(مقاله پژوهشی)

استفاده از سامانه میکروامولسیونی برای افزودن عصاره آبی پوست‌انار به عنوان یک منبع ضداکسایشی به روغن آفتاب‌گردان

صدیقه امیری[۱]، الهه پریشانی[۲]، محسن رادی[۱]*

۱- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران.
۲-دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۲۱

چکیده

هدف از این تحقیق، بررسی عملکرد عصاره آبی پوست انار به عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدانی در به تعویق انداختن فساد اکسیداسیون روغن آفتاب‌گردان بود و چون ادغام عصاره آبی در فاز روغنی امکانپذیر نیست، از سامانه میکروامولسیون (و تولید نانوکپسول های عصاره آبی) استفاده گردید. برای این منظور ابتدا تأثیر دو حلال آب و اتانول ۹۶٪ بر میزان استخراج ترکیبات فنلی و به دام اندازی رادیکال DPPH بررسی شد و در نهایت عصاره آبی در دو سطح ۲۰۰ و۴۰۰ پی پی ام با استفاده از سامانه میکروامولسیونی وعصاره اتانولی پوست‌انار در یک سطح ۲۰۰پی پی‌ام و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در حد مجاز(۲۰۰ پی پی‌ام) به روغن‌آفتاب‌گردان بدون آنتی‌اکسیدان اضافه و اندیس پراکسید، آنیزیدین و اسیدهای‌چرب‌آزاد آن اندازه‌گیری شد. نتایج حاکی از آن بود که عصاره آبی بیش‌ترین میزان ترکیبات فنلی و بالاترین درصد بازدارندگی در آزمون DPPH را داشت ($p<۰/۰۵$)، این در حالی بود که عصاره آبی پوست انار در سطح ۴۰۰ پی پی ام در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد توانست اندیس پراکسید، آنیزیدین و اسیدهای چرب آزاد روغن آفتاب‌گردان را کنترل کند ($p<۰/۰۵$). نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از میکروامولسیون عصاره آبی پوست‌انار به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی در مقابل آنتی‌اکسیدان متداول BHT می‌تواند در کنترل کیفیت روغن موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: پوست انار، ترکیبات فنلی، روغن آفتاب‌گردان، میکروامولسیون..

*مسئول مکاتبات: m.radi@iauyasooj.ac.ir

۱- مقدمه

یکی از راه‌های جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها و یا حفاظت در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها است. آنتی‌اکسیدان‌ها با جذب رادیکال آزاد و در نتیجه ممانعت از اکسیداسیون، از فساد، تغییررنگ و یا تند شدن چربی‌ها جلوگیری می‌کنند و نقش مهمی در پیشگیری از اکسیداسیون چربی دارند. اخیراً عوارض نامطلوبی‌ازمصرف آنتی‌اکسیدان‌های‌سنتزی گزارش شده است و از جمله اینکه در حیوانات آزمایشگاهی باعث سرطان‌زایی و آسیب کبدی شده است. بنابراین تلاش برای جایگزینی‌آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی منجر به بررسی آنتی‌اکسیدان‌های متعددی از منابع گیاهی گردیده است (۱۱). یکی از این منابع پوست انار است که حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. مهم ترین ترکیبات فنلی موجود در پوست‌انار شامل اسیدگالیک، اسید الاجیک[۱]، پونیکالین[۲]، پونیکالاجین[۳]، آنتوسانیدین و فلاوانول می‌باشند (۲۷). برخی از ترکیبات فنلی پوست‌انار محلول در آب و برخی محلول در حلال‌های‌آلی هستند (۲۶). طادی بنی و همکاران (۱۳۹۶) محتوای فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی پوست سه گونه انار را با دانه و آب آن‌ها مقایسه کردند و اظهار داشتند که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پوست انار (۴۵ تا ۵۸٪) بطور معنی‌داری بیشتر از دانه (۲۶ تا ۵۴٪) و آب‌انار (۹ تا ۱۰٪) بود. در این رابطه محتوای فنلی پوست انارنطنز، شهرضا و دورک بترتیب۳/۸۱ و ۱۱/۵۹، ۴/۹۴ و ۲۲/۸۴، ۵/۶۵ و ۳۳/۳۰ برابر بیشتر از محتوای فنلی‌دانه و آب انار بود (۸). بریزی و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند که عصاره متانولی پوست‌انارتوانست‌اکسیداسیون اسید لینولئیک را به میزان ۸۹/۶۱٪ مهار نماید. این محققین در نهایت اظهار داشتند که عصاره متانولی پوست‌انار سرشار از ترکیبات فنلی بوده و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد (۱). لی[۴] و همکاران (۲۰۰۶) اظهارداشتندکه پوست‌اناربیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را در مقایسه با پوست، دانه و پالپ ۲۸ نوع میوه رایج و پرمصرف در چین داراست و افزودند که محتوای فنل کل، فلاونوئیدها و پروآنتوسیانیدین پوست انار بیشتر از پالپ آن است (۱۷). در تحقیقی دیگر، نگی[۵] و همکاران (۲۰۰۳) عصاره‌های استونی، متانولی، اتیل استاتی و آبی پوست‌انار را مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که تمامی‌عصاره‌هادارای‌خاصیت‌ضدجهش‌زایی‌و آنتی‌اکسیدانی بسیار خوبی هستند. این محققین بیان کردند که می‌توان از عصاره پوست‌انار بعنوان یک نگهدارنده طبیعی بسیار کارامد در موادغذایی استفاده کرد (۲۱) . الفاله[۶] و همکاران (۲۰۱۲) محتوای‌فنل‌کل، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، آنتوسیانینی و فلاونوئیدی پوست، دانه، برگ و گل‌انار را با همدیگر مقایسه کردند و نتیجه گرفتند که محتوای این ترکیبات در پوست و گل‌انار بسیار بیشتر از برگ و دانه‌انار است. به همین دلیل این محققین پیشنهاد کردند که برای آبگیری انار و تهیه آب انار بهتر است که کل میوه تحت فرایند استخراج عصاره قرار گیرد (۱۲). یکروامولسیون‌ها مخلوطی ایزوتروپیک از حداقل یک ترکیب آبدوست، آبگریز و دوگانه دوست هستند. پایداری ترمودینامیک و ساختار نانویی دو خصوصیت مهم این سامانه‌ها است که آن‌ها را از امولسیون‌های‌معمولی، که از لحاظ ترمودینامیک ناپایدارند، متمایز ساخته است. دستیابی به ذراتی کمتر از ۱۰۰ نانومتر بدون صرف انرژی این روش را از سایر روش‌های ساخت ذرات نانویی متفاوت ساخته است. از توانایی‌های بالقوه میکروامولسیون‌ها امکان استفاده از آن ها در حمل ترکیبات دارویی و حفاظت از آن‌ها و پایدارسازی مواد عطر و طعمی ویتامین‌ها و رنگدانه‌های محلول درچربی می‌باشد. در همین خصوص،کپسوله‌کردن علاوه بر افزایش پایداری این ترکیبات در محیط‌های غذایی، امکان استفاده از آن ها را در محیط‌های دلخواه نیز فراهم می‌آورد (۵). فلاناگان[۷] و همکاران (۲۰۰۶) توانایی سورفاکتانت‌های اتوکسیلات مونو

1- Ellagic Acid
2- Punicalin
3- Punicalagin
4- Li
5- Negi
6- Elfalleh
7- Flanagan

و دی گلیسرید[1]، فسفولیپد و پلی‌اکسی اتیلن اولئیل اتر[2] را برای تشکیل میکروامولسیون با استفاده از روغن‌سویا مورد بررسی قرار دادند (۱۳). پلی‌زلی[3] و همکاران (۲۰۰۶) با استفاده از روغن سویا، سورفاکتانت و آب ضمن تهیه یک سامانه‌میکروامولسیونی‌دیاگرام‌های فازی مربوطه را در دمای ۲۵°Cرسم‌کردند. سورفاکتانت‌های مورد استفاده سدیم بیس سولفوسوکسینات[4] (AOTیونی)، مونواولئین[5] غیریونی و مخلوطی از هر دو سورفاکتانت بودند (۲۲). استفاده از عصاره آبی پوست‌انار به عنوان یک منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در روغن به دلیل ماهیت هیدروفیلی‌آن امکانپذیرنمی‌باشد. در حقیقت تفاوت مهم این تحقیق با سایر تحقیقات موجود در این زمینه، استفاده از ترکیبات ضداکسایشی محلول در آب به صورت سامانه‌های میکروامولسیونی بود که طبق جستجوهای به عمل آمده در سوابق، تاکنون تنها در یک تحقیق و در مورد افزودن اسید اسکوربیک به روغن انجام شده است (۱۴). بنابراین هدف از انجام این تحقیق افزودن عصاره آبی پوست انار به روغن آفتاب‌گردان با استفاده از تکنیک میکروامولسیون و سپس مقایسه آن با عصاره اتانولی پوست انار (که بطور مستقیم قابل ادغام در روغن است) و آنتی‌اکسیدان BHT (که به شکل صنعتی استفاده می‌شود) در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن آفتاب‌گردان بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد لازم

انار (رقم اتابکی) تازه از باغات قصردشت شهر شیراز تهیه و بعد از جدا کردن دانه‌های انار، کل پوست آن (پوست خارجی به همراه لایه زرد داخلی) در آون هوای داغ در دمای ۵۰ درجه سیلسیوس و به مدت ۱۲ ساعت خشک و توسط یک آسیاب تیغه‌ای خانگی (کنوود، ساخت چین) آسیاب شد و به صورت پودر برای عصاره‌گیری استفاده گردید. تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق از شرکت مرک آلمان تهیه گردیدند. روغن آفتاب‌گردان خام از یکی از واحدهای صنفی در سطح شهر شیراز توسط یک دستگاه پرس سرد استخراج و تهیه شد و به منظور کاهش ترکیبات ضداکسایشی و سایر مواد غیر تری‌گلیسیریدی طبیعی موجود در روغن، با استفاده از خاک رنگبر اسیدی در دمای ۹۰ درجه سیلسیوس و به مدت ۱ ساعت همزدن، رنگبری و پس از سانتریفیوژ کردن و حذف خاک رنگبر، مورد استفاده قرار گرفت (۲۵). ضمناً در ابتدا عدد اسیدی و عدد پراکسید روغن قبل و بعد از رنگبری اندازه‌گیری شد و هر دو فاکتور مذکور بسیار کمتر از حد مجاز استاندارد روغن تصفیه شده آفتاب‌گردان (۰/۱ درصد وزنی اولئیک اسید برای عدد اسیدی و ۵ میلی‌اکی‌والان‌گرم اکسیژن در کیلوگرم برای عدد پراکسید، ۹) بودند.

۲-۲- نحوه تهیه عصاره آبی

جهت تهیه عصاره آبی، مقدار ۲۰ گرم پودر پوست انار را در ۱۶۰ میلی لیتر آب ریخته، بعد دمای آن را تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد رسانده و به مدت ۱ ساعت در همین دما نگهداری شده و سپس جهت خالص کردن مایع از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱ و دستگاه سانتریفیوژ (۲۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه) استفاده گردید. در نهایت عصاره صاف و شفاف بدست آمد (۱۵). بعد از تهیه عصاره، محتوای ترکیبات فنلی آن طبق قسمت ۲-۵ اندازه‌گیری گردید و بعد از استاندارد سازی و معادل سازی محتوای ترکیبات فنلی این عصاره و عصاره اتانولی (که نحوه تهیه آن در قسمت ۲-۴ آمده‌است) با گالیک‌اسید، از این عصاره (بعد از رقیق‌سازی به مقدار لازم) برای تهیه میکروامولسیون آب در روغن استفاده شد به این ترتیب که به طور مستقیم به مخلوط روغن آفتابگردان/ سورفاکتانت (لسیتین/ AOT) /کوسورفاکتانت)/کوسورفاکتانت (پروپانل) اضافه گردید تا میکروامولسیون مورد نظر ساخته شود و عصاره آبی در روغن حل گردد.

1- Ethoxylated Mono- and Diglyceride
2- Polyoxyethylene Oleyl Ether
3- Polizelli
4- Sodium Bis Sulfosuccinate
5- Mono-Olein

۲-۳- آماده سازی میکروامولسیون

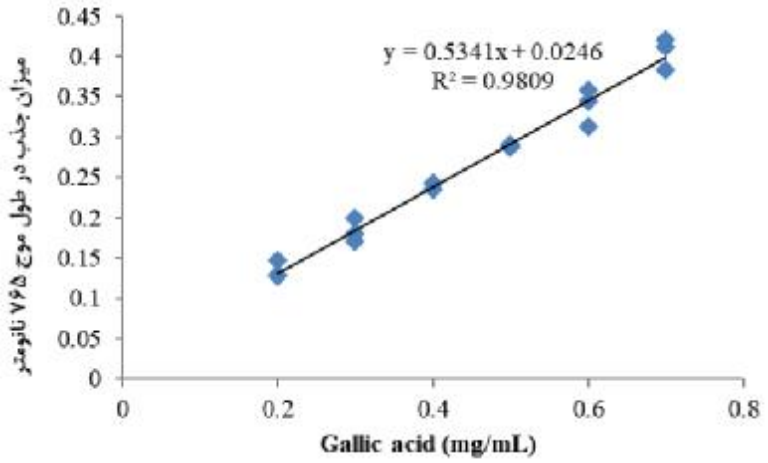
پس از انجام پیش‌آزمون‌های مختلف، نسبت و نوع سورفاکتانت انتخاب شد که شامل لسیتین وAOT در ترکیب با پروپانول بود. روغن در نسبت ۱۰۰:۸۹۵ (۸۹۵ میکرولیتر روغن و ۱۰۰ میکرولیتر مخلوط سورفاکتانت) با مخلوط سورفاکتانت مخلوط گردید. سپس ۵ میکرولیتر از عصاره آبی پوست انار به آن اضافه شد. با اضافه کردن تنها ۵ میکرولیتر عصاره، میکروامولسیون مورد نظر تشکیل شد (۱۳،۲۳).

۲-٤- نحوه تهیه عصاره اتانولی

تهیه عصاره اتانولی از پودر پوست انار به روش خیساندن بود، به این ترتیب که ۵گرم پودر پوست انار را در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ریخته و به مدت ۱ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده، سپس جهت حذف مواد معلق، از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱ بعد از سانتریفیوژ (۲۰ دقیقه در g×۵۰۰۰) استفاده گردید. در نهایت عصاره به‌دست آمده با استفاده از دستگاه روتاری تا حجم ۱۰ میلی‌لیتر تغلیظ گردید. سپس مقدار لازم از این عصاره طبق جدول ۱ برای تهیه تیمارهای حاوی عصاره اتانولی، برداشته شد و به روغن اضافه گردید (۱۸).

۲-۵- تعیین محتوای فنل کل

مقادیر فنل‌کل عصاره‌های آبی و اتانولی پوست انار با اندکی تغییر توسط روش فولین سیکالتو اندازه‌گیری گردید (۲۴). در این روش در لوله آزمایش ۰/۱میلی‌لیتر عصاره، ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین- سیکالتو (رقیق شده با آب‌مقطر تا ۱۰٪ غلظت اولیه) و ۰/۴ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵٪ اضافه و مخلوط شد و بعد از ۳۰دقیقه نگهداری در دمای آزمایشگاه، جذب نوری آن توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقادیر فنل تام بر حسب معادل گالیک اسید در نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد (شکل ۱) و بر حسب میلی‌گرم فنل در گرم عصاره بیان گردید. در این آزمون، محتوای فنل‌کل عصاره آبی قبل از میکروامولسیفیه شدن با روغن و ریزپوشانی، در دمای ۵۰ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۶۰ روز با عصاره اتانولی مقایسه گردید. نمونه‌گیری به ازای هر۱۰روز، یک بار انجام گرفت.



شکل ۱- نمودار استاندارد گالیک اسید

۲-٦- بررسی خاصیت ضداکسایشی با آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)

فعالیت ضداکسایشی نمونه‌های عصاره توسط روش لی و همکاران (۲۰۰۳) ارزیابی شد. بر طبق این روش، ۲/۴ میلی‌گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول خالص حل شد. به ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر عصاره، ۱ میلی‌لیتر محلول الکلی DPPH اضافه و مخلوط شد. همچنین از محلول DPPH به عنوان شاهد استفاده گردید. بعد از ۳۰ دقیقه قرار دادن در تاریکی

و دمای محیط، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. درصد فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH توسط معادله ۱محاسبه شد:

معادله(۱)

$$\text{درصد مهار رادیکال‌های } DPPH = \frac{(A_C - A_S)*100}{A_C}$$

A_C: میزان جذب نوری شاهد؛ A_S: میزان جذب نوری نمونه (۱۶). فعالیت ضداکسایشی عصاره آبی پوست‌انار قبل از میکروامولسیفیه شدن با روغن (و در حقیقت ریزپوشانی) و عصاره اتانولی در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ روز اندازه‌گیری شد. نمونه‌گیری به ازای هر ۱۰ روز، یک بار انجام گرفت.

۲-۷-بررسی‌کاربرد عصاره پوست انار به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در روغن

عصاره آبی (به شکل میکروامولسیون) و اتانولی پوست انار در سطح ۲۰۰ پی‌پی‌ام به روغن آفتاب‌گردان بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شدند. منظور از ۲۰۰ پی پی‌ام عصاره آبی و اتانولی پوست انار این است که مقدار عصاره افزوده شده به روغن در سطح ۲۰۰ پی پی ام ترکیبات فنلی (معادل با گالیک اسید بنا بر نتایج حاصل از تعیین غلظت ترکیبات فنلی) تنظیم و سپس اضافه شدند. یک تیمار حاوی آنتی‌اکسیدانBHT در سطح ۲۰۰ پی پی‌ام نیز در نظر گرفته شد. آنگاه نمونه‌ها به همراه شاهد (روغن آفتاب‌گردان فاقد آنتی‌اکسیدان)، به مدت ۶۰ روز در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و در نهایت، عدد پراکسید، عدد پارا-آنیزیدین و اسیدچرب آزاد آن‌ها طی فواصل زمانی معین (روز صفر، ده، بیست، سی، چهل، پنجاه و شصت) اندازه‌گیری گردیدند. مهمترین نقطه قوت این تحقیق در مقایسه با سایر تحقیقات انجام شده روی روغن حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، استانداردسازی غلظت عصاره و به عبارتی معادل‌سازی میزان ترکیبات فنلی عصاره و ترکیب فنلی BHT (به عنوان آنتی‌اکسیدان رایج برای روغن) با هم‌دیگر با استفاده از اسید گالیک بود که در این حالت امکان مقایسه تاثیر نوع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را در غلظت فنلی معادل می‌توان انجام داد. این در حالیست که در سایر پژوهش‌های انجام گرفته، غلظت‌های به کار رفته بر اساس درصد وزنی کل ترکیبات موجود در عصاره خام پایه‌ریزی شده است؛ درصورتی که تنها بخشی از عصاره خام را ترکیبات فنلی و ضداکسایشی تشکیل می‌دهند. البته در این پژوهش نیز یک تیمار به‌صورت غلظت وزنی عصاره خام (۲۰۰ پی پی‌ام) در نظر گرفته شد. با توجه به تفاوت غلظت ترکیبات فنلی در انارهای با گونه‌های متفاوت و کشت شده درمناطق مختلف، انجام استانداردسازی در راستای تکرارپذیری و کاربردی بودن نتایج تحقیق از اهمیت بالایی برخوردار است. به منظور معادل‌سازی غلظت ترکیبات فنلی عصاره‌ها و BHT، ابتدا غلظت کل ترکیبات فنلی در عصاره بر حسب گالیک اسید محاسبه و سپس با توجه به غلظت‌های در نظر گرفته شده در تیمارها، مقادیر مورد نیاز عصاره برای افزودن به روغن تعیین شد. مقادیر عصاره‌های محاسبه شده برای افزودن به روغن بصورت زیر محاسبه و در جدول ۱ آورده شده است.

$$M_E=(M_O\times C_2)/C$$

M_E مقدار عصاره مورد نیاز (میلی‌لیتر)؛ M_O مقدار روغن مورد استفاده؛ C_1 درصد وزنی ترکیبات فنلی کل در عصاره و C_2 غلظت ترکیبات فنلی در روغن (بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم) می‌باشند.

جدول ۱- تیمارها و میزان عصاره مورد نیاز محاسبه شده برای افزودن به روغن

ردیف	کد تیمار	توضیحات	غلظت عصاره (٪)	مقدار عصاره محاسبه شده (میلی‌لیتر) *
۱	شاهد	روغن همراه با ۰/۰۱۶ گرم آب	-	۰/۰۱۶ آب
۲	BHT-200	حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر BHT	-	۰/۰۱۶ گرم BHT خالص
۳	WE-200 Eq	حاوی عصاره آبی معادل ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر BHT	۱۲/۲۴ (معادل BHT)	۰/۱۳۰
٤	WE- 400 Eq	حاوی عصاره آبی معادل ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر BHT	۱۲/۲۴ (معادل BHT)	۰/۲۶۰
۵	WE-200 TSS	حاوی عصاره آبی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر ماده جامد محلول	۷/۶ (ماده جامدمحلول)	۰/۲۱۰
٦	EtE-200 Eq	حاوی معادل ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر BHT عصاره اتانلی	۶/۷ (معادل BHT)	۰/۲۳۸
۷	EtE-200 TSS	حاوی عصاره آبی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر ماده جامدمحلول	۱۹/۴۵ (ماده جامدمحلول)	۰/۰۸۲

* مقدارها بر اساس ۸۰ گرم روغن محاسبه شده است.

۲-۸-تعیین‌اندازه ذرات میکروامولسیون با استفاده از تکنیک پراکنش دینامیک نوری[1]

برای تعیین توزیع اندازه ذرات از دستگاه پراکنش دینامیک نوری (Zetasizer NanoZS, Malvern, UK) در دمای محیط و در طول موج ۶۳۳ نانومتر (زاویه اندازه‌گیری ۷۰ و ۹۰ درجه، گرانروی نمونه ۸/۷۶ میلی پاسکال ثانیه) استفاده گردید.اندازه هیدرودینامیک ذرات، توزیع اندازه ذرات و شاخص توزیع اندازه ذرات[2] از طریق نرم افزار DTS (5.02 version, Malvern, UK) محاسبه شد (۲۳).

۲-۹- اندازه گیری عدد پراکسید و درصد اسیدهای چرب آزاد

اندیس پر اکسید و اسید چرب آزاد به ترتیب مطابق با روش AOCS (cd 8-53) و (ca 5a-40) تعیین گردیدند (۱۰).

۲-۱۰- اندازه‌گیری عدد آنیزیدین

برای اندازه‌گیری عدد آنیزیدین، حدود ۲گرم از نمونه‌های روغن‌آفتاب‌گردان در ۲۵ میلی‌لیتر ایزواکتان حل شد. سپس جذب این محلول چربی با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. ۵ میلی‌لیتر از مخلوط بالایی با ۱ میلی‌لیتر از آنیزیدین ۲۵٪ در اسید استیک (وزن/حجم) مخلوط شد. بعد از ۱۰ دقیقه جذب این محلول در طول موج ۳۵۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۲). عدد آنیزیدین بر اساس معادله زیر محاسبه شد:

1- Dynamic Light Scattering
2- Polydispersity Index

$$AnV = 25 * (1.2\,A_s - A_b)/m$$

A_s: جذب محلول چربی بعد از واکنش با معرف آنیزیدین؛ A_b: جذب محلول چربی؛ m:وزن (بر حسب گرم) نمونه‌های روغن آفتاب‌گردان

۲-۱۱- تجزیه آماری داده‌ها

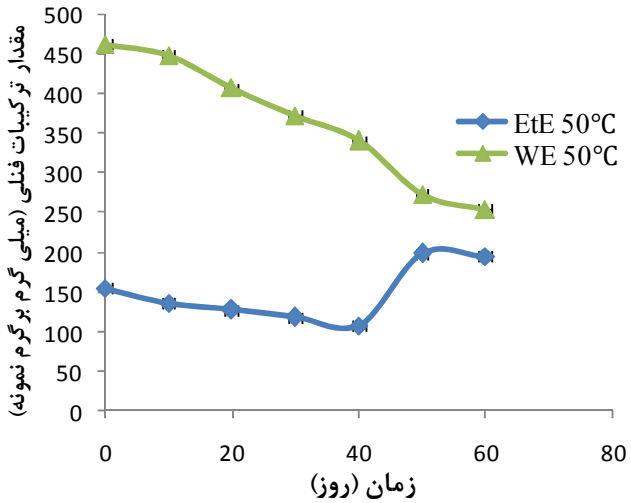
در کاربرد عصاره بر روغن آفتاب‌گردان از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. آزمون‌ها در۳ تکرار انجام گرفت و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد و نرم افزار SPSS استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

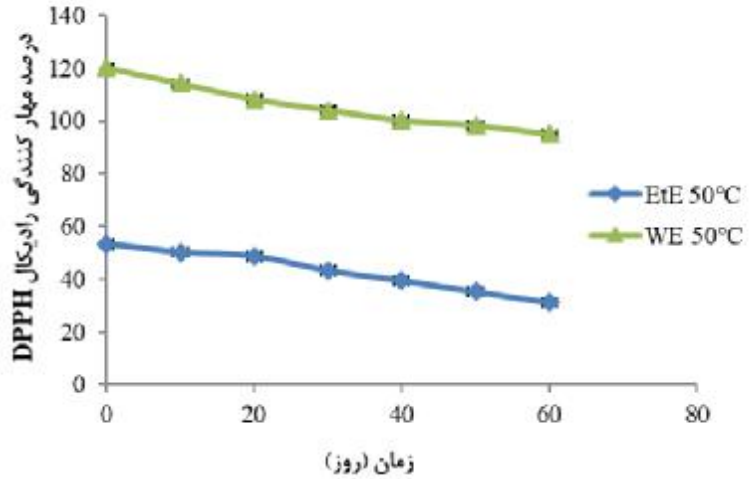
۳-۱- تعیین مقدار ترکیبات فنلی

مقایسه میزان فنل استخراج‌شده از نمونه، توسط دو حلال آبی و اتانولی در دمای ۵۰ ℃ (شکل ۲) نشان داد که میزان ترکیبات‌فنلی‌استخراج شده توسط عصاره آبی ۴۵۰ میلی‌گرم برگرم بیشتر از عصاره اتانولی ۱۵۰ میلی‌گرم برگرم بود ($p<۰/۰۵$). همچنین با گذشت زمان مقدار این ترکیبات کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). مقایسه میزان مهار رادیکال‌های آزاد توسط عصاره‌های آبی و اتانولی (شکل ۳) نشان داد که فعالیت مهارکنندگی عصاره آبی نیز بالاتر از عصاره اتانولی پوست‌انار بود ($p<۰/۰۵$). با گذشت زمان میزان مهار رادیکال‌های آزاد نیز کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). قطعا تفاوت در میزان قطبیت حلال های مورد بررسی، باعث می‌شود که حلالیت ترکیبات مختلف و در نتیجه مقدار ترکیبات فنلی در آن‌ها متفاوت باشد (۲۶). مهار رادیکال‌های آزاد یکی از شناخته شده‌ترین مکانیسم‌هائی است که به واسطه آن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند اکسیداسیون چربی‌ها را مهار نمایند. با توجه به تحقیقات انجام شده در این زمینه می‌توان گفت که هر چه مقادیر فنل بیشتر باشد، عصاره خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نشان می‌دهد. نتایج حاصل از مطالعات صورت گرفته نشان داد که ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت ضداکسایشی گیاهان وجود دارد. به‌همین دلیل عصاره آبی فعالیت مهارکنندگی بالاتری نسبت عصاره اتانولی پوست‌انار بود. وانگ[1] و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که محتوای فنلی عصاره آبی پوست انار بیشتر از عصاره اتانولی آن است (۲۶). هرچند نتایج این تحقیق با نتایج به‌دست آمده توسط نگی و همکاران (۲۰۰۳) تفاوت دارد (۲۱). یانفنگ[2] و همکاران در مطالعات خود پوست میوه‌انار را منبعی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار بالامعرفی‌کردند. این پژوهشگران دلیل ظرفیت بالای آنتی‌اکسیدانی پوست میوه را، وجود ترکیبات فنلی‌زیاد گزارش نمودند (۲۸). وانگ و همکاران (۲۰۱۱) نیز وجود یک رابطه خطی بین فعالیت ضداکسایشی DPPH و محتوای فنلی عصاره را تایید کردند (۲۶)؛ چون در تحقیق آن‌ها، محتوای فنلی عصاره آبی پوست انار بیشتر از عصاره اتانولی آن بود، عصاره آبی فعالیت ضداکسایشی DPPH بیشتری را از خود نشان داد. منصور و همکاران (۲۰۱۳) اظهار داشتند که عصاره متانولی پوست انار محتوای فنلی بیشتری نسبت به عصاره آبی دارد (۱۹).

1- Wang
2- Yunfeng



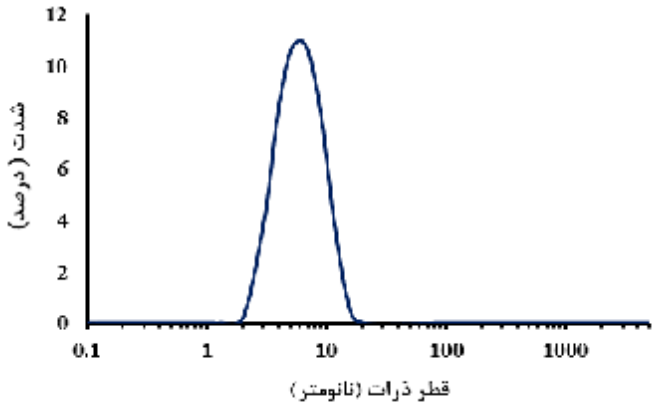
شکل ۲- میزان ترکیبات فنلی عصاره آبی و اتانولی پوست انار در دمای ۵۰°C در طول زمان



شکل ۳- میزان قدرت بازدارندگی عصاره آبی و اتانولی پوست انار در دمای ۵۰°C در طول زمان

۳-۲- اندازه‌گیری توزیع اندازه ذرات میکروامولسیون

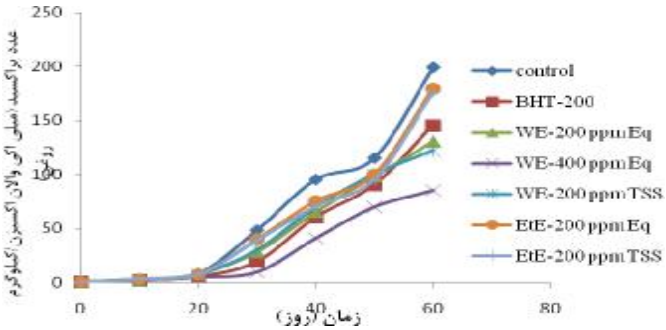
نتایج حاصل از اندازه‌گیری توزیع اندازه ذرات میکروامولسیون روغن‌آفتاب‌گردان / سورفاکتانت :پروپانل/ عصاره آبی پوست انار (شکل ۴) نشان داد که دیسپرسیون تهیه شده دارای ذراتی با توزیع اندازه ذرات پایین بود. تمام ذرات دارای اندازه‌ای زیر ۲۰ نانومتر بودند (دارای یک پیک با متوسط قطر هیدرودینامیک ۶ نانومتر). همچنین شاخص توزیع اندازه ذرات پایین و ۰/۲۱۵ بود که نشان‌دهنده همگن بودن محیط میکروامولسیون بود (۲۳). نتایج حاصل از اندازه گیری اندازه ذرات میکروامولسیون نشان داد که عصاره آبی پوست انار در ابعاد بسیار کوچک در روغن آفتاب‌گردان در قالب میکروامولسیونی شفاف و تک‌فاز پراکنده شده‌اند.



شکل ٤- توزیع اندازه ذرات میکروامولسیون روغن آفتاب‌گردان/سورفاکتانت:پروپانل/عصاره آبی پوست انار

۳-۳-بررسی‌نتایج حاصل از اندازه‌گیری عدد پراکسید، اسیدهای چرب آزاد و عدد آنیزیدین در روغن آفتاب‌گردان در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد

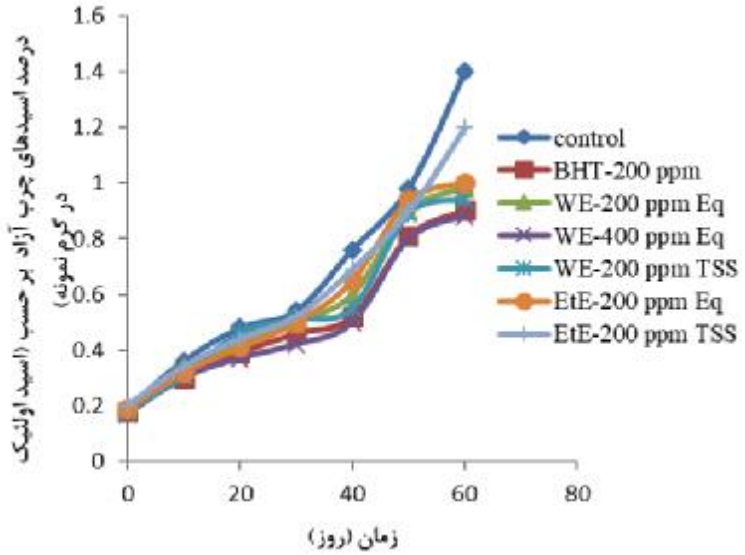
پراکسیدها محصولات اولیه اکسیداسیون چربی‌ها هستند و به طورکلی هر قدرکه درجه غیر اشباعیت روغن‌ها بیشتر باشد روغن ها و چربی‌ها آمادگی بیشتری برای اکسیداسیون دارا می‌باشند. وقتی که مقدار پراکسید به حد معینی برسد، تغییرات مختلفی در روغن‌ها و چربی‌ها صورت گرفته و مواد فرار آلدهیدی و کتونی و همچنین اسیدهای چرب زنجیره کوتاه که در ایجاد بو و طعم نامطلوب مواد موثرند، ایجاد می‌گردند. از این جهت پراکسید تولید شده معرف درجه پیشرفت اکسیداسیون می‌باشد (۴). همان طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود عدد پراکسید تمامی نمونه‌های روغن با افزایش مدت زمان نگهداری در دمای $50^{o}C$ افزایش یافته است ($p<0/05$)، به طوری که سرعت تشکیل این محصولات از روز سی به بعد افزایش ناگهانی داشته است. همچنین با بررسی تغییرات عدد پراکسید در روغن آفتاب‌گردان در دمای $50^{o}C$ می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که تیمار WE-۴۰۰ ppm (روغن آفتاب‌گردان حاوی ۴۰۰ پی پی ام نانوقطرات عصاره آبی پوست انار) بهترین عملکرد را داشته است ($p<0/05$). نمونه حاوی نانوقطرات‌عصاره آبی پوست انار نسبت به عصاره اتانولی در روز ۶۰، عملکرد بهتری داشتند ($p<0/05$).



شکل ۵- مقایسه میانگین عدد پراکسید (میلی اکی والان اکسیژن / کیلوگرم روغن) تیمارهای مختلف روغن آفتاب‌گردان طی ٦٠ روز گرمخانه-گذاری در دمای ۵۰°C

کنترل: روغن آفتاب‌گردان، BHT-200 ppm: روغن آفتاب‌گردان حاوی ۲۰۰ پی پی ام آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، WE-200 ppm Eq : روغن آفتاب‌گردان حاوی ۲۰۰ پی پی ام عصاره آبی میکروامولسیون شده پوست انار معادل با BHT، WE-400 ppm Eq: روغن آفتاب‌گردان حاوی ٤٠٠ پی پی ام عصاره آبی میکروامولسیون شده پوست انار معادل با BHT، WE-200 ppm TSS: روغن آفتاب‌گردان حاوی ۲۰۰ پی پی ام عصاره آبی میکروامولسیون شده پوست انار بر اساس ماده جامد محلول، EtE-200 ppm Eq : روغن آفتاب‌گردان حاوی ۲۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی پوست انار معادل با BHT، EtE-200 ppm TSS : روغن آفتاب‌گردان حاوی ۲۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی پوست انار بر اساس ماده جامد محلول.

تمامی‌چربی و روغن‌های خوراکی دارای مقدار معین و جزئی اسید چرب آزاد هستند ولی ممکن است در اثر عوامل فساد و رخ دادن واکنش هیدرولیز، این مقدار از حد مجاز (۰/۱ درصد وزنی اولئیک اسید، ۹) تجاوز نماید. بنابراین اندیس اسیدی و اسیدیته از جمله شاخص‌هایی می‌باشند که به ما در تشخیص وجود فساد در روغن‌ها و چربی‌ها کمک می‌نمایند. اسیدیته روغن‌های خوراکی غالباً بر حسب اسید اولئیک اندازه‌گیری می‌شود (۷). همان‌طور که در شکل۶ مشاهده می‌شود هیدرولیز روغن آفتاب‌گردان در تمامی نمونه‌های روغن در طول مدت زمان نگهداری در دمای ۵۰ ℃ روند افزایشی داشت ($p<0/05$). مقایسه میانگین مقدار اسیدهای چرب آزاد در دمای ۵۰ ℃ نشان داد که کمترین مقدار اسیدهای چرب آزاد مربوط به نمونه‌های حاوی WE-۴۰۰ppm و BHT-۲۰۰ ppm (خصوصا در روزهای پایانی) و بیشترین مقدار مربوط به نمونه کنترل بود ($p<0/05$). به این ترتیب نتایج نشان داد که روغن آفتاب‌گردان حاوی ۴۰۰ پی پی‌ام عصاره آبی پوست انار در جلوگیری از تند شدن روغن اثری مشابه با نمونه روغن آفتاب‌گردان حاوی BHT-۲۰۰ppm دارد. عملکرد بهتر نمونه های حاوی نانوقطرات عصاره آبی پوست‌انار نسبت به عصاره اتانولی در روز۶۰ نگهداری، در مورد اسیدهای چرب آزاد نیز مشهود است ($p<0/05$).

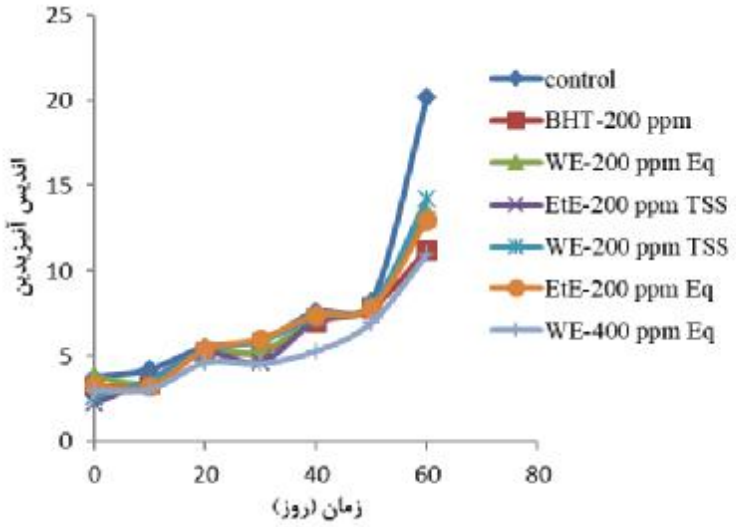


شکل ٦- مقایسه نتایج حاصل از اندازه گیری درصد اسیدهای چرب آزاد در روغن آفتاب گردان در دمای ۵۰ ℃

کنترل: روغن آفتاب‌گردان، BHT-200 ppm: روغن آفتاب‌گردان حاوی ۲۰۰ پی پی ام آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، WE-200 ppm Eq : روغن آفتاب‌گردان حاوی ۲۰۰ پی پی ام عصاره آبی میکروامولسیون شده پوست انار معادل با BHT، WE-400 ppm Eq: روغن آفتاب‌گردان حاوی ٤٠٠ پی پی ام عصاره آبی میکروامولسیون شده پوست انار معادل با BHT، WE-200 ppm TSS: روغن آفتاب‌گردان حاوی ۲۰۰ پی پی ام عصاره آبی میکروامولسیون شده پوست انار بر اساس ماده جامد محلول، EtE-200 ppm Eq : روغن آفتاب‌گردان حاوی ۲۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی پوست انار معادل با BHT، EtE-200 ppm TSS : روغن آفتاب‌گردان حاوی ۲۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی پوست انار بر اساس ماده جامد محلول.

عدد پراکسید به تنهایی مشخص کننده‌ی اکسیداسیون روغن نمی‌باشد زیرا این عدد شاخصی از وجود محصولات اولیه اکسیداسیون است و تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون را مشخص نمی‌کند. لذا وجود آزمونی نظیر تعیین عدد آنیزیدین که شاخصی از میزان توسعه اکسیداسیون و تولید محصولات ثانویه و یک پارامتر برای اندازه‌گیری آلدهیدها بویژه ۲-آلکانال‌ها می‌باشد، ضروری به نظر می‌رسد (۴). همان‌طورکه در شکل ۷ مشاهده می‌شود میزان توسعه اکسیداسیون و تولید محصولات ثانویه روغن آفتاب‌گردان در تمامی نمونه‌های روغن با افزایش مدت زمان نگهداری در دمای ۵۰ ℃ افزایش یافت ($p<0/05$)، به طوری‌که در روزهای پایانی آزمایش مقدار این افزایش با سرعت بیشتری

صورت گرفت. این امر نشان می‌دهد مقدار زیادی از پراکسیدهای‌تشکیل شده در مراحل اولیه طی روزهای پایانی آزمایش تجزیه و به آلدئید تبدیل شده‌اند. بررسی روند اندیس آنیزیدین در دمای ۵۰°C نشان داد که تا روز۵۰ تفاوت آماری معنی داری بین نمونه کنترل و سایر تیمارها وجود نداشت، اما در روز۶۰، عدد آنیزیدین نمونه کنترل نسبت به سایر نمونه‌ها به سرعت افزایش یافت (p<۰/۰۵)، یعنی تمامی تیمارها در انتهای دوره نگهداری بهتر از نمونه کنترل عمل کردند. در این رابطه نمونه های حاوی عصاره آبی پوست انار (۴۰۰ پی پی ام) و نمونه حاوی BHT-200 ppm بهتر از سایر نمونه‌ها (p<۰/۰۵) عمل کردند (در روز ۶۰).



شکل ۷- مقایسه نتایج حاصل از اندازه گیری عدد انیزیدین در روغن آفتاب گردان در دمای ۵۰°C

کنترل: روغن آفتاب‌گردان، BHT-200 ppm: روغن آفتاب‌گردان حاوی ۲۰۰ پی پی ام آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، WE-200 ppm Eq : روغن آفتاب‌گردان حاوی ۲۰۰ پی پی ام عصاره آبی میکروامولسیون شده پوست انار معادل با BHT،WE-400 ppm Eq: روغن آفتاب‌گردان حاوی ۴۰۰ پی پی ام عصاره آبی میکروامولسیون شده پوست انار معادل با BHT، WE-200 ppm TSS : روغن آفتاب‌گردان حاوی ۲۰۰ پی پی ام عصاره آبی میکروامولسیون شده پوست انار بر اساس ماده جامد محلول،EtE-200 ppm Eq : روغن آفتاب‌گردان حاوی ۲۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی پوست انار معادل با BHT، EtE-200 ppm TSS : روغن آفتاب‌گردان حاوی ۲۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی پوست انار بر اساس ماده جامد محلول.

اصولا آنتی‌اکسیدان‌ها طی مدت زمان خاصی فعال باقی می‌مانند و با گذشت زمان به تدریج از درجه تاثیر آنها کاسته می‌شود که دلیل آن می‌تواند نگه‌داشتن نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون و حرارت باشد. بنابراین در روزهای آغازی اختلاف بین نمونه‌های مختلف کم بود، اما در روزهای پایانی، واکنش‌های اکسیداسیون شدت یافت (۵) و به‌این ترتیب تفاوت بین نمونه‌ها بیشتر مشهود بود. شاید بتوان عملکرد بهتر نمونه‌های حاوی عصاره آبی را به بالاتر بودن محتوای ترکیبات فنلی عصاره آبی پوست‌انار نسبت به عصاره اتانولی نسبت داد. ترکیبات فنلی از طریق اهداء یک اتم هیدروژن به رادیکال های آزاد مانع از پیشروی واکنش های زنجیری اکسیداسیون چربی می شوند (۳). طبیعتا با افزایش غلظت، مقدار این ترکیبات فنلی افزایش می‌یابد که منجر به افزایش گروه‌های فعال برای مهار رادیکال های آزاد می‌گردد. به همین دلیل شاهد عملکرد بهتر غلظت ۴۰۰ پی پی ام عصاره آبی پوست انار در این تحقیق بودیم. به نظر می‌رسد که استفاده از غلظت‌های بالاتر عصاره می توانست بسیار مفید واقع شود. صمدلویی و همکاران (۱۳۸۶) نشان دادند که ترکیبات فنلی هسته انار دارای اثر ضداکسایشی هستند و اضافه کردن این ترکیبات در غلظت ۳۵۰ پی پی ام می‌تواند بیشترین اثر ضداکسایشی را در کاهش عدد پراکسید و TBA در روغن سویا داشته باشند (۷). جاهد خانیکی و همکاران (۱۳۹۳) اثرات ضداکسایشی عصاره‌های آبی و الکلی دانه انار ایرانی را بر کیفیت چربی فیله ماهی

قزل‌آلا را مورد بررسی قرار دادند (۴). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ترکیبات ضداکسایشی عصاره‌های دانه انار در به تعویق انداختن اکسیداسیون، فساد و افزایش مدت نگهداری فیله ماهی قزل‌آلا در دمای یخچال مؤثر می‌باشند. رضایی ارمی و همکاران (۱۳۹۱) با استفاده از آزمون مهار رادیکال DPPH تاثیر عصاره‌پوسته‌گردو واریته تویسرکانی را در ممانعت از اکسیداسیون روغن سویا بررسی کردند. نتایج نشان داد که غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره متانولی به خوبی توانست اکسیداسیون را کنترل کند (۶). تهامی و همکارانش (۱۳۹۱) نشان دادند که غلظت‌های ۲۵۰ و ۳۰۰ پی پی‌ام عصاره دانه رازیانه دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و BHA در روغن‌آفتاب‌گردان بودند (۳). موه‌دالی[1] و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی پتانسیل ضداکسایشی عصاره کنجد در پایداری روغن سویا و آفتاب‌گردان نشان داد که عصاره کنجد در غلظت ۲۰۰ پی پی ام کارایی شبیه به BHA و BHT در محدوده مجاز دارد، اما اثر ضداکسایشی کمتری نسبت به TBHQ دارد (۲۰).

٤- نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره آبی پوست انار دارای ترکیبات فنلی بیشتری در مقایسه با عصاره اتانولی پوست انار می‌باشد. در این رابطه عصاره آبی خاصیت ضداکسایشی بیشتری نشان داد. از آن‌جا که امکان استفاده از عصاره آبی پوست‌انار در روغن به‌شکل مستقیم وجود ندارد عصاره آبی به‌شکل میکروامولسیون در ترکیب با روغن آفتاب‌گردان فرموله گردید. نتایج نشان داد که میکروامولسیون عصاره آبی پوست انار در غلظت ۴۰۰ پی پی‌ام بهتر از عصاره اتانولی در جلوگیری از اکسیداسیون روغن آفتاب‌گردان عمل می‌کند. به این‌ترتیب استفاده از میکروامولسیون یک راهکار عملی برای استفاده از ترکیبات محلول آبی در یک محیط روغنی است تا بتوان از خواص این ترکیبات در محیط‌هایی که قابل امتزاج با آن‌ها نیستند، بهره‌مند شد.

1- Mohdaly

۵-منابع

۱. بریزی، ع.، شکرفروش، ش. و حسین زاده، س. ۱۳۹۵. ویژگی های آنتی اکسیدانی عصاره متانولی پوست انار واریته رباب (*Punica granatum var. Rabbab*). *مجله بهداشت مواد غذایی*، دوره ٦، شماره ۳، صفحات ۲۰-۱۳.

۲. پروانه، و. ۱۳۹۲. کنترل کیفی و آزمایش‌های شیمیایی مواد غذایی. انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ١٤-١٢.

۳. تهامی، ف.، بصیری، ع.ر.، غیاثی طرزی، ب. و مهستی، پ. ۱۳۹۱. بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره دانه رازیانه بر پایداری روغن آفتابگردان. *مجله علوم غذایی و تغذیه*، سال دهم، شماره ۱، صفحات ۷۸-۷۱.

٤. جاهد خانیکی، غ. ر.، صالحی، ع.، شریعتی فر، ن. و علی‌محمدی، م. و صدیق آرا، پ. ١٣٩٤. بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی دانه انار ایرانی بر کیفیت چربی و تعیین میزان فسادپذیری آن در دمای 2 تا 4 درجه سلسیوس. *مجله دانشکده علوم پزشکی نیشابور*، سال سوم، شماره ۲، صفحات ۱۷-۱۰.

۵. رادی،م. و عباسی، س. ۱۳۹۲. میکروامولسیون‌ها و کاربرد آن‌ها در صنایع غذایی. *مجله نانوتکنولوژی*، سال دوازدهم، شماره۳، صفحات ۳۱-۲۷.

٦. رضایی‌ارمی، س.، جعفری، س.م.، خمیری، م. و بیات، ه. ۱۳۹۱. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پوسته گردو واریته تویسرکانی و مقایسه فعالیت ضدرادیکالی آن با آنتی اکسیدانهای سنتزی. *نشریه پژوهش های صنایع غذایی*، جلد بیست و دوم، شماره ۱، صفحات ٤٩-٣٩.

۷. صمدلویی، ح. ر.، عزیزی، م. ح. و برزگر، م. ١٣٨٦. اثر آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولیک هسته

انار بر روغن سویا. *مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی*، جلد چهاردهم، شماره ٤، صفحات ۸-۱.

۸. طادی‌بنی، م.، انصاری، ف.، حیدری، ع. و خلیلی صدرآباد، الف. ۱۳۹٦. بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنولیک عصاره اتانولی پوست. *مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل*، دوره بیستم، ویژه نامه ۱، اولین کنگره ملی بهداشت و سلامت غذا-شیراز.

۹. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۹۷. روغن آفتابگردان پالایش شده-ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. استاندارد ملی ایران، شماره ۱۳۰۰.

10. AOCS. 1989. Official Methods and Recommended Practices of American Oil Chemists Society. 4th ed., AOCS, Champaign.
11. Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F. and Hafezi, S. 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of Biology,* 32: 43-9.
12. Elfalleh, W., Hannachi, H., Tlili, N., Yahia, Y., Nasri, N. and Ferchichi, A. 2012. Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. *Journal of Medicinal Plants Research,* 6: 4724-4730.
13. Flanagan, J., Kortegaard, K., Pinder, D.N., Rades, T. and Singh, H. 2006. Solubilisation of soybean oil in microemulsions using various surfactants. *Food Hydrocolloid,* 20: 253–260.
14. Han, D., Yi, O.S. and Shine, H.K. 2006. Antioxidative effect of ascorbic acid solubilized in oils via reversed micelles. *Journal of Food Science,* 55: 247-249.
15. Kanatt, S.R., Chander, R. and Sharma, A. 2010. Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. International *Journal of Food Science and Technology,* 45: 216–222.
16. Lee, S. C., Kim, J. H., Jeong, S. M., Kim, D. R., Ha, J.U. and Nam, K. C. 2003. Effect of far infrared radiation on the antioxidant activity of rice hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 51: 4400–4403.
17. Li, Y., Guo, Ch., Yang, J., Wei, J., Xu, J. and Cheng, Sh. 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry,* 96: 254-260.
18. Li, Y., Guo, Gh., Yang, J., Wei, J., Xu, J. and Cheng, Sh. 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry,* 96: 254-260.
19. Mansour, E., Ben Khaled, A., Lachiheb, B., Abid, M., Bachar, Kh. and Ferchich, A. 2013. Phenolic compounds, antioxidant, and antibacterial activities of peel extract from tunisian pomegranate. *Journal of Agricultural Science and Technology,* 15: 1393-1403.
20. Mohdaly, A.A.A., Smetanska, I., Ramadan, M. F., Sarhan, M. A. and Mahmoud, A. 2011. Antioxidant potential of sesame (Sesamum indicum) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. *Industrial Crops and Products,* 34: 952– 959.
21. Negi, P.S., Jayaprakasha, G. K. and Jena, B.S. 2003. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food Chemistry,* 3: 393-397.
22. Polizelli, M. A., Telis, V. R. N., Amaral, L.Q. and Feitosa, E. 2006. Formation and characterization of soy bean oil/surfactant/water microemulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects,* 281: 230–236.
23. Radi, M., Abbasi, S., Hamidi, Z., Azizi, M. H. 2013. Development of a new method for extraction of canola oil using lecithin based microemulsion systems. *Agro FOOD Industry Hi Tec,* 24: 70-72.
24. Serrano, J., Goni, I. and Saura-Calixto, F. 2007. Food antioxidant capacity determined by chemical methods may

underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Research International*, 40: 15–21.

25. Shahidi, F. 2005. Beiley's industrial oil and fat products. Volume 5, John Wiley & Sons, Inc., PP. 5-33.
26. Singh, R. P., Murthy, K. N. C. and Jayaprakasha, G. K. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 81-86.
27. Wang, Zh., Pan, Zh., Ma1, H. and Atungulu, G.G. 2011. Extract of phenolics from pomegranate peels. *Open Food Science Journal*, 5: 17-25.
28. Yunfeng, L., Changjiang, G., Jijun, Y., Jingyu, W., Jing, X. and Shuang, C. 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96: 254-260.

(Original Research Paper)

Addition of Aqueous Extract of Pomegranate Peel as an Antioxidant in Sunflower Oil Using Microemulsion System

Sedigheh Amiri [1], Elahe Parishani[2], Mohsen Radi[1*]

1- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran.

2- MS.c Student of Food Science and Technology, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran.

Received:15/10/2019 Accepted:11/08/2020

Abstract

Recently, due to the known antioxidant activity of plant compounds and their derivatives, great attention is attracted by using such compounds in food and biological systems. This study aimed to explore the possibility of adding the aqueous extract of pomegranate peel as an antioxidant in sunflower oil using microemulsion system. For this purpose, the effect of two solvents (water and 96% ethanol) on the extraction efficiency of phenolic compounds and DPPH radical scavenging property was investigated. Therefore, nano-capsulated aqueous extract (at 200 and 400 ppm), ethanolic extract and BHT (at 200 ppm) were added into an antioxidant free sunflower oil and the peroxide value, p-anisidine value and free fatty acid contents of treated oils were determined. Results showed that the phenolic content of aqueous extract was higher and, the lower radical-scavenging ability in DPPH test was related to ethanolic extract. The peroxide value, p-anisidine value and free fatty acid contents of sunflower oil containing 400 ppm aqueous extract at 50 ℃ were lower than other samples. It can be concluded that the usage of microemulsified aqueous pomegranate peel extract may improve the quality storage of sunflower oil when compared to the free extract.

Keywords: Microemulsion, Pomegranate Peel, Phenolic Compounds, Sunflower Oil.

*Corresponding Author: m.radi@iauyasooj.ac.ir