

استخراج ترکیبات فنولی و توکوفرولی گیاه متکا و بررسی تأثیر عصاره آن در پایداری روغن آفتابگردان بعنوان جایگزین آنتی اکسیدان سنتزی

بهناز مهدی نیا لیچایی^a، رضا اسماعیل زاده کناری^{b*}، غلامرضا دین پناه^c

^a دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

^b دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

^c استادیار گروه ترویج و آموزش کشاورزی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۱۱/۱۱

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۸/۰۹

چکیده

مقدمه: افزودن آنتی اکسیدان های طبیعی یکی از راه های محافظت روغن در برابر اکسیداسیون می باشد. هدف از این پژوهش، استخراج عصاره گیاه متکا با روش سیال فوق بحرانی و اندازه گیری ترکیبات فنولی و توکوفرولی عصاره گیاه متکا، و همچنین بررسی تأثیر آن بر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان طی شرایط نگهداری در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی یا مصنوعی TBHQ است.

مواد و روش ها: ابتدا عصاره اتانولی استخراج شده با استفاده از سیال فوق بحرانی در غلظت های مختلف (۱۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰ و ۲۵۰۰ پی پی ام) تهیه گردید. سپس میزان کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره با روش فولین سیوکالتو و ترکیبات توکوفرولی با روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری شدند. در ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی، غلظت ۲۵۰۰ ppm عصاره گیاه متکا مناسب ترین غلظت با بالاترین اثر آنتی اکسیدانی نسبت به سایر غلظت ها بود. لذا غلظت ۲۵۰۰ ppm عصاره متکا به منظور ارزیابی پایداری اکسایشی به روغن آفتابگردان اضافه شد. این روغن در دمای محیط طی ۶۰ روز نگهداری شد و عدد پراکسید، عدد کربونیل، شاخص پایداری اکسایشی، مقدار کل ترکیبات قطبی و عدد اسیدی هر ۱۵ روز اندازه گیری شده و با ۱۰۰ ppm آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ مقایسه گردید.

یافته ها: مقدار ترکیبات فنولی و توکوفرولی در عصاره اتانولی به ترتیب برابر با ۱۴۹۵/۸۱ برحسب میلی گرم گالیک اسید موجود بر ۱۰۰ گرم عصاره و ۵۸/۶ میلی گرم آلفا توکوفرول بر ۱۰۰ گرم عصاره بود.

نتیجه گیری: عصاره متکا در غلظت ۲۵۰۰ ppm به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و توکوفرولی، در روغن آفتابگردان اثر آنتی اکسیدانی داشته و توانایی رقابت با TBHQ را دارا می باشد که منجر به افزایش پایداری اکسیداتیو روغن گردیده است. لذا عصاره متکا می تواند جایگزین مناسبی برای آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ باشد. عصاره متکا کاملاً طبیعی بوده و مشکلاتی از قبیل سرطان زایی آنتی اکسیدان های سنتزی را ندارد.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدان سنتزی، روغن آفتابگردان، سیال فوق بحرانی، گیاه متکا

مقدمه

روغن و چربی از اجزاء اصلی غذا هستند که یک گرم آن حدود ۹/۲ کیلوکالری انرژی در بدن ایجاد کرده و در غذا طعم و مزه مطلوبی ایجاد می‌کند. اخیراً با رشد دانش عمومی، تقاضای مردم برای مصرف روغن‌هایی که علاوه بر تأمین انرژی و ایجاد طعم، در سلامتی هم مفید باشد، افزایش یافته است (گلی و همکاران، ۱۳۸۶). روغن‌های خوراکی حاوی مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع (به ویژه اسیدهای چرب چند غیراشباعی) می‌باشند که بسیار مستعد اکسیداسیون هستند. اکسیداسیون لیپیدها طی دوره نگهداری و یا فراوری مواد غذایی، نه تنها منجر به ایجاد مزه تند، بوی نامطبوع و تغییرات رنگی نامطلوب در آن‌ها می‌گردد بلکه ارزش تغذیه‌ای و ایمنی آن‌ها را نیز کاهش می‌دهد علاوه بر این، ترکیبات حاصل از اکسیداسیون لیپیدها سمی بوده و موجب به خطر افتادن سلامتی و بروز بیماری‌هایی نظیر سرطان می‌گردند (Zhang et al., 2010).

یکی از راه‌های جلوگیری از اکسیداسیون روغن‌ها و مواد غذایی، افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها^۱ است (اسماعیل زاده کناری، ۱۳۹۰). آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در مرحله آغازین و یا رادیکال پراکسی ایجاد شده در مرحله انتشار، هیدروژن داده و آن را از فرم رادیکالی خارج می‌کنند و به این ترتیب طول دوره اکسیداسیون کند را افزایش می‌دهند (Brewer, 2011). افزودن آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند بوتیلات هیدروکسی آنیزول (BHA)^۲، بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT)^۳، ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ)^۴ می‌تواند اکسیداسیون چربی را در مواد غذایی کنترل کند و در حال حاضر به صورت گسترده در صنایع روغن استفاده می‌شوند (Khalil & Mansour, 1998). علیرغم اینکه آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی طی فرایندهای حرارتی و نگهداری روغن مؤثر عمل می‌کنند اما استفاده نمودن از این آنتی‌اکسیدان‌ها از جنبه سمیت و ایمنی مواد غذایی بحث برانگیز است، بنابراین پژوهش بر روی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار

استخراج ترکیبات فنولی و توکوفرولی گیاه متکا و بررسی تأثیر عصاره آن در پایداری روغن آفتابگردان

است (Lee & Shibamoto, 2002; Iqbal & Bhangar, 2007).

گیاهان دارای ترکیبات با ارزشی هستند که علاوه بر مصارف غذایی برای تأمین انرژی، برای مصارف دیگر از استخراج رنگ، تولید مواد آرایشی و دارویی و درمانی نیز استفاده می‌گردند. برخی از آن‌ها دارای میزان قابل توجهی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند که در این میان ترکیبات فنولی عمده‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که تا کنون شناسایی شده اند (Brewer, 2011). گیاه متکا با نام علمی فرولا پرسیکا (*Ferula persica*) در منطقه شه‌میرزاد شهرستان سمنان به‌صورت گسترده رویش دارد و بنام محلی متکا معروف است (جدیدی و همکاران، ۱۳۸۹). جنس *Ferula* (آنگوزه) از خانواده چتریان نمایانگر بیش از ۱۵۰ گونه بوده و بومی آسیای مرکزی است که ۵۳ گونه به‌صورت خودرو در ایران می‌روید و به‌عنوان غذا و نیز در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Javidnia et al., 2005; Iranshahi et al., 2008). از گونه‌های بومی ایران می‌توان به آنگوزه (*Ferula asafetida*)، باریجه (قاسنی) (*Ferula gummosa* Bioss) و فرولا پرسیکا^۵ اشاره کرد (Zargari, 1988; Akhondzadeh, 2000). اکثر گونه‌های فرولا دارای فعالیت ضد اکسایشی و فعالیت ضد میکروبی بوده (Barthomeufa et al., 2008) و همچنین دارای ترکیباتی از قبیل آلکالوئیدها، کارتوتنوئیدها و فلاونوئیدها (Iranshahi et al., 2003) می‌باشند.

Dehpour و همکاران (۲۰۰۹) به بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی عصاره گیاه آنگوزه (*Ferula asafetida*) پرداختند. آن‌ها اعلام نمودند خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره با سیستم‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت و خواص خنثی‌کنندگی نیتریک اکسید و چلاته‌کنندگی خوب Fe^{2+} را نشان دادند. میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی این عصاره به ترتیب معادل ۹۴/۸ میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم و معادل ۹۰/۹ میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره گزارش شد. این مطالعه با هدف استخراج عصاره گیاه متکا با روش سیال فوق بحرانی و اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و توکوفرولی عصاره گیاه متکا، و همچنین بررسی تأثیر آن بر پایداری اکسایشی

¹Antioxidants ² Butylated Hydroxyl Anisole
⁵ Tert-butyl Hydro Quinone

³ *Ferula Persica* ⁴ Butylated Hydroxyl Toluene

روغن آفتابگردان طی شرایط نگهداری در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ است.

مواد و روش‌ها

مواد -

روغن آفتابگردان بدون آنتی اکسیدان از مجتمع کشت و صنعت شمال تهیه گردید و تا زمان انجام آزمایش در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده است. گیاه متکا در شهرستان ساری خریداری شده است. این گیاه را پس از تمیز نمودن، به دور از نور آفتاب خشک شده و سپس به وسیله آسیاب (Molinox-684-French) کاملاً به صورت پودر در آمدند. تمامی مواد شیمیایی و آنتی-اکسیدان سنتزی ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ) از شرکت‌های مرک و سیگما آلد ریچ خریداری شدند.

در این روش معرف فولین در حضور ترکیبات فنولی در محلول قلیایی، احیا و رنگ آبی در محلول تولید می‌شود (Pourmorad *et al.*, 2006). ۵۰ میکرولیتر از نمونه با ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین - سیو کالتو که به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر رقیق شده مخلوط گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات (۷/۵ درصد وزنی حجمی) به آن اضافه شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد تا فاز آبی گسترش یابد و سپس جذب آن در ۷۶۵ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتری UV-Vis خوانده شد و نتایج بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره بیان شد. در این روش معرف فولین - سیو کالتو در حضور ترکیبات فنولی در محلول قلیایی، احیا و رنگ آبی در محلول تولید می‌شود (Capannesi *et al.*, 2000).

- اندازه‌گیری ترکیبات توکوفرولی

میزان کل ترکیبات توکوفرولی عصاره بر مبنای α - توکوفرول اندازه‌گیری شد در این آزمون، ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره بدقت داخل بالن ژوژه ۱۰ میلی لیتری وزن شد. ۵ میلی لیتر تولوئن به نمونه اضافه و به خوبی مخلوط شد. سپس ۳/۵ میلی‌لیتر محلول ۲،۲- بی پیریدین^۲ (۰/۷ درصد وزنی حجمی در اتانول آبی ۹۵ درصد) و ۰/۵ میلی لیتر کلرید آهن III شش آبه (۰/۲ درصد وزنی حجمی در اتانول آبی ۹۵ درصد) اضافه و مخلوط گردید. سرانجام حجم محلول با اتانول آبی ۹۵ درصد به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت یک دقیقه در حال سکون قرار گرفت و جذب آن در ۵۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتری UV-Vis خوانده شد. مقدار ترکیبات توکوفرولی بر اساس میلی‌گرم در کیلوگرم نمونه روغن بر طبق رابطه ۱ محاسبه گردید:

$$T = \frac{A-B}{M \times W} \quad (1)$$

که A و B به ترتیب جذب نمونه و شاهد در سل ۱۰ میلی‌متری هستند. M شیب منحنی استاندارد جذب در برابر غلظت آلفا - توکوفرول و W وزن نمونه به گرم می‌باشد (Wong & timms, 1998).

- آماده سازی عصاره

۲۰ گرم پودر متکا با ۱۰۰ میلی لیتر حلال اتانول ترکیب شد، سپس عصاره‌گیری توسط CO₂ فوق بحرانی (Suprex MPS/225 Multipurpose system) در دمای ۳۵ درجه و فشار ۱۰۰ بار به مدت ۳۰ دقیقه صورت گرفت. پس از پایان عمل استخراج محلول توسط دستگاه سانتریفیوژ مدل (HERMLE z200A - Germany) به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰ rpm و در هر مرحله فاز روئی جمع‌آوری شد تا دیگر رسوبی در ته لوله دیده نشود سپس فاز روئی جمع‌آوری شده با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد. در ادامه توسط اواپراتور تحت خلاء (TAM 2times - Iran) در دمای ۵۰ درجه حلال تبخیر شده و عصاره به دست آمده را به منظور جلوگیری از نور، با فویل آلومینیوم پوشانده و تا زمان انجام آزمایش در فریزر دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Delfanian *et al.*, 2014).

- اندازه‌گیری ترکیبات فنولی

مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره از طریق روش طیف سنجی با معرف فولین - سیو کالتو^۱ مورد بررسی قرار گرفت (Esmailzadeh kenari *et al.*,)

¹ Folin-Ciocalteu

² 2,2 Bipyridine

استخراج ترکیبات فنولی و توکوفرولی گیاه متکا و بررسی تأثیر عصاره آن در پایداری روغن آفتابگردان

بررسی پایداری روغن آفتابگردان در شرایط نگهداری

عصاره استخراجی گیاه متکا در غلظت ۲۵۰۰ ppm به روغن فاقد آنتی اکسیدان افزوده شد و به مدت ۶۰ روز در دمای محیط دور از نور نگهداری گردید. هر ۱۵ روز (زمان‌های ۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز) از روغن فوق نمونه برداری شد. نمونه‌ها در فریزر و در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد تا شروع آزمایشات نگهداری شد. برای نمونه شاهد و نمونه حاوی آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ همین مراحل طی شد، به استثنای اینکه در نمونه شاهد هیچ عصاره ای استفاده نشد، در حالیکه که برای نمونه دیگر ۱۰۰ ppm ضد اکسایش سنتزی TBHQ استفاده شد (Zia-ur et al., 2004). ارزیابی پایداری طی دوره نگهداری روغن شامل آزمون‌های عدد پر اکسید، عدد کربونیل، پایداری اکسایشی، ترکیبات قطبی و عدد اسیدی بود که به ترتیب از روش‌های موجود در منابع زیر (Farhoosh, 2007; Endo et al., 2001; AOCS, 1990 AOCS, 1993; Schulte, 2004) مورد ارزیابی قرار گرفت. در کلیه آزمایشات نمونه‌ها با نمونه روغن آفتابگردان حاوی ۱۰۰ ppm آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ و روغن آفتابگردان بدون آنتی اکسیدان (نمونه شاهد) مورد مقایسه قرار گرفت.

ترکیبات فنولی و توکوفرولی

نتایج حاصل از بررسی ترکیبات فنولی و توکوفرولی عصاره نشان داد میزان ترکیبات فنولی ۱۴۹۵/۸۱ میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم عصاره و توکوفرولی ۵۸/۶ میلی‌گرم آلفا - توکوفرول در ۱۰۰ گرم عصاره گیاه متکا بوده است.

تغییرات عدد پراکسید نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

در جدول ۱ مقادیر عدد پراکسید نمونه‌های روغن در دوره نگهداری نشان داده شده است. روند تغییرات ترکیبات پراکسید در هر سه نمونه مورد بررسی افزایشی است. در نمونه‌های شاهد و نمونه‌های حاوی TBHQ مقادیر عدد پراکسید با یکدیگر اختلاف معنی‌دار آماری داشتند ولی در نمونه‌های حاوی عصاره تا روز ۱۵ نگهداری از نظر میزان عدد پراکسید اختلاف معنی‌دار آماری دیده نشد هرچند که دارای روند آن افزایشی بود. نمونه شاهد بیشترین میزان عدد پراکسید و نمونه حاوی عصاره کمترین میزان عدد پراکسید را داشت. نمونه حاوی عصاره در روز ۴۵ و ۶۰ نگهداری به مقدار معنی‌داری عدد پراکسید کمتری نسبت به نمونه حاوی TBHQ نشان داد اما در سایر زمان‌ها بین آن‌ها اختلافی دیده نشد.

تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق از طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار با نرم‌افزار MSTAT-C استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون‌های دانکن و T-Test در سطح معنی‌داری ۵ درصد صورت گرفت. همچنین برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft excel استفاده گردید.

تغییرات عدد کربونیل نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

شکل ۱ نتایج تغییرات عدد کربونیل نمونه‌های مختلف طی دوره نگهداری را نشان می‌دهد. با گذشت زمان نگهداری عدد کربونیل در تمام نمونه‌ها افزایش یافت و با زمان‌های قبل از خود اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) داشت. نمونه‌های حاوی عصاره کمترین میزان کربونیل را

یافته‌ها

جدول ۱- مقایسه متوسط عدد پراکسید روغن در طی نکه داری (میلی اکی والان گرم پراکسید در کیلوگرم روغن)

تیمار	۰	۱۵ روز	۳۰ روز	۴۵ روز	۶۰ روز
نمونه شاهد	۰/۵۴ ± ۰/۰۵ ^{Aa}	۰/۸۵ ± ۰/۰۶ ^{Bb}	۱/۴۴ ± ۰/۰۷ ^{Cb}	۲/۴۸ ± ۰/۰۸ ^{Dc}	۳/۶۱ ± ۰/۱۴ ^{Ec}
نمونه حاوی TBHQ	۰/۴۶ ± ۰/۰۵ ^{Aa}	۰/۶۵ ± ۰/۰۶ ^{Ba}	۰/۹۱ ± ۰/۰۸ ^{Ca}	۱/۵۱ ± ۰/۰۴ ^{Db}	۲/۰۲ ± ۰/۱۰ ^{Eb}
نمونه حاوی عصاره	۰/۵۳ ± ۰/۰۷ ^{Aa}	۰/۶۴ ± ۰/۰۵ ^{Aa}	۰/۸۴ ± ۰/۰۵ ^{Ba}	۱/۰۸ ± ۰/۰۶ ^{Ca}	۱/۲۷ ± ۰/۰۵ ^{Dc}

حروف بزرگ غیر مشابه در یک ردیف و حروف کوچک در یک ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۵ درصد است ($P < 0.05$).

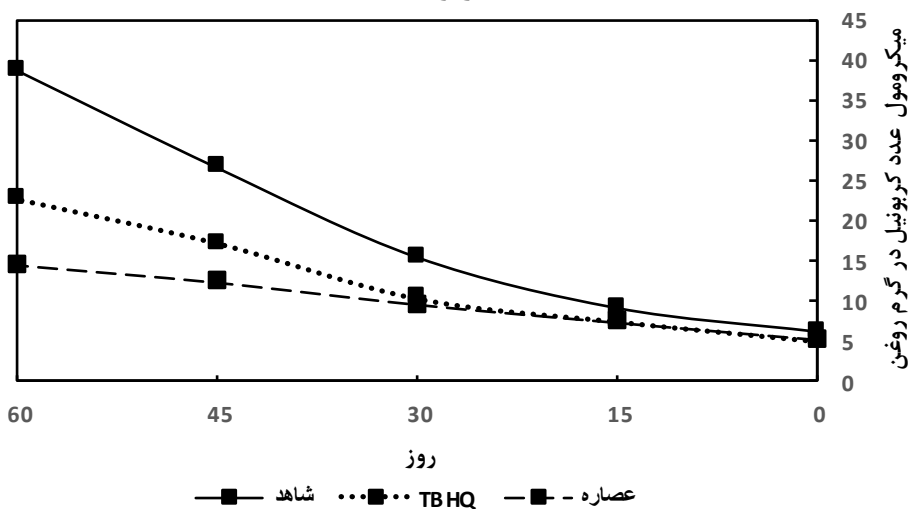
می‌شود پایداری اکسایشی تمام نمونه‌ها باگذشت زمان کاهش یافت. در تمام نمونه‌ها پایداری اکسایشی در روزهای ۰ و ۱۵ و همچنین در روزهای ۴۵ و ۶۰ باهم اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) نداشتند. نمونه‌های شاهد کمترین پایداری اکسایشی را داشت. تا روز ۳۰ نگهداری هر سه نمونه باهم اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) داشتند. در سایر روزها بین نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی و عصاره اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) دیده نشد.

داشتند. تا روز ۳۰ نگهداری نمونه‌های حاوی TBHQ و عصاره با یکدیگر اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) نداشتند. در سایر روزهای نگهداری بین نمونه‌ها اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) وجود داشت.

تغییرات پایداری اکسایشی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

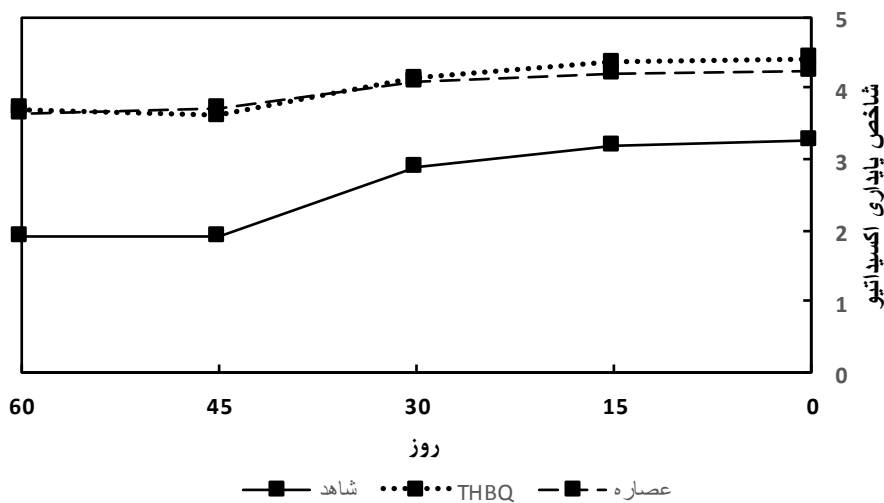
شکل ۲ مقادیر پایداری اکسایشی نمونه‌های روغن در دوره نگهداری را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده

عدد کربونیل



شکل ۱- تغییر در عدد کربونیل نمونه روغن در طی نگهداری

پایداری اکسیداتیو



شکل ۲- تغییر پایداری اکسیداتیو نمونه‌های روغن در طی نگهداری

همان طور که مشاهده می‌شود باگذشت زمان نگهداری، عدد اسیدی در تمام نمونه‌ها افزایش یافت و با زمان‌های قبل از خود اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) داشت. نمونه شاهد بیشترین عدد اسیدی را داشت بعد از آن نمونه TBHQ قرار داشت و نمونه حاوی عصاره که کمترین عدد اسیدی را داشت. این نمونه‌ها از نظر عدد اسیدی با یکدیگر اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) داشتند. در روز ۱۵ نگهداری بین نمونه‌های حاوی عصاره و TBHQ اختلاف معنی‌دار آماری دیده نشد.

بحث

- ترکیبات فنولی و توکوفرولی

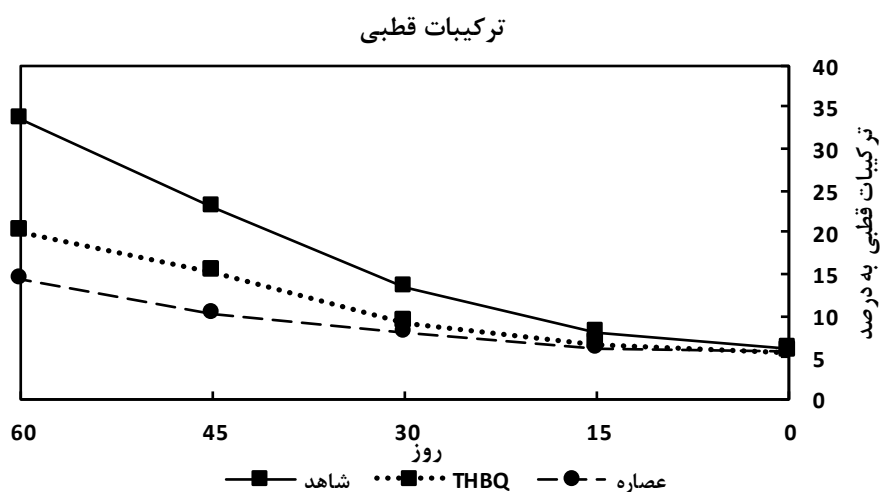
ترکیبات فنولی تقریباً در تمام بخش‌های گیاه وجود دارند و در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک مانند رشد سلولی، جوانه‌زنی دانه و رسیدن میوه نقش دارند.

- تغییرات ترکیبات قطبی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

شکل ۳ میزان ترکیبات قطبی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری را نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود در تمام نمونه‌ها ترکیبات قطبی افزایش یافت و اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) با زمان‌های قبل از خود داشت. نمونه‌های شاهد بیشترین ترکیبات قطبی را داشتند. به جز لحظه شروع نگهداری در سایر زمان‌ها بین هر سه نمونه اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) دیده شد. در نمونه‌های حاوی عصاره و TBHQ که به مدت طولانی نگهداری شده بودند به جز روز صفر در سایر روزها اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) دیده شد.

- تغییرات عدد اسیدی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

جدول ۲ مقادیر عدد اسیدی برای نمونه‌های روغن که طی ۶۰ روز نگهداری شده بودند را نشان می‌دهد.



شکل ۳- تغییر در ترکیبات قطبی در نگهداری روغن

جدول ۲- مقایسه میانگین عدد اسیدی در طی نگهداری (میلی‌گرم KOH به ازای کیلوگرم روغن)

تیمار	۰	۱۵ روز	۳۰ روز	۴۵ روز	۶۰ روز
نمونه شاهد	0.13 ± 0.01^{Aa}	0.21 ± 0.02^{Ba}	0.35 ± 0.03^{Ca}	0.61 ± 0.05^{Dc}	0.88 ± 0.07^{Ec}
نمونه حاوی TBHQ	0.15 ± 0.01^{Ab}	0.16 ± 0.02^{Ba}	0.22 ± 0.02^{Bb}	0.37 ± 0.02^{Cb}	0.49 ± 0.03^{Db}
نمونه حاوی عصاره	0.14 ± 0.01^{Aa}	0.14 ± 0.02^{Ba}	0.19 ± 0.02^{Ba}	0.24 ± 0.03^{Ca}	0.29 ± 0.01^{Da}

حروف بزرگ غیر مشابه در یک ردیف و حروف کوچک در یک ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۵ درصد است ($P < 0.05$).

افزایشی داشته است. نمونه شاهد بیشترین میزان عدد پراکسید را به خود اختصاص داد. روند تغییرات عدد پراکسید در نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان به طور منظم افزایش یافت. این نتایج با نتایج خرمی و همکاران (۱۳۹۲) که اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره ترب در دو غلظت ۴۰۰ ppm و ۸۰۰ ppm را در روغن آفتابگردان که به مدت ۶۰ روز نگهداری شده بود، مورد بررسی قرار دادند مطابقت داشت.

– تغییرات عدد کربونیل نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

کربونیل‌ها یکی از اصلی‌ترین ترکیبات ثانویه حاصل از تجزیه هیدروپراکسیدهای چربی هستند. از آنجایی که عدد پراکسید شاخص مناسبی برای بررسی کیفیت روغن در دماهای بالا نمی‌باشد می‌توان با استفاده از عدد کربونیل روند تغییرات فساد و کیفیت روغن را مورد بررسی قرار داد. چراکه کربونیل‌ها ترکیبات پایدارتری می‌باشند (Farhoosh & Esmaeilzadeh Kenari, 2009). این ترکیبات با ایجاد بوهای نامطبوع و کاهش ارزش تغذیه‌ای روغن‌ها منجر به کاهش عمر ماندگاری روغن‌های خوراکی می‌شوند (Aladedunye & Matthaus, 2014). همانطور که در شکل ۱ نشان داده شد روند تغییرات عدد کربونیل در تمام نمونه‌های مورد بررسی طی دوره نگهداری افزایشی بود و با زمان قبل از خود اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) داشت. بیشترین مقادیر عدد کربونیل مربوط به نمونه شاهد بود. نمونه‌های حاوی عصاره کمترین میزان عدد کربونیل را داشتند. نتایج حاصل با نتایج توکلی و همکاران (۱۳۹۲) مطابقت دارد. آن‌ها ضمن بررسی تغییرات عدد کربونیل در نمونه‌های روغن آفتابگردان حاوی عصاره متانولی پوست ازگیل اعلام نمودند این عصاره مانع رسیدن عدد کربونیل به حد بحرانی شده است و عملکرد مناسبتری نسبت به TBHQ داشته است.

– تغییرات پایداری اکسایشی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

یکی دیگر از معیارهای شناسایی فساد و اندازه‌گیری کیفیت روغن‌های خوراکی بررسی پایداری اکسایشی می‌باشد. پایداری اکسایشی مدت زمان لازم جهت گسترش تندی قابل اندازه‌گیری در روغن‌ها و چربی‌های خوراکی

توکوفرول‌ها ترکیبات ضد اکسایشی موجود در عصاره‌ها هستند که به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا و خاصیت ویتامینی مورد توجه هستند (Wong & Timms, 1998). بررسی مقدار ترکیبات فنولی و توکوفرولی عصاره‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است، چرا که ویژگی آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های به دست آمده از حلال‌های مختلف، عمدتاً ناشی از قدرت احیا کنندگی ترکیبات فنولی موجود در آن هست. این ترکیبات، عصاره‌ها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن می‌سازد. ترکیبات فنولی همچنین از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند (میراحمدی و همکاران، ۱۳۸۴). روند استخراج ترکیبات فنولی یک فاکتور مهم در تعیین خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره است. دما، حلال، زمان عصاره‌گیری، قدرت استخراج و روش استخراج تأثیر چشم‌گیری روی ترکیبات عصاره خواهد گذاشت. این تفاوت‌ها وابسته به تمایل این ترکیبات به حلال مورد نظر برای عصاره‌گیری و مخصوصاً قطبیت آن است (Yung-shin *et al.*, 2009). طبق نتایج حاصل عصاره‌های استخراج شده با هر دو روش با یکدیگر اختلاف معنی‌دار آماری داشتند و میزان این ترکیبات در روش فوق بحرانی بیشتر بود.

– تغییرات عدد پراکسید نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسیداسیون چربی‌ها هستند و یکی از شاخص‌های تعیین کننده فساد روغن‌ها هست. همچنین شاخصی برای ارزیابی تازگی و کیفیت روغن هست (Farhoosh & Moosavi, 2009). به طور کلی هر قدر که درجه غیراشباعی روغن‌ها و چربی‌ها افزایش یابد حساسیت اکسیداتیو بیشتر می‌شود. گرما، نور، اکسیژن و فلزات از جمله عوامل تشدید کننده اکسیداسیون هستند. تجزیه هیدروپراکسیدها باعث تولید آلدهید و کتون می‌شود. این شاخص در روغن‌های مختلف تحت تأثیر نوع روغن و میزان سیرن‌اشدگی آن، مدت زمان نگهداری روغن و مناسب بودن ظروف بسته‌بندی قرار می‌گیرد (Albu *et al.*, 2004). همانطور که در جدول ۱ نشان داده شد عدد پراکسید نمونه‌های مختلف طی دوره نگهداری روند

– تغییرات عدد اسیدی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

عدد اسیدی شاخصی برای تعیین فساد روغن‌ها و میزان خاصیت اسیدی آن‌ها هست. هیدرولیز تری آسید گلیسرول‌ها به گروه‌های کربونیل که در نتیجه فرآیند اکسیداسیون چربی اتفاق می‌افتد منجر به افزایش عدد اسیدی و افزایش نقطه دود روغن می‌شود (Khraisha, 2000). همانطور که در جدول ۲ نشان داده شد عدد اسیدی نمونه‌های مختلف در طول دوره نگهداری افزایش یافت و با زمان‌های بعد از خودش اختلاف معنی دار آماری ($P < 0/05$) داشت. نمونه شاهد بیشترین مقادیر عدد اسیدی و نمونه‌های حاوی عصاره کمترین مقادیر عدد اسیدی را داشتند. این نتایج همچنین با نتایج توکلی و همکاران (۱۳۹۲) مطابقت دارد. آن‌ها ضمن بررسی تغییرات عدد اسیدی در نمونه‌های روغن آفتابگردان حاوی عصاره متانولی پوست ازگیل اعلام نمودند این عصاره در کاهش عدد اسیدی مؤثر بوده است و حتی مؤثرتر از TBHQ عمل نموده است.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که عصاره استخراجی گیاه متکا با استخراج‌کننده سیال فوق بحرانی به علت داشتن ترکیبات فنولی به میزان ۱۴۹۵/۸۱ میلی‌گرم اسید گالیک بر ۱۰۰ گرم عصاره و ترکیبات توکوفرولی ۵۸/۶ میلی‌گرم آلفا – توکوفرول بر ۱۰۰ گرم عصاره، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی است. این فعالیت آنتی-اکسیدانی بالا ممکن است به دلیل حضور هم‌زمان آلفا – توکوفرول و پلی‌فنول‌ها به‌صورت هم‌زمان و اثر تشدیدکنندگی آن‌ها روی هم باشد. نتایج آزمون‌های اندازه‌گیری عدد پراکسید، عدد کربونیل، پایداری اکسایشی و ترکیبات قطبی نشان دادند در نمونه‌های حاوی عصاره متکا، میزان اکسیداسیون روغن کمتر از ترکیبات حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ و نمونه شاهد بود. لذا عصاره متکا به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و توکوفرولی توانایی رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ را داشته و می‌تواند جایگزین مناسبی برای این آنتی‌اکسیدان سنتزی در تأخیر اکسیداسیون روغن آفتابگردان باشد و باعث افزایش ماندگاری روغن شود. همچنین گرایش به ترکیبات

تعریف می‌شود (اسماعیل زاده کناری و فرهوش، ۱۳۸۷). همانطور که در شکل ۲ نشان داده شد در نمونه‌ها طی دوره نگهداری شده به مدت طولانی با گذشت زمان پایداری اکسایشی نمونه‌های مختلف کاهش یافت و نمونه شاهد کمترین میزان پایداری اکسایشی را داشت. تیموری و همکاران (۱۳۹۰) عصاره رزماری، برگ زیتون و سیر را به روغن کلزا اضافه نمودند و اثر آنتی‌اکسیدانی این عصاره‌های طبیعی را با اثر آنتی‌اکسیدان TBHQ در کاهش اکسایش روغن مقایسه نمودند. نتایج نشان داد که بعضی از مخلوط-های آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را می‌توان در روغن کلزا به عنوان جانشین آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ به کار برد و علاوه بر حذف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی که در بافت‌ها و اندام‌ها تجمع یافته و احتمال دارد باعث ایجاد سرطان و تومور گردند، پایداری حرارتی روغن را افزایش داد.

– تغییرات ترکیبات قطبی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری

ترکیبات قطبی یکی دیگر از شاخص‌های سنجش کیفیت روغن‌ها می‌باشند. سمیت ترکیبات قطبی در موش‌های آزمایشگاهی به اثبات رسیده است (Farhoosh & Moosavi, 2006). این ترکیبات از تجزیه تری گلیسیریدهای چربی طی فرآیند سرخ کردن ایجاد می‌شود. روغن‌های غنی از اسیدهای چرب غیراشباع مانند روغن کانولا و یا آفتابگردان نسبت به روغن‌های اشباع مقادیر ترکیبات قطبی بیشتری طی فرآیند حرارت‌دهی آزاد می‌کنند (Farhoosh & Tavassoli-kafrani, 2010). همانطور که در شکل ۳ نشان داده شد میزان ترکیبات قطبی نمونه‌های روغن طی دوره نگهداری در تمام نمونه‌ها افزایش بود. نمونه‌های شاهد بیشترین ترکیبات قطبی را داشتند. و بجز لحظه شروع در تمام زمان‌های نگهداری بین هر سه نمونه اختلاف معنی‌دار آماری دیده شد. سلطان تویه و همکاران (۱۳۹۲) دو غلظت ۴۰۰ ppm و ۸۰۰ ppm از عصاره متانولی پوست سیب‌زمینی را به روغن آفتابگردان افزوده و اثرات آن بر ترکیبات قطبی روغن طی ۶۰ روز نگهداری را با ۱۰۰ ppm از آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ مقایسه نمودند. نتایج نشان داد ترکیبات قطبی با افزایش زمان افزایش یافت و عصاره نقش مؤثری در کاهش این ترکیبات داشت.

فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران، دوره ۴، شماره ۱۵، صفحات ۲۵۴-۲۴۱.

میر احمدی، ف.، فاطمی، ح. و سحری، م. (۱۳۸۴). اثر پلی فنول های موجود در عصاره برگ سبز چای در جلوگیری از اکسیداسیون روغن آفتابگردان. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران، دوره ۲، شماره ۴، صفحات ۷۰-۶۱.

Akhonzadeh, S. (2000). Encyclopedia of Iranian medicinal plants. Tehran: Arjmand Press. pp. 76-77.

Aladedunye, F. & Matthäus, B. (2014). Phenolic extracts from *Sorbus aucuparia* (L.) and *Malus baccata* (L.) berries: Antioxidant activity and performance in rapeseed oil during frying and storage, *Food Chemistry*, 159, 273-281.

Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, P. & Mason, J. (2004). Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11, 261-265.

AOCS. (1990). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Champaign. IL.

AOCS. (1993). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. AOCS Press. Champaign. IL.

Barthomeufa, C., Lima, S., Iranshahi, M. & Chollet, P. (2008). Umbelliprenin from *Ferula szowitsiana* inhibits the growth of human M4Beu metastatic pigmented malignant melanoma cells through cell-cycle arrest in G1 and induction of caspase-dependent apoptosis. *Phytomedicine*, 15, 103-111.

Brewer, M. (2011). Natural antioxidants sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(4), 221-247.

Capanesi, C., Palchetti, I., Mascini, M. & parenti, A. (2000). Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chemistry*, 71, 553-562.

Dehpour, A. A., Ebrahimzadeh, M. A., Fazel, N. & Nabavi, M. (2009). Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition, *Grasas Y Aceites*, 60 (4), 405-412.

Delfanian, M., Esmailzadeh Kenari, R. & Sahari, M. A. (2014). Antioxidative effect of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit skin

طبیعی به دلیل ایمنی بیشتر و نهایتاً خطرات بالقوه آنتی اکسیدان های سنتزی خصوصاً TBHQ، باعث می شود جایگزین های طبیعی آن مانند عصاره گیاه متکا ارجحیت پیدا کنند.

منابع

اسماعیل زاده کناری، ر. و فرهوش، ر. (۱۳۸۷). بررسی پایداری اکسایشی روغن کانولا و روش های پایداری آن. پایان نامه دکترای تخصصی، دانشگاه فردوسی مشهد.

اسماعیل زاده کناری، ر. (۱۳۹۰). تکنولوژی پیشرفته در صنایع غذایی. نشر علوم کشاورزی، صفحات ۲۲۵-۲۲۰.

توکلی، خ.، اسماعیل زاده کناری، ر. و ناهیدی، ف. (۱۳۹۲). تاثیر آنتی اکسیدانی عصاره متانولی پوست ازگیل در پایداری سازی روغن آفتابگردان طی شرایط حرارتی. دومین همایش ملی علوم و صنایع غذایی.

تیموری، ر.، علیزاده خالدآباد، م. و جعفریان، پ. (۱۳۹۰). اثر غنی سازی با عصاره متانولی سیر، رزماری و برگ زیتون بر برخی ویژگی های شیمیایی روغن کلزا. نشریه پژوهش های صنایع غذایی، جلد ۲۱، شماره ۴. صفحات ۴۰۱-۴۱۰.

جدیدی، م.، وفايي، ع.، میلادی گرجی، ح. و بابایی سعیدآبادی، ا. (۱۳۸۹). بررسی اثر عصاره گیاه سکبینه (*Ferula persica*) بر علائم ناشی از قطع مرفین و دوره خواب در موش سوری. پژوهش در پزشکی، دوره ۳۴، شماره ۴، صفحات ۲۳۰-۲۲۵.

خرمی، س. م.، اسماعیل زاده کناری، ر. و عطای صالحی، ا. (۱۳۹۲). ارزیابی اثر آنتی اکسیدانی عصاره برگ ترب بر پایداری سازی روغن آفتابگردان در شرایط نگهداری. دومین همایش ملی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، صفحات ۱۲-۱.

سلطان تویه، س. ط.، اسماعیل زاده کناری، ر. و ناهیدی، ف. (۱۳۹۲). اثر آنتی اکسیدانی عصاره متانولی پوست سیب زمینی در پایداری سازی روغن آفتابگردان طی شرایط ذخیره سازی. دومین همایش ملی علوم و صنایع غذایی، ۹ و ۱۰ اردیبهشت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان.

گلی، ا. ح.، کدیور، م.، بهرامی، ب. و سبزیلیان، م. ر. (۱۳۸۶). خصوصیات فیزیکی شیمیایی روغن دانه ماریتیغال.

extract in soybean oil. *Food science & Nutrition*, 3(1): 74–80.

Endo, Y., Li, C. M., Tagiri-Endo, M. & Fugimoto, K. (2001). A modified method for the estimation of total carbonyl compounds in heated and frying oils using 2-propanol as a solvent. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 10, 1021-1024.

Esmailzadeh Kenari, R., Mohsenzadeh, F. & Amiri, Z. (2014). Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-assisted extraction methods. *Food Science & Nutrition*, 2, 426–435.

Farhoosh, R. & Moosavi, S. M. R. (2006). Determination of carbonyl value in rancid oils: a critical reconsideration. *Journal of Food Lipids*, 13, 298-305.

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 soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 84(3), 205-209.

Farhoosh, R. & Moosavi, S. M. R. (2009). Evaluating the Performance of Peroxide and Conjugated Diene Values in Monitoring Quality of Used Frying Oils. *Journal of Agriculture Science and Technology*, 11, 173-179.

Farhoosh, R. & Esmailzadeh kenari, R. (2009). Anti-rancidity of sesame and rice bran oils on canola oil during deep frying. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86, 539-544.

Farhoosh, R. & Tavassoli-Kafrani, M. H. (2010). Polar compounds distribution of sunflower oil as affected by unsaponifiable matters of Bene hull oil (BHO) and tertiary-butylhydroquinone (TBHQ) during deep-frying. *Food Chemistry*, 122, 381-385.

Iqbal, S. & Bhangar, M. I. (2007). Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*, 100, 246 - 254.

Iranshahi, M., Amin, G., Amini, M. & Shafiee, A. (2003). Sulfur containing derivatives from *Ferula persica* var. *latisecta*. *Phytochemistry*, 63, 965–966.

Iranshahi, M., Mojarab, M., Sadeghian, H., Hanafi-Bojd, M. Y. & Schneider, B. (2008).

Polar secondary metabolites of *Ferula persica* roots. *Phytochemistry*, 69, 473–478.

Javidnia, K., Miri, R., Kamalinejad, M. & Edraki N. (2005). Chemical composition of *Ferula persica* Wild. essential oil from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 605–606.

Khalil, A. H. & Mansour, E. M. (1998). Control of lipid oxidation in cooked and Uncooked refrigerated crap fillets by antioxidant and packaging combinations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 1158-1162.

Khraisha, Y. H. (2000). Retorting of oil shale followed by solvent extraction of spent shale: Experiment and kinetic analysis. *Journal of Energy Sources*, 22, 347-355.

Lee, K. & Shibamoto, T. (2002). Determination of Antioxidant Potential of Volatile Extracts Isolated from Various Herbs and Spices. *Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4947 – 4952.

Pourmorad, F., Hosseini-mehr, S. J. & Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 5, 1142– 1145.

Schulte, E. (2004). Economical micromethod for determination of polar components in frying fats. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106, 772-776.

Wong, M. L. & Timms, R. E. (1998). Colorimetric determination of total tocopherols in palm oil. Olein and Stearin. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 65, 258-261.

Yung-Shin, S., Jau-Tien, L., Yuan-Tsung, C., China-Jung, C. & Deng-Jue, Y. (2009). Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (*Anethum graveolens* L.) flower. *Food Chemistry*, 115 (2), 515-521.

Zargari, A. ed. (1988). Medicinal plants. 4th ed. Tehran: Tehran University Publications. pp. 592-602.

Zhang, Y., Yang, L., Zu, Y., Chen, X., Wang, F. & Liu, F. (2010). Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chemistry*, 118, 656 – 662.

Zia-ur, R., Habib, F. & Shah, W. H. (2004). Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. *Food Chemistry*, 85(2), 215–220.