مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

تاثیر عصاره اتانولی دانه خار مریم (*Silybum marianum*) استخراج شده با کمک فراصوت بر پایداری اکسایشی روغن سویا

مطهره مزیدی[۱]، سعیده عربشاهی دلویی[۲*] ، سید حسین حسینی قابوس[۲]

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

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

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت:۱۴۰۳/۹/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲

کلمات کلیدی:

دانه خارمریم،

پایداری اکسایشی،

روغن سویا،

فراصوت

DOI:10.22034/FSCT.22.162.250.

* مسئول مکاتبات:

Saeedeh_arabshahi@yahoo.com

چکیده

با توجه به نگرانی‌های بهداشتی اخیر مرتبط با آنتی اکسیدان‌های سنتزی، تحقیقات زیادی در راستای استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی به‌عنوان نگهدارنده در مواد غذایی انجام شده است. در همین راستا، تحقیق حاضر با هدف ارزیابی تاثیر عصاره استخراج شده از دانه گیاه خار مریم بر پایداری اکسایشی روغن سویا صورت گرفت. به این منظور، پس از عصاره‌گیری دانه خارمریم با حلال اتانول و به کمک فراصوت و بررسی برخی ویژگی‌های آنتی اکسیدانی آن، عصاره حاصله در غلظت‌های مختلف (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام) به روغن سویای پالایش شده فاقد آنتی‌اکسیدان افزوده شد و سپس عدد پراکسید و شاخص تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های روغن در طول نگهداری در شرایط اکسیداسیون تسریع شده (دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد، ۱۲ روز) اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل در عصاره خار مریم به‌ترتیب برابر با ۳۴/۴ میلی‌گرم (معادل گالیک اسید) و ۲۶/۲ میلی‌گرم (معادل کوئرستین) در گرم ماده خشک بود. در بررسی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره با سه روش توانایی مهار رادیکال آزاد ۲،۲-دی فنیل،۱-پیکریل هیدرازیل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و قدرت احیاکنندگی یون آهن مشخص گردید که با افزایش غلظت عصاره از ۳۰ تا ۱۵۰ میکروگرم قابلیت آنتی‌اکسیدانی عصاره افزایش یافت. نتایج ارزیابی قابلیت آنتی اکسیدانی عصاره خار مریم در غلظت‌های مختلف در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن و نمونه شاهد در روغن سویا نشان داد که با افزایش زمان نگهداری، میزان عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در تمامی نمونه‌ها افزایش یافت ولی با افزایش غلظت عصاره خارمریم در روغن سویا از شدت این افزایش کاسته شد. در نهایت این مطالعه نشان داد که افزودن ۴۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتی‌اکسیدانی دانه خارمریم منجر به کاهش بیشتری در سرعت اکسیداسیون روغن سویا در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی می‌شود.

۱-مقدمه

روغن‌های خوراکی حاوی مواد مغذی ضروری بدن بوده و نقش مهمی در رژیم غذایی برای حفظ عملکرد طبیعی فیزیولوژیکی بدن دارند. از طرفی با افزایش آگاهی مصرف کنندگان، کیفیت و سلامت روغن‌های خوراکی مورد توجه قرار گرفته است. عوامل کیفی موثر بر روغن‌های خوراکی شامل ترکیب اسیدهای چرب، مواد مغذی و پایداری اکسایشی آنها می‌باشد. با این حال، روغن حاصل از یک منبع گیاهی، اغلب دارای خواص عملکردی متعادل، خواص تغذیه‌ای و پایداری اکسیداسیون مناسب نیست. اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه رژیم غذایی برای سلامتی انسان بسیار ضروری هستند ولی متاسفانه این روغن‌ها به اکسیداسیون حساس هستند. اکسیداسیون اسیدهای چرب می‌تواند این ترکیبات را به‌عنوان مواد مغذی از دسترس خارج کند و همچنین طعم نامطلوب و ترکیبات سمی تولید کند. اکسیداسیون روغن کیفیت غذایی روغن را کاهش می‌دهد و به‌طور بالقوه محصولی تولید می‌کند که برای سلامت انسان مضر است [۱]. روغن سویا سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه مانند اسید لینولئیک و لینولنیک است که به‌دلیل انرژی تفکیک پایین پیوندهای دوگانه آنها، در برابر اکسایش بسیار ناپایدار می‌باشد [۲]. برای جلوگیری از اکسایش روغن‌ها، روش‌های متعددی وجود دارد که یکی از این موارد افزودن موادی به نام آنتی‌اکسیدان‌ها است. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که با مکانیسم‌های مختلفی مانند کنترل سوبستراهای اکسایش، کنترل پرواکسیدان و همچنین غیر فعال نمودن رادیکال‌های آزاد گسترش بد طعمی و تندشوندگی را به تأخیر می‌اندازند[۳]. با توجه به نگرانی‌های بهداشتی مرتبط با آنتی اکسیدان‌های سنتزی، تحقیقات زیادی در راستای استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی به‌عنوان نگهدارنده در مواد غذایی انجام شده است. آنتی اکسیدان‌های طبیعی شامل ویتامین‌ها، توکوفرول‌ها، کاروتنوئیدها و ترکیبات فنولی هستند که قادر به افزایش عمر انبارمانی مواد غذایی هستند. ترکیبات فنولی موجود در آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی پایدارتر از آنتی‌اکسیدان‌های ویتامینی در سیستم‌های غذایی در طول فراوری و انبارمانی در دمای بالا عمل می‌نمایند، این ترکیبات علاوه‌بر خواص آنتی‌اکسیدانی دارای خواص ضد میکروبی نیز می‌باشند[٤]. روش‌های سنتی استخراج ترکیبات زیست فعال مانند خیساندن، سوکسله و غیره اغلب زمان‌بر بوده و راندمان پایینی دارند و موجب افزایش هزینه‌های تولید می‌گردند. از طرف دیگر از آنجا که وجود باقیمانده حلال‌های آلی (متانول، استن، هگزان و غیره) مورد استفاده در این روش ها علاوه بر اثرات نامطلوب بر روی محیط زیست، در محصول نهایی نیز ممکن است باعث ایجاد ناهنجاری‌ها و بیماری‌های مختلف برای مصرف کننده گردد، روش‌های نوین استخراج مورد توجه صنایع و گروه‌های تحقیقاتی قرار گرفته‌اند[۵]. فراصوت به امواجی گفته می‌شود که فرکانس آنها بیش از ۲۰-۱۸ کیلوهرتز باشد. روش استخراج با کمک فراصوت به دلیل بهره‌وری بالاتر و مصرف انرژی و آب کمتر، در حال تبدیل شدن به جایگزینی مناسب برای روش‌های سنتی استخراج می‌باشد و روشی بهبود یافته برای فراوری مواد گیاهی به‌خصوص استخراج ترکیبات با وزن مولکولی کم است. اثر افزایشی امواج فراصوت بر سرعت استخراج مواد گیاهی به شکستن سلول‌ها و انتشار محتویات آنها به محیط استخراج ارتباط دارد [٦]. از محققینی که از عصاره گیاهان به‌منظور پایداری اکسایشی روغن‌های خوراکی استفاده کردند، می‌توان به حسینی و همکاران (۲۰۲۱)، محمدی مقدم و همکاران (۲۰۲٤)، ابدو و همکاران (۲۰۲۳) و محمدی و عربشاهی (۲۰۱٦) که به‌ترتیب از عصاره کنجاله ذرت، پوست آلو، ضایعات محصولات کشاورزی و رزین کندر به‌منظور پایداری روغن‌های خوراکی استفاده کرده اند، اشاره نمود که این محققین تاثیر مثبت استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را بر پایداری اکسایشی روغن‌های خوراکی بدون تغییر قابل ملاحظه‌ای بر پروفایل اسیدهای چرب آن روغن‌ها گزارش نمودند[۷، ۸، ۹ و ۱۰]. خار مریم با نام علمی *Silybum marianum* گیاهی از خانواده Asteraceae می‌باشد که توانایی رشد به صورت یک یا

دو ساله را دارا می‌باشد. از این گیاه دارویی قرن‌ها در درمان بیماری‌ها استفاده می‌شود که دارای خواصی از قبیل درمان کبد، ضد فشار خون، چاقی، آترواسکلروتیک و دیابت است، علاوه‌بر آن خار مریم حاوی فلاونوئیدها، تانن‌ها، روغن‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی فراوانی می‌باشد [۱۱]. ترکیب اصلی دارویی خار مریم مخلوطی از فلاونولیگنان[۱] است که معمولاً سیلیمارین[۲] نامیده می‌شود که عمدتاً از سیلیبینین[۳]، سیلی‌کریستین[۴]، سیلیدیانین[۵] و ایزوسیلیبین[۶] تشکیل شده است. سیلیمارین در تمام اجزای گیاه خار مریم شامل میوه، دانه، ریشه، ساقه و برگ‌ها یافت می شود، اما در دانه ها بیشترین فراوانی را دارد [۱۲]. هدف از این تحقیق، ارزیابی تاثیر عصاره اتانولی دانه خار مریم استخراج شده با فراصوت به‌عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدانی طبیعی بر پایداری اکسایشی روغن سویا بود که تاکنون گزارش نشده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲- ۱- مواد

دانه خار مریم از مزارع شهرستان گالیکش استان گلستان و روغن سویا بوگیری شده فاقد آنتی‌اکسیدان از شرکت غنچه تهیه شد. گالیک اسید، کوئرستین، دی کلرید آهن، فروزین، فریک کلراید، تری کلرواستیک اسید، DPPH[۷]، BHT[2]، فری‌سیانیدسدیم و پتاسیم فری‌سیانید از شرکت سیگما، سود، اسیدکلریدریک، اتانول ۹۶ درصد، اسیدسولفوریک، هگزان، استات پتاسیم، آلومینیوم کلرید، فولین سیوکالتو، کربنات سدیم ، فسفات سدیم و آمونیوم مولیبدات و معرف متیل رد از شرکت مرک تهیه شدند.

۲-۲- آماده‌سازی نمونه و استخراج عصاره از دانه خار مریم

ابتدا دانه‌های خارمریم در آون الکتریکی (Memmert، آلمان) با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد تا رطوبت دانه به حدود ۵ درصد برسد. سپس دانه‌ها توسط آسیاب آزمایشگاهی به پودر تبدیل گردید و پودر حاصل توسط هگزان با نسبت ۱ به ۵ به مدت ۴۸ ساعت چربی‌گیری شد. در نهایت پودر حاصل ابتدا در دمای محیط و سپس در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا عمل خروج هگزان به‌صورت کامل صورت گیرد. در مرحله بعد پودر از الک با مش ۴۵ عبورداده شد. پودر چربی‌گیری شده با اتانول (نسبت ۱ به ۵) در حمام فراصوت (Agilent ، آمریکا) از جنس استیل ضد زنگ با فرکانس ۵۰ هرتز و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت زمان ۳۰ دقیقه عصاره‌گیری شد. پس از گذشت مدت زمان مشخص محلول مورد نظر با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد، سپس محلول صاف شده توسط دستگاه تبخیرکننده چرخان (Heidolph Laborota 400، کره جنوبی) در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت چرخش ۷۰ دور در دقیقه تغلیظ و خشک گردید. پودر حاصل در ظرف دربسته تا زمان انجام آزمون‌ها در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و آزمایشاتی به شرح ذیل روی عصاره‌ها صورت گرفت[۵ و ۶].

۲-۳- ارزیابی ویژگی های آنتی اکسیدانی عصاره خارمریم

1- Flavonolignan
2-Silymarin
3-Silibinin
4-Silychristin
5-Sildianin
6-Isosilibinin
7-2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

۲- ۳-۱- میزان فنول کل

میزان کل ترکیبات فنولی بر اساس روش اسلینکارد و سینگلتون(۱۹۷۷) اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه ۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره (قبل از خشک کردن) با ۱/۱٦۰ میلی‌لیترآب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو مخلوط شد. بعد از گذشت ۱ تا ۸ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم (۲۰ درصد) به آن‌ها افزوده شد. لوله‌های آزمایش بعد از تکان دادن درون حمام آب (Memmert، آلمان) با دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد قرارگرفته و پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب آن‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر (PG Instrument، انگلستان) در طول موج ۷٦۰ نانومتر خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد. میزان کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم عصاره بیان شد[۱۳].

۲- ۳-۲- میزان فلاونوئید کل

سنجش میزان فلاونوئید کل به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید با روش چانگ و همکاران (۲۰۰۲)، اندازه گیری شد. در این روش میزان ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره (قبل از خشک کردن) با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید. بعد از نگهداری نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب مخلوط در طول موج ٤۱۵ نانومتر خوانده شد. از کوئرستین به‌منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد. میزان کل ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره بیان شد[۱٤].

۲- ۳-۳- توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH

اندازه‌گیری توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH به روش وو و همکاران (۲۰۰۳) انجام شد. برای این منظور، محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۱۵۰-۳۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) از عصاره خارمریم و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در حلال اتانول آماده شدند. ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول اتانولی DPPH (با غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار) به ۱/۵ میلی‌لیتر از عصاره افزوده و مخلوط حاصله به شدت هم زده شد و سپس در ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰دقیقه سانتریفوژ (Hanil، کره جنوبی) گردیدند. لوله‌های آزمایش به مدت ۲۰ دقیقه در محل تاریک قرارگرفتند. بعد از این مدت میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. لازم به ذکر است که در نمونه کنترل، عصاره با ۳ میلی‌لیتر اتانول جایگزین شد. در نهایت توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط عصاره با معادله ۱ محاسبه گردید.

معادله (۱)

$$DPPH\ Radical\ Scavenging\ Activity(\%) = \frac{A_C - A_S}{A_C} \times 100$$

که در این رابطه A_c و A_s به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه در اسپکتروفتومتر می‌باشد. معمولا برای مقایسه فعالیت ضدرادیکالی عصاره‌های مختلف از فاکتوری تحت عنوان EC^{8}_{50} استفاده می‌شود. هم چنین EC_{50} نمونه ها یعنی غلظتی از عصاره که در آن ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد DPPH موجود در محیط واکنش مهار شوند محاسبه و مقایسه گردید. هر چه این غلظت کمتر باشد، نشان دهنده این است که عصاره مورد نظر فعالیت ضدرادیکالی بیشتری دارد[۱۵].

۲- ۳- ٤- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل[9]

روش فسفومولیبدنوم روش کمی برای ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب و محلول در چربی (ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل) می‌باشد. این روش بر مبنای

8- Effective concentration

9 -Total antioxidant capacity

احیاء مولیبدن ٦ ظرفیتی به مولیبدن ٥ ظرفیتی در محیط اسیدی می‌باشد که با تشکیل کمپلکس سبز رنگ فسفومولیبدن با بیشینه جذب در ٦٩٥ نانومتر همراه است. این کمپلکس‌ها بسیار پایدار بوده و با حلال مورد استفاده جهت استخراج ترکیبات فنولی تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد. عصاره‌هایی که شدت جذب بالاتری دارند، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بالاتری نیز دارند. در این روش محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (١٥٠-٣٠ میکروگرم در میلی‌لیتر) از عصاره خارمریم و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT ، در حلال اتانول آماده شد. ٠/١ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ١ میلی‌لیتر از معرف (اسید سولفوریک ٠/٦ مولار، فسفات سدیم ٢٨ میلی‌مولار و آمونیوم مولیبدات ٤ میلی‌مولار) را در لوله اپندورف ریخته و پس از دربندی به مدت ١/٥ ساعت در حمام آب با دمای ٩٥ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد کردن، جذب نمونه‌ها در طول موج ٦٩٥ نانومتر خوانده شد. در نمونه کنترل به جای عصاره از ٠/١ میلی‌لیتر حلال مصرفی استفاده شد[١٦]. هم چنین EC_{50} نمونه‌ها یعنی غلظتی از عصاره که در طول موج ٦٩٥ نانومتر جذبی معادل ٠/٥ داشته باشد محاسبه و مقایسه گردید. هر چه این غلظت کمتر باشد، بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصاره‌هاست.

٢- ٣- ٥- قدرت احیاکنندگی یون آهن

در این روش، قدرت احیاکنندگی هر یک از نمونه‌ها بر اساس احیا شدن پتاسیم فریک سیانید و تغییر طیف رنگی از زرد به سبز یا آبی، مورد ارزیابی قرار می گیرد. بدین منظور، محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (١٥٠-٣٠ میکروگرم در میلی‌لیتر) از عصاره‌ها و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در حلال اتانول آماده شد. ١ میلی‌لیتر عصاره با ٢/٥ میلی لیتر بافر فسفات سدیم با pH برابر با ٦/٦ و ٢/٥ میلی لیتر پتاسیم فریک سیانید ١ درصد مخلوط شده و به مدت ٥٠ دقیقه در بن‌ماری ٢٠ درجه نگهداری شد. سپس ٢/٥ میلی لیتر از محلول تری کلرو استیک اسید (١٠درصد) به لوله‌ها اضافه گردید و در دمای معمولی با دور g×١٣٥٠به مدت ٥٠ دقیقه سانتریفوژ (Centorion، کانادا) شد. پس از آن، ٢/٥ میلی لیتر از مایع رویی لوله‌ها با ٢/٥ میلی آب مقطر و ٠/٢ میلی لیتر فریک کلراید ٠/١ درصد مخلوط شده و جذب محلول در طول موج ٧٠٠ نانومتر در اسپکتروفتومتر خوانده شد. افزایش میزان جذب نور نشانه افزایش قدرت احیاکنندگی نمونه می‌باشد. هم چنین EC_{50} نمونه ها یعنی غلظتی از عصاره که در طول موج ٧٠٠ نانومتر جذبی معادل ٠/٥ داشته باشد محاسبه و مقایسه گردید. هر چه این غلظت کمتر باشد بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصاره‌هاست [١٧].

٢- ٤- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره دانه خار مریم در روغن سویا

به‌منظور ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره دانه خارمریم، روغن سویای تصفیه شده بی بو و رنگبری شده بدون هیچ گونه افزودنی (از قبیل اسیدسیتریک و آنتی اکسیدان‌های سنتزی) مورد استفاده قرارگرفت. عصاره دانه خار مریم در سه سطح١٠٠، ٢٠٠ و ٤٠٠ پی‌پی‌ام و آنتی اکسیدان BHT در دو سطح ١٠٠ و ٢٠٠ پی‌پی‌ام به روغن اضافه شد و مقداری از روغن سویا بدون افزودن هیچگونه عصاره یا آنتی اکسیدان به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. نمونه ها در ظروف شفاف پر شده و به آون الکتریکی با دمای ٧٠ درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. نگهداری روغن در این شرایط ١٢ روز به‌طول انجامید و طی این مدت میزان پیشرفت اکسیداسیون روغن در روزهای ٢، ٤، ٦، ٨، ١٠ و ١٢ روز با اندازه گیری عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید تعیین گردید[٣ و ٨].

٢- ٤- ١- تعیین عدد پراکسید

برای اندازه‌گیری عدد پراکسید از روش AOCS cd 8-53 (١٩٩٤) استفاده شد. به ٣ گرم نمونه روغن، ٣٠ میلی-لیترمحلول اسید استیک کلروفرمی (نسبت اسید استیک به کلروفرم ٢:٣) اضافه شد. سپس ٠/٥ میلی‌لیترمحلول یدید پتاسیم اشباع به محلول اضافه و به‌شدت همزده شد. در

مرحله‌ی بعد ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شده و محلول حاصل مجددا همزده شد. پس از آن محلول حاصل با تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال تا زمان نمایان شدن رنگ زرد روشن تیتر شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیترمحلول نشاسته ۱ درصد به‌عنوان معرف برای ایجاد رنگ آبی به محلول اضافه شد. تیتراسیون تا زمان ناپدید شدن رنگ آبی ادامه یافت. عدد پراکسید با استفاده از معادله‌ی ۲ محاسبه شد.

معادله (۲)

$$\text{عدد پراکسید}(meqO2/Kg) = \frac{S\times M\times 1000}{m}$$

در این معادله، S حجم تیوسولفات مصرفی (ml)، M مولاریته‌ی تیوسولفات و m وزن نمونه (g) می‌باشد [۱۸].

برای مقایسه بهتر داده ها، زمان القا (^{10}IP) به عنوان "زمان مورد نیاز برای رسیدن عدد پراکسید نمونه‌ها به$meqO_2/kg$ oil ۲۰ در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد" و فاکتور محافظتی (^{11}PF) نیز محاسبه گردید [19].

۲- ٤-۲- تعیین عدد تیوباربیتوریک اسید

جهت تعیین عدد تیوباربیتوریک اسید به‌عنوان شاخصی از تشکیل ترکیبات ثانویه اکسیداسیون، از روش AOCS cd 19-90 استفاده شد. جهت تهیه محلول شناساگر اسیدتیوباربیتوریک، ۲۰۰ میلی گرم پودر واکنشگر اسیدتیوباربیتوریک را با ٦۰ میلی‌لیتر بوتانول مخلوط کرده و به مدت ۳ ساعت بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت تا کاملا حل شود. سپس محلول به داخل یک بالن حجمی به حجم ۱۰۰ میلی لیتر منتقل و با بوتانول به حجم رسانیده شد. جهت انجام آزمون ۲۰۰ میلی‌گرم روغن را در بالن ۲۵ میلی‌لیتری وزن نموده و با بوتانول به حجم رسانیده و کاملا هم زده تا روغن حل شود. ۵ میلی لیتر نمونه با ۵ میلی لیتر معرف اسیدتیوباربیتوریک مخلوط شده و بخوبی هم زده شد و سپس به مدت ۲ ساعت در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها تا دمای محیط خنک گردید و جذب محلول در طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقایسه با نمونه شاهد (شامل حلال و شناساگر) اندازه‌گیری گردید. نتایج حاصل با استفاده از معادله ۳ محاسبه شد.

معادله (۳)

$$TBA=50\times(A-B)/M$$

در این معادله، TBA عدد اسید تیوباربیتوریک (بر حسب میلی‌گرم مالون آلدئید در کیلوگرم روغن)، A میزان جذب نمونه، B میزان جذب شاهد و M وزن نمونه بر حسب میلی‌گرم است[۱۸].

۲- ۵- تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این پژوهش تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel (۲۰۱۹) انجام گرفت. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار سه تکرار گزارش گردید.

۳- نتایج و بحث

۳- ۱- ویژگی های آنتی اکسیدانی عصاره خارمریم

1-1-3- میزان فنول کل و فلاونوئیدهای عصاره خار مریم

نتایج اندازه‌گیری میزان فنول کل و فلاونوئیدی عصاره حاصل از آرد چربی گیری شده دانه خار مریم در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در دانه گیاه خارمریم بستگی به واریته، نوع عصاره (آبی یا حلال دیگر)، بخش گیاه (ریشه، ساقه، برگ و دانه)، روش تغلیظ و خالص سازی آن دارد. جاوید و همکاران (۲۰۲۲) با استفاده از روش رنگ سنجی بر پایه فولین

10- Induction period

11 -Protection factor

سیوکالتو وکلرید آلومینیوم میزان فنول و فلاونوئید بخش‌های مختلف گیاه خار مریم را بررسی نمودند. بر اساس نتایج آن مطالعه، میزان فنول کل عصاره حاصل از برگ‌ها، ساقه و دانه به‌ترتیب ۲۱/۷۹ mg gallic acid/g، ۱۷/۲۹ و۱/۷۰ و میزان فلاونوئید آنها نیز به‌ترتیب mg quercetin/g ۱۲۹/٦٦، ۱۱٤/۲۹ و ۲٤/۷۹ بود[۲۰].

مهمدی و همکاران (۲۰۱٦) میزان ترکیبات فنولی خار مریم را ۲۹/۰۰ mg gallic acid/g و میزان فلاونوئیدها را mg quercetin/g ۳/۳۹ گزارش نمودند، تفاوت نتایج این اعداد با نتایج مطالعه حاضر را می‌توان به واریته مورد مطالعه، شرایط کاشت و نحوه عصاره‌گیری نسبت داد[۲۱].

Table 1- The total phenol and flavonoid contents of the whole extract obtained from the defatted flour of milk thistle seeds

Compound	Amount
Total phenols (mg gallic acid/g)	34.40±1.85
Total Flavonoids (mg of quercetin/g)	26.20±1.30

Data are mean of three replicates ± SD

۳- ۱- ۲- توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH یکی از شناخته شده‌ترین مکانیسم‌هائی است که به‌واسطه آن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند، اکسیداسیون چربی‌ها را مهار نمایند. در این روش نتایج بر حسب درصد کاهش در میزان جذب محلول‌های DPPH در حضور عصاره نسبت به محلول DPPH فاقد عصاره بیان می‌گردد [۲۲]. قابلیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره دانه خار مریم بر اساس توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH در شکل 1 آورده شده است. بر اساس نتایج، با افزایش غلظت عصاره دانه خار مریم توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH افزایش یافت و در تمامی غلظت‌ها توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH به‌غیر از نمونه حاوی ۱۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در عصاره کمتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بود ($p<0/05$). در کل، افزایش غلظت ترکیبات فنولی به‌طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش داد ($p<0/05$). در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی به‌دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهار کنندگی عصاره افزایش می‌یابد[۲۳]. احمدی و همکاران (۲۰۰۷) فعالیت ضد رادیکالی عصاره متانولی کرفس کوهی را در غلظت‌های مختلف اندازه‌گیری و با BHT، آلفا توکوفرول و اسید آسکوربیک مقایسه کردند و نشان دادند که با افزایش غلظت عصاره توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH افزایش یافت که همراستا با نتایج این بخش بود[۲٤]. سرسه وهمکاران (۲۰۱٦) قابلیت مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره دانه خار مریم را در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که با افزایش غلظت، قدرت بازدارندگی عصاره افزایش یافت[۲۵]. EC_{50} عصاره دانه خارمریم معادل ٦۲/۷ میکروگرم در میلی لیتر و در مورد BHT معادل ۵۱/۵ میکروگرم در میلی لیتر بود که نشان‌دهنده قدرت کمتر عصاره خارمریم در مهار رادیکال‌های آزاد نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی می‌باشد.

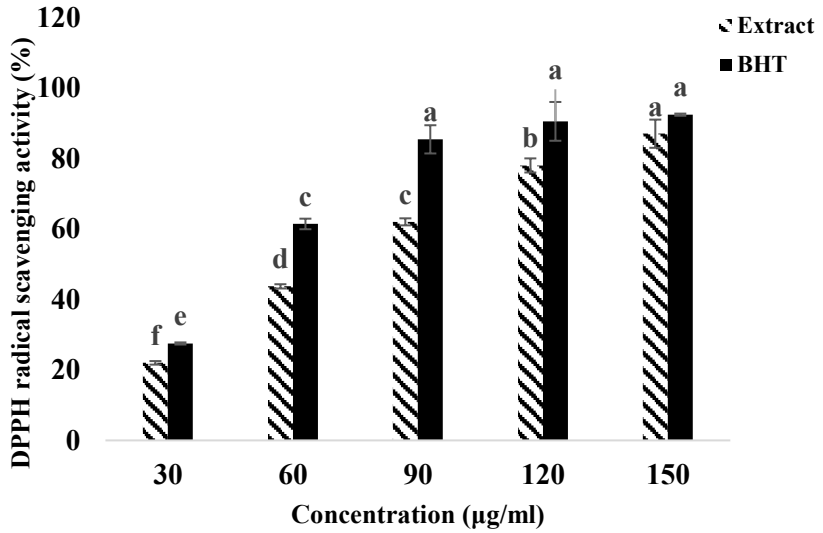

Figure 1- DPPH free radical scavenging activity (%) of different concentrations of milk thistle seed extract compared to BHT

۳- ۱- ۳- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

اساس کار در این روش احیاء مولیبدن ٦ ظرفیتی به مولیبدن ٥ ظرفیتی در محیط اسیدی و دمای بالا است. این واکنش با تشکیل کمپلکس‌های سبز رنگ فسفو مولیبدن همراه بوده که در طول موج ٦٩٥ نانومتر دارای حداکثر میزان جذب می‌باشند. این کمپلکس‌ها بسیار پایدار بوده و با حلال مورد استفاده جهت استخراج ترکیبات فنولی تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد. عصاره‌هایی که شدت جذب بالاتری در این طول موج دارند، ظرفیت آنتی اکسیدانی بیشتری از خود نشان می‌دهند [١٦]. قابلیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره دانه خار مریم بر اساس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (جذب در ٦٩٥ نانومتر) در شکل ۲ آورده شده است. بر اساس نتایج، با افزایش غلظت عصاره دانه خار مریم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل افزایش یافت و در تمامی غلظت‌های مورد آزمایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره کمتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بود($p<۰/۰۵$). روند صعودی ظرفیت آنتی اکسیدانی با افزایش غلظت عصاره را می توان به افزایش میزان ترکیبات فنولی عصاره نسبت داد. کوماران و کاروناکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که ارتباط مثبتی بین مقدار ترکیبات فنولی کل در واریته‌های مختلف گیاه *Phyllanthus* با ظرفیت آنتی اکسیدانی آنها وجود داشت [٢٦]. عربشاهی و اروج (٢٠٠٦) نیز نشان دادند که بین مقادیر ترکیبات فنولی عصاره‌های مختلف برگ گیاه شاه توت با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها ارتباط مستقیمی وجود دارد که همراستا با نتایج این بخش بود[٢٧]. EC_{50} عصاره دانه خارمریم معادل ۱۳۲/۸ میکروگرم در میلی‌لیتر و در مورد BHT معادل ۱۱۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بود که نشان‌دهنده ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کمتر عصاره خارمریم نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی می‌باشد.

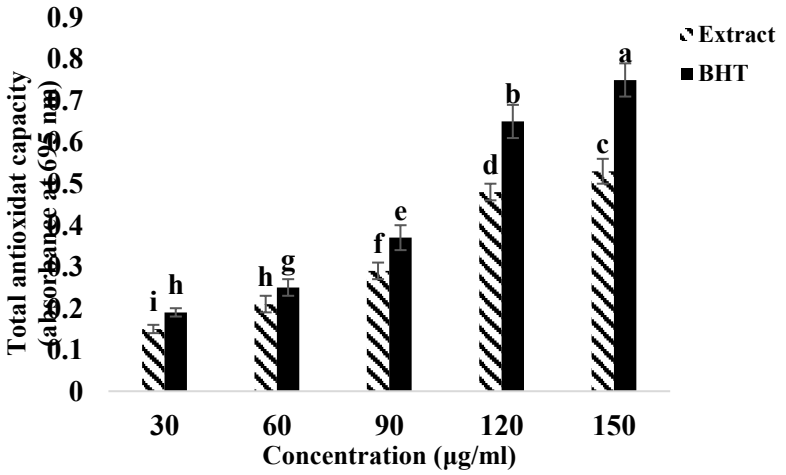

Figure 2- Total antioxidant capacity of different concentrations of milk thistle seed extract compared to BHT

۳- ۱- ٤- قدرت احیاکنندگی یون آهن

در این روش توانائی عصاره‌ها برای احیاء آهن سه ظرفیتی و تبدیل آن به آهن دو ظرفیتی سنجیده می‌شود. حضور عوامل احیاء کننده (آنتی اکسیدان‌ها) منجر به احیاء کمپلکس‌های فری سیانید و تبدیل آنها به فرم فروس می‌گردد که بسته به ظرفیت احیاء کنندگی عصاره‌های مورد بررسی با تغییر رنگ محلول از زرد به درجات مختلفی از رنگ‌های سبز و آبی همراه است [۲۸]. قابلیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره دانه خار مریم بر اساس قدرت احیاکنندگی یون آهن (جذب در ۷۰۰ نانومتر) در شکل ۳ آورده شده است. بر اساس نتایج، با افزایش غلظت عصاره دانه خار مریم قدرت احیاکنندگی یون آهن افزایش یافت و در تمامی غلظت‌ها قدرت احیاکنندگی یون آهن در عصاره کمتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بود. نتایج به‌دست آمده توسط سایر محققین وجود ارتباط بین میزان ترکیبات فنولی عصاره و قدرت احیاء کنندگی آن را تائید می‌نماید. نگی و همکاران (۲۰۰۵) با بررسی قدرت احیاء کنندگی عصاره‌های متانولی، کلروفرمی، اتیل استات و استونی سنجد در غلظت‌های ٤/٨- ۰/٤٨ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش کردند که میزان جذب عصاره‌های مختلف با افزایش غلظت افزایش یافت[۲۹]. اولیورا و همکاران (۲۰۰۸) مقدار ترکیبات فنولی و قدرت احیاکنندگی یون آهن عصاره‌ی آبی پوسته‌ی سبز ۵ رقم مختلف گردو را بررسی کردند و نشان دادند که عصاره‌های حاوی مقادیر بیشتری از ترکیبات فنولی EC_{50} کمتری داشتند[۳۰]. در تحقیق دیگر همبستگی بالایی بین میزان ترکیبات فنولی غلات با قدرت احیاء کنندگی یون آهن مشاهده شد که با نتایج به‌دست آمده در این بررسی مطابقت داشت[۳۱]. EC_{50} عصاره دانه خارمریم معادل ۸۲/۳ میکروگرم در میلی‌لیتر و در مورد BHT معادل ۷۰/۸ میکروگرم در میلی‌لیتر بود که نشان‌دهنده قدرت کمتر عصاره خارمریم نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی در احیاکردن یون آهن می‌باشد. عزیز وهمکاران (۲۰۲۱) میزان قدرت احیا یون آهن را در واریته‌های مختلف خارمریم موجود در پاکستان در دامنه ۱۷/٦۹- ۹/۷۳ میلی گرم در گرم وزن خشک گزارش نمودند[۳۲].

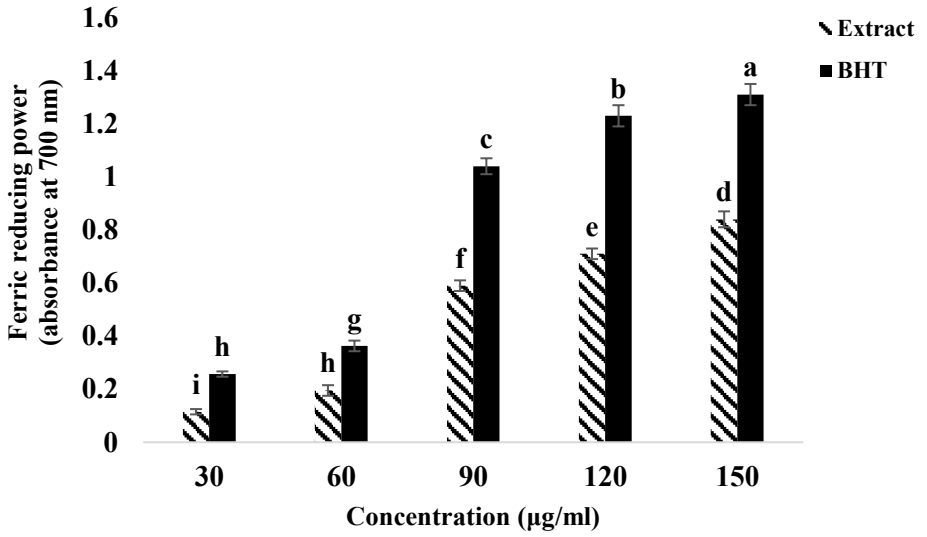

Figure 3- Ferric reducing power of different concentrations of milk thistle seed extract compared to BHT

۳- ۲- فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره خارمریم در روغن سویا

۳-۲-۱- عدد پراکسید

عدد پراکسید به‌عنوان شاخص تعیین محصولات اولیه اکسیداسیون یعنی هیدروپراکسیدها شناخته می‌شود و شاخص مناسبی از تغییرات اکسیداتیو در مراحل اولیه نگهداری روغن محسوب می‌شود. نتایج بررسی قابلیت آنتی اکسیدانی عصاره خار مریم در غلظت‌های مختلف در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT و نمونه شاهد در ممانعت از اکسیداسیون روغن سویا بر اساس عدد پراکسید در شکل ٤ آورده شده است. روغن سویا به دلیل دارا بودن مقادیر زیادی از اسیدهای چرب غیر اشباع نظیر لینولنیک اسید و لینولئیک اسید مستعد اکسیداسیون است و مانند سایر روغن‌ها زمانی که تحت‌تاثیر دماهای بالا، نور، اکسیژن و یون‌های فلزی قرار می‌گیرد با سرعت بیشتری اکسید می‌شود. در این بررسی عدد پراکسید تمامی نمونه‌ها با افزایش مدت زمان نگهداری در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌تدریج افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). افزایش عدد پراکسید به دلیل تشکیل محصولات اولیه‌ی اکسیداسیون یعنی هیدرو پراکسیدها می‌باشد. در روزهای ابتدائی آزمایش سرعت تشکیل این محصولات پائین بود اما از روز ششم به بعد با سرعت بیشتری ادامه یافت ($p<۰/۰۵$). بنابراین مشاهده می‌شود در روزهای پایانی آزمایش سرعت تشکیل محصولات اولیه‌ی اکسیداسیون کاهش یافته است. احتمالاً بخشی از هیدرو پراکسیدهای تشکیل شده در مرحله‌ی انتشار شروع به تجزیه شدن نموده و به محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون نظیر آلدهیدها و کتون‌ها تبدیل می‌شوند. افزایش چشمگیر عدد تیوباربیتوریک اسید در روزهای پایانی آزمایش، کاهش مشاهده شده در سرعت تشکیل هیدرو پراکسیدها را تصدیق می‌نماید. هیدرو پراکسیدها در دماهای بالا شروع به تجزیه شدن نموده، رادیکال‌های آزاد بیشتری تولید می‌کنند و به واکنش‌های زنجیری ادامه می‌دهند. در برخی موارد نیز محصولات غیر رادیکالی پایدار نظیر آلدهید، کتون، الکل و اسید از تجزیه‌ی این ترکیبات حاصل می‌گردد[۳۳]. آنتی اکسیدان‌ها در این مرحله از یک طرف با اهدای الکترون به رادیکال‌های آزاد باعث شکسته شدن واکنش‌های زنجیری اکسیداسیون می‌شوند و از طرف دیگر از طریق واکنش با رادیکال‌های آلکوکسیل (RO°) از تجزیه‌ی پر اکسیدها به محصولات پایدار و مضر جلوگیری می‌نمایند [۳٤]. افزایش قدرت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی در نتیجه‌ی افزایش غلظت را می‌توان به

افزایش تعداد جایگاه‌های فعال این ترکیبات برای واکنش با رادیکال‌های آزاد نسبت داد. نتایج به دست آمده در میزان مهار اکسیداسیون روغن با نتایج آزمون‌های مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد، احیاء کنندگی و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل نیز مطابقت داشت چرا که در سایر روش‌های بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی نیز با افزایش غلظت عصاره‌ها قدرت احیاء کنندگی و توانائی آنها جهت اهدای الکترون به رادیکال‌های آزاد افزایش یافت [۳ و ۳۵]. نتایج این بخش با یافته‌های احمدی و همکاران (۲۰۲۵) و عربشاهی و همکاران (۲۰۱۱) در تطابق بود [۳۶ و ۱۹].

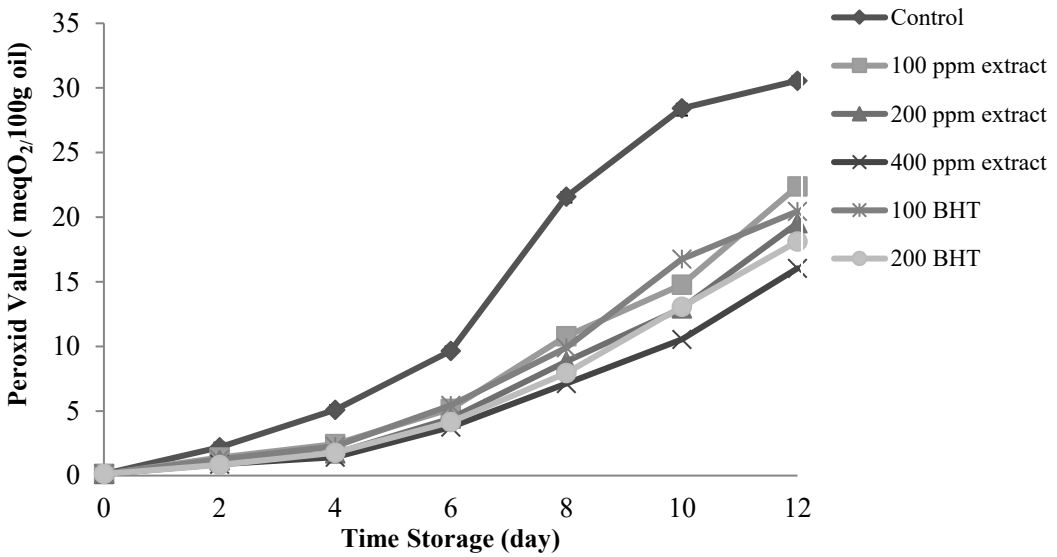

Figure 4- Effect of different concentrations of milk thistle seed extract on the peroxide value of soybean oil during accelerated storage (70°C, 12 days) compared to BHT

جدول ۲، زمان القا (زمان مورد نیاز برای رسیدن عدد پراکسید نمونه به ۲۰ $meqO_2/Kg$ oil) و هم چنین فاکتور محافظتی (PF) برای نمونه های مختلف روغن را نشان می دهد. همانطور که ملاحظه می گردد، افزودن عصاره دانه خارمریم و آنتی اکسیدان سنتزی سبب افزایش زمان القا گردید که نشان دهنده قابلیت این ترکیبات در به تاخیر انداختن شروع فساد روغن و حفاظت آن در برابر اکسایش می باشد. بر اساس فاکتور محافظتی، بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در روغن، مربوط به غلظت ۴۰۰ پی پی ام عصاره خارمریم و کمترین آن مربوط به غلظت ۱۰۰ پی پی ام عصاره و BHT می باشد.

Table 2- Effect of milk thistle extract and BHT on the stability of soybean oil expressed as induction period (IP) and protection factor (PF) determined by peroxide value

Additive	IP	PF(IP_{sample}/IP_{oil})
None	1.80	0.00
Milk Thistle extract (100 ppm)	2.60	1.45
Milk Thistle extract (200 ppm)	2.87	1.59
Milk Thistle extract (400 ppm)	3.15	1.75
BHT (100 ppm)	2.60	1.45
BHT (200 ppm)	2.97	1.65

نتایج بررسی قابلیت آنتی اکسیدانی عصاره خار مریم در غلظت‌های مختلف در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT و نمونه شاهد در ممانعت از اکسیداسیون روغن

۳- ۲- ۲- عدد تیوباربیتوریک اسید

سویا بر اساس عدد تیوباربیتوریک اسید در شکل ۵ آورده شده است. نتایج نشان داد که با افزایش زمان نگهداری در تمامی نمونه‌ها شاخص تیوباربیتوریک اسید افزایش یافت ($p<۰/۰۵$) که این روند با افزایش غلظت عصاره در روغن سویا از شدت کمتری برخوردار بود ($p<۰/۰۵$). کمترین میزان عدد تیوباربیتوریک اسید در پایان زمان نگهداری متعلق به نمونه حاوی ٤۰۰ پی‌پی‌ام عصاره بود که از نمونه حاوی ۲۰۰پی‌پی‌ام BHT نیز کمتر بود ($p<۰/۰۵$). مالون دی آلدئید در اثر اتواکسیداسیون اسیدهای چرب دارای سه و یا تعداد بیشتری باند دوگانه به وجود می‌آید که این ترکیب در مقادیر بسیار کم به‌عنوان معرف جهت اکسیداسیون چربی‌ها به کار می‌رود. محصولات اکسیداسیون چربی‌های غیر اشباع با تیوباربیتوریک اسید ایجاد کمپلکس قرمز رنگ می‌کنند که این کمپلکس در طول موج ۵۳۲- ۵۳۵ نانومتر جذب خوبی دارد. این شاخص بیانگر مراحل ثانویه اکسیداسیون چربی و حضور ترکیبات ثانویه اکسیداسیون در نمونه است، بنابراین بالا بودن این شاخص در روغن نشان دهنده اکسیداسیون بیشتر روغن و در نتیجه پایداری کمتر آن است [۳ و ۳۵]. کاهش بیشتر شاخص تیوباربیتوریک اسید در نمونه روغن حاوی عصاره خارمریم نسبت به نمونه شاهد (بدون آنتی اکسیدان) را می‌توان به ترکیبات فنولی موجود در عصاره و در نتیجه قدرت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات در جلوگیری از تجزیه هیدروپراکسیدها نسبت داد. همراستا با نتایج این بخش رازقندی و همکاران (۲۰۲٤) و احمدی و همکاران (۲۰۲۵) نیز بیان داشتند که با افزایش غلظت عصاره شدت افزایش این شاخص کاهش می‌یابد[۳۵ و ۳٦].

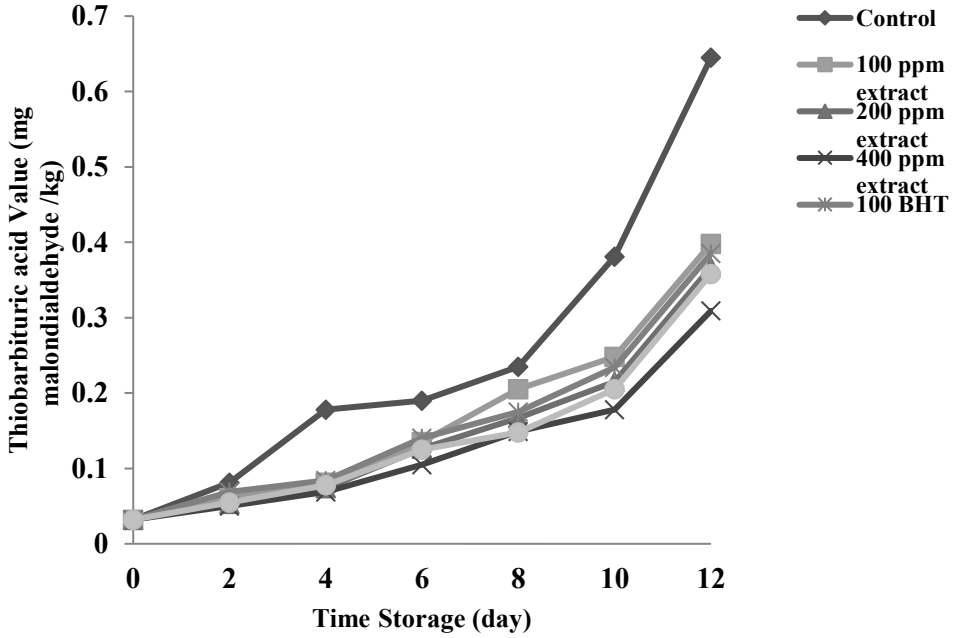

Figure 5- Effect of different concentrations of milk thistle seed extract on the thiobarbituric acid value of soybean oil during accelerated storage (70°C, 12 days) compared to BHT

٤- نتیجه گیری کلی

حفظ مواد غذایی در برابر اکسیداسیون در شرایط مختلف حرارتی مانند پختن معمولی، سرخ کردن و غیره نیازمند آنتی اکسیدان‌های با پایداری حرارتی بالا می‌باشد. عصاره استخراج شده از دانه گیاه خار مریم دارای میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و ویژگی‌های آنتی اکسیدانی مطلوبی می‌باشد و افزودن این عصاره به روغن سویا منجر به تاخیر اکسیداسیون روغن می‌گردد، بطوری که غلظت ٤۰۰ پی‌پی‌ام این عصاره کارایی بیشتری نسبت به BHT در جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا دارد. فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجه عصاره دانه خارمریم در روغن سویا نشان دهنده پایداری ترکیبات آنتی

اکسیدانی آن در برابر حرارت نیز می باشد. بنابراین می‌توان گفت عصاره دانه خارمریم از پتانسیل بالایی برای استفاده بعنوان آنتی اکسیدان طبیعی در روغن ها و غذاهای حاوی روغن برخوردار می باشد.

۵- منابع

[1] 1-Chang, K., Gao, P., Wang, S., Wei, W., Yin, J., Zhong, W. and Reaney, M. J.2024. Tailoring oil blends for specific purposes: A study on nutritional and antioxidant properties of soybean oil mixed with corn, sunflower, and flaxseed oils. LWT - Food Science and Technology. 206, 116628.

[2] Tinello, F., Zannoni, S. and Lante, A. 2020. Antioxidant properties of soybean oil supplemented with ginger and turmeric powders. Applied Sciences. 10(23): 1-14.

[3] Razghandi, E., Elhami Rad, A. H., Jafari, S. M., Saiedi Asl, M. R. and Bakhshabadi, H. 2024. Application of Pulsed Electric Field-Ultrasound Technique for Antioxidant Extraction from Yarrow: ANFIS Modeling and Evaluation of Antioxidant Activity. Journal of Food Processing and Preservation. 1, 2951718.

[4] Senanayake, C.M., Algama, C.H., Wimalasekara, R.L., Weerakoon, W.N.M.T.D., Jayathilaka, N.N. and Seneviratne, K.N. 2019. Improvement of Oxidative Stability and Microbial Shelf Life of Vanilla Cake by Coconut Oil Meal and Sesame Oil Meal Phenolic Extracts. Journal of Food Quality. 1-8.

[5] Razghandi, E., Elhami-Rad, A.H., Jafari, S.M., Saiedi-Asl, M.R. and Bakhshabadi, H. 2024. Combined pulsed electric field-ultrasound assisted extraction of yarrow phenolic-rich ingredients and their nanoliposomal encapsulation for improving the oxidative stability of sesame oil. Ultrasonics Sonochemistry. 110, 107042.

[6] Moghimi, M., Farzaneh, V. and Bakhshabadi, H. 2018. The effect of ultrasound pretreatment on some selected physicochemical properties of black cumin (Nigella Sativa). Nutrire, 43(1), 18.

[7] Hosseini, S. M., Bojmehrani, A., Zare, E., Zare, Z., Hosseini, S. M. and Bakhshabadi, H. 2021. Optimization of antioxidant extraction process from corn meal using pulsed electric field-subcritical water. Journal of food processing and preservation. 45(6), e15458.

[8] Mohammadi-Moghaddam, T., Kariminejad, M., Bakhshabadi, H., Taghavi, E. and Morshedi, A. 2024. Comparison of Sigmoid Logarithm and Hyperbolic Tangent Functions in Modeling the Oxidation Parameters of Soybean Oil Containing Extract of Black Plum Peels Natural Antioxidant. Journal Food Chemistry and Nanotechnoly. 10(3): 134-139.

[9] Abdo, E.M., Shaltout, O.E. and Mansour, H.M. 2023. Natural antioxidants from agro-wastes enhanced the oxidative stability of soybean oil during deep-frying. LWT - Food Science and Technology. 173, 114321.

[10] Mohammadi, A. and Arabshahi- Delouee, S. 2016. Antioxidant properties of extract 's Boswellia Serrata oleo-gum resin in soyabean oil. ranian Food Science and Technology Research Journal. 12(4): 477-488. (In Persian).

[11] Rivas-Caceres, R. R., Khazaei, R., Ponce-Covarrubias, J. L., Di Rosa, A. R., Ogbuagu, N. E., Estrada, G.T. and Elghandour, M.M. 2024. Effects of dietary Silybum marianum powder on growth performance, egg and carcass characteristics, immune response, intestinal microbial population, haemato-biochemical parameters and sensory meat quality of laying quails. Poultry Science. 103(10), 104036.

[12] Zhang, Z. S., Wang, S., Liu, H., Li, B. Z. and Che, L. 2020. Constituents and thermal properties of milk thistle seed oils extracted with three methods. LWT - Food Science and Technology. 126, 109282.

[13] Slinkard, K. and Singleton, V.L. 1977. Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods,American, Journal of Enology and Viticulture. 28: 49-55.

[14] Chang, C. Yang, M. Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis. 10: 178-182.

[15] Wu, H. C., Chen, H. M. and Shiau, C. Y. 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (Scomber austriasicus). Food Research International. 36 (9): 949-957.

[16] Prieto, P., Pineda, M. and Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific

application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry. 269: 337-341.
[17] Huange, B., Jingesheng, H., Xiaoquan, B., Hong, Z., Xincheng, Y., and Youwei, W. 2011. Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts from edible lotus (Nelumbo nucifera) rhizome knot and leaf. Meat science. 87: 46-53.
[18] AOCS, Official methods and recommended practices of AOCS. 1994. Methods AOCS cd8-53 and AOCS cd19-90. Champaign, IL.
[19] Arabshahi- Delouee, S., Aalami, M. and Urooj, A. 2011. Drumstick (Moringa oleifera L.) leaves: A potential source of natural lipid antioxidants. Journal of Food Process Engineering. 34(3): 947-959.
[20] Javeed, A., Ahmed, M., Sajid, A.R., Sikandar, A., Aslam, M., Hassan, T.U., Nazir, Z., Ji, M. and Li, C. 2022. Comparative Assessment of Phytoconstituents, Antioxidant Activity and Chemical Analysis of Different Parts of Milk Thistle Silybum marianum L. Molecules. 27, 2641.
[21] Mhamdi, B., Abbassi, F., Smaoui, A., Abdelly, C. and Marzouk, B. 2016. Fatty acids, essential oil and phenolics composition of Silybum marianum seeds and their antioxidant activities. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 29:953–959.
[22] Ferreres, F., Sousa, C., Valento, P., Seabra, R.M., Pereira, J.A. and Andrade, P.B. 2007. Tronchuda cabbage (Brassica oleracea L. var. costata DC) seeds: phytochemical characterization and antioxidant potential. Food Chemistry. 101: 549-558.
[23] Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A. and Saura-Calixto, F.1999. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. Food Research International. 32:407–412.
[24] Ahmadi, F., Kadivar, M. and Shahedi, M. 2007. Antioxidant activity of Kelussia odoratissima Mozaff in model and food systems. Food Chemistry. 105: 57-64.
[25] Serce, A., Toptanci, B. C., Tanrikut, S. E., Altas, S., Kizil, G., Kizil, S. and Kizil, M. 2016. Assessment of the antioxidant activity of silybum marianum seed extract and protective effect against DNA oxidation, protein damage and lipid peroxidation. Food Technology and Biotechnology (FTB). 54(4): 455–461.
[26] Kumaran, A. and Karunakaran, R.J. 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India. LWT - Food Science and Technology. 40: 344-352.
[27] Arabshahi- Delouee, S. and Urooj, A. 2006. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (Morus indica L.) leaves. Food Chemistry. 102: 1233-1240.
[28] Soares, A.A., Souza, C.G.M., Daniel, F.M., Ferrari, G.P., Costa, S.M.G. and Peralta, R.M. 2009. Antioxidant activity and total phenolic content of Agaricus brasiliensis (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. Food Chemistry. 112: 775-781.
[29] Negi, P.S., Chauhan, A.S., Sadia, G.A., Rohinishree, Y.S. and Ramteke, R.S. 2005. antioxidant and antibacterial activities of various seabuckthorn (Hippophae rhamnoides L.) seed extracts. Food Chemistry. 92: 119-124.
[30] Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I.C.F.R., Bento, A., Estevinho, L and Pereira, J.A. 2008. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (Juglans regia L.) green husks. Food and Chemical Toxicology. 46: 2326–2331.
[31] Choi, Y. M., Yoon, H., Shin, M. J., Lee, Y., Hur, O. S., Lee, B. C., Ha, B. K.,Wang, X. and Desta, K. T. 2021. Metabolite contents and antioxidant activities of soybean (Glycine max (L.) Merrill) seeds of different seed coat colors. Antioxidants. 10(8), 1210.
[32] Aziz, M.; Saeed, F.; Ahmad, N.; Ahmad, A.; Afzaal, M.; Hussain, S.; Anjum, F.M. 2021. Biochemical profile of milk thistle (Silybum marianum L.) with special reference to silymarin content. Food Sci. Nutr., 9, 244–250.
[33] Kontogianni, V.G. and Gerothanassis, I.P. 2022. Analytical and structural tools of lipid hydroperoxides: Present state and future perspectives. Molecules. 27(7): 2139.
[34] Frankel, E.N. 2005. Lipid Oxidation, 2nd Edn. Dundee, Scotland: The Oily Press Ltd.
[35] Razghandi, E., Elhamirad, A.H., Jafari, S.M., Saeadi Asl, M.R. and Bakhshabadi, H. 2024. Investigating the effect of nanoliposomes containing yarrow (Achillea millefolium) antioxidant extract on oxidative properties and fatty acid profile of sesame oil. Journal of food science and technology. 21(153): 75-87. (In Persian).
[36] Ahmadi, E., Elhamirad, A.H., Molla Nia, N., Saeidi Asl, M.R. and Pedram Nia, A. 2025. Evaluation of the Effect of Adding Antioxidant Extract of White Tea and its Nanoliposomes on Some Oxidative Properties of Soybean Oil and Comparison of Their Kinetic Parameters. Journal of Innovation in Food Science and Technology. 17(1): 1-13. (In Persian).

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

The Effect of Ultrasound-Assisted Ethanolic Extract of Milk Thistle (*Silybum marianum*) Seeds on the Oxidative Stability of Soybean Oil

Motahareh Mazidi[1], Saeedeh Arabshahi-Delouee[2*], Seyyed Hossein Hosseini Ghaboos[2]

1- MSc graduate, Department of Food Science and Technology, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

2- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received:2024/12/2

Accepted:2024/12/22

Keywords:

Milk Thistle Seeds,
Oxidative Stability,
Soybean Oil,
Ultrasound

DOI: **10.22034/FSCT.22.162.250.**

*Corresponding Author E-

Saeedeh_arabshahi@yahoo.com

ABSTRACT

Due to health concerns related to synthetic antioxidants, extensive research has been conducted on using natural antioxidants as preservatives in food. The present study aimed to evaluate the impact of milk thistle seed extract on the oxidative stability of soybean oil. The extract of milk thistle seeds was prepared using ethanol and ultrasound, its antioxidant properties were assessed and then different concentrations (100, 200, and 400 ppm) of the extract were added to refined soybean oil without any antioxidants. The peroxide value and Thiobarbituric acid index of the oil samples were then monitored during storage under accelerated oxidation conditions (70°C, 12 days). The results indicated that the milk thistle extract contained 34.4 mg of total phenols (as gallic acid equivalents) and 26.2 mg of total flavonoids (as quercetin equivalents) per gram of dry matter. The antioxidant properties of the extract evaluated using three methods (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity, total antioxidant capacity and ferric reducing power) showed increase in the antioxidant activity with increasing the extract concentrations (30 to 150 micrograms). Comparing the antioxidant capacity of different concentrations of milk thistle extract with synthetic antioxidant, butylated hydroxytoluene and the control sample (soybean oil without any antioxidant) revealed that the peroxide and thiobarbituric acid values rose in all samples during storage period. However, increasing the concentration of milk thistle extract in soybean oil mitigated this increase, with the most significant reduction observed at 400 ppm. Ultimately, this study demonstrated that incorporating 400 ppm of milk thistle seed extract was more effective in reducing the oxidation rate of soybean oil compared to the synthetic antioxidant.