



## بررسی خواص آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و شناسایی ترکیبات شیمیایی حاصل از عناب (گوشت و هسته) و ارزیابی امکان استفاده از آن در فرمولاسیون روغن آفتابگردان (در طی نگه داری)

نجمه مهرنیا<sup>۱</sup>، محسن وظیفه دوست<sup>۱\*</sup>، زهره دیدار<sup>۱</sup>، بهاره حاجی رستمی<sup>۱</sup>، احمد پدرام نیا<sup>۲</sup>

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

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	<p>استفاده از تولیدات بومی در صنایع غذایی در سالیان اخیر اهمیت فزاینده ای داشته و میوه عناب یکی از محصولات باغی مهم در خراسان جنوبی، است. استفاده از پتانسیل بالای میوه عناب به دلیل وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی می تواند به عنوان جایگزین بخشی از آنتی اکسیدانهای صنعتی در حوزه روغن های خوراکی بکار رود. در تحقیق حاضر به بررسی ترکیبات موجود در میوه عناب شامل بخش گوشت و هسته پرداخته شد. ابتدا به منظور استحصال عصاره عناب با خصوصیات و راندمان بهتر از دو نوع حلال آبی و متانولی استفاده شد. سپس عصاره عناب در سه غلظت ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون با آنتی اکسیدان صنعتی BHA مقایسه گردید. نتایج نشان دهنده وجود ترکیبات فنولی، الکلونیدها، ساپونین، استرول، تانن، ترپنئید و استروئیدهاست. از سوی دیگر مشاهده شد که عصاره عناب دارای خصوصیات ضد میکروبی بر علیه باکتریهای سالمونلا تیفی، باسیلوس سوبتیلیس، لیستریا منوسیتوژنس، اسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکنز بود. در مقایسه بین خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره عناب با آنتی اکسیدان صنعتی BHA مشاهده شد که عصاره عناب فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری داشت و عدد پراکسید، عدد اسیدی، شاخص تیوباریتوریک اسید و DPPH کمتری داشت (<math>P &lt; 0.05</math>)؛ اما به عنوان یک جایگزین می تواند به جلوگیری از اکسیداسیون روغن کمک نماید.</p>
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۱۰	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۲۶	
کلمات کلیدی:	
آنتی اکسیدان، عصاره، روغن، عناب.	<p>DOI: 10.22034/FSCT.19.130.385 DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.29.8</p>
* مسئول مکاتبات:	<p>m.vazifedoost@iau-neyshabur.ac.ir</p>

## ۱- مقدمه

یکی از موثرترین و رایج‌ترین راه‌های کاهش اکسیداسیون چربی‌ها و روغن‌ها استفاده از آنتی اکسیدان‌ها است [۱]. آنتی اکسیدان‌هایی که عموماً در غذاها استفاده می‌شوند یا به صورت سنتزی هستند (مولکول‌های تهیه شده به صورت شیمیایی) و یا منشاء طبیعی (تهیه شده از مواد غذایی) دارند. با توجه به این که آنتی اکسیدان‌های سنتزی اثرات نامطلوبی مانند اثر جهش‌زایی و سرطان‌زایی در بدن انسان دارند، لذا تهیه و تولید آنتی اکسیدان‌های طبیعی به عنوان جانشینی مناسب ضروری می‌باشد. آنتی اکسیدان‌های گیاهی حاوی ترکیبات فنولی از چند مکانیسم در زنجیره اکسیداتیو وارد عمل می‌شوند [۲].

میوه عناب با نام علمی *Zizphus jujube Miller* متعلق به خانواده رامناسه<sup>۱</sup> است [۳]. اطلاعات بسیار کمی درباره ترکیبات فنولی، آلفا توکوفرول، بتا کاروتن و اسیدهای چرب عناب وجود دارد. در راستای کاربرد ترکیبات گیاهی، زیست فعال، ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی و هم چنین کاهش هزینه‌های اقتصادی میوه عناب که محصول بومی استان خراسان است می‌تواند در فرمولاسیون‌های مختلف غذایی به خصوص در فرمولاسیون روغن‌های خوراکی به منظور جایگزینی با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و شیمیایی مورد استفاده قرار گیرد. در این پژوهش ابتدا به بررسی امکان استفاده از عصاره میوه عناب (گوشت و هسته) به عنوان جایگزین آنتی اکسیدان‌های سنتزی و شیمیایی پرداخته شده و سپس انتخاب حلال مناسب برای استخراج عصاره میوه عناب (گوشت و هسته) ارزیابی شد، سپس ترکیبات شیمیایی، فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره میوه عناب (گوشت و هسته) بررسی گردید و پایداری اکسایشی و حرارتی عصاره میوه عناب در فرمولاسیون روغن خوراکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

عبدالله (۲۰۱۷) خصوصیات ضد باکتریایی عصاره استخراج شده با متانول، میوه عناب سودانی را بر علیه باکترهای گرم مثبت و منفی بررسی کرد. نتایج نشان داد که عصاره عناب تاثیر ضد میکروبی بر علیه باکتری‌های گرم منفی (*Escherichia coli* ATCC 35218 و *Klebsilla pneumonia*)

1. Rhamnaceae

ATCC 700603) ندارد. در حالی که فعالیت‌های ضد میکروبی قابل قبولی بر خلاف باکتری‌های گرم مثبت (*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Bacillus cereus* ATCC 29212) داشت [۴]. حسین و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی اثر روش‌های مختلف استخراج از برگ و میوه عناب عمانی (*Omani Ziziphus jujuba*) بر تعیین مقادیر فلاونوئید، فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی پرداختند. نتایج نشان دادند که بیشترین میزان ترکیبات فنولی در عصاره برگ و میوه، در نمونه استخراج شده با استات اتیل و کمترین در آب بود [۵].

بگ و همکاران (۲۰۱۶) فعالیت ضد باکتری و ضد سرطانی عصاره‌های بخش‌های مختلف گیاه (برگ، میوه و پوست) در سه گونه *Z. nummularia* و *Z. mauritiana*، *Z. jujube* در آزمایشگاه مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان دادند که عناب منبع با ارزشی از فیتوکمیکال‌ها، بیواکتیوها، ویتامین‌های مختلف است، که در درمان و جلوگیری از انواع بیماری‌ها موثر می‌باشد [۶].

دلفانیان و همکاران (۲۰۱۵) طی بررسی اثر امواج فراصوت، مایکروویو و حلال‌های مختلف بر فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ‌های عناب (*Ziziphus mauritiana Lam.*) و همچنین بر پایداری روغن آفتابگردان در طی سرخ کردن عمیق به این نتیجه دست یافتند که استخراج با امواج فراصوت، موثرترین روش بر حفظ فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره و بازده استخراج ترکیبات فنولیک در مقایسه با سایر روش‌ها است [۷].

## ۲- مواد و روش‌ها

## ۲-۱- مواد

مواد بکار رفته در این پژوهش شامل عناب تازه تهیه شده از شهرستان بیرجند، که طی آزمایشات در یخچال با دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. متانول تهیه شده از شرکت مرک آلمان، سویه‌های استاندارد شامل سالمونلا تیفی PTCC1609، باسیلوس سوبتیلیس PTCC1715، لیستریا مونو سیتورنزا PTCC1294، اسپرژیلوس نایجر PTCC5011 و

کاندیدا آلیکنز PTCC5027 از انستیتو تحقیقات رازی تهران. آنتی اکسیدان سنتزی BHA ساخت شرکت سیگما آلمان بود.

## ۲-۲-۲- ارزیابی کمی ترکیبات شیمیایی میوه عناب (گوشت و هسته)

در این پژوهش میوه خشک شده عناب از استان خراسان جنوبی به میزان مورد نیاز تهیه گردید و بلافاصله پس از شستشو خشک شد. ابتدا بخش گوشت و هسته میوه جدا گردید و سپس هر بخش به طور مجزا با آسیاب خرد شد. پس از الک کردن، برای استخراج عصاره با حلال (متانول و آب) به نسبت ۱۰:۱ وزنی حجمی (یک گرم میوه عناب با ۱۰ میلی لیتر متانول) مخلوط گردید و در هات پلیت با دور rpm ۲۵۰ به مدت ۲۴ ساعت دردمای محیط قرار گرفت و پس از آن تحت شرایط خلاء با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. سپس به منظور حذف حلال و استخراج عصاره به وسیله تبخیر کننده چرخان (روتاری اواپراتور) مدل LABORATA4000 ساخت آلمان، دردمای ۳۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. در نهایت عصاره توسط خشک کن تحت خلاء دردمای ۴۰ درجه سانتی گراد تغلیظ گردید و تا زمان استفاده در ظرف سربسته و غیر قابل نفوذ به هوا در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفت.

## ۲-۲-۲-۱- تعیین ساختار اسیدهای چرب

پروفایل اسید چرب عصاره با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گاز- مایع (Gas-liquid chromatography) (ساخت شرکت طیف گستر، ایران) تعیین گردید و بر اساس درصد نسبی سطوح گزارش شد [۴].

## ۲-۲-۲-۲- محاسبه شاخص اکسایش پذیری

شاخص اکسایش پذیری بر اساس درصد اسیدهای چرب غیر اشباع ۱۸ کربنه بر طبق رابطه ذیل محاسبه گردید:

$$\text{Cox value} = \frac{[1(C18:1\%) + 10.3(C18:2\%) + 21.6(C18:3\%)]}{100}$$

رابطه (۱)

که  $C_{18:1}$ ،  $C_{18:2}$  و  $C_{18:3}$  به ترتیب اسیدهای اولئیک، لینولئیک و لینولئیک هستند (۴).

## ۲-۲-۳- تعیین اجزاء توکوفرولی

تعیین اجزاء توکوفرولی عصاره به کمک دستگاه کروماتوگرافی

مایع با کارایی بالا (HPLC) انجام گرفت.

## ۲-۲-۴- ارزیابی میزان استرول ها

میزان استرول های عصاره با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) اندازه گیری شد [۸].

## ۲-۲-۵- تعیین نوع ترکیبات فنولی

نوع ترکیبات فنولی عصاره با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تعیین گردید [۸].

## ۲-۳-۲- ارزیابی کیفی ترکیبات شیمیایی میوه عناب (گوشت و هسته)

### ۲-۳-۲-۱- تشخیص آلکالوئیدها

به منظور تشخیص آلکالوئید از روش تیتراسیون با استفاده از معرف مایر و تشکیل رسوب ترکیبات آلکالوئیدی به استفاده شد. ترکیبات آلکالوئیدی به صورت رسوب زرد رنگ در ته لوله آزمایش نشان دهنده محتوای نسبی ترکیبات آلکالوئیدی در نمونه بود [۹].

### ۲-۳-۲-۲- تشخیص تانن ها

برای تشخیص تانن ها از روش تیتراسیون با استفاده از کلرید آهن (III) ۰/۱ درصد استفاده شد. محلول واکنش دارای رنگ آبی تیره، تائید کننده وجود گالیک تانن ها در نمونه بود [۹].

### ۲-۳-۲-۳- تشخیص ساپونین ها

۵ گرم از پودر خشک و آسیاب شده را، در ۵ میلی لیتر آب مقطر ریخته پس از گرمادهی در بن ماری به مدت ۱۵ دقیقه فیلتراسیون صورت گرفت. سپس ۲ میلی لیتر از نمونه فیلتر شده و با ۳ میلی لیتر آب مقطر مخلوط گردید. با گرم کردن و تکان دادن، کف ایجاد شده روی سطح نشان دهنده وجود ساپونین بود. برای تائید این نکته ۱ میلی لیتر روغن خوراکی به نمونه اضافه و خاصیت امولسیون کنندگی ساپونین ها بدین صورت اثبات شد [۸].

### ۲-۳-۲-۴- تشخیص ترپنوئیدها و استروئیدها

برای تشخیص ترپنوئیدها و استروئیدها از روش نوردیانی و همکاران (۲۰۱۲) استفاده شد و اگر ۱ گرم از پودر خشک و آسیاب شده را با ۰/۵ میلی لیتر ایندرید استیک و ۰/۵ میلی لیتر کلروفرم مخلوط شد، سپس قطره قطره اسیدسولفوریک به آن اضافه شد. ایجاد رنگ بنفش متمایل به قرمز نشان از وجود ترپن ها و رنگ

## ۲-۶-۲- بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد (DPPH)

در این روش به عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ماده (DPPH) به عنوان معرف استفاده شد. بدین ترتیب که ۲ میلی لیتر از غلظت‌های مختلف ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰ و ۰ عصاره متانولی میوه عناب به ۲ میلی لیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد (DPPH) در متانول اضافه شد. بعد از ۹۰ دقیقه تاریک‌گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد قرائت شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH) با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد [۱۳].

رابطه (۲)

$$I\% = (A_{Blank} - A_{Sample} \div A_{Blank}) \times 100$$

### ۲-۶-۳- اندازه گیری اندیس پراکسید

اندیس پراکسید براساس استاندارد AOAC (۲۰۰۰) انجام گرفت.

رابطه (۳)

$$PV \left( \frac{meq}{kg} \right) = \frac{1000 \times N \times V}{W}$$

در این رابطه PV: میزان اندیس پراکسید، N: نرمالیت تیوسولفات مصرفی، V: حجم تیوسولفات مصرفی بر حسب میلی لیتر و W: وزن نمونه روغن بود.

### ۲-۶-۴- سنجش شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA)

شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA) با استفاده از جذب نمونه با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت گردید [۱۴].

### ۲-۶-۵- محاسبه عدد اسیدی

به منظور محاسبه عدد اسیدی توسط تیتراسیون با هیدروکسید سدیم انجام شد.

رابطه (۴)

$$\text{عدد اسیدی} = (A-B) \times N \times 56.1 / W$$

A: حجم قلیای مصرفی در تیتراسیون نمونه (میلی لیتر)، B: حجم قلیای مصرفی در تیتراسیون شاهد (میلی لیتر)، N: نرمالیت قلیای مصرفی، W: وزن نمونه (گرم) [۱۳].

سبز آبی نشان دهنده استروئیدها در نمونه بود (۸).

## ۲-۴-۲- بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره های

### حاصل از میوه عناب (گوشت و هسته)

#### ۲-۴-۱- تهیه کشت میکروبی

جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی، پس از تهیه سوسپانسیون، در شرایط سترون و توسط سواپ استریل به طور یکنواخت در تمام سطح محیط کشت مولر هیتون آگار در سه جهت کشت داده شد. در نهایت ظروف پتری دیش به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد و پس از آن قطر هاله های عدم رشد ایجاد شده در اطراف دیسک ها با کولیس اندازه گیری شد [۱۰].

## ۲-۵-۲- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره میوه

### عناب (گوشت و هسته) در پایدارسازی روغن

#### آفتابگردان در طی زمان نگهداری

بعد از استخراج عصاره متانولی و آبی میوه عناب (گوشت و هسته)، میزان کل ترکیبات فنولی و فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد عصاره استخراج شده با غلظت های ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰ و ۰ (نمونه شاهد) ارزیابی گردید و با غلظت ۱۰۰ ppm آنتی اکسیدان سنتزی BHA مقایسه شد. سپس عصاره بهینه انتخاب گردیده و در غلظت های (۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰) به روغن آفتابگردان تصفیه شده فاقد آنتی اکسیدان افزوده شد و تاثیر آن بر افزایش پایداری اکسیداتیو روغن آفتابگردان در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه روز ساعت در فواصل زمانی ۲۴ ساعت از طریق سنجش اندیس پراکسید، شاخص تیوباربتوریک اسید، عدد اسیدی و شاخص پایداری اکسایشی بررسی و در نهایت با فعالیت آنتی اکسیدان سنتزی BHA به میزان ۱۰۰ ppm مقایسه شد [۱۱].

### ۲-۶-۲- آزمونها

#### ۲-۶-۱- اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنولی

اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنولی براساس ترسیم منحنی کالیبراسیون محلول‌های استاندارد اسید گالیک انجام شد [۱۲].

شاهد نیز با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد با همین نرم افزار انجام گردید. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم افزار Microsoft Excel 2010 استفاده گردید.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- تاثیر نوع استخراج بر پروفایل اسیدهای

##### چرب

بررسی نتایج اثر نوع حلال متانول ۹۶٪ و حلال آبی بر پروفایل اسیدهای چرب عصاره استخراج شده از عناب نشان داد که میزان اسیدهای چرب در حلال متانول ۹۶٪ با حلال آبی کاملاً متفاوت است و نوع حلال تفاوت معنی داری را در سطح معنی داری ۹۵ درصد ایجاد کرد ( $P < 0.05$ ) (جدول ۱).

#### ۲-۶-۶- ارزیابی پایداری اکسایشی و حرارتی روغن آفتابگردان

برای تعیین پایداری اکسایشی و حرارتی روغن آفتابگردان مطابق روش فرهوش (۲۰۰۷) از دستگاه رنسیمت استفاده شد. به این منظور، سه گرم نمونه روغن آفتابگردان حاوی غلظت های ppm ۲۵۰،۵۰۰،۱۰۰۰ از عصاره بهینه میوه عناب، نمونه شاهد و آنتی اکسیدان سنتزی BHA به میزان ppm ۱۰۰ در دماهای ۱۲۰، ۱۱۰، ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت جریان هوا ۲۰ لیتر بر ساعت مورد آزمایش قرار گرفت [۱۵].

#### ۲-۷- آنالیز آماری

جهت بررسی نتایج، از طرح آماری کاملاً تصادفی استفاده شد. اطلاعات با استفاده از نرم افزار آماری Minitab مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین با یکدیگر و با نمونه

**Table 1** Analysis of variance the effect of extraction type on fatty acid profile

Mistic acid	Palmitic acid	Palmivolic acid	Linoleic acid	Stearic acid	Oleic acid	Arachidonic acid	Linolenic acid	Degrees of freedom	Sources of changes
0.91*	1.23*	0.76*	10.35*	0.54*	17.54*	1.25*	1.45*	1	Solvent type
0.38	0.06	0.08	0.72	0.00	0.01	0.15	0.05	2	Test error

Shows a significant difference at the significance level of 95% \*

بررسی نتایج اثر نوع حلال بر میزان اسیدهای چرب نشان داد به طور کلی میزان اسیدهای چرب غیر اشباع در عصاره های گیاهی بدست آمده نسبت به اسیدهای چرب اشباع به مراتب بیشتر بوده که در تحقیقات سایر محققین نیز می‌توان این نکته را دریافت (جدول ۲).

**Table 2** Analysis of variance the effect of extraction type on extractor efficiency

Extraction efficiency	degree of freedom	Sources of changes
2.34*	1	Solvent type
0.12	2	Test error

\* Shows a significant difference at the significance level of 95%

استخراج تفاوت معنی داری با حلال آبی داشت و استخراج با حلال متانول ۹۶ درصد سبب افزایش بازده استخراج شد (جدول ۳).

#### ۳-۲- میزان بازده عصاره عناب با انواع حلال

بررسی اثر استخراج عصاره عناب با حلال متانول ۹۶ درصد و حلال آبی نشان داد که استخراج با حلال متانول ۹۶ درصد بازده

**Table 3-** Analysis of variance the effect of extraction type on the amount of oxidation index

oxidation index	Degrees of freedom	Sources of changes
0.79*	1	Solvent type
0.08	2	Test error

\* Shows a significant difference at the significance level of 95%

### ۳-۳- اثر نوع حلال بر شاخص اکسایش پذیری

#### عصاره عناب

بررسی اثر حلال متانول ۹۶ درصد و حلال آبی بر میزان اکسایش پذیری عصاره عناب نشان داد که استخراج با حلال متانول ۹۶ درصد شاخص اکسایش پذیری بیشتر از حلال آبی بود.

### ۳-۴- تاثیر نوع استخراج بر میزان ترکیبات آنتی

#### اکسیدانی

بررسی اثر حلال متانول ۹۶ درصد و حلال آبی بر اجزای فنولی عصاره عناب نشان داد که استخراج با حلال متانول ۹۶ درصد اجزای فنولی بیشتر بود اگرچه این اختلاف چشمگیر نبود. میزان اجزای فنولی در استخراج با حلال متانول ۹۶ درصد ۸۷۴/۲۶ و با حلال آبی ۷۹۶/۶ بود (جدول ۴).

میزان بازده استخراج به عوامل مختلفی از جمله نوع حلال، ترکیبات موجود در نمونه، دما و زمان استخراج بستگی دارد که در شرایط یکسان حلال مورد استفاده بسیار تأثیرگذار است. درجه قطبیت حلال های مختلف میزان استخراج ترکیب های پلی فنولی را تحت تأثیر قرار می دهد. تأثیر بالقوه و مؤثرتر استخراج با حلال اتانول در استخراج ترکیبات مؤثر و زیست فعال گیاه عناب می باشد. این حالت ممکن است ناشی از ماهیت آبریزی ترکیبات فنولی و زیست فعال گیاهان دارویی باشد. که احتمالاً دارای ضریب نفوذ بیشتری در حلال های آلی مانند اتانول نسبت به آب می باشند. بازده بالاتر استخراج با اتانول در مقایسه با استخراج با آب در مطالعات مختلف گزارش شده است [۱۶].

**Table 4** Analysis of variance the effect of extraction type on the amount of antioxidant compounds

Terpenoids and steroids	Tannin	Sterol	Saponin	Alkaloid	Phenolic compounds	Tocopherol components	Degrees of freedom	Sources of changes
0.28*	1.15*	3.60*	0.52*	1.36*	0.82*	135.8*	1	Solvent type
0.04	0.23	0.12	0.11	0.07	0.03	5.82	2	Test error

\* Shows a significant difference at the significance level of 95%

است. اما آنچه از این نتایج بر می آید این است که قطبیت و ویسکوزیته بالای حلال در آزاد سازی مقادیر ترکیبات فنلی موثرند [۱۲ و ۱۳].

### ۳-۵- میزان استخراج با انواع حلال بر میزان

#### فعالیت ضد میکروبی

بررسی نتایج اثر میزان باکتری های سالمونلا تیفی، باسیلوس سوبتیلیس، لیستریا مونوسیتوژنز، آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکنز با عصاره عناب استخراج شده با دو نوع حلال متانول و حلال آبی نشان داد که میزان کشندگی عصاره عناب استخراج شده با حلال متانول ۹۶٪، بیشتر از عصاره استخراج شده با حلال آبی بود (جدول ۵).

استفاده از آب به عنوان حلال استخراج، یک محیط بسیار قطبی ایجاد می کند که برای استخراج ترکیبات بیواکتیو با قطبیت زیاد مناسب است در حالی که آب - اتانول یا اتانول برای استخراج ترکیبات بیواکتیو با رنج وسیعی از قطبیت مناسب است که این به علت وجود محیط نسبتاً قطبی است که در اثر افزودن آب به حلال آلی، ایجاد می گردد [۴]. آب در طی فرآیند استخراج احتمالاً، با حل کردن پروتئین ها، پلی ساکاریدها و دیگر ترکیبات قطبی، موجب کاهش خلوص عصاره و بازده پایین ترکیبات فنولی شده است. از طرفی این نتیجه احتمالاً به دلیل ماهیت نیمه قطبی و قطبیت کمتر ترکیبات فنولی میوه عناب بوده که به مقدار کمتری در آب حل گردیده است.

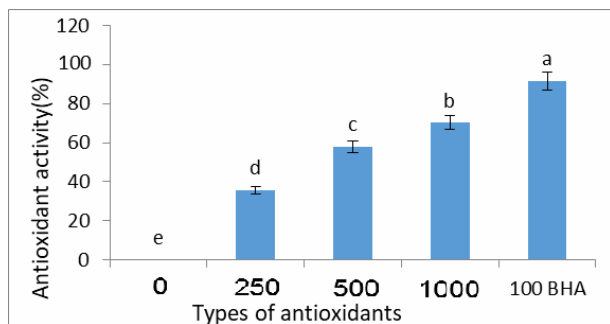
تفاوت های موجود در مقادیر فنل کل در عصاره های گوناگون به واسطه نحوه آماده سازی نمونه ها و روش های استخراج

**Table 5** Effect of solvent type on the amount of jujube extract bacteria

Solvent type		Types of bacteria
Water solvent	Methanol solvent 96%	
8.7±2.4 <sup>b</sup>	10.3±2.1 <sup>a</sup>	<i>Salmonella typhi</i>
9.43±2.5 <sup>b</sup>	11.6±2.3 <sup>a</sup>	<i>Bacillus subtilis</i>
9.8±1.1 <sup>b</sup>	12.2±1.6 <sup>a</sup>	<i>Listeria monocytogenes</i>
5.73±1.00 <sup>b</sup>	8.9±1.2 <sup>a</sup>	<i>Aspergillus niger</i>
7.7±2.3 <sup>b</sup>	9.1±1.5 <sup>a</sup>	<i>Candida Albicans</i>

( $P < 0.05$ ).

مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف عصاره عناب با آنتی اکسیدان سنتزی BHA نشان داد که فعالیت آنتی اکسیدانی BHA در روغن آفتابگردان بیشتر از غلظت های مختلف عصاره عناب بود، با افزایش غلظت عصاره عناب تا غلظت ۱۰۰۰ ppm فعالیت آنتی اکسیدانی آن در روغن آفتابگردان بیشتر شد، اگرچه از فعالیت آنتی اکسیدانی BHA کمتر بود.



**Fig 1** Comparison of antioxidant activity of jujube extract with BHA

### ۳-۶-۲- مقایسه عصاره عناب با آنتی اکسیدان سنتزی BHA بر میزان عدد اسیدی

بررسی میزان عدد اسیدی غلظت های مختلف عصاره عناب با آنتی اکسیدان سنتزی BHA در روغن آفتابگردان نشان داد که میزان عدد اسیدی در نمونه حاوی BHA در روغن آفتابگردان کمتر از غلظت های مختلف عصاره عناب بود، اگرچه بین غلظت ۱۰۰۰ ppm عصاره عناب با BHA اختلاف چشمگیری مشاهده نشد. بیشترین میزان عدد اسیدی نیز در غلظت ۰

نتایج نشان دهنده تفاوت حساسیت باکتریها و قارچها نسبت به عصاره بدست آمده و نیز تاثیرگذارتر بودن عصاره اتانولی به عصاره آبی بود. محققین دیگر نیز به تفاوت در حساسیت باکتریها به عصاره های گیاهی اشاره کرده اند.

اجزای موجود در عصاره های گیاهی ( ترپنوئیدها، آلکالوئیدها و ترکیبات فنولی) با آنزیم ها و پروتئین های غشای سلولی میکروبی واکنش داده و با ایجاد اختلال در پراکندگی پروتونها به سمت بیرون سلول منجر به مرگ سلولی یا مهار آنزیم های مورد نیاز جهت سنتز اسیدهای آمینه می شوند [۱۷]. بر اساس پژوهشی، مکانیسم های مختلفی از جمله بازدارندگی آنزیمهای برون سلولی میکروبی، بازدارندگی رشد از طریق حذف سوبسترا و یا بازدارندگی اکسیداسیون فسفریلاسیون، دلایل اصلی توجیه فعالیت ضد میکروبی ترکیبات فنولی شناسایی گردیده اند [۱۴]. علاوه بر این، اثر مهارکنندگی عصاره های گیاهی را می توان به ویژگی آبگریزی آنها نیز نسبت داد که در نتیجه واکنش با پروتئینهای غشای سلولی و میتوکندری منجر به تخریب و توانایی تغییر در نفوذپذیری آنها می شوند [۱۸]. در حقیقت، ترکیبات مؤثر ضد میکروبی در عصاره ها و اسانس های روغنی گیاهان دارویی دارای ماهیت آبگریز می باشند و استخراج اتانولی نیز دارای قابلیت استخراج ترکیبات غیرقطبی و نیمه قطبی می باشد.

### ۳-۶-۳- مقایسه خصوصیات عصاره عناب با

#### BHA

### ۳-۶-۱- مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره عناب با

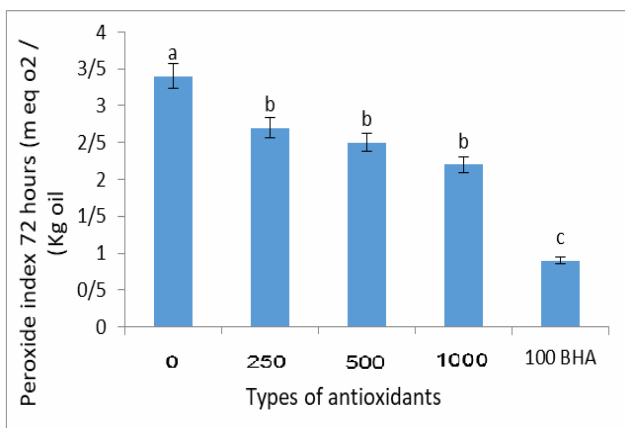
#### BHA

بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره عناب در سه غلظت ۰، ۲۵۰، و ۱۰۰۰ ppm با آنتی اکسیدان سنتزی BHA در غلظت ۱۰۰ ppm تفاوت معنی داری در سطح معنی داری ۹۵ نشان داد.

**BHA** در روغن آفتابگردان کمتر از غلظت های مختلف عصاره عناب بود، اگرچه بین غلظت ۱۰۰۰ ppm عصاره عناب با **BHA** اختلاف چشمگیری مشاهده نشد. با افزایش غلظت عصاره، میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد افزایش می یابد که به علت افزایش مقدار ترکیبات فنولی در غلظت بالاتر عصاره است. توانایی مهارکنندگی ترکیبات فنولی روی رادیکالهای آزاد به علت گروه هیدروکسیل آنها است که با افزایش غلظت ترکیبات فنولی، تعداد گروه های هیدروکسیل در محیط واکنش افزایش یافته و در نتیجه احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می یابد.

### ۳-۶-۵- مقایسه عصاره عناب با آنتی اکسیدان سنتزی **BHA** بر اندیس پراکسید روغن آفتابگردان

بررسی نتایج حاصل از اندیس پراکسید روغن آفتابگردان بعد از ۷۲ ساعت نشان داد بیشترین میزان این فاکتور در غلظت ۰ عصاره عناب (نمونه شاهد) و کمترین میزان در نمونه حاوی **BHA** بود. این نتایج نشان می دهد که آنتی اکسیدان سنتزی **BHA** توانایی آنتی اکسیدانی بالاتری از عصاره عناب دارد ( $P < 0.05$ ). بعد از آن غلظت ۱۰۰۰ ppm عصاره عناب کمترین اندیس پراکسید را در روغن آفتابگردان داشت.



**Fig 2** Comparison of jujube extract with BHA on peroxide index after 72 hours in sunflower oil

عدد پراکسید یکی از پرکاربردترین شاخصهای کیفی است که مقدار کل پراکسیدهای موجود در روغن را به عنوان فرآورده های اولیه حاصل از اکسایش نشان می دهد. کاهش پراکسید پس از

عصاره عناب (نمونه شاهد) مشاهده شد و با افزایش غلظت عصاره عناب عدد اسیدی در روغن آفتابگردان کاهش داشت. محققین متعددی، تاثیر حرارت دهی را بر اسیدیته روغنهای مختلف مورد بررسی قرار دادند و در این تحقیقات به وضوح بیان کردند که حرارت دهی موجب تجزیه مختصر تری گلیسریدها و در نتیجه افزایش جزئی اسیدهای چرب آزاد روغن ها می شود [۱۹ و ۱۵].

### ۳-۶-۳- مقایسه عصاره عناب با آنتی اکسیدان سنتزی **BHA** بر میزان شاخص تیوباربتوریک اسید روغن آفتابگردان

میزان تیوباربتوریک اسید در روغن آفتابگردان با استفاده از غلظت های مختلف عصاره عناب (۰، ۲۵۰، ۱۰۰۰ ppm) با آنتی اکسیدان سنتزی **BHA** در غلظت ۱۰۰ ppm تفاوت معنی داری در سطح معنی داری ۹۵ نشان داد.

بررسی غلظت های مختلف عصاره عناب با آنتی اکسیدان سنتزی **BHA** بر میزان تیوباربتوریک اسید روغن آفتابگردان نشان داد که شاخص تیوباربتوریک اسید در نمونه حاوی **BHA** در روغن آفتابگردان کمتر از غلظت های مختلف عصاره عناب بود ( $P < 0.05$ ). اگرچه بین غلظت ۱۰۰۰ ppm عصاره عناب با **BHA** اختلاف چشمگیری مشاهده نشد. بیشترین میزان شاخص تیوباربتوریک اسید نیز در غلظت ۰ عصاره عناب (نمونه شاهد) مشاهده شد و با افزایش غلظت عصاره عناب این شاخص در روغن آفتابگردان کاهش داشت.

عدد تیوباربتوریک اسید، مقدار مالو ندی آلدئید موجود در ۱۰۰۰ گرم چربی است و بیانگر مراحل ثانویه ی اکسیداسیون است که سبب ایجاد طعم بد در روغن اکسید شده می شود.

### ۳-۶-۴- مقایسه عصاره عناب با آنتی اکسیدان سنتزی **BHA** بر میزان **DPPH** روغن آفتابگردان

بررسی میزان **DPPH** بعد از ۶۰ دقیقه در نمونه های مختلف حاوی غلظت های عصاره عناب با آنتی اکسیدان سنتزی **BHA** در روغن آفتابگردان نشان داد که میزان **DPPH** در نمونه حاوی



نسبت به عصاره آبی بود. مقایسه استفاده از آنتی اکسیدان سنتزی BHA با عصاره عناب نشان داد که BHA دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و پایداری اکسیداتیو کمی بیشتر از عصاره عناب بود اما پایداری اکسیداتیو تفاوت معنی داری را ایجاد نمود. از سوی دیگر عصاره عناب سبب ایجاد عدد اسیدی، شاخص تیوباریوتیک، DPPH، اندیس پراکسیدبشتری نسبت به BHA در روغن گردید که البته مقادیر آنها بسیار نزدیک به نمونه سنتزی بود.

## ۵- منابع

- [1] Shahidi, F., Janitha, P.K., Wanasundara. (2009). Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32:1, 67-103.
- [2] Farag RS, Mahmoud EA and Basuny AM.(2007). Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. *International Journal of Food Science and Technology* 42: 107-115.
- [3] Zhao, J., Chen, Q., CAI, J., & Ouyang, Q. (2009). Automated tea quality classification by hyperspectral imaging. *Applied Optics*, 48(19), 3557-3564. *Food Control*. 54: 111-119.
- [4] Abdallah, E.M. (2017). Antibacterial Activity of Fruit Methanol Extract of *Ziziphus spina-christi* from Sudan. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 6(5): 38-44.
- [5] Hossain, A., Hamood, A., Humaid, M.T. (2014). Comparative evaluation of total phenols, flavonoids content and antioxidant potential of leaf and fruit extracts of Omani *Ziziphus jujuba* L. *Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering*. 18: 78-83.
- [6] Beg. M.A., Teotia, U.V.S., Farooq.S. (2016). In vitro antibacterial and anticancer activity of *Ziziphus Mirza*. *Journal of Medicinal Plants Studies* 2016; 4(5): 230-233.
- [7] Delfanian, M., Esmailzadeh Kenari, R., Sahari, M.A. (2015). Frying stability of sunflower oil blended with jujube (*Ziziphus mauritiana* Lam.) leaf extract. *Food Science & Nutrition* 2015; 3(6):548-556.
- [8] Caponio, F., Pasqualone, A. and Gomes, T., (2003). Changes in the fatty acid composition of vegetable oils in model doughs submitted to

رسیدن به حد بیشینه آن طی مراحل ابتدایی اکسایش گزارش شده است که بیانگر ناپایدار بودن پراکسیدها و شکست آنها به فرآورده‌های ثانویه طی مراحل بعدی اکسایش است [۱۱ و ۱۵].

## ۳-۶-۶- مقایسه عصاره عناب با آنتی اکسیدان سنتزی BHA بر شاخص پایداری اکسیداتیو روغن آفتابگردان

بررسی پایداری اکسیداتیو روغن آفتابگردان با استفاده از غلظت های مختلف عصاره عناب و آنتی اکسیدان سنتزی BHA نشان داد که پایداری اکسیداتیو روغن در نمونه حاوی BHA با غلظت ۱۰۰۰ ppm عصاره عناب تفاوت معنی داری در سطح معنی داری ۹۵ درصد نداشت ( $P>0/05$ ). کمترین پایداری اکسیداتیو در غلظت ۰ عصاره عناب (نمونه شاهد) بود و با افزایش غلظت عصاره عناب میزان این فاکتور افزایش داشت. اندازه گیری پایداری اکسیداتیو روغن برای روغنهای مختلف، امکان مقایسه درجه تخریب این روغن‌ها در طی حرارت‌دهی فراهم می‌کند [۲۰]. نقطه عطف منحنی اکسیداسیون به عنوان دوره القاء تعریف شده و طول این نقطه به عنوان پایداری اکسیداتیو روغن به روش رنسیمت در نظر گرفته می‌شود. دوره القاء به عنوان شاخص مهمی از پتانسیل ضد اکسایشی ترکیبات آنتی اکسیدانی محسوب می‌شود و هرچه دوره القاء بالاتر باشد، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر است [۲۱].

## ۴- نتیجه گیری

در این پژوهش پس از بررسی امکان عصاره گیری با حلالهای آب و متانول از میوه عناب، تولید روغن آفتابگردان با افزودن عصاره عناب بدست آمده مورد ارزیابی قرار گرفت و آزمونهای مختلفی بر روی روغن فرموله شده انجام گرفت. استفاده از عصاره عناب به منظور جلوگیری از اکسیداسیون روغن آفتابگردان به طور موفقیت آمیزی می‌تواند استفاده شود. به طور کلی متانول نسبت به آب سبب افزایش بازده استخراج، اجزای فنولی، توکوفرول، آکالوئید، ساپونین، استرول، تانن، ترپنوئید، خصوصیات ضد میکروبی بیشتر و اسیدهای چندغیر اشباعی بیشتر گشت؛ اما این عصاره دارای شاخص اکسایش پذیری کمتری

- [15] Malheiro, R., Oliveira, I., Vilas-Boas, M., Falcão, S., Bento, A. and Pereira, J.A., (2009). Effect of microwave heating with different exposure times on physical and chemical parameters of olive oil. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1), pp.92-97.
- [16] Vasiee, A., Tabatabaei, Y.F. and Mortazavi, S.A. (2016). The antibacterial activity of coriander (*coriandrum sativum*) on pathogenic microorganisms "in vitro". *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*. 20(71): 59-66.
- [17] Mostafa, A. A., Al-Askar, A. A., Almaary, K. S., Dawoud, T. M., Sholkamy, E. N., & Bakri, M. M., (2018). Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2), 361-366.
- [18] Faden, A. A. (2018). Evaluation of antibacterial activities of aqueous and methanolic extracts of areca catechu against some opportunistic oral bacteria. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 15(3), 655-659.
- [19] Tan, C.P., Man, Y.C., Jinap, S. and Yusoff, M.S.A., (2001). Effects of microwave heating on changes in chemical and thermal properties of vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(12), pp.1227-1232.
- [20] Farhoosh R, Kenari R E and Poorazrang H, (2009). Frying stability of canola oil blended with palm olein, olive, and corn oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 86(1): 71-76.
- [21] Chiavaro, E., Rodriguez-Estrada, M.T., Vittadini, E. and Pellegrini, N., (2010). Microwave heating of different vegetable oils: Relation between chemical and thermal parameters. *LWT-Food Science and Technology*, 43(7), pp.1104-1112.
- conventional or microwave heating. *International journal of food science & technology*, 38(4), pp.481-486.
- [9] Sun, C., Wu, Z., Wang, Z., Zhang, H. (2015). Effect of ethanol/water solvents on phenolic profiles and antioxidant properties of Beijing Propolis extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-10.
- [10] Ait-Ouazzou, A., Cherrat, L., Espina, L., Lorán, S., Rota, C. and Pagán, R. (2011). The antimicrobial activity of hydrophobic essential oil constituents acting alone or in combined processes of food preservation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 12(3): 320-329.
- [11] Abbas Ali, M., Bin Mesran, M., Latip, R. and Othman, N., (2016). Effect of microwave heating with different exposure times on the degradation of corn oil. *International Food Research Journal*, 23(2), pp.842-848.
- [12] Hayouni A., Abedrabba M., Bouix M., and Hamdi M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercuscoccifera* L. and *Juniperusphoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105:1126–1134.
- [13] Turkmen, N., Sari F., and Velioglu Y.S. (2006). Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chemistry*, 99:835–841.
- [14] Kallel, F., Drissa, D., Chaaria, F., Belghitha, L., Bouaziza, Raoudha, F., Ghorbela, R., EllouzChaabouni, S., (2014). Garlic (*Allium Sativum* L.) Husk waste as a potential source of phenolic compounds: Influence of extracting solvents on its antimicrobial and antioxidant properties. *Industrial Crops and Products* 62: 34–41.



## Investigation of antioxidant, antimicrobial properties and identification of chemical compounds derived from jujube (meat and kernels) and evaluation of its possibility in the formulation of sunflower oil (during storage).

Mehrnia, N.<sup>1</sup>, Vazifedoost, M.<sup>1\*</sup>, Didar, Z.<sup>1</sup>, Haji Rostamloo, B.<sup>1</sup>, Pedramnia, A.<sup>2</sup>

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

2. Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

### ABSTRACT

The use of local products in the food industry has been increasing in the last years, and jujube fruit is one of the most important garden products in South Khorasan. Using the high potential of jujube fruit due to the presence of antioxidant and antimicrobial compounds can be used as an alternative to industrial antioxidants in the field of edible oils. In the present research, the compounds in jujube fruit investigated, including pomace and kernel. First, in order to extract jujube extract with characteristics and efficiency, it is better to use two types of aqueous and methanolic solvents. Then jujube extract was compared with the industrial antioxidant BHA in three concentrations of 250, 500 and 1000 parts per million. The results show the presence of phenolic compounds, alkaloids, saponins, sterols, tannins, terpenoids and steroids. On the other hand, it can be seen that jujube extract had antimicrobial properties against *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Aspergillus niger* and *Candida albicans*. In the comparison between the antioxidant properties of jujube extract with the industrial antioxidant BHA, it was observed that jujube extract had lower antioxidant activity and had lower acid number, thibarbutyric acid index and DPPH ( $P < 0.05$ ). But as an alternative, it can help prevent oil oxidation.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2022/ 03/ 30

Accepted 2022/ 10/ 18

#### Keywords:

Antioxidant,  
Extract,  
Oil,  
Jujube.

DOI: 10.22034/FSCT.19.130.385

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.29.8

\*Corresponding Author E-Mail:  
[m.vazifedoost@iau-neyshabur.ac.ir](mailto:m.vazifedoost@iau-neyshabur.ac.ir)