

فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک تفاله انگور (یادداشت پژوهشی)

یوسف روزبهان^{1*}، داریوش علیپور²، محسن برزگر³ و محمد حسین عزیزی⁴

1- دانشیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، گروه علوم دامی.

2- استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، گروه علوم دامی.

3- دانشیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، گروه علوم و صنایع غذایی.

4- دانشیار، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، گروه علوم و صنایع غذایی

چکیده

در این تحقیق ترکیبات فنولیک تفاله انگور با استفاده از حلال استن استخراج و مقدار آن به روش فولین-سیوکالو اندازه‌گیری شد. به منظور بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراج شده مقادیر 50، 150، 250 و 350 ppm به روغن خام سویا افزوده گردید و در روزهای صفر، چهار، هشت و دوازده عدد پراکسید و روزهای صفر، پنج، نه و سیزده عدد تیوباربیتریک اسید (TBA) نمونه‌های روغن تعیین گردید. نتایج نشان داد که مقدار ترکیبات فنولیک در تفاله انگور حدود $64 \pm 1/2$ گرم به ازای کیلوگرم وزن خشک می‌باشد. غلظت ppm 150 عصاره حاوی تانن تفاله انگور دارای فعالیت مناسبی در مهار اکسیداسیون روغن سویا بود، و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین سطوح 150، 250 و 350 ppm مشاهده نشد. این غلظت حتی از غلظت 200 ppm آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی استفاده شده در این آزمایش نیز بهتر بود. بدین ترتیب می‌توان تفاله انگور را منبع مناسبی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی معرفی نمود و این اثر را ناشی از حضور ترکیبات فنولیک آن دانست.

کلید واژگان: تفاله انگور، ترکیبات فنولیک، آنتی‌اکسیدان، عدد پراکسید، شاخص تیوباربیتریک اسید

1- مقدمه

به دست می‌آید. تفاله انگور حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است (4-5) که به دلیل وجود همین ترکیبات، استفاده از آن به عنوان خوراک دام و یا کود راعی با مشکلاتی همراه است. تعدادی از دام‌های اهلی قادر به تحمل این ترکیبات نیستند و میل چندانی به خوردن آن ندارند (6) و در صورت استفاده به عنوان کود زراعی نیز این ترکیبات باعث کاهش حاصلخیزی خاک می‌گردند (7). به هر حال، این ترکیبات سلامت بخش بوده و می‌توانند کاربردهای زیادی در صنایع غذایی داشته باشند (8). هدف از انجام این تحقیق استخراج، تعیین کمی و بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک موجود در

امروزه به منظور حفظ و افزایش سلامت مصرف‌کنندگان و نیز دستیابی به منابع جدید و ارزان قیمت آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، تحقیقات در این مورد ضروری است (1-3). به همین دلیل، در سال‌های اخیر توجه زیادی به ضایعات محصولات کشاورزی حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی معطوف گردیده است یکی از این منابع پسماندهای کارخانجات تولیدکننده آب میوه و کنسنتره است. از این دست پسماندها می‌توان به تفاله‌های مرکبات، گوجه‌فرنگی، سیب و انگور اشاره نمود. تفاله انگور یکی از پسماندهایی است که سالیانه به مقدار زیاد (50000 تن در سال) در کارخانجات آب میوه‌گیری

* مسئول مکاتبات: rozbeh_y@modares.ac.ir

تفاله انگور بر روی روغن خام سویا است.

2- مواد و روش‌ها

2-1- آماده سازی نمونه‌ها

نمونه های تفاله انگور قرمز (گونه انگور قرمز سردشت) از کارخانه آذراکام در شهرستان ارومیه به صورت تازه به تهران منتقل و در آزمایشگاه در داخل فریزر (18- درجه سانتی گراد) نگهداری تا در زمان مناسب آزمایشها بر روی آن صورت پذیرد. در هنگام شروع آزمایشها نمونه ها ابتدا به فریزر 18- درجه سانتی گراد منتقل گشته و سپس با استفاده از دستگاه فریز درایر خشک شده و پس از خشک شدن، 50 گرم از نمونه ها (در سه تکرار) با استفاده از غربال با مش 1 میلی متری آسیاب (دستگاه Foss، ساخت کشور سوئد) شدند. پس از آسیاب شدن مجدداً نمونه ها به داخل فریزر منتقل شدند تا ترکیبات فنولی موجود در نمونه ها دچار آسیب نشوند.

2-2- استخراج ترکیبات فنولیک

مقدار 200 میلی گرم از نمونه به 10 میلی لیتر محلول 70 درصد استن اضافه گردید و محلول حاوی نمونه به داخل بن ماری اولتراسونیک منتقل شده و به مدت 20 دقیقه در معرض امواج ماوراء صوتی قرار گرفتند. پس از اتمام زمان مورد نظر عصاره محتوی ترکیبات فنولیک بوسیله کاغذ صافی و پمپ خلاء جدا شد و مجدداً عمل استخراج نمونه باقیمانده در کاغذ صافی با 10 میلی لیتر استن 70% تکرار گردید و به روش قبلی عصاره گیری شده و دو عصاره به دست آمده به هم اضافه شدند.

2-3- تعیین مقدار ترکیبات فنولیک

غلظت ترکیبات فنولیک در تفاله انگور قرمز با استفاده از روش فولین-سیوکالتو (9) اندازه گیری شد و مقدار آن بر اساس معادل اسید تانیک (گرم بر کیلوگرم وزن خشک) بیان شد.

2-4- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی

ترکیبات فنولیک تفاله انگور با استفاده از استن 70% استخراج شد. استن موجود در نمونه های استخراج شده با استفاده از دستگاه تبخیر کننده چرخان حذف شدند و محلول غلیظ به دست آمده برای استفاده نگهداری شد. مقدار ترکیبات فنولیک در محلول به دست آمده تعیین گردید. عصاره به دست آمده دارای مقدار زیادی ترکیبات فنولیک است (9). ترکیبات فنولیک استخراج شده با غلظتهای 50، 150، 250 و 350 ppm به روغن خام سویا (کارخانه پارس فو) افزوده شد. همزمان دو آنتی اکسیدان سنتزی BHT و BHA هر یک در غلظتهای 100 و 200 ppm افزوده شد. سپس نمونه‌ها به همراه شاهد (همگی در شیشه‌های تیره) برای مدت 14 روز در دمای 60 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. طی فواصل زمانی روز صفر، چهار، هشت و دوازده عدد پراکسید (10) و روزهای صفر، پنج، نه و سیزده عدد اسید تیوباربتوریک (TBA) (11) نمونه‌های روغن (با سه تکرار) مشخص گردید.

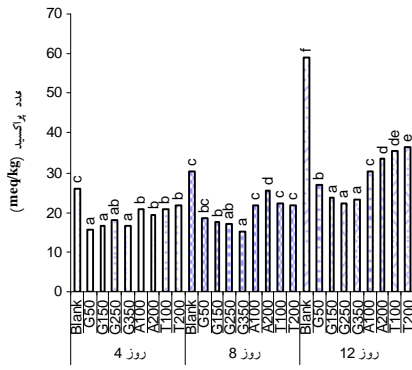
2-5- روش تجزیه داده‌ها

تمام آزمایش‌ها با سه تکرار انجام گردید. اثر سطوح مختلف عصاره حاوی ترکیبات فنولیک و روزهای آزمایش با استفاده از طرح کامل تصادفی با استفاده از آزمایش فاکتوریل انجام پذیرفت. مقایسه میانگین نتایج به دست آمده با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 0/01 انجام شد. تجزیه آماری با استفاده از مدل GLM در نرم افزار آماری SAS (2001) انجام پذیرفت.

3- نتایج و بحث

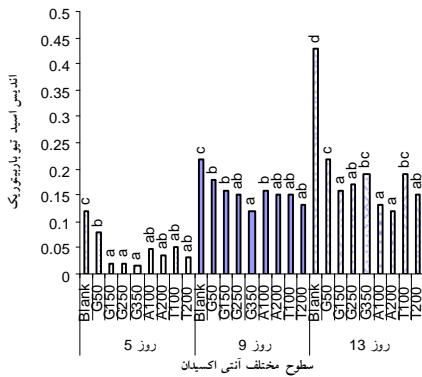
3-1- مقدار ترکیبات فنولیک

مقدار ترکیبات فنولیک موجود در تفاله انگور قرمز 64 گرم به ازای کیلوگرم وزن خشک بود. در آزمایشی که بر روی تفاله انگور قرمز در ایتالیا انجام شد مقدار ترکیبات کل فنولیک تفاله 161 گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش شد (12). این مقدار بسیار بیشتر از مقدار اندازه گیری شده در نمونه های ایرانی می باشد. براساس نتایج همین محققین عوامل مختلفی در تفاوت مقدار ترکیبات



سطوح مختلف آنتی اکسیدان

نمودار 1 مقایسه تأثیر مقادیر غلظت آنتی اکسیدان های سنتزی و عصاره تفاله انگور بر عدد پراکسید روغن سویای خام



سطوح مختلف آنتی اکسیدان

نمودار 2 مقایسه تأثیر مقادیر غلظت آنتی اکسیدان های سنتزی و عصاره تفاله انگور بر عدد اسید تیو باربیتوریک روغن سویای خام در یک آزمایش (13) غلظت های 50، 100 و 200 ppm از عصاره چای به روغن افزوده شد و عصاره متانولی حاوی 200 ppm دارای بهترین پاسخ در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغنها بود که متفاوت از یافته های آزمایش حاضر می باشد، که با توجه به منبع آنتی اکسیدان و روش استخراج متفاوت این تفاوت قابل انتظار می باشد.

فنولیک در تفاله انگور موثر است. در مطالعه‌ای که بر روی 19 گونه انگور انجام پذیرفت، مقدار پروآنتوسیانیدین ها بین 414 تا 2593 میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک متغیر بود. محل تولید و مرحله بلوغ نیز از عوامل موثر بر مقدار ترکیبات فنولیک در تفاله های انگور است. علاوه بر نوع رقم، روش اندازه گیری از دلایل دیگر اختلاف در این مقادیر می باشد (9).

3-2- اثر آنتی اکسیدانی عصاره تفاله انگور

عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید حاصل از غلظتهای مختلف عصاره تفاله انگور و آنتی اکسیدانهای سنتزی BHT و BHA در جدول 1 ارائه شده است. تفاوت آماری بین آنتی اکسیدان های طبیعی و سنتزی مشاهده گردید. بر اساس شاخص عدد پراکسید و TBA، غلظت 350 ppm دارای بهترین پاسخ بود که البته با غلظت 150 و 250 در یک گروه قرار داشت. غلظت 50 ppm و غلظت های 100 و 200 BHT و BHA در یک گروه قرار گرفته اند و می توان گفت عملکرد آنتی اکسیدان های طبیعی موجود در تفاله انگور در مقایسه با آنتی اکسیدان های سنتزی بهتر بود. عدد پراکسید و TBA در روزهای مختلف آزمایش در نمودارهای 1 و 2 نشان داده شده اند.

جدول 1 مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف عصاره تانن دار تفاله انگور قرمز سردشت و آنتی اکسیدانهای BHT و BHA بر روی عدد پراکسید (mq/kg oil) و TBA (mg malonaldehyde/kg oil) در روغن

خام سویا		
TBA	عدد پراکسید	مقدار آنتی اکسیدان (ppm)
0/16 ^a ±(0/01)	22/33 ^a ±(0/42)	50
0/11 ^{ab} ±(0/01)	19/82 ^b ±(1/11)	150
0/11 ^{ab} ±(0/02)	18/99 ^b ±(1/24)	250
0/11 ^{ab} ±(0/02)	17/2 ^b ±(1/32)	350
0/10 ^{ab} ±(0/01)	26/23 ^a ±(1/35)	BHA ₂₀₀
0/11 ^{ab} ±(0/01)	24/23 ^a ±(1/62)	BHA ₁₀₀
0/08 ^b ±(0/02)	26/61 ^a ±(1/02)	BHT ₂₀₀
0/13 ^{ab} ±(0/03)	26/20 ^a ±(1/42)	BHT ₁₀₀

اعداد داخل پرانتز بیانگر انحراف معیار داده‌ها و حروف لاتین مشابه در هر ستون نشانگر هم گروه بودن مقادیر است.

4- سپاسگزاری

از انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور به دلیل حمایت مالی انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

5- منابع

- [1] Yasoubi, P.; Barzegar, M.; Sahari, M. A.; Azizi M. H. 2007. Total phenolic contents and antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extracts. *Journal of Agricultural Sciences and Technology*. 9: 35-42.
- [2] Samadloiy, H. R.; Azizi M. H.; Barzegar, M. 2008. Physico-chemical quality of seeds of pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in Iran and antioxidative activity of their phenolic component. *Journal of Food Science and Technology*. 45: 190-192.
- [3] Shahsavari, N.; Barzegar, M.; Sahari, M. A.; Naghdibadi, H. 2008. Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of *Bunium persicum*. *Plant Foods for Human Nutrition*. DOI 10.1007/s11130-008-0091-y.
- [4] Pazos, M.; Gallardo, J. M.; Torres, J. L.; Medina, I. 2005. Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. *Food Chemistry*. 92: 547- 557.
- [5] Natella, F.; Belevi, F.; Gentili, V.; Ursini, F.; Scaccini, C. 2002. Grape seed proanthocyanidins prevent plasma postprandial oxidative stress in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 7720- 775.
- [6] Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant* (2nd Ed.). Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.
- [7] Northup, R.R., Dahlgren, R.A. and McColl, J.G. (1998) Polyphenols as regulators of plant-litter-soil interactions in northern California's pygmy forest: a positive feedback?, *Biogeochemistry*. 42:189-220.
- [8] Yilmaz, Y., and Toledo, R. T. 2004. Health aspects of functional grape seed constituents. *Trends in Food Science and Technology*. 23: 125-136.

در تحقیقی که بر روی عصاره میوه کاکتوس صورت گرفته است، غلظت های بین 0/01 تا 0/1% عصاره تفاوت مشهودی در کاهش عدد پراکسید داشت. در حالیکه بالاتر از غلظت 0/05% این عصاره تفاوت معنی داری از لحاظ آماری نداشت (14). این نتایج با نتایج حاصل از تحقیق حاضر همخوانی دارد. در تحقیق دیگری (15) که غلظتهای 0/1 و 0/1% به ترتیب از عصاره مریم گلی و برگ اکلیل کوهی را بهترین غلظت معرفی می کند. محققین دیگری بر روی عصاره پوست پسته تحقیق نمودند و غلظت 600 ppm را بهترین غلظت تشخیص دادند (16). به نظر می رسد اختلاف در قدرت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولیک گیاهان مختلف به اختلاف در ساختمان شیمیایی آنها بر می گردد (17).

در کشور ایتالیا عصاره تفاله انگور که حاوی تانن بود در سطوح مختلف به روغن افزوده شد (12). آنها غلظت های 10، 20، 40، 80 و 160 ppm را انتخاب نمودند. معادل همین غلظت ها آنتی اکسیدان سنتزی BHT را نیز آزمودند. مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره طبیعی 20/21، 47/55، 64/67، 73/5 و 87/47 و برای BHT معادل 48/79، 70/14، 76/74، 79/22 و 87/14 درصد به ترتیب برای غلظت های 10، 20، 40 و 80 ppm بود. همانطور که مشاهده می گردد با توجه به این داده ها آنتی اکسیدان سنتزی BHT نسبت به آنتی اکسیدان طبیعی بهتر عمل کرده است. اما باید این نکته را مد نظر داشت که ترکیبات فنولیک در گیاهانی که در یک گونه قرار دارند نیز تفاوت های چشمگیری از لحاظ مقدار و ساختار شیمیایی دارد (17). همچنین حداکثر غلظت استفاده در آن آزمایش 160 ppm بوده که کمتر از مقادیر استفاده شده در آزمایش اخیر بوده و به همین دلیل شاید بتوان علت تفاوت در نتایج دو آزمایش را توجیه نمود.

بطور کلی اینگونه می توان نتیجه گیری کرد که تفاله انگور قرمز (وارته سیاه سردشت) منبع خوبی از آنتی اکسیدانهای طبیعی است و غلظت 350 ppm از این آنتی اکسیدان دارای کارایی خوبی در کند نمودن روند اکسیداسیون روغن خام سویا بوده است.

- [13] Cao, G., Sofic, E. and Prior, R.L. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44:3426-3431.
- [14] Torres, J. L.; Varela, B.; García, M. T.; Carilla, J.; Matito, C.; Centelles, J. J.; Cascante, C.; Sort, X.; Bobet, R. 2002. Valorization of Grape (*Vitis vinifera*) Byproducts. Antioxidant and Biological Properties of Polyphenolic Fractions Differing in Procyanidin Composition and Flavonol Content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 7548-7555.
- [15] Zandi, P.; Gordon, M. 2001. Antioxidant activity of 5 native Saloya species. *Journal of Agricultural and Rural Development*. 3: 7-14.
- [16] Goli, A.H., Barzegar, M. and Sahari, M.A. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*. 92: 521-525.
- [17] Waterman, P.G., and Mole, S., 1994. *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. P. 590.
- [9] Makkar, H.P.S. (Ed.), 2000. Quantification of Tannins in Tree Foliage. A Laboratory Manual for the FAO/IAEA Co-ordinated Research Project on Use of Nuclear and Related techniques to Develop Simple Tannin Assays for Predicting and Improving the safety and Efficiency of Feeding Ruminants on Tanniniferous Tree Foliage. Joint FAO/IAEA of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Animal Production and Health Sub-programme, FAO/IAEA Working Document. IAEA, Vienna, Austria.
- [10] AOCS. (1989). In: D. Firestone, (Ed.), Official methods and recommended practices of American oil chemists society (4th ed.). Champaign: AOCS.
- [11] Sidwell, C.G., Salwin, H., Benca, M, and Mitchell, J.H., (1954) The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. *Journal of American Oil Chemists Society*. 31, 603-606.
- [12] Negro, C., Tomassi, L., Miceli, A. 2003. Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. *Bioreso. Technol.* 87: 41-44.

Antioxidant activity of phenolic compounds of grape pomace (Research note)

Rouzbehan, Y.^{1*}, Alipour, D.², Barzegar, M.³, Azizi, MH.⁴

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

3- Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

4- National Nutrition and Food Industry Research Center, Shaheed Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran

In this experiment, acetone was used to extract the phenolic compounds of grape pomace by colorimetric method (Folin-Ciocalteu). The phenolics extract levels of 50, 150, 250 and 350 ppm were used to assess their antioxidant activity in raw soybean oil. On day 0, 4, 8 and 12 the peroxide value for soybean oil was estimated. Also, the TBA value for soybean oil on day 0, 5, 9 and 13 was estimated. The results showed that the phenolic compounds whose content in grape pomace is 64 g/kg DM has an antioxidant activity. The level of 150 ppm of tannin extract from grape pomace showed a desirable activity to prevent the oxidation of raw soybean oil. The antioxidant activity of this level was higher than those obtained by the level 200 ppm from synthetic antioxidants. Therefore, the use of phenolic compound in grape pomace as natural antioxidants can be recommended.

Keywords: Grape pomace, Phenolic compounds, Antioxidant activity, Peroxide value, TBA.

* Corresponding Email address: rozbeh_y@modares.ac.ir