

# بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی برخی ترکیبات فنلی در محیط تالو اولئین

امیر حسین الهامی راد<sup>۱\*</sup>، مهرداد قوامی<sup>۲</sup>، محمد حسین حداد خداپرست<sup>۳</sup>

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

۲- دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، تهران، ایران

۳- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، گروه علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

(تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۲۷ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۱/۲۴)

## چکیده

در این پژوهش به منظور ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی برخی ترکیبات فنلی طبیعی از تالو اولئین به عنوان محیط چربی استفاده گردید. از آنجا که چربی های ذخیره ای حیوانی از لحاظ آنتی اکسیدانهای طبیعی ضعیف هستند، لذا مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانها در آنها الگوهای رفتاری مناسبی را ارائه می نماید. جهت فرآکسیونه کردن تالو و جداسازی تالو اولئین، از روش فراکسیون گیری ۳ مرحله ای با حلال استن در دماهای ۲۵ و ۵۰ و ۷۵ استفاده شد. به منظور پایدارسازی تالو اولئین، فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی شامل اسید گالیک، اسید کافئیک، کاتچین، کوئرستین، اسیدتانیک، اسید الاجیک و اسید سالیسیلیک در غلظت های ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/L در دمای ۱۵۰ °C و به روش رنسیمت، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که در میان ترکیبات مورد استفاده، اسیدگالیک دارای بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی و اسید الاجیک دارای پایین ترین فعالیت آنتی اکسیدانی بوده ضمن اینکه اسید سالیسیلیک فاقد فعالیت آنتی اکسیدانی می باشد. در این میان اسید گالیک، کوئرستین، کاتچین و اسید کافئیک در مقایسه با  $\alpha$ -توکوفرول فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری داشته اما اسید الاجیک و اسید تانیک در مقایسه با  $\alpha$ -توکوفرول پایداری کمتری نشان دادند.

کلید واژگان: تالو اولئین، جزء به جزء کردن، آنتی اکسیدان ها، ترکیبات فنلی

## ۱- مقدمه

پس از روغن های نباتی سویا، پالم، کلزا و آفتابگردان در رتبه پنجم قرار داشته است [۱]. گوسفندان دانه دار تقریباً ۲۵ درصد جمعیت گوسفندان جهان را تشکیل می دهند. در ایران ۵۰/۸ میلیون راس گوسفند در ۲۶ گروه نژادی مختلف وجود دارد که ۴/۵۷ درصد کل گوسفندان جهان را شامل می شود [۲]. گوسفندان ایران تنوع ژنتیکی زیادی داشته ولی اغلب نژادهای گوسفند ایرانی به جز نژاد زل (Zel) دانه دار هستند [۳-۵]. بنابر آمار سازمان دامپزشکی کشور در

چربیهای ذخیره ای حیوانی نظیر لارد، پیه گاو و دانه گوسفند از مهمترین منابع روغنهای خوراکی هستند که از محصولات جنبی فراورده های دامی محسوب می شوند. هر چند مصرف این چربیها بدلایل مختلفی از قبیل توسعه کشت دانه ها و میوه های روغنی و مشکلات مرتبط با سلامتی مصرف کننده بسیار محدود شده است اما نمی توان پتانسیل موجود را بعنوان یک منبع عمده چربی در سطح جهان نادیده گرفت. در سال ۲۰۰۰ میلادی در میان انواع روغن و چربی تولید شده در دنیا، پیه

\* مسئول مکاتبات: ah\_elhami@iauos.ac.ir

سال ۱۳۸۱ حدود ۷۷۸۳۷۹۱ راس گوسفند کشتار شده است. بر این اساس اگر تولید سالانه دنبه در ایران ۵۰۰۰۰ تن تخمین زده شود با توجه به اینکه ۸۵-۹۵ درصد وزن دنبه را چربی تشکیل می‌دهد می‌توان میزان تالوی گوسفندی تولید شده در کشور را حدود ۴۵۰۰۰ تن پیش‌بینی کرد [۶]. براساس گزارش معاونت امور دام وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۸۰، میزان دنبه حاصل از ذبح گوسفندان در ایران ۳۲۰۰۰ تن و پیه استحصالی از کشتار گاو ۴۳۶۰۰ تن در سال برآورد شده است [۱].

بالا بودن نقطه ذوب چربی دنبه ( $43/2^{\circ}C$ ) باعث ایجاد حالت ماسیدگی می‌شود که نامطلوب است. این مساله به علت بالا بودن میزان اسیدهای چرب اشباع زنجیر بلند می‌باشد. از طرفی وجود کلسترول همراه مقادیر زیاد اسیدهای چرب اشباع و تاثیر آن‌ها در بیماری‌های قلبی و عروقی موجب محدودیت در مصرف این چربی‌ها طی سال‌های اخیر شده است [۶و ۴]. چربی دنبه گوسفند دارای بوی خاصی است که حذف آن مشکل بوده و ممکن است از لحاظ مصرف‌کننده نامطبوع باشد [۷]. چنین بنظر می‌رسد که بتوان با استفاده از روش‌های اصلاحی نظیر فراکسیون‌گیری، حذف کلسترول، بوگیری و پایدارسازی، چربی دنبه گوسفند را به یک روغن خوراکی مناسب تبدیل کرد.

پایداری اکسیداتیو چربی دنبه تابع کیفیت اولیه و نیز ترکیب اسیدهای چرب آن می‌باشد. میزان اسید اولئیک چربی دنبه در پایداری اکسیداتیو آن موثر بوده و از ۵۳/۵-۳۹/۶ درصد بر حسب نژاد دام متفاوت است [۸]. نکته قابل توجه، مقدار کم اسید لینولئیک است که حدود ۱/۳۲-۰/۱۱ درصد گزارش شده است [۴]. میزان رطوبت، اندیس پراکسید، درصد اسیدهای چرب آزاد و نیز مقدار  $\alpha$ -توکوفرول موجود در چربی نیز بر پایداری اکسیداتیو آن بسیار موثر است. میزان توکوفرولها در چربیهای حیوانی معمولاً بسیار کمتر از چربیهای گیاهی و حتی روغنهای گیاهی تصفیه شده می‌باشد [۶]. مقدار  $\alpha$ -توکوفرول موجود در دنبه وابستگی زیادی به رژیم غذایی دام دارد بطوریکه دنبه می‌تواند به عنوان یک بافت فعال در ذخیره توکوفرول عمل کند [۹].

با توجه به اینکه ایمنی در مصرف آنتی‌اکسیدانهای پلی‌فنل سنتزی نظیر BHA, BHT, TBHQ, PG و... در سالهای اخیر مورد تردید قرار گرفته است، توجه بسیاری از محققین

به استفاده از آنتی‌اکسیدانهای طبیعی معطوف شده است. اگر چه ترکیبات فنلی و برخی از مشتقات آن‌ها در جلوگیری از اتواکسیداسیون بسیار کارآمد هستند، فقط تعداد کمی از آنها جهت کاربرد در مواد غذایی به عنوان آنتی‌اکسیدان مجاز هستند. فلاونوئیدها بیشترین پتانسیل را جهت این منظور دارا هستند. توجهات عمده جهت قابلیت پذیرش چنین آنتی‌اکسیدانهایی فعالیت و پتانسیل سمیت آن‌ها یا امکان سرطانزایی این ترکیبات می‌باشد. آنتی‌اکسیدانهای فنلی تایید شده، تحت مطالعات زیادی قرار گرفته‌اند اما سمیت فراورده‌های حاصل از تجزیه آنها هنوز مشخص نشده است [۱۰ و ۱۱].

محققینی نظیر Hudson, Lewis, Dziedzic تاثیر انواع مختلف پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها را در پایدارسازی اکسیداتیو لارد به روش رنسیمت بررسی کرده‌اند [۱۵-۱۲]. امکان استفاده از عصاره‌های فنلی گیاهانی نظیر چای سبز، چای سیاه، رزماری و زیتون جهت پایدارسازی روغنهای حیوانی مانند لارد و تالو توسط محققین مختلفی مورد بررسی قرار گرفته است. (Liang and Schwartz (1998) تاثیر استفاده از دو آنتی‌اکسیدان ترموکس (مخلوط BHA, BHT) و ناتوروکس (مخلوط  $\sigma$ -توکوفرول و عصاره رزماری) را جهت پایدارسازی لارد و تالو مورد بررسی قرار دادند. بر اساس گزارش این محققین نمونه‌های بدون آنتی‌اکسیدان لارد نسبت به تالو پایدارتر بودند [۱۶]. Yin and Birch (2003) فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبی عصاره‌های قطبی و غیر قطبی چای سبز و چای سیاه را در روغن تالوی داغ ( $120^{\circ}C$ ) مورد بررسی قرار دادند که در این میان عصاره قطبی چای سبز بالاترین و عصاره غیر قطبی چای سیاه پایین‌ترین سطح فعالیت را نشان دادند [۱۷].

در این پژوهش، پس از جداسازی بخش مایع چربی دنبه گوسفند به روش جزء به جزء کردن با حلال، از آن به عنوان یک محیط پایه جهت ارزیابی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی برخی ترکیبات فنلی طبیعی استفاده شده است. از آنجا که چربی‌های حیوانی از لحاظ آنتی‌اکسیدانهای طبیعی ضعیف هستند، بدون شک مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانها در آنها الگوهای رفتاری مناسبی را ارائه خواهد کرد، ضمن اینکه از ترکیب دو فرآیند جزء به جزء کردن و پایدارسازی، روغنی

AOCS, Cd 1c-) (AOAC, 921.08) [۲۰]، اندیس یدی (AOCS, Cd 3-25) [۲۱]، اندیس صابونی (AOCS, Cd 8-53) [۲۱]، اندیس اسیدی (AOCS, Cd 3d-63) [۲۱]، زمان مقاومت در برابر اکسیداسیون (استاندارد ملی شماره ۳۷۳۴) [۲۲] و ترکیب اسیدهای چرب به روش GC (AOAC, 28.060) [۲۰] با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگراف Varian مدل CP3800 تعیین گردید.

ترکیبات فنلی انتخاب شده (کاتچین، کوئرستین، اسیدکافئیک، اسیدگالیک، اسیدتانیک، اسیدالاجیک و اسیدسالیسیلیک) در ۶ غلظت ۲۰۰، ۱۰۰، ۸۰، ۶۰، ۴۰ و ۴۰۰ mg/L به تالو اولئین تلقیح شده و طول دوره القاء توسط دستگاه رنسیمت (Metrohm مدل ۷۴۳) در دمای ۱۵۰°C در سه تکرار تعیین گردید [۲۲]. نتایج بدست آمده با نمونه شاهد (تالو اولئین فاقد آنتی اکسیدان) و نمونه تالو اولئین پایدار شده با  $\alpha$ -توکوفرول مقایسه گردیدند.

ترکیبات فنلی مورد آزمایش از نوع طبیعی با درجه خلوص بیش از ۹۷ درصد (تخلیص شده بروش HPLC) تولیدی شرکت های Sigma-Aldrich و Fluka انتخاب گردیدند.

تمام آزمایش ها در ۳ تکرار، در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شده و به صورت "میانگین  $\pm$  انحراف معیار" گزارش گردیدند. داده های به دست آمده توسط نرم افزار آماری SPSS آنالیز و میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن مقایسه گردیدند.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی تالو اولئین

در جدول ۱ نتایج حاصل از آزمون های فیزیکی و شیمیایی تالو اولئین ارائه شده است. همانطور که مشاهده می شود اندیس یدی تالو اولئین ۶۷/۹۳ است و در دمای ۵°C کاملاً مایع می باشد. اندیس پراکسید و اندیس اسیدی پایین تالو اولئین نیز نشان دهنده آماده سازی مناسب آن طی مراحل جزء به جزء کردن می باشد.

حاصل می شود که نسبت به چربی جامد اولیه (چربی دنبه) درجه اشباعی پایین تر و پایداری حرارتی بالاتری دارد.

### ۲- مواد و روش ها

دنبه مورد نیاز (از گوسفندان نژاد بلوچی) از قصابی های محلی سطح شهر سبزوار خریداری گردید و پس از انتقال به آزمایشگاه، شستشو با آب و حذف بقایای گوشت، توسط بلندر (Kenwood فرانسه) کاملاً خرد شده و تا زمان استخراج در یخچال نگهداری شد. استخراج چربی دنبه به روش ذوب کردن خشک (دمای ۸۰°C به مدت ۲ ساعت) توسط دستگاه تبخیر کننده دوار تحت شرایط خلاء (Heidolph مدل LABOROTA4001) انجام شد. جهت جزء به جزء کردن چربی دنبه و جداسازی فراکسیون مایع، از روش جزء به جزء کردن ۳ مرحله ای با حلال استن در دماهای ۵، ۱۵، ۲۵ و ۵۰°C استفاده گردید. بدین منظور چربی استخراج شده از دنبه به نسبت ۱ به ۱۰ با استن خالص در داخل بالن های ۱۰۰۰ سی سی مخلوط گردیده و بخوبی همزده شد تا کاملاً در استن حل شود. سپس محلول چربی و استن به مدت ۲۲ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۵°C (انکوباتور یخچال دار Memmert مدل VE600 آلمان) قرار داده شد. جهت جداسازی فاز مایع (محلول چربی و استن) از کریستال ها، فیلتراسیون نمونه تحت خلاء با استفاده از قیف بوخنر و کاغذ صافی واتمن شماره ۲ انجام شد. در مرحله دوم و سوم به ترتیب از دماهای ۱۵ و ۵°C مطابق روش فوق استفاده گردید. فاز مایع بدست آمده از مرحله سوم به دستگاه تبخیر کننده دوار منتقل و حلال استن در دمای ۷۰-۶۰°C تحت شرایط خلاء بازیابی گردید. روغن مایع بدست آمده که فراکسیون چهارم چربی دنبه را تشکیل می دهد اصطلاحاً تالو اولئین نامیده می شود. حداقل حلال باقی مانده در تالو اولئین توسط گاز ازت خارج گردید. تالو اولئین بدست آمده در داخل ظرف شیشه ای تمیز و تیره رنگ پر شده و پس از دربندی، در دمای یخچال (۵°C) تا زمان مصارف بعدی نگهداری گردید. [۱۸ و ۱۹].

خصوصیات فیزیکوشیمیایی تالو اولئین، شامل: نقطه ذوب (AOAC, 920.157) [۲۰]، اندیس رفراکتومتری

جدول ۱ خصوصیات فیزیکی و شیمیایی تالوی اولیه و تالو اولئین

ویژگی	مقدار	
	تالوی اولیه	تالو اولئین
اندیس رفراکتومتري ( $25^{\circ}C$ )	۱/۴۵۴±۰/۰۰۳	۱/۴۵۹±۰/۰۰۳
نقطه ذوب ( $^{\circ}C$ )	۴۱±۳	در $5^{\circ}C$ مایع
عدد پدی	۶۱/۷۶±۰/۰۰۶	۵۱/۶±۳
اندیس اسیدی	۰/۶±۰/۰۰۸	۶۷/۹۳±۰/۰۰۵
عدد پراسید ( $meq/1000g$ )	۱/۳±۰/۰۰۳	۱/۶±۰/۰۰۲
عدد صابونی	۱۹۴±۲	۱۸۷/۷۷±۰/۰۰۵
زمان القاء ( $120^{\circ}C$ )	۲/۲±۰/۰۰۵	۲/۵۱±۰/۰۰۳

جدول ۲ مقایسه ترکیب اسیدهای چرب تالو و اولئین حاصل از آن (%)

اسید چرب	تالوی اولیه	تالو اولئین
۱۰:۰	۰/۲۲±۰/۰۰۲	۰/۳۱±۰/۰۰۳
۱۱:۰	۰/۱۶±۰/۰۰۳	۰/۰۸±۰/۰۰۵
۱۲:۰	۰/۳۶±۰/۰۰۳	۰/۲۴±۰/۰۰۳
۱۳:۰	۰/۱۸±۰/۰۰۲	۰/۱۳±۰/۰۰۲
۱۴:۰	۳/۸۲±۰/۰۰۲	۳/۷۵±۰/۰۰۵
۱۴:۱	۰/۷۴±۰/۰۰۵	۰/۷۶±۰/۰۰۳
۱۵:۰	۱/۷۵±۰/۰۰۸	۱/۳۶±۰/۰۰۶
۱۵:۱	۰/۳۵±۰/۰۰۷	۰/۳۵±۰/۰۰۳
۱۶:۰	۲۳/۲۵±۰/۰۰۵	۲۱/۳۲±۱/۰۰۵
۱۶:۱	۳/۱۵±۰/۰۰۸	۳/۶۰±۰/۰۰۴
۱۷:۰	۴/۰۵±۰/۰۰۳	۲/۰۷±۰/۰۰۶
۱۷:۱	۳/۲۵±۰/۰۰۴	۲/۵۶±۰/۰۰۵
۱۸:۰	۱۱/۰۱±۰/۰۱۵	۷/۵۳±۰/۰۰۵
۱۸:۱f	۲/۴۱±۰/۰۰۸	۲/۳۶±۰/۰۱۱
۱۸:۱c	۴۰/۲۱±۱/۰۵۵	۴۶/۶۸±۱/۰۰۳
۱۸:۲f	۱/۶۵±۰/۰۰۶	۱/۶۹±۰/۰۰۵
۱۸:۲c	۱/۹۰±۰/۰۰۳	۲/۸۷±۰/۰۰۸
۲۰:۰	۰/۱۳±۰/۰۰۵	۰/۰۸±۰/۰۰۲
۱۸:۴alpha	۰/۵۴±۰/۰۰۵	۰/۸۲±۰/۰۰۵
۲۰:۱	۰/۸۲±۰/۰۰۵	۰/۸۷±۰/۰۰۵
۲۲:۰	۰/۰۵±۰/۰۰۱	۰/۰۵±۰/۰۰۲
سایر	۰/۴۰±۰/۰۰۳	۰/۵۲±۰/۰۰۵

در جدول ۲ ترکیب اسیدهای چرب تالوی اولیه و اولئین حاصل از آن نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود از میان ۲۱ اسید چرب شناسایی شده در تالو اولئین، اسید اولئیک با ۴۶/۶۸ درصد بیشترین مقدار و اسید بهنیک (۲۲:۰) با ۰/۰۵ درصد کمترین مقدار را به خود اختصاص داده است. پس از اسید اولئیک، اسید پالمیتیک با ۲۱/۳۲ درصد و اسید استئاریک با ۷/۵۳ درصد رتبه‌های بعدی را به خود اختصاص داده اند.

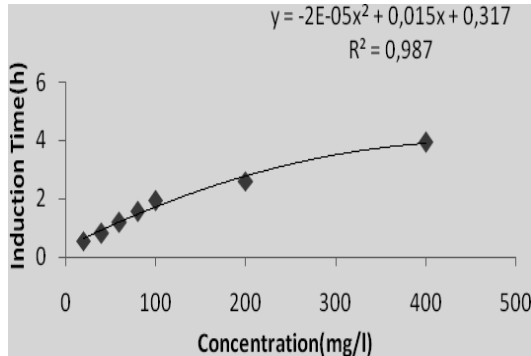
مقدار کل اسیدهای چرب اشباع ۳۶/۹۲ درصد، مقدار کل اسیدهای چرب غیر اشباع ۶۲/۵۶ درصد و مقدار کل اسیدهای چرب چند غیر اشباعی ۵/۳۸ درصد تعیین گردید که از این مقدار ۰/۸۲ درصد آن مربوط به اسید  $\alpha$ -لینولیک می باشد.

مقایسه نتایج بدست آمده از پروفیل اسیدهای چرب تالو اولئین با گزارشات سایر محققین، نشاندهنده وجود برخی اختلافات جزئی می باشد. به عنوان مثال قراچورلو (۱۳۸۵) میزان کل اسیدهای چرب اشباع را ۳۸/۸۲ درصد و مقدار کل اسیدهای چرب غیر اشباع را ۵۵/۸۰ درصد گزارش می نماید. این محقق مقدار اسید اولئیک، پالمیتیک و استئاریک را در تالو اولئین، به ترتیب ۴۶/۱۶، ۲۱/۱۸، و ۹/۴۰ درصد تعیین نمود [۶].

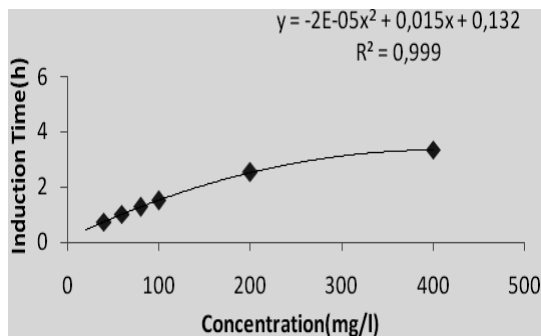
Unsal (2003) میزان اسید اولئیک، پالمیتیک و استئاریک را به ترتیب ۴۹/۳۵، ۲۳/۱۶ و ۱۱/۲۳ درصد گزارش کرد. همانطور که مشاهده می شود اختلافاتی میان نتایج Unsal با نتایج حاصل از قراچورلو و نیز نتایج حاصل از این پژوهش وجود دارد که ناشی از تفاوت در دمای جزء به جزء کردن و نیز اختلاف در ترکیب و خصوصیات تالوی اولیه می باشد [ع و ۱۸].

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می شود در فرایند جزء به جزء کردن، میزان کل اسیدهای چرب اشباع از ۴۶/۶۲ درصد در تالوی اولیه به ۳۸/۶۲ درصد در تالو اولئین کاهش یافته اما میزان کل اسیدهای چرب غیر اشباع از ۴۹/۷۸ درصد در تالو به ۵۷/۳۷ درصد در تالو اولئین افزایش یافته است. مقایسه نتایج نشان دهنده این مطلب است که جزء به جزء کردن ۳ مرحله ای تالو با استفاده از حلال استن موجب افزایش میزان اسیدهای چرب نا اشباع و کاهش در اسیدهای چرب اشباع در مقایسه با تالوی اولیه شده است اما با این وجود تفاوت زیادی میان

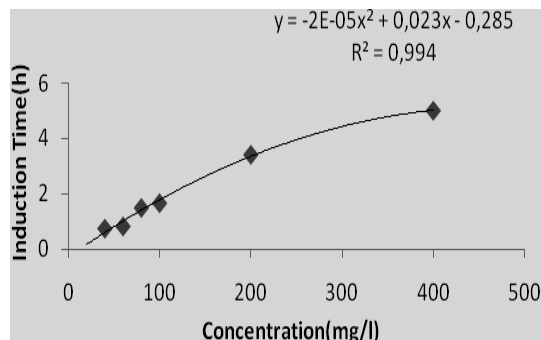
اساس در کوئرستین، کاتچین، اسید گالیک، اسید کافئیک و اسید تانیک با افزایش غلظت تا  $100 \text{ mg/L}$ ، زمان القاء بطور خطی افزایش می یابد اما پس از آن شدت تغییرات زمان القاء بر مبنای غلظت کاهش یافته و منحنی از حالت خطی خارج می شود (شکل های ۱ تا ۶).



شکل ۱ رگرسیون چند جمله ای غلظت بر حسب زمان القاء در کوئرستین



شکل ۲ رگرسیون چند جمله ای غلظت بر حسب زمان القاء در کاتچین



شکل ۳ رگرسیون چند جمله ای غلظت بر حسب زمان القاء در اسید کافئیک

پروپیل اسیدهای چرب تالو اولئین و روغن های گیاهی مایع متداول (سویا، پنبه دانه، ذرت، گلرنگ، زیتون، آفتابگردان) وجود دارد. هرچند تالو اولئین از لحاظ میزان اسید اولئیک شباهت زیادی به روغن کنجد داشته و نسبت به روغن های ذرت، آفتابگردان و سویا اسید اولئیک بالاتری دارد اما از لحاظ میزان کل اسیدهای چرب اشباع و مقدار کل اسیدهای چرب چند غیر اشباعی با روغن های گیاهی مایع تفاوت قابل توجه دارد. اندیس یدی تالو اولئین نیز به خوبی این مطلب را تایید می نماید. در هر صورت با توجه به نقطه ذوب تالو اولئین که در دمای یخچال ( $5^{\circ}\text{C}$ ) کاملاً مایع می باشد، انتخاب آن جهت فرمولاسیون یک روغن خوراکی مناسب و بعنوان یک محیط پایه حیوانی در ارزیابی رفتار آنتی اکسیدانها، نسبت به تالو و سایر چربی های حیوانی قابل توجهی می باشد.

### ۳-۲- ارزیابی اثر پایدارکنندگی ترکیبات

#### فنلی بر تالو اولئین

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می شود با افزایش غلظت آنتی اکسیدانها در محدوده  $400-40 \text{ mg/L}$ ، طول دوره القاء در تالو اولئین پایدار شده افزایش می یابد. بررسی الگوی تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی بر حسب غلظت، با استفاده از روشهای رگرسیون گیری ارتباط مناسبی را میان غلظت و فعالیت آنتی اکسیدان در اغلب موارد نشان می دهد.

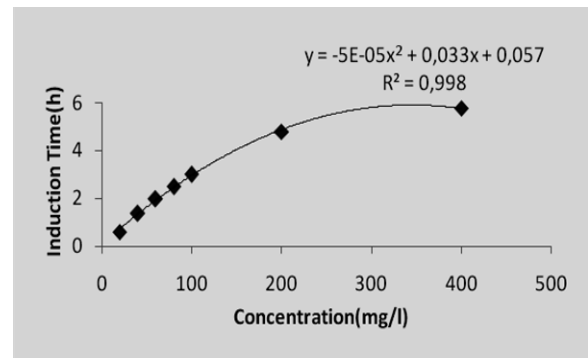
در رگرسیون خطی با معادله کلی  $y = a + bx$ ،  $b$ ، شیب خط نماد مناسبی از شدت افزایش زمان القاء بر حسب غلظت می باشد. همانطور که در جدول ۴ مشاهده می شود معادله خطی اسید گالیک دارای بیشترین مقدار شیب یا ضریب زاویه است که در آن  $b = 0.13$  می باشد پس از آن اسید کافئیک با  $b = 0.12$  در مرتبه بعدی قرار می گیرد. شیب خط در کوئرستین و کاتچین به ترتیب  $0.08$  و  $0.07$  تعیین گردید. از مقایسه شیب معادله خطی حاصل از رگرسیون گیری زمان القاء بر حسب غلظت، مشخص می شود که در میان ترکیبات مورد بررسی، فقط شیب خط اسید الاجیک کمتر از  $\alpha$ -توکوفرول است و در سایر موارد شیب خط بیش از  $\alpha$ -توکوفرول می باشد. بنابراین می توان چنین نتیجه گیری کرد که در اسید گالیک و اسید کافئیک، فعالیت آنتی اکسیدانی تاثیرپذیری بیشتری نسبت به افزایش غلظت داشته است در حالیکه اسید الاجیک کمترین تاثیرپذیری را نسبت به افزایش غلظت نشان داده است.

بررسی الگوی تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی بر حسب غلظت، با استفاده از رگرسیون گیری توسط معادله چند جمله ای، ارتباط خطی مناسبی را میان غلظت و فعالیت آنتی اکسیدان در غلظتهای  $100 \text{ mg/L}$  و پایین تر از آن نشان می دهد. بر این

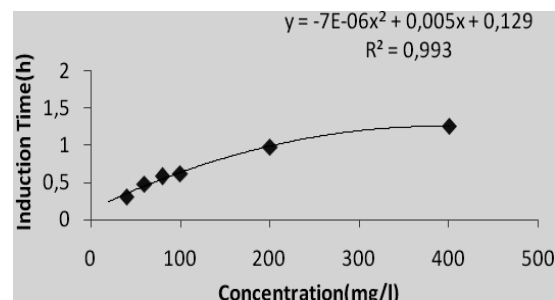
در جدول ۳ زمان القای نمونه تالو اولئین پایدار شده توسط آنتی اکسیدانهای پلی فنل طبیعی (کوئرستین، کاتچین، اسید کافئیک، اسید گالیک، اسید تانیک، اسید الاجیک، اسید سالیسیلیک) در محدوده غلظت‌های ۴۰-۴۰۰ mg/L نشان داده شده است. جهت ارزیابی خصوصیات آنتی اکسیدانی، نتایج بدست آمده با نمونه شاهد (تالو اولئین فاقد آنتی اکسیدان) و نمونه تالو اولئین پایدار شده با  $\alpha$ -توکوفرول مقایسه گردیده است.

در غلظت ۴۰ mg/L، اسید گالیک با زمان القای ۱/۳۷ ساعت بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی را در دمای  $150^{\circ}C$  نشان داده است و پس از آن کوئرستین با زمان القای ۰/۸۲ در مرتبه بعدی قرار گرفته است. کاتچین و اسید کافئیک با زمان القای ۰/۷۵، مشترکا در مرتبه سوم قرار گرفته‌اند. در این میان اسید تانیک با زمان القای ۰/۳۱ کمترین خاصیت آنتی اکسیدانی را نشان می‌دهد و اسید سالیسیلیک با زمان القای ۰/۱۸ مشابه نمونه شاهد بوده و بنابر این فاقد خاصیت آنتی اکسیدانی است. در میان آنتی اکسیدانهای مورد بررسی، زمان القای اسید گالیک، کوئرستین، کاتچین و اسید کافئیک به طور معنی‌داری بیش از  $\alpha$ -توکوفرول می‌باشد ( $P \leq 0.01$ ) و فقط اسید تانیک و اسیدالاجیک نسبت به  $\alpha$ -توکوفرول پایداری کمتری نشان داده‌اند.

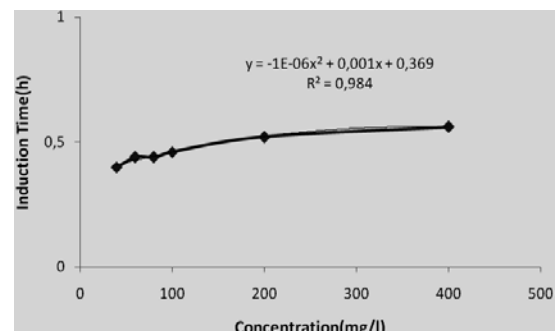
در غلظت ۶۰ mg/L نیز اسیدگالیک با زمان القای ۱/۹۷ ساعت بالاترین خصوصیات آنتی اکسیدانی را نشان می‌دهد و پس از آن کوئرستین و کاتچین به ترتیب با زمان القای ۱/۱۸ و ۱/۰۳ ساعت در مرتبه‌های بعدی قرار می‌گیرند.



شکل ۴ رگرسیون چند جمله ای غلظت بر حسب زمان القاء در اسید گالیک



شکل ۵ رگرسیون چند جمله ای غلظت بر حسب زمان القاء در اسید تانیک



شکل ۶ رگرسیون چند جمله ای غلظت بر حسب زمان القاء در اسید الاجیک

جدول ۳ اثر غلظت بر طول دوره القاء در تالو اولئین پایدار شده با برخی انواع فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی در دمای  $150^{\circ}C$

نوع/غلظت آنتی اکسیدان (mg/L)	زمان القاء (ساعت)*						
	شاهد (۰)	۴۰	۶۰	۸۰	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰
کوئرستین	۰/۱۸±۰/۰۰	۰/۸۲±۰/۰۳ b	۱/۱۸±۰/۰۵ b	۱/۵۷±۰/۰۹ b	۱/۹۳±۰/۰۵ b	۲/۶۰±۰/۰۵ c	۳/۹۳±۰/۰۳ c
کاتچین	۰/۱۸±۰/۰۰	۰/۷۵±۰/۰۳ c	۱/۰۳±۰/۰۳ c	۱/۲۷±۰/۰۶ d	۱/۵۰±۰/۰۳ d	۲/۵۵±۰/۰۵ c	۳/۳۶±۰/۰۵ d
اسید کافئیک	۰/۱۸±۰/۰۰	۰/۷۵±۰/۰۲ c	۰/۸۳±۰/۰۳ e	۱/۵۰±۰/۰۵ c	۱/۶۷±۰/۰۲ c	۳/۴۲±۰/۰۴ b	۵/۰۱±۰/۰۳ b
اسید گالیک	۰/۱۸±۰/۰۰	۱/۳۷±۰/۰۵ a	۱/۹۷±۰/۰۵ a	۲/۵۰±۰/۱۱ a	۳/۰۰±۰/۰۷ a	۴/۸۲±۰/۰۵ a	۵/۷۷±۰/۱۲ a
اسید تانیک	۰/۱۸±۰/۰۰	۰/۳۱±۰/۰۴ f	۰/۴۸±۰/۰۲ f	۰/۵۸±۰/۰۳ f	۰/۶۲±۰/۰۳ f	۰/۹۸±۰/۰۵ e	۱/۲۶±۰/۰۳ f
اسید الاجیک	۰/۱۸±۰/۰۰	۰/۴۰±۰/۰۲ e	۰/۴۴±۰/۰۲ g	۰/۴۴±۰/۰۵ g	۰/۵۲±۰/۰۲ g	۰/۴۶±۰/۰۱ f	۰/۵۶±۰/۰۳ g
اسید سالیسیلیک	۰/۱۸±۰/۰۰	۰/۱۸±۰/۰۰ g	۰/۱۸±۰/۰۰ h	۰/۱۸±۰/۰۰ h	۰/۱۸±۰/۰۰ h	۰/۱۸±۰/۰۰ g	۰/۱۸±۰/۰۰ h
$\alpha$ -توکوفرول	۰/۱۸±۰/۰۰	۰/۵۷±۰/۰۵ d	۰/۸۸±۰/۰۳ d	۰/۸۸±۰/۰۵ e	۰/۸۶±۰/۰۴ e	۱/۱۹±۰/۰۸ d	۱/۵۱±۰/۰۵ e

میانگین‌های دارای حروف مشابه از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری ندارند ( $P < 0.01$ ).

جدول ۴ پارامترهای مربوط به رگرسیون خطی زمان القاب بر حسب غلظت

نام ترکیب	رگرسیون خطی $y = a + bx$	ضریب رگرسیون ( $R^2$ )	شیب خط یا ضریب زاویه
کوئرستین	$y = 0.0085x + 0.7018$	۰/۹۵۱۵	۰/۰۰۸۵
کاتچین	$y = 0.0072x + 0.692$	۰/۹۴۲۷	۰/۰۰۷۲
اسید کافئیک	$y = 0.0121x + 0.4187$	۰/۹۶۲	۰/۰۱۲۱
اسید گالیک	$y = 0.013x + 1.1916$	۰/۸۷۴۹	۰/۰۱۳
اسید تانیک	$y = 0.0025x + 0.3417$	۰/۹۲۵۹	۰/۰۰۲۵
اسید الاجیک	$y = 0.0004x + 0.4098$	۰/۸۹۶۸	۰/۰۰۰۴
$\alpha$ - توکوفرول	$y = 0.0022x + 0.6428$	۰/۹۱۶۴	۰/۰۰۲۲

۳/۴۲، ۲/۶۰ و ۲/۵۵ در مرتبه‌های بعدی و بالاتر از  $\alpha$  - توکوفرول قرار می‌گیرند. اسید الاجیک و اسید تانیک در مقایسه با  $\alpha$  - توکوفرول فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری داشته اما نسبت به نمونه شاهد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نشان می‌دهند. تفاوت در زمان القای ترکیبات آنتی‌اکسیدان مورد بررسی در مقایسه با استاندارد و شاهد در سطح اطمینان ۰/۰۱ کاملاً معنی‌دار است اما میان کوئرستین و کاتچین تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود.

در غلظت ۴۰۰ mg/L نتایج کاملاً مشابه غلظت ۵/۷۷ می‌باشد. در این مورد نیز اسیدگالیک با زمان القای ۵/۷۷ ساعت دارای بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اسیدالاجیک با زمان القای ۰/۵۶ دارای کمترین فعالیت است. ضمن اینکه اسید سالیسیلیک فاقد فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که اثر غلظت بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاملاً معنی‌دار است ( $P \leq 0.01$ ) به طوری که با افزایش غلظت در محدوده ۴۰۰-۴۰ mg/L طول زمان القای تالو اولئین در تمامی نمونه‌ها (به استثناء اسید سالیسیلیک) به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد.

میانگین طول دوره القاء آنتی‌اکسیدانهای مورد بررسی در غلظتهای متفاوت در شکل ۷ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود اسیدگالیک دارای بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اسیدالاجیک دارای پایین‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده ضمن اینکه اسید سالیسیلیک فاقد فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. پس از اسید گالیک، اسید کافئیک در مرتبه دوم و کوئرستین، کاتچین و اسید تانیک به ترتیب در مرتبه های بعدی قرار می‌گیرند. در غلظتهای بالاتر (۴۰۰ و ۲۰۰) پس از اسید گالیک، اسید کافئیک در مرتبه بعدی قرار می‌گیرد اما در غلظتهای پایین تر (۱۰۰-۴۰) کوئرستین پس از اسید گالیک در مرتبه دوم قرار دارد. بین اسید

بررسی آماری نتایج نشان می‌دهد که زمان پایداری حرارتی سه آنتی‌اکسیدان فوق به طور معنی‌داری بیش از  $\alpha$  - توکوفرول است در حالیکه زمان القای اسید کافئیک، اسید تانیک و اسیدالاجیک به طور معنی‌داری کمتر از  $\alpha$  - توکوفرول می‌باشد ( $P \leq 0.01$ ). در این غلظت نیز اسید الاجیک با زمان پایداری ۰/۴۴ دارای کمترین اثر آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. تفاوت در زمان القای کلیه ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی در سطح اطمینان ۰/۰۱ درصد کاملاً معنی‌دار است.

در غلظت ۸۰ mg/L نیز اسید گالیک با زمان القای ۲/۵ ساعت بالاترین پایداری را نشان می‌دهد و پس از آن کوئرستین، اسید کافئیک و کاتچین در مرتبه‌های بعدی قرار می‌گیرند. بررسی آماری نتایج نشان می‌دهد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی چهار ترکیب فوق در غلظت ۸۰ mg/L به طور معنی‌داری بیشتر از  $\alpha$  - توکوفرول می‌باشد ( $P \leq 0.01$ ).

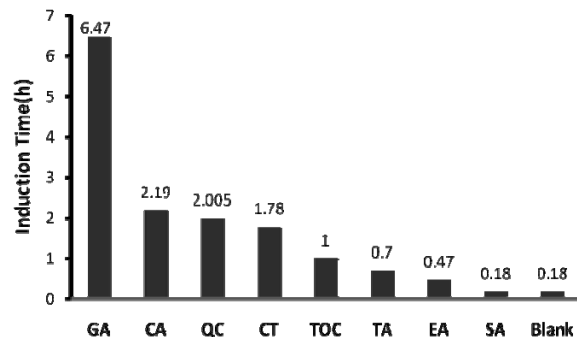
تفاوت در زمان القای کلیه ترکیبات مورد آزمایش در سطح اطمینان ۰/۰۱ کاملاً معنی‌دار است ضمن اینکه اسید سالیسیلیک با زمان القای ۰/۱۸ ساعت مشابه نمونه شاهد بوده و فاقد فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد.

نتایج بدست آمده در غلظت ۱۰۰ mg/L مشابه غلظت قبلی می‌باشد به طوری که اسید گالیک با زمان القای ۳ ساعت دارای بالاترین پایداری بوده و کوئرستین، اسید کافئیک و کاتچین به ترتیب با زمان القای ۱/۹۳، ۱/۶۷ و ۱/۵ ساعت در مرتبه‌های بعدی و بالاتر از  $\alpha$  - توکوفرول قرار می‌گیرند. تفاوت در زمان القای نمونه‌های آنتی‌اکسیدان نسبت به یکدیگر،  $\alpha$  - توکوفرول و شاهد در سطح اطمینان ۰/۰۱ کاملاً معنی‌دار است. در غلظت ۲۰۰ mg/L، اسید گالیک با زمان القای ۴/۸۲ ساعت دارای بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و پس از آن اسید کافئیک، کوئرستین و کاتچین به ترتیب با زمان القای

۲۰۰ از طریق ارزیابی تغییرات اندیس پراکسید مورد بررسی قرار دادند. این محققین گزارش کردند که در میان ترکیبات مورد بررسی فقط میریستین دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است و سایر ترکیبات شامل کوئرستین، لوتولین، کامپرفول و آپیجین فعالیت پروکسیدانی نشان می دهند (۲۳). Becker و همکارانش (۲۰۰۷) اثر آنتی اکسیدانی کوئرستین را در روغن آفتابگردان بروش رنسیمت مورد بررسی قرار دادند. این محققین چنین نتیجه گیری کردند که کوئرستین در مقایسه با  $\alpha$ -توکوفرول فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری نشان می دهد (۲۴). Chen و همکاران (۱۹۹۶) فعالیت آنتی اکسیدانی کوئرستین را در مقایسه با ۴ فلاونوئید طبیعی دیگر شامل میریستین، مورین، کامپرفول و آپیجین در روغن کلزا مورد بررسی قرار دادند. این محققین فعالیت آنتی اکسیدانی کوئرستین را پس از میریستین در مرتبه دوم گزارش کردند [۲۵]. Pekkarinen و همکاران (۱۹۹۹) اثر آنتی اکسیدانی فلاونوئیدهای کوئرستین، میریستین، کامپرفول، کاتشین و روتین را در محلول متیل لینولات از طریق اندازه گیری پراکسیدهای حاصل از اکسیداسیون بروش HPLC بررسی کردند. این محققین نیز فعالیت آنتی اکسیدانی کوئرستین را پس از میریستین در مرتبه دوم گزارش کردند [۲۶]. Hudson & Lewis (1983) از کوئرستین جهت پایدار سازی لارد در غلظت  $10^{-3} \times 2/3$  (۰/۰۷ درصد) استفاده کردند. این محققین طول دوره القاء در نمونه لارد پایدار شده توسط کوئرستین را ۲ ساعت در دمای  $140^{\circ}C$  گزارش کردند [۱۵].

فعالیت آنتی اکسیدانی کاتشین و مشتقات آن توسط محققین بسیاری مورد تایید قرار گرفته است. Huang و همکاران (۱۹۹۷) فعالیت آنتی اکسیدانی کاتشین و مشتقات آن را در روغن ذرت در دمای  $50^{\circ}C$  مورد بررسی قرار دادند. این محققین گزارش کردند که استفاده از کاتشین در غلظت  $40 \text{ ppm}$  (معادل  $140 \mu\text{m}$ ) حدود ۵۰ درصد تشکیل هیدروپراکسیدها را مهار می کند [۲۷]. همچنین اثر آنتی اکسیدانی عصاره پلی فنلی چای سبز که حاوی کاتشین و سایر ترکیبات آن می باشد در روغن کبد ماهی، روغن سویا و لارد گزارش شده است [۲۸]. Pekkarinen و همکاران (۱۹۹۹) چنین نتیجه گیری کردند که خاصیت آنتی اکسیدانی کاتشین از میریستین، کوئرستین و  $\alpha$ -توکوفرول کمتر اما از کامپرفول و روتین بیشتر است [۲۶].

کافئیک، کوئرستین و کاتچین رقابت نزدیکی وجود دارد که در غلظتهای بالاتر اسید کافئیک و در غلظتهای پایین تر کوئرستین بر سایرین پیشی می گیرد. در میان آنتی اکسیدانهای مورد آزمایش، اسید گالیک، کوئرستین، کاتچین و اسید کافئیک در مقایسه با  $\alpha$ -توکوفرول فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری دارند اما اسید الاجیک و اسید تانیک در مقایسه با  $\alpha$ -توکوفرول فعالیت کمتری نشان می دهند.



شکل ۷ مقایسه میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی برخی ترکیبات

فنلی طبیعی در تالو اولئین در دمای  $150^{\circ}C$

(اسید گالیک: GA، اسید کافئیک: CA، کوئرستین: QC،

کاتچین: CT،  $\alpha$ -توکوفرول: TOC، اسید تانیک: TA، اسید

الاجیک: EA، اسید سالیسیلیک: SA، تالو اولئین فاقد آنتی اکسیدان یا

شاهد: Blank)

نتایج بدست آمده با مطالعات (Dziedzic & (1984

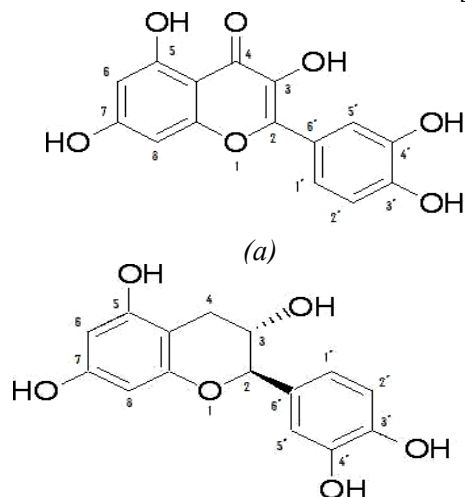
Hudson تطابق دارد. این محققین در تحقیقات خود فعالیت آنتی اکسیدانی اسید گالیک و اسید کافئیک را در لارد (در دمای  $120^{\circ}C$ ) مورد بررسی قرار داده و زمان پایداری لارد پایدار شده با اسید گالیک را در غلظت ۰/۰۲۵ درصد، ۱۶/۳ ساعت، در غلظت ۰/۰۵ درصد، ۲۸/۶ ساعت و در غلظت ۰/۱ درصد، ۳۸/۲ ساعت و زمان پایداری لارد پایدار شده با اسید کافئیک را در غلظت ۰/۰۲۵ درصد، ۱۴ ساعت، در غلظت ۰/۰۵ درصد، ۲۳/۳ ساعت و در غلظت ۰/۱ درصد، ۳۰/۷ ساعت گزارش کردند [۱۲ و ۱۳].

خصوصیات آنتی اکسیدانی کوئرستین توسط محققین مختلف و در روغنهای متفاوت بررسی شده است. در اغلب موارد فعالیت آنتی اکسیدانی کوئرستین تایید شده است اما Skerget و همکاران (۲۰۰۵) از کوئرستین به عنوان یک پروکسیدان در روغن آفتابگردان نام می برند. Skerget و همکارانش اثر آنتی اکسیدانی برخی انواع فلاونوئیدها را در روغن آفتابگردان در دمای  $98^{\circ}C$  و در غلظتهای  $500 \text{ ppm}$



(Dziedzic & Hudson, 1984) از اسیدالاجیک جهت پایدارسازی لارد استفاده کرده و زمان القاء روغن پایدار شده در دو غلظت ۰/۰۵ و ۰/۰۲۵ درصد را در دمای  $120^{\circ}C$ ، ۰/۳۵ ساعت گزارش کردند. بر این اساس مشخص گردید که زمان القاء نمونه‌های پایدار شده با نمونه شاهد (لارد فاقد آنتی اکسیدان) مشابهت دارد لذا اسیدالاجیک در محیط لارد فاقد فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. این محققین چنین گزارش کردند که خاصیت هیدروفلیل بالا و حلالیت کم اسیدالاجیک در محیط چربی می‌تواند یکی از دلایل عمده خصوصیات آنتی‌اکسیدانی ضعیف این ترکیب در لارد باشد [۱۲].

از رفتار اسید سالیسیلیک در تالو اولئین چنین نتیجه‌گیری می‌شود که هیدروکسی بنزوئیک اسیدهای حاوی یک گروه هیدروکسی آزاد، فاقد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سیستم‌های چربی هستند. حداقل وجود دو و یا ترجیحاً سه گروه هیدروکسی فنلی مجاور (ساختار کاتشول یا پیروگالول) جهت بروز فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی ضروری می‌باشد [۱۰-۱۲]. با این وجود برخی انواع هیدروکسی سینامیک اسیدها که دارای ساختار منوفنل هستند خصوصیات آنتی‌اکسیدانی ضعیفی از خود نشان می‌دهند. به عنوان مثال (Dziedzic & Hudson, ۱۹۸۴). تاثیر پارا- کوماریک اسید (۴-هیدروکسی) را بر طول دوره القاء در لارد مورد بررسی قرار دادند. طول دوره القاء در دمای  $120^{\circ}C$ ، در غلظت ۰/۰۵ درصد، ۰/۸ ساعت و در غلظت ۰/۱ درصد ۱ ساعت تعیین گردید. در مقایسه با زمان القای نمونه لارد فاقد آنتی‌اکسیدان (۰/۳۵ ساعت) مشخص شد که اسید پاراکوماریک دارای فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشد هر چند که در مقایسه با سایر انواع فنلیک اسیدها نظیر اسید کافئیک، اسید گالیک، اسید سیناپیک، اسید فرولیک و اسید پروتوکاتچوئیک به طور قابل توجهی ضعیف‌تر است [۱۲].



همانطور که در شکل ۹ مشاهده می‌شود اسید تانیک (گالوتانن) شامل ۱۰ مولکول اسید گالیک است. در این ساختار یک مولکول گلوکز قرار گرفته است که با ۵ مولکول اسید گالیک از طریق ۵ اتصال استری پیوند برقرار کرده است. به همین ترتیب هر یک از مولکولهای مذکور با ۵ مولکول باقی مانده اسید گالیک از طریق اتصال استری (هیدروکسیل-کربوکسیل) اتصال یافته‌اند (۷). بنابراین هر مولکول اسیدتانیک حاوی ۲۵ گروه هیدروکسی آزاد است. با این وجود اسید تانیک در مقایسه با اسید گالیک و نیز سایر ترکیبات مورد بررسی شامل کاتچین، کوئرستین (شکل ۸) و اسید کافئیک خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیار ضعیفتری نشان می‌دهد. اسید تانیک با فرمول مولکولی  $C_{26}H_{52}O_{46}$  و وزن مولکولی  $170120g$  یک مولکول بسیار سنگین محسوب می‌شود در حالیکه اسید گالیک با فرمول بسته  $C_7H_6O_5$  و جرم مولی  $17012g$  یک مولکول نسبتاً سبک می‌باشد. بر این اساس مشخص می‌شود که استفاده از اسید تانیک مثلاً در غلظت  $0.01 (w/v)$  درصد معادل با مولاریته  $5/8 \times 10^{-5}$  مول در لیتر است در حالیکه غلظت  $0.01 (w/v)$  درصد اسید گالیک معادل با مولاریته  $5/8 \times 10^{-4}$  مول در لیتر می‌باشد. بنابراین می‌توان گفت که در غلظت وزنی- حجمی یکسان، غلظت مولی یا مولاریته اسید گالیک بطور قابل توجهی بیش از اسید تانیک است.

علاوه بر این در اسید تانیک به علت وجود گروه‌های متعدد هیدروکسی و کربونیل یک ترکیب به شدت قطبی و هیدروفلیل است و حلالیت پایینی در سیستم‌های چربی و غیر قطبی دارد. حلالیت آنتی اکسیدان در سیستم مورد استفاده اهمیت زیادی دارد به طوری که پیش بینی می‌شود اسید تانیک در محیط‌های قطبی‌تر، قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری از خود نشان دهد.

همانطور که در شکل ۹ نشان داده شده است اسیدالاجیک، دیمرلاکتون اسید گالیک محسوب می‌شود. به نحوی که از دو مولکول اسید گالیک تشکیل شده است که در آن گروه‌های کربوکسیل با یکی از گروه‌های هیدروکسی موقعیت اورتوی مولکول دیگر از طریق پیوند استری متصل شده و تشکیل لاکتون داده‌اند [۱۰ و ۱۱]. هر چند اسیدالاجیک حاوی ۴ گروه هیدروکسیل فنلی می‌باشد و از لحاظ ظاهری دارای ویژگی‌های یک آنتی‌اکسیدان خوب است اما عملاً پایین‌ترین سطح آنتی اکسیدانی را در میان ترکیبات مورد آزمایش نشان می‌دهد.

- اثر غلظت بر فعالیت آنتی اکسیدانی در تمامی تیمارهای مورد بررسی معنی دار است ( $P \leq 0.01$ ) به طوری که با افزایش غلظت در محدوده  $40-400 \text{ mg/L}$  طول زمان القای تالو اولئین در تمامی نمونه‌ها (به استثناء اسید سالیسیلیک) به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد.

- در میان آنتی اکسیدانهای مورد آزمایش اسید گالیک، کوئرستین، کاتچین و اسید کافئیک در مقایسه با  $\alpha$ -توکوفرول فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری دارند.

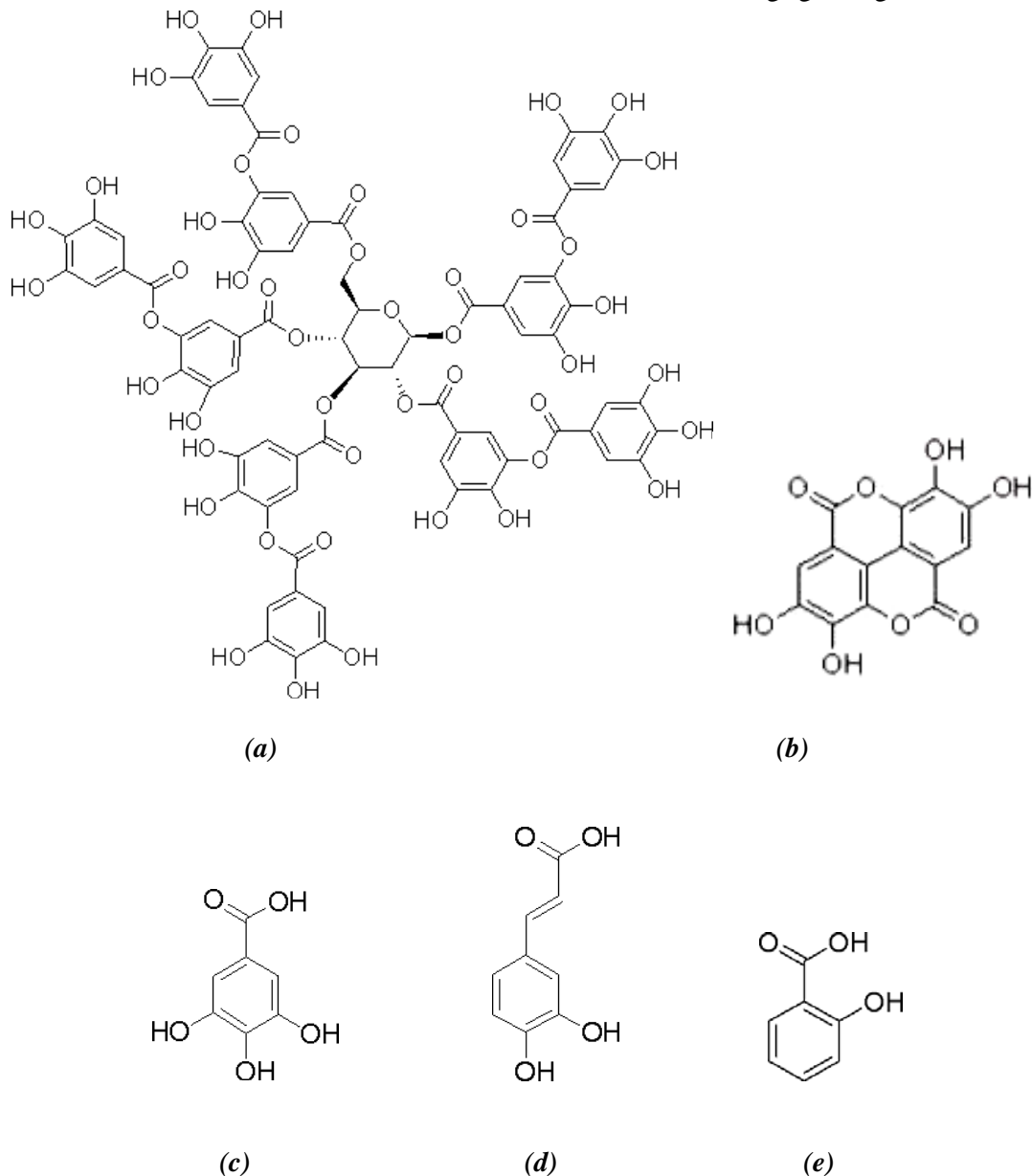
(b)

شکل ۸ ساختمان شیمیایی دو فلاونوئید مورد آزمایش: کوئرستین (a)، کاتچین (b) [۱۰ و ۱۱].

#### ۴- نتیجه گیری

از بررسی کلی نتایج بدست آمده می‌توان گفت:

- در میان ترکیبات پلی فنل مورد استفاده در این پژوهش، اسیدگالیک دارای بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی و اسیدالاجیک دارای پایین‌ترین فعالیت آنتی اکسیدانی بوده ضمن اینکه اسید سالیسیلیک فاقد فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشد.



شکل ۹ ساختمان شیمیایی انواع فنلیک اسیدها و مشتقات آنها: اسید تانیک (a)، اسید الاجیک (b)، اسید گالیک (c)، اسید کافئیک (d)، اسید سالیسیلیک (e) [۱۰ و ۱۱ و ۷].

- Theses in Agricultural Engineering, Food Science and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Faculty of Agriculture. Tehran, Iran.
- [7] Belitz, H. D. and Grosch, W. 1999. Food Chemistry, Springer., Berlin, pp. 305-310.
- [8] Mehran, M. and Filsoof, M. 1976. Fatty acid composition of sheep tail-fats from five Iranian native breeds, Fette Seifen Anstrichmittel, 78(5): 187-189.
- [9] Asadian, A. and Mézes, M. 1996. Effects of vitamins A and E supplementation on vitamins A and E status of blood plasma, liver and tail fat of fat-tailed sheep, Small Ruminant Research, 23, (1): 1-6.
- [10] Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M. 2001. Antioxidants in Food, Practical Applications, CRC Press.
- [11] Shahidi, F. and Naczki, M. 2004. Phenolics in Food and Nutraceuticals, CRC Press.
- [12] Dziedzic S.Z. and Hudson, B. J. F. 1984. Phenolic acids and related compounds as antioxidants for edible oils, Food Chemistry, 14, (1): 45-51.
- [13] Dziedzic S.Z. and Hudson, B.J.F. 1983. Polyhydroxy chalcones and flavanones as antioxidants for edible oils, Food Chemistry, 12, (3): 205-212.
- [14] Dziedzic S. Z. and Hudson, B. J. F. 1983. Hydroxy isoflavones as antioxidants for edible oils, Food Chemistry, 11(3): 161-166.
- [15] Hudson B. J. F. and Lewis, J. I. 1983. Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oils. Phospholipids as synergists, Food Chemistry, 10(2): 111-120.
- [16] Liang, C. and Schwarzer, K. 1998. Comparison of four accelerated stability methods for lard and tallow with and without antioxidants, JAOCS, 75(10): 1441-1449.
- [17] Yin, J. and Birch, J. 2003. A rapid test for the antioxidant status of green and black tea extracts in hot tallow. Food New Zealand, 3(5): 29-33.
- [18] Ünsal, M. and Aktas, N. 2003. Fractionation and characterization of edible sheep tail fat, Meat Science 63: 235-239.
- [19] Ünsal, M., and Yanlic, K.O. 2005. Fractionation and characterization of tail fats from morkaraman lambs fed with diets containing Rosa canina L. seed at different levels, International Journal of Food Properties, 8: 301-312.
- [20] Firestone, D. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Chemists, 15th Edition, Washington, D.C.: AOAC International.
- اما اسید الاجیک و اسید تانیک در مقایسه با  $\alpha$  -توکوفرول فعالیت کمتری نشان می‌دهند.
- فعالیت آنتی اکسیدانی اسید کافئیک بر حسب غلظت، تغییرات جالب توجهی نشان می‌دهد. در غلظتهای ۶۰ و ۴۰ mg/L، اسید کافئیک پس از کاتچین در رتبه چهارم از لحاظ طول دوره القاء (زمان پایداری حرارتی) قرار می‌گیرد در غلظتهای ۸۰-۱۰۰ mg/L، فعالیت آنتی اکسیدانی اسید کافئیک نسبت به کاتچین بهبود یافته و در رتبه سوم قرار می‌گیرد. اما در غلظتهای بالاتر (۲۰۰-۴۰۰ mg/L) فعالیت آنتی اکسیدانی اسید کافئیک نسبت به کوئرستین نیز بیشتر می‌شود به طوری که پس از اسید گالیک در رتبه دوم قرار می‌گیرد. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که تاثیر غلظت در افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی اسید کافئیک قابل توجه می‌باشد.

## ۵- منابع

- [1] Zandi, P. 2004. Report on the status of edible oils in Iran. National Food and Nutrition Council. National Nutrition and Food Technology Research Institute.
- [2] Izadi, F. 1999. Comparison of selection based on total body weight with selection based on weight and tail weight in fat tailed sheep. M.Sc. Theses in Animal Sciences, Mazandaran University, Sari, Iran.
- [3] Imamjome, N. 1993. Study of fattening and carcass characteristics of lambs in two sheep breed chal and zandi and mixed them. Journal of Agricultural Sciences 24 (2): 47-63.
- [4] Imamjome, N., Alipanah, M. and Eghbaleh, A. 1996. Evaluation of fatty acids composition in tail fat, omental fat and meat fat in three breed of Iranian fat tailed sheep, Proceeding of 1 th research conference on Iranian sheep and goat, Iran, Tehran, National Animal Science Research Institute, 283pp., 223-230.
- [5] Alipanah, M. 1995. Evaluation of Qualitative properties of fat in Balouchi, Kordi and Badghisi sheep breeds. M.Sc. Theses in Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Tarbiatmodares University, Tehran, Iran.
- [6] Gharachorlo, M. 2006. Quality assessment, fractionation and improvement the quality properties of animal fat to produce oils with appropriate Applied characteristics in the food industry, Ph.D.

- structural organization, Food Chemistry, 103:1288-1296.
- [25] Chen, Z. Y. Chan, P. T. Ho, K. Y. Fung K. P. and Wang, J. 1996. Antioxidant activity of natural flavonoids is governed by number and location of their aromatic hydroxyl groups, Chemistry and Physics of Lipids, 79(2):157-163.
- [26] Pekkarinen, S. S., Heinonen, I. M., and Hopia, A. I. 1999. Flavonoids quercetin, myricetin, kaempferol and (+)-catechin as antioxidants in methyl linoleate, Journal of Science and Food Agriculture, 79:499-506.
- [27] Huang, S.W., and Frankel, E.N. 1997. Antioxidant activity of tea catechins in different lipid systems, J. Agric. Food Chem., 45:3033-3038.
- [28] Gramza, A. and Korczak, J. 2005. Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems, Trends in Food Science & Technology, 16 : 351-358.
- Analytical Chemists, 15<sup>th</sup> edn., Arlington, USA.
- [21] Firestone, D. 1994. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, 4<sup>th</sup> edn., AOCS Press, Champaign, IL.
- [22] Institute of Standards and Industrial Research of Iran, 1994. Animal and vegetable fats and oils-Determination oxidative stability (accelerated oxidation). ISIRI No 3734, 1<sup>st</sup>. Revision.
- [23] Skerget, M., Kotnika P., Hadolin, M., Hrasb, A. R., Simonic, M., and Knez, Z. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities, Food Chemistry, 89: 191-198.
- [24] Becker, E.M., Ntouma, G., and Skibsted, L.F. 2007. Synergism and antagonism between quercetin and other chain breaking antioxidants in lipid systems of increasing

## Evaluation of antioxidant activities of some phenolic compounds in mutton tallow olein

Elhami Rad, A. H. <sup>1\*</sup>, Ghavami, M. <sup>2</sup>, Haddad Khodaparast, M. H. <sup>3</sup>

1- Assistant Professor, Department of Food Science & Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

2- Associate Professor of the College of Food Science & Technology, Science & Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

3- Professor of the College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(Received: 87/8/27 Accepted: 89/11/24)

To evaluate antioxidant activity of some natural phenolics, tallow olein was employed as a lipid system. Since animal fats are weak in natural antioxidants, studying antioxidant activity will provide a desirable behavior profile for them. Edible sheep tail fat was effectively fractionated by acetone crystallization at constant temperatures of 25, 15 and 5°C. In order to stabilize mutton tallow olein, antioxidant activities of some phenolic compounds including gallic acid, caffeic acid, catechin, quercetin, tannic acid, ellagic acid and salicylic acid were studied in tallow olein as a lipid system, at 150 °C at 40, 60, 80, 100, 200 and 400 mg/L concentrations, by measuring induction time. Rancimat apparatus was employed as a mean to evaluate the antioxidant activity. The results indicated that gallic acid had the highest stabilizing effect on tallow olein while ellagic acid had the least effect as primary antioxidants. Among phenolic compounds investigated, only salicylic acid showed no antioxidant activity which is in contrast to all other antioxidant compounds. The results showed that, in tallow olein, the antioxidant activities of the ellagic and tannic acid are comparable to  $\alpha$ -tocopherol whereas quercetin, catechin, gallic acid and caffeic acid are much more potent than  $\alpha$ -tocopherol.

**Keywords:** Mutton Tallow Olein, Fractionation, Antioxidants, Phenolic Compounds

---

\*Corresponding Author E-Mail Address: ah\_elhami@iaus.ac.ir