۸٦).

[1] ANOVA
[2] Tukey

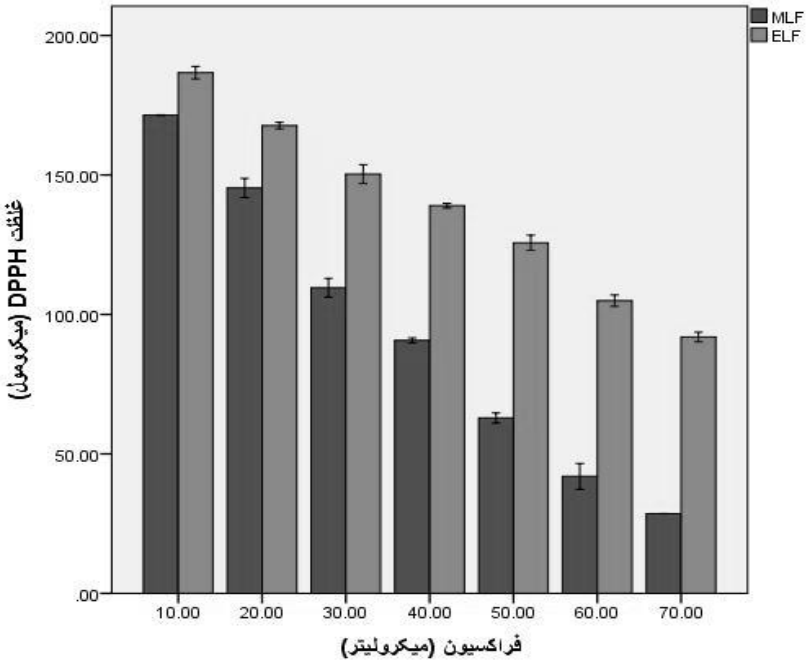


شکل ۱- فعالیت روبش رادیکال آزاد فراکسیون متانولی (MF) و اتانولی (EF)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی فراکسیون‌های لیپیدی (MLF/ELF)

پس از فراکسیون‌های متانولی و اتانولی روغن بذر کنگر، فازهای آبگریز این روغن (فاز نامحلول در متانول و یا اتانول) مورد تست قرار گرفتند. در این مورد اتیل‌استات به منظور انحلال ترکیبات هیدروفوب مورد استفاده قرار گرفت. شکل ۲ نتایج آراس‌ای فراکسیون‌های نامحلول در متانول (MLF) و نامحلول در اتانول (ELF) را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دادند که میزان آراس‌ای فراکسیون نامحلول در متانول (IC_{50} ۱۰۶/۲۸ ±۰/٦٤ میکرومول) از فراکسیون نامحلول در اتانول (IC_{50} ۱٤٥/٧٦ ±۰/۰۹ میکرومول) بیشتر بوده و این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$). بر این اساس، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که فراکسیون‌های لیپیدی روغن بذر کنگر در مقایسه با فراکسیون‌های متانولی و اتانولی آن دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری می‌باشند ($P<۰/۰۵$).

اما اسپین و همکاران (۲۰۰۰) اعلام نمودند که ظرفیت جذب رادیکال آزاد روغن‌های خوراکی مختلف در فراکسیون لیپیدی نسبت به فراکسیون متانولی بیشتر است. آنها میزان آراس‌سی فراکسیون لیپیدی (LF) روغن‌های مختلف را به تفاوت در میزان و نوع توکوفرول آنها نسبت دادند.



شکل ۲- فعالیت روبش رادیکال آزاد فراکسیون نامحلول در متانول (MLF) و نامحلول در اتانول (ELF)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن فراکسیونه نشده (TF)

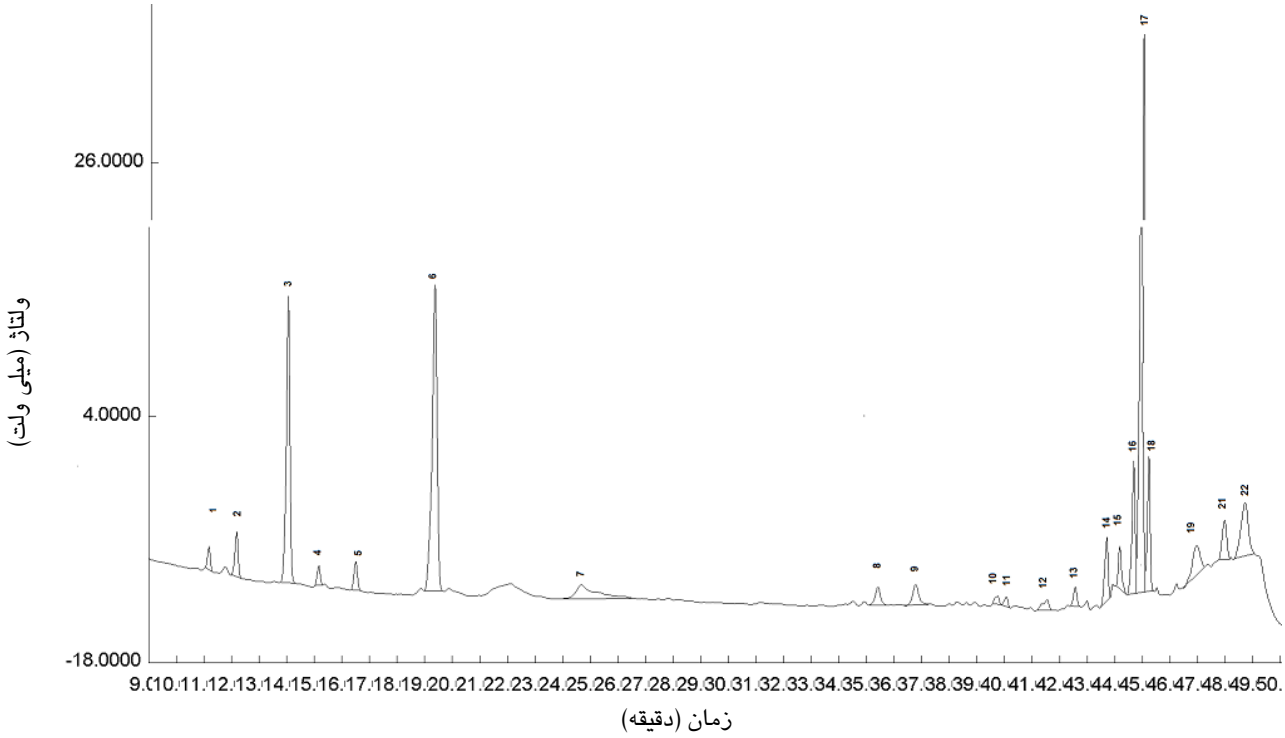
نتایج این پژوهش نشان می‌داد که میزان آراس‌ای روغن فراکسیونه نشده بذر کنگر (IC_{50} ۱۲۳/۲۶ ± ۰/۴۲ میکرومول) از مجموع جبری میزان آراس‌ای فراکسیون‌های متانولی و اتانولی (IC_{50} ۱۹۲/۱ ± ۰/۶ میکرومول) و همچنین مجموع جبری آراس‌ای فراکسیون‌های نامحلول در متانول و یا اتانول (IC_{50} ۲۰۰/۸۵ ± ۰/۲۳ میکرومول) بیشتر می‌باشد. علت این امر را می‌توان به اثر تشدید کنندگی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مختلف در فراکسیون‌های محلول و نامحلول در متانول و اتانول نسبت داد. اسپین و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که میزان آراس‌سی روغن‌ها عمدتا ناشی از نوع و مقدار توکوفرول‌های موجود در آنها می‌باشد. علت این موضوع وجود مقادیر جزئی ترکیبات فنولیک در اکثر روغن‌ها بجز روغن زیتون می‌باشد. میزان آراس‌سی روغن‌های سویا، کلزا، ذرت و بزرک به ترتیب ۱۱۲/۵، ۹۴/۶، ۸۷/۳ و ۸۱/۱ میکرومول گزارش شده است. این در حالی است که این میزان برای فراکسیون لیپیدی این روغن‌ها به ترتیب ۱۱۰، ۵۹/۷، ۸۶/۷ و ۴۶/۹ میکرومول گزارش گردیده است.

جداسازی ترکیبات فنولیک

کلروژنیک اسید و سینارین (۱و۵- دی کافئویل‌کوینیک اسید) دو ترکیب فنولیک عمده در کنگر فرنگی بوده و هر دو از مشتقات اسید کافئیک می‌باشند (شرف‌الدین و همکاران ۲۰۰۷). مطالعات گذشته نشان می‌داد که ترکیبات فنولیک عمده در عصاره‌های برگ کنگر فرنگی به ترتیب مونوکافئویل کوئینیک اسید (۰/۴۸ تا ۴/۲۴٪)، دی‌کافئویل کوئینیک اسید (۰/۰۳ تا ۰/۴۵٪) و فلاونوئید ها (۰/۰۶ تا ۰/۵۲٪) می‌باشند (هاسلر و همکاران ۲۰۰۲). کروماتوگرام اچ‌پی‌ال‌سی ترکیبات فنولیک روغن بذر کنگر در شکل ۳ نشان داده شده است. ترکیبات فنولیک، از طریق مقایسه زمان بازداری هر یک با استاندارد داخلی تعیین مقدار می‌گردند. با توجه به جدول ۲ که نشان دهنده مقدار و زمان بازداری هر یک از ترکیبات فنولیک جدا شده از روغن بذر کنگر می‌باشد، می‌توان دریافت که لوتئولین ۷- آگلیکون با ۰/۱۸۷۸ میلی‌گرم در

هر گرم روغن و زمان بازداری ٤٤/٩٧ دقیقه و اسید کلروژنیک با ۰/۱۱۱۳ میلی‌گرم در هر گرم روغن و زمان بازداری ١٤/٠٧ دقیقه، عمده‌ترین ترکیبات فنولیک این روغن بوده و مقدار کل ترکیبات فنولیک آن ۰/۷۹۳۵ میلی‌گرم به ازاء هر گرم روغن می‌باشد.

حقی و همکاران (۲۰۱۱) نسبت ایزومرهای کافئیک اسید شامل نئوکلروژنیک اسید (٢٥/٦٪، زمان بازداری ٦/٤ دقیقه)، کریپتوکلروژنیک اسید (٢٤/٣٪، با زمان بازداری ١١/٨ دقیقه)، کلروژنیک اسید (٤٢/٢٪، با زمان بازداری ١٢/١ دقیقه) و کافئیک اسید (با زمان بازداری ١٤/٣ دقیقه) را در عصاره‌های آبی-متانولی برگ و بذر کنگر به روش اچ‌پی‌ال‌سی مشخص نمودند. همچنین میزان کل ترکیبات فنولیک عصاره بذر بدون پوست کنگر به روش فولین سیوکالتیو، ٧٦/٣±٢/١ میکروگرم به ازاء هر میلی‌گرم برحسب اکیوالان‌های کلروژنیک اسید تعیین گردید.



شکل ۳- کروماتوگرم ترکیبات فنولیک روغن بذر کنگر

تست گرمخانه گذاری

جدول ۳ عدد پراکسید (برحسب میلی‌اکیوالان گرم در کیلوگرم روغن) را برای تیمارهای مختلف در روزهای ۰، ٤، ۸ و ۱۲ام و جدول ٤ عدد TBA (مقدار مالون دی‌آلدهید موجود در یک کیلوگرم روغن) را برای تیمارهای مختلف در روزهای ۰، ٥، ۹ و ۱۳ام بهمراه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی متناظر نشان می‌دهند. به منظور مقایسه بهتر بین تیمارهای مختلف از شاخص فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مورد اندیس پراکسید و تیوباربیتوریک اسید استفاده شد. شاخص مذکور در مورد اندیس پراکسید با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

(معادله شماره ٤)

$$\text{فعالیت آنتی اکسیدانی} = \frac{\text{اندیس پراکسید (نمونه)} - \text{اندیس پراکسید (شاهد)}}{\text{اندیس پراکسید (شاهد)}} \times 100$$

جدول ۲- ترکیبات فنولیک روغن بذر کنگر

ردیف	ترکیب	مقدار (میلی‌گرم/هر گرم روغن)	زمان بازداری (دقیقه)
۱	فلاونوئید شناخته نشده	۰/۰۰۶۸	۱۱/۱۸۳۳
۲	فلاونوئید شناخته نشده	۰/۰۱۵۷	۱۲/۱۸۳۳
۳	کلروژنیک اسید	۰/۱۱۱۳	۱۴/۰۶۶۷
٤	کافئیک اسید	۰/۰۱۰۶	۱۶/۵۰۰۰
۵	سیرینجیک اسید (استاندارد داخلی)	۰/۱۶۷۸	۱۹/۳۸۳۳
٦	پارا-کوماریک اسید	۰/۰۳۱۶	۲٤/٦۸۳۳
۷	فرولیک اسید	۰/۰۱۰۳	۳۵/٤۱٦۷
۸	ارتو-کوماریک اسید	۰/۰۱۳۰	۳٦/۷۸۳۳
۹	پینورسینول	۰/۰۰۳۸	۳۹/۷۵۰۰
۱۰	سینامیک اسید	۰/۰۰۷۱	٤۲/۵٦٦۷
۱۱	لوتئولین	۰/۰۲۳٦	٤۳/۷۱٦۷
۱۲	آپیجنین	۰/۰۱٤٦	٤٤/۱۸۳۳
۱۳	لوتئولین -۷- آگلیکون	۰/۱۸۷۸	٤٤/۹٦٦۷
۱٤	سینارین	۰/۰۲٤۲	٤٦/۹۳۳۳
۱۵	فلاونوئید شناخته نشده	۰/۰۱۹٤	٤۷/۹۸۳۳
۱٦	فلاونوئید شناخته نشده	۰/۰٤۳۲	٤۸/۷۱٦۷

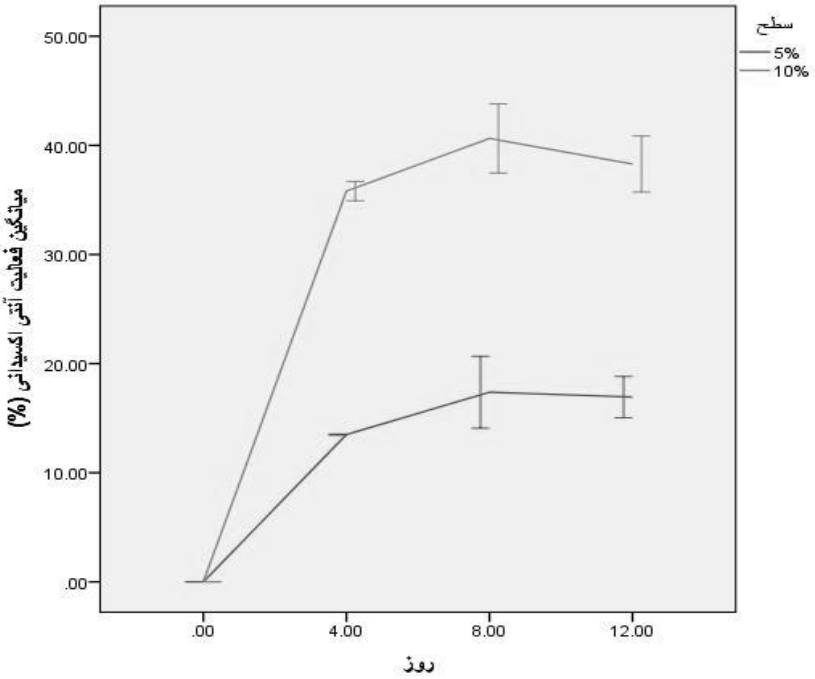
بررسی اثر سطح روغن کنگر افزوده در به تاخیر انداختن پراکسیداسیون روغن سویا

نتایج بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی حاصل از عدد پراکسید، حاکی از آن است که اثر روز، سطح روغن افزوده شده و اثر متقابل این دو (در سطح ۵٪ روغن کنگر)، فقط در روزهای ۰، ٤ و ۸ معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$). مورد اخیر در سطح ۱۰٪ روغن کنگر افزوده شده در تمامی روزها معنی‌دار گزارش گردید ($P<۰/۰۵$). روغن بذر کنگر در هر دو سطح (۵ و ۱۰ درصد) در به تاخیر انداختن پراکسیداسیون روغن سویا موثر بوده و با افزایش سطح روغن کنگر افزوده شده از ۵٪ به ۱۰٪، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در به تاخیر انداختن پراکسیداسیون روغن سویا به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. از نظر آماری، تغییر بین زمان‌های اندازه‌گیری (۰، ٤، ۸ و ۱۲ام) در فعالیت آنتی‌اکسیدانی اثر معنی‌داری داشته ($P<۰/۰۵$)، به طوری که تا روز هشتم روند فعالیت آنتی‌اکسیدانی، افزایشی و از روز هشتم تا روز ۱۲ام این روند رو به کاهش بوده و بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روز هشتم مشاهده گردید (جدول ۳ و شکل ٤).

جدول ۳- اندیس پراکسید تیمارها و مقادیر متناظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن بذر کنگر در روزهای مختلف*

پارامتر	سطح روغن کنگر (٪)	روز			
		۰	٤	۸	۱۲
اندیس پراکسید (میلی اکیوالان گرم در کیلوگرم روغن)	۰	۰/٦۹٥±۰/۰۰	۱۲/۱±۰/۱۷	۷٤/۱±۱/۰۱	۹۷/۷±۱/٤۷
	٥	۰/٦۹٥±۰/۰۰	۱۰/٥±۰/۱٥	٦۱/۲±۲/۰٥	۸۱/٦±۲/۱٥
	۱۰	۰/٦۹٥±۰/۰۰	۷/۸±۰/۰٥	٤٤±۱/۷۷	٦۰/۳±۲/۱٦
فعالیت آنتی‌اکسیدانی	٥	۰/۰۰a	۱۳/٥±۲/۳٥b	۱۷/۳٦±۳/۷۰d	۱٦/۹۲±۲/۱٤d
	۱۰	۰/۰۰a	۳٥/۸۱±۱/۲۳c	٤۰/٦۲±۳/۱٤e	۳۸/۲۸±۱/٤۰f

*اعداد میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بوده و حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار (P<۰/۰٥) می‌باشد.



شکل ۴- رونده پیشرفت فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عدد پراکسید

بررسی اثر سطح روغن کنگر افزوده در به تاخیر انداختن تولید محصولات ثانویه روغن سویا

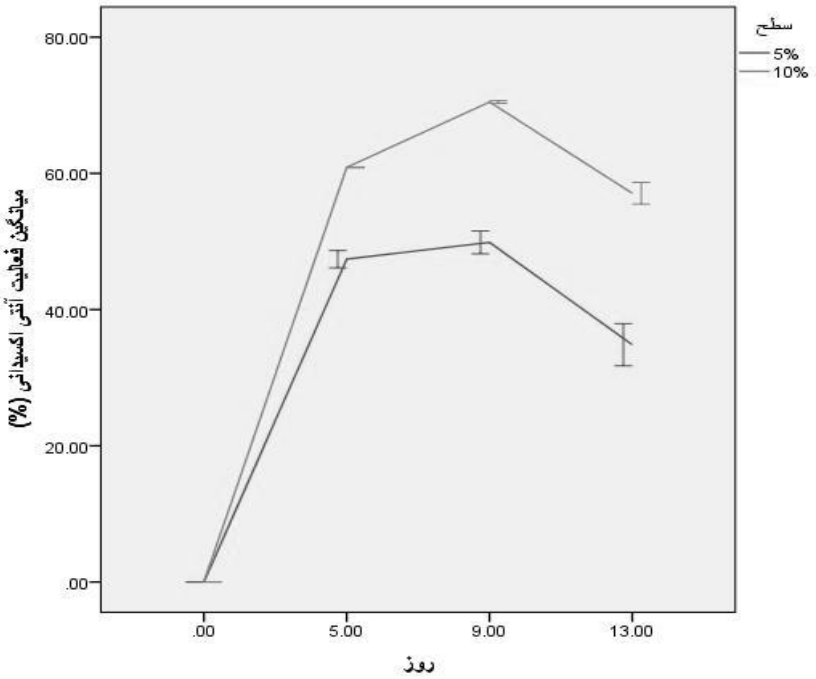
عدد پراکسید به تنهایی مشخص کننده اکسیداسیون روغن نمی‌باشد؛ لذا عدد TBA (مقدار مالون دی‌آلدهید موجود در یک کیلوگرم روغن) نیز به منظور مشخص شدن روند تاثیر روغن کنگر افزوده شده در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا طی روزهای ۰، ٥، ۹ و ۱۳ام اندازه‌گیری گردید. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مورد اندیس تیوباربیتوریک بطور مشابه با اندیس پراکسید از طریق قرار دادن مقادیر متناظر در معادله شماره ٤ محاسبه می‌گردد.

جدول ۴- اندیس TBA تیمار ها و مقادیر متناظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن بذر کنگر در روزهای مختلف*

پارامتر	سطح روغن کنگر (٪)	روز			
		۰	۵	۹	۱۳
اندیس TBA (مالون دی‌آلدهید در یک کیلوگرم روغن)	۰	۰/۰۲±۰/۰۰	۰/۱۵±۰/۰۰	۰/۲٤±۰/۰۰	۰/٤±۰/۰۰
	۵	۰/۰۲±۰/۰۰	۰/۰۸±۰/۰۰	۰/۱۲±۰/۰۰	۰/۲۵±۰/۰۰
	۱۰	۰/۰۲±۰/۰۰	۰/۰٦±۰/۰۰	۰/۰۷±۰/۰۰	۰/۱۷±۰/۰۰
فعالیت آنتی‌اکسیدانی	۵	۰/۰۰a	٤۷/٤۰±۰/۹۰b	٤۹/۸٦±۱/۵٦d	۳٤/۸٤±۰/۸۷f
	۱۰	۰/۰۰a	٦۰/۸۸±۰/۱۸c	۷۰/٤۸±۰/۵۱e	۵۷/۰۹±۱/۰۰g

*اعداد میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بوده و حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشد.

با توجه به جدول ۵ می‌توان دریافت که اثر روز، سطح روغن افزوده شده و اثر متقابل این دو، در مجموع هر سه زمان معنی‌دار است (P<۰/۰۵). این مسئله بیانگر این مطلب است که روغن بذر کنگر در هر دو سطح (۵ و ۱۰ درصد) در به تاخیر انداختن تولید محصولات ثانویه روغن سویا موثر است. همچنین می‌توان دریافت که با افزایش سطح روغن (از ۵ به ۱۰ درصد)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن بذر کنگر در به تاخیر انداختن تولید محصولات ثانویه روغن سویا به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. گفتنی است از نظر آماری، تغییر بین زمان‌های اندازه‌گیری (۰، ۵، ۹ و ۱۳ام) در فعالیت آنتی‌اکسیدانی اثر معنی‌داری داشته (P<۰/۰۵)، به‌طوری که تا روز نهم روند فعالیت آنتی‌اکسیدانی، افزایشی و از روز نهم تا روز ۱۳ام این روند رو به کاهش بوده و بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روز نهم مشاهده شد (جدول ٤ و شکل ۵).



شکل ۵- رونده پیشرفت فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عدد تیوباربیتوریک اسید

نتیجه گیری کلی

نتایج مطالعه کنونی نشان می‌داد که لوتئولین ۷- آگلیکون و اسید کلروژنیک عمده‌ترین ترکیبات فنولیک روغن بذر کنگر هستند. فعالیت آنتی‌رادیکالی فراکسیون اتانولی روغن بذر کنگر از فراکسیون متانولی آن بیشتر می‌باشد. این میزان درخصوص فراکسیون‌های نامحلول در متانول و اتانول برعکس می‌باشد. علاوه بر این، به دلیل اثرات تشدید کنندگی ترکیبات آنتی‌اکسیدان، فعالیت آنتی‌رادیکالی روغن فراکسیونه نشده از مجموع جبری این میزان در مورد فراکسیون‌های متانولی و نامحلول در متانول (MF+MLF) و یا مجموع فراکسیون اتانولی و نامحلول در اتانول (EF+ELF) بیشتر می‌باشد. همچنین مشخص شد که فراکسیون‌های لیپیدی دارای قدرت آنتی‌رادیکالی کمتری در مقایسه با فراکسیون‌های متانولی و یا اتانولی هستند. روغن بذر کنگر به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی عمل کرده و در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا موثر می‌باشد.

منابع مورد استفاده

رحمانی ف، حداد خداپرست م ح، الهامی راد ا م، خانزاده ف، ۱۳۹۳، تعیین هویت ترکیبات فنولیک عصاره برگ درخت نیم (*Azadirachta indica L.*) به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی آنها، پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲٤، ۱، ۱۱۷-۱۰۳.

عسگری ص، موحدیان عطار ا، بدیعی ا، نادری غ ع، امینی ف، حمیدزاده ز، ۱۳۸۷، بررسی اثر کنگر (*Gundelia tournefortii L.*) بر برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی موثر در آترواسکلروز در مدل حیوانی، گیاهان دارویی، ۷، ٤، ۲۸.

کریمی ع ا، روغنی ا، ضمیری م ج، زاهدی م، ۱۳۸۳، ارزش تغذیه‌ای کنگر (*Gundelia tournefortii L.*) و یونجه در تغذیه گوسفند، علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۸، ۱، ۱٤۲-۱۳۵.

موسسه استاندارد ملی ایران، ۱۳۷٦، اندازه‌گیری اندیس پراکسید در روغن‌ها و چربی‌های خوراکی، شماره ٤۱۷۹، ویرایش اول.

نجف‌آبادی م ف، ۱۳۸٦، استخراج، جداسازی و اندازه‌گیری ترکیبات آنتی‌اکسیدان روغن بذر چای و کاربرد آن در حفاظت از روغن ماهی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

مهران م، ۱۳٥٤، آزمایش‌های روغن (ترجمه)، ویرایش اول، انتشارات دانشگاه تهران.

Abdul DA, Hamd NS and Ghaffoori Hassan H, 2012. Characteristics of Fatty acids content in *Gundelia L.* oil extract. Iraqi National Journal of Chemistry 45: 144-148.

Amarowicz R, Raab B and Shadidi F, 2003. Antioxidant activity of phenolic fractions of rapeseed. Journal of Food Lipids 10(1): 51-62.

Anonymous, 2009. Determination of biophenols in olive oils by HPLC. International Olive Council, November, Madrid, Spain COI/T. 20/Doc No 29.

Bandoniene D, Murkovic M, Pfannhauser W, Venskutonis PR and Gruzdiene D, 2002. Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free radical and on-line HPLC-DPPH methods. European Food Research and Technology 214: 143–147.

Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset C, 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT- Food Science and Technology 28: 25-30.

Carrasco-Pancorbo A, Cerretani L, Bendini A, Segura-Carretero A, Del Carlo M, Gallina-Toschi T, Lercker G, Compagnone D, and Fernaä Ndez-Gutieärrez A, 2005. Evaluation of the Antioxidant Capacity of Individual Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 8918−8925.

Coruh N, Sagdicoglu Celep Ag, Ozgokce F and Iscan M, 2007. Antioxidant capacities of *Gundelia tournefortii* L. extracts and inhibition on glutathione-S-transferase activity. Food Chemistry 100(3): 1249-1253.

Espin JC, Soler-Rivas C and Wichers HJ, 2000. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48(3): 684-656.

Haghi G and Hatami A, 2010. Simultaneous quantification of flavonoids and phenolic acids in plant materials by a newly developed isocratic high-performance liquid chromatography approach. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58: 10812–10816.

Haghi G, Hatami A and Arshi R, 2011. Distribution of caffeic acid derivatives in *Gundelia tournefortii* L. Food Chemistry 124: 1029–1035.

Hausler M, Ganzera M, Abel G, Popp M and Stuppner H, 2002. Determination of caffeoylquinic acids and flavonoids in *cynara scolymus* l. by high performance liquid chromatography. Chromatographia 56: 407-411.

Khanzadeh F, Haddad Khodaparast MH, Elhami Rad AH and Rahmani F, 2012. Physiochemical properties of *gundelia tournefortii l.* seed oil. Journal of Agricultural Science and Technology 14: 1535-1542.

Lee JM, Chung H, Chang P-S and Lee JH, 2006. Development of a method predicting the oxidative stability of edible oils using 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Food Chemistry 103(2): 662-669.

Matthäus B and Özcan MM, 2011. Chemical evaluation of flower bud and oils of tumbleweed (*Gundelia Tourneforti* L.) as a new potential nutrition sources. Journal of Food Biochemistry 35: 1257–1266.

Matsuura H, Chiji C, Asakawa CH, Amano M, Yoshihara T and Mizutani J, 2003. DPPH radical scavenging from dried leaves of oregano (*Origanum vulgare*). Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 67: 2311–2316.

Miceli A and Leo PDe, 1996. Extraction, characterization and utilization of Artichoke-seed oil. Bioresource Technology 57(3): 301-302.

Nenadis N and Tsimidou M, 2002. Observations on the estimation of scavenging activity of phenolic compounds using rapid 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl ($DPPH^{\bullet}$) tests. Journal of the American Oil Chemists' Society 79: 1191–1195.

Park PJ, Shahidi F and Jeon YJ, 2004. Antioxidant activities of enzymatic extracts from an edible seaweed *Sargassum Horneri* using ESR spectrometry. Journal of Food Lipids 11(1): 15-27.

Sharaf-Eldin MA, Schnitzler WH, Nitz G, Razin AM and El-Oksh II, 2007. The effect of gibberellic acid (GA3) on some phenolic substances in globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus (L.) Fiori*). Scientia Horticulturae 111(4): 326–329.

Sharma OP and Bhat TK, 2009. DPPH antioxidant assay revisited. Food Chemistry 113(4): 1202-1205.

Sidewell C 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.

Siger A, Nogala-Kalucka M and Lampart-Szczapa E, 2008. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. Journal of Food Lipids 15: 137–149.

Six P, 1994. Current research in natural food antioxidants. International News on Fats, Oils and Related Materials 5: 679-688.

Zaporozhets OA, Krushynska OA, Lipkovska NA and Barvinchenko VN, 2004. A new test method for the evaluation of total antioxidant activity of herbal products. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52(1): 21-25.

Determination the antioxidant activity and characterization of phenolic compounds of *Gundelia Tournefortii L.* seed oil

F Khanzadeh[1*], F Rahmani[1], MH Haddad Khodaparast[2] and AH Elhami Rad[3]

Received: February 01, 2014 Accepted: May 30, 2015

[1]MSc Graduated Student, Department of food Science and Technology, Islamic Azad University, Sabzevar Branch, Sabzevar, Iran
[2]Associate Professor, Department of Food Science Industry, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM), Mashhad, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Sabzevar Branch, Sabzevar, Iran
[*] Corresponding author: E-mail: farhadkhanzadeh63@gmail.com

Abstract

Gundelia Tournefortii L. seed oil could be potent enough to consider as edible oil possessing antioxidant properties. To investigate that, the antioxidant activity of this oil and its effects as a natural antioxidant agent was studied. The oil was extracted by maceration method using ethyl ether as a solvent. Then, DPPH method was applied to investigate the radical scavenging activity of the oil and its fractions. Peroxide (PV) and TBA values of the soybean oil (including either 5% or 10% of *G. Tournefortii L.* seed oil) were determined through an oven test. Moreover, HPLC-UV was employed to qualify and quantify the phenolic compounds. The results indicated that radical scavenging activity of unfractionated oil (TF) was 123.26±0.42 µM; and the methanolic fraction (MF) (85.82±0.58 µM) had a lower scavenging activity than the ethanolic one (EF) (55.09±0.18 µM). However, it was vice versa for non-soluble methanolic (MLF) and ethanolic fractions (ELF) (106.28±0.64 µM and 145.76±0.09 µM, respectively). Luteolin 7-aglycone (0.1878 mg/g oil) and Chlorogenic acid (0.1113 mg/g oil) were determined by HPLC-UV as the most major phenolic compounds of this oil. Total amount of the phenolic compounds was 0.7935 mg/g oil. Finally, a 13-day oven test revealed that the highest antioxidant activity was measured during the 8th and 9th day of the test, considering PV and TBA, respectively. This study states that Luteolin 7-aglycone and Chlorogenic acid are among the most abundant phenolic compounds in *G. Tournefortii L.* seed oil and these compounds are mainly ethanol soluble.

Keywords: Phenolic compounds, Radical scavenging activity, HPLC, *Gundelia Tournefortii L.*