بررسی استخراج عصاره پوست میوه بالنگ به دو روش ماسراسیون و فراصوت و استفاده از آن در پایدارسازی روغن آفتابگردان

سمیه اخلی[a]، حبیب الله میرزایی[b]*، سید ابراهیم حسینی[c]

[a] دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران
[b] دانشیار گروه صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
[c] دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۰۴/۰۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۰۷/۲۹
https://dorl.net/dor/20.1001.1.20080123.1401.19.2.2.5 DOI:10.30495/JFTN.2022.19308

چکیده

مقدمه: امروزه به دلیل اثرات نامطلوب آنتی اکسیدان‌های سنتزی، به کارگیری آنتی اکسیدان‌های گیاهی به منظور به تأخیر انداختن یا جلوگیری از اکسیداسیون مواد غذایی به ویژه غذاهای بر پایه روغن یا چربی مورد توجه زیادی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه برای استخراج اسانس از روش تقطیر با آب و برای استخراج عصاره پوست میوه بالنگ از دو روش ماسراسیون و امواج فراصوت و حلال های اتانول، متانول و آب استفاده شد و میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد و ترکیبات فنلی کل اندازه‌گیری شد. شناسایی ترکیبات موجود در عصاره و اسانس با دستگاه کروماتوگراف گازی انجام گرفت. در نهایت اثر آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره پوست میوه بالنگ در پایداری حرارتی روغن آفتابگردان مورد بررسی قرار گرفت. پایداری روغن نسبت به اکسیداسیون در طول ۵ روز نگهداری در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد از طریق آنالیز مقادیر اندیس پراکسید و اندیس آنیزیدین، میزان اسید تیوباربیتوریک، اندیس توتوکس و شاخص پایداری اکسایشی ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج، بیشترین میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی را در عصاره استخراج شده با استفاده از امواج فراصوت زمان ۳۰ دقیقه و حلال اتانول نشان داد. غلظت ppm ۸۰۰ عصاره نسبت به غلظت‌های دیگر عصاره به دلیل داشتن مقادیر بالاتر ترکیبات فنلی از نظر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد مؤثرتر عمل نمود. آنالیز اسانس نشان داد بخش عمده ترکیبات موجود در عصاره پوست بالنگ نومیلین و هسپریدین بودند. نتایج بررسی پایداری روغن نشان داد که اندیس‌های پراکسید، آنیزیدین و توتوکس با گذشت زمان روند افزایشی از خود نشان دادند. نمونه عصاره اتانولی استخراج شده با امواج فراصوت در زمان ۳۰ دقیقه بالاترین میزان شاخص پایداری اکسایشی را نسبت به اسانس و BHT نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش تأثیر معنی‌دار عصاره و اسانس پوست میوه بالنگ در پایداری روغن آفتابگردان و برتری آن نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: *استخراج، آنتی اکسیدان، اسانس، پایداری حرارتی، پوست میوه بالنگ، روغن آفتابگردان*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: habibollah.20200@gmail.com

مقدمه

چربی‌های خوراکی و روغن‌ها بعد از قندها به عنوان دومین منبع تولید کننده انرژی مورد نیاز بدن و ناقل اسیدهای چرب ضروری و ویتامین‌های محلول در چربی، اهمیت ویژه‌ای برای تغذیه انسان دارند. به دلیل وجود مقادیر قابل توجهی از پیوندهای دوگانه در بسیاری از روغن‌ها، این مواد در معرض اکسیداسیون و فساد قرار دارند که چنانچه این فساد از حد مشخصی تجاوز کند، روغن یا ماده حاوی آن را برای مصارف غذایی غیر قابل استفاده می‌سازد. از طرفی، برخی از ترکیبات به وجود آمده در اثر اکسیداسیون، برای سلامت انسان زیان آور می‌باشد (Haumann and Junge, 1994). پایداری اکسیداتیو روغن را می‌توان به وسیله تغییر ترکیب اسیدهای چرب روغن و یا افزودن آنتی اکسیدان‌ها به آن‌ها بهبود داد. ترکیب اسید چرب و ویژگی‌های کاری روغن‌ها را می‌توان از طریق هیدروژناسیون، استریفیکاسیون داخلی، تکنیک‌های ژنتیکی و مخلوط کردن روغن‌های مختلف تغییر داد (Farhoosh *et al*., 2007). روغن‌های خوراکی حاوی مقادیر بالایی اسیدهای چرب غیر اشباع به ویژه اسیدهای چرب چند غیر اشباع هستند که نسبت به اکسیداسیون حساس‌تر می‌باشند. اکسیداسیون لیپیدی در روغن‌ها نه تنها می‌تواند بو و طعم تند و نامطلوب و تغییر رنگ ایجاد نماید، بلکه می‌تواند کیفیت تغذیه‌ای و ایمنی را به دلیل فرآورده‌های تجزیه‌ای کاهش دهد که که منجر به اثرات مضر در انسان می‌شود. جهت به تأخیر انداختن یا مهار تخریب اکسیداتیو، آنتی اکسیدان‌های سنتتیک به عنوان افزودنی‌های غذایی در بسیاری از کشورها استفاده گسترده دارند. ممکن است این ترکیبات تهدیدی برای سلامتی انسان باشند. از اینرو گرایش به سمت استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی با منشأ گیاهی جهت جایگزینی آنتی اکسیدان‌های سنتزی وجود دارد. مطالعات زیادی درباره استفاده از ظرفیت آنتی اکسیدانی مرکبات و جایگزینی ترکیبات زیست فعال موجود در آن‌ها با آنتی اکسیدان‌های سنتزی به انجام رسیده است. همچنین کاربرد عصاره های گیاهی جهت مهار اکسیداسیون روغن‌های خوراکی در مطالعات زیادی بررسی شده است (Mallet *et al*., 1994).

مرکبات منابع غنی از ویتامین‌های مختلف، عناصر و فیبرها بوده که برای سلامت بشر مطلوب است. در سال‌های اخیر توجه بیشتری به خاصیت ضد باکتریایی بخش‌های غیر خوراکی میوه‌ها شده است (Tvasoli, 2009). میوه بالنگ با نام علمی *Citrus medica l.* گونه‌ای از انواع مرکبات است و از دو بخش تشکیل شده است. پوسته ی خارجی آن که بخشی مهمی از بالنگ می‌باشد در تجارت بین الملل دارای اهمیت است. همچنین لایه‌ی دیگر آن پالپ است. پالپ بخش خوراکی میوه و نیز به عنوان منبع خوبی از پکتین به شمار می‌آید (Dalia, 2014).

استخراج روشی برای جداسازی است که مستلزم انتقال جسمی از یک فاز به فاز دیگر است. از آن جایی که دما و فشار نقش مهمی را در سینتیک استخراج بازی می‌کنند، تکنیک‌های استخراج می‌توانند بر اساس این دو پارامتر دسته‌بندی شوند. روش‌های کلاسیک مانند روش ماسراسیون (خیساندن) می‌باشد که در این روش مقدار زیادی حلال مصرف شده و عملیات استخراج مدت زمان زیادی طول می‌کشد. همچنین بازده استخراج به شدت به نوع حلال به کار رفته برای استخراج و زمان استخراج بستگی دارد (Herreroa *et al*., 2009). با این حال این تکنیک‌ها اغلب زمان بر هستند، نیاز به مقادیر بالای حلال دارند و نیز برخی ترکیبات فعال طی آن ها تجزیه می‌شوند (Zaspé and Fernández, 2011). روش‌های دیگر استخراج که شامل روش استخراج با فراصوت می‌باشد، با استفاده از امواج صوتی با شدت بالا و فرکانس بالا و تعامل آن‌ها با مواد است. مزیت اصلی فراصورت زمان آماده سازی و واکنش کوتاه‌تر، استفاده از مقادیر کمی از مواد، مصرف کارآمد و حداقل حلال و افزایش توان نمونه می‌باشد. این روش برای جداسازی و خالص سازی ترکیبات زیست فعال بسیار مفید است. یک نقطه ضعف این روش مربوط به اثرات مضر اما شناخته شده انرژی فراصوت بر روی مواد موثره گیاهان دارویی از طریق تشکیل رادیکال‌های آزاد و به طبع آن تغییرات نامطلوب در مولکول‌های مواد مخدر می‌باشد (Ishtiaq et al., 2009).

در این راستا،Medini و همکاران (۲۰۱۴)، مطالعه‌ای با هدف بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی عصاره گیاه اسطوخودوس برداشت شده در دو مرحله فیزیولوژیکی گل و گیاه، در شرایط آزمایشگاهی انجام دادند

و ترکیبات فنولی با فاز معکوس کروماتو گرافی مایع با عملکرد بالا تعیین شد. عصاره اسطو خودوس در استون، متانول و اتانول موثرتر از هگزان و یا آب بود. عصاره‌های اتانولی بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل را داشتند. Hooshmand و Mahdian (۲۰۱۴) بهینه سازی فرآیند استخراج عصاره متانولی خوشاریزه به دو روش غرقابی و فراصوت با کمک ۲ فاکتور زمان و دما و نیز با استفاده از روش سطح پاسخ را بررسی کردند. مقایسه بین دو روش استخراج، نشان داد که راندمان استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی در روش فراصوت نسبت به روش غرقابی بیشتر است. بالاترین قدرت آنتی اکسیدانی در روش فراصوت و غرقابی به ترتیب ۵۱/۸ و۴۱/۳۷ میلی مول یون فروس تولید شده بر گرم نمونه خشک گزارش شد. بنابراین استفاده از روش فراصوت جهت افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی از خوشاریزه پیشنهاد شد. Ghafoor و Choli (۲۰۰۹) ، بازده استخراج انگور توسط امواج فراصوت را مورد بررسی قراردادند که مشخص شد با افزایش زمان و افزایش دما بازده استخراج افزایش پیدا می‌کند. بنابراین دمای بهینه را ۷۴ درجه سانتی‌گراد و زمان بهینه را ۱۳ دقیقه عنوان کردند.

با توجه به این که پلی فنل‌ها به طور گسترده در فرآورده‌های جانبی گیاهی مختلف توزیع شده‌اند، از این رو اغلب فرآورده‌های جانبی گیاهان می‌توانند به عنوان مواد خام برای بازیابی ترکیبات فنولی به کار روند. نکته مهم این است که، این آنتی اکسیدان‌ها دارای منشأ طبیعی خواهند بود و از این نظر با توجه به تقاضای مصرف کنندگان در کاهش افزودنی‌های سنتتیک، با کمک این آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌توان مبادرت به پایدارسازی روغن‌های خوراکی نمود.

مواد و روش‌ها

- مواد اولیه

برای انجام این پژوهش، میوه بالنگ از بازار محلی تهران تهیه و تا زمان آزمون‌ها در فریزر (۱۸- درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. همچنین روغن آفتابگردان بدون آنتی‌اکسیدان نیز از کارخانه روغن نباتی سه گل خراسان خریداری و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش، از شرکت‌های مرک، سیگما، اسکای و زیست فرآورده سپاهان تهیه شدند.

- آماده سازی نمونه

در ابتدا محتویات بخش درونی پوست میوه بالنگ جدا و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد در خشک‌کن (Memert آلمان، مدل ۸۰۰) به طور کامل خشک گردید. سپس توسط آسیاب برقی (Eka آلمان) به پودر تبدیل و از االک با مش ۸۰ عبور داده شد. پودرهای تهیه شده برای آزمایش‌های بعدی در شیشه‌های تیره و در محلی تاریک، سرد و خشک نگهداری گردیدند.

- استخراج اسانس و عصاره

جهت شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، پس از جداسازی پوست میوه، میوه‌ها رنده شده و عمل استخراج اسانس، با روش تقطیر با آب به وسیله دستگاه کلونجر (مدل ۴۰۰۳، Heidolph آلمان) در سه تکرار انجام شد. جهت ارزیابی فرایند استخراج عصاره، از حلال‌های اتانول، متانول و آب به عنوان حلال استخراج کننده استفاده شد و استخراج به دو روش ماسراسیون و امواج فراصوت انجام گرفت. در روش ماسیراسیون باقیمانده حلال، تحت خلاء با دستگاه روتاری اواپراتور (BucHI waterbath مدل B480) جدا و سپس عصاره حاصل پس از تبخیر حلال در آون تحت خلا تا زمان مصرف در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد در فریزر قرار داده شد. در روش استخراج با امواج فراصوت تاثیر آن بطور یکنواخت بر روی ترکیبات حل شونده و حلال های استخراجی در معرض امواج فراصوت با فرکانس 40Khz قرار گرفت و استخراج در این شرایط در زمان‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه انجام شد (Albu et al., 2004).

- ارزیابی خصوصیات شیمیایی

میزان کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتو تعیین و جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده گردید (Mc Donald *et al.*, 2001). اندازه‌گیری فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPHبا استفاده از جذب نوری نمونه در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر انجام گرفت (Brand Williams *et al.*,

1995). بررسی کمی، کیفی و شناسایی ترکیبات فنلی موجود در نمونه بهترین عصاره پوست بالنگ با استفاده از UHPLC (ساخت شرکت KNAUER آلمان مدل PLATIN blue) به همراه پمپ PLATIN blue مجهز به دتکتور مدل PLATINblue، سیستم تزریق اتوماتیک مدل PLATIN blue و رابط نرم‌افزاری EZChrom Eilte استفاده شد. ستون مورد استفاده (ODS-2 C18 (4 _ 250 mm, with pre column Sphere-image 80-5, CA, German) column با طول ۲۵۰ میلی‌متری و قطر داخلی ۴ میلی‌متر بود. فاز متحرک[1] (حلال A) مورد استفاده شامل آب همراه با اسید فسفریک ۰/۰۵ درصد، حلال B، استونیتریل و سرعت جریان ۰/۶ میلی‌لیتر در دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و حجم تزریق ۱۰ میکرولیتر بود (Thabti et al., 2012).

- شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده عصاره و اسانس

برای جداسازی و شناسایی ترکیبات موجود در اسانس و عصاره، از دستگاه گاز کروماتوگرافی (مدل Varian۳۸۰۰) و آشکارساز NPD و FPD همچنین مجهز به ستون CB-8 Sil-CP طول ۳۰ متر و قطر ۰/۳۲ میلی‌متر، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد.

- ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی روغن آفتابگردان فاقد آنتی اکسیدان

اندیس رفراکتومتری بر اساس استاندارد (AOAC, 2005)، اندیس یدی (AOCS, 2005)، عدد صابونی (AOCS, 2005)، اندیس پراکسید(AOCS, 2005)، اسید چرب آزاد (AOCS, 2005) و زمان مقاومت در برابر اکسیداسیون، عدد قطبی (AOAC, 2005) و مقدار ترکیبات غیر صابونی (AOCS, 2005) تعیین شد.

- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و اسانس بالنگ حاصل در پایداری روغن آفتابگردان

نخست عصاره استخراجی تغلیظ شده با سطح غلظتی ppm ۸۰۰، در مجاورت با حلال‌های اتانول، متانول و آب با دو روش استخراج فراصوت و ماسراسیون به روغن آفتابگردان اضافه شدند. عمل اختلاط به کمک همزن مغناطیسی در دمای محیط به مدت ۳۰ دقیقه انجام گردید. هر یک از تیمارها به ظروف نمونه منتقل شد. ظروف نمونه شیشه‌هایی قهوه‌ای با حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر انتخاب شد. برای حذف عوامل پروکسیدان احتمالی تا حد ممکن، ظروف با آب یونیزه شستشو و در آون ۱۸۰ سانتی گراد به مدت ۶ ساعت خشک شدند. به این ترتیب تیمارها تهیه و برای بررسی واکنش‌های اکسیداسیون مورد استفاده قرار گرفتند. اثر تیمارهای به کار رفته بر روی اکسیداسیون روغن آفتابگردان در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ روز ودر فواصل زمانی ثابت ۲۴ ساعت از طریق سنجش اندیس پراکسید و تیوباربیتوریک اسید، اندیس آنیزیدین، توتوکس و شاخص پایداری اکسایشی مورد بررسی قرار گرفتند (AOCS, 2005). غلظت پراکسید و هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در مرحله آغازی و بر حسب میلی اکی والان پراکسید در هر کیلوگرم چربی بیان می‌گردد (Matthaus *et al*., 2006). اندازه‌گیری شاخص تیوباربیتوریک با استفاده از بوتانول به عنوان حلال و در حضور مُعرف اسید تیوباربیتوریک در طول موج ۵۳۰ نانومتر، مطابق با استاندارد (AOCS, 2005) انجام گرفت. اندازه‌گیری اندیس آنیزیدین با استفاده از ایزواکتان و در طول موج ۳۵۰ نانومتر انجام گرفت (Dieffenbacher and Pocklington, 1987). اندیس توتوکس نیز بر طبق روش بیان شده توسط AOCS (۲۰۰۵) و با استفاده از دو اندیس پراکسید و آنیزیدین محاسبه شد. اندازه‌گیری پایداری اکسیداتیو نمونه‌های روغن با استفاده از دستگاه رنسیمت (Metrohm Rancimat 743، ساخت سوئیس) و بر طبق روش بیان شده توسط استاندارد ملی ایران به شماره ۳۷۳۴ (۱۳۹۵)، صورت گرفت.

- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه تحلیل آماری با آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام گردید. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد انجام و آنالیز واریانس با نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excell 2010 انجام شد.

[1] Mobile phase

یافته‌ها

- خصوصیات شیمیایی عصاره

اثر حلال، غلظت و اثر متقابل حلال و غلظت عصاره بر میزان ترکیبات فنلی عصاره حاصل از روش ماسیراسیون در سطح ۵ درصد معنی دار بود. با افزایش غلظت از ۱۰۰ تا ۸۰۰ پی پی ام میزان ترکیبات فنلی به صورت معنی دار افزایش نشان داد. بیشترین ترکیبات فنلی با حلال اتانول سپس متانول و کمترین مقدار با آب به دست آمد (شکل ۱). بیشترین مقدار ترکیبات فنلی مربوط به غلظت ۸۰۰ پی پی ام حلال اتانول به مقدار ۲۴/۸۰ mg GA/g و کمترین مقدار ترکیبات فنلی با حلال آب با غلظت ۱۰۰ پی پی ام به میزان ۹/۱۲ mg GA/g مشاهده شد. غلظت ۸۰۰ پی پی ام عصاره پوست میوه بالنگ با همه حلال‌ها دارای بیشترین میزان ترکیبات پلی فنولی و در نتیجه بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی بود.

نتایج به دست آمده نشان داد که اثر حلال، زمان، غلظت، زمان و غلظت، حلال و غلظت، حلال و زمان و زمان و غلظت حلال روی میزان کل ترکیبات فنلی حاصل از روش فراصوت، در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. بیشترین میزان استخراج ترکیبات فنولی با حلال متانول غلظت ۸۰۰ پی پی ام و زمان ۳۰ دقیقه (۲۷/۲۸mg GA/g) ثبت شد که اختلاف معنی دار با تیمار حلال اتانول غلظت ۸۰۰ پی پی ام و زمان ۳۰ دقیقه (۲۵/۶۸mg GA/g) نداشت. کمترین ترکیبات فنولی با اختلاف معنی دار با حلال آب غلظت ۱۰۰ پی پی ام و زمان فراصوت ۱۰ دقیقه (۱۰/۷۴) مشاهده شد (P<۰/۰۵) (شکل ۲).

نتایج نشان داد که اثر حلال، غلظت و اثر متقابل حلال وغلظت در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی یا فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) عصاره پوست بالنگ در روش ماسراسیون در سطح ۵ درصد معنی دار است. بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به غلظت ۸۰۰ پی پی ام حلال اتانول (۴۱/۳۸ درصد) وکمترین مقدار در روش ماسراسیون با حلال آب با غلظت ۱۰۰ پی پی ام (۲۱/۳۱ درصد) مشاهده شد (شکل ۳). نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره، فعالیت آنتی اکسیدانی به صورت معنی دار (p<۰/۰۵) افزایش پیدا کرد. دلیل افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره با افزایش غلظت را می‌توان مرتبط با مقدار ترکیبات فنولی عصاره دانست.

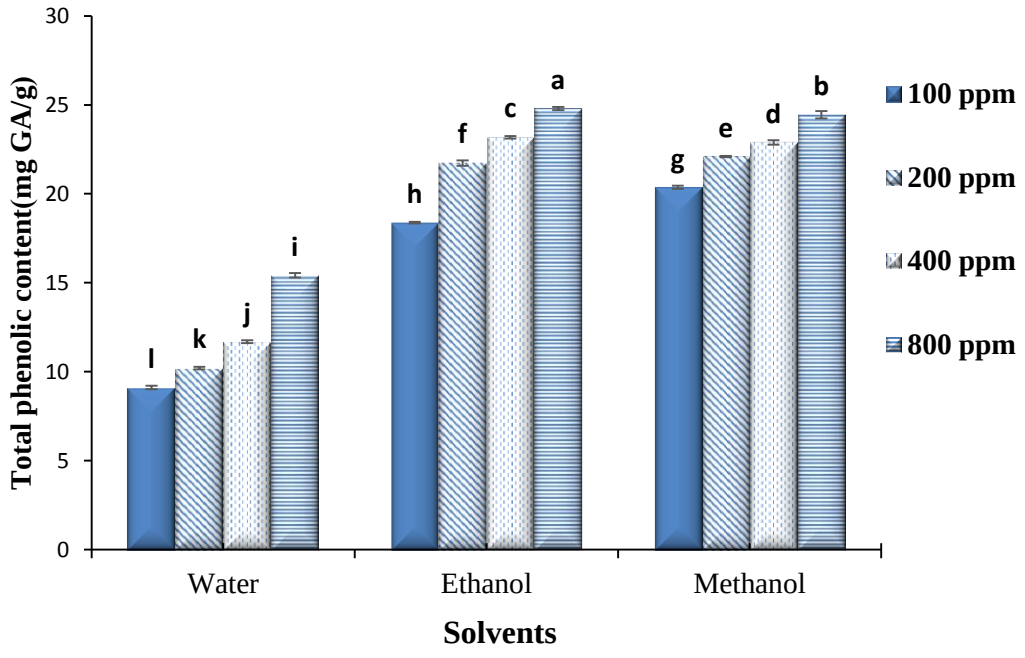

Figure 1- Interaction of different concentrations and type of solvents on the amount of phenolic compounds of citron peel extract in maceration method

The different letters are significantly different (p < 0.05).

شکل ۱- اثر متقابل غلظت‌های مختلف و نوع حلال بر مقدار ترکیبات فنولی عصاره پوست بالنگ در روش ماسراسیون

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار (P<0.05) می باشند

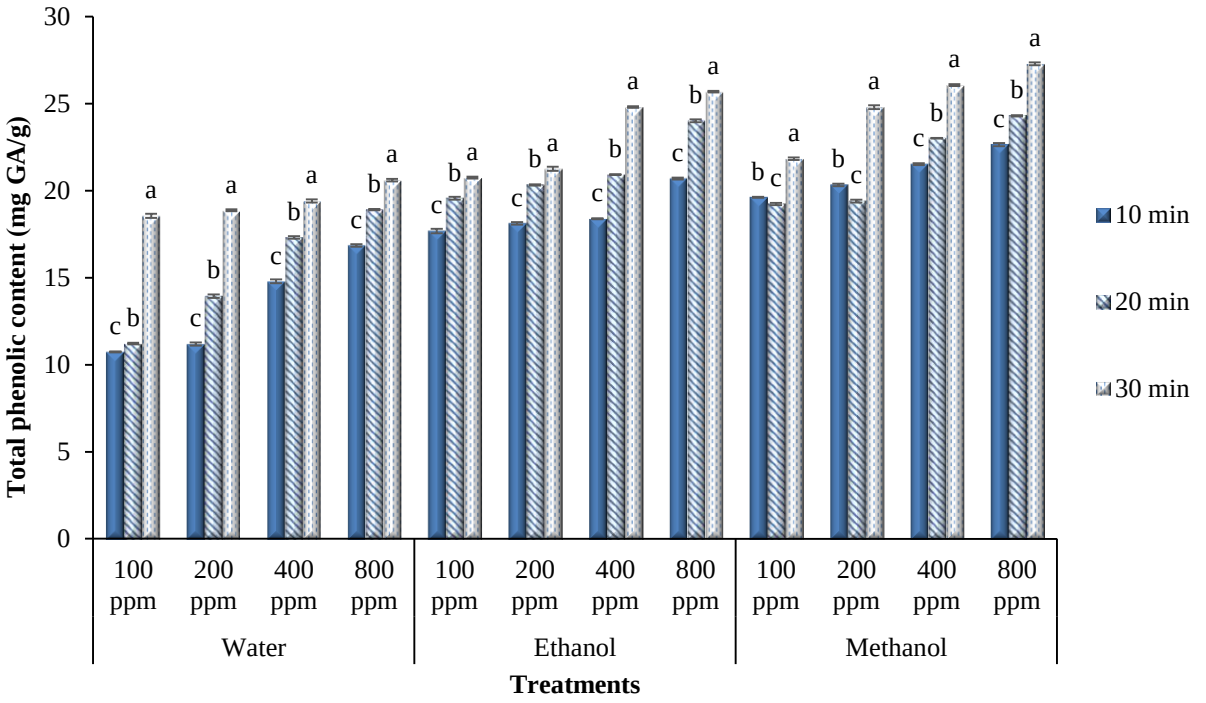

Figure 2- Interaction of different concentrations, time and type of solvents on the amount of phenolic compounds of citron peel extract in ultrasound method

The different letters are significantly different ($p < 0.05$).

شکل ۲- اثر متقابل غلظت‌های مختلف، زمان و نوع حلال بر مقدار ترکیبات فنولی عصاره پوست میوه بالنگ در روش اولتراسوند

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P<0.05$) می باشند

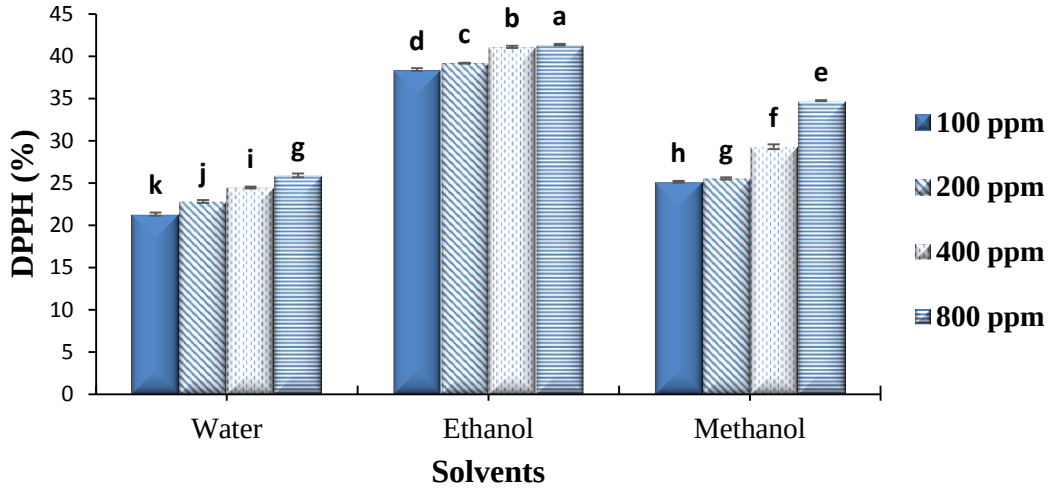

Figure 3- Interaction of different concentrations and type of solvent on free radical scavenging activity (DPPH) of citron peel extract in maceration method

The different letters are significantly different ($p < 0.05$).

شکل ۳-اثر متقابل غلظت‌های مختلف و نوع حلال بر فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) عصاره پوست بالنگ در روش ماسراسیون

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P<0.05$) می باشند

با توجه به نتایج، می‌توان دریافت اثر حلال، زمان، غلظت، زمان وغلظت، حلال وغلظت، حلال و زمان و زمان و غلظت حلال روی فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد یا DPPH عصاره پوست بالنگ در روش اولتراسوند در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به غلظت ۸۰۰ پی پی ام حلال اتانول و زمان فراصوت ۳۰ دقیقه به میزان ۴۳/۶۹ درصد بود. کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی با حلال آب، غلظت ۱۰۰ پی پی ام با زمان فراصوت ۱۰ دقیقه به میزان ۲۰/۴۱ درصد مشاهده شد (شکل ۴).

- شناسایی ترکیبات فنولی تشکیل دهنده عصاره پوست بالنگ

جدول ۱ ترکیبات عمده شناسایی شده در عصاره استخراج شده به روش فراصوت از پوست بالنگ را نشان می‌دهد. به ترتیب از بیشترین مقدار تا کمترین مقدار، نومیلین، هسپیریدین، لیمونن، نارینجین، اوباکونون و دی متوکسی کومارین بودند.

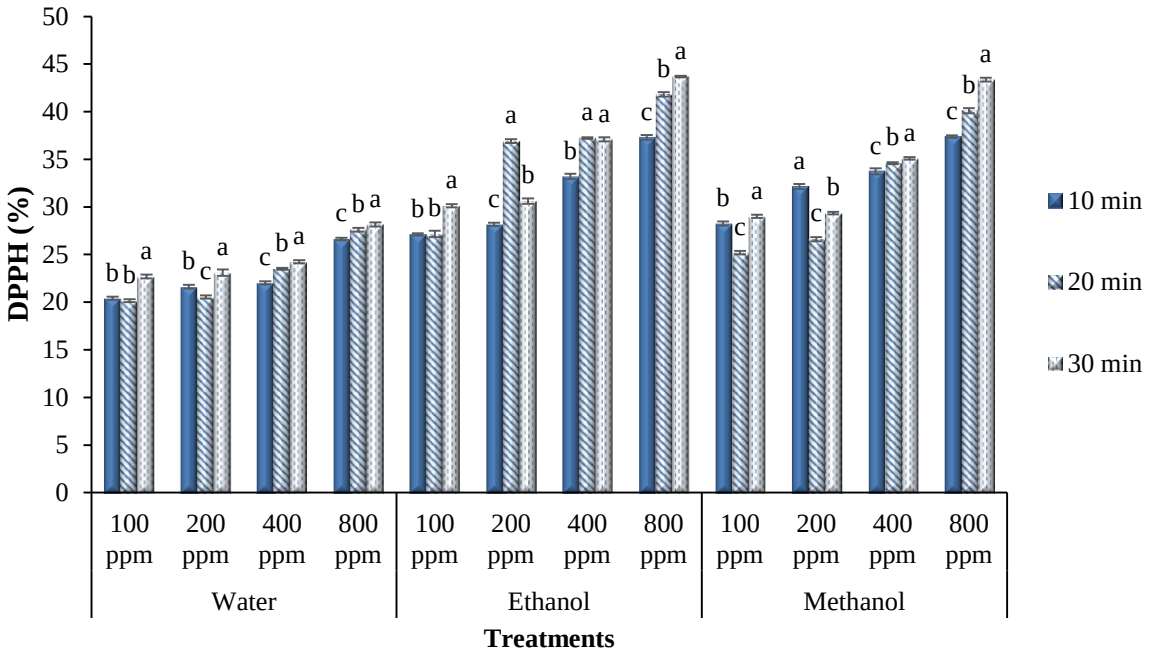

Figure 4- Interaction of different concentrations, time and type of solvent on free radical scavenging activity (DPPH) of citron peel extract in ultrasound method

The different letters are significantly different ($p < 0.05$).

شکل ٤- اثر متقابل غلظت‌های مختلف، زمان و نوع حلال بر فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) عصاره پوست بالنگ در روش اولتراسوند

جدول ۱- بررسی ترکیبات شناسایی شده در عصاره پوست میوه بالنگ (*Citrus medica L.*)

Table 1- Investigation of compounds detected in the extract of citron peel (*Citrus medica L.*)

Ingredients of extract of citron peel	T_R (min)	µg/g (ppm)
Naringin	7	407
Hesperidin	7.2	1791
5,7-Dimethoxycoumarin	13	203
Limonin	13.6	607
Nomilin	14	3792
Obacunone	15	226

- ارزیابی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس پوست بالنگ

ارزیابی تمام ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس پوست میوه بالنگ به همراه درصد نسبی و شاخص بازداری آن در جدول ۲ آورده شده است. براساس آنالیز صورت گرفته ۲۶ ترکیب در اسانس تقطیری شناسایی گردید که در مجموع ۹۹/۶ درصد از اسانس را تشکیل می‌دهند و عمده‌ترین ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس عبارتند از لیمونن (۵۸/۳ درصد)، گاما- ترپینن (۱۶/۸ درصد)، ژرانیال (۶ درصد) و نرال (۴/۸ درصد).

- بررسی خصوصیات شیمیایی روغن آفتابگردان

مشخصات روغن آفتابگردان مورد استفاده شامل اندیس رفراکتومتری، اندیس یدی، عدد صابونی، اندیس پراکسید، عدد قطبی، مقدار ترکیبات غیر صابونی، اسید چرب آزاد و زمان مقاومت در برابراکسیداسیون در جدول ۳ ارائه شده است. پارامترهای پایداری روغن آفتابگردان مورد آزمایش در محدوده قابل قبول از نظر استاندارد قرار داشت.

جدول ۲- ترکیبات شناسایی شده در اسانس پوست میوه بالنگ (*Citrus medica L.*)

Table 2- Compounds identified in the essential oil of citron peel

The name of the composition	Inhibition index	Essential oil content (%)
α-thujene	935	-
α-pinene	942	0.5
sabinene	980	0.1
β-pinene	984	0.6
myrcene	992	0.9
α-terpinene	1018	0.4
p-cymene	1026	0.2
limonene	1032	58.3
(Z)-β-ocimene	1042	1
(E)-β-ocimene	1050	1.3
γ-terpinene	1064	16.8
terpinolene	1092	0.8
linalool	1102	0.4
citronellal	1156	0.3
terpinen- 4-ol	1179	0.3
α-terpineol	1191	0.8
nerol	1232	1.2
neral	1240	4.8
geraniol	1255	1.3
geranial	1272	6
neryl acetate	1367	1
geranyl acetate	1386	1.4
β-caryophyllene	1420	1.3
α-trans-bergamotene	1437	0.4
germacrene D	1483	0.1
β-bisabolene	1512	0.4

جدول ۳- بررسی خصوصیات شیمیایی روغن آفتابگردان

Table 3- Investigation of chemical properties of sunflower oil

Quantitative chemical parameters	amount
Peroxide number (milliequivalents g / kg)	0.48
Refractive index at 25 ° C	1.461
Carbonyl number (micromoles per gram)	8.1
Oxidative stability index (h)	3.48
Polar number (%)	8.37
Soap number	190
Iodide number	126.3
Free fatty acid (%)	<1
Amount of non-soap compounds (%)	2.22

- **نتایج بررسی روغن آفتابگردان حاوی عصاره، اسانس و آنتی اکسیدان سنتزی**
- **اندیس پراکسید**

نتایج شکل ۵ نشان داد که اثر حلال استخراج و زمان نگهداری روغن روی اندیس پراکسید نمونه‌های حاصل از روش ماسیراسیون در سطح ۵ درصد معنی دار است. اندیس پراکسید در نمونه‌های حاوی سه عصاره اتانولی، متانولی و آبی از لحاظ آماری از زمان صفر تا ۵ روز، اختلاف معنی‌داری داشتند که با گذشت زمان افزایش یافت. میزان عدد پراکسید در نمونه‌های روغن مورد مطالعه متفاوت بود و با افزایش زمان نگهداری در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد روند افزایشی از خود نشان دادند. شاخص پراکسید در روز اول برای روغن حاوی عصاره اتانولی و متانولی ۲/۷ meq O2/kg و برای عصاره آبی با اختلاف معنی‌دار ۴ meq O2/kg بود ($p<۰/۰۵$). میزان اندیس پراکسید روغن حاوی عصاره اتانولی و متانولی تا روز دوم نگهداری کاهش و سپس تا روز پنجم افزایش معنی‌دار نشان داد. در حالی که روغن حاوی عصاره آبی تا روز سوم کاهش عدد پراکسید و سپس افزایش معنی دار مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). در روز پنجم روغن حاوی عصاره اتانولی و متانولی پایین‌ترین مقدار اندیس پراکسید را دارا بودند (meq ۴/۶ O2/kg) و اختلاف معنی دار با هم نداشتند در حالی که بالاترین مقدار عدد پراکسید در نمونه روغن حاوی عصاره آبی مشاهده گردید (۵/۲ meq O2/kg).

نتایج حاصل از شکل ۶ نشان داد تغییرات عدد پراکسید نمونه‌های روغن آفتابگردان در طی نگهداری در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد معنی دار بود. در تمام نمونه‌های حاصل از روش فراصوت، زمان نگهداری و اثر متقابل آن‌ها، بر روی عدد پراکسید اثر معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$). با افزایش زمان نگهداری عدد پراکسید در همه نمونه ها افزایش نشان داد. عدد پراکسید نمونه روغن حاوی آنتی اکسیدان سنتزی (BHT) از مقدار اولیه ۱/۹۱ تا مقدار ۴/۷۳ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن پس از ۵ روز نگهداری روغن در دمای ۶۵ درجه افزایش یافت در حالی که برای نمونه‌های روغن حاوی عصاره اتانولی استخراج شده در زمان ۳۰ دقیقه فراصوت، عدد پراکسید پس از ۵ روز نگهداری از مقدار اولیه ۰/۷ تا مقدار به ترتیب ۳/۶ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن افزایش یافت که از نظر آماری نیز اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بین این غلظت‌ها مشاهده گردید. کمترین مقدار عدد پراکسید در همین نمونه مشاهده شد. نتایج افزودن اسانس پوست میوه بالنگ به روغن آفتابگردان نشان داد که عدد پراکسید از

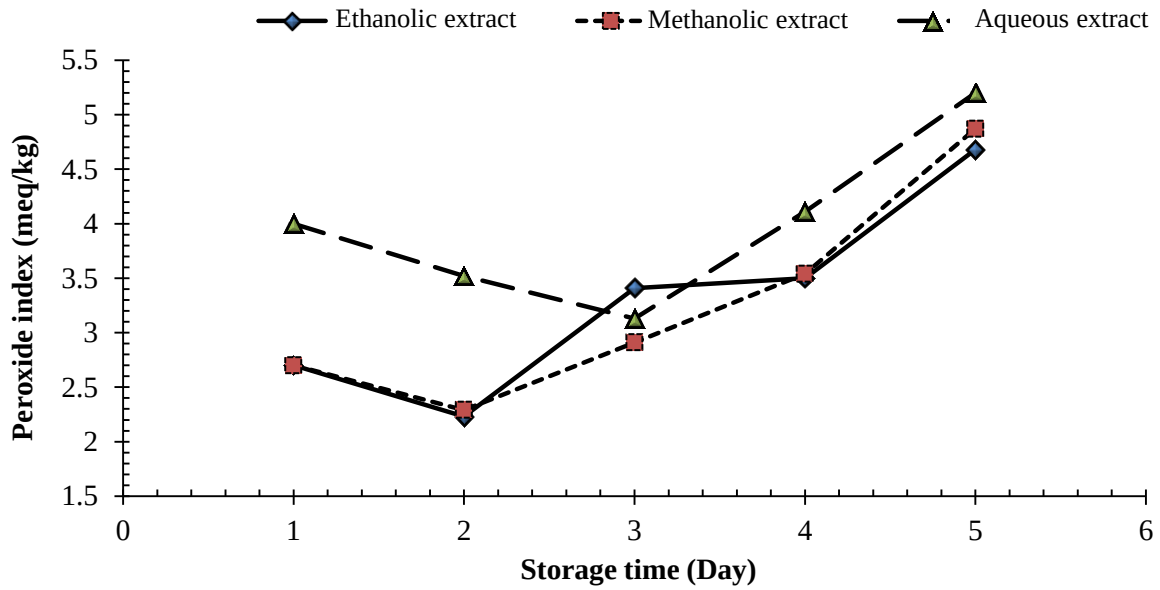

Figure 5- The peroxide number (meq O2 / kg) of the studied sunflower oil samples during 5 days of storage at 65 ° C (maceration method)

شکل ۵- تغییرات عدد پراکسید (meq O2/kg) نمونه‌های روغن آفتابگردان مورد مطالعه طی مدت زمان ۵ روز نگهداری در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد (روش ماسراسیون)

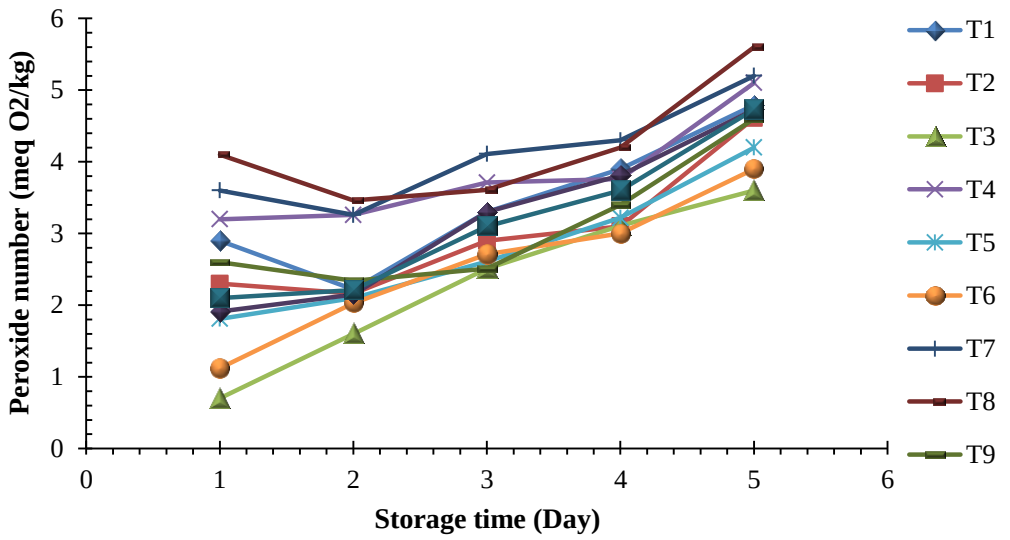

Figure 6- The peroxide number (meq O2 / kg) of sunflower oil samples during 5 days of storage at 65 ° C Ultrasound and essential oil and BHT treatments

شکل ٦- تغییرات عدد پراکسید (meq O2/kg) نمونه‌های روغن آفتابگردان مورد مطالعه طی مدت زمان ٥ روز نگهداری در دمای ٦٥ درجه سانتی گراد تیمارهای روش اولتراسوند و اسانس و BHT

(T_1 روغن حاوی عصاره اتانولی با غلظت بیشینه زمان فراصوت ۱۰ دقیقه، T_2 روغن حاوی عصاره اتانولی زمان فراصوت ۲۰ دقیقه، T_3 روغن حاوی عصاره اتانولی زمان فراصوت ۳۰ دقیقه، T_4 روغن حاوی عصاره متانولی زمان فراصوت ۱۰ دقیقه، T_5 روغن حاوی عصاره متانولی زمان فراصوت ۲۰ دقیقه، T_6 روغن حاوی عصاره متانولی زمان فراصوت ۳۰ دقیقه، T_7 روغن حاوی عصاره آبی زمان فراصوت ۱۰ دقیقه، T_8 روغن حاوی عصاره آبی زمان فراصوت ۲۰ دقیقه، T_9 روغن حاوی عصاره آبی زمان فراصوت ۳۰ دقیقه، T_{10}روغن حاوی BHT، T_{11} روغن حاوی اسانس)

۲/۱ به ۴/۷ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن در دوره نگهداری افزایش یافت. عدد پراکسید در روز پنجم برای نمونه روغن حاوی آنتی اکسیدان سنتزی (BHT) و اسانس تفاوت معنی‌دار نداشت. با افزایش زمان نگه داری نمونه‌ها میزان اندیس پراکسید به دلیل تشکیل هیدروپراکسید یعنی محصولات اولیه اکسیداسیون افزایش می‌یابد (شکل ۶).

نتایج شکل ۷ نشان داد که اثر نوع حلال استخراج عصاره، زمان نگهداری روغن و اثر متقابل آن‌ها در نمونه‌های حاصل از روش ماسیراسیون معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). شکل ۷ تغییرات شاخص تیوباربیوتیک اسید (mg MDA/kg) نمونه‌های روغن آفتابگردان مورد مطالعه طی مدت ۵ روز نگهداری در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد (روش استخراج ماسراسیون) را نشان می‌دهد. از آن جایی که مالون آلدئید از تجزیه هیدروپراکسیدها حاصل می‌گردد میزان تیوباربیوتیک اسید در نمونه‌های روغن مورد مطالعه با افزایش زمان نگهداری در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد روند افزایشی از خود نشان داد. در روز اول نگهداری روغن حاوی عصاره متانولی پایین‌ترین مقدار اندیس TBA را دارا بود (۰/۳۳ mg MDA/kg) و با دو نمونه عصاره اتانولی و آبی اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) داشت. با افزایش زمان نگهداری و در انتهای روز ۵ بالاترین مقدار عدد تیوباربیوتیک اسید نیز مربوط به تیمار عصاره متانولی بود (۰/۵۶ mg MDA/kg). کمترین مقدار عدد تیوباربیوتیک اسید در پایان روزهای نگهداری متعلق به روغن حاوی عصاره اتانولی بود. بیشترین توانایی در جلوگیری از تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون توسط تیمار حاوی عصاره اتانولی اعمال گردید. به طوری که مقدار این اندیس در نمونه‌های تحت این تیمار در طول ۵ روز نگهداری به ترتیب برابر ۰/۴۰۱، ۰/۴۲، ۰/۴۳۳، ۰/۴۵۱ و ۰/۵۰۶ میلی گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم به دست آمد. 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.

نتایج به دست آمده نشان داد تغییرات TBA نمونه‌های روغن آفتابگردان در طی نگهداری در دمای ۶۵ درجه

سانتی گراد معنی دار بود. همه تیمارها، زمان نگهداری و اثر متقابل آنها روی شاخص TBA نمونه‌های حاصل از روش اولتراسوند اثر داشت ($p<۰/۰۵$). نتایج نشان داد در تیمارهای روغن حاوی عصاره به دلیل وجود ترکیباتی با خاصیت آنتی اکسیدانی افزایش TBA با سرعت کمتری اتفاق افتاده است (شکل ۸). این شاخص در تیمار روغن حاوی عصاره اتانولی استخراج شده به روش اولتراسونیک در زمان ۳۰ دقیقه، به ترتیب از روز اول تا پنجم نگهداری ۰/۱۸۳، ۰/۲۰۶، ۰/۲۲۸، ۰/۲۵۱ و ۰/۲۷۲ میلی گرم مالون الدهید در کیلوگرم روغن رسید. کمترین مقدار TBA مربوط به همین تیمار بود که از نمونه روغن حاوی آنتی اکسیدان سنتزی (BHT) (۰/۵۷۱ mg MDA/kg) در روز پنجم کمتر بود. بیشترین شاخص TBA در روز آخر نگهداری هم متعلق به نمونه روغن حاوی عصاره آبی بود. به دلیل این که با گذشت زمان و رسیدن میزان پراکسید به سطح مشخص، پراکسید شروع به تجزیه شدن می‌نماید، بنابراین باعث تولید آلدهید و کتون و اسید و افزایش TBA می‌گردد. طبق توضیحات قبل در تیمارهای روغن حاوی عصاره‌های اتانولی روش اولتراسونیک کاهش عدد پراکسید و TBA در مقایسه با سایر تیمارها در پی استخراج بیشتر ترکیبات فنولی و افزایش قدرت آنتی اکسیدانی مشاهده می‌شود. شاخص TBA در نمونه حاوی اسانس در روز آخر به ۰/۴۷۱ میلی گرم مالون الدهید در کیلوگرم روغن رسید و از نمونه‌های حاوی عصاره اتانولی بیشتر بود.

شکل ۹ نتایج اثر تیمارهای مورد بررسی بر اندیس آنیزیدین روغن در سطح اطمینان ۹۵ درصد، در روش ماسراسیون درروغن آفتابگردان در طی نگهداری در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد را نشان داد. همان طور که مشاهده می‌شود نمونه‌های روغن حاوی عصاره اتانولی کمترین مقدار اندیس آنیزیدین و نمونه حاوی عصاره آبی دارای بیشترین مقدار اندیس آنیزیدین بودند ($p<۰/۰۵$). با افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها مقدار شاخص آنیزیدین کاهش یافت. این اثر آنتی‌اکسیدانی را به محتوای فنولی عصاره‌ها نسبت می‌دهند. در واقع در عصاره اتانولی، مقدار ترکیبات فنولی افزایش یافته که منجر به افزایش گروه های فعال برای مهار رادیکال آزاد می‌گردد و منجر به کاهش مقدار آنیزیدین می‌گردد. اندیس آنیزیدین در عصاره اتانولی، متانولی و آبی در دوره نگهداری به ترتیب از ۹/۱۴ تا ۶۰/۱۵ ، ۱۰/۳۳ تا ۶۱/۵۷ و ۱۲/۲۳ تا ۷۵/۰۲ واحد افزایش داشت.

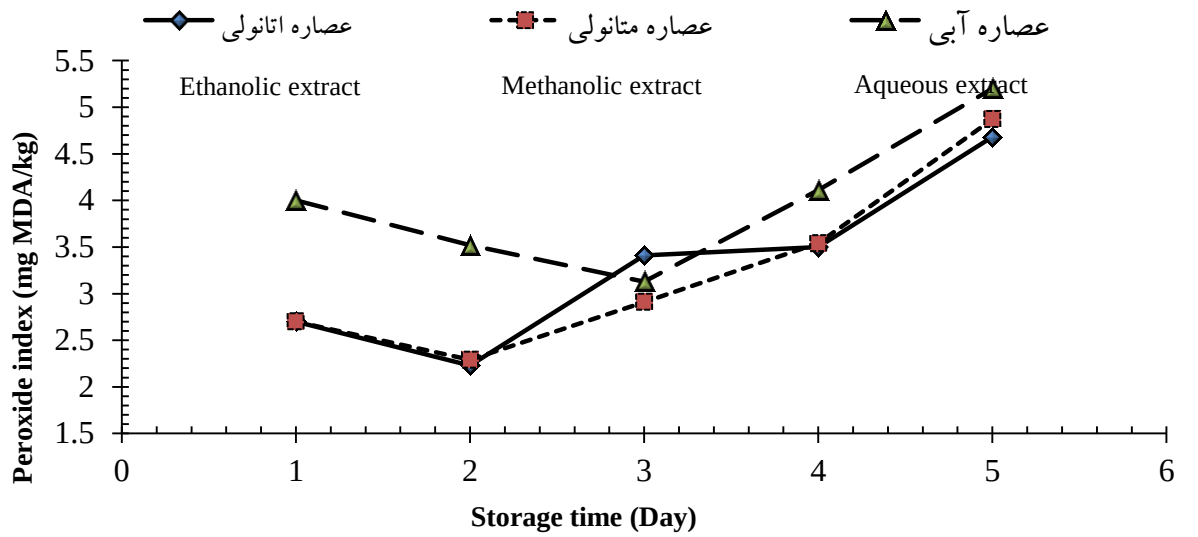

Figure 7- Thiobarbiotic acid index (mg MDA / kg) of the studied sunflower oil samples during 5 days of storage at 65 ° C (maceration extraction method)

شکل ۷- تغییرات شاخص تیوباربیوتیک اسید (mg MDA/kg) نمونه‌های روغن آفتابگردان مورد مطالعه طی مدت ۵ روز نگهداری در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد (روش استخراج ماسراسیون)

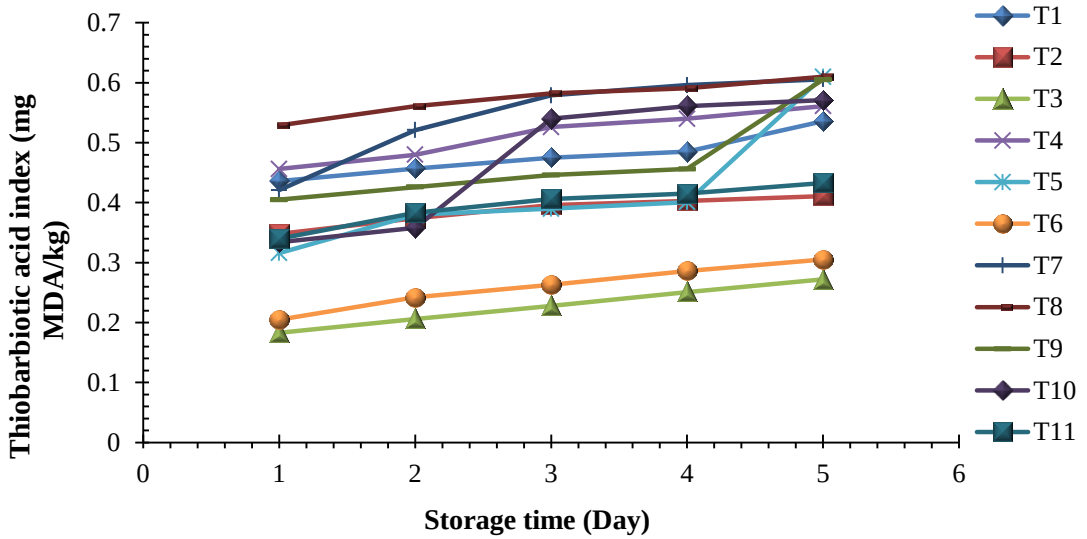

Figure 8- The thiobarbiotic acid index (mg MDA / kg) of the studied sunflower oil samples during 5 days of storage at 65 ° C Ultrasound and essential oil and BHT treatments

شکل ۸- تغییرات شاخص تیوباربیوتیک اسید (mg MDA/kg) نمونه‌های روغن آفتابگردان مورد مطالعه طی مدت زمان ۵ روز نگهداری در دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد تیمارهای روش اولتراسوند و اسانس و BHT

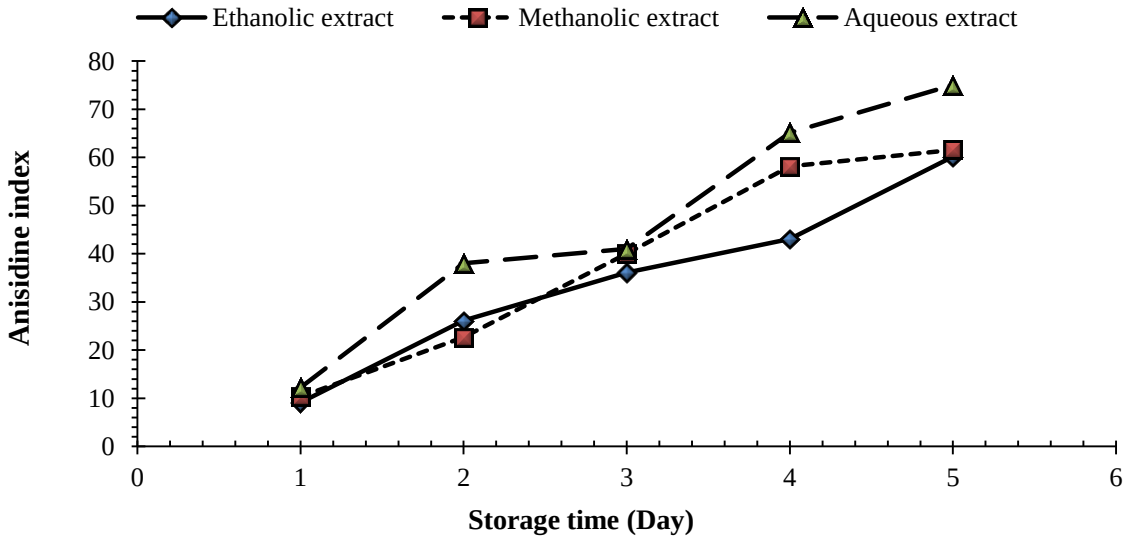

Figure 9- The anisidine index of the studied sunflower oil samples during 5 days of storage at 65 ° C (maceration method)

شکل ۹- تغییرات شاخص آنیزیدین نمونه‌های روغن آفتابگردان مورد مطالعه طی مدت ۵ روز نگهداری در دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد (روش ماسراسیون)

نتایج مقایسه شاخص‌های مورد بررسی حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که اندیس‌های پراکسید، آنیزیدین و توتوکس با گذشت زمان روند افزایشی از خود نشان دادند و زمان مقاومت به اکسایش یک روند کاهشی در تمامی تیمارها داشت ولی با این وجود مشاهده شد که روغن حاوی عصاره اتانولی با مقدار اندیس توتوکس meq/kg ۱۴/۵۴ در روز اول و meq/kg ۶۹/۴۵ در روز پنجم به صورت معنی‌داری دارای بیشترین توانایی در کنترل شاخص‌های مورد بررسی نسبت به سایر تیمارها است (شکل ۱۱). نمونه روغن حاوی عصاره متانولی حاصل از روش ماسیراسیون در روزهای نگهداری، از meq/kg ۱۵/۷۷ به meq/kg ۷۱/۳۴ رسید. نمونه حاوی عصاره آبی دارای بیشترین مقدار اندیس توتوکس بود و از ۲۰/۲۶ به ۸۵/۴۲ رسید.

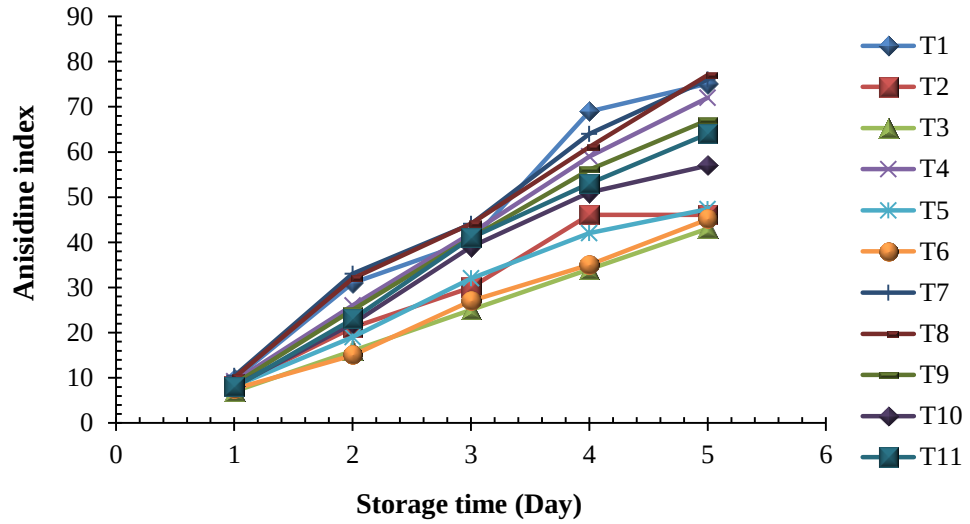

Figure 10- The anisidine index of the studied sunflower oil samples during 5 days of storage at 65 ° C Ultrasound and essential oil and BHT treatments

شکل ۱۰- تغییرات شاخص آنیزیدین نمونه‌های روغن آفتابگردان مورد مطالعه طی مدت زمان ۵ روز نگهداری در دمای ٦٥ درجه سانتی گراد تیمارهای روش اولتراسوند و اسانس و BHT

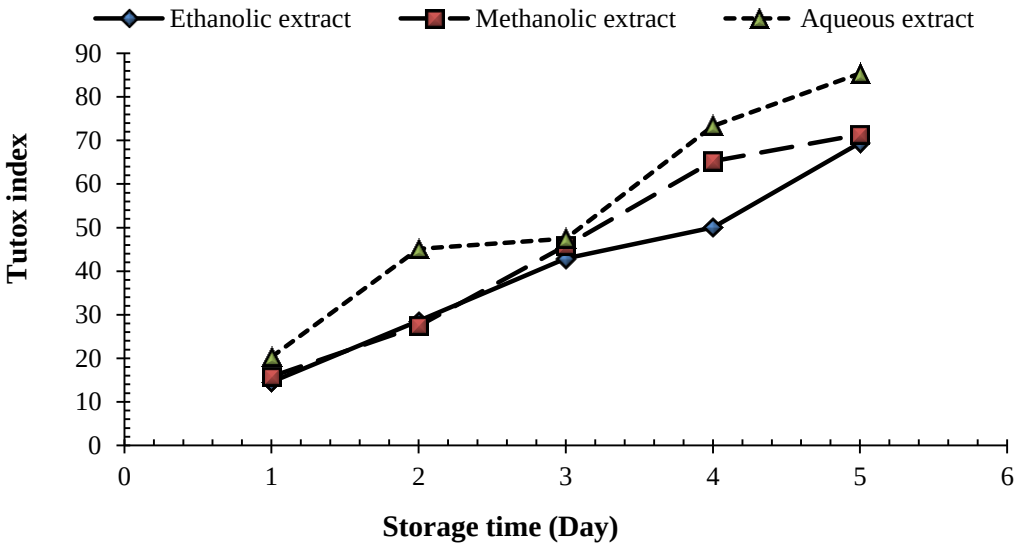

Figure 11- Tutox index changes of the studied sunflower oil samples during 5 days of storage at 65 ° C (maceration method)

شکل ۱۱- تغییرات شاخص توتوکس نمونه‌های روغن آفتابگردان مورد مطالعه طی مدت ۵ روز نگهداری در دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد (روش ماسراسیون)

شکل ۱۲ نتایج اثر تیمارهای مورد بررسی بر میزان اندیس توتوکس در سطح اطمینان ۹۵ درصد در روش اولتراسوند را نشان می‌دهد. اثر زمان نگهداری و نوع تیمارها و اثر متقابل آن‌ها بر شاخص توتوکس در سطح ۵ درصد معنی دار بود. بیشترین میزان اندیس توتوکس در روز پنجم درتیمار ۸ (عصاره آبی با زمان فراصوت ۲۰ دقیقه) و کمترین مقدار توتوکس در روز پنجم در تیمار۳ (عصاره اتانولی با زمان فراصوت ۳۰دقیقه) به ترتیب به مقدار ۸۸/۲۰ meq/kg و ۵۰/۲۱ meq/kg مشاهده شد. طبق نتایج با گذشت زمان نگه داری نمونه‌های روغن بین اعداد توتوکس در تیمارهای مختلف با نمونه آنتی اکسیدان سنتزی و اسانس اختلاف معنی‌داری وجود داشت. روز پنجم نمونه روغن حاوی اسانس و آنتی اکسیدان سنتزی BHT به ترتیب دارای شاخص توتوکس ۷۳/۴۷ و ۶۶/۴۷ بود.

– مقایسه تیمارهای بررسی شده با دو روش استخراج

با توجه به جدول ۳ و بررسی میزان شاخص‌های مورد بررسی برای پایداری روغن آفتاب گردان می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که نمونه‌های روش اولتراسوند به طور معنی داری قابلیت بیشتری در کنترل اکسیداسیون روغن نشان داده‌اند.

– شاخص پایداری اکسایشی (OSI)

تغییرات شاخص پایداری اکسایشی نمونه‌های روغن آفتابگردان مورد مطالعه طی مدت ۵ روز نگهداری در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد در شکل ۱۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد با گذشت زمان و بعد از ۵ روز نگهداری مقدار سه نمونه عصاره بهینه (تیمار حلال اتانول با زمان ۳۰ دقیقه فراصوت)، نمونه حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHT و اسانس، روند کاهشی مشاهده شد. کمترین مقدار شاخص پایداری اکسایشی (۳ ساعت) در نمونه روغن حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHT در روز پنجم و بالاترین مقدار شاخص پایداری اکسایشی (۴/۴۷ ساعت) در نمونه روغن حاوی عصاره بهینه در روز دوم مشاهده شد که اختلاف معنی دار آماری با هم داشتند. در نمونه روغن حاوی عصاره بهینه، شاخص پایداری اکسایشی از مقدار اولیه ۴/۱۳ ساعت به ۳/۵۱ ساعت بعد از ۵ روز کاهش پیدا کرد. برای نمونه روغن حاوی اسانس شاخص پایداری اکسایشی، از مقدار اولیه ۴ ساعت تا مقدار ۳/۳۹ ساعت در پایان پنج روز کاهش نشان داد. این موضوع نشان می‌دهد تأثیر ترکیبات فنولی و دیگر ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در عصاره در افزایش زمان پایداری روغن آفتابگردان قابل توجه است.

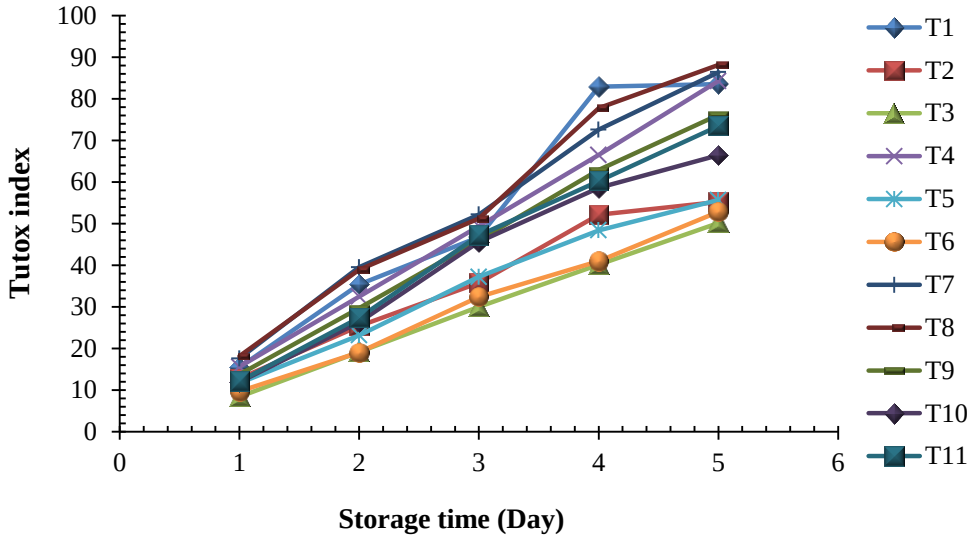

Figure 12- Tutox index changes of the studied sunflower oil samples during 5 days of storage at 65 ° C Ultrasound and essential oil and BHT treatments

شکل ۱۲- تغییرات شاخص توتوکس نمونه‌های روغن آفتابگردان مورد مطالعه طی مدت زمان ۵ روز نگهداری در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد تیمارهای روش اولتراسوند و اسانس و BHT

جدول ۳- مقایسه نتایج تیمارهای بهینه در دو روش استخراج

Table 3- Comparison of the results of optimal treatments in two extraction methods

Extract extraction method	Peroxide index	TBA Index	Anisidine Index	Tutox Index
Treatment by maceration method	4.68	0.5	60.15	69.45
Treatment with ultrasound, essential oil and BHT	3.6	0.27	43	50.21

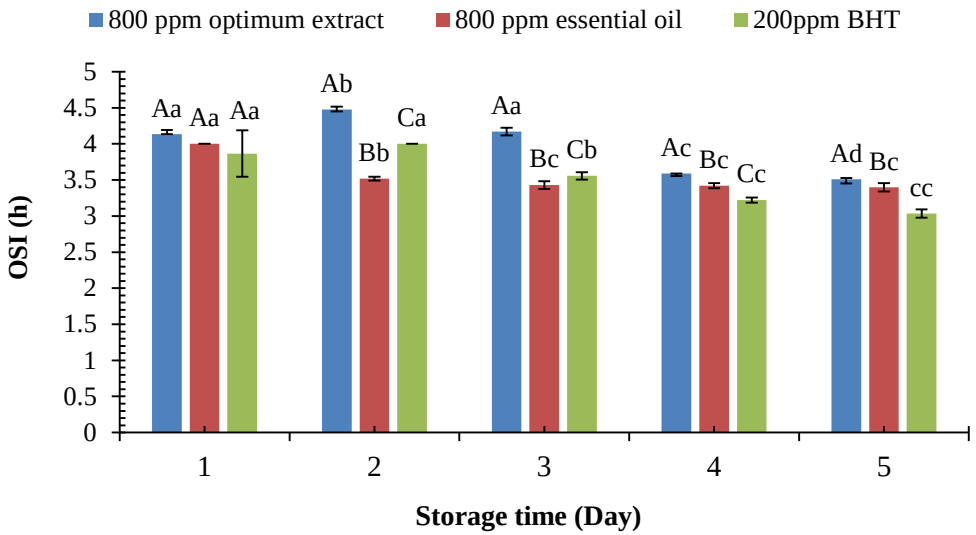

Figure 13- the oxidative stability index of the studied sunflower oil samples during 5 days of storage at 65 ° C

شکل ۱۳- تغییرات شاخص پایداری اکسایشی نمونه‌های روغن آفتابگردان مورد مطالعه طی مدت ۵ روز نگهداری در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد

بحث

- آزمون‌های شیمیایی عصاره

تحقیقات صورت گرفته نشان داده است که ترکیبات فنولی، آنتی‌اکسیدان‌های بالقوه هستند و مهارکننده رادیکال آزاد می‌باشند. بنابراین باید هم بستگی بین میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی وجود داشته باشد. فنول‌ها و ترکیبات فنولی به طور گسترده‌ای در محصولات غذایی و گیاهی یافت می‌شوند و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای نیز می‌باشند (Boonkird et al., 2008). نتایج میزان ترکیبات فنلی با نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی مطابقت داشت. با افزایش میزان ترکیبات فنلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد. درغلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. محققان بیان داشتند میزان ترکیبات فنولی عصاره‌های گیاهی با افزایش قطبیت حلال افزایش می‌یابد. حلال آب علی رغم راندمان بالا ترکیبات فنولی کمتری را نسبت به حلال متانول و اتانول استخراج کرد. در واقع حلال آب مواد جامد قابل استخراج بیشتری را در خود حل کرده است اما همه این ترکیبات لزوماً ترکیبات فنولی نیستند (Rodriguez *et al.*, 2010). این نتایج با نتایجی که توسط Shukla و همکاران (۲۰۰۹)، Sun و همکاران (۲۰۱۱) و ابراهیم زاده و بهرامیان (۲۰۰۹) به دست آمده بودند، مطابقت دارد. این محققین گزارش نمودند که فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد (DPPH) عصاره‌های گیاهی وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت اثر مهارکنندگی شدت می‌یابد. Hismath (۲۰۱۱) در بهینه‌سازی شرایط استخراج ترکیبات فنولی برگ‌های گیاه آزادایراچتا ایندیکا (درختی از تیره سنجد تلخ) به کمک امواج فراصوت دریافت که افزایش غلظت و دمای استخراج باعث افزایش ترکیبات فنولی می‌شود. Wang و همکاران (۲۰۰۸) ترکیبات فنولی سبوس گندم را به کمک روش فراصوت استخراج کردند و تاثیر پارامترهای حلال، دما و زمان را بر روی میزان استخراج مورد بررسی قرار دادند. بیشترین استخراج ترکیبات فنولی توسط حلال اتانول صورت گرفت. همچنین با افزایش زمان و دما میزان استخراج این ترکیبات افزایش یافت.

آزمون فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH، یک ارزیابی اسپکتروفتومتری بر پایه مهار رادیکال‌های DPPH است و ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌هایی که مستقیماً با رادیکال‌های مذکور واکنش می‌دهند را از طریق پایش کاهش جذب در ۵۱۷ نانومتر به‌واسطه احیا توسط آنتی‌اکسیدان‌ها اندازه‌گیری می‌کند. DPPH یک رادیکال آزاد پایدار است که ماکزیمم جذب را در ۵۱۷ نانومتر داراست و زمانی که در حضور یک سوبسترای دهنده

الکترون مانند یک آنتی‌اکسیدان واقع شود، این رادیکال‌ها مهار می‌شوند و جذب کاهش می‌یابد. محلول DPPH ارغوانی رنگ است که هنگام احیا توسط ترکیب آنتی‌اکسیدانی به شکل غیر رادیکالی، بی‌رنگ می‌شود (Charles، ۲۰۱۳). گیاهان حاوی ترکیبات متعددی هستند که ساختارهای متفاوتی دارند. استخراج این ترکیبات به عوامل متعددی بستگی دارد که مهم‌ترین آن‌ها حلال و روش استخراج می‌باشند. علت افزایش فعالیت رادیکال گیرندگی با افزایش زمان فراصوت را می‌توان به پدیده کاویتاسیون نسبت داد که در واقع در اثر انتشار امواج صوتی در فاز جامد–مایع، چرخه‌های انقباض و انبساطی در محیط ایجاد می‌شود که باعث تشکیل حباب‌هایی شده که این حباب‌ها در ادامه رشد و در نهایت متلاشی می‌شوند. این عمل باعث نوسان ذرات جامد و مایع شده و تحت عمل فراصوت سرعت پیدا می‌کنند. در نتیجه مواد حل شونده سریعاً از فاز جامد به حلال انتشار پیدا می‌کنند. ترکیبات فنلی بیشتری استخراج می‌شود که در نهایت باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌گردد (Rostagno، ۲۰۰۳؛ Shotipru، ۲۰۰۱). Abootalebian و همکاران (۲۰۱۶) از روش مهار رادیکال آزاد به عنوان یک روش سریع جهت اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی چند عصاره خانواده نعناع استفاده نمودند و نشان دادند که با افزایش غلظت عصاره از ۵ به ۵۰۰ پی پی ام فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره به صورت معنی دار افزایش می‌یابد. Sharifi و همکاران (۲۰۱۳) تأثیر زمان بر روی قدرت مهار رادیکال آزاد درروش فراصوت را معنی دار اعلام کردند. Vazquez و همکاران (۲۰۱۲) ، تأثیر سه پارامتر دما، غلظت اتانول و زمان استخراج را برای جداسازی آنتی‌اکسیدان‌ها از بلوط مورد بررسی قرار دادند. نتایج به دست آمده حاکی از آن بود که درجه حرارت و غلظت اتانول تنها متغیرهای مستقل معنی‌دار مؤثر بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بودند. Morella و همکاران (۲۰۱۲) بهینه سازی استخراج ترکیبات فنلی وآنتی اکسیدانی در مربای انگور قرمز با استفاده از امواج فراصوت با روش سطح پاسخ را مورد بررسی قرار دادند. بهترین نتیجه برای بهینه سازی، اتانول ۶۰ درصد با زمان استخراج ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به دست آمد. Madani Poor و Sharifi (۲۰۱۸) ترکیبات شیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ به، به روش ماسراسیون (خیساندن) با حلال‌های متانول، اتانول و هگزان را بررسی کردند. نتایج نشان داد درصد بازدارندگی رادیکال عصاره‌ها با افزایش غلظت افزایش می‌یابد. عصاره متانولی بیشترین فعالیت آنتی رادیکالی را نشان داد.

– شناسایی ترکیبات فنولی تشکیل دهنده عصاره بهینه پوست بالنگ

در این بررسی، بیشترین ترکیب فنولی از عصاره بهینه پوست بالنگ، نومیلین و کمترین مقدار، دی متوکسی کومارین بودند. Atashi و همکاران (۲۰۱۰) تغییرات ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در پالپ، مزوکارپ و پوست پرتقال پارسون براون و مارس را بررسی کردند. بیشترین میزان فنل و بیشترین میزان فلاونوئید در پوست رقم مارس به دست آمد. بعد از آن پوست رقم پارسون براون از میزان فنل و فلاونوئید بیشتری برخوردار بودند. کمترین میزان فنل نیز در پالپ پرتقال مارس مشاهده شد. Vojoodi و همکاران (۲۰۱۰) ترکیبات پلی فنلی و فلاونوئیدی میوه سیب ارقام «زنوز» و «گالا» با استفاده از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا شناسایی کردند بیشترین میزان ترکیبات پلی فنلی موجود در پوست سیب مشاهده شد و شامل ترکیبات، کوئرستین–۳–دی–گالاکتوزید و سیانیدین –۳ –گالاکتوزید بود.

– ترکیبات تشکیل دهنده اسانس پوست بالنگ

در بررسی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس پوست بالنگ، بخش اعظم اسانس حدود (۹۹ درصد) را ترکیب‌های منوترپنی تشکیل داده‌اند و ترکیب‌های سزکویی ترپنی بخش اندکی از اسانس را شامل می‌شوند. لیمونن و گاما- ترپینن اصلی‌ترین ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس هستند و ۸۵–۷۵ درصد از کل اسانس را تشکیل می‌دهند. براساس تحقیقات Cappello و همکاران (۱۹۸۲) در ایتالیا، میزان مواد معطر موجود در اسانس بالنگ ۲۶ درصد، Hute (۱۹۸۶) در فرانسه ۲۰/۷ درصد، Wen و همکاران (۱۹۸۶) در ویتنام ۱۴/۹ درصد، Shiato (۱۹۹۰) در ژاپن ۴/۱ درصد، Fleisher و Fleisher (۱۹۹۱) در اسرائیل ۷/۲ درصد، Dung (۱۹۹۶) در ویتنام ۶ درصد، Poiana و همکاران (۱۹۹۸) در ایتالیا ۸/۱ –۲ درصد، Lota (۱۹۹۹) در فرانسه ۲۴/۶ –۲ درصد، Tanaka (۲۰۰۲) در ژاپن ۸

درصد، Sawamora Njorogo and (۲۰۰۵) در ایتالیا ۴۶/۵ درصد، گزارش شد.

– بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی روغن آفتابگردان

ویژگی‌های لیپیدها، از ساختار شیمیایی و گروه‌های عاملی آن‌ها ناشی می‌شود و به طور قابل ملاحظه‌ای بر نقش چربی‌ها در مواد غذایی و روش‌های مورد نیاز برای فرآوری و کاربرد آن‌ها تاثیر می‌گذارد. همچنین این ویژگی‌ها را می‌توان برای ارزیابی خلوص یا کیفیت چربی‌ها و روغن‌ها با توجه به استانداردهای مشخص یا ویژگی‌های خاص مورد استفاده قرار داد (and Sanderson Nichols، ۲۰۰۳). عدد پراکسید روغن مورد استفاده ۰/۴۸ میلی اکی والان بر گرم بود که بیانگر وضعیت مناسب این روغن می‌باشد. همچنین ترکیبات غیر قابل صابونی شدن از جمله ترکیبات زیست فعال غیر گلیسریدی مشتمل بر مخلوطی از هیدروکربن‌ها، آلدئیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، استرول‌ها، رنگدانه‌ها و ویتامین‌های محلول در چربی هستند. این ترکیبات یا به صورت طبیعی وجود دارند و یا در طی فرآوری و تجزیه روغن‌ها تولید می‌شوند (Badifu، ۱۹۹۱).

– بررسی روغن آفتابگردان حاوی عصاره، اسانس و آنتی اکسیدان سنتزی

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. کاهش پراکسید پس از رسیدن به حد بیشینه آن طی مراحل ابتدایی اکسایش گزارش شده است که بیانگر ناپایدار بودن پراکسیدها و شکست آن‌ها به فراورده‌های ثانویه طی مراحل بعدی اکسایش است. تعیین عدد پراکسید جهت ارزیابی روغن‌های سرخ کردنی خیلی مناسب نیست زیرا به دلیل شکست و تشکیل مجدد هیدروپراکسیدها در مراحل بعدی اکسایش عدد پراکسید مستعد تغییر است (Kaviani et al., 2013). استفاده از آب برای استخراج، یک محیط کاملاً قطبی ایجاد می کند، در نتیجه برخی از ترکیبات فنولی با درجه قطبیت پائین کمتر استخراج می‌شوند. علاوه بر این عصاره‌های آبی حاوی ناخالصی‌هایی نظیر اسیدهای آلی، پروتئین‌ها و قندهای محلول می‌باشند (Chirinos *et al.*, 2007)، اما اتانول و متانول همراه با آب توانائی بیشتری در استخراج ترکیبات فنولی دارند (Suzuki *et al.*, 2002). مقدار بالاتر ترکیبات فنلی باعث کاهش میزان عدد پراکسید شده است. افزایش ترکیبات فنولی موجود در عصاره، منجر به افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی و فعالیت مهار کنندگی در روغن شده که به نوبه خود باعث کاهش اندیس پراکسید و در نتیجه افزایش پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان می‌گردد. آنتی اکسیدان‌ها طی مدت زمان خاصی فعال باقی مانده و با گذشت زمان به تدریج از درجه تاثیر آن‌ها کاسته می‌شود، که دلیل آن می‌تواند نگه داری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون و حرارت باشد. بنابرین با افزایش زمان نگهداری نمونه‌های روغن در شرایط اکسیداسیون، میزان اندیس پراکسید افزایش می یابد (Ismael Zadeh Kenari & Mehdi Poor, 2012). با افزایش میزان ترکیبات فنولی در عصاره پایداری روغن در مقابل اکسیداسیون افزایش می‌یابد. ترکیبات فنولی به مرور با از بین رفتن رادیکال‌های آزاد از تشکیل هیدروپراکسید جلوگیری نموده و باعث کاهش عدد پراکسید می‌شود. ترکیبات پلی فنلی به دلیل داشتن خاصیت آنتی اکسیدان و دادن اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد تولید شده در حین فرایند از پیشرفت اکسیداسیون جلوگیری می‌نمایند (Fereidooni Noori, 2015). افزودن عصاره پوست میوه بالنگ به روغن آفتابگردان منجر به کاهش عدد پراکسید نسبت به نمونه آنتی اکسیدان سنتزی (BHT) شد که به دلیل وجود ترکیبات فنلی با خاصیت آنتی اکسیدانی در عصاره مذکور می‌باشد. عصاره در به تاخیر انداختن تشکیل محصولات اولیه اکسیداسیون نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی (BHT)، به شکل جزیی موثرتر عمل کرده است. Mohamadi و همکاران (۲۰۱۴) عصاره متانولی بادرنجبویه را با موفقیت به روغن سویا جهت افزایش پایداری اکسایشی آن اضافه کردند. Ismael Zadeh Kenari & Mehdi Poor (۲۰۱۲) نشان دادند که افزودن عصاره پوست کیوی و آنتی اکسیدان سنتزی در مراحل اولیه نگهداری منجر به تفاوت معنی داری در عدد پراکسید نمونه‌های روغن نشده بودند اما با گذشت زمان از تاثیر آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست کیوی کاسته شد و عدد پراکسید افزایش یافت. Rafiei و همکاران (۲۰۱۱) ترکیبات فنولی برگ زیتون را استخراج کردند و فعالیت

آنتی اکسیدانی آن را با آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT مقایسه کردند. نتایج آن‌ها نشان داد عصاره متانولی برگ زیتون بر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان تاثیر معنی دار داشت. عصاره متانولی برگ زیتون به خوبی توانست اندیس پروکسید و اسید تیوباربیوتیک را کنترل کرده و جایگزین آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT شود.

ترکیبی تحت عنوان مالون دی‌آلدئید در اثر اتواکسیداسیون اسیدهای چرب دارای سه و یا تعداد بیشتری باند دوگانه به وجود می‌آید که این ترکیب در مقادیر بسیار کم به عنوان معرف جهت اکسیداسیون چربی‌ها به کار می‌رود. محصولات اکسیداسیون چربی‌های غیر اشباع با تیوباربیتوریک اسید (TBA) ایجاد کمپلکس قرمز رنگ می‌کنند که این کمپلکس در طول موج ۵۳۵-۵۳۲ نانومترجذب خوبی دارد. اندیس تیوباربیتوریک اسید میلی گرم مالون دی آلدئید موجود در یک کیلوگرم روغن را نشان می‌دهد و بیانگر مراحل ثانویه اکسیداسیون چربی و حضور ترکیبات ثانویه اکسیداسیون در نمونه است، بنابراین بالا بودن این اندیس در روغن نشان دهنده اکسیداسیون بیشتر روغن و در نتیجه پایداری کمتر آن است (Ayoughi et al., 2009). بالاتر بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالاتر بودن فعایت آنتی اکسیدانی بعضی عصاره‌ها از جمله عصاره‌های اتانولی و متانولی می‌باشد (Ramos et al., 2002). علت بالا بودن قدرت آنتی اکسیدانی عصاره در مقایسه با اسانس علاوه بر تفاوت ماهیت شیمیایی، در برخی موارد به علت ایجاد حالت هم افزایی بین ترکیبات تشکیل دهنده یک عصاره نیز مربوط می‌شود که منجر به افزایش قدرت آنتی اکسیدانی کلی آن می‌شود. در گزارشAzizkhani و Ataee (۲۰۱۲) آمده که عصاره متانولی نعناع فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به اسانس نعناع در بازداری سیستم رادیکال آزاد DPPH کاروتن/لینولئیک اسید دارد. مطالعهErkan و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که عصاره رزماری در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن آفتابگردان نسبت به اسانس سیاه دانه عملکرد موثرتری دارد. Goli و همکاران (۲۰۰۵) نیز اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراجی پوست سبز پسته را در روغن سویا بررسی و با آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHT و BHA مقایسه نمودند و مشاهده کردند که عصاره پوست پسته به علت دارا بودن ترکیبات فنولی قوی در غلظتppm ۶۰۰ بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را دارا بود که قابل مقایسه با غلظتppm ۲۰۰ آنتی اکسیدان‌های سنتزی مورد استفاده بود.

آنتی‌اکسیدان‌ها اساساً جهت به تأخیر انداختن تجمع فرآورده‌های اولیه اکسیداسیون و بالطبع بهبود پایداری اکسیداتیو در لیپیدها به کار می‌روند. فرآورده‌های اولیه پراکسیداسیون لیپید، هیدروپراکسیدها هستند که معمولاً تحت عنوان پراکسیدها از آن‌ها یاد می‌شود. بنابراین نتایج آزمون اندیس پراکسید، یک معرف آشکار اتواکسیداسیون لیپید می‌باشد. جهت تأیید بیشتر این نتایج، سایر پارامترهای اکسیداسیون از قبیل اندیس آنیزیدین نیز اندازه‌گیری می‌شود. اندیس آنیزیدین به طور گسترده جهت اندازه‌گیری فرآورده‌های اکسیداسیون، عمدتاً کربنیل‌های غیرفرار تشکیل شده در طول تخریب اکسیداتیو روغن مورد استفاده قرار می‌گیرد. آلدئیدها در روغن و معرف آنیزیدین با یکدیگر تحت شرایط اسیدی واکنش می‌دهند که منجر به تشکیل یک ترکیب با رنگ زرد می‌شود. از این رو افزایش در اندیس آنیزیدین غلظت بالای آلدئیدها و پایداری اکسیداتیو کم روغن را نشان می‌دهد (Anwar et al., 2004). افزایش اندیس آنیزیدین، بیان‌گر گسترش واکنش اکسایش خودبه خودی افزایش محصولات ثانویه حاصل از تجزیه هیدروپراکسیدها و ترکیب‌های کربونیل دار با گذشت زمان می‌باشد. MohdNor همکاران (۲۰۰۸)، خصوصیات آنتی اکسیداتیو عصاره‌های برگ*Pandanus amaryllifolius* را در مطالعات اکسیداسیون تسریع یافته و سرخ کردن عمیق بررسی نمودند. آن‌ها نشان دادند که عصاره مذکور، فرآیند اکسیداسیون را در پالم اولئین در آزمون‌های اندیس پراکسید و اندیس آنیزیدین به خوبیBHT به تأخیر می اندازد. Olmedo Rube و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه خود روی بررسی اثر آنتی اکسیدانی اسانس Aguaribayو Cedron، بر بادام زمینی بو داده نمکی نتیجه گرفتند که اندیس پرواکسید، اندیس آنیزیدین و دی ان کنژوگه در طول نگهداری در در نمونه حاوی اسانس کمتر بود. اسانس با جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدی و توسعه طعم تندی، پایداری این محصول را بهبود بخشیده و اثر محافظتی در برابر اکسیداسیون لیپیدی در بادام زمینی بو داده نمکی نشان دادند.

تفاوت معنی‌دار اندیس توتوکس در نمونه‌های حاوی عصاره اتانولی نسبت به نمونه‌های تیمار شده با آنتی اکسیدان سنتزی و سایر حلال‌ها حاکی از اثرات ترکیبات آنتی اکسیدانی در ممانعت از فساد اکسیداتیو روغن و کاهش اکسایش و تولید محصولات ثانویه بوده است. با افزایش غلظت عصاره اتانولی رزماری فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافته و اندیس پراکسید، TBA و پارا آنیزیدین کاهش می‌یابد. در مجموع، کارایی عصاره‌ها در تمامی غلظت‌های اسید کارنوزیک بیشتر از BHA، BHT و کمتر از TBHQ عنوان شد (Yang *et al*., 2016).

نتایج به دست آمده نشان داد که بهترین نمونه‌ها در هر دو روش با حلال اتانول مشاهده شد و تنها عامل تاثیر گذار در این نتیجه کارایی امواج فراصوت در استخراج بهتر ترکیبات فنلی و افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره مورد نظر بوده است.

– شاخص پایداری اکسایشی (OSI)

شاخص پایداری اکسایشی عبارت است از مدت زمان لازم جهت گسترش تندی قابل اندازه‌گیری در روغن‌ها وچربی‌ها که می تواند به عنوان معیاری جهت مقایسه فساد روغن‌ها مورد استفاده قرار گیرد. به عبارت دیگر، پایداری اکسایشی عبارت از مدت زمان لازم برای رسیدن به نقطه‌ای است که در آن یکی از کمیت‌های اکسایشی مانند عدد پراکسید یا عدد کربونیل پس از طی نمودن روند افزایشی خود، به طور ناگهانی افزایش می‌یابد. آزمون‌های تسریع شده بررسی پایداری اکسایشی، سرعت فرآیندهای اکسایشی طبیعی را افزایش می‌دهند و ابزار کنترل کیفی مهمی برای تعیین عمر انباری محصول می‌باشند. Mohamadi و همکاران در سال (۲۰۱۴) عصاره متانولی بادرنجبویه را در پایداری اکسایشی روغن سویا موثر اعلام کردند. مطالعه‌ای در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست و دانه انگور، توسط Emad در سال (۲۰۰۶)، در روغن آفتابگردان انجام گرفت و نتایج نشان‌گر فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر عصار ه پوست، به علت وجود ترکیبات فنولی بیشتر در آن بود. به عبارت دیگر اثرات آنتی اکسیدانی در عصاره دانه بیشتر دیده شد. در تحقیقات مشابهی Tahami و همکاران (۲۰۱۲) اثر آنتی اکسیدانی عصاره دانه رازیانه بر پایداری روغن آفتابگردان را بررسی کردند و مشاهده کردند که غلظت‌های ppm ۳۰۰ و ppm ۲۵۰ عصاره رازیانه نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و BHA مقاومت بالاتری را در برابر اکسیداسیون نشان می‌دهند در حالی که غلظت‌های ppm ۲۰۰ و ppm ۱۵۰ موثر نبودند.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش عصاره پوست میوه بالنگ با استفاده از دو روش ماسراسیون و با کمک فراصوت استخراج شد. مقدار ترکیبات فنولی در عصاره استخراج شده به روش فراصوت بالاتر از روش ماسراسیون بود. با افزایش غلظت عصاره، میزان مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره، افزایش یافت. بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به عصاره استخراج شده با روش فراصوت بود. یک رابطه مثبت منطقی بین میزان ترکیبات موثره در عصاره و خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره مشاهده شد. عصاره‌های استخراج شده در جلوگیری از اکسایش روغن موثر بودند. در مجموع نتایج این بررسی پیشنهاد می‌کند که عصاره پوست میوه بالنگ می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی اکسیدان سنتزی در روغن‌های سرخ کردنی باشد و در کارخانجات تولید روغن می‌تواند مورد استفاده قرار بگیرد و چنانچه در رستوران‌ها و کارگاه‌هایی که فرآیند سرخ کردن مواد غذایی را انجام می‌دهند به روغن افزوده شود، علاوه بر اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌تواند تاثیر مطلوبی نیز بر طعم ماده غذایی بگذارد.

منابع

Abootalebian, M., Keramat, J., Kadivar, M., Ahmadi, F. & Abdinian, M. (2016). Comparison of total phenolic and antioxidant activity of different Mentha spicata and M. longifolia accessions. Annals of Agricultural Sciences, 61 (2), 175-179.

Abozed, S. S., El-kalyoubi, M., Abdelrashid, A. & Salama Manal, F. (2014). Total phenolic contents and antioxidant activities of various solvent extracts from whole wheat and bran. Annals of Agricultural Science, 59 (1), 63-67.

Albu, S., Jaico, E., Paniwnyk, L., Lorimer, J. P. & Mason, T. (2004). Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from Rosmarinus officinalis for the food and(Tropaeolum tuberosum Ruız & Pavon) tubers. Separation and Purification Technology, 55, 217–225.

pharmaceutical industry. Ultrasonics Sonochemistry, 911, 261-265.

Anon. (2005). Official methods and recommended practices. American Oil Chemists-Society, Champaign.

Anon. (2005). Official Methods of Analyses, 14 Ed; Association of official Analytical Chemists: Washington, DC, USA.

Anwar, F., Manzoor, M. & Bajwa, J. R. (2004). Antioxidant activity of solvent extracts of strawberry (F. ananassa) using various antioxidant assays. Pakistan Journal of Analytical and Environmental Chemistry, 5, 28–37.

Atashi, S., Nazari, Z., Moosavi Zadeh, S, J., Akbar Poor, V. & Mashayekhi, K. (2010). Investigation of changes in phenolic and flavonoid compounds in the pulp, mesocarp and orange peel of Parson Brown and March on several different stands. National Conference on Medicinal Plants. Rice and Citrus Research Institute, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources. [In Persian].

Ayoughi, F., Barzegar, M., Sahari, M. & Naghdi Badim H. (2009). Antioxidant Effect of Dill (Anethum graveolens Boiss.) Oil in Crude Soybean Oil and Comparison with Chemical Antioxidants. Journal of Medicient Plants, 8 (30), 71-83. [In Persian].

Azizkhani, M. & Ataee, M. (2012). Antibacterial and antioxidant effects of the essential oil and extractfrom Mentha longifolia Hudson from north of Iran. Journal of Food Research, 22 (1), 22-29.

Badifu, G. I. O. (1991). Unsaponifiable matter in oils from some species of Cucurbitaceae. Journal of food composition and analysis, 4, 360-365.

Boonkird, S. Phisalaphong, C. & Phisalaphong, M. (2008). Ultrasound- assisted extraction of capsaicinoids from Capsicum Frutescens on a lab and pilot-plant scale. Ultrasonics Sonochemistry, 15, 1075-1079.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology, 28, 25-30.

Cappello, M., Calvareno, A., Giacomo, D. & Gioffre, D. (1982). Volatile constituents of the fruit peel of Citrus medica (L.). Journal of Essential Oil Bearing Plants, 6, 130-134.

Charles, J. D. (2013). Antioxidant properties of spices, herbs and other sources. Springer, New York, 204-208.

Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R. & Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua

Dalia, A. A. (2014). preparation and characterize of pectin from peel of kabad (Citrus medica) Fruit in sulaimani city, Iraqi Kurdistan Region. International journal of current Research in chemistry and pharma ceutical Sciences, 142-146.

Dieffenbacher, A. & Pocklington, W. D. (1987). Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives. International Union of Pure and Applied Chemistry. Oxford: Blackw.

Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. F. & Nabavi, S. M. (2009). Antioxidant activity of leaves and inflorescence of Eryngium Caucasicum Trautv at flowering stage. Pharmacognocy Research, 1 (6), 435-439.

Emad. S. (2006). Antioxidant effect of extracts from red grape seed and peel on lipid oxidation in oils of sunflower. Food Science and Technology, 39, 883- 892.

Erkan, N., Ayranci, G. & Ayranci, E. (2012). Lipid oxidation inhibiting capacities of blackseed essential oil and rosemary extract. European Journal of Lipid Science and Technology, 114 (2), 175-184.

Farhoosh, R. (2007). The effect of operational parameters of the rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf life of soybean oil. Journal of the American Oil Chemists' Society, 84, 205-209.

Fereidooni Noori, T., Fahim Danesh, M. & Sahari, M. A. (2015). Investigation extraction of rosemary leaves the phenolic compounds by ultrasonic technique and its effect on organoleptic properties, physicochemical and stability of virgin olive oil. Food Science and Technology, 13 (53), 113-125. [In Persian].

Fleisher, Z. & Fleisher, A. (1991). The essential oils of etrog (C. medica L. var. ethrog). Journal of Essential Oil Research, 3, 377-379.

Ghafoor, K., & Choli, H. (2009). Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compound and antioxidant fram grape peel through response surface methodology. journal of the Koran Society for Applied Bilogical chemistry, 52 (3), 295-300

Goli, A. H., Barzegar, M. & Sahari, M. A. (2005). Antioxidant activity and total hydroxyanisole and butylated Hydroxytoluene. Journal of the American Oil Chemists' Society, 52, 59.

Haumann, M., & Junge, W. (1994). Extent and rate of proton release by photosynthetic wateroxidation in thylakoids: Electrostatic relaxation versus chemical production. Biochemistry, 33, 864- 872.

Herreroa, M., Mendiolaa, b., Jose, A., Cifuentesa, A., & neza, E. I. (2010). Supercritical

fluid extraction: Recent advances and applications. Journal of Chromatography A, 1217 (16), 2495-2511.

Hismath, W. A. (2011). Optimization of extraction conditions for phenolic compounds from neem (Azadirachta indica) leaves. International Food Research Journal, 18 (3), 931-939.

Hooshmand, M. & Mahdian, A. (2014). Optimization of extraction of fungal antioxidant compounds by ultrasound by response surface method and its comparison with flood method. The Second National Conference on Agriculture and Sustainable Natural Resources. Tehran, Mehr Arvand Higher Education Institute. Environmentalists Extension Group and Iranian Nature Conservation Association. [In Persian].

Hute, H. (1986). Components in the peel oil of Citrus medica (L.). Flavour and Fragrance Journal, 41, 113-119.

Iranian National Standards Organization. (2016). Vegetable and animal oils and fats-Measurement of oxidative stability (accelerated method)- Test method. Standard No. 3734. Second revision. [In Persian].

Ishtiaq, F., Farooq, R., Farooq, A., Siddique, M., Shah, H., Hassan, M. U., & Shaheen, M. A. (2009). Application of ultrasound in pharmaceutics world. Appied. Science Journal, 6, 886-893.

Ismael Zadeh Kenari, R. & Mehdi Poor, S. Z. (2012). Antioxidant effect of methanolic extract of kiwi peel on the stabilization of sunflower oil. Iranian Journal of Food Science and Technology Research, 8 (2), 250-245. [In Persian].

Kaviani, M., Niazmand, R. & Shahidi Noghabi, M. (2013). Discarding time evaluation of canola oil based on oxidation indexes during potato deep frying. Research and Innovation in Food Science and Technology, 2 (1), 37-50. [In Persian].

Lota, M. (1999). Chemical composition of peel and leaf essential oils of Citrus medica L. and Citrus Limonimedica Lush. Flavour and Fragrance Journal, 14, 161-166.

Mallet, J. F., Cerrati, C., Ucciani, E., Gamisons, J., & Gruber, M. (1994). Antioxidant activity of plant leaves in relation to their alpha-tocopherol content. Food Chemistry, 49, 61-65.

Madani Poor, M. & Sharifi, A. (2018). Investigation of chemical compounds and antioxidant activity of leaf extract, Journal of Innovation in Food Science and Technology, 10 (1), 109-119. [In Persian].

Matthaus, B. 2006. Utilization of high oleic rapeseed oil for deep fat frying of French fries compared to other commonly used edible oils. European Journal of Lipid Science and Technology,108 (3), 200-211.

McDonald, S., Prenzler, P. D., Autolovich, M., & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry, 73, 73-84.

Medini, F., Fellah, H., Ksouri, R. & Abdelly, C. (2014). Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant andantimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant Limonium delicatulum. Journal of Taibah University for Science, 8, 216-224.

Mohamadi, S., Kiarostami, K. & Nazem Bokaii, Z. (2014). The Study of antioxidant property of metanolic extracts of Melissa officinalis L. and Salvia officinalis L. on stability of soybean oil. Journal of agroalimentary Processing Technology, 20 (4), 293-297.

MohdNor, F., Mohamed, S., Idris, N. A. & Ismail, R. (2008). Antioxidative properties of Pandanus amaryllifolius leaf extracts in accelerated oxidation and deep frying studies. Food Chemistry, 110, 319-327.

Morella, L. & Prado, M.A. (2012). Extraction optimization for antioxidant phenolic compounds in red grape jam using ultrasound with a response surface methodology. Ultrasonics Sonochemistry, 19, 1144-1149.

Nichols, D. S. & Sanderson, K. (2003). The nomenclature, structure, and properties of Food Lipids. In: Chemical and Functional Properties of Food Lipids, compounds on soybean oil, pomegranate seed. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 14 (4), 50-56.

Njoroge, S. M. & Sawamora, M. (2005). The Volatile ethrog. Journal Agricultural Food Chemistery, 15, 240-244.

Olmedo Rube´n, H., Nepote, V. & Grosso, N. R. (2012). Aguaribay and cedron essential oils as natural antioxidants in oil-roasted and salted peanuts. Journal of American Oil Chemists Society, 89, 2195-2205.

Poiana, M., Sicari, V. & Minicone, B. (1998). A comparison between the chemical composition of the oil, solvent extract and supercritical carbon dioxide extract of C. medica. cv. diamante. Journal of Essential Oil Research, 10, 145-152.

Rafiei, Z., Jafari, S. M., Alami, M. & KHomeiri, M. (2011). Antioxidant properties of olive leaf extract and its application in sunflower oil. Journal of Food Industry Research, 21 (1), 11-24. [In Persian].

Rodriguez-Bernaldo de Quiros, A., Lage-Yusty, M. A. & Lopez-Hernandez, J. (2010). Determination of phenolic compounds in macroalgae for human consumption. Food Chemistry, 121, 634-638.

Romas, M. A., Sanchez-Lopez, R., Olvera, F. & Alagón A. (2002). Entamoeba histolytica genomic organization: identification, structure, and phylogenetic relationship of two serine-threonine protein kinases. Experimental Parasitology, 100 (2),135-139.

Rostagno, A., Palma, M. & Barroso, C. (2003). Ultrasound assisted extraction of soy isoflavones. Journal of Chromatography A, 1012, 119-128

Sharifi, M. R. & Sharifi, A. (2013). Optimize the extraction efficiency and anthocyanins extracted from (Crataegus elbursensis) by ultrasound technology to help response surface methodology. Journal of Innovation in Food Science and Technology, 68-74.

Shiato, H. (1990). Volatile components in the peel oil from fingered citron (C. medica. L. var. sarcodactylis). Flavour and Fragrance Journal, 5, 33-37.

Shotipruk, A., Kaufman, P. B. & Wang, H. Y. (2001). Feasibility study of repeated harvesting of menthol from biologically viable Mentha x piperata using ultrasonic extraction. Biotechnol Prog, 17, 924-928.

Shukla, Sh., Mehta, A., Bajpai, V. K. & Shukla, S. (2009). In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of Stevia rebaudiana Bert.Food Chemical Toxicol, 47, 2338- 2343.

Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L. & Zhang, Y. (2011). Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (Diospyros kaki L.) leaves. Food and Chemical Toxicology, 49, 2696 2689.

Suzuki, M., Watanabe, T., Miura, A., Harashima, E., Nakagawa, Y. and Tsuji, K. (2002). An extraction solvent optimum for analyzing polyphenol contents by Folin-Denis assay. Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi, 49, 507-511.

Tahami, F. A., Basiri, A. R., Ghiyasi Tarzi, B. & Mahasti, P. (2012). Evaluation of the antioxidant effect of fennel seed extract (Foeniculum vulgare) on the stability of sunflower oil. Journal of Food Science and Nutrition, 10 (1), 78-71. [In Persian].

Tanaka, T. (2002). The volatile components in the peel oil of Citrus medica (L.). Perfumer and Flavourist, 2, 36-41.

Thabti, I., Elfalleh, W., Hannachi, H., Ferchichi, A. & Da GraçaCampos, M. (2012). Identification and quantification of phenolic acids and flavonol glycosides in Tunisian Morus species by HPLC-DAD and HPLC-MS. Journal of Functional Foods, 4 (1), 367-374.

Tvasoli, S. (2009). The investigation of antioxidant and antimicrobial activities of Rosmarinus officinalis L. essential oil in lemon beverage. Master Thesis. Faculty of Food Industry, University of Tehran. [In Persian].

Vázquez, G., Fernández – Agullo, A., Gomez- Castro, C., Freire, M.S., Antorrena, G. & González- Alvarez, J. (2012). Response surface optimization of antioxidants extraction from chesnut bur. Industrial Crops and Products, 35, 126-134.

Vojoodi, L., Hajiloo, J., Movafeghi, A., Delazar, A. Dad Poor, M. R. (2010). Identification of Polyphenolic and Flavonoid Compounds in 'Zonouz' and 'Gala' Apple Fruits by Means of High-Performance Liquid Chromatography. Food industry research, 3 (22), 1-12. [In Persian].

Wang, J., Sun، B., Cao، Y., Tian, Y. & Li, X., (2008). Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. Food Chemistry، 106, 804-810.

Wen, M., Hung, Y., Xiato, S., Ren, W., Zaho, H. & Yiang, S. (1986). Chemical components of the essential oil from peel of Citrus medica var. muliensis. Journal of Acta Botany Sinica, 28, 511- 516.

Yang, Y. Song, X. Sui, X. Qi, B. Wang, Z. Li, Y. & Jiang, L. (2016). Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. Industrial Crops and Products, 80, 141-147

Zaspé, E. & Fernández, K. (2011). The effect of different extraction techniques on extracion yield, total phenolic, and anti-radical capacity of extracts from Pinus radiata Bark. Industrial Crops and Products, 34, 838-844.

Food Technology & Nutrition / Spring 2022 / Vol. 19 / No.2

Evaluation of Citron Peel (*Citrus medica* L.) Extract and Essential Oil on the Stability of Sunflower Oil

S. Okhli [a], H. Mirzaei [b*], S. E. Hosseini [c]

[a] PhD Student of the Department of Food Science and Technology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

[b] Associate Professor of the Deaprtment of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

[c] Associate Professor of the Deaprtment of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 21 December 2020 Accepted: 28 October 2021

Abstract

Introduction: Due to the unfavorable effects of synthetic antioxidants, the use of various sources of plant antioxidants to retard or prevent oxidation of foods, especially oil-based or fat-based varieties, has today received considerable attention.

Materials and Methods: Inorder to extract the essential oil, water distillation method was applied and the extract of citron peel was obtained by ultrasound and maceration methods by using ethanol, methanol and water as solvents. Total phenolic compounds of the extracts and their antioxidant activities were measured. The chemical compounds in the extract and essential oil were identified by gas chromatography. Finally, the antioxidant effect on the stability of sunflower oil was investigated. The stability of oil to oxidation during storage for 5 days at 65 ° C was assessed using peroxide, anisidine, thiobarbituric acid, Tutox values and oxidative stability index.

Results: The most amounts of phenolic compounds and antioxidant activity was absorved in ultrasonic-assisted ethanolic extract at 30 min. The extract concentration at 800 ppm was more effective to radical scavenging than the other concentrations. The major compounds of citron peel extract were nomilin and hesperidin. The results showed that the peroxide, anisidine, and totox value had an increasing trend over time. Ultrasonic-assisted ethanolic extract at 30 min showed the highest OSI.

Conclusion: The results of this study demonstrate the beneficial effects of the essential oil and extract from citron peel on sunflower oil stability and its superiority over synthetic antioxidants.

Keywords: *Antioxidant, Citron peel, Extraction, Essential oil, Sunflower oil, Thermal stability.*

علوم غذایی و تغذیه / بهار ۱۴۰۱ / سال نوزدهم / شماره ۲

* Corresponding Author: habibollah.20200@gmail.com