

ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی عصاره متانولی برگ گیاه پنج انگشت (*Vitex agnus castus*) بر پایداری اکسیداتیو روغن سویا طی نگهداری

سانیا منصوری اطمینان^{۱*}، امیرحسین الهامی راد^۲، محمد حسین حداد خداپرست^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

^۲ دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

^۳ استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۳/۲۲

چکیده

در این پژوهش عصاره متانولی برگ گیاه پنج انگشت استخراج و تاثیر آن بر پایداری اکسیداتیو روغن سویا طی نگهداری مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور، عصاره استخراج شده در غلظت‌های مختلف (۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) به روغن سویای تصفیه شده فاقد آنتی اکسیدان افزوده شد و پایداری اکسایشی روغن در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج روز از طریق اندازه‌گیری عدد دی‌ان‌کنژوگه، عدد پراکسید و طول دوره القاء بررسی و با فعالیت آنتی اکسیدان سنتزی BHT به میزان ۲۰۰ پی‌پی‌ام مقایسه گردید. نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره برگ گیاه پنج انگشت، میزان ترکیبات پلی فنولی و فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد عصاره افزایش یافته و بجز غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام، سایر غلظت‌های عصاره در سطح بالاتری نسبت به نمونه BHT به میزان ۲۰۰ پی‌پی‌ام قرار داشتند. همچنین، نتایج حاصل از بررسی پایداری اکسایشی روغن حاوی غلظت‌های مختلف عصاره نشان داد که غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام و نمونه شاهد به دلیل داشتن مقادیر بالاتر ترکیبات پلی فنولی و توکوفرولی در پایداری اکسایشی روغن سویا و کاهش عدد پراکسید و دی‌ان‌مزدوج تأثیر بیشتری داشت. بدین ترتیب عصاره متانولی برگ گیاه پنج انگشت به عنوان یک منبع آنتی اکسیدانی ارزان قیمت و در دسترس می‌تواند در صنعت غذا و دارو مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: برگ گیاه پنج انگشت، آنتی اکسیدان‌های طبیعی، روغن سویا، پایداری اکسایشی.

۱- مقدمه

روغن سویا مهمترین روغن نباتی است که در جهان تولید می‌شود. این اهمیت به دلیل فراوانی، ارزانی، کیفیت خوب روغن، محصول پروتئینی با ارزش به جامانده از روغن کشتی و بازده بالای روغن است که روغن سویا را روغنی با ارزش در بازارهای محلی و بین‌المللی کرده است. روغن سویا در محدوده نسبتاً وسیع حرارتی به صورت مایع بوده و ترکیبات غیر اشباع آن زیاد است. وجود مقدار نسبتاً زیاد اسید لینولیک (3: C18) پایداری روغن را در مقابل اکسیداسیون کاهش داده و از طرفی برگشت طعم و بوی روغن پس از تصفیه و بی بو کردن را به لینولات‌ها (نمک‌های اسید لینولیک) نسبت می‌دهند، برخی از پژوهش‌های انجام شده در این زمینه به شرح ذیل می‌باشد.

لاتوئی و همکاران (۲۰۱۲) برای اولین بار برگ، ریشه و دانه گیاه پنج انگشت را از نظر ترکیبات فنولی، پلی فنول‌های کل، دی فنول‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها مورد بررسی قرار دادند. طبق نتایج آن‌ها، بالاترین مقادیر کلی پلی فنول‌ها و دی فنول‌ها مربوط به عصاره متانولی برگ گیاه پنج انگشت بود. با توجه به اینکه عصاره متانولی برگ گیاه پنج انگشت دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی بود به عنوان منبع ارزان قیمت و مناسب از نظر ترکیبات فنولی برای صنعت غذا و دارو معرفی شد (۱۸). سینگز و همکاران (۲۰۰۹) به بررسی ترکیب شیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره‌های مختلف آبی، دی کلرومتان، متانول و اتیل استات میوه گیاه پنج انگشت پرداختند. فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌ها توسط سه سیستم آزمایشی مختلف DPPH، بتاکاروتن/اسید لینولیک و آزمایش تعیین شدند. آنالیز GC و GC-MS بر روی میوه گیاه پنج انگشت به شناسایی ۲۷ ترکیب و ۹۴/۵٪ اسانس انجامید. ترکیبات اصلی اسانس شامل (۸)، ۱- سینوئل، ۲۴/۹۸٪، (سایینن، ۱۳/۴۵٪)، (α-پینن ۱۰/۶۰٪)، (α-ترینیل استات ۶/۶۶٪) و (Z-B فارنسن ۵/۴۰٪) بودند و در بین حلال‌ها، عصاره آبی دارای بالاترین خاصیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولیک بود (۱۱۲/۴۶ پی‌پی‌ام). عصاره دی کلرو متان غنی از فلاونوئیدها بود و همبستگی مثبتی بین پتانسیل فعالیت آنتی اکسیدانی و مقدار کلی ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدهای عصاره مشاهده شد (۲۰). احمدوند و همکاران (۱۳۹۱) ویژگی‌های آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ گیاه ویتکس (*Vitex pseudo-negundo*) را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج به دست آمده نشان داد که ظرفیت تام آنتی اکسیدانی عصاره

اکسیداسیون روغن‌ها علاوه بر تغییر ویژگی‌های ارگانولپتیکی ماده غذایی، ارزش غذایی و عمر نگهداری روغن‌ها را کاهش می‌دهد و به دلیل تولید ترکیبات نامطلوب در روغن برای سلامتی مصرف کنندگان تأثیر سوئی دارند. برای جلوگیری از اکسیداسیون روش‌های متعددی وجود دارد که یکی از این موارد افزودن آنتی اکسیدان‌ها است. آنتی اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که قادر به تأخیر، کاهش و حتی توقف فرایندهای اکسیداسیون می‌باشند. امروزه از آنتی اکسیدان‌های سنتزی همچون TBHQ، BHT، BHA و استرهای گالات به همین منظور استفاده می‌گردد. اما با توجه به این که آنتی اکسیدان‌های سنتزی اثرات نامطلوبی نظیر اثر جهش‌زایی و سرطان‌زایی در بدن انسان دارند به تدریج از فهرست آنتی اکسیدان‌های مصرفی حذف می‌شوند، لذا تهیه و تولید آنتی اکسیدان‌های طبیعی به عنوان جانشینی مناسب ضروری می‌باشد. برا و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند مزایای آنتی اکسیدان‌های طبیعی در مقایسه با آنتی اکسیدان‌های سنتتیک شامل پذیرش بالا توسط مصرف کنندگان و ایمن بودن آنهاست (۱۲).

یکی از منابع موجود داخلی، گیاه پنج انگشت (*Vitex agnus castus*) از رده دو لپه‌ای‌ها است. این گیاه بومی اروپای مدیترانه‌ای و آسیای مرکزی است. در ایران این گیاه در تهران، کرج، خراسان، قم و اکثر نقاط استپی جنوب ایران مانند شهرستان گچساران و کهگیلویه و بویر احمد به وفور دیده می‌شود (۴). ترکیبات شیمیایی برگ‌های پنج انگشت دارای انواع گلیکوزیدها مانند ویتکسین^۱، ویتکسینین^۱، انواع فلاونوئیدها نظیر کاستیسین^۲، اورینتین^۳، ایزوویتکسین^۴، آکالوئید ویتیسین^۵، گلیکوزیدهای ایریدوئیدی مانند اوکوبین^۶ و آگنوزید^۷، اتروستوزید و استروئیدهایی مانند ۳-۴A-کتوستر می‌باشد (۱۶).

¹ Vitexin² Casticin³ Orientin⁴ Isovitexin⁵ Viticine⁶ Aucubin⁷ Agnusid

ترخون، بابونه شیرازی و شبت به ترتیب ۲/۵۷، ۵/۶۳ و ۳/۱۹ میلی گرم در میلی لیتر بود که بر اساس آزمون‌های DPPH و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن و همچنین با توجه به ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌ها، قدرت و فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب: شبت، بابونه شیرازی و ترخون بود و هر سه اسانس به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی قابل مصرف هستند (۸). بررسی مطالعات انجام شده بر روی اثر آنتی اکسیدان‌های طبیعی در روغن‌های خوراکی حاکی از این بود که آنتی اکسیدان‌های طبیعی علاوه بر پایداری روغن‌های خوراکی، سبب افزایش ارزش تغذیه‌ای آنها نیز می‌شوند (۱۲).

هدف از این مطالعه بررسی کارایی آنتی اکسیدان حاصل از یک منبع گیاهی جدید بر میزان پایداری یکی از متداول‌ترین روغن‌های مورد مصرف در کشور بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه عصاره برگ گیاه پنچ انگشت

برگ‌های گیاه پنچ انگشت از روستای کسکن واقع در شهرستان سبزواری جمع آوری گردید. برای این منظور ابتدا دمبرگ و جدا گردید و پس از شستشو، در سایه و در دمای اتاق خشک و سپس با آسیاب خانگی مولینکس کاملاً پودر گردید و پودر حاصل از الک عبور داده شد. برای تهیه عصاره میزان ۵۰ گرم پودر حاصل از مرحله قبل با ۵۰۰ میلی لیتر متانول ۹۸٪ (ساخت شرکت مرک، آلمان) به نسبت ۱:۱۰ مخلوط شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۳ درجه سانتیگراد هم زده شد و سپس به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. محلول حاصل به وسیله تبخیرکننده چرخان (مدل LABRATA4000) در دمای ۳۸ درجه سانتیگراد تغلیظ و در انتها عصاره به وسیله خشک کن تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد خشک گردید و تا انتهای آزمون‌های مربوطه در پلیت‌های درب‌دار بدون نفوذ هوا در ۴ درجه سانتیگراد در تاریکی نگهداری شد.

۲-۲- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

۲-۲-۱- اندازه‌گیری ترکیبات فنلی نمونه

برای شناسایی ترکیبات فنولی عصاره برگ گیاه پنچ انگشت، ابتدا ۱۰۰۰ میلی گرم از عصاره خشک شده را به وسیله آب مقطر به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رسانده و به این ترتیب رقت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام

هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس به ترتیب برابر با ($1/76 \pm 0/25$ و $2/12 \pm 0/60$)، میزان فنل عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس به ترتیب برابر با (22 ± 2 و $133/11 \pm 3$)، میزان فلاوونوئید عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس به ترتیب برابر با (18 ± 1 و $5/5 \pm 4$) است. (۱). در تحقیقی عیوقی و همکارانش (۱۳۸۸) فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس شوید را با اندازه‌گیری اعداد پراکسید و تیوباریتوریک اسید در روغن سویا بررسی نمودند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که اسانس شوید توانایی جلوگیری از تولید محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون در روغن سویای خام در سطح غلظتی ۰/۶ میلی گرم در میلی لیتر که تقریباً معادل با آنتی اکسیداسیون شیمیایی BHA در سطح غلظتی ۰/۱ میلی گرم در میلی لیتر می‌باشد را دارا است. طبق گزارش این محققان، اسانس شوید می‌تواند به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی عمل نموده و پس از آزمایش‌های تکمیلی به مواد غذایی اضافه شود (۸). شهسواری و همکاران (۱۳۸۷) خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی^۱ را با اندازه‌گیری اعداد پراکسید (PV) و تیوباریتوریک اسید (TBA) در روغن سویا بررسی نمودند و به این نتیجه رسیدند که اثر اسانس آویشن شیرازی در غلظت ۰/۰۶ درصد مشابه اثر BHA در غلظت ۰/۰۲ درصد بوده است (۵). عزیزخانی و عطایی (۱۳۹۱) به بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی عصاره و اسانس نعنای پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که عصاره متانولی نعنای فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به اسانس نعنای در بازداری سیستم رادیکال آزاد ۲ و ۲ دی فنیل پیکریل هیدرازیل و بتاکاروتن/لینولئیک اسید نشان داد. همچنین آنها گزارش دادند که عصاره متانولی نعنای باعث کاهش پایداری رادیکال آزاد DPPH با غلظت ۵۵/۳ گرم بر میلی لیتر عصاره که ۵۱ درصد بازداری را نشان داد، شد. در سیستم بتاکاروتن/اسید لینولئیک، اسانس و عصاره نعنای قادر به بازداری اکسیداسیون اسید لینولئیک شد و در غلظت ۲ mg/ml هر کدام به ترتیب ۲۴ و ۳۶ درصد بازداری را نشان دادند که نسبت به فعالیت آنتی رادیکالی BHT بسیار کمتر بود (۷). عیوقی (۱۳۸۷) نیز در بررسی اثر آنتی رادیکالی و آنتی اکسیدانی اسانس‌های ترخون، بابونه شیرازی و شبت اعلام کرد مقدار فعالیت آنتی رادیکالی برای اسانس

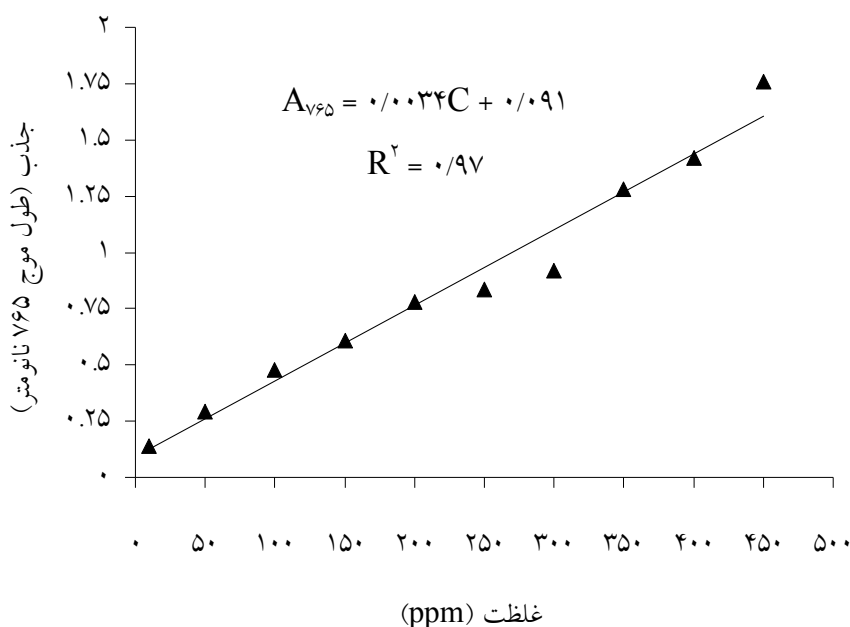
^۱ *Zataria multiflora* boiss

شد. میزان ترکیبات فنولی توسط معادله رگرسیون خطی بدست آمده از منحنی کالیبراسیون اسید گالیک به عنوان استاندارد بر

$$A_{765} = 0.0034C(mg/ml) + 0.091, R^2 = 0.970$$

بر حسب درصد اسید گالیک تعیین شد (شکل ۱). در معادله رگرسیونی حاصل از منحنی کالیبراسیون اسید گالیک، A میزان جذب خوانده شده در طول موج ۷۶۵ نانومتر و C غلظت ترکیبات فنولی بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر است (۱۵).

تهیه گردید. از این محلول رقت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام تهیه شد. میزان ۰/۵ میلی‌لیتر از هر کدام از رقت‌ها به لوله‌ی آزمایش انتقال داده شد، سپس ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتیو (به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق شده با آب مقطر) به هر لوله اضافه شد و توسط هم‌زن هم‌زن لوله‌ای، ۳۰ ثانیه به شدت هم زده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد به لوله‌ها اضافه شد و بعد از هم زدن به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۲۳ درجه سانتیگراد و در تاریکی نگهداری شد. جذب هر کدام از نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده



شکل ۱- منحنی استاندارد اسید گالیک جهت تعیین مقدار کل ترکیب‌های فنولی در عصاره‌های گیاه پنج انگشت

کرده و سپس در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر جذب نمونه قرائت شد. قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید (۱۳).

$$I\% = \left(\frac{A_{Blank} - A_{Sample}}{A_{Blank}} \right) \times 100 \quad (1)$$

در این معادله، A_{Blank} جذب نوری نمونه شاهد (فاقد عصاره) و A_{Sample} جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره می‌باشد.

۲-۲-۲- اندازه‌گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد (DPPH)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی با بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد ۲ و ۲ دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه‌گیری گردید. جهت این منظور، ابتدا ۱۰۰۰ میلی‌گرم از عصاره خشک شده گیاه پنج انگشت را با آب مقطر به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده و به این ترتیب رقت‌های شاهد، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ پی‌پی‌ام تهیه گردید. میزان نیم میلی‌لیتر از هر کدام از رقت‌ها را به لوله آزمایش منتقل کرده و مقدار ۳/۵ میلی‌لیتر معرف ۲ و ۲ دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل به هر لوله اضافه کرده به خوبی هم زده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط و محل تاریک نگهداری

۲-۳- اندازه گیری عدد دی ان کنژوگه

برای اندازه گیری عدد دی ان مزدوج ابتدا ۱۰ میلی گرم روغن حاوی مقادیر مختلف عصاره را با ۱۰ میلی لیتر ایزواکتان مخلوط کرده تا روغن در ایزواکتان حل شود. سپس جذب نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۳۴ نانومتر در سل از جنس کوارتز در مقابل جذب ایزواکتان (به عنوان شاهد) خوانده شد (۵). در نهایت میزان دی ان‌های مزدوج موجود در نمونه از رابطه ۲ محاسبه شد.

$$E = \frac{A_{\lambda}}{C_L \times L} \quad (2)$$

در این رابطه E میزان میکرومول دی ان‌های مزدوج در هر گرم از نمونه، A_{λ} میزان جذب نمونه در ۳۲۳ نانومتر طول سل کوارتز بر حسب سانتی متر و C_L میزان گرم نمونه روغن موجود در ۱۰۰ میلی لیتر از محلول تهیه شده می‌باشد.

۲-۴- اندازه گیری عدد پراکسید

طبق تعریف عدد پراکسید عبارت است از میلی اکی والان پراکسید موجود در ۱۰۰۰ گرم روغن یا چربی. برای این منظور ۵ گرم از نمونه روغن را در یک ارلن مایر درب دار ۲۵۰ میلی لیتر وزن کرده و ۳۰ میلی لیتر از محلول اسید استیک-کلروفرم به آن افزوده شیشه را تکان داده تا روغن در حلال حل شود بعد به آن ۰/۵ میلی لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع افزوده و خوب همزده شد. یک دقیقه بعد ۳۰ میلی لیتر آب مقطر افزوده و آن را با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیترا کرده و تا از بین رفتن رنگ زرد تیتراسیون را ادامه داده سپس ۰/۵ میلی لیتر معرف چسب نشاسته به آن افزوده و تیتراسیون تا زایل شدن رنگ موجود ادامه داده شد. عدد پراکسید طبق معادله ۳ محاسبه شد.

$$PV = \frac{(S - B) \times N}{G} \times 1000 \quad (3)$$

که در آن S حجم تیوسولفات مصرفی در تیتراسیون نمونه بر حسب میلی لیتر، B حجم تیوسولفات مصرفی در تیتراسیون نمونه شاهد بر حسب میلی لیتر، N نرمالیه تیوسولفات و G وزن نمونه به گرم می‌باشد.

۲-۲-۵- شاخص پایداری اکسایشی روغن^۱ (OSI)

برای تعیین پایداری اکسایشی از دستگاه رنسیمت مدل 743 Rancimat ساخت کشور سوییس با سرعت جریان هوا ۲۰ لیتر بر ساعت استفاده شد (۱۳). بدین منظور، طول دوره القاء نمونه روغن پایدار شده با عصاره گیاه پنچ انگشت در غلظت بهینه آزمون‌های تعیین ترکیبات فنلی و آنتی رادیکالی، در دمای ۱۱۰ درجه سانتی گراد در طول ۵ روز نگهداری مورد بررسی قرار گرفت. جهت ارزیابی تاثیر حرارت بر کاهش طول دوره القاء، پایداری حرارتی نمونه روغن پایدار شده با عصاره پنچ انگشت در غلظت بهینه آزمون‌های تعیین ترکیبات فنلی و رادیکال گیرندگی، در سه دمای مختلف ۱۱۰، ۱۳۰ و ۱۵۰ درجه سانتی گراد به روش رنسیمت تعیین گردید.

۲-۳- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش از طرح آماری کاملاً تصادفی استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری MSTST C مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی دار^۲ در سطح احتمال ۹۵ درصد انجام گردید. جهت ترسیم نمودارها از نرم افزار Microsoft Excel نسخه ۲۰۰۳ استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی خواص شیمیایی عصاره برگ گیاه پنچ انگشت

۳-۱-۱- ترکیبات فنلی

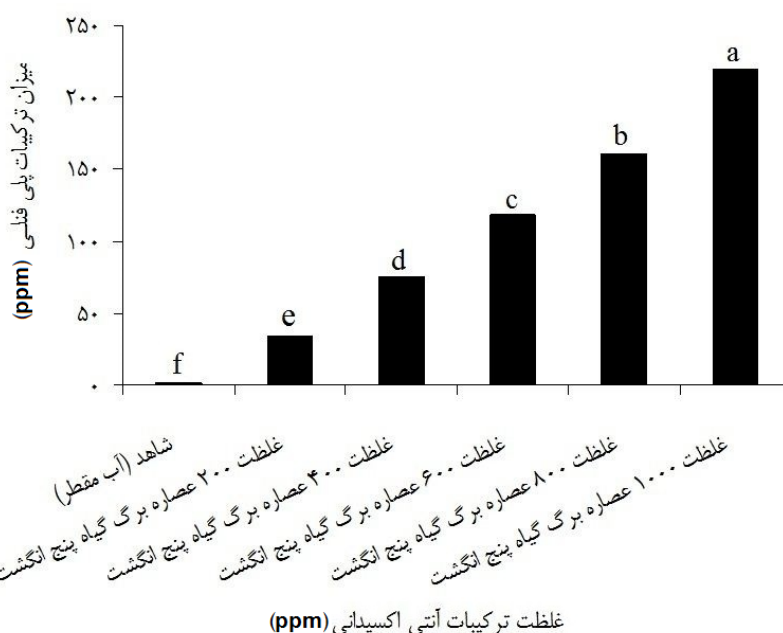
با توجه به بررسی‌های انجام شده، بیشینه‌ی ترکیبات پلی فنلی با اختلاف معنی دار در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره برگ گیاه پنچ انگشت مشاهده گردید (شکل ۲). همچنین نتایج نشان داد که کمترین مقدار ترکیبات پلی فنلی در نمونه شاهد مشاهده شد. در مورد عصاره برگ گیاه پنچ انگشت، همانطور که مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت عصاره از ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ پی پی ام میزان ترکیبات پلی فنلی موجود در عصاره افزایش یافت که این امر منجر به افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی می‌شود. بر اساس نتایج به دست آمده، با افزایش غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه پنچ انگشت میزان ترکیبات آنتی اکسیدان از ۳۴/۱۲ پی پی ام در

¹ Oil/oxidative stability index

² Least significant difference (LSD)

وجود دارد به طوری که در این بین گیاه *Mentha piperita* میزان فنول کل بالا (۴۹۳ میلی گرم معادل اسید گالیک در هر گرم) و فعالیت آنتی اکسیدانی بالا (EC_{50} برابر ۰/۲۳ میلی گرم بر میلی لیتر) و گیاه *Capparis ovate* میزان فنول کل پایین (۱۸۵ میلی گرم معادل اسید گالیک در هر گرم) و نیز فعالیت آنتی اکسیدانی پایین (EC_{50} برابر ۴/۰۸ میلی گرم بر میلی لیتر ارزیابی گردید (۲۱). سینگ و همکاران (۲۰۰۶) نیز ویژگی های آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره های بذر شوید هندی را مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد که علت قوی تر بودن فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره بذر نسبت به اسانس آن، حضور بیش دو ترکیب فنولیک آنتول و دیل آپیول است (۲۰).

غلظت ۲۰۰ پی پی ام تا ۲۱۹/۵۶ پی پی ام در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام افزایش یافت و این افزایش در تمام غلظت های عصاره در سطح احتمال ۹۵ درصد معنی دار بود ($p < 0/05$). بنابراین بر اساس این پارامتر، غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره برگ گیاه پنج انگشت با دارا بودن ۲۱۹/۵۶ پی پی ام ترکیبات پلی فنلی دارای بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی بوده و در نتیجه در مرحله سنجش مقاومت حرارتی روغن سویا با استفاده از تست آون، از این غلظت عصاره به منظور افزایش پایداری اکسایشی روغن سویا در مقایسه با آنتی اکسیدان BHT استفاده شد. یونور و همکاران (۲۰۰۹) فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان فنول کل عصاره متانولی تعدادی از گیاهان را بررسی کرده و به این نتیجه رسیدند که رابطه مستقیمی بین میزان فنول کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره این گیاهان

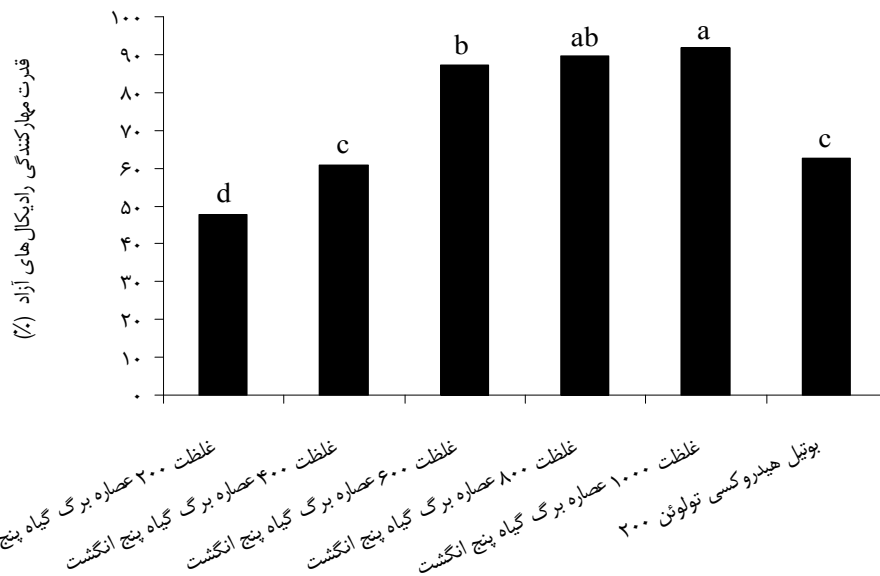


شکل ۲- تغییرات مقدار ترکیبات پلی فنلی در غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه پنج انگشت

مهارکنندگی رادیکال های آزاد به طور چشمگیری افزایش یافت به طوری که فعالیت ضد رادیکالی آن از ۴۷/۸۵ درصد برای غلظت ۲۰۰ پی پی ام تا ۹۱/۷۱ درصد در سطح ۱۰۰۰ پی پی ام افزایش یافت (شکل ۳). طبق نتایج نمونه حاوی ۸۰۰ پی پی ام عصاره با مقدار فعالیت ضد رادیکالی برابر ۸۹/۶۹ درصد در سطح پایین تری نسبت به غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام و در سطح بالاتری نسبت به غلظت ۶۰۰ پی پی ام قرار داشت ولی این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود ($p < 0/05$). همچنین نتایج نشان داد که بین کلیه

۳-۱-۲- فعالیت آنتی رادیکالی (DPPH)

با توجه به تأثیر معنی دار ($p < 0/05$) غلظت های مختلف عصاره برگ پنج انگشت روی قدرت مهارکنندگی رادیکال های آزاد، بیشینه ی قدرت مهارکنندگی رادیکال های آزاد با اختلاف معنی دار در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره برگ گیاه پنج انگشت مشاهده گردید (شکل ۳). با بررسی اثر غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه پنج انگشت بر فعالیت آنتی رادیکالی مشاهده شد که با افزایش غلظت عصاره برگ گیاه پنج انگشت، فعالیت



غلظت ترکیبات آنتی اکسیدانی (ppm)

شکل ۳- تغییرات فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه پنج انگشت و مقایسه آن با آنتی اکسیدان سنتزی BHT

و نمونه فاقد آنتی اکسیدان (شاهد) در طول ۵ روز، به ترتیب پایداری اکسایشی روغن کاهش یافت. نتایج حاکی از آن بود که، در روز پنجم نگهداری مقدار این شاخص برای روغن حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره برگ گیاه پنج انگشت معادل ۵/۴ ساعت بود که در مقایسه با نمونه حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی اکسیدان سنتزی در سطح بالاتری قرار گرفت. همچنین نتایج ارائه شده نشان می‌دهد که هر دو نمونه تیمار شده با آنتی اکسیدان (طبیعی و سنتزی) نسبت به نمونه شاهد (مقدار شاخص پایداری اکسایشی ۴/۳ ساعت) از لحاظ شاخص پایداری اکسایشی در سطح بالاتری قرار گرفتند (شکل ۴). نکته قابل توجه این که در تمام روزهای نگهداری روغن سویا در آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، شاخص پایداری اکسایشی (طول دوره القاء) نمونه روغن حاوی آنتی اکسیدان طبیعی نسبت به نمونه روغن حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHT و شاهد بیشتر بود که بیانگر پایداری بیشتر روغن سویای حاوی این غلظت آنتی اکسیدان طبیعی (غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) نسبت به روغن حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHT در برابر اکسیداسیون می‌باشد و این مطلب فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر عصاره برگ گیاه پنج انگشت را نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی BHT تأیید می‌نماید. یکی از دلایل اصلی پایداری

غلظت‌های عصاره برگ گیاه پنج انگشت به جز غلظت ۴۰۰ پی‌پی‌ام، نسبت به نمونه آنتی اکسیدان سنتزی BHT با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده گردید.

۳-۲- بررسی پایداری روغن سویا توسط عصاره برگ گیاه پنج انگشت

۳-۲-۱- شاخص پایداری اکسایشی

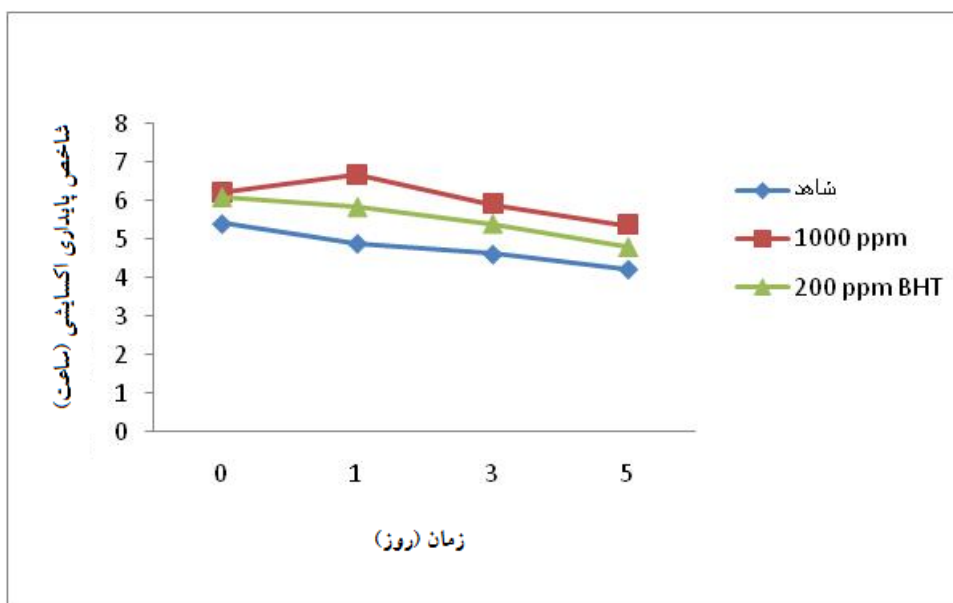
۳-۲-۱-۱- تغییرات شاخص پایداری اکسایشی روغن سویا طی دوره‌ی نگهداری

روند تغییرات شاخص پایداری اکسایشی روغن سویای حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره برگ گیاه پنج انگشت، نمونه حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی اکسیدان سنتزی BHT و نمونه فاقد آنتی اکسیدان (شاهد) در طی ۵ روز نگهداری در آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد در شکل ۴ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود قبل از آون‌گذاری نمونه حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره برگ گیاه پنج انگشت و ۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی اکسیدان سنتزی BHT با مقدار شاخص پایداری اکسایشی به ترتیب برابر ۶/۲۱ و ۶/۰۹ ساعت تقریباً در یک سطح قرار داشتند ولی نسبت به نمونه شاهد با مقدار پایداری اکسایشی ۵/۴۱ ساعت در سطح بالاتری قرار داشتند. نتایج نشان داد که طی نگهداری روغن سویا حاوی آنتی اکسیدان

غلظت ۲۰۰ پی پی ام) بود. همچنین آنها بیان نمودند، بین نمونه‌های حاوی ۱۰۰ پی پی ام عصاره متانولی پوست خارجی انار و نمونه

حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی پی ام، اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده نشد با این وجود نمونه‌های حاوی ۱۰۰ پی پی ام عصاره متانولی پوست خارجی انار دارای طول دوره القاء بالاتری نسبت به نمونه حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی پی ام بود. همچنین آنها گزارش نمودند که افزایش دما از ۹۰ به ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد سبب کاهش طول دوره القاء در تمام تیمارها گردید (۱۱).

اکسایشی، بدلیل حضور مقادیر بیشتر توکوفرول‌ها و ترکیبات فنولیک در عصاره برگ گیاه پنج انگشت بوده که بیشترین مقدار آن در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره مشاهده شد. یزدان پناه و همکاران (۱۳۸۸) در تحقیقی به بررسی مقاومت حرارتی روغن آفتابگردان حاوی عصاره متانولی آنتی اکسیدانی پوست خارجی انار در دو سطح ۱۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی پی ام پرداختند. نتایج تست طول دوره القاء در سه دمای ۹۰، ۱۱۰ و ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد نشان داد که نمونه‌های حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره متانولی پوست خارجی انار دارای بالاترین طول دوره القاء نسبت به سایر نمونه‌ها (یعنی نمونه‌های حاوی ۱۰۰ پی پی ام عصاره متانولی پوست خارجی انار و نمونه حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHT در



شکل ۴- تغییرات شاخص پایداری اکسایشی روغن سویا در طی ۵ روز نگهداری در آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد.

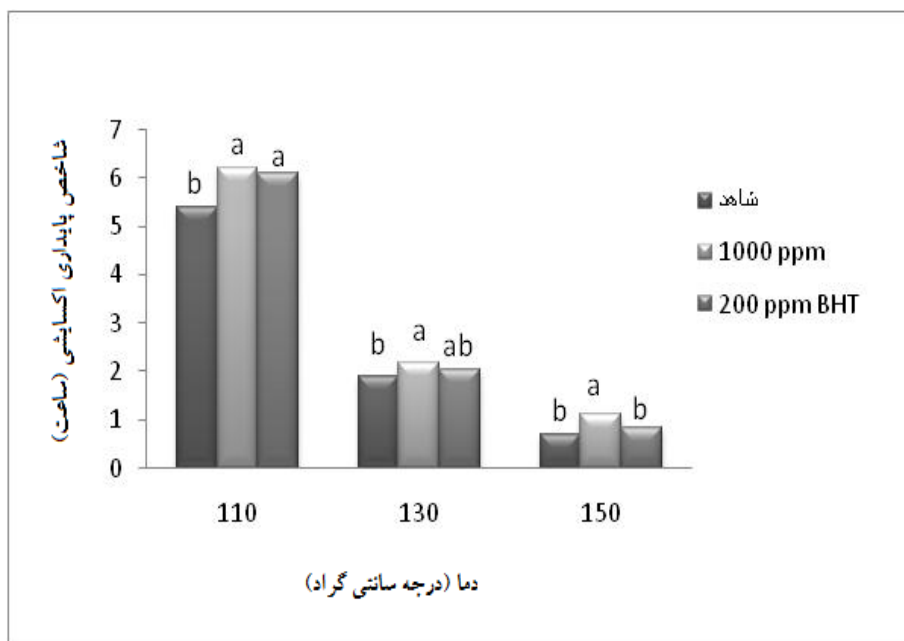
هیچ اختلاف آماری معنی‌داری بین نمونه‌های روغن سویا حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره برگ گیاه پنج انگشت و ۲۰۰ پی پی ام آنتی اکسیدان BHT مشاهده نگردید ($p < 0.05$). نتایج مشابه در دمای ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد به طوری‌که بیشترین پایداری اکسایشی مربوط به نمونه‌های روغن سویا حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره برگ گیاه پنج انگشت با مقدار شاخص پایداری اکسایشی ۲/۱۷ ساعت بود که اختلاف آماری معنی‌دار با نمونه روغن سویا حاوی ۲۰۰ پی پی ام آنتی اکسیدان سنتزی BHT نداشت. در دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد نتایج متفاوت‌تری مشاهده گردید و برتری آنتی اکسیدان‌های طبیعی موجود در عصاره که ناشی از ترکیبات

۳-۲-۱-۲- تغییرات شاخص پایداری اکسایشی روغن سویا در دماهای مختلف

روند تغییرات شاخص پایداری اکسایشی روغن سویای حاوی مقادیر مختلف عصاره برگ گیاه پنج انگشت و آنتی اکسیدان سنتزی BHT در سه دمای مختلف اندازه‌گیری ۱۱۰، ۱۳۰ و ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد بدون آون‌گذاری (زمان صفر) در شکل ۵ گزارش شده است. همانطور که مشاهده می‌شود در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد نمونه روغن سویا حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره برگ گیاه پنج انگشت پایداری اکسایشی بیشتری (۶/۲۱ ساعت) نسبت به نمونه شاهد (روغن فاقد آنتی اکسیدان) داشت بطوری‌که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$) در حالی که

محققان ثمرین و همکاران (۱۳۸۷) در بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره سیب زمینی راموس در روغن سویا به روش رنسیتم اعلام کردند که نمونه‌های روغن حاوی عصاره پوست سیب زمینی در سه دمای ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد طول دوره القاء به ترتیب زیر بدست آمد: تیمارهای TBHQ < ۲۴۰۰ پی‌پی‌ام پوست راموس < BHT < BHA < ۸۰۰ پی‌پی‌ام پوست راموس < ۲۰۰ پی‌پی‌ام پوست راموس < شاهد بود و با افزایش دما نیز طول دوره القاء کاهش یافت و اختلاف میان سطوح مختلف غلظت عصاره معنی‌دار و بیشترین اختلاف مربوط به غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام بود (۹).

پلی فنل آن می‌باشد، در دمای بالا ظاهر شد. همانطور که مشاهده می‌شود در این دما نمونه روغن سویای حاوی آنتی اکسیدان‌های طبیعی نسبت به نمونه روغن سویای حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHT و شاهد از نظر شاخص پایداری اکسایشی در سطح بالاتری قرار داشت به طوریکه این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$). همچنین نتایج نشان داد که بین نمونه روغن سویای حاوی آنتی اکسیدان BHT با نمونه روغن سویای شاهد هیچ اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده نگردید ($p < 0.05$). به طور کلی، در طی فرایند حرارتی با افزایش درجه حرارت از ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد تا ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد پایداری اکسایشی به طور معنی‌داری کاهش یافت که حالت به دلیل نابودی و اکسید شدن ترکیبات پلی فنلی و در نتیجه کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره و افزایش واکنش‌های اکسیداسیون اسیدهای چرب می‌باشد.



شکل ۵- تاثیر دماهای مختلف اندازه‌گیری بر تغییرات شاخص پایداری اکسایشی روغن سویا

این ترکیبات کم است اما در مرحله انتشار، میزان هیدروپراکسیدها به سرعت افزایش می‌یابد. در این مرحله تعیین عدد پراکسید شاخص مناسبی از تعیین وضعیت اکسایش روغن‌ها می‌باشد. همانطور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود در زمان اولیه نگهداری (زمان صفر یعنی قبل آون‌گذاری و روز اول یعنی پس از ۲۴ ساعت نگهداری در آون) اختلاف معنی‌داری بین عدد پراکسید روغن سویای حاوی عصاره برگ گیاه پنچ انگشت در غلظت‌های مختلف با یکدیگر و با نمونه حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی

۳-۲-۲- اندیس پراکسید

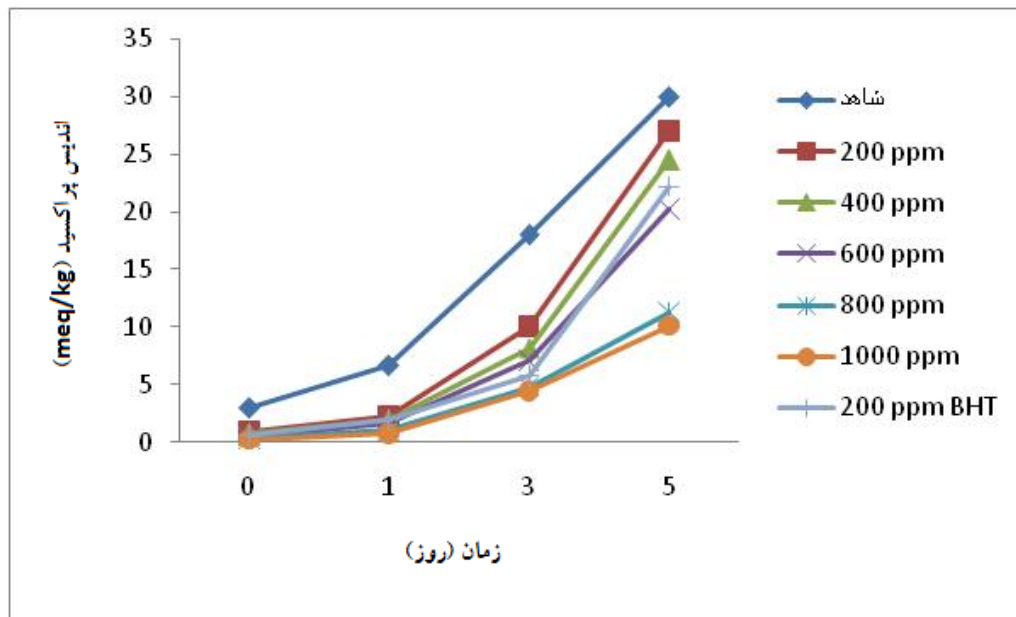
هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسیداسیون چربی‌ها هستند و به طور کلی هر قدر درجه غیر اشباعیت روغن‌ها بیشتر باشد روغن و یا ماده چرب آمادگی بیشتری برای اکسیداسیون دارد (۱۰). وقتی که میزان پراکسید به حد معینی برسد، تغییرات مختلفی صورت گرفته و مواد فرار آلدئیدی و کتوننی (محصولات ثانویه اکسیداسیون) ایجاد می‌شوند که در ایجاد بو و طعم نامطبوع مواد چرب مؤثر می‌باشند. در مراحل ابتدایی فرایند اکسایش، میزان

پنج انگشت می‌باشد. این موضوع نشان دهنده این است که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره وابسته به غلظت است، چرا که با افزایش غلظت عصاره در روغن سویا به دلیل افزایش ترکیبات فنولیک موجود در آن، منجر به افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی و فعالیت آنتی رادیکالی در روغن شده که به نوبه خود باعث کاهش اندیس پراکسید و در نتیجه افزایش پایداری حرارتی روغن سویا می‌شود.

در تحقیقی مشابه طاهانژاد و همکاران (۱۳۹۱) در بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره پنیروک در روغن سویا با غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و همچنین آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT در دو سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام در روغن سویا گزارش نمودند که در آزمون پراکسید، غلظت‌های ۴۰۰ و ۸۰۰ پی‌پی‌ام بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی را از خود نشان دادند و معادل با آنتی اکسیدان سنتزی BHA در هر دو سطح غلظتی ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام عمل کرده است ولی نسبت به آنتی اکسیدان BHT در هر دو سطح بهتر عمل نموده است (۶). همچنین در پژوهشی دیگر رفیعی و همکاران (۱۳۹۰) به بررسی ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی اکسیدانی دو وارسته زیتون کرونایکی و روغنی به کمک حلال‌های آب، متانول ۸۰٪ و استون پرداختند. نتایج نشان داد عصاره متانولی کرونایکی در سطح ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام به خوبی توانست اندیس پراکسید و اسیدتیوباربیتوریک را کنترل کرده و جایگزین آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT در دو سطح ۱۰۰ پی‌پی‌ام و ۲۰۰ پی‌پی‌ام شود (۳).

اکسیدان سنتزی BHT وجود نداشت ولی با نمونه شاهد (روغن سویا فاقد عصاره و BHT) تفاوت معنی‌دار داشتند، در حالی که با گذشت زمان نگهداری تیمارهای روغن طی روزهای ۳ و ۵ بین اعداد پراکسید روغن در غلظت‌های مختلف عصاره با نمونه شاهد و BHT اختلاف معنی‌داری وجود داشت.

همانطور که مشاهده می‌شود در روز سوم و پنجم نگهداری مقدار ترکیبات حاصل از اکسایش با شیب بیشتری افزایش یافته است و این امر باعث شده است تاثیر مقادیر مختلف ترکیبات آنتی اکسیدانی به طور محسوس‌تری ظاهر شوند و تفاوت‌ها معنی‌دار شود. طبق نتایج، در روز سوم نگهداری اندیس پراکسید مربوط به غلظت‌های ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و ۸۰۰ پی‌پی‌ام عصاره به ترتیب برابر ۴/۹ و ۴/۲ میلی‌اکی والان بر کیلوگرم بود که نسبت به نمونه حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی اکسیدان سنتزی با مقدار اندیس ۵/۸ میلی‌اکی والان بر کیلوگرم در یک سطح قرار داشتند. در روز پنجم آون‌گذاری برتری آنتی اکسیدان‌های طبیعی موجود در عصاره نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی BHT کاملاً مشخص شد به طوری که مقدار اندیس پراکسید برای نمونه حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و ۸۰۰ پی‌پی‌ام عصاره به ترتیب ۱۱/۳ و ۱۰/۱ میلی‌اکی والان بر کیلوگرم بدست آمد که نسبت به نمونه حاوی آنتی اکسیدان BHT با مقدار اندیس پراکسید برابر ۲۲/۲۳ میلی‌اکی والان بر کیلوگرم و نمونه شاهد با مقدار اندیس برابر ۳۰ میلی‌اکی والان بر کیلوگرم تفاوت بسیار قابل ملاحظه و معنی‌داری داشت (شکل ۶) که حاکی از بالاتر بودن فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولیک و توکوفرول‌های موجود در عصاره برگ گیاه



شکل ۶- تغییرات مقدار اندیس پراکسید روغن سویا در غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه پنج انگشت.

آنتی اکسیدان‌های طبیعی بخصوص در غلظت‌های ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و ۸۰۰ پی‌پی‌ام عصاره برگ گیاه پنج انگشت در روغن سویا نمایان گردید (شکل ۷). همچنین نتایج نشان داد روغن حاوی ۴۰۰ پی‌پی‌ام و ۲۰۰ پی‌پی‌ام عصاره برگ گیاه پنج انگشت نسبت به نمونه شاهد دارای عدد دی‌ان مزدوج کمتری بود و این تفاوت در روزهای سوم تا پنجم معنی‌دار بود ($p < 0.05$) ولی نسبت به همدیگر در تمام طول مدت نگهداری روغن سویا در آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد اختلاف قابل ملاحظه‌ای نداشته و در یک سطح بودند (شکل ۷). نمونه حاوی ۶۰۰ پی‌پی‌ام عصاره برگ گیاه پنج انگشت نیز در روزهای سوم و پنجم نسبت به نمونه‌های روغن سویای حاوی غلظت‌های ۲۰۰ پی‌پی‌ام و ۴۰۰ پی‌پی‌ام از نظر عدد دی‌ان مزدوج به طور چشمگیری در سطح پایین‌تری قرار داشت که نشان دهنده فعالیت بهتر ترکیبات آنتی اکسیدانی این غلظت از عصاره می‌باشد. بر اساس نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده‌ها مشخص شد که با افزایش غلظت عصاره تا ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام در روغن، میزان دی‌ان مزدوج روغن در تمام روزهای نگهداری نسبت به سایر غلظت‌ها به طور معنی‌داری در سطح پایین‌تری قرار داشت، بنابراین پایداری اکسایشی روغن در این حالت بیشتر از سایر غلظت‌ها عصاره برگ گیاه پنج انگشت و نمونه شاهد بود.

به طور کلی با بررسی اثر آنتی اکسیدان سنتزی BHT بر میزان عدد دی‌ان مزدوج روغن سویا مشاهده شد که با افزودن ۲۰۰ پی‌پی‌ام از این آنتی اکسیدان، پایداری اکسایشی روغن سویا بویژه در روزهای سوم و پنجم آون‌گذاری، تحت تاثیر قرار

۳-۲-۳- اندیس دی‌ان کنژوگه

یکی دیگر از آزمون‌هایی که جهت بررسی مراحل اولیه اکسیداسیون می‌توان از آن استفاده کرد، تعیین میزان دی‌ان‌های مزدوج تولید شده که افزایش میزان تولید این محصولات شاخصی از پیشرفت مراحل اولیه اکسیداسیون می‌باشد. اسیدهای دی‌ان مزدوج در اثر جابجایی پیوندهای دوگانه به هنگام اکسایش اسیدهای چرب چند غیراشباع تولید می‌شوند. درصد این ترکیبات با پیشرفت اکسایش ابتدا افزایش پیدا می‌کند و سپس روند نسبتاً ثابتی به خود می‌گیرد و در مراحل پیشرفته اکسایش به ترکیبات پلیمری و محصولات ثانویه اکسایش تبدیل می‌شوند.

همان‌گونه که مشاهده می‌شود به طور کلی با افزایش غلظت عصاره برگ گیاه پنج انگشت در روغن سویا از ۲۰۰ پی‌پی‌ام تا ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام در یک زمان نگهداری ثابت، به علت افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی ناشی از ترکیبات پلی‌فنلی و توکوفرولی موجود در عصاره، میزان شاخص عدد دی‌ان مزدوج نسبت به نمونه شاهد در طول نگهداری روغن در ۶۰ درجه سانتی‌گراد روند کاهشی داشت. طبق نتایج بین غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه پنج انگشت و غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی اکسیدان BHT در روزهای اول آون‌گذاری اختلاف قابل توجهی مشاهده نشد ولی در روز سوم تا پنجم به دلیل افزایش واکنش‌های اکسیداسیون و تولید بیشتر ترکیبات کربونیلی و کنژوگه، تفاوت بین تیمارها مشهودتر شده و فعالیت مؤثرتر و بیشتر

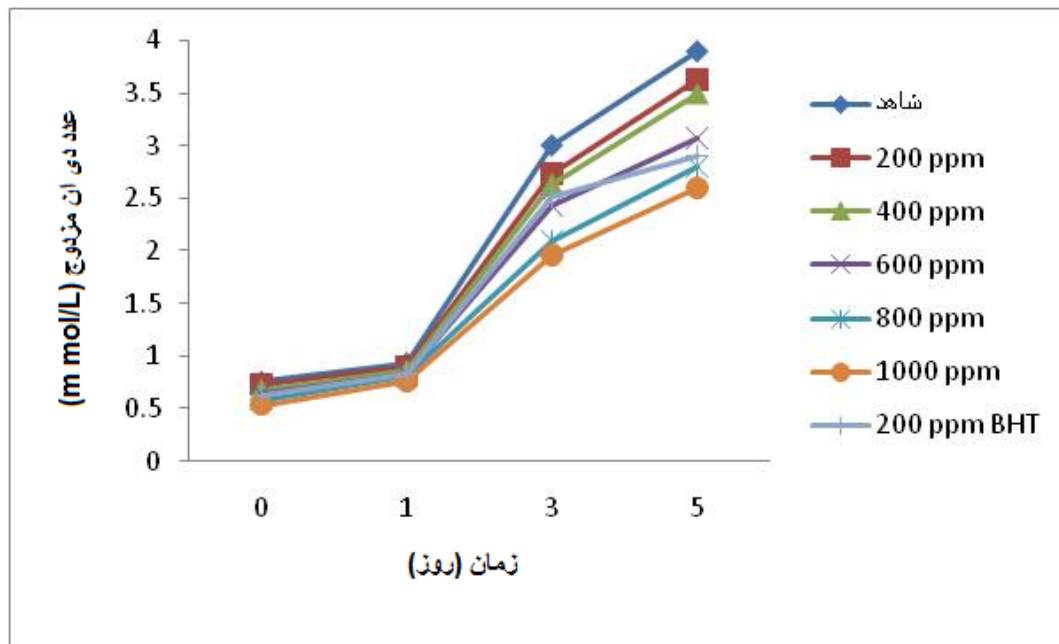
آنتی اکسیدانی عصاره متانولی پوست کیوی پرداختند و در نهایت گزارش دادند که غلظت ۸۰۰ پی پی ام به دلیل داشتن مقادیر بالاتر ترکیبات فنولیک و توکوفرولها و همچنین پایدارسازی روغن آفتابگردان در طی نگهداری بعنوان بهترین غلظت انتخاب گردید (۲).

۴- نتیجه گیری

امروزه استفاده از گیاهان دارویی و ترکیبات مؤثره آن‌ها به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند مورد توجه محققین قرار گرفته است. در این تحقیق در راستای کاربرد آنتی اکسیدان‌های گیاهی از عصاره برگ گیاه پنج انگشت به عنوان جایگزین مناسب برای آنتی اکسیدان‌های سنتزی در روغن سویا استفاده شد. نتایج نشان داد که عصاره برگ گیاه پنج انگشت در تمام غلظت‌ها به غیر از غلظت ۲۰۰ پی پی ام، قدرت مهار رادیکال آزاد بالاتری نسبت به نمونه ۲۰۰ پی پی ام BHT از خود نشان داد و این به دلیل بالا بودن ترکیبات پلی فنولی و توکوفرول‌های موجود در عصاره برگ گیاه پنج انگشت بود که با افزایش غلظت عصاره‌ها میزان ترکیبات فنولیک و خاصیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد به طور چشمگیری افزایش یافت. نتایج حاصل از بررسی پایداری اکسایشی روغن سویای حاوی غلظت‌های مختلف عصاره نیز نشان داد که غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره برگ گیاه پنج انگشت در افزایش طول دوره القاء و کاهش عدد دی ان کنژوگه نسبت به سایر غلظت‌ها و غلظت ۲۰۰ پی پی ام نمونه BHT تاثیر بیشتری داشت. به طور کلی، بالاتر بودن

گرفته بطوری که عدد دی ان کنژوگه نمونه حاوی ۲۰۰ پی پی ام آنتی اکسیدان سنتزی BHT نسبت به نمونه شاهد و نمونه‌های حاوی ۴۰۰ پی پی ام و ۲۰۰ پی پی ام عصاره به طور معنی دار کمتر بود. این در حالی بود که میزان عدد دی ان مزدوج نمونه روغن حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHT در مقایسه با نمونه حاوی ۶۰۰ پی پی ام عصاره از نظر آماری در یک سطح بودند ولی مقدار این اندیس نسبت به نمونه حاوی ۸۰۰ پی پی ام و ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره بیشتر بود، که نشان دهنده قدرت آنتی اکسیدانی بیشتر عصاره برگ گیاه پنج انگشت در غلظت‌های بالاتر نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی ۲۰۰ پی پی ام BHT می‌باشد و همانطور که قبلاً ذکر شد این برتری به وجود مقدار بیشتر توکوفرولها و ترکیبات فنولیک در عصاره برگ گیاه مربوط می‌شود.

طاهانژاد و همکاران (۱۳۹۱) در بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره پنیرک در غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام و همچنین آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT در سطح ۱۰۰ پی پی ام و ۲۰۰ پی پی ام در روغن سویا به این نتیجه رسیدند که در آزمون دی ان کنژوگه اختلاف معنی داری بین غلظت‌های مختلف عصاره پنیرک و دو آنتی اکسیدان شیمیایی BHA و BHT و نمونه شاهد مشاهده شد که بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به غلظت ۸۰۰ پی پی ام عصاره پنیرک بود و سطوح غلظتی ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ پی پی ام فعالیت آنتی اکسیدانی برابر با BHA ولی قوی تر از آنتی اکسیدان سنتزی BHT در هر دو سطح ۱۰۰ پی پی ام و ۲۰۰ پی پی ام داشتند (۶). در تحقیق دیگری اسماعیل‌زاده کناری و همکارانش (۱۳۹۱) به بررسی اثر



شکل ۷- تغییرات شاخص دی ان مزدوج روغن سویا در غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه پنج انگشت.

castus در مهار درد و التهاب در موش کوچک آزمایشگاهی، مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ویژه نامه طب تکمیلی، صفحات ۴۶-۵۱.

۵. شهسواری، ن.، برزگر، م.، سحری، م.، نقدی بادی، ح. ۱۳۸۷. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora Boiss*) در روغن سویا. فصلنامه گیاهان دارویی، سال هفتم، دوره چهارم، شماره مسلسل بیست و هشتم.
۶. طاها نژاد، م.، برزگر، م.، سحری، م.، نقدی باری، ح.، ۱۳۹۱، ارزیابی فعالیت آنتی رادیکالی عصاره پنیروک (*Malva sylvestris*) و کاربرد آن در سامانه روغن، فصلنامه گیاهان دارویی، سال یازدهم، دوره دوم، شماره مسلسل چهل و دوم.
۷. عزیزخانی، م.، عطایی، م. ۱۳۹۱. تعیین فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی عصاره و اسانس گیاه نعناع جمع آوری شده از منطقه شمال ایران، پژوهش‌های صنایع غذایی و دانش کشاورزی، (۱): ۲۲ تا ۲۹.
۸. عیوقی، ف. ۱۳۸۷. ارزیابی اثر آنتی رادیکالی و آنتی اکسیدانی اسانس‌های ترخون، بابونه ی شیرازی و شبت. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس تهران.

خاصیت آنتی اکسیدانی در روغن حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره برگ پنج انگشت را می‌توان به بالاتر بودن میزان ترکیبات فنولیک و همچنین پایداری این ترکیبات به حرارت ۶۰ درجه سانتی‌گراد در طول آون گذاری نسبت داد.

۵- منابع

۱. احمدوند، ح.، امیری، ح.، اکباتان همدانی، س. و باقری، ش. (۱۳۹۱). ویژگی‌های آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ گیاه ویتکس (*Vitex pseudo-negundo*). فصلنامه علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان. ۱۴(۲): ۱۳-۵.
۲. اسماعیل زاده کناری، ر.، مهدی پور، ز. ۱۳۹۱. اثر آنتی اکسیدانی عصاره متانولی پوست کیوی در پایداری سازی روغن آفتاب گردان، نشریه‌ی پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران - جلد ۸، شماره ۲، ص ۲۵۰-۲۴۵.
۳. رفیعی، ز.، جعفری، م.، اعلمی، م.، خمیری، م. ۱۳۹۰، ویژگی‌های آنتی اکسیدانی عصاره برگ زیتون و کاربرد آن در روغن آفتابگردان، مجله پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۲۱، شماره ۱.
۴. رضائی، م.، امین‌اللهی، غ.، جلیلی، ا.، ۱۳۸۸، عصاره هیدروالکلی میوه گیاه پنج انگشت *Vitex agnus*

- KG. 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties, *Food Chem.* 91: 131 - 7.
20. Singh, G and Marimuthu, P . 2006. Antioxidant and biocidal activities of *Carum nigrum* (seed) essential oil, oleoresin, and their selected components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54:174-181.
21. Unver A, Arslan D, Ozcan MM and Akbulut M. 2009. Phenolic content and antioxidant activity of some spices. *World Appl. Sci. J.* 6: 373 - 7.
۹. محققى ثمرين، آ.، پورآذرنگ، ه.، الهامى راد، ا.ح.، همت يار، ن.، (۱۳۸۷). فعاليت آنتى اكسيدانى عصاره پوست سيب زمينى راجا، مجله علوم تغذيه و صنايع غذايى ايران، سال سوم، شماره ۳، صفحات ۲۳-۳۲.
۱۰. ميرنظامى ضيابرى، ح. ۱۳۷۴. روش هاى متدوال تجزيه چربى ها و روغن ها، نشر مشهد.
۱۱. يزدان پناه، ص.، ارجمند، پ.، پور آذرنگ، ه. ۱۳۸۸. بررسى مقاومت حرارتى عصاره آنتى اكسيدانى پوست خارجى انار در روغن آفتابگردان، علوم فنون كشاورزى و منابع طبيعى، سال سيزدهم، شماره چهل و هفتم.
12. Bera, D. B, Lahiri D, A. Nag. 2006. Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. *Journal of Food Engineering* (74): 542–545.
13. Burits, M., Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research* 14, 323–328.
14. Farhoosh, R., Tavakkoli, J., and Hadad Khodaparast, M.H. 2008. Chemical composition and oxidative stability of kernel oils from two current subspecies of *Pistacia atlantica* in Iran. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 85: 723–729.
15. Galoburda., R, Kruma, z., Ruze., k, 2012. Effect of Pretreatment Method on the Content of Phenolic Compounds, vitamin C and Antioxidant Activity of Dried Dill. *World Academy of Science Engineering and Technology*, 64.
16. Honda, G., Yes, ilada, E., Tabata, M., Sezik, E., Fujita, T., Takeda, Y., Takaishi, Y., Tanaka, T. 1996. Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kutahya, Denizli, Mugla, Aydin provinces. *J. Ethnopharmacol.* 53, 75–87.
17. Joon-Kwan M. and Takayuki S. Antioxidant assays for plant and food components. *J. Agric. Food Chem.* 2009; 57 (5): 1655 - 66.
18. Latoui, M., Aliakbarian, B., Casazz, A.A., Seffen, S., Converti, A., Perego, P. 2012 . Extraction of phenolic compounds from *Vitex agnus-castus* L. food and bioproducts processing 748–754.
19. Lee SJ. Umano K, Shibamoto T and Lee