نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۴، مهر- آبان ۱۳۹۵، ص. ۴۸۸-۴۷۷

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 4, Oct- Nov 2016, p. 477-488

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اولئوگم رزین کندر (*Boswellia serrata*) در روغن سویا

عادله محمدی[۱]، سعیده عربشاهی دلویی[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۶/۲۱

چکیده

در این پژوهش ترکیبات فنولی اولئوگم رزین کندر توسط حلال‌های مختلف (متانول ، اتانول و استون) به روش غرقابی استخراج گردید، سپس میزان ترکیبات فنولی به روش فولین- سیوکالتو محاسبه شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ای که بالاترین مقدار ترکیبات فنولی را به خود اختصاص داده بود (عصاره متانولی، ۰/۲۳± ۲۵۴/۲۷ میلی‌گرم اسید گالیک در هر ۱۰۰ گرم عصاره)، توسط آزمون مهار رادیکال DPPH اندازه‌گیری گردید. در مرحله بعدی پایداری اکسایشی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی چهار غلظت عصاره متانولی (۱۰۰۰ و ۸۰۰، ۵۰۰، ۲۰۰ پی‌پی‌ام) به همراه آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ(۱۰۰ پی‌پی‌ام) در روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان ارزیابی گردید. با توجه به نتایج آزمون گرم‌خانه گذاری مشخص شد که عصاره متانولی۱۰۰۰ پی‌پی‌ام نسبت به سایر عصاره‌ها پایداری حرارتی بیشتری در روغن داشته و اگرچه توان رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ را ندارد، لیکن در مهار عدد پراکسید و اندیس تیوباربیتوریک اسید عملکرد قابل‌توجهی نشان داده است. نتایج این مطالعه حاکی از این امر بود که اولئوگم رزین کندر از توانایی ضداکسایشی خوبی برخوردار است.

واژه‌های کلیدی : اولئوگم رزین کندر، ترکیبات فنولی، اکسایش، زمان القاء، روغن سویا

مقدمه

اکسایش لیپیدها یکی از مهم‌ترین دلایل تخریب موادغذایی مانند فراورده‌های گوشتی، لبنی و صنایع روغن می‌باشد. این واکنش‌ها در غذا منجر به توسعه طعم و بوی نامطلوب و در نتیجه افت ویژگی‌های ارگانولپتیک و کیفیت تغذیه‌ای محصولات غذایی خواهد شد. جهت ممانعت یا به تاخیر انداختن اکسایش موادغذایی، آنتی‌اکسیدان‌ها بعنوان یک افزودنی در فراوری موادغذایی استفاده می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که از سرعت واکنش‌های اکسایشی می‌کاهند. این مواد بسته به نوع ساختمان‌شان، در واکنش‌های مختلفی از قبیل کند کردن مرحله آغاز و انتشار، مهار کاتالیزورها، پایدار ساختن هیدروپراکسید، ترکیب‌شدن با رادیکال‌های آزاد شرکت می‌نمایند (فاطمی، ۱۳۷۸). در موجودات زنده نیز پراکسیداسیون لیپیدهای موجود در دیواره سلول‌ها از جمله مهمترین اهداف رادیکال‌های آزاد می‌باشد. در این شرایط نه تنها ساختمان دیواره و عملکرد آن تحت تأثیر قرار می‌گیرد بلکه بعضی از محصولات ناشی از اکسایش مانند مالون‌دی‌آلدهیدها نیز می‌توانند با بیومولکول‌ها واکنش نشان داده و آثار سرطان‌زایی از خود بروز دهد (کامکار، ۱۳۸۸).

دانشمندان براین باورند که رادیکال‌های آزاد نقش عمده‌ای در توسعه بیماری‌های مربوط به پیری مانند پارکینسون، اختلال التهابی، بیماری‌های قلبی و عروقی، سرطان، ورم مفاصل، آلزایمر و پیری زودرس برعهده دارند؛ رادیکال‌های آزاد در طول فرایندهای اکسایشی در موجود زنده بوجود آمده و بعنوان تهدیدی برای سلامت به شمار می‌آیند (Wang *et al.*, 2013). آنتی‌اکسیدان‌ها اساسا دارای ساختمان فنولی با یک یا چند عامل هیدروکسیل می‌باشند. ترکیبات فنولی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد، واکنش‌های اکسایش چربی را مهار کرده و لذا ارتباط مستقیمی نیز بین میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. در حال حاضر، آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی هیدروکسی آنیزول بوتیلات (BHA)، هیدروکسی تولوئن بوتیلات (BHT)، پروپیل گالات (PG) و ترت بونیل هیدروکینون (TBHQ) دارای کاربرد زیادی در صنعت غذا هستند، ولی علی‌رغم کارایی و پایداری بالا و نیز ارزانی نسبی، مصرف آنها به دلیل خاصیت سرطان‌زایی و تمایل روز افزون مردم جهت

۱- دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر، گروه علوم و صنایع غذایی، آزادشهر، ایران
۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر، آزادشهر، ایران
(* - نویسنده مسئول: Email: saeedeh_arabshahi@yahoo.com)

ممانعت از مصرف افزودنی‌های سنتزی در موادغذایی رو به کاهش گذارده است (Loliger, 1991). عدم پذیرش افزودنی‌های سنتزی باعث شده تحقیقات گسترده‌ای پیرامون یافتن جایگزین‌های طبیعی مواد آنتی‌اکسیدانی انجام گیرد، ویژگی‌های سلامتی‌بخش آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و نقش آنها در پیشگیری از بیماری‌ها، بویژه در محصولات غذایی فراسودمند آنها را به گزینه‌ای مناسب جهت این مهم مبدل ساخته است . صمغ‌های طبیعی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات ترپنی فعال بوده و لذا جهت جایگزینی با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در صنعت غذا قابل استفاده می‌باشند. اولئوگم رزین کندر از تنه درختان *Boswellia* که در هندوستان، شمال آفریقا و خاورمیانه می‌رویند، بدست می‌آید. این جنس دارای ۲۵ گونه متفاوت است که عمده‌ترین گونه‌های تولیدکننده کندر شامل *Boswellia carteri*، *Boswellia frereana*، *Boswellia serrata*، *Boswellia papyrifera* می‌باشد. اولئوگم رزین کندر از سه جزء اساسی تشکیل شده است که شامل ۹-۵٪ اسانس، ۸۵ - ۶۵٪ رزین قابل حل در الکل و باقی‌مانده نیز شامل صمغ قابل حل در آب می‌باشد. روغن یا اسانس فرار مجموعه‌ای از ترکیبات منوترپنی و سزکویی‌ترپنی می‌باشد؛ قسمت عمده صمغ از آرابین و باسورین تشکیل یافته است که این ترکیبات نامحلول در الکل هستند و ترکیبات رزینی کندر نیز شامل قندهای پنج و شش کربنه به همراه تعدادی از آنزیم‌های گوارشی، اکسیداتیو و ترکیب‌های ترپنی می‌باشد. مهم‌ترین قسمت کندر، بخش رزینی آن است که عمدتا از اسیدهای پنتاسیکلیک تری‌ترپنی با نام بوسولیک اسید ($C_{20}H_{32}O_4$) تشکیل شده است . قابل ذکر است که نوع و غلظت ترکیبات تشکیل‌دهنده این اولئوگم رزین به عوامل متعددی مانند نوع گونه، شرایط آب و هوایی منطقه رویش، فصل و زمان برداشت محصول وابسته است (Khan and Farooqi, 1991 ; Tucker, 1986) . طی دو دهه‌ی اخیر خواص دارویی و سلامتی‌بخش کندر بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است، به‌طوری‌که تحقیقات گوناگون اثرات ضد سرطانی، ضد التهابی، ضد میکروبی، ضد ویروسی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مختلف این صمغ را تایید نموده‌اند (Basar *et al*., 2001 ; Van Vuuren *et al*.,2010). غربالگری فیتوشیمیایی گونه *Papyrifera* کندر توسط گاربا و همکاران (۲۰۱۳)، وجود ترکیباتی مانند فلاونوئید، ترپنوئید، استروئید، تانن، ساپونین و کومارین‌ها را در این اولئوگم رزین مشخص نموده است. نتایج این تحقیق نمایان ساخته است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی کندر قابل توجه بوده، به‌نحوی که غلظت ۱ میلی‌گرم/ سانتی‌متر مکعب از فراکسیون اتیل- استات توانسته است به میزان ۷۰/۴ ٪ رادیکال آزاد DPPH را مهار نماید.

پراکاش و همکاران (۲۰۱۳)، ساختار شیمیایی، خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدقارچی و ضدآفلاتوکسینی اسانس کندر (*B.carterii*) را بررسی نمودند. نتایج کروماتوگرافی گازی- جرمی حاکی از شناسایی ۳۱ ترکیب مختلف در این اسانس بود و نتایج آزمون آنتی‌اکسیدانی نیز نشانگر این امر بود که اسانس کندر قادر است اکسیداسیون اسید لینولئیک را به میزان ۵۱/۶۸٪ مهار سازد. تحقیقات محمدعبدالطیف و همکاران (۲۰۱۲)، مشخص نمود که اسانس و عصاره متانولی کندر (*B.sacra* , *B.papyrifera*) فعالیت ضدمیکروبی موثری بر میکروارگانیسم‌های مهم صنعت غذا مانند *باسیلوس سرئوس*، *انتروکوکوس فکالیس*، *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شیگلا دیزنتری* دارد. هدف از این پژوهش بررسی ترکیبات فنولی و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی اولئوگم رزین کندر در روغن سویا و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره

اولئوگم رزین کندر واریته *serrata* از عطاری تهیه گردید، سپس با استفاده از آسیاب برقی (MOULINEX مدلAR1043) پودر و از الک با مش ۴۰ میکرون عبور داده شد و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد. سپس پودر حاصله با نسبت ۱۰:۱ با حلال‌های (متانول ، اتانول و استون) در دمای محیط توسط شیکر (IKA مدل MTS) به مدت ۱۰ ساعت هم‌زده شد. بعد از طی شدن مدت زمان استخراج، عصاره با کاغذ صافی (واتمن شماره ۴۲) صاف گردید، حلال آلی با استفاده از یک تبخیرکننده چرخشی (Buchiمدل V800) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد از عصاره جدا گردید. عصاره‌های حاصله در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد در فریزر نگهداری شدند (Arabshahi-Delouee and Urooj,1977). تمامی مواد مورد استفاده در این پژوهش با خلوص بالا و از شرکت مرک تهیه شدند.

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی

میزان کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد. این روش براساس احیاء معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۰ نانومتر نشان می‌دهد. به طور خلاصه ۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره با ۱/۱۶میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو مخلوط شد. بعد از گذشت ۱ تا ۸ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم (۲۰ درصد) به آن‌ها افزوده شد. لوله‌های آزمایش درون حمام آب (Memmert مدل WB14) با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب آن‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر (Cecil مدل Aquarius) در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده

شد. میزان کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره بر حسب معادل اسید گالیک و با استفاده از معادله بدست آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم عصاره بیان شد (Slinkard and Singleton,1977).

ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

محلول DPPH به رنگ بنفش تیره است و با توجه به قدرت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها، این رادیکال مهار شده و رنگ این محلول روشن می‌شود. برای این منظور، محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۱۰۰۰- ۱۰۰پی‌پی‌ام) از عصاره و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در حلال متانول آماده شدند. سپس یک میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH (با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار) به ۳ میلی‌لیتر از غلظت های مختلف عصاره‌ها افزوده و مخلوط به دست آمده به شدت هم زده شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک قرارگرفتند. سپس میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. در نهایت درصد مهار رادیکال‌های DPPH توسط عصاره با فرمول زیر محاسبه گردید.

(۱) درصد مهار رادیکال آزاد = (Ac-As)/Ac×100

در فرمول فوق As و Ac ، به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می‌باشند (Blois,1958).

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در روغن سویا توسط آزمون گرم‌خانه‌گذاری

عصاره متانولی کندر در چهار غلظت (۱۰۰۰- Met و ۸۰۰- Met، ۵۰۰- Met ، ۲۰۰ - Met پی‌پی‌ام) به همراه آنتی‌اکسیدان سنتزی (۱۰۰-TBHQ پی‌پی‌ام) به روغن سویای تصفیه شده، فاقد آنتی‌اکسیدان و اسید سیتریک افزوده و در دمای ۶۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ روز در گرم‌خانه (Memmert مدل UNB 400) نگهداری شد. در طی این مدت، میزان پیشرفت اکسایش روغن در روزهای ۰،۲،۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ با اندازه‌گیری اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید تعیین گردید.

اندازه‌گیری عدد پراکسید

آزمون پراکسید مطابق با (AOAC, 2003) انجام شد. ابتدا به ۵ گرم روغن ۳۰۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک- کلروفرم افزوده شد و پس از همزدن ۰/۵ میلی‌لیتر محلول یدید پتاسیم اشباع، سپس ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ تا از بین رفتن رنگ زرد تیتر شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر معرف شناساگر نشاسته اضافه شد و تیتراسیون تا از بین رفتن رنگ آبی ادامه یافت. همراه با نمونه، تیتراسیون شاهد نیز انجام شد. در نهایت عدد پراکسید توسط فرمول زیر محاسبه شد.

(۲) عدد پراکسید (میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم نمونه روغن)= ((S-B)× N× 1000)/ W

در این فرمول S میزان تیوسولفات سدیم مصرفی نمونه، B میزان تیوسولفات سدیم مصرفی شاهد،N نرمالیته تیوسولفات سدیم مصرفی بر حسب اکی‌والان بر لیتر و W وزن نمونه روغن بر حسب گرم می‌باشد.

برای تعیین درصد مهار تولید پراکسید توسط هر تیمار از فرمول ذیل استفاده گردید:

(۳) ۱۰۰× عدد پراکسید شاهد/(عدد پراکسید نمونه- عدد پراکسید شاهد) = مهار تولید پراکسید (٪)

همچنین زمان القاء(IP)[1] که نشان‌دهنده عدد پراکسیدی معادل ۲۰ میلی‌اکی والان بر کیلوگرم است و فاکتور حفاظتی نیز طبق فرمول ذیل محاسبه گردید Povilaityte and Venskutonis, (2000).

(۴) زمان القاء نمونه فاقد آنتی‌اکسیدان /زمان القاء نمونه حاوی آنتی‌اکسیدان= فاکتور حفاظتی(PF)[2]

اندازه‌گیری عدد تیوباربیتوریک اسید

اندازه‌گیری این شاخص مطابق با استاندارد (AOCS,2009) انجام گرفت. به این ترتیب که ۲۰۰ میلی‌گرم روغن با حلال ۱- بوتانول به حجم رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر از مخلوط روغن- بوتانول مربوط به هر تیمار، به لوله‌های آزمایش خشک انتقال داده شد و ۵ میلی‌لیتر محلول واکنشگر تیوباربیتوریک اسید (۲٪) به آن‌ها اضافه گردید. سپس همه‌ی لوله‌های آزمایش در حمام آب ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفتند. بعد از سپری شدن زمان مربوطه و سرد شدن تیمارها، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Cecil مدل Aquarius) خوانده شد. نتایج از طریق فرمول زیر محاسبه گردید.

(۵) عدد تیوباربیتوریک اسید =(50×(A- B)/ M)

در این رابطه A میزان جذب نمونه، B میزان جذب شاهد واکنشگر و M وزن نمونه بر حسب میلی‌گرم می‌باشد. همچنین برای تعیین درصد مهار تولید مالون آلدهید توسط هر تیمار از فرمول ذیل استفاده گردید:

(۶) ۱۰۰× عدد تیوباربیتوریک اسید شاهد/ (عدد تیوباربیتوریک اسید نمونه- عدد تیوباربیتوریک اسید شاهد) = مهار تولید مالون آلدهید (٪)

1 Induction Period
2 Protection Factor

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایشات در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. نتایج بدست آمده با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ($p< ۰/۰۵$) و با استفاده از نرم افزار spss صورت گرفت. رسم نمودارها نیز با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

مقدار ترکیبات فنولی کل

معادله خط رگرسیونی که رابطه غلظت اسید گالیک را با میزان جذب نشان می‌دهد به صورت ذیل می‌باشد؛ در این معادله Y مقدار جذب و X مقدار ترکیبات فنولی براساس میلی‌گرم اسید گالیک را مشخص می‌نماید :

$$Y= ۰/۰۰۱۱ x - ۰/۰۰۰۱ \qquad R^۲=۰/۹۹۴۹ \qquad (۷)$$

مقدار کل ترکیبات فنولی بدست آمده از حلال‌های مختلف در جدول ۱ مشخص شده است. عوامل متعددی مقدار ترکیبات فنولی موجود در بافت‌های گیاهی را تحت تاثیر قرار می‌دهند که از آن جمله می‌توان به فاکتورهای ژنتیکی، گونه و واریته، میزان تابش نور خورشید، شرایط خاک، درجه رسیدگی در زمان برداشت، شرایط آب و هوایی منطقه، عملیات پس از برداشت و شرایط نگهداری اشاره نمود (قادری قهفرخی و همکاران، ۱۳۸۹). نتایج مشخص ساختند که عصاره متانولی بیشترین میزان ترکیبات فنولی (۲۵۴/۲۷ ±۰/۲۳ میلی‌گرم اسید گالیک در هر ۱۰۰ گرم عصاره) را نسبت به سایر حلال‌ها دارا می‌باشد. به‌طورکلی متانول در استخراج پلی‌فنول‌هایی با وزن مولکولی پایین کارآمدتر می‌باشد، در حالیکه استخراج ترکیباتی مانند فلاوانول که وزن مولکولی بالایی دارند توسط حلال استونی-آبی عملکرد بهتر و بیشتری نشان داده است Metivier *et al*.,1980) (Labarbe *et al*.,1999;. نتایج آزمایشات سایر محققان نیز نشان داده است که متانول جهت استخراج ترکیبات فنولی حلال کارآمدتری نسبت به سایر حلال‌ها می‌باشد چراکه پلی‌فنول‌های موجود در گیاهان از لحاظ قطبیت و حلالیت، سازگاری بالایی با این حلال دارند (Arabshahi-Delouee and Urooj,1977 ; Siddhuraju and Becker, 2003). از آنجا که عصاره متانولی کندر بیشترین میزان ترکیبات فنولی را نسبت به سایر عصاره‌ها به خود اختصاص داد، به عنوان تیمار منتخب جهت ارزیابی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و همچنین بررسی فعالیت ضداکسایشی در روغن سویا انتخاب شد.

جدول ۱- میزان ترکیبات فنولی کل عصاره‌های مختلف اولئوگم رزین کندر

تیمار	ترکیبات فنولی (میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم عصاره)
عصاره متانولی	۲۵۴/۲۷ ± ۱/۲۲ [a]
عصاره اتانولی	۱۷۲/۴۷ ± ۰/۹۸ [b]
عصاره استونی	۱۵۸/۱۱ ± ۱/۳۱ [c]

حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد است.

ارزیابی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط غلظت‌های مختلف عصاره متانولی و آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در شکل ۳- ۱ مشخص شده است. در محدوده غلظت ۱۰۰۰- ۱۰۰ پی‌پی‌ام، قدرت مهارکنندگی آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ، ۹۸/۱۲- ۸۴/۲۸ درصد و عصاره متانولی اولئوگم رزین کندر ۷۸/۶۷ - ۳۲/۹۰ درصد اندازه‌گیری شد. با توجه به نتایج مشخص شد که غلظت عصاره تاثیر معنی‌داری ($p <۰/۰۵$) بر مهار رادیکال آزاد دارد، به‌طوری‌که با افزایش غلظت خاصیت مهارکنندگی عصاره‌ها افزایش می‌یابد. با افزایش غلظت ترکیبات فنولی یا درجه هیدروکسیلاسیون این ترکیبات ، مهار رادیکال DPPH افزایش یافته که به عنوان افزایش در فعالیت آنتی‌اکسیدانی تعریف می‌شود (Zhou and Yu ,2004). نتایج تحقیق حاضر با نتایج عربشاهی و اروج (۲۰۰۷) و سان و همکاران (۲۰۱۱) همخوانی داشت، این محققین نیز گزارش نمودند که فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره‌های گیاهی وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت اثر مهارکنندگی شدت می‌یابد.

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در آزمون گرم-خانه‌گذاری

ارزیابی عدد پراکسید

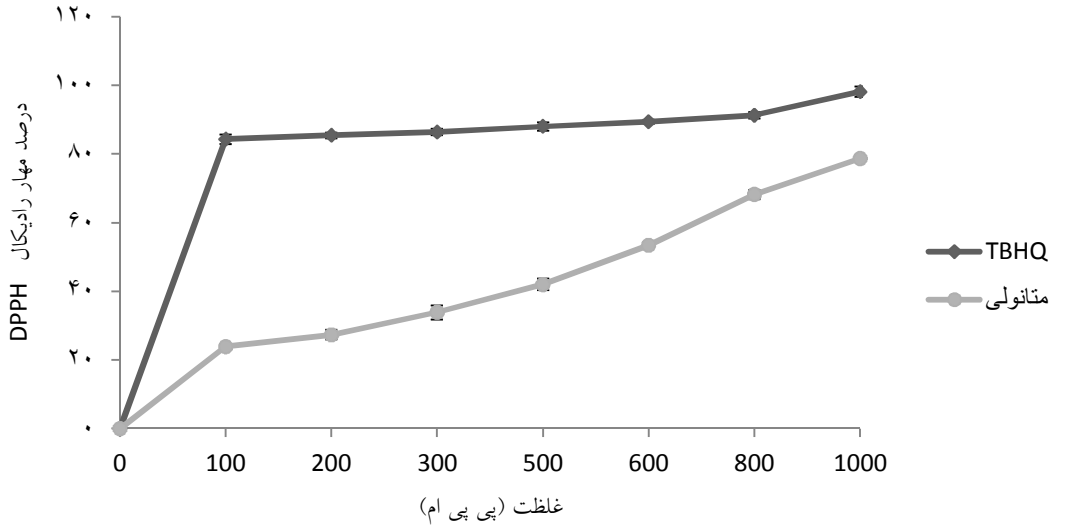
از لحاظ کیفیت و ایمنی موادغذایی تعیین عدد پراکسید یکی از مهم‌ترین پارامترهای کنترل کیفیت روغن‌های خوراکی محسوب می‌شود، چراکه شاخصی از وضعیت اکسایش اولیه روغن می‌باشد *et al*, 2010; Pizarro *al*,2013) (Akinoso. این شاخص مشخص‌کننده غلظت هیدروپراکسیدها در روغن می‌باشد، هیدروپراکسیدها از محصولات اولیه اکسایش بوده که بسیار ناپایدارند و به محصولات ثانویه اکسایشی مانند آلدهیدها و کتون‌ها تجزیه می‌شوند (Choe and Min, 2006 ; Mohammadi, 2013). شکل

۲ مقادیر عدد پراکسید غلظت‌های (۲۰۰، ۵۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) عصاره متانولی را در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ (۱۰۰ پی‌پی‌ام) و نمونه شاهد طی ۱۲روز گرم‌خانه گذاری (دمای ۶۳ درجه سانتی‌گراد) نشان می‌دهد. بررسی آنالیز واریانس(ANOVA) و نیز مقایسه میانگین اعداد پراکسید تیمارهای مختلف نشان داد که اثر تیمار و زمان بر روی عدد پراکسید در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار می‌باشد، به‌طوری‌که مقادیر پراکسید بدست آمده در طی روزهای چهارم، ششم، هشتم، دهم و دوازدهم تیمارهای مختلف با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند، اما در روز دوم اختلاف معنی‌داری بین تیمار۱۰۰- TBHQ و۱۰۰۰- MET همچنین ۸۰۰-MET و۵۰۰-MET با یکدیگر مشاهده نشد ($p<۰/۰۵$). در کلیه تیمارهای مورد بررسی، با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسایش، مقادیر عدد پراکسید سیر صعودی داشته است، این افزایش را می‌توان به تشکیل هیدروپراکسیدها یعنی محصولات اولیه اکسایش نسبت داد.

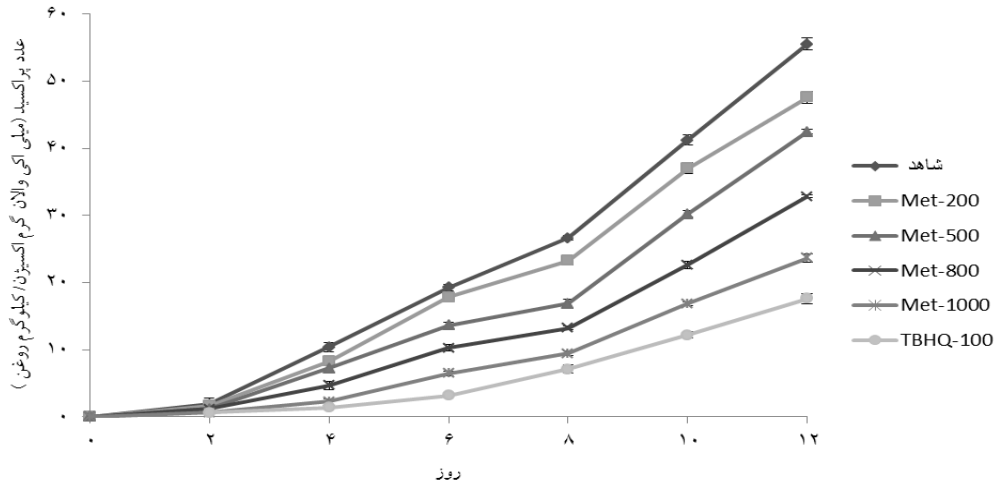
نمونه شاهد که حاوی هیچ آنتی‌اکسیدانی نبود در مقایسه با بقیه تیمارها بیشترین و تیمار ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره متانولی بعد از آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ، کمترین مقادیر عدد پراکسید را در طی مدت زمان نگهداری به خود اختصاص دادند. با افزایش غلظت عصاره‌ها میزان عدد پراکسید کاهش و به تاخیراندازی اکسایش و اثر آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته است. تحقیقات انجام شده در این زمینه حاکی از وجود رابطه بین مقدار ترکیبات فعال آنتی‌اکسیدانی بالاخص فنول‌ها و پایداری اکسیداتیو روغن‌ها می‌باشد (Baldioli *et al*., 1996; Shahidi and Wanasundara, 1994).

آنتی‌اکسیدان‌های فنولی با به دام انداختن رادیکال آلکوکسی چربی‌ها از فرایند اکسایش لیپیدها ممانعت می‌نمایند. این فعالیت با ساختار مولکولی ترکیب فنولی، تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل آنها رابطه مستقیم دارد (Milic *et al*.,1998). شکل۳ درصد مهار تولید پراکسیدتوسط کلیه تیمارها را نشان می‌دهد. بررسی آنالیز واریانس (ANOVA) تیمارهای مختلف نشان داد که اثر تیمار بر روی میزان مهارکنندگی اکسایش در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار می‌باشد، به‌طوری‌که غلظت‌های بالاتر عصاره توانایی مهارکنندگی بیشتری دارند که این امر مرتبط با ترکیبات فعال آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌باشد. در کلیه تیمارها با افزایش غلظت، میزان مهار تولید هیدروپراکسیدها افزایش یافته است. البته قابل ذکر است که ترکیبات موثره موجود در اولئوگم رزین کندر ، بسیارمتنوع بوده بطوری‌که می‌توان کندر را منبعی غنی از تری‌ترپنوئیدهای غیر فراری مانند اورسان، اولئانان و لوپین دانست که دارای خواص بیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند.

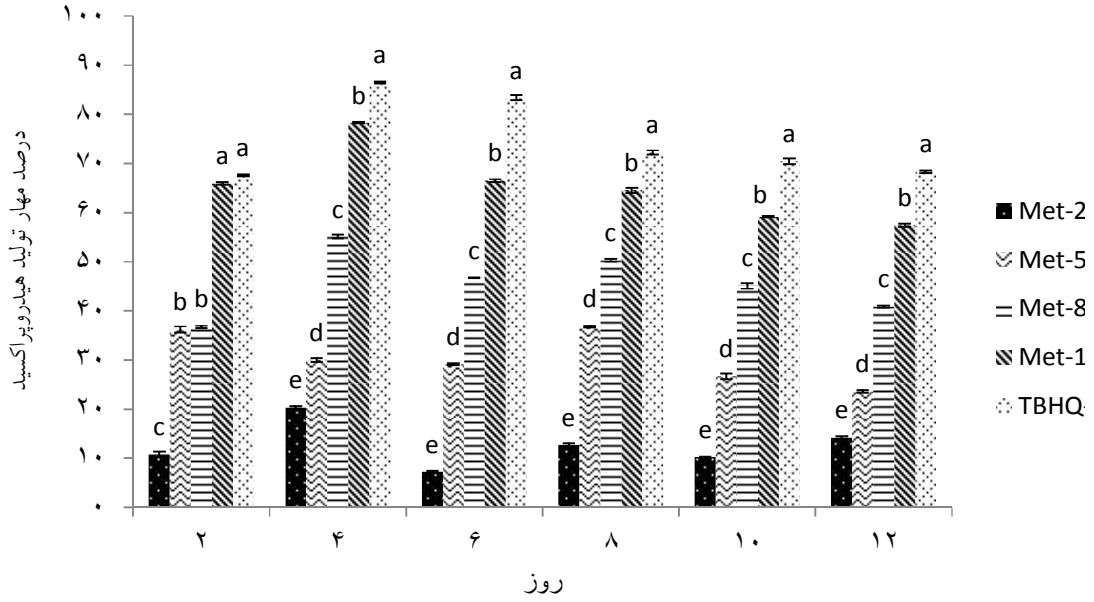
با توجه به تنوع زیاد ترکیبات ترپنی، این اولئوگم رزین توانایی خوبی در اهداء الکترون و واکنش با رادیکال‌های آزاد دارد، به‌نحوی که می‌تواند این رادیکال‌ها را به محصولات با ثبات‌تر تبدیل نموده و مانع واکنش‌های زنجیری اکسایشی شود (Al-Harrasi and Al-Saidi, 2008). عواملی مانند روش استخراج، عدم حضور ناخالصی‌ها در عصاره، نوع آزمون سنجش فعالیت ضداکسایشی، غلظت عصاره مصرفی و سایر شرایط به‌کار رفته جهت انجام آزمون از جمله دما و نیز نوع بستر چربی بر میزان فعالیت ضداکسایشی عصاره‌ها به طور چشم‌گیری تاثیر دارد (مظاهری کلهرودی و همکاران، ۱۳۹۲).



شکل ۱- درصد مهار رادیکال آزاد DPPH غلظت‌های مختلف عصاره و آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ



شکل ۲- روند تغییرات اعداد پراکسید غلظت‌های مختلف عصاره‌های متانولی کندر، آنتی‌اکسیدان سنتزیTBHQ و نمونه شاهد طی ۱۲ روز گرمخانه گذاری (دمای ٦٣ درجه سانتی‌گراد) در روغن سویا.



شکل ۳- درصد مهار تولید پراکسید روغن سویا توسط تیمارهای مختلف طی ۱۲ روز گرم‌خانه‌گذاری (دمای ٦٣ درجه سانتی‌گراد).

زمان القاء (IP) کلیه تیمارها که نمایانگر مدت زمان لازم برای رسیدن به عدد پراکسیدی معادل ۲۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم در دمای ۶۳ درجه سانتی‌گراد است و فاکتور حفاظتی (PF) که در واقع نمایانگر کارایی یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی است در جدول۲ محاسبه شده‌اند. از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین سطوح مختلف عصاره متانولی کندر و آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). بطوری‌که با افزایش غلظت‌های مختلف عصاره زمان القاء و درپی آن فاکتور حفاظتی افزایش یافته است، این امر نشانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها و توانایی آنها جهت به تاخیر انداختن فرایند اکسایش روغن سویا می‌باشد. به‌طورکلی روند افزایش فاکتور حفاظتی تیمارها به ترتیب ذیل می‌باشد:

Met -۲۰۰ <Met -۵۰۰ < Met - ۸۰۰< Met -۱۰۰۰<TBHQ-۱۰۰

جدول ۲- میزان زمان القاء و فاکتور حفاظتی تیمارهای مختلف

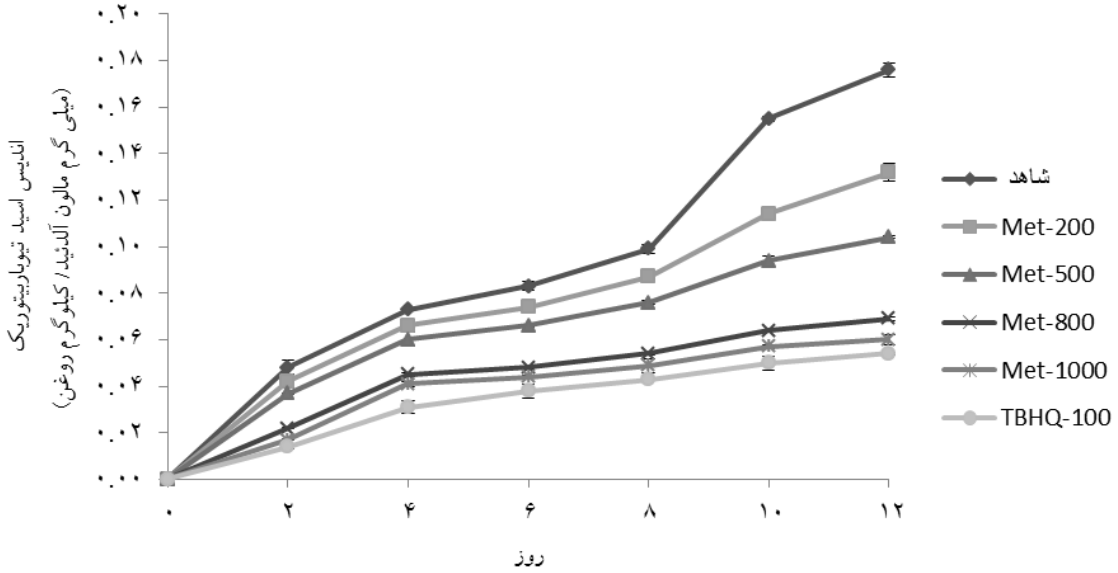
تیمار	زمان القاء(روز)	فاکتور حفاظتی
شاهد	۳/۷۷ ± ۰/۰۶^{f}	۱
Met -۲۰۰	۴/۰۷ ± ۰/۰۹^{e}	۱/۰۷
Met -۵۰۰	۴/۵۸ ± ۰/۰۸^{d}	۱/۲۱
Met -۸۰۰	۵/۴۷ ± ۰/۱۲^{c}	۱/۴۵
Met -۱۰۰۰	۶/۹۱ ± ۰/۱۰^{b}	۱/۸۳
TBHQ-۱۰۰	۸/۲۴ ± ۰/۰۴^{a}	۲/۱۸

ارزیابی عدد تیوباربیتوریک اسید

طی فرایند اکسیداسیون روغن‌ها، هیدروپراکسیدهای تولیدی به ترکیبات کم وزنی مانند انواع الکل‌ها، اسیدها، کتون و آلدهیدها تجزیه می‌شوند. اندازه‌گیری این محصولات ثانویه اکسایش توسط اندیس اسید تیوباربیتوریک شاخصی مفید جهت بررسی فرایند اکسایش روغن‌ها محسوب می‌شود (Siddhuraju and Becker, 2003).

شکل۴ مقادیر اسید تیوباربیتوریک غلظت‌های مختلف عصاره متانولی کندر و آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ را نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) و نیز مقایسه میانگین اعداد اسید تیوباربیتوریک تیمارهای مختلف نشان داد که اثر تیمار و زمان بر میزان عدد اسید تیوباربیتوریک در سطح احتمال ($p <$ ۰/۰۵) معنی‌دار بوده است، همچنین نتایج بدست آمده مشخص ساختند که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف با یکدیگر وجود دارد. با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در کلیه تیمارهای مورد بررسی یک روند افزایشی در میزان عدد اسید تیوباربیتوریک مشاهده می‌شود که این روند در مورد نمونه شاهد شدیدتر بوده به‌نحوی که این تیمار دارای بالاترین اندیس اسید تیوباربیتوریک است. در آزمون تعیین عدد تیوباربیتوریک اسید نیز مشابه روش عدد پراکسید، شدت بروز خاصیت مهارکنندگی تولید مالون آلدهید به غلظت عصاره‌ها وابسته بود؛ در روزهای آغازین میزان عدد اسید تیوباربیتوریک پایین بوده و با گذشت زمان و افزایش تجزیه محصولات اولیه حاصل از اکسایش، مقدار مالون آلدهید و به تبع آن اندیس اسید تیوباربیتوریک افزایش یافته است.

همچنین تیمارهای آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ، عصاره متانولی ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام روند تولید مالون آلدئید کندتری نسبت به سایر تیمارها نشان دادند که این امر به علت توانایی بیشتر این تیمارها در مهار سرعت تشکیل محصولات ثانویه اکسایش می‌باشد. به‌طورکلی به دلیل اثر آنتی‌اکسیدان‌ها در جلوگیری از تجزیه‌ی هیدروپراکسیدها، سرعت تشکیل محصولات ثانویه‌ی اکسایش در تیمارهای حاوی آنتی‌اکسیدان کمتر از نمونه‌ی شاهد بود.

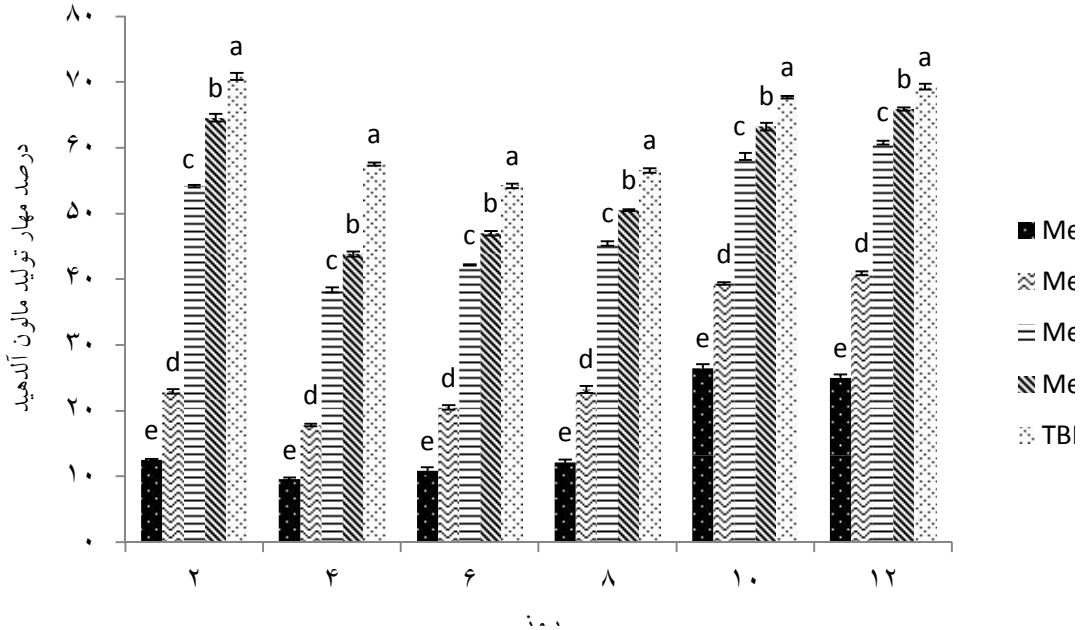


شکل۳-٤- روند تغییرات اعداد تیوباربیتوریک اسید غلظت‌های مختلف عصاره‌های متانولی کندر، آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ و نمونه شاهد طی ۱۲ روز گرم‌خانه گذاری (دمای ٦۳ درجه سانتی‌گراد) در روغن سویا.

شکل ۵ درصد مهار تولید مالون‌آلدهید کلیه تیمارها را نسبت به نمونه شاهد در طی روزهای متوالی گرم‌خانه‌گذاری نشان می‌دهد، همان‌طور که مشخص است غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام عصاره متانولی کمترین (درصد) و آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ بالاترین (درصد) مهار تولید مالون‌آلدهید را طی ۱۲ روز گرم‌خانه‌گذاری به خود اختصاص داده‌اند، نتایج حاکی از این امر می‌باشد که با افزایش غلظت‌ها میزان قدرت مهارکنندگی تیمارها افزایش یافته است که نشانگر توانایی عصاره‌ها در مهار تولید محصولات ثانویه اکسایش نسبت به نمونه شاهد می‌باشد.

با توجه به نتایج آزمون گرم‌خانه‌گذاری مشخص شد که عصاره متانولی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام اولئوگم رزین کندر (*B.serrata*) نسبت به سایر غلظت‌های انتخابی پایداری حرارتی و فعالیت ضداکسایشی بیشتری در روغن سویا داشته و اگرچه توان رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ را ندارد، لیکن در مهار تولید هیدروپراکسیدها و مالون‌آلدهید عملکرد قابل‌توجهی نشان داده است ؛ البته قابل ذکر است که آنتی‌اکسیدان TBHQ قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان سنتزی در صنعت روغن محسوب می‌شود، چرا که به علت ساختار مولکولی

ویژه‌اش و با در اختیار داشتن دو گروه هیدروکسیل در موقعیت پارا براحتی می‌تواند اتم هیدروژن را در اختیار رادیکال‌های آزاد قرار داده و به واکنش‌های زنجیره‌ای اکسایشی سریع‌تر خاتمه دهد Jiang and (Wang, 2006 ; Yang *et al*., 2013).



شکل ۵- درصد مهار تولید مالون آلدهید روغن سویا توسط تیمارهای مختلف طی ۱۲ روز گرمخانه‌گذاری (دمای ۶۳ درجه سانتی‌گراد).

نتایج تحقیقات بسیاری از محققان نیز تصدیق‌کننده این امر می‌باشد، بدان‌گونه‌که مهدالی و همکاران (۲۰۱۱)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره تفاله کنجد *(Sesamum indicum)* را در روغن‌های آفتابگردان و سویا مقایسه نمودند، نتایج حاکی از این بود که فعالیت آنتی‌اکسیدانی این عصاره در روغن‌های مذکور از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT و BHA بالاتر بوده اما در رقابت با آنتی‌اکسیدان TBHQ ضعیف‌تر عمل کرده است. برا و همکاران (۲۰۰۶)، اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره Ajowan *(Carum copticum)* را در روغن بزرک بررسی و با آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHT، BHA و TBHQ مقایسه نمودند؛ این عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی در روغن بزرک نشان داد که به دلیل حضور تیمول در آن می‌باشد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی این عصاره نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های BHT و BHA بیش‌تر بود ولی نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ ضعیف‌تر عمل نموده بود. قادری قهفرخی و همکاران (۱۳۸۹)، میزان ترکیبات فنولی میوه بلوط *(Quercus branti varpersica Lindl.)* را با سامانه‌های مختلف حلال‌هایی مانند متانول (۸۰ درصد)، اتانول (۷۰ درصد) و آب با روش غوطه‌وری بررسی نمودند؛ جهت بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ثبات اکسیداتیو روغن آفتابگردان، غلظت‌های مختلف عصاره‌ها در سه سطح ۱۰۰۰ و ۵۰۰، ۲۵۰ پی‌پی‌ام با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA، BHT و TBHQ مقایسه شدند؛ نتایج مشخص ساخت عصاره متانولی عملکرد آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به سایر عصاره‌ها داشته است، لیکن نمونه‌ی حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ بیشترین ثبات اکسیداتیو را به خود اختصاص داده است.

نتیجه‌گیری

ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌طور قابل توجهی در منابع گیاهی یافت می‌شوند، اولئوگم رزین کندر نیز سرشار از ترکیبات فعال آنتی‌اکسیدانی بالاخص فنول‌ها می‌باشد. نتایج این تحقیق مشخص ساخت که عصاره متانولی اولئوگم رزین کندر از توانایی ضداکسایشی مناسبی در روغن سویا برخوردار بوده، به‌طوری‌که می‌توان کندر را بعنوان منبعی گیاهی و سرشار از ترکیبات زیست فعال دارای آثار آنتی‌اکسیدانی معرفی نمود.

منابع

فاطمی، ح. ۱۳۷۸، شیمی موادغذایی. شرکت سهامی انتشار، چاپ پنجم، تهران، ص ۱۹۱-۱۸۱.

قادری قهفرخی، م.، اعلمی، م.، صادقی ماهونگ، ع. ر.، عزیزی، م. ح.، قربانی، م.، ۱۳۸۹، بررسی اثر استخراج ترکیب‌های فنولی میوه بلوط با حلال‌های مختلف بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها در ثبات اکسیداتیو روغن آفتابگردان . فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر

ایران. ۱ :۷۲-۵۹ .

کامکار، ا.، ۱۳۸۸، مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره شوید ایرانی. فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گناباد ۱۵.

مظاهری کلهرودی، م.، بصیری، ع. ر.، جلالی، حسین، ۱۳۹۲، بررسی اثر ضد اکسایشی عصاره دانه رازیانه در روغن سویا و مقایسه آن با ضداکسایندههای سنتزی . فصلنامه علوم و فناوری‌های نوین غذایی، ۱(۳) :۲۷- ۱۵.

Al-Harrasi A., Al-Saidi S., 2008, Phytochemical Analysis of the Essential Oil from Botanically Certified Oleogum Resin of Boswellia sacra (Omani Luban). *Molecules* 13, 2181-2189.

Akinoso R., Aboaba S., Olayanju T., 2010, Effects of moisture content and heat treatment on peroxide value and oxidative stability of un-refined sesame oil. *African Journal of Food*, Agriculture, Nutrition and Development, 10: 4268-4285.

AOAC. Official methods of analysis., 2003, Washington, DC, Association of Official Analytical Chemists.

AOCS. Official method cd, 19-90., 2009, American oil chemists society, 2-Thiobarbituric acid value, direct method, In official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society.

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

Baldioli M., Servili M., Perretti G., Montedoro G.,1996, Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society* 73, 1589- 1593.

Basar S., Koch A., König W. A ., 2001, Verticillane-Type diterpene from boswellia carterii essential oil. *Flavour and Fragrance Journal* 16, 315-318.

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

Blois M. S., 1958, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 26, 1199–1200.

Choe E., Min D. B., 2006, Mechanisms and factors for edible oil oxidation.Comprehensive Reviews in *Food Science and Food Safety* 5,169-186.

Garba S., Andrew K., Justina U., 2013, Antioxidant Activities of total flavonoids extracted from Boswellia papyrifera and Parkia biglobosa . *Topclass Journal of Herbal Medicine* 2,244-247.

Jiang A. L., Wang C. H., 2006, Antioxidant properties of natural components from Salvia plebeia on oxidative stability of ascidian oil.*Process Biochemistry* 41,1111-1114.

Khan, G., Farooqi, M. I. H., 1991, Chemical characterisation of resins sold in Indian Markets. Part I. Luban and Kundur. International. *Journal Pharmacognosy* 29: 302–305.

Labarbe B., Cheynier V., Brossaud F., Souquet, J. M., Moutounet M., 1999, Quantitative fractionation of grape proanthocyanidins according to their degree of polymerization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 2719-2723.

Loliger J., 1991,The use of antioxidants in foods. In Free Radicals and Food Additives; Arouma, O. I., Halliwell, B., Eds. Taylor & Francis 1991. 121-150.

Metivier, R.P., Francis, F.J., Clydesdale, F. M. Solvent extraction of anthocyanins from wine pomace". *Journal of Food Science* 45, 1099-1100.

Milic B. L., Djilas S. M., Canadanovic-Brunet J. M., 1998, Antioxidative activity of phenolic compounds on the metal-ion breakdown of lipid peroxidation system. *Food Chemistry* 61, 443–447.

Mohamed Abdoul-latif F., Obame L. C., Bassolé I. H. N., Hama Dicko M., 2012 , Antimicrobial activities of essential oil and methanol extract of Boswellia sacra Flueck. and Boswellia papyrifera (Del.) Hochst from Djibouti. International Journal of Management, *Modern Sciences and Technologies* 1,1-10.

Mohammadi M., 2013, Evaluation of oxidative quality parameters in imported edible oils in Iran.*British Food Journal* 115, 789-795.

Mohdaly Adel. A. A., 2010, Evaluation of some food processing by-products as sources for natural antioxidants, Process Science, *Institute ofFood Technology and Food Chemistry,* Technical University of Berlin.

Pizarro, C., Esteban-Díez, I., Rodríguez-Tecedor, S., González-Sáiz, J. M., 2013, Determination of the peroxide value in extra virgin olive oils through the application of the stepwise orthogonalisation of predictors to mid-infrared spectra.*Food Control* 34,158-167.

Prakash B., Singh P., Mishra P. K., Dubey N. K., 2012, Safety assessment of Zanthoxylum alatumRoxb. essential oil, its antifungal, antiaflatoxin, antioxidant activity and efficacy as antimicrobial in preservation ofPiper nigrumL . *Fruits International Journal of Food Microbiology* 153:183-191.

Povilaityte V., Venskutonis P.R., 2000, Antioxidative activity of purple peril (Perilla frutescens L.), Moldavian dragonhead (Dracoceph-alum Moldavica L.), and Roman chamomile (Anthemis nobilis L.) extracts in rapeseed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 77, 951–956.

Siddhuraju P., Becker K., 2003 , Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents

from three different agroclimatic origins of Drumstick tree (Moringa oleiferea Lam.) leaves. J. Agric. *Food Chemistry* 51, 2144-2155.

Slinkard K., Singleton V. L., 1977, Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods,American *Journal of Enology and Viticulture* 28, 49-55.

Shahidi F., Wanasundara U., 1994 , Stabilization of canola oil by natural antioxidants. In C. T. Ho, & T. G. Hartman (Eds.),Lipids in food flavours (pp. 301–314). Washington, *American Chemical Society*.

Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang L., Zhang Y., 2011, Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (Diospyros kaki L.) leaves. *Food and Chemical Toxicology* 49, 2689-2696.

Tucker A. O., 1986, Frankincense and Myrrh. Economic Botany 40,425-433.

Van Vuuren S. F., Kamatou G. P. P., Viljoen A. M., 2010, Volatile composition and antimicrobial activity of twenty commercial frankincense essential oil samples. *South African Journal of Botany* 76, 686–691.

Wang G., Shi G., Chen F.,Yao R., Wang Z., 2013, loading of free radicals on the functional graphene combined with liquid chromatography–tandem mass spectrometry screening method for the detection of radical- scavenging natural antioxidants. *analytica chimica acta* 802,103-112.

Yang Y., Li Q., Yu X., Chen X., Wang Y., 2013, A novel method for determining peroxide value of edible oils using electrical conductivity. *Food Control* 39, 198-203.

Zhou K., Yu L., 2004, Effects of extraction solvent on the wheat bran antioxidant activity estimation. LWT *Food Science and Technology* 37, 717–721.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 4, Oct- Nov 2016, p. 477-488

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۴، مهر- آبان ۱۳۹۵، ص. ۴۸۸-۴۷۷

Antioxidant properties of extract 's*Boswellia Serrata* oleo-gum resin in soyabean oil

Adeleh Mohammadi[1].Saeedeh Arabshahi- Delouee[2*]

Received: 2014.10.30
Accepted: 2015.10.13

Introduction: Frankincense is a natural oleo-gum-resin which is obtained through slits made in the trunks of trees of the genus Boswellia (Family Burseraceae). The genus Boswellia is approximately represented by 43 different trees and shrubs distributed mostly in the India, Arabian peninsula, and east africa (mothana et al.2011). Trees from the genus Boswellia (Burseraceae) are traditionally used as a medicine, a fumigant, in various cosmetic formulations and in aromatherapy in several countries around the world.Frankincense therapeutic effect significantly depends on the amount of oleoresin. These effects include anti-inflammatory, hepatoprotective, anticancerous, anti-HIV, anti-microbial, antifungal, anti-ulcerous, gastroprotective, hypoglycemic andantihyperlipidemic properties (Aman *et al*. 2009; Al-Harrasi and Al-Saidi, 2008; Khadem *et al*. 2009 and Shah *et al*.2009).

Lipids are susceptible to oxidation on storage and frying processes. Characteristic changes associated with oxidative deterioration include development of unpleasant tastes and odors as well as changes in color, specific gravity, viscosity and solubility.Lipid peroxidation is one of the major agents of deterioration for vegetable oils, fats and other food systems (Iqbal and Bhanger, 2007). During oxidation hydroperoxides are formed which again break down to form products like alcohols, aldehydes, ketones and hydrocarbons, which possesses offensive off flavors (Grace Roy et al.2010).In order to inhibit oxidation, synthetic antioxidants, such as BHA (Butylated hydroxyanisole), BHT (Butylated hydroxyanisole) and TBHQ Ter-butyl hydroquinone have been added to foods but there is concern about the use of these compounds due to their reported adverse effects on health. This has led to an increasing trend in the search and replace of these synthetic antioxidants with natural ones such as phenolic compounds (Mariod et al. 2006).Antioxidants affect the process of lipid oxidation at different stages due to differences in their mode of action. Because of the complexity of the oxidation process itself,the diversity of the substrates and the active species involved, the application of different test methods is necessary in the evaluation of antioxidants. The aim ofthisstudy was to evaluatethe antioxidantproperties of various solvent extractsand essential oil offrankincense(*Boswellia serrata)*and evaluation ofitsantioxidant activityinsoybeanoil.

Materials and methods: In this study, the dried powder of *B.serrata* (25g) was extracted overnight in 250 ml each of methanol, ethanol and acetone respectively, in a mechanical shakerat room temperature and each extract was filtered with Whatman No. 1 filter paper. The filtrates obtained from methanol, ethanol and acetone extractions were evaporated at 40 °C in a rotary evaporator.

The content of phenolic compounds was measured by Folin–Ciocalteu, Briefly 20 µl of extract solution were mixed with 1.16 ml distilled water and 100 µl of Folin–Ciocalteu reagent, followed by addition of 300 µl of Na_2CO_3 solution (20%) after 8 minutes. Subsequently, the mixture was incubated at oven at 40 °C for 30 minutes and its absorbance was measured at 760 nm.

The ability of extracts to scavenge DPPH radicals was determined according to the method of Blois (1958). Briefly, 1 ml of a 0.1 mM methanolic solution of DPPH was mixed with 3 ml of extract solution in methanol (containing 100–1000 µg/ml). The mixture was then vortexed and left for 30 min at room temperature in the dark. The absorbance was measured at 517 nm. The percentageof the DPPH radical scavenging was calculated using the equation given below:

$$\% \text{ inhibition of DPPH radical} = (A_{br} - A_{ar}) / A_{ar} \times 100$$

where A_{br} is the absorbance before reaction and A_{ar} is theabsorbance after reaction has taken place. The molecule 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (a,a-diphenyl-bpicrylhydrazyl DPPH) is characterized as a stable free

1 Former M.Sc. Student of Food Science and Technology,Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran
2 Assistant professor,Department of Food Science and Technology,Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran
(*corresponding author E.mail: saeedeh_arabshahi @yahoo.com)

radical by virtue of the delocalisation of the spare electron over the molecule as a whole, so that the molecule does not dimerize, as would be the case with most other free radicals (Nur Alam et al., 2013).Next, oxidative stabilityand antioxidant activity of methanol extract concentrations (200, 500, 800, 1000 ppm) with the synthetic antioxidant TBHQ (100 ppm) were evaluated in soybean oil without antioxidants (63 ˚C, 12 days).

Results and discussion: The extract significantly ($p \leq 0.05$) suppressed the formation of peroxides and thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) during accelerated oxidation, even at a level of 200 ppm. Based on the obtained results, the methanolic extract at 1000 ppm had the highest antioxidant activity among other extracts and inhibits the peroxide value and the index of thiobarbituric acid, but it coulden't compete with the synthetic antioxidant TBHQ. Results showed that, *Boswellia Serrata* was found as a potential source of natural antioxidants due to its marked antioxidant activity.

Key words: *Boswellia serrata* - Phenolic compounds – oxidation- Induction Period - soybean oil