(مقاله پژوهشی)

فعالیت ضداکسایشی عصاره میکروامولسیون شده چای سبز در روغن کلزا

ویدا انصاری[۱]، صدیقه امیری[۱*]، محسن رادی[۱]، فرود باقری[۱]

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۰۸

چکیده

روغن‌های گیاهی در معرض اکسایش هستند که چنین واکنشی منجر به از دست رفتن کیفیت و ارزش تغذیه‌ای روغن می‌شود. به منظور مهار اکسیداسیون روغن، می‌توان از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی استفاده کرد. این تحقیق به منظور بررسی امکان استفاده از عصاره آبی چای سبز به شکل میکروامولسیون در روغن کلزا و مقایسه عملکرد آن با عصاره اتانولی چای سبز با هدف به تأخیر انداختن اکسایش روغن انجام شد. برای این منظور ابتدا تأثیر دو حلال آب و اتانول ۹۶٪ بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و به دام اندازی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل بررسی شد و در نهایت عصاره آبی [با استفاده از سامانه میکروامولسیون (به شکل کپسول‌هایی در ابعاد نانو)] و اتانولی چای سبز و همچنین آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن در غلظت ppm ۲۰۰ به روغن کلزا بدون افزودنی (بدون آنتی‌اکسیدان) اضافه و اندیس پراکسید، آنیزیدین و اسیدهای چرب آزاد آن اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که عصاره آبی بیش‌ترین میزان ترکیبات فنولی (۴۵۳/۳۲ میلی‌گرم بر گرم نمونه) و بالاترین درصد بازدارندگی در آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل (۹۱٪) را داشت. نتایج آنالیز آماری نشان داد که عصاره آبی چای سبز در سطح ppm۲۰۰ و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد بالاترین تاثیر را در کنترل اندیس پراکسید، آنیزیدین و اسیدهای چرب آزاد در روغن کلزا داشت ($p<0.05$). نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از عصاره‌ی چای سبز به‌شکل سامانه میکروامولسیون به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی نسبت به بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن جهت جلوگیری از اکسیداسیون روغن مناسب‌تر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: چای سبز، میکروامولسیون، ترکیبات فنولی، روغن کلزا

* مسوول مکاتبات: s.amiri@iauyasooj.ac.ir

۱- مقدمه

روغن‌های گیاهی منبع اصلی لیپید مورد استفاده در رژیم غذایی و فرایندهای آشپزی هستند. این روغن‌ها طی فرایندهای حرارتی مثل سرخ‌کردن، تخریب می‌شوند و ارزش کیفی و تغذیه‌ای خود را از دست می‌دهند (۱) و با پیشرفت اکسیداسیون، ترکیبات سمی و خطرناکی تولید می‌کنند که برای سلامتی انسان مضر است (۲). بنابراین ضروری است که با افزایش پایداری روغن از این فرایند جلوگیری کرد و یا شروع فرایند را به تعویق انداخت. متداول‌ترین روش جهت جلوگیری از فرایند اکسیداسیون، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها است. مطالعه‌ها نشان داده است که آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی عوارض نامطلوبی دارند و به‌همین دلیل امروزه سعی می‌شود که از منابع گیاهی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان استفاده کرد (۳). چای نوشیدنی محبوبی است که در سرتاسر جهان به شکل چای تخمیر نشده (چای سبز)، نیمه‌تخمیری (اولانگ[1]) و تخمیر شده (چای سیاه) مورد استفاده قرار می‌گیرد. کاتچین‌های موجود در چای سبز عمدتاً شامل چهار جزء پلی‌فنولی از جمله اپی‌کاتچین، اپی‌کاتچین گالات، اپی‌گالوکاتچین و اپی‌گالوکاتچین گالات می‌باشند. کاتچین‌های چای سبز اثر ضداکسایشی قوی را نشان داده‌اند و هم‌چنین با کاهش خطر ابتلاء به برخی از بیماری‌ها مرتبط هستند (۴). علی‌رغم این‌که عصاره‌ی چای سبز منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است اما به دلیل ماهیت آب‌دوستی که دارد، در روغن قابل استفاده نمی‌باشد. به‌همین دلیل در این تحقیق عصاره آبی چای سبز به‌عنوان جزیی از یک سامانه میکروامولسیونی و همچنین عصاره اتانولی آن، به روغن کلزا اضافه گردید.میکروامولسیون‌ها نوعی سامانه‌ی امولسیونی هستند که برخلاف امولسیون‌ها از لحاظ ترمودینامیکی پایدارند و اندازه‌ی فاز پراکنده درآنها حدود ۱۰۰-۱۰ نانومتر است. برای تهیه‌ی یک سامانه‌ی میکروامولسیونی به چهار جزء اساسی شامل آب، روغن، سورفاکتانت و کوسورفاکتانت نیاز است. با مخلوط کردن نسبت‌های مناسب از این اجزاء، سامانه‌ی میکروامولسیون به خودی خود شکل می‌گیرد. از کاربردهای میکروامولسیون‌ها می‌توان به حمل ترکیبات دارویی و حفاظت از آنها و پایدارسازی مواد عطر و طعمی، ویتامین‌ها و رنگدانه‌های محلول در چربی اشاره کرد. در همین خصوص، کپسوله کردن علاوه بر افزایش پایداری این ترکیبات در محیط‌های غذایی، امکان استفاده از آنها را در محیط‌های دلخواه نیز فراهم می‌آورد (۵). فلاناجان و همکاران (۶) توانایی سه سورفاکتانت اتوکسیلات مونو و دی گلیسرید[1]، فسفولیپد و پلی‌اکسی اتیلن اولئیل اتر[2] را برای تشکیل میکروامولسیون با استفاده از روغن سویا مورد بررسی قرار دادند. پلی‌زلی و همکاران (۷) با استفاده از روغن سویا، سورفاکتانت و آب ضمن تهیه یک سامانه میکروامولسیونی دیاگرام‌های فازی مربوطه را در دمای ۲۵°C رسم کردند. سورفاکتانت‌های مورد استفاده سدیم بیس سولفوسوکسینات[3] ، مونواولئین[4] و مخلوطی از هر دو سورفاکتانت بودند. در تحقیقات انجام شده، استفاده کاربردی از سامانه‌های میکروامولسیونی در محیط‌های واقعی غذا چندان دیده نمی‌شود. یک تفاوت مهم این تحقیق با سایر تحقیقات موجود در این زمینه، استفاده از ترکیبات ضداکسایشی محلول در آب بصورت 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 (۸). بنابراین هدف از انجام این تحقیق استفاده از سامانه میکروامولسیون برای افزودن عصاره آبی چای سبز به‌عنوان یک منبع غنی ضداکسایشی به روغن کلزا بود تا امکان افزودن ترکیبات ضداکسایشی محلول در آب به یک محیط روغنی بررسی گردد.

1- Oolong
2- Ethoxylated mono and diglycerides
3-Polyoxyethylene oleyl ether
4- Sodium bis sulfosuccinate
5- Monoolein

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- نمونه و مواد مورد استفاده

روغن کلزا خام از یکی از واحدهای صنفی در سطح شهر شیراز تهیه شد و در آزمایشگاه به منظور حذف ترکیبات ضداکسایشی توسط خاک رنگبر (در غلظت ۱ درصد) به مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد رنگبری گردید. چای سبز از یک فروشگاه محلی تهیه شد. تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق از شرکت مرک آلمان تهیه گردیدند.

۲-۲- نحوه عصاره گیری

۲-۲-۱- عصاره آبی

جهت تهیه عصاره آبی چای سبز از روش دم کردن استفاده گردید، بدین ترتیب که ۳۲ گرم از گیاه کاملا خشک شده چای سبز توزین و۱۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر جوشیده شده به آن اضافه گردید. سپس جهت خالص کردن مایع از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱ و دستگاه سانتریفوژ (NUVE NF 1200R, Ankara, Turkey) در ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه استفاده گردید. در نهایت عصاره به دست آمده با استفاده از دستگاه روتاری (RV8- IKA, Germany) تا غلظت ۲۲٪ تغلیظ شد (۹).

۲-۲-۲- عصاره اتانولی

تهیه عصاره اتانولی از چای سبز به روش خیساندن انجام گرفت. در این روش ۱۰ گرم از گیاه خشک شده چای سبز در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول به مدت ۵ دقیقه خیسانده شد. سپس جهت خالص کردن مایع از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱ و دستگاه سانتریفوژ (NUVE NF 1200R, Ankara, Turkey) در ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه استفاده گردید. در نهایت عصاره به دست آمده با استفاده از دستگاه روتاری کاملا خشک شد. مقدار ۰/۴۰۱ گرم ماده خشک بدست آمد که ۱۰ میلی‌لیتر اتانول به آن اضافه گردید (۱۰).

۲-۳- آماده سازی میکروامولسیون

پس از انجام پیش‌آزمون‌های مختلف، نسبت و نوع سورفاکتانت انتخاب شد که شامل لسیتین و سدیم بیس سولفوسوکسینات در ترکیب با پروپانول بود. روغن و سورفاکتانت به نسبت ۱۰۰:۸۹۵ میکرولیتر مخلوط گردید. سپس ۵ میکرولیتر از عصاره اتانولی و یا آبی چای سبز به آن اضافه شد تا میکروامولسیون تشکیل شود.

۲-٤- تعیین محتوای فنول کل

مقادیر فنول کل عصاره چای سبز با اندکی تغییر توسط روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری گردید (۱۱). در این روش در لوله آزمایش ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره (با غلظت ۱ میلی گرم در لیتر)، ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱:۱۰) و ۰/۴ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵/۷٪ اضافه و مخلوط شد و بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای آزمایشگاه، جذب نوری آن توسط طیف‌سنج نوری در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. مقادیر فنول کل در نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی درجه‌بندی استاندارد بر حسب میلی گرم بر گرم عصاره بیان گردید. منحنی درجه‌بندی استاندارد با استفاده از ترکیب بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن[1] رسم گردید.

۲-۵- بررسی خاصیت ضداکسایشی با آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل(DPPH)

فعالیت ضداکسایشی نمونه‌های عصاره توسط روش Lee و همکاران ارزیابی شد (۱۲). بر طبق این روش، ۲/۴ میلی‌گرم پودر دی فنیل پیکریل هیدرازیل در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول خالص حل شد. به ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های متفاوت عصاره، ۱ میلی‌لیتر محلول الکلی دی فنیل پیکریل هیدرازیل اضافه و مخلوط شد. همچنین از محلول دی فنیل پیکریل هیدرازیل[2] به عنوان کنترل استفاده گردید. بعد از ۳۰ دقیقه قرار دادن در تاریکی و دمای محیط، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط طیف‌سنج نوری در برابر

1-Butylated Hydroxytoluene
2-Diphenyl Pykryl Hydrazyl

سل حاوی اتانول خوانده شد. درصد فعالیت خنثی‌سازی رادیکال‌های دی فنیل پیکریل هیدرازیل توسط معادله زیر محاسبه شد:

$$\text{Inhibition\%} = \frac{(A_C - A_S)}{A_C}$$

که در این معادله

A_C: میزان جذب کنترل و A_S: میزان جذب نمونه است.

۲-۶- بررسی خواص ضداکسایشی با آزمون توان ضداکسایشی احیاء یون فریک [1] (FRAP)

روش توان ضداکسایشی احیاء یون فریک با استفاده از روش بنزای و استرین (۱۳) انجام شد. این روش بر پایه‌ی اندازه‌گیری توانایی مواد در احیای آهن ۳ ظرفیتی به آهن ۲ ظرفیتی می‌باشد. از نظر طیف‌سنجی کمپلکس رنگی آن با ۲، ۴، و ۶ تری- ۲- پیریدیل –s -تریازین[2] اندازه گیری می‌شود که ماکزیمم جذب را در ۵۹۵ نانومتر دارد. از بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن به عنوان استاندارد استفاده شد و منحنی درجه‌بندی با استفاده از آن رسم گردید.

۲-۷- بررسی کاربرد عصاره چای سبز به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در روغن

عصاره آبی (به‌شکل میکروامولسیون) و اتانولی چای سبز در سطح ppm ۲۰۰ به روغن کلزا بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شدند. منظور از ppm ۲۰۰ عصاره آبی و اتانولی چای سبز این است که مقدار عصاره افزوده شده به روغن در سطح ppm ۲۰۰ ترکیبات فنولی (معادل بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن بنابر نتایج حاصل از تعیین غلظت ترکیبات فنولیک) تنظیم و سپس اضافه شدند. یک تیمار حاوی آنتی‌اکسیدان شیمیایی بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن در سطح ppm ۲۰۰ نیز در نظر گرفته شد. آنگاه نمونه‌ها به همراه شاهد (روغن کلزای خام فاقد آنتی‌اکسیدان)، به مدت ۷۰ روز در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و در نهایت عدد پراکسید، پارا-آنیزیدین و اسید چرب آزاد آنها طی فواصل زمانی معین (روز صفر، بیست، سی، چهل، پنجاه، شصت و هفتاد) اندازه‌گیری گردید. 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 فنولی عصاره با ترکیب فنولی بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن به عنوان آنتی‌اکسیدان رایج برای روغن بود که در این حالت امکان مقایسه تاثیر نوع ترکیبات ضداکسایشی 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. به منظور معادل‌سازی غلظت ترکیبات فنولی عصاره‌ها و بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن، ابتدا غلظت کل ترکیبات فنولی در عصاره بر حسب بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن 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 شد.

$$M_E = (M_O \times C_2)/C_1$$

M_E مقدار عصاره مورد نیاز، M_O مقدار روغن مورد استفاده، C_1 غلظت ترکیبات فنلی کل در عصاره و C_2 غلظت ترکیبات فنلی در روغن می‌باشد.

۲-۸- اندازه‌گیری اندازه ذرات میکروامولسیون با استفاده از تکنیک پراکنش دینامیک نوری[3]

برای تعیین توزیع اندازه ذرات از تکنیک پراکنش دینامیک نوری در دمای محیط و در طول موج ۶۳۳ نانومتر (زاویه‌ی آشکارسازی ۷۰ و ۹۰ درجه، گرانروی دینامیک نمونه ۸/۷۶ میلی‌پاسکال.ثانیه[4]) استفاده گردید. اندازه هیدرودینامیک ذرات، توزیع اندازه ذرات و شاخص توزیع ذرات[5] از طریق نرم افزار DTS (5.02 version, Malvern Instrument Ltd., UK) محاسبه شد.

1-Ferric reducing antioxidant power (FRAP)
2- 2,4,6-Tris (2-pyridyl) -s-triazine (TPTZ)

3- Dynamic Light Scattering
4- Detection Angles 70 and 90◦, dynamic viscosity of Sample 8.76 mPa.s
5-Poly Dispersity Index

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

اندیس پراکسید، اسید چرب آزاد و عدد آنیزیدین به ترتیب مطابق با روش AOCS (cd 8-53)، AOCS (cd 8-53) و آیوپاک- ۲/۵۰۴ تعیین گردیدند (۱۴، ۱۵). جهت اندازه‌گیری عدد پراکسید ۵ گرم نمونه روغن در یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری توزین شده و ۳۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک: کلروفرم (۲:۳) به آن اضافه گردید و به هم زده شد تا روغن کاملاً حل گردد. سپس نیم میلی‌لیتر محلول پتاسیم یدید اشباع اضافه شده و پس از یک دقیقه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و با سدیم تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال تا از بین رفتن رنگ زرد تیتر شد. سپس نیم میلی‌لیتر شناساگر نشاسته اضافه شده و تیتراسیون تا از بین رفتن رنگ آبی ادامه یافت. عدد پراکسید نمونه روغن بر حسب میلی اکی والان اکسیژن در یک کیلوگرم روغن مطابق فرمول زیر به دست آمد:

عدد پراکسید $=(V_2-V_1)N\times1000/m$

که در این رابطه V_2 و V_1 به ترتیب عدد تیتراسیون نمونه و شاهد، N نرمالیته تیوسولفات سدیم و m وزن نمونه بر حسب گرم می‌باشد.

برای اندازه‌گیری درصد اسیدهای چرب آزاد ۵ گرم نمونه روغن در یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری توزین شد و ۳۰ میلی‌لیتر الکل خنثی به آن اضافه گردید. سپس با افزودن چند قطره معرف فنل فتالئین، آن را با سود ۰/۱ نرمال تا ظهور رنگ صورتی کم رنگ تیتر و حجم مصرفی سود یادداشت و در فرمول زیر قرار داده شد:

(V×1000)/(V×100×N×282) =اسیدهای چرب آزاد بر حسب اسید اولئیک درصد گرم نمونه

که در این رابطه N نرمالیته سود مصرفی، V حجم سود مصرفی، W وزن نمونه و ۲۸۲ وزن مولکولی اسید اولئیک می‌باشد.

برای اندازه‌گیری عدد آنیزیدین، حدود ۲ گرم از نمونه‌های روغن کلزا 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 (w/v) مخلوط شد. بعد از ۱۰ دقیقه جذب این محلول در طول موج ۳۵۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت شد (۱۶). عدد آنیزیدین به‌صورت زیر محاسبه شد:

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

A_s: جذب محلول چربی بعد از واکنش با معرف آنیزیدین، A_b: جذب محلول چربی و m: وزن (گرم) نمونه‌های روغن کلزا

۲-۱۰- تجزیه آماری داده‌ها

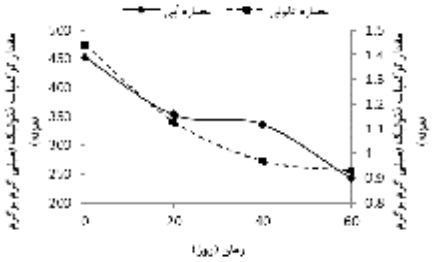
در این پژوهش از طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی استفاده شد. آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام گرفت و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد و نرم افزار SPSS استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تعیین مقدار ترکیبات فنولی

عصاره‌های گیاهان، غنی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها هستند که تأثیرات ضداکسایشی بسیار بالایی دارند (۱۷). میزان فنول استخراج شده از نمونه، توسط دو حلال آبی و اتانولی در دمای ۴۵ درجه‌سانتیگراد مقایسه شد و مشخص گردید که میزان فنول استخراج شده توسط عصاره آبی (۴۵۴/۹۷ mg/g) نسبت به عصاره اتانولی (۱/۴۹ mg/g) بیشتر بود ($p<0.05$). همچنین با گذشت زمان محتوای ترکیبات فنولی (شکل ۱) کاهش یافت ($p<0.05$). خوخوار و مگنستیر (۱۸) مقدار فنول کل در برگ‌های چای سیاه و سبز را به ترتیب ۱۳۴/۹ g/mg – ۸۰/۵ و ۱۰۶/۲ g/mg – ۸۷/۰ اندازه‌گیری کردند که مشابه با نتایج تخمین زده توسط هاف و سینگلتن (۱۹۷۷) بود (۱۹). مقدار فنول کل به‌دست آمده برای چای سبز در این تحقیق بسیار بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط این محققین بود (۴۵۴/۹۷ mg/g). روسکا و همکاران (۲۰) نیز گزارش کردند که آب حلال بسیار بهتری برای استخراج ترکیبات فنولیک از برگ‌های چای سبز در مقایسه با اتانول می‌باشد. این درحالی است که نووها و همکاران (۲۱) اظهار داشتند که محتوای

ترکیبات فنولی استخراج شده با عصاره اتانولی در مقایسه با عصاره آبی ۶۰٪ بیشتر است. قطعاً تفاوت در میزان قطبیت حلال‌های مورد بررسی، باعث می‌شود که حلالیت ترکیبات مختلف و در نتیجه مقدار ترکیبات فنولی در آن‌ها متفاوت باشد (۲۲).



شکل ۱- میزان ترکیبات فنولی عصاره آبی و اتانولی چای سبز در دمای ۴۵ °C در طول زمان (منحنی عمودی سمت راست و چپ به‌ترتیب مقدار ترکیبات فنولی عصاره اتانولی و آبی چای سبز را نشان می‌دهند).

جدول ۱- مقادیر فنول کل و IC_{50} DPPH عصاره اتانولی و آبی چای سبز و مقایسه آن با برخی از عصاره‌های گیاهان دارویی

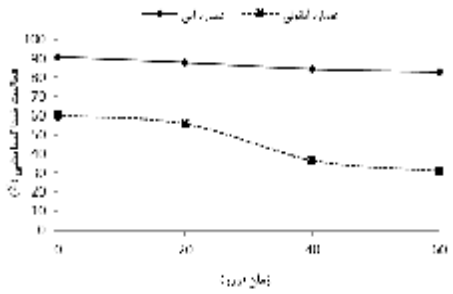
نمونه	فنول کل (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم نمونه)	IC_{50} (mg extraction/mg DPPH)*	منابع
عصاره اتانولی چای سبز (Camellia Sinensis)	۱/۴۹±۰/۰۱^{A}	-	پژوهش حاضر
عصاره آبی چای سبز (Camellia Sinensis)	۴۵۴/۹۷±۰/۶۰^{B}	-	پژوهش حاضر
عصاره اتانولی لیمنوفیلا آروماتیکا (Limnophila aromatica)	۴۰/۵۰ ± ۰/۸۸	۰/۵۸	دو و همکاران (۲۳)
عصاره آبی لیمنوفیلا آروماتیکا (Limnophila aromatica)	۶/۲۵ ±۰ /۲۴	۵/۶۶	دو و همکاران (۲۳)
عصاره متانولی برگ آویشن (Thymus numidicus)	۹۸/۶۶ ± ۳/۱۷	۰/۰۰۶	حادج علی و همکاران (۲۴)
عصاره استونی لیمونسترام مونوپتالم (Limoniastrum monopetalum)	۹/۴۷	۴/۰۵	ترابلسای و همکاران (۲۵)
عصاره پترولیوم اتر برگ لگجی (Meyna spinosa)	۳۶/۸۳ ± ۱/۰۲	۱/۶۹	سن و همکاران (۲۶)
عصاره آبی لیمونسترام مونوپتالم (Limoniastrum monopetalum)	۲/۶	۸/۸۶	ترابلسای و همکاران (۲۵)

× IC_{50} غلظت مورد نیاز از آنتی‌اکسیدان جهت کاهش ۵۰ درصدی غلظت رادیکال‌های دی فنیل پیکریل هیدرازیل اولیه می‌باشد.

××حروف مشابه بزرگ نشان دهنده عدم وجود اختلاف آماری معنی دار در هر ستون می باشد ($P\geq$۰/۰۵).

۳-۲- بررسی خاصیت ضداکسایشی (مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد)

مهار رادیکال‌های آزاد یکی از شناخته شده‌ترین مکانیسم-هایی است که به واسطه آن ترکیبات ضداکسایشی می-توانند اکسیداسیون چربی‌ها را مهار نمایند. نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره آبی و اتانولی تأثیر معنی‌داری بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد داشتند ($p<0.05$). مقایسه میزان مهار رادیکال‌های آزاد توسط عصاره‌های آبی و اتانولی نشان داد که فعالیت مهارکنندگی عصاره آبی (حدود ۹۰ درصد) بالاتر از عصاره اتانولی (۶۰ درصد در زمان صفر) چای سبز بود($p<0.05$). در عین حال، قدرت ضداکسایشی عصاره آبی در طول زمان تغییر معنی‌داری نداشت ($p>0.05$)، هرچند میزان مهار رادیکال‌های آزاد عصاره اتانولی با گذشت زمان کاهش یافت و به ۳۱ درصد رسید ($p<0.05$). نومن و همکاران (۲۷) عدد IC_{50} (غلظت مورد نیاز از آنتی‌اکسیدان جهت کاهش ۵۰ درصدی غلظت رادیکال‌های دی فنیل پیکریل هیدرازیل اولیه) را برای چای سیاه و سبز به ترتیب ۹/۷ و ۶/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آورد. در جدول ۱ مقادیر فنول کل به دست آمده از عصاره آبی و اتانولی چای سبز در این تحقیق با عصاره چند گیاه دارویی مقایسه شده است. با توجه به داده‌های جدول ۱، می‌توان دریافت که عصاره آبی چای سبز یک منبع بسیار غنی از ترکیبات فنولی در مقایسه با سایر منابع گیاهی است. نتایج حاصل از مطالعات صورت گرفته نشان داد که ارتباط مستقیمی بین میزان ترکیبات فنولی و قدرت ضداکسایشی گیاهان وجود دارد (۲۸، ۲۹ و۳۰)، یعنی هر چه محتوای ترکیبات فنولی بیشتر باشد، عصاره خاصیت ضداکسایشی بیشتری دارد.



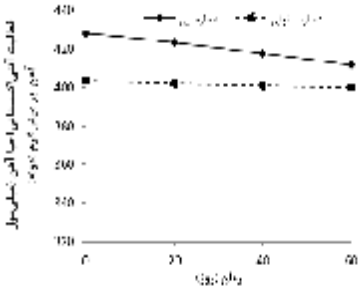
شکل ۲- میزان قدرت بازدارندگی عصاره آبی و اتانولی چای سبز در دمای ۴۵ °C در طول زمان

۳-۳- قدرت احیاءکنندگی آهن

روش FRAP فعالیت ضداکسایشی عصاره‌ها را بر اساس توانایی احیاءکنندگی آهن می‌سنجد و در حقیقت خاصیت ضداکسایشی ترکیبات قابل حل درآب را نشان می‌دهد (۳۱). در این روش احیا آهن III به عنوان معیاری برای قابلیت الکترون‌دهی ترکیبات فنولی به کار می‌رود. ظرفیت دهندگی الکترون (نیروی احیاءکنندگی) مرتبط با فعالیت ضداکسایشی ترکیبات زیستی می‌باشد (۳۲). همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است، قدرت احیاءکنندگی عصاره آبی (۴۲۸/۱۸ میلی‌مول آهن بر میلی‌گرم نمونه) بیشتر از عصاره اتانولی (۴۰۳/۴۵ میلی‌مول آهن بر میلی‌گرم نمونه) چای سبز بود ($p<0.05$) و با گذشت زمان این کمیت تغییر معنی‌داری نداشت ($p>0.05$). تحقیقات نشان داده است که عصاره متانولی مریم گلی[1] و استونی جاتروفا[2] در مقایسه با عصاره اتانولی و آبی چای سبز از قدرت احیاءکنندگی ضعیف‌تری برخوردار هستند (۳۳، ۳۴). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که گیاهانی که دارای فعالیت FRAP بالا هستند، IC_{50} آن‌ها کم می‌باشد و بالعکس. این رابطه معکوس نشان‌دهنده این است که گیاهانی که فعالیت FRAP بالاتری دارند غلظتی از آن‌ها که قادر است ۵۰٪ رادیکال‌های آزاد را مهار کند، کمتر است و یک ارتباط منطقی بین دو روش وجود دارد. علت این موضوع را

1- S. argentea
2- Jatropha curcas

می توان این‌گونه بیان کرد که عصاره‌های گیاهی حاوی مقادیر بالایی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، از فعالیت ضداکسایشی قوی‌تری برخوردار هستند. در نتیجه ظرفیت دهندگی الکترون (نیروی احیاءکنندگی) مرتبط با فعالیت ضداکسایشی ترکیبات زیست فعال می‌باشد (۳۵، ۳۶).



شکل ۳- میزان قدرت احیاءکنندگی آهن عصاره آبی و اتانولی چای سبز در دمای ۴۵°C در طول زمان

۳-٤- اندازه‌گیری ابعاد ذرات میکروامولسیون با استفاده از تکنیک پراکنش دینامیک نوری

ابعاد نانوکپسول‌های عصاره آبی چای سبز در روغن کلزا با استفاده از تکنیک پراکنش دینامیک نوری اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری توزیع اندازه ذرات میکروامولسیون روغن کلزا/ سورفاکتانت: پروپانل/ عصاره آبی چای سبز نشان داد که دیسپرسیون تهیه شده دارای ذراتی با توزیع اندازه ذرات پایین بود. تمام ذرات دارای اندازه‌ای حدود ۱۵ نانومتر بودند. همچنین شاخص توزیع ذرات پایین و حدود ۰/۱۱۶ بود که نشان‌دهنده همگن بودن محیط میکروامولسیون بود. این نتایج نشان داد که عصاره آبی چای سبز در ابعاد بسیار کوچک در روغن کلزا در قالب میکروامولسیونی شفاف و تک‌فاز کپسوله شده‌اند و یک میکروامولسیون آب در روغن را تشکیل داده‌اند.

۳-۵- بررسی فعالیت ضداکسایشی عصاره چای سبز در به تأخیر انداختن اکسیداسیون روغن کلزا

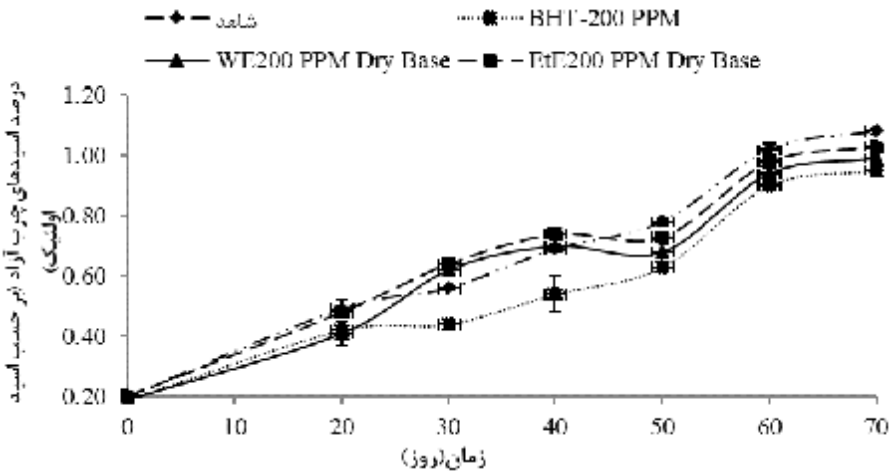
سه آزمون عدد پراکسید، آنیزیدین و اسید چرب آزاد در نمونه‌های روغن کلزا بدون افزودنی (بدون آنتی‌اکسیدان) که حاوی ۲۰۰ppm عصاره‌های چای سبز و آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن بودند، به مدت ۷۰ روز در فواصل زمانی ۱۰ روزه، در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفتند.

۳-۵-۱- بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری درصد اسیدهای چرب آزاد

تمام چربی‌ها و روغن‌های خوراکی دارای مقادیری اسید چرب آزاد هستند ولی ممکن است در اثر هیدرولیز گلیسریدها این مقدار از حد معینی تجاوز کند. بنابراین اندازه‌گیری درصد اسیدهای چرب آزاد یک روغن نشان‌دهنده تند شدن هیدرولیتیک[1] روغن است. وجود اسید، رطوبت، دما و آنزیم‌های هیدرولیزکننده لیپاز ازجمله عوامل تشدیدکننده هیدرولیز روغن‌ها و چربی‌ها هستند (۳۷). با توجه به نتایج آنالیز آماری، تأثیر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار × زمان بر روند تغییرات اسید چرب معنی‌دار بود، به‌طوری که درصد اسید چرب آزاد تمامی تیمارها با گذشت زمان در دمای ۴۵°C افزایش یافت ($p<0.05$). با توجه به شکل ۴ مشخص است که بیشترین درصد اسیدهای چرب آزاد در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد مربوط به نمونه شاهد و کمترین مربوط به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT-200 PPM بود. کارآیی WE200 PPM Dry Base و EtE200 PPM Dry Base در جلوگیری از تولید اسیدهای چرب آزاد در روغن کلزا تا روز ۵۰ از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT-200 PPM کمتر بود که از این نظر اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر داشتند ($p<0.05$)، هرچند بین سایر نمونه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت ($p>0.05$). از روز ۵۰ تا ۷۰، اختلاف آماری معنی‌داری بین نمونه‌های حاوی بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن و عصاره آبی چای سبز وجود نداشت ($p>0.05$). همچنین نمونه حاوی عصاره اتانولی با نمونه شاهد (که بیشترین عدد اسیدی را داشت) از یک سمت و نمونه های حاوی عصاره اتانولی و آبی از سمتی دیگر در روزهای ۵۰ تا ۷۰ از لحاظ آماری اختلافی با همدیگر نداشتند (اما بین نمونه‌های شاهد و عصاره آبی اختلاف آماری وجود داشت). در مجموع نمونه‌های حاوی

1-Hydrolitic Rancidity

بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن و عصاره آبی چای سبز بهتر از سایر تیمارها عمل کردند ($p<0.05$). تمامی چربی 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 معین تجاوز نماید. بنابراین اندیس اسیدی و اسیدیته از جمله شاخص‌هایی می‌باشند که به ما در تشخیص وجود فساد در روغن‌ها و چربی‌ها کمک می‌نمایند (۳۸).

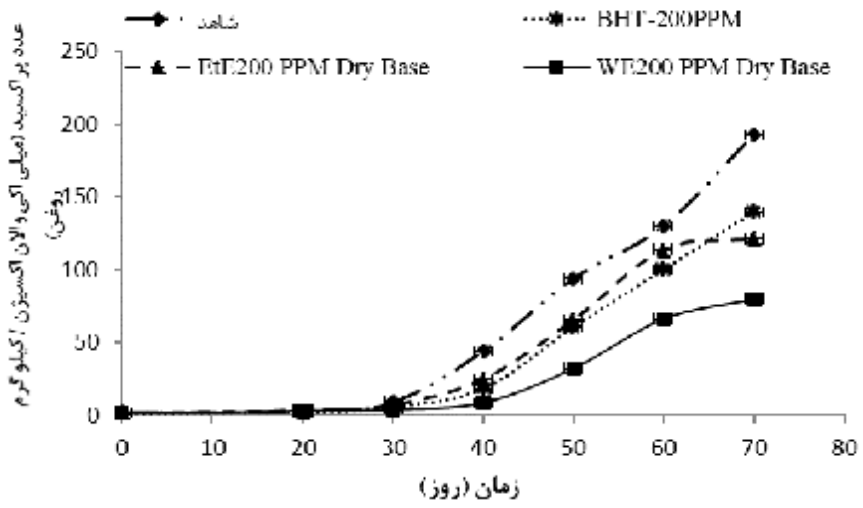


شکل ٤- مقایسه روند تغییرات درصد اسیدهای چرب آزاد تیمارهای مختلف در روغن کلزا در دمای ٤٥°C

شاهد: روغن کلزا فاقد آنتی‌اکسیدان، WE200 PPM Dry Base: روغن کلزا حاوی ۲۰۰ppm عصاره آبی چای سبز به شکل میکروامولسیون معادل با وزن خشک بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن، EtE200 PPM Dry Base: روغن کلزا حاوی ۲۰۰ppm عصاره اتانولی چای سبز معادل با وزن خشک بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن، BHT-200 PPM: روغن کلزا حاوی بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن ۲۰۰ ppm.

۳-۵-۲- بررسی نتایج حاصل از اندازه گیری عدد پراکسید در روغن

پراکسید محصول اولیه‌ی اکسیداسیون مواد چرب است. وجود پراکسید در روغن به عنوان کاتالیزور، اکسیداسیون را تسریع می‌نماید. از این رو اندازه‌گیری اندیس پراکسید از آزمون‌های شاخصی است که برای تعیین میزان فساد روغن استفاده می‌شود. تغییرات عدد پراکسید روغن کلزا در همه نمونه‌های حاوی عصاره‌های چای سبز، آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن و نمونه شاهد در طی روزهای ۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۰ در (شکل ۵) نشان داده شده است. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار × زمان بر میزان عدد پراکسید نمونه‌ها در دمای ۴۵°C در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود ($p<0.05$). همان طور که در شکل ۵ مشخص است، عدد پراکسید تمامی نمونه‌ها با افزایش مدت زمان نگهداری در دمای ۴۵°C افزایش یافته است ($p<0.05$). سرعت تشکیل این محصولات در دمای ۴۵°C از روز ۳۰ به بعد افزایش ناگهانی داشت ($p<0.05$). با بررسی تغییرات پراکسید روغن کلزا در دمای ۴۵°C می‌توان استنباط کرد که عصاره آبی چای سبز که به شکل میکروامولسیون در محیط روغن استفاده شد (WE200 PPM Dry Base) عملکرد بهتری از آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن داشته است ($p<0.05$)، ولی بین عصاره اتانولی (EtE200 PPM Dry Base) و BHT-200 ppm تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0.05$). افزایش در میزان عدد پراکسید را می‌توان به تشکیل هیدروپراکسیدها یعنی محصولات اولیه اکسیداسیون نسبت داد (۲).

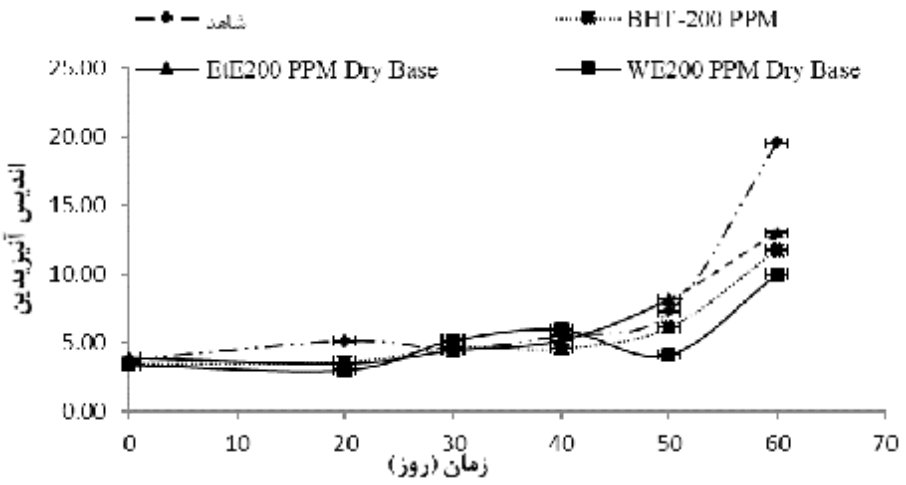


شکل ۵- مقایسه میانگین عدد پراکسید تیمارهای مختلف روغن کلزا طی ۷۰ روز گرمخانه‌گذاری در دمای ۴۵°C

شاهد: روغن کلزا فاقد آنتی‌اکسیدان، WE200 PPM Dry Base: روغن کلزا حاوی ۲۰۰ppm عصاره آبی چای سبز به شکل میکروامولسیون معادل با وزن خشک بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن، EtE200 PPM Dry Base: روغن کلزا حاوی ۲۰۰ppm عصاره اتانولی چای سبز معادل با وزن خشک بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن، BHT-200 PPM: روغن کلزا حاوی بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن۲۰۰ ppm.

۳-۵-۳- بررسی نتایج حاصل از اندازه گیری عدد آنیزیدین

عدد پراکسید به‌تنهایی 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 این واکنش می‌باشد ضروری به نظر می-رسد (۳۸، ۳۹). از این رو در تحقیق حاضر این آزمون نیز انجام گرفت. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار × زمان بر میزان عدد آنیزیدین نمونه‌های روغن کلزا در دمای ۴۵°C معنی‌دار است ($p<0.05$). تا روز ۵۰ تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p>0.05$)، اما از روز ۵۰ به بعد، تفاوت بین تیمارها مشهود بود ($p<0.05$). از روز ۵۰ به بعد، کمترین اندیس آنیزیدین مربوط به تیمار WE200 PPM Dry Base بود و تیمارهای BHT-200 PPM و EtE200 PPM به ترتیب در رده‌های بعدی قرار داشتند ($p<0.05$)، در حالی‌که بالاترین اندیس آنیزیدین را نمونه‌ی شاهد نشان داد (خصوصا در روز آخر که نسبت به سایر تیمارها افزایش ناگهانی داشت). نتایج این آزمون به خوبی نتایج حاصل از عدد پراکسید را تایید می‌کند. این امر نشان می‌دهد مقدار زیادی از پراکسیدهای تشکیل شده در مراحل اولیه، طی روزهای پایانی آزمایش تجزیه و به آلدئید تبدیل شده‌اند. آن چه که از بررسی شکل ۶ می‌توان استنباط کرد این است که تشکیل آلدهید در همه نمونه‌ها با گذشت زمان افزایش داشته است ($p<0.05$)، چون که آلدهید از تجزیه هیدروپراکسیدها حاصل می‌گردد. بنابراین در روزهای ابتدایی مقدار آنیزیدین پایین بود(همانطور که عدد پراکسید پایین بود). اما بعد از گذشت زمان مقدار محصولات اولیه اکسیداسیون (عدد پراکسید) افزایش یافت که با تجزیه این محصولات، اندیس آنیزیدین نیز افزایش یافت.



شکل ٦- مقایسه نتایج حاصل از اندازه گیری عدد آنیزیدین در روغن کلزا در دمای ٤٥°C

شاهد: روغن کلزا فاقد آنتی‌اکسیدان، WE200 PPM Dry Base: روغن کلزا حاوی ۲۰۰ppm عصاره آبی چای سبز به شکل میکروامولسیون معادل با وزن خشک بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن، EtE200 PPM Dry Base: روغن کلزا حاوی ۲۰۰ppm عصاره اتانولی چای سبز معادل با وزن خشک بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن، BHT-200 PPM: روغن کلزا حاوی بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن ۲۰۰ ppm.

با توجه به نتایج اعداد پراکسید، آنیزیدین و اسید چرب آزاد در نمونه‌های روغن کلزا می‌توان این‌گونه استنباط کرد که با افزایش زمان نگهداری نمونه‌های روغن در شرایط مناسب برای اکسیداسیون، میزان شاخص‌های اکسیداسیون افزایش یافته بود و نمونه شاهد که حاوی هیچ ضداکسایشی نبوده در مقایسه با بقیه تیمارها بیشترین مقدار اعداد پراکسید، آنیزیدین و اسید چرب را در در دمای ۴۵°C داشت. افزایش در میزان عدد پراکسید را می‌توان به تشکیل هیدروپراکسیدها یعنی محصولات اولیه اکسیداسیون نسبت داد (۲). با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون و حرارت‌دهی، تفاوت بین تیمارها بیشتر مشهود شد، زیرا آنتی‌اکسیدان‌ها طی مدت زمان خاصی فعال باقی مانده و با گذشت زمان به تدریج از درجه تأثیر آن‌ها کاسته می‌شود تا زمانی که کاملاً بی‌اثر شوند. با بررسی کلی نتایج می‌توان گفت که در دمای ۴۵°C عصاره آبی چای سبز (روغن کلزا حاوی ۲۰۰ ppm عصاره آبی نانو کپسول شده چای سبز) به خوبی توانسته بود با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ ppm رقابت کند و حتی در روزهای پایانی اثر ضداکسایشی بهتری از خود نشان دهد. لی و شر (۱۱) گزارش کردند که عصاره استخراج شده از برگ سبز چای توسط اتانول دارای خاصیت آنتی اکسیدانی خوبی در مورد روغن سویا است و در غلظت یکسان با BHT (۲درصد) اثر مشابهی با این آنتی‌اکسیدان را نشان می دهد. در پژوهش دیگری نیتو و همکاران (۴۰) نقش پایدار کنندگی فلاونوئیدها را در مقایسه با چند آنتی اکسیدان سنتزی در روغن ماهی مورد مطالعه قرار دادند. بررسی آن‌ها نشان داد که فلاونوئیدهای کاتچین، کوئرستین و مورین که در برگ چای نیز وجود دارند نسبت به BHA و BHT دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری هستند. همچنین ژن یو چن و همکاران (۴۱) تحقیقاتی را با استفاده از عصاره کاتچینی چای سبز برای جلوگیری از اکسیداسیون روغن کلزا، لارد و چربی مرغ انجام دادند که نتایج به دست آمده نشان دهنده خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتر این عصاره در مقایسه با BHT و عصاره رزماری بود. نتایج این تحقیق نیز از نظر روند تغییرات اعداد پراکسید، آنیزیدین و اسید چرب در طی دوره نگهداری در شرایط اکسیداسیون، مشابه نتایج پژوهش‌هایی است که در بالا ذکر شده است.

٤- نتیجه گیری

نتایج نشان داد که ریزپوشانی عصاره آبی چای سبز با استفاده از تکنیک میکروامولسیون بهتر از عصاره اتانولی در جلوگیری از اکسیداسیون روغن کلزا عمل می‌کند. به طور کلی می‌توان گفت در صورتی که خواهان جایگزینی عصاره آبی چای سبز بابوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن هستیم، باید یک میکروامولسیون تشکیل دهیم و در این رابطه بهتر است که از غلظت‌های بالاتر عصاره چای سبز استفاده کنیم. همان طور که پیش‌تر مطرح شده، هدف از این تحقیق امکان تشکیل سامانه میکروامولسیونی و ریزپوشانی عصاره چای سبز و بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی این گیاه در روغن کلزا بود. با مرور نتایج بدست آمده طی این تحقیق مشخص شد که ویژگی‌های حلال مورد استفاده جهت استخراج ترکیبات فنولی به میزان زیادی فعالیت ضداکسایشی عصاره‌ها را تحت تأثیر قرار داد به‌طوری که از بین حلال اتانول و آب، آب به عنوان بهترین حلال از لحاظ استخراج بیشترین ترکیبات فنولی شناخته شد. پس عصاره چای سبز می‌تواند در غلظت‌های مناسب، جهت استفاده در روغن به‌عنوان آنتی‌اکسیدان مورد استفاده قرار گیرد. در نهایت می‌توان بیان کرد که عصاره آبی چای سبز عملکرد بهتری از عصاره اتانولی داشته و دارای خاصیت ضداکسایشی بهتری است. این خاصیت به دلیل وجود ترکیبات فنولی و سایر ترکیبات ضداکسایشی در آن است. بنابراین، می‌تواند به عنوان منبعی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد پژوهش بیش‌تر قرار گیرد.

٥- منابع

1. Malheiro, R., Rodrigues, N., Manzke, G., Bento, A. and Pereira, J.A. 2013. The use of olive leaves and tea extracts as effective antioxidants against the oxidation of soybean oil under microwave heating. *Industrial Crops and Products*, 44: 37– 43.
2. Laguerre, M., Lecomte, J. and Villeneuve, P. 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges.challenges. *Progress in Lipid Research*, 46(5): 244-282.
3. Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F. and Hafezi, S. 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of Biology*, 32: 43 -49.
4. Yin, J., Becker, E.M., Andersen. M.L. and Skibsted, L.H. 2012. Green tea extract as food antioxidant Synergism and antagonism with α-tocopherol in vegetable oils and their colloidal systems. *Food Chemistry*, 135: 2195–2202.
5. Radi, M. and Abbasi, S. 2012. Microemulsions and their applications in food industry. *NanoTechnology*, 3: 27-31 (in Persian).
6. 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.
7. 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.*, 281: 230–236.
8. 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.
9. Zahir, R.S., Azad, C.A.K., Rabbani, G.H., Marni, F., Shawkat, A.M. and Nahar, L. 2009. Effect of aqueous extracts of black and green teas in arsenic-induced toxicity in rabbits. *Phytother Research*, 23: 1603-1608.
10. Okore, V.C., Ugwu, C.M., Oleghe, P.O. and Akpa, P.A. 2007. Selective anti-Candidal action of crude aqueous podextract of Lecaniodiscus cupanioides: a preliminary study on Candida albicans obtained from an Aids Patient. *Scientific Research and Essays*, 2: 43-46.
11. 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.
12. Lee, S.C., Kim, J.H., Jeong, S.M., Kim, D.R., Ha, J.U. and Nam, K.C.

Soetaredjo, F.E., Ismadji, S. and Ju, Y.H. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoids content, and antioxidant activity of Limnophila aromatica. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(3): 296-302.

24. Hadj Ali, I. B. E., Bahri, R., Chaouachi, M., Boussaïd, M. and Harzallah-Skhiri, F. 2014. Phenolic content, antioxidant and allelopathic activities of various extracts of Thymus numidicus Poir Organs. *Industrial Crops and Products*, 62: 188-195.
25. Trabelsi, N., Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Oueslati, S., Soumaya, B., Hajlaoui, H. and Abdelly, C. 2010. Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte Limoniastrum monopetalum leaves. *Food Science and Technology*, 43(4): 632-639.
26. Sen, S., De, B., Devanna, N. and Chakraborty, R. 2013. Total phenolic, total flavonoid content, and antioxidant capacity of the leaves of Meyna spinosa Roxb., an Indian medicinal plant. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 11(2): 149-157.
27. Nooman, A. Kh., Ashok, K. Sh., Atif, A.O., Zaha, E.A. and Farah, H. 2008. Antioxidant Activity of some Common Plants. *Journal of Biology*, 32: 51-55.
28. Fang, Z., Zhang, Y., Lu, Y., Ma, G., Chen, J., Lin, D., et al. 2009. Phenolic compounds and antioxidant capacities of bayberry juice. *Journal of Food Chemistry*, 113(4): 884-888.
29. Bamdad, F., Kadivar, M. and Keramat, J. 2006. Evaluation of phenolic content and antioxidant activity of Iranian caraway in comparison with clove and using model systems and vegetable oil. *International Journal of Food Science and Technology*, 41 (1): 20-27.
30. Unver, A., Arslan, D., Ozcan, M. M. and Akbulut, M. 2009. Phenolic content and antioxidant activity of some spices. *World Applied Sciences Journal*, 6(3): 373-377.
31. Deepa, N., Kaura, Ch., Georgea, B., Singh, B. and Kapoor, H.C. 2007. 2003. Effect of far infrared radiation on the antioxidant activity of rice hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4400–4403.
13. Benzie, I.F. and Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1): 70-76.
14. AOCS. 1989. Official Methods and Recommended Practices of American Oil Chemists Society. 4th ed., Champaign, AOCS.
15. Iupac 2.504. 1987. Determination of the p-anisidine value (p-A.V.)
16. Parvane, V. 1998. Quality Control and Food Material Chemical Analyzes. 2nd ed., University Press, Tehran, pp 12-14 (in Persian).
17. 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.
18. Khokhar, S. and Magnusdottir, S. G. 2002. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United kingdom. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(3): 565-570.
19. Hoff, J.E. and Singleton, K.I. 1977. A method for determination of tannins in foods by means of immobilized protein. *Journal of Food Science,* 42(6): 1566-1569.
20. Rusak, G., Komes, D.E., Likic, S., Horz, D. and Kovac, M. 2008. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. *Food Chemistry*, 110: 852–858.
21. Nwuha, V., Nakajima, M., Tong, J. and Lchikawa, S. 1999. Solubility study of green tea extracts in pure solvents and edible oils. *Journal of Food Engineering*, 40(3):161-165.
22. Wang, H., Provan, G.J. and Helliwell, K. 2000. Tea Flavonoids: Their Functions, Utilization and Analysis. *Trends in Food Science and Technology*, 11: 152-160.
23. Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H.,

Antioxidant constituents in some sweet pepper (Capsicum annuum L.) genotypes during maturity. *Food Science and Technology*, 40(1): 121-129.

32. Arabshahi-Delouee, S. and Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (Morus indica L.) leaves. *Food Chemistry*, 102(4): 1233-1240.
33. Farhat, M. B., Landoulsi, A., Chaouch-Hamada, R., Sotomayor, J. A. and Jordan, M. J. 2013. Characterization and quantification of phenolic compounds and antioxidant properties of Salvia species growing in different habitats. *Industrial Crops and Products*, 49: 904-914.
34. Nithiyanantham, S., Siddhuraju, P., Francis, G. 2013. A promising approach to enhance the total phenolic content and antioxidant activity of raw and processed Jatropha curcas L. kernel meal extracts. *Industrial Crops and Products*, 43: 261-269.
35. Sun, T., Powers, J. R. and Tang, J. 2007. Evaluation of the antioxidant activity of asparagus, broccoli and their juices. *Food Chemistry*, 105(1): 101-106.
36. Sahreen, S., Rashid Khan, M. and Ali Khan, R. 2010. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of Carissa opaca fruits. *Food Chemistry*, 122(4): 1205-1211.
37. Bernardini, E. 1985. Oil Seeds, Oils and Fat. Publishing House B. E Oil, Rome, pp. 89-99.
38. Rossel, J. 1989. Measurment of rancidity. Elsevier Science Publisher LTD, London, pp. 29-33.
39. Ramezani, R. and Karbasi, A. 2002. Effect of Different Packaging and Light Condition on Sunflower Oil Stability. *Journal of Agricultural Science and Thecnology*, 6(2): 139-147.
40. Nieto, S., Garrido, A., Sanhueza, J., Loyola, L. A., Morales, G., Leighton, F. and Valenzuela, A. 1993. Flavonoids as stabilizers of fish oil: An alternative to synthetic antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 70: 773-778.
41. Zhen yu, C., Li-ya, W., Ping, I. C., Zesheng, Z. and Haw, Y.C. 1998. Antioxidant activity of green tea catechin extract compared with that of rosemary extract. I*bid*, 75: 1141-45.

(Original Research Paper)

Antioxidative Activity of the Microemulsified Extract of Green Tea in Canola Oil

Vida Ansari[1], Seddigheh Amiri[1]*, Mohsen Radi[1], Foroud Bagheri[1]

1-Department of Food Science and Technology, Yasuj Branch, Islamic Azad University, Yasuj, Iran.

Received:22/04/2017 Accepted:29/05/2018

Abstract

Recently, use of natural antioxidants has attracted the attention of researchers for prevention of vegetable oil oxidations. The aim of this study was to evaluate the possibility of adding aqueous extract of green tea as a natural antioxidant into the canola oil using a 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, microemulsified green tea aqueous extract, ethanolic extract as well as BHT were added into canola oil at 200 ppm concentration. An antioxidant-free canola oil was considered as control. The peroxide value, p-anisidine value and free fatty acid contents of treated oils were determined during 70 days. Results showed that the higher phenolic content (453.32 mg/g sample) as well as radical-scavenging ability in DPPH test (91%) were related to aqueous extract. The statistical analysis showed that the peroxide value, anisidine value and free fatty acid contents of canola oil containing 200 ppm aqueous extract nanocapsules at 45 °C were lower than other samples ($p<0.05$). It can be concluded that green tea extract has the potential of being used as a natural antioxidant in edible oils

Keywords: Green Tea, Microemusion, Phenolic Compounds, Canola Oil

*Corresponding Author: s.amiri@iauyasooj.ac.ir