

اثر عصاره‌های پوست و گوشت میوه پرتقال تامسون با پایه‌های مختلف در جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا

مهدی قره‌خانی^{۱*}، محمد قربانی^۲، احمد قره‌خانی^۳، علیرضا صادقی‌ماهونک^۲، شاهرخ جبرائیلی^۴، یوسف قاسمی^۵

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
 - ۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
 - ۳- مربی، گروه دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ماکو، ماکو
 - ۴- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
 - ۵- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
- *آدرس مکاتبه: گرگان، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
تلفن: ۰۹۱۴۹۶۰۷۸۵۴، نمابر: ۴۴۲۶۴۳۲ (۰۱۷۱)
پست الکترونیک: M.Gharekhan@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۸/۸/۲۶

تاریخ تصویب: ۸۹/۲/۱۹

چکیده

مقدمه: جستجو برای جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی منجر به بررسی آنتی‌اکسیدان‌های متعددی از منابع گیاهی شده است. بررسی‌ها نشان داده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی از میوه‌ها و سبزیجات به مقدار کل ترکیبات فنولی آنها بستگی دارد. هدف: مقایسه پایه‌های مختلف پرتقال تامسون از نظر میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در پوست و گوشت میوه و ارزیابی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های انتخابی در روغن سویا.

روش بررسی: در این تحقیق، پس از استخراج عصاره از دو بخش پوست و گوشت چهار پایه پرتقال تامسون مورد مطالعه، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌ها اندازه‌گیری شدند. سپس برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های انتخابی، غلظت‌های مختلفی از عصاره‌ها به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شدند و از طریق اندازه‌گیری اعداد پراکسید و اسید تیوباریتوریک مورد ارزیابی قرار گرفتند و با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT مقایسه شدند.

نتایج: نتایج نشان دادند که در بین پایه‌های مورد مطالعه، میزان ترکیبات فنولی در پایه پون سیروس بخش پوست میوه با ۳۱/۱ میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم عصاره خشک بالاتر از بقیه بود و کمترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به بخش گوشت میوه پایه سورونج بود که برابر با ۶/۹ میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم عصاره خشک محاسبه شد. از نظر میزان ترکیبات فلاونوئیدی، کمترین و بیشترین میزان این ترکیبات به ترتیب مربوط به بخش گوشت پایه سیتروملو (۱/۴ میلی‌گرم معادل کوئرستین به گرم عصاره خشک) و بخش پوست پایه سیترنج (۴۱/۳ میلی‌گرم معادل کوئرستین به گرم عصاره خشک) بودند. به طور کلی مقدار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در بخش پوست نسبت به گوشت میوه بیشتر بود. در آزمون پایداری روغن با استفاده از آون، عصاره‌های انتخابی در بخش‌های پوست و گوشت میوه به ترتیب از پایه‌های پون سیروس و سیتروملو بودند. عصاره‌ها توانایی جلوگیری از تولید محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون را در روغن سویای خام، در غلظت‌های بالا (۶۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) داشتند و تنها عصاره بخش پوست با غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام معادل با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در سطح غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان دادند که میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بسته به نوع پایه متفاوت است و عصاره‌های پوست و گوشت میوه پرتقال تامسون (به خصوص پوست) می‌توانند به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی عمل نموده و پس از آزمایش‌های تکمیلی به مواد غذایی اضافه شوند.

کل واژگان: استخراج، ترکیبات فنولی، پرتقال تامسون، پایه، روغن سویا



مقدمه

یکی از راه‌های جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها و یا حفاظت در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها است. آنتی‌اکسیدان‌ها به خصوص آنتی‌اکسیدان‌های با بنیان حلقوی فنولی حاوی گروه‌های OH، ترکیباتی هستند که با جذب رادیکال آزاد و در نتیجه ممانعت از اکسیداسیون، از فساد، تغییر رنگ و یا تند شدن چربی‌ها جلوگیری می‌کنند و نقش مهمی در پیشگیری از اکسیداسیون چربی‌ها دارند [۱]. اخیراً عوارض نامطلوبی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی (BHA, BHT) گزارش شده و از جمله اینکه در حیوانات آزمایشگاهی باعث سرطان‌زایی و آسیب کبدی شده است [۲]. بنابراین تلاش برای جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی منجر به بررسی آنتی‌اکسیدان‌های متعددی از منابع گیاهی گردیده است. مطالعات نشان داده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی از میوه‌ها و سبزیجات به مقدار کل ترکیبات فنولی آنها بستگی دارد [۳]. ترکیبات فنولی یک گروه متابولیت‌های ثانویه آروماتیک گیاهی هستند که به طور گسترده‌ای در سراسر گیاه پخش شده‌اند و دارای تأثیرات بیولوژیکی متعدد همچون فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی هستند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک در گیاهان عمدتاً به دلیل ویژگی‌های اکسایش - کاهش^۱ و ساختار شیمیایی آنها است که می‌توانند نقش‌های مهمی را در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، احاطه کردن فلزات انتقالی و فرونشاندن^۲ مولکول‌های اکسیژن یگانه^۳ و سه گانه^۴ از طریق تغییر مکان یا تجزیه پراکسیدها داشته باشند. این ویژگی‌ها با تأثیرات مفید آنتی‌اکسیدان‌های فنولیک بر روی سلامت در ارتباط است که به دلیل تأثیرات بازدارندگی این ترکیبات در مقابل پیشرفت بسیاری از بیماری‌های وابسته به تنش - اکسایشی، همچون بیماری‌های قلبی - عروقی، سندرم روده التهابی^۵ و بیماری آلزایمر است [۴].

نظر به اینکه گیاهان، منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند تحقیقات در این زمینه رو به افزایش است [۵]. در بین میوه‌ها، مرکبات دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای هستند به طوری که میوه گونه‌های مختلف مرکبات به عنوان ذخایر مهم فلاونوئید شناخته شده‌اند [۶]. تحقیقات اخیر در جهت کشف راه‌های افزایش طبیعی این ترکیبات می‌باشد. در بررسی‌های صورت گرفته ثابت شده که میزان آنتی‌اکسیدان در ارقام مختلف و پایه‌های مختلف متفاوت می‌باشد [۷].

با کاربرد روش‌های اصلاح نژاد می‌توان به اهدافی همچون تغییر در زمان گلدهی، زمان رسیدگی میوه و کیفیت میوه شامل ترکیبات معدنی، قند، اسیدهای آلی، ترکیبات فنولی و خواص آنتی‌اکسیدانی رسید [۸]. رمورینی^۱ و همکاران (۲۰۰۸) در تحقیقی که بر روی اثر چهار پایه مختلف روی خصوصیات کیفی میوه هلو انجام دادند به این نتیجه رسیدند که پایه Mr.s 2.5 منجر به کاهش رشد درخت شد در حالی که پایه Barrier1 بیشترین رشد را نشان داد، ولی میزان ویتامین ث و کاروتنوئید در هر دو پایه نسبت به پایه‌های دیگر بیشتر بود [۹]. آنجل^۲ (۲۰۰۴) بیان کرد که پایه بر روی متابولیت‌های ثانویه از جمله تجمع ترکیبات فنولی موجود در پیوندک تأثیر دارد [۱۰]. در بررسی‌های صورت گرفته توسط کفورد^۳ و چاندلر^۴ (۱۹۹۵) روی پرتقال مشخص شد که پایه و میان پایه باعث تغییر در میزان مواد جامد محلول، اسید، قند و ترکیبات فنولی می‌شود، که این تأثیر به طور غیرمستقیم مربوط به تغییر در قطر تنه در محل پیوند و انتقال مواد غذایی و شیره پرورده می‌باشد. همچنین در این تحقیق مشخص شد که ارقام پیوند شده روی پایه راف لمون باعث تلخی بیشتر در پوست میوه شد که عامل این تلخی را مربوط به افزایش لیمونین که جزء ترکیبات فلاونوئیدی است، دانستند [۱۱]. دای^۵ و همکاران (۱۹۹۴) بیان کردند که پایه‌های مختلف انگور میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی متفاوتی را در برگ پیوندک موجب شدند

¹ Remorini³ Keford⁵ Dai² Angell⁴ Chandler¹ Redox³ Singlet⁵ Inflammatory bowel syndrome² Quenching⁴ Triplet

و عصاره به دست آمده در یخچال نگهداری شد. تمام مرحله ذکر شده برای هر یک از پایه‌ها (گوشت و پوست) به طور جداگانه انجام شد.

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی

مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره از طریق رنگ سنجی به روش فولین-سیوکالتو مورد بررسی قرار گرفت. در این روش مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره استخراجی با ۵ میلی‌لیتر از معرف فولین-سیوکالتو که با آب مقطر ۱۰ برابر رقیق شده بود و ۴ میلی‌لیتر از معرف کربنات سدیم ۱ مولار به خوبی مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (PG Instruments Ltd T80+, UK) در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. مقدار کل ترکیبات فنولی با استفاده از معادله خط رسم شده برای اسید گالیک، بر مبنای اسید گالیک و به صورت میلی‌گرم در گرم نمونه خشک بیان شد [۱۴].

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی

مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی عصاره‌ها از طریق روش رنگ‌سنجی ارزیابی شدند. ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره درون لوله آزمایش در ۱/۵ میلی‌لیتر متانول حل شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول پتاسیم استات ۱ مولار به آن اضافه شد. در نهایت ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به آنها اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و سپس جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (PG Instruments Ltd T80+, UK) خوانده شد. از کوئرستین^۱ به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. مقدار فلاونوئید بر اساس میزان میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم نمونه خشک گزارش شد [۱۵].

[۱۲]. چندین محقق نیز بیان کردند که میزان مواد آنتی‌اکسیدانی، تحت تاثیر رقم و پایه دچار تغییر می‌شوند [۱۳]. اهداف موردنظر در این تحقیق بررسی اثر پایه‌های مختلف مرکبات (پرتقال تامسون) روی میزان کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و همچنین تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های حاصله از گوشت و پوست پایه‌های انتخابی در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شیمیایی

میوه پرتقال تامسون رسیده از مرکز تحقیقات رامسر از پایه‌های مختلف شامل: سورورنج^۲، سیترنج^۳، پون سیروس^۴ و سیتروملو^۵ در پاییز ۱۳۸۷ برداشت شدند. برای هر نمونه از هشت درخت و از هر درخت بیست میوه برداشت شد و میوه‌های هر دو درخت با هم مخلوط شده و به عنوان یک تکرار در نظر گرفته شدند. سپس تحت شرایط طبیعی محیطی و با استفاده از جریان هوای خشک در سایه خشک شد و با استفاده از دستگاه آسیاب با مش ۴۰ به پودر تبدیل شدند. نمونه‌های خشک شده تا زمان آزمایش در یخچال زیر صفر (۱۸-) نگهداری شد. تمام مواد شیمیایی (معرف فولین سیو - کالتو^۵ و ...) و حلال‌های مورد استفاده با درصد خلوص بالا از شرکت مرک آلمان و بوتیلات هیدروکسی تولوئن و بوتیلات هیدروکسی آنیزول از شرکت سیگمای آمریکا تهیه شدند. روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان نیز از شرکت عالیا گلستان تهیه شد.

استخراج ترکیبات فنولی

۵۰ گرم نمونه با ۳۰۰ میلی‌لیتر متانول در یک دکاناتور مخلوط و پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای اتاق، عصاره با استفاده از کاغذ صافی از مواد گیاهی جدا شد. سپس حلال با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخان از محلول عصاره جدا

¹ Sour orange

³ Poncirus

⁵ Folin- ciocalteu

² Citrange

⁴ Citromelo

¹ Quercetin (5,7,3',4' hydroxyflavone)



اندازه‌گیری اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراجی از میوه پرتقال تامسون بر روی روغن سویا

عصاره‌های متانولی از دو بخش پوست (P) و گوشت (G) میوه در ۳ غلظت (۲۰۰، ۶۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA (A) و BHT (T) در ۲ غلظت (۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام) به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان در شیشه‌های تیره رنگ اضافه شد و برای مدت معینی در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. طی فواصل زمانی روزهای صفر، چهارم، هشتم، دوازدهم، هجدهم و بیست و چهارم عدد پراکسید [۱۶] نمونه‌های روغن تعیین و در روزهای صفر، پنجم، دهم، پانزدهم، بیستم و بیست و پنجم عدد اسید تیوباربیتوریک [۱۷] مشخص شدند. روند افزایش پراکسید و اسید تیوباربیتوریک نشان دهنده کارایی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و عصاره‌ها در به تاخیر انداختن اکسیداسیون است.

تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق تاثیر تیمارها (پوست و گوشت پایه‌های مختلف) بر روی مقدار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در قالب طرح کاملاً تصادفی و در ۳ تکرار انجام شد. در بخش مربوط به ارزیابی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در روغن سویا، بررسی اثر تیمارهای مختلف در طی زمان (صفر تا ۲۵ روز) با استفاده از روش اندازه‌گیری‌های تکرار شده در زمان^۱ و در سطح احتمال (p < ۰/۰۵) انجام شد. نتایج به دست آمده با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال (p < ۰/۰۵) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها با نرم‌افزار EXCEL صورت گرفت.

نتایج

نتایج استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که اثر متقابل پایه و بخش‌های میوه (پوست و گوشت) در سطح

احتمال پنج درصد بر روی میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موثر و معنی‌دار بود. نتایج به دست آمده با نتایج کفورد و همکاران وی مطابقت داشت [۱۱]. مقدار کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی استخراج شده از پایه‌های مختلف (سورورنج، سیترنج، پون سیروس و سیتروملو) از دو بخش پوست و گوشت میوه‌ها در شکل‌های شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است.

نتایج نشان دادند که در بین پایه‌های مورد مطالعه، میزان ترکیبات فنولی در پایه پون سیروس بخش پوست میوه با ۳۱/۱ میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم عصاره خشک بالاتر از بقیه بوده و کمترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به پایه سورورنج بخش گوشت میوه بود که برابر با ۶/۹ میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم عصاره خشک برآورد شد. همچنین تفاوت معنی‌داری از نظر میزان کل ترکیبات فنولی بین بخش گوشت پایه سیتروملو، بخش پوست پایه سیتروملو و بخش پوست پایه سورورنج مشاهده نشد (p < ۰/۰۵). بخش پوست پایه سیترنج نیز بعد از بخش پوست پایه پون سیروس بیشترین میزان ترکیبات فنولی را داشت که برابر با ۲۱/۲ میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم عصاره خشک بود (شکل شماره ۱). از نظر میزان ترکیبات فلاونوئیدی نیز، کمترین و بیشترین میزان این ترکیبات به ترتیب مربوط به بخش گوشت پایه سیتروملو (۱/۴ میلی‌گرم معادل کوئرستین به گرم عصاره خشک) و بخش پوست پایه سیترنج (۴۱/۳ میلی‌گرم معادل کوئرستین به گرم عصاره خشک) بودند. بخش گوشت هر چهار پایه (سورورنج، سیترنج، پون سیروس و سیتروملو) از نظر میزان ترکیبات فلاونوئیدی اختلاف موثر و معنی‌داری با یکدیگر نداشتند و در همه موارد کمتر از بخش پوست پایه‌های میوه بودند (p < ۰/۰۵) (شکل شماره ۲).

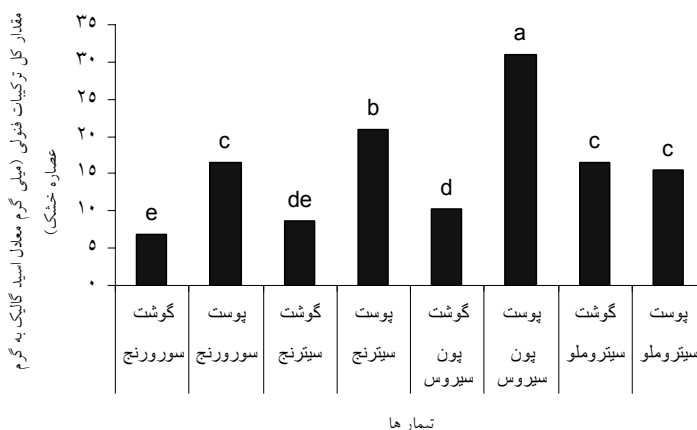
بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراجی در به

تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا

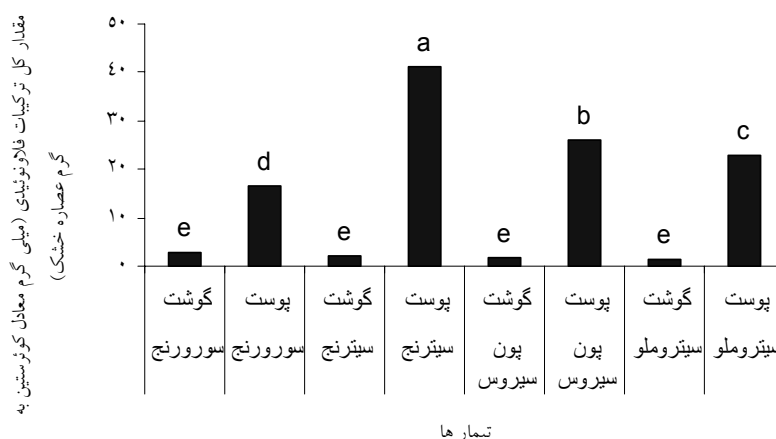
بررسی نتایج آنالیز واریانس و نیز مقایسه میانگین اعداد پراکسید تیمارهای مختلف نشان داد که اثر تیمار و زمان بر روی عدد پراکسید در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار می‌باشد (p < ۰/۰۵). جدول شماره ۱ مقایسه میانگین‌های اعداد پراکسید را در مجموع روزهای ۴، ۸، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ نشان می‌دهد.

¹ Repeated measures





شکل شماره ۱- مقایسه میانگین مقدار کل ترکیبات فنولی پایه‌های مختلف از هر دو بخش پوست و گوشت میوه پرتقال تامسون



شکل شماره ۲- مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فلاونوئیدی پایه‌های مختلف از هر دو بخش پوست و گوشت میوه پرتقال تامسون

جدول شماره ۱- مقایسه میانگین‌های اعداد پراکسید به دست آمده از تیمارهای انجام شده (عصاره‌های متانولی پوست و گوشت، BHA و

BHT) بر روی روغن سویا

تیمارها	میانگین* اعداد پراکسید	حروف دانکن
شاهد	۵۳/۱۲	a
G-۲۰۰	۳۸/۶۵	c
G-۶۰۰	۳۴/۸۴	e
G-۱۰۰۰	۳۱/۷۵	h
P-۲۰۰	۳۶/۸۵	d
P-۶۰۰	۳۲/۶۴	g
P-۱۰۰۰	۲۸/۸۱	i
A-۱۰۰	۴۰/۱۲	b
A-۲۰۰	۳۴/۸۳	e
T-۱۰۰	۳۳/۹۵	f
T-۲۰۰	۲۸/۱۹	j

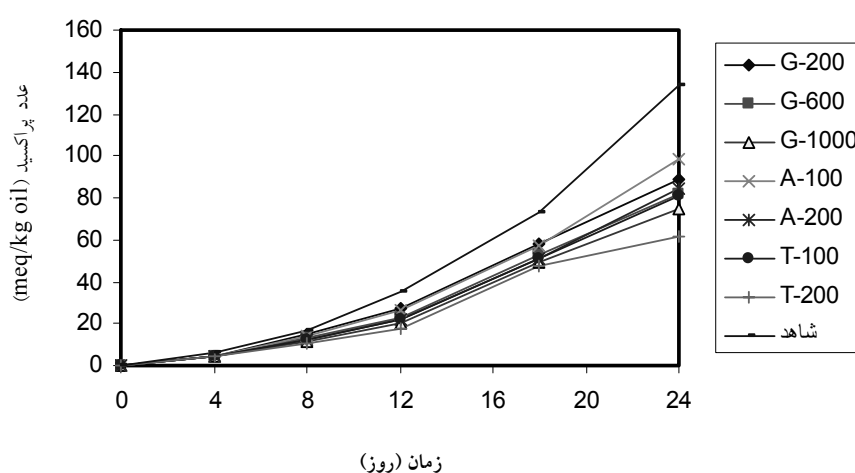
* میانگین اعداد پراکسید به دست آمده در مجموع روزهای چهارم، هشتم، دوازدهم، هجدهم و بیست و چهارم برای هر تیمار در سه تکرار حرف مشابه در ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.



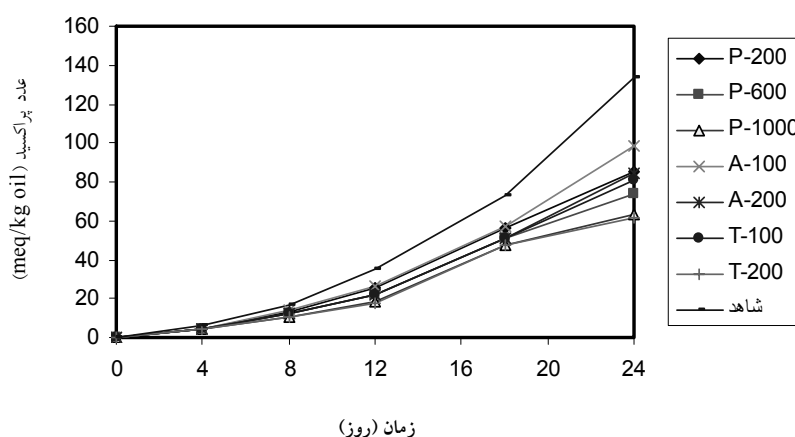
تیمار P-1000 عمل کرده بود و اثر آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشت. شکل‌های شماره ۳، ۴ و ۵ مقادیر عدد پراکسید را در همه روزهای مورد آزمایش برای هر یک از عصاره‌های متانولی بخش‌های پوست و گوشت میوه در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و با یکدیگر نشان می‌دهند.

جدول شماره ۲ مقایسه میانگین‌های مقادیر اعداد اسید تیوباربیتوریک را در مجموع روزهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ نشان می‌دهد. اندیس اسید تیوباربیتوریک به طور گسترده‌ای برای اندازه‌گیری محصولات ثانویه اکسیداسیون به کار می‌رود. نتایج آنالیز واریانس و مقایسه میانگین اعداد اسید تیوباربیتوریک تیمارهای مختلف نشان داد که اثر تیمار و زمان بر روی عدد اسید تیوباربیتوریک در سطح احتمال ($p < 0.05$) معنی‌دار بود.

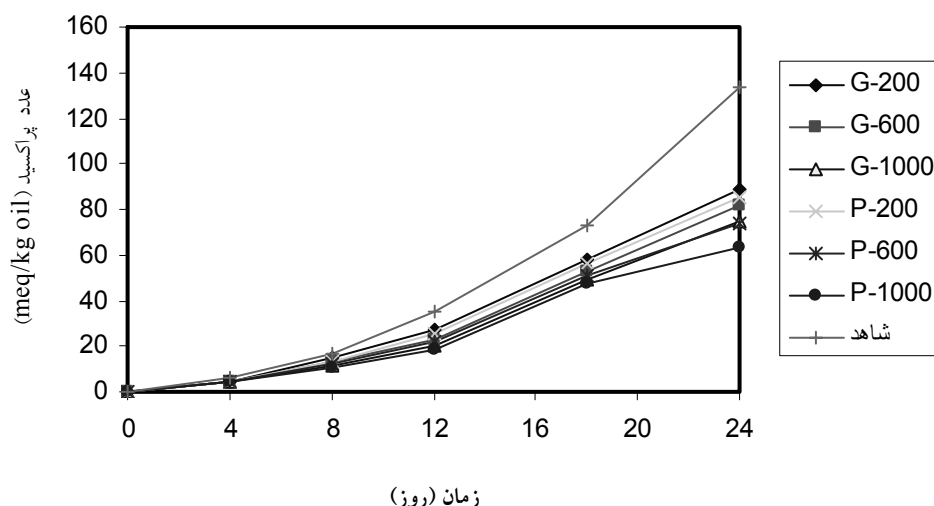
با توجه به جدول، بیشترین میزان عدد پراکسید به دست آمده مربوط به نمونه شاهد بود که حاوی هیچ‌گونه آنتی‌اکسیدانی نبوده است. همچنین کمترین مقدار اکسیداسیون و بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی مربوط به تیمار T-200 بود. در میان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی استفاده شده در روغن سویا، بیشترین میزان اکسیداسیون مربوط به تیمار G-200 بود. آنچه از مقایسه غلظت‌های دو بخش پوست و گوشت میوه می‌توان استنباط کرد این است که با افزایش غلظت عصاره‌ها، میزان عدد پراکسید کاهش یافته و عصاره‌های بخش پوست میوه، اثر آنتی‌اکسیدانی بیشتری از بخش گوشت میوه داشتند. در مقایسه بین تیمارها باید گفت که تیمار P-1000 اثر آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی داشته و تنها آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام بهتر از



شکل شماره ۳- مقایسه تیمارهای عصاره متانولی بخش گوشت پایه سیتروملو با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی از نظر میزان عدد پراکسید



شکل شماره ۴- مقایسه تیمارهای عصاره متانولی بخش پوست پایه پون سیروس با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی از نظر میزان عدد پراکسید



شکل شماره ۵- مقایسه تیمارهای عصاره متانولی دو بخش گوشت (پایه سیتروملو) و پوست (پایه پون سیروس) میوه در مقایسه با یکدیگر از نظر میزان عدد پراکسید

جدول شماره ۲- مقایسه میانگین‌های اعداد اسید تیوباربیتریک به دست آمده از تیمارهای انجام شده (عصاره‌های متانولی پوست و گوشت، BHA و BHT) بر روی روغن سویا

تیمارها	میانگین* اعداد تیوباربیتریک اسید	حروف دانکن
شاهد	۰/۱۷۷	a
G-۲۰۰	۰/۱۳۵	b
G-۶۰۰	۰/۱۲۴	ef
G-۱۰۰۰	۰/۱۱۴	h
P-۲۰۰	۰/۱۲۹	cd
P-۶۰۰	۰/۱۱۷	gh
P-۱۰۰۰	۰/۱۰۷	i
A-۱۰۰	۰/۱۳۴	bc
A-۲۰۰	۰/۱۲۵	de
T-۱۰۰	۰/۱۲۰	fg
T-۲۰۰	۰/۱۰۸	i

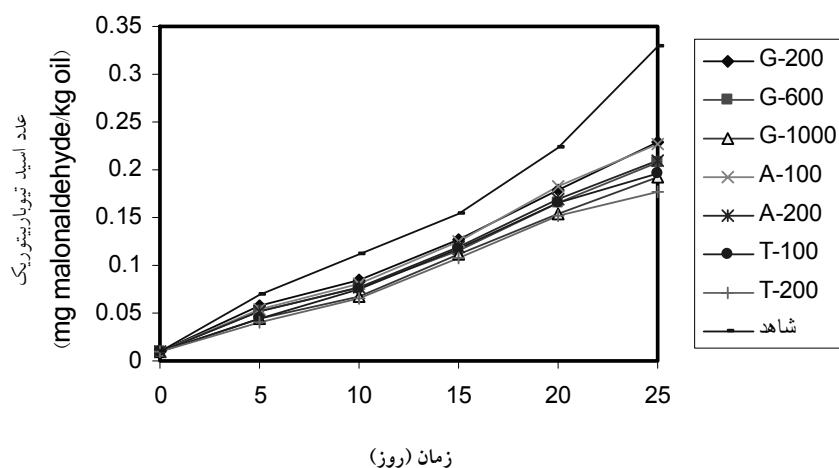
* میانگین مقادیر اسید تیوباربیتریک به دست آمده در مجموع روزهای پنجم، دهم، پانزدهم، بیستم و پنجم برای هر تیمار در سه تکرار

حرف مشابه در ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

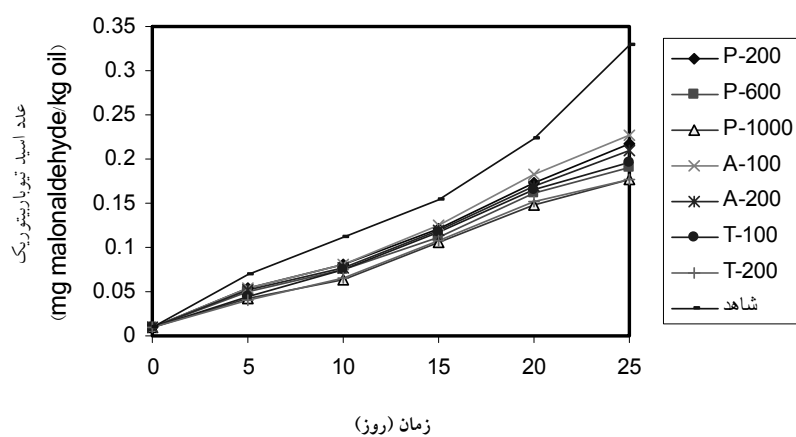
میزان این شاخص با غلظت ۶۰۰ پی‌پی‌ام هر دو بخش گوشت و پوست نداشته و اثر آنتی‌اکسیدانی بیشتری از BHA داشته است. شکل‌های شماره ۶، ۷ و ۸ مقادیر عدد اسید تیوباربیتریک را در همه روزهای مورد آزمایش برای هر یک از عصاره‌های متانولی بخش‌های پوست و گوشت میوه در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی نشان می‌دهند.

همان‌طور که در جدول نشان داده شده، بیشترین میزان عدد اسید تیوباربیتریک در بین تیمارهای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی، مربوط به تیمار G-۲۰۰ بود که با آنتی‌اکسیدان سنتزی A-۱۰۰ تفاوت معنی‌داری نشان نداد و کمترین مقدار این شاخص مربوط به تیمار P-۱۰۰۰ بود که با آنتی‌اکسیدان سنتزی T-۲۰۰ دارای اختلاف معنی‌داری نبود. همچنین آنتی‌اکسیدان سنتزی T-۱۰۰ تفاوت معنی‌داری از نظر

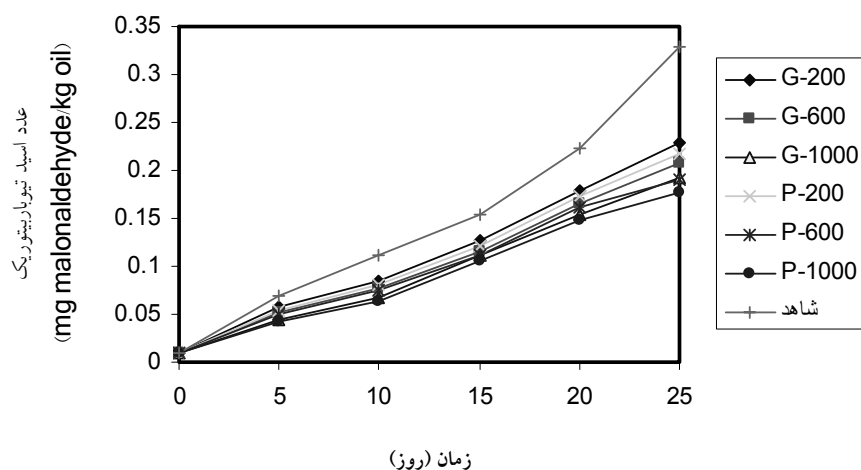




شکل شماره ۶- مقایسه تیمارهای عصاره متانولی بخش گوشت پایه سیتروملو با آنتی اکسیدان‌های سنتزی از نظر میزان اندیس اسید تیوباریتوریک



شکل شماره ۷- مقایسه تیمارهای عصاره متانولی بخش پوست پایه پون سیروس با آنتی اکسیدان‌های سنتزی از نظر میزان اندیس اسید تیوباریتوریک



شکل شماره ۸- مقایسه تیمارهای عصاره متانولی دو بخش گوشت (پایه سیتروملو) و پوست (پایه پون سیروس) با یکدیگر از نظر میزان اندیس اسید تیوباریتوریک

بحث

استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی

در مقایسه کلی پایه‌ها در دو بخش پوست و گوشت می‌توان نتیجه‌گیری کرد که بخش پوست میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بیشتری نسبت به گوشت میوه داشتند. بیشتر بودن مقدار ترکیبات فنولی در بخش پوست میوه، احتمالاً به دلیل تمایل به تجمع این ترکیبات در بافت‌های اپیدرمی گیاه می‌باشد و احتمالاً دلیل آن این است که وظایف اصلی این ترکیبات، حفاظت از گیاه در برابر اشعه ماوراء بنفش، حشرات و بیماری‌ها است [۱۸]. نتایج همچنین نشان دادند که در سه پایه سورونج، سیترنج و پون‌سیروس میزان ترکیبات فنولی در پوست نسبت به گوشت کمی بیشتر از ۲ برابر بود و تنها در پایه سیترنج بود که بین دو بخش پوست و گوشت میوه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p < 0.05$). در تحقیقی مشابهی تور و سوچ (۲۰۰۵)، گزارش کردند که میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در بخش پوست گوجه‌فرنگی بیشتر از گوشت آن می‌باشد [۱۹]. همچنین در بررسی صورت گرفته روی هلو مشخص شد که میزان ترکیبات فنولی در پوست دو برابر بیشتر از مقدار این ترکیبات در گوشت میوه بود [۹]. نتایج آزمایش‌های این محققین، نتایج تحقیق حاضر را تایید می‌کنند.

ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی که به طور گسترده در مواد غذایی وجود دارند، از طریق گیاهان تامین شده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند [۲۰]. همچنین رابطه بین ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به طور گسترده‌ای بر روی مواد غذایی مانند میوه‌جات و سبزیجات مورد مطالعه قرار گرفته است [۲۱]. بنابراین با توجه به این همبستگی میان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، بهترین عصاره‌ها از بین پایه‌های مختلف در دو بخش پوست و گوشت میوه به طور جداگانه انتخاب شدند و برای بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی اضافه و با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مقایسه شدند. عصاره‌های انتخابی در بخش‌های پوست و گوشت میوه به ترتیب از پایه‌های پون‌سیروس و سیتروملو بودند.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراجی در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا

با توجه به اشکال ۳ تا ۵ می‌توان استنباط کرد که با افزایش زمان نگهداری نمونه‌های روغن در شرایط اکسیداسیون، میزان عدد پراکسید افزایش یافته بود و نمونه شاهد که حاوی هیچ آنتی‌اکسیدانی نبود در مقایسه با بقیه تیمارها بیشترین مقدار عدد پراکسید را در همه روزها داشت. این افزایش در میزان عدد پراکسید را می‌توان به تشکیل هیدروپراکسیدها یعنی محصولات اولیه اکسیداسیون نسبت داد. در همه روزهای مورد مطالعه به جز روز چهارم که همه تیمارهای مربوط به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند، با افزایش غلظت عصاره‌ها (آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی) میزان عدد پراکسید کاهش و به تاخیراندازی اکسیداسیون و اثر آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته بود. در روزهای آغازین همه تیمارهای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی توانسته بودند توان آنتی‌اکسیدانی خود را حفظ کنند و اثر آنتی‌اکسیدانی بهتری از نمونه شاهد داشته باشند بنابراین تفاوت بین تیمارها در روزهای آغازین آشکار نبود. با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون و حرارت‌دهی، تفاوت بین تیمارها بیشتر مشهود شد. تفاوت بین عصاره‌ها و غلظت‌های مختلف عصاره‌ها در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی (BHT و BHA) بیانگر آن است که با افزایش غلظت عصاره‌ها، توان آنتی‌اکسیدانی در بسیاری از موارد افزایش و گاهی دارای اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌ها نبود. در همه روزها، حتی غلظت‌های پایین عصاره (۲۰۰ پی‌پی‌ام) توان مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA (غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام) را داشته‌اند. در بین غلظت‌های ۶۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌ها، بخش پوست میوه اثر آنتی‌اکسیدانی بهتری از بخش گوشت میوه و همچنین از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA (۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام) و BHT (۱۰۰ پی‌پی‌ام) داشته است. در روزهای پایانی به دلیل مصرف یا تخریب آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی در اثر حرارت و افزایش زمان نگهداری، تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ($p < 0.05$) با یکدیگر



داشتند و تنها غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره متانولی بخش پوست میوه قابل قیاس با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام از نظر میزان عدد پراکسید و اثر آنتی‌اکسیدانی بود. دلیل بالا بودن اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی بخش پوست میوه را می‌توان به وضوح به بالا بودن میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در آن دانست. همچنین در مقایسه کلی دو بخش پوست و گوشت باید گفت که عصاره متانولی بخش پوست اثر آنتی‌اکسیدانی بیشتری در مقایسه با بخش گوشت میوه داشت (شکل شماره ۵).

آنچه که از بررسی اشکال ۶ تا ۸ می‌توان استنباط کرد این است که افزایش مداومی در میزان اندیس اسید تیوباربتوریک با افزایش دوره نگهداری در شرایط اکسیداسیون برای همه نمونه‌ها مشاهده شد. نمونه شاهد بیشترین اندیس اسید تیوباربتوریک را در همه مراحل آزمایش در طی نگهداری نشان داد. در این روش نیز مشابه روش عدد پراکسید، شدت بروز خاصیت آنتی‌اکسیدانی به غلظت عصاره‌ها وابسته بود. به طوری که این فعالیت با افزایش غلظت عصاره‌ها به طور معنی‌داری افزایش و میزان اندیس اسید تیوباربتوریک کاهش یافت که دلیل آن به تجمع ترکیبات فنولی نسبت داده می‌شود. از آنجا که شاخص اسید تیوباربتوریک شاخصی است که در روزهای پایانی آزمایش یا دوره اکسیداسیون افزایش پیدا می‌کند، پس در روزهای اول آزمایش اختلاف زیادی بین تیمار شاهد و سایر تیمارها وجود نداشت ولی در روزهای پایانی به خصوص روز بیست و پنجم اختلاف بین تیمارها و همچنین نمونه شاهد معنی‌دار بود ($p < 0.05$). باید ذکر کرد که روند تغییرات عدد پراکسید با عدد اسید تیوباربتوریک در طی دوره اکسیداسیون با یکدیگر متفاوت بود و عدد اسید تیوباربتوریک به طور آهسته افزایش یافته است. با بررسی نتایج می‌توان گفت که آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی یعنی عصاره‌های متانولی استخراج شده از دو بخش پوست و گوشت میوه پرتقال تامسون از نظر حفظ اثر آنتی‌اکسیدانی به خوبی توانسته بودند با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی رقابت کنند و در روز پایانی اثر آنتی‌اکسیدانی بهتری از خود نشان داده بودند و بخش پوست میوه در مقایسه با بخش گوشت با توجه به روند تغییرات اندیس اسید تیوباربتوریک اثر آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری نشان داد

(شکل شماره ۸). تحقیقات زیادی در پایداری روغن‌های خوراکی با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی مختلف صورت گرفته است. در مطالعه ای گلی و همکاران (۲۰۰۵)، غلظت‌های مختلف ترکیبات فنولیک موجود در پوست پسته را در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در روغن سویا بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که غلظت‌های مختلف ترکیبات فنولیک قادرند به خوبی روند اکسیداسیون را کند نمایند و اثر عصاره‌ها در غلظت ۶۰۰ پی‌پی‌ام را مشابه اثر آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام دانسته‌اند [۲۲]. پن^۱ و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی توان آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی *Cortex fraxini* در روغن بادام زمینی، غلظت‌های مختلف عصاره (۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۵ و ۰/۰۸ درصد) را با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در مدت ۲۴ ساعت در شرایط اکسیداسیون روغن (آون دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد) مقایسه کردند و نتیجه گرفتند که با افزایش غلظت، میزان اکسیداسیون کاهش یافت و عصاره اتانولی در همه غلظت‌ها اثر آنتی‌اکسیدانی بهتری از BHT نشان داد [۲۳]. میراحمدی^۲ و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ سبز چای در هر دو غلظت (۲۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام) بهتر از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT (۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام) و همچنین آلفاتوکوفرول (۲۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام) در جلوگیری از اکسیداسیون روغن آفتابگردان بوده است [۲۴]. روزبهان^۳ و همکاران (۲۰۰۸) به منظور بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراجی از تفاله انگور، مقادیر ۵۰، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ پی‌پی‌ام عصاره به روغن خام سویا اضافه کردند. نتایج آنها در گزارش اعداد پراکسید و تیوباربتوریک در مدت زمان ۱۳ روز نشان داد که غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام عصاره حاوی تانن تفاله انگور دارای فعالیت مناسبی در مهار اکسیداسیون روغن سویا بود و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین سطوح ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ پی‌پی‌ام مشاهده نشد. این غلظت‌ها حتی از غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بهتر بودند [۲۵]. صمدلویی^۴ و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی

¹ Pan³ Rouzbehan² Mir-Ahmadi⁴ Samadloui

می‌باشد و به طور کلی مقدار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در بخش پوست نسبت به گوشت میوه بیشتر است. در حالی که بخش زیادی از پوست مورد توجه قرار نگرفته و از بین می‌رود. با توجه به نتایج به دست آمده از آزمون پایداری روغن سویا می‌توان گفت که بخش‌های پوست و گوشت میوه پرتقال تامسون به خصوص پوست میوه به دلیل ضایعاتی بودن آن، می‌تواند به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی، توانایی واکنش با رادیکال‌های حاصل از اکسیداسیون لیپیدها را داشته و موجب قطع واکنش‌های زنجیری و افزایش زمان اکسیداسیون کند و کاهش سرعت اکسیداسیون خود به خودی شده و پس از آزمایش‌های تکمیلی (سم‌شناسی و ...) به مواد غذایی به خصوص روغن‌های خوراکی اضافه شود.

ترکیبات فنولی هسته انار بر روغن سویا گزارش کردند که ترکیبات فنولی هسته انار بین ۰/۲ تا ۱/۰۲ درصد متغیر بوده و در سطح ۳۵۰ پی‌پی‌ام اثر آنتی‌اکسیدانی آن در سطح آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی (BHA) ۲۰۰ پی‌پی‌ام می‌باشد [۲۶]. نتایج این تحقیق نیز از نظر روند تغییرات اعداد پراکسید و اسید تیوباربیتوریک در طی دوره نگهداری در شرایط اکسیداسیون و تاثیر غلظت عصاره‌های افزوده به روغن در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مشابه نتایج محققان فوق بوده است.

در نهایت، نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بسته به نوع پایه متفاوت است. همچنین در رابطه با بخش‌های مورد مطالعه میوه، پوست میوه مرکبات منبع مناسبی برای تامین مواد آنتی‌اکسیدانی

منابع

1. Fennema OR. Food chemistry. New York: Marcel Dekkert U.S.A. 1996.
2. Ebrahimzadeh MA, Pourmorad F, Hafezi S. Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turk. J. Biol.* 2008; 32: 43 - 9.
3. Mour A, Srucz GM, Franco D, Dominguez J. Natural Antioxidant from Residual Sources. *Food Chem.* 2001; 72: 145 - 71.
4. Lee JC, Lim KT. Effects of cactus and ginger extracts as dietary antioxidants on reactive oxidant and plasma lipid level. *Food Science and Biotechnol.* 2000; 9 (2): 83 - 8.
5. Kumaran A, Karunakaran RJ. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chem.* 2006; 97: 109 - 14.
6. Mokbel MS, Watanabe Y, Hashinaga F, Suganuma T. Purification of antioxidant and antimicrobial substance of Ethyl acetate from Buntan (*Citrus grandis*osbeck) Fruit peel. *Pakistan J. Biologica Sci.* 2006; 9 (1): 1445 - 50.
7. Castle WS. Citrus rootstock. In: Rom R.C and Carlson R.F. (eds). Rootstock for fruit crops. John wiley and sons. 1987, New York. pp: 361 - 99.
8. Kubota N, Yakushiji H, Nishiyama N, Mimura H and Shimamura K. Phenolic contents and l-phenylalanine ammonia-lyase activity in peach fruit as affected by rootstocks. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 2001; 70: 151 - 7.
9. Remorini D, Tavarini S, Degl E, Loreti F, Massai R, Guidi L. Effect of root stock and harvesting time on the nutritional quality of peel and flesh of peach fruits. *Food Chem.* 2008; 110 (2): 361 - 7.
10. Angell G. Effect of rootstock and inter-stock grafted in lemon tree (*Citrus lemon*) on the flavonoid content. *J. Agric. Food Chemist.* 2004; 52 (2): 324 - 31.



11. Keford J, Chandler B. The influence rootstock and interstock on the composition of orange with special reference to bitter principle. *Journal of Agriculture Research*. 1995; 12 (1): 56 - 68.
12. Dai GH, Andray C, Cosson L, Bouble D. Polyphenols and resistance of grape vine to downy mildew. *Acta Horticulturae* 1994; 381: 763 - 6.
13. Gil M, Tomas-Barberan AT, Hess-Pierce B, Kader AA. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids and vitamin C content of nectarine and plum cultivars from California. *J. Agriculture and Food Chem*. 2002; 50: 4976 – 82.
14. McDonald S, Prenzler PD, Autolovich M, Robards K. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chem*. 2001; 73: 73 - 84.
15. Chang C, Yang M, Wen H, Chern J. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Analysis* 2002; 10: 178 - 82.
16. AOCS. In: D. Firestone, (Ed.), Official methods and recommended practices of the american oil chemists society (4th ed.). Champaign: AOCS. 1989.
17. Sidewell GG, Salwin H, Benca M, Mitchel JA. The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. *J. American Oil Chemists Society* 1954; 31: 603 – 6.
18. Dixon RA, Paiva NI. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 1995; 7: 1085 – 97.
19. Toor RK, Savage GP. Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Res. International* 2005; 38: 487 – 94.
20. Van Acker SA, Van Den Berg DJ, Tromp MN, Griffioen DH, Van Bennekom, WP, Van Der Vijgh, WJ, Bast A. Structural aspects of antioxidant activity of flavanoids. *Free Radic. Biol. Med*. 1996; 20 (3): 331 - 42.
21. Jayaprakasha GK, Girennavar B, Patil BS. Radical scavenging activities of Rio Red grapefruits and Sour orange fruit extracts in different in vitro model systems. *Bioresour. Technol*. 2008; 99 (10): 4484 - 94.
22. Goli AH, Barzegar M, Sahari MA. Antioxidant activity and totalphenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chem*. 2004; 92: 521 – 5.
23. Pan Y and et al. Antioxidant activity of ethanolic extract of Cortex fraxini and use in peanut oil. *Food Chem*. 2007; 103: 913 - 8.
24. Mir-Ahmadi F, Fatemi H, Sahari, MA. Effect of green Tea extract on the inhibition of sunflower oil oxidation. *IJFST*. 2006; 2 (4): 61 - 70.
25. Rouzbehan Y, Alipour D, Barzegar M, Azizi MH. Antioxidant activity of phenolic compounds of grape pomace. *IJFST*. 2008; 5 (3): 69 - 74.
26. Samadloiy HR, Azizi MH, Barzegar M. Antioxidative effect of pomegranate seed phenolic components on soybean oil. *J. Agric. Sci. Natur. Resour*. 2007; 14 (4): 42 - 9.

