

# ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره بادیان رومی (*Pimpinella anisum*) در سیستم های روغنی و امولسیون

مهدی سعیدی فر<sup>۱\*</sup>، امیر حسین الهامی راد<sup>۱</sup>، محمد حسین حداد خداپرست<sup>۲</sup>، هاشم اخلاقی<sup>۳</sup>

- ۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران
- ۲- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
- ۳- گروه شیمی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۹/۰۹

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۲/۰۱

## چکیده

این تحقیق با هدف ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و حمله عصاره اتانولی بادیان رومی و بررسی عملکرد آن در سیستم های روغنی و امولسیون، به اجرا درآمد. فعالیت آنتی اکسیدانی با اندازه گیری مقدار ترکیبات فنلی عصاره اتانولی و آزمون فعالیت گیرندگی رادیکال DPPH ارزیابی شد. همچنین بررسی خواص حمله با استفاده از آزمون رنسیمت و عملکرد آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی در سیستم های روغنی و امولسیون، با استفاده از آزمون گرمخانه گذاری و با بررسی تغییرات عدد پراکسید و شاخص تیوباریتوریک اسید نمونه ها، انجام پذیرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که عصاره اتانولی بادیان رومی دارای قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد و دارای خواص حمله نسبتا خوبی می باشد. در شرایط حاکم در آزمون گرمخانه گذاری، غلظت های عصاره اتانولی به کار گرفته شده در نمونه های روغنی و امولسیون، به طور معنی داری پایداری اکسایشی روغن سویا را نسبت به نمونه شاهد، افزایش دادند. ترکیبات آنتی اکسیدانی بادیان رومی در سیستم روغنی عملکرد بهتری نسبت به سیستم امولسیون داشتند و بر این اساس نتیجه گیری شد که این ترکیبات به طور نسبی ترکیبات قطبی و آب دوست می باشند.

**واژه های کلیدی:** امولسیون، بادیان رومی، خاصیت آنتی اکسیدانی، رنسیمت.

## ۱- مقدمه:

اکسایش چربی‌ها و روغن‌ها در غذاها می‌تواند منجر به توسعه فاکتورهای ضدتغذیه‌ای و عطر و طعم نامطلوب در غذاها بشود (۲) و به علاوه ممکن است در اثر ایجاد مواد مضر و نامطلوب در اثر اکسایش چربی‌ها و روغن‌ها (۳)، سلامت انسان به خطر بیفتد. از آنجایی که چربی‌ها و روغن‌ها از نظر تغذیه‌ای و انرژی‌زایی، جایگاه ویژه‌ای در رژیم غذایی دارند، دانش کنترل اکسایش چربی‌ها و روغن‌ها، پایه‌ای برای محافظت کیفیت حسی و تغذیه‌ای غذا محسوب می‌شود و از این رو می‌توان گفت توانایی محدود کردن یا به تاخیر انداختن شروع اکسایش چربی‌ها و روغن‌ها، در صنعت غذا می‌تواند حائز اهمیت باشد. یکی از موثرترین و رایج‌ترین راه‌های کاهش اکسایش چربی‌ها و روغن‌ها استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها است. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها، هدر رفت مواد مغذی را کاهش می‌دهد و دامنه استفاده چربی‌ها را گسترش می‌دهد تا این که بتواند در محصولات خاص استفاده بشوند و بدین ترتیب، می‌توان گفت آنتی‌اکسیدان‌ها، مواد افزودنی مفیدی هستند که به تولید کنندگان غذا این مجال را می‌دهند تا چربی‌ها و روغن‌ها را به طور تجاری در فرمولاسیون محصولاتشان به کار برند (۴). آنتی‌اکسیدان‌هایی که عموماً در غذاها استفاده می‌شوند، سنتزی (مولکول‌های تهیه شده به صورت شیمیایی) و یا طبیعی (منشا گرفته از مواد غذایی) هستند. آنتی‌اکسیدان سنتزی عمدتاً شامل هیدروکسی‌تولون بوتیل (BHT)، هیدروکسی‌آیزول بوتیل (BHA)، پروپیل گالات (PG) و ترسیوبوتیل هیدروکینون (TBHQ) می‌باشند که به طور گسترده در فرآورده‌های غذایی استفاده می‌شوند و از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌توان به اسید اسکوربیک و استرها و نمک‌های آن، کاروتنوئیدها، توکوفرول‌ها، توکوتری‌ال‌ها، لیگنان‌ها، استرول‌ها، فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی اشاره کرد. نگرانی ناشی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به لحاظ مسایل مربوط به سلامت و ایمنی و نیز محدودیت مصرف در حدود مجاز، مصرف کنندگان مواد غذایی را به استفاده از فرآورده‌های طبیعی در مواد غذایی ترغیب نموده است (۵). اخیراً

تایید شده است که تاثیر مفید بسیاری از خوراکی‌ها و نوشیدنی‌ها شامل میوه‌ها، سبزی‌ها، چای، قهوه و کاکائو روی بدن انسان از فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها منشا می‌گیرد (۶). در کنار چای، روغن‌ها، دانه‌ها، غلات، میوه‌ها و سبزی‌ها و بعضی مواد دیگر، ادویه‌ها و گیاهان معطر نیز از منابع اصلی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌آیند.

بادیان رومی، از تیره چتریان، یک گیاه معطر یکساله و گیاهی علفی با گل‌های سفید و دانه‌های سبز متمایل به زرد است که در ایران، ترکیه، هند، مصر و بسیاری دیگر از نواحی گرم جهان یافت می‌شود (۷). بادیان رومی اساساً به خاطر میوه‌هایش که در تجارت به آن‌ها دانه بادیان رومی گفته می‌شود، کشت می‌شود. به بادیان رومی، آنیسون، رازیانه رومی و در زبان محلی (سبزوار) به آن شیرین بادیان هم گفته می‌شود. از این گیاه در صنایع غذایی به عنوان طعم دهنده و معطرکننده استفاده می‌شود (۸) و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آن توسط مقالات متعددی به اثبات رسیده است.

نیک‌آور و همکاران (۹)، فعالیت‌گیرندگی رادیکال آزاد هفت دانه از خانواده چتریان از جمله آنیسون را با روش DPPH ارزیابی کردند. مقدار کل فلاونوئید در عصاره‌ها به وسیله روش آلومنیوم کلرید ( $AlCl_3$ ) تعیین و بر حسب فلاونوئید روتین<sup>۱</sup> گزارش شدند. نتایج نشان داد که همه عصاره‌ها دارای فعالیت ربایش‌گری رادیکال آزاد هستند. در این مطالعه بالاترین فعالیت ربایش‌گری به عصاره بادیان رومی نسبت داده شد. گولسین و همکاران (۸) خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی آنیسون را بررسی کردند. خواص آنتی‌اکسیدانی با استفاده از آزمون‌های مختلفی ارزیابی شد. فعالیت‌های گوناگون آنتی‌اکسیدانی با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند BHA، BHT و آلفا توکوفرول مقایسه شدند. عصاره آبی آنیسون توانایی آنتی‌اکسیدانی بزرگتری نسبت به عصاره اتانولی داشت. ال اسماعیل و همکاران (۱۰) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی دانه‌های آنیسون را بررسی

<sup>۱</sup> Rutin

## ۲- مواد و روش ها:

### ۲-۱- مواد شیمیایی:

دانه های بادیان رومی از مزارع واقع در سبزوار (داورزن) تهیه گردید و بعد از تمیز شدن تا حد ممکن، تا زمان عصاره گیری در فریزر در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. معرف DPPH (1-2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)، معرف فولین سیوکالچو، گالیک اسید، معرف تیوباریتوریک اسید، تری کلرواستیک، هیدروکسی تولون بوتیل (BHT)، آمونیوم تیوسیانات، پتاسیم هیدراکسید، سدیم کربنات، باریم کلرید دوآبه، آهن سولفات هفت آبه، پودر آهن، آهن II کلرید، آهن III کلرید، پلی اکسی اتیلن سوربیتان مونولورات (توین ۲۰)، از شرکت سیگما تهیه شدند. هیدرژن پراکسید، کلریدریک اسید، اتانول و کلیه حلال های مورد استفاده در آزمون های شیمیایی با درجه HPLC از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. روغن سویای تصفیه شده و بدون آنتی اکسیدان نیز از کارخانه سه گل نیشابور تهیه گردید.

### ۲-۲- روش ها:

#### ۲-۲-۱- روش استخراج:

دانه های بادیان رومی به وسیله یک خرد کن برقی به مدت ۲۰ ثانیه خرد و در مرحله بعد از درون الک دارای مش ۴۰ گذرانده شدند. برای عصاره گیری، از روش خیساندن همراه با همزدن استفاده شد و از امواج ماکروویو به عنوان روش کمکی استخراج استفاده شد، به طوری که سیستم استخراج به مدت طولانی در معرض حرارت قرار نمی گرفت (۱۲). در ابتدا ۱۰ گرم دانه خرد شده با اتانول خالص، به نسبت ۱ به ۱۰ در ظروف شیشه ای به قطر دهانه ۵ و ارتفاع ۱۰ سانتی متری، مخلوط و سپس ظروف در یک آون مایکروویو خانگی (فرکانس ۲۴۵۰MHz، مدل panasonic NN-S651WF) که در توان ۲۰۰ وات تنظیم شده بود، به مدت ۱۲۰ ثانیه در معرض امواج ماکروویو قرار می گرفتند و در ادامه به مدت ۸ ساعت روی یک همزن مغناطیسی، به صورت ملایم هم زده می شدند. بعد از پایان عصاره گیری، عصاره های به دست آمده با

کردند. در آن مطالعه عصاره ها فعالیت آنتی اکسیدانی چشمگیری در سیستم های مدل لینولئیک اسید و لیپوزوم داشتند. این نتیجه نشان داد که عصاره ها می توانند به عنوان آنتی اکسیدان در غذاهای دارای چربی استفاده شوند. توپال و همکاران (۱۱) ترکیب شیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس های روغنی نه گونه مختلف از جمله آنیسون را مطالعه کردند. اسانس های روغنی گونه ها به دو روش تقطیر بخاری و حلال دی اکسید کربن فوق بحرانی تهیه و به وسیله گاز کروماتوگرافی جرمی آنالیز شدند و فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها، با استفاده از آزمون DPPH آزمون شد. در این تحقیق، ترکیب اسانس های روغنی گونه های مختلف در دو روش متفاوت بود.

فعالیت آنتی اکسیدانی یک ترکیب، به میزان زیادی متاثر از سوبسترای لیپیدی استفاده شده برای ارزیابی آن ترکیب و همچنین طبیعت هیدروفیلیک/هیدروفوبیک آن ترکیب است. حلالیت و ویژگی های پخش شدن آنتی اکسیدان ها در محیط، فعالیت آن ها را در سیستم های لیپیدی توده ای، تحت تاثیر قرار می دهد. آنتی اکسیدان ها برای این که موثر باشند، باید در سیستم های روغنی توده ای، بین سطوح روغن- هوا و یا در سیستم های امولسیون بین سطوح روغن-آب پخش شوند. یک آنتی اکسیدان کارا باید تحت شرایط فرایند، مخصوصا در دماهای بالا پایدار باشد و دارای ویژگی حملی خوبی باشد (۴). از این رو مهم است که مخصوصا در ارزیابی ترکیبات طبیعی به عنوان آنتی اکسیدان، چندین روش را تحت شرایط گوناگون که شامل سیستم های چند فازی باشد، برای اندازه گیری محصولات مختلف اکسیداسیون استفاده کنیم. این تحقیق با هدف ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و حملی عصاره اتانولی بادیان رومی و بررسی عملکرد آن در سیستم های روغنی و امولسیونی، به اجرا درآمد.

## ۲-۲-۳- اندازه گیری مقدار ترکیبات فنلی عصاره

### اتانولی:

مقدار ۳ میلی گرم عصاره در متانول حل شد و ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین سیو کالچو به آن اضافه گردید و در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری به حجم رسید. پس از اختلاط، مخلوط به مدت سه دقیقه در حالت سکون قرار داده شد تا واکنش صورت پذیرد. در ادامه ۵ میلی لیتر سدیم کربنات ۷/۵ درصد به فاز آبی اضافه و بعد از یک دقیقه با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد. نمونه در طول شب نگهداری و سپس جذب آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون از محلول های استاندارد اسید گالیک در متانول با غلظت های مختلف استفاده و منحنی میزان جذب در برابر غلظت اسید گالیک (میلی گرم به میلی لیتر) رسم شد. مقدار ترکیبات فنلی بر حسب میلی گرم در گرم عصاره بر طبق رابطه ۲ محاسبه گردید. آزمایشات در سه تکرار انجام شد.

$$P = \frac{Y}{W} \times 1000$$

که  $Y$  مقدار ترکیبات فنلی نمونه بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر و  $W$  وزن نمونه عصاره است (۱۴).

## ۲-۲-۴- آزمون رنسیمت

به منظور اندازه گیری این شاخص، از دستگاه رنسیمت مدل ۷۴۳ ساخت شرکت Metrohm Ltd. Herisau, (Switzerland) استفاده شد. جریانی از هوای خشک و تمیز با سرعت ۲۰ لیتر بر ساعت به درون ظروف حاوی ۳ گرم نمونه روغن حاوی مقادیر مختلف عصاره (۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۶۰۰، ۲۰۰۰ پی پی ام) و شاهد دمیده شد و هوای حامل ترکیبات فرار ناشی از اکسایش نمونه به ظرف اندازه گیری هدایت الکتریکی (حاوی ۶۰ میلی لیتر آب دیونیزه) هدایت گردید. شاخص پایداری به صورت خودکار در دمای ۱۱۰ سانتی گراد اندازه گیری شد (۱۵).

کاغذ صافی واتمن شماره یک و تحت خلا فیلتر شدند. مخلوط عصاره و حلال توسط تبخیرکننده دوار مدل laborota4001-efficient (Germany)، در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و تحت خلاء تغلیظ و در ادامه حلال باقیمانده در عصاره، توسط آون تحت خلا مدل memmert Vo200 (Germany)، در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد گرفته شد. عصاره گیری برای هر تیمار در سه تکرار انجام شد و عصاره های خشک شده در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد در فریزر نگهداری شدند (۱۲).

## ۲-۲-۲- آزمون فعالیت رادیکال DPPH:

محلول ۰/۰۰۶ درصد رادیکال آزاد DPPH در متانول تهیه گردید. سپس به لوله های حامل یک میلی لیتر عصاره با غلظت های مختلف، یک میلی لیتر از محلول DPPH اضافه شد. لوله های آزمایش بعد از ورتکس شدن به مدت ۱۵ ثانیه، به مدت یک ساعت در جای تاریک نگهداری شدند و سپس جذب آن ها در طول موج ۵۱۲ نانومتر توسط اسپکتوفتومتر uv-vis مدل England T70+ اندازه گیری شد. درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد بر حسب رابطه ۱ محاسبه شد:

$$\%A = \frac{Ac-As}{Ac} \times 100$$

$\%A$  درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH و  $Ac$  و  $As$  به ترتیب جذب نمونه شاهد و جذب نمونه ها با غلظت های مختلف هستند. پس از ترسیم نمودار درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد در برابر غلظت ترکیب آنتی اکسیدانی، منحنی مناسب روی داده ها برازش شد و سپس غلظتی که در آن ترکیب آنتی اکسیدانی، قادر به مهار کردن ۵۰ درصد رادیکال های آزاد بود، تحت عنوان  $IC_{50}$  گزارش شد (۱۳). محاسبات برای هر تیمار در سه تکرار انجام شد.

ها پس از ۵ روز گرمخانه گذاری در ۱۰۰۰، به عنوان شاخص پایداری در نظر گرفته شد.

### ۲-۲-۷- آنالیز آماری:

میانگین ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار MStatC و بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ( $p < 0.05$ ) مقایسه شدند. نمودارها با نرم افزار Microsoft Excel ترسیم گردیدند.

### ۳- بحث و نتایج:

#### ۳-۱- میزان ترکیبات فنلی عصاره اتانولی و قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH

ترکیبات فنلی با دارا بودن گروه های هیدروکسیلی، در ربایش رادیکال توانا هستند، به همین دلیل، جزء ترکیبات پراهمیت گیاهی محسوب می شوند (۱۸). آن ها فعالیت های بیولوژیکی مهمی در موجودات دارند و ممکن است حائز آثار سودمندی در مبارزه با بیماری های مرتبط با تولید رادیکال اکسیژن با غلظت های بیش از ظرفیت دفاع آنتی اکسیدانی بدن انسان باشند (۱۹).

میزان ترکیبات فنلی عصاره اتانولی ۹۷/۶ میلی گرم بر گرم عصاره بر حسب اسید گالیک برآورد شد. گولسین و همکاران (۸) میزان ترکیبات فنلی عصاره اتانولی بادیان رومی را ۷۷/۵ میکروگرم بر میلی گرم عصاره بر حسب اسید گالیک گزارش کردند که این تفاوت ها در مقادیر گزارش شده، احتمالاً به دلیل تفاوت در شرایط اقلیمی کاشت، برداشت و انبارداری (۲۰) و شرایط حاکم بر استخراج عصاره ها بوده است. عصاره اتانولی بادیان رومی در غلظت های آزمایش شده دارای قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH بود و  $IC_{50}$  برابر ۲۲۸/۹ میکروگرم بر میلی لیتر برای آن برآورد شد

#### ۳-۲- آزمون رنسیمت:

ترکیباتی با خواص حمله خوب شناخته می شوند که در برابر تجزیه حرارتی مقاوم و دچار افت مقدار در اثر تبخیر نشوند و نیز ویژگی های موثرشان را در شرایط دشوار آزمون رنسیمت حفظ کنند (۲۱). برای ارزیابی خواص

#### ۲-۲-۵- تهیه امولسیون ۵۰ درصد:

برای تهیه امولسیون ۵۰ درصد، در مرحله اول مخلوطی از روغن تصفیه شده حاوی درصدهای مورد نظر از عصاره اتانولی، BHT، توین ۲۰ و آب مقطر به نسبت ۴۹، ۲، ۴۹ و (وزنی/وزنی/وزنی) همگن شدند و سپس با استفاده از دستگاه فراصوت (فرکانس ۲۴ KHz، مدل Germany, Dr. hielscherup200H)، در دمای ۴ درجه سانتیگراد و با حداکثر قدرت دستگاه به مدت ۳ دقیقه سیستم امولسیونی را شکل دادند. نمونه امولسیونی شاهد نیز که حاوی هیچ ترکیب افزودنی نبود به همین طریق تهیه شد (۱).

#### ۲-۲-۶- آزمون گرمخانه گذاری:

۲۰ گرم نمونه های روغن سویا و امولسیون آن ها محتوی ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی و BHT (۱۰۰ پی پی ام) و نمونه شاهد، در ظروفی به قطر ۵۰ میلی متر و ارتفاع ۱۰۰ میلی متر تهیه و در آون در دمای  $1 \pm 60$  درجه سانتی گراد قرار داده شدند. روزانه مقادیر مورد نیاز از نمونه های روغن یا نمونه های امولسیونی از ظروف برداشته و عدد پراکسید و شاخص تیوباربتوریک اسید آن ها اندازه گیری می شد. عدد پراکسید بر مبنای روش شرح داده شده توسط شانتا و دکر (۱۶) و شاخص تیوباربتوریک اسید بر مبنای روش شرح داده شده توسط مکدونالد و هولتین (۱۷) اندازه گیری شدند.

برای مقایسه تیمارها از نظر پایداری در برابر اکسیداسیون از رابطه ۳ استفاده شد.

رابطه ۳:

$$SI_{X100} = \frac{1000}{X_{samtn}/X_{samt0}}$$

که در اینجا  $X_{samt0}$  مقدار عدد پراکسید یا شاخص تیوباربتوریک نمونه در زمان شروع گرمخانه گذاری ،  $X_{samtn}$  ، عدد پراکسید یا شاخص تیوباربتوریک نمونه پس از زمان معین و  $SI_{X100}$  ، شاخص پایداری نمونه در برابر اکسیداسیون است. در واقع حاصل ضرب عکس نسبت افزایش مقدار عدد پراکسید یا شاخص تیوباربتوریک نمونه

کاهش ثبات اکسایشی روغن سویا گردید که البته از نظر آماری معنی دار نبود که این می تواند به دلیل افزایش غلظت ترکیبات پراکسیدان در عصاره باشد. نمونه هایی که دارای بیشترین پایداری اکسایشی با فاکتور حمایتی بیشتر از ۱ هستند، در برابر اتواکسیداسیون لیپیدی دارای بیشترین اثر حفاظتی می باشند. بنابراین، بیشترین پایداری اکسایشی، در غلظت ۱۶۰۰ پی پی ام با شاخص پایداری ۷/۹۸ و فاکتور حمایتی ۱/۲۷ به دست آمد.

حملی عصاره اتانولی، از روغن سویای بدون آنتی اکسیدان سنتزی و دارای عدد اسیدی ۰/۵۷ میلی گرم بر گرم و عدد پراکسید کمتر از ۱/۱ میلی اکی والان گرم بر کیلوگرم روغن استفاده شد. همان طور که در جدول ۱ مشاهده می شود، در تمام غلظت ها، پایداری اکسایشی روغن ها نسبت به نمونه شاهد به طور معنی دار افزایش یافت، ولی نسبت به نمونه حاوی BHT، تنها در غلظت های بالاتر از ۸۰۰ پی پی ام، افزایش معنی دار پایداری اکسایشی روغن ها مشاهده شد. افزایش غلظت از ۱۶۰۰ به ۲۰۰۰ پی پی ام موجب

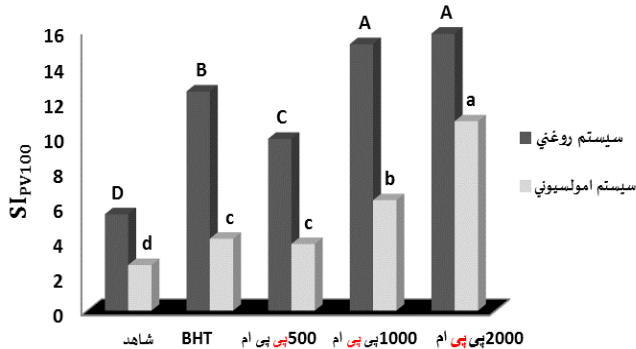
جدول ۱: شاخص پایداری (OSI, h) و فاکتور حمایتی (PF) نمونه های روغنی حاوی غلظت های مختلف عصاره اتانولی بادیان

رومی.

فاکتور حمایتی	شاخص پایداری اکسایشی (OSI)	غلظت (پی پی ام)
۱	۶/۲۸ E	۰ (شاهد)
۱/۱۸	۷/۴۲ C	۱۰۰ (BHT)
۱/۱۷	۷/۳۸ D	۲۰۰
۱/۲۰	۷/۵۴ C	۴۰۰
۱/۲۵	۷/۸۸ B	۸۰۰
۱/۲۷	۷/۹۸ A	۱۶۰۰
۱/۲۶	۷/۹۲ AB	۲۰۰۰

میانگین ها با حروف مشابه در هر ستون، در سطح پنج درصد ( $p < 0/05$ ) اختلاف معنی داری ندارند.

غلظت ۵۰۰ پی پی ام (SI<sub>PV100</sub>=۳/۸) و BHT (۴/۱) در تشکیل هیدروپراکسیدها، اختلاف معنی داری مشاهده نشد. نمونه امولسیون حاوی ۲۰۰۰ پی پی ام (۱۰/۸) (SI<sub>PV100</sub>=۶/۳) عصاره اتانولی، به ترتیب دارای بالاترین پایداری اکسایشی بودند (شکل ۲). همان طور که از نتایج مشاهده می شود، میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی غلظت های عصاره اتانولی در سیستم روغنی، حدود ۲ برابر سیستم امولسیون است که این موضوع می تواند به دلیل تفاوت حلالیت و ویژگی های پخش شدن ترکیبات آنتی اکسیدانی عصاره در سیستم های مختلف باشد. بر پایه نظریه فرانکل و میر (۲۲)، ترکیبات قطبی در سیستم های روغنی و انواع غیر قطبی در سیستم های آبی حامل ذرات چربی معلق موثر هستند. براین اساس انتظار می رود عصاره اتانولی بادیان رومی دارای ترکیبات قطبی تری باشد که در سیستم های روغنی بهتر عمل می کند.



شکل ۱: میزان افزایش عدد پراکسید (میلی اکی والان پراکسید در کیلوگرم روغن) نمونه های روغنی و امولسیونی حاوی عصاره های اتانولی بادیان رومی و BHT (۱۰۰ پی پی ام)، پس از ۵ روز نگهداری در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد. میانگین ها با حروف بزرگ مشابه در سیستم روغنی و حروف کوچک در سیستم امولسیونی، در سطح پنج درصد ( $p < 0.05$ ) اختلاف معنی داری ندارند.

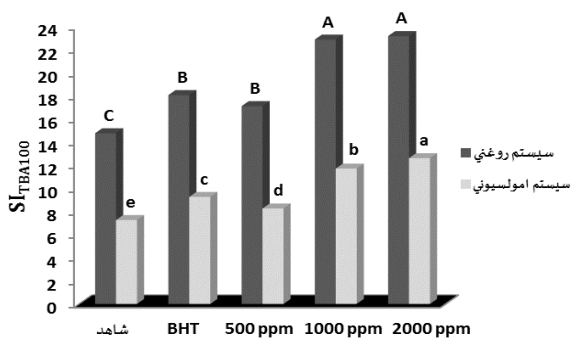
### ۳-۳- عملکرد آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی در سیستم های روغنی و امولسیونی با آزمون گرمخانه گذاری: ۳-۳-۱- تغییرات عدد پراکسید در نمونه های روغنی و امولسیونی:

پراکسیدها جزء محصولات اولیه اکسیداسیون تلقی می شوند و اندازه گیری عدد پراکسید یکی از راه های پیشرفت فساد در روغن ها و چربی ها در مراحل اولیه اکسیداسیون محسوب می شود. عدد پراکسید روغن طی اکسایش به حداکثر مقدار خود می رسد و سپس در مراحل بعدی به دلیل تبدیل شدن پراکسیدها به محصولات ثانویه، مقدار آن کاهش می یابد. حداکثر عدد پراکسید در روغن هایی که دارای پایداری کمتری هستند طی مراحل اولیه اکسایش روی می دهد زیرا که تجزیه هیدروپراکسیدها سریعتر انجام می شود (۲۱). طی ۵ روز گرمخانه گذاری، عدد پراکسید همه تیمارها به طور نمایی افزایش یافت. عدد پراکسید روغن سویای بدون آنتی اکسیدان سنتزی (نمونه شاهد)، در پایان گرمخانه گذاری، حدود ۱۸۰ برابر افزایش داشت که با حاصل ضرب عکس این عدد در ۱۰۰۰، شاخص پایداری روغن سویای بدون آنتی اکسیدان سنتزی برابر ۵/۵ تعیین شد. در شرایط حاکم در آزمون گرمخانه گذاری، تمامی غلظت های عصاره اتانولی، پایداری اکسایشی روغن سویا را نسبت به نمونه شاهد به طور معنی داری افزایش دادند؛ هرچند اثر بازدارندگی غلظت ۵۰۰ پی پی ام (SI<sub>PV100</sub>=۹/۸) در تشکیل هیدروپراکسیدها نسبت به BHT (SI<sub>PV100</sub>=۱۲/۵) به طور معنی دار کمتر بود، ولی با افزایش غلظت عصاره اتانولی به ۱۰۰۰ پی پی ام (۱۵/۲) (SI<sub>PV100</sub>=۱۵/۸) و ۲۰۰۰ پی پی ام (۱۵/۸)، اثر بازدارندگی به طور معنی دار افزایش یافت. نمونه روغن حاوی ۲۰۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی، دارای بالاترین پایداری اکسایشی بود، هرچند این برتری نسبت به نمونه روغن حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی، از نظر آماری معنی دار نبود (شکل ۱). در نمونه های امولسیونی نیز تمام غلظت های عصاره اتانولی، به طور معنی داری پایداری اکسایشی روغن سویا را نسبت به نمونه شاهد (۲/۶) (SI<sub>PV100</sub>=) افزایش دادند، اما در این جا بین اثر بازدارندگی

### ۳-۳-۲- تغییرات شاخص تیوباریتوریک اسید در نمونه های روغنی و امولسیون:

پراکسیدها به عنوان محصولات اولیه اکسیداسیون، بعدا به محصولات ثانویه ای حاوی گروه های کربونیل، تبدیل می شوند (۲۳). از جمله ترکیبات ثانویه، محصولات آلدئیدی هستند که می توانند با معرف تیوباریتوریک اسید کمپلکس رنگی تشکیل دهند. این ترکیبات از پراکسیدها پایدارتر هستند و با پیشرفت فساد و اکسیداسیون روغن ها، غلظت آن ها افزایش می یابد. تغییرات شاخص تیوباریتوریک اسید روغن سویای بدون آنتی اکسیدان سنتزی و امولسیون آن که حاوی عصاره اتانولی بادیان رومی بود، در ۶۰ درجه سانتی گراد بررسی شد. طی ۵ روز گرمخانه گذاری، شاخص تیوباریتوریک اسید همه تیمارها به طور نمایی افزایش یافت (شکل ۲). شاخص تیوباریتوریک اسید روغن سویای بدون آنتی اکسیدان سنتزی (نمونه شاهد) در پایان گرمخانه گذاری، حدود ۶۸ برابر افزایش داشت که با حاصل ضرب عکس این عدد در ۱۰۰۰، شاخص پایداری روغن سویای بدون آنتی اکسیدان سنتزی برابر ۱۴/۷۵ تعیین شد. در شرایط حاکم در این آزمون گرمخانه گذاری، روند تغییرات شاخص تیوباریتوریک اسید مشابه عدد پراکسید بود و در نمونه های روغنی، تمام غلظت های عصاره اتانولی مورد آزمایش، باعث افزایش معنی دار پایداری اکسایشی روغن سویا، نسبت به نمونه شاهد شدند. اثر بازدارندگی غلظت ۵۰۰ پی پی ام ( $SI_{TBA100}=17/1$ ) در تشکیل محصولات ثانویه اکسایش نسبت به BHT ( $SI_{TBA100}=18/05$ ) کمتر بود، ولی این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. با افزایش غلظت عصاره اتانولی به ۱۰۰۰ پی پی ام ( $SI_{TBA100}=22/85$ ) و ۲۰۰۰ پی پی ام ( $SI_{TBA100}=23/15$ )، اثر بازدارندگی نسبت به BHT، به طور معنی دار افزایش یافت. در این آزمون، از نظر آماری بین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی در غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام و عصاره اتانولی در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام اختلاف معنی داری وجود نداشت. در نمونه های امولسیون نیز تمام غلظت های عصاره اتانولی، به طور معنی داری پایداری اکسایشی روغن سویا را نسبت به نمونه شاهد

بازدارندگی غلظت ۵۰۰ پی پی ام ( $SI_{TBA100}=7/25$ ) در تشکیل محصولات ثانویه اکسایش نسبت به BHT ( $SI_{TBA100}=9/25$ ) به طور معنی دار کمتر بود، ولی اثر بازدارندگی نمونه امولسیون حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام ( $SI_{TBA100}=11/7$ ) عصاره اتانولی و نمونه امولسیون حاوی ۲۰۰۰ پی پی ام ( $SI_{TBA100}=12/6$ ) عصاره اتانولی نسبت به نمونه حاوی BHT، به طور معنی دار بیشتر بود. در سیستم امولسیونی، عصاره اتانولی در غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام، به طور معنی دار بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی را دارا بود. در این آزمون نیز فعالیت آنتی اکسیدانی غلظت های عصاره اتانولی در سیستم روغنی بالاتر از سیستم امولسیونی بود و عصاره ها به طور میانگین در تشکیل محصولات ثانویه اکسایش حدود ۱/۹ برابر موثرتر عمل کردند. در این جا هم نتیجه به دست آمده می تواند به دلیل قطبی بودن ترکیبات آنتی اکسیدانی عصاره ها باشد و به این صورت توضیح داده شود که در سیستم روغنی، این ترکیبات در اثر نامحلول بودن در روغن، در سطح روغن و هوا متراکم می شوند و حفاظت بیشتری را برای روغن فراهم می کنند و بر عکس در سیستم امولسیونی این ترکیبات در فاز آبی بسیار رقیق می شوند و حفاظت کمتری را برای روغن فراهم می کنند.



شکل ۲: میزان افزایش شاخص تیوباریتوریک اسید نمونه های روغنی و امولسیونی حاوی عصاره های اتانولی بادیان رومی و BHT (۱۰۰ پی پی ام)، پس از ۵ روز نگهداری در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد. میانگین ها با حروف بزرگ مشابه در سیستم روغنی و حروف کوچک در سیستم امولسیونی، در سطح پنج درصد ( $p < 0/05$ ) اختلاف معنی داری ندارند.



2-Fisk ,I. D., White,D. A., Lad, M.and Gray, D. A.,2008. Oxidative stability of sunflower oil bodies. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 110: 962–968.

3-Guillen, M. N., Cabo, N., Ibargoitia, M. L.and Ruiz, A. , 2005. Study of both sunflower oil and its headspace throughout the oxidation process. Occurrence in the headspace of toxic aldehydes. *J Agric Food Chem*, 53: oxygenated 1093–1101.

4-Wanasundara, P.K. J. P. D.and Shahidi, F. and 2005. Antioxidants: science, technology, industrial oil and fat applications. In: Bailey's ,Sixth Edition ,Six products . Shahidi, F. (Ed.) Volume Set. *John Wiley & Sons, Inc.* New Jersey.

5-Frankel, E. N. 1998. Lipid Oxidation, *The Oily Press*, Dundee, U.K.

6-Gulcin, I. 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86: 345-391.

7-Pourgholami, M. H., Majzoob, S., Javadi, M., Kamalinejad, M.,Fanaee, G. H. R.and essential oil of Sayyah, M. ,1999. The seeds *Pimpinella anisum* exerts anticonvulsant effects in mice. *Journal Ethnopharmacology*, 66: 211–215.

8-Gulcin, I.,Oktay, M., Kirecci, E.and Kufrevioglu, O.I.,2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83: 371–382.

9-Nickavar, B.and Abolhasani, F.A.S . 2009. Screening of antioxidant properties of seven *Pak. Journal umbelliferae* fruits from Iran. *Pharmacology Science*, 22: 30-35.

10-Al-Ismael, K.M. , and Aburjai ,T.2004. Antioxidant activity of water and alcohol extracts of chamomile flowers, anise seeds and dill seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84:173–178.

11-Topal ,U., Sasaki ,M., Goto, M.and Otles,S. 2008. Chemical compositions and antioxidant properties of essential oils from nine species of Turkish plants obtained by supercritical carbon dioxide extraction and steam distillation

#### ۴- نتیجه گیری :

عصاره استخراجی بادیان رومی با استفاده از اتانول دارای ترکیبات فنلی و قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد می باشد. بررسی خواص حمله عصاره اتانولی بادیان رومی با استفاده از آزمون رنسیمت نشان داد که ترکیبات آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی بادیان رومی، دارای خواص حمله نسبتاً خوبی هستند. در تمام غلظت های به کار گرفته شده در نمونه های روغنی، پایداری اکسایشی روغن ها نسبت به نمونه شاهد، به طور معنی دار افزایش یافت، ولی نسبت به نمونه حاوی BHT، تنها در غلظت های بالاتر از ۸۰۰ پی پی ام، افزایش معنی دار در پایداری اکسایشی روغن ها مشاهده شد. عملکرد آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی، در سیستم های روغنی و امولسیون، با استفاده از آزمون گرمخانه گذاری و با بررسی تغییرات عدد پراکسید و شاخص تیوباریتوریک اسید نمونه ها انجام پذیرفت. در شرایط حاکم در آزمون گرمخانه گذاری، تمام غلظت های عصاره اتانولی، در نمونه های روغنی و امولسیون، به طور معنی داری پایداری اکسایشی روغن سویا را نسبت به نمونه شاهد افزایش دادند. با مقایسه نمونه ها در دو سیستم روغنی و امولسیون، مشاهده شد که عملکرد ترکیبات آنتی اکسیدانی بادیان رومی در سیستم روغنی بیشتر از سیستم امولسیون است و بر این اساس نتیجه گیری شد که این ترکیبات به طور نسبی ترکیبات قطبی و آب دوست می باشند.

#### ۵- سپاسگزاری:

این پروژه توسط گروه صنایع غذایی دانشگاه آزادسبزوار(ایران)حمایت شده است. مولفین بر خود واجب می دانند از تمام کسانی که در این پروژه یاریشان نموده اند کمال تشکر را داشته باشند.

#### ۶- منابع:

1-Einafshar, S. Poorazrang,H., Farhoosh,R.and Seiedi, S.M.,2012. Antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of cumin seed(*Cuminum cyminum*). *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 114: 168–174.

acids in Greek aromatic plants: and phenolic antioxidant capacity and investigation of their activity. Food Chemistry. 95: antimicrobial 664–671.

21-Farhoosh, R. ,Niazmand. R. , Rezaei. M. and Sarabi. M.2008.Kinetic parameter determination of vegetable oil oxidation under rancimat test conditions. European Journal of Lipid Science and Technology ,110:587-592.

22-Frankel , E. N. and Meyer, A. S. 2000. The methods problems of using one-dimensional to evaluate multifunctional food and biological Journal of the Science of Food antioxidants. and Agriculture, 80(13) :1925-1941.

23-Woyewoda, A.D., Shaw, S.J., Ke, P.J.and Burns, B.G. 1986. Recommended laboratory assessment of fish quality. method for and Canadian Technical Report Fisheries Aquatic Sciences. 198

International Journal of Food Sciences and Nutrition, 59: 619-634.

12-saeidifar,M.,Elhami Rad .A.H.,Haddad Khodaparast.M.H.and Akhlaghi,H.2014.Comparison of novel assisted extraction techniques of antioxidants in Pimpinella anisum seed. International Journal of Biosciences,5:194-202.

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

14-Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M.and Parenti, A. 2000. Electrochemical sensor and detection in olive biosensor for polyphenols oils. Food Chem., 71, 553–562.

15-Farhoosh, R. 2007. The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of Journal of the American Oil soybean oil. 205–209. Chemists Society, 84:

16-Shantha, N.C., and Decker E.A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based determination spectrophotometric methods for lipids. Journal of peroxide values of food of the American Oil Chemis'Society, 77: 21–424.

17-McDonald, R. E.and Hultin, H. O. 1987. Some characteristics of the enzymatic lipid system in the microsomal fraction peroxidation muscle.Journal of Food of flounder skeletal- 15–21.:Science, 52

18-Hatano, T., Edamatsu, R., Mori, A., Fujita, Effect of Y.and Yasuhara, E.1989. interaction of tannins with co-existing related substances.VI. Effects of tannins and radical and polyphenols on superoxide anion Chemical and on DPPH radical. Pharmaceutical Bulletin,37: 2016–2021.

19-Thippeswamy, N. B. and Naidu, K. A. varieties 2005. Antioxidant potency of cumin cumin and bitter cumin) on (cumin, black European food research antioxidant systems. technology. 220:472–476.

20-Proestoes, C., Boziaris, I.S., Nychas, G.J.E .and Komaiti, M. 2006. Analysis of flavonoids