

بررسی استخراج ترکیبات فنلی برگ های رزماری به روش امواج فراصوت و تاثیر آن بر خواص ارگانولپتیکی، فیزیکوشیمیایی و پایداری اکسیداتیو روغن زیتون بکر

طاهره فریدونی نوری^۱، مریم فهیم دانش^{۲*}، محمد علی سحری^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

(تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۷)

چکیده

روغن زیتون بکر به علت داشتن اسیدهای چرب غیراشباع در معرض انواع فساد از جمله واکنش های آنزیمی و اکسایش لیپیدی است. یکی از راه های جلوگیری از اکسیداسیون روغن ها و چربی ها افزودن آنتی اکسیدان ها است. رزماری به دلیل داشتن ترکیبات فنولیک و سایر ترکیبات آنتی اکسیدانی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می باشد. در این تحقیق، استخراج ترکیبات فنولیک برگ رزماری در روغن زیتون بکر به روش اولتراسونیک انجام گرفته است. در این روش برگ رزماری با سه سطح ۵، ۷ و ۱۰٪ با سه زمان ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه اولتراسونیک به روغن زیتون اضافه شد. میزان ترکیبات فنولیک موجود در عصاره ها، اندازه گیری گردید. نتایج نشان دادند که در این روش روغن زیتون بکر با ۱۰٪ رزماری و زمان استخراج ۱۰ دقیقه دارای بیشترین مقدار پلی فنل تام (۴۵۷/۵۹ میلی گرم اسید تانیک در کیلوگرم روغن) می باشد. سپس اثر این عصاره ها در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن زیتون بکر در طول دوره ۴ ماهه، از طریق تعیین عدد پراکسید، عدد تیوباربیتوریک اسید، رنسیمت، ترکیبات پلی فنل تام، اسیدیته و رنگ در پایان هر ماه، انجام پذیرفته است. نتایج نشان داد بعد از چهار ماه نگهداری نمونه حاوی عصاره، عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید کمتری (به ترتیب meq O₂/kg oil ۲۰/۷۵ و ۰/۰۸ mg MDA/kg oil) را نسبت به نمونه شاهد (به ترتیب meq O₂/kg oil ۳۰/۴۱ و ۱/۳۲ mg MDA/kg oil) داشت. نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره با روش رنسیمت نشان داد که طول دوره ی القاء در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد در نمونه اولتراسونیک (۱۰/۲۹ ساعت) نسبت به نمونه شاهد (۶/۲۸ ساعت) افزایش یافت. عدد اسیدیته در نمونه ی اولتراسونیک (%FFA ۲/۰۵) نسبت به شاهد (%FFA ۳/۱۸) کمتر بود. نتایج حاصل از اندازه گیری میزان کلروفیل نشان داد که مقدار این رنگدانه در نمونه اولتراسونیک دارای بیشترین مقدار (۴/۰۱ mg/kg) در مقایسه با شاهد (۰/۶۳ mg/kg) می باشد. در مورد ارزیابی حسی نیز نمونه اولتراسونیک بالاترین امتیاز از نظر طعم، بو، تندی و پذیرش کلی را به خود اختصاص داد. بنابراین ترکیبات فنلی موجود در روغن زیتون حاوی رزماری که به روش اولتراسونیک عصاره گیری شده قادرند به خوبی روند اکسیداسیون را کند نمایند بدین ترتیب می توان رزماری را به عنوان منبعی برای آنتی اکسیدان های طبیعی و نیز طعم دار کردن روغن زیتون معرفی نمود و این اثر را ناشی از حضور ترکیبات فنولیک در آن ها دانست.

کلید واژگان: رزماری، استخراج، اولتراسونیک، ترکیبات فنولیک، آنتی اکسیدان، روغن زیتون

۱-مقدمه

با توجه به اهمیت و جایگاه زیتون به عنوان میوه‌ای روغنی و ارزشمند از لحاظ اقتصادی، در سالهای اخیر تحقیقات انجام گرفته در زمینه فواید تغذیه‌ای آن باعث افزایش تمایل مردم نسبت به مصرف و در نتیجه رشد تولید این محصول در ایران و جهان شده است [۱].

میزان بالای اسید اولئیک روغن زیتون از سرعت رسوب اسیدهای چرب در جدار سرخرگها می‌کاهد. ضمن آن که روغنهای حاوی مقادیر بیشتر اسیدهای چرب تک غیراشباع و نیز کمتر اسیدهای چرب به کاهش میزان کلسترول سرمی منجر می‌شوند [۲].

اکسیداسیون یکی از مهمترین و شناخته شده ترین دلایل فساد روغن ها طی دوره نگهداری یا فراوری آنها محسوب می شود. بیشتر روغن های خوراکی گیاهی حاوی مقادیر زیاد اسیدهای چرب غیر اشباع بسیار مستعد به اکسیداسیون می - باشند. روغن زیتون بکر به علت داشتن اسیدهای چرب غیر اشباع در معرض انواع فساد از جمله واکنش های آنزیمی و اکسایش لیپیدی است. جهت به تاخیر انداختن یا کند کردن روند واکنش اکسیداسیون، آنتی اکسیدان های سنتزی در بسیاری از کشورهای جهان کاربرد وسیعی دارند. این ترکیبات ارزان و در دسترس بوده و کارائی زیادی در مهار اکسیداسیون دارند اما با توجه به اینکه نقش آنها در گسترش بیماری هائی نظیر سرطان و بیماریهای قلبی و عروقی و کبدی به خوبی شناخته شده، امروزه جایگزین کردن این ترکیبات با آنتی اکسیدان های طبیعی با منشأ گیاهی بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۳].

بیشتر آنتی اکسیدان های طبیعی قابل پذیرش، اجزاء غذایی معمولی هستند که انسان همواره آنها را از طریق رژیم غذایی خود مصرف می کند. از مهمترین منابع آنتی اکسیدانی موجود در رژیم غذایی می توان به توکوفرول ها، گلو تاتیون ها، اسید اسکوربیک و نمک های اسکوربات، کاروتنوئیدها و ترکیبات فنولی اشاره کرد [۴]. از بین ترکیبات گیاهی که دارای خواص آنتی اکسیدانی می باشند، ترکیبات فنلی توزیع گسترده ای در بسیاری گیاهان دارند. ویژگی های آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی عمدتاً ناشی از قدرت احیاء کنندگی و ساختار شیمیایی آنهاست که آنها را قادر به خنثی کردن رادیکال های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون های فلزی و خاموش کردن ملکول های اکسیژن یگانه و سه گانه می سازد. ترکیبات فنلی از طریق

اهداء الکترون به رادیکال های آزاد واکنش های اکسیداسیون چربی را مهار می کنند [۵].

رزماری با نام علمی *Rosmarinus officinalis* متعلق به خانواده نعنائیان (*Lamiaceae*) می باشد. بیشترین اسانس در برگهای این گیاه وجود دارد اما ساقه و گل نیز حاوی مقادیر کمی اسانس هستند [۶]. عمده ترین ترکیبات موجود در اسانس روغنی رزماری شامل: ۱-۸- سینئول^۱، بورنئول^۲، کامفر^۳، بورنیل استات^۴، آلفا پینن^۵، بتا پینن^۶ است که بسته به محل و شرایط جغرافیایی محل کشت گیاه؛ میزان و درصد هر یک از این مواد متغیر می باشد. ترکیبات دیگری نیز در روغن فرار رزماری به مقدار کم وجود دارند [۶]. از سایر ترکیبات طبیعی موجود در برگ و سرشاخه های گلدار رزماری شامل این دسته ها می شود: فلاونوئیدها مانند جنکوانین^۷، لونئولین^۸، اسیدهای فنلی مانند اسید رزمارینیک^۹، دی ترین ها، تری ترین ها، تانن ها، مواد تلخ، رزین، ساپونین، مقداری چربی، کربوهیدرات، پروتئین، فیبر و برخی املاح معدنی و ویتامینها است. در میان ترکیبات نامبرده رزمانول و کارنوسول، خاصیت آنتی اکسیدانی قوی دارند و فلاونوئیدها، و فنول دی ترین ها، خاصیت ضد میکروبی دارند و به دلیل این دو خاصیت است که رزماری در صنایع غذایی مورد توجه واقع شده است. محققان متعددی گزارش کرده اند که اثرات آنتی اکسیدانی عصاره رزماری در بخش غیر اسانسی عمدتاً مربوط به ترکیب- های فنلی دی ترینی نظیر، کارنوزیک اسید، لیباتیک اسید، رزمارینیک اسید و کافنیک اسید، کارنوسول، رزمانول و رزماری فنول است که زنجیره تولید رادیکال های آزاد را با دادن یک اتم هیدروژن می شکنند و متعاقب آن اکسیداسیون چربی را به تاخیر می اندازد [۷]. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی امکان استفاده از عصاره برگ رزماری برای پایدارسازی روغن زیتون به عنوان یکی از گیاهان دارویی و بومی کشور طی استخراج با امواج اولتراسونیک انجام شد. همچنین با این روش تهیه محصولی طعم دار از روغن زیتون (برای کسانی که طعم

1-1,8-Cineole
2 -Borneol
3 -Camphor
4 -Bornyl acetate
5 -Alpha-Pinene
6 -Beta-Pinene
7-Genkwanin
8 -Luteolin
9 -Rosmarinic Acid

- استخراج عصاره رزماری به روش اولتراسونیک در روغن زیتون بکر:

در این پژوهش، برگهای رزماری پس از جمع آوری، شستن و خشک کردن در آون با درجه حرارت 105°C به سه نسبت به سه نمونه روغن زیتون بکر اضافه شد. تهیه نمونه روغن زیتون حاوی عصاره رزماری با روش استخراج امواج فراصوت در حمام اولتراسوند (مدل D-78224 singen/ Htw ساخت شرکت Elma Dqnamica کشور آلمان) با افزودن سه سطح ۵، ۷، ۱۰٪ برگ رزماری و سه زمان استخراج ۱۰، ۱۵، ۲۰ دقیقه با دمای ثابت در روغن زیتون انجام گرفت. بدین ترتیب ۹ نمونه روغن زیتون تهیه شد. در نهایت یک نمونه روغن زیتون بکر حاوی بیشترین عصاره فنلی استخراج شده از رزماری به همراه نمونه شاهد (بدون برگ رزماری) در ظروف شیشه ای تیره رنگ و غیر قابل نفوذ به هوا و نور در دمای محیط قرار گرفتند. نمونه های به مدت ۴ ماه در این شرایط نگهداری شدند و تغییرات عدد پراکسید، عدد تیوباریتوریک اسید، و پایداری اکسیداتیو عدد اسیدیت، در انتهای هر ماه اندازه گیری شد و در نهایت ارزیابی حسی نیز بررسی شد.

۲-۱- اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فنولی

مقدار کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتو، اندازه گیری شد. نتایج بر حسب میلی گرم تانیک اسید در کیلوگرم روغن زیتون بکر بیان شد [۱۰].

۲-۲- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره در

روغن زیتون بکر

نمونه روغن زیتون بکر حاوی عصاره رزماری استخراج شده با روش اولتراسونیک به همراه همان مقدار روغن زیتون (بدون هیچگونه افزودنی) نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. نگهداری نمونه ۴ ماه به طول انجامید و طی این مدت، میزان پیشرفت اکسیداسیون روغن زیتون در ماه صفر (بلافاصله پس از تولید)، پایان ماه اول، دوم، سوم و چهارم با اندازه گیری عددپراکسید، عددتیوباریتوریک اسید، و پایداری اکسیداتیو در انتهای هر ماه تعیین گردید.

روغن زیتون بکر را نمی پسندند و نوع طعم دار آن را مصرف می نمایند) امکان پذیر خواهد بود.

ذوالفقاری و همکاران، در سال ۱۳۸۸، در مطالعه ای اثر سه روش عصاره گیری همراه با اولتراسونیک، امواج مایکروویو و عصاره گیری همراه با مایع فوق بحرانی به منظور استخراج ترکیبات گیاهی را بررسی نمودند. که نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تخریب موثر بافت گیاهی و نفوذ حلال به داخل آن از خصوصیات روش عصاره گیری همراه با امواج فراصوت می باشد [۸]. همچنین صمد لویی و همکاران در سال ۱۳۸۶، ترکیبات فنولیک هسته ده رقم انار را با حلال استن و به کمک امواج فراصوت استخراج و ضمن اندازه گیری مقدار آن ها به روش فولین-سیوکالتو، اثر آنتی اکسیدانی نمونه ای که بیشترین مقدار ترکیبات فنولیک را داشت بر روغن سویا بررسی کردند. نتایج نشان داد که اولاً ترکیبات فنولیک هسته انار اثر آنتی اکسیدانی دارند و ثانیاً تیمار 350ppm از ترکیبات فنولیک استخراج شده از هسته انار بیشترین اثر آنتی اکسیدانی را دارد [۹].

۲- مواد و روش ها

برگ رزماری مورد استفاده در این تحقیق در آبان ماه ۱۳۹۱ از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی واقع در شهرستان همدان جمع آوری گردید. روغن زیتون بکر از شرکت کشت و صنعت فدک تهیه شد و در دمای 18°C - درجه سانتیگراد نگهداری شد. جهت انجام آزمون های شیمیایی از مواد و محلول های شرکت Merck آلمان استفاده شد.

- آزمون های شیمیایی روغن زیتون بکر:

آزمون های عددپراکسید، عدد تیوباریتوریک اسید، پایداری اکسیداتیو مطابق روش استاندارد ملی ایران به ترتیب شماره ۱۷۹، ۱۰۴۹۴، ۳۷۳۷ انجام شد (جدول ۱).

جدول ۱ ویژگی های شیمیایی روغن زیتون بکر اولیه

پارامتر	نتیجه
عدد پراکسید	$11/41 \pm 0/38$
عدد تیوباریتوریک اسید	$0/03 \pm 0/0005$
ترکیبات پلی فنل تام	$283/18 \pm 0/89$
پایداری اکسیداتیو	$15/89 \pm 0/35$

کلیه اعداد میانگین سه تکرار می باشد.

۲-۲-۱- اندازه گیری عدد پراکسید

این عدد نشان دهنده کل محتوای هیدروپراکسید و اکسیژن پراکسید چربی ها یا مواد حاوی چربی است. جهت انجام آزمون از روش استاندارد ملی ایران به شماره استاندارد ۴۱۷۹ استفاده شد [۱۱].

۲-۲-۲- اندازه گیری عدد تیوباریتوریک اسید

اندیس تیوباریتوریک اسید یک روش مرسوم برای اندازه گیری محصولات ثانویه اکسیداسیون چربیها که مقدار مالون دی آلدئید موجود در ۱۰۰۰ گرم چربی است. آن را می توان یک روش کمکی برای سایر روش ها از جمله اندازه گیری پراکسید، اسیدیته ... به حساب آورد. به همین دلیل در بررسی اثر آنتی اکسیدانی علاوه بر اندازه گیری روند افزایش پراکسید، روند افزایش تیوباریتوریک اسید نیز بررسی می گردد. جهت انجام این آزمون از روش استاندارد ملی ایران به شماره استاندارد ۱۰۴۹۴ استفاده شد [۱۲].

۲-۲-۳- اندازه گیری پایداری اکسیداتیو

زمان مقاومت به اکسید شدن با استفاده از دستگاه رنسیمت مدل ۷۴۳ ساخت شرکت Metrohm سوئیس، در درجه حرارت ۱۱۰ درجه سانتیگراد با جریان هوای ۲۰ لیتر در ساعت و مقدار ۲/۵ گرم نمونه، اندازه گیری شد. [۱۳ و ۱۴].

۲-۳- اندازه گیری اسیدیته

میلی گرم هیدروکسید پتاسیم مورد نیاز برای خشی کردن اسیدهای چرب آزاد در هر گرم چربی را عدد اسیدی می گویند. جهت انجام اندازه گیری اسیدیته از استاندارد ملی ایران به شماره استاندارد ۴۱۷۸ استفاده شد [۱۵].

۲-۴- آزمون رنگ سنجی

میزان کلروفیل و رنگدانه های موجود در روغن به طور معمول از طریق اسپکتروفتومتریک در ۶۷۰ و ۳۶۰ و ۷۱۰ نانومتر اندازه گیری می شود. مهمترین پیگمانهای موجود در روغن زیتون عبارتند از: ۱- کلروفیل a, b و فتوفیتین a, b ۲- کارتنوئیدها. روغن های زیتون بکر به علت اینکه هیچگونه عملیات و فرایندی روی آن ها انجام نشده است باید میزان کلروفیل بیشتری نسبت به سایر روغن ها داشته باشد. در این

پژوهش برای اندازه گیری میزان کلروفیل، از استاندارد AOCS به شماره Cc13i-96 استفاده شد.

۲-۵- آزمون ارزیابی حسی

روغن زیتون بکر و خالص باید دارای بو و طعم مخصوص زیتون بوده و عاری از هرگونه بو و مزه خارجی و طعم کهنگی باشد عطر و طعم و رنگ از پارامترهای کیفی مهم در ارزیابی حسی روغن زیتون می باشد. روغن زیتون بکر حاوی عصاره رزماری نیز عطر و طعم خاصی می باشد. نمونه ها پس از کد گذاری در اختیار ارزیابان قرار گرفت. کدگذاری نمونه ها به صورت A (نمونه روغن زیتون شاهد بدون رزماری در دمای محیط)، B (نمونه حاوی رزماری به روش اولتراسونیک) انجام شد. ویژگی های حسی نمونه ها نظیر بو، طعم، تندی و پذیرش کلی با استفاده از روش هدونیک ۵ نقطه ای توسط ۸ نفر ارزیاب آموزش دیده با تکمیل پرسش نامه ارزیابی، تعیین گردید. تجزیه و تحلیل داده های بدست آمده از آزمون ارزیابی حسی به روش آماری فریدمن مورد مقایسه قرار گرفت.

۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

در فاز اول به منظور تجزیه و تحلیل داده ها، طرح بلوک کاملاً تصادفی، در نظر گرفته شد. آزمون مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد. هم چنین مقایسه ی میانگین اعداد پراکسید و تیوباریتوریک اسید مربوط به تیمارهای مختلف با طرح اندازه گیری های تکرار شده در زمان در سطح احتمال ۰.۵٪ صورت پذیرفت.

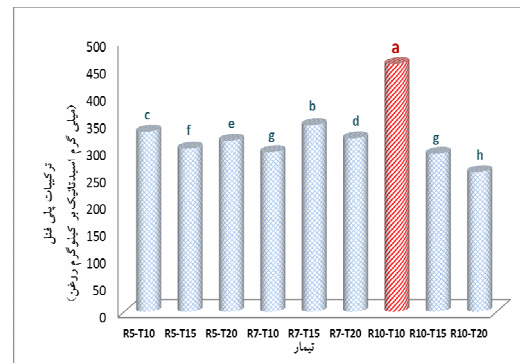
۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی تاثیر زمان اولتراسونیک و درصد

رزماری بر میزان استخراج ترکیبات پلی فنل

نتایج بدست آمده از بررسی تجزیه واریانس شناسایی نمونه ای با بیشترین ترکیبات پلی فنل در روش استخراج با اولتراسونیک نشان داد اثر زمانهای مختلف اولتراسونیک و درصد های

متفاوت رزماری و اثر دوگانه آنها بر میزان استخراج ترکیبات پلی فنل معنی دار بوده است ($p < 0.01$).



نمودار ۱ مقایسه میانگین ترکیبات پلی فنل تام بر اساس زمان اولتراسونیک و درصد رزماری

بنابراطلاعات بدست آمده (جدول ۲ و نمودار ۱) تیمار T10-R10 (نمونه‌ی روغن حاوی ۱۰٪ رزماری با مدت زمان ۱۰ دقیقه اولتراسونیک) بیشترین ترکیبات پلی فنل را استخراج نموده است (۴۵۷/۵۹ میلی گرم اسید تانیک در کیلو گرم روغن) و کمترین ترکیب پلی فنل استخراج شده مربوط به تیمار T20-R10 (نمونه‌ی روغن زیتون حاوی ۱۰٪ رزماری با مدت زمان ۲۰ دقیقه اولتراسونیک) می باشد (۲۵۸/۰۴ میلی گرم اسید تانیک در کیلو گرم روغن). علت بیشترین مقدار استخراج در کمترین زمان اولتراسونیک را می‌توان به مکانیزم فرایند اولتراسونیک نسبت داد.

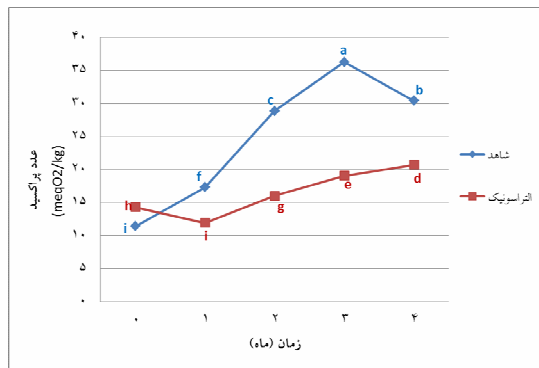
جدول ۲ مقایسه میانگین اثر متقابل درصد رزماری و زمان اولتراسونیک بر میزان استخراج ترکیبات پلی فنل در روش استخراج اولتراسونیک

زمان اولتراسونیک			
۲۰	۱۵	۱۰	درصد رزماری
$316/10 \pm 0/35^e$	$301/31 \pm 0/57^f$	$332/70 \pm 1/68^c$	۵٪
$320/46 \pm 1/83^d$	$334/80 \pm 4/38^b$	$294/80 \pm 0/64^g$	۷٪
$258/04 \pm 2/39^h$	$292/05 \pm 0/53^g$	$457/59 \pm 2/28^a$	۱۰٪

زمان اولتراسونیک صورت می‌گیرد که باعث کاهش مواد موثره‌ی عصاره حاصل در روغن زیتون بکر می‌شود. از سوی دیگر افزایش زمان اولتراسونیک باعث افزایش میزان اکسیداسیون در روغن زیتون به دلیل ایجاد رادیکالهای آزاد در پی متلاشی شده حباب‌ها ناشی از بکار بردن امواج فرا صوت شده و به دنبال آن باعث بالا رفتن میزان عدد پراکسید نمونه‌ها می‌شود [۱۷]. نتایج بدست آمده در این پژوهش با گزارشات ارائه شده توسط راوسون^۱ و همکاران در سال ۲۰۱۱، مطابقت داشت [۱۸]. همچنین این تحقیق با نتایج فیاض مهر و آصفی در سال ۱۳۹۱ مطابقت دارد [۱۹]. بنابراین بهترین نمونه انتخاب شده از این آزمون، مربوط به نمونه ی T10-R10 می باشد.

استفاده از امواج فراصوت با فرکانس بالاتر از ۲۰ کیلوهرتز، سبب نفوذ این امواج به داخل ماده گیاهی و باعث ایجاد کشیدگی و جمع شدن های پی در پی شده، در نتیجه حفراتی در داخل ماده گیاهی ایجاد می شود. این حفرات به صورت نامتقارن به هم پیوسته و موجب خروج سریع مواد از داخل سلول‌ها به خارج آن می شوند که سبب بهبود فرایند استخراج، به ویژه ترکیبات پلی فنل می‌شود [۱۶]. در روش استخراج عصاره با امواج فراصوت طول مدت عصاره گیری اهمیت خاصی داشته و افزایش بیش از حد آن موجب تغییر در کیفیت عصاره حاصله خواهد داشت. احتمالاً افزایش ورود ترکیبات ناخواسته از گیاه به داخل روغن زیتون، طی افزایش

1. Rawson et al.



نمودار ۲ مقایسه میانگین عدد پراکسید بر اساس اثر متقابل

روش استخراج و زمان نگهداری روغن

عدد پراکسید تیمار اولتراسونیک با افزودن رزماری و انجام فرایند استخراج از $11/41 \text{ mgO}_2/\text{kg oil}$ به $14/28 \text{ mgO}_2/\text{kg oil}$ افزایش می یابد دلیل این افزایش عدد پراکسید، انجام فرایند اولتراسونیک می باشد.

جدول ۳ مقایسه میانگین عدد پراکسید بر اساس اثر متقابل روش استخراج و زمان نگهداری

زمان نگهداری (ماه)					
تیمار	۰	۱	۲	۳	۴
شاهد	$11/41 \pm 0/38^a$	$17/31 \pm 0/4^f$	$28/89 \pm 0/35^c$	$36/26 \pm 0/47^a$	$30/41 \pm 0/52^b$
اولتراسونیک	$14/28 \pm 0/32^h$	$11/90 \pm 0/24^i$	$16/02 \pm 0/43^g$	$19/07 \pm 0/16^e$	$20/75 \pm 0/44^d$

*میانگین هایی که با حروف مشترک نمایش داده شده اند، اختلاف معنی داری وجود ندارد.

۲-۳- بررسی نتایج آزمون های انجام شده جهت بررسی پیشرفت واکنش های اکسیداسیون

۱-۲-۳- بررسی نتایج آزمون عدد پراکسید

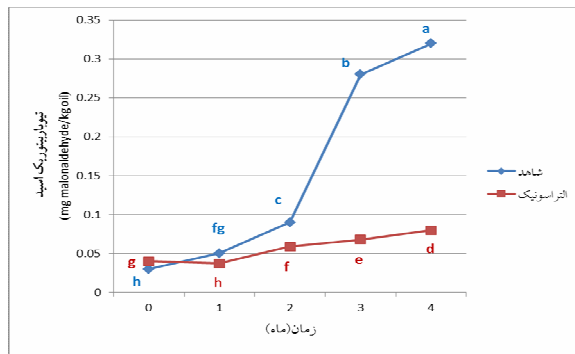
نتایج مربوط به مقایسه میانگین عدد پراکسید برای نمونه های تولید شده در جدول (۳) و نمودار (۲) ارائه گردیده است. بنابر اطلاعات بدست آمده از جدول تجزیه واریانس اثر روش، زمان و اثر دوگانه آن ها روی عدد پراکسید معنی دار بوده است ($P < 0/01$).

بر اساس نتایج بدست آمده در این پژوهش (نمودار ۲) نشان داد افزودن گیاه رزماری به عنوان آنتی آکسیدان به روغن زیتون بکر با روش استخراج اولتراسونیک در ابتدای تولید نمونه ها افزایش در عدد پراکسید را نسبت به نمونه شاهد داشت.

پیشرفت واکنش های اکسیداسیون و تولید هیدروپراکسیدها موثر بوده است ($P < 0/01$).

در زمان صفر پس از تولید با وجود افزایش میزان ترکیبات فنلی، بالا رفتن عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید مشاهده شد. اما با گذشت ۱ ماه یک کاهش ناگهانی در تیمار اولتراسونیک دیده شد. دلیل این کاهش را می توان به واکنش- های ثانویه اکسیداسیون و تولید کربونیل ها و ترکیبات فرار نسبت داد یا می تواند به علت خروج ترکیبات آنتی اکسیدانی بیشتر از گیاه رزماری به داخل روغن زیتون با گذشت زمان باشد. ترکیبات پلی فنلی به مرور با از بین بردن رادیکال های آزاد از تشکیل هیدروپراکسید جلوگیری نموده و باعث کاهش

فرایند اولتراسونیک نیز به علت ایجاد حباب و تشکیل رادیکال آزاد در پی متلاشی شدن حباب ها باعث افزایش عدد پراکسید در زمان صفر پس از تولید می شود. که با اثر بر اسیدهای چرب آزاد تولید هیدرو پراکسید می نماید. آنتی اکسیدانها قادر به جلوگیری از این واکنش می باشند. و همچنین بالا رفتن سریع عدد پراکسید می تواند به علت عدم استفاده از آنتی اکسیدان در نمونه شاهد باشد. همچنین نمودار (۲) نشان می دهد که غنی سازی روغن زیتون با آنتی اکسیدان به روش اولتراسونیک بعد از گذشت چهار ماه در مقایسه با روز اول نسبت به نمونه شاهد به طور معنی داری در کاهش میزان



نمودار ۳ مقایسه میانگین عدد تیوباربتوریک اسید بر اساس اثر

متقابل روش استخراج و زمان نگهداری روغن زیتون بکر

حاوی رزماری و شاهد

با گذشت ۱ ماه میزان این شاخص در تیمار فرایند شده به دلیل کاهش عددپراکسید در پی استخراج بیشتر ترکیبات فنولیک، نسبت به تیمار شاهد به طور معنی داری کمتر می-باشد. روند افزایش این شاخص تا انتهای ماه دوم با سرعت کمتری صورت گرفت، اما با گذشت ۱ ماه دیگر (انتهای ماه دوم)، به علت عدم حضور ترکیبات آنتی اکسیدانی، مقدار هیدروپراکسید ها با سرعت بیشتری تشکیل شده و به بالاترین مقدار خود می-رسند و باعث افزایش ناگهانی عدد به مقدار ۳۶/۲۶ میلی گرم مالون الدئید در کیلوگرم روغن می شود، در اینجا بر اثر تجزیه هیدروپراکسید ها، میزان شاخص TBA افزایش چشمگیری را نشان داد. بنابراین افزایش ناگهانی این شاخص در ماه سوم در نمونه شاهد می تواند به دلیل تشکیل بیش از حد هیدروپراکسید در این ماه باشد که با شکست میزان بیشتری از این ترکیب میزان الدهید ها و کتون ها بیشتر و متعاقب آن میزان این شاخص به بالاترین حد خود می-رسد. میزان این شاخص در پایان زمان نگهداری در تیمارهای حاوی عصاره رزماری به طور معنی داری ($P < 0.01$) کمتر از تیمار شاهد بود.

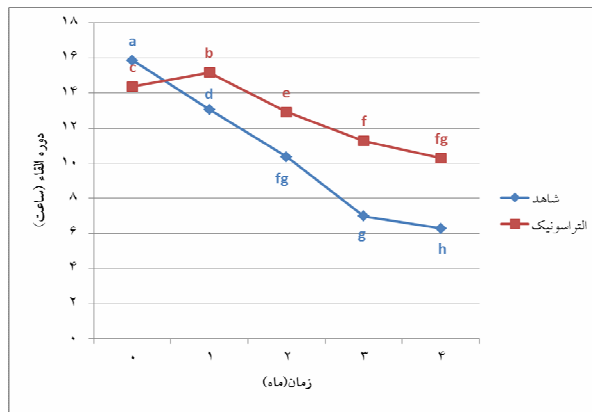
در تیمار شاهد به دلیل این که با گذشت زمان و رسیدن میزان پراکسید به سطح مشخص، پراکسید شروع به تجزیه شدن می-نماید. بنابراین باعث تولید آلدئید، کتون، اسید و افزایش TBA می گردد که در نتیجه منجر به کاهش مقدار پراکسید در انتهای ماه چهارم می-گردد. اما در تیمارهای حاوی رزماری به دلیل وجود ترکیباتی با خواص آنتی اکسیدانی از افزایش TBA با سرعت زیاد جلوگیری می شود و در انتهای ماه چهارم میزان

عدد پراکسید می شود. اما از ماه دوم به بعد عدد پراکسید در هر سه نمونه افزایش یافت. اما افزایش عدد پراکسید در نمونه شاهد با گذشت ۱ ماه با سرعت بیشتری افزایش داشت تا ماه سوم به بالاترین میزان خود رسید و از ماه سوم به بعد به علت تجزیه هیدروپراکسیدها مقدار آن رو به کاهش نهاد. تشکیل سریع هیدروپراکسید ها در تیمار شاهد علاوه بر نتیجه عمل اتواکسیداسیون می تواند تا حد کمی هم به واکنش اکسیداسیون آنزیمی مربوط باشد این واکنش توسط آنزیم لیپوکسی ژناز کاتالیز می شود. علت را می توان به بالا بودن میزان ترکیبات پلی فنل استخراج شده از رزماری با روش اولتراسونیک نسبت داد. ترکیبات پلی فنل به دلیل داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی و دادن اتم هیدروژن به رادیکال های آزاد تولید شده در حین فرایند، از پیشرفت اکسیداسیون جلوگیری می نماید.

۳-۲-۲- بررسی نتایج آزمون عدد تیوباربتوریک اسید

اندیس تیوباربتوریک اسید مقدار مالون دی الدئید موجود در ۱۰۰۰ گرم چربی است. بنابر اطلاعات بدست آمده از جدول تجزیه واریانس، اثر روش استخراج و زمان نگهداری و اثر متقابل آن ها بر عدد تیوباربتوریک اسید معنی دار بوده است ($P < 0.01$). روند افزایش پراکسید با روند افزایش TBA¹ هماهنگی ندارد بطوریکه افزایش عدد پراکسید نسبت به افزایش شاخص TBA با سرعت بیشتری صورت می گیرد. روند تغییرات عدد TBA و پراکسید طی اکسایش لیپیدی افزایشی است که پس از رسیدن به حداکثر مقدار خود، روند نزولی از خود نشان می دهد. این روند در خصوص همه تیمارها افزایش بود. با مقایسه عددپراکسید (نمودار ۲) و عدد تیوباربتوریک اسید (نمودار ۳) می توان به ارتباط مستقیم بین تولید هیدروپراکسیدها و افزایش عدد تیوباربتوریک اسید اشاره داشت. طبق این دو نمودار می توان گفت میزان TBA در زمان صفر (بلافاصله پس از تولید) در تیمار اولتراسونیک، بالاتر از میزان این شاخص در نمونه شاهد می باشد که به دلیل بالا رفتن شاخص پراکسید در این زمان در این تیمار می باشد.

1. Thiobarbitoric Acid



نمودار ۴ مقایسه میانگین عدد رنسیمت بر اساس اثر متقابل روش استخراج و زمان نگهداری روغن زیتون بکر حاوی رزماری و شاهد

با گذشت ۱ ماه به دلیل استخراج بیشتر ترکیبات پلی فنل و در پی آن کاهش عدد پراکسید، تیمار فرایند شده پایداری اکسیداتیو بیشتری را نشان داد (۱۵/۱۷ ساعت). بعد گذشت ماه اول کاهش پایداری اکسیداتیو در هر دو نمونه مشاهده شد. اما روند این کاهش در نمونه شاهد با سرعت بیشتری صورت گرفت و در تیمار اولتراسونیک با سرعت کمتری انجام شد. ارزیابی پایداری اکسیداتیو یا دوره القائی نمونه‌های حاوی آنتی اکسیدان رزماری و مقایسه آنها با نمونه شاهد به روش رنسیمت در $110 \pm 1/2^\circ\text{C}$ نشان می دهد که تیمار حاوی رزماری به روش اولتراسونیک با زمان پایداری ۱۰/۲۹ ساعت در دمای 110°C در پایان ماه چهارم، فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به نمونه‌ی شاهد دارد. با این حال نمونه شاهد به علت عدم حضور آنتی اکسیدان های رزماری و پروفایل خاص اسیدهای چرب آن، زمان بسیار کمتری حدود ۶/۲۸ ساعت دارد که نسبت به تیمار دیگر پایین بود. به همین دلیل عمر ماندگاری نمونه شاهد، به دلیل مستعد بودن به اکسیداسیون و عدم حضور آنتی اکسیدان چندان بالا نیست. قابل ذکر است که تمام نتایج حاصل از آزمون رنسیمت، نتایج حاصل از آزمون پراکسید را تایید کردند. نتایج این آزمون با نتایج تیموری و همکاران در سال ۱۳۹۰، مطابقت داشت. همچنین با نتایج بوآزیز^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۸ نیز مطابقت داشت [۲۱ و ۲۲].

این شاخص در تیمار اولتراسونیک به مقدار ۰/۰۸ میلی گرم مالون الدئید در کیلوگرم روغن رسید که به طور معنی داری با میزان این شاخص در پایان ماه چهارم در تیمار شاهد با مقدار ۰/۳۲ میلی گرم مالون الدئید در کیلوگرم روغن تفاوت داشت. در ماه پایانی آزمایش سرعت تشکیل محصولات اولیه اکسیداسیون کاهش یافت. احتمالاً بخشی از هیدروپراکسید های تشکیل شده در مرحله انتشار شروع به تجزیه شدن نموده و به محصولات ثانویه ی اکسیداسیون نظیر مالون آلدئید تبدیل می شوند. افزایش چشمگیر عدد تیوباربتوریک اسید در ماه های پایانی آزمایش، کاهش مشاهده شده در سرعت تشکیل هیدروپراکسیدها در این ماه را تصدیق می نماید. به طور کلی مقادیر پراکسید و تیوباربتوریک اسید در روغن زیتون بکر حاوی رزماری در پایان ماه چهارم، به طور معنی داری ($P < 0/01$) کمتر از نمونه شاهد بود که می تواند به دلیل خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره رزماری باشد. تحقیقات انجام شده توسط صمدلویی و همکاران در سال ۱۳۸۶ با اندازه گیری عدد پراکسید و TBA ترکیبات فنولیک هسته انار روی روغن سویا حاکی از ارتباط مستقیم عدد پراکسید و TBA در مراحل اولیه اکسایش می باشد [۲۰].

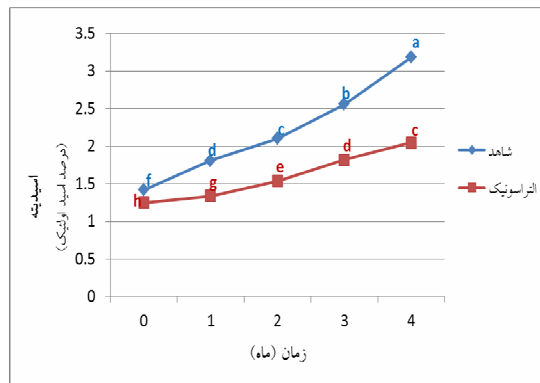
۳-۲-۳- نتایج آزمون پایداری اکسیداتیو (رنسیمت)

توانایی روغن در مقابل اکسیداسیون تحت عنوان پایداری اکسیداتیو روغن بیان می شود. وضعیت اکسیداسیون در ۱۱۰ درجه سانتیگراد بررسی گردید پایان زمان مقاومت به اکسید شدن زمانی است که به علت تجزیه اسیدهای کربوکسیلیک حاصل از اکسید شدن لیپید و جذب شدن آن در آب دیونیزه هدایت ویژه یک افزایش سریع را نشان می دهد. بر اساس نتایج بدست آمده از این پژوهش، اثر متقابل روش استخراج عصاره و زمان نگهداری بر پایداری اکسیداتیو تاثیر معنی داری داشته است ($P < 0/01$). طبق اطلاعات بدست آمده از نمودار ۴، در زمان صفر (بلافاصله پس از تولید) نمونه شاهد بیشترین پایداری را نشان داد. در همین زمان تیماری که تحت فرایند اولتراسونیک قرار گرفته بود به علت انجام فرایند و بالا رفتن میزان پراکسید، پایداری اکسیداتیو کمتری را نشان داد (۱۴/۳۷ ساعت).

جدول ۴ مقایسه میانگین عدد تیوباریتوریک اسید بر اساس اثر متقابل روش استخراج و زمان نگهداری

زمان نگهداری (ماه)					تیمار
۴	۳	۲	۱	۰	
0.08 ± 0.001^d	0.08 ± 0.001^e	0.09 ± 0.001^f	0.37 ± 0.001^h	0.4 ± 0.003^g	اولتراسونیک
0.32 ± 0.015^a	0.28 ± 0.006^b	0.09 ± 0.005^c	0.05 ± 0.005^e	0.33 ± 0.005^h	شاهد

* میانگین هایی که با حروف مشترک نمایش داده شده اند، اختلاف معنی داری وجود ندارد.



نمودار ۵ مقایسه میانگین عدد اسیدیته بر اساس اثر متقابل

روش استخراج و زمان نگهداری روغن زیتون بکر حاوی

رزماری و شاهد

جدول ۵ مقایسه میانگین عدد اسیدیته بر اساس اثر متقابل روش استخراج و زمان نگهداری

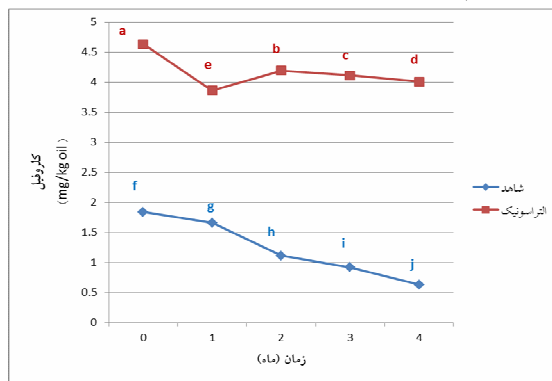
زمان نگهداری (ماه)					تیمار
۴	۳	۲	۱	۰	
3.18 ± 0.076^a	2.56 ± 0.015^b	2.10 ± 0.04^c	1.81 ± 0.030^d	1.42 ± 0.026^f	شاهد
2.05 ± 0.03^c	1.82 ± 0.026^d	1.54 ± 0.015^e	1.34 ± 0.04^g	1.25 ± 0.01^h	اولتراسونیک

* میانگین هایی که با حروف مشترک نمایش داده شده اند، اختلاف معنی داری وجود ندارد.

تبدیل می شوند و این باعث افزایش عدد اسیدیته در تیمار شاهد می شوند. البته این اتفاق در مورد تیمار اولتراسونیک هم صدق می کند زیرا در فرایند اولتراسونیک در این تحقیق هیچ گونه حرارتی اعمال نمی شود این آنزیم در این تیمار نیز فعال می باشد به همین دلیل میزان اسید های چرب آزاد در تیمار اولتراسونیک نسبت به تیمار شاهد با گذشت زمان افزایش بیشتری داشته است. شاید بتوان علت دیگر آن را در بالا بودن میزان ترکیبات فنلی تیمار اولتراسونیک دانست زیرا غالب ترکیبات فنولیک موجود در عصاره استخراج شده از رزماری شامل اسید رزمارینیک، رزمانول، اپی رزمانول، ایزورزمانول، کارنوسیک اسید، کارنوسول و ... می باشند که تمامی این ترکیبات خاصیت اسیدی داشته و منجر به اسیدی شدن روغن

از شروع دوره نگهداری تا ماه اول تفاوت معنی داری بین اسید های چرب آزاد تیمارهای اولتراسونیک مشاهده نشد. بعد از گذشت یک ماه میزان اسیدیته در روغن زیتون بکر حاوی رزماری به روش اولتراسونیک به طور معنی داری کمتر از نمونه شاهد مشاهده شد. که ممکن است به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره رزماری باشد. علت افزایش اسیدیته با سرعت بیشتر در نمونه شاهد، را می توان به وجود آنزیم لیپاز در روغن زیتون بکر نسبت داد زیرا در جریان تولید روغن زیتون بکر عمل تصفیه انجام نشده و در نتیجه حرارتی اعمال نمی شود بنابراین این آنزیم همچنان در روغن فعال باقی می ماند و در اثر فعالیت این آنزیم، اسیدهای چرب آزاد تشکیل می شوند که در ادامه روند اکسیداسیون روغن به آلدئید ها و کتون ها

روش اولتراسونیک (۴/۶۳ میلی گرم در کیلوگرم روغن) و میزان کلروفیل موجود در روغن زیتون شاهد ۱/۸۴ میلی گرم در کیلوگرم روغن می باشد.



نمودار ۶ مقایسه میانگین میزان کلروفیل بر اساس اثر متقابل زمان نگهداری و روش استخراج در روغن زیتون بکر حاوی رزماری و شاهد

جدول ۶ مقایسه میانگین کلروفیل بر اساس اثر متقابل روش استخراج و زمان نگهداری

زمان نگهداری (ماه)					
تیمار	۰	۱	۲	۳	۴
شاهد	۱/۸۴ ± ۰/۰۴ ^f	۱/۶۶ ± ۰/۰۶ ^g	۱/۱۱ ± ۰/۰۱۵ ^h	۰/۹۲ ± ۰/۰۲۵ ⁱ	۰/۶۳ ± ۰/۰۲ ^j
اولتراسونیک	۴/۶۳ ± ۰/۰۸ ^a	۳/۸۶ ± ۰/۰۵ ^e	۴/۱۹ ± ۰/۰۱۷ ^b	۴/۱۲ ± ۰/۰۲ ^c	۴/۰۱ ± ۰/۰۲ ^d

بنابراین در ماه اول مقداری محیط رنگ اسیدی شده و باعث از بین رفتن میزان کلروفیل می شود. اما با گذشت ماه اول میزان زیادی از این ترکیبات فنولک صرف حذف رادیکال های آزاد ناشی از اکسیداسیون می شوند در نتیجه از خاصیت اسیدی روغن کاسته شده و بنا به این دلیل که استخراج کلروفیل از گیاه رزماری یکجا صورت نمی گیرد بلکه بخش اعظم آن با گذشت زمان استخراج می شود در انتهای ماه دوم افزایش در میزان کلروفیل مشاهده شد (۴/۱۹ میلی گرم در کیلوگرم روغن). اما میزان کلروفیل تا پایان ماه چهارم روند نزولی داشت (۴/۰۱ میلی گرم در کیلوگرم روغن). در نمونه شاهد که هیچگونه گیاهی اضافه نشده، از بین رفتن میزان کلروفیل روغن زیتون بکر می تواند ناشی از اکسیداسیون روغن و بالا رفتن اسیدیته روغن زیتون بکر باشد (۰/۶۳ میلی گرم در کیلوگرم روغن).

می شوند و این نیز باعث بالا رفتن میزان اسیدیته تیمار اولتراسونیک می شود. امواج فراصوت خود باعث هیدرولیز جزئی تری گلیسیرید ها شده بنابراین تا حدودی باعث بالا رفتن اندیس اسیدی می شود. البته روند کاملاً منظمی را برای این شاخص نمی توان در نظر گرفت، اما به طور کلی افزایش اسیدهای چرب آزاد طی ۴ دوره نگهداری در دو سه تیمار معنی دار بود ($P < 0.01$) که با نتایج محمدی و همکاران، ۱۳۸۶ مطابقت داشت [۲۳].

۳-۴- بررسی نتایج آزمون رنگ کلروفیل

بر اساس نتایج بدست آمده از این پژوهش اثر متقابل روش استخراج عصاره و زمان نگهداری بر میزان کلروفیل اثر معنی داری دارد ($P < 0.01$). بنابر اطلاعات بدست آمده از نمودار (۶) میزان کلروفیل در زمان بلافاصله پس از تولید نمونه با

در هر دو نمونه با گذشت ۱ ماه کاهش معنی داری در میزان کلروفیل مشاهده شد. در تیمار اولتراسونیک آنزیم کلروفیلاز وجود دارد اما به دلیل به کار بردن دمای پایین در این فرایند، این آنزیم فعال نیست. بنابراین نمی تواند باعث جدا شدن قسمت فیتول از کلروفیل شود. یکی از مهمترین مکانیزمهای تجزیه کلروفیل در گیاهانی که تحت فرایند قرار می گیرند، اکسیداسیون چربیها در آنهاست که در این رابطه آنزیم لیپوکسیژناز می تواند دخالت داشته باشد حضور و فعالیت آنزیم های لیپوکسیژناز می تواند از طریق اکسیداسیون رنگدانه های محلول در چربی در هنگام تولید محصول در کاهش شدت رنگ موثر باشد. برای انجام این واکنش وجود اکسیژن لازم است و آنتی اکسیدانها می توانند از انجام آن جلوگیری نمایند. در این تیمار یک کاهش در میزان کلروفیل در ماه ۱ مشاهده شد. که علت آن را می توان به افزایش میزان استخراج ترکیبات فنولیک که اکثراً خاصیت اسیدی دارند نسبت داد

۳-۵- بررسی نتایج ارزیابی حسی

اهداف طعم دار کردن روغن زیتون، شامل افزایش و بهبود خواص حسی و تغذیه ای و همچنین عمر نگهداری روغن می باشد [۲۴]. بر اساس نتایج بدست آمده از آزمون ارزیابی حسی، نمونه اولتراسونیک در مقایسه با نمونه‌ی شاهد از لحاظ ویژگی طعم، تندی، بو و پذیرش کلی امتیاز بالاتری کسب نمود. جدول (۷) بیانگر نتایج مربوط به آزمون فریدمن می باشد، براساس این جدول نمونه شاهد و تیمار اولتراسونیک از لحاظ ویژگی های طعم، بو، تندی و پذیرش کلی اختلاف معنی داری داشته اند بنابراین جدول رتبه بندی اعتبار می‌یابد.

جدول ۷ نتایج رتبه بندی آزمون ارزیابی حسی روغن زیتون

بکر حاوی رزماری

نمونه	طعم	تندی	بو	پذیرش کلی
اولتراسونیک	۲/۵۰	۲/۵۰	۲/۸۱	۲/۸۱
شاهد	۲/۱۳	۱/۵۰	۱/۸۱	۱/۸۸

نهایت به افت کیفی این مواد با ارزش منجر خواهد شد و کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره را به همراه خواهد داشت. در این پژوهش در روش اولتراسونیک استفاده از ۱۰ درصد رزماری در دمای محیطی به مدت ۱۰ دقیقه فراصوت دهی در فرکانس ثابت برای بدست آوردن بالاترین میزان ترکیبات پلی فنل استخراجی بهترین حالت می باشد. نتایج آزمونهای شیمیایی نیز حاکی از آن بود که نمونه روغن زیتون بکر حاوی رزماری که به روش اولتراسونیک عصاره گیری شده با گذشت ۴ ماه، عدد پراکسید و تیوباریتوریک اسید کمتری را نسبت به نمونه شاهد نشان داد ($P < 0.01$). پایداری اکسیداتیو روغن زیتون بکر حاوی رزماری به روش اولتراسونیک نیز بیشتر از نمونه شاهد بود و این شاخص با میزان ترکیبات پلی فنل رابطه مستقیم و با عدد پراکسید و تیوباریتوریک اسید رابطه معکوس دارد. همچنین تیمار اولتراسونیک در جلوگیری از پیشرفت واکنش های اکسیداسیون در مقایسه با نمونه شاهد، با گذشت زمان ۴ ماه نتیجه بهتری داده است.

۵- تشکر و قدردانی

بدین وسیله از شورای ملی زیتون به جهت همکاری های انجام شده و موسسه استاندارد ملی ایران (پژوهشکده غذایی) به جهت در اختیار گذاشتن امکانات جهت انجام این پروژه تحقیقاتی نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

۶- منابع

- [1] Maghsudi sh. 2009. Olive technology and its products. First Edition, published science agriculture Iran ,Tehran.
- [2] Haddad khodaparast, M. 1995. Technologies edible oils. Published author of Mashhad. P: 220.
- [3] Zhang Y, Yang L, Zu Y, Chen X, Wang F, and Liu F. 2010. Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. Food Chemistry. 118: 656-662.
- [4] Pokorny J. 2007. Are natural antioxidants better and safer than synthetic antioxidant? European Journal of Lipid Science and Thechnology. 109: 629-642.

در تحقیقات انجام شده توسط مالدوا- مارتینز در سال ۲۰۰۴، ارزیابی خواص حسی روغن های طعم دار با مخلوط روغن های اسانسی فلفل، نعناع و آویشن نشان داد که وجود روغن اسانسی آویشن در روغن زیتون همیشه مطلوب بوده در حالیکه فقط افزودن سطوح کم نعناع می تواند آن را مطلوب نماید. آنتوان و همکاران در سال ۱۹۹۸، طعم دار کردن روغن های زیتون فوق بکر با فلفل تند، سیر، پونه و رزماری را مورد ارزیابی قرار دادند و دریافتند که افزودن این مواد به روغن باعث خواص حسی روغن زیتون فوق بکر گردید و در مورد سیر طعم ملایم آن مورد پذیرش قرار گرفت [۲۵].

۴- نتیجه گیری

استخراج ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانی و نیز طعم دار نمودن روغن زیتون با برگهای رزماری به روشهای معمول طولانی است و کارایی کمی دارد در حالیکه حداکثر زمان لازم برای استخراج ترکیبات فنلی رزماری با امواج فراصوت در این تحقیق ، ۱۰ دقیقه بوده ،که نسبت به سایر روشها زمان کوتاه تری می باشد. علاوه بر این در روش های متداول از دماهای بالا برای استخراج عصاره های گیاهی استفاده می شود که در

- Edible oils and fats acidity measurement against oxidation, first edition, pp: 1-10.
- [16] Abbasi S, Ghobadi Z. 2012. Ultrasound: Characteristics, production method and its application in food processing. Journal of agricultural and natural resources research, awareness and education, sixth year, No. 24:18-12.
- [17] Povey M. J. w., Mason T. J. (1998). Ultrasound in Food processing. Blackie Academic & professional: London.
- [18] Rawson A, Tiwari BK, Patras A, Brunton N, Brennan C, Cullen PJ, O'Donnell CP. 2011. Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. Food Research International 44: 1168-1173.
- [19] Fayaz Mehr B, Asefi A. 2013. The effect of ultrasound on the antioxidant capacity of lycopene extracted from the tomato pulp. Journal of Food Research. 22: 3.
- [20] Samad luyi H, Azizi M, Barzegar M. 2008. Antioxidant effects of phenolic compounds on soybean oil, pomegranate seed. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. Volume 14, No 4, pp 56-50.
- [21] Timurid R, Khaldabady MA, Jafarian P. 2012. Effects of methanol extracts enriched with garlic, rosemary and olive leaf on some chemical characteristics of canola oil. 21 Volume. 4 No.P: 401-410.
- [22] Bouaziz M, Fki I, Jemai H, Ayadi M, and Sayadi S. 2008. Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. Food Chemistry, 108: 253-262.
- [23] Mohammadi T, Azizi M H, Taslimi A. 2008. Relationship between fatty acid composition of sunflower oil mixed with the oils stability Sunflower and kanvla. Iranian Journal of Food Science and Technology; 2:67-75.
- [24] Gambacorta G. M, Faccia S, pati C, Lamacchia A, Baiano E, La Notte. 2007. Changes in chemical and sensorial profile of extra virgin olive oils flavored with herbs and spices during storage, Journal of Food Lipids 14: 202-215.
- [25] Moldao-Martin M. A, Palavra M.L, Beirao-da-Costa M.G, Bernardo-Gil. 2000. Supercritical CO₂ extraction of *Thymus zygist* L. subsp. *Sylvestris* aroma, Journal of Supercritical Fluids 18:35-47.
- [5] Ahmadi F, Kadivar M and Shahidi M. 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaiff in model and food system. Food Chemistry. 105: 57-64.
- [6] Do Amaral F J, Da Rocha Afonso ML, Rosmarinus L, In: Tutin T G, Heywood V H, Burges N A. 1981. *Flora Europaea*. Cambridge: University Press, (Vol 3): 187.
- [7] Duke J A. 1989. CRC Handbook of Medicinal Herbs. Boca Raton: CRC Press: 412-413.
- [8] Zolfaghari B, Ykdanh A. 2009. Recent advances in extraction techniques herbal combined, Journal herbal medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University : 51-55.
- [9] Samad luyi H, Azizi M, Barzegar M. 2007. Antioxidant effect of phenolic compounds on soybean oil, pomegranate seed. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. 4(4): 56-50.
- [10] Salisova M, Toma S, Mason T. J. 1997. Comparison of conventional and ultrasonically assisted extractions of pharmaceutically active compounds from *Salvia officinalis*. Ultrasonics Sonochemistry, 4: 131-134.
- [11] Anonymous. 1999. Iran National standards, Standard No. 4179, Press Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Measurement of peroxide value in edible oils and fats; First Edition, pp. 1-7.
- [12] Anonymous. 2010. Iran National standards, Standard No. 10494, Press Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Measuring the Acid 2 - thiobarbituric oils and fats, edible direct method.
- [13] Anonymous. 1997. Iran National standards, Standard No. 3737, Press Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Edible oils and fats measurement stability against oxidation. First Edition.
- [14] Tabee E, Azadmard-Damirchi S, J. gerstad M and Dutta PC, 2008. Effects of α -tocopherol on oxidative stability and phytosterol oxidation during heating in some regular and high-Oleic vegetable oils. Journal of the American Oil Chemists' Society 85: 857-867.
- [15] Anonymous. 1999. Iran National standard, standard No. 4178. . Institute of Standards and Industrial Research of Iran.

Investigation extraction of rosemary leaves the phenolic compounds by ultrasonic technique and its effect on organoleptic properties, physicochemical and stability of virgin olive oil

Fereidoni Nory, T.¹, Fahimdanesh, M.^{2*}, Sahari, M. A.³

1. M. Sc. Student in Food Science Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

3. Department of Food Science and Technology, College of Agricultural, Tarbiat Modares, University, Tehran, Iran.

(Received: 93/6/23 Accepted: 93/9/7)

Virgin olive oil due to having unsaturated fatty acids is exposed to various types of corruptions such as enzymatic reactions and lipid oxidation. One way to prevent oxidation of oils and fats is addition of antioxidants. Rosemary due to phenolic compounds and other antioxidant compounds have antioxidant as well. In this study, the extraction phenolic compounds of rosemary leaves in virgin olive oil with was performed using by ultrasonic technique. In this method, rosemary leaves with three levels (5, 7 and 10%) and three ultrasonic times (10, 15 and 20 minutes) were added to the olive oil. Phenolic compounds present in the extracts, was measured. The results showed that in the ultrasonic method the sample of virgin olive oil with 10% rosemary and 10 minute extraction time has the highest total polyphenols (457.59 ppm). In this case study the effect of this extract in retarding oxidation of virgin olive oil during the 4-month by determining the peroxide value, thiobarbituric acid, oxidative stability, at the end of each month were reviewed. After four months keeping, the ultrasonic's peroxide number, the thiobarbituric acid (20.75meq O₂/kg oil, 1.32 molonaldehyde/kg oil, respectively) significantly decreased. The results of antioxidant activity of the extracts using rancimat method showed that during the period of induction at 110 °C in the ultrasonic's sample (29.10 hours) with respect to control's sample (6.28 hours) are increased. The acidity value of the ultrasonic's sample (2.05 FFA %) and thermal's sample (1.84 FFA %) are less than the control's (3.18 FFA %). Measurement results showed that the amount of chlorophyll pigments within ultrasonic's sample (1.4mg/kg) had the highest value and with respect to control's sample (0.63mg/kg) had high value. Also in the sensory evaluation, the ultrasonic's sample has top rated in terms of taste, odor, bitter and won general acceptance. Therefore, the phenolic compounds in the olive oil containing rosemary and extracted by ultrasonic method, be able to retard the oxidation process well. Thus, rosemary can be recommended as a source of natural antioxidants for increase virgin olive oil oxidative stability.

Key words: Rosemary, Extraction, Ultrasonic, Phenolic compounds, Antioxidant, Olive oil

* Corresponding Author E-mail address : Fahimdanesh78@yahoo.com