نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۷ شماره ۳/ سال ۱۳۹۶/ صفحات ۱۵۱ تا ۱۶۳

بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره گزنه بر خصوصیات کیفی روغن کلزا ومقایسه آن با ترت بوتیل هیدروکینون طی سرخ کردن عمیق

صدف السادات ریاضی[۱] و نارملا آصفی[*۲]

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۲

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاداسلامی، شهرقدس، ایران

[۲] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

[*] مسئول مکاتبه: Email: n.asefi@iaut.ac.ir

چکیده

استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی برای محافظت از روغن در برابر فساد اکسیداتیو، به علت سرطان‌زا بودن آن‌ها محدود شده‌است. مطالعات برای استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به عنوان جایگزینی برای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عصاره برگ گزنه (*Urtica dioica*) بر پایداری اکسیداتیو روغن کلزا و مقایسه آن در دو سطح ۱۰۰ و ۸۰۰ پی پی ام با آنتی‌اکسیدان مصنوعی TBHQ در سطح ۱۰۰ پی پی ام می‌باشد. بدین منظور پس از تعیین بازده استخراج عصاره متانولی گزنه و اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن، با تعیین عدد پراکسید(طی ٤٨ ساعت)، عدد یدی، اسیدی و آنیسیدین (طی ٩٦ ساعت) در سرخ کردن عمیق، تاثیر دو آنتی‌اکسیدان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان استخراج ترکیبات فنلی توسط حلال متانول، ٦/٠٩٦±٨٧/١٢٧ میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم نمونه خشک ترکیبات فلاونوئیدی ۲/۲± ۹۱ میلی گرم بر گرم نمونه خشک و بازده استخراج ۱۱/۹۵ درصد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گزنه ۰/۰۲۵±۰/۳۰۳ میلی-گرم بوده‌است. بررسی نتایج بر اساس عدد پراکسید نشان داد که پس از ٩٦ ساعت سرخ کردن عمیق، روغن شاهد بدون هر گونه آنتی‌اکسیدان دارای بیشترین عدد پراکسید و روغن حاوی ۱۰۰ پی پی ام TBHQ دارای کمترین عدد پراکسید می‌باشد. بررسی نتایج عدد اسیدی، عدد آنیسیدین و عدد یدی نشان داد که روغن حاوی ۱۰۰ پی پی ام TBHQ در پایدارسازی روغن کلزا، موثرتر از تیمارهای حاوی آنتی‌اکسیدان طبیعی گزنه در سطح ۱۰۰ و ۸۰۰ پی پی ام عمل کرده-است. موثر بودن TBHQ در پایدارسازی روغن کلزا طی سرخ کردن عمیق را می‌توان به کارایی بالای TBHQ در غلظت مورد استفاده در مقایسه با عصاره گزنه در غلظت ۸۰۰ پی پی ام نسبت داد.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان طبیعی، پایداری اکسیداتیو، روغن کلزا، سرخ کردن عمیق، گزنه

مقدمه

سرخ کردن یکی از روش‌های پخت غذا در جهان بوده و به طور قابل توجهی زمان پخت را کاهش می‌دهد (کاسال و همکاران ۲۰۱۰). در کشور ما، آمار دقیقی از مقدار روغنی که در صنعت به مصرف می‌رسد در دست نیست ولی با توجه به جمعیت جوان کشور و افزایش تعداد زنان شاغل مصرف چربی‌ها در صنعت سرخ کردن بخش بزرگی از تولیدات روغن را به خود اختصاص داده است (مالک ۱۳۸٤). در طول سرخ کردن عمیق مجموعه‌ای از واکنش‌ها مانند هیدرولیز، اکسیداسیون، پلیمریزاسیون و ایزومریزاسیون اتفاق می‌افتد که منجر به تشکیل ترکیبات مؤثر بر ویژگی‌های حسی، کاربردی و تغذیه‌ای روغن سرخ کردنی می‌گردد (تینک و همکاران ۲۰۰۷). از این رو کیفیت روغن سرخ کردنی بسیار مهم است زیرا در طول سرخ کردن عمیق قسمتی از آن توسط محصولات سرخ شده جذب می‌شود (استینسون و مین ۲۰۰۰).

در تولید روغن‌های خوراکی معمولاً آنتی‌اکسیدان مصنوعی استفاده می‌شود تا طی سرخ کردن و نگهداری تغییرات نامطلوب کاهش یافته و ماندگاری محصول سرخ شده افزایش یابد (جاسمیر و همکاران ۲۰۰۰). اثرات سمی و سرطانزایی آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی روی سلامتی انسان موجب افزایش استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در روغن‌های سرخ کردنی شده‌است (ایناچ و مسکن ۲۰۱۲). امروزه از گیاهان دارویی به عنوان منابع آنتی‌اکسیدانی با میزان ترکیبات فنلی بالا استفاده می‌شود. یکی از گیاهانی که امکان بررسی آن به عنوان منبع غنی از آنتی‌اکسیدان وجود دارد، گیاه گزنه است. گزنه تاریخچه طولانی به عنوان گیاه دارویی و افزودنی غذایی دارد (گویل گورو و همکاران ۲۰۰۳). اسید سینرجیک، اسید گالیک و اسید فرولیک با استفاده از کروماتوگرافی از عصاره متانولی گزنه به عنوان ترکیبات موثر در ایجاد خواص آنتی‌اکسیدانی شناسایی شده‌اند (پرواستوس و همکاران ۲۰۰٦). کوکریچ و همکاران (۲۰۱۲) محتوای فنل کل عصاره اتانولی برگ گزنه را ۲۰۸/۳۷ میلی‌گرم معادل اسیدگالیک بر گرم ماده خشک و فعالیت آنتی اکسیدانی آن را با روش DPPH ۰/۰۳۱۳ میلی‌گرم بر میلی لیتر گزارش کردند. نور و همکاران (۲۰۰۹) بیان نمودند غلظت ۰/۲ درصد عصاره برگ زردچوبه نسبت به غلظت ۰/۰۲ درصد BHT توانست به طور معنی‌داری ($P<0/05$) اکسیداسیون روغن پالم اولئین طی سرخ کردن عمیق در دمای ۱۸۰ درجه سلسیوس، به مدت ٤۰ ساعت کاهش دهد. چرینوز و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند ٦۰۰ پی پی ام از عصاره اتیل استات گیاه ایذکامونا، گیاه وحشی بومی پرو، برای جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا طی سرخ کردن سیب‌زمینی در دمای ۱۸۰ درجه سلسیوس به طور معنی‌داری ($P<0/05$) عملکرد بهتری از ۲۰۰ پی پی ام آنتی‌اکسیدان مصنوعی TBHQ نشان داد. از این رو در این تحقیق منابع طبیعی آنتی‌اکسیدانی نسبتاً فراوان، ارزان و قابل دسترس گیاه گزنه جهت پایداری به روغن کلزا اضافه شده و اثرات پایدارسازی آن در شرایط سرخ کردن عمیق در دمای ۱۸۰ درجه سلسیوس، به مدت ٤۸ ساعت با روغن کلزای حاوی آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ مقایسه شد. با توجه به استاندارد ایران مقدار مجاز استفاده از انتی اکسیدان مصنوعی ۱۰۰ پی پی ام می باشد. بر این اساس میزان استفاده از انتی اکسیدان طبیعی نیز با این مقدار شروع شده و بر اساس منابع مورد بررسی تا غلظت‌های بالا ادامه یافت .

مواد و روش‌ها

گونه مشخص از گیاه گزنه از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی تهیه شده، برگ‌ها از ساقه جدا گردیده و در شرایط محیطی و با استفاده از جریان هوای خشک در سایه خشک شد و پس از عبور از الک به پودر تبدیل شد. روغن مایع تصفیه شده بدون آنتی اکسیدان کلزا از کارخانه روغن مایع ماهک

خریداری گردید. تمامی مواد شیمیایی مورد نیاز نیز از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

تولید آزمایشگاهی نمونه‌های روغن کلزا با تیمارهای آنتی‌اکسیدانی مختلف

استخراج عصاره آنتی‌اکسیدانی برگ گزنه

۱۰۰ گرم از ماده خشک شده با حلال متانول و با نسبت (وزنی/ حجمی)٪۸۰ متانول در یک مخلوط کن با ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۲٤ ساعت در دمای اتاق و در تاریکی مخلوط و عصاره بدست آمده پس از صاف شدن در تبخیر کننده دوار خشک شده و در دمای یخچال نگهداری گردید (لین و همکاران ۱۹۹۹). تیمارهای آنتی‌اکسیدانی عبارتند از:

G_0: روغن کلزا بدون آنتی‌اکسیدان (شاهد)

G_{100}: روغن کلزا + ۱۰۰ پی پی ام عصاره برگ گزنه

G_{800}: روغن کلزا + ۸۰۰ پی پی ام عصاره برگ گزنه

T_{100}: روغن کلزا + ۱۰۰ پی پی ام TBHQ

در روز اول سرخ کردن، ابتدا دمای روغن تیمار شده با آنتی اکسیدان به ۱۸۰ درجه سلسیوس رسانده شد و از روغن نمونه برداری گردید (زمان صفر). سپس روغن گرم شده به مدت ۸ ساعت در همان دمای ۱۸۰ درجه سلسیوس نگهداری گردید و بعد از گذشت ۸ ساعت از این روغن، نمونه برداری گردید و تا انجام آزمایش در یخچال نگهداری شد. در روز دوم همان روغن بار دیگر به مدت ۸ ساعت (در مجموع ۱٦ ساعت) در حرارت ۱۸۰ درجه سلسیوس حرارت‌دهی شد. این عمل در مجموع ٤۸ ساعت به ترتیبی که اشاره گردید تکرار شد و این روغن شش بار جهت سرخ کردن استفاده گردید و در هر استفاده با نمونه برداری از روغن تغییرات شیمیایی آن با اندازه‌گیری پارامترهایی مانند عدد پراکسید (AOAC ۱۹۹۰)، یدی (AOAC ۱۹۹۰)، اسیدی (AOAC ۱۹۹۰) و آنیزیدین (AOAC ۱۹۹۰) در سه تکرار بررسی گردید. با توجه به این که عدد پراکسید از شاخص‌های مهم تعیین پایداری اکسیداتیو روغن می باشد، فقط در مورد این پارامتر عمل سرخ کردن تا ۹٦ ساعت ادامه یافت.

اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فنلی

مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره توسط رنگ‌سنجی به روش فولین- سیوکالته[1] و مطابق روش جمراغلو (۲۰۱۰) مورد بررسی قرار گرفت. مقدار جذب محلول توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۷٦۰ نانومتر خوانده شد. مقدار کل ترکیبات فنلی با استفاده از معادله خط رسم شده بر مبنای اسید گالیک و به صورت میلی‌گرم در گرم نمونه خشک بیان گردید.

اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی

مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی از طریق رنگ سنجی مطابق روش جانگ و همکاران(۲۰۰۲) ارزیابی شد. مقدار جذب محلول توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ٤۱۵ نانومتر خوانده شد. کوئرستین به عنوان استاندارد برای رسم منحنی استفاده شد و مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی بر اساس اکی والانت کوئرستین و به صورت میلی گرم در گرم ماده خشک نمونه خشک بیان گردید.

ارزیابی توانایی به دام اندازی رادیکال دی پی پی اچ (DPPH)

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی طبق روش جمراوغلو (۲۰۱۰) انجام گردید. اساس این روش احیا شدن رادیکال DPPH بنفش رنگ توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. در این روش مهمترین پارامتر EC_{50} یا کارایی غلظت می‌باشد و عبارتست از غلظت آنتی‌اکسیدان موجود در محیط که توانایی از بین بردن ۵۰٪ از رادیکال را دارد. در این روش ٦۰۰ میکرولیتر محلول ۱ میلی مولار از رادیکال DPPH به مقادیر ۲۰، ٤۰، ٦۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گزنه اضافه شده و تمامی آن‌ها با متانول به حجم ٦ میلی‌لیتر رسانده شد. تمامی

[1] Folin-Ciocalteu

نمونه‌ها پس از ۱۵ دقیقه نگهداری در دمای اتاق در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقایسه با متانول به عنوان شاهد قرائت شدند.

محاسبه بازده استخراج عصاره

حلال موجود در عصاره توسط دستگاه تبخیرکننده دوار در خلا تبخیر شد. با محاسبه وزن اولیه بالن و وزن نهایی آن که حاوی عصاره بر جای مانده است، مقدار کل عصاره استخراج شده محاسبه و به صورت درصد (گرم به صد گرم نمونه گزنه) بیان گردید.

طرح آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط روش اندازه‌گیری‌های تکرار شده در زمان[۲] انجام گردید. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 صورت گرفت. مقایسه میانگین اثرات متقابل با استفاده از آزمون توکی و مقایسه اثرات اصلی با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد. کلیه تیمارها در سه تکرار انجام شدند.

نتایج و بحث

اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فنلی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ، ترکیبات فلاونوئیدی و بازده استخراج عصاره

مقادیر ترکیبات فنلی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فلاونوئیدی و بازده استخراج عصاره گزنه در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول۱- مقادیر ترکیبات فنلی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ، ترکیبات فلاونوئیدی و بازده استخراج عصاره گزنه

بازده استخراج%	ترکیبات فلاونوئید mg/g	ترکیبات فنولیmg/g	ظرفیت آنتی‌اکسیدانیEC50
۱۱/۹۵	۹۱±۲/۲	۸۷/۱۲۷±٦/۰۹٦	۰/۳۰۳±۰/۰۲۵

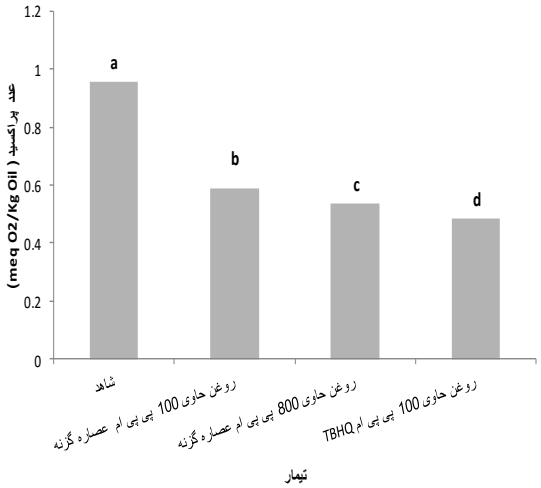
دال آکوا و همکاران (۲۰۰۸) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی گزنه را ۱۰±۴۱۹ میکروگرم بر میلی لیتر و محتوای فنل کل را ۰/۰۲±۰/۳۵ میلی‌گرم معادل اسیدگالیک بر ماده خشک گزارش نمودند. قره خانی و همکاران (۱۳۸۸) از سه حلال آب، متانول ۸۰٪ و کلروفرم استفاده نمودند. نتایج نشان داد که میزان استخراج ترکیبات فنلی عصاره کلروفرمی گزنه با ۴۹/۱±۰۸۱/۳۱ میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم عصاره بیشترین مقدار را نسبت به سایر عصاره‌ها داشته است. عصاره متانولی نیز میزان استخراج ترکیبات فنلی کمتری در مقایسه با دو عصاره دیگر داشته است (۲۸/۷٦±۲٤/۰ میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم عصاره). همچنین در مقایسه بین عصاره‌ها، عصاره کلروفرمی بیشترین (۰/۰±۰۷۷/۹۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و عصاره متانولی کمترین (۰/۱±۱۹۹/۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) توانایی را در به دام اندازی رادیکال DPPH داشته است. بنابراین مشاهده می‌شود که میزان ترکیبات فنلی استخراج شده در پژوهش حاضر نسبت به میزان ترکیبات فنلی استخراج شده در نتایج سایر محققین بیشتر بوده است که احتمالا به علت تفاوت در شرایط کشت، منطقه جغرافیایی و زمان برداشت گیاه گزنه می‌باشد. همچنین نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گزنه در پژوهش بدست آمده از نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گزنه بدست آمده توسط قره خانی و همکاران (۱۳۸۸) کمتر و از نتایج حاصل از دال آکوا و همکاران (۲۰۰۸) بیشتر می باشد. نتایج ترکیبات فلاونوئیدی به عنوان متابولیتهای ثانویه گیاهی مرکب از آنتوسیانین ها، کاتکین ها، فلاوون ، فلاونول ها و..... نشان می‌دهد که مقدار قابل توجهی از این ترکیبات در گزنه موجود است. نتایج عصاره گزنه بدست آمده

[۲] Repeated measurement

توسط قره خانی و همکاران (۱۳۸۸) نشان داد که عصاره متانولی گیاه گزنه دارای ۲٤میلی گرم کوئرستین به یک گرم عصاره و عصاره کلروفرمی حدود ۲۱۲ میلی گرم معادل کوئرستین به یک گرم عصاره می باشد.

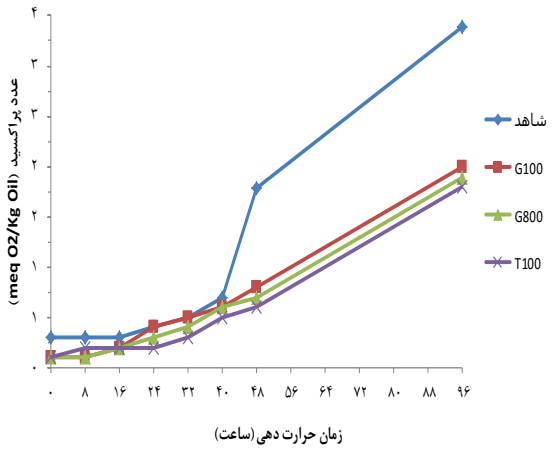
ارزیابی عدد پراکسید

عدد پراکسید یکی از پرکاربردترین شاخص‌های کیفی است که مقدار کل پراکسیدهای موجود در روغن را به عنوان فراورده‌های اولیه حاصل از اکسایش نشان می‌دهد (کاویانی و همکاران ۱۳۹۲). شکل ۱ مقایسه میانگین‌های اعداد پراکسید بدست آمده از تیمارهای انجام شده بر روی روغن کلزا در مجموع زمان های صفرتا ۹٦ ساعت برای هر تیمار در سه تکرار نشان می‌دهد که اثر اصلی غلظت آنتی‌اکسیدان و زمان در تمامی تیمارها معنی‌دار ($P<۰/۰۱$) بوده و تیمار شاهد دارای بیشترین مقدار پراکسید بوده و کمترین مقدار پراکسید به ترتیب مربوط به تیمار $T_{۱۰۰}$، $G_{۸۰۰}$ و $G_{۱۰۰}$ بود.



شکل۱- مقایسه میانگین‌های اعداد پراکسید بدست آمده از تیمارهای انجام شده بر روی روغن کلزا

شکل ۲ نیز مقایسه عصاره‌های گزنه با آنتی‌اکسیدان سنتزی از نظر میزان عدد پراکسید در طی ۹٦ ساعت سرخ کردن روغن کلزا نشان می‌دهد. در تمام تیمارها تا چهل ساعت اول روند افزایش عدد پراکسید با سرعت کمتری صورت گرفته است اما پس از آن، سرعت افزایش عدد پراکسید در نمونه شاهد بسیار بالا بوده که بیانگر بالا بودن پتانسیل فساد در این تیمار است. در مورد سه نمونه دیگر نیز سرعت افزایش عدد پراک سید موازی هم بوده اما عدد پراکسید تیمار $T_{۱۰۰}$ کمتر از سایر تیمارها است.

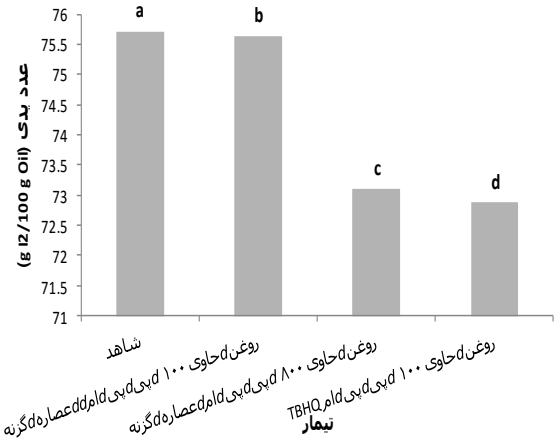


شکل۲- مقایسه عصاره‌های گزنه با آنتی‌اکسیدان سنتزی از نظر میزان عدد پراکسید در طی ۹۶ ساعت سرخ کردن روغن کلزا

همچنین در صورت مقایسه دو تیمار G_{100} و G_{800}، مشاهده می‌شود با افزایش غلظت عصاره از ۱۰۰ پی پی ام به ۸۰۰ پی پی ام، میزان عدد پراکسید از ۱/۹۹ به ۱/۸۹ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم به طور معنی‌داری ($P<0/01$) کاهش یافته است که با یافته‌های نور و همکاران (۲۰۰۸) و همچنین قره‌خانی و همکاران (۱۳۸۸) مطابقت دارد. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که تیمار T_{100} در کاهش تشکیل هیدروپراکسیدها طی سرخ کردن عمیق موثرتر از سایر تیمارها عمل کرده است. عدد پراکسید روغن حاوی آنتی اکسیدان TBHQ پس از ۹۶ ساعت سرخ کردن عمیق ۱/۷۹٤ میلی اکی والان اکسیژن در هر کیلوگرم روغن بوده است. مطابق استاندارد ایران (شماره ٤۹۳۵)، حد قابل مصرف عدد پراکسید روغن کلزا حداکثر ۵ میلی اکی والان اکسیژن در هر کیلوگرم روغن می باشد که این امر نشان می دهد، روغن حاوی آنتی اکسیدان TBHQ در این تحقیق حتی پس از ۹٦ ساعت سرخ کردن عمیق هنوز قابلیت مصرف داشته و می توان به سرخ کردن خلال سیب‌زمینی در این روغن ادامه داد. همچنین با افزایش غلظت عصاره از ۱۰۰ به ۸۰۰ پی پی ام، میزان تشکیل هیدروپراکسیدها کاهش می‌یابد. قره خانی و همکاران (۱۳۸۸) با بررسی اثر عصاره برگ گزنه در به تاخیر اندازی اکسیداسیون روغن سویا با نگهداری تیمارها در دمای ٦۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۵ روز گزارش کردند که غلظت ۵۰۰ پی پی ام عصاره کلروفرمی و ۸۰۰ پی پی ام عصاره متانولی در مقایسه با غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ پی پی ام BHT و BHA اثر آنتی اکسیدانی بهتری داشته و میزان عدد پراکسید را به طور معنی‌داری ($P<0/05$) کاهش داده است که بالا بودن اثر غلظت‌های کم از غلظت‌های بیشتر این پژوهش با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

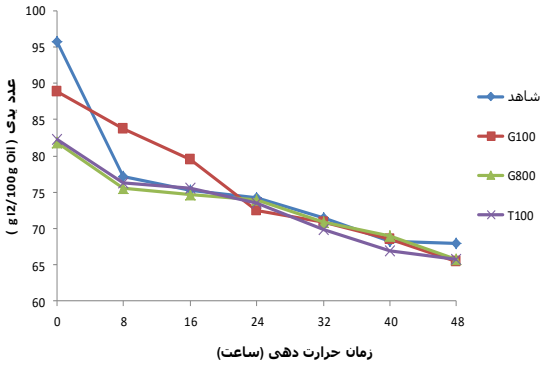
ارزیابی عدد یدی

عدد یدی معیاری از تعداد پیوندهای دوگانه در روغن است و کاهش عدد یدی در روغن بعد از سرخ کردن، نشانگر اشباع تر شدن آن می‌باشد (جاسویر و همکاران ۲۰۰۵). شکل ۳ مقایسه میانگین اعداد یدی بد ست آمده از تیمارهای انجام شده بر روی روغن کلزا در مجموع زمان‌های صفر تا ٤۸ ساعت برای هر تیمار در سه تکرار را نشان می‌دهد. طبق این نمودار بین تیمارهای T_{100}، G_{800} و G_{100} تفاوت معنی داری وجود نداشته در صورتی که با نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری دیده می‌شود. به طوری که عدد یدی تیمار شاهد دارای کمترین مقدار می‌باشد.



شکل۳- مقایسه میانگین‌های اعداد یدی بدست آمده از تیمارهای انجام شده بر روی روغن کلزا

شکل ٤ نیز مقایسه عصاره‌های گزنه با آنتی‌اکسیدان سنتزی از نظر میزان عدد یدی در طی ٤٨ ساعت سرخ کردن روغن کلزا را نشان می‌دهد. در هشت ساعت اول سرخ کردن سیر نزولی عدد یدی در تمامی نمونه ها تقریبا یکسان بوده زیرا حرارت دهی روغن طی سرخ کردن عمیق، موجب اکسیداسیون شده و روی پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع اثر می گذارد به طوری که باعث کاهش غیراشباعیت روغن و درنتیجه کاهش عدد یدی می شود. ولی پس از آن تیمار شاهد با شیب بیشتری نسبت به سایر تیمارها به سیر نزولی خود ادامه می‌دهد. تغییرات زیاد عدد یدی تیمار شاهد نشانگر آن ا ست که سرعت اکسیدا سیون ا سیدهای چرب غیر اشباع در حضور آنتی‌اکسیدان کاهش می‌یابد. روند تغییرات تیمارهای $T_{۱۰۰}$، $G_{۸۰۰}$ و $G_{۱۰۰}$ نیز در تمامی ساعات تقریبا یکسان بوده و در پایان ٤٨ ساعت تیمار $T_{۱۰۰}$ دارای عدد یدی بیشتری نسبت به سایر نمونه‌ها است.

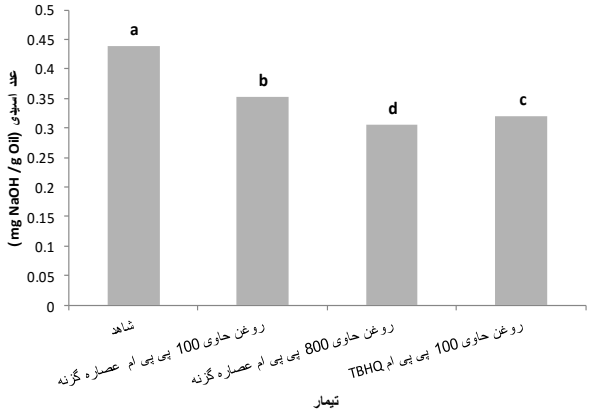


شکل۴- مقایسه عصاره‌های گزنه با آنتی اکسیدان سنتزی از نظر میزان عدد یدی در طی ۴۸ ساعت سرخ کردن روغن کلزا

نور و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که طولانی بودن مدت سرخ کردن باعث کاهش عدد یدی در تمام تیمارها می‌گردد ($P<۰/۰۵$). عصاره برگ کاد و BHT هر دو بهتر از تیمار شاهد مانع کاهش بیشتر عدد یدی روغن پالم اولئین شدند اما بعد از گ شت ٢٤ ساعت، BHT توانایی بهتری در محافظت روغن نشان داد.

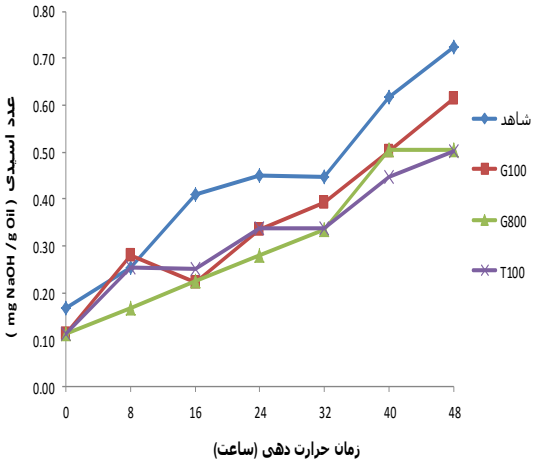
ارزیابی عدد اسیدی

اگرچه اسیدهای چرب آزاد شاخصی از فساد هیدرولیتیک می‌باشند، ولی به عنوان اسیدهای چرب دخیل در گسترش بد طعمی و بد بویی در محصول اندازه گیری می‌شوند (چه من و تان ۱۹۹۹). شکل ۵ مقایسه میانگین‌های اعداد اسیدی بدست آمده از تیمارهای انجام شده بر روی روغن کلزا در مجموع زمان‌های صفر تا ۴۸ ساعت برای هر تیمار در سه تکرار را نشان می‌دهد. اثر اصلی غلظت آنتی‌اکسیدان و زمان در تمامی تیمارها معنی‌دار بوده است ($P<0/01$) و عدد اسیدی در تمام آن‌ها افزایش یافته است. بالاترین عدد اسیدی مربوط به تیمار شاهد و کمترین مربوط به تیمار G_{800} می‌باشد.



شکل ۵- مقایسه میانگین‌های اعداد اسیدی بدست آمده از تیمارهای انجام شده بر روی روغن کلزا

شکل ٦ نیز مقایسه عصاره‌های گزنه با آنتی اکسیدان سنتزی از نظر میزان عدد اسیدی در طی ٤٨ ساعت سرخ کردن روغن کلزا نشان می‌دهد. در طی ۳۲ ساعت اول مقدار اسیدهای چرب آزاد در تیمار G_{800} نسبت به بقیه تیمارها کمتر بوده ولی پس از گذشت ۳۲ ساعت، اثر خود را از دست داده و تیمار T_{100} اثر خود را نشان داده است. همچنین در ۸ ساعت اول سرخ کردن در تیمارهای شاهد، T_{100} و G_{100} روند افزایش عدد اسیدی تقریبا برابر بوده است.

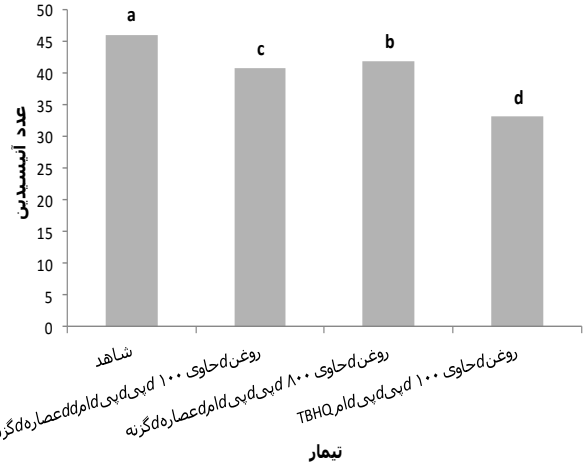


شکل۶- مقایسه عصاره‌های گزنه با آنتی‌اکسیدان سنتزی از نظر میزان عدد اسیدی در طی ۴۸ ساعت سرخ کردن روغن کلزا

مقادیر زیاد اسیدهای چرب آزاد نشانگر تخریب روغن طی فرایند سرخ کردن و همچنین پیشرفت فساد در غذای سرخ شده است. بخشی از افزایش عدد اسیدی به هیدرولیز تری گلیسریدها و بخشی دیگر به گروه‌های کربونیل موجود در فراورده‌های پلی مری و یا اکسایشی نسبت داده می‌شود (کاویانی و همکاران ۱۳۹۲). بنابراین تیمار شاهد بیشتر متحمل تخریب و فساد شده است. همچنین به نظر می‌رسد اسیدهای چرب آزاد با افزایش انحلال پذیری اکسیژن در روغن و به دلیل خاصیت پراکسیدانی گروه کربوکسیل آن‌ها، اکسیداسیون روغن را تسریع می‌کنند (خوش طینت و همکاران ۱۳۸۵). با مقایسه اثر عصاره‌ها نیز مشاهده می‌گردد که افزایش اسیدهای چرب آزاد در تیمار $G_{۸۰۰}$ کمتر از تیمار $G_{۱۰۰}$ بوده و این امر نشان دهنده آن است که با افزایش غلظت عصاره، تاثیر آن نیز بیشتر بوده است. نور و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که عصاره زردچوبه بهتر از BHT توانست میزان اسیدهای چرب آزاد را بعد از ۲٤ ساعت سرخ کردن عمیق روغن پالم اولئین کاهش دهد. چه من و تان (۱۹۹۹) نتیجه گیری کردند که پس از هفت روز متوالی سرخ کردن عمیق روغن پالم اولئین، میزان اسیدهای چرب آزاد در نمونه شاهد بالاتر از سایر تیمارها بوده و پس از آن به ترتیب BHT، عصاره مریم گلی، BHA و عصاره رزماری می‌باشد. با توجه به این که در پژوهش حاضر نیز عدد اسیدی تیمار شاهد بیشتر از سایر تیمارها بوده و نمونه حاوی ۸۰۰ پی پی ام عصاره کمترین عدد اسیدی را داشته است، بنابراین با یافته‌های سایر محققین مطابقت دارد.

ارزیابی عدد آنیسیدین

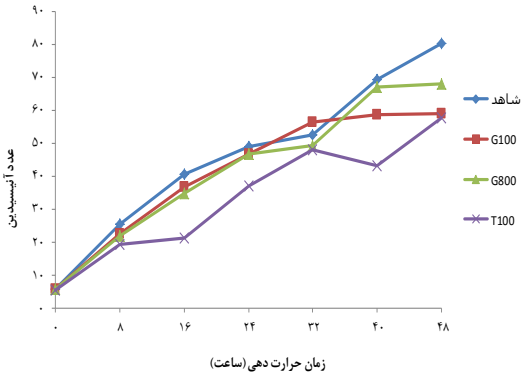
ρ- آنیسیدین شاخصی از تشخیص ترکیبات آلدئیدی فرار و غیر فرار، عمدتا ۲-انال و ۲و٤-دی انال موجود در روغن‌ها و چربی‌هاست. عامل موثر در افزایش ρ-آنیسیدین طی حرارت دهی روغن تشکیل آلدئید می‌باشد (کالانزاکیس و بلکاس ۲۰۰٦). شکل ۷ مقایسه میانگین‌های اعداد آنیسیدین بدست آمده از تیمارهای انجام شده بر روی روغن کلزا در مجموع زمان های صفر تا ٤۸ ساعت برای هر تیمار در سه تکرار نشان می‌دهد. اثر اصلی زمان و غلظت آنتی‌اکسیدان در تمامی تیمارها معنی دار بوده است($P<۰/۰۱$). عدد آنیسیدین در تیمار شاهد از همه بیشتر بوده و پس از آن به ترتیب مربوط به تیمارهای $G_{۸۰۰}$ ، $G_{۱۰۰}$ و $T_{۱۰۰}$ بوده است.



شکل ۷- مقایسه میانگین‌های اعداد آنیسیدین بدست آمده از تیمارهای انجام شده بر روی روغن کلزا

شکل ۸ نیز مقایسه عصاره‌های گزنه با آنتی‌اکسیدان سنتزی از نظر میزان عدد آنیسیدین در طی ٤۸ ساعت سرخ کردن روغن کلزا نشان می‌دهد. در ۸ ساعت اول روند افزایش عدد آنیسیدین برای تمامی تیمارها تقریبا

یکسان بوده اما پس از آن، تیمار T_{100} اثر خود را نشان داده اســـت و توانســـته به طور معنی‌داری ($P<0/01$) افزایش آلدئیدها را مهار کند. همچنین در مقایسه اثر بین عصاره‌ها نیز مشاهده می‌شود که تا زمان ۳۲ ساعت هر دو غلظت عصاره تقریبا اثر مشابهی داشتند اما بعد از زمان ۳۲ ساعت تیمار G_{100} روند افزایش کمتری از خود نشان داده است.



شکل۸ – مقایسه عصاره‌های گزنه با آنتی‌اکسیدان سنتزی از نظر میزان عدد آنیسیدین در طی ۴۸ ساعت سرخ کردن روغن کلزا

چرینوز و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که عدد آنیســـیدین برای تمام تیمارها با گذشـــت زمان افزایش یافته ولی این عدد برای عصـــاره اینکا مونا کمتر از TBHQ بوده اســت. که نشـان می‌دهد تشـکیل گروه‌های کربونیلی در روغن ســـویای حاوی عصـــاره اینکا مونا کمتر بوده است. شلبایا و همکاران (۲۰۱۱) بیان نمودند که تشـــکیل ترکیبات ثانویه با گذشـــت زمان در تمامی تیمارها افزایش یافته است که برای تیمار شاهد بیشتر از بقیه بود. همچنین غلظت ۰/۳ درصد عصاره پترولیوم اتر گل ختمی دارای کمترین میزان عدد آنیســـیدین، حتی کمتر از BHT بوده است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشـان داد که آنتی‌اکسـیدان مصـنوعی TBHQ در پایدارسـازی روغن کلزا طی سـرخ کردن عمیق، به مدت ٤٨ ساعت موثرتر از سایر نمونه‌ها عمل کرده است که می‌توان به علت استفاده از غلظت‌های پایین عصاره گزنه نسبت داد. نامناسب‌ترین تیمار نیز تیمار شاهد است که به علت نبود هر گونه آنتی‌اکسـیدان بیشـتر در معرض اکسـیداسـیون قرار گرفته اسـت. به دلیل کارایی پایین‌تر عصاره گزنه نسبت به آنتی‌اکسیدان مصنوعی TBHQ طبق نتایج حاصـــل از این پژوهش، می‌توان غلظت‌های بالاتر عصـــاره گزنه و مقایســـه با آنتی‌اکســـیدان‌های مصنوعی دیگر بررسی شود.

منابع مورد استفاده

خوش طینت خ، کاوسـی پ و زندی پ، ۱۳۸۵، تعیین عمر انباری چیپس سـیب زمینی سـرخ شـده در مخلوط روغن‌های پالم اولئین، آفتابگردان و پنبه دانه، مجله تحقیقات مهندسی کشاورزی، ۷، ۷۰-۵۹.

سـازمان ملی اسـتاندارد ایران، ۱۳۷۸، ویژگی های روغن کلزای با اسـید اروسـیک پایین خوراکی (روغن مایع خام و پالایش شـده). استاندارد ملی ایران، ٤٩٣٥.

قره‌خانی م، قربانی م، ابراهیم زاده م، جعفری س و صادقی ماهونک ع، ۱۳۸۸، اثر عصاره برگ گزنه (*Urtica dioica*) در جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا، مجله الکترونیک فراوری و نگهداری مواد غذایی، ۱، ۱۰۲-۸۵.

کاویانی م، نیازمند ر و شهیدی نوقابی م، ۱۳۹۲، ارزیابی زمان دور ریزی روغن کلزا بر ا ساس شاخص‌های اکسایشی طی سرخ کردن عمیق سیب زمینی، نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، ۲، ۵۰-۳۷.

مالک ف، ۱۳۸٤، چربی‌ها و روغن‌های سرخ کردنی و تکنولوژی سرخ کردن، تهران: انتشارات مرز دانش،۳۰۳ صفحه.

AOAC, 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 15th ed, Washingthon D.C, USA.

Casal S, Malheiro R, Sendas A, Oliveira BPP and Pereira JA, 2010. Olive oil stability under deep-frying conditions. Food and Chemical Toxicology 48:2972-2979.

Cemeroglu B, 2010. Gida Analizleri. Ankara: Nobel Kitab Publishing.

Chang C., Yang M., Wen H and Chern J, 2002. Estimation of total flavonoid content in propoils by two complementary colorimetric methods. Journal of Food Drug Analaysis 10:178-182.

Che Man YB and Tan CP, 1999. Effects of natural and synthetic antioxidants on changes in refind, bleached and deodorized palm olein during deep-fat frying of potato chips. Journal of the American Oil Chemists' Society 76:331-339.

Chirinos R, Huaman M, Betalleluz-Pallardel I, Pedrischi R and Capmos D, 2011. Characterisation of phenolic compounds of Inca muna (*Clinopodium bolivianum*) leaves and the feasibility of their application to improve the oxidative stability of soybean oil during frying. Food Chemistry 128:711-716.

Dall' Acqua, S, Cervellati R, Loi M. C and Innocenti G, 2008. Evaluation of in vitro antioxidant properties of some traditional Sardinian medicinal plants: Investigation of the high antioxidant capacity of Rubus ulmifolius. Food Chemistry 106 (2), 745–749.

Guil-Guerrero JL, Rebolloso-Fuentes MM and Totija Isasa ME, 2003. Fatty acid and carotenoids from stinging nettle (*Urtica dioica* L.). Journal of Food Composition and Analysis 16:112-119.

Inanç T and Maskan M, 2012. The potential application of plant essential oils/extracts as natural preservatives in oils during processing: a review. Journal of Food and Engineering 2:1-9.

Jaswir I, Che Man YB and Kitts DD, 2000. Use of natural antioxidants in refined palm olein during repeated deep-fat frying. Food Research International 33:501-508.

Jaswir I, Che Man YB and Hassan TH, 2005. Performance of phytochemical antioxidant system in refined-bleached-deodorized palm olein during frying. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition 14:402-413.

Kalantzakis G and Blekas G, 2006. Effect of Greek sage and summer savory extracts on vegetable oil thermal stability. European Journal of Lipid Science and Technology 108:842-847.

Kukric ZZ, Topalic-Trivunovic LN, Kukavica BM, Matos SB, Pavicic SS, Boroja MM and Savic AV, 2012. Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of Nettle leaves (*Urtica dioica* L.). Acta Periodica Technologica 43: 257-272.

Lin J, Opoku AR, Geheeb-Keller M, Hutchings AD, Terblanche SE, Jager AK and Staden JV, 1999. Preliminary screening of some traditional zulu medicinal plants for anti-inflammatory and anti-microbial activities. Journal of Ethnopharmacology 68:267–274.

Nor FM, Mohamed S, Idris NA and Ismail R, 2008.Antioxidative properties of *Pandanus amaryllifolius* leaf extracts in accelerated oxidation and deep frying studies. Food Chemistry 110:319-327.

Nor FM, Mohamd S, Idris NA, Ismail R, 2009. Antioxidative properties of *Curcuma longa* leaf extract in accelerated oxidation and deep frying studies. Journal of American Oil Chemist`s Society 86:141-147.

Proestos C, Boziaris IS, Nychas GJE and Komitis M, 2006. Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. Food Chemistry 95:664-671.

Shelbaya LAM, Sello AAA and Kotp MA, 2011. Antioxidative effect of some Malva sylvestris extract on oxidation of cotton oil during heating. Pp. 2163-2179. The 6th and 3rd International Annual Scientific Conference on Development of Higher Specific Education Programs in Egypt and the Arab World in the light of Kniwledge Era Requirements. Egypt, Faculty of specific education of Mansoura University.

Steenson DF and Min DB, 2000. Effects of β-carotene and lycopene thermal degradation products on the oxidative stability of soybean oil. Journal of the American Oil Chemist`s Society 77(11):1153-1160.

Tynek M, Hazuka Z, Pawlowicz R and Dudek M, 2007. Changes in the frying medium during deep frying of food rich in proteins and carbohydrates**.** Journal of Food Lipids 8: 251–261.

Antioxidative effect of *Urtica dioica* extract on quality characteristics of rapeseed oil and comparison with TBHQ during deep frying

SS Ryazi[1] and N Asefi [2*]

Received: November 02, 2014 Accepted: January 31, 2017
[1]MSc Graduate in Food Science and Technology, Qods Branch, Islamic Azad University, Qods city, Iran
[2]Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
[*]Corresponding author's Email: n.asefi@iaut.ac.ir

Abstract
Using synthetic antioxidants to protect oils from oxidative deterioration due to the possibility of toxic and carcinogenic effects is limited. Thus, it is important to study the natural antioxidants for use as alternatives for synthetic ones. The objective of this study was to evaluate the effect of *Urtica dioica* leaves extract as a natural antioxidant on the oxidative stability of rapeseed oil and compared its effect at two levels (100 and 800 ppm) with synthetic antioxidant TBHQ at 100 ppm. Hence, the phenolic and flavonoid compounds content, antioxidative activity and extraction efficiency of methanolic extract of *Urtica dioica* leaves determined. Also, effect of both natural and synthetic antioxidant was determined by measuring peroxide value during 96h and iodine value, acid value and anisidine value during 48h deep frying. Results showed that extraction efficiency was 11.95%, amount of phenolic compounds extracted by methanol were 87.127±6.096mg gallic acid equivalent/g dry sample, flavonoid compounds 91± 2.2 mg/g dry sample and antioxidant capacity was 0.303±0.025mg. Results of measuring peroxide value after 96h showed that control oil without any antioxidant had the highest peroxide value (3.384 meq o_2/kg oil) and oil containing 100 ppm TBHQ had the lowest (1.794 meq o_2/kg oil). In addition, investigating results of acid, anisidine and iodine values during 48h deep frying showed that oil containing 100 ppm TBHQ was more effective than oils containing natural antioxidant *Urtica dioica* in 100 and 800 ppm on stability of rapeseed oil. Efficiency of TBHQ in stabilizing the Rapeseed oil during deep frying can be attributed to high practicality concentration in comparison to *Urtica dioica* extract.

Keywords: Deep frying, Natural antioxidant, Oxidative stability, Rapeseed oil, *Urtica dioica*