نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد یازدهم، شماره اول، ۹۸
۳۳-٤٨
http://ejfpp.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/EJFPP.2019.13219.1428

اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی و استونی برگ زیتون بر ماندگاری روغن سویا

حسین جلالی[۱]، سیدحمیدرضا ضیاءالحق[۲*]، عبدالرضا محمدی نافچی[۳]، محمد کاظمی الموتی[۴]

[۱]استادیار، گروه صنایع غذایی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران
[۲]استادیار، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان، شاهرود، ایران
[۳]دانشیار، گروه صنایع غذایی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران
[۴]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه صنایع غذایی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۰۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۲۲

چکیده

سابقه و هدف: اکسایش چربی‌ها تحت تاثیر عوامل داخلی و خارجی متعددی صورت می‌گیرد. محصولات اولیه حاصل از اکسید شدن چربی‌ها فاقد مزه و بو بوده و تجزیه شدن این ترکیبات و تولید محصولات ثانویه حاصل از اکسایش باعث ایجاد عطر و طعم نامطلوب در روغن‌ها می‌گردد. این مسئله در صنعت غذا بسیار مورد توجه است، زیرا باعث کاهش مدت ماندگاری و غیر قابل مصرف شدن این محصولات می‌شود. در اثر اکسایش چربی‌ها در طی واکنش‌های زنجیره‌ای، رادیکال‌های آزاد تولید می‌شوند و از این رو برای جلوگیری از ایجاد رادیکال‌های آزاد، از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی استفاده می‌شود که فرار و حساس به گرما بوده و استفاده از آن‌ها سلامتی انسان را تهدید کرده و باعث بروز سرطان می‌شوند. پلی‌فنول‌ها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند و قادرند رادیکال‌های آزاد را جذب نمایند. با توجه به فوایدی که پلی‌فنول‌ها در سلامتی انسان دارند، روغن‌های گیاهی غنی از پلی‌فنول‌ها می‌توانند درافزایش سلامت بشر نیز تاثیر گذار باشند. لذا در این پژوهش، هدف بررسی امکان استفاده از عصاره طبیعی استخراج شده از برگ زیتون به‌منظور جلوگیری از اکسایش روغن سویا و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش ترکیبات فنولی برگ دو واریته زیتون ماری و زرد با استفاده از دو حلال متانول و استون و به کمک دستگاه فراصوت استخراج شدند. محتوای ترکیبات فنولی با روش فولین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به دو روش DPHH و قدرت احیاکنندگی اندازه‌گیری شد. برای بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره‌ها بر پایداری اکسایشی روغن سویا، از اندازه‌گیری عدد پراکسید و شاخص مواد واکنش دهنده با اسید تیوباربیتوریک استفاده گردید.

یافته‌ها: بیشترین مقدار ترکیبات فنولی از زیتون ماری استخراج گردید (۱۰۱/۳۸۲ میلی‌گرم در گرم عصاره). نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره متانولی واریته ماری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به سایر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد مطالعه در این پژوهش دارد، همچنین مشاهده شد که قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH با افزایش غلظت ارتباط مستقیم دارد. در مرحله بعد

* نویسنده مسئول: hziaolhagh@gmail.com

عصاره متانولی واریته ماری، در سه سطح ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ پی.پی.ام. و آنتی‌اکسیدان‌های BHT و TBHQ در دوسطح ۱۰۰ و ۲۰۰ پی.پی.ام. به نمونه روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان افزوده شدند.

نتیجه‌گیری: بیشترین بازده استخراج ترکیبات فنولی مربوط به واریته ماری با حلال متانول می‌باشد. عصاره متانولی واریته ماری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به سایر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی دارد. همچنین نتایج نشان داد که قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد با افزایش غلظت عصاره‌ها ارتباط مستقیم دارد. عصاره متانولی واریته ماری در غلظت ۵۰۰ پی.پی.ام. در بازه‌های زمانی نگهداری، قابلیت رقابت با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ پی.پی.ام. را دارد.

واژه‌های کلیدی: برگ زیتون، ترکیبات فنولی، روغن سویا، فراصوت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

مقدمه

اکسایش، یکی از واکنش‌های مهم در کاهش ارزش تغذیه‌ای و کیفیت چربی‌ها می‌باشد. اکسایش چربی‌ها می‌تواند تحت تاثیر عوامل داخلی و خارجی متعددی مانند نوع اسید چرب، مقدار و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نور، دما، فشار اکسیژن، تماس با اکسیژن و فعالیت آبی قرار گیرد. اکسایش چربی‌ها در حین نگهداری و فراوری غذا نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه‌ای غذا می‌شود، بلکه محصولات حاصل از اکسایش همانند رادیکال‌های آزاد می‌توانند منجر به واکنش‌های نامطلوب شیمیایی نیز شوند. آنتی‌اکسیدان‌ها از ویتامین‌های محلول در چربی، کاروتنوئیدها و سایر اجزای مغذی موجود در غذاها محافظت می‌نمایند (۲۱). روغن‌های گیاهی نقش مهمی در تغذیه بشر بر عهده دارند. برای جلوگیری از اکسایش این روغن‌ها معمولاً از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مثل TBHQ[1]، BHT[2] و BHA[3] استفاده می‌شود. این آنتی‌اکسیدان‌ها فرار و حساس به گرما بوده و استفاده از آن‌ها سلامتی انسان را تهدید کرده و باعث بروز سرطان می‌شوند (۱۷). استفاده از این ترکیبات در مواد غذایی روز به روز محدودتر شده و بررسی جایگزین‌های طبیعی منجر به شناسایی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی شده است (۵).

پلی‌فنول‌ها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند و قادرند رادیکال‌های آزاد را جذب نمایند (۱۸). با توجه به فوایدی که پلی‌فنول‌ها در سلامتی انسان دارند، روغن‌های گیاهی غنی از پلی‌فنول‌ها می‌توانند درافزایش سلامت بشر نیز تاثیر گذار باشد (۸، ۱۰ و ۲۲).

برگ زیتون حاوی ترکیبات فنولی، ترپنی و ترکیبات محلول در چربی، کربوهیدرات‌ها، پروتئین، مواد معدنی و غیره است. برگ‌های زیتون بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت گیرندگی رادیکال‌های آزاد را در بین بخش‌های مختلف درخت زیتون دارند. ترکیبات موجود در برگ‌های زیتون شامل ترکیبات سکوریدویدی، ترکیبات فلاونوئیدی وترکیبان فنولی می‌باشند (۱۱). سالتا و همکاران (۲۰۰۷) چهار روغن گیاهی تجاری (آفتابگردان، پالم، زیتون و شورتینگ‌های گیاهی) را با عصاره برگ زیتون غنی سازی نموده و مشخص کردند که با افزودن عصاره، فعالیت آنتی‌اکسیدانی تمام نمونه‌ها افزایش می‌یابد (۱۸). محمد و همکاران (۲۰۰۷) در پژوهش خود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مناطق مدیترانه‌ای از جمله برگ زیتون را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها نشان دادند که بلوط اروپایی و برگ زیتون بیشترین مقدارآلفا توکوفرول را دارند (۱۳).

در مورد اثر عصاره برگ زیتون بر پایداری اکسایشی روغن‌های خوراکی، بوعزیز و همکاران (۲۰۰۵)گزارش کردند که غنی‌سازی روغن زیتون با عصاره برگ زیتون موجب کاهش شاخص پراکسید و پایداری اکسایشی نسبت به نمونه شاهد می‌شود (۲).

رفیعی و همکاران (۲۰۱۱) ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون در روغن آفتابگردان را بررسی نمودند. آن‌ها در این بررسی نشان دادند که عصاره متانولی برگ زیتون در سطح ۱۰۰۰ پی.پی.ام. به خوبی توانست شاخص پراکسید و اسید تیوباربیتوریک را کنترل کرده و جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT شود (۱۶). مهدویان مهر و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که عخصاره برگ زیتون منبع مناسبی از پلی‌فنول‌ها، به‌خصوص الئورپئین، هیدروکسی تیروزول و کوئرستین می‌باشد که سبب افزایش پایداری روغن‌ها

1. Tertiary-Butylhydroquinone
2. Butylated Hydroxytoluene
3. Butylated hydroxyanisole

می‌شوند (۱۲). پریزن و همکاران (۲۰۱۱) فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ سنا را بر پایداری روغن سویا بررسی کرده و نشان دادند که غلظت ۷۵۰ پی.پی.ام. عصاره متانلی برگ سنا کارایی خوبی در کند نمودن روند اکسایش روغن سویا دارد (۱۴). صمدلویی و همکاران (۱۳۸۶) اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی هسته انار را بر روغن سویا مورد مطالعه قرار داده و نشان دادند که غلظت ۳۵۰ پی.پی.ام. عصاره هسته انار دارای اثر آنتی‌اکسیدانی مشابه غلظت ۲۰۰ پی.پی.ام. آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA می‌باشد (۱۹). با توجه به بررسی صورت گرفته، این پژوهش به جهت مشخص کردن روش استخراج ترکیبات فنولی برگ زیتون و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصله و اثر آن‌ها بر پایداری اکسایشی روغن سویا انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش، روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان از شرکت فرجام پژوه قزوین تهیه گردید. برگ زیتون دو واریته ماری و زرد در فصل تابستان از شرکت کشت و صنعت اشرفیه واقع در قزوین، طارم روستای سیاهپوش برداشت شد. تمام مواد شیمیایی مورد استفاده و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی از شرکت‌های سیگما آلدریچ و مرک خریداری شدند.

آماده سازی برگ درخت زیتون و استخراج ترکیبات فنولی: برگ‌های زیتون، پس از برداشت به مدت ۱۴ روز در سایه قرار داده شدند تا کاملا خشک گردند. سپس برگ‌ها با آسیاب (مدل N-376-J-M ساخت شرکت ناسیونال ژاپن) پودر گردیده و از الک با مش ۸۰ عبور داده شده و تا زمان آزمایش در دمای c °۱۸- نگهداری شدند (۱۶). جهت استخراج ترکیبات فنولی، ۵ گرم از هر نمونه برداشته شد و ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ و ۱۰۰ میلی‌لیتر استون به آن افزوده گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط مخلوط گردید (۱۶). به‌منظور افزایش راندمان استخراج، محلول‌ها به‌مدت ۵ دقیقه درون حمام فراصوت مدل Super RK 510 ساخت شرکت Sonorex آلمان (با توان ۳۲۰ وات و فرکانس ۳۵ کیلوهرتز) با دمای ۲۵ درجه قرار داده شد. سپس محلول با کاغذ صافی واتمن ۴۰ صاف گردید و در نهایت حلال با استفاده از دستگاه تبخیرکننده تحت خلا چرخان مدل HS-2001NS از نمونه جدا شده و عصاره برجای مانده برای آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی از روش فولین- سیوکالتیو[1] استفاده شد. در این روش ۵۰۰ میلی‌گرم از عصاره خشک شده در ۱۰۰میلی‌لیتر متانول حل شد و ۰/۵ میلی‌لیتر از این محلول با ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین ۱۰٪ مخلوط و ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ ٪ به آن اضافه گردید. سپس نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری و جذب آن در ۷۶۵ نانومتر با استفاده از طیف سنج نوری مدل HACH DR5000 قرائت شد (۱۴).

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها: برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از دو روش DPPH[2] و ظرفیت احیاکنندگی استفاده شد. در روش DPPH محلول‌های متانولی واریته ماری با غلظت‌های ۵۰، ۱۵۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۷۰۰ و ۱۰۰۰ پی.پی.ام. از عصاره تهیه شد. برای تهیه محلول DPPH ۰/۱۳۲ مولار، ۵/۲ گرم از آن در ۱۰ میلی‌لیتر متانول حل شده و به حجم ۱۰۰ رسانیده شد. ۱/۵ میلی‌لیتر از هر یک از غلظت‌های عصاره متانولی به ۱/۵ میلی‌لیتر از DPPH اضافه شد و پس از ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در محیط تاریک، جذب در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری گردید (۱۴). درصد مهار کنندگی از رابطه ۱ محاسبه شد.

(رابطه ۱)

$$IC\ \% = ((A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank}) \times 100$$

1. Folin–ciocalteu
2. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

در این رابطه A_{blank} جذب کنترل و A_{sample} جذب نمونه می‌باشند. IC نیز فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال بوده و بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد مهارکنندگی DPPH است.

در روش ظرفیت احیاکنندگی، ۰/۵ میلی‌لیتر از هر غلظت به لوله آزمایش درب‌دار منتقل و ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH= ۶/۶ و ۲/۵ میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید ۱٪ به آن اضافه شده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد درون حمام آب قرار گرفت. سپس لوله‌ها بلافاصله سرد و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک ۱۰٪ به لوله‌ها اضافه و به‌مدت ۱۰دقیقه در ۳۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد. در پایان، ۵ میلی‌لیتر از لایه بالایی با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر محلول کلرید فریک ۰/۱٪ مخلوط و جذب آن در ۷۰۰ نانومتر خوانده شد (۱۶). درصد مهارکنندگی از رابطه ۲ محاسبه شد.

(رابطه ۲)

$$IC\ \% = ((A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank}) \times 100$$

در این رابطه A_{blank} جذب کنترل و A_{sample} جذب نمونه می‌باشند. IC نیز فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال بوده و بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد مهارکنندگی است.

برای تعیین اثر عصاره برگ زیتون در به تاخیر انداختن اکسایش روغن سویا از دو آزمون عدد پراکسید و اسید تیوباربیتوریک استفاده شد. عصاره متانولی واریته ماری در سه غلظت ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ پی.پی.ام. و آنتی‌اکسیدان‌های BHT و TBHQ در دو غلظت۱۰۰ و ۲۰۰ پی.پی.ام. به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شدند و به همراه یک نمونه شاهد برای مدت ۱۲ روز در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه قرار داده شدند. طی فواصل زمانی صفر، سه، شش، نه و دوازده روز، عدد پراکسید و اسید تیوباربیتوریک این نمونه‌ها اندازه‌گیری گردیدند. برای اندازه‌گیری شاخص پراکسید، ۵ گرم از نمونه را در یک ارلن مایر درب‌دار وزن کرده و ۳۰ میلی‌لیتر از محلول اسید استیک- کلروفرم به آن افزوده شد. سپس به آن ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع اضافه شده و بعد از یک دقیقه با محلول هیپوسولفیت ۰/۱ نرمال تیتر گردید تا رنگ زرد از بین رود. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر معرف نشاسته به آن اضافه و عمل تیترسنجی تا زایل شدن کامل رنگ موجود ادامه یافت (۱۵). عدد پراکسیداز رابطه ۳ به دست آمد:

(رابطه ۳)

$$POV=(N\times t\times 1000)/M$$

که در این رابطه POV عدد پراکسید بر حسب میلی‌اکی‌والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم روغن، N نرمالیته تیوسولفات سدیم، t حجم تیتران مصرفی برای نمونه و M وزن نمونه است.

عدد اسید تیوباربیتوریک مقدار مالئون دی آلدئید موجود در ۱۰۰۰ گرم چربی است و به عنوان یک روش کمکی برای سایر روش‌ها محسوب می‌شود. در اثر واکنش اسید تیوباربیتویک با مالون آلدئید رنگ قرمزی تولید می‌شود که با دستگاه طیف سنج نوری اندازه‌گیری می‌گردد (۱۹). اندازه‌گیری عدد اسید تیوباربیتوریک به این صورت انجام شد که ابتدا ۰/۵ گرم روغن در ۱۰ میلی‌لیتر تتراکلریدکربن حل شده و به آن ۱۰ میلی‌لیتر مخلوط ۲ به ۱ اسید استیک–اسید تیوباربیتوریک اضافه شد. نمونه به‌مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد. فاز بالایی جدا شده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از سرد کردن جذب نمونه در ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید. عدد اسید تیوباربیتوریک از رابطه ۴ محاسبه شد(۳).

$$TBA=e/(d.m) \qquad \text{(رابطه ۴)}$$

که TBA عدد اسید تیوباربیتوریک، e جذب نوری اندازه‌گیری شده، d، ضخامت سل و m، وزن نمونه بر حسب گرم می‌باشند.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل نتایج در قالب طرح کاملاً تصادفی و تمامی آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (توکی) در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید. جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel (۲۰۱۰) استفاده شد.

نتایج و بحث

مقدار کل ترکیبات فنولی برگ زیتون: مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره‌ها با استفاده از روش فولین- سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. در این روش از معرف فولین- سیوکالتیو که مخلوطی از فسفومولیبدات و فسفوتنگستات است، استفاده شد. در محیط قلیایی ملایم و پس از افزایش Na_2CO_3 ٪۷ ، مولیبدن (VI) موجود در معرف فولین، به مولیبدن (V) کاهیده شده و این کاهش با تغییر رنگ معرف از زرد به آبی همراه است (۱). نتایج حاصل از انجام این آزمون در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: میزان ترکیبات فنولی عصاره‌ها (میلی گرم معادل اسید گالیک در گرم عصاره)

Table1. The amount of phenoloc compounds of the extracts (mg Galic acid/g extract)

عصاره‌ها (extracts)	میزان ترکیبات فنولی(phenolic content)
Acetonic extract/yellow variety (عصاره استونی واریته زرد)	90.325±0.309[c]
Methanolic extract/yellow variety (عصاره متانولی واریته زرد)	93.557±0.466[b]
Acetonic extract/Mary variety (عصاره استونی واریته ماری)	93.659±0.305[b]
Methanolic extract/Mary variety (عصاره متانولی واریته ماری)	101.382±0.176[a]

حروف مشابه نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشند (در سطح ۵٪)

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس نشان دادند که اثر نوع حلال به کار رفته برروی بازده استخراج ترکیبات فنولی مؤثر و معنی‌دار بوده است. در بین تیمارها، عصاره متانولی بیشترین بازده استخراج را داشت. در بین حلال‌ها، بیشترین میزان استخراج مربوط به عصاره متانولی واریته ماری (۰/۱۷۶±۱۰۱/۳۸۲ معادل اسید گالیک در گرم عصاره) و کمترین میزان استخراج مربوط به عصاره استونی واریته زرد (۰/۳۰۹ ± ۹۰/۳۲۵ معادل اسید گالیک در گرم عصاره) بود (جدول ۴-۲). اما در تیمارهای عصاره‌ی متانولی واریته زرد و عصاره‌ی استونی واریته ماری، از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. با توجه به نتایج آماری، می‌توان بیان کرد که میزان استخراج حلال متانول از حلال استون بیشتر می‌باشد که با نتایج رفیعی و همکاران (۲۰۱۱) و پریزن و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد (۱۴ و ۱۶). در پژوهشی، شهید و اقبال (۲۰۰۷) گزارش نمودند که عصاره متانولی سیر بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بازده استخراج را نسبت به سایر حلال‌ها ازجمله استون داشت (۲۰) این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه ما مطابقت دارد. همچنین میزان ترکیبات فنولی واریته ماری از واریته زرد بیشتر می‌باشد. اما بین تیمارهای عصاره متانولی واریته زرد و عصاره استونی واریته ماری تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) مشاهده نشده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این پژوهش می‌توان استنباط کرد که درصد استخراج متانول هم در واریته زرد و هم در واریته ماری بیشتر از درصد استخراج استون می‌باشد. با توجه به این‌که میزان ترکیبات فنولی عصاره متانولی واریته ماری از سایر عصاره‌ها بیشتر بود، از این عصاره به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در روغن سویا استفاده شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی متانولی واریته ماری: DPPH یک رادیکال آزاد پایدار با اتم نیتروژن

در مرکز است که وقتی توسط مکانیسم الکترون‌گیری یا هیدروژن‌گیری کاهیده می‌شود از ارغوانی به زرد، تغییر رنگ می‌دهد. جذب رادیکال در طول موج ۵۱۷ نانومتر قابل رؤیت است. جدول ۲، IC_{50} غلظت ۱۰۰ پی.پی.ام. عصاره‌ها در آزمون‌های مختلف را بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر نشان می‌دهد. IC_{50} بیانگر غلظتی از عصاره است که برای مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH مورد نیاز می‌باشد. IC_{50} کمتر نشان دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بالای عصاره مربوطه می‌باشد.

جدول ۲: IC_{50} عصاره‌های مختلف در آزمون DPPH

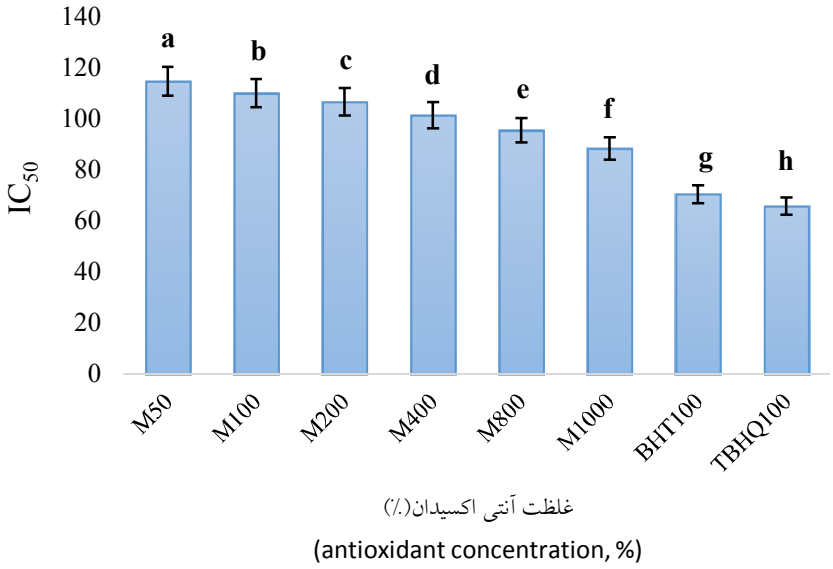
Table 2. IC_{50} of different extracts in DPPH test

عصاره‌ها (extracts)	IC_{50} (µg/ml)	
	DPPH	قدرت احیاکنندگی (reducing power)
Acetonic extract/yellow variety (عصاره استونی واریته زرد)	189.663±0.456[a]	431.139±0.003[a]
Acetonic extract/Mary variety (عصاره استونی واریته ماری)	142.684±0.517[b]	389.385±0.552[b]
Methanolic extract/yellow variety (عصاره متانولی واریته زرد)	125.834±0.917[c]	263.209±0.799[c]
Methanolic extract/Mary variety (عصاره متانولی واریته ماری)	109.825±0.841[d]	230.886±0.365[d]
BHT	70.307±0.136[e]	190.197±0.426[e]
TBHQ	65.583±0.108[f]	142.167±0.388[f]

حروف مشابه نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشند (در سطح ۵ درصد)

نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد در بین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، عصاره متانولی واریته ماری با IC_{50} برابر ۰/۸۴۱± ۱۰۹/۸۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بهترین عصاره در مهار این رادیکال بود. به‌طورکلی از نظر مهار رادیکال DPPH، عصاره‌های متانولی بیشترین و عصاره‌های استونی کمترین قدرت آنتی‌اکسیدانی را دارا بودند که با نتایج رفیعی و همکاران(۲۰۱۱) مطابقت دارد (۱۶). در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، همه‌ی عصاره‌های مورد آزمون IC_{50} بیشتری نسبت به BHT و TBHQ داشتند. در پژوهش بوعزیز و همکاران (۲۰۰۵) ، IC_{50} عصاره هیدرولیزی، عصاره اتیل استات و عصاره متانولی واریته‌های تونسی برگ زیتون به ترتیب، برابر با ۰/۶۵ ، ۱/۲۵ و ۱/۷۵ میکروگرم در هر میلی لیتر گزارش شد که با داده‌های این پژوهش متفاوت است. دلیل این اختلاف را می‌توان به تفاوت در نوع واریته و ترکیبات فنولی، شرایط اقلیمی و همچنین تفاوت در روش استخراج عصاره نسبت داد. علاوه بر این، آن‌ها در تحقیق خود پلی‌فنول‌های با وزن مولکولی پایین را جدا کرده و تنها آن‌ها را به روش کروماتوگرافی مورد سنجش قرار دادند(۲).

شکل ۱، IC_{50} عصاره متانلی واریته ماری با غلظت‌های مختلف و غلظت ۱۰۰ پی.پی.ام. آنتی‌اکسیدان‌های BHT و TBHQ را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت عصاره‌ها قدرت مهار رادیکال‌های آزاد نیز افزایش می‌یابد. به طوری‌که بیشترین قدرت مهارکنندگی مربوطه به غلظت ۱۰۰۰ پی.پی.ام. عصاره متانولی رقم ماری می‌باشد. البته در بین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی غلظت ۱۰۰ پی.پی.ام. آنتی‌اکسیدان TBHQ بیشترین قدرت مهارکنندگی را داشته است.



شکل ۱: IC_{50} (میکروگرم در میلی‌لیتر) غلظت‌های مختلف عصاره متانولی برگ زیتون رقم ماری در آزمون DPPH
حروف مشابه نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشند (در سطح ۵٪)

Figure 1. IC_{50} of different concentrations of methanolic extract of the Mary olive leaves in DPPH test

آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند به عنوان عوامل احیا کننده و غیر فعال کننده اکسیدان‌ها به کار روند. به این صورت که در یک واکنش اکسایشی-کاهشی، عوامل اکسید کننده موجود در محیط به وسیله آنتی‌اکسیدان‌ها احیا شده و خود آنتی‌اکسیدان اکسید می‌شود. روش‌های توسعه یافته برای سنجش قدرت احیاکنندگی آنتی‌اکسیدان‌های غذایی، بر مکانیسم‌های مختلفی متمرکز شده‌اند، از جمله غیر فعال کردن اکسیژن‌های فعال، رادیکال‌های هیدروکسیل، جلوگیری از پراکسیداسیون چربی، یا چلات کردن یون فلزات سنگین. در این آزمون منظور از IC_{50} غلظتی از عصاره است که برای مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH مورد نیاز است. با توجه به جدول ۲، بالاترین قدرت احیاکنندگی مربوط به عصاره متانولی واریته ماری به میزان ۲۳۰/۸۸۶±۰/۳۶۵ بود. همچنین تمامی عصاره‌ها IC_{50} بیشتری نسبت به دو آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT و TBHQداشتند که با نتایج رفیعی و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت داشت (۱۶).

بررسی اثر عصاره برگ زیتون در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا: روند افزایش عدد پراکسیدو اسید تیوباربیتوریک نشان دهنده کارآیی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و عصاره‌ها در به تاخیر انداختن اکسیداسیون است. بررسی نتایج آنالیز واریانس و نیز مقایسه میانگین اعداد پراکسید تیمارهای مختلف نشان داد که اثر تیمار و زمان نگهداری بر عدد پراکسید در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$). با توجه به جدول۳، بیشترین میزان عدد پراکسید به دست آمده در روز سوم مربوط به نمونه شاهد بود که حاوی هیچ گونه آنتی اکسیدانی نبوده است. همچنین کمترین مقدار اکسیداسیون و بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی مربوط به تیمار TBHQ200 بود. در میان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی استفاده شده در روغن سویا، کمترین مقدار اکسایش و بیشترین اثر

آنتی‌اکسیدانی مربوط به تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. بود. تیمار ۱۰۰ و ۲۰۰ پی.پی.ام. از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد (P <۰/۰۵) با یکدیگر تفاوت معنی‌داری از نظر میزان عدد پراکسید نشان ندادند و در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزیBHT و TBHQ و همچنین تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. عدد پراکسید بیشتری داشتند. تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. با آنتی‌اکسیدان‌های BHT و TBHQ در غلظت ۱۰۰ پی.پی.ام. از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری از نظر عدد پراکسید نشان نداد، ولی با آنتی‌اکسیدان‌های BHT و TBHQ در غلظت ۲۰۰ پی.پی.ام. از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را نشان داد. تغییرات میزان عدد پراکسید در روز ششم نشان دهنده این مطلب بود که روند تغییرات در شاخص پراکسید از لحاظ آماری مشابه با نتایج روز سوم می‌باشد، با این تفاوت که شاخص پراکسید در تمامی تیمارها نسبت به روز سوم روند افزایشی داشته است (جدول ۳). در بررسی نتایج روزهای ۹ و ۱۲ مشاهده شده است که بر خلاف روزهای ۳ و ۶ تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ پی.پی.ام. از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را نشان دادند، اما هچنان تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. با غلظت ۱۰۰ پی.پی.ام. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و TBHQ از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشتند. با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها، میزان پراکسید تیمارها افزایش یافته است. تفاوت بین عصاره‌ها و غلظت‌های مختلف عصاره‌ها در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی (BHT و TBHQ) بیان‌گر آن است که با افزایش غلظت، توان آنتی‌اکسیدانی افزایش داشته است. در همه روزها غلظت‌های ۵۰۰ پی.پی.ام. عصاره در به تاخیراندازی اکسایش مؤثر بوده و اثر آنتی‌اکسیدانی مشابهی با غلظت‌های ۱۰۰ پی.پی.ام. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و TBHQ داشتند. در روزهای پایانی، به دلیل مصرف و تخریب آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی در اثر گذشت زمان، تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ (P>۰/۰۵) با یکدیگر پیدا کردند (۴) و تنها غلظت ۵۰۰ پی.پی.ام. عصاره متانولی واریته ماری قابل قیاس با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و TBHQ در غلظت ۱۰۰ پی.پی.ام.، از نظر میزان عدد پراکسید و اثر آنتی‌اکسیدانی بود. دلیل بالا بودن اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی را می‌توان به بالا بودن میزان ترکیبات فنولی آن و انحلال بهتر عصاره متانولی در روغن سویا دانست. پریزن و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی و کنترل تغییرات پراکسید روغن سویا حاوی عصاره برگ سنا به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، بیان کردند که سرعت اکسیداسیون در نمونه شاهد بالاترین مقدار را دارد، همچنین تمامی نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان در برابر اکسیداسیون، پایدارتر از نمونه‌ی شاهد بودند (۱۴). با توجه به نتایج بدست آمده از آزمون پراکسید، نتایج آن با نتایج پریزن و همکاران (۲۰۱۱) و قره خانی و همکاران(۲۰۰۹) مطابقت دارد (۴ و ۱۴).

نتایج آنایز واریانس و مقایسه میانگین عدد اسید تیوباربیتوریک تیمارهای مختلف نشان داد که اثر تیمار و زمان بر عدد اسید تیوباربیتوریک در سطح احتمال p<۰/۰۵ معنی‌دار بوده است. با توجه به جدول ۳، مشاهده می‌شود که بیشترین میزان عدد اسید تیوباربیتوریک به دست آمده در روز سوم مربوط به نمونه شاهد بود که حاوی هیچ گونه آنتی‌اکسیدانی نبوده است. همچنین کمترین مقدار شاخص اسید تیوباربیتوریک مربوط به تیمار TBHQ در غلظت ۲۰۰ پی.پی.ام. بود. در میان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی استفاده شده در روغن سویا، کمترین مقدار شاخص اسید تیوباربیتوریک در تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. مشاهده شد. همچنین با بررسی این جدول می‌توان دریافت که تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. حاوی عصاره‌ی متانولی واریته ماری با BHT و TBHQ در غلظت ۱۰۰ پی.پی.ام. قابلیت رقابت را دارد. همچنین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و TBHQ در غلظت ۲۰۰ پی.پی.ام. از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۳: اثرتیمارها برعدد پراکسید (POV) و عدد اسید تیوباربیتوریک (TBA)

Table 3. The effect of treatments on peroxide (POV) and thiobarbituric acid values (TBA)

روز دوازدهم(day 12)		روز نهم(day 9)		روز ششم(day 6)		روز سوم(day 3)		نمونه
TBA	POV	TBA	POV	TBA	POV	TBA	POV	(sample)
0.514±0.012^{b}	16.867±0.34^{b}	0.294±0.001^{b}	77.190±0.580^{b}	0.129±0.003^{b}	50.890±0.440^{b}	0.064±0.001^{b}	45.120±2.330^{b}	M100
0.463±0.002^{c}	15.440±0.540^{c}	0.271±0.002^{c}	75.070±0.490^{c}	0.122±0.001^{c}	49.110±0.990^{b}	0.063±0.001^{b}	42.920±0.830^{b}	M200
0.460±0.001^{d}	14.290±0.390^{d}	0.254±0.002^{de}	70.620±0.430^{d}	0.112±0.003^{de}	45.450±0.340^{c}	0.052±0.001^{c}	39.830±0.740^{c}	M500
0.461±0.001^{d}	14.590±0.330^{d}	0.255±0.002^{d}	73.590±0.990^{cd}	0.114±0.001^{d}	43.870±0.160^{c}	0.049±0.002^{cd}	37.970±0.440^{c}	BHT100
0.451±0.003^{de}	12.830±0.620^{e}	0.253±0.001^{de}	66.630±2.560^{e}	0.111±0.003^{de}	38.120±0.910^{d}	0.047±0.001^{de}	34.820±0.960^{d}	BHT200
0.461±0.002^{d}	14.890±0.850^{d}	0.255±0.002^{d}	71.680±0.200^{cd}	0.115±0.001^{d}	43.630±0.250^{c}	0.051±0.001^{c}	36.790±0.170^{cd}	TBHQ100
0.436±0.003^{e}	12.700±0.150^{e}	0.249±0.001^{e}	63.740±1.670^{e}	0.107±0.001^{e}	33.140±0.520^{e}	0.045±0.001^{e}	28.400±0.680^{e}	TBHQ200
0.622±0.009^{a}	465.980±2.330^{a}	0.312±0.002^{a}	198.450±1.570^{a}	0.159±0.001^{a}	106.330±1.640^{a}	0.069±0.001^{a}	75.370±0.390^{a}	Blank

حروف مشابه در هر ستون نشانگر عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

Different letters in eack column shows significante difference.

در بررسی نتایج شاخص اسید تیوباربیتوریک روزهای ۶ و ۹، نمونه شاهد همانند روز سوم بیشترین شاخص اسید تیوباربیتوریک را داشت. با بررسی داده‌های جدول ۳ مشاهده می‌شود که در بین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، با افزایش غلظت عصاره، میزان شاخص اسید تیوباربیتوریک کاهش می‌یابد، به طوری‌که تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. بهترین عملکرد را در کاهش شاخص اسید تیوباربیتوریک از خود نشان داده است و از لحاظ آماری قابلیت جایگزینی با تمامی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در غلظت‌های ذکر شده را دارد.همچنین تغییرات شاخص اسید تیوباربیتوریک در تیمارهای مختلف در روز دوازدهم باز هم بیان‌گر این مطلب بود که نمونه شاهد به علت نداشتن آنتی‌اکسیدان، بالاترین شاخص اسید تیوباربیتوریک را داشت. تیمار TBHQ در غلظت ۲۰۰ پی.پی.ام. در بین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی بهترین عملکرد را در جلوگیری از افزایش شاخص اسید تیوباربیتوریک داشت. برخلاف نتایج حاصله از روزهای ۶ و ۹، تیمار ۵۰۰ پی.پی.ام. عصاره متانولی واریته ماری از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار با تیمار TBHQ در غلظت ۲۰۰پی.پی.ام. نداشت؛ ولی در روز دوازدهم از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را با تیمار مذکور پیدا کرد که احتمالا این تغییرات می‌تواند به این علت باشد که در روزهای پایانی، مصرف و تخریب آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در اثر گذشت زمان بیشتر از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بوده است (۴).

با توجه به نتایج، یک افزایش مداوم در میزان شاخص اسید تیوباربیتوریک با افزایش دوره نگهداری در شرایط اکسایش، برای همه نمونه‌ها مشاهده شد. نمونه‌ی شاهد بیشترین شاخص اسید تیوباربیتوریک را در همه مراحل آزمایش درطی نگهداری نشان داد. در این روش نیز مشابه روش عدد پراکسید، شدت بروز خاصیت آنتی‌اکسیدانی به غلظت عصاره‌ها وابسته بود. به‌طوری‌که این فعالیت با افزایش غلظت عصاره‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش و میزان شاخص اسید تیوباربیتوریک کاهش یافت که این، به تجمع ترکیبات فنولی نسبت داده می‌شود. در نهایت می‌توان گفت که عصاره متانولی واریته ماری با غلظت ۵۰۰ پی.پی.ام. از نظر حفظ اثر آنتی‌اکسیدانی به خوبی توانسته با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی رقابت کند. مطالعه‌ای در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس شوید، توسط پریزن و همکاران (۲۰۱۱)، در روغن سویا انجام گرفت. آن‌ها نشان دادند که سرعت اکسایش در نمونه‌ی شاهد بالاترین مقدار را داشته و هر چه غلظت اسانس بیشتر بود، قدرت آنتی‌اکسیدانی آن هم بیشتر بود (۱۴).

نتایج به‌دست آمده در تحقیق جاری نیز با نتایج به‌دست آمده از پژوهش پریزن و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد (۱۴). پژوهش‌های زیادی در مورد پایداری روغن‌های خوراکی با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی مختلف صورت گرفته است. گلی و همکاران (۲۰۰۵)، غلظت‌های مختلف ترکیبات فنولی موجود در پوست پسته را در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی درروغن سویا بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که غلظت‌های مختلف ترکیبات فنولی قادرند به خوبی روند اکسایش را کند نمایند (۷). ابوطالبیان (۲۰۰۶) گزارش کرد که اثر آنتی‌اکسیدانی نعناع، پونه و ریحان در روغن آفتابگردان به عنوان آنتی‌اکسیدان در غلظت ۶۰۰ پی.پی.ام. با اثر آنتی‌اکسیدانی BHT با غلظت۲۰۰ پی.پی.ام. قابل قیاس می‌باشد (۱).

نتایج تحقیق جاری نیز از نظر روند تغییرات اعداد پراکسید و اسید تیوباربیتوریک در طی دوره نگهداری در شرایط اکسایش و تأثیر غلظت عصاره‌های افزوده شده به روغن در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مشابه نتایج محققان بالا بوده است.

نتیجه‌گیری کلی

برگ زیتون حاوی ترکیبات فنولی، ترپنی و ترکیبات محلول در چربی، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، مواد معدنی و غیره است. با توجه به نتایج به‌دست آمده از استخراج ترکیبات فنولی دو واریته ماری و زرد با حلال‌های متانولی و استونی، بیشترین بازده استخراج مربوط به واریته ماری با حلال متانول می‌باشد. سپس برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از دو روش DPPH و نیروی احیاکنندگی استفاده شد که نتایج حاصله بیانگر این بود که عصاره متانولی واریته ماری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به سایر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی دارد. همچنین نتایج نشان داد که قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد با افزایش غلظت عصاره ارتباط مستقیم دارد. عصاره متانولی واریته ماری در غلظت ۵۰۰ پی.پی.ام. در بازه‌های زمانی نگهداری، قابلیت رقابت با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ پی.پی.ام. را دارد.

منابع

1. Abutalebian, M. 2006. The extraction of phenolic compounds from peppermint, pennyroyal and sweet basil and comparison of their antioxidative effect insunflower oil, M.Sc. Thesis of food science and technology. Isfahan University of Technology.
2. Bouaziz, M., and Sayadi, S. 2005. Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree, European Journal of Lipid Science and Technology, 107:7-8, 497–504.
3. Ghaderi ghahfarokhi, M., Alami, M., Sadeghi Mahoonak, A.R., Azizi, M.H., and Ghorbani, M. 2012. Effects of phenolic compounds extraction from acorn fruit's (quercus branti var persica lindl.) With different solvents on antioxidant activity in oxidative stability of sunflower oil. Iranian journal of medicinal and aromatic plants. 28:1(55), 52-79. (In Persian)
4. Gharahkhani, M., Ghorbani, M., Ebrahimzadeh, M., Jafari, S., and Sadeghmahoonak, A. 2009. Effect of nettle (Urtica dioica) leaves extract on the inhibition of soybean oil oxidation. Electronic journal of food processing and preservation. 1:2, 85-102. (In Persian)
5. Giese, J. 1996. Antioxidants. Tools for preventing lipid oxidation. Food Technology. 50: 73–81.
6. Guinda, Á. 2006. Use of solid residue from the olive industry. Grasas y aceites. 51(1): 107-115
7. Goli, AH., Barzegar, M., and Sahari, M.A. 2005 .Antioxidant activity and totalphenolic compounds of pistachio (Pistachia vera) hull extracts. Food Chemistry. 92: 521-525.
8. Kris-Etherton, P.M., Hecker, K.D., Bonanome, A., Coval, S.M., Binkoski, A.E., Hilpert, K.F., Griel, A.E., and Etherton, T.D. 2002. Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. The American Journal of Medicine. 113:9B, 71–88.
9. Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., and Milos, M. 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food chemistry. 85(4): 633-640.
10. Lolos, M., Oreopoulou, V., and Tzia, C. 1999. Oxidative stability of potato chips: effect of frying oil type, temperature and antioxidants. Journal of the Science of Food and Agriculture. 79(11): 1524–1528.
11. Lujan, R., and Castro, M.D. 2006. Superheated liquid extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. Journal of Chromatography A. 1136(2): 185–191.
12. Mahdavian Mehr, H., and Hadadkhodaparast, M. 2008. Evaluating the use of olive leaves extract as a source of poly phenols on the oxidative stability and antioxidant activity of commercial vgetable oils. First symposium on olive oil. Tehran. Iran. P. 224-229 (In Persian)

13. Mohamed, R., Pineda, M., and Aguilar, M. 2007. Antioxidant capacity of extracts from wild and crop plants of mediterranean region. Journal of Food Science. 72, 59-63.
14. Parizan, T., Elhamirad, A.H., Estiri, S.H., and Armin M. 2011. Assessing antioxidant activity methanol extract of senna leaf and its effect on the stability of soybean oil. Inovations in fod science and technology. 3:1(7): 51-59. (in Persian)
15. Parvaneh, V. 2010. Quality control and chemical analysis of foods. Tehran university press. 325p. (in Persian)
16. Rafiei1, Z., Jafari, S.M., Alami, M., and Khomeiri, M. 2011. Antioxidant Properties of Olive Leaf Extract and its Application in Sunflower Oil. Journal of food research (university of tabriz). 21:1, 11-23. (In Persian)
17. Ryan, D., and Robards, K. 1998. Phenolic compounds in olives. Analyst.123, 31-44.
18. Salta, F.N., Mylona, A., Chiou, A., Boskou, G., and Andrikopoulos, N.K. 2007. Oxidative Stability of Edible Vegetable Oils Enriched in Polyphenols with Olive Leaf Extract. Food Science and Technology International. 13(6): 413-421.
19. Samad Louei, H.R., Azizi, M.H., and Barzegar, M. 2007. Antioxidative effect of pomegranate seed phenolic componends on soybean oil. Journal of agricultural sciences and natural resources. 14:4, 193-200. (In Persian)
20. Shahid, I., and Bhanger, M. 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. Food Chemistry. 100 (1): 246-254.
21. Sikorski, P.E. 2003. Chemical and functional properties of food components, 2thED, CRC Press LLC, New York.
22. Trichopoulou, A., and Lagiou, P. 1997. Healthy traditional Mediterranean diet: Anexpression of culture, history and lifestyle. Nutrition Reviews. 55(11): 383–389.

EJFPP, Vol. 11 (1): 33-48
http://ejfpp.gau.ac.ir

Effect of the antioxidant activity of methanolic and acetonic extracts of olive leaves on the shelf life of soybeen oil

H. Jalali[1], S.H.R. Ziaolhagh[2*], A. Mohamadi Nafchi[3], M.K. Alamooti[4]
[1]Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran
[2]Assistant Professor, Agricultural Engineering Research Department, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Semnan Province (Shahrood), AREEO, Shahrood, Iran.
[3]Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran
[4]M.Sc. Graduate, Department of Food Science and Technology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

Received: 2017/04/22; Accepted: 2017/11/13

Abstract

Background and objectives: Different intrinsic and extrinsic factors may initiate the oxidation of lipids. The initial products of oxidation are tasteless and odorless and after degradation and production of secondary products, the off-flavors and off-odors will appeare in edible oils. This is a great concern in food industry, because it decreases the shelflife of food products. Free radicals are produced during chain reactions in lipid oxidation process. To avoid this, synthetic antioxidants are usually used which are sensible to heat and are hazardous to human health and may cause cancer. Polyphenols have antioxidant activity and absorb free radicals. Thus, the vegetable oils rich in polyphenols can affect human health. In this research, we aimed to investigate the application of natural extract of olive leaves as a natural antioxidant to avoid soy oil oxidation and to compare it with synthetic antioxidants.

Matherials and Methods: In this project, methanol and acetone solvents in an ultrasonic apparatus were used to extract the phenolic compounds of the leaves of Mary and Yellow varieties of olive. The amount of phenolics, as well as their antioxidant effect on the oxidation of crude soybean oil, was investigated. The phenolic contents were measured by Folin–Ciocalteu method and the antioxidant activities of the extracts were determined by two controlling methods of DPPH radical-scavenging activity and Ferric reducing power, and then the results were compared with antioxidant activities of synthetic antioxidants.The antioxidant effects of different concentrations of the extracts on delaying the oxidation of crude oil were studied by determining their peroxide and thiobarbitoric acid values.

Results: The leaves of Mary variety showed the highest amount of phenolics (101.382mg/g), as determined by measureing the phenolic contents. The results suggested that the methanolic extract of Mary variety had a better antioxidant activity than the other natural antioxidants, compared to synthetic antioxidants BHT and TBHQ. In addition, it was shown that the radical scavenging activity was directly correlated with the increase of the extract concentration. Then the methanolic extract of Mary variety at three levels 100, 200 and 500 ppm and BHT and TBHQ antioxidants at 100 and 200 ppm were added to antioxidant-free soy oil. The control oil, which lacked antioxidants, showed the highest peroxide and thiobarbitoric acid values.

*Corresponding author; hziaolhagh@gmail.com

Conclusion: The methanolic extract of the Mary variety showed the highest extraction efficiency as well as the most antioxidant activety. In addition, it was shown that the radical scavenging activity was increased by the increase of extract concentration. The methanolic extract of Mary variety at the concentration of 500 ppm was comparable with the synthetic antioxidants at the levels of 100 and 200ppm.

Keywords: Antioxidant activity, Olive leaf, Phenolic compounds, Soybean oil; ultrasonic