

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های فنولی میوه یک وارسته بلوط ایرانی (*Q.castaneifolia* var. *castaneifolia*)

مریم قادری قهفرخی^۱، علیرضا صادقی ماهونک^{۱*}، مهران اعلمی^۱، محمد حسین
عزیزی^۲، محمد قربانی^۱

۱- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده صنایع غذایی، گرگان، ایران.

۲- دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، تهران، ایران.

(تاریخ دریافت: ۸۸/۱۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۸۹/۸/۲۹)

چکیده

در این پژوهش ترکیبات فنولی میوه بلوط (*Q.castaneifolia* var *castaneifolia*) با حلال‌های آب و اتانول (۷۰٪) استخراج شدند. مقدار کل ترکیبات فنولی در عصاره‌های اتانولی و آبی به ترتیب ۲۳۸/۸۵ و ۱۴۲/۱۸ میلی گرم معادل تانیک اسید در گرم عصاره بود. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها با آزمون‌های به دام اندازی رادیکال‌های DPPH، قدرت احیاء کنندگی یون‌های آهن ۳ ظرفیتی و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل بررسی و با آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT مقایسه گردید. عصاره‌ی اتانولی بیشترین میزان به دام اندازی رادیکال‌های DPPH را نشان داد. در آزمون‌های قدرت احیاء کنندگی و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل بیشترین فعالیت به ترتیب توسط BHT، عصاره‌ی اتانولی، BHA و عصاره‌ی آبی حاصل گردید. هم چنین، اثر محافظتی عصاره‌ی اتانولی در روغن آفتاب گردان بررسی شد. عصاره‌ی اتانولی میوه بلوط در سه سطح غلظت (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) به روغن اضافه شدند. نمونه‌ی شاهد و آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT در دو سطح غلظت (۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام) به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفتند. نمونه‌ها به مدت ۱۲ روز در ظروف باز در دمای ۷۰°C قرار گرفتند و عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در روزهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که عصاره‌ی اتانولی در تمامی غلظت‌ها به خوبی توانست اکسیداسیون را به تاخیر بیندازد. غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره بهتر از BHT در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام و غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام آن بهتر از BHA با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام عمل نمودند.

کلید واژگان : میوه بلوط، خاصیت آنتی اکسیدانی، مهار رادیکال‌های آزاد، قدرت احیاء کنندگی، عصاره فنولی

* مسئول مکاتبات: sadeghiaz@yahoo.com

۱- مقدمه

اکسیداسیون یکی از مهم‌ترین و شناخته شده‌ترین دلایل فساد لیپیدها طی دوره‌ی نگهداری یا فرآوری آنها محسوب می‌شود. بیشتر روغن‌های خوراکی گیاهی حاوی مقادیر زیاد اسیدهای چرب غیر اشباع بسیار مستعد به اکسیداسیون می‌باشند. این فرآیند نه تنها با گسترش طعم تند، عطر ناخوشایند و رنگ پریدگی همراه است، بلکه ارزش تغذیه‌ای روغن‌ها و چربی‌ها را نیز کاهش می‌دهد و با تولید برخی از ترکیبات سمی و خطرناک، اثرات نامطلوبی را بر سلامتی انسان اعمال می‌نماید. جهت به تاخیر انداختن یا کند کردن روند واکنش اکسیداسیون، آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA، BHT و TBHQ در بسیاری از کشورهای جهان کاربرد وسیعی دارند. این ترکیبات ارزان و در دسترس بوده و کارایی زیادی در مهار اکسیداسیون دارند اما با توجه به اینکه نقش آنها در گسترش بیماری‌هایی نظیر سرطان و بیماری‌های قلبی عروقی و کبدی به خوبی شناخته شده، امروزه جایگزین کردن این ترکیبات با آنتی اکسیدان‌های طبیعی با منشا گیاهی بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۱]. بیشتر آنتی اکسیدان‌های طبیعی قابل پذیرش، اجزای غذایی معمولی هستند که انسان همواره آنها را از طریق رژیم غذایی خود مصرف می‌کند. از مهمترین منابع آنتی اکسیدانی موجود در رژیم غذایی می‌توان به توکوفرول‌ها، گلو تاتیون‌ها، اسید آسکوربیک و نمک‌های آسکوربات، کاروتنوئیدها و ترکیبات فنولی اشاره کرد [۲].

از بین ترکیبات گیاهی که دارای خواص آنتی اکسیدانی می‌باشند، ترکیبات فنولی توزیع گسترده‌ای در بسیاری گیاهان دارند. ویژگی‌های آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی عمدتاً ناشی از قدرت احیاء کنندگی و ساختار شیمیایی آنهاست که آنها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه گانه می‌سازد. ترکیبات فنولی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند [۳]. هم چنین رادیکال‌های فنوکسیل تشکیل شده ترکیبات نسبتاً پایداری می‌باشند، بنابراین واکنش‌های زنجیره‌ای جدید به راحتی آغاز نمی‌شوند. این رادیکال‌ها از طریق واکنش با سایر رادیکال‌ها نیز می‌توانند سرعت مرحله توسعه اکسیداسیون را کاهش دهند [۴].

درخت بلوط متعلق به خانواده فاگاسه و جنس کوثرکوس می‌باشد. میوه‌ی این درخت یکی از منابع غنی از کربوهیدرات، اسید آمینه، چربی و استرول‌های مختلف بوده که از قدیم الایام در بسیاری از مناطق جهان در تهیه‌ی نان یا کیک مورد استفاده قرار گرفته است. میوه‌ی بلوط علاوه بر ترکیبات تغذیه‌ای حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فعال بیولوژیکی می‌باشد که از آن جمله می‌توان به تانن، گالیک اسید، الاجیک اسید و مشتقات گالویل یا هگزاهیدروکسی دی فنوئیل اشاره کرد که تمامی این ترکیبات دارای خواص آنتی اکسیدانی هستند [۵].

در کشور ما، جنگل‌های بلوط توزیع گسترده‌ای در نواحی غرب، جنوب غرب، شمال و شمال غرب دارند و تاکنون گونه‌ها و واریته‌های زیادی از این درختان در این مناطق شناسائی شده است. هر درخت بلوط در سال‌های میوه‌دهی خود حداقل ۱۵ کیلوگرم میوه تولید می‌نماید و میزان تولید سالیانه میوه‌ی بلوط در کشور هزاران تن می‌باشد. متأسفانه این میوه‌ها به جزء استفاده‌ی محدود در خوراک دام و نیز صنایع تولید تانن، کاربرد دیگری نداشته و در جنگل بدون استفاده هدر می‌روند. هدف از تحقیق حاضر بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی فنولی میوه‌ی بلوط در سیستم‌های مدل و نیز در پایداری روغن آفتابگردان تحت شرایط تسریع شده و مقایسه‌ی آن با آنتی اکسیدان‌های BHA و BHT می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

میوه‌های بلوط مورد استفاده در این تحقیق (*Q. castaneifolia var castaneifolia*) در آبان ماه ۱۳۸۷ از جنگل قرق واقع در شرق شهرستان گرگان جمع آوری گردید. پس از خشک کردن در دمای محیط و جدا کردن پوست‌های چوبی و داخلی، میوه‌ها توسط آسیاب چکشی (ایران خودساز، ایران) به صورت آرد (تا مش ۶۰) در آمدند. تهیه عصاره فنولی با روش خیساندن در دو حلال آب و اتانول ۷۰٪ (حجمی:حجمی) انجام گرفت. ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال به ۱۰ گرم پودرافزوده و مخلوط حاصله به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط با همزن مغناطیسی هم زده شد. پس از این مرحله، بخش جامد به وسیله کاغذ صافی معمولی جدا گردید [۶]. عصاره‌ی اتانولی به وسیله تبخیر کننده چرخان در دمای ۴۰°C تغلیظ و در نهایت هر دو عصاره توسط خشک‌کن انجمادی (FDB5503، کره) در دمای ۵۰°C به پودر تبدیل شدند و تا زمان استفاده در ظروف غیر قابل نفوذ به هوا در

فریزر °C ۱۸- قرار گرفتند. تمامی مواد مورد استفاده در این پژوهش با درجه خلوص بالا و از شرکت های مرک و سیگما تهیه شدند.

۲-۱- اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فنولی

مقدار کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالته با روش اسلینکارد و سینگلتن [۷] اندازه گیری شد. جهت رسم منحنی استاندارد، از اسید تانیک استفاده شد. مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره بر حسب معادل تانیک اسید و با استفاده از معادله به دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج بر حسب میلی گرم تانیک اسید در هر گرم عصاره پودر شده بیان شد.

۲-۲- میزان به دام اندازی رادیکال های آزاد

DPPH

برای این منظور، محلول هائی با غلظت های مختلف (۲۰۰-۱۲/۵ میکروگرم در میلی لیتر) از عصاره ها و نیز آنتی اکسیدان های سنتزی BHT و BHA در حلال متانول آماده شدند. یک میلی لیتر از محلول متانولی DPPH (با غلظت ۰/۱ میلی مولار) به ۳ میلی لیتر از عصاره افزوده و مخلوط حاصله به شدت هم زده شد. لوله های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک قرار گرفتند. بعد از این مدت میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. لازم به ذکر است در نمونه کنترل، عصاره با ۳ میلی لیتر متانول جایگزین شد. در نهایت درصد مهار رادیکال های DPPH توسط عصاره با فرمول زیر محاسبه گردید.

$$= \frac{(A_c - A_s)}{A_c} \times 100$$

به دام اندازی رادیکال آزاد (%)

که در این رابطه A_c و A_s به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می باشند [۸].

۲-۳- قدرت احیاء کنندگی

محلول هائی با غلظت های مختلف (۵۰۰-۱۲/۵ میکروگرم در میلی لیتر) از عصاره های پودر شده و نیز BHT و BHA تهیه گردید. ۱ میلی لیتر از محلول عصاره یا آنتی اکسیدان سنتزی با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات (pH = ۶/۶) و ۲/۵ میلی لیتر پتاسیم فری سیانید (۱۰ گرم در لیتر) مخلوط شد و به مدت نیم ساعت در حمام آب با دمای °C ۵۰ قرار گرفت. پس از افزودن ۲/۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۱۰٪ (وزنی: حجمی) نمونه ها

به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت g ۱۶۵۰ سانتیفرز (Centurion K2042) شدند. از محلول روئی پس از سانتیفرز ۲/۵ میلی-لیتر به دقت برداشته و پس از افزودن ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر، جذب نمونه ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید [۹]

۲-۴- ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

۰/۱ میلی لیتر از محلول عصاره و آنتی اکسیدان های سنتزی BHA و BHT با ۱ میلی لیتر از معرف (اسید سولفوریک ۰/۶ مولار، فسفات سدیم ۲۸ میلی مولار و آمونیوم مولیدات ۴ میلی مولار) در لوله آزمایش مخلوط شد و به مدت ۱/۵ ساعت در حمام آب با دمای °C ۹۵ قرار گرفت. پس از سرد کردن، جذب نمونه ها در طول موج ۶۹۵ نانومتر قرائت گردید. در نمونه کنترل به جای عصاره از ۰/۱ میلی لیتر متانول استفاده شد [۱۰].

۲-۵- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها

در روغن آفتاب گردان

عصاره ای اتانولی (۷۰٪) در سه غلظت ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی-پی-ام و آنتی اکسیدان های سنتزی BHA و BHT هر کدام در دو سطح مجاز ۱۰۰ و ۲۰۰ پی-پی-ام به روغن آفتاب گردان بدون آنتی اکسیدان (تهیه شده از کارخانه پرتو دانه خزر) اضافه شدند. عمل اختلاط عصاره ها با روغن توسط همزن مغناطیسی و به مدت ۳۰ دقیقه برای هر عصاره صورت گرفت. مقداری از روغن آفتاب گردان (بدون هیچ گونه افزودنی) نیز، به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. ظروف مورد استفاده در این بررسی، شفاف و با دهانه باز بودند که تا حجم ۸۰ میلی لیتر با روغن پر و به گرمخانه ی °C ۷۰ منتقل شدند. نگهداری روغن در این شرایط ۱۲ روز به طول انجامید و طی این مدت، میزان پیشرفت اکسیداسیون روغن در روزهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ با اندازه گیری عدد پراکسید [۱۱] و تیوباربتوریک اسید [۱۲] تعیین گردید. درصد مهار اکسیداسیون روغن آفتاب گردان توسط عصاره ها با رابطه ی زیر محاسبه گردید:

(۱۰۰ × عدد پراکسید شاهد / عدد پراکسید نمونه) - ۱۰۰ = درصد مهار اکسیداسیون

۲-۶- آنالیز آماری

در روش های اندازه گیری ترکیبات فنولی کل، میزان به دام اندازی رادیکال های آزاد، قدرت احیاء کنندگی و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، مقایسه ی میانگین های به دست آمده از سه تکرار با آزمون دانکن ($P < 0/05$) بر پایه ی طرح کاملاً تصادفی

صورت گرفت. هم‌چنین مقایسه‌ی میانگین اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید مربوط به تیمارهای مختلف با طرح اندازه-گیری‌های تکرار شده در زمان در سطح احتمال ۵٪ صورت پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مقدار ترکیبات فنولی کل

نتایج مربوط به اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، دو عصاره مورد بررسی از این نظر اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) با یکدیگر داشتند. بیشترین مقدار ترکیبات فنولی توسط حلال اتانول (۷۰٪) استخراج گردید و مقدار ترکیبات فنولی کل آن تقریباً ۱/۷ برابر بیشتر از عصاره‌ی آبی بود.

جدول ۱ مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره‌های آبی و اتانولی

نوع عصاره	مقدار کل ترکیبات فنولی (میلی گرم تانیک اسید/ گرم عصاره)
عصاره‌ی اتانولی (۷۰٪)	$238/85 \pm 1/48^a$
عصاره‌ی آبی	$142/18 \pm 0/85^b$

نتایج حاصل از میانگین ۳ تکرار $\pm S.D$.

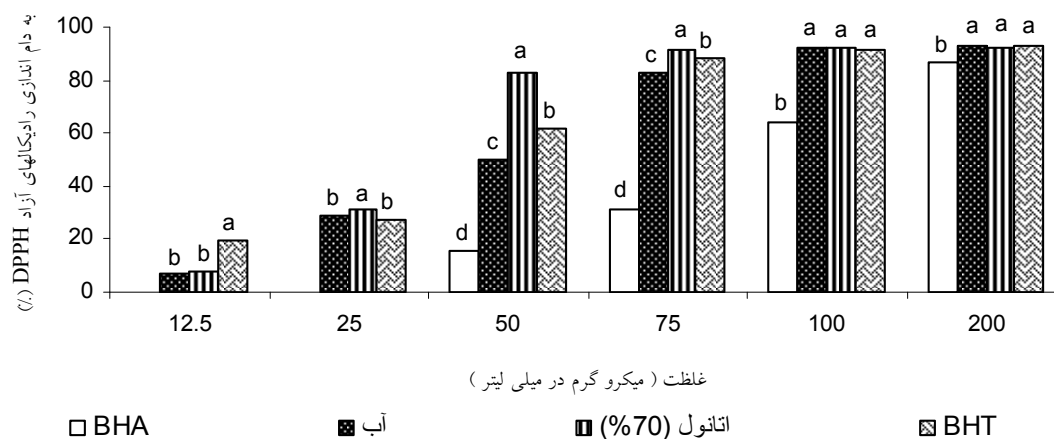
حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

در بررسی انجام شده توسط راکیک و همکاران [۵] مقدار ترکیبات فنولی کل و تانن عصاره متانولی میوه بلوط گونه کوثرکوس روبور به ترتیب ۰/۲۲۳ و ۰/۲۰۴ و برای گونه کوثرکوس سوبور ۰/۲۱۸ و ۰/۲۲۹ میلی‌گرم معادل اسید گالیک در میلی‌گرم عصاره گزارش شد. مقادیر گزارش شده برای ترکیبات فنولی این دو گونه نسبت به عصاره‌ی اتانولی واریته‌ی کاستانیفولیا در تحقیق حاضر تفاوت چندانی نداشت اما از مقادیر ترکیبات فنولی کل عصاره آبی بیشتر بود. عوامل متعددی مقدار ترکیبات فنولی موجود در بافت‌های گیاهی را تحت تاثیر قرار می‌دهند که از آن جمله می‌توان به فاکتورهای ژنتیکی، گونه و واریته، میزان تابش نور خورشید، شرایط خاک، درجه رسیدگی در زمان برداشت، شرایط محیطی و آب و هوایی، عملیات پس از برداشت و شرایط نگهداری اشاره کرد [۱۳] حلالیت ترکیبات فنولی بسته به نوع حلال، درجه

پلیمریزاسیون آنها و بر هم کنش آنها با سایر ترکیبات موجود در بافت‌های گیاهی متفاوت است. استفاده از آب به عنوان حلال استخراج، یک محیط کاملاً قطبی ایجاد می‌کند که در آن برخی از ترکیبات فنولی با درجه قطبیت پائین به میزان کمتری استخراج می‌شوند. افزودن آب به حلال‌های آلی نظیر اتانول یا متانول با تشکیل یک محیط نسبتاً قطبی همراه بوده و بنابراین از استخراج مقادیر و انواع بیشتری از ترکیبات فنولی در این شرایط اطمینان حاصل می‌گردد [۱۴].

۳-۲- به دام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH

نتایج آنالیز واریانس نشان داد، نوع و غلظت عصاره‌ها و آنتی اکسیدان‌های سنتزی تاثیر معنی‌داری بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد دارد. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، در محدوده‌ی غلظت ۲۵-۷۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، عصاره‌ی اتانولی قدرت مهار کنندگی بیشتری نسبت به عصاره‌ی آبی، BHA و BHT داشت. علاوه بر این عصاره آبی در تمامی غلظت‌ها از نظر توانایی مهار رادیکال‌های آزاد نسبت به BHA قوی‌تر اما نسبت به BHT ضعیف‌تر بود. به استثنای BHA اختلاف معنی‌داری بین فعالیت ضد رادیکالی هر آنتی اکسیدان در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر وجود نداشت. با افزایش غلظت ترکیبات فنولی به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهار کنندگی عصاره افزایش می‌یابد [۱۵]. احتمالاً در غلظت‌های خیلی بالا به دلیل پیدایش نوعی حالت اشباع شدگی، افزایش غلظت تاثیر معنی‌داری بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد ندارد. این نتایج نشان می‌دهد یک غلظت بحرانی از ترکیبات فنولی برای مهار رادیکال‌های آزاد کافی است. معمولاً برای مقایسه فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌های مختلف از فاکتوری تحت عنوان EC_{50} استفاده می‌شود. طبق تعریف EC_{50} به غلظتی از عصاره اطلاق می‌گردد که در آن ۵۰٪ از رادیکال‌های آزاد DPPH موجود در محیط واکنش مهار شوند [۵]. بنابراین هر چه این غلظت کمتر باشد، نشان دهنده این است که عصاره مورد نظر فعالیت ضد رادیکالی بیشتری دارد. مقادیر EC_{50} عصاره‌ها و آنتی اکسیدان‌های سنتزی از ۳۴/۲۸-۸۹/۴۶ میکروگرم در میلی‌لیتر متغیر بود که بیشترین و کمترین مقدار به ترتیب متعلق به BHA و عصاره‌ی اتانولی بود (جدول ۲).



شکل ۱ مقایسه میانگین درصد مهار رادیکالهای آزاد DPPH توسط غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی و اتانولی میوه‌ی بلوط و آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHT و BHA

حروف غیر مشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

۱۰۰ میکرو گرم در میلی‌لیتر درصد مهار رادیکالهای آزاد به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. مقادیر EC_{50} برای دو واریته کریس و روبر به ترتیب ۸/۸۸ و ۸/۰۴ میکرو گرم در میلی‌لیتر بود. همچنین در غلظت‌های بالا، فعالیت رادیکال‌زدایی عصاره‌ها به طور معنی‌دار افزایش نیافت که با نتایج به دست آمده در این بررسی مطابقت داشت.

تفاوت‌های مشاهده شده بین EC_{50} عصاره‌ها در این تحقیق را می‌توان به تفاوت در مقدار ترکیبات فنولی آنها نسبت داد. در بررسی انجام شده توسط راکیک و همکاران (۲۰۰۷) دو گونه-ی بلوط کوثرکوس کریس و کوثرکوس روبر از نظر میزان مهار رادیکال‌های DPPH مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد، با افزایش غلظت عصاره متانولی از ۱۲/۵ تا

جدول ۲ مقادیر EC_{50} (میکرو گرم عصاره در میلی‌لیتر) عصاره‌ها و آنتی اکسیدان‌های سنتزی در روش‌های مختلف ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی

آنتی اکسیدان‌ها و عصاره‌ها	EC_{50} (به دام اندازی رادیکال‌های آزاد)	EC_{50} (قدرت احیاء کنندگی)	EC_{50} (ظرفیت آنتی اکسیدانی کل)
اتانولی	۳۴/۲۸ ^c	۱۱۷/۰۳ ^b	۲۶۰/۸۸ ^b
آبی	۴۹/۴۶ ^b	۲۰۵/۶۵ ^a	۴۳۰/۲۵ ^a
BHA	۸۹/۴۶ ^a	۲۰۳/۵۵ ^a	۴۲۲/۶۹ ^a
BHT	۴۱/۷۳ ^b	۵۹/۱۵ ^c	۱۷۷/۴۷ ^c

حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد.

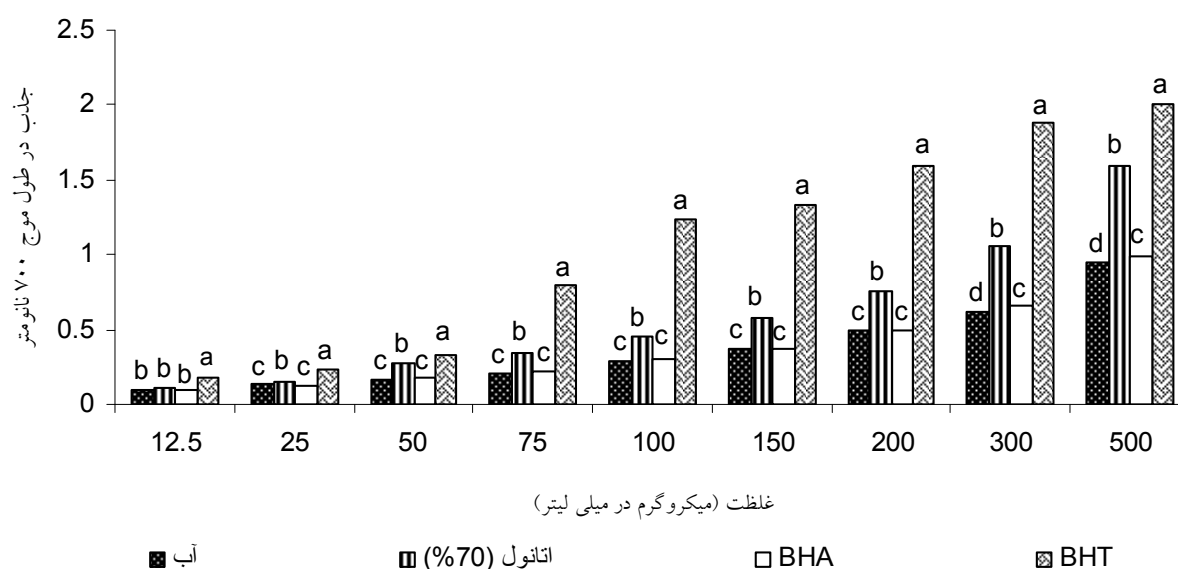
۳-۳- قدرت احیاء کنندگی

احیاء کنندگی بود. همچنین اختلاف معنی‌داری بین قدرت احیاء کنندگی عصاره آبی و BHA در غلظت‌های ۲۰۰-۱۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر دیده نشد اما در غلظت‌های بالاتر میزان جذب محلول‌های حاوی BHA به طور معنی‌داری بیشتر از عصاره آبی بود. پس از BHT عصاره‌ی اتانولی بیشترین میزان

شکل ۲ مقایسه میانگین میزان جذب غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی، اتانولی و آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT را به عنوان شاخصی از قدرت احیاء کنندگی در طول موج ۷۰۰ نانومتر نشان می‌دهد. در تمامی غلظت‌های مورد بررسی آنتی اکسیدان سنتزی BHT دارای بیشترین قدرت

تشکیل پراکسید در روغن‌ها و چربی‌ها جلوگیری می‌کنند [۱۶]. در این روش، غلظتی از عصاره که در طول موج ۷۰۰ نانومتر جذبی معادل ۰/۵ دارد، تحت عنوان EC_{50} نامیده می‌شود. نتایج مقایسه‌ی میانگین نشان داد، اختلاف معنی‌داری بین مقادیر EC_{50} عصاره‌های مختلف در سطح احتمال ۵٪ وجود دارد. کمترین مقدار EC_{50} به ترتیب متعلق به BHT، عصاره‌ی اتانولی، BHA و عصاره‌ی آبی بود که دو مورد آخر اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) با یکدیگر نداشتند (جدول ۲).

قدرت کاهندگی را به خود اختصاص داد. در کل ویژگی‌های احیاء کنندگی با حضور ترکیبات اهداء کننده‌ی الکترون همراه است. به عبارتی با افزایش میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره، قدرت احیاء کنندگی آن افزایش می‌یابد، در نتیجه عصاره قادر خواهد بود با اهداء تعداد بیشتری الکترون یا اتم-های هیدروژن واکنش‌های زنجیری تشکیل رادیکال‌های آزاد را شکسته و اکسیداسیون چربی را به تاخیر بیندازد. واکنش ترکیبات احیاء کننده با پیش‌سازهای پراکسید نیز یکی دیگر از مکانیسم‌هایی که ترکیبات آنتی اکسیدانی و احیاء کننده از

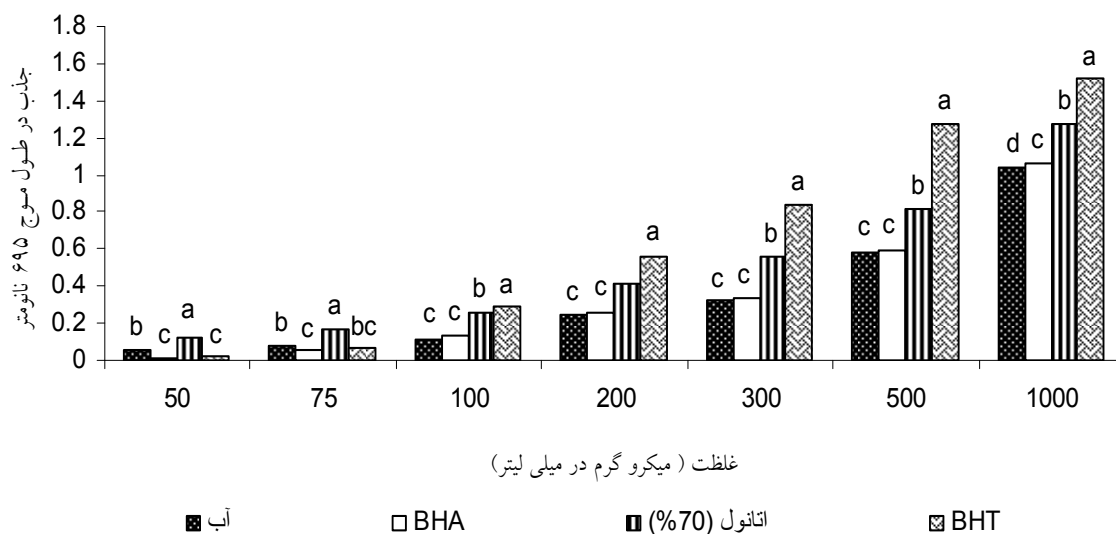


شکل ۲ مقایسه میانگین قدرت احیاء کنندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی و اتانولی میوه‌ی بلوط و آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHT و BHA. حروف غیر مشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

غلظت‌های پائین ظرفیت آنتی اکسیدانی BHA و BHT به طور قابل ملاحظه‌ای کمتر از عصاره‌های آبی و اتانولی بود اما با افزایش غلظت به بیش از ۷۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، BHT بیشترین میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی را به خود اختصاص داد. هم چنین میانگین مقادیر EC_{50} (غلظتی از عصاره که در طول موج ۶۹۵ نانومتر جذبی معادل ۰/۵ داشته باشد) برای عصاره‌های اتانولی، آبی و آنتی اکسیدان‌های سنتزی در این روش نیز محاسبه گردید (جدول ۲). BHT و عصاره‌ی اتانولی به ترتیب کمترین مقادیر EC_{50} را داشتند و BHA و عصاره‌ی آبی در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند که اختلاف معنی‌داری از این نظر بین آنها مشاهده نگردید.

۳-۴- ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

اساس کار در این روش احیاء مولیبدن ۶ ظرفیتی به مولیبدن ۵ ظرفیتی در محیط اسیدی و دمای بالا است. این واکنش با تشکیل کمپلکس‌های سبز رنگ فسفو مولیبدن همراه است که در طول موج ۶۹۵ نانومتر دارای حداکثر میزان جذب می‌باشد. همانطور که در شکل ۳ نیز دیده می‌شود، عصاره‌های اتانولی در تمامی غلظت‌های مورد بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به BHA و عصاره‌ی آبی داشت. عصاره‌ی آبی در غلظت‌های پائین (۵۰-۷۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) ظرفیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به BHA دارا بود اما در غلظت‌های بالاتر اختلاف معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد. در



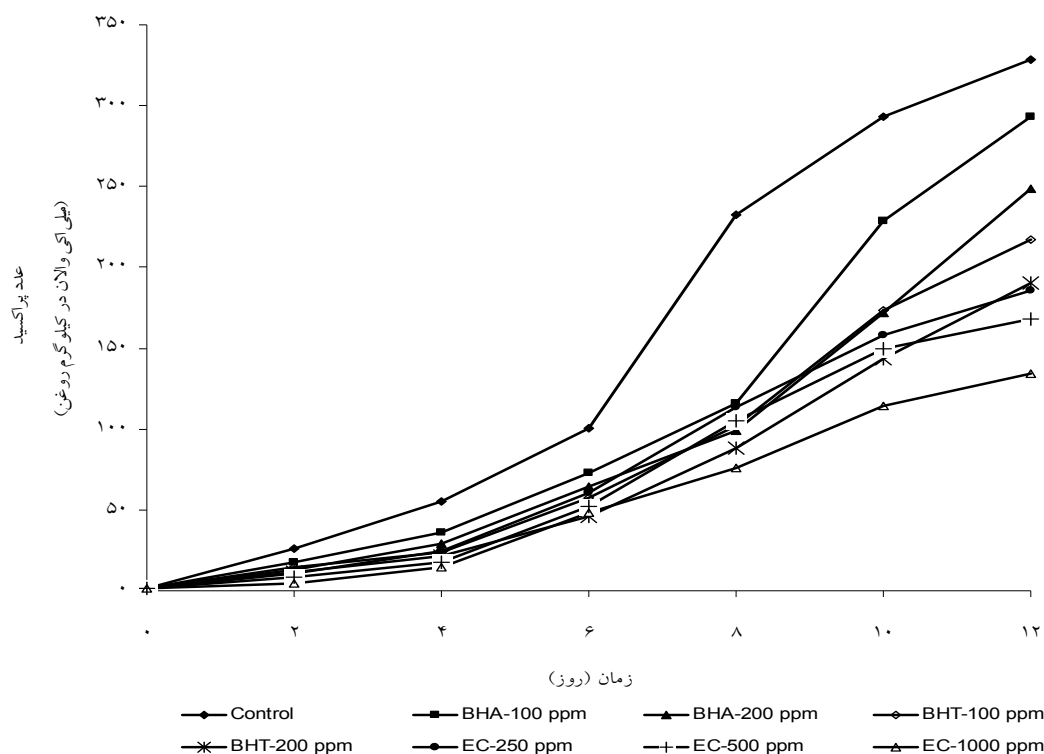
شکل ۳ مقایسه میانگین ظرفیت آنتی اکسیدانی کل عصاره‌های آبی و اتانولی میوه بلوط و آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT. حروف غیر مشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

روغن رسید. با افزایش زمان به ۱۰ و ۱۲ روز عدد پراکسید نمونه‌ی شاهد به ترتیب به ۲۹۲/۹۸ و ۳۲۸/۸۸ میلی اکسی والان افزایش یافت که نسبت به روزهای قبل سرعت کمتری داشت. در نمونه‌های حاوی عصاره و آنتی اکسیدان‌های سنتزی نیز افزایش منظمی در میزان عدد پراکسید مشاهده گردید اما سرعت این افزایش نسبت به نمونه‌ی شاهد کمتر بود. عصاره‌ی اتانولی در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام در تمامی روزهای آزمایش عدد پراکسیدی کمتر از BHT و BHA در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام داشت. در روز پایانی آزمایش عدد پراکسید نمونه‌های حاوی عصاره و آنتی اکسیدان‌های

سنتزی بین ۲۹۳/۰۲ - ۱۳۴/۰۶ میلی اکسی والان پراکسید در کیلوگرم روغن بود. در این روز درصد مهار اکسیداسیون توسط تیمارهای BHA-۱۰۰، BHA-۲۰۰، BHT-۱۰۰، BHT-۲۰۰، BHT-۲۵۰، Et-۵۰۰ و Et-۱۰۰۰ به ترتیب ۱۰/۹، ۲۴/۲۸، ۳۳/۹۷، ۴۲/۰۵، ۴۳/۵۴، ۴۸/۹۸، ۵۹/۲۳٪ بود (جدول ۳). نتایج حاکی از آن است که عصاره‌ی اتانولی میوه بلوط در تمامی غلظت‌ها توانست اکسیداسیون را نسبت به نمونه‌ی شاهد مهار کند و از این نظر با آنتی اکسیدان‌های BHA و BHT قابل رقابت بود.

۳-۵- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی با روش گرم‌خانه

به دلیل اینکه عصاره‌ی اتانولی در تمامی روش‌های مورد بررسی عملکرد بهتری نسبت به عصاره‌ی آبی داشت لذا این عصاره جهت بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی در روغن آفتاب-گردان انتخاب گردید و عملکرد آن در به تاخیر انداختن اکسیداسیون با آنتی اکسیدان‌های سنتزی مقایسه شد. شکل‌های ۴ و ۵ تغییرات عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های مختلف طی دوره‌ی آزمایش را نشان می‌دهند. نتایج آنالیز آماری نشان داد، اثر نوع تیمار، غلظت و زمان و نیز اثرات متقابل آنها بر میزان عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشند. در این بررسی عدد پراکسید تمامی نمونه‌ها با افزایش مدت زمان نگهداری در دمای 70°C به تدریج افزایش یافت. 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 چهارم به بعد با سرعت بیشتری ادامه یافت. میزان عدد پراکسید نمونه‌ی شاهد از ۱/۲۵ در روز نخست پس از ۲، ۴، ۶ و ۸ روز نگهداری به ترتیب به ۲۶/۲۳، ۵۵/۲۵، ۱۰۰/۶۱ و ۲۳۲/۷۴ میلی‌اکسی والان در کیلوگرم



شکل ۴ روند تغییرات عدد پراکسید تیمارهای مختلف حاوی عصاره‌ی اتانولی میوه‌ی بلوط، آنتی اکسیدان‌های سنتزی و نمونه‌ی شاهد طی نگهداری در دمای 70°C . حروف غیر مشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

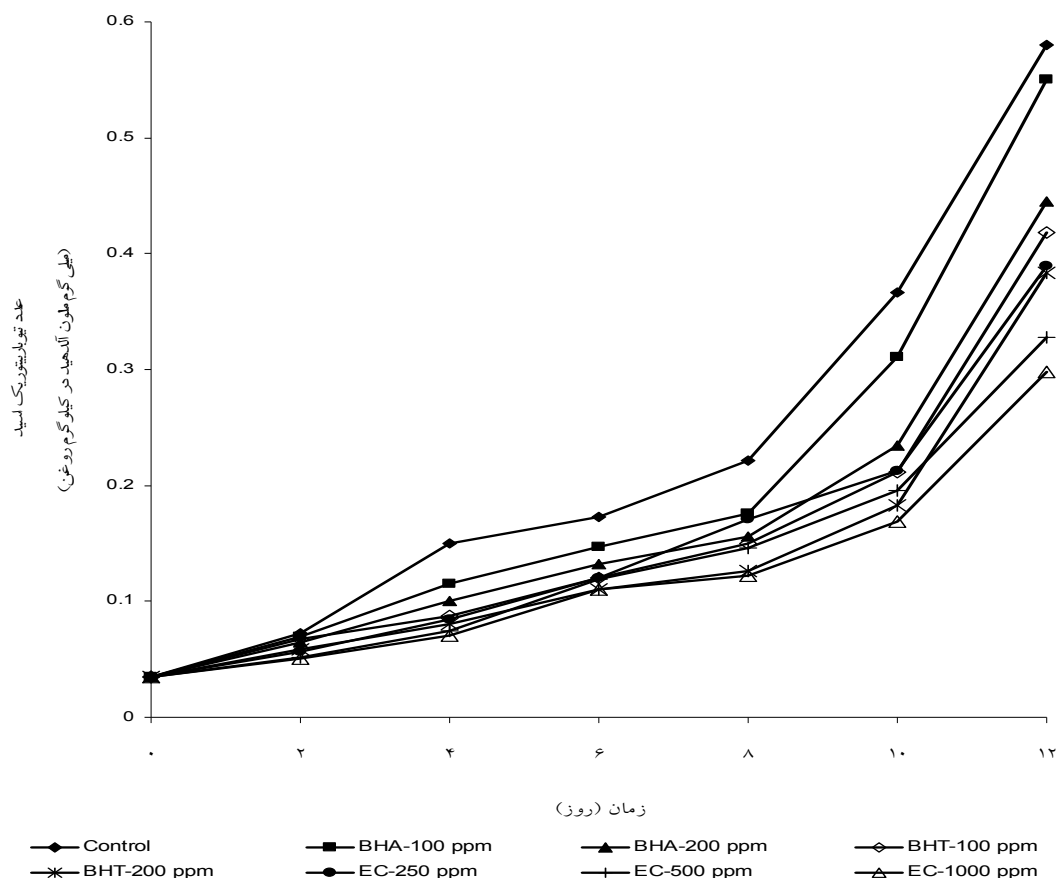
کاهش مشاهده شده در سرعت تشکیل هیدرو پراکسیدها در این روزها را تصدیق می‌نماید. مقدار مالون آلدئید موجود در نمونه‌های روغن از روز آغاز گرم‌خانه گذاری شروع به افزایش کرد اما این افزایش تا روز هشتم آزمایش با سرعت بسیار کمی انجام شد. میزان عدد تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌ی شاهد در روز هشتم آزمایش از ۰/۲۲۲ به ترتیب به ۰/۳۶۷ و ۰/۵۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در روز دهم و دوازدهم افزایش یافت. در نمونه‌های حاوی عصاره، BHA و BHT سرعت تشکیل محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون کمتر از نمونه‌ی شاهد بود و این به دلیل اثر آنتی اکسیدان‌ها در جلوگیری از تجزیه‌ی هیدرو پراکسیدها می‌باشد. تیمارهای Et-۱۰۰۰ و Et-۵۰۰ در اکثر روزهای آزمایش کمترین مقدار عدد تیوباربیتوریک اسید را به خود اختصاص دادند. تیمار Et-۲۵۰ نیز از این نظر با ۱۰۰-BHT قابل رقابت بود. در روز پایانی آزمایش مقدار مالون آلدئید موجود در تیمارهای Et-۱۰۰۰، Et-۵۰۰، Et-۲۰۰

اندازه‌گیری عدد پراکسید تنها تاثیر آنتی اکسیدان‌ها را بر تشکیل محصولات اولیه‌ی اکسیداسیون نشان می‌دهد. به منظور بررسی اثر آنتی اکسیدان‌ها در جلوگیری از تشکیل محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون، عدد تیوباربیتوریک اسید نیز به همراه عدد پراکسید اندازه‌گیری شد. عدد تیوباربیتوریک اسید روغن آفتاب‌گردان در روز آغاز آزمایش ۰/۰۳۵ میلی‌گرم مالون آلدئید در کیلوگرم روغن بود. افزایش عدد تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌ها نشان دهنده‌ی تشکیل محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون می‌باشد که تاثیر نامطلوبی روی ویژگی‌های ارگانولپتیکی روغن دارند. در روزهای پایانی آزمایش سرعت تشکیل محصولات اولیه‌ی اکسیداسیون کاهش یافت. احتمالاً بخشی از هیدرو پراکسیدهای تشکیل شده در مرحله‌ی انتشار شروع به تجزیه شدن نموده و به محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون نظیر مالون آلدئید تبدیل می‌شوند. افزایش چشمگیر عدد تیوباربیتوریک اسید در روزهای پایانی آزمایش،

میلی گرم در هر کیلوگرم روغن بود.

BHA-۱۰۰ و BHA-۲۰۰، BHT-۱۰۰، Et-۲۵۰، BHT

به ترتیب ۰/۲۹۸، ۰/۳۲۸، ۰/۳۸۳، ۰/۳۸۹، ۰/۴۱۸، ۰/۴۴۵



شکل ۵ روند تغییرات میزان عدد تیوباربیتوریک اسید تیمارهای مختلف حاوی عصاره‌ی اتانولی میوه‌ی بلوط، آنتی اکسیدان‌های سنتزی و نمونه‌ی شاهد طی نگهداری در دمای ۷۰°C.

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.

نتایج نشان داد که عصاره‌ی اتانولی میوه‌ی بلوط در تمامی غلظت‌ها مورد بررسی علاوه بر جلوگیری از افزایش هیدروپراکسیدها، توانست به نحو مطلوبی تشکیل محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون را نیز به تعویق بیندازند. همانطور که مشاهده شد، توانائی آنتی اکسیدان‌ها در مهار اکسیداسیون وابسته به غلظت بود. اگر چه در روزهای ابتدائی اختلاف بین غلظت‌های مختلف هر عصاره چندان محسوس نبود اما با گذشت زمان نمونه‌های روغن حاوی مقادیر بیشتری از عصاره یا آنتی اکسیدان سنتزی ثابت اکسیداتیو بیشتری نشان دادند.

جدول ۳ درصد مهار کنندگی تیمارهای مختلف عصاره‌ی اتانولی میوه‌ی بلوط، آنتی اکسیدان‌های سنتزی و نمونه‌ی شاهد

تیمار	روز					
	۲	۴	۶	۸	۱۰	۱۲
Et- 250	۵۵/۰۴	۵۵/۸۹	۳۹/۴۹	۵۱/۱	۴۶/۱۱	۴۳/۵۴
Et- 500	۶۵/۸۷	۶۷/۶۹	۴۷/۸۵	۵۴/۸۵	۴۸/۸۷	۴۸/۹۸
Et- 1000	۷۹/۸۳	۷۴/۱۱	۵۱/۸۹	۶۷/۳۷	۶۰/۹۴	۵۹/۲۳
BHA- 100	۲۷/۸۳	۳۵/۳۴	۲۷/۸۶	۵۰/۱۵	۲۱/۹	۱۰/۹۰
BHA- 200	۴۵/۱۶	۴۶/۷۱	۳۶/۰۵	۵۷/۶۰	۴۱/۳۳	۲۴/۲۸
BHT- 100	۳۸/۳۷	۵۶/۳۹	۴۲/۶۷	۵۶/۱۳	۴۰/۷۷	۳۳/۹۷
BHT- 200	۵۰/۷۵	۶۱/۷۹	۵۴/۰۹	۶۲/۱۸	۵۱/۱	۴۲/۰۵

Et، BHA و BHT به ترتیب بیانگر عصاره اتانولی، بوتیل هیدروکسی آنیزول و بوتیل هیدروکسی تولوئن می باشند.

میزان عدد پراکسید نمونه‌ی شاهد پس از ۲۸ روز به ۳۱۲/۹۷ رسید و اکثر عصاره‌ها در تمامی سطوح مورد بررسی توانستند به خوبی اکسیداسیون را به تعویق بیندازند. عصاره‌های متانولی *P.bruquieri* و *S.laxa* در به تاخیر انداختن اکسیداسیون تاثیر بیشتری داشته و با BHA، آنتی اکسیدان‌های برگ چای و روزماری رقابت کردند [۱۸].

۴- نتیجه گیری و پیشنهادات

نتایج به دست آمده در این بررسی نشان داد، میوه‌ی بلوط به واسطه‌ی داشتن مقادیر زیادی از ترکیبات فنولی دارای پتانسیل آنتی اکسیدانی بالایی است. افزودن عصاره‌ی اتانولی این میوه به روغن آفتاب‌گردان سبب افزایش پایداری این روغن در شرایط مساعد برای اکسیداسیون گردید. با توجه به اثرات نامطلوب آنتی اکسیدان‌های سنتزی بر سلامت انسان، کاربرد عصاره‌ی بلوط به عنوان جایگزین این ترکیبات در مواد غذایی حاوی چربی پیشنهاد می‌گردد.

۵- تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری ارزشمند جناب آقای مهندس کشمیری و کارخانه‌ی پرتودانه خزر صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

۶- منابع

[1]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

راکیک و همکاران (۲۰۰۷) تاثیر عصاره‌ی آبی میوه بلوط گونه کوثرکوس روبر را در به تاخیر انداختن اکسیداسیون چربی خوک طی ۱۰ روز در دمای ۶۰°C مورد بررسی قرار دادند. غلظت‌های مختلف (۰/۰۲ و ۰/۰۴) این عصاره توانستند تشکیل مالون آلدهید را نسبت به نمونه‌ی شاهد به تاخیر بیندازند اما هیچ کدام از آنها با آنتی اکسیدان سنتزی BHA در غلظت ۰/۰۲٪ قابل رقابت نبودند. در زمینه‌ی کاربرد عصاره‌های میوه‌ی بلوط در روغن‌های گیاهی هیچ گزارشی در منابع علمی یافت نشد اما محققین زیادی تاثیر افزودن عصاره‌های آبی و الکلی گیاهان مختلف را در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن‌های گیاهی مورد بررسی قرار دادند. تاثیر عصاره‌ی متانولی سیر در ۳ سطح غلظت (۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) و آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT (۲۰۰ پی‌پی‌ام) در ثبات اکسیداتیو روغن آفتاب‌گردان در دمای ۶۵°C با اندازه‌گیری عدد پراکسید و تیوباریتوریک اسید مورد بررسی قرار گرفت. تمامی تیمارها توانستند اکسیداسیون روغن و تشکیل محصولات اولیه و ثانویه‌ی اکسیداسیون را نسبت به نمونه‌ی شاهد به خوبی مهار نمایند درجه تاثیر عصاره‌ها و آنتی اکسیدان‌های سنتزی در روش‌های اندازه‌گیری عدد پراکسید و تیوباریتوریک اسید به صورت زیر گزارش شد:

غلظت ۱۰۰۰ عصاره < BHT < BHA < غلظت ۵۰۰ عصاره < غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام عصاره [۱۷].

فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی متانولی گونه‌های مختلفی از گیاهان جنس پلومیس و استاچیز در روغن آفتاب گردان در دمای ۷۰°C و در ظروف روشن مورد بررسی قرار گرفت.

- a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*. 269: 337-341.
- [11] AOAC. 1990: Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Washington, DC., USA.
- [12] Sidewell, G.G., Salwin, H., Benca, M. and Mitchel, J.A. 1954. The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 31: 603-606.
- [13] Faller, A.L.K. and Fialho, E. 2009. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Research International*. 42: 210-215.
- [14] Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R. and Larondelle, Y. 2007. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavon) tubers. *Separation and Purification Technology*. 55: 217-225.
- [15] 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.
- [16] Kumaran, A. and Karunakaran, R.J. 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT*. 40: 344-352.
- [17] Iqbal, S. and Bhanger, M.I. 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*. 100: 246-254.
- [18] Morteza-Semnani, K., Saeedi, M. and Shahani, S. 2006. Antioxidant activity of the methanolic extracts of some species of *Phlomis* and *Stachys* on sunflower oil. *African Journal of Biotechnology*. 5: 2428-2432.
- during accelerated storage. *Food Chemistry*. 118: 656-662.
- [2] Pokorny, J. 2007. Are natural antioxidants better and safer than synthetic antioxidant? *European Journal of Lipid Science and Thechnology*. 109: 629-642.
- [3] Ahmadi, F., Kadivar, M. and Shahedi, M. 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff in model and food systems. *Food Chemistry*. 105: 57-64.
- [4] Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., and Jimenez, L. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79: 727-747.
- [5] Rakic, S., Petrovic, S., Kukic, J., Jadranin, M., Tesevic, V., Povrenovic, D. and Siler-Marinkovic, S. 2007. Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. *Food Chemistry* 104: 830-834.
- [6] Kowalski, R. 2009. *Silphium* L. extracts – composition and protective effect on fatty acids content in sunflower oil subjected to heating and storage. *Food Chemistry*. 112: 820-830.
- [7] 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.
- [8] Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., and Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40: 945-948.
- [9] Yildirim, A., Mavi, A., and Kara, A. A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 4083-4089.
- [10] Prieto, P., Pineda, M. and Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of

Study on Antioxidant Activities of Phenolic Extracts from Fruit of a Variety of Iranian Acorn (*Q. castaneifolia* var *castaneifolia*)

Ghaderi Ghahfarokhi, M.¹, Sadeghi Mahoonak, A. R.^{*1}, Alami, M.¹, Azizi, M. H.², Ghorbani, M.¹

1- Faculty of Food Science & Technology, University of Agricultural sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran.

2- Department of Food Science & Technology, College of Agricultural, Tarbiat Modares, University, Tehran, Iran.

(Received:88/12/19 Accepted:89/8/29)

In this study, phenolic compounds of acorns (*Q. castaneifolia* var *castaneifolia*) were extracted with water and ethanol (70%). Total phenolic content of water and ethanolic (Et) extracts were 238.85 and 142.18 mg TAE/gr dried extracts, respectively. Antioxidant activity was evaluated using three different methods: including scavenging effect on DPPH radicals, reducing power of Fe^{+3} and total antioxidant capacity. The results were compared with synthetic antioxidant, BHA and BHT. In all the methods, the antioxidant activity was concentration dependent. Ethanolic extract of *Q. castaneifolia* was the highest in DPPH assay ($\text{EC}_{50}=34.28 \mu\text{g/ml}$). In the reducing power and total antioxidant capacity, BHT obtained the best results followed by ethanolic extract, BHA and water extract. Also, the protective effect of ethanolic extract in stabilizing sunflower oil was tested. Ethanolic extract of acorn at three different concentrations, i.e. 250 (Et-250), 500 (ET-500) and 1000 ppm (Et-1000) was added to sunflower oil. BHA and BHT at 100 and 200 ppm were chosen as standards along with the control. All samples were incubated in open beakers at 70°C in the dark for 12 days. The peroxide and tiobarbituric acid values of the samples were determined at definite time intervals of 0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 days. Results showed that ethanolic extract at all concentration retarded the oil oxidation. Et-1000ppm and Et-500 ppm exhibited stronger antioxidant activity compared to BHT-200 and Et-250 was better than BHA-100.

Key Words : Acorn fruit, Antioxidant activity, Radical scavenging activity, Reducing power, Phenolic extract.