

## فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پوست سیب زمینی راجا

آزاده محقق<sup>۱</sup>، هاشم پورآذرنگ<sup>۲</sup>، هاشم اخلاقی<sup>۳</sup>، امیرحسین الهامی راد<sup>۴</sup>، نیما همت یار<sup>۵</sup>

۱- نویسنده مسئول: دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار

پست الکترونیکی: azadeh\_mohagheghi7882@yahoo.co.in

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار گروه علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار

۴- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار

۵- کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی

تاریخ پذیرش: ۸۷/۶/۲۰

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۱/۲۱

### چکیده

**سابقه و هدف:** ترکیبات فنلی که در منابع گیاهی وجود دارند، با کاهش سرعت اکسیداسیون چربی‌ها ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی را بهبود می‌بخشند. استفاده از آنتی اکسیدان‌های سنتزی به دلیل سمیت و خطراتی که دارند محدود شده است. در این مطالعه، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پوست سیب زمینی راجا در روغن سویا بررسی شد در زمینه استخراج ترکیبات فنلی از پوست سیب زمینی راجا تحقیقاتی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** ترکیبات فنلی با استفاده از روش پرکولاسیون با حلال متانول و روش فراصوت با ۵ حلال متانول، اتانول، هگزان، استن و آب از پوست سیب زمینی راجا استخراج شد. اندازه‌گیری غلظت ترکیبات فنلی عصاره‌ها با روش فولین سیوکالتو انجام شد. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پوست سیب زمینی راجا در روغن سویا با استفاده از دو روش گرمخانه‌گذاری و رنسیمت بررسی شد و اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک برای بررسی پیشرفت واکنش اکسیداسیون اندازه‌گیری شدند.

**یافته‌ها:** بیشترین راندمان عصاره‌گیری به حلال‌های آب (۱۵/۵٪) و متانول (۶/۹٪) و بیشترین مقدار ترکیبات فنلی به حلال متانول (۶۸۰/۶۸۸µg) به ازای گرم وزن خشک گیاه) با روش فراصوت مربوط بود. پس از ۱۶ روز گرمخانه‌گذاری در ۶۳°C نمونه‌های روغن سویای حاوی عصاره‌های متانولی پوست سیب زمینی راجا اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک کمتری نسبت به نمونه روغن شاهد داشتند. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها با روش رنسیمت نشان داد که روغن‌های حاوی عصاره پوست سیب زمینی راجا در غلظت‌های ۱۶۰۰ و ۲۴۰۰ ppm دارای پایداری حرارتی بسیار مناسبی هستند.

**نتیجه‌گیری:** استفاده از روش فراصوت سبب افزایش مقدار کل ترکیبات فنلی استخراج شده نسبت به روش پرکولاسیون شد و زمان عصاره‌گیری را کاهش داد. عصاره متانولی پوست سیب زمینی راجا دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بسیار قوی و قابل مقایسه با آنتی اکسیدان‌های تجاری BHA و BHT است.

**واژگان کلیدی:** پوست سیب زمینی، ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی اکسیدانی، روغن سویا، فراصوت

### • مقدمه

میوه‌ها و سبزی‌ها مانند آلفاتوکوفرول (ویتامین E) گلوکاتیون، بتاکاروتن و اسیداسکوربیک (ویتامین C) در رژیم غذایی می‌تواند از این آسیب‌ها جلوگیری کرد (۳، ۴). رژیم‌های غذایی غنی از این ویتامین‌های آنتی اکسیدانی موجب حفظ سلامتی شده و خطر ابتلا به

روغن‌ها و چربی‌ها طی نگهداری در درجه حرارت‌های بالا اکسیده می‌شوند و کیفیت تغذیه‌ای آنها کاهش می‌یابد (۱). فرایند اکسیداسیون روغن‌ها و چربی‌ها و تشکیل رادیکال‌های آزاد سبب ایجاد و پیشرفت سرطان می‌شود (۲). با مصرف ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در

روغن نباتی قو تهران تهیه شد. مواد شیمیایی با خلوص بالا از شرکت مرک آلمان و اسیدگالیک و آنتی اکسیدان های تجاری BHA، BHT و TBHQ با خلوص ۹۷٪ از شرکت دانيسكو دانمارك تهیه شد. غده های سیب زمینی راجا پوست گیری شد و پوست ها در شرایط اتاق خشک شد. پوست های خشک شده، پودر و از الکی با مش ۴۰ عبور داده شد.

**عصاره گیری:** عصاره پوست سیب زمینی راجا با دو روش پرکولاسیون و فراصوت تهیه شد. در روش فراصوت، پوست سیب زمینی پودر شده توسط اتانول، متانول، هگزان، استن و آب عصاره گیری شد. در این روش، مقدار ۱ گرم پودر پوست سیب زمینی با ۲۰ ml حلال، مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه تحت امواج فراصوت عصاره گیری شد. برای حذف تفاله و مواد غیر محلول، عصاره ها با کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شد. بعد از این مرحله، به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۵ °C در ۳۰۰۰ × g سانتریفوژ شد (۱۰). در روش پرکولاسیون ۱۰ گرم پوست سیب زمینی پودر شده توسط ۲۰۰ ml متانول به مدت ۲۴ ساعت با استفاده از یک دستگاه همزن مغناطیسی در دمای اتاق عصاره گیری شد. عصاره حاصل با کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شد و رسوب حاصل تحت همان شرایط دوباره عصاره گیری شد. پس از مخلوط کردن عصاره های صاف شده، با استفاده از دستگاه تبخیر گردان تحت خلأ، حلال در دمای کمتر از ۴۰ °C تبخیر و عصاره تا حد امکان تغلیظ شد. بعد از این مرحله به منظور جداسازی مواد غیر محلول باقی مانده، عصاره به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۵ °C در ۳۰۰۰ × g سانتریفوژ شد (۱۰). سپس، عصاره های حاصل از پوست راجا در دمای کمتر از ۴۰ °C تحت خلأ خشک و وزن شد تا راندمان و مقدار کل ترکیبات فنلی آنها تعیین شود. عملیات عصاره گیری سه بار تکرار شد و باقی مانده عصاره جهت ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی، مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فنلی: غلظت کل ترکیبات فنلی در عصاره ها به روش فولین سیو کالتو (۱۱) تعیین و نتایج بر اساس استاندارد اسیدگالیک بیان

بیماری های قلبی و سرطان را کاهش می دهد (۵). آنتی اکسیدان های سنتزی به ویژه بوتیلید هیدروکسی آنیزول (BHA) و بوتیلید هیدروکسی تولوئن (BHT) معمولاً برای ممانعت از واکنش اکسیداسیون استفاده می شوند. اثرات سمی و سرطان زایی این آنتی اکسیدان های سنتزی در انسان شناخته شده است. همچنین، آنتی اکسیدان های سنتزی ممکن است باعث تورم کبد شوند و روی فعالیت های آنزیمی کبد تاثیر بگذارند (۶).

سیب زمینی یک منبع خوب آنتی اکسیدانی است و حاوی اسیداسکوربیک و آلفا توکوفرول است که اثر یکدیگر را تشدید می کنند (۷). سیب زمینی حاوی فلاوون آگلیکون ها (flavone aglycones) نیز هست که گروه مهمی از ترکیبات فنلی هستند و خاصیت آنتی اکسیدانی دارند. پوست سیب زمینی، کوئرستین (Quercetin) دارد که یک فلاوونول با خاصیت آنتی اکسیدانی است (۸). همچنین، پوست سیب زمینی دارای اسید کلروژنیک است که خاصیت آنتی اکسیدانی دارد. سیب زمینی منبع خوبی از گلو تاتیون است که یک آنتی اکسیدان محلول در آب و ضد سرطان است و به عملکرد سایر آنتی اکسیدان ها مانند ویتامین های C و E و بتاکاروتن کمک می کند (۴).

مطالعات متعددی استفاده از فراصوت را برای استخراج ترکیبات فنلی از منابع گیاهی گزارش کرده اند (۹) اما تاکنون استفاده از روش فراصوت برای استخراج فنلیک ها از پوست سیب زمینی گزارش نشده است. بنابراین، با توجه به اثرات مضر آنتی اکسیدان های سنتزی و اثرات سودمند آنتی اکسیدان های طبیعی در حفظ سلامت و ایمنی غذاها و بدن انسان ها دارند، در این مطالعه استفاده از پوست قرمز رنگ سیب زمینی راجا (*Raja*) به عنوان یک ماده گیاهی و منبع طبیعی آنتی اکسیدان در روغن سویا و برای نخستین بار در گونه های سیب زمینی کشور مورد بررسی قرار گرفت.

## • مواد و روش ها

**مواد:** غده های سیب زمینی راجا با پوست قرمز به مقدار ۳۰ کیلوگرم از منطقه فریدن اصفهان جمع آوری شد. روغن سویای بدون آنتی اکسیدان سنتزی از کارخانه

بر آن در روش آون و رنسیت، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. میانگین‌ها به روش دانکن و در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ مقایسه شد. نرم افزار مورد استفاده برای تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها SPSS<sub>13</sub> بود. نمودارها توسط نرم افزار Excel رسم شدند.

#### • یافته‌ها

**اثر نوع حلال و روش استخراج بر راندمان عصاره‌گیری:** مقایسه میانگین راندمان عصاره‌گیری از گونه راجا در حلال‌های مختلف تفاوت معنی‌داری نشان داد. حلال آب، دارای بیشترین راندمان عصاره‌گیری (۱۵/۵ درصد) بود و حلال‌های متانول با ۶/۹ درصد، اتانول با ۲/۲۵ درصد، استن با ۲/۱ درصد و هگزان با راندمان ناچیز به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. جدول ۱ کارایی حلال‌ها در عمل عصاره‌گیری و مقایسه راندمان عصاره‌گیری (توسط متانول) با دو روش استخراج فراصوت و پركولاسیون را نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود، راندمان عصاره‌گیری با متانول در گونه راجا با دو روش استخراج فراصوت و پركولاسیون، تفاوت قابل ملاحظه‌ای نداشتند.

جدول ۱ - درصد راندمان استخراج عصاره‌های به دست آمده از پوست سیب‌زمینی راجا با حلال‌های مختلف

| روش استخراج / حلال  | راندمان (%)     |
|---------------------|-----------------|
| متانول / پركولاسیون | a. ۰/۰۳ ± ۷/۰۴  |
| فراصوت / آب         | b. ۰/۰۵ ± ۱۵/۵۰ |
| فراصوت / متانول     | a. ۰/۰۳ ± ۶/۹۰  |
| فراصوت / اتانول     | c. ۰/۰۵ ± ۲/۲۵  |
| فراصوت / استن       | d. ۰/۰۱ ± ۲/۱۱  |
| فراصوت / هگزان      | e. ۰/۰۰ ± ۰     |

\* حروف غیریکسان نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است (P < ۰/۰۵)

**اثر نوع حلال و روش استخراج بر میزان ترکیبات فنلی:** بررسی مقایسه مقدار ترکیبات فنلی استخراج شده با حلال‌های متانول، اتانول، آب، استن و هگزان نشان داد که اختلاف معنی‌داری میان پنج عصاره در سطح ۵٪ وجود دارد. بیشترین مقدار ترکیبات فنلی مربوط به عصاره متانولی بود و عصاره‌های آبی، اتانولی، استنی و

شد. اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی در عصاره‌ها سه بار تکرار شد و نتایج حاصل به صورت میانگین بیان شد. استفاده از عصاره پوست سیب‌زمینی راجا در روغن سویا: عصاره متانولی تغلیظ شده راجا در چهار سطح مختلف (۲۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ و ۲۴۰۰ ppm) به روغن اضافه شد. عمل اختلاط به وسیله همزن مغناطیسی مجهز به سیستم حرارتی در دمای ۶۰°C به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT، BHA و TBHQ در سطح مجاز ۲۰۰ ppm در شرایط کاملاً مشابه به روغن اضافه شد و مقداری از روغن سویای اولیه بدون افزودن هرگونه آنتی‌اکسیدان سنتزی به عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

**اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی:** ظروف نمونه روغن‌ها، شیشه‌های قهوه‌ای با حجم ۱۰۰ ml بودند که تا حدود ۸۰ ml پر شدند و نمونه‌ها به گرمخانه ۶۳°C منتقل و به مدت ۱۶ روز نگهداری شد. پیشرفت اکسیداسیون در فواصل زمانی معین با اندازه‌گیری عدد پراکسید و عدد تیوباربیتوریک اسید به ترتیب به روش استاندارد AOCS Cd 8-53 و AOCS Cd 19-90 تعیین شد (۱۲) فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از این فرمول (۱۳) محاسبه شد:  $IO = 100 - \text{عدد پراکسید شاهد} / \text{عدد پراکسید نمونه}$

همچنین برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست سیب‌زمینی راجا در روغن سویا از روش رنسیت (دستگاه رنسیت مدل Metrohm ۷۴۳) استفاده شد. ۴ گرم از نمونه‌های روغن در دماهای ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰°C و با سه تکرار، مورد آزمایش قرار گرفتند. سرعت جریان هوا ۲۰ لیتر در ساعت تنظیم شد. داده‌های به دست آمده بر مبنای طول دوره القایی و فاکتور اثربخشی F مقایسه شد. (فاکتور اثربخشی: طول دوره القایی در حضور آنتی‌اکسیدان / طول دوره القایی شاهد).

**تجزیه و تحلیل آماری:** برای بررسی اثر حلال و روش استخراج بر راندمان عصاره‌گیری و میزان ترکیبات فنلی، آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. برای بررسی توانایی آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست راجا در روغن سویا و تعیین اثر غلظت و دما

قابل توجهی با نمونه شاهد داشت. افزودن عصاره پوست سیبزمینی هم اثر قابل ملاحظه‌ای در جلوگیری از افزایش اعداد پراکسید و تیوباربتوریک اسید روغن سویا طی ۱۶ روز نگهداری در  $63^{\circ}\text{C}$  نشان داد.

از نتایج به دست آمده چنین برمی‌آید که با افزایش غلظت عصاره پوست سیبزمینی، اثرات ممانعت کنندگی از اکسیداسیون به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد. پس از ۱۶ روز گرمخانه‌گذاری در  $63^{\circ}\text{C}$  عدد پراکسید روغن‌های سویای حاوی ۲۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ و ۲۴۰۰ ppm عصاره پوست سیبزمینی به ترتیب ۴۳/۸۳، ۳۸/۹۳، ۲۵/۷۴ و ۲۴/۴۱ meq/kg و عدد تیوباربتوریک اسید به ترتیب ۶۸/۰۶، ۶۶/۲، ۶۱/۲۶ و ۵۶/۲۳ تعیین شد و تفاوت قابل ملاحظه‌ای از لحاظ آماری وجود داشت. اما تفاوت مهمی بین آنتی اکسیدان BHA در غلظت ۲۰۰ ppm و عصاره پوست سیبزمینی در غلظت ۸۰۰ ppm و همچنین بین آنتی اکسیدان BHT در غلظت ۲۰۰ ppm و عصاره پوست سیبزمینی در غلظت‌های ۱۶۰۰ و ۲۴۰۰ ppm وجود نداشت. علاوه بر این، تفاوت قابل ملاحظه‌ای در اعداد پراکسید و تیوباربتوریک اسید بین غلظت‌های ۲۰۰ و ۸۰۰ ppm و بین غلظت‌های ۱۶۰۰ و ۲۴۰۰ ppm عصاره مشاهده نشد (جدول ۳).

جدول ۳- فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پوست سیبزمینی راجا ، BHA ، BHT و TBHQ در روغن سویا پس از ۱۶ روز نگهداری در دمای  $63^{\circ}\text{C}$

| نوع تیمار                | فعالیت آنتی اکسیدانی (%) |
|--------------------------|--------------------------|
| 200 ppm TBHQ             | ۸۴/۴۵ a                  |
| عصاره پوست راجا 2400 ppm | ۶۱/۹۱ b                  |
| عصاره پوست راجا 1600 ppm | ۵۹/۸۲ b                  |
| 200 ppm BHT              | ۵۵/۱۸ b                  |
| 200 ppm BHA              | ۴۸/۱۲ c                  |
| عصاره پوست راجا 800 ppm  | ۳۹/۲۵ cd                 |
| عصاره پوست راجا 200 ppm  | ۳۱/۶۰ d                  |
| شاهد                     | ۰۰/۰۰ e                  |

حروف غیریکسان نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ است ( $P < 0.05$ )

هگزانی به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. عصاره استخراج شده به روش فراصوت با بیشترین مقدار ترکیبات فنلی را داشت (جدول ۲). به عبارت دیگر، استفاده از امواج ماورای صوت به طور معنی‌داری سبب افزایش استخراج ترکیبات فنلی نسبت به روش پركولاسیون در گونه راجا شد. ( $P < 0.05$ ).

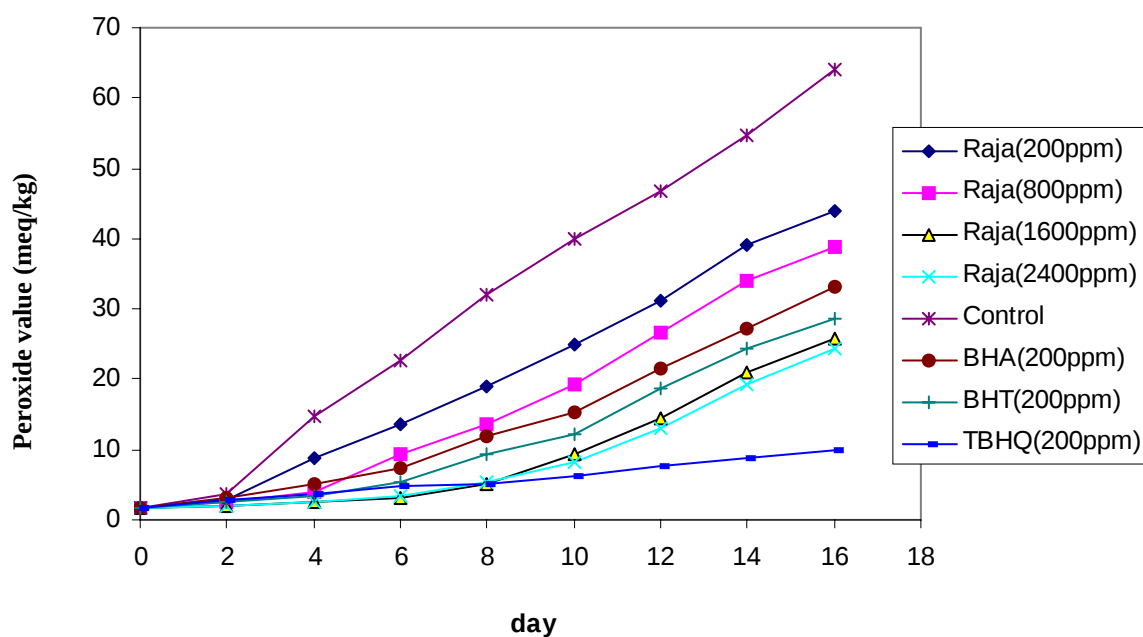
جدول ۲- میزان ترکیبات فنلی استخراج شده از پوست

سیبزمینی راجا با استفاده از روش‌ها و حلال‌های مختلف

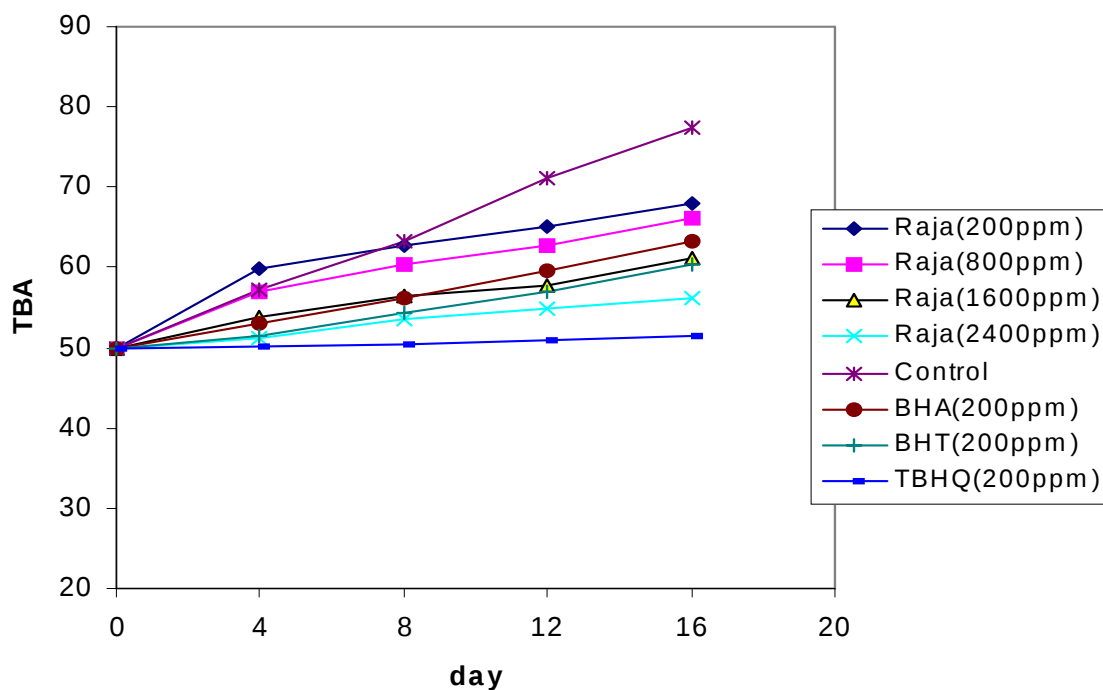
| روش استخراج / حلال  | میزان ترکیبات فنلیک (میکروگرم اسید گالیک / گرم ماده خشک) |
|---------------------|----------------------------------------------------------|
| متانول / پركولاسیون | $40/4 \pm 554/90$                                        |
| فراصوت/ آب          | $05/05 \pm 514/20$                                       |
| فراصوت/ متانول      | $50/50 \pm 680/68$                                       |
| فراصوت/ اتانول      | $50/50 \pm 310/80$                                       |
| فراصوت/ استن        | $44/44 \pm 275/50$                                       |
| فراصوت/ هگزان       | $00/00 \pm 00/00$                                        |

\* حروف غیریکسان نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ است ( $P < 0.05$ )

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی توسط آزمون گرمخانه: بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، اعداد پراکسید و تیوباربتوریک اسید نمونه‌های روغن، طی ۱۶ روز گرمخانه گذاری در  $63^{\circ}\text{C}$  به طور تدریجی افزایش یافت که بسته به غلظت عصاره‌ها و نوع آنتی اکسیدان سنتزی متفاوت بود (شکل‌های ۱ و ۲). عدد پراکسید روغن سویای بدون آنتی اکسیدان (شاهد) پس از ۱۶ روز گرمخانه گذاری از ۱/۶۹ meq/kg به ۶۴/۰۸ meq/kg و عدد تیوباربتوریک اسید از ۵۰/۰ به ۷۷/۳ افزایش یافت. تغییرات این اعداد طی نگهداری روغن سویا در  $63^{\circ}\text{C}$  نشان داد که افزودن BHA ، BHT و TBHQ پیشرفت فساد را به تعویق می‌اندازد، اما اثر حفاظتی TBHQ بهتر از BHT و BHT بهتر از BHA بود، به طوری که عدد پراکسید به ترتیب در نمونه‌های حاوی BHA ، BHT و TBHQ برابر ۳۳/۲۴، ۲۸/۷۲ و ۹/۹۶ meq/kg تعیین شد. همچنین، عدد تیوباربتوریک اسید به ترتیب در نمونه‌های حاوی BHA ، BHT و TBHQ برابر ۶۳/۳۶، ۶۰/۴۶ و ۵۱/۴۵ تعیین شد که در هر دو مورد، اختلاف



شکل ۱- اثر عصاره پوست سیب زمینی راجا بر اکسیداسیون روغن سویا با تعیین تغییرات عدد پراکسید در دمای ۶۳°C



شکل ۲- روند تغییرات عدد تیوباربیتوریک اسید در ۴ تیمار آنتی اکسیدانی روغن سویا (عصاره پوست راجا)، BHA، BHT، TBHQ و شاهد طی نگهداری در دمای ۶۳ °C

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی توسط آزمون رنسیمت: در بررسی نمونه‌های روغن سویای حاوی عصاره پوست سیب‌زمینی گونه راجا در سه دمای ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰°C طول دوره القایی تیمارها به این ترتیب بود: TBHQ < ۲۴۰۰ ppm راجا < ۱۶۰۰ ppm راجا < BHA < BHT < ۸۰۰ ppm راجا < ۲۰۰ ppm راجا < شاهد همه تیمارهای آنتی اکسیدانی، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند ( $P < 0/05$ ) به جز تیمارهای ۲۰۰ و ۸۰۰ ppm راجا و BHA و همچنین ۸۰۰ ppm راجا و BHT در دمای ۹۰°C که با هم برابر بودند. نتایج حاصل از مقایسه طول دوره القایی در جدول ۴ آورده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، با افزایش دما، طول دوره القایی نمونه‌ها کاهش یافت. اختلاف میان سطوح مختلف غلظت عصاره معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) و بیشترین اختلاف مربوط به غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۶۰۰ ppm بود.

مقادیر فاکتور اثربخشی F برای غلظت‌های مختلف عصاره و در دماهای مختلف در جدول ۵ نشان داده شده است. مطابق یافته‌های جدول ۵ مقدار عددی F تحت تاثیر دما تغییر می‌کند؛ به گونه ای که با افزایش دما از ۱۲۰ به ۱۵۰°C اثربخشی F در روغن‌های حاوی عصاره های آنتی اکسیدانی حاصل از پوست سیب‌زمینی، به طور معنی‌داری کاهش یافت البته، اختلاف معنی‌داری بین دماهای ۹۰ و ۱۲۰°C مشاهده نشد. همچنین، با افزایش غلظت، فاکتور F نیز افزایش یافت. بنابراین، غلظت بر کارایی عصاره تأثیرگذار است. بررسی نتایج نشان می‌دهد که میان غلظت‌های ۲۰۰ و ۸۰۰ ppm و همچنین بین مقادیر ۱۶۰۰ و ۲۴۰۰ ppm از عصاره آنتی اکسیدانی پوست سیب‌زمینی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد اما این اختلاف بین غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۶۰۰ ppm معنی‌دار بود و F افزایش یافت ( $P < 0/05$ ).

جدول ۴ - اثر افزودن عصاره متانولی پوست راجا، BHA، BHT، TBHQ بر دوره القایی (ساعت) روغن سویا به روش رنسیمت

| عصاره متانولی پوست راجا (ppm) |               |                 |               | TBHQ          | BHT           | BHA           | شاهد          | دما (°C) |
|-------------------------------|---------------|-----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------|
| ۲۴۰۰                          | ۱۶۰۰          | ۸۰۰             | ۲۰۰           |               |               |               |               |          |
| ۳۲/۰۹ ± ۰/۳۲b                 | ۳۱/۱۶ ± ۰/۲۰c | ۲۸/۵۲ ± ۰/۲۲ ed | ۲۸/۲۷ ± ۰/۱۰e | ۶۰/۲۰ ± ۰/۱۱a | ۲۹/۷۰ ± ۰/۱۲d | ۲۸/۸۹ ± ۰/۰۵e | ۲۵/۷۰ ± ۰/۰۲f | ۹۰       |
| ۴/۰۵ ± ۰/۰۶b                  | ۳/۹۱ ± ۰/۰۳c  | ۳/۵۲ ± ۰/۰۷f    | ۳/۴۵ ± ۰/۰۰g  | ۶/۸۶ ± ۰/۰۴a  | ۳/۷۱ ± ۰/۰۷d  | ۳/۶۵ ± ۰/۰۰e  | ۳/۲۰ ± ۰/۰۱h  | ۱۲۰      |
| ۰/۶۱ ± ۰/۰۰b                  | ۰/۶۰ ± ۰/۰۰c  | ۰/۵۹ ± ۰/۰۰f    | ۰/۵۶ ± ۰/۰۱g  | ۱/۰۱ ± ۰/۰۲a  | ۰/۶۳ ± ۰/۰۰d  | ۰/۶۲ ± ۰/۰۰e  | ۰/۵۵ ± ۰/۰۰h  | ۱۵۰      |

\* حروف غیریکسان نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ است ( $P < 0/05$ )

جدول ۵ - مقادیر F محاسبه شده عصاره متانولی پوست راجا و آنتی اکسیدان‌های سنتزی در روغن سویا به روش رنسیمت

| دما (°C) |        |        |                    |
|----------|--------|--------|--------------------|
| ۹۰       | ۱۲۰    | ۱۵۰°C  | آنتی اکسیدان (ppm) |
| a۱/۱۰    | ۱/۰۷ a | c۱/۰۲  | عصاره راجا ۲۰۰     |
| a۱/۱۱    | ۱/۱۰ a | ۱/۰۷ c | عصاره راجا ۸۰۰     |
| ۱/۲۱b    | ۱/۲۲ b | ۱/۰۹ d | عصاره راجا ۱۶۰۰    |
| ۱/۲۵b    | ۱/۲۶ b | ۱/۱۱ d | عصاره راجا ۲۴۰۰    |
| ۳۴,۲     | ۲/۱۴   | ۱/۸۴   | ۲۰۰ TBHQ           |
| ۱/۱۵     | ۱/۱۶   | ۱/۱۴   | ۲۰۰ BHT            |
| ۱/۱۲     | ۱/۱۴   | ۱/۱۳   | ۲۰۰ BHA            |

\* حروف غیریکسان نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ است ( $P < 0/05$ )

## • بحث

برای اینکه حلالی بتواند یک ماده را در خود حل کند، ابتدا باید بر جاذبه بین مولکولی ماده حل شونده غلبه کند و سپس برهم کنش‌های مناسبی با ماده حل شونده ایجاد کند. طبق نتایج به دست آمده، به نظر می‌رسد که بازده عصاره‌گیری با افزایش قطبیت حلال افزایش یافته است. در بین حلال‌های مورد استفاده، آب بالاترین قطبیت را دارد که این امر ممکن است در بالابودن راندمان عصاره‌گیری با آب مؤثر باشد. زیرا بخش عمده‌ای از ترکیبات پوست سیب‌زمینی را مواد قطبی تشکیل می‌دهند (۱۴). در مطالعه ضیا-رحمان و همکاران در سال ۲۰۰۴ دامنه گزارش شده برای راندمان عصاره‌گیری از پوست سیب‌زمینی با حلال‌های متانول، اتانول، استن و هگزان بین ۵/۸۸ تا ۱۴/۷۵ درصد است. در حالی که راندمان عصاره‌گیری با حلال‌های مذکور در این پژوهش، بین ۰ تا ۶/۹ درصد تعیین شد. علت این تفاوت‌ها به گونه سیب‌زمینی، درجه خلوص حلال‌های مورد استفاده و روش استخراج نسبت داده می‌شود.

در فرایند استخراج با فراصوت، کاویتاسیون (cavitation) ناشی از امواج فراصوت، نیروهای ایجاد می‌کند که دیواره‌های سلول را به طور مکانیکی تجزیه می‌کند و انتقال مواد را بهبود می‌بخشد. به همین دلیل، راندمان عصاره‌گیری حاصل از روش پرکولاسیون طی ۲۴ ساعت تقریباً برابر با مدت زمان ۱۵ دقیقه در روش استخراج فراصوت است. تاثیر فرایند فراصوت در افزایش راندمان استخراج به تشدید و تقویت انتقال ماده نسبت داده می‌شود که از فروریختگی حباب‌های کاویتاسیون در نزدیک دیواره سلول ناشی می‌شود. همان طور که بیان شد، با شکستن دیواره سلولی، تماس بین حلال و ماده گیاهی افزایش می‌یابد. به علاوه وقتی حباب‌های کاویتاسیون فرومی‌ریزند، جت فراصوت مثل یک پمپ عمل می‌کند و حلال را به داخل سلول می‌فشارد. در نتیجه، دسترسی حلال به سلول گیاهی آسان‌تر می‌شود.

بنابراین، روش فراصوت به دلیل کاهش قابل توجه زمان عصاره‌گیری و افزایش کارایی نسبت به روش پرکولاسیون، ارجح است. گلی و همکاران در سال ۲۰۰۵ در بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی پوست پسته و جگر و همکاران در سال ۲۰۰۵ در مطالعه راندمان عصاره‌گیری از برگ بلوط با دو روش فراصوت و پرکولاسیون نتایج مشابهی را گزارش کردند (۱۶، ۱۵). به نظر می‌رسد که تغییر شرایط استخراج با فراصوت (زمان، دما، حلال و...) تأثیر فراوانی در راندمان عصاره‌گیری دارد. در بررسی میزان ترکیبات فنلی می‌توان نتیجه‌گرفت که مقدار ترکیبات فنلی عصاره‌های مذکور با افزایش قطبیت حلال افزایش می‌یابد. حلال آب با وجود راندمان بالا ترکیبات فنلی کمتری نسبت به حلال متانول استخراج کرد. در واقع، حلال آب، مواد جامد قابل استخراج بیشتری را در خود حل کرده، اما همه این ترکیبات لزوماً فنلی نیستند. رودریگز و همکاران در سال ۱۹۹۴ استخراج ترکیبات فنلی را از پوست سیب‌زمینی با استفاده از متانول و آب بررسی کردند و دریافتند که استخراج متانولی در دمای ۴۰°C راندمان بالاتری در مقایسه با استخراج آبی در دمای ۲۵°C دارد (۱۷). پوست سیب‌زمینی حاوی ترکیبات فنلی بسیار زیادی است. بیشترین بخش، شامل اسیدکلروژنیک (CGA) است که مشتق اسید کافئیک (CFA) و اسید کوئینیک (QNA) است (۱۸). تفاوت اندکی در محتوای ترکیبات فنلی بین بخش‌های یک غده سیب‌زمینی وجود دارد، بجز پوست و کورتکس که حاوی مقادیر بیشتری از سایر بخش‌ها هستند (۱۹). ترکیبات فنلی، بیشتر بین پوست و کورتکس سیب‌زمینی توزیع شده‌اند و حدود ۵۰ درصد از کل ترکیبات فنلیک سیب‌زمینی در پوست و بافت‌های مجاور آن قرار گرفته است. میزان باقیمانده از بیرون به طرف مرکز غده سیب‌زمینی کاهش می‌یابد (۲۰). کریستین/لویز و همکاران در سال ۱۹۹۸ در مطالعه روی آنتوسیانین‌ها، فلاوونوئیدها و اسیدهای فنلی در

بخش‌های مختلف گیاه سیب‌زمینی گزارش کردند که مقدار اسیدهای فنلی در غده‌های پوست قرمز تقریباً دو برابر گونه‌های با پوست معمولی است. همچنین، تفاوتی کمتر اما معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) در غلظت فلاونوئیدها بین غده‌های پوست قرمز و پوست معمولی مشاهده شد و مقدار بسیار زیادی آنتوسیانین در غده‌های رنگی وجود داشت. در مطالعات انجام شده، همبستگی بسیار زیادی بین غلظت آنتوسیانین‌ها و اسیدهای فنلی وجود دارد که تأیید می‌کند غده‌های رنگی‌تر حاوی مقادیر بیشتری اسیدهای فنلی هستند (۲۱). بنابراین، تفاوت مقدار ترکیبات فنلی به گونه گیاه، وابسته است. بر اساس یافته‌های این پژوهش، روش فراصوت اگرچه از نظر راندمان عصاره‌گیری با روش پركولاسیون، برابری کرد، اما توانست ترکیبات فنلی بیشتری را استخراج کند. این افزایش توسط گلی و همکاران (۱۵) و چو-تینگ‌لیو و همکاران (۲۲) در سال ۲۰۰۵ نیز مشاهده شده است. با توجه به راندمان و میزان زیاد ترکیبات فنلی استخراج شده توسط حلال متانول، این حلال برای ادامه آزمایش‌ها انتخاب شد. زیرا حلال آب با وجود بازده بالا ترکیبات فنلی کمتری استخراج کرد.

بر اساس نتایج حاصل از ارزیابی تغییرات اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در دمای  $63^{\circ}\text{C}$  پس از ۱۶ روز، اختلاف معنی‌داری از نظر آماری در غلظت ppm ۸۰۰ عصاره پوست سیب‌زمینی با BHA و در غلظت‌های ۱۶۰۰ و ۲۴۰۰ ppm با BHT وجود ندارد ( $P > 0.05$ ) که نشان دهنده فعالیت آنتی اکسیدانی قوی است، اما این فعالیت در تمام غلظت‌ها کمتر از TBHQ بود. شدت بروز خاصیت آنتی اکسیدانی به غلظت عصاره وابسته بود. به طوری که این فعالیت با افزایش غلظت عصاره به طرز معنی‌داری افزایش و اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید، کاهش یافت که به تجمع ترکیبات فنلی نسبت داده می‌شود. این ارتباط به صورت خطی نبوده و اختلاف میان غلظت‌های ۲۰۰ و ۸۰۰ ppm و همچنین میان

غلظت‌های ۱۶۰۰ و ۲۴۰۰ ppm معنی‌دار نبود؛ اما در فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها در غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۶۰۰ ppm اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. ( $P < 0.05$ ) ضیا-رحمان و همکاران در سال ۲۰۰۴ فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پترولیوم اتری پوست سیب‌زمینی را در جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا در حد آنتی اکسیدان‌های تجاری BHA و BHT و عدم وجود رابطه خطی میان غلظت و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پوست سیب‌زمینی را گزارش کردند (۱). علت تفاوت بین نتیجه حاصل از اثر عصاره‌های هگزان در مطالعه حاضر و پترولیوم اتر در مطالعه ضیا-رحمان و همکاران، به روش استخراج و گونه سیب‌زمینی نسبت داده می‌شود. زیرا در مطالعه ضیا-رحمان سیب‌زمینی پوست قهوه‌ای بررسی شد و ترکیبات متفاوتی دارند. رودریگز و همکاران نیز در سال ۱۹۹۴ فعالیت آنتی اکسیدانی پوست سیب‌زمینی را با استفاده از آزمون گرمخانه طی ۴ روز نگهداری روغن سویا در  $63^{\circ}\text{C}$  بررسی کردند و آن را برابر با BHT یافتند (۲۳). بررسی تغییرات اکسیداسیون در طول زمان (شکل‌های ۱ و ۲) نشان می‌دهد که روند تغییرات اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید با یکدیگر متفاوت است و عدد پراکسید، افزایش ناگهانی داشته، اما عدد تیوباربیتوریک به صورت آهسته افزایش یافته است. بنابراین، در دوره زمانی مورد بررسی در این مطالعه میزان تولید مالون آلدئید به عنوان یکی از فراورده‌های ثانویه اکسیداسیون افزایش زیادی نداشته است.

برای بررسی مقاومت حرارتی تیمارها در روش رنسیمت از شرایط تشدید شده اکسیداسیون مانند دمای بالا و جریان هوا استفاده می‌شود و افزایش هدایت الکتریکی آب به عنوان شاخصی از پیشرفت اکسیداسیون در نظر گرفته می‌شود. زیرا در حین اکسیداسیون روغن‌ها، اسیدهای آلی فرار به خصوص اسیدفرمیک به وجود می‌آید که هدایت الکتریکی را افزایش می‌دهند (۲۴). در آزمون رنسیمت، پایداری حرارتی عصاره متانولی

خواص آنتی اکسیدانی قوی است و می تواند به عنوان یک منبع طبیعی آنتی اکسیدان پس از انجام آزمون های سم شناسی مورد استفاده قرار بگیرد. مقاومت حرارتی عصاره حاصل از پوست سیب زمینی، چندان بالا نیست، اما فعالیت آنتی اکسیدانی مناسبی در دماهای پایین تر دارد. به این ترتیب، پیشنهاد می شود فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنلی پوست سایر گونه ها به ویژه گونه هایی که سطح زیر کشت بیشتری دارند و در کارخانجات بیشتر استفاده می شوند، مورد ارزیابی قرار بگیرد و با گونه حاضر مقایسه شود. همچنین، تخلیص عصاره، تفکیک اجزا تشکیل دهنده، ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی اجزا و بهینه سازی شرایط استخراج با فراصوت از نظر متغیرهایی مانند دما، زمان و نسبت ماده اولیه به حلال پیشنهاد می شود.

#### سپاسگزاری

از جناب آقای مهندس حسن طاهری مسئول محترم بخش سیب زمینی دفتر سبزی و صیفی وزارت کشاورزی، جناب آقای مهندس محسن کشمیری (کارخانه روغن نباتی قو) و جناب آقای مهندس محمد سلامی نیا به دلیل همکاری در زمان انجام تحقیق قدردانی می شود.

#### References

1. Zia-ur R, Habib F, Shah WH. Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. *Food Chem* 2004; 85 (2): 215-220.
2. Kinsler TW, Taffe BG. Free radicals in tumor promotion. *Adv free radical. Biol Med* 1986; 2: 347-388.
3. Machlin LJ, Bendich A. Free radical damage: Protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J* 1987; 1: 441-445.
4. Jones DP, Coates RJ, Flagg EW, Block G, Greenberg RS, Gunter ET, Jackson B. Glutathione in foods listed in the national cancer Institutes health habits and history food frequency questionnaire. *Nutr cancer* 1992; 17: 57-75.
5. Byers T, Perry G. Dietary carotenes, vitamin C and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Annu. Rev. Nutr* 1992; 12: 139-159.
6. Martin AD, Gilbert D. Enzyme change accompanying liver enlargement in rats treated with 3-tert.butyl-4-hydroxyanisole. *Biochem J* 1968; 106 :22-27.
7. Byers T, Perry G. Dietary carotenes, vitamin C and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Annu Rev Nutr* 1992; 12: 139-159.
8. Pratt DE, Watts BM. The antioxidant activity of vegetables extracts I. flavone aglycones. *J Food Sci* 1964; 29: 27-33.
9. Albu S, Joyce E, Paniwnyk L, Lorime JP, Manson TJ. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrason Sonochem* 2004; 11(3-4): 261- 265.
10. Sotillo RD, Hadley M, Holm ET. Phenolics in aqueous potato peel extract: Extraction, identification and degradation. *JFood Sci* 1994 ;59(2): 649-651.

راجا در چهار سطح غلظتی (۲۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ ppm و ۲۴۰۰) و در سه دما (۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ °C) در روغن سویا مورد بررسی قرار گرفت. سطوح مختلف غلظت برای بررسی نحوه تابعیت اثر آنتی اکسیدانی عصاره از غلظت و سطوح مختلف دما برای مشاهده اثر دما بر فعالیت آنتی اکسیدانی و مقاومت حرارتی عصاره به کار رفت. در بررسی مقاومت حرارتی عصاره متانولی پوست راجا در روش رنسیمت بر اساس یافته های این پژوهش اختلاف معنی داری بین دماهای ۹۰ و ۱۲۰ °C وجود نداشت، اما اختلاف معنی داری بین دمای ۱۲۰ و ۱۵۰ °C مشاهده شد که نشان می دهد این عصاره در بالاتر از دمای ۱۲۰ °C مقاومت حرارتی مناسبی ندارد. تاثیر مثبت افزایش غلظت بر کارایی عصاره متانولی و غیر خطی بودن این رابطه در روش رنسیمت نیز مانند آزمون گرمخانه مشاهده شد. *مارونیو* و *یانیش* نیز در سال ۱۹۹۵ عدم وجود رابطه خطی بین غلظت و اثربخشی ترکیبات آنتی اکسیدانی را گزارش کردند (۲۵).

به طور کلی می توان نتیجه گیری کرد که انتخاب نوع حلال و روش استخراج، تاثیر قابل ملاحظه ای بر راندمان عصاره گیری و میزان ترکیبات فنلی استخراج شده دارد. نتایج نشان می دهد که عصاره پوست سیب زمینی دارای

11. Singh RP, Murthy KNC, Jayaprakasha GK. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. J Agr Food Chem 2002 ; 50: 81-86.
12. A.O.C.S, Official methods of analysis 1997; Cd 8-53, Cd 19-90, American Oil Chemists Society.
13. Abdalla AE, Roozen JP. Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. Food Chem 1999; 64: 323-329.
14. Jones DP, Coates RJ, Flagg EW, Block G, Greenberg RS, Gunter ET, Jackson B. Glutathione in foods listed in the national cancer Institutes health habits and history food frequency questionnaire. Nutr cancer 1992; 17: 57-75.
15. Goli AH, Barzegar M, Sahari MA. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. Food chem 2005; 92(3) :521-525.
16. Jacques RA, Freitas LS, Pérez VF, Dariva C, Oliveira AP, Oliveira JV, Caramão EB. The use of ultrasound in the extraction of *Ilex paraguariensis* leaves: A comparison with maceration. Ultrason sonochem 2007; 14(1) : 6-12.
17. Sotillo RD, Hadley M, Holm ET. Phenolics in aqueous potato peel extract: Extraction, identification and degradation. J Food Sci 1994; 59(2): 649-651.
18. Lisinska G, Leszczynski W. Potato tubers as raw material for processing and nutrition.ch.2 In: G.lisinska, leszczynski W editor. Potato science and technology. London: Elsevier Applied Science; 1987.
19. Saikhan MS, Howard LR, Miller JC. Antioxidant activity and total phenolics in different genotypes of potato (*Solanum tuberosum*, L.). J Food Sci 1995; 60 (2): 341-343.
20. Friedman M. Chemistry, Biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. J Agr Food Chem 1997; 45: 1523-1540.
21. Lewis CE, Walker JRL, Lancaster JE, Sutton KH. Determination of anthocyanins, flavonoids and phenolic acids in potatoes: Coloured cultivars of *Solanum tuberosum* L. J Sci Food Agric 1998; 77: 45-57.
22. Liu CT, Wu CY, Weng YM, Tseng CY. Ultrasound-assisted extraction methodology as a tool to improve the antioxidant properties of herbal drug Xiao-chia-hu-tang. J Ethnopharmacol 2005; 99(2): 293-300.
23. Sotillo RD, Hadley M, Holm ET. Potato peel waste: stability and antioxidant activity of a freeze-dried extract. J Food Sci 1994; 59(5): 1031-1033.
24. Pokorny J, Yanishheva N, Gordon M. Antioxidants in food: practical Applications. Boca Raton: CRC Press LLC 2001; FL.
25. Marinova EM, Yanishlieve NN. Antioxidant activity of extracts from selected species of the family lamiaceae in sunflower oil. Food Chem 1997; 58: 245-248.