نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 14، شماره 2، خرداد- تیر 1397 ص.306-297

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 14, No. 2, June. July. 2018, p. 297- 306

بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره معمولی و انکپسوله گیاه اسفرزه (*Plantago ovate*) بر پایداری اکسیداتیو سیستم مدل غذایی (روغن آفتابگردان)

مهشید شاملوفر[1*]- زهرا غیاثوند[1]- الهام پایندان[2]

تاریخ دریافت: 1395/11/11
تاریخ پذیرش: 1396/04/10

چکیده

رادیکال‌های آزاد باعث ایجاد بیماری‌های زیادی در انسان می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های فنولی قادر به جلوگیری از تأثیر مخرب رادیکال‌های آزاد و جهش‌های حاصل بر ساختارهای سلولی می‌باشد. این مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه اسفرزه و تأثیرات این آنتی‌اکسیدان طبیعی را بر پایداری اکسیداتیو روغن آفتابگردان بررسی می‌کند. در این مطالعه سنجش محتوی فنولی عصاره گیاه اسفرزه به‌وسیله آزمون فولین- سیوکالتو و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن توسط دو آزمون DPPH و قدرت احیاءکنندگی آهن مورد بررسی قرار گرفت. همچنین سنجش عدد پر اکسید و شاخص تیوباربیوتیک اسید بر روغن آفتابگردان با آزمون آون‌گذاری در دمای 70 درجه سانتی‌گراد انجام شد. نتایج این آزمایش نشان دادند که غلظت‌های مختلفی از این عصاره قادرند تا حد زیادی روند اکسیداسیون را در 65 درجه سانتی‌گراد کند نمایند. در بین تیمارها، غلظت 1000 پی‌پی‌ام انکپسوله گیاه اسفرزه در طول زمان نگهداری دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به سایر تیمارها بود ($p<0/05$). نتایج نشان داد که عصاره‌های معمولی و انکپسوله اسفرزه دارای اثر آنتی‌اکسیدانی خوبی می‌باشد و می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی در دسترس صنایع غذایی و دارویی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: گیاه اسفرزه (*Plantago ovate*)، روغن آفتابگردان، انکپسوله کردن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، زمان ماندگاری.

مقدمه

رادیکال‌های آزاد دارای نقش مهمی در پیدایش و تداوم حیات می‌باشند، به‌عنوان مثال رادیکال‌های اکسیژن‌دار در زمینه انتقال سیگنال‌ها، بیان ژن و تنظیم فعالیت گوانیلات سیکلاز در سلول‌ها نقش اساسی دارند. البته رادیکال‌های آزاد و سایر گونه‌های وابسته باعث اکسیداسیون بیومولکول‌هایی نظیر پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند که این مسئله باعث وارد آمدن صدمه به سلول و مرگ آن می‌شود (Ayoughi *et al*., 2009). اکسیداسیون قابلیت مصرف مواد غذایی را از طریق تولید ترکیبات بد طعم با وزن مولکولی پایین، تخریب مواد مغذی ضروری و نیز تولید ترکیبات سمی کاهش می‌دهد. بنابراین امروزه به‌طور فزاینده‌ای از آنتی‌اکسیدان‌ها جهت حفظ کیفیت مواد غذایی استفاده می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها در غلظت پایین به‌طور قابل توجهی اکسیداسیون سوبستراهای قابل اکسید را به تأخیر انداخته یا ممانعت می‌نماید (Arabshahi-Delouee and Urooj, 2007). مطالعات اپیدمیولوژیکی حاکی از آن است که مصرف مواد غذایی حاوی ترکیبات فیتوشیمیایی نقش بسیار مهمی در حفظ سلامت بدن دارد. در میان ترکیبات فیتوشیمیایی، پلی‌فنول‌ها دارای اثرات سلامت‌بخش قابل توجهی در بدن می‌باشند. این ترکیبات، به‌واسطه فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود می‌توانند در شرایط استرس اکسیداتیو شدت اکسیداسیون ماکرومولکول‌ها در سلول‌های بدن و در نتیجه خطر ابتلا به بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو از قبیل سرطان، بیماری‌های قلبی- عروقی و دیابت را کاهش دهند (Arabshahi-Delouee and Urooj, 2007). ترکیبات فنولی علاوه بر نقش خود در سامانه‌های زیستی، ضمن جلوگیری از فرایند اکسیداسیون مانع از تغییر در طعم، رنگ وکاهش ارزش تغذیه‌ای و ایمنی روغن‌ها و چربی‌ها و همچنین فرآورده‌های حاوی ترکیبات لیپیدی می‌گردند (Shahidi and Han, 1993). در سال‌های اخیر با افزایش آگاهی نسبت به فواید مصرف ترکیبات دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و تمایل تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان به محصولات طبیعی،

1- استادیار، گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران.
2-دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحدآزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران.
(*مسئول مکاتبات: Email: Shamloofar@gmail.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v0i0.60551

پژوهش‌های فراوانی در زمینه یافتن منابع غنی از آنتی‌اکسیدان صورت گرفته است (Gülçın *et al*., 2003). مطالعات حاکی از آن است که گیاهان به‌عنوان منابع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، حاوی مقادیر قابل توجهی از انواع ترکیبات فنولی می‌باشند (Shahidi *et al*., 1997). از بین گیاهان دارای ترکیبات فنولی اسفرزه با نام علمی (*Plantago ovate*) نوعی گیاه دارویی متعلق به خانواده *(Plantaginaceae)* گیاه آن یکساله علفی و کوتاه است و بلندی آن به 40 – 10 سانتی‌متر می‌رسد. این گیاه در نواحی گسترده‌ای در شمال ایران در دشت گرگان، گیلان و بختیاری، اصفهان، ایلام، نیز دیده می‌شود. استفاده از تکنیک انکپسولاسیون سبب کاربرد عصاره‌ها در غلظت‌های پایین می‌شود. انکپسولاسیون شامل قرارگیری ترکیبات غذایی، آنزیمی و یا مواد دیگر در کپسول‌های کوچک می‌باشد. کپسول‌هایی که می‌توانند محتویات خود را تحت شرایط خاصی آزاد کنند (Gouin, 2004) در سال 2014، vega and roos و همکاران این روش را برای انکپسوله کردن ترکیبات غذایی در صنعت لبنیات به‌منظور حفاظت از عطر و طعم ماده غذایی به‌کارگرفتند (Vega and Roos, 2014)، همچنین مقالات مروری از سایر محققان مانند، Shahidi and Han ، Arshady(Arshady, 1993) Shahidi, 1997)، در ارتباط با انکپسولاسیون منتشر شده است.از طرفی دیگر، یکی از سامانه‌های غذایی روغن‌ها می‌باشند که مصرف بسیار زیادی در زندگی روزمره دارند. روغن آفتابگردان، جزء مهم‌ترین روغن‌های نباتی است که این اهمیت به دلیل فراوانی، ارزانی، کیفیت خوب و بازده بالای آن است. در ضمن به دلیل وجود مقدار نسبتاً زیاد اسیدهای چرب غیراشباع در این روغن، پایداری زیادی در برابر اکسیداسیون ندارد. هدف از این مطالعه در ابتدا تهیه عصاره معمولی و انکپسوله اسفرزه به‌منظور تأثیرگذاری هرچه بیشتر عوامل گروه‌های هیدروکسیل (ترکیبات فنولیک) گیاه مذکوربر روی شدت اکسیداسیون روغن آفتابگردان بود. سپس خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با 3 آزمون قدرت احیاکنندگی یون آهن سه ظرفیتی، مهار رادیکال‌های DPPH، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل مورد بررسی قرار گرفت و در ادامه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه گردید، همچنین عدد پراکسید وتیوباربیتوریک اسید به‌عنوان شاخص مهار اکسیداسیون مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

روغن آفتابگردان خالص تصفیه شده و عاری از آنتی‌اکسیدان از شرکت عالیا گلستان واقع در شهرستان کردکوی (استان گلستان) تهیه گردید. اندام‌های هوایی اسفرزه پس از تهیه، در محیطی تاریک و خشک نگهداری شدند. برای استخراج عصاره، اندام‌های هوایی اسفرزه با آسیاب (IKA، مدل ALL) خرد شده و از الک با مش 35 عبورداده شدند. سپس 25 گرم از پودر حاصل با نسبت 4:1 با حلال متانول مخلوط شده و توسط کلونجر در دمای 75 درجه سانتی‌گراد به مدت 300 دقیقه عصاره اسفرزه استخراج شد و پس از آن عصاره‌ها توسط کاغذ صافی واتمن 1 فیلتر شدند. سپس حلال‌زدایی توسط تبخیرکننده دوار (Buchi، مدل B-169) انجام گرفت. عصاره‌ها تا زمان انجام آزمایشات در محیطی تاریک و در دمای یخچال نگهداری شد (Barros *et al*., 2009). به‌منظور تهیه عصاره انکپسوله، ابتدا مالتودکسترین در آب مقطر حل شد که این فرآیند بر روی دستگاه هیتر مگنت (به مدت 45 دقیقه) انجام گرفت، نمونه عصاره نیز به‌طور مجزا با آب مخلوط و شیک شد. این کار با حرارت نسبتاً پائین به مدت 30 دقیقه انجام شد. پس از حل شدن کامل عصاره در آب مقطر، نمونه مخلوط شده و تحت تأثیر دستگاه اولتراسوند قرارگرفت (5 کیلو هرتز به مدت 5 تا 10 دقیقه)، پس از اتمام این مرحله نمونه‌ها در دستگاه فریز درایر خشک شد. در روش فریز درایر عصاره را در حد چند هزارم میکرون وارد محفظه‌ای که دارای دمای زیر صفر بوده 50- درجه و تحت خلاء به شکل انجماد در آورده و بلافاصله این ذرات منجمد فریز و تحت تاثیر هوای نسبتاً گرم 50 درجه سانتی‌گراد خشک شد، که در این شرایط ترکیبات عصاره کمتر تغییر می‌کند. این روش تلفیقی از روش‌های مختلف بوده و به نوعی بهینه‌سازی روش صورت گرفته است (Jafari *et al*., 2008). در این تحقیق عصاره گیاه اسفرزه در غلظت‌های 200، 500، 700 و 1000 میلی‌گرم در لیتر (در دو فرم معمولی با علامت اختصاری G و انکپسوله با علامت اختصاری E) به روغن آفتابگردان اضافه شد.

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اسفرزه با آزمون‌های مختلف

ترکیبات فنولی

میزان کل ترکیبات فنولی با روش رنگ‌سنجی فولین- سیوکالتو ارزیابی (Arabshahi-Delouee and Urooj, 2007) و نتایج بر حسب میلی‌گرم تانیک اسید در هر گرم عصاره خشک بیان شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها

ابتدا غلظت‌های مختلف از عصاره تهیه و سپس توانایی مهار رادیکال آزاد 2و 2 دی فنیل 1- پیکروهیدرازیل (DPPH) (Japón-Luján *et al*., 2006)، نیروی احیاکنندگی (Arabshahi-Delouee & Urooj, 2007) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (Prieto *et al*., 1999) سنجش قرار گرفت.

اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اسفرزه در به تأخیر انداختن اکسیداسیون روغن آفتابگردان

جهت بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اسفرزه در به تأخیر انداختن اکسیداسیون روغن آفتابگردان، عصاره متانولی گیاه اسفرزه که به روش غوطه‌وری استخراج شده بود در چهار سطح (200، 500، 700 و 1000 پی‌پی‌ام) و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در یک سطح (200 پی‌پی‌ام) به روغن آفتابگردان تصفیه شده و بدون آنتی‌اکسیدان و اسید سیتریک اضافه و به مدت 12 روز در دمای 60 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در طی این مدت زمان در روزهای 2، 4، 6، 8 ، 10 و 12عدد پراکسید (Chemists, 2012) و تیوباربیتوریک اسید (Goli *et al*., 2005) تعیین شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

مقایسه میانگین‌های به‌دست آمده از سه تکرار بر پایه طرح کاملاً تصادفی با آزمون دانکن ($p<0/05$) و آنالیز آماری با نرم‌افزار SAS صورت گرفت.

نتایج وبحث

مقدار کل ترکیبات فنولی

میزان ترکیبات فنولی عصاره‌ها در جدول 1 ارائه شده است.

جدول 1- میزان ترکیبات فنولی عصاره‌های معمولی و انکپسوله اسفرزه و کنترل مثبت BHT (میلی‌گرم اسید تانیک در گرم عصاره) در روغن آفتابگردان

تیمارغلظت	G	EN
200BHT(ppm)	0/024±1/063[a]	0/024±1/063[a]
200 ppm	0/01±0/378[c]	0/017±0/456[b]
500 ppm	0/017±1/021[a]	0/015±1/06[a]
700 ppm	0/022±1/038[a]	0/013±1/065[a]
1000ppm	0/018±1/054[a]	0/021±1/079[a]

میانگین±انحراف معیار، حروف کوچک مشترک در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می باشد

فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی اصولاً مربوط به ویژگی‌های احیاءکنندگی آن‌ها می‌باشد. این ترکیبات قادرند به‌واسطه قدرت احیاءکنندگی خود به‌عنوان یک عامل اهداءکننده هیدروژن یا الکترون و یا غیرفعال‌کننده اکسیژن یگانه عمل کرده و از این طریق مانع از انجام فرایندهای اکسیداسیون شوند. فلاونوئیدها دارای خاصیت ضدمیکروبی، ضدالتهابی، ضدتب، ضدآلرژی و خواص ضداکسیدان می‌باشند. مصرف فلاونوئیدها باعث کاهش ابتلا به بیماری قلبی و عروقی می‌شود (Shahidi, 1997). در این مطالعه، مقدار کل ترکیبات فنولی اسانس استخراج شده از گیاه اسفرزه به روش فولین سیوکالته در سه تکرار اندازه‌گیری شد. در این روش، احیای معرف فولین سیوکالته توسط ترکیبات فنولی شامل برهمکنش این ترکیبات با مخلوطی از فسفومولیبدیک و فسفوتنگستیک اسید در محیط قلیایی می‌باشد که در نهایت منجر به تشکیل کمپلکس‌های آبی رنگ با حداکثر جذب در طول موج 760 نانومتر می‌گردد (Japón-Luján *et al*., 2006). معرف فولین سیکالتو به‌صورت غیراختصاصی با ترکیبات فنولی واکنش می‌دهد. گستره غلظت مورد آزمون 200-1000 میلی‌گرم در لیتر بود. براساس نتایج آنالیز آماری تجزیه واریانس مقدار کل ترکیبات فنولی در مقدار نسبتاً مناسبی قرار داشت و اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف عصاره گیاه معمولی و انکپسوله اسفرزه مشاهده شد ($P>0/05$). طبق جدول 1 با افزایش غلظت، مقدار ترکیبات فنولی در عصاره‌های معمولی و انکپسوله زیاد شد. روند افزایش به کاهش ترکیبات فنولی به‌صورت زیر می‌باشد:

EN>200BHT<500<EN1000G>700G>500G>200EN>200G 700< EN1000میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. بالاترین و کمترین میزان ترکیبات فنولی به‌ترتیب مربوط به غلظت200 میلی‌گرم اسید تانیک در گرم از آنتی‌اکسیدان سنتزی و غلظت 200 میلی‌گرم اسید تانیک در گرم از عصاره معمولی اسفرزه بود، به‌طور کلی عصاره‌ها به شکل انکپسوله میزان ترکیبات فنولی بیشتری نسبت به شکل معمولی دارا هستند. در آنالیز آماری مشاهده شد، تفاوت معنی‌داری بین غلظت 200 از عصاره معمولی و انکپسوله اسفرزه به‌ترتیب با میزان ترکیبات فنولی (0/378و 0/456 میلی‌گرم اسید تانیک در گرم) با سایر تیمارها هستند ($P<0/05$)، اما انکپسوله کردن باعث تفاوت ناچیزی در اثرگذاری هرچه بهتر ترکیبات فنولی در غلظت پایین می‌شود. از طرفی استفاده از آنتی‌اکسیدان سنتزی سبب اثرات نامطلوب همچون اثر جهش‌زایی و سرطان در بدن را به همراه دارند که به تدریج از لیست آنتی‌اکسیدان‌های مصرفی حذف می‌شوند، لذا تهیه و تولید آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌عنوان جانشین ضروری می‌باشد. در بررسی انجام شده توسط راکیک و همکاران (2007)، مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره متانولی میوه بلوط گونه *کوئرکوس روبور* و *کوئرکوس سوبور* به‌ترتیب 0/223و 0/229 میلی‌گرم معادل اسید تانیک در گرم عصاره بود که پایین‌تر از تحقیق حاضر بود (Rakić *et al*., 2007). قادری قهفرخی در سال 1390 اثر آنتی‌اکسیدانی، ضدرادیکالی و همچنین اندازه‌گیری فنول و فنول تام را در گیاه داروئی موره با حلال‌های متفاوت مورد بررسی قرار داد و نتایج حاصل از این بررسی را به این شکل بیان نمود، ترکیبات فنولیک قادرند یک اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد بدهند و بدین ترتیب باعث توقف پیش روی واکنش‌های زنجیری در طی فرآیند اکسیداسیون چربی شوند. همچنین با افزایش ترکیبات فنول تام خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌شود. استفاده از حلال‌های مختلف در میزان استخراج عوامل پلی‌فنولی تأثیرگذار است (Ghaderi Ghahfarokhi *et al*., 2011)،

همچنین استفاده از روش انکپسوله کردن ممکن است باعث تـأثیرات هرچه بیشتر عوامل پلی فنولیکی شود.

.

قدرت مهار رادیکال‌های DPPH

مهار رادیکال‌های آزاد یکی از شناخته شده‌ترین مکانیسـم‌هـایی است که به‌واسطه آن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌تواننـد اکسیداسـیون چربی‌ها را مهار نمایند. DPPH نوعی رادیکال آزاد هیدروفیل پایـدار است که به‌عنوان سوبسترا در تعیـین فعالیـت آنتـی‌اکسـیدانی مـورد استفاده قرار می‌گیرد (Ferreres *et al*., 2007). جدول2، میزان مهار رادیکال‌های آزاد توسط غلظت‌های مختلف (200-1000 میکروگـرم در میلی‌لیتر) عصاره‌های حاصل از گیاه اسفرزه به دو فـرم معمـولی و انکپسوله و آنتی‌اکسیدانی سنتزی BHT را نشان می‌دهد.

جدول2- میزان قدرت مهار رادیکال‌هایDPPH (میکروگرم در میلی‌لیتر) عصاره‌های معمولی و انکپسوله اسفرزه و کنترل مثبت BHT در روغن آفتابگردان

EN	G	تیمار غلظت
1/12±48/24^{b}	1/12±48/24^{b}	200BHT(ppm)
1/3±25/82^{c}	0/65±22/25^{c}	200 ppm
1/46±48/18^{b}	1/08±46/18^{b}	500 ppm
1/62±50/88^{b}	2/24±48/32^{b}	700 ppm
2/78±59/86^{a}	0/85±50/9^{b}	1000 ppm

میانگین±انحراف معیار، حروف کوچک مشترک در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

نتایج آنالیز و واریانس نشان داد، فرم و افزایش غلظت عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان سنتزی تأثیر معنی‌داری بـر میـزان مهـار رادیکـال آزاد داشتند ($p\leq0/05$)، همچنین می‌توانیم بیـان کنـیم، در غلظـت‌هـای بالاتر ترکیبات فنولی به دلیل تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افـزایش مـی‌یابـد (Ferreres *et al*., 2007). در بررسی اولیه از نتایج این تحقیق به این موضوع دست پیدا کردیم که میزان مهار رادیکال‌های آزاد در فرم انکپسوله نسبت به فرم معمولی بیشتر است، آنتی‌اکسیدان سنتزی نیز با میزان مهارکننـدگی (48/24 میلی‌گرم اسید تانیک در گرم) همچنان در حال رقابت با سایر تیمارها بـه‌جـز غلظـت 200 PPM اسـت. در ایـن تحقیـق، غلظـت 1000EN و 1000G با میزان مهار رادیکال آزاد بـه‌ترتیـب 59/86 و 50/90 میکروگرم در میلی‌لیتر، بیشـترین فعالیـت آنتـی‌اکسـیدانی را به‌خود اختصاص داد. نتایج مشابهی نیز در سایر تحقیقـات در هنگـام استفاده از اشکال مختلف آنتی‌اکسیدان‌هـای طبیعـی مشـاهده شـده است. به‌عنوان مثال، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان و مهار رادیکـال آزاد توسط غلظت‌های مختلفی از اسانس شوید، چای سبز و رزمـاری بـر پایداری روغن سویا را مورد بررسی قرار گرفتـه (Lapornik *et al*., 20152005, Ranjbar Nedamani *et al*.,) و در نهایـت نتـایج به‌دست آمده نشان داد که DPPH که یک رادیکال آزاد پایدار اسـت واکنش داده و به α و α دی فنیل ß پیکروهیدرازین تبدیل می‌شـود. درجه بی‌رنگ شدن نشان‌دهنده پتانسیل مهاری آنتی‌اکسیدان‌ها است (Choe *et al*., 2014). عصاره گیاه اسفرزه نیـز سرشـار از ترکیبـات فنولی می‌باشد. این ترکیبات به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسـیل، توانایی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد را داشته و می‌تواننـد بـه‌عنـوان دهنده الکترون یا هیدروژن عمل کنند.

قدرت احیاءکنندگی

در این روش توانائی عصاره‌ها برای احیـاء آهـن سـه ظرفیتـی و تبدیل آن به آهـن دو ظرفیتـی سـنجیده مـی‌شـود. حضـور عوامـل احیاءکننده (آنتی‌اکسیدان‌ها) منجر به احیاء کمپلکس فـری سـیانید و تبدیل آن‌ها به فرم فروس می‌گردد که بسته به ظرفیت احیاءکنندگی عصاره‌ها مورد بررسی با تغییر رنگ محلول از زرد به درجات مختلفی از رنگ های سبز- آبی همراه است (Soares *et al*., 2009). در این آزمون، قدرت احیاکنندگی یون آهن (III) توسط غلظت‌های مختلف از عصاره اسفرزه (200، 500، 700، 1000ppm) بـه‌عنـوان شاخصـی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آنـالیز و واریانس موجود در جدول 3 حاکی از آن بـود کـه سـهم هـر یـک از تیمارهـــا بـــرای احیـــاء آهـــن بـــه‌صـــورت: 200EN و 1000G>700EN>700G>500EN>500G>200BHT>200G >1000EN می‌باشد.

جدول3- میزان قدرت احیاءکنندگی (میکروگرم در میلی‌لیتر) عصاره‌های معمولی و انکپسوله اسفرزه و کنترل مثبت BHT در روغن آفتابگردان

EN	G	تیمار غلظت
0/62±111^{g}	0/62±111^{g}	200 BHT(ppm)
0/12±8/89^{h}	1/35±92^{h}	200 ppm
0/51±152/7^{e}	0/56±132/92^{f}	500 ppm
0/64±250/17^{c}	0/6±220/12^{d}	700 ppm
0/83±349/31^{a}	0/73±330/29^{b}	1000 ppm

میانگین±انحراف معیار، حروف کوچک مشترک در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار می باشد

همانطور که از نتایج بر می‌آید، گروهEN در رقابـت بـا گـروه G تقریباً توان احیاءکنندگی بیشتری را دارنـد. بـر طبـق نتـایج در یـک غلظت مشخص بین تیمارهای معمولی و انکپسوله تفاوت معنی‌داری وجود دارد($p\leq0/05$)، با افزایش غلظت میزان جذب محلول‌های حاوی عصاره به‌طور قابل توجهی افزایش یافت و دارای اختلاف معنی‌دار بـا

یکدیگر هستند ($p\leq0/05$). همچنین در تحقیقی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های فنولی گیاه گل مغربی (500-25 میکروگرم در لیتر) توسط حلال‌های مختلف را مورد بررسی قرار دادند، متناسب با افزایش میزان ترکیبات فنولی در عصاره‌ها میزان توان احیاءکنندگی آن افزایش می‌یابد (Mardani *et al*., 2013). و در مقایسه این آنتی‌اکسیدان طبیعی با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به این نتیجه رسیدند که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان طبیعی بالاتراز آنتی‌اکسیدان سنتزی می‌باشد (Esmaeilzadeh Kenari *et al*., 2014).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

آزمون اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل به‌منظور کمی‌سازی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی محلول در آب و چربی انجام شد. نتایج حاصل از مقایسه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها نشان داد که در تمامی غلظت‌ها (200-1000) بهتر از آنتی‌اکسیدان BHT عمل نموده، دو عصاره 1000 پی‌پی‌ام به فرم معمولی و انکپسوله به‌ترتیب با میزان 312/73 و 329/87 (میکروگرم در میلی‌لیتر) توانایی بیشتری در الکترون‌دهی داشته و می‌تواند به‌عنوان پایان‌دهنده زنجیره الکترون عمل و اشکال فعال رادیکال آزاد را به انواع غیررادیکالی پایدارتر تبدیل کنند (Dorman *et al*., 2003). همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل این عصاره‌ها وابستگی زیادی به غلظت نشان دادند، به‌طوری که با افزایش غلظت، ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل آن ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p\leq0/05$). البته توجه به این نکته هم ضروری است که آنتی‌اکسیدان مصنوعی همچنان در حال رقابت با آنتی‌اکسیدان طبیعی است. از نتایج این 3 آزمون به این موضوع پی می‌بریم که استفاده از عصاره‌های طبیعی خصوصاً در فرم انکپسوله می‌تواند اثر بخشی بهتری داشته باشد. در تحقیقی فنول کل هفت واریته قارچ خوراکی وحشی مورد بررسی قرار گرفت، نتایج حاکی از آن بود که با افزایش غلظت عصاره‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل افزایش یافت (Elmastas *et al*., 2007). بنابراین باید ارتباط و همبستگی نزدیکی بین مقدار ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود داشته باشد. در این راستا Raghu و همکاران (2011) اظهار داشتند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف ممکن است به دلیل تفاوت ساختاری ترکیبات فنلی یا الگوی هیدروکسیلاسیون و متیلاسیون آن‌ها باشد. عصاره‌های گیاهی ممکن است حاوی سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدان مانند پروتئین‌ها، آلفاتوکوفرول و... باشند که در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نقش دارند (Raghu *et* al., 2011).

عدد پراکسید در روغن آفتابگردان

طی یک دوره زمانی 12 روزه، نتایج حاصل از اندازه‌گیری عدد پراکسید نمونه‌ها در فاصله 2 روز گرمخانه‌گذاری با دمای 65 درجه سانتی‌گراد (جدول 5) نشان‌دهنده توانایی نمونه‌های مورد آزمون در جلوگیری از تولید محصولات اولیه حاصل از اکسیداسیون روغن آفتابگردان بود، به‌طور کلی بین تمامی نمونه‌ها تیمار شاهد دارای بالاترین مقدار عدد پراکسید بود و بین تیمارها در تمامی روزها اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p\leq0/05$). با گذشت زمان متوجه اختلاف هرچه بیشتر بین تیمار 1000EN و تیمار شاهد و آنتی‌اکسیدان سنتزی می‌شویم. تیمار 700EN در به تأخیر انداختن واکنش اکسیداسیون مانند 1000EN ولی دارای اختلاف معنی‌داری با آن است($p\leq0/05$)، همچنین اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آنتی‌اکسیدان سنتزی، 200G و 200EN مشاهده می‌کنیم ($p\leq0/05$). در روزهای ابتدایی بین تمامی تیمارها اختلاف معنی‌داری داریم ($p\leq0/05$)، از روز ششم به بعد میزان عدد پراکسید از میزان 20 میلی‌اکی والان پراکسید بر کیلوگرم (با توجه به اصل عمومی فساد روغن در این نقطه) تجاوز کرد (Economou *et al*., 1991). بر طبق نتایج این تحقیق، با افزایش غلظت عصاره‌ها مهار اکسیداسیون بهتر صورت گرفت و با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون، اعداد پراکسید افزایش یافت. در واقع عدد پراکسید بیانگر اکسیداسیون اولیه است، زیرا آنتی‌اکسیدان‌ها طی مدت زمان خاصی فعال باقی مانده و با گذشت زمان به تدریج از درجه تأثیر آن‌ها کاسته می‌شود که دلیل آن می‌تواند نگه داشتن نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون و حرارت باشد. بنابراین در روزهای پایانی شاهد بالا رفتن واکنش‌های اکسیداسیون هستیم و تفاوت بین نمونه‌ها کاملاً مشهود است. در ارتباط با این موضوع عربستانی و همکاران، فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم پروتئینی دانه گاودانه را مورد بررسی قرار دادند و تأثیر آن را بر شاخص‌های اکسیداسیون شامل: اندازه‌گیری عدد اسیدی، پراکسید، عدد تیوباربیتوریک اسید در روغن آفتابگردان سنجیدند و به این نتیجه دست یافتند که فیلم تهیه شده در این تحقیق (با فعالیت آنتی‌اکسیدانی 22/56%) فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل مقایسه و حتی بهتری را نسبت به فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر دیگر نشان داد و در صورت بهبود برخی نقاط ضعف آن به‌ویژه میزان نفوذپذیری به رطوبت می‌تواندگزینه مناسبی جهت استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی باشد (Arabestani *et al*., 2015)، همچنین استفاده از روش انکپسوله کردن در طی زمان به دلیل اثرگذاری هرچه بیشتر ترکیبات مؤثره همانند روش پوشش‌دهی که بارزترین مشخصه آن‌ها ممانعت‌کنندگی در برابر عوامل خارجی بوده در این باره بی‌ربط نمی‌باشد و باعث تأخیر در فساد اکسیداتیو و افزایش پایداری روغن آفتابگردان و سایر محصولات غذایی خصوصاً در محصولاتی که زمان نگهداری آنها حائز اهمیت است، می‌تواند اثرات مطلوب‌تری را به همراه داشته باشد. همچنین جعفری و همکاران (2008) در صنعت روغن به‌منظور حفاظت از عطر و طعم ماده غذایی از روش انکپسوله کردن استفاده نمودند (Jafari *et al*., 2008).

جدول 4- میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های معمولی و انکپسوله اسفرزه و کنترل مثبت BHT (میکروگرم در میلی‌لیتر) در روغن آفتابگردان

تیمار غلظت	G	EN
200BHT	218±5/11^{c}	218±5/11^{c}
200ppm	141/89±4/16^{d}	144/97±7/27^{d}
500ppm	263/7±11/28^{b}	277/68±5/56^{b}
700ppm	289/69±3/54^{b}	282/74±6/85^{b}
1000ppm	312/73±12/92^{a}	329/87±3/82^{a}

میانگین± انحراف معیار، حروف کوچک مشترک در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می باشد

جدول 5- میزان عدد پراکسید عصاره های معمولی و انکپسوله اسفرزه و کنترل مثبت BHT (میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم) روغن آفتابگردان در طی زمان ماندگاری

تیمار غلظت	روز دوم	روز چهارم	روز ششم	روز هشتم	روز دهم	روز دوازدهم
شاهد	0/14±7/69^{a}	0/42±12/07^{a}	0/52±24/29^{a}	2/49±59/15^{a}	4/23±85/53^{a}	4/45±125/85^{a}
200G	0/32±5/88^{b}	0/27±12/23^{b}	0/13±18/84^{b}	1/83±45^{b}	1/85±60/31^{b}	3/2±96/47^{b}
200EN	0/09±5/88^{b}	0/27±13/3^{b}	0/38±17/52^{b}	0/68±42/46^{c}	2/7±57/33^{c}	1/4±93/51^{b}
500G	0/09±3/84^{c}	0/2±12/8^{c}	0/31±17/68^{c}	1/1±43/2^{c}	2/13±52/62^{d}	3/4±85^{c}
500EN	0/17±2/94^{d}	0/32±11/2^{d}	0/3±17/76^{c}	0/57±40/33^{d}	2/12±53/07^{d}	2/34±80/78^{d}
700 G	0/14±2/94^{d}	0/12±11/84^{d}	0/27±16/6^{d}	0/82±39/3^{d}	1/54±55/4^{d}	2/6±82^{d}
700EN	0/06±1/94^{e}	0/16±9/88^{e}	0/16±16/84^{d}	0/16±40/49^{d}	1/34±45/09^{f}	2/28±78/94^{d}
1000G	0/15±1/16^{e}	0/17±8/84^{f}	0/42±16/52^{d}	0/27±37/4^{e}	1/74±48/01^{e}	2±80/4^{e}
1000EN	0/2±1/44^{e}	0/1±7^{g}	0/24±15/88^{d}	0/35±35/51^{f}	1/49±49/21^{e}	1/5±71/07^{f}
200BHT	0/31±5/84^{b}	0/22±12/84^{b}	0/65±19/52^{b}	0/73±46^{b}	2/38±62^{b}	3/6±100/66^{b}

میانگین± انحراف معیار، حروف کوچک مشترک در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد. حروف بزرگ مشترک در هرردیف بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

عدد اسید تیوباربیتوریک در روغن آفتابگردان

طبق اطلاعات جدول 6، در تمامی روزها میزان عدد تیوباربیتوریک اسید در نمونه شاهد در بالاترین میزان و اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارها دارد ($p\leq0/05$). بررسی نتایج آنالیز واریانس و نیز مقایسه میانگین تیمارهای مختلف نشان داد که اثر تیمار و زمان بر عدد اسید تیوباربیتوریک (میلی‌گرم مالون آلدهید در کیلوگرم) در سطح پنج درصد بین عصاره معمولی و انکپسوله دارای اختلاف معنی‌دار است ($p\leq0/05$)، تیمارهای دارای علامت اختصاری EN در برخی از غلظت‌ها بهتر از تیمارهای دارای علامت اختصاری G عمل نمودند اما در بیشتر غلظتها تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای EN و G در زمان‌های یکسان مشاهده نشد و همچنین با افزایش غلظت، تیمارها عملکرد بهتری را داشتند (شکل 2)، به دلیل اینکه مالون آلدئید از محصولات ثانویه اکسایش بوده و از تجزیه محصولات اولیه از جمله پراکسیدها به‌دست می‌آید، عکس عدد پراکسید با سرعت کمتری افزایش یافت و این افزایش در روزهای پایانی بیشتر مشهود است. اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در مورد عدد پراکسید و تیوباربیتوریک در تمام روزها مشابه یکدیگر نبود. دلیل این امر این است که یکسری از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از شروع واکنش اکسایش و تشکیل پراکسیدها و تشکیل محصولات ثانویه را به تعویق می‌اندازد. این شاخص نیز با افزایش غلظت عصاره‌ها در چهار روز آخر کاهش می‌یابد. این اثر آنتی‌اکسیدانی را علاوه بر شرایط انکپسوله کردن، به محتوی فنولی عصاره ها نیز می‌توان نسبت داد. در واقع با افزایش غلظت مقدار ترکیبات فنولی افزایش یافته که منجر به افزایش گروه‌های فعال برای مهار رادیکال آزاد می‌گردد. این ترکیبات به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیل توانایی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد را دارند (Samadloiy *et al*., 2007). به‌طوری که عصاره اسفرزه به‌عنوان منبعی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، توانایی واکنش با رادیکال‌های حاصل از اکسیداسیون لیپیدها را دارد. صمدلویی و همکاران (2007) و همچنین جعفری و همکاران (2008) در کاری مشابه به‌ترتیب اثرات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک هسته انار بر روغن سویا و ویژگی آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون و کاربرد آن در روغن آفتابگردان را در طول 12 روز مورد بررسی قراردادند. نتایج نشان داد تیمار 350ppm دارای ترکیبات فنولیک استخراج شده از هسته انار، بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی را دارد. از آنجایی که عصاره اسفرزه در این مطالعه دارای مقادیر بالای ترکیبات اکسیژن‌دار و ترکیبات فنولیک نظیر: اسید بنزوئیک، اسید کافئیک، اسید فوماریک،

اسـید آسـکوربیک، آلکالوئیـدها، آمینواسـیدها، قنـدها و ترکیبـات پلی‌ساکاریدی هستند (Sharifi *et al.*, 2011) و نیز همه آزمـون‌هـا خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره را تصدیق کرد، می‌توان نتیجه گرفـت که عصاره اسفرزه به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی، توانـایی واکـنش بـا رادیکال‌هـای حاصـل از اکسـید اسـیون لیپیـدها (L•، LOO•، LO• ،OH• ،$O•_2$) را داشته و موجب قطع واکنش‌های زنجیـری و افـزایش زمان اکسیداسیون کند و کاهش سرعت اکسیداسیون خودبـه خـودی می‌شود و می‌توان عصاره اسفرزه را پس از آزمایش‌های تکمیلـی بـه مواد غذایی اضافه کرد، خصوصا در شرایطی که نگهداری محصول در طول زمان مدنظر است استفاده از عصاره انکپسوله شده بهتر به نظـر می‌رسد.

جدول 6- میزان تیوباربیتوریک اسید عصاره های معمولی و انکپسوله اسفرزه و کنترل مثبت BHT(میلی گرم مالون آلدهید در کیلوگرم) در روغن آفتابگردان طی زمان ماندگاری

غلظت تیمار	روز دوم	روز چهارم	روز ششم	روز هشتم	روز دهم	روز دوازدهم
شاهد	0/004±0/072^{a}	0/021±0/241^{a}	0/011±0/225^{a}	0/02±0/846^{a}	0/042±1/337^{a}	0/054±1/84^{a}
200G	0/005±0/052^{b}	0/008±0/083^{b}	0/02±0/177^{b}	0/016±0/224^{bc}	0/028±0/342^{b}	0/018±0/432^{b}
200EN	0/024±0/042^{b}	0/007±0/081^{b}	0/009±0/164^{c}	0/012±0/209^{bc}	0/032±0/339^{b}	0/041±0/429^{bc}
500G	0/007±0/042^{b}	0/006±0/074^{bc}	0/008±0/156^{c}	0/014±0/199^{c}	0/024±0/313^{bc}	0/031±0/414^{bc}
500EN	0/011±0/034^{bc}	0/005±0/066^{bc}	0/011±0/139^{cd}	0/024±0/191^{c}	0/016±0/307^{bc}	0/024±0/386^{c}
700G	0/006±0/032^{bc}	0/012±0/057^{c}	0/004±0/147^{c}	0/023±0/187^{c}	0/017±0/281^{c}	0/016±0/340^{d}
700EN	0/007±0/030^{bc}	0/018±0/057^{c}	0/017±0/136^{cd}	0/027±0/178^{c}	0/021±0/292^{bc}	0/031±0/329^{d}
1000G	0/003±0/027^{bc}	0/009±0/043^{c}	0/019±0/128^{cd}	0/008±0/170^{c}	0/015±0/253^{c}	0/025±0/302^{d}
1000EN	0/002±0/010^{c}	0/021±0/033^{c}	0/01±0/108^{d}	0/018±0/161^{c}	0/014±0/235^{c}	0/012±0/285de
200BHT	0/015±0/040^{b}	0/012±0/091^{b}	0/015±0/189^{b}	0/009±0/245^{b}	0/023±0/346^{b}	0/017±0/456^{b}

میانگین±انحراف معیار، حروف کوچک مشترک در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد. حروف بزرگ مشترک در هرردیف بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

نتیجه‌گیری

تیمارهای دارای عصاره معمولی و انکپسـوله گیـاه اسـفرزه دارای میزان ترکیبات فنولی مشابه هم هستند. همچنین با بررسی اولیـه در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اسـتفاده سـه روش (DPPH- نیـروی احیاءکنندگی- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل) نیـز تقریبـاً مشـابه عمـل کردند. نتایج داده‌های پایداری اکسایشی در روزهای ابتـدایی تقریبـاً مشابه هم بوده ولی با افزایش زمان نگهـداری نمونـه‌هـا در شـرایط اکسایش و همچنین با افزایش غلظت عصاره‌ها افزایش یافت. در بین تیمارها، شاهد بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی در سـطح 1000 پـی‌پـی‌ام انکپسوله هستیم و این عصاره قابل رقابت با BHT می‌باشد. بنابراین می‌تواند جایگزین این ترکیبات در روغن‌های خوراکی شود.

منابع

Arabestani, A., Kadivar, M., Shahedi, M. & Hossein Goli, S. A. 2015. Preparation and determination of some physicochemical properties of biodegradable proteinous film from bitter vetch (*Vicia ervilia*) seed. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 48**,** 129-138.

Arabshahi-Delouee, S. & Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (Morus indica L.) leaves. *Food Chemistry*, 102**,** 1233-1240.

Arshady, R. 1993. Microcapsules for food. *Journal of Microencapsulation*, 10**,** 413-435.

Ayoughi, F., Barzegar, M., Sahari, M. & Naghdi Badi, H. 2009. Antioxidant Effect of Dill (*Anethum graveolens Boiss.*) Oil in Crude Soybean Oil and Comparison with Chemical Antioxidants. *Journal of Medicinal Plants*, 2**,** 71-83.

Barros, L., Heleno, S. A., Carvalho, A. M. & Ferreira, I. C. F. R. 2009. Systematic evaluation of the antioxidant potential of different parts of Foeniculum vulgare Mill. from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 47**,** 2458-2464.

Chemists, A. O. O. 2012. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, General Books.

Choe, J.-H., Kim, H.-Y., Kim, Y.-J., Yeo, E.-J. & Kim, C.-J. 2014. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Persimmon Peel Extracted with Different Levels of Ethanol. *International Journal of Food Properties*, 17**,** 1779-1790.

Dorman, H. J. D., Koşar, M., Kahlos, K., Holm, Y. & Hiltunen, R. 2003. Antioxidant Properties and Composition of Aqueous Extracts from Mentha Species, Hybrids, Varieties, and Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 51**,** 4563-4569.

Economou, K. D., Oreopoulou, V. & Thomopoulos, C. D. 1991. Antioxidant activity of some plant extracts of the family labiatae. *Journal of the American Oil Chemists Society,* 68**,** 109-113.

Elmastas, M., Isildak, O., Turkekul, I. & Temur, N. 2007. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis,* 20**,** 337-345.

Esmaeilzadeh Kenari, R., Mohsenzadeh, F. & Amiri, Z. R. 2014. Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-assisted extraction methods. *Food Science & Nutrition,* 2**,** 426-435.

Ferreres, F., Sousa, C., Valentão, P., Seabra, R. M., Pereira, J. A. & Andrade, P. B. 2007. Tronchuda cabbage (Brassica oleracea L. var. costata DC) seeds: Phytochemical characterization and antioxidant potential. *Food Chemistry,* 101**,** 549-558.

Ghaderi Ghahfarokhi, M., Mamashloo, S., Sadeghi Mahoonak, A. R. & Alami, M. 2011. Evaluation of antioxidant activity, reducing power and free radical scavenging of different extract of *Artemisia annua L. Journal on Plant Science Researches,* 21**,** 46-57.

Goli, A. H., Barzegar, M. & Sahari, M. A. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (Pistachia vera) hull extracts. *Food Chemistry,* 92**,** 521-525.

Gouin, S. 2004. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology,* 15**,** 330-347.

Gülçın, İ., Oktay, M., Kıreçcı, E. & Küfrevıoğlu, Ö. İ. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (Pimpinella anisum L.) seed extracts. *Food Chemistry,* 83**,** 371-382.

Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y. & Bhandari, B. 2008. Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. *Drying Technology,* 26**,** 816-835.

Japón-Luján, R., Luque-Rodríguez, J. M. & Luque de Castro, M. D. 2006. Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Journal of Chromatography A,* 1108**,** 76-82.

Lapornik, B., Prošek, M. & Golc Wondra, A. 2005. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering,* 71**,** 214-222.

Mardani, V., Alami, M., Arabshahi-Delouee, S., khodabakhshi, R. & Ghaderi Ghahfarokhi, M. 2013. Evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity of phenolic extracts of Evening Primrose flowers. *Iranian Food Science and Technology Research Journal,* 9**,** 182-189.

Prieto, P., Pineda, M. & Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry,* 269**,** 337-341.

Raghu, K., Ramesh, C., Srinivasa, T. & Jamuna, K. 2011. Total Antioxidant Capacity in Aqueous Extracts of Some Common Vegetables. *ASIAN J. EXP. BIOL. SCI.,* 2**,** 58-62.

Rakić, S., Petrović, S., Kukić, J., Jadranin, M., Tešević, V., Povrenović, D. & Šiler-Marinković, S. 2007. Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. *Food Chemistry,* 104**,** 830-834.

Ranjbar Nedamani, E., Sadeghi Mahoonak, A., Ghorbani, M. & Kashaninejad, M. 2015. Evaluation of antioxidant interactions in combined extracts of green tea (Camellia sinensis), rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and oak fruit (Quercus branti). *Journal of Food Science and Technology,* 52**,** 4565-4571.

Samadloiy, H. R., Azizi, M. H. & Barzegar, M. 2007. Antioxidative effect of pomegranate seed phenolic componends on soybean oil. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources,* 14**,** 1-8.

Shahidi, F. 1997. *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications,* AOCS Press.

Shahidi, F., Amarowicz, R., He, Y. & Wettasinghe, M. 1997. Antioxidant activity of phenolic extracts of evening primrose (*Oenothera Biennis*): a preliminary study. *Journal of Food Lipids,* 4**,** 75-86.

Shahidi, F. & Han, X. Q. 1993. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition,* 33**,** 501-547.

Sharifi, A., Naghmachi, M., Jahedi, S. & Khosravani, S. 2011. A Study on Antimicrobial Effects of Plantago Psyllium. *Armaghane danesh,* 16**,** 191-199.

Soares, A. A., de Souza, C. G. M., Daniel, F. M., Ferrari, G. P., da Costa, S. M. G. & Peralta, R. M. 2009. Antioxidant activity and total phenolic content of Agaricus brasiliensis (Agaricus blazei Murril) in two stages of maturity. *Food Chemistry,* 112**,** 775-781.

Vega, C. & Roos, Y. H. 2014. Invited Review:Spray-Dried Dairy and Dairy-Like Emulsions;Compositional Considerations. *Journal of Dairy Science,* 89**,** 383-401.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 14, No. 2, June. July. 2018, p. 297- 306

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 14، شماره 2، خرداد - تیر 1397 ص. 306-297

Anti-oxidative effects of normal and encapsulated extract of Fleawort (*Plantago ovate*) on the oxidative stability of a food model system (sunflower oil)

M. Shamloofar, Z. Ghiasvand[2], E. Payandan[3]

Received: 2017.01.30
Accepted: 2017.07.01

Introduction: Free radicals may cause lots of diseases in humans and oxidative degradation of lipids is a major factor limiting the shelf life of foods. The free radical reaction of lipid peroxidation is generally responsible for the deterioration of lipid-containing foods. Use of antioxidants during the manufacturing process can minimize the extent of lipid peroxidation. Phenolic antioxidant compounds can prevent the destructive effect of free radicals and their resulting mutation. Sunflower oil is widely used in nutrition as a source of essential linoleic (9-cis, 12-cis-octadecadienoic) acid. The present study explored the chemical constitution and antioxidant activity of Fleawort (*Plantago ovate)* extract and the effect of these natural antioxidants on sunflower oil. It is well known that edible oils used as cooking medium at high temperatures in the presence of oxygen are subject to therm-oxidation, polymerization, and hydrolysis, and the resulting decomposition products not only produce undesirable off-flavors, but can also decrease the nutritional quality of the fried product.

Material and methods: The present study was carried out in refined sunflower oil, free of additives, supplemented by pure concentration levels of normal and encapsulated extract of Fleawort (i.e., 200, 500, 700 and 1000 ppm) and one level of BHT (200) ppm .The doses of Fleawort extract were chosen in agreement with previous studies that have proved that the inhibitory effect on lipid oxidation increased with the antioxidant concentration In this research the phenolic content of the ethanol extract of Fleawort was determined by Folin–Ciocalteu method. The antioxidant activity of this extract was evaluated using DPPH• and ABTS methods. Furthermore, the oven tests including peroxide and thiobarbituric acid values were done at 65º C in sunflower oil.

Results and discussion: The results showed that different concentrations of this extract were effective in retarding the oil oxidation at 65ºC. Among the treatments, the 1000 ppm Concentration of encapsulated extract has higher antioxidant activity than other treatments during storage time. Based on the evaluation results of phenolic compounds in Plantago ovata extract, the amount of phenolic compounds of this extract will be increased according to the concentration of the extract. Although this index was the highest in treatment of EN 1000, there was no significant difference between the ordinary and encapsulated treatments ($p>0/05$). According to DPPH Evaluation Test for determining the antioxidant capacity of the samples, the highest amount of DPPH was seen in treatment of EN 1000 ($p<0/05$) and no meaningful difference was found in other treatments ($p>0/05$). Also, based on the Restoration Power Test, treatment of EN 1000 had the most meaningful restoration power and in all concentrations of the extract and treatment showed the most meaningful restoration power ($p< 0/05$) . Treatments with concentration of 1000 ml/l had the maximum total antioxidant capacity and this treatment showed higher total antioxidant capacity compared to BHT treatment and numerically the total antioxidant capacity of all treatments of BHT was allocated to the treatments with concentration of 200 to 500 ml/l of fleawort extract. Peroxide value was used as indicators for the primary oxidation of sunflower oil. Hydroperoxides are the primary products of lipid oxidation. They are odorless and colorless, but are labile species that can undergo both enzymatic and non-enzymatic degradation to produce a complex array of secondary products. Determination of peroxides can be used as oxidation index for the early stages of lipid oxidation During the test time, both normal and encapsulated 1000 treatments had lower peroxide value through incubation time compared to all other treatments and 1000 EN treatment showed the lowest meaningful level of peroxide value ($p<0/05$) compared to the other treatments on 12th day. On the basis of preservation time according to the 20 (meq/kg) for proxide value , between the 4 and 6th day for the control treatment, between

1 and 2. Department of fisheries, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran
3. Department of food science and technology, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran
(*Corresponding Author Email: Shamloofar@gmail.com)

the 6 and 8th day for the 1000 EN and at day 6 was the unacceptable limit for consumption the oil. In association with TBA indicator both normal and encapsulated 1000 treatments of fleawort extract showed the lowest TBA content through the preservation time ($p<0/05$). Since the extract of fleawort contains high concentration of oxygenated and fenolic compounds such as fumaric acid, Benzoic acid, caffeine acid, alkaloids, Polysaccharides and Amino acids and all the tests had authenticated the antioxidant properties of the extract, it can be concluded that Plantago ovata as a natural antioxidant can react with radicals lipids oxidations radicals, interrupt chain reactions, increase the time of slow oxidation and reduce the speed of auto-oxidation. On the basis of the results of this study, it is clearly indicated that encapsulated and non-capsulated extract of fleawort has noticeable antioxidant ability, this extract can be used as an accessible source of natural antioxidants in possible food supplement or in pharmaceutical industry.

Keywords*:* Fleawort, sunflower oil, encapsulation, Antioxidant activities, Shelf Life.