# تاثیرعصارۀ اتانولی پودر زرد چوبه بر پایداری اکسایشی روغن سویا

**عطیه علیزاده[1*]، حمید توکلی‌پور[2]، محسن مختاریان[3]**

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

2- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

3-استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران.

تاریخ دریافت: 1397/02/09 تاریخ پذیرش: 1397/06/12

**چکیده**

جهت کنترل فعالیت‌های اکسایشی روغن معمولاً از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی استفاده می‌شود که اثرات جانبی زیادی بر سلامت انسان‌ها دارد. بنابراین امروزه تحقیقات بر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی (نظیر عصارۀ زردچوبه) به عنوان یک جایگزین مطمئن رو به پیشرفت است. به منظور بررسی تأثیر نوع آنتی‌اکسیدان (عصارۀ اتانولی پودر زردچوبه و ترشیاری بوتیل هیدروکینون) بر خصوصیات کیفی روغن سویا طی دورۀ انبارمانی از آزمون‌های عدد پراکسید، دورۀ القاء و عدد تیوباربیتوریک اسید استفاده گردید. نتایج بررسی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصارۀ اتانولی پودر زردچوبه نشان داد که جهت بازدارندگی حدوداً 50درصد رادیکال آزاد $DPPH^{\bullet}$ (یعنی $IC_{50}$)، حدوداً به غلظت 1711 میکروگرم بر میلی لیتر از پودر زردچوبه نیاز است. همچنین افزودن مقدار 700 پی‌پی‌اِم عصارۀ اتانولی پودر زردچوبه (به عنوان بهترین غلظت) توانست مقدار عدد پراکسید، دورۀ القاء و تیوباربیتوریک اسید را بعد از 10 روز انبارمانی (در دمای 60 درجه سانتی گراد) نسبت به نمونۀ شاهد به ترتیب 11/55 درصد کاهش، 4/85 درصد افزایش و 41/22 درصد کاهش دهد. به طور کلی با توجه به نتایج این پژوهش استفاده از غلظت 700 پی‌پی‌اِم عصارۀ اتانولی پودر زردچوبه برای بهبود پایداری اکسایشی روغن سویا توصیه می‌گردد.

**واژه های کلیدی**: زردچوبه، دورۀ القاء، روغن سویا، پایداری اکسایشی، آنتی‌اکسیدان طبیعی.

[*]مسؤول مکاتبات: alizadeh.atiyeh@gmail.com

## 1- مقدمه

مهمترین عامل فساد روغن‌ها و چربی‌ها واکنش‌های اکسایشی می‌باشد. این واکنش‌ها سبب تغییراتی ناخواسته در طعم، رنگ، بو و بافت محصولات حاوی چربی می‌شود که این تغییرات به دلیل رادیکال‌های آزاد تولید شده طی فرآیند اکسیداسیون می‌باشد. علاوه بر این اتواکسیداسیون اسیدهای چرب چند غیراشباعی نه تنها ارزش تغذیه‌ای غذا را کاهش می‌دهد، بلکه همچنین منجر به سالخوردگی، بیماری‌های قلبی، سرطان، جهش‌زایی و بیماری‌های مهم دیگر در اُرگانیسم‌های زنده می‌شود. در صنعت روغن برای جلوگیری از اکسیداسیون و کاهش اثرات زیان‌بخش رادیکال‌های آزاد روش‌های متعددی وجود دارد که یکی از این موارد ،افزودن آنتی اکسیدان‌های سنتزی به منظور پایداری اکسایش روغن‌ها می‌باشد (1، 2). امروزه از آنتی اکسیدان‌های سنتزی متعددی از جمله ترشیاری بوتیل هیدروکینون ، هیدروکسی آنیزول بوتیله ، هیدروکسی تولوئن بوتیله و استرهای گالات به همین منظور استفاده می‌گردد. اما با توجه به این که آنتی اکسیدان‌های سنتزی اثرات نامطلوبی نظیر اثر جهش‌زایی و سرطان‌زایی در بدن انسان دارند، به تدریج برخی از آنها از فهرست آنتی اکسیدان‌های مصرفی حذف می‌شوند. لذا تحقیق و بررسی منابع آنتی اکسیدان‌های طبیعی به منظور جایگزین کردن ترکیبات سنتزی ضروری به نظر می‌رسد (3). همچنین، بررسی مطالعات انجام شده بر روی اثر آنتی اکسیدان‌های طبیعی در روغن‌های خوراکی حاکی از این است که آنتی اکسیدان‌های طبیعی علاوه بر پایداری روغن‌های خوراکی، سبب افزایش ارزش تغذیه‌ای آنها نیز می‌شوند(4). منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، فنلهای گیاهی یا روغن‌های ضروری هستند که می‌توانند در همه بخش‌های گیاه نظیر میوه‌ها، سبزیجات، مغزها، دانه‌ها، برگ‌ها ریشه‌ها و پوسته‌ها وجود داشته باشند. روغن‌های فرار و اولئورزین‌ها مهمترین اسانس‌های استخراجی گیاهان محسوب می‌شوند، که در اکثر ادویه‌ها مخصوصاً زردچوبه و فلفل قرمز چیلی، اولئورزین‌ها در مقایسه با سایر روغن‌های فرار، مادهٔ استخراجی اصلی محصول را تشکیل می‌دهد. این ترکیبات به عنوان چاشنی و طعم‌دهنده در تهیه شماری از غذاها نظیر فرآورده‌های گوشتی (سوسیس، کالباس، کنسروها و غیره)، سس‌ها، مارگارین و نیز به عنوان پایهٔ داروهای گیاهی در واحدهای دارویی کاربرد دارد (5). زردچوبه با نام علمی (curcuma longa) بطور وسیعی در جنوب و جنوب غربی آسیا کشت می‌شود. شکل پودر شدهٔ آن در صنایع غذایی برای ایجاد رنگ، عطر و طعم استفاده می‌شود. علاوه بر آن، چوب زردچوبه به لحاظ دارویی دارای خواص ضدسرطانی، ضد التهابی، ضد موتاژنیک و ضد انگل می‌باشد. همانطور که قبلاً اشاره شد، یکی از مهمترین ترکیبات موجود در گیاه دارویی زردچوبه، اولئورزین می‌باشد. امروزه مصرف اولئورزین زردچوبه در صنایع غذایی برای انتقال رنگ و عطر گسترش یافته است. مهمترین مادهٔ مؤثرهٔ موجود در اولئورزین زردچوبه، کورکومین[1] بوده که سبب ایجاد خواص ضد اکسیدانی می‌شود (6). بررسی تحقیقات پیشین نشان داد که پژوهش‌های بسیاری در زمینهٔ حفاظت روغن‌های خوراکی در مقابل اکسیداسیون، توسط آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و روغن‌های فرار شامل نعناع فلفلی (7)، عصاره برگ فلفل قرمز چینی (8)، عصاره دانهٔ انگور و شکوفه میخک (9)، عصاره برگ زیتون (3)، زیره سبز (10) و فلفل سیاه (11) صورت گرفته است. ولی هیچ پژوهشی در مورد کاربرد اولئورزین‌های پودر زردچوبه بر پایداری اکسایشی روغن سویا مشاهده نشد. هدف از این مطالعه استخراج اولئورزین پودر زردچوبه به روش مداوم توسط سیستم سوکسله و با استفاده از حلال اتانول و بررسی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی آن جهت پایداری اکسایشی روغن سویا می‌باشد.

1 - Curcumin

## 2- مواد و روش‌ها

### 2-1- مواد

ریشۀ زردچوبۀ تازه (curcuma longa) از بازار محلی خریداری شد و توسط آسیاب خانگی (مولینکس، AR100130، چین) به پودر با اندازه 250 میکرون تبدیل گردید. پودر بدست آمده در ظرف شیشه‌ای تیره در محیطی خشک و خنک تا روز آزمایش نگهداری شد. روغن سویای تصفیه شده بدون آنتی‌اکسیدان از کارخانۀ روغن ورامین شمارۀ 1 تهیه گردید. همچنین سایر مواد مورد استفاده در این مطالعه از شرکت‌های مرک و سیگما تهیه شدند.

### 2-2- روش‌ها

#### 2-2-1- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پودر زردچوبه

##### 2-2-1-1- تهیۀ عصارۀ زردچوبه

به منظور عصاره‌گیری از پودر زردچوبه از روش پرکولاسیون استفاده گردید. بدین منظور پودر زردچوبه به نسبت 1 : 10 (یک قسمت پودر و 10 قسمت حلال) با حلال اتانول 80 درصد مخلوط و به دستگاه پرکولاتور ( به حجم 1000 میلی لیتر) منتقل گردید و به مدت 24 ساعت در دمای محیط (در دمای 25 درجه سانتی گراد) در این حلال خوابانده و روی شیکر قرار داده شد. بعد از خارج کردن حلال، مجدداً حلال تازه به نسبت قبل (یعنی نسبت 1 : 10) به پودرهای عصاره‌گیری شده اضافه و مراحل قبل تکرار شد (نکته: به دلیل کم رنگ شدن عصارۀ مایع خارج شده از دستگاه، دیگر نیاز به تکرار این مرحله وجود نداشت). سپس عصارۀ مایع خارج شده توسط دستگاه تبخیرکنندۀ چرخان (Laboratorium-Technic AG، سوئیس) در دمای 45 درجه سانتی گراد تغلیظ شد (این عمل به منظور جداسازی حلال از عصارۀ مایع صورت گرفت). سپس عصارۀ حلال‌زدایی شده به وسیلۀ خشک‌کن تحت خلاء (Memmert، UNE 400 PA، آلمان) در دمای 40 درجه سانتی گرادو فشار 250 میلی بار خشک گردید و تا انتهای آزمون‌های مربوطه در پلیت‌های درب‌دار بدون نفوذ هوا در 4+ درجه سانتی گراد در تاریکی نگهداری شد (12).

##### 2-2-1-2- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش $DPPH^{\bullet}$

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها توسط اندازه‌گیری ظرفیت گیرندگی رادیکال آزاد 2 و 2 دی فنیل 1-پیکریل هیدرازیل ($DPPH^{\bullet}$) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، ابتدا غلظت‌های مشخصی از عصارۀ اتانولی خشک شدۀ پودر زردچوبه (50، 250، 500، 1000 و 2000 میکروگرم بر میلی لیتر) با حلال اتانول 80 درصد تهیه گردید. میزان 1/5 میلی لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره به لوله آزمایش منتقل و سپس مقدار 1/5 میلی لیتر معرف $DPPH^{\bullet}$ تازه تهیه شده (یعنی محلول 0/135 میلی مول) به لوله اضافه و توسط هم‌زن لوله‌ای به مدت 30 ثانیه به خوبی ورتکس شد. در انتها جذب محلول‌های فوق بعد از 30 دقیقه قرار گرفتن در محیط تاریک (در دمای محیط) توسط اسپکتروفتومترUV (HUMAN، 5824 X ma 2000، آمریکا)، در طول موج 517 نانومتر اندازه‌گیری شد. جهت تهیۀ محلول شاهد از 1/5 میلی لیتراتانول به جای عصاره استفاده شد (یعنی 1/5 میلی لیتراتانول + 1/5 میلی لیتر رادیکال $DPPH^{\bullet}$). کلیۀ آزمایشات در سه تکرار صورت گرفت. ظرفیت بازدارندگی رادیکالی (RSA) با استفاده از رابطۀ (1) محاسبه گردید (13).

رابطه(1)

$$RSA(\%) = \left(\frac{A_B - A_S}{A_B}\right) \times 100$$

در این معادله، $A_S$ میزان جذب نمونه (عصاره اتانولی+رادیکال $DPPH^{\bullet}$) و $A_B$ میزان جذب شاهد (اتانول+رادیکال $DPPH^{\bullet}$) می‌باشد.

**2-2-1-3- ترکیبات فنلی کل (TPC)**

برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی پودر زردچوبه ابتدا محلول‌های استاندارد از عصارهٔ اتانولی خشک شدهٔ پودر زردچوبه (50، 100، 250، 1000 و 2000 پی‌پی‌اِم) با حلالی که توسط آن عمل استخراج صورت گرفته (یعنی اتانول ۸۰ درصد) تهیه گردید. به لوله‌های آزمایش (فالکون) فویل پیچ شده (با حجم 10 میلی لیتر)، ابتدا مقدار 5 میلی لیتر آب مقطر و سپس مقدار 1 میلی لیتر از محلول‌های استاندارد عصارهٔ پودر زردچوبه که قبلاً تهیه شده بود، انتقال داده شد. در ادامه مقدار 0/5 میلی لیتر معرف فولین-سیوکالتیو به هر یک از فالکون‌ها اضافه و توسط هم‌زن لوله‌ای به مدت 30 ثانیه به شدت ورتکس (هم زده) شد. بعد از گذشت 3 دقیقه مقدار 1 دقیقه محلول 20 درصد (200 گرم بر لیتر) کربنات سدیم به هر یک از فالکون‌های فوق اضافه و بلافاصله توسط آب مقطر تا خط نشان به حجم رسانده شدند. در انتها بعد از گذشت مدت زمان یک ساعت جذب تمامی محلول‌ها در طول موج 725 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. کلیهٔ آزمایشات در سه تکرار انجام گردید. به منظور تعیین میزان ترکیبات فنولیک کل از منحنی استاندارد اسید گالیک استفاده گردید. بدین منظور ابتدا غلظت‌های مشخصی از محلول استاندارد اسید گالیک (یعنی غلظت‌های 20، 50، 70، 100 و 250 پی‌پی‌اِم) در آب مقطر تهیه و میزان جذب متناظر با هر غلظت در حضور معرف فولین-سیوکالتیو و کربنات سدیم (مشابه روش اشاره شده در بالا) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 725 نانومتر قرائت شد. سپس میزان ترکیبات فنولیک توسط معادلهٔ رگرسیون خطی بدست آمده از منحنی کالیبراسیون اسید گالیک ($A_{۷۲۵}$ = 0/007 C-0/018 ،$R^2$=0/999) تعیین شد. در این معادله، A جذب خوانده شده در طول موج 725 نانومتر و C غلظت ترکیبات فنولیک بر حسب (میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره) است. لازم به ذکر است که به منظور صفر کردن جذب دستگاه اسپکتروفتومتر از محلول شاهد استفاده شد که شامل 5 میلی لیتر آب مقطر، 0/5 میلی لیتر معرف فولین-سیوکالتیو و 1 میلی لیتر محلول کربنات سدیم 20 درصد بود که مطابق روش فوق بعد از رسیدن به حجم مشخص توسط آب مقطر (تا خط نشان 10 میلی لیتر) مورد استفاده قرار گرفت (7، 14).

**2-2-2- شناسایی ساختار اسیدهای چرب روغن سویا**

ساختار اسیدهای چرب روغن سویا به وسیله کروماتوگرافی گازی (GC) و با روش استاندارد ملی ایران به شمارهٔ 4090 صورت گرفت (15). دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent technologies 6890N (ساخت کشور امریکا) مجهز به دتکتور FID جهت بررسی مورد استفاده قرار گرفت. ستون دستگاه از نوع CAT.NO.CP با ابعاد 0/2 میکرومتر در 0/25 متر در 100 متر بود. دما و فشار بخش تزریق نمونه به ترتیب 260 درجه سانتی گراد و 2/328 بار و دمای دتکتور 280 درجه سانتی گراد بود. سرعت جریان هلیم، هیدروژن و هوا به ترتیب 25، 35 و 400 میلی لیتر بر دقیقه بودند. جهت آماده سازی نمونه 10 قطره نمونه روغن را در یک لوله آزمایش دردار ریخته و 2 سی سی پتاس 2 نرمال متانولی و 7 سی سی هگزان نرمال به آن افزوده ، در آن بسته و تکان داده و 15 دقیقه در حمام آب 50-60 درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس فاز رویی توسط پیپت پاستور جدا و در ظرفی حاوی 0/2 گرم سولفات سدیم ریخته و پس از صاف کردن درون ویال های تیره رنگ تا زمان آزمون در دمای فریزر نگهداری گردید. نمونه آماده سازی شده به دستگاه GC تزریق و ساختار اسیدهای چرب آن مشخص گردید (15).

**2-2-3- عدد اسیدی**

جهت تعیین میزان عدد اسیدی روغن از روش تیتراسیون مطابق روش AOCS به شمارهٔ Cd۳d-63 استفاده شد (16).

بدین منظور، 5 گرم نمونۀ روغن در یک ارلن 250 میلی لیتر توزین گردید. سپس 20 میلی لیتر اتانول، 20 میل لیتر دی‌اتیل‌اتر و 1 میل لیتر فنل فتالئین به ارلن یاد شده اضافه و با یکدیگر مخلوط گردید. سپس محتویات ارلن توسط پتاس 0/1 نرمال تا ظهور رنگ صورتی پایدار (به مدت 15 ثانیه) تیتر گردید (حجم مصرفی یعنی $V_A$ یادداشت گردید). مراحل فوق برای نمونۀ شاهد (تمامی موارد فوق به جز روغن) به روشی مشابه صورت گرفت و حجم مصرفی یعنی $V_B$ قرائت شد. میزان عدد اسیدی روغن از طریق رابطۀ (2) محاسبه شد.

رابطه(2)

$$AI\ (g/100g\ oil) = \frac{(V_A - V_B)' \ N' \ 56.1}{W}$$

که در آن، AI عدد اسیدی (درصد وزنی اسید اولئیک)، $V_A$ حجم پتاس مصرفی برای نمونه (مترمکعب)، $V_B$ حجم پتاس مصرفی برای شاهد (مترمکعب)، N نرمالیته پتاس مصرفی (0/1 نرمال) و W وزن نمونه (گرم) می‌باشد.

**2-2-4- عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید (TBA)**

جهت تعیین میزان عدد پراکسید روغن از روش تیتراسیون مطابق روش AOCS به شمارۀ Cd 8-53 استفاده شد . در این روش مقدار 5 گرم نمونه اماده شده در ارلن مایر 250 میلی لیتری وزن می گردد و 30 میلی لیتر حلال (مخلوط اسید استیک و کلروفرم) به ان اضافه می شود سپس حدود 0/5 میلی لیتر یدور پتاسیم به آن اضافه می شود و مخلوط به مدت یک دقیقه ساکن گذاشته و گاهی همزده می شود، سپس حدود 30 میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه می گردد و مخلوط به مدت یک دقیقه ساکن گذاشته شده و چند قطره چسب نشاسته به محلول اضافه و با محلول تیوسولفات 0/01 نرمال تیتر می گردد. وقتی که رنگ نمونه به یک حالت شفاف و زلال رسید تیتراسیون متوقف گردیده و عدد پراکسید بر حسب میلی اکی والان بر کیلوگرم از طریق فرمول محاسبه شد(16)

رابطه(2)

عدد پراکسید= (حجم نمونه)/(حجم تیتراسیون مصرفی ×نرمالیته× 1000

همچنین جهت تعیین عدد تیوباربیتوریک اسید به صورت زیر عمل گردید. 1 گرم روغن در 10 میلی‌لیتر تتراکلریدکربن حل و به آن 10 میلی‌لیتر محلول تیوباربیتوریک اسید (محلول 0/67 درصد اسید تیوباربیتوریک در آب که با هم حجمش اسید استیک خالص مخلوط شده است) اضافه شد. سپس به مدت 5 دقیقه در سانتریفوژ با سرعت 1000 دور بر دقیقه قرار گرفت. در ادامه قسمت آبکی آن جدا شده و به مدت 30 دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. در پایان میزان جذب در طول موج 532 نانومتر اندازه‌گیری گردید. عدد تیوباربیتوریک اسید براساس رابطۀ (3) محاسبه شد:

رابطه (3)

$$E_{1cm}^{1g} = \frac{A_{532}}{L.M}$$

که در آن، A جذب در طول موج 532 نانومتر، L طول کاووت (سانتی‌متر) و M وزن نمونه (گرم) است (17).

**2-2-5- آزمون پایداری اکسایشی (دورۀ القاء)**

دورۀ القاء روغن سویا (به عنوان شاخصی برای تعیین پایداری اکسایشی روغن) مطابق روش AOCS در دمای 110 درجه سانتی گراد با نرخ جریان هوای 20 لیتر بر ساعت، توسط دستگاه رنسیمت (Metrohm, 743, Switzerland) اندازه‌گیری شد (16). به منظور بررسی تأثیر افزودن عصارۀ اتانولی زردچوبه بر شاخص پایداری اکسایشی روغن سویا، عصارۀ استخراج شده در شش سطح صفر، 100، 200، 300، 500، 700 و 1200 پی‌پی‌اِم به روغن سویای تصفیه شدۀ فاقد آنتی‌اکسیدان اضافه و با استفاده از دستگاه همزن مغناطیسی

(IKA, Germany) در دمای محیط (25 درجه سانتی گراد) به مدت 1 دقیقه مخلوط گردید تا عصاره به طور یکنواخت در روغن توزیع شود. همچنین آنتی‌اکسیدان طبیعی ترشیاری بوتیل هیدروکینون در غلظت 120 پی‌پی‌اِم در شرایطی مشابه به روغن سویا اضافه و به عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شد. میزان پیشرفت اکسیداسیون روغن سویا طی دورهٔ انبارمانی به روش آزمون‌های تسریع شده عمر ماندگاری (ASLT)[1] توسط آون‌گذاری در دمای 60 درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفت.

### 3-2- تجزیه و تحلیل آماری

جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از طرح آماری کاملاً تصادفی استفاده شد. همچنین به منظور مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح اطمینان 95 درصد ($p<0/05$) استفاده شد. کلیهٔ آزمایشات در سه تکرار انجام شد و توسط نرم‌افزار آماری SAS (نسخه 9/1/3) تجزیه و تحلیل‌ها صورت گرفت.

## 3- نتایج و بحث

### 3-1- ساختار اسیدهای چرب روغن سویا

در این مطالعه به منظور بررسی تأثیر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی (عصارهٔ اتانولی پودر زردچوبه) بر پایداری اکسایشی روغن‌های خوراکی از روغن سویا به عنوان پایهٔ آزمون استفاده گردید. ساختار اسیدهای چرب روغن یاد شده (یعنی روغن خام اولیهٔ تصفیه شدهٔ فاقد آنتی‌اکسیدان) ، با کمک دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) مشخص شد بطوریکه درصد اسیدهای چرب مربوطهٔ آن در جدول(1) ارائه شده است. نتایج نشان داد که بیشترین میزان اسیدهای چرب تشکیل‌دهندهٔ روغن سویا شامل اسید اولئیک C18:1 (43/23%)، اسید لینولئیک C18:2 (15/35%) و اسید پالمیتیک C16 (35/38%) می‌باشند.

**جدول 1- اسیدهای چرب مربوط به روغن سویای خام اولیهٔ تصفیه شده (فاقد آنتی‌اکسیدان).**

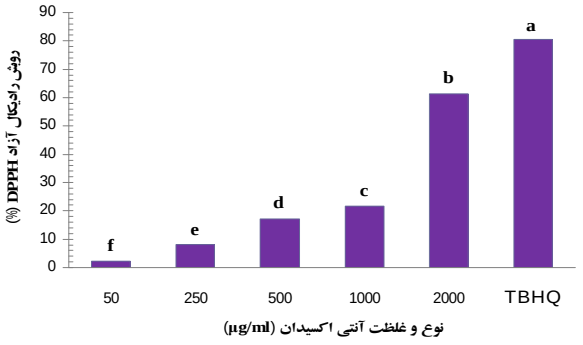
| اسید چرب | ترکیب اسید چرب |
|---|---|
| پالمیتیک c16:0 | 10/84 |
| استئاریک c18:0 | 4/27 |
| اولئیکc18:1 | 75/23 |
| لینولئیکc18:2 | 35/51 |
| لینولنیک c18:3 | 56/5 |
| آراشیدیکc20:0 | 0/356 |

### 3-2- خواص آنتی‌اکسیدانی پودر زردچوبه

ترکیبات فنلی متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که توسط تعداد زیادی از گیاهان سنتز می‌شوند. این ترکیبات ویژگی‌های عملکردی مهمی را ارائه می‌دهند، بنابراین تمایل زیادی برای بکارگیری این ترکیبات در صنایع دارویی، شیمیایی و غذایی وجود دارد(18). در این مطالعه به بررسی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ اتانولی پودر زردچوبه (به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی) پرداخته شد. نتایج مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف عصارهٔ اتانولی بدست آمده از پودر زردچوبه، بر میزان گیرندگی رادیکال آزاد $DPPH^{\bullet}$ در شکل (2) ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود تأثیر غلظت عصارهٔ اتانولی پودر زردچوبه بر میزان گیرندگی رادیکال آزاد $DPPH^{\bullet}$ معنی‌دار ($p<0/05$) است، بطوریکه با افزایش غلظت عصاره از 50 تا 2000 میکروگرم بر میلی لیتر، به ترتیب میزان گیرندگی رادیکال آزاد $DPPH^{\bullet}$ از 2/28 تا 61/41 درصد افزایش یافت. همانطور که مشاهده می‌شود افزایش غلظت عصاره از 500 تا 1000 میکروگرم بر میلی لیتر حدوداً میزان گیرندگی رادیکال آزاد را 1/3 برابر افزایش داد. این در حالی است که افزایش غلظت از 1000 تا 2000 میکروگرم بر میلی لیتر حدوداً سبب افزایش 2/85 برابری گیرندگی رادیکال آزاد گردید. با توجه به شکل (1) مشاهده شد که جهت گیرندگی حدوداً 50 درصد

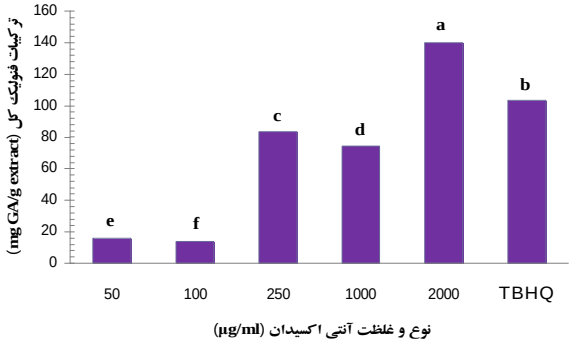
1 - Accelerated Shelf Life Testing (ASLT)

رادیکال آزاد $DPPH^{\bullet}$ (یعنی $IC_{50}$)، حدوداً به غلظت 1711 میکروگرم بر میلی لیتر از پودر زردچوبه نیاز است. همچنین در این مطالعه جهت مقایسۀ دقیق‌تر قدرت آنتی‌اکسیدان عصارۀ اتانولی پودر زردچوبه از آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ (غلظت 120 میکروگرم بر میلی لیتر) نیز استفاده گردید. نتایج نشان داد که میزان گیرندگی رادیکال آزاد آنتی‌اکسیدان سنتزی یاد شده حدوداً 80/45 درصد است. با توجه به اطلاعات کسب شده از یافته‌های پیشین، پژوهشگران ادعا نمودند که برای مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی بهتر است از یک شاخص مرجع به نام $IC_{50}$ استفاده شود که بیانگر مقدار غلظتی از عصاره بوده که قادر به حذف 50% از رادیکال‌های آزاد $DPPH^{\bullet}$ موجود در محیط است. بررسی منابع نشان داد که مقدار این شاخص ($IC_{50}$) برای گیاه گلرنگ رقم پدیده معادل 245/1 میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد (19).

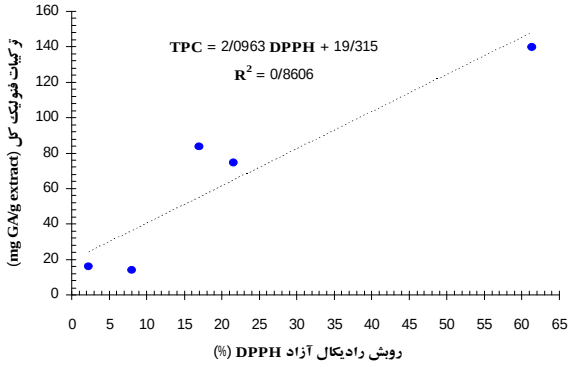



**شکل1-تأثیر غلظت‌های مختلف عصارۀ اتانولی پودر زردچوبه (صفر تا 2000 میکروگرم بر میلی لیتر) و آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ بر گیرندگی رادیکال آزاد $DPPH^{\bullet}$.**

مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف عصارۀ اتانولی بدست آمده از پودر زردچوبه، بر میزان ترکیبات فنلی کل در شکل (2) ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود تأثیر غلظت عصارۀ اتانولی پودر زردچوبه بر میزان ترکیبات فنلی کل پودر زردچوبه معنی‌دار ($p<0/05$) است، به طوری که با افزایش غلظت عصاره از 50 تا 2000 میکروگرم بر میلی لیتر ، به ترتیب میزان ترکیبات فنلی کل از 16/05 تا 139/86 میلی گرم گالیک اسید بر گرم افزایش یافت. اِلشورباگی و اِلزَهَر (2014) میزان ترکیبات فنلی کل عصارۀ اتانولی پوست بادام زمینی را به روش فولین سیوکالتیو بررسی نمودند و مقدار آن را در غلظت 1000 میکروگرم بر میلی لیتر عصاره حدود 261/7 میلی گرم گالیک اسید بر گرم گزارش کردند. همچنین این محققین میزان ترکیبات فنلی پوست انار را در غلظت 1000 میکروگرم بر میلی لیتر عصاره حدود 124/23 میلی گرم گالیک اسید بر گرم گزارش کردند(20). سلمانیان و همکاران (1393) نیز با بررسی ترکیبات فنلی عصارۀ استونی میوه ولیک نشان دادند که افزایش غلظت عصاره باعث افزایش ترکیبات فنلی کل می‌گردد(21).شکل(3) همبستگی بین ترکیبات فنلی کل و میزان بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH را در پودر زردچوبه نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود، یک همبستگی مثبت بین ترکیبات فنلی کل و فعالیت ضد رادیکالی وجود دارد بطوریکه با کاهش این ترکیبات از فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاسته می‌شود. ضریب تبیین ($R^2$) خط رگرسیون بین ترکیبات فنلی کل و فعالیت ضد رادیکالی معادل 0/8606 بدست آمد که حالی از همبستگی مناسب بین این دو شاخص می‌باشد. الهامی‌راد و همکارن (1393) تأثیر روش آنزیم‌زدایی بر پایداری ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آب هویج را بررسی نمودند. آنها اذعان نمودند که بین ترکیبات فنلی کل و فعالیت ضد رادیکالی یک همبستگی مثبت وجود داشته و میزان این همبستگی 0/8927 است (22).



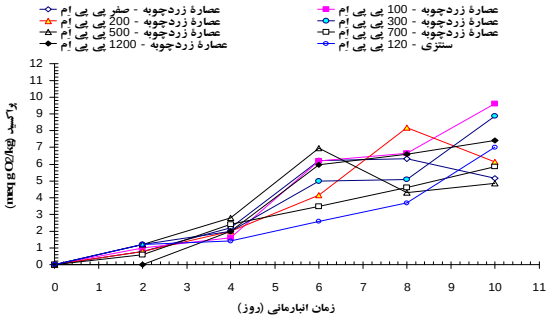

**شکل2-تأثیر غلظت‌های مختلف عصارۀ اتانولی پودر زردچوبه (صفر تا 2000 میکروگرم بر میلی لیتر) و آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ بر ترکیبات فنلی کل.**




**شکل3- همبستگی بین ترکیبات فنلی کل و میزان بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH در پودر زردچوبه.**

### 3-3- تأثیر عصارۀ اتانولی زردچوبه بر عدد پراکسید روغن سویا

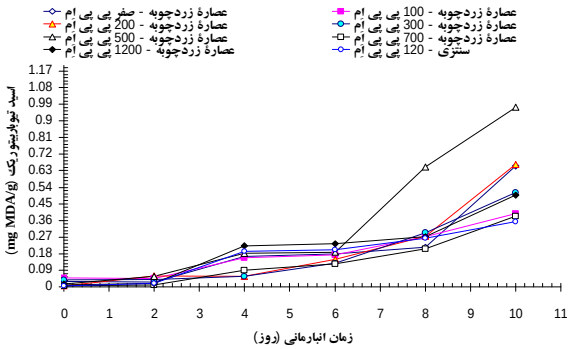
پراکسیدها محصولات اولیۀ اکسیداسیون لیپیدها هستند و بطور کلی هر چقدر که درجۀ غیراشباعی روغن‌ها بیشتر باشد روغن یا لیپید آمادگی بیشتری برای اکسیداسیون دارد. وقتی که میزان پراکسید به حد معینی برسد تغییرات مختلفی صورت گرفته و مواد فرار آلدئیدی و کتونی ایجاد می‌شود که در ایجاد بو و طعم نامطبوع مواد چرب مؤثر هستند (23). نتایج روند تغییرات عدد پراکسید روغن سویا بر حسب تابعی از زمان انبارمانی در شکل (4) ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود شیب روند این تغییرات در تمامی نمونه‌ها افزایشی می‌باشد. با این حال همانطور که مشاهده می‌شود، میزان این تغییرات در نمونۀ روغن حاوی 700 پی‌پی‌اِم (یا 700 میکروگرم بر میلی لیتر ) عصارۀ اتانولی زردچوبه و نیز روغن حاوی 120 پی‌پی‌اِم آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ کمتر می‌باشد. این حالت نشان می‌دهد که غلظت 700 پی‌پی‌اِم عصارۀ اتانولی زردچوبه قادر به رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ (120پی‌پی‌اِم) می‌باشد. همانطور که از نمودار پیداست، در غلظت‌های کمتر از 500 پی‌پی‌اِم مقدار عدد پراکسید در طول دورۀ انبارمانی در حال افزایش است. این حالت نشان می‌دهد که در غلظت‌های پایین‌تر از مقدار یاد شده، میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی کمتر از عوامل پراکسیدان بوده که سبب افزایش این عدد در روغن سویا شده است. همچنین روند مشابه این حالت در غلظت 1200 پی‌پی‌اِم آنتی‌اکسیدان طبیعی مشاهده شد که به دلیل پرواکسیدان عمل نمودن آنتی‌اکسیدان طبیعی استفاده شده است (24). طاهانژاد و همکاران (1391) اثر آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصارۀ پنیرک (200، 400، 600، 800 و 1000 پی‌پی‌اِم) را بر پایداری اکسایشی روغن سویا مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که غلظت‌های 400 و 800 پی‌پی‌اِم عصارۀ پنیرک بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان داده و معادل با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA (100 پی‌پی‌اِم) و BHT (200 پی‌پی‌اِم) است (25).




**شکل4- تغییرات عدد پراکسید روغن سویا در حضور آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی (عصارۀ اتانولی پودر زردچوبه) و TBHQ طی دورۀ انبارمانی.**

### 3-4- تأثیر عصارۀ اتانولی زردچوبه بر عدد TBA روغن سویا

عدد تیوباربیتوریک اسید (عدد TBA) یکی از شاخص‌های مهم در تعیین محصولات ثانویه اکسیداسیون است که سبب ایجاد طعم نامطلوب در روغن اکسید شده می‌گردد (26). در این روش مالون‌دی‌آلدئید (MDA) تشکیل شده (به عنوان محصول اصلی اکسیداسیون ثانویه روغن‌ها و چربی‌های غیراشباع) با تیوباربیتوریک اسید ترکیب شده و تشکیل کمپلکس رنگی را می‌دهد (13). نتایج روند تغییرات عدد TBA روغن سویا بر حسب تابعی از زمان انبارمانی در شکل (5) ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود شیب روند این تغییرات در تمامی نمونه‌ها افزایشی می‌باشد. احتمالاً این حالت به دلیل ناپایدار بودن ترکیبات اولیۀ اکسیداسیون (مونوهیدروپراکسیدها) بوده که با تجزیۀ خود ترکیبات ثانویه اکسیداسیون (نظیر آلدهیدها، کتون‌ها، اسیدها، الکل‌ها و غیره) را ایجاد می‌نماید (23). البته میزان پیشرفت این واکنش در نمونۀ فاقد آنتی‌اکسیدان به مراتب بالاتر از نمونه حاوی آنتی‌اکسیدان است. همانطور که مشاهده می‌شود، میزان این تغییرات در نمونۀ روغن حاوی 700 پی‌پی‌اِم (یا 700 میکروگرم بر میلی لیتر) عصارۀ اتانولی زردچوبه و نیز روغن حاوی 120 پی‌پی‌اِم آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در حداقل می‌باشد. این حالت نشان می‌دهد که غلظت 700 پی‌پی‌اِم عصارۀ اتانولی زردچوبه قادر به رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ (120 پی‌پی‌اِم) می‌باشد. قزل سفلو و سیدالنگی (2016) اثر اسانس برگ کرفس کوهی را در بهبود پایداری اکسایشی روغن سویا در دمای اکسیداسیون تسریع شده (63 درجه سانتی گراد) مطالعه نمودند. آنها گزارش نمودند که با افزایش زمان انبارمانی از روز اول تا دوازدهم میزان عدد تیوباربیتوریک اسید افزایش می‌یابد (27).

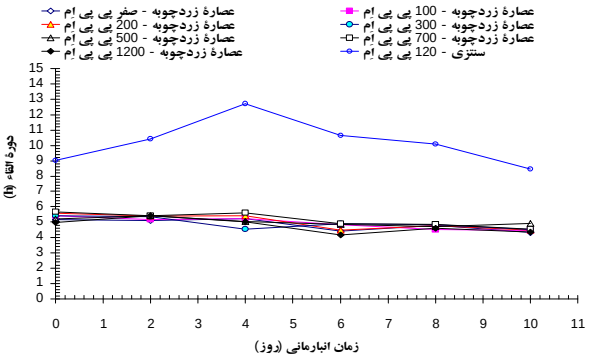



**شکل5- تغییرات عدد تیوباربیتوریک اسید روغن سویا در حضور آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی (عصارۀ اتانولی پودر زردچوبه) و TBHQ طی دورۀ انبارمانی.**

### 3-5- تأثیر عصارۀ اتانولی زردچوبه بر طول دورۀ القاء روغن سویا

طول دورۀ القاء یکی از فاکتورهای مهم در بررسی پایداری حرارتی روغن‌های خوراکی بوده و بیانگر لحظۀ شروع واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون است و توسط دستگاه رَنسیمت ارزیابی می‌شود (23). نتایج روند تغییرات طول دورۀ القاء روغن سویا بر حسب تابعی از زمان انبارمانی در شکل (6) ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود شیب روند این تغییرات بر حسب تابعی از زمان انبارمانی در کلیۀ تیمارها تقریباً نزولی می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که طول دورۀ القاء روغن حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ نسبت به روغن‌های حاوی آنتی‌اکسیدان طبیعی (عصارۀ اتانولی زردچوبه) بیشتر است. در بین روغن‌های حاوی آنتی‌اکسیدان

طبیعی از لحاظ شاخص یاد شده اختلافات معنی‌داری ($p<0/05$) مشاهده نمی‌شود. با این حال میزان این شاخص برای روغن حاوی 700 پی‌پی‌اِم (یا 700 میکروگرم بر میلی لیتر) عصارۀ اتانولی زردچوبه نسبت به سایر تیمارها بیشتر است. همانطور که از نمودار پیداست، در غلظت‌های کمتر از 700 پی‌پی‌اِم طول دورۀ القاء حتی در حضور آنتی‌اکسیدان طبیعی نیز کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصارۀ زردچوبه وابسته به غلظت است بطوریکه در غلظت‌های کمتر از 700 پی‌پی‌اِم حالت پرواکسیدانی دارد (24). پریزن و همکاران (1390) در تحقیقی به بررسی پایداری اکسایشی روغن سویا حاوی عصارۀ متانولی برگ سنا پرداختند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصارۀ متانولی برگ سنا از 250 تا 750 پی‌پی‌اِم پایداری حرارتی روغن سویا افزایش اما پس از آن به تدریج طول دورۀ القاء کاهش یافت. بالاترین طول دورۀ القاء مربوط به غلظت 750 پی‌پی‌اِم و کمترین زمان پایداری مربوط به غلظت 3000 پی‌پی‌اِم بدست آمد. آنها گزارش نمودند که غلظت 750 پی‌پی‌اِم می‌تواند به عنوان غلظت بحرانی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی برگ سنا در نظر گرفته شود زیرا خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصارۀ برگ سنا وابسته به غلظت بوده و در غلظت‌های بالاتر از این مقدار حالت پرواکسیدانی پیدا می‌کند (28).




**شکل6- تغییرات دورۀ القاء روغن سویا در حضور آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی (عصارۀ اتانولی پودر زردچوبه) و TBHQ طی دورۀ انبارمانی.**

## 4- نتیجه‌گیری

امروزه تحقیقات فراوانی برای جایگزینی مواد شیمیایی با طبیعی انجام شده است. در همین زمینه تلاش‌های زیادی برای یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی و جایگزینی با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به دلیل اثرات نامطلوبی که بر سلامتی انسان می‌گذارند، صورت گرفته است. لذا در این تحقیق در راستای کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی گیاهی از عصارۀ اتانولی زردچوبه به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌اکسیدان سنتزی (TBHQ) در روغن سویا استفاده گردید. براساس نتایج مشاهده شد که بیشترین میزان بازدارندگی رادیکال آزاد $DPPH^{\bullet}$ در غلظت 2000 میکروگرم بر میلی لیتر عصارۀ اتانولی زردچوبه مشاهده شد (61/41%). به طور کلی نتایج نشان داد که در صورت استفاده از آنتی‌اکسیدان طبیعی عصارۀ اتانولی زردچوبه، غلظت 700 پی‌پی‌اِم به عنوان بهترین غلظت بوده چون در این غلظت میزان عددهای پراکسید و تیوباربیتوریک اسید حداقل و طول دورۀ القاء حداکثر می‌باشد.

## 5- منابع


1. الهامی‌راد، ا.ح.، جعفری سواره، ش.، استیری، س.ح.، آرمین، م. 1393. ارزیابی تأثیر روش آنزیم‌بری بر پایداری آنتی‌اکسیدانی آب هویج در حین نگهداری. مجلۀ نوآوری در علوم و فناوری غذایی. جلد 6، شماره 2، 32-23.
2. پریزن، ط.، الهامی‌راد، ا.، استیری، س.ح.، آرمین، م. 1390. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصارۀ متانولی برگ سنا و تأثیر آن در پایداری روغن سویا. مجله علوم و فناوری غذایی،جلد 3، شماره 1، 51-59.
3. حصاری، ج. 1382. صنایع کنسروسازی اصول و کاربردها. انتشارات دانشگاه تبریز.

4. دانشمند، ف.، قوامی، م. 1390. بررسی اثر دما و زمان بر تولید و شکست هیدروپراکسیدها در روغن‌های کانولا و سویا.مجله علوم غذایی و تغذیه، جلد 9، شماره1.

5. سلمانیان، ش.، صادقی، ع.، اَعلمی، م.، قربانی،م. 1393. ارزیابی ترکیبات فنولی، فلاوونوئیدی، آنتوسیانینی و فعالیت ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصارۀ استونی میوه ولیک، مجله علوم پزشکی رفسنجان، شماره 13، 53-66.

6. طاهرنژاد، م.، برزگر، م.، سحری.، م.، نقدی باری، ح. 1391. ارزیابی فعالیت آنتی‌رادیکالی عصارۀ پنیرک (Malva syrestris) و کاربرد آن در سامانه روغن. فصلنامه گیاهان دارویی، جلد 42، شماره 1، 86-92.

7. کریم‌خانی، م. 1388. ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصارۀ گل گیاه گلرنگ، پایان‌نامۀ کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی –واحد سبزوار

8. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، سال 1376. روش تهیه متیل استرهای اسید چرب در روغن‌ها و چربی‌های خوراکی. استاندارد ملی ایران به شمارۀ 4090. چاپ اول.

9. نعمت‌شاهی، م.م.، حدادخداپرست، م.ح.، الهامی‌راد، ا.ح.، هوشمنددلیر، م.ر.، نعمت‌شاهی، ن. 1395. بررسی ترکیبات شیمیایی و خواص آنتی‌اکسیدانی عصارۀ برگ گیاه برگ بو( Laurus nobilis L.) و تأثیر آن برپایداری روغن کانولا در طی نگهداری. مجلۀ نوآوری در علوم و فناوری غذایی، جلد8، شماره 1، 73-63.

10. Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. 2001. Antioxidants in Food: Practical Applications. (1st ed), CRC Press, USA.

11. Ramarathnam, N., Osawa, T., Ochi, H., Kawakishi, S. 1995. The contribution of plant food antioxidants to human health. Trends in Food Science and Technology, 6, 75-82.

12. Mohammadi, A., Jafari, S.M., Faridi Esfanjani, A., Akhavan, S. 2016. Application of nano-encapsulated olive leaf extract in controlling the oxidative stability of soybean oil. Food Chemistry, 190(1): 513-519.

13. Bera, D,. Lahiri, D., Nag, A. 2006. Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. Journal of Food Engineering, 74, 542-545.

14. Ravindran, P.N., Nimal, K., Sivaraman, K. 2007. Turmeric: the genus curcuma. CRC press, p 7-10.

15. Uribe, E., Marín, D., Vega-Gálvez, A., Quispe-Fuentes, I., Rodríguez, A. 2016. Assessment of vacuum-dried peppermint (Mentha piperita L.) as a source of natural antioxidants. Food Chemistry, 190(1): 559-565.

16. Li, J., Hui, T., Wang, F., Li, S., Cui, B., Cui, Y., Peng, Z. 2015. Chinese red pepper (Zanthoxylum bungeanum Maxim.) leaf extract as natural antioxidants in salted silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) in dorsal and ventral muscles during processing. Food Control, 56: 9-17.

17. Shi, C., Cui, J., Yin, X., Luo, Y., Zhou, Z. 2014. Grape seed and clove bud extracts as natural antioxidants in silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) fillets during chilled storage: Effect on lipid and protein oxidation. Food Control, 40: 134-139.

18. Kanakdande, D., Bhosale, R., Singhal, R.S. 2007. Stability of cumin oleoresin microencapsulated in different combination of gum arabic, maltodextrin and modified starch. Carbohydrate Polymers. 67: 536-541.

19. Dutta, S., Bhattacharjee, P. 2015. Enzyme-assisted supercritical carbon dioxide extraction of black pepper

20. oleoresin for enhanced yield of piperine-rich extract. Journal of Bioscience and Bioengineering, 120(1): 17-23.
21. Burits, M., Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phytotheraphy Res., 14: 323-28.
22. Galoburda, R., Kruma, Z., Ruze, K. 2012. Effect of pretreatment method on the content of phenolic compounds, vitamin c and antioxidant activity of dried dill. World Academy Sci. Eng. Technol., 6(4): 1202-06.
23. AOCS. 2007. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society. (7th ed). American Oil Chemists-Society, Champaign.
24. Sazegar, M.R., Banakar, A., Bahrami, N., Bahrami, A., Baghbani, M., Nematolahi, P., Mottaghi, M. 2011. Determination of the antioxidant activity and stability of chamomile (Matricaria chamomilla L.) extract in sunflower oil. World Appl. Sci. J., 12 (9): 1500-1504.Ballesteros, L.F., Ramirez, M.J., Orrego, C.E., Teixeira, J.A., Mussatto, S.I. 2017. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. Journal of Food Chemistry, http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.142.
25. El-Shourbagy, G.A., El-Zahar, K.M. 2014. Oxidative stability of ghee as affected by natural antioxidants extracted from food processing wastes. Annals of Agricultural Science, 59(2): 213–220.
26. Fennema OR. 1996. Food chemistry. Marcel Dekker, Inc, New York.
27. Ayoghi F, Barzgar M, Sahari MA and Naghdi Badi H. 2010. Investigation of antioxidant activity of dill essential oil in soybean oil and its comparasion with chemical antioxidants. J. Med. Plant, 8(2): 71-83.
28. Ghezel Seflo, M., Seyyed Alangi, S.Z. 2016. Effect of Kelussia Odoratissima Mozaffarian leaves essential oil on the oxidative stability of soybean oil. J. Food res. 26(4): 682-694.