

# مقایسه اثر روش‌های مختلف استخراج بر خصوصیات ضد اکسایشی عصاره‌های پالپ میوه ازگیل ژاپنی (*Eriobotrya japonica* Lindl.) در پایدارسازی روغن سویا

مجتبی دلفانیان<sup>۱</sup>، رضا اسماعیل زاده کناری<sup>۲</sup>، محمدعلی سحری<sup>۳\*</sup>

۱- دانش آموخته گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۰)

## چکیده

در این پژوهش اثر روش استخراج غرقابی (ماسراسیونی) با سه حلال (اتانول، آب و اتانول-آب (۱:۱)) بر راندمان استخراج، میزان ترکیبات فنولی و خصوصیات ضد اکسایشی عصاره‌های پالپ میوه ازگیل ژاپنی (*Eriobotrya japonica*) با روش فراصوت مورد مقایسه قرار گرفت. فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌های پالپ در غلظت‌های مختلف با استفاده از آزمون‌های ۲ و ۲ دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازین (DPPH) و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن مورد ارزیابی و با ضد اکسایش مصنوعی ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ) مورد مقایسه قرار گرفت. عصاره‌های اتانولی و اتانول-آبی حاصل از روش غرقابی بیشترین راندمان استخراج ترکیبات فنولی و فعالیت ضد رادیکالی را داشتند. به منظور سنجش فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌ها در محیط روغنی، شش نوع از ترکیبات روغن سویا شامل روغن حاوی ۴۰۰ و ۱۰۰۰ ppm از عصاره اتانولی غرقابی (MEE)، روغن سویا حاوی ۴۰۰ و ۱۰۰۰ ppm از عصاره اتانولی فراصوت (UEE)، روغن سویا حاوی ۱۰۰ ppm TBHQ و روغن سویا تصفیه شده بدون ضد اکسایش (SBO) به عنوان شاهد تهیه شدند. سپس تأثیر عصاره‌ها بر اکسایش نمونه‌های روغنی در شرایط ۶۰ روز ذخیره‌سازی در دمای ۲۵ °C با استفاده از آزمون‌های عدد پراکسید، عدد تیوباریتوریک اسید، دی‌ان مزدوج و در شرایط حرارت‌دهی در دمای ۱۸۰ °C در ۲۴ ساعت با آزمون‌های عدد قطبی، عدد کربونیل و عدد اسیدی بررسی و با TBHQ مقایسه شد. نتیجه نشان داد که عصاره اتانولی غرقابی در غلظت ۱۰۰۰ ppm دارای فعالیت ضد اکسایشی بالاتری نسبت به سایر عصاره‌ها بود اما تأثیری کمتر از TBHQ داشت.

کلیدواژگان: ازگیل ژاپنی، اکسایش، فراصوت، روغن سویا، غرقابی

\*مسئول مکاتبات: sahari@modares.ac.ir

## ۱- مقدمه

شاخه‌های کوتاه و با حداکثر ارتفاع ۸ متر است. در اواخر پاییز یا اوایل زمستان گل می‌دهد و میوه آن در اواخر بهار می‌رسد [۷]. میوه ازگیل ژاپنی به صورت خوشه‌ای رشد می‌کند و به شکل دایره‌ای یا بیضی با سطحی صاف یا کرک‌دار و به رنگ زرد می‌باشد. دارای گوشتی سفید، زرد یا پرتقالی رنگ با طعم ملس یا ترش، وابسته به منطقه کشت است و هر میوه آن سه تا پنج هسته قهوه‌ای رنگ براق دارد [۶]. انواع مختلفی از ترپن‌ها، سسکی ترپن‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها، گلیکوزیدها در میوه و برگ ازگیل ژاپنی وجود دارد که نشان دهنده خصوصیات ضداکسایشی در این گیاه است [۸]. امروزه برای استخراج عصاره‌های گیاهی از روش‌های مختلفی مثل مایکروویو، فراصوت و سیال فوق بحرانی استفاده می‌شود. هر یک از این روش‌ها دارای توانایی متفاوتی در استخراج ترکیبات گیاهی هستند که به نمونه، نوع حلال مصرفی و شرایط استخراج وابسته است. بنابراین استفاده از این روش‌ها نیاز به مطالعات بیشتری دارد. در روش غرقابی در مدتی که محلول با نمونه در تماس است انتقال جرم ترکیب مورد نظر از نمونه به حلال مصرفی صورت می‌گیرد. همچنین استخراج به میزان زیادی به خصوصیات بافت گیاهی و اندازه ذرات وابسته است به عنوان مثال انتشار درونی ممکن است مرحله محدود کننده در طی استخراج باشد. راندمان استخراج در این روش نسبت به روش‌های دیگر عموماً بالاتر و احتمال آسیب حرارتی ترکیبات استخراجی کمتر است. با این حال این روش در مقایسه با روش‌های جدید استخراج یک روش قدیمی است و مصرف حلال بالایی داشته و نیاز به زمان زیادی دارد. بنابراین تحقیقات زیادی بر روی روش‌های جدید استخراج در حال اجرا است [۹]. امواج صوتی که فرکانس‌های بالاتر از ۲۰ کیلو هرتز دارند نوسان‌های مکانیکی را در یک ماده جامد، مایع و گاز ایجاد می‌کنند. برخلاف امواج الکترومغناطیسی، امواج صوتی در یک ماده پخش می‌شوند و دارای چرخه‌های انبساط و انقباض در طی

اکسایش روغن‌ها و چربی‌ها یک واکنش شیمیایی زنجیره‌ای است که باعث ایجاد عطر و طعم نامطلوب و کاهش ارزش تغذیه‌ای آنها می‌شود [۱]. محصولات حاصل از اکسایش مثل هیدروپراکسیدها، رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن تک ظرفیتی برای سلامت انسان مضر هستند و باعث آسیب به سلول‌های زیستی می‌شوند. آسیب سلول‌های زیستی نیز باعث ایجاد بیماری‌های قلبی و عروقی، عصبی و پیری زودرس می‌گردد [۲]. برای جلوگیری از واکنش اکسایش نیاز به استفاده از ضد اکسایش‌ها می‌باشد که از طریق زدودن اکسیژن و دفع رادیکال‌های آزاد روغن‌ها و چربی‌ها را در مقابل اکسایش محافظت می‌کنند. امروزه در صنعت از ضداکسایش‌های مصنوعی مثل بوتیلات هیدروکسی آنیزول<sup>۱</sup> (BHA)، بوتیلات هیدروکسی تولون<sup>۲</sup> (BHT) و ترت بوتیلات هیدروکینون<sup>۳</sup> (TBHQ) برای افزایش پایداری اکسایشی روغن‌ها استفاده می‌شود [۳]. تحقیقات اثبات کرده‌اند که این ضداکسایش‌ها دارای اثرات سمی و سرطان‌زایی بر روی موش هستند [۴]. به همین دلیل در بسیاری از کشورهای اروپایی، کانادا و آمریکا از این ضداکسایش‌ها دیگر استفاده نمی‌شود. همچنین در چین مصرف TBHQ علی‌رغم قدرت ضداکسایشی بالایی که دارد ممنوع شده است [۵]. برای افزایش امنیت غذا و کاهش خطر ابتلا به سرطان اخیراً مطالعات زیادی بر روی گیاهان به منظور یافتن یک ضداکسایش طبیعی مناسب برای جایگزینی با نوع مصنوعی آن در حال اجرا است، چون که گیاهان منبع غنی از ضداکسایش‌های طبیعی هستند. ازگیل ژاپنی (*Eriobotrya japonica*) یک میوه آسیایی از خانواده روزاسه (*Rosacea*) است که از کشورهای چین و ژاپن منشأ گرفته است [۶]. درخت ازگیل ژاپنی همیشه سرسبز با

1. Butylated hydroxyanisole  
2. Butylated hydroxytoluene  
3. Tert-butyl hydroquinone

(۳) ارزیابی تأثیر عصاره‌ها در پایدارسازی اکسایشی- حرارتی روغن سویا در شرایط حرارتی در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۴ ساعت.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد اولیه

در سال ۱۳۹۳ میوه ازگیل ژاپنی (*Eriobotrya japonica*) از مزارع شهرستان ساری در استان مازندران جمع آوری شد و روغن سویا تصفیه شده، رنگ‌بری و بوگیری شده بدون ضداکسایش از کارخانه عالیا گلستان کردکوی (رعنا) تهیه گردید. معرف‌ها و مواد شیمیایی از شرکت سیگما آلدریج آمریکا و حلال‌های مصرفی از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. آزمون‌ها در آزمایشگاه شیمی تجزیه دانشگاه پیام نور ساری انجام شدند.

### ۲-۲- آماده‌سازی نمونه

میوه ازگیل ژاپنی پس از خریداری و شستشو به مدت ده دقیقه در محلول آب نمک به منظور جلوگیری از واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی خیسانده شد. سپس پالپ آن جداسازی و در شرایط طبیعی ( $32-30^{\circ}\text{C}$ ) در سایه خشک گردید. نمونه‌ها با دستگاه آسیاب (Molinox 684- French) پودر و سپس در بسته‌های نایلونی به منظور جلوگیری از نفوذ رطوبت بسته بندی شدند. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در فریزر در دمای  $18^{\circ}\text{C}$ - نگهداری شدند [۱۳].

### ۲-۳- روش‌های استخراج

#### ۲-۳-۱- غرقابی (ماسراسیون)

۲۰ گرم نمونه به نسبت ۱ به ۵ با حلال‌های اتانول، آب و اتانول- آب (۱:۱) به صورت جداگانه مخلوط شد و سپس دور از نور به مدت ۴۸ ساعت در شیکر (LABTRON Ls-100) با سرعت

پخش در محیط می‌باشند. حالت انبساط باعث افزایش فاصله مولکولی شده و انقباض، آنها را با هم تحت فشار قرار می‌دهد. در حالت انبساط، حباب‌هایی در محیط مایع ایجاد می‌شوند و فشار منفی ایجاد می‌کنند. حباب‌های تشکیل شده، رشد می‌کنند و در نهایت متلاشی می‌شوند که به این پدیده حفره‌زایی (کاویتاسیون) گفته می‌شود. در طی این پدیده دیواره سلولی تخریب می‌شود و خروج ترکیبات آسان‌تر می‌گردد [۱۰]. دستگاه فراصوت به دو صورت حمامی و میله‌ای وجود دارد. تأثیرات مکانیکی امواج فراصوت باعث نفوذ بیشتر حلال به درون سلول‌ها می‌شود و انتقال جرم را بهبود می‌دهد. بنابراین تخریب سلولی کارآمد و انتقال جرم مؤثر، دو فاکتور اصلی هستند که باعث افزایش استخراج با فراصوت می‌شوند [۱۱]. برای دستیابی به یک استخراج مناسب با فراصوت در نظر گرفتن بعضی موارد مثل قطبیت حلال مصرفی، مقدار رطوبت و اندازه ذرات نمونه ضروری است. علاوه بر این عوامل زیادی شامل فرکانس، فشار، دما و زمان، سازوکار عمل فراصوت را تحت تأثیر قرار می‌دهند. فرکانس فراصوت تأثیرات زیادی بر بازده و سرعت استخراج دارد. همچنین اثر فراصوت بر بازده و سرعت استخراج، بسته به ماهیت مواد گیاهی فرق می‌کند [۱۲]. با توجه به این که با استفاده از تکنیک‌های مختلف استخراج می‌توان به ترکیبات ضداکسایشی متنوع‌تر و بیشتری دسترسی پیدا کرد، لذا اهداف این مطالعه عبارتند از:

(۱) مقایسه اثر روش‌های غرقابی با فراصوت بر راندمان استخراج، میزان ترکیبات فنولی و خصوصیات ضداکسایشی عصاره‌های پالپ میوه ازگیل ژاپنی؛

(۲) بررسی تأثیر عصاره‌های پالپ میوه ازگیل ژاپنی در پایدارسازی اکسایشی روغن سویا در شرایط ذخیره‌سازی در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  به مدت ۶۰ روز؛

## ۶-۲- بررسی فعالیت ضدآکسایشی با آزمون

### DPPH\*

آزمون جذب رادیکال‌های آزاد DPPH (۲ و ۲ دی فنیل ا- پیکریل هیدرازین) براساس روش توضیح داده شده توسط بیورتنس و باکار (۲۰۰۰) تعیین شد. به این ترتیب که ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌ها (۱۰۰۰، ۱۰۰۰ ppm، ۴۰۰، ۳۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰) به ۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد DPPH\* اتانولی اضافه و مخلوط حاصله به شدت هم زده شد. بعد از ۳۰ دقیقه تاریک‌خانه گذاری در دمای اتاق آزمایشگاه جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد خوانده شد. فعالیت ضدآکسایشی عصاره‌ها طبق معادله شماره یک بر اساس درصد مهار گزارش شد:

$$(1) \quad \%I = ((Abs_e - Abs_s) / Abs_e) \times 100$$

در این معادله I درصد مهار رادیکال‌های آزاد،  $Abs_e$  جذب شاهد و  $Abs_s$  جذب نمونه را نشان می‌دهد [۱۷].

## ۷-۲- بررسی فعالیت ضدآکسایشی با آزمون بی-

### رنگ شدن بتا کاروتن

این آزمون براساس روش توضیح داده شده توسط آموریچ و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد. به این ترتیب که ۵ میلی‌گرم بتاکاروتن در ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد. میزان ۶۰۰ میکرولیتر از آن با ۴۰ میلی‌گرم لینولئیک اسید و ۴۰ میلی‌گرم توئین ۴۰ مخلوط شد. سپس با روش تبخیر در خلاء کلروفرم جدا شد و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳۰ درصد ( $H_2O_2$ ) همراه با تکان شدید به آن اضافه شد. مقدار ۵ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده فوق به لوله آزمایش منتقل شد و ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره به لوله آزمایش اضافه گردید. بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در ۴۷۰ نانومتر خوانده شد و میزان فعالیت ضدآکسایشی از مقایسه جذب نوری نمونه‌ها با زمان

۱۶۰ دور در دقیقه قرار گرفت. بعد از سه مرحله سانتیفریوژ، ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه (HERMLE z200A- Germany) در هر مرحله فاز رویی جمع آوری شد. حلال توسط اواپراتور چرخشی (Heidolph, Schwabach, Germany) در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد. عصاره‌های حاصله تا زمان انجام آزمایش در دمای ۱۸ °C ذخیره شدند [۱۳].

## ۲-۳-۲- فراصوت

حدود ۲۰ گرم نمونه به نسبت ۱ به ۵ با حلال‌های اتانول، آب و اتانول-آب (۱:۱) در ارلن به صورت جداگانه مخلوط شد. سپس در حمام فراصوت (Elma, model 690/H, Cottbus, Germany) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۵ °C با فرکانس ۳۵ کیلوهرتز قرار داده شد. عصاره‌های استخراجی صاف و پس از جداسازی حلال در دمای ۱۸ °C نگهداری شدند [۱۴].

## ۲-۴- محاسبه راندمان استخراج

راندمان استخراج عصاره با اندازه‌گیری وزن اولیه و نهایی بالن پس از تبخیر حلال محاسبه و به صورت درصد گزارش شد [۱۵].

## ۲-۵- اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی کل

میزان ترکیبات فنولی کل بر اساس روش فولین-سیوکالته توضیح داده شده توسط دونالد و همکاران (۲۰۰۱) اندازه‌گیری شد. در این روش ۰/۱ گرم عصاره در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال حل شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالته (۱۰ برابر رقیق شده با آب مقطر) و ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۷/۵ درصد مخلوط شد. پس از ۱۵ دقیقه سکون در دمای اتاق آزمایشگاه جذب نوری در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. میزان ترکیبات فنولی با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک رسم شده در غلظت‌های ۰/۴ - ۰/۰۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به صورت میکروگرم بر گرم ( $\mu\text{g/g}$ ) عصاره گزارش شد [۱۶].

ساعت (سه روز و در هر روز ۸ ساعت) توسط سرخ کن (Kenwood DF280, Havant, Hampshire, UK) حرارت‌دهی شدند. در هر ۴ ساعت (زمان‌های ۰، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۴ ساعت) از روغن‌ها نمونه برداری شد و نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در دمای  $18^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شدند [۲۲]. پایداری اکسایشی روغن سویا در طی حرارت‌دهی با آزمون‌های عدد قطبی (TPC)، عدد کربونیل (CV) و عدد اسیدی (AV) بررسی شد. به این ترتیب که عدد قطبی مطابق روش توضیح داده شده توسط شولت (۲۰۰۴) [۲۳] و عدد کربونیل بر اساس روش اندو و همکاران (۲۰۰۱) اندازه گیری شد [۲۴]. میزان عدد اسیدی نمونه‌ها نیز بر اساس روش AOCS به شماره ۶۳-۳a محاسبه شد [۲۵].

### ۲-۱۰- تجزیه و تحلیل آماری

این تحقیق به صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد و نتیجه به صورت میانگین با انحراف<sup>۴</sup> معیار گزارش شد. آنالیز آماری تیمارها توسط جدول آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS<sup>۵</sup> صورت گرفت. تفاوت معنی داری میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام و در نهایت نمودارها با نرم افزار Excel رسم شد [۲۲].

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- راندمان استخراج

راندمان استخراج عصاره‌های پالپ میوه ازگیل با حلال‌های مصرفی و به کمک روش‌های غرقابی و فراصوت در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج آنالیز واریانس تاثیر نوع حلال و روش‌های استخراج و اثر متقابل آن‌ها را بر راندمان استخراج عصاره‌ها از نظر آماری معنی دار نشان داد ( $P < 0/05$ ).

صفر مطابق معادله شماره دو بر اساس درصد مورد سنجش قرار گرفت.

$$(2) \quad I = [1 - (AS_{(24)} - AS_{(0)}) / (AC_{(24)} - AC_{(0)})] \times 100$$

که I درصد بازدارندگی،  $AS_{(0)}$  جذب نمونه در زمان صفر،  $AS_{(24)}$  جذب نمونه بعد از ۲۴ ساعت،  $AC_{(0)}$  جذب شاهد در زمان صفر،  $AC_{(24)}$  جذب شاهد بعد از ۲۴ ساعت است [۱۸].

### ۲-۸- بررسی پایداری روغن سویا در شرایط

#### ذخیره‌سازی

عصاره اتانولی پالپ میوه ازگیل استخراجی به روش غرقابی و فراصوت در دو غلظت ۱۰۰۰ ppm و ۴۰۰ و TBHQ در غلظت ۱۰۰ ppm به روغن سویا بدون ضداکسایش اضافه شدند. روغن سویا بدون ضداکسایش به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های روغن سویا در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  به مدت ۶۰ روز به دور از نور ذخیره شدند. سپس در روزهای ۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ ذخیره‌سازی از روغن‌های فوق نمونه برداری شد. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در دمای  $18^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شدند [۵]. ارزیابی تأثیر عصاره‌ها بر پایداری اکسایشی روغن سویا در طی شرایط ذخیره‌سازی با آزمون‌های تیوباربتوریک اسید (TBA)، عدد پراکسید (PV) و دی ان کونژوگه (CD) صورت گرفت. عدد پراکسید بر اساس روش توضیح داده شده توسط شانتا و دکا (۱۹۹۳) [۱۹] و TBA مطابق روش سنی وراتنه و همکاران (۲۰۰۶) اندازه گیری شدند [۲۰]. همچنین مقادیر دی ان کونژوگه مطابق روش توضیح داده شده توسط چرینوس و همکاران (۲۰۱۱) محاسبه شد [۲۱].

### ۲-۹- بررسی پایداری روغن سویا در شرایط

#### حرارت‌دهی

نمونه‌های روغن سویا تهیه شده در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۴

4. Mean  $\pm$  Standard Deviation

5. Statistical Programme for Social Sciences, version 19.0

**Table 1** Extraction yield and total phenolic compounds of extracts obtained by maceration and sonication methods.

Sample	Extraction yield	Total phenols
MEE	35/57±0/72 <sup>b</sup>	249/96±0/11 <sup>b</sup>
MWE	22/62±1/08 <sup>d</sup>	147/39±0/81 <sup>f</sup>
MEWE	44/75±0/96 <sup>a</sup>	387/72±2/61 <sup>a</sup>
UEE	18/51±1/32 <sup>c</sup>	209/01±2/41 <sup>d</sup>
UWE	27/55±0/58 <sup>c</sup>	164/96±2/28 <sup>e</sup>
UEWE	28/25±1/33 <sup>c</sup>	219/41±1/93 <sup>c</sup>

Means ± SD (standard deviation) within a column with the same lowercase letters are not significantly different at  $P < 0.05$ . MEE: Maceration ethanol extract, MWE: Maceration water extract, MEWE: Maceration ethanol/water extract, UEE: Ultrasonic ethanol extract, UWE: Ultrasonic water extract, UEWE: Ultrasonic ethanol/water extract.

ژنتیکی وابسته است. نتیجه نشان داد روش غرقابی تأثیر بیشتری بر استخراج ترکیبات فنولی نسبت به فراصوت داشت به طوری که بیشترین میزان فنول در این روش با حلال اتانول-آب حاصل شد. در مطالعه‌ای سانچز و همکاران (۲۰۱۳) جهت بررسی میزان ترکیبات فنولی چند وارینه گیاهی از دو روش غرقابی و فراصوت برای استخراج ترکیبات مؤثره استفاده کردند. نتیجه آنها نشان داد که در تمام وارینه‌ها راندمان استخراج در روش غرقابی بیشتر از فراصوت بود [۲۷]. در تحقیقی دیگر گلی و همکاران (۲۰۰۵) در ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی برگ پسته (*Pistachia vera*) از روش‌های غرقابی و فراصوت برای استخراج استفاده کردند. نتیجه آنها نیز نشان داد میزان ترکیبات فنولی در عصاره‌های غرقابی بیشتر بود [۳۰].

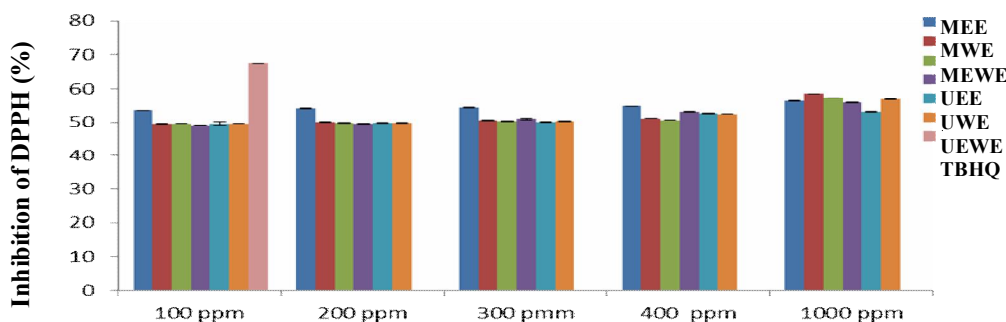
### ۳-۳- جذب رادیکال‌های آزاد DPPH

محلول DPPH' بنفش رنگ و منبعی از رادیکال‌های آزاد است. حضور ترکیبات ضد اکسایشی در این محلول باعث جذب رادیکال‌های آزاد و تغییر رنگ محلول به زرد می‌شود. بنابراین هر چه قدرت ضد اکسایشی ترکیبات بالاتر باشد شدت تغییر رنگ بیشتر است [۳۱]. توانایی عصاره‌ها در جذب رادیکال‌های آزاد DPPH به صورت درصد مهار در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ ppm در شکل ۱ ارائه شده است.

از بین حلال‌های مصرفی در هر دو روش اتانول-آب (۱:۱) بیشترین راندمان و آب کمترین راندمان را داشت. راندمان استخراج عصاره‌های پالپ در روش ماسراسیون در رنج ۲۲/۶۲ تا ۴۴/۷۵٪ بود. درحالی که راندمان برای عصاره‌ها در روش فراصوت در رنج ۱۸/۵۱ تا ۲۸/۲۵٪ گزارش شد. نتایج نشان داد که روش فراصوت توانایی کمتری در افزایش میزان راندمان عصاره‌ها نسبت به روش غرقابی داشت که دلیل آن را می‌توان تخریب ترکیبات در اثر برخورد امواج در دمای به کار رفته دانست. نتایج ما با نتایج دیگر مقالات منتشر شده از جمله مقاله پلاندر و همکاران (۲۰۱۲) و سانچز و همکاران (۲۰۱۳) یکسان بود [۲۷-۲۶]. به طوری که در این مطالعات نیز تأثیر روش غرقابی بر راندمان استخراج بیشتر از فراصوت گزارش شد.

### ۳-۲- مقدار ترکیبات فنولی کل

میزان ترکیبات فنولی عصاره‌های پالپ ازگیل در جدول ۱ ارائه شده است. میزان فنول کل در رنج ۱۴۷/۴ تا ۳۸۷/۷  $\mu\text{g/g}$  بود. مطالعات مختلفی تاکنون میزان فنول وارینه‌های مختلف ازگیل را بررسی کرده‌اند. پلات و همکاران (۲۰۱۰) میزان فنول وارینه ترکیه را در رنج ۱۲۹ تا ۵۷۸  $\mu\text{g/g}$  و زیو و چی (۲۰۱۱) فنول وارینه چین را در رنج ۲۴۰ تا ۵۷۲  $\mu\text{g/g}$  گزارش کردند که تقریباً نتایج مشابه داشتند [۲۸-۲۹]. به طور کلی میزان فنول کل در نمونه‌های گیاهی به عوامل مختلفی مانند شرایط محیطی و

**Fig 1** Comparison of the capacity of loquat pulp extracts to scavenge DPPH' radicals.

رادیکال‌های آزاد DPPH داشت. نتیجه مطالعه حاضر با نتایج سایر تحقیقات پیشین از جمله کوبا و همکاران (۲۰۰۷) تأیید می‌شود. آنها گزارش کردند که عصاره اتانولی پالپ دارای خصوصیات ضداکسایشی بیشتری نسبت به عصاره آبی بود [۳۴].

### ۳-۴- آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن

در آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن، بتاکاروتن به وسیله رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسایش لینولئیک اسید اکسید می‌شود و بیشتر می‌تواند سیستم غذایی را نسبت به آزمون DPPH شبیه سازی کند. درصد مهار رادیکال‌های پراکسید توسط عصاره‌های پالپ در آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن در شکل ۲ نشان داده شده است.

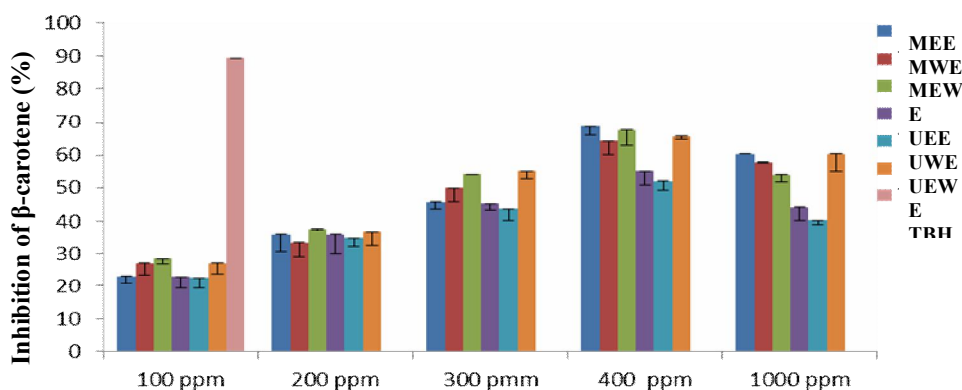


Fig 2 Antioxidant activities of loquat pulp extracts in a  $\beta$ -carotene/linoleate method system.

رادیکالی را می‌توان به بالا بودن سطح فنول کل در عصاره‌های غرقابی نسبت داد.

### ۳-۵- بررسی پایداری روغن سویا در طی ذخیره

#### سازی در دمای محیط

تغییرات عدد پراکسید در نمونه‌های روغن سویا در جدول ۲ ارائه شده است. این آزمون یکی از مهم‌ترین آزمون‌ها برای ارزیابی محصولات اولیه حاصل از اکسایش (پراکسیدها) می‌باشد. میزان پراکسید در روغن تصفیه شده تازه باید کمتر از ۲/۰ meq/kg باشد [۳۶]. در روغن سویای مصرفی میزان ۰/۱۴ meq/kg پراکسید نشان دهنده کیفیت بالای روغن بود. عدد پراکسید نمونه‌ها در روز صفر با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشت ولی در طول زمان ذخیره‌سازی مشابه تحقیقات صورت گرفته توسط

نتایج آنالیز واریانس تأثیر نوع و غلظت عصاره‌ها را بر میزان درصد مهار رادیکال‌های DPPH معنی دار نشان داد ( $P < 0.05$ ). در این آزمون با افزایش غلظت عصاره‌ها درصد مهار آنها نیز بیشتر شد. بسیاری از محققین دلیل آن را افزایش میزان فنول گزارش کرده‌اند چون در غلظت بالا میزان گروه‌های هیدروکسیلی قابل دسترس جهت جذب رادیکال‌های آزاد محلول افزایش می‌یابد [۳۲-۳۳]. در تمام غلظت‌ها به جز غلظت ۱۰۰۰ ppm عصاره اتانولی غرقابی (MEE) درصد مهار بالاتری نسبت به دیگر عصاره‌ها داشت و در غلظت ۱۰۰۰ ppm عصاره آبی غرقابی دارای بیشترین قدرت جذب رادیکال‌های آزاد DPPH بود. به طور کلی این آزمون نشان داد که MEE در غلظت‌های مختلف نسبت به عصاره‌های دیگر توانایی بهتری در جذب

نتایج آنالیز واریانس تأثیر نوع عصاره‌ها، غلظت و اثر متقابل آنها را بر فعالیت ضداکسایشی معنی دار نشان داد. با افزایش غلظت تا ۴۰۰ ppm فعالیت ضداکسایشی عصاره‌ها بیشتر شد اما با افزایش بیش از آن فعالیت کاهش یافت و عصاره‌ها باعث تشدید اکسایش شدند. در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ ppm عصاره اتانول-آبی غرقابی (MEWE) و در ۴۰۰ و ۱۰۰۰ ppm عصاره اتانولی غرقابی (MEE) دارای بیشترین فعالیت ضداکسایشی بودند. در مطالعه‌ای شریفی و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی خصوصیات ضداکسایشی عصاره *Rosa damascena* به این نتیجه رسیدند که عصاره الکلی نسبت به عصاره آبی دارای درصد مهار بیشتری در آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن بود [۳۵]. به طور کلی فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های حاصل از غرقابی بیشتر از عصاره‌های فراصوت بود. بیشتر بودن خاصیت ضد

تولیدی کمتر شد [۳۷]. در مطالعه‌ای دیگر داه و همکاران (۱۹۹۹) تأثیر عصاره آبی *Chrysanthemum morifolium* را در پایدارسازی روغن سویا مورد ارزیابی قرار داد و گزارش کرد که میزان عدد پراکسید در روغن حاوی این عصاره نسبت به شاهد کمتر بود ولی سطح آن به پایین‌تر از TBHQ نرسید [۳۹]. نتایج این تحقیق از نظر روند تغییرات عدد پراکسید در طی دوره ذخیره‌سازی و تأثیر غلظت عصاره‌های افزوده به روغن با مطالعات فوق تشابه داشت.

تعیین عدد تیوباریتوریک اسید روشی مناسب برای اندازه‌گیری محصولات ثانویه اکسایش است. این آزمون براساس اندازه‌گیری میزان کمپلکس رنگی ایجاد شده از واکنش یک مولکول مالون دی‌آلدئید با دو مولکول تیوباریتوریک اسید در طول موج ۵۳۲ نانومتر می‌باشد. با توجه به جدول ۲ در زمان صفر مقدار عدد تیوباریتوریک نمونه‌ها با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشت اما در طی ذخیره‌سازی با افزایش روزهای نگهداری میزان آن افزایش یافت. در طی روزهای ذخیره‌سازی میزان تیوباریتوریک اسید در SBO نسبت به نمونه‌های دیگر بیشتر بود. در بین عصاره‌ها MEE 1000 ppm بیشترین تأثیر را در کاهش روند تغییرات تیوباریتوریک اسید داشت و عملکرد ضداکسایشی آن تا روز سی‌ام مشابه TBHQ بود. در مطالعه‌ای گلی و همکاران (۲۰۰۵) در ارزیابی فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های برگ پسته (*Pistachia vera*) از روش‌های غرقابی و فراصوت برای استخراج ترکیبات فنولی استفاده کردند. نتیجه آنها نشان داد میزان تغییرات عدد تیوباریتوریک اسید در عصاره‌های غرقابی نسبت به فراصوت کمتر بود [۳۰]. در تحقیقی دیگر داه و همکاران (۱۹۹۹) در بررسی تأثیر عصاره‌های چهار واریته مختلف از *Chrysanthemum morifolium* در پایدارسازی روغن سویا گزارش کردند که میزان تغییرات تیوباریتوریک اسید در روغن حاوی این عصاره نسبت به شاهد کمتر بود ولی سطح آن به پایین‌تر از TBHQ نرسید [۳۹].

رحمان و همکاران (۲۰۰۴)، گلی و همکاران (۲۰۰۵)، سموتیجا و ملکا (۲۰۱۰) به صورت خطی افزایش یافت [۳۸-۳۷-۳۰]. در طی روزهای ذخیره‌سازی SBO و TBHQ به ترتیب بیشترین و کمترین میزان پراکسید را در مقایسه با سایر نمونه‌ها داشتند. در بین روغن‌های حاوی عصاره‌ی پالپ ۱۰۰۰ ppm از MEE دارای سطح کمتری از پراکسید بود. عدد پراکسید نمونه‌ها در طی روزهای ذخیره‌سازی با یکدیگر در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری داشتند و میزان آنها در TBHQ، MEE 1000 ppm، MEE 400 ppm، UEE 1000 ppm، UEE 400 ppm و SBO از مقدار اولیه ۰/۱۴ بعد از ۶۰ روز به ترتیب به ۸/۲۱، ۹/۰۴۴، ۱۱/۲۱، ۱۱/۵۷، ۱۱/۸۳ و ۳۱/۰۶ میلی اکی والان بر کیلوگرم روغن (meq/kg oil) رسید. بر اساس کمیسیون غذایی کدکس روغن‌هایی که پراکسید آنها بیش از ۱۰ meq/kg باشد تند تلقی می‌شوند که بعد از ۴۵ روز میزان پراکسید هیچ یک از نمونه‌ها به این مقدار نرسید. در حالی که پس از ۶۰ روز تنها دو نمونه TBHQ و MEE 1000 ppm سطح کمتری نسبت به حد تعیین شده داشتند و دیگر نمونه‌ها تند شدند. به طور کلی افزودن عصاره‌ها روند اکسایش روغن را نسبت به روغن شاهد (SBO) کاهش داد ولی به قدرت کاهندگی TBHQ نرسید و در این بین تأثیر عصاره اتانولی غرقابی نسبت به سایر عصاره‌ها بیشتر بود. در بررسی تأثیر عصاره دانه انگور سیاه و رزماری در پایداری اکسایشی روغن سویا سموتیجا و ملکا (۲۰۱۰) گزارش کردند که با افزایش غلظت عصاره‌ها میزان پراکسید تولید شده کاهش یافت و مقدار آن در عصاره رزماری کمتر از عصاره دانه انگور بود. آنها علت این موضوع را بالاتر بودن میزان ترکیبات فنولی در عصاره رزماری دانستند [۳۸]. در تحقیقی رحمان و همکاران (۲۰۰۴) تأثیر عصاره‌های پوست سیب زمینی را در پایدارسازی روغن سویا در شرایط ذخیره‌سازی در دمای ۲۵ °C بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت عصاره‌ها به علت افزایش میزان ترکیبات فنولی میزان پراکسید



**Table 2** Peroxide value (meq/kg), thiobarbituric acid ( $\mu\text{mol/g}$ ) and conjugated dienes (mmol/l) of oil samples during storage conditions.

Time (day)	UEE 400 ppm	UEE 1000 ppm	MEE 400 ppm	MEE 1000 ppm	TBHQ 100 ppm	SBO
<b>Peroxide value</b>						
0	0/14±0/01 <sup>a</sup>	0/14±0/01 <sup>a</sup>	0/14±0/01 <sup>a</sup>	0/14±0/01 <sup>a</sup>	0/14±0/01 <sup>a</sup>	0/14±0/01 <sup>a</sup>
15	4/12±0/02 <sup>d</sup>	3/25±0/03 <sup>c</sup>	3/24±0/01 <sup>c</sup>	2/85±0/01 <sup>b</sup>	1/21±0/02 <sup>a</sup>	5/92±0/02 <sup>c</sup>
30	7/37±0/15 <sup>d</sup>	6/28±0/15 <sup>c</sup>	6/05±0/02 <sup>c</sup>	5/63±0/11 <sup>b</sup>	4/45±0/15 <sup>a</sup>	15/74±0/01 <sup>c</sup>
45	9/07±0/02 <sup>d</sup>	8/52±0/02 <sup>c</sup>	8/01±0/01 <sup>c</sup>	7/22±0/02 <sup>b</sup>	6/86±0/01 <sup>a</sup>	24/53±0/11 <sup>c</sup>
60	11/83±0/01 <sup>c</sup>	11/57±0/22 <sup>c</sup>	11/21±0/15 <sup>c</sup>	9/44±0/03 <sup>b</sup>	8/21±0/02 <sup>a</sup>	31/06±0/33 <sup>d</sup>
<b>Thiobarbituric acid</b>						
0	0/04±0/02 <sup>a</sup>	0/04±0/02 <sup>a</sup>	0/04±0/02 <sup>a</sup>	0/04±0/02 <sup>a</sup>	0/04±0/02 <sup>a</sup>	0/04±0/02 <sup>a</sup>
15	0/12±0/02 <sup>b</sup>	0/12±0/01 <sup>b</sup>	0/11±0/03 <sup>a</sup>	0/11±0/01 <sup>a</sup>	0/11±0/02 <sup>a</sup>	0/12±0/03 <sup>b</sup>
30	0/14±0/22 <sup>c</sup>	0/14±0/11 <sup>c</sup>	0/13±0/01 <sup>b</sup>	0/12±0/11 <sup>a</sup>	0/12±0/01 <sup>a</sup>	0/21±0/33 <sup>d</sup>
45	0/15±0/12 <sup>d</sup>	0/15±0/22 <sup>d</sup>	0/14±0/01 <sup>c</sup>	0/13±0/02 <sup>b</sup>	0/12±0/11 <sup>a</sup>	0/29±0/02 <sup>c</sup>
60	0/16±0/22 <sup>c</sup>	0/15±0/02 <sup>b</sup>	0/15±0/01 <sup>b</sup>	0/15±0/02 <sup>b</sup>	0/13±0/22 <sup>a</sup>	0/31±0/02 <sup>d</sup>
<b>Conjugated dienes</b>						
0	2/23±0/05 <sup>a</sup>	2/23±0/05 <sup>a</sup>	2/23±0/05 <sup>a</sup>	2/23±0/05 <sup>a</sup>	2/23±0/05 <sup>a</sup>	2/23±0/05 <sup>a</sup>
15	2/42±0/023 <sup>b</sup>	2/45±0/01 <sup>b</sup>	2/42±0/02 <sup>b</sup>	2/38±0/05 <sup>a</sup>	2/34±0/05 <sup>a</sup>	2/52±0/01 <sup>c</sup>
30	2/76±0/03 <sup>d</sup>	2/77±0/03 <sup>d</sup>	2/64±0/02 <sup>c</sup>	2/53±0/01 <sup>b</sup>	2/38±0/04 <sup>a</sup>	2/81±0/07 <sup>e</sup>
45	2/92±0/02 <sup>c</sup>	2/85±0/04 <sup>d</sup>	2/73±0/03 <sup>c</sup>	2/62±0/02 <sup>b</sup>	2/51±0/01 <sup>a</sup>	3/32±0/01 <sup>f</sup>
60	3/02±0/01 <sup>c</sup>	2/94±0/03 <sup>d</sup>	2/82±0/03 <sup>c</sup>	2/73±0/07 <sup>b</sup>	2/55±0/01 <sup>a</sup>	3/61±0/02 <sup>f</sup>

Means  $\pm$  SD (standard deviation) within a row with the same lowercase letters are not significantly different at  $P < 0.05$ .

کاهش داد ولی سطح این ترکیبات در روغن‌های حاوی عصاره‌ها بیشتر از TBHQ بود [۴۱-۵].

### ۳-۶- بررسی پایداری روغن سویا در طی شرایط حرارت‌دهی

اندازه‌گیری ترکیبات قطبی روغن‌ها آزمونی مهم و قابل اطمینان برای ارزیابی میزان تغییرات اکسایشی- حرارتی روغن‌ها در طی فرآیند حرارتی ( $160-200^\circ\text{C}$ ) می‌باشد. تحقیقات اثبات کرده‌اند که این ترکیبات دارای تأثیرات سمی و سرطانی بر روی انسان‌ها و حیوانات هستند [۴۲]. به همین دلیل در بسیاری از کشورهای اروپایی این آزمون برای تعیین کیفیت روغن‌های سرخ کردنی استفاده می‌شود و سطح قابل پذیرش آن ۲۷-۲۵٪ تعیین شده است [۴۳]. تغییرات ترکیبات قطبی نمونه‌های روغنی در شکل ۳ نمایش داده شده است. مقدار ترکیبات قطبی در روغن‌های تازه در رنج ۰/۴ تا ۰/۶٪ است و میزان ۰/۶۲۵٪ از آن در روغن سویا نشان دهنده کیفیت بالای روغن مصرفی بود. با افزایش زمان حرارت‌دهی میزان ترکیبات قطبی به صورت خطی مشابه مطالعات صورت گرفته توسط خوارز و همکاران (۲۰۱۱)، اوساوا و همکاران (۲۰۱۲)، اوربانسیک و همکاران (۲۰۱۳) افزایش یافت [۴۵-۴۴-۴۲]. در طی حرارت‌دهی روغن حاوی TBHQ

تغییرات دیان مزدوج نمونه‌ها در جدول ۲ ارائه شده است. با افزایش زمان ذخیره‌سازی مقدار ترکیبات کونژوگه افزایش یافت که با نتایج تحقیقات صورت گرفته توسط محدالی و همکاران (۲۰۱۰)، محدالی و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت داشت [۴۰-۴۱]. میزان ترکیبات دیان مزدوج نمونه‌ها در روز صفر با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشت ولی پس از گذشت ۱۵ روز به صورت معنی داری تغییر یافت. مقدار ترکیبات دیان در نمونه‌های TBHQ، MEE 1000 ppm، MEE 400 ppm، UEE 1000 ppm و UEE 400 ppm بعد از ۶۰ روز ذخیره‌سازی از ۲/۲۳ میلی‌مول بر لیتر به ترتیب به ۲/۵۵، ۲/۷۳، ۲/۸۲، ۲/۹۴ و ۳/۰۲ میلی‌مول بر لیتر رسید، درحالی که در طی این مدت مقدار آن در SBO ۳/۶۱ میلی‌مول بر لیتر بود. بنابراین این آزمون نشان داد که افزودن عصاره‌ها تأثیر زیادی در جلوگیری از کاهش اکسایش روغن سویا داشت و در بین نمونه‌ها روغن حاوی MEE 1000 ppm ترکیبات دیان کمتری داشت. مشابه مطالعات سوچا و همکاران (۲۰۰۵)، محدالی و همکاران (۲۰۱۱) افزودن عصاره‌ها روند تولید ترکیبات دیان را نسبت به SBO

آزمون کربونیل ترکیبات حاصل از اکسیداسیون مثل آلدهیدها و کتون‌ها را اندازه‌گیری می‌کند. بنابراین روشی مناسب برای ارزیابی کیفیت روغن‌های حرارت‌دهی شده می‌باشد، چون که ترکیبات کربونیلی باعث ایجاد عطر و طعم نامطلوب و کاهش کیفیت تغذیه‌ای روغن‌های حرارت‌دهی می‌شوند [۲۴]. بر اساس اداره استاندارد ژاپن روغن‌های حرارت‌دهی شده دارای بیش از ۵۰ میکرومول بر گرم ترکیبات کربونیلی فاسد هستند و باید دور ریخته شوند [۲۵].

قدرت ضد اکسایشی بیشتری در جلوگیری از افزایش ترکیبات قطبی داشت. به طوری که سطح این ترکیبات در TBHQ به صورت معنی داری کمتر از سایر نمونه‌ها بود. نمونه روغن حاوی MEE 1000 ppm نیز در طی این مدت رقابت تنگاتنگی با TBHQ داشت و بعد از آن در مقایسه با سایر نمونه‌ها دارای سطح کمتری از ترکیبات قطبی بود. نتایج این بخش با نتایج سایر مقالات منتشر شده مثل چیرینوس و همکاران (۲۰۱۱)، کاساروتی و ژورژ (۲۰۱۴) تأیید می‌شود [۴۶-۲۱].

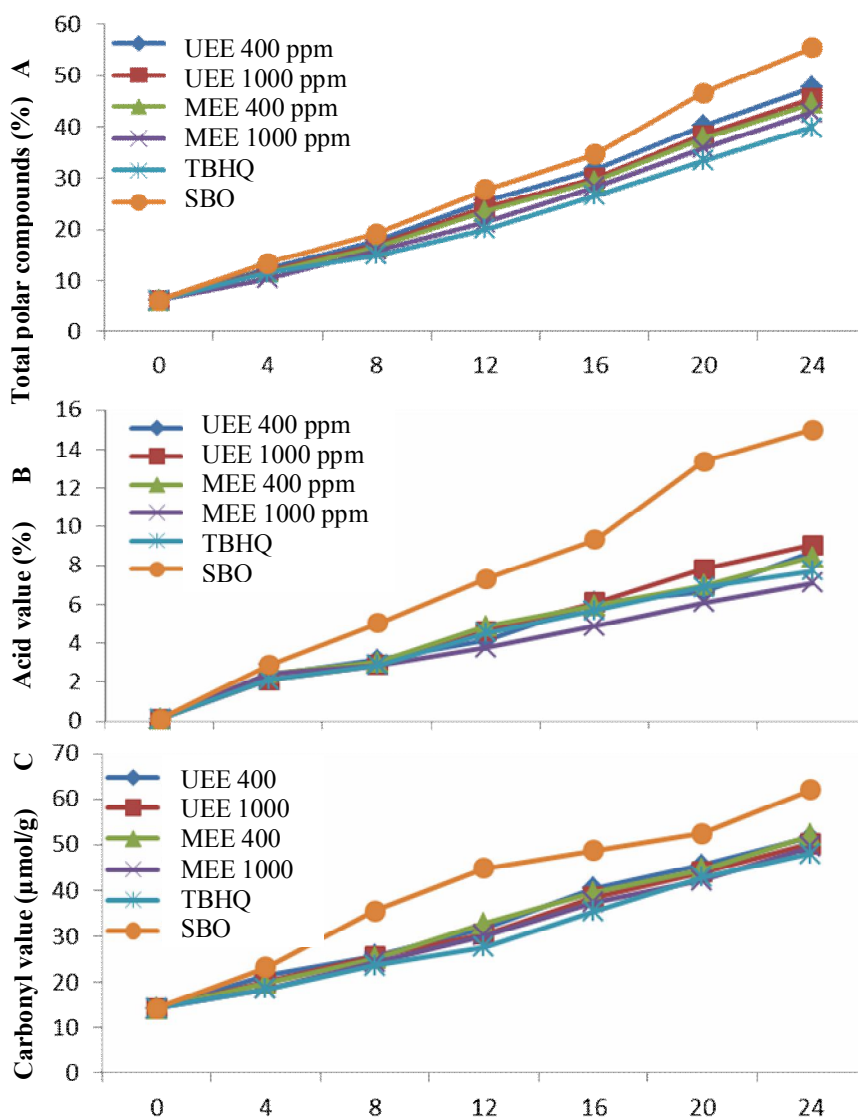


Fig 3 Changes in total polar compounds (A), acid value (B) and carbonyl value (C) and of the oil samples

#### ۴- نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد عصاره‌های پالپ میوه ازگیل ژاپنی استخراجی به روش غرقابی نسبت به فراصوت دارای سطح فنول و فعالیت ضداکسایشی بیشتری در آزمون‌های DPPH و بتاکاروتن بودند. همچنین در بررسی تأثیر قدرت ضد رادیکالی عصاره‌های پالپ در جلوگیری از پیشرفت اکسایش روغن سویا در طی شرایط ذخیره‌سازی در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  و حرارت‌دهی در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  عصاره اتانولی پالپ در غلظت  $1000\text{ ppm}$  عملکرد بهتری نسبت به سایر عصاره‌ها نشان داد ولی توانایی ضداکسایشی آن کمتر از TBHQ بود. به طور کلی عصاره پالپ میوه ازگیل فعالیت ضداکسایشی قابل قبولی در جلوگیری از اکسایش روغن سویا نشان داد. بنابراین می‌توان از آن به عنوان منبع مناسبی از ضداکسایش‌های طبیعی در افزایش زمان ماندگاری روغن‌های خوراکی استفاده کرد.

#### ۵- منابع

- [1] Cao X, Ye X, Lu Y, Yu Y and Mo W. 2009. Ionic liquid-based ultrasonic-assisted extraction of piperine from white pepper. *Analytica Chimica Acta*, 640(1): 47-51.
- [2] Pincemail J, Bonjean K, Cayeux K and Defraigne JO. 2002. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16(4): 233-239.
- [3] Aydeniz B and Yilmaz E. 2012. Enrichment of frying oils with plant phenolic extracts to extend the usage life. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(8): 933-941.
- [4] Anagnostopoulou MA, Kefalas P, Papageorgiou VP, Assimopoulou AN and Boskou D, 2006. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). *Food Chemistry*, 94(1): 19-25.
- [5] Suja K, Jayalekshmy, A and Arumughan C. 2005. Antioxidant activity of sesame cake extract. *Food Chemistry*, 91(2): 213-219.
- [6] Lin S, Sharpe RH and Janick J. 1999. Loquat: botany and horticulture. *Horticultural Reviews*, 23: 233-276.

همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده است نمونه MEE 1000 ppm و TBHQ بعد از ۲۴ ساعت حرارت‌دهی به محدوده ۵۰ میکرومول بر گرم نرسیدند در حالی که SBO بعد از ۱۶ ساعت و سایر نمونه‌ها بعد از ۲۴ ساعت از این حد گذشتند. به طور کلی روند افزایش ترکیبات کربونیلی در طی ساعات حرارت‌دهی در SBO بیشتر و در TBHQ کمتر بود و در بین عصاره‌ها MEE 1000 ppm توانایی بیشتری در جلوگیری از افزایش عدد کربونیل روغن داشت. با توجه به این که تا به حال مطالعه‌ای در زمینه بررسی تأثیر عصاره‌های گیاهی بر پایدارسازی حرارتی روغن‌های خوراکی و آنالیز آن با آزمون کربونیل صورت نگرفته است، لذا امکان مقایسه نتایج حاصل با مطالعات دیگر وجود نداشت.

در طی حرارت‌دهی بر اثر هیدرولیز روغن‌ها میزان اسیدهای چرب آزاد افزایش می‌یابد که اندازه‌گیری این ترکیبات روشی آسان و ارزان جهت بررسی روند اکسایش روغن‌ها است. درصد تغییرات اسیدهای چرب آزاد در طی حرارت‌دهی در شکل ۳ نشان داده شده است. مشابه تحقیقات انجام شده توسط عبدالکریم و همکاران (۲۰۰۷)، فرهوش و توسلی (۲۰۱۰) با افزایش زمان حرارت‌دهی مقدار عدد اسیدی نمونه‌ها به صورت خطی افزایش یافت [۴۹-۴۸]. افزایش مداوم در مقدار عدد اسیدی را می‌توان تا حدی به هیدرولیز تری‌گلیسریدها و تا حدی به گروه‌های کربوکسیلی ترکیبات حاضر در اکسایش و یا محصولات پلیمری حاصل از حرارت‌دهی نسبت داد [۴۹]. به طور کلی مقدار عدد اسیدی نمونه‌ها پس از ۲۴ ساعت حرارت‌دهی از مقدار اولیه ۰/۱ درصد به ترتیب در TBHQ، MEE 1000 ppm، UEE 1000 ppm، MEE 400 ppm، UEE 1000 ppm و 400 ppm SBO به ۷/۷، ۷/۱، ۸/۴۴، ۹/۰۴، ۸/۷ و ۱۵ درصد رسید. این آزمون به وضوح نشان داد که عصاره‌ها تأثیر بسیار مطلوبی را در جلوگیری از هیدرولیز روغن و افزایش عدد اسیدی داشتند و MEE 1000 ppm تأثیر بیشتری نسبت به سایر نمونه‌ها به ویژه TBHQ در ممانعت از پیشرفت تولید اسیدهای چرب آزاد و افزایش مقدار آنها داشت.

- activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84(4): 551-562.
- [19] Shantha NC and Decker EA. 1993. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*, 77(2): 421-424.
- [20] Senevirathne M et al. 2006. Antioxidant potential of ecklonia cavaon reactive oxygen species scavenging, metal chelating, reducing power and lipid peroxidation inhibition. *Food Science and Technology International*, 12(1): 27-38.
- [21] Chirinos R, Huamán M, Betalleluz-Pallardel I, Pedreschi R and Campos D. 2011. Characterisation of phenolic compounds of Inca muña (*Clinopodium bolivianum*) leaves and the feasibility of their application to improve the oxidative stability of soybean oil during frying. *Food Chemistry*, 128: 711-716.
- [22] Farhoosh R, Khodaparast MHH, Sharif A and Rafiee SA. 2012. Olive oil oxidation: rejection points in terms of polar, conjugated diene, and carbonyl values. *Food Chemistry*, 131(4): 1385-1390.
- [23] Schulte E. 2004. Economical micromethod for determination of polar components in frying fats. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(11): 772-776.
- [24] Endo Y, Li CM, Tagiri-Endo M and Fujimoto K. 2001. A modified method for the estimation of total carbonyl compounds in heated and frying oils using 2-propanol as a solvent. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(10): 1021-1024.
- [25] AOCS.. (1998). In (5th ed.) Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society (Vol. 1). Chicago, IL: AOCS Press.
- [26] Pländer S et al. 2012. Major antioxidant constituents from *Satureja hortensis* L. extracts obtained with different solvents. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(7): 772-779
- [27] Sánchez-Gimeno A, Negueruela A, Benito M, Vercet, A and Oria R. 2008. Some physical changes in Bajo Aragón extra virgin olive oil during the frying process. *Food Chemistry*, 110(3): 654-658.
- [28] Polat AA, Çalışkan O, Serçe S, Saraçoğlu O, Kaya C and Özgen M. 2010. Determining total phenolic content and total antioxidant
- [7] Wells J, Raju B, Huang H, Weisburg W and Mandelco-Paul L. 1999. Evaluation of loquats (*Eriobotrya japonica* Lindl.) at the tropical research and education center, homestead, Proc. Ha. State Hort. Soc, pp, 187-190.
- [8] Tosun M, Ercisli S, Karlidag H and Sengul M. 2009. Characterization of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) genotypes for their physicochemical properties. *Journal of Food Science*, 74(7): 575-579.
- [9] Wang L and Weller CL. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6): 300-312.
- [10] Shirsath S, Sonawane S and Gogate P. 2012. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations a review of current status. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 53: 10-23.
- [11] Mason T, Paniwnyk L and Lorimer J. 1996. The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 3(3): 253-260.
- [12] Vilku K, Mawson R, Simons L and Bates D. 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry-A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2): 161-169.
- [13] Tachakittirungrod, S., Okonogi, S. and Chowwanapoonpohn, S., 2007. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. *Food Chemistry*, 103(2): 381-388.
- [14] Albu S, Joyce E, Paniwnyk L, Lorimer J and Mason T. 2004. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11(3): 261-265.
- [15] Boligon AA et al. 2013. HPLC analysis of polyphenolic compounds and antioxidant activity in *Nasturtium officinale*. *International Journal of Food Properties*, 16(1): 61-69.
- [16] McDonald S, Prenzler PD, Antolovich M and Robards K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73(1): 73-84.
- [17] Burits, M. and Bucar, F., 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14(5): 323-328.
- [18] Amarowicz R, Pegg R, Rahimi-Moghaddam P, Barl B and Weil J. 2004. Free-radical scavenging capacity and antioxidant

- [40] Mohdaly AAA, Sarhan MA, Mahmoud A, Ramadan MF and Smetanska I. 2010. Antioxidant efficacy of potato peels and sugar beet pulp extracts in vegetable oils protection. *Food chemistry*, 123(4): 1019-1026.
- [41] Mohdaly AA, Smetanska I, Ramadan MF, Sarhan MA and Mahmoud A. 2011. Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. *Industrial Crops and Products*, 34(1): 952-959.
- [42] Juárez MD, Osawa CC, Acuña ME, Sammán N and Gonçalves LAG. 2011. Degradation in soybean oil, sunflower oil and partially hydrogenated fats after food frying, monitored by conventional and unconventional methods. *Food Control*, 22(12): 1920-1927.
- [43] Lumley I. 1988. Polar compounds in heated oils. Frying of food. Principles, changes, new approaches: 166-173.
- [44] Osawa CC, Gonçalves LAG, Gumerato HF and Mendes FM. 2012. Study of the effectiveness of quick tests based on physical properties for the evaluation of used frying oil. *Food Control*, 26(2): 525-530.
- [45] Urbančič S, Kolar MH, Dimitrijević D and Vidrih R. 2013. Stabilisation of sunflower oil and reduction of acrylamide formation of potato rosemary extract during deep-fat frying. *LWT-Food Science and Technology*, 57(2): 671-678.
- [46] Casarotti SN and Jorge N. 2014. Antioxidant activity of rosemary extract in soybean oil under thermoxidation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(1): 136-145.
- [47] Farhoosh R and Kenari RE. 2009. Anti-rancidity effects of sesame and rice bran oils on canola oil during deep frying. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(6): 539-544.
- [48] Farhoosh R and Tavassoli-Kafrani MH. 2010. Polar compounds distribution of sunflower oil as affected by unsaponifiable matters of Bene hull oil (BHO) and tertiary-butylhydroquinone (TBHQ) during deep-frying. *Food Chemistry*, 122(1): 381-385.
- [49] Abdulkarim S, Long K, Lai O, Muhammad S and Ghazali H. 2007. Frying quality and stability of high-oleic *Moringa oleifera* seed oil in comparison with other vegetable oils. *Food Chemistry*, 105(4): 1382-1389.
- capacity of loquat cultivars grown in Hatay. *Pharma. Mag.* 6:5-14.
- [29] Xu HX and Chen JW. 2011. Commercial quality, major bioactive compound content and antioxidant capacity of 12 cultivars of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(6): 1057-1063.
- [30] Goli AH, Barzegar M and Sahari MA. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92(3): 521-525.
- [31] Taghvaei M et al. 2014. The effect of natural antioxidants extracted from plant and animal resources on the oxidative stability of soybean oil. *LWT-Food Science and Technology*, 56(1): 124-130.
- [32] Zhang Y, Yang L, Zu Y, Chen X, Wang F and Liu F. 2010. Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chemistry*, 118(3): 656-662.
- [33] Akkol EK, Orhan IE and Yeşilada E. 2012. Anticholinesterase and antioxidant effects of the ethanol extract, ethanol fractions and isolated flavonoids from *Cistus laurifolius* L. leaves. *Food Chemistry*, 131(2): 626-631.
- [34] Koba K, Matsuoka A, Osada K and Huang YS. 2007. Effect of loquat (*Eriobotrya japonica*) extracts on LDL oxidation. *Food Chemistry*, 104(1): 308-316.
- [35] Sharafi SM et al. 2010. Cytobiochemical Potentials of *Rosa damascena* Mill. Extract. *Iranian Journal of Pathology*, 5(4): 184-193.
- [36] Farhoosh R, Kenari R and Poorazrang H. 2009. Frying Stability of Canola Oil Blended with Palm Olein, Olive, and Corn Oils. *Journal of the American Chemical Society*, 86: 71-76.
- [37] Rehman ZU, Habib F and Shah W. 2004. Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. *Food Chemistry*, 85(2): 215-220.
- [38] Samotyja U and Małecka M. 2010. Antioxidant activity of blackcurrant seeds extract and rosemary extracts in soybean oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(12): 1331-1336.
- [39] Duh PD. 1999. Antioxidant activity of water extract of four Harnng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) varieties in soybean oil emulsion. *Food Chemistry*, 32(5): 269-277.

## Comparison of different extraction methods effect on antioxidant properties of loquat fruit (*Eriobotrya japonica* Lindl.) pulp extracts in stabilization of soybean oil

Delfanian, M. <sup>1</sup>, Esmailzadeh Kenari, R. <sup>2</sup>, Sahari, M. A. <sup>3\*</sup>

1. Graduated from Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agriculture and Natural Resources University, Sari, Mazandaran, Iran
3. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

(Received: 2016/12/17 Accepted: 2017/01/29)

In this study, the effect of maceration extraction method with three solvents (ethanol, water and ethanol/water (1:1)) on the extraction yield, total phenols and antioxidant properties of loquat (*Eriobotrya japonica*) fruit pulp extracts was compared with ultrasound-assisted extraction method. The antioxidant activity of loquat fruit pulp extracts at different concentrations were evaluated and compared to tertiary butyl hydroquinone (TBHQ) using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH<sup>\*</sup>) and  $\beta$ -carotene bleaching assays. Ethanol and ethanol/water extracts of maceration method had the highest extraction yield of phenolic compounds and anti-radical activities. In order to assess the antioxidant activity of extracts in oil, six types of soybean oil blends were prepared including the soybean oil with 400 and 1000 ppm of maceration ethanol extract (MEE), soybean oil with 400 and 1000 ppm of ultrasonic ethanol extract (UEE), soybean oil with 100 ppm of TBHQ and soybean oil without antioxidant (SBO). Then, the effects of extracts on oxidation of oil samples were evaluated and compared to TBHQ by using peroxide value, thiobarbituric acid value, conjugated dienes, total polar compounds, carbonyl value and acid value during 60 days of storage at 25 °C and 24 h of heating at 180 °C. Results indicated that ethanolic extract of maceration at 1000 ppm had the highest antioxidant activity compared to other extracts, but its effect was lower than THBQ.

**Keywords:** *Eriobotrya japonica*, Oxidation, Ultrasound, Soybean oil, Maceration

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: sahari@modares.ac.ir