

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه ولیک در پایدارسازی روغن سویا

شهلا سلمانیان^۱، علیرضا صادقی ماهونک^{۲*}، مهران اعلمی^۳ و محمد قربانی^۲

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۳ تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۱۱

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

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

^۳ استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

*مسئول مکاتبه: Email: sadeghiaz@yahoo.com

چکیده

میوه دارویی ولیک بر روی برخی از سیستم‌های فیزیولوژیکی بدن مانند سیستم قلبی-عروقی اثرات سلامت بخشی دارد که این اثرات مفید با حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در میوه مرتبط است. در این پژوهش، سنجش میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل عصاره‌های استونی و اتانولی میوه ولیک به روش اسپکتروفتومتری انجام شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با آزمون‌های مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و قدرت احیاءکنندگی مورد بررسی قرار گرفت و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه شد. همچنین تاثیر عصاره استونی بر پایداری اکسایشی روغن سویا با اندازه‌گیری دو فاکتور اندیس پراکسید و اسید تیوباربیتوریک بررسی شد. نتایج نشان داد که بالاترین میزان ترکیبات فنول و فلاونوئید به ترتیب ۱۰۰/۷۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره و ۲/۱۴ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره و نیز بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در کلیه آزمون‌ها متعلق به عصاره استونی بود. این عصاره توانست تنها در آزمون DPPH فعالیت ضد رادیکالی بهتری نسبت به BHT نشان دهد. علاوه بر این، این عصاره در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام نسبت به BHT در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام توانست به طور موثری از تشکیل پراکسیدها در روغن سویا جلوگیری نماید. بنابراین، می‌توان میوه ولیک را منبع بالقوه‌ای از فنول‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها در نظر گرفت.

واژه‌های کلیدی: میوه ولیک، روغن سویا، آزمون DPPH، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

Antioxidant activity of hawthorn (*Crataegus elbursensis*) extract on stability of soybean oil

S Salmanian¹, AR Sadeghi Mahoonak^{*2}, M Alami³ and M Ghorbani²

Received: July 24, 2012 Accepted: June 1, 2013

¹MSc Student of Food Science and Technology, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, Iran

²Associate professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, Iran

³Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, Iran

*Corresponding Author, Email: sadeghiaz@yahoo.com

Abstract

Medicinal hawthorn fruit has health effects on certain physiological systems such as the cardiovascular that these effects are connected with the presence of antioxidants compounds. In this study, total phenolic and flavonoid contents of acetonic and ethanolic extract of hawthorn fruit were measured spectrophotometrically and antioxidant activity of the extracts were assessed by DPPH radical-scavenging activity, total antioxidant capacity and reducing power assay and compared with synthetic antioxidant namely BHT. Also, the effect of acetonic extract on oxidative stability of soybean oil was assessed using peroxide value and thiobarbitoric acid index. Results showed that the highest phenolic and flavonoid content 100.75mg GA/g extract and 2.14 mg QU/g extract, respectively and also the most of antioxidant activities in whole of assays were related to the acetonic extract. This extract showed antiradical activity higher than BHT only in DPPH assay. Also, the extract at concentration of 1000 ppm effectively inhibited the formation of peroxides in soybean oil and revealed strong antioxidant activity compared with BHT at concentration of 200 ppm. Therefore, it can be concluded that hawthorn fruit is a good source of phenolic compounds and other natural antioxidants.

Keywords: Hawthorn fruit, soybean oil, DPPH assay, antioxidant activity

مقدمه

اکسیدانی آن مدنظر باشد بسیار مورد توجه قرار گرفته است تا بتوان بخشی از نیاز انسان امروزی را فراهم نماید. در سال های اخیر مواد غذایی طبیعی و ترکیبات آنتی اکسیدانی گیاهی مانند ویتامین ها و ترکیبات فنولی به دلیل عملکردهای مفید فراوان بر سلامت انسان و جلوگیری از آسیب های اکسیداتیو، توجه رو به رشدی را دریافت نموده اند (کیم و همکاران ۲۰۱۱). اخیرا استفاده از ترکیبات فنولی موجود در گیاهان به دلیل ویژگی های بالقوه آنتی اکسیدانی و اثرات سلامتی بخش، بویژه هنگامیکه این ترکیبات در مقادیر بالا در مواد غذایی حضور دارند، افزایش یافته است (آناگلوستوپولو و

اکسیداسیون لیپید علاوه بر نقشی که در فساد مواد غذایی ایفا می کند، اهمیت آن در سلامت انسان بویژه در ایجاد و پیشرفت بیماری هایی همچون سرطان، قلبی-عروقی، تصلب شرایین و فرآیند پیری بسیار مورد توجه و مطالعه قرار گرفته است. این پدیده نه تنها اثرات نامطلوبی بر عمر انبارداری بسیاری از فرآورده های غذایی دارد، بلکه در کاهش کیفیت تغذیه ای آن ها موثر است (احمدی و همکاران ۲۰۰۷ و شوکلا و همکاران ۲۰۰۹). استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی و یا طراحی فرمولاسیون مواد غذایی به گونه ای که خاصیت آنتی

در این تحقیق میوه‌ی ولیک (*Crataegus elbursensis*) بلافاصله بعد از جمع‌آوری از جنگل شصت کلاته گرگان در آذر ماه ۱۳۸۹ در آون با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد خشک و سپس آسیاب گردید. پودر میوه با نسبت ۱:۱۰ با حلال (استون ۸۰ و اتانول ۸۰ درصد) مخلوط شد و در انکوباتور شیکردار با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸ ساعت قرار گرفت. بعد از اینکه عصاره‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره یک فیلتر شدند، عصاره‌ی اتانولی ابتدا توسط تبخیر کننده چرخشی تحت خلاء و عصاره استونی توسط آون تحت خلاء تغلیظ و سپس کلیه عصاره‌ها با خشک کن انجمادی، خشک و به پودر تبدیل شدند. پودرهای فنولی حاصل برای آزمایشات بعدی در فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتیگراد نگهداری شدند (عربشاهی و عروج ۲۰۰۷).

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل

میزان کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد. اساس کار در این روش، احیاء معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ با حداکثر جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر است. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم عصاره بیان شد (اسلینکارد و سینگلتن، ۱۹۷۷). سنجش میزان فلاونوئید کل به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید با روش چانگ و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد. از کوئرستین به منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره بیان شد.

ارزیابی فعالیت ضد رادیکالی و آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با آزمون‌های مختلف

جهت ارزیابی فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌ها با آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH (شیمادا و همکاران ۱۹۹۲) و نیز آزمون ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (پرایتو و همکاران ۱۹۹۹) محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۵۰۰-۵۰)

همکاران ۲۰۰۶). همچنین ثابت شده است که منشا بسیاری از مواد دارویی و درمانی به دلیل متابولیسم ثانویه در گیاهان است که ترکیبات فنولی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و دارویی جزو متابولیت‌های ثانویه گیاهان به شمار می‌روند (مگانها و همکاران ۲۰۱۰ و مواندا و همکاران ۲۰۱۱).

ولیک گیاه دارویی با ارزشی از خانواده گل سرخ و جنس کراتگوس است. غالب گونه‌های تیره گل سرخ در نواحی معتدل نیمکره شمالی پراکنده‌اند. سیاه ولیک (*Crataegus elbursensis*) فراوان‌ترین گونه ولیک بومی ایران بوده که به فراوانی در جنگل‌های نواحی شمال کشور یافت می‌شود. میوه‌ها به رنگ سیاه یا آبی سیاه، بیضی یا کروی، به طول تقریبی ۱۰-۸ میلی‌متر با ۴-۵ عدد هسته می‌باشند (قهرمان، ۱۳۸۶). ولیک به دلیل برخورداری از اسیدهای فنولی، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها جایگاه ویژه‌ای در صنایع دارویی دارد که جهت درمان بیماری‌های قلبی-عروقی و نیز به عنوان منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۱ و لیو و همکاران، ۲۰۱۰). با توجه به اینکه، تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر استخراج، شناسایی و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات زیست‌فعال میوه ولیک ایرانی در منابع علمی ذکر نشده است، لذا معرفی و ارزیابی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی این میوه دارویی بومی ایران حائز اهمیت است. هدف از این مطالعه اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استونی و اتانولی میوه با آزمون‌های مختلف و بررسی تاثیر عصاره ولیک بر پایداری اکسایشی روغن سویا است، تا بتوان از خواص دارویی و آنتی‌اکسیدانی آن در رژیم غذایی بهره برد.

مواد و روش‌ها

استخراج ترکیبات فنولی

درجه سانتیگراد قرار گرفت. طی فواصل زمانی روزهای صفر، چهارم، هشتم، دوازدهم و شانزدهم، عدد پراکسید (۲۰۰۳ AOCS Cd 8-53) و نیز عدد اسید تیوباریتوریک (۲۰۰۹ AOCS Cd 19-90) نمونه‌های روغن اندازه‌گیری شد. توضیح عبارات اختصاری در جدول ۱ ارائه شده‌است.

آنالیز آماری

نتایج به دست آمده با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P < 0.05$) بر پایه طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. آنالیزهای آماری با نرم افزار SAS انجام شد. کلیه آزمایشات در سه تکرار انجام شد.

میکروگرم در میلی‌لیتر) از پودر خشک شده و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT آماده شدند. همچنین، در بررسی توانایی عصاره‌ها برای احیاء آهن سه ظرفیتی در آزمون قدرت احیاءکنندگی، محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۹۰۰-۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) از پودر خشک شده تهیه و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه گردید (یلدریم و همکاران ۲۰۰۱).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا

در این آزمون، عصاره استونی میوه در سه سطح مختلف (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در دو سطح (۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام) به روغن سویای تصفیه شده و فاقد آنتی‌اکسیدان اضافه شد و برای مدت معین (۱۶ روز) در آون با دمای ۶۰

جدول ۱- تعریف عبارات اختصاری

BHT-۱۰۰	روغن سویا حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام BHT
BHT-۲۰۰	روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام BHT
A-۲۵۰	روغن سویا حاوی ۲۵۰ پی‌پی‌ام عصاره استونی میوه ولیک
A-۵۰۰	روغن سویا حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره استونی میوه ولیک
A-۱۰۰۰	روغن سویا حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره استونی میوه ولیک

نتایج و بحث

میزان ترکیبات فنول و فلاونوئید

مقایسه میانگین میزان کل ترکیبات فنول و فلاونوئید استخراج شده توسط حلال‌های استون و اتانول (۸۰ درصد) از میوه ولیک در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج آنالیز واریانس نشان داد، نوع حلال مورد استفاده جهت استخراج، تاثیر معنی‌داری ($P < 0.05$) بر مقدار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌ها داشت. بالاترین مقدار ترکیبات زیست فعال قابل استخراج، توسط حلال استون استخراج گردید.

قابلیت استخراج ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات در عصاره خام به فاکتورهای زیادی از جمله قطبیت و pH حلال‌ها، زمان و دمای استخراج و نیز

نوع و ساختار شیمیایی ترکیبات فنولی بستگی دارد (آنتولوویچ و همکاران ۲۰۰۰). در بررسی استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی میوه‌های آناناس، موز و گاو با حلال‌های مختلف نتایج نشان داد، استون موثرترین سیستم حلال برای استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بود. نوع حلال مورد استفاده تاثیر معنی‌داری بر میزان استخراج ترکیبات فنولی داشت. آن‌ها تفاوت‌های مشاهده شده بین عصاره‌های مختلف را با تفاوت در قطبیت حلال مورد استفاده مرتبط دانستند و گزارش کردند حلال‌های قطبی توانایی بیشتری را در استخراج ترکیبات فنولی را دارند (آلتمن و همکاران ۲۰۰۹). گزارش شده است که مخلوط استون-آب یک سیستم حلال خوب جهت استخراج آنتی‌اکسیدان‌های

۱۲/۸۲) میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک و ۱/۵ میلی‌گرم روتین بر گرم ماده خشک) و نیز از محتوای فنول کل میوه ولیک چینی (۹۶/۹ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره) بالاتر بود (فرولیچر و همکاران ۲۰۰۹ و لیو و همکاران ۲۰۱۰).

قطبی است (سان و همکاران، ۲۰۰۲؛ لوکسیمان-راما و همکاران، ۲۰۰۳). نتایج به دست آمده در بررسی‌های انجام شده توسط سایر محققین، نتایج حاضر را تایید می‌کند. همچنین میزان فنول و فلاونوئید کل در میوه ولیک مورد بررسی از بالاترین میزان فنول و فلاونوئید کل عصاره‌های میوه ولیک *Crataegus monogyna*

جدول ۲- میزان کل ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و بازده استخراج عصاره‌های میوه ولیک

نمونه	فنول کل (میلی‌گرم گالیک اسید/گرم عصاره)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین/گرم عصاره)	بازده استخراج (%)
عصاره استونی	۱۰۰/۷۵ ± ۳/۹۶ ^a	۲/۱۴ ± ۰/۰۹ ^a	۱۷/۵ ± ۱/۲ ^a
عصاره اتانولی	۵۴/۱۵ ± ۱/۵۲ ^b	۱/۵۷ ± ۰/۰۲ ^b	۱۲/۷ ± ۱/۵ ^b

حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

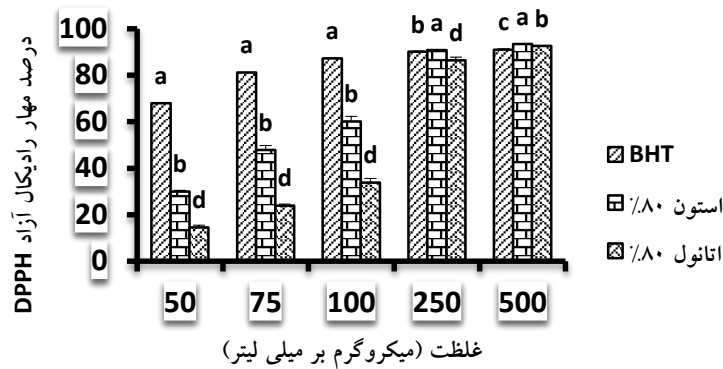
میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال آزاد افزایش می‌دهد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد توسط فلاونوئیدها به حضور گروه‌های هیدروکسیل آزاد وابسته است (شریفی‌فر و همکاران ۲۰۰۹). نتایج تحقیق حاضر با نتایج لیو و یائو (۲۰۰۷)، آلتمن و همکاران (۲۰۰۹)، شوکلا و همکاران (۲۰۰۹) و سان و همکاران (۲۰۱۱) همخوانی داشت. این محققین گزارش نمودند که فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره‌های گیاهی وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت اثر مهارکنندگی شدت یافت. عصاره‌های میوه ولیک مورد بررسی در این مطالعه از فعالیت ضدرادیکالی بالاتری نسبت به میوه ولیک *Crataegus pentagyna* برخوردار بودند (ابراهیم زاده و بهرامیان ۲۰۰۹).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها

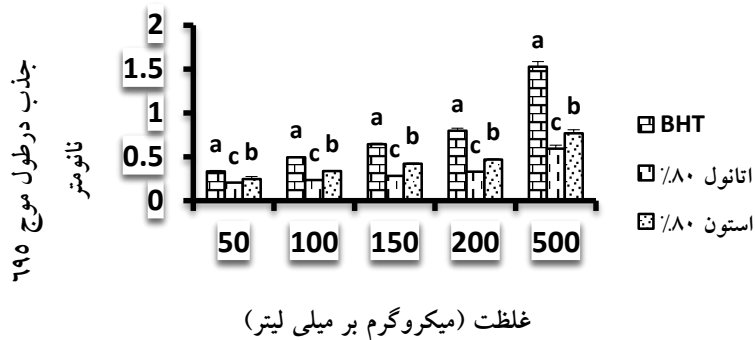
نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT وجود دارد ($P < 0.05$).

فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌ها بر مبنای آزمون DPPH

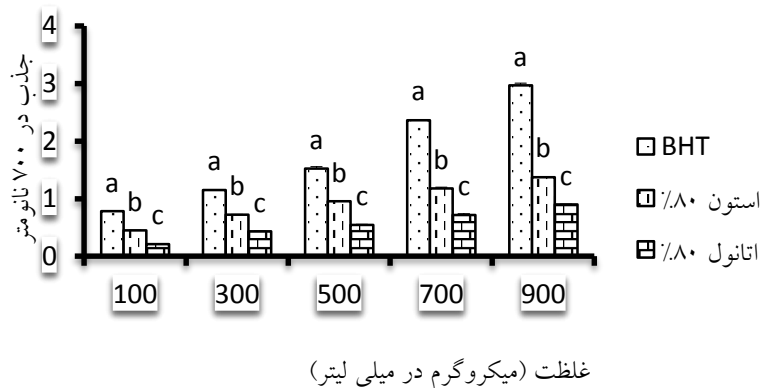
شکل ۱ میزان کاهش جذب محلول DPPH را در حضور غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که نوع و غلظت عصاره‌ها و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی تاثیر معنی‌داری بر مهار رادیکال آزاد DPPH دارد ($P > 0.05$). در محدوده غلظت ۵۰۰-۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، درصد مهارکنندگی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، ۹۱/۰۴-۶۷/۹۵ درصد؛ عصاره استونی، ۹۳/۳۸-۲۹/۹۸ درصد و عصاره اتانولی، ۹۲/۵۸-۱۴/۵۶ درصد اندازه‌گیری شد. فعالیت ضدرادیکالی در هر دو عصاره و نیز در آنتی‌اکسیدان سنتزی وابسته به غلظت بود. در سه غلظت ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT فعالیت ضدرادیکالی بالاتری نسبت به عصاره‌های میوه داشت، اما در غلظت‌های بالاتر، عصاره‌ها فعالیت ضد رادیکالی قوی‌تری نسبت به BHT نشان دادند. بالاتر بودن فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH را می‌توان به محتوای فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌ها نسبت داد. در کل، افزایش غلظت ترکیبات فنولی بطور مستقیم



شکل ۱- مقایسه میانگین درصد مهار DPPH در غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT حروف غیر مشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.



شکل ۲- مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT حروف غیر مشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.



شکل ۳- مقایسه میانگین قدرت احیاءکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT حروف غیر مشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

عصاره‌های اتانولی و استونی میوه ولیک به ترتیب در رنج ۱/۵۲-۰/۳۳، ۰/۵۹-۰/۲ و ۰/۷۶-۰/۲۴ تعیین شد. نتایج نشان داد که عصاره استونی با بیشترین میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌های میوه ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در شکل ۲ نشان داده شده است. در محدوده غلظتی ۵۰-۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT،

عصاره‌های استونی و متانولی نسبت به عصاره آبی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری داشتند که این فعالیت با مقدار فلاونوئیدهای آن‌ها ارتباط مستقیمی داشت (سان و همکاران ۲۰۰۷). در بررسی دیگری، عصاره اتانولی غنی از ترکیبات فلاونوئیدی از برگ‌های خرما، در کلیه آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی فعالیت بالایی را به خود اختصاص داد (سان و همکاران ۲۰۱۱). نتایج این محققان با نتایج این پژوهش همخوانی داشت.

تأثیر عصاره استونی میوه ولیک بر پایداری اکسایشی روغن سویا

عصاره استونی به دلیل دارا بودن بالاترین میزان ترکیبات فنول و فلاونوئید کل و نیز بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد رادیکالی، جهت بررسی بر پایداری اکسایشی روغن سویا مورد استفاده قرار گرفت. مقادیر اعداد پراکسید و تیوباربیتریک اسید روغن‌های بدون آنتی‌اکسیدان که حاوی غلظت‌های مختلف عصاره (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) و آنتی‌اکسیدان سنتزی (۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام) بودند، به مدت ۱۶ روز در فواصل زمانی ۴ روز در شرایط تسریع شده اکسیداسیون (۶۰ درجه سانتیگراد) تعیین شدند. در واقع عدد پراکسید بیانگر اکسیداسیون اولیه و عدد تیوباربیتریک اسید بازگویی محصولات ثانویه اکسیداسیون است.

ارزیابی اعداد پراکسید روغن

شکل ۴ درجه‌ی اکسیداسیون روغن سویا را در حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی (عصاره‌ی استونی میوه‌ی ولیک با غلظت‌های مختلف) و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT و نیز در نمونه شاهد (فاقد آنتی‌اکسیدان) طی ۱۶ روز گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد، اثر تیمار و زمان بر میزان عدد پراکسید نمونه‌ها معنی‌دار است ($P < 0/05$) و با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون، مقادیر پراکسید نمونه‌ها افزایش یافت. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود، نمونه شاهد که حاوی هیچ آنتی‌اکسیدانی نبوده است، بیشترین

کل بیشینه نیز بود، اما قابل‌رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT نبود. نتایج به دست آمده توسط عربشاهی و عروج (۲۰۰۷)، ساحرین و همکاران (۲۰۱۰) و سان و همکاران (۲۰۱۱) از نظر وجود ارتباط بین مقدار ترکیبات فنولی عصاره‌ها و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها، با نتایج حاصله در این پژوهش مطابقت داشت. این محققین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی عصاره‌های گیاهی را با میزان بالای فنول‌ها و فلاونوئیدهای موجود در عصاره‌ها مرتبط دانستند.

قدرت احیاءکنندگی عصاره‌ها

شکل ۳ فعالیت احیاءکنندگی عصاره‌های میوه ولیک و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT را در محدوده غلظت ۹۰۰-۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نشان می‌دهد. افزایش در جذب مخلوط واکنش حاکی از قدرت احیاءکنندگی نمونه‌ها است. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تاثیر نوع حلال و غلظت بر قدرت احیاءکنندگی عصاره‌ها و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها معنی‌دار است ($P < 0/05$). افزایش قدرت احیاءکنندگی عصاره‌های استونی و اتانولی میوه ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به ترتیب از ۰/۴۵ به ۱/۳۷، ۰/۲۱ به ۰/۹ و از ۰/۷۸ به ۲/۹۶ بود. نتایج مقایسه میانگین میزان جذب در تمامی غلظت‌های مورد بررسی، نشان داد که آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT دارای بیشترین قدرت احیاءکنندگی است. پس از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، عصاره استونی میوه ولیک بیشترین میزان قدرت احیاءکنندگی را به خود اختصاص داد. سنجش قدرت احیاءکنندگی (آنتی‌اکسیدانی) در عصاره ناشی از احیاء آهن III به آهن II با اهداء الکترون می‌باشد. بر اساس گزارش عربشاهی و عروج (۲۰۰۷) قدرت احیاءکنندگی عصاره‌ها با میزان جذب آن‌ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر رابطه مستقیم دارد و هر چه میزان جذب بالاتر باشد، نشان دهنده بالا بودن قدرت احیاءکنندگی است. در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل از حلال‌های مختلف از بروکلی، نتایج نشان داد که

مقدار عدد پراکسید را در همه روزها دارا بود. تمامی نمونه‌های مورد بررسی از نظر عدد پراکسید اختلاف معنی‌داری با نمونه شاهد داشتند. در روزهای آغازی تفاوت چندانی بین نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی و طبیعی مشاهده نشد اما در روزهای پایانی با بالا رفتن واکنش‌های اکسیداسیون، تفاوت بین نمونه‌ها مشهود است. در واقع افزایش در مقدار پراکسید را می‌توان به تشکیل هیدروپراکسیدها یعنی محصولات اولیه اکسیداسیون نسبت داد. جدول ۳ میانگین کل مقادیر پراکسید تیمارهای مختلف را طی چهار دوره زمانی نشان می‌دهد. همانطور که در جدول مشاهده می‌شود، بیشترین و کمترین میزان عدد پراکسید به ترتیب به نمونه شاهد و A-۱۰۰۰ تعلق داشت که این عصاره قابل رقابت با BHT-۲۰۰ بود.

در مجموع، اعداد پراکسید کلیه غلظت‌های عصاره‌های طبیعی نسبت به نمونه شاهد پایین بوده و عملکرد بهتری در کاهش روند اکسیداسیون روغن از خود نشان دادند که در این بین عملکرد A-۵۰۰ بهتر از BHT-۱۰۰ و همچنین A-۱۰۰۰ موثرتر از BHT-۲۰۰ در کاهش روند اکسیداسیون روغن بود. سیر افزایش پراکسید در تیمارها به صورت $A-۱۰۰۰ > BHT-۲۰۰ > A-۵۰۰$ و $BHT-۱۰۰ > A-۲۵۰$ شاهد، مشاهده شد.

ارزیابی اندیس تیوباربتوریک اسید (TBA)

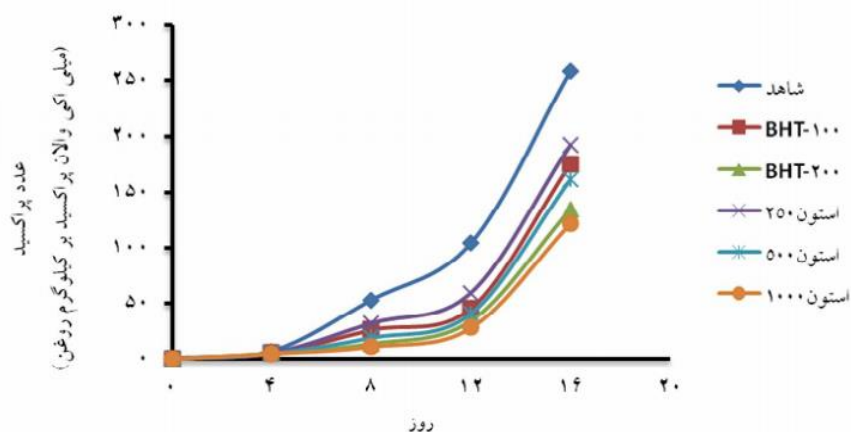
نتایج آنالیز واریانس نشان داد اثر تیمار و زمان بر میزان عدد TBA نمونه‌ها معنی‌دار است ($P < ۰/۰۵$) و با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون، مقادیر اندیس تیوباربتوریک اسید نمونه‌ها افزایش یافت. در همه روزها نمونه شاهد بالاترین مقدار عدد TBA را دارا بود و تیمار A-۲۵۰ در مرتبه بعدی قرار داشت. همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود در روزهای ابتدایی مقدار این اندیس بسیار پایین است، زیرا این اندیس در اثر تجزیه هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در روزهای اول و تبدیل آن‌ها به آلدئیدها و کتون افزایش می‌یابد. در نتیجه با پیشرفت روزهای آزمایش و در

روزهای پایانی مقدار این اندیس بیشتر افزایش می‌یابد. همانطور که مشاهده می‌شود، اثر تیمارها نسبت به نمونه شاهد معنی‌دار بوده است. بیشترین میزان عدد تیوباربتوریک اسید در تمامی روزها متعلق به نمونه شاهد بود. از آنجائیکه مالون آلدئید از تجزیه هیدروپراکسیدها حاصل می‌گردد، در روز چهارم آزمایش مقدار عدد پراکسید نمونه‌های روغن آنقدر بالا نرفته است، لذا در این روز اختلاف بین تیمارهای مختلف از نظر این شاخص چندان مشهود نبود. این نتایج نشان می‌دهد که در روزهای پایانی آزمایش، تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون با سرعت بیشتری صورت می‌گیرد و مقدار زیادی از پراکسیدهای تشکیل شده در مراحل اولیه طی روزهای پایانی آزمایش، تجزیه و به مالون آلدئید تبدیل شده‌اند. میانگین کل اعداد تیوباربتوریک اسید نمونه شاهد، نمونه‌های حاوی عصاره و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در چهار دوره زمانی در جدول ۳ نشان داده شده است. بیشترین توانایی در جلوگیری از تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون توسط تیمار A-۱۰۰۰ اعمال گردید. پس از نمونه‌های شاهد بیشترین مقدار عدد تیوباربتوریک اسید متعلق به تیمارهای A-۲۵۰ و BHT-۱۰۰ بود که از این نظر اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. همچنین اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای A-۵۰۰ و BHT-۲۰۰ از جنبه عملکرد آن‌ها در جلوگیری از تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون مشاهده نشد.

همانطور که مشاهده شد، توانایی آنتی‌اکسیدان‌ها در مهار اکسیداسیون وابسته به غلظت بود. اگرچه در روزهای ابتدایی اختلاف بین غلظت‌های مختلف هر عصاره چندان محسوس نبود، اما با گذشت زمان نمونه‌های روغن حاوی مقادیر بیشتری از عصاره یا آنتی‌اکسیدان سنتزی ثبات اکسیداتیو بیشتری نشان دادند. افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی در نتیجه‌های افزایش غلظت را می‌توان به افزایش تعداد جایگاه‌های فعال این ترکیبات برای واکنش با رادیکال‌های آزاد نسبت

داد. نتایج به دست آمده در میزان مهار اکسیداسیون روغن با نتایج آزمون‌های مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد، احیاء‌کنندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل مطابقت داشت. نتایج شهیدی و بهانگر (۲۰۰۷) در بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره سیر و نیز صمدلوئی و همکاران (۱۳۸۶) در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی استخراج شده از هسته انار با حلال استون در پایدارسازی روغن سویا در شرایط تسریع یافته، با نتایج این پژوهش همسو بود.

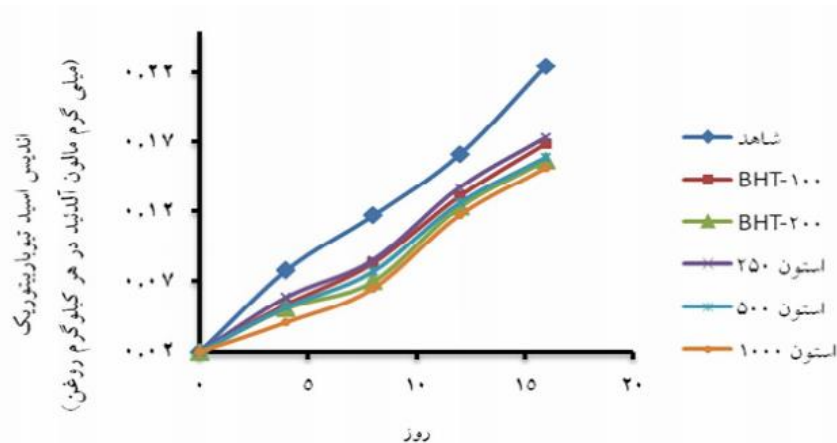
داد. نتایج به دست آمده در میزان مهار اکسیداسیون روغن با نتایج آزمون‌های مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد، احیاء‌کنندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل مطابقت داشت. نتایج شهیدی و بهانگر (۲۰۰۷) در بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره سیر و نیز صمدلوئی و همکاران (۱۳۸۶) در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی استخراج شده از هسته انار با حلال استون در پایدارسازی روغن سویا در شرایط تسریع یافته، با نتایج این پژوهش همسو بود.



شکل ۴- مقایسه میانگین اعداد پراکسید تیمارهای مختلف روغن سویا در روزهای مختلف

جدول ۳- میانگین اندیس پراکسید و اسید تیوباریتوریک تیمارهای مختلف

تیمارها	پراکسید	تیوباریتوریک اسید
شاهد	۱۰۵/۳۱ ^a	۰/۱۵۰ ^a
BHT-۱۰۰	۶۳/۰۷ ^c	۰/۱۰۷ ^b
BHT-۲۰۰	۴۶/۵۶ ^e	۰/۰۹۷ ^c
A-۲۵۰	۷۱/۹۴ ^b	۰/۱۰۸ ^b
A-۵۰۰	۵۶/۴۳ ^d	۰/۰۹۷ ^c
A-۱۰۰۰	۴۱/۳۷ ^f	۰/۰۸۴ ^d



شکل ۵- مقایسه میانگین اندیس تیوباریتوریک اسید تیمارهای مختلف روغن سویا در روزهای مختلف

نتیجه گیری

وابسته به غلظت بود، به طوریکه در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام، این عصاره توانست به خوبی روند اکسیداسیون روغن سویا را کند نماید و از این نظر قابل رقابت با BHT در غلظت ۲۰۰ پی پی ام بود. با توجه به غنی بودن جنگل‌های شمال کشور از این میوه و اثرات قوی آنتی اکسیدانی آن، می توان عصاره این میوه را به عنوان منبع بالقوه ای از آنتی اکسیدان های طبیعی مورد پژوهش بیشتر قرار داد و در صنعت غذا و دارو از آن بهره برد.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که ویژگی‌های حلال مورد استفاده جهت استخراج ترکیبات فنولی به میزان زیادی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را تحت تاثیر قرار داد. قدرت ضد رادیکالی عصاره های میوه ولیک در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی BHT بالاتر بود. میوه ولیک به دلیل غنی بودن از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی دارای پتانسیل فعالیت آنتی اکسیدانی بالقوه ای است. همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره میوه

منابع مورد استفاده

- صمد لویی ح ر، عزیزی م ح و برزگر م، ۱۳۸۶. اثر آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی هسته انار بر روغن سویا. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد چهاردهم، شماره ۴.
- قهرمان ا، ۱۳۸۶. فلور رنگی ایران. موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع - بخش گیاه‌شناسی، ۹۲۴.
- Ahmadi F, Kadivar M and Shahedi M, 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima Mozaff* in model and food systems. Food Chemistry 105:57- 64.
- Alothman M, Bhat R and Karim AA, 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. Food Chemistry 115: 785-788.
- American Oil Chemists' Society, 2003. AOCS. Official method Cd 8-53. Peroxide value. In Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 5th ed. (D. Firestone, ed.). AOCS, Champaign, Ill.
- American Oil Chemists' Society, 2009. AOCS Official method Cd 19-90. 2-Thiobarbituric acid value. Direct method. In Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 5th ed. (D. Firestone. ed.), Champaign. 111.
- Anagnostopoulou MA, Kefalas P, Papageorgiou VP, Assimepoulou AN and Boskou D, 2006. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). Food Chemistry 94: 19-25.
- Antolovich M, Prenzler P, Robards K and Ryan D, 2000. Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruit. Analyst 125: 989-1009.
- Arabshahi-D S and Urooj A, 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry 102: 1233-1240.
- Chang C, Yang M, Wen H and Chern J, 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. Food and Drug Analysis 10: 178-182.
- Ebrahimzadeh MA, and Bahramian F. 2009. Antioxidant activity of *Crataegus pentagyna* subsp. *elburensis* fruits extracts used in traditional medicine in Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences 12(5): 413-419.
- Froehlicher T, Hennebelle T, Martin-Nizard F, Cleenewerck P, Hilbert JL, Trotin F, and Grec S. 2009. Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts. Food Chemistry 115: 897-903.
- Kim Il-S, Yang M, Lee OH and Kang SN, 2011. The antioxidant activity and the bioactive compound content of *Stevia rebaudiana* water extracts. LWT - Food Science and Technology 44: 1328-1332.

- Liu P, Yang B and Kallio H, 2010. Characterization of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major*) fruit by high performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry* 121: 1188–1197.
- Liu Q and Yao H, 2007. Antioxidant activity of barley seeds extracts. *Food Chemistry* 102: 732-737.
- Liu PZ, Kallio H, Lu DG, Zhou CS, Ou SY and Yang BR. 2010. Acids, Sugars, and Sugar Alcohols in Chinese Hawthorn (*Crataegus* spp.) Fruits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 58: 1012–1019.
- Luximon-Ramma A, Bahorun T and Crozier A, 2003. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. *Science of Food and Agriculture* 83: 496–502.
- Muanda FN, Soulimani R, Diop B and Dicko A, 2011. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from stevia rebaudiana Bertoni leaves. *LWT - Food Science and Technology* 44: 1865-1872.
- Maganha EG, Halmenschlager RC, Rosa RM, Henriques JAP, Ramos ALP and Saffi J, 2010. Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus Hibiscus. *Food Chemistry* 118: 1–10.
- Prieto P, Pineda M and Aguilar M, 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry* 269: 337-341.
- Sahreen S, Rashid Khan M and Ali Khan R, 2010. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. *Food Chemistry* 122: 1205-1211.
- Shahidi I and Bhangar M, 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry* 100: 246-254.
- Sharififar F, Dehghn-Nudeh G and Mirtajaldini M, 2009. Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chemistry* 112: 885–888.
- Shimada K, Fujikawa K, Yahara K and Nakamura T, 1992. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Agricultural and Food Chemistry* 40: 945-948.
- Shukla Sh, Mehta A, Bajpai VK and Shukla S, 2009. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. *Food and Chemical Toxicology* 47: 2338–2343.
- Slinkard K and Singleton VL, 1977. Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture* 28: 49-55.
- Sun J, Chu Y, Wu X and Liu RH, 2002. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Fruits. *Agriculture and Food Chemistry* 50:7449–7454.
- Sun L, Zhang J, Lu X, Zhang L and Zhang Y, 2011. Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food and Chemical Toxicology* 49: 2689-2696.
- Sun T, Powers JR and Tang J, 2007. Evaluation of the antioxidant activity of asparagus, broccoli and their juices. *Food Chemistry* 105: 101-106.
- Yildirim A, Mavi A and Kara AA, 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Agricultural and Food Chemistry* 49: 4083-4089.
- Zhang Z, Chang Q, Zhu M, Huang Y, Ho WKK and Chen ZY, 2001. Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits. *Nutritional Biochemistry* 12: 144–152.