استخراج ترکیبات فنولیک پوست سیب زمینی راموس با دو روش اولتراسوند و پرکولاسیون و ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره آن در روغن سویا

آزاده محققی ثمرین[1*]، هاشم پورآذرنگ[2]، امیرحسین الهامی راد[3]، زینب دزاشیبی[1]، نیما همت یار[4]

۱ - دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرقدس، گروه علوم و صنایع غذایی، شهرقدس، ایران
2- دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه عاوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران
3- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، گروه عاوم و صنایع غذایی، سبزوار، ایران
4- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت الله آملی، گروه علوم و صنایع غذایی، آمل، ایران
(تاریخ دریافت: 86/6/25 **تاریخ پذیرش**:87/7/14)

چکیده

در این مطالعه اثر عصاره پوست سیب زمینی گونه را موس به عنوان یک منبع طبیعی آنتی اکسیدانی در روغن سویا با دو روش آزمون آون (63°C) و رنسیمت (90°C، 120، 150) مورد بررسی قرار گرفت و ترکیبات فنولیک پوست سیب زمینی با دو روش مختلف استخراج با حلال یعنی روش پرکولاسیون (با حلال متانول) و روش اولتراسوند (با 5حلال متانول، اتانول، هگزان ، استن و آب) استخراج شدند. بیشترین راندمان عصاره گیری مربوط به حلال های آب (11/2%) و متانول (7/9%) با روش اولتراسوند بود و نتایج راندمان عصاره گیری با حلال های مختلف به صورت آب > متانول > اتانول > استن > هگزان بودند . میزان کل ترکیبات فنولیک عصاره ها به روش فولین سیوکالتو و بر اساس اسید گالیک تعیین شد و نتایج نشان داد که بیشترین مقدار ترکیبات فنولیک مربوط به حلال متانول(589/2 میکرو گرم به ازاء گرم وزن خشک گیاه) و به ترتیب به صورت متانول > آب > اتانول > استن > هگزان با روش اولتراسوند بود. روش اولتراسوند میزان کل ترکیبات فنولیک استخراج شده را نسبت به روش پرکولاسیون بهبود بخشید و مدت زمان عصاره گیری را کاهش داد.

عدد پراکسید و عدد تیوباربیتوریک نمونه ها به ترتیب برای ارزیابی محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون، اندازه گیری شدند. پس از 16 روز نگهداری در 63°C روغن های سویای حاوی 200، 800، 1600 و 2400 ppm از عصاره متانولی پوست سیب زمینی را موس اعداد پراکسید کمتری را (به ترتیب 42/67 meq/kg ، 37/35، 24/65، 19/09، PV) نسبت به نمونه روغن شاهد (PV,64/08 meq/kg) نشان دادند که دلالت بر فعالیت آنتی اکسیدانی دارد. روغن های حاوی 200 ppm از آنتی اکسیدان های سنتزی TBHQ, BHT, BHAبه ترتیب دارای اعداد پراکسید meq/kg 33/20 ، 28/88 و 9/96 بودند.

همچنین نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها با روش رنسیمت نشان داد که طول دوره القا در دمای 120°C در نمونه های حاوی 200، 800، 1600 و 2400 ppm از عصاره پوست سیب زمینی راموس به ترتیب 3/51 ، 3/59، 3/98 و 4/28 ساعت نسبت به نمونه شاهد (3/20 ساعت) می باشد و در غلظت های 1600 و 2400 ppm دارای فعالیت آنتی اکسیدانی مشابه با آنتی اکسیدان های سنتزی BHAو BHT است.

کلید واژگان : پوست سیب زمینی، ترکیبات فنولیک، فعالیت آنتی اکسیدانی، روغن سویا، اولتراسوند

* مسئول مکاتبات: azadeh_mohagheghi7882@yahoo.co.in

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

1- مقدمه

اکسیداسیون چربی ها از مهمترین دلایل فساد موادغذایی به حساب می‌آید که بر روی رنگ، طعم، بافت و ارزش تغذیه-ای تأثیر می‌گذارد [1 ،2]. در غذاها این واکنش ها می‌تواند منجر به فساد و از دست رفتن ارزش تغذیه‌ای (از طریق نابودی ویتامین‌های A و D و E و اسیدهای چرب ضروری) و ایجاد ترکیبات سمی و محصولات رنگی گردد. واکنش های اکسیداسیون متضمن مولکول های واکنش دهنده قوی هستند که رادیکال آزاد نامیده می‌شود. رادیکال های آزاد اجزایی هستند که به دلیل وضعیت خاص الکترونی در مدار خارجی خود آمادگی زیادی برای جدا کردن یک الکترون از ترکیبات دیگر- همراه با ناپایدار کردن آن ها- دارند. این وضع دلیل اصلی اکسیداسیون و فساد روغن ها می باشد. در بدن ما نیز چنین حالتی ممکن است یک دلیل ابتدایی برای ایجاد سرطان باشد. از این‌رو با توجه به اهمیت چربی ها درسیستم های زیستی و تغذیه‌ای و همچنین واکنش های نامطلوب اکسیداسیون که خواه ناخواه رخ خواهند داد، افزودن برخی آنتی‌اکسیدان های مناسب در روغن ها و چربی ها، فرایند اکسیداسیون را کند کرده و آن را به تعویق می‌اندازد [3]. آنتی‌اکسیدان ها ممکن است به صورت یک عامل درونی در داخل غذا وجود داشته باشند و یا آنکه برای جلوگیری از افت کیفیت ترکیبات لیپیدی غذاها به آن ها اضافه شوند. افزودن آنتی‌اکسیدان های سنتزی مانند بوتیلات هیدروکسی آنیزول (BHA)،بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) و ترشیری بوتیل هیدروکینون (TBHQ) می‌تواند اکسیداسیون چربی را در موادغذایی کنترل کند [4] . اما استفاده از این آنتی‌اکسیدان های سنتزی به دلیل خطراتی که در سلامتی دارند و به دلیل سمیت احتمالی آن ها محدود شده است [5]. ترکیبات فنولیک که به طور معمول در منابع خوراکی و غیرخوراکی یافت می‌شوند، دارای اثرات بیولوژیکی چندگانه‌ای مانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند. عصاره‌های میوه‌ها، علف ها، سبزیجات و غلات و سایر مواد گیاهی که غنی از ترکیبات فنولیک هستند، در صنعت موادغذایی بسیار قابل توجه شده‌اند به این دلیل که قادرند تغییرات اکسیداتیو چربی ها را آهسته کرده و بنابراین کیفیت و ارزش تغذیه‌ای موادغذایی را بهبود می‌بخشند [6].

بنابراین اهمیت جایگزین کردن مواد طبیعی بدست آمده از دانه‌های روغنی، ادویه‌جات و سایر موادگیاهی به جای آنتی-اکسیدان های سنتزی بسیار افزایش یافته است [7]. تحقیقات و مطالعه های انجام شده نشان می دهند عصاره‌های بدست آمده از منابع طبیعی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی می باشند [8]. پوست سیب‌زمینی حاوی اسیدهای فنولیک می‌باشد که بیشترین بخش شامل اسیدکلروژنیک است (CGA). سایر فنولیک ها نیز شامل گالیگ اسید(GAC) و کافئیک اسید(CFA) و پروتوکاتکوئیک اسید(PCA) در سیب‌زمینی در مقادیر کمتری وجود دارند [9]. شناسایی و تعیین میزان اسیدکلروژنیک و سایر اسیدهای فنولیک در بیشتر گونه‌های سیب‌زمینی با HPLC گزارش شده است [10 ، 11 ، 12 ، 13]. به همین دلیل امکان استفاده از پوست سیب‌زمینی به عنوان منبعی مفید در صنعت غذا وجود دارد [14].

بنابراین با توجه به لزوم استفاده از آنتی‌اکسیدان ها در سامانه های غذایی و بیولوژیکی و اثرات مضرآنتی‌اکسیدان های سنتزی، در این مطالعه استفاده از یک ماده گیاهی اقتصادی با کشت فراوان در تمام فصول و نقاط مانند پوست سیب‌زمینی که در واقع جزء ضایعات کارخانجات چیپس‌سازی و سیب-زمینی محسوب می‌شود، به عنوان منبع طبیعی آنتی‌اکسیدانی در روغن سویا مورد بررسی قرار گرفت. اهداف ما در این مطالعه عبارتند از:

(1) آماده کردن عصاره پوست سیب‌زمینی با استفاده از حلال های آبی و آلی مختلف

(2) مطالعه استخراج فنولیک ها از پوست سیب‌زمینی گونه راموس با استفاده از دو روش اولتراسوند و پرکولاسیون و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن

(3) بررسی این فعالیت در غلظت های مختلف عصاره

(4) مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن با آنتی‌اکسیدان های تجاری موجود (TBHQ , BHT, BHA)

2- مواد و روش ها

2-1- مواد اولیه

روغن سویای خالص تصفیه و بوگیری شده عاری از آنتی-اکسیدان از کارخانه روغن نباتی قو تهران تهیه گردید و غده-های سیب‌زمینی راموس با رنگ پوست قهوه‌ای از منطقهٔ فریدن

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

اصفهان جمع‌آوری شدند. غده‌ها پس از برداشت چندین بار شسته شدند. سپس به صورتی که فقط پوست آن ها برداشته شود پوست‌گیری و پوست حاصل خشک گردید. پوست های خشک شده بوسیله آسیاب برقی پودر و از الکی با مش 40 عبور داده شدند. تمامی مواد شیمیایی و حلال های مورد استفاده از نوع آزمایشگاهی بودند و از شرکت مرک آلمان و آنتی‌اکسیدان های تجاری BHA ، BHT و TBHQ نیز از شرکت دانیسکو دانمارک تهیه شدند.

2-2- استخراج با روش اولتراسوند

به منظور بررسی اثر حلال، عملیات استخراج با حلال هایی با قطبیت متفاوت انجام شد و پوست سیب‌زمینی پودر شده توسط اتانول، متانول، هگزان، استن و آب به روش اولتراسوند عصاره‌گیری شد. دستگاه اولتراسوند مدل Dr. Hielscher ساخت کشور آلمان با فرکانس 20 کیلوهرتز برای استخراج با اولتراسوند استفاده شد. در این روش مقدار 1گرم پوست سیب‌زمینی پودرشده توسط 20 میلی لیتر حلال و به مدت 15 دقیقه در 25°C به کمک اولتراسوند عصاره‌گیری شد. برای حذف تفاله و مواد غیرمحلول عصاره ها با کاغذ واتمن شماره یک صاف شدند. بعد از این مرحله، عصاره‌ها به مدت 10 دقیقه و در دمای 5°C در 3000×g سانتریفوژ شدند [15]. سپس عصاره‌های حاصل از پنج حلال مختلف در دمای کمتر از 40°C تحت خلاء تا مرز خشکی تبخیر و وزن گردید تا راندمان و محتوی کل ترکیبات فنولیک آن ها تعیین گردد و عملیات عصاره‌گیری با سه تکرار انجام شد.

2-3- استخراج با روش پرکولاسیون

در این روش 10گرم پوست سیب‌زمینی پودرشده توسط 200 میلی لیتر متانول طی یک شبانه‌روز با استفاده از یک دستگاه همزن مغناطیسی در دمای اتاق عصاره‌گیری شد. عصاره حاصل با کاغذ واتمن شماره یک صاف شد و رسوب حاصل تحت همان شرایط دوباره عصاره‌گیری شد. پس از مخلوط کردن عصاره‌های صاف شده، حلال با استفاده از دستگاه تبخیرگردان تحت خلاء در دمای کمتر از 40°C حذف شد و عصاره تا حدامکان تغلیظ گردید. بعد از این مرحله به منظور جداسازی مواد غیرمحلول باقیمانده، عصاره به مدت 10 دقیقه و در دمای 5°C در g ×3000 سانتریفوژ شد [15]. سپس مقداری از عصاره بدست آمده از پوست راموس با حلال متانول در دمای کمتر از 40°C تحت خلاء تا مرز خشکی تبخیر و وزن گردید تا راندمان و محتوی کل ترکیبات فنلیک آن تعیین گردد و عملیات عصاره‌گیری با سه تکرار انجام شد.

2-4- اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلیک عصاره‌ها

غلظت کل ترکیبات فنلیک در عصاره‌ها بر اساس روش فولین سیوکالتو [16] تعیین شد و نتایج بر اساس استاندارد اسیدگالیک بیان شد. مقدار 0/005 گرم از هریک از عصاره‌های خشک شده پوست سیب‌زمینی توزین و در 10 میلی‌لیتر مخلوط متانول و آب (4:6 حجمی/ حجمی) حل شد. در یک لولهٔ آزمایش بوسیله پیپت 0/2 میلی‌لیتر از محلول فوق وارد شد و به آن 1 میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو که به نسبت 1 به 10 رقیق شده بود و 0/8 میلی‌لیتر محلول کربنات‌سدیم 7/5 درصد اضافه شد. سپس لولهٔ آزمایش با چوب‌پنبه درگذاری شد. مخلوط حاصل به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق باقی ماند و پس از 30 دقیقه نمونه درون سل طیف نورسنج ریخته شد و جذب آن در طول موج 765 نانومتر خوانده شد. سپس با تطبیق دادن عدد جذب بدست آمده با منحنی استاندارد اسیدگالیک غلظت کل ترکیبات فنلیک برمبنای اسیدگالیک بیان شد. اندازه گیری میزان ترکیبات فنولیک در عصاره ها با سه تکرار انجام شد و نتایج حاصل به صورت میانگین بیان شدند.

به این ترتیب جهت تعیین مناسبترین حلال و روش استخراج، داده‌های حاصل از پنج نوع حلال برای گونه راموس و دو روش استخراج در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد تجزیه واریانس قرارگرفتند و بر اساس مقایسه میانگین‌ها حلال متانول با داشتن راندمان بالا و همچنین بیشترین ترکیبات فنولیک به عنوان مناسبترین حلال جهت بررسی فعالیت آنتی-اکسیدانی انتخاب شد. همچنین عصاره متانولی بدست آمده از روش پرکولاسیون جهت تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ادامه آزمایش انتخاب گردید.

2-5- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی

عصاره تغلیظ شده پوست سیب زمینی راموس در چهار سطح مختلف 200، 800 ، 1600 و 2400ppm به روغن اضافه شد. عمل اختلاط بوسیله همزن مغناطیسی مجهز به سیستم حرارتی در دمای 60°C به مدت 15 دقیقه انجام شد. آنتی‌اکسیدان های سنتزی BHA ، BHT و TBHQ در سطح 200 ppm در شرایط کاملاً مشابه به روغن اضافه شدند. همچنین مقداری از

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

روغن سویای خالص اولیه بدون افزودن هرگونه آنتی‌اکسیدان توسط همزن مغناطیسی در همان شرایط هم زده شد تا شرایط برای تمامی تیمارها یکسان باشد.

2-5-1- روش آزمون آون

نمونه‌ها به آون Airflow در دمای 63°C به مدت 16 روز انتقال داده شدند. اکسیداسیون در فواصل زمانی معین با اندازه گیری اندیس پراکسید و اندیس تیوباربیتوریک اسید به ترتیب به روش استاندارد AOCS Cd 8-53 و AOCS Cd 19-90 تعیین گردید [17]. به این ترتیب نمونه ها در فواصل یک روز در میان در هشت

نوبت با سه تکرار مورد آزمون اندیس پراکسید و در فواصل چهار روز و در چهار نوبت با سه تکرار مورد آزمون اندیس تیوباربیتوریک اسید قرارگرفتند. برای مقایسه قدرت آنتی اکسیدانی از شاخص ممانعت از اکسایش چربی ها یا IO مطابق فرمول استفاده شد [18].

$$IO=100-(\text{عدد پراکسید شاهد}/\text{عدد پراکسید نمونه})\times 100$$

2-5-2- روش رنسیمت

برای تعیین کارایی آنتی‌اکسیدانی عصاره از یک دستگاه رنسیمت مدل 743 استفاده شد. به این منظور 4 گرم نمونه روغن سویا تصفیه و بوگیری شده عاری از آنتی‌اکسیدان در دماهای 90، 120 و 150 درجه سانتی‌گراد مورد آزمایش قرار گرفت. عصاره در غلظت های 200، 800، 1600 و 2400ppm به کار رفت. سرعت جریان هوا 20 لیتر بر ساعت تنظیم شد. برای مقایسه از آنتی‌اکسیدان های سنتزی BHA ، BAT و TBHQ در سطح 200 ppm استفاده شد. داده‌های بدست آمده بر مبنای طول دوره القاء و فاکتور اثربخشی F مورد مقایسه قرار گرفت (فاکتور اثربخشی : طول دوره القا در حضور آنتی اکسیدان / طول دوره القا شاهد).

2-6- تجزیه آماری

برای بررسی اثر حلال و روش استخراج بر راندمان عصاره گیری و میزان ترکیبات فنولیک، آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. در بررسی توانایی آنتی اکسیدانی عصاره پوست راموس در روغن سویا و تعیین اثر غلظت و دما بر آن در روش آزمون آون و رنسیمت ، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. میانگین ها به روش دانکن و در سطح معنی دار 0/05 مقایسه شدند. نرم افزار مورد استفاده برای تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها SPSS بود. نمودارها با نرم افزار اکسل ترسیم شدند.

3- نتایج و بحث

3-1- راندمان عصاره گیری

جدول 1 بازده استخراج عصاره های بدست آمده از پوست سیب زمینی را پس از اثر اولتراسوند بر پوست های پودر شده با حلال های متانول ، اتانول ، هگزان ، استن و آب و نیز پس از پرکوله کردن پوست های پودر شده سیب زمینی با حلال متانول نشان می دهد. از میان حلال های مورد استفاده برای پوست سیب زمینی حلال آب دارای بیشترین راندمان عصاره-گیری بود و حلال های متانول ، اتانول ، استن و هگزان به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. به نظر می‌رسد که بازده عصاره‌گیری با افزایش قطبیت حلال افزایش یافته است. در بین حلال های مورد استفاده آب بالاترین شاخص قطبیت را دارد که این امر ممکن است در بالابودن راندمان عصاره‌گیری با آب مؤثر باشد چرا که بخش عمده‌ای از ترکیبات پوست سیب-زمینی را مواد قطبی تشکیل می‌دهند. سیب‌زمینی دارای آنتی-اکسیدان های محلول در آب است که به عنوان پذیرندهٔ رادیکال آزاد عمل می‌کنند وشامل گلوتاتیون ، اسیداسکوربیک، کوئرستین و اسیدکلروژنیک هستند [19 ، 20]. پاتاتین یک گلیکوپروتئین محلول در آب است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد و بیش از 40% کل پروتئین‌های محلول در آب سیب‌زمینی را تشکیل می‌دهد. گزارش شده که بافت کورتکس یا پوست دارای پروتئین‌های محلول در آب بیشتری نسبت به مغز است و این پروتئین‌ها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند [21]. کاتچین و اپی‌کاتچین نیز که در پوست سیب‌زمینی وجود دارند گزارش شده است که حلالیت بالایی در آب دارند. شرایط بهینه استخراج اسیدکلروژنیک از سیب‌زمینی با استفاده از استن، اتانول و متانول که توسط مندل فردمن در سال 1997 بررسی شد نیز ، ترتیب تأثیر را به صورت متانول > اتانول > استن نشان داد [22].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

جدول 1 درصد راندمان عصاره های بدست آمده از پوست سیب زمینی با حلال های مختلف

روش استخراج – حلال	راندمان عصاره پوست سیب زمینی (%)a
پرکولاسیون- متانول	8/03± 0/03b
اولتراسوند- آب	11/20± 0/01c
اولتراسوند- متانول	7/90 ± 0/04 b
اولتراسوند- اتانول	5/65 ± 0/08d
اولتراسوند- استن	2/88 ± 0/04e
اولتراسوند- هگزان	1/00 ± 0/01f

aمیانگین سه تکرار با انحراف معیار

حروف مختلف f , ... ,b نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح 5% می باشد.

همانطور که در جدول 1 مشاهده می‌شود، راندمان عصاره‌گیری با دو روش استخراج اولتراسوند و پرکولاسیون تفاوت قابل ملاحظه‌ای را نشان ندادند. اولتراسوند احتمالاً آسانترین روش برای تخریب سلول ها و تولید عصاره می‌باشد. روش اولتراسوند بسیار کارآمد، ایمن و قابل اعتماد است. به منظور استخراج مواد، غشاء سلول‌ها باید شکسته شود. حفره سازی اولتراسوند، نیروهای برشی را ایجاد می‌کند که دیواره‌های سلول را به طور مکانیکی می‌شکند و انتقال مواد را بهبود می-بخشد. از این اثر در استخراج مواد از سلول ها استفاده می‌شود. به همین دلیل روش اولتراسوند سریع‌تر و کامل‌تر از روش پرکولاسیون و سایر روش های غرقابی است. اولتراسوند همچنین سبب کاهش اندازه ذرات می‌شود که سطح تماس را افزایش داده و در نتیجه انتشار حلال در بافت افزایش می‌یابد. بنابراین راندمان عصاره‌گیری در طی 24 ساعت با روش پرکولاسیون تقریباً برابر با 15 دقیقه با روش اولتراسوند است. در هرحال، روش اولتراسوند به دلیل کاستن قابل توجه زمان عصاره‌گیری و افزایش کارایی نسبت به روش پرکولاسیون ارجح می‌باشد. نتایج بدست آمده از این مقایسه با گزارش جکز و همکاران در سال 2005 مطابقت دارد. وی راندمان عصاره‌گیری از برگ بلوط را توسط حلال های متانول و هگزان با دو روش اولتراسوند و پرکولاسیون مقایسه کرد و دریافت که تفاوت قابل ملاحظه‌ای در راندمان استخراج توسط حلال متانول وجود ندارد [23]. گلی و همکاران نیز در سال 2005 فعالیت آنتی اکسیدانی پوست پسته را بررسی کردند و نتایج مشابهی را در این زمینه گزارش کردند[24]. به نظر می‌رسد که تغییر شرایط استخراج با اولتراسوند (زمان، دما، حلال و ...) تأثیر زیادی در راندمان عصاره‌گیری دارد.

3-2- میزان ترکیبات فنولیک

همانطور که در جدول 2 مشاهده می شود نتایج حاصل از آزمایش های اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک با پنج حلال مختلف، تأثیر معنی‌دار نوع حلال و نوع روش استخراج را بر میزان ترکیبات فنولیک استخراج شده نشان داد (P< 0/05). عصاره متانولی دارای بیشترین مقدار ترکیبات فنولیک بود و میزان ترکیبات فنولیک اندازه‌گیری شده در عصاره‌ها به ترتیب مقابل می‌باشد: متانول > آب > اتانول > استن > هگزان

براین اساس می‌توان نتیجه‌گیری کرد که میزان ترکیبات فنولیک عصاره‌های مذکور با افزایش قطبیت حلال افزایش می‌یابد. حلال آب علیرغم راندمان بالا ترکیبات فنولیک کمتری را نسبت به حلال متانول استخراج کرد. در واقع حلال آب مواد جامد قابل استخراج بیشتری را در خود حل کرده است اما همه این ترکیبات لزوماً ترکیبات فنولیک نیستند. در سال 1994 ردریگز و همکاران استخراج فنولیک‌ها را از پوست سیب‌زمینی با استفاده از متانول و آب بررسی کردند و دریافتند که حلال متانول در 4°C عصاره‌گیر کارآمدتری از آب در 25°C است [15]. فنولیک‌ها به طور معمول با استفاده از حلال های آبی یا حلال های آلی ایزوله و جداسازی می‌شوند. پوست سیب‌زمینی حاوی ترکیبات فنولیک بسیار زیادی است که برخی به شکل آزاد و برخی دیگر به صورت ترکیب وجود دارند. مهمترین و اصلی‌ترین فنولیک‌ها در عصاره پوست سیب‌زمینی اسیدکلروژنیک (GCA)، اسیدگالیک (GAC)، اسیدپروتوکاتکوئیک (PCA) و اسیدکافئیک (CFA) گزارش شده‌اند. مطالعه های گوناگون انجام شده در این زمینه همگی اسیدهای فنولیک را به این صورت گزارش کرده‌اند [9 - 13].

همچنین مقایسه میانگین میزان ترکیبات فنولیک استخراج شده با دو روش اولتراسوند و پرکولاسیون نشان داد که روش استخراج اولتراسوند به طور معنی‌داری سبب افزایش میزان

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

ترکیبات فنولیک نسبت به روش پرکولاسیون می‌شود (P<0/05). درواقع همان طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود روش اولتراسوند اگرچه که از نظر راندمان عصاره‌گیری با روش پرکولاسیون برابری کرده اما توانسته است ترکیبات فنولیک بیشتری را استخراج کند. در سال 2004 اس آلبو و همکاران گزارش کردند که روش اولتراسوند سبب افزایش میزان کارنوسیک اسید استخراج شده از گیاه رزماری با همه حلال های مورد استفاده می‌شود و مدت زمان عصاره‌گیری را به شدت کاهش می‌دهد[25]. افزایش مقدار ترکیبات فنولیک استخراج شده توسط اولتراسوند وکاهش زمان عصاره گیری، توسط گلی و همکاران در مطالعه بر روی خواص آنتی اکسیدانی پوست پسته در سال 2005 نیز گزارش شده است [24].

جدول 2 میزان ترکیبات فنولیک استخراج شده از پوست سیب زمینی با استفاده از روش ها و حلا ل های مختلف a

روش استخراج – حلال	میزان ترکیبات فنولیک (میگروگرم / گرم ماده خشک) bاسید گالیک
پرکولاسیون- متانول	522/1 ± 2/14c
اولتراسوند- آب	312/2 ± 2/10e
اولتراسوند- متانول	593 /3 ± 4/2d
اولتراسوند- اتانول	280/32 ± 5/21f
اولتراسوند- استن	155/6 ± 4/20g
اولتراسوند- هگزان	0 /00 ± 0/00h

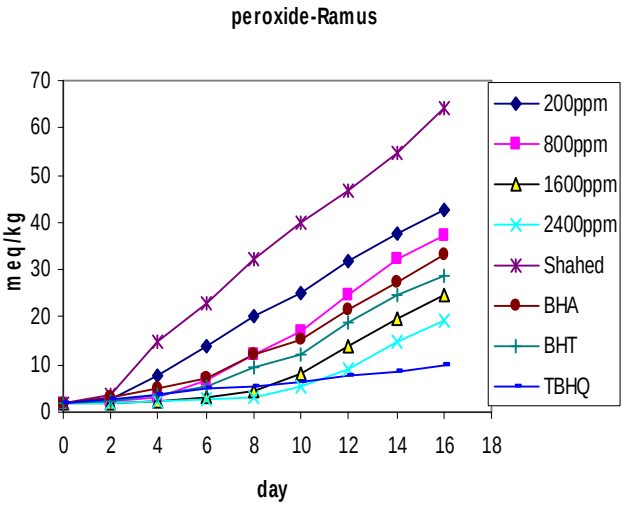
a میانگین سه تکرار ± انحراف معیار
b استاندارد اسید گالیک (GAC)
حروف مختلف h , ... ,c نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح 5% می باشد.

3-3- اثر افزودن عصاره پوست سیب زمینی بر پایداری روغن سویا

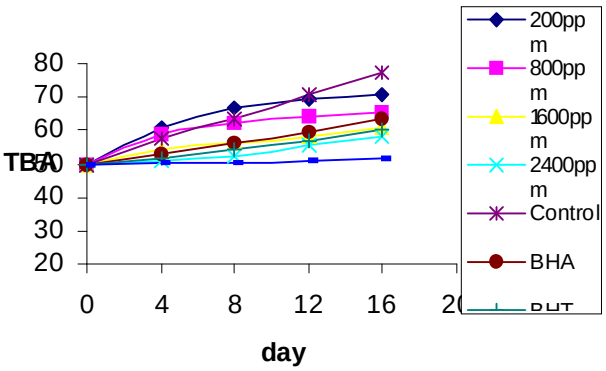
عصاره پوست سیب زمینی در سطوح 200، 800، 1600 و 2400 ppm استفاده شد و آنتی اکسیدان های سنتتزی BHA ، BHT ، TBHQ در غلظت 200 ppm به روغن اضافه شدند به این دلیل که ترکیبات اخیر ترکیباتی خالص هستند اما عصاره مخلوطی از ترکیبات مختلف استخراج شده به همراه ترکیبات آنتی اکسیدانی می باشد. افزودن آنتی اکسیدان های طبیعی و سنتزی به روغن سبب بروز تغییراتی در اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در طی نگهداری آن به مدت 16 روز در 63°C گردید (شکل 1 و شکل 2). عدد پراکسید، ترکیبات اولیه و عدد تیوباربیتوریک، ترکیبات ثانویه اکسیداسیون بویژه مالون آلدئید را که سبب بروز تغییراتی در طعم روغن های اکسیده می شود اندازه گیری می کنند [26] مقایسه میانگین نتایج حاصل از اندازه‌گیری اندیس‌های پراکسید (شکل 1) و تیوباربیتوریک اسید (شکل 2) بین چهار غلظت عصاره پوست سیب زمینی (200، 800 ، 1600 و ppm 2400) ، BHA ، BHT ، TBHQ و نمونه شاهد نشان‌دهنده وجود اثرات آنتی‌اکسیدانی در همه غلظت های مورد استفاده بود. همانطوری که در جدول 3 مشاهده می‌شود، اثر عصاره پوست سیب‌زمینی بر اکسیداسیون روغن سویا پس از 16 روز نگهداری در 63°C در غلظت 800 ppm معادل BHA و در غلظت 1600 ppm معادل BHT بود و همواره TBHQ فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به همه غلظت های عصاره سیب زمینی داشت. این نتیجه با گزارش اینچو و هتاراچی در سال 1993 مطابقت دارد. این محققان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست سیب‌زمینی را در غلظت 500ppm با آنتی اکسیدان های سنتزی BHT - BHA و TBHQ در غلظت مشابه مقایسه کردند و دریافتند که عصاره پوست سیب‌زمینی مساوی با BHT و BHA عمل می‌کند [27]. میراحمدی و همکاران در سال 1384 فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره آبی خالص سازی شده برگ سبز چای را در غلظت های 200 و 500ppm بیشتر از آنتی اکسیدانهای تجاری BHA و BHT در غلظت های 100 و 200 ppm گزارش کردند[28]. بنابراین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره آبی خالص سازی شده برگ سبز چای بیشتر از عصاره متانولی پوست سیب زمینی می باشد. البته در پژوهش حاضر هیچ گونه عملیات تخلیص بر روی عصاره انجام نشده و فعالیت آنتی اکسیدانی کل عصاره بررسی شد. همچنین با افزایش غلظت عصاره، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش و هر دو اندیس

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

پراکسید وتیوباربیتوریک اسید کاهش یافتند. در این بررسی اختلاف بین غلظت های 200 و 800 ppm عصاره و نیز بین غلظت های 1600 و 2400 ppm عصاره معنی دار نبود (P>0/05) و لیکن اختلاف معنی‌دار بسیار مهمی میان فعالیت آنتی-اکسیدانی عصاره‌ها در غلظت های 800 و 1600 ppm مشاهده شد (P<0/05). ضیا- رحمان و همکاران نیز در سال 2004، عدم وجود رابطه خطی را میان غلظت و فعالیت آنتی-اکسیدانی عصاره پوست سیب‌زمینی گزارش کردند [3].



شکل 1 اثر عصاره پوست سیب زمینی بر اکسیداسیون روغن سویا با تعیین تغییرات پراکسید در 63°C



شکل 2 تغییرات عدد تیوباربیتوریک روغن های حاوی عصاره پوست سیب زمینی در طی نگهداری در 63°C

جدول 3 فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پوست سیب زمینی راموس, BAH , BHT و TBHQ در روغن سویا پس از 16 روز نگهداری در 63°C

نوع تیمار	فعالیت آنتی اکسیدانی(%)
200 ppm TBHQ	84/45
عصاره پوست راموس 2400 ppm	70/20
عصاره پوست راموس 1600 ppm	61/52
200 ppm BHT	55/18
200 ppm BHA	48/12
عصاره پوست راموس 800 ppm	41/71
عصاره پوست راموس 200 ppm	33/40
شاهد	00/00

3-4- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی با آزمون رنسیمت

با توجه به راندمان عصاره‌گیری و میزان ترکیبات فنولیک بالای استخراج شده توسط عصاره متانولی ، این عصاره برای ارزیابی مقاومت حرارتی با آزمون رنسیمت انتخاب شد. به این منظور عصاره متانولی پوست سیب زمینی راموس در چهار سطح غلظتی (200 ، 800 ، 1600 و 2400 ppm) و در سه دما (90، 120 و150°C) در روغن سویا مورد بررسی آزمون رنسیمت قرار گرفت. در آزمون رنسیمت عصاره پوست سیب زمینی از اکسیداسیون روغن سویا ممانعت نمود و طول دوره القا پراکسیداسیون روغن را افزایش داد. بیشتر بودن طول دوره القا نشان دهنده بالاتر بودن فعالیت آنتی اکسیدانی می باشد. نتایج حاصل از مقایسه طول دوره القاء در جدول 4 آورده شده است.

مطابق جدول 4 در بررسی نمونه‌های روغن سویای حاوی عصاره پوست سیب‌زمینی در سه دمای 90 ، 120 و 150°C بیشترین طول دوره القا به ترتیب مربوط به تیمارهای TBHQ > پوست راموس ppm2400 > پوست راموس ppm 1600 > BHT > BHA > پوست راموس ppm 800 > پوست راموس ppm 200 > شاهد بود و با افزایش دما، طول دوره القاء نمونه‌ها کاهش یافت و اختلاف میان سطوح مختلف غلظت عصاره معنی‌دار و بیشترین اختلاف مربوط به غلظت های 800 و 1600 ppm بود. (P< 0/05) عصاره متانولی در غلظت 2400 ppm طول دوره القا را 1/4 برابر نسبت به نمونه شاهد افزایش بخشید

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

جدول 4 اثر افزودن عصاره متانولی پوست راموس TBHQ , BHT , BHA بر دوره القاء (ساعت) روغن سویا به روش رنسیمت

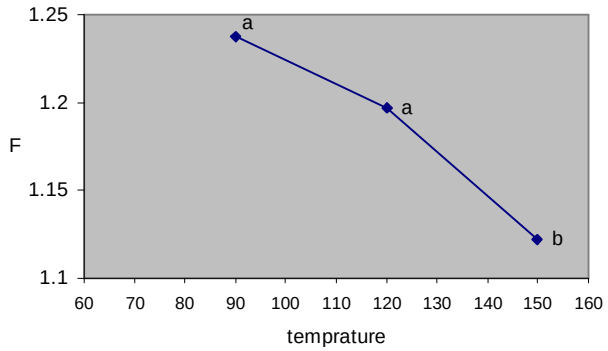
دما / تیمار	(ppm)200	(ppm)800	(ppm)1600	(ppm)2400	شاهد	BHA	BHT	TBHQ
90	28/48±0/31	28/71±0/28	33/64± 0/18	36/34±0/22	25/70± 0/02	28/89± 0/05	29/70± 0/12	60/20± 0/11
120	3/51±0/01	3/59± 0/04	3/98± 0/07	4/28±0/08	3/20±0/01	3/65 ±0/00	3/71±0/07	6/86±0/04
150	0/60±0/00	0/61±0/00	0/62± 0/00	0/64±0/00	0/55± 0/00	0/62 ±0/00	0/63±0/00	1/01±0/02

میزان فاکتور اثر بخشی F

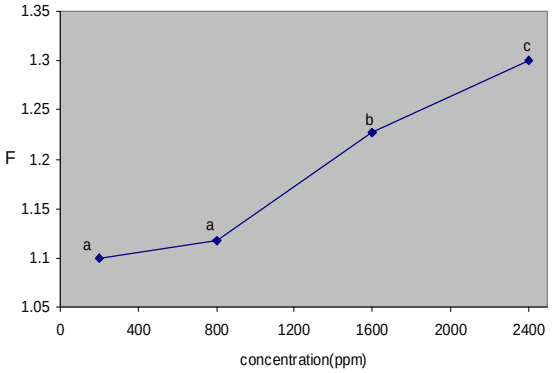
دما / غلظت (ppm)	150	120	90
200	1/09	1/10	1/11
800	1/11	1/12	1/12
1600	1/13	1/24	1/31

فاکتور اثربخشی : طول دوره القا در حضور آنتی اکسیدان / طول دوره القا شاهد

مقادیر فاکتور اثربخشی F برای غلظت های مختلف عصاره و در دماهای مختلف با استفاده از مدت زمان های القا بدست آمده به روش رنسیمت محاسبه شد. نتایج نشان داد دما بر فاکتور اثربخشی F تأثیرگذار است به طوری که میزان F با افزایش دما کاهش می‌یابد (شکل 3). همچنین اختلاف معنی-داری بین دماهای 90 و 120 درجه سانتی‌گراد وجود نداشت اما یک اختلاف معنی‌دار بسیار مهمی بین دماهای 120 و 150 درجه سانتی‌گراد مشاهده شد که نشان دهندهٔ آن است که این عصاره پس از دمای 120°C از مقاومت حرارتی مناسبی برخوردار نیست. علاوه بر این با افزایش غلظت فاکتور F نیز افزایش پیدا کرد (شکل 4). در گونه راموس اختلاف بین غلظت های 200 و ppm 800 معنی‌دار نبود اما بین غلظت های 800 و ppm 1600 و همچنین بین 1600 و ppm 2400 معنی‌دار بود و شاخص F افزایش یافت که به علت افزایش پلی‌فنل‌ها می‌باشد. مارونیوا و یانیش در سال 1997 عدم وجود رابطه خطی بین غلظت و اثربخشی ترکیبات آنتی-اکسیدانی را گزارش کردند[29].



شکل3 اثر دما بر فاکتور اثربخشی F عصاره متانولی پوست راموس در ممانعت از اکسایش روغن سویا در روش رنسیمت



شکل4 اثر غلظت بر فاکتور اثربخشی F عصاره متانولی پوست راموس در ممانعت از اکسایش روغن سویا در روش رنسیمت

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

5- نتیجه گیری

ترکیبات فنولیک به طور گسترده ای در منابع طبیعی یافت می شوند و در این مطالعه پوست سیب زمینی راموس به عنوان یک منبع طبیعی ترکیبات فنولیک مورد ارزیابی قرار گرفت. بر این اساس انتخاب نوع حلال و روش استخراج تاثیر قابل ملاحظه ای بر راندمان عصاره گیری و میزان ترکیبات فنولیک استخراج شده دارد. از میان حلال های مورد استفاده حلال متانول با داشتن راندمان بالا و نیز بیشترین میزان ترکیبات فنولیک به عنوان مناسبترین حلال در نظرگرفته شد. در بین روش های استخراج روش اولتراسوند به دلیل کاستن قابل ملاحظه زمان عصاره گیری و همچنین استخراج ترکیبات فنولیک بالاتر بهترین روش استخراج تشخیص داده شد. این نتایج نشان می دهد که می توان از عصاره پوست سیب زمینی راموس به عنوان یک منبع طبیعی آنتی اکسیدانی استفاده نمود. مقاومت حرارتی عصاره حاصل از پوست سیب زمینی بالا نیست اما فعالیت بسیار مناسبی در دماهای پایین تر دارد. پیشنهاد می شود فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولیک پوست سایر گونه ها مورد ارزیابی قرار بگیرد و شرایط استخراج با اولتراسوند از نظر متغیرهایی مانند دما، زمان و نسبت ماده اولیه به حلال بهینه سازی گردد.

6- سپاسگزاری

از همکاری های جناب آقای مهندس محمد سلامی نیا در زمان انجام تحقیق تشکر می گردد. همچنین از جناب آقای مهندس حسن طاهری مسوول محترم بخش سیب زمینی دفتر سبزی و صیفی وزارت کشاورزی به جهت همکاری های ایشان سپاسگزاری می نماییم.

7- منابع

[1] Chan. K. M, Decker. E. A, Means. W. J., 1993. Extraction and activity of carnosine. a naturally occurring antioxidant in beef muscle.J Food Sci, 58: 1-4.

[2] Yin. M. C, Cheng. W. S., 1997. Oxymyoglobin and lipid oxidation in phosphatidylcholine liposomes retarded by α-tocopherol and β- caroten. J Food Sci, 62: 1095-1097.

[3] Zia-ur. R, Habib. F, Shah. W. H., 2004. Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. Food Chem, 85 (2): 215-220.

[4] Khalil. A. H, Mansour. E. M., 1998. Control of lipid oxidation in cooked and uncooked refrigerated crap fillets by antioxidant and packaging combinations. J Agr Food Chem, 46: 1158-1162.

[5] Buxiang. S, Fukuhara. M., 1997. Effects of co-administration of butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole and flavonoide on the activation of mutagens and drug-metabolizing enzymes in mice. Toxicology, 122: 61-72.

[6] Kähkönen. M. P, Hopia. A. I, Vuorela. H. J, Rauha. J. P, Pihlaja. K, Kujala. T. S and Heinonen. M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds.J Agr Food Chem, 47: 3954-3962.

[7] Mansour. E. H, Khalil. A. H., 2000. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. Food Chem, 69: 135-141.

[8] Alexander. P, Ritsuko. M, Miechal. S, Bat-Sheva. C, Fostk- Magyar. C and Dubinsley. Z., 1998. Natural antioxidant activity in some microalgal species. J Plant Sci, 46: 169-176.

[9] Lisinska. G, Leszczynski. W., 1987. Potato tubers as raw material for processing and nutrition.ch.2 In potato science and technology, G.lisinska and W. leszczynski (Ed.): 34-38. Elsevier applied science., London, England.

[10] Lyon. G. D, Barker. H., 1984. The measurment of chlorogenic acid in potato leaf extravts by high pressure liquid chromatography. Potato Research, 27: 291-295.

[11] Malmberg. A. G, Theander. O., 1985. Determinatin of chlorogenic acid in potato tubers. J Agric Food Chem, 53: 549-551.

[12] Kumar. A, Pundhir. V. S, Gupta. K. C., 1991. The role of phenols in potato tuber resistance against soft rot by Erwinia carotouora ssp. Carotora. Potato. Res, 34: 9-16.

[13] Ramamurthy. M, Maiti. B, Thomas. P, Nair. M., 1992. High performance liquid chromatography determination of phenolic acids in potato tubers (solanum tuberosum) during wound healing. J Agric Food Chem, 40: 569-572.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

[14] Sotillo. R. D, Hadley. M, Holm. E. T., 1994. Potato peel waste: Stability and antioxidant activity of a Freeze- Dried Extract. J Food Sci, 59(5): 1031-1033.

[15] Sotillo. R. D, Hadley. M, Holm. E. T., 1994. Phenolics in aqueous potato peel extract: Extraction, identification and degradation. J Food Sci, 59(2): 649-651.

[16] Singh. R.P, Murthy. K.N.C, Jayaprakasha. G.K., 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. J Agr Food Chem, 50: 81–86.

[17] A.O.C.S, 1997. Official methods of analysis; Cd 8-53, Cd 19-90, American Oil Chemists Society.

[18] Abdalla. A. E, Roozen. J. P., 1999. Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflomer oil and emulsion. Food Chem, 64: 323-329.

[19] Pratt. D. E, Watts. B. M., 1964. The antioxidant activity of vagetables extracts I. flavone aglycones. J Food Sci, 29: 27-33.

[20] Jones. D. P, Coates. R. J, Flagg. E. W, Block. G, Greenberg. R. S, Gunter. E.T , Jackson. B., 1992. Glutathione in foods listed in the national cancer Institutes health habits and history food frequency questionnaire. Nutr cancer, 17: 57-75.

[21] Saikhan. M. S, Howard. L. R, Miller. J. C., 1995. Antioxidant activity and total phenolics in different Genotypes of potato (solanum tuberosum, L.). J Food Sci, 60 (2): 341-343.

[22] Friedman. M., 1997. Chemistry, Biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. J Agric Food Chem, 45: 1523-1540.

[23] Jacques. R. A, Freitas. L. S, Pérez. V. F, Dariva. C, Oliveira. A. P, Oliveira. J. V, Caramão. E. B., 2005. The use of ultrasound in the exrraction of *Ilex paraguariensis* leaves: A comparison with maceration. Ulrtasonics Sonochem. Article in Press, Corrected Proof.

[24] Goli. A. H, Barzegar. M, Sahari. M. A., 2005.Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. Food chem., 92(3) :521-525.

[25] Albu. S, Joyce. E, Paniwnyk. L, Lorime. J. P, Manson. T. J., 2004. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from Rosmarinus officinalis for the food and pharmaceutical industry. Ultrasonics Sonochem, 11(3-4): 261- 265.

[26] Rossel. J. B., 1994. Measurements of rancidity. In: J.C. Allen and R.J. Hamilton, Editors, Rancidity in foods (third ed.), Blackie, UK. 22–53.

[27] Onyencho. S-N, Hettiarachchy. N. S., 1993. Antioxidant activity, Fatty acid and phenolic acid composition of potato peels. J Sci Food Agr, 62: 345-350.

[28] Mir-Ahmadi. F, Fatemi. H, Sahari. M.A., 2006. Effect of green tea extract on the inhibition of sunflower oil oxidation. IJFST, 2(4) : 61-70

[29] Marinova. E. M, Yanishlieve. N.N., 1997. Antioxidant activity of extracts from selected species of the family lamiaccae in sunflower oil. Food Chem, 58: 245-248.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

Extraction of phenolic compounds from potato peel (*Ramus* variety) with solvent and ultrasound-assisted methods and evaluation of its antioxidant activity in soybean oil

Mohagheghi Samarin, A. [1*], Poorazarang, H. [2], Elhamirad, A. H. [3], Dezashibi1, Z. [1], Hematyar, N. [4]

1. Department of food science, Shahreghods Branch, Islamic Azad University, Shahreghods, Iran.
2. Faculty of Food Science, University of Ferdosi, Mashhad, Iran
3. Department of food science, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
4. Department of food science, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

(Received:86/6/25 Accepted: 87/7/14)

In the present study the effects of extract from the peels of *Ramus* potato variety as a natural antioxidant in refined soybean oil were investigated using the Schaal oven and Rancimat methods. Phenolic antioxidants of potato peels were extracted by two different solvent extraction methods (Solvent with methanol and ultrasound-assisted method with different solvents including methanol, ethanol, hexane, acetone and water). The total phenolic compounds were determined according to the Folin–Ciocalteu method. Maximum amount of extract was obtained with water, followed by methanol and ethanol but maximum amount of phenolics was obtained with methanol, followed by water and ethanol by ultrasound method. Sonication improved the total phenolic compounds of the potato peel extract and shortened the extraction times. After 16 days storage at 63°C,soy bean oil containing 200, 800, 1600, and 2400 ppm of methanolic extract of potato peels, attained lower peroxide values (PV , 42.67 , 37.35 , 24.65 and 19.09 meq/kg, respectively) than the control sample (PV , 64.08 meq/kg) indicating strong antioxidant activity. Oils treated with 200 ppm of BHA, BHT and TBHQ attaind PVs of 33.20 , 28.88 and 9.96 meq/kg, respectively, after 16 days storage at 63°C. Also, results Rancimat (at 90,120,150°C) showed that potato peel extract, at concentrations of 1600 and 2400 ppm exhibited strong antioxidant activity which was almost equal to synthetic antioxidants (BHA & BHT).

Keywords: Potato peel, Phenolic compounds, Antioxidant activity, Soybean oil, Sonication

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

*Corresponding author E-mail address: azadeh_mohagheghi7882@yahoo.co.in