بررسی ترکیبات شیمیایی و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ گیاه برگ بو (*Laurus nobilis L.*) و تأثیر آن برپایداری روغن کانولا در طی نگه‌داری

محمد مهدی نعمت شاهی[1*]، محمد حسین حداد خداپرست[2]، امیرحسین الهامی راد[3]، موسی الرضا هوشمند دلیر[3]
نفیسه نعمت شاهی [4]

[1] باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان ، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.
[2] گروه علوم و صنایع غذایی ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی ، مشهد، ایران.
[3] گروه علوم و صنایع غذایی ، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.
[4] گروه زیست شناسی- فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران.

چکیده

در این پژوهش ابتدا عصاره متانولی برگ گیاه برگ بو استخراج و ترکیبات شیمیایی آن شناسایی گردید. سپس میزان کل ترکیبات فنولی و فعالیت دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد عصاره استخراج شده در غلظت های مختلف (۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ ppm) بررسی گردید. در مرحله بعد غلظت‌های عصاره ذکرشده به روغن کانولا تصفیه شده فاقد آنتی‌اکسیدان افزوده شد و پایداری اکسایشی روغن در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت هفت روز از طریق اندازه‌گیری اندیس پر اکسید و طول دوره القاء بررسی و در نهایت با فعالیت آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به میزان ۲۰۰ppm مقایسه گردید. به طور کلی نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره برگ گیاه برگ بو میزان ترکیات فنولی، آنتی‌اکسیدانی و فعالیت مهار کنندگی رادیکال های آزاد افزایش می یابد و غلظت ۱۶۰۰ ppm عصاره دارای بالاترین قدرت آنتی اکسیدانی می باشد در حالی که با افزایش غلظت عصاره در روغن کانولا در یک زمان نگه داری ثابت، شاخص پایداری اکسایشی افزایش و اندیس پراکسید کاهش پیدا کرد. از طرفی در یک غلظت ثابت، با افزایش زمان نگه داری روغن از یک تا هفت روز اندیس پر اکسید افزایش ولی طول دوره القاء کاهش پیدا کرد. بنابراین نتایج حاصل از بررسی پایداری اکسایشی روغن حاوی غلظت های مختلف عصاره نشان داد که غلظت ۱۶۰۰ ppm عصاره نسبت به غلظت های دیگر و نمونه شاهد به دلیل داشتن مقادیر بالاتر ترکیبات فنولی و توکوفرولی در پایداری اکسایشی روغن کانولا مؤثرتر عمل نموده و در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ ppm نیز تأثیر بیشتری داشت. بدین ترتیب می توان برگ گیاه برگ بو را در سطح ۱۶۰۰ ppm به عنوان منبع مناسبی برای آنتی اکسیدان های طبیعی معرفی نمود.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدان های طبیعی، برگ گیاه برگ بو، روغن کانولا، پایداری اکسایشی.

* مسوول مکاتبات : m.nematshahi67@email.com

۱- مقدمه

اکسیداسیون روغن ها علاوه بر تغییر ویژگی های ارگانولپتیکی ماده غذایی، ارزش غذایی و عمر نگه داری روغن ها را کاهش می‌دهد و به دلیل تولید ترکیبات نامطلوب در روغن برای سلامتی مصرف کنندگان تأثیر سوئی دارند. برای جلوگیری از اکسیداسیون روش های متعددی وجود دارد که یکی از این موارد افزودن موادی به نام آنتی اکسیدان ها است. آنتی اکسیدان ها به موادی گفته می‌شود که قادر به تأخیر، کاهش و حتی توقف فرایندهای اکسیداسیون می باشند. امروزه از آنتی اکسیدان های سنتزی هم چون TBHQ[1]، BHT[2]، BHA[3] و استرهای گالات به همین منظور استفاده می گردد. اما با توجه به این که آنتی اکسیدان های سنتزی اثرات نامطلوبی مانند اثر جهش زایی و سرطان زایی در بدن انسان دارند به تدریج از لیست آنتی اکسیدان های مصرفی حذف می شوند، لذا تهیه و تولید آنتی اکسیدان های طبیعی به عنوان جانشینی مناسب ضروری می باشد. آنتی اکسیدان‌های گیاهی حاوی ترکیبات فنولی از چند طریق شامل خنثی کردن اکسیژن یگانه، کاهش غلظت اکسیژن در محیط، خاصیت چلات کنندگی در فلزات و مهار انواع آنزیم های اکسید کننده می توانند در زنجیره اکسیداتیو وارد عمل شوند (۱۶). در راستای کاربرد آنتی اکسیدان های گیاهی، عصاره برگ گیاه برگ بو می تواند به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مورد استفاده قرار گیرد.

برگ بو با نام علمی Laurus nobilis L درخت یا درختچه ای همیشه سبز به ارتفاع ۲۰-۱۵ متر و دو پایه است. کاشت و پرورش درخت برگ بو در ایران در دوره قاجاریه آغاز شد و در گذشته به عنوان درخت زینتی در تهران و برخی نواحی شمال ایران کاشت می شد. برگ گیاه سبز تیره، بیضی شکل و به طول ۱۱-۳ سانتی متر، نوک تیز، معطر و زیبا هستند و دارای دمبرگ کوتاه به رنگ سبز متمایل به قرمز است. میوه آن کوچک به رنگ ارغوانی تیره و به اندازه دانه انگور می باشد (۳).

این گیاه در نقاط مختلف دنیا یافت می شود و در باغها و اراضی جنگلی آفتابی، حاشیه رودخانه ها و در نواحی شمالی و مرکزی ایران پرورش می یابد (۶). در طب سنتی روغن استحصالی از میوه آن به صورت وسیعی برای درمان جوش‌ها، رگ به رگ شدگی-ها، کبودی‌ها و ضرب دیدگی‌ها و به عنوان دور کننده حشرات استفاده می شد و در جمعیت یهودی صربستان برای معالجه یرقان و دردهای رماتیسمی استفاده می شد (۱ و ۱۵).

از نظر ترکیبات شیمیایی طبق تحقیقات انجام شده مشخص شده است که آلفا توکوفرول ایزومر عمده در اندام های رویشی گیاه برگ بو می باشد و در برگ ها فلاونوئیدها، لاکتون سسکوئی ترپنوئید، آلکالوئیدهای ایزوکوئینولین و اسیدهای فنولی وجود دارد (۲۲). هم چنین مقدار آلفاتوکوفرول در برگ های گیاه برگ بو به شدت بالا بوده و ریشه های آن حاوی مقدار بالایی فلاونوئید می باشد (۱۵).

برا و همکاران در سال (۲۰۰۶) بیان کردند که از مزایای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در مقایسه با آنتی اکسیدان های سنتتیک می‌توان به پذیرش بالا توسط مصرف کنندگان و ایمن بودن آنها اشاره نمود. آن ها هم چنین اعلام کردند آنتی اکسیدان های طبیعی علاوه بر پایداری روغن های خوراکی، سبب افزایش ارزش تغذیه ای روغن‌ها نیز می شوند (۱۲). شهسواری و همکاران در سال (۱۳۸۷) خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زیره کوهی را با اندازه گیری اعداد پراکسید (PV) و شاخص تیوباربیوتوریک اسید (TBA) در روغن سویا بررسی نمودند و به این نتیجه رسیدند که اثر اسانس زیره کوهی در غلظت ۰/۰۶ درصد مشابه اثر BHA در غلظت ۰/۰۲ درصد بوده است (۲). در تحقیقی دیگر میرزائی و همکاران (۱۳۹۰) خواص آنتی اکسیدانی وفنل تام عصاره هیدروالکلی خاکشی، بارهنگ، زنیان، گشنیز و شنبلیله را مورد ارزیابی قراردادند. عصاره های هیدروالکلی (اتانول ۷۰ درصد) به روش خیساندن تهیه و نتایج تمام آزمایش‌ها بر حسب گرم عصاره گزارش گردید. در این مطالعه برای ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی از آزمون فنل کل استفاده شد که محتوای فنل کل در محدوده ۱۵۴/۳-۷۴ میلی گرم در گرم عصاره گزارش شد (۸).

بنابراین با توجه به مشکلات استفاده از ترکیبات مختلف سنتتیک به عنوان نگهدارنده در صنعت غذا و بویژه صنعت روغن و خطرات بالقوه هر کدام از این ترکیبات جهت سلامتی انسان ها، در این تحقیق ازمنابع بومی و ارزشمند گیاهی برای این منظور استفاده گردید. لذا هدف از این پژوهش بررسی ترکیبات شیمیایی و خواص آنتی اکسیدانی عصاره برگ گیاه برگ بو و تأثیر آن بر پایداری اکسایشی روغن کانولا در طی نگه داری

[1] Tertiary-butyl hydroquinone
[2] Butylated hydroxytoluene
[3] Butylated hydroxyanisole

روغن در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و مقایسه آن با قدرت آنتی اکسیدان سنتزی BHT به منظور جایگزین کردن آنتی اکسیدان های سنتزی با آنتی اکسیدان های طبیعی بود.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

روغن کانولای تصفیه شده بدون آنتی اکسیدان از کارخانه روغن نباتی سه گل خراسان تهیه گردید و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردید و برگ های گیاه برگ بو از درختان شهرستان چابکسر از توابع استان گیلان تهیه و قسمت های زائد آن جدا و بلافاصله پس از شستشو خشک گردید. سایر مواد مورد استفاده شامل متانول، معرف فولین سیوکالتیو، اسید گالیک، کربنات سدیم، ۲ و ۲ دی فنیل ـ ۱ پیکریل هیدرازیل بود که از شرکت های معتبر مارک و سیگما تهیه گردید.

۲-۲- تهیه عصاره برگ گیاه برگ بو

برای استخراج عصاره، برگ های پاک شده با آسیاب (کنوود مدل ۱۰۰ CG، ساخت ژاپن) خرد شد و پس از الک کردن برای تهیه عصاره به روش خیساندن با حلال متانول به نسبت ۱۰: ۱ مخلوط گردید و در همزن با دور ۲۵۰rpm به مدت ۲۴ ساعت دردمای محیط قرار گرفت و پس از آن توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. حال به وسیله تبخیر کننده چرخان[1] دردمای ۳۵ درجه سانتی گراد تغلیظ و در نهایت عصاره ها توسط خشک کن تحت خلاء دردمای ۴۰ درجه سانتی گراد خشک شد و تا زمان استفاده در ظرف سربسته و غیر قابل نفوذ به هوا در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفت.

۲-۳- روش کار

بعد از استخراج عصاره متانولی برک گیاه برگ بو، به وسیله کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC[2]) و کروماتوگرافی گازی (GC[3]) پروفایل اسیدهای چرب، استرول ها و توکوفرول های عصاره متانولی برگ گیاه برگ بو شناسایی و مشخص گردید. سپس میزان کل ترکیبات فنولی و قدرت دام اندازی رادیکال های آزاد عصاره استخراج شده از برگ گیاه برگ بو ارزیابی گردید سپس در غلظت های مختلف به روغن کانولا تصفیه شده فاقد آنتی اکسیدان افزوده شد و اثر آن بر روی اکسیداسیون روغن کانولا در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت هفت روز و در فواصل زمانی ۲۴ ساعت از طریق سنجش اندیس پر اکسید، شاخص تیوبار بیتوریک اسید، عدد دی ان کنژوگه و طول دوره القاء بررسی و در نهایت با فعالیت آنتی اکسیدان سنتزی BHT به میزان ۲۰۰ppm مقایسه گردید.

۲-۴- آزمون ها

۲-۴-۱- تعیین پروفایل اسیدهای چرب

پروفایل اسیدهای چرب، استرول ها و توکوفرول های عصاره متانولی برگ گیاه برگ بو به وسیله کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا و کروماتوگرافی گازی تعیین شد (۱۵).

۲-۴-۲- اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنولی

اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنولی بر اساس ترسیم منحنی کالیبراسیون محلول های استاندارد اسید گالیک طبق روش استویلوا و همکاران در سال (۲۰۰۷) انجام شد و از روی معادله درجه بندی (برای اسید گالیک به عنوان استاندارد) مقدار کل ترکیبات فنولی بر مبنای اسید گالیک بر حسب درصد تعیین می شود (۲۶) و برای تعیین پایداری اکسایشی مطابق با روش فرهوش و همکاران در سال(۲۰۰۷) از دستگاه رنسیمت (مدل ۷۴۳) استفاده شد (۱۴).

۲-۴-۳- اندازه گیری فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد (DPPH)

در این روش به عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ماده (DPPH) به عنوان معرف استفاده می‌شود. بدین ترتیب که ۲ میلی لیتر از غلظت های مختلف عصاره در متانول به ۲ میلی لیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد (DPPH) در متانول اضافه می گردد. بعداز ۹۰ دقیقه تاریک گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتردر مقابل شاهد قرائت گردید. درصد مهار رادیکال های آزاد (DPPH) با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (۱۳).

$$I\% = \frac{A_{Blank} - A_{Sample}}{A_{Blank}} \times 100$$ رابطه (۱)

[1] Laborata 4000
[2] high performance liquid chromatography
3 gas chromatography

در این رابطه A_{blank} جذب نوری شاهد منفی را که فاقد عصاره می باشد نشان می دهد و A_{sample} میزان جذب نوری غلظت های مختلف عصاره را بیان می کند.

۲-۴-۴- اندازه گیری عدد پراکسید

عدد پراکسید براساس استاندارد AOAC از رابطه ذیل محاسبه شد (۱۱).

$$PV(meq/kg) = \frac{1000 \times N \times V}{W}$$ رابطه (۲)

در این رابطه PV میزان عدد پراکسید، N نرمالیته تیوسولفات سدیم مصرفی، V حجم تیوسولفات مصرفی بر حسب میلی لیتر و W وزن نمونه روغن می باشد.

۲-۴-۵- محاسبه شاخص تیوباربیتوریک اسید

اندیس TBA با استفاده از روش صبوری و همکاران در سال (۲۰۰۲) و دستگاه اسپکتروفتومتر (ساخت دانمارک) در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری شد (۲۲).

۲-۴-۶- اندازه گیری عدد دی ان مزدوج[1]

مقدارترکیبات دی ان مزدوج (میکرومول بر گرم روغن) از رابطه ۳ محاسبه شد که در آن A میزان جذب نمونه در طول موج ۲۳۴ نانومتر بود (۲۲).

$$CDV = \frac{A \times 600 \times 1000}{29000}$$ رابطه (۳)

در این رابطه A میزان جذب نمونه در طول موج ۲۳۴ نانومتر منهای جذب نمونه شاهد است. عدد ۶۰۰ عبارت است از رقت نمونه در هگزان و عدد ۲۹۰۰۰ ضریبی ثابت است.

۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی نتایج، از طرح آماری کاملا تصادفی استفاده شد. اطلاعات با استفاده از نرم افزار آماری Mstatc مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین ها با یکدیگر و با نمونه شاهد نیز با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) با همین نرم افزار انجام گردید. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم افزار Microsoft Excel 2010 استفاده گردید.

1 conjugated diene value (CDV)

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی خواص شیمیایی عصاره برگ گیاه برگ بو

۳-۱-۱- ساختار اسید های چرب

ساختار اسیدهای چرب عصاره متانولی برگ گیاه برگ بو در جدول ۱ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود، اسید لینولنیک (C18:3)، اسید پالمیتیک (C16:0) و اسید پالمیتولئیک، اسیدهای چرب عمده تشکیل دهنده ساختار عصاره برگ گیاه برگ بو بودند. به دلیل سطوح بالای اسید لینولنیک و اسید لینولئیک عصاره برگ گیاه برگ بو دارای میزان اسیدهای چرب چند غیراشباعی(PUFA) بسیار بالایی با مقدار ۴۰/۲۱ درصد بود.

اسیدهای چرب اشباع (SFA) و اسیدهای چرب تک غیراشباع (MUFA) به ترتیب با مقادیر ۲۹/۸۸ و ۲۹/۸۶ درصد دارای مقادیر مشابهی بودند و بالاترین مقدار اسیدهای چرب برگ این گیاه به اسید پالمیتیک و اسید پالمیتولئیک تعلق داشت که به ترتیب برابر ۲۱/۲۵ و ۱۶/۴۹ درصد بود (جدول ۱).

جدول ۱- ساختار اسید های چرب عصاره برگ گیاه برگ بو

نوع اسید چرب	مقدار (درصد)
اسید میریستیک (C14: 0)	۰/۶۷
اسید پالمیتیک (C16 : 0)	۲۱/۲۵
اسید پالمیتولئیک(C16:1)	۱۶/۴۹
اسید مارگاریک (C17 :0)	۰/۵۷
اسید استئاریک (C18:0)	۳/۱۷
اسید اولئیک (C18 :1)	۱۳/۳۷
اسید لینولئیک(C18:2)	۱۴/۲۶
اسید لینولنیک(C18:3)	۲۵/۹۵
اسید آراشیدیک(C20:0)	۱/۰۸
اسید بهنیک(C22:0)	۱/۲۵
اسید لیگنوسریک(C24:0)	۱/۸۹
اسیدهای چرب اشباع (SFA)	۲۹/۸۸
اسیدهای چرب تک غیراشباعی(MUFA)	۲۹/۸۶
اسیدهای چرب چندغیراشباعی(PUFA)	۴۰/۲۱

۳-۱-۲- ترکیبات توکوفرولی

شناسایی ترکیبات توکوفرولی عصاره متانولی برگ گیاه برگ بو در جدول ۲ آورده شده است. در بین توکوفرول ها، گاما و بتاتوکوفرول با۵۷/۳۹ درصد دارای بیشترین مقادیر بودند و سایر

اجزاء شناسایی شده توکوفرولی عصاره شامل آلفاتوکوفرول و دلتا توکوفرول به ترتیب برابر با مقادیر ۱۳/۸۲ و ۷/۳۱ درصد بودند. بر اساس نتایج مقدار کل آلفاتوکوفرول۲۷۷۴/۶۳ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره، بتا وگاماتوکوفرول۱۱۵۱۸/۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم و دلتاتوکوفرول۱۴۶۶/۹۱میلی گرم بر کیلوگرم عصاره محاسبه گردید.

جدول ۲- ترکیبات توکوفرولی عصاره برگ گیاه برگ بو

نوع ترکیب شیمیایی	مقادیر (درصد)
دلتا توکوفرول	۷/۳۱
گاما و بتا توکوفرول	۵۷/۹۳
آلفاتوکوفرول	۱۳/۸۲
سایر توکوفرول ها	۲۱/۴۸

۳-۱-۳- ترکیبات استرولی

ترکیبات و مقادیراسترول های عصاره متانولی برگ گیاه‌برگ بو در جدول ۳ آورده شده است. در بین استرول ها، بالاترین میزان به بتا سیتواسترول با ۷۵/۱۷ درصد تعلق داشت و پس از آن کامپسترول، سیگما استرول و کلسترول سایر ترکیبات استرولی شناسایی شده در عصاره برگ گیاه برگ بو بودند (جدول ۳). بر اساس نتایج حاصل از شناسایی ترکیبات عصاره مشخص شد که مقدار کل ترکیبات استرولی در عصاره برگ گیاه برگ بو ۳۴۶۲ میلی گرم بر کیلوگرم محاسبه گردید.

جدول ۳- ترکیبات استرولی عصاره برگ گیاه برگ بو

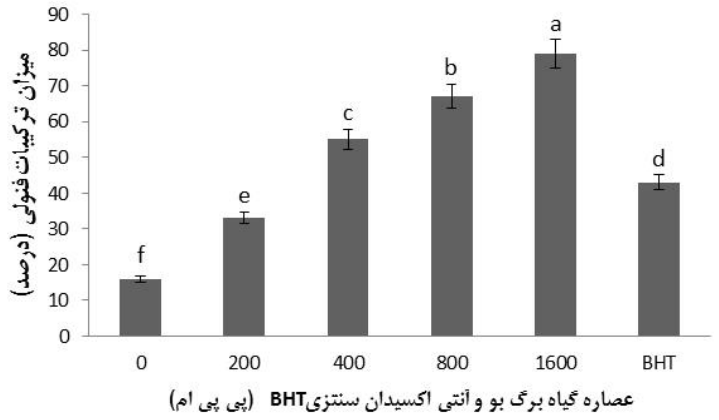
نوع ترکیب شیمیایی	مقادیر (درصد)
کلسترول	۰/۵۴
کامپسترول	۹/۱۹
سیگما استرول	۲/۳۱
بتاسیتواسترول	۷۵/۱۷

۳-۱-۴- ترکیبات فنولی عصاره برگ گیاه برگ بو

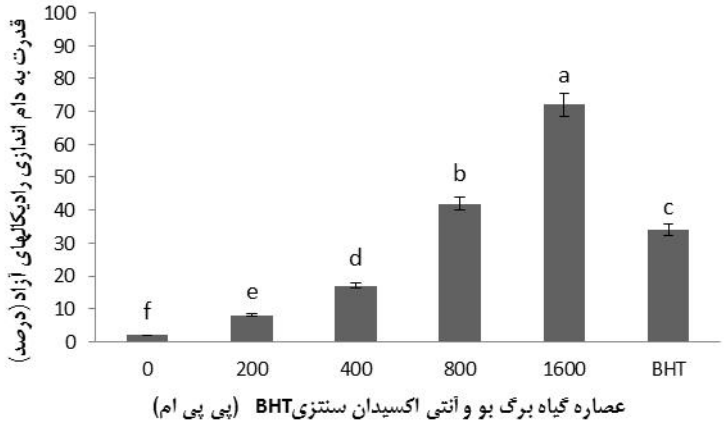
نتایج تاثیر غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه برگ بو، بر مقدار ترکیبات فنولی موجود که با استفاده از تست فولین اندازه گیری شد، در شکل ۱ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود با افزودن عصاره برگ بو میزان ترکیبات فنولی موجود افزایش یافت که این امر منجر به افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی و در نتیجه افزایش پایداری می‌شود. طبق نتایج با افزایش غلظت های مختلف این عصاره میزان این ترکیبات آنتی اکسیدانی از ۳۴/۷۱ درصد در غلظت ppm ۲۰۰ تا ۷۶/۱۲ درصد در غلظتppm ۱۶۰۰ عصاره برگ گیاه برگ بو افزایش یافت و این افزایش در تمام غلظت ها نسبت به نمونه شاهد با مقدار ۱۶/۳۳ درصد ترکیبات فنولی، در سطح احتمال ۹۹ درصد معنی دار بود ($P<0.01$). در مرحله بعد میزان ترکیبات فنولی ۲۰۰ ppm آنتی اکسیدان سنتزی BHT با غلظت های مختلف عصاره مقایسه شد و مشخص گردید که در غلظت حاوی ppm ۲۰۰ آنتی اکسیدان BHT نسبت به غلظت حاوی ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ ppm عصاره برگ بو، مقدار ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی کمتری وجود داشت. بنابراین بر اساس این پارامتر، عصاره برگ گیاه برگ بو با دارا بودن ترکیبات فنولی بیشتر نسبت به نمونه شاهد و آنتی اکسیدان BHT، دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری بوده و در نتیجه قادر به افزایش پایداری به میزان موثری در مقایسه با آنتی اکسیدان های سنتزی BHT خواهد بود. سینگ و همکاران (۲۰۰۶) نیز ویژگیهای آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره های بذر شوید هندی را مورد بررسی قراردادند و نتایج نشان داد که علت قوی تر بودن فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره بذر نسبت به اسانس آن، حضور بیش دو ترکیب فنولیک آنتول و دیل آپیول است (۲۵).

۳-۱-۵- بررسی فعالیت دام اندازی رادیکال های آزاد(DPPH)

نتایج تاثیر غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه برگ بو بر فعالیت دام اندازی رادیکال های آزاد که با استفاده ازتست DPPH اندازه گیری شد، در شکل ۲ نشان داده شده است. با بررسی اثر عصاره برگ گیاه برگ بو، بر قدرت دام اندازی رادیکال های آزاد مشاهده شد که با افزایش غلظت عصاره ، فعالیت دام اندازی رادیکال های آزاد به طور چشم گیری افزایش یافت به طوری که فعالیت دام اندازی رادیکال آزاد از ۶/۵۲ درصد برای غلظت ppm ۲۰۰ تا ۷۰/۸ درصد در سطح ppm ۱۶۰۰ افزایش یافت (شکل ۲). آنتی اکسیدان سنتزی در غلظت به کار برده شده نسبت به نمونه شاهد و غلظت های ۲۰۰ و ppm ۴۰۰ از نظر آماری در سطح بالاتری قرار داشت که برابر ۳۴/۳۳ درصد بود. در حالی که نسبت به نمونه های حاوی ۸۰۰



شکل ۱- تغییرات مقدار ترکیبات فنولی در غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه برگ بو و آنتی اکسیدان



BHT

شکل ۲- تغییرات فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد در غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه برگ بو

و ۱۶۰۰ ppm در سطح پایین تری قرار داشت و فعالیت رادیکال گیرندگی کمتری داشت (شکل ۲).

مقدار این پارامتر با میزان ترکیبات فنولی هم خوانی داشت. همان طور که ذکر شد با افزودن غلظت های بالاتر عصاره برگ بو مقدار ترکیبات فنولی نسبت به روغن حاوی ۲۰۰ ppm آنتی اکسیدان سنتزی BHT بیشتر بوده و در نتیجه خاصیت آنتی اکسیدانی و فعالیت دام اندازی بیشتری نیز دارد. در تحقیقی مشابه جایاپراکاشا و همکارن (۲۰۰۳) فعالیت به دام اندازی رادیکال های آزاد هسته انگور را مورد بررسی قرار دادند و بیان نمودند که عصاره هسته انگور به عنوان یک آنتی اکسیدان اولیه از به وجود آمدن رادیکال های آزاد جلوگیری کرده و نیز با رادیکالهای آزاد واکنش داده و آنها را پایدار می کند (۱۸).

۳-۲- تعیین پایداری روغن کانولا در غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه برگ بو طی زمان نگه داری

۳-۲-۱- اندیس پراکسید

هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسیداسیون چربی ها هستند وبه طور کلی هر قدر درجه غیر اشباعیت روغن ها بیشتر باشد روغن و یا ماده چرب آمادگی بیشتری برای اکسیداسیون دارد. وقتی که میزان پر اکسید به حد معینی برسد، تغییرات مختلفی صورت گرفته و مواد فرار آلدئیدی و کتونی ایجاد می شوند که در ایجاد بو وطعم نامطبوع مواد چرب مؤثر می باشند. در مراحل ابتدایی فرایند اکسیداسیون، میزان این ترکیبات کم است اما در مرحله انتشار، میزان هیدروپراکسیدها به سرعت افزایش می‌یابد. در این مرحله تعیین عدد پراکسید شاخص مناسبی از تعیین وضعیت اکسیداسیون روغن ها می باشد (۲۷).

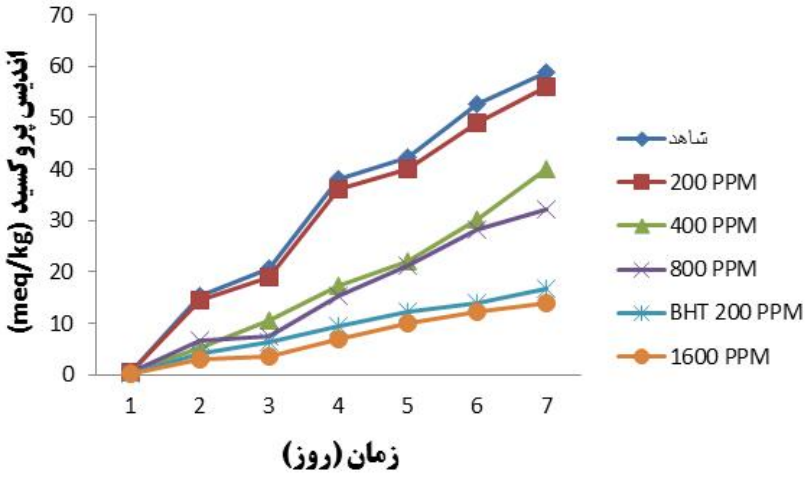
همان طور که در شکل۳ مشاهده می شود در زمان های اولیه نگه داری اختلاف معنی داری بین عدد پراکسید روغن حاوی عصاره

برگ گیاه برگ بو در غلظت های مختلف و نمونه حاوی ۲۰۰ ppm آنتی اکسیدان سنتزی BHT با یکدیگر و با نمونه شاهد (روغن کانولای فاقد عصاره و BHT) وجود ندارد در حالی که با گذشت زمان نگه داری تیمار های روغن طی روزهای ۵، ۶ و ۷ بین اعداد پراکسید روغن در غلظت های مختلف عصاره با نمونه شاهد و BHT اختلاف معنی داری وجود داشت. طبق نتایج، غلظت ۲۰۰ ppm در هیچ کدام از زمان های نگه داری روغن در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد نسبت به نمونه شاهد از نظر این پارامتر اختلاف چشم گیری نداشت (شکل ۳). در حالی که با افزایش غلظت عصاره تا ۴۰۰ ppm اختلاف داده های پراکسید نسبت به نمونه حاوی ۲۰۰ ppm و شاهد به طور معنی داری کاهش یافت. همان طور که مشاهده می شود با افزایش غلظت عصاره تا ۸۰۰ ppm عدد پراکسید روغن هر چند نسبت به غلظت ۲۰۰ ppm روند کاهشی نشان داد ولی این کاهش چندان قابل توجه نبود به طوری که اختلاف داده ها به جز روز هفتم نگه داری، در سایر زمان های نگه داری معنی دار نبود (شکل ۳). بر اساس نتایج حاصل شده، افزایش غلظت عصاره برگ گیاه برگ بو تا ۱۶۰۰ ppm در روغن کانولا منجر به کاهش معنی داری در عدد پراکسید روغن طی زمان های مختلف نگه داری شد به طوری که به جز روز اول نگه داری، بین عدد پراکسید روغن در سطح ۱۶۰۰ ppm نسبت به غلظت های مختلف و نمونه شاهد در سایر روزهای نگه داری شامل ۲ تا ۷ روز، اختلاف چشم گیری وجود داشت و عدد پراکسید روغن حاوی ۱۶۰۰ ppm در کمترین مقدار بود.

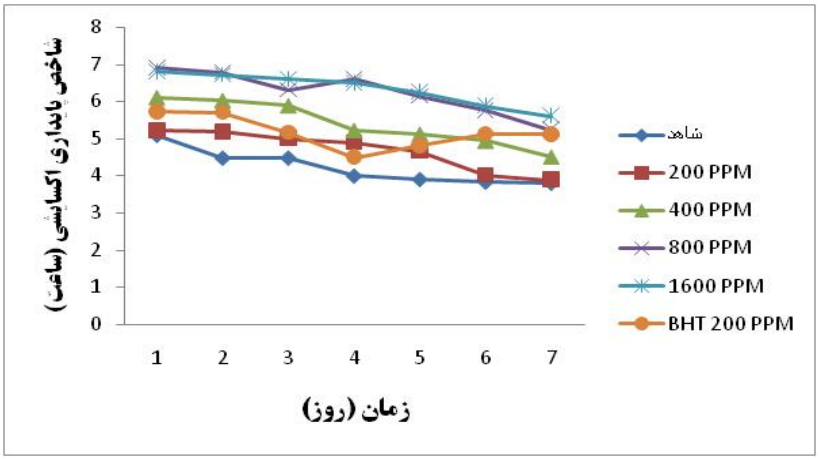
بررسی اثر آنتی اکسیدان سنتزی BHT بر روی عدد پراکسید در طی ۷ روز نگه داری در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد نیز نشان داد که افزودن ۲۰۰ ppm از این آنتی اکسیدان سنتزی به روغن کانولا، منجر به کاهش چشم گیری در این اندیس شد به طوری که مقدار اندیس پراکسید روغن در طی تمام روزهای نگه داری به جز روز اول و تا حدودی روز دوم، نسبت به غلظت های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ ppm به طور معنی داری در سطح پایین تری قرار داشت و نتیجه بهتری حاصل شد. ولی همان طور که در شکل ۳ مشاهده می شود غلظت ۱۶۰۰ ppm عصاره در طی فرایند نگه داری روغن به مدت ۷ روز، از نظر عدد پراکسید نسبت به آنتی اکسیدان BHT نتیجه بهتری را نشان داد به طوری که در روز هفتم نگه داری میزان عدد پراکسید روغن حاوی غلظت های ۱۶۰۰ ppm عصاره برگ گیاه برگ بو و ۲۰۰ ppm آنتی اکسیدان سنتزی BHT به ترتیب برابر ۱۳/۸ و ۱۶/۷۸ میلی اکی والان بر کیلوگرم بود. در کاری مشابه طاهانژاد و همکاران در بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره پنیرک در روغن سویا با غلظت های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام و همچنین آنتی اکسیدان های سنتزیBHA و BHT در دو سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ پی پی ام در روغن سویا اعلام کردند که در تست پراکسید در غلظت های ۴۰۰ و ۸۰۰ پی پی ام بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی را داشته و معادل با آنتی اکسیدان سنتزیBHA در هر دو سطح غلظتی ۱۰۰ و ۲۰۰ پی پی ام عمل کرده است ولی نسبت به آنتی اکسیدان BHT در هر دو سطح بهتر عمل نموده است (۴).

۳-۲-۲- تعیین شاخص پایداری اکسایشی

شاخص پایداری اکسایشی روغن توسط دستگاه رنسیمت تعیین می گردد. پایداری اکسایشی را می توان مقاومت روغن ها و چربی ها تحت شرایط تعیین شده و فساد ناشی از آن که باعث ایجاد طعم و بوی نامطلوب می شود تعریف کرد. به عبارت دیگر، پایداری اکسایشی عبارت از مدت زمان لازم برای رسیدن به نقطه ای است که درآن یکی از کمیت های اکسایشی مانند عدد پراکسید یا عدد کربونیل پس از طی نمودن روند افزایشی خود به طور ناگهانی افزایش می یابد. مدت زمان لازم برای رسیدن به این نقطه به عنوان طول دوره القاء در نظر گرفته می شود. اکسیداسیون باعث ایجاد فساد می شود که بوی نامطلوب و کاهش کیفیت غذا را به دنبال دارد (۲۶).



شکل ۳- تغییرات مقدار اندیس پراکسید در غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه برگ بو



شکل ۴- تغییرات پایداری اکسایشی روغن کانولا در غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه برگ بو

روند تغییرات پایداری اکسایشی روغن کانولای حاوی غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه برگ بو و آنتی اکسیدان سنتزی BHT در شکل۴ آورده شده است. همان طور که مشاهده می شود با افزایش غلظت عصاره برگ گیاه برگ بو در روغن کانولا در یک زمان نگه داری ثابت، شاخص پایداری اکسایشی روغن افزایش یافته است در حالی که در یک غلظت ثابت با افزایش زمان نگه داری تیمار های روغن از یک تا هفت روز، شاخص پایداری اکسایشی روغن یا همان طول دوره القاء کاهش پیدا کرد. بر اساس نتایج، شاخص پایداری اکسایشی روغن در تمام غلظت های عصاره برگ بو به کار رفته نسبت به نمونه شاهد در سطح بالاتری قرار داشته و به جز روز اول و تا حدودی روز هفتم در مورد غلظت ۲۰۰ ppm، این اختلاف اعداد رنسیمت معنی دار بود. به این ترتیب در بین سطوح به کار رفته از عصاره برگ گیاه برگ بو طی زمان های مختلف نگه داری، بیشترین و کمترین پایداری اکسایشی روغن به ترتیب مربوط به غلظت ۱۶۰۰ ppm در روز اول نگه داری با مقدار ۶/۹ ساعت و غلظت ۲۰۰ ppm در روز هفتم نگه داری با مقدار شاخص پایداری ۳/۸۸ ساعت بود (شکل ۴).

با بررسی اثر آنتی اکسیدان سنتزی BHT روی پایداری اکسایشی روغن کانولا در طی ۷ روز نگه داری در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد مشخص شد که با افزودن ۲۰۰ ppm از این آنتی اکسیدان سنتزی، اندیس رنسیمت تا روز سوم نگه داری نسبت به شاهد و غلظت ۲۰۰ ppm از عصاره برگ گیاه برگ بو در سطح بالاتری قرار داشت و روند پایداری اکسایشی مانند سایر غلظت ها با گذشت زمان کاهشی بود در حالی که از روز چهارم نگه داری به بعد روند متفاوتی مشاهده شد. به طوری که با گذشت زمان، روند شاخص پایداری اکسایشی بر خلاف معمول افزایش یافت و در روز ششم و هفتم مقدار شاخص پایداری

اکسایشی نمونه حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHT نسبت به غلظت ۴۰۰ ppm عصاره برگ گیاه برگ بو نیز در سطح بالاتری قرار گرفت و در روز هفتم نگه داری نسبت به غلظت ۸۰۰ ppm عصاره در یک سطح قرار گرفت. همان طور که مشاهده می شود روغن حاوی ۱۶۰۰ ppm عصاره برگ گیاه برگ بو در تمام مدت نگه داری روغن ، از نظر شاخص پایداری اکسایشی نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی BHT در سطح بالاتری قرار داشت که نشان دهنده پایداری بیشتر روغن کانولای حاوی غلظت۱۶۰۰ ppm عصاره برگ گیاه برگ بو نسبت به روغن حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHT در برابر اکسیداسیون می باشد، که یکی از دلایل اصلی این پایداری اکسایشی به وجود مقدار بیشتر توکوفرول ها و ترکیبات فنولی عصاره بر می گردد. یزدان پناه و همکاران (۱۳۸۸) در تحقیقی مشابه با بررسی مقاومت حرارتی عصاره آنتی اکسیدانی پوست خارجی انار در روغن آفتابگردان در دو سطح ۱۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی پی ام در آزمون طول دوره القاء در سه دمای ۹۰، ۱۱۰ و ۱۵۰ درجه سانتی گراد پرداختند و بیان کردند که نمونه های حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره متانولی پوست خارجی انار دارای بالاترین طول دوره القاء نسبت به سایر نمونه هاست. پس از آن تیمار حاوی ۱۰۰ پی پی ام عصاره متانولی انار و سپس نمونه ۲۰۰ پی پی ام BHT قرار می‌گیرد که با هم تفاوت معنی داری ندارند. همچنین آن ها گزارش دادند که با افزایش دما از ۹۰ به ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد طول دوره القا در تمامی تیمارها به طور قابل توجهی کاهش یافته و به نظر می رسد با افزایش دما کارایی BHT در مقایسه با سایر آنتی اکسیدان ها کمتر بوده است (۹).

۴- نتیجه گیری کلی

امروزه یکی از مشکلات صنعت غذا استفاده از ترکیبات مختلف سنتزی به عنوان نگه دارنده می باشد که خطرات بالقوه هر کدام از این ترکیبات جهت سلامتی انسان ها به اثبات رسیده است. در صنعت روغن برای جلوگیری از اکسیداسیون روش های متعددی وجود دارد که یکی از این موارد افزودن آنتی اکسیدان های سنتزی می باشد. اما با توجه به این که آنتی اکسیدان های سنتزی اثرات نامطلوبی مانند اثر جهش زایی و سرطان زایی در بدن انسان دارند به تدریج از لیست آنتی اکسیدان های مصرفی حذف می گردند، لذا تهیه و تولید آنتی اکسیدان های طبیعی به عنوان جانشینی مناسب ضروری می باشد. بنابراین در این تحقیق در راستای کاربرد آنتی اکسیدان های گیاهی، از عصاره برگ گیاه برگ بو به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی اکسیدان های سنتزی استفاده شد. بر اساس نتایج مشاهده گردید که غلظت ۱۶۰۰ ppm عصاره برگ گیاه برگ بو نسبت به غلظت های دیگر عصاره شامل ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ ppm و نمونه شاهد به دلیل داشتن مقادیر بالاتر ترکیبات آنتی اکسیدانی، توکوفرولی و فنولی از نظر فعالیت مهارگنندگی رادیکال های آزاد مؤثرتر عمل نموده و در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ ppm نیز تأثیر بیشتری داشته است. نتایج حاصل از بررسی پایداری اکسایشی روغن حاوی غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه برگ بو هم چنین نشان داد که غلظت ۱۶۰۰ ppm عصاره برگ گیاه برگ بو در کاهش اندیس پراکسید و افزایش شاخص پایداری اکسایشی نسبت به سایر غلظت های عصاره و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در سطح ۲۰۰ ppm تأثیر بیشتری داشته است. طبیعتاً قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر غلظت ۱۶۰۰ ppm عصاره برگ گیاه برگ بو نسبت به سایر غلظت‌ها را طی فرآیند حرارتی می توان به مقادیر باقی مانده بیشتر ترکیبات فنولی و توکوفرولی موجود در آن در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و هم چنین مقدار بالای این ترکیبات در عصاره نسبت داد.

۵- منابع

۱. زرگری، ع. ۱۳۶۹. گیاهان دارویی، جلد چهارم، چاپ چهارم، انتشارات دانشگاه تهران.

۲. شهسواری، ن.، برزگر، م.، سحری، م. و نقدی بادی، ح. پاییز. ۱۳۸۷. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس گیاه آویشن شیرازی (zataria multiflora Boiss) در روغن سویا. فصلنامه گیاهان دارویی، سال هفتم، دوره ۴، شماره مسلسل ۲۸.

۳. صمصام شریعت، ه. ۱۳۷۴. پرورش و تکثیر گیاهان دارویی، انتشارات مانی.

۴. طاها نژاد، م . ۱۳۸۸. کاربرد اسانس اسطوخودوس و عصاره پنیرک به عنوان آنتی اکسیدان های طبیعی درروغن خام سویا. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس.

۵. عیوقی، ف. برزگر، م. سحری، م ع. نقدی بادی، ح. بهار ۱۳۸۸. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس شوید (Anethum graveolens) در روغن سویا و مقایسه ی آن با آنتی اکسیدان های شیمیایی، فصلنامه گیاهان دارویی، سال هشتم، دوره دوم، شماره مسلسل ۳۰.

۶. فلوک، ه . ۱۳۷۹. گیاهان دارویی (ترجمه توکلی صابری،م.ر و صداقت،م.ر)،انتشارات گلشن تهران.

۷. قوامی، م، قنبری، ر، صفا فر، ح. ۱۳۸۵. بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی گیاه اکلیل کوهی بر پایداری روغن کانولا. شانزدهمین کنگره ملی صنایع غذایی ایران،۲۴-۲۳ فروردین،گرگان، ایران.

۸. میرزائی، ع.، محمدی، ج.، میرزائی، ن.، میرزائی، م. ۱۳۹۰. ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و فنل تام عصاره هیدرو الکلی خاکشی، بارهنگ، زنیان، گشنیز، شنبلیله. مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا ، سال اول ، شماره ۳. ۱۶۷-۱۶۰.

۹. یزدان پناه، ص.، ارجمند، پ.، پور آذرنگ، ه. ۱۳۸۸. بررسی مقاومت حرارتی عصاره آنتی اکسیدانی پوست خارجی انار در روغن آفتابگردان ، علوم فنون کشاورزی و منابع طبیعی، سال سیزدهم، شماره ۴۷، ص ۱۰۲-۹۵.

10. Adel, A., Mohdaly, A., Smetanska, I., Fawzy, R. M. and Sarhan, M. A. 2011. Antioxidant potential of sesame (Sesamum indicum) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. Industrial Crops and Products, 34 (1): 952-959.
11. AOAC. 2000 . Official methods of analysis (17th ed.). Washington,DC: Association of Official Analytical Chemists [Methods 37.1.12].
12. Bera, D. B and Lahiri, D., A. 2006. Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. Journal of Food Engineering,74: 542–545.
13. Burits, M. and Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phytotheraphy Research, 14, 323–328.
14. 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.
15. Farhoosh, R., Tavakkoli, J. and Hadad Khodaparast, M.H. 2008. Chemical composition and oxidative stability of kernel oils from two current subspecies of Pistacia atlantica in Iran. Journal of American oil chemistry society, 15: 379-385.
16. Halliwell, B., Aeschbach, R., Loliger, J. and Arouma, O.I. 1995. The characterization of antioxidants. Journal of the Food Chemistry. 33: 601-617.
17. Horwitz, W., Senze, A., Reynolds, H. and Park, D.L. 1975. Official methods of analysis of the association of anay tica1 chemists. Washington: Associat Official Analytic Chemist.
18. Jayaprakasha, G.K. 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (Vitis vinifer) seed extracts. Food Research International: 117-122.
19. Matthaus, B. 2006. Utilization of high – oleic rapeseed oil for deep-fat frying of French fries compared to other commonly used edible oils. Europian Journal of Lipid Science and Technology, 108: 200-211.
20. Ouchikh, O. 2011. The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of L. nobilis vegetative organs. Journal of Food Composition and Analysis, 24: 103-110.
21. Saguy, I.S., Shani, A., Weinberg P. and Garti, N. 1996. Uilization of jojoba oil for deep fat frying of foods. Journal of Lebensm Wiss u - Technology, 29: 573-577.
22. Seabury, k. 2002. The effect of antioxidants in preventing farther oxidation in TBA analysis. California state science fair. Project number, Jo404.
23. Shantha, N.C. and Decker, E.A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. Journal of the American Oil Chemis' Society, 77: 21–424.
24. Simic, M. 2003. Preliminary assay on the antioxidative activity of Laurus nobilis extracts. Journal of Fitoterapia, 74: 613–616.
25. Singh, G and Marimuthu,P . 2006.Antioxidant and biocidal activities ofCarum nigrum(seed) essential oil,oleoresin,and their selected

components. Journal of Agricultural and Food chemistry, 54:174-181.

26. Stoilova, I., Krastanov, A., Stoyanova, A., Denev, P. and Gargova, S. 2007. Antioxidant actirity of ginger extract (Zingiber officinale). Journal of Food chemistry, 102: 764-70.
27. Yaghmure, A. and Aserin, A. 2001. Evaluation of Argan Oil for Deep-Fat fring. Lebensm. Journal of Lebensm Wiss u - Technology. 34: 124-130.