

## بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره بره موم و اثر آن در جلوگیری از اکسیداسیون روغن آفتابگردان

مازیار اسفندیاری فرد<sup>۱</sup>، سیدحمیدرضا ضیاءالحق<sup>۲\*</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران.

۲- استادیار بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان (شاهرود)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شاهرود، ایران.

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۴/۲۳)

### چکیده

بره موم یک ماده صمغی جمع آوری شده توسط زنبور عسل از منابع گیاهی مختلف است. هدف از این تحقیق، ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره بره موم در روغن آفتابگردان طی زمان نگهداری بود. در این پژوهش، ابتدا ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره های اتانولی، متانولی و آبی بره موم با استفاده از روش DPPH ارزیابی شد. نتایج نشان داد که عصاره متانولی بره موم بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را داشت. سپس غلظت های مختلف عصاره متانولی (۰، ۰/۵ و ۱ درصد) به روغن آفتابگردان اضافه شده و به مدت ۶۰ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. برای مقایسه عصاره بره موم با آنتی اکسیدان های صنعتی، روغن آفتابگردان بازاری حاوی TBHQ نیز تهیه شده و همراه نمونه ها نگهداری شد. در طی زمان نگهداری، هر ۲۰ روز یکبار، اندیس های پراکسید (PV)، اسید تیوباربتوریک (TBARS) و اسیدی اندازه گیری شدند. داده های حاصله با استفاده از طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شدند. نتایج نشان داد که افزودن آنتی اکسیدان به روغن آفتابگردان منجر به کاهش اندیس های TBARS، PV و اندیس اسیدی نمونه ها شد. از این نظر، غلظت ۱ درصد عصاره متانولی بره موم کارآمدتر از غلظت ۰/۵ درصد و آنتی اکسیدان سنتزی بود. در طی زمان نگهداری، مقادیر اندیس های اکسیداتیو نمونه ها به تدریج افزایش یافت. در همه زمان های مورد مطالعه، بالاترین میزان اکسیداسیون مربوط به روغن خام بود. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که اختلاف معنی داری بین امتیازات طعم، رنگ و پذیرش کلی روغن حاوی عصاره بره موم و روغن آفتابگردان بازاری وجود نداشت، اما امتیاز مربوط به بو روغن حاوی عصاره بره موم کمتر از روغن بازاری بود. این گونه به نظر می رسد که عصاره متانولی بره موم دارای فعالیت آنتی اکسیدانی است که می توان از آن به عنوان یک آنتی اکسیدان در روغن و محصولات بر پایه روغن طی زمان نگهداری استفاده نمود.

**کلید واژگان:** اکسیداسیون روغن، بره موم، خاصیت آنتی اکسیدانی، روغن آفتابگردان، فراورده های زنبور عسل

\* مسئول مکاتبات: h.ziaolhagh@areeo.ac.ir

## ۱- مقدمه

روغن آفتابگردان از دانه‌های گیاه آفتابگردان روغنی *Helianthus annuus* و از طریق فشار مکانیکی یا استخراج با حلال و یا ترکیبی از این دو روش بدست می آید. روغن آفتابگردان در بسیاری از مناطق جهان، انتخاب برتر مصرف کنندگانی است که خواستار رژیم غذایی سالم تر می باشند. در روغن آفتابگردان، حدود ۱۵ درصد اسیدهای چرب اشباع و ۸۵ درصد اسیدهای چرب غیراشباع وجود دارد. غالب ترین اسیدهای چرب غیراشباع روغن آفتابگران، اسیدهای چرب لینولئیک هستند [۱]. به دلیل وجود مقدار قابل ملاحظه‌ای از پیوندهای دوگانه در بسیاری از روغن‌ها، این مواد در معرض اکسیداسیون و فساد قرار دارند، که اگر این فساد اکسایشی از حد خاصی فراتر رود، روغن یا ماده ی غذایی حاوی آن را برای مصارف غذایی غیر قابل استفاده می نماید. از سوی دیگر، برخی از ترکیبات تولید شده در اثر اکسیداسیون روغن ها، برای سلامتی انسان مضر می باشند [۲]. عواملی مانند حرارت، زمان، نور و مواد پراکسیدان مثل برخی از فلزات، باعث تسریع فساد اکسایشی می گردند.

یکی از مهم ترین راهکارهای مقابله با اکسیداسیون روغن ها، استفاده از آنتی اکسیدان‌ها می باشد. اگرچه این مواد به طور طبیعی همراه با برخی از روغن‌ها یافت می شوند، ولی امروزه برای ممانعت از اکسیداسیون روغن‌ها، غالباً از آنتی اکسیدان‌های سنتزی و با ساختار فنلی استفاده می گردد، که یک دلیل آن، خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتر انواع سنتزی می باشد. در دهه‌های اخیر، پژوهش‌های زیادی صورت گرفته است تا از آنتی اکسیدان‌های طبیعی موجود در بافت‌های برخی از گیاهان استفاده گردد.

اگرچه عسل، معروفترین محصول زنبور عسل برای انسان‌هاست، ولی زنبورهای عسل بره موم نیز تولید می کنند که سال‌هاست توسط انسان مورد استفاده قرار می گیرد. زنبورهای عسل، کندو را با بره موم پوشش می دهند و این باعث محافظت کندو در مقابل قارچ، باکتری و ویروس‌ها می شود. بره موم بوی معطر و خوشایندی دارد و رنگ آن، بسته به منبع و سن آن متفاوت است. ترکیب شیمیایی بره موم بستگی به مکان و زمان جمع آوری آن دارد. در نتیجه، ۱۶۰ ترکیب در آن شناسایی شده‌اند که مهم ترین آن‌ها ترکیبات فنلی و به خصوص فلاوونوئیدها هستند (بیشتر از ۵۰٪ وزن بره موم) [۳].

بودروک و همکارانش<sup>۲</sup> (۱۹۹۸)، فلاوونوئیدها، ترکیبات فنلی و ترکیبات آروماتیک مختلفی را در بره موم شناسایی نمودند [۴]. فلاوونوئیدها، ترکیبات گیاهی شناخته شده‌ای هستند که خاصیت ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدویروسی دارند و ترکیباتی هستند که از نظر بیولوژیکی فعال می باشند [۵]. پور آزادی و همکاران (۲۰۱۷) نیز ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی بره موم در شهرستان کرج را به طور کمی و کیفی مورد بررسی قرار دادند [۶]. ترکیبات فعال بیولوژیکی در بره موم شامل فلاون‌ها، فلاونول‌ها، فلاوانون‌ها، دی‌هیدروفلانول‌ها و مشتقات اسید سینامیک و استرهای آن‌ها می باشند [۷]. گالیوتی و همکاران (۲۰۱۸) ترکیب شیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی بره موم را در حلال‌های مختلف بررسی و تعیین نمودند [۸]. عصاره بره موم همچنین، مانع خوبی در مقابل تشکیل رادیکال‌های آزاد و انواع اکسیژن‌های انفعالی هستند و این یکی از دلایل مزایای سلامتی بخش بره موم می باشد [۹]. بره موم، به دلیل خصوصیات بیولوژیکی و دارویش، مانند فعالیت‌های ضد باکتریایی [۱۰ و ۱۱]، آنتی اکسیدانی [۹ و ۱۲]، ضد ویروسی [۱۳ و ۱۴]، ضد التهابی [۱۵]، ضد سرطانی [۱۶]، آنتی بیوتیکی و فعالیت ضد قارچی [۱۷ و ۱۸]، در دهه‌های اخیر، توجه پژوهشگران را به خود جلب نموده است. نشان داده شده است که بره موم، برای انسان و پستانداران سمی نمی باشد مگر این که در مقدار خیلی زیاد مصرف گردد [۱۹]. در این پژوهش هدف ما بررسی امکان جایگزین نمودن بره موم با آنتی اکسیدان‌های سنتزی رایج مورد استفاده در روغن‌های خوراکی بود.

## ۲- مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش، بره موم از کندوداران شهرستان شاهرود تهیه گردید. روغن آفتابگردان بدون آنتی اکسیدان نیز از شرکت فامیلا خریداری شد. مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان و سیگما آلد ریچ انگلستان تهیه شدند.

## ۲-۱- تهیه عصاره بره موم

۱۰۰ گرم بره موم خام کاملاً خرد و ریز شد و در ۱۰۰ میلی لیتر از چهار حلال آب، متانول، اتانول و مخلوط برابر متانول+اتانول (حجمی حجمی) [۲۰] به مدت ۲۴ ساعت در شرایط معمولی خیسانده شد و بعد از ۲۴ ساعت، در دمای محیط با همزن مغناطیس همزده شد. سپس، بخش جامد به وسیله کاغذ صافی

صنعتی، یک شیشه حاوی روغن با عصاره متانولی ۰/۵ درصد و یک شیشه حاوی روغن با عصاره متانولی ۱ درصد بودند. از هر نمونه سه تکرار برای نمونه برداری در زمان ۲۰ روزه تامین و شیشه‌ها در دمای محیط قرار داده شدند. مدت انبارداری ۶۰ روز در نظر گرفته شد و در این مدت، هر ۲۰ روز یک بار، اندیس‌های مربوط به اکسیداسیون روغن در نمونه‌های ذکر شده، اندازه‌گیری و ثبت شد.

## ۲-۴- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

میزان اندیس پراکسید در هنگام نگهداری نمونه‌های مختلف طی دوره معین طبق روش استاندارد ملی ایران شماره ۴۱۷۹ و بر حسب میلی اکسی والان پراکسید موجود در هر کیلوگرم روغن محاسبه گردید [۲۱]. اندازه‌گیری اندیس اسیدی طبق استاندارد شماره ۴۱۷۸ انجام شد [۲۲]. در پژوهش حاضر از روش مستقیم و مطابق روش AOAC (۱۹۹۸) به منظور تعیین عدد اسید تیوباریتوریک استفاده شد [۲۳].

## ۲-۵- ارزیابی حسی

برای ارزیابی حسی روغن حاوی بره موم از آزمون هدونیک پنج نقطه‌ای و بر اساس روش جعفری و همکاران (۱۳۹۸) با کمی تغییرات استفاده شد [۲۴]. برای این کار ابتدا مقداری سیب زمینی با استفاده از این روغن‌ها و همچنین روغن آفتابگردان فامیلا به عنوان شاهد برای مدت حدود ۱۰ دقیقه در دمای ملایم سرخ شده و از ۱۵ نفر ارزیاب آموزش ندیده درخواست شد که با مصرف سیب‌زمینی‌های سرخ شده، طعم، بو، سفتی بافت و رنگ آن‌ها را ارزیابی کرده و امتیاز دهند.

## ۲-۶- آنالیز آماری

در تعیین بهترین روش استخراج، تیمارها شامل عصاره آبی، متانلی و اتانلی بره موم بودند که از طرح کاملاً تصادفی برای تجزیه و تحلیل نتایج و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. در مرحله افزودن عصاره به روغن تیمارها شامل غلظت آنتی‌اکسیدان در سه سطح صفر، ۰/۵ و ۱ درصد و زمان نگهداری در سه سطح ۲۰، ۴۰ و ۶۰ روز بود که از آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. برای مقایسه ویژگی‌های حسی روغن حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی با روغن حاوی بره موم نیز از آزمون تی استفاده شد. کلیه تیمارها در سه تکرار اعمال شدند.

معمولی جداسازی گردید [۴]. بخش اعظم حلال‌ها با استفاده از دستگاه اواپراتور چرخان حذف گردید. عصاره تغلیظ شده، در سطح پلیت شیشه‌ای به صورت ورق نازک پخش و سپس به آون تحت خلاء ۴۰ درجه سانتی گراد منتقل گردید. پس از خروج کامل حلال، عصاره‌ها تا رسیدن به وزن ثابت خشک، در آون قرار گرفتند. عصاره‌های غلیظ به دست آمده تا زمان انجام آزمایش بعدی در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

## ۲-۲- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مورد بررسی (آبی، متانولی، اتانولیو متانولی-اتانولی)، از ۲،۲ دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده گردید. DPPH ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختار آن، به راحتی به صورت رادیکال درآمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می باشد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی اکسیدان، از رنگ بنفش به زرد تغییر رنگ می دهد که این تغییر رنگ کاملاً به غلظت عصاره‌ها بستگی دارد. با افزایش غلظت عصاره کاهش رنگ نیز افزایش می یابد.

برای این منظور، یک میلی لیتر از محلول DPPH با ۳ میلی لیتر از نمونه عصاره با هم مخلوط شده و به شدت هم زده شد. پس از انکوباسیون به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق، جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، در طول موج ۵۱۷ nm قرائت گردید. فعالیت آنتی اکسیدانی به صورت درصد ممانعت کنندگی از رابطه ۱ به دست آمد.

$$Y = [(A_{517\text{blank}} - A_{517\text{sample}}) / A_{517\text{blank}}] \times 100 \quad (1)$$

که در این رابطه، Y درصد بازدارندگی،  $A_{517\text{blank}}$  میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر برای شاهد و  $A_{517\text{sample}}$  میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر برای نمونه می‌باشند.

## ۲-۳- افزودن عصاره به روغن

عصاره متانولی تهیه شده به روغن آفتابگردان تصفیه شده بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شد تا تاثیر آن در روند اکسیداسیون روغن آفتابگردان در مقایسه با نمونه روغن شاهد (دارای آنتی‌اکسیدان سنتزی) بررسی گردد. بدین صورت که در ابتدا عدد پراکسید، عدد اسیدی و عدد اسید تیوباریتوریک روغن آفتابگردان بدون آنتی‌اکسیدان در زمان صفر اندازه‌گیری و ثبت شد. سپس از عصاره به میزان ۰، ۰/۵ و ۱ درصد به ۱۰۰۰ گرم روغن اضافه و در شیشه‌های درب‌دار ریخته شد. یک شیشه حاوی روغن بدون آنتی‌اکسیدان، یک شیشه حاوی روغن دارای آنتی‌اکسیدان

## ۳- نتیجه گیری و بحث

## ۳-۱- روش استخراج

نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس نشان دهنده اثر معنی دار روش استخراج بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره بره موم بودند ( $p < 0.01$ ). جدول ۱ مقایسه میانگین های مربوط به فعالیت آنتی اکسیدانی سه حلال مورد استفاده (آب، اتانول و متانول) را نشان می دهد. همان طوری که مشاهده می شود، بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به عصاره متانولی بره موم بود ( $62.80/80$ ) و عصاره آبی پس از آن قرار داشت ( $41.48/48$ ). کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره اتانولی به دست آمد ( $18.90/90$ ). بر اساس این نتایج، عصاره متانولی بره موم، به دلیل دارا بودن بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی به عنوان بهترین عصاره انتخاب شد و از آن در درصدهای مختلف در روغن سویا استفاده گردید.

**Table1** Comparison of means of the effect of extraction method on the antioxidant activity of propolis

Extraction solution	antioxidant activity
water	41.48 <sup>b</sup>
ethanol	18.90 <sup>c</sup>
methanol	62.80 <sup>a</sup>

Values with different letter indicate significant difference ( $P \leq 0.01$ )

DPPH یک رادیکال آزاد پایدار است که در حضور آنتی اکسیدان ها در نمونه های بیولوژیک خنثی می شود. رادیکال آزاد DPPH، در محیط اتانول باعث حداکثر جذب در ۵۱۷ نانومتر و ایجاد رنگ ارغوانی می گردد. در صورت خنثی شدن این رادیکال، از شدت رنگ ارغوانی کاسته شده و به زرد کم رنگ تغییر می یابد؛ بنابراین، کاهش جذب نوری متناسب با توانایی خنثی سازی رادیکال DPPH و به عبارت دیگر، قدرت آنتی اکسیدانی نمونه مورد نظر خواهد بود [۲۵]. در پژوهش جاری نشان داده شد که میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی به طور معنی داری بیشتر از سایر عصاره ها بود ( $p < 0.01$ ) و عصاره آبی پس از آن قرار داشت. بالاتر بودن فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی نسبت به سایر عصاره ها، احتمالاً به دلیل ترکیبات فنلی بیشتر موجود در آن می باشد. در عصاره های به دست آمده از

حلال های مختلف، ترکیبات مختلفی نیز وجود دارند که نوع آن ها بستگی به ماهیت حلال مورد استفاده دارند. کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره اتانولی بره موم به دست آمد. از این رو، از عصاره متانولی بره موم، به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی در روغن آفتابگردان استفاده شد و اثر آن بر واکنش اکسیداسیون نمونه های روغن مورد بررسی قرار گرفت و با نمونه فاقد آنتی اکسیدان (روغن خام) و روغن حاوی آنتی اکسیدان سستری مقایسه گردید. ممشلو و همکاران (۱۳۹۱)، اثر نوع حلال مورد استفاده (حلال های استون، متانول و اتانول ۸۰ درصد و آب) برای تهیه عصاره از گیل را بر ویژگی های آنتی اکسیدانی آن مورد ارزیابی قرار دادند. بالاترین میزان ترکیبات فنولی با استون ۸۰ درصد و پس از آن با متانول، اتانول و آب حاصل شد. نتایج آن ها همانند نتایج ما بیان گر فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر عصاره متانولی نسبت به عصاره اتانولی بود [۲۶]. نتایج بدست آمده توسط محققین ثمرین و همکاران (۱۳۸۷) نیز با نتایج این پژوهش مطابقت داشت [۲۷]. آن ها مشاهده کردند که اثر نوع حلال مورد استفاده برای آماده سازی عصاره های پوست سیب زمینی بر ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی آن موثر بود. بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره متانولی به دست آمد و این عصاره حاوی بالاترین میزان ترکیبات فنولی بود، عصاره اتانولی، آبی و استونی، به ترتیب پس از آن قرار داشتند. بر این اساس می توان نتیجه گرفت که میزان ترکیبات فنلی عصاره های مذکور با افزایش قطبیت حلال افزایش می یابد. حلال آب علی رغم راندمان بالا، ترکیبات فنولی کمتری نسبت به حلال متانول دارد. در واقع، حلال آب مواد جامد قابل استخراج بیشتری را در خود حل می کند، ولی همه این ترکیبات لزوماً ترکیبات فنلی نیستند.

## ۳-۲- اثر آنتی اکسیدان و زمان نگهداری بر

## اکسیداسیون روغن آفتابگردان

در جدول ۲، آنالیز واریانس اثر تیمارهای مختلف بر شاخص های اکسایشی روغن آفتابگردان نشان داده شده است. همان طوری که در این جدول مشاهده می شود، اثر تیمارهای مختلف بر اندیس های اسیدی، پراکسید و تیوباریتوریک اسید روغن آفتابگردان از لحاظ آماری در سطح ۹۹ درصد معنی دار بود ( $p < 0.01$ ).

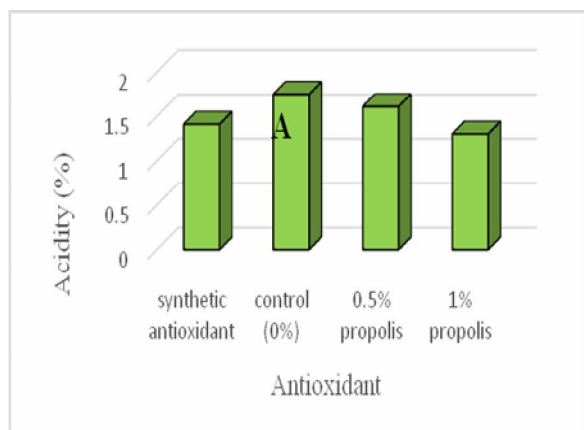
**Table2** Mean of Squares of the effect of treatments on the oxidative characteristics of sunflower oil

Source of variations	Mean of Squares		
	Acidity	Peroxide value	TBARS
Oil with antioxidants	0.366**	21.209**	0.615**
Storage time	12.465**	460.343**	2.695**
Storage time×Oil with antioxidants	0.048**	2.078**	0.066**

\*\* Means are significant at 99%

## ۳-۲-۱- اندیس اسیدی

آنتی اکسیدان سنتزی بود، ولی غلظت ۰/۵ درصد عصاره، فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی داشت.

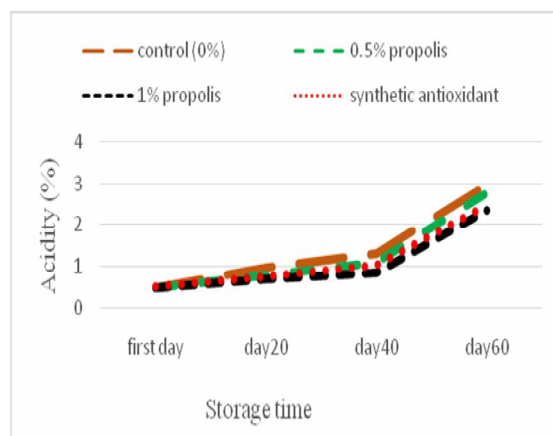


**Fig 2** Effect of different concentrations of propolis extract on the acidity of sunflower oil.

Values with different letter indicate significant difference

اثر زمان نگهداری بر اندیس اسیدی نمونه‌های روغن آفتابگردان در شکل ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، افزایش معنی‌دار اسیدیته در طی زمان نگهداری ۶۰ روزه بود ( $p < 0.01$ ). سرعت افزایش اندیس اسیدی از روز ۴۰ تا ۶۰ بیشتر از روز ۲۰ تا ۴۰ بود. در همه روزهای مورد بررسی، روغن خام بالاترین میزان اندیس اسیدی را دارا بود و کمترین میزان این اندیس نیز در روغن حاوی ۱ درصد عصاره متانولی بره موم یافت شد. اندیس اسیدی به تنهایی نمی‌تواند معیاری جهت تعیین فساد روغن باشد، ولی به همراه پارامترهای دیگر می‌تواند جهت تکمیل ارزیابی کیفیت روغن مورد توجه قرار گیرد. اندیس اسیدی یکی از معیارهای شیمیایی مفید برای تعیین شدت تجزیه روغن است [۲۸]. به هر حال، اندیس اسیدی معرف اسید چرب آزاد می‌باشد که این اسیدهای چرب به سرعت اکسیده می‌شوند و اکسایش اسیدهای چرب غیراشباع دیگر را نیز از طریق فعال سازی و انحلال کاتالیزورهای فلزی افزایش می‌دهند [۲۹]. نتایج به‌دست آمده از آنالیز واریانس داده‌های مربوط به اندیس اسیدی نمونه‌های مختلف روغن آفتابگردان نشان داد که اثر غلظت مصرفی آنتی اکسیدان، زمان نگهداری و اثر متقابل آن‌ها بر این اندیس از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $p < 0.01$ )، به نحوی که با گذشت زمان در همه نمونه‌ها، میزان اندیس اسیدی افزایش یافت. بخشی از افزایش اندیس اسیدی طی زمان نگهداری، به هیدرولیز تری آسید گلیسرول‌ها و بخشی دیگر به گروه‌های کربونیل موجود در فرآورده‌های پلیمری و یا اکسایش نسبت داده می‌شود [۳۰]. بیشترین میزان این اندیس در تمامی روزهای مورد مطالعه مربوط به روغن خام بود و افزودن

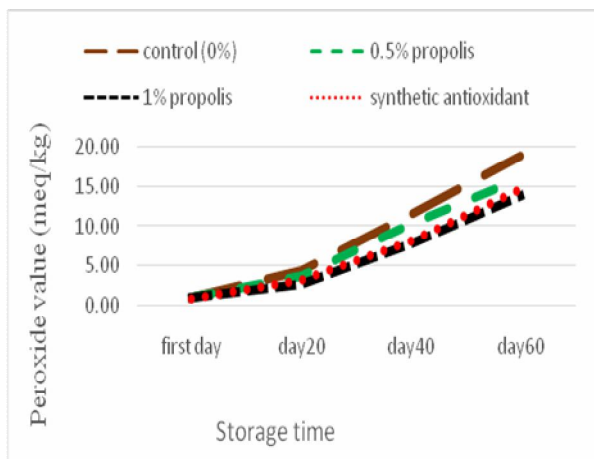
شکل ۱ تغییرات اندیس اسیدی نمونه‌های روغن طی زمان نگهداری ۶۰ روزه را نشان می‌دهد. در روز صفر، میزان اندیس اسیدی همه نمونه‌های مورد بررسی با هم برابر بود. در همه نمونه‌های روغن، با افزایش زمان نگهداری از روز صفر تا روز آخر (روز ۶۰)، مقادیر اندیس اسیدی تیمارها افزایش پیدا کرد و این افزایش، از روز ۴۰ تا ۶۰، با سرعت بیشتری رخ داد. میانگین مقادیر اندیس اسیدی تیمارهای مختلف روغن آفتابگردان نشان داد که در تمامی روزهای نگهداری، بیشترین میزان این اندیس مربوط به روغن خام (فاقد آنتی اکسیدان) بود و روغن حاوی ۰/۵ درصد عصاره بره موم پس از آن قرار داشت. با افزایش درصد عصاره بره موم در نمونه‌های روغن، میزان اندیس اسیدی کاهش یافت، به نحوی که نمونه حاوی ۱ درصد عصاره بره موم، کمترین میزان اندیس اسیدی طی روزهای مختلف انبارداری را دارا بود، فعالیت آنتی اکسیدانی این درصد از عصاره، به‌طور معنی‌داری بالاتر از آنتی اکسیدان سنتزی بود ( $p < 0.01$ ).



**Fig1** Acidity changes of sunflower oil during storage

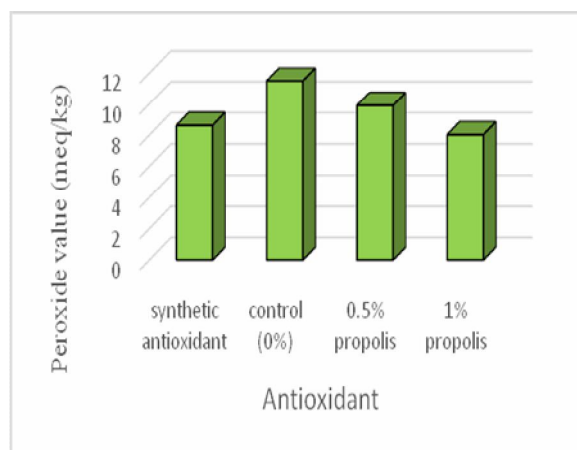
در شکل ۲ اثر غلظت آنتی اکسیدان بر اندیس اسیدی نمونه‌های مختلف روغن آفتابگردان نشان داده شده است. همان‌طوری که مشاهده می‌شود، با افزایش درصد عصاره بره موم در روغن آفتابگردان، میزان اندیس اسیدی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ( $p < 0.01$ )، به‌طوری که بیشترین و کمترین میزان اندیس اسیدی، به ترتیب در روغن خام فاقد آنتی اکسیدان و روغن حاوی ۱ درصد عصاره بره موم گزارش گردید. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی غلظت ۱ درصد عصاره بره موم بیشتر از

سایر نمونه‌ها بالاتر بود. با افزودن عصاره متانولی بره موم به روغن آفتابگردان، میزان اندیس پراکسید کاهش پیدا کرد و افزایش غلظت آن در نمونه‌های روغن منجر به کاهش معنی‌دار مقدار این اندیس گردید ( $p < 0.01$ )، به نحوی که کمترین میزان اندیس پراکسید در روغن حاوی ۱ درصد عصاره بره موم به‌دست آمد.

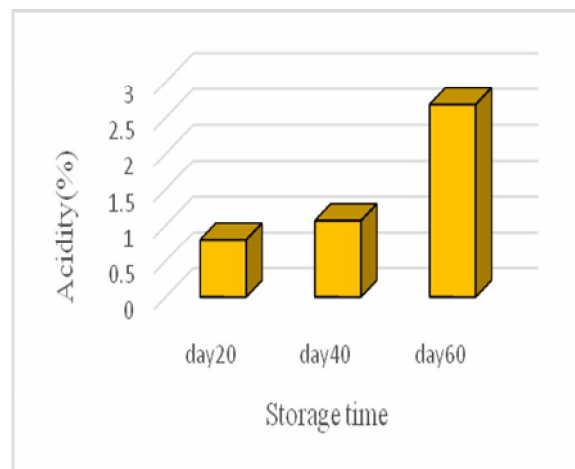


**Fig 4** Peroxide value changes (meq/kg) of sunflower oil during storage

شکل ۵ اثر غلظت آنتی‌اکسیدان بر میزان اندیس پراکسید نمونه‌های روغن آفتابگردان را نشان می‌دهد. همان‌طوری که در قبل نیز بیان شد، اثر غلظت آنتی‌اکسیدان بر میزان این اندیس از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $p < 0.01$ ). با افزایش غلظت آنتی‌اکسیدان در نمونه‌های روغن، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته، در نتیجه میزان اندیس پراکسید کاهش یافت. در مقایسه بین آنتی‌اکسیدان طبیعی و سنتزی مشاهده گردید که فعالیت آنتی‌اکسیدانی نوع سنتزی کمتر از غلظت ۱ درصد عصاره متانولی بره موم بود، ولی با غلظت ۰/۵ عصاره اختلاف معنی‌دار نداشت ( $p > 0.01$ ).



آنتی‌اکسیدان به روغن، منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش اندیس اسیدی نمونه‌های روغن آفتابگردان گردید.



**Fig 3** Effect of storage time on the acidity of sunflower oil. Values with different letter indicate significant difference

با افزایش غلظت عصاره متانولی بره موم در روغن نیز اندیس اسیدی به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ( $p < 0.01$ ). اثر آنتی‌اکسیدان سنتزی بر کاهش اکسیداسیون روغن بیشتر از روغن حاوی ۰/۵ درصد عصاره و کمتر از روغن حاوی ۱ درصد عصاره بره موم بود. بر اساس استاندارد ملی ایران (۱۳۸۹)، بیشینه عدد اسیدی روغن سرخ کردنی دورریز ۲ درصد می‌باشد [۳۱]. نتایج این بررسی نشان داد که عدد اسیدی همه تیمارها تا روز ۴۰ انبارداری، کمتر از این مقدار بود. کاویانی و همکاران (۱۳۹۲)، بیان کردند که افزودن غلظت‌های مختلف آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ به روغن کانولا باعث افزایش زمان دورریزی روغن شد [۳۲].

### ۳-۲-۲- اندیس پراکسید

شکل ۴ تغییرات اندیس پراکسید نمونه‌های مختلف روغن آفتابگردان طی زمان نگهداری ۶۰ روزه را نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که اثر غلظت مصرفی آنتی‌اکسیدان، زمان نگهداری و اثر مقابل آن‌ها بر میزان اندیس پراکسید نمونه‌های مختلف روغن آفتابگردان از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $p < 0.01$ ). مقایسه میانگین مقادیر اندیس پراکسید نمونه‌های مختلف روغن بیان کرد که از زمان صفر تا روز آخر انبارداری، به تدریج میزان این اندیس افزایش پیدا کرد. همان‌طور که انتظار می‌رفت، میزان اندیس پراکسید روغن خام از

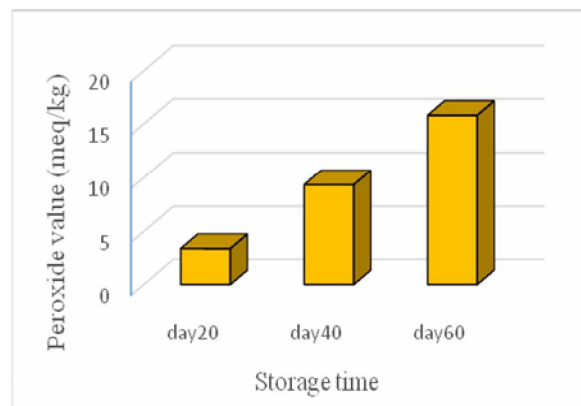
ارزیابی اندیس پراکسید نمونه‌های مختلف روغن آفتابگردان طی زمان نگهداری دو ماهه نشان داد که در همه نمونه‌ها، از زمان صفر تا روز آخر انبارداری، میزان این اندیس به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0.01$ ). در همه روزهای مورد مطالعه، میزان اندیس پراکسید روغن خام بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. افزودن عصاره متانولی بره موم به روغن آفتابگردان سبب کاهش اندیس پراکسید شده و افزایش درصد آن در نمونه‌ها نیز منجر به کاهش بیشتر آن گردید. از لحاظ کاهش اندیس پراکسید، اختلاف معنی‌داری بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی غلظت ۰/۵ درصد عصاره بره موم و آنتی‌اکسیدان سنتزی مشاهده نشد ( $p > 0.01$ ). بیشترین و کمترین میزان اندیس پراکسید در تمامی روزهای مورد بررسی، به ترتیب مربوط به روغن خام و روغن حاوی ۱ درصد عصاره بره موم بود. از آنجایی که میزان استاندارد مجاز برای اندیس پراکسید روغن مایع آفتابگردان  $20 \text{ meq/kg}$  است [۳۴]، می‌توان این چنین بیان کرد که در همه نمونه‌های روغن، به جز روغن خام پس از ۶۰ روز میزان اندیس پراکسید در حد مجاز بود. محققان ثمرین و همکاران (۱۳۸۷)، اثر عصاره پوست سیب زمینی راموس را بر ماندگاری اکسایشی روغن سویا مورد ارزیابی قرار دادند و نتایج آن‌ها با نتایج ما مطابقت داشت [۲۷]. آن‌ها مشاهده کردند که افزودن این عصاره به نمونه‌های روغن سبب کاهش اندیس پراکسید تیمارها گردید و با افزایش درصد عصاره در نمونه‌ها، کاهش بیشتری در میزان این اندیس گزارش شد. رفیعی و همکاران (۱۳۸۹) نیز بیان کردند که عصاره برگ زیتون در سطح  $1000 \text{ ppm}$  به خوبی توانست اندیس پراکسید و اسید تیوباریتوریک را کنترل کرده و جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بوتیل هیدروکسی آیزول و بوتیل هیدروکسی تولوئن در دو سطح  $100 \text{ ppm}$  و  $200 \text{ ppm}$  شود [۳۵].

### ۳-۲-۳- اندیس تیوباریتوریک اسید

تغییرات اندیس تیوباریتوریک اسید نمونه‌های مختلف روغن آفتابگردان در طی زمان نگهداری دو ماهه در شکل ۷ قابل مشاهده است. در روغن خام، از زمان صفر تا روز آخر انبارداری، میزان اندیس تیوباریتوریک اسید به سرعت افزایش یافت. در روغن بازاری و روغن حاوی ۰/۵ درصد عصاره متانولی بره موم، از زمان صفر تا روز آخر میزان این اندیس به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، ولی سرعت افزایش آن در بین روزهای مختلف متفاوت بود، بدین صورت که از زمان صفر تا

**Fig 5** Effect of different concentrations of propolis extract on the peroxide value (meq/kg) of sunflower oil. Values with different letter indicate significant difference

از اولین روز انبارداری تا روز آخر (روز ۶۰)، میزان اندیس پراکسید نمونه‌های مختلف روغن افزایش یافت (شکل ۶) و این افزایش، در تمامی روزهای مورد مطالعه، از لحاظ آماری معنی‌دار گزارش شد ( $p < 0.01$ ). روغن خام فاقد آنتی‌اکسیدان در روز ۶۰ بالاترین میزان اندیس پراکسید را دارا بود و کمترین میزان اندیس پراکسید در روغن حاوی ۱ درصد عصاره بره موم در روز ۲۰ به‌دست آمد. اثر متقابل اثر غلظت آنتی‌اکسیدان و زمان انبارداری بر میزان اندیس پراکسید نمونه‌های روغن آفتابگردان از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $p < 0.01$ ). اندازه‌گیری اندیس پراکسید از تست‌های شاخص می‌باشد که استفاده گسترده‌ای دارد. در این آزمون غلظت پراکسید و هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در مرحله آغازی اندازه‌گیری می‌شود و بر حسب میلی اکی والان پراکسید در هر کیلوگرم چربی بیان می‌گردد. به‌دلیل ساکن نبودن پراکسید دستکاری نمونه‌ها هنگام آزمایش باید با دقت صورت گیرد. اندیس پراکسید بالا شاخص فساد چربی است.



**Fig 6** Effect of storage time on the peroxide value (meq/kg) of sunflower oil. Values with different letter indicate significant difference

پراکسیدها قادرند به‌طور برگشت ناپذیر موجب تخریب پروتئین‌های سلولی و در نتیجه دژنراسیون و نکروز سلول‌ها شوند. از طرفی افزایش میزان پراکسید شرایط را برای ورود به مرحله اتواکسیداسیون (مرحله توسعه) فراهم می‌کند. بنابراین اندیس پراکسید با در نظر گرفتن تاریخ انقضا محصول، شاخص روغن سالم در نظر گرفته شده است [۳۳]. نتایج به‌دست آمده از

روز ۲۰ سرعت آن کمتر بود، ولی از روز ۲۰ تا ۴۰ با سرعت زیادی افزایش پیدا کرد، سپس از روز ۴۰ تا روز ۶۰ سرعت آن کاهش یافت. در روغن حاوی ۱ درصد عصاره بره موم، از زمان صفر تا روز ۲۰، اندیس تیوباربتوریک اسید با سرعت کمی افزایش یافت، ولی از روز ۲۰ تا روز آخر انبارداری، مقدار آن با سرعت بالایی افزایش پیدا کرد.

در همه نمونه‌های مورد بررسی، از روز اول آزمایشات تا روز آخر نگهداری، میزان اندیس تیوباربتوریک اسید به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0.01$ ). بیشترین میزان این اندیس مربوط به روغن خام در روز ۶۰ بود و کمترین آن در روغن حاوی ۱ درصد عصاره متانولی بره موم در روز ۲۰ به‌دست آمد. همان‌طور که گفته شد، در کل، بیشترین و کمترین میزان این اندیس به ترتیب در روغن خام و روغن حاوی ۱ درصد عصاره بره موم به‌دست آمد. این اندیس در اثر تجزیه هیدروپراکسیدها تشکیل می‌شود، در نتیجه با گذشت زمان و تجزیه بیشتر هیدروپراکسیدها و تبدیل آن‌ها به آلدهیدها و کتون‌ها، اندیس تیوباربتوریک اسید افزایش یافته است. از آنجایی که میزان پراکسید هیدروژن در روغن خام بیشتر از سایر نمونه‌ها بوده است، بنابراین مالون آلدهید بیشتری در آن تولید شده است. دلیل بالا بودن اندیس تیوباربتوریک اسید در روز آخر نسبت به روزهای قبل این است که در روزهای پایانی آزمایش، تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون با سرعت بیشتری صورت می‌گیرد و مقدار زیادی از پراکسیدهای تشکیل شده در مراحل اولیه طی روزهای پایانی آزمایش، تجزیه و به مالون آلدهید تبدیل شده‌اند. بیشترین توانایی در جلوگیری از تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون توسط تیمار حاوی ۱ درصد عصاره بره موم اعمال گردید. همان‌طوری که در این پژوهش مشاهده شد، توانایی آنتی اکسیدان‌ها در مهار اکسیداسیون وابسته به غلظت بود و روغن‌های حاوی مقادیر بیشتری از عصاره، ثبات اکسیداتیو بیشتری نشان دادند. افزایش قدرت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی در نتیجه افزایش غلظت را می‌توان به افزایش تعداد جایگاه‌های فعال این ترکیبات برای واکنش با رادیکال‌های آزاد نسبت داد. نتایج شهیدی و بانگر (۲۰۰۷) در بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره سیر [۳۶] و نیز صمدلویی و همکاران (۱۳۸۶) در ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی استخراج شده از هسته انار با حلال استون در پایداری سازی روغن سویا در شرایط تسریع شده [۳۷]، با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. داده‌های پژوهش فاراگ و همکاران (۲۰۰۷)، بیان‌گر کاهش اندیس تیوباربتوریک از ۲/۳ به ۰/۸ میلی گرم مالون آلدهید در کیلوگرم روغن در حضور ۸۰۰ ppm عصاره برگ زیتون بود [۳۸]. سینگ و همکاران (۲۰۰۷)، اثرات آنتی اکسیدانی اسانس برگ دارچین را در روند اکسیداسیون روغن خردل و تشکیل اندیس پراکسید و تیوباربتوریک اسید

روز ۲۰ سرعت آن کمتر بود، ولی از روز ۲۰ تا ۴۰ با سرعت زیادی افزایش پیدا کرد، سپس از روز ۴۰ تا روز ۶۰ سرعت آن کاهش یافت. در روغن حاوی ۱ درصد عصاره بره موم، از زمان صفر تا روز ۲۰، اندیس تیوباربتوریک اسید با سرعت کمی افزایش یافت، ولی از روز ۲۰ تا روز آخر انبارداری، مقدار آن با سرعت بالایی افزایش پیدا کرد.

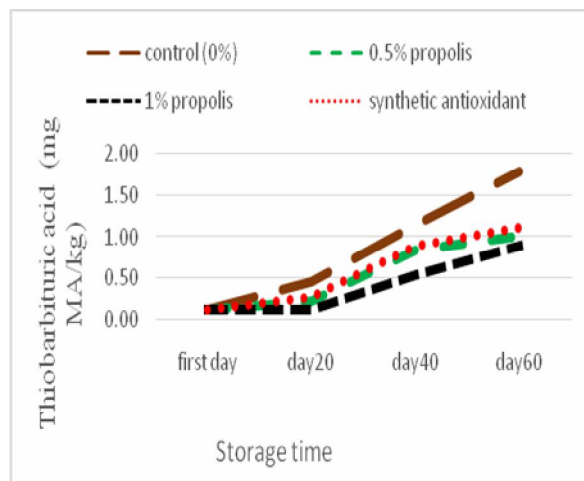


Fig 7 Thiobarbituric acid changes (mg MA/kg) of sunflower oil during storage

اثر غلظت آنتی اکسیدان بر اندیس اسید تیوباربتوریک نمونه‌های روغن آفتابگردان در شکل ۸ نشان داده شده است. همانند دو اندیس دیگر (اندیس پراکسید و اندیس اسیدی) با افزودن آنتی اکسیدان به روغن آفتابگردان، میزان اندیس تیوباربتوریک اسید کاهش یافت و افزایش غلظت آنتی اکسیدان در نمونه‌های روغن منجر به کاهش معنی‌دار این اندیس گردید ( $p < 0.01$ ). میزان اندیس تیوباربتوریک اسید در روغن بازاری (حاوی آنتی اکسیدان سنتزی)، بیشتر از روغن‌های حاوی هر دو سطح عصاره بره موم بود.

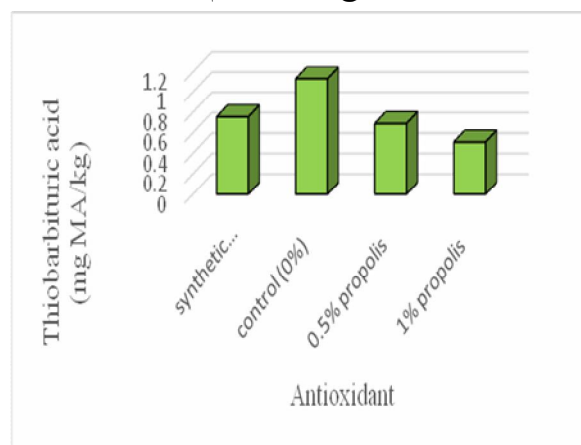


Fig 8 Effect of different concentrations of propolis extract on the thiobarbituric acid value (mg MA/kg) of sunflower oil. Values with different letter indicate significant difference



## ۵- منابع

- [1] Fatemi, H. 2002. Food chemistry. Enteshar publication.
- [2] Haumann, B.F. 1994. Antioxidants: Health implication still debated. Inform, 5:242-252.
- [3] Banskota, A. H., Tezuka, Y., Adnyana, I. K., Midorikawa, K., Matsushige, K., Message, D., Huertas, A. A. G., Kadota, S. 2002. Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. Journal of Ethnopharmacology, 72(1,2): 239–246.
- [4] Burdock, G. A. 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. Food and Chemical Toxicology, 36(4): 347–363.
- [5] Grange, J.M., Davey, R.W. 1990. Antibacterial properties of propolis (bee glue). Journal of the Royal Society of Medicine, 83(3): 159–160.
- [6] Pourazadi, L., Nehzati, G., Ghaziani, F. and Abbasai, S. 2017. Evaluation the quality and quantity of phenolic compound and antioxidant activity of propolis in the vicinity of Karaj. Iranian Journal of Animal Science. 47(4): 499-506.
- [7] Popova, M., Trusheva, B. and Bankova, V., 2017. Content of biologically active compounds in Bulgarian propolis: a basis for its standardization. Bulgarian Chemical Communications. 49:115-120.
- [8] Galeotti, F., Maccari, F., Fachini, A. and Volpi, N. 2018. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Propolis Prepared in Different Forms and in Different Solvents Useful for Finished Products. Foods. 7(3):41-50.
- [9] Pascual, C., Gonzalez, R. and Torricella, R.G. 1994. Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. Journal of Ethnopharmacology, 41(1-2), pp.9-13.
- [10] Grange, J.M., Davey, R.W. 1990. Antibacterial properties of propolis (bee glue). Journal of the Royal Society of Medicine, 83(3): 159–160.
- [11] Sheikhi Koohsar, A. A., Sayyed-Alangi, S. Z., Shamloofar, M. and Sharifian, S. 2018. Effect of different extracts of Iranian propolis on shelf-life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillet in the refrigerator conditions: Chemical composition, evaluation of microbiological

مورد بررسی قرار دادند و نتایج آن‌ها حاکی از آن بود که اسانس در سطح غلظتی ۰/۰۲ درصد اثرات قوی‌تری نسبت به پروپیل گالات داشت [۳۹].

## ۳-۳- مقایسه ویژگی حسی روغن حاوی

## عصاره بره موم و روغن بازاری

نتایج نشان داد که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین امتیازات بافت، طعم، سفتی، رنگ و پذیرش کلی روغن حاوی عصاره متانولی بره موم و روغن بازاری (حاوی آنتی اکسیدان سنتزی) وجود نداشت ( $p>0.05$ ). از لحاظ بو، امتیاز روغن حاوی عصاره بره موم به‌طور معنی‌داری کمتر از روغن بازاری بود ( $p<0.05$ ). در کل، هر دو نمونه روغن از لحاظ پارامترهای حسی قابل قبول بودند.

از آنجایی که در کل، امتیاز پذیرش کلی روغن آفتابگردان حاوی عصاره متانولی بره موم بالاتر از ۴ (خوب) بود، می‌توان این چنین بیان کرد که این تیمار از لحاظ ویژگی‌های حسی قابل قبول بود. علیراده و همکاران (۱۳۹۲) نیز مشابه با ما بیان کردند که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین روغن حاوی عصاره رزماری و روغن حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ وجود نداشت، آن‌ها بیان کردند که عصاره رزماری مصرفی در پژوهش آن‌ها خود به تنهایی فاقد بو و طعم نامطلوب بود و این آنتی‌اکسیدان مشابه TBHQ تداخلات طعم با سایر اجزا نداشت و اثر منفی بر ویژگی‌های حسی نداشت [۴۰].

## ۴- نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که بالاترین میزان اکسیداسیون در روغن خام فاقد آنتی‌اکسیدان رخ می‌دهد و افزودن عصاره بره موم به روغن منجر به کاهش اندیس‌های اکسایشی می‌شود. زمان نگهداری نیز در اکسیداسیون روغن آفتابگردان مؤثر بوده و با افزایش مدت نگهداری، روغن بیشتر دچار اکسیداسیون می‌گردد. از طرف دیگر، افزودن بره موم به روغن آفتابگردان تغییر معنی‌داری در ویژگی‌های حسیروغن به وجود نمی‌آورد و روغن آفتابگردان حاوی عصاره متانولی بره موم، از لحاظ ویژگی‌های حسی قابل قبول است. از این رو می‌توان نتیجه‌گیری نمود که عصاره متانولی بره موم دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی بوده و می‌تواند به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مورد توجه قرار گیرد.

- [23] AOCS, A. 1998. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society Method Cd 19-90. 2-Thiobarbituric acid value, fifth ed. American Oil Chemists-Society, Champaign.
- [24] Jafari, N., Ziaolhagh, S. H. R. and, MohammadiNafchi, A. 2019. Study on the effect of microwave pre-treatment on the quality of air-dried potato sticks using response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*. 16(86): 189-198.
- [25] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss U Technology*, 28: 25-30.
- [26] Mamashloo, S., SADEGHI, M.A., Ghorbani, M., Alami, M. and Khomeiri, M. 2012. The evaluation of antioxidant properties and stability of phenolic compounds from medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit. *Journal of research and innovation in food science and technology*. 1(3):219-228.
- [27] Mohagheghi, S.A., Poorazarang, H., Elhamirad, A.H., Dezashibi, Z. and Hematyar, N., 2011. Extraction of phenolic compounds from potato peel (Ramus variety) with solvent and ultrasound-assisted methods and evaluation of its antioxidant activity in soybean oil. *Food Science and Technology*. 8 (28):81-91.
- [28] Malek, F. 2005. Frying oils and fats and frying technology. Tehran. Marze Danesh press. pp. 244-245.
- [29] Mousavi, S. 2006. Investigation of oxidation and characteristics of sesame oil. Master's Degree in Agricultural Engineering, Food Science and Technology, Islamic Azad University, Tehran Science Research Branch.
- [30] Kalapathy, U. and Proctor, A. 2000. A new method for free fatty acid reduction in frying oil using silicate films produced from rice hull ash. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77: 593-598.
- [31] Iran National Organization of Standardization. 2016. Edible Fats & Oils- Frying oil – Specifications and Test Methods. Second revision. 4152.
- [32] Kaviani, M., Niazmand, R. and Shahidi, N.M. 2013. Discarding time evaluation of canola oil based on oxidation indexes during potato deep frying. *Journal of research and innovation in food science and technology*. 2(1):37-50.
- and sensory parameters. *Journal of Food Science and Technology*. 15(76): 51-65.
- [12] Isla, M. I., Nieva, M. I., Sampietro, A. R., Vattuone, M. A. 2001. Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(2): 165-170.
- [13] Amoros, M., Lurton, E., Boustie, J., Girre, L., Sauvager, F., Cormier, M. 1994. Comparison of the anti-herpes simplex virus activities of propolis and 3-methylbut-2-enyl caffeate. *Journal of Natural Products*, 57(5): 235-240.
- [14] Amoros, M., Simoes, C. M. O., Girre, L., Sauvager, F., Cormier, M. 1992. Synergistic effect of flavones and flavonols against Herpes simplex virus type I in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. *Journal of Natural Products*, 55(12): 1732-1740.
- [15] Strehl, E., Volpert, R., Elstner, E. F. 1994. Biochemical activities of propolis extracts. III. Inhibition of dihydrofolate reductase. *Zeitschrift Fur Naturforschung C-A Journal of Biosciences*, 49(1,2): 39-43.
- [16] Frankel, E.N. 1985. Chemistry of autoxidation: mechanism, products and flavor significance. In: Min DB, Smouse TH, editors. Flavor chemistry of fats and oils. Champaign, Ill.: American Oil Chemists' Society. p 1-34.
- [17] Marcucci, M. C. 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26(2): 83-99.
- [18] Dobrowolski, J. W., Vohora, S. B., Sharma, K., Shah, A. H., Naqvi, S. A. H., Dandiya, P. C. 1991. Antibacterial, antifungal, antiamebic, anti-inflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *Journal of Ethnopharmacology*, 35(1): 77-82.
- [19] Ghisalberti, E. 1979. Propolis: a review. *Bee World*, 60: 59-84.
- [20] Bonvehi, J. S., Coll, F. V. 1994. Phenolic composition of propolis from China and from South America. *Zeitschrift Fur Naturforschung C-A Journal of Biosciences*, 49(11,12): 712-718.
- [21] Iran National Organization of Standardization. 2018. Animal and vegetable fats and oils -Determination of peroxide value -Iodometric (visual) endpoint determination. 4179. second revision.
- [22] Iran National Organization of Standardization. 2011. Animal and vegetable fats and oils -Determination of acid value and acidity- Test method. 4178.

- [37] Samad Louei.H., Azizi, M.H. and Barzegar, M. 2007. Antioxidative effect of pomegranate seed phenolic componends on soybean oil. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*. 14(4): 193-200.
- [38] Farag, R.S., Mahmoud, E.A. and Basuny, A.M. 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.
- [39] Singh, G., Maurya, S. and Delampasona, M.P. 2007. A comparison of chemical antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 1650-1661.
- [40] Alizadeh, L., Nayebzadeh, K and Shahin,R. 2014. Antioxidant effect of rosemary and ferulago extracts and synthetic TBHQ on oil oxidation during deep-frying. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 8(4):135-143.
- [33] Matthaus, B. 2006. Utilization of high oleic rapeseed oil for deep fat frying of French fries compared to other commonly used edible oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108(3): 200-211.
- [34] Iran National Organization of Standardization.2014. *Animal and Vegetable Oils and Fats –Crude.Sunflower Oil-Specifications and Test methods*. 10086.
- [35] Rafiei, Z., Jafari, S.M., Alami, M. and Khomeiri, M. 2011. Antioxidant properties of olive leaf extract and its application in sunflower oil. *Journal of food research (university of tabriz)*. 21(1):11-23.
- [36] Shahidi, I. and Bhangar, M. 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*, 100: 246-254.

## Study on the antioxidant activity of propolis extract and its effect on the oxidation of sunflower oil

Esfandiarifard, M.<sup>1</sup>, Ziaolhagh, S. H.<sup>2\*</sup>

1. Graduated Master, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.
2. Assistant professor, Agricultural Engineering Research Department, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Semnan Province (Shahrood), AREEO, Shahrood, Iran.

(Received: 2018/12/02 Accepted: 2019/07/14)

Propolis is a resinous substance collected by honeybees from various plant sources. This study was aimed to evaluate antioxidative activities of propolis extract in sunflower oil during the storage period. In this study, the antioxidant capacities of the propolis extracts (ethanol, methanol and aqueous extracts) were determined initially using DPPH and the best extract was selected to add to oil. The results stated that the methanolic extract of propolis had the highest antioxidant activity. Then, different concentrations of methanolic extract (0, 0.5 and 1 percentage) were added to sunflower oil and incubated for 60 days at 25°C. To compare the propolis extract with synthetic antioxidants, commercial sunflower oil containing TBHQ was prepared and incubated, too. Peroxide values (PV), acidity index and thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) levels were measured every 20 days during the period of the study. The obtained data were analyzed using a completely randomized design. Results showed that the addition of antioxidant to sunflower oil lead to decrease of PV, TBARS and acidity values of samples. In this respect, 1% methanolic extract of propolis was more potent than the 0.5% extracts and synthetic Antioxidant. During storage, the amounts of oxidative indexes of samples were increased gradually. The highest amount of oxidation was observed for crude oil. The sensory results showed no significant difference between flavor, color, and overall acceptance scores of oil with propolis extract and commercial Sunflower oil, but the score of odor of oil with propolis extract was lower than the commercial oil. It seems that the methanolic extract of propolis is a potent antioxidant, which makes it a potential antioxidant for oil and oil products during storage.

**Keywords:** Antioxidant activity, Oxidation of oil, Propolis, Sunflower oil, Bee products

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: [h.ziaolhagh@areeo.ac.ir](mailto:h.ziaolhagh@areeo.ac.ir)