بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره برگ گیاه پونه (*Mentha pulegium*) بر پایداری اکسایشی روغن سویا

حورا طریقتی[۱]، زینب رفتنی امیری[۲*]، رضا اسماعیل زاده کناری[۲]

۱ دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی کشاورزی- علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.
۲ دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری.

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۴/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۶/۱۰)

چکیده

هدف از مطالعه حاضر، بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ گیاه پونه استخراجی توسط روش پروب فراصوت و اثر آن در پایداری اکسایشی روغن سویا در طی نگهداری است. غلظت های مختلف (۳۰۰ تا ۸۰۰ پی پی ام) عصاره گیاه پونه و آنتی اکسیدان TBHQ (۱۰۰ پی پی ام) به روغن سویا اضافه گردیدند و طی ۷ روز در دمای ٦٥ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. میزان ترکیبات فنولی، راندمان استخراج و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها با مهار رادیکالی DPPH اندازه گیری شد. اندیس پراکسید و تیوباربیوتیک اسید در روغن با دو غلظت عصاره ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام، از روز صفر تا روز هفتم اندازه گیری گردیدند. نتایج نشان داد که بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی با اختلاف معنی داری نسبت به دیگر تیمارها، مربوط به تیمار ۱۰-۵۰ در غلظت ۵۰۰ پی پی ام عصاره بود که با آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ اختلاف معناداری نداشت ($p>0/05$). همچنین اندیس پراکسید و اندیس تیوباربیوتیک اسید در نمونه های حاوی عصاره پونه، در مقایسه با نمونه کنترل (روغن سویای بدون آنتی اکسیدان) بطور معنی داری کمتر بودند ($p<0/05$) وغلظت موثر عصاره پونه در پایداری اکسایشی روغن سویا، ۵۰۰ پی پی ام بود. با استناد بر نتایج بدست آمده می توان نتیجه گرفت که عصاره برگ پونه می‌تواند آنتی اکسیدان طبیعی مناسبی به عنوان جایگزین برای آنتی اکسیدان‌های سنتزی در صنعت روغن باشد.

کلید واژگان: آنتی اکسیدان، پروب فراصوت، پونه، عصاره

*مسئول مکاتبات: zramiri@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

۱- مقدمه

اکسیداسیون لیپیدها در حین نگهداری و فراوری محصولات غذایی و به دلیل وجود تعداد قابل توجهی پیوند دوگانه رخ می‌دهد که علاوه بر کاهش کیفیت تغذیه ای آن‌ها، سبب تولید رادیکال های آزاد و هیدروپراکسیدها می شود[۱]. این رادیکال های آزاد باعث اکسیداسیون خود به خودی و تولید ترکیبات شیمیایی نامطلوب و در نتیجه موجب بد طعمی و تندی در ماده غذایی می‌گردند. همچنین جذب این ترکیبات در بدن سبب بروز بیماری های مختلفی اعم از آلزایمر، سرطان، پیری و بیماری های قلبی می‌شود[۲]. مهمترین روغن گیاهی که در جهان تولید می‌شود، روغن سویاست که در جدول ۱ اسیدهای چرب آن قابل مشاهده است[۳]. اما از طرفی این روغن ترکیبات غیراشباع بالایی دارد که مستعد اکسایش هستند، از این رو برای جلوگیری از این واکنش، از آنتی اکسیدان های مصنوعی در صنعت استفاده می‌شود که با توجه به اثرات نامطلوبشان در حال حذف و جایگزینی بوسیله ی آنتی اکسیدان های طبیعی می‌باشند[٤]. بر اساس مطالعات انجام شده‌ی پیشین، می‌توان از عصاره ی گیاهان به دلیل دارا بودن مقادیر بالای ترکیبات فنولی، به عنوان آنتی اکسیدان های طبیعی استفاده نمود. برای استخراج عصاره ی گیاهان از روش های مختلفی استفاده می‌شود که یکی از موثرترین آن ها، پروب فراصوت است[٥]. در این روش که از سرعت و کارایی بالاتری در مقایسه با سایر روش ها برخوردار است، نفوذ حلال به بافت گیاهی توسط امواج فراصوت به خوبی اتفاق می‌افتد. با توجه به این موضوع، تخریب سلولی کارآمد و انتقال جرم موثر، ۲ فاکتور موثر در عصاره گیری می‌باشند [٦]. در پروب فراصوت، نمونه مدام با پروب در تماس است. از طرفی خطر تولید کف، آلوده شدن نمونه و عدم تکرار پذیری نیز در این روش وجود دارد. بطور کلی در هر یک از روش های استخراج، توجه به پارامترهایی اعم از دما، زمان، نوع حلال و نسبت حلال به نمونه حائز اهمیت است [۷]. جنس *Mentha*، یکی از گیاهان متعلق به خانواده ی نعناییان می‌باشد که ٦ گونه از آن در ایران یافت می‌شود [۸] و با توجه به دارا بودن مقادیر بالای ترکیبات پلی فنولی، به خاصیت آنتی اکسیدانیشان مشهورند. گونه های این جنس، عموما تحت عناوین نعنا و پونه در ایران معروفند و به عنوان گیاهان دارویی، دم نوش و طعم دهنده مورد استفاده قرار می‌گیرند (۹) که در این پژوهش از گونه پونه معروف به *Mentha pulegium* استفاده شده است. کامکار و همکاران [۹]، تاثیر عصاره پونه را در غلظت های مختلف بر روی پایداری اکسایشی روغن سویا طی زمان نگهداری (۷ روز، دمای ٦۰ درجه سانتیگراد) بررسی نمودند. نتایج نشان داد که اندیس پراکسید و تیوباربیوتیک اسید در این عصاره با افزایش غلظت کاهش یافت و بطور کلی اختلاف معنی داری با نمونه کنترل داشت. از سوی دیگر اندیس پراکسید در غلظت ۲۰۰ پی پی ام این عصاره در مقایسه با نمونه حاوی BHT، از روز چهارم به بعد اختلاف معنی داری وجود نداشت. همچنین برای اندیس تیوباربیوتیک اسید نیز در این غلظت از روز پنجم به بعد شاهد این روند بودند.

با توجه به موارد مذکور، هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره گیاه پونه استخراج شده توسط پروب فراصوت بر روی پایداری اکسایشی روغن سویا به عنوان جایگزینی طبیعی برای مصارف آنتی اکسیدانی می‌باشد.

Table 1 Fatty acids in soybean oil (3)

Fatty acids	Amount (Wt%)	Codex standard
Lauric	0.1	<0.1
Myristic	0.2	<0.5
Palmitic	10.7	7-14
Stearic	3.9	-----
Arachidonic	0.2	<0.6
Behenic	----	<0.5
Palmitoleic	0.3	<0.5
Oleic	22.8	18-26
Linoleic	50.8	50-57
Linolenic	6.7	5.5-10

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

برگ گیاه پونه مورد استفاده در این آزمایش از روستاهای اطراف شهر ساری جمع آوری گردید. برگ های پونه پس از تمیز شدن و خشک شدن در سایه و دمای اتاق، توسط آسیاب برقی بصورت پودر در آمدند. سپس این پودرها را از الکی با مش ٤٠ عبور داده و تا زمان استفاده در پوشش فویل در یخچال با دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این آزمایش اعم از اتانول، معرف فولین سیوکالتیو، کربنات سدیم، معرف DPPH، آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ، اسید گالیک، اسید استیک، کلروفرم، پتاسیم یدید، نشاسته، ۱-بوتانول، معرف TBA و هگزان با بالاترین خلوص و از شرکت های سیگما و مرک خریداری شدند. روغن سویای تصفیه شده ی بدون آنتی اکسیدان نیز از کارخانه کشت و صنعت شمال تهیه گردید.

۲-۲- روش ها

۲-۲-۱- عصاره گیری به روش پروب فراصوت

در این روش استخراج، از پروب فراصوت و نسبت نمونه به حلال ۱ به ۱۰ استفاده شد. ابتدا پودر خشک شده به حلال اتانول- آب (۵۰:۵۰) اضافه گردید و به طور جداگانه تحت امواج فراصوت با فرکانس ۲۰ کیلو هرتز و شدت ۷۵ برای زمان‌های مختلف ۱۰ و۲۰ دقیقه و دمای ٤٠ و ۵۰ درجه ی سانتیگراد قرار گرفت. در نهایت عصاره‌های استخراج شده با ٤٠٠٠ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سپس قسمت شفاف بالای مخلوط جدا گردید. عصاره های به دست آمده در دمای ٤٠ درجه سانتیگراد برای تبخیر حلال و رسیدن به وزن ثابت در آون گذاشته شدند. این عصاره ها تا زمان استفاده، در ظروف غیرقابل نفوذ به هوا و رطوبت در فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتیگراد نگهداری گردیدند[۱۲-۱۰].

۲-۲-۲- محاسبه راندمان استخراج

بازده استخراج هر کدام از عصاره های مذکور، از تقسیم وزن عصاره خشک شده ی هر گیاه بر وزن گیاه پودر شده مورد استفاده در هر استخراج (۲۰ گرم)، ضرب در ۱۰۰ بدست آمد [۱۳].

۲-۲-۳-اندازه گیری میزان ترکیبات فنلی کل

اندازه گیری ترکیبات فنلی کل به روش فولین سیوکالتیو انجام شد. در این روش معرف فولین در حضور ترکیبات فنولی در محلول قلیایی، احیا و رنگ آبی در محلول تولید می‌شود. این آزمون به روش ساویز و همکاران در سال ۲۰۱۵ [١٤] انجام گردید. مقدار کل ترکیبات فنولی بر مبنای اسید گالیک موجود در گرم نمونه خشک گزارش شد.

۲-۲-٤-اندازه گیری DPPH

برای این منظور، ۰/۳ میلی‌لیتر از عصاره با غلظت های ۳۰۰ تا ۸۰۰ پی پی ام را با ۲/۷ میلی‌لیتر از محلول رادیکال DPPH مخلوط کردیم و کاهش رادیکال DPPH نمونه‌ها از طریق پایش جذب در ۵۱۷ nm با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. در این آزمون آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ (۱۰۰ ppm) به جهت اهمیت و کاربرد گسترده‌ای که در صنایع غذایی دارد، به عنوان استاندارد برای مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی با عصاره‌ها استفاده شد و اثر مهارکنندگی به صورت درصد بیان شده و از معادله زیر محاسبه گردید: [۱۵].

$$\text{Scavenging Effect\%} = A_{DPPH} - A_S / A_{DPPH} \times 100$$

که A_{DPPH} و A_S به ترتیب نشان دهنده جذب رادیکال DPPH و جذب نمونه می‌باشد.

۲-۳- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها در روغن سویا

عصاره گیاه پونه استخراج شده به روش پروب فراصوت که دارای بالاترین میزان ترکیبات فنولی و مهار رادیکالی بود انتخاب گردید و در دو غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام و آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ در غلظت ۱۰۰ پی پی ام به روغن سویای بدون آنتی اکسیدان اضافه شدند و به مدت ۳۰ دقیقه بر روی همزن مغناطیسی مخلوط گردیدند. روغن سویای بدون آنتی اکسیدان نیز به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. سپس نمونه ها درون ظرف درب دار به آون با دمای ٦٥ درجه سانتیگراد منتقل شدند. مدت زمان آزمون ۸ روز بود که میزان پیشرفت اکسیداسیون روغن بطور روزانه (از روز صفر تا روز هفتم) با اندازه گیری عدد پراکسید، تیوباربیوتیک اسید و دی ان مزوج تعیین گردید.

۲-۳-۱- آزمون های شیمیایی روغن

اندازه گیری عدد پراکسید (PV)، تیوباربیوتیک اسید (TBA) و دی ان مزدوج (CDV) به ترتیب بر اساس روش‌های

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

AOAC [۱٦]، AOCS [۱۷] و میچوت و همکاران [۱۸] اندازه گیری شد.

۲-٤- آنالیز آماری

در این پژوهش، آنالیز آماری داده ها توسط مقایسه میانگین های بدست آمده از سه تکرار با آزمون دانکن در سطح ۵٪ و در طرح کاملا تصادفی در نرم افزار آماری SPSS مورد بررسی قرار گرفت. شکل ها نیز در نرم افزار Microsoft Excel ترسیم شدند. تیمارها با دو عدد نشان داده می شوند که از چپ به راست، زمان و دمای استخراج را نشان می‌دهند. شاهد نیز روغن سویای بدون آنتی اکسیدان می باشد که به عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شده است.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مقدار کل ترکیبات فنولی و راندمان استخراج

خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاهان، مربوط به ترکیبات فنولی آن ها (متابولیت ثانویه) می‌باشد. فنول ها ترکیباتی آلی هستند که شامل گروه هیدروکسیل متصل به حلقه ی آروماتیک می‌باشند و اتم هیدروژن گروه هیدروکسیل می تواند رادیکال های پیروکسیل را به دام بی‌اندازد و از اکسید شدن ترکیبات دیگر جلوگیری کند [۱۹]. نتایج آنالیز آماری در این تحقیق نشان داد که دما و زمان استخراج، تاثیر معنی داری بر مقدار ترکیبات فنولی و نیز راندمان استخراج دارد($p<۰۵/۰$). جدول ۲ مقایسه میانگین این مقادیر را نشان می‌دهد. بیشترین میزان ترکیبات فنولی و راندمان استخراج به ترتیب مربوط به دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و مدت زمان ۱۰ دقیقه و دمای ۵۰ درجه و مدت زمان ۲۰ دقیقه بود. طبق نتایج مشخص گردید که با افزایش زمان، میزان ترکیبات فنولی در دمای ٤۰ درجه سانتیگراد افزایش معناداری نداشت. اما طولانی شدن زمان در دمای ۵۰ درجه باعث کاهش معنی داری در میزان ترکیبات فنولی گردید که این کاهش می تواند مربوط به حساس بودن ترکیبات فنولی به دما باشد که با افزایش زمان منجر به تخریب بخشی از ترکیبات فنولی گردید. اگرچه ممکن است دما در طول استخراج انتقال جرم را افزایش دهد، اما ممکن است میزان تخریب ترکیبات را نیز افزایش دهد [۲۰]. بطور کلی افزایش دما از ٤۰ به ۵۰ درجه سانتیگراد، موجب افزایش ترکیبات فنولی شد که یعنی دمای بالاتر سبب استخراج بیشتر این ترکیبات می‌گردد اما افزایش زمان در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد با توجه به طولانی شدن در معرض قرار گرفتن ترکیبات فنولی در دمای بالا و حساس بودن این ترکیبات، مقدار این ترکیبات بطور معناداری کاهش یافت. دما و زمان استخراج، سبب پدیدار شدن افزایش معنی داری در راندمان استخراج عصاره شد، بطوریکه سیر صعودی معنی داری از تیمار اول تا تیمار چهارم را نشان داد. دهقان و همکاران [۲۱] بیان نمودند که دلیل کاهش راندمان در روش های سنتی مثل تقطیر با آب این است که با توجه به مدت زمان طولانی حرارت دادن برای رسیدن به دمای لازم جهت تبخیر ترکیبات فرار، بسیاری از این ترکیبات از دست می‌روند و ترکیبات غیر اشباع و استری تجزیه و انرژی و زمان زیادی نیز تلف خواهد شد.

تیکسیرا و همکاران در سال ۲۰۱۲ [۲۲]، میزان ترکیبات فنولی در گیاه پونه را با توجه به نوع حلال از ۰/۷ تا ۱۳/۳ میلی گرم اسید گالیک بر گرم خشک عصاره متفاوت یافتند که از کمترین به بیشترین مربوط به اتانول، آب سرد و آب داغ بود. این مقادیر در مقایسه با مطالعه ی دورمن و همکاران در سال ۲۰۰۳ [۲۳] که بین ۱۲۸/۱ الی ۲۳۰/۸ میلی گرم اسید گالیک بر گرم خشک عصاره گزارش شد، بسیار پایین بود. این تفاوت ها می تواند مربوط به نوع روش استخراج، حلال، دما و زمان استخراج، همچنین شرایط جغرافیایی گیاه و زمان برداشت آن باشد [۲٤].

رضایی ارمی و همکاران [۲۵]، ترکیبات فنولی عصاره ی الکلی و آبی نسترن وحشی را اندازه گیری نمودند. نتایج نشان داد که نوع حلال تاثیر معنی داری بر میزان ترکیبات فنولی داشته است، بطوریکه در بین حلال ها، بیشترین و کمترین میزان استخراج به ترتیب مربوط به عصاره متانولی و آبی بود. دلیل این تفاوت را اینگونه توجیه نمودند که آب با ایجاد محیط قطبی، برخی ترکیبات فنولی با درجه قطبیت پایین را استخراج نمی کند. اما حلال های آلی در ترکیب با آب، توانایی بالایی در استخراج دارند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

Table 2 Total phenolic compounds and extraction yeild of Mentha puleguim extracts

Sample	Extraction yield	Total phenolic content (mg of gallic acid/g of dry extract)
40-10	12.04 ± 0.05 [d]	330 ± 0.00 [b]
40-20	16.00 ± 0.01 [c]	329 ± 4.00 [b]
50-10	18.07 ± 0.03 [b]	364 ± 2.00 [a]
50-20	20.03 ± 0.02 [a]	268 ± 2.00 [d]

Means with different letters within column indicate significance difference at $P < 0.05$

۲-۳- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH

مهار رادیکال آزاد توسط عصاره استخراجی پونه در غلظت های ۳۰۰ تا ۸۰۰ پی پی ام با آزمون DPPH اندازه گیری گردید. طبق نتایج بدست آمده در شکل ۱، بین تیمار ها، هم از حیث غلظت و هم از حیث دما و زمان استخراج، اختلاف معنا داری وجود دارد. نتایج آنالیز واریانس نشان می‌دهد که اثر غلظت فنول عصاره‌ها بر مهار رادیکال های آزاد با افزایش غلظت معنادار بود. بالاترین مهار رادیکالی در غلظت ۵۰۰ پی پی ام و مربوط به تیمار ۱۰-۵۰ با درصد مهارکنندگی برابر با ۸۶/۰۱٪ بود. نتایج نشان داد که افزایش دما سبب افزایش مهار رادیکالی در عصاره گیاه پونه شده است. اما افزایش زمان استخراج در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد موجب کاهش این ویژگی گردید. این کاهش را می توان به حساس بودن ترکیبات فنولی به دما مرتبط دانست که طی افزایش زمان در دمای بالاتر موجب تخریب این ترکیبات و در نتیجه کاهش مهار رادیکالی شد که برعکس این روند در دمای ۴۰ درجه است، بدین معنا که افزایش زمان در دمای کمتر نه تنها آسیبی به ترکیبات فنولی نمی‌رساند، بلکه مهار رادیکالی را افزایش نیز می‌دهد که این نتایج مطابق با نتایج میزان ترکیبات فنولی در هر تیمار نیز می باشد. از سوی دیگر افزایش غلظت بیشتر از ۵۰۰ پی پی ام در نمونه ها، موجب ایجاد روند کاهشی در توانایی مهار رادیکالی گردید که می‌توان مرتبط به پدیدار شدن خاصیت پرواکسیدانی ترکیبات فنولی در غلظت بالا دانست.

بخشنده و همکاران [۲۶]، به فعالیت بالای آنتی اکسیدانی عصاره شاهدانه به روش استخراجی اولتراسوند نسبت به حلال دست یافتند. همچنین بیان نمودند که منوترپن های فنولیک موجود در عصاره، قدرت هیدروژن دهندگی بالایی دارند و قادر به احیای رادیکال های آزاد DPPH می باشند.

دلفانیان و همکاران [۲۷] در مطالعه‌ای به بررسی اثر روش‌های اولتراسوند، CO_2 فوق بحرانی و استخراج حلال بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های Ziziphus mauritiana Lam. با استفاده از تست‌های DPPH و بتاکاروتن پرداختند. عصاره اتانول-آب از عناب که با استخراج به کمک اولتراسوند به دست آوردند، بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داده است؛ بنابراین یافتند که استخراج با کمک اولتراسوند مؤثرترین روش برای استخراج ترکیبات فنولی است. شاه محمدی و همکاران [۲۴] مشاهده نمودند که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پونه در دوره پیش از گل دهی و گل دهی با حلال آب-متانول-استون به ترتیب ۸۴/۰۳٪ و ۸۷/۹ ٪ بوده که بیشترین درصد مهار رادیکالی را با اختلاف معنی داری نسبت به حلال متانول داشته است. در اینجا نیز این تفاوت ها می تواند مربوط به نوع روش استخراج، حلال و همچنین شرایط جغرافیایی گیاه و زمان برداشت آن باشد.

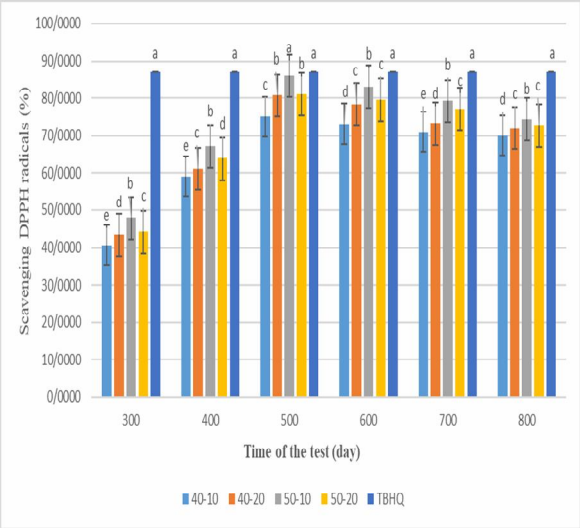

Fig 1 Change in Antioxidant activity of Mentha pulrgium extract in different concentrations

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

۳-۳- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه پونه در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا

۳-۳-۱- عدد پراکسید

محصولات اولیه حاصل از اکسیداسیون روغن ها که همان هیدروپراکسیدها می‌باشند، شاخصی در ارتباط با فساد شیمیایی روغن ها محسوب می‌شوند که میزان آن را با عدد پراکسید (PV) می‌سنجند. مقدار تولید این محصولات اولیه و شکست آن ها تابعی از ترکیب اسیدهای چرب، زمان و دما در روغن است [۲۸] بطور کلی هرچه قدر درجه غیر اشباعیت روغن ها بیشتر باشد، آمادگی بیشتری برای اکسید شدن دارند. در واقع حضور اسیدهای چرب غیر اشباع اسید لینولنیک و اسید لینولئیک در روغن سویا، موجب کاهش پایداری این روغن در برابر اکسیداسیون شده است. نتایج آنالیز آماری نشان داد که اثر غلظت و زمان از روز چهارم به بعد در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، در زمان های اولیه گرم خانه گذاری (٤ روز اول)، نمونه های روغن به جز روغن حاوی TBHQ که از روز دوم به بعد با دیگر نمونه ها اختلاف معنی دار داشت، اختلاف معنی داری در عدد پراکسید نداشتند ($p>۰/۰۵$). همچنین در این پژوهش در تمامی نمونه ها با افزایش زمان در دمای نگهداری ٦٥ درجه سانتیگراد، شاهد افزایش تدریجی عدد پراکسید بودیم که با نتایج کامکار و همکاران [۹]، ابوطالبیان و همکاران (۲۹) و علیخانی فرادنبه و همکاران [۵] مطابقت داشت. بالا رفتن عدد پراکسید به علت تشکیل هیدروپراکسیدها یا همان محصولات اولیه اکسیداسیون می باشد. در روزهای آغازین این آزمایش، سرعت تشکیل این مواد پایین بود که به تدریج از روز چهارم به بعد افزایش یافت. از روز دوم به بعد اختلاف معنی داری بین نمونه روغن حاوی TBHQ با دیگر نمونه ها مشاهده شد. بطور کلی در هر روز، کمترین و بیشترین عدد پراکسید به ترتیب مربوط به نمونه حاوی TBHQ و نمونه کنترل بود. در بین نمونه های حاوی عصاره پونه، کمترین عدد پراکسید مربوط به غلظت ۵۰۰ پی پی ام بود که می توان دلیل آن را بر اساس موارد مذکور در بخش فعالیت آنتی اکسیدانی، به فعالیت پراکسیدانی عصاره پونه در غلظت بالا مرتبط دانست. بطور کلی مهار رادیکالی توسط عصاره ها وابسته به غلظت می باشد و با افزایش غلظت افزایش می یابد اما گاهی این روند با افزایش غلظت معکوس می گردد. زیرا ترکیبات فنولی عموما تا یک غلظت خاصی اثر آنتی اکسیدانی دارند. هرچند در روزهای آغازین آزمون، اختلاف معنی داری مشهود نبود اما از روز چهارم به بعد، روغن حاوی مقادیر کمتر عصاره، پایداری اکسایشی بیشتری را از نشان داد.

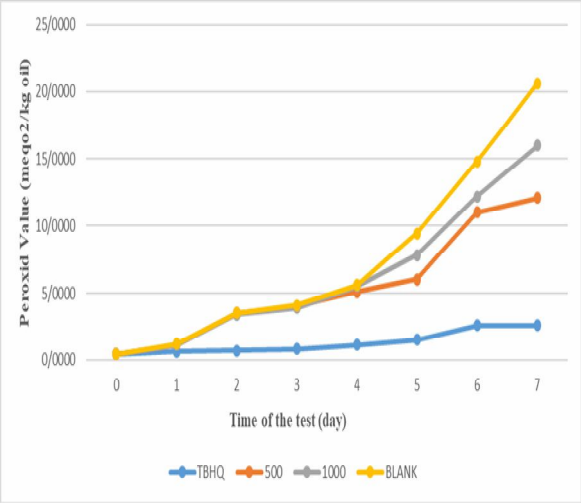

Fig 2: Change in peroxide value of soybean oil during oven test at 65°C

۳-۳-۲- عدد تیوباربیوتیک اسید

عدد پراکسید شاخصی از حضور هیدروپراکسید هاست (محصولات اولیه) و تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون را معلوم نمی کند. از این رو انجام آزمونی مانند تعیین عدد تیوباربیوتیک اسید(مقدار مالون آلدئید موجود در یک کیلوگرم روغن) که شاخصی از میزان پیشرفت اکسیداسیون و تولید محصولات ثانویه است، لازم به نظر می رسد. نتایج آماری نشان داد که نمونه های روغن حاوی عصاره گیاه پونه و آنتی اکسیدان TBHQ تفاوت معنی داری داشتند. همچنین اثر زمان نیز بر این فاکتور معنی دار بود، بطوریکه گذشت زمان موجب افزایش عدد تیوباربیوتیک شد. در بین روغن حاوی عصاره، غلظت ۵۰۰ پی پی ام با تفاوت معنی داری نسبت به غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام موجب ثبات بیشتری در پایداری روغن شد. البته این تفاوت معنی دار از روز دوم به بعد مشاهده گردید. در شکل ۳، افزایش مقدار مالون آلدئید در نمونه های روغن به چشم می‌خورد اما این افزایش در نمونه حاوی ۵۰۰ پی پی ام عصاره، شیب کمتری داشت (به غیر از TBHQ که کمترین شیب را نشان داد). در این آزمون نیز مانند آزمون عدد

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

پراکسید، قابلیت عصاره های پونه در مهار اکسیداسیون وابسته به غلظت بود بطوریکه افزایش غلظت موجب افزایش سرعت ثانویه اکسیداسیون در روغن گردید. زیرا ترکیبات فنولی تا یک غلظتی موجب کاهش سرعت اکسیداسیون می گردند اما در غلظت های بالاتر از آن اثر پراکسیدانی از خود نشان می دهند. افزایش عدد تیوباربیوتیک اسید در اثر تجزیه محصولات اولیه اکسیداسیون (هیدروپراکسیدها) ی تشکیل شده در روزهای اول و تبدیل آن ها به محصولات ثانویه (آلدئیدها و کتون ها) می‌باشد. در نتیجه با گذشت روزهای گرم خانه‌گذاری، مقدار این اندیس افزایش یافت. در تمامی روزها، بیشترین اندیس TBA مربوط به نمونه کنترل بود که با نتایج کامکار و همکاران [۹] مطابقت داشت.

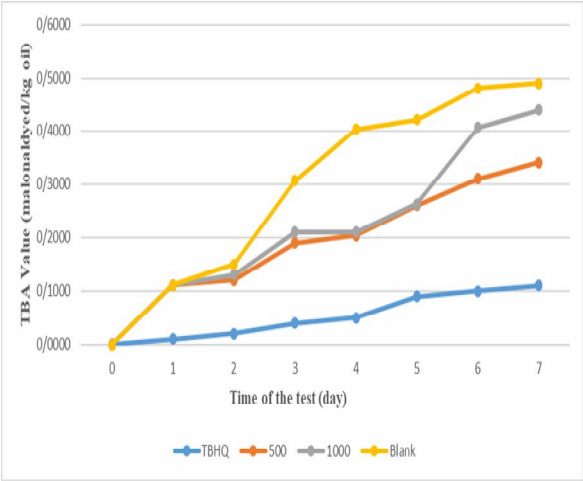

Fig 3: Change in TBA value of soybean oil during oven test at 65°C

۳-۳-۳- ارزیابی دی ان مزدج

یکی دیگر از معیارهای بررسی مراحل اولیه اکسیدان، تعیین میزان دی ان های مزدوج تولید شده می‌باشد. در طی فرایند اکسیداسیون، موقعیت پیوند دوگانه روغن های حاوی دی ان یا پلی ان جابجا شده، که موجب افزایش عدد دی ان مزدوج می‌گردد و با افزایش جذب در ناحیه UV همرا می باشد. افزایش جذب در ناحیه ۲۳۰ نانومتر، تشکیل محصولات اولیه اکسیداسیون (هیدروپراکسیدها) را نشان می‌دهد که رابطه مستقیمی با عدد پراکسید دارد [۳۰]. سطوح بالای عدد دی ان مزدوج نشان دهنده ی پایداری کمتر روغن در مقابل اکسیداسیون است. نتایج آنالیز آماری نشان داد که اثر غلظت و زمان بر میزان دی ان مزدوج نمونه های روغن سویا در سطح ۵ درصد معنی داد بوده است. از مقایسه میانگین عدد دی ان مزدوج نیز اینطور بدست آمد که روند تغییرات این اندیس در هر نمونه با گذشت زمان افزایشی بود (شکل ٤).

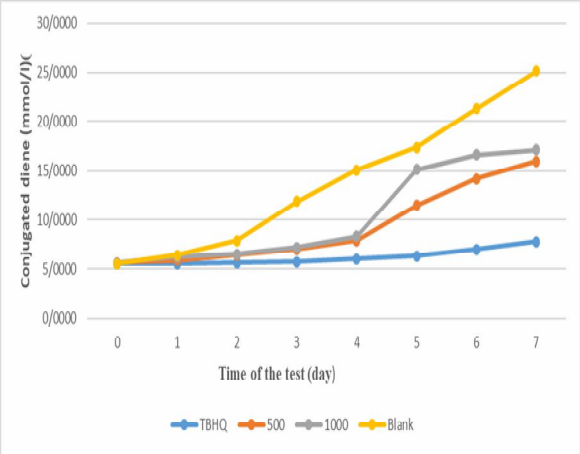

Fig 4: Change in CD value of soybean oil during oven test at 65°C

در این آزمون نیز بیشترین اندیس مربوط به نمونه کنترل بوده است. در روز صفر هیچ اختلاف معنا داری بین نمونه ها مشاهده نشد اما بعد از آن، اثر غلظت و زمان بر نمونه ها معنی دار بود. در بین دو غلظت عصاره، روغن حاوی غلظت کمتر(۵۰۰ پی پی ام) عدد دی ان مزدوج کمتری را از خود نشان داد که طبق دلایل مذکور به دلیل پدیدار شدن خاصیت پراکسیدی در غلظت بالاتر بود. تمامی نمونه ها با نمونه حاوی TBHQ اختلاف معنا داری داشتند.

٤- نتیجه گیری

نتایج در این پژوهش نشان داد که دما و زمان عصاره گیری، اثر معنا داری بر راندمان استخراج عصاره، میزان ترکیبات فنولی و مهار رادیکالی عصاره ها دارد. بیشترین ترکیبات فنولی مربوط به عصاره استخراج شده در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و مدت زمان ۱۰ دقیقه بود. بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی نیز مربوط به همین تیمار در غلظت ۵۰۰ پی پی ام مشاهده شد که اختلاف معناداری با TBHQ نداشت. خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره پونه در روغن وابسته به غلظت بود، بطوریکه ۵۰۰ پی پی ام خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام داشت که این به دلیل ایجاد خاصیت پرواکسیدانی ترکیبات فنولی این عصاره در غلظت بالاتر بود. بر اساس این مطالعه، برگ گیاه پونه به دلیل داشتن مقادیر بالای ترکیبات فنولی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی بوده و می تواند جایگزین نسبتا مناسبی برای آنتی اکسیدان های سنتزی در صنعت روغن و غذا باشد و موجب افزایش ایمنی غذایی گردد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

۵- منابع

[1] Santas, J., Guzman, Y., Guardiola, F., Rafecas, M. & Bou, R. 2014. High-throughput analysis of lipid hydroperoxides in edible oils and fats vsing the fluorescent reagent diphenyl- 1 pyrenylphosphine, Food Chemistry, 235-2410.

[2] Dzyuba, V., Koval, L. & Pekhnyo, V. 2016. An accessible method for the evalution of the thermo-oxidative stability of organic substrates based on vegetable oils, Thermochimica Acta, 632:91-93.

[3] Malek, F. 2000. Fat and edible vegetable properties and process, Publication of Farhang and ghalam, 464.

[4] Fervavdes, J.C.B. & Draghi, P.F. 2016. Thermal Stability of Soybean Oil: When must we discard it. Journal of MOJ Food Processing and Technology, Mini review, 5:1-5.

[5] Alikhani Faradonbeh, M., Esmaeilzadeh Kenari, R. & Ghaderi Ghahfarokhi, M. 2018. Evaluation of antioxidant effect of Kiwifruit (Actinidia deliciosa L.) peel extract in comparison with TBHQ synthetic antioxidant on oxidative stability of soybean oil. Journal of Food Sciences and Technology. No. 82.

[6] Luque-Garcia, J.L. & Luque de Castro, M.D. 2003. Where is microwave based analytical treatment for solid sample pretreatment going, Trends Anal, Chemistry, 22: 90–99.

[7] Du, G. Lim, Ma. & Fand Liang, D. 2009. Antioxidant capacity and relationship with polyphenol and vitamin C in Actinidia fruits, Journal of Food Chemistry, 113:557-562.

[8] Mozaffarian, V., 1996. A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser Publishers, Tehran.

[9] Kamkar, A., Jebelli Javan, A., Asadi, F. & Kamalinejad, M., 2010. The antioxidative effect of Iranian Mentha pulegium extracts and essential oil in sunflower oil. Food and Chemical Toxicology, 48:1796-1800.

[10] Rouhani, R. & Eyn afshar, R. 1394.Extract of Anthocyanin and Antioxidant Compounds of Saffron Flower Flag By Ultrasonic Waves. Iranian Food Science and Technology Research Journal.11:161-170.

[11] Ghorbani, M., Abounajmi, J. and Arab Hoseini, A. 1396. Effect of ultrasound on the amount of ascorbic acid extraction from fennel seeds and its extract in antioxidant properties improvement. Iranian Food Science and Technology Research Journal. 27:59-71.

[12] Nasirifar, Z., Sadeghi Mahounak, A. & Kamali, F., 1392. Effect of ultrasonic extraction conditions on amount of phenolic and flavonoid compounds extraction from Celtis australis. Electronic Journal of Food Processing and Preservation. 5: 115-130.

[13] Delfanian, M., Esmaeilzadeh Kenari, R. & Sahari, M. A., 2015. Influence of extraction techniques on antioxidantproperties and bioactive compounds of loquat fruit (Eriobotrya japonica Lind l.) skin and pulp extracts. Food Science & Nutrition, DOI: 10.1002/fsn3.201.

[14] Saviz, A., Esmaeilzadeh Kenari, R., Ali, M., and Kelagar, K. 2015. Investigation of Cultivate Zone and Ultrasound on Antioxidant Activity of Fenugreek Leaf Extract. Journal of Applied Environmental and Biological Sciences. 4, 174–181.

[15] Guimaraesr.Sousa.M.J.,Carvalho,.A.M., & Ferreira I.C.F.R. 2010. Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: Grapefruit, Lemon, Lime and Orange. Journal of Food and Chemical Toxicology, 48:99-106.

[16] AOAC. 2005. Official methods of Analysis, 15th Edition. Association of official analytical chemist.

[17] AOCS. 2007. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society (7th ed). Champaign: American Oil Chemists-Society.

[18] Michotte, D., Rogez, H., Chirinos, R., Mignolet, E., Campos, D. & Larondelle, Y. 2011. Linseed oil stabilization with pure natural phenolic compounds, Journal of Food Chemistry, 129:1228 - 1231.

[19] Nguyen, M.T., Kryachko, E.S. & Vanquickenborne, L.G., 2003. General and theoretical aspects of phenols. In: Rappoport, Z. (Ed.), The Chemistry of Phenols. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, West Sussex, UK, pp. 1–198.

[20] Carrera, C., Ruiz-Rodríguez, A., Palma, M., & Barroso, C. G. (2012). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Analytica Chimica Acta*, *732*, 100–104. https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.11.032.

[21] Dehghan, B., Esmaeilzadeh Kenari, R.,

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

Raftani Amiri, Z. 1397. Comparison of chemical compounds and antioxidant activity of Essential oils of orange peel extracted by two methods of supercritical fluid and distillation with water. Journal of Food Sciences and Technology. 77(15).

[22] Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Batista, I., Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., Nogueira, J. M.F., Saraiva, J. A. & Nunes, M. L., 2012. European pennyroyal (Mentha pulegium) from Portugal: Chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. Industrial Crops and Products. 36:81-87.

[23] Dorman, H.J.D., Kosar, M., Kahlos, K., Holm, Y. & Hiltunen, R., 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from Mentha species, hybrids, varieties, and cultivars. J. Agric. Food Chem. 51, 4563–4569.

[24] Shahmohamadi, R., Sariri, R., Rasa, M. & Aghamali, M., 2014. Antioxidant Activity of Gilan Mentha pulegium During Growth. Pakistan Journal of Biological Sciences. 17(3): 380-387.

[25] Rezaei Erami, S., Raftani Amiri, Z. 1396. Evaluation of phenolic compounds, Flavonoid and antioxidant activity of aqueous and alcoholic extract of Nastaran fruit (Rosa canina L.) of northern Iran. Journal of Food Research. 27(3): 65-76.

[26] Bakhshandeh, T., Esmaeilzade Kenari, R., Raftani Amiri, Z. 1396. Investigation of the Effect of Free Extract and Cannabis Nanoparticles on Oxidative Stability of Soybean Oil. Journal of Food Sciences and Technology. 81(15).

[27] Delfanian, M., Esmaeilzadeh Kenari, R. & Sahari, M.A. 2016. Utilization of Jujube Fruit (Ziziphus mauritiana Lam.) Extracts as a Natural Antioxidants in Stability of Frying Oil, International Journal of Food, 789-801.

[28] Nematshahi, M. M., Hadad Khodaparast, M. H., Elhami Rad. A. H. & Hooshmand Dalir, M. A., 1395. Investigation of Chemical Composition and Antioxidant Properties of Laurus nobilis L. leaf extract and its Effect on Canola oil Stability during Storage. Journal of Innovation in Food Sciences and Technology.

[29] Abootalebian, M., Keramat, J., Kadivar, M., Ahmadi, F. & Abdinian, M., 2016. Comparison of total phenolic and antioxidant activity of different Mentha spicata and M. longifolia accessions. Annals of Agricultural Science. 61: 175–179.

[30] Shahidi F. and Zhong Y. 2005. Citrus Oils and Essences (Vol, 3). Canada: Bailleys Industrial Oil and Fat Products.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

Antioxidant effect of *Mentha pulegium* leaf extract on oxidative stability in soybean oil

Tarighati, H. [1*], Raftani Amiri, Z. [2*], Esmaeilzadeh Kenari, R. [2]

1. Msc student of Food Science and Technology, Department of Food Science and Industry, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University(SANRU), Sari, Iran
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University(SANRU), Sari, Iran

(Received: 2019/07/22 Accepted:2019/09/01)

The aim of this study was to investigate the antioxidant activity of *Mentha pulegium* leave extract that was performed by ultrasound probes and its effect on oxidative stability in soybean oil during storage. Various concentrations (300 to 800 ppm) of *Mentha pulegium* leave extract and TBHQ (100 ppm) were added to soybean oil and incubated at 65 ° C for 7 days. The total phenolic compounds of extracts were measured by Folin- Ciocalteu method and their antioxidant activity was performed using 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical scavenging (at 300 to 800 ppm) compared to TBHQ. Peroxide values (PVs) and thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) levels were measured in each day up to day of seven in two concentrations of extracts (500 and 1000 ppm). Statistical analysis showed that the highest antioxidant activity belonged to treat number 3(50 °°, 10 min) at 500 ppm, which did not show significant difference with TBHQ ($p > 0.05$). Also, PVs and TBARS levels in samples containing extracts were significantly lower than control sample ($p < 0.05$). Based on the results, it can be concluded that *Mentha pulegium* leaf extract can be a suitable natural antioxidant as an alternative to synthetic antioxidants in the oil industry.

Keywords: Antioxidant, Extract, *Mentha pulegium*, Ultrasound probes

* Corresponding Author E-Mail Address: zramiri@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]