بررسی اثر ضداکسایشی عصاره دانه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) در روغن سویا و مقایسه آن با ضداکساینده‌های سنتزی BHA وBHT

مونا مظاهری کلهرودی [1*]، علیرضا بصیری[2]، حسین جلالی[3]

1. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، سمنان

2. استادیار، گروه صنایع غذایی و تبدیلی، پژوهشکده صنایع شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران

3. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی ، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، سمنان

(تاریخ دریافت: **92/11/4**، تاریخ پذیرش: **92/12/11**)

چکیده

اکسایش چربی‌ها منجر به کاهش ویژگی‌های حسی و ارزش تغذیه‌ای روغن‌ها می‌گردد. از جمله روش‌های مؤثر جهت کاهش شدت اکسایش، افزودن ضداکساینده‌ها است. با توجه به اثرات جانبی نامطلوب ضداکساینده‌های سنتزی، مانند امکان ایجاد جهش و یا سرطان، امروزه ترکیب‌های طبیعی دارای ویژگی‌های ضداکسایشی به عنوان جایگزینی برای ترکیب‌های متداول سنتزی مورد توجه قرار گرفته‌اند. هدف از این تحقیق، بررسی اثرات ضداکسایشی عصاره دانه رازیانه در روغن سویا و مقایسه آن با ضداکساینده‌های سنتزی بوتیلید هیدروکسی آنیزول (BHA) و بوتیلید هیدروکسی تولوئن (BHT) می‌باشد.

اثر غلظت‌های 100، 200، 300، 400، 500، 600، 700 و 800 میلی‌گرم/لیتر عصاره اتانولی دانه رازیانه در به تاخیر انداختن فساد اکسایشی در روغن سویا تصفیه‌شده عاری از ضداکساینده، در دمای 90 درجه سانتی‌گراد، به مدت 4 هفته و در فواصل زمانی ثابت هفت روزه از طریق سنجش اندیس‌های آنیزیدین، پراکسید و محاسبه اندیس توتوکس در مقایسه با نمونه شاهد و ضداکساینده‌های سنتزی BHA به میزان غلظت مجاز 175 میلی‌گرم/لیتر وBHT به میزان غلظت مجاز 75 میلی‌گرم/لیتر و مخلوط هر دو نوع ضداکساینده سنتزی (BHT+BHA) به میزان غلظت مجاز 175 میلی‌گرم/لیتر، تحت بررسی قرار گرفت. هم‌چنین، مدت زمان مقاومت به اکسایش نمونه‌ها توسط دستگاه رنسیمت سنجیده شد.

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، با افزایش غلظت عصاره‌ها اثر ضداکسایشی آن‌ها بیش‌ترشده ولی در محدوده غلظتی مورد بررسی، رابطه خطی و مستقیم بین غلظت تیمارها و فعالیت ضداکسایشی آن‌ها در روغن سویا دیده نشد. غلظت‌های 300 میلی‌گرم/لیتر و 400 میلی‌گرم/لیتر عصاره دانه رازیانه، دارای فعالیت ضداکسایشی بالاتری نسبت به هر دو ضداکساینده سنتزی BHA و BHT بودند ($p<0/01$).

عصاره دانه رازیانه دارای اثر ضداکسایشی مناسبی در روغن سویا بوده و می‌تواند در غلظت‌های مناسب به عنوان جایگزین طبیعی ضداکساینده‌های سنتزی BHA وBHT به‌کار رود.

واژه‌های کلیدی: اکسایش روغن نباتی، روغن سویا، عصاره دانه رازیانه، فعالیت ضداکسایشی.

* مسئول مکاتبات: mona.mazaheri59@gmail.com

1- مقدمه

فرایند اکسایش و تخریب اکسایشی که منجر به ایجاد بدطعمی و کاهش کیفیت و افت ارزش تغذیه‌ای روغن‌ها و چربی‌ها می‌شود یکی از مهم‌ترین مشکلات صنعت روغن محسوب می‌شود. ضداکساینده‌ها ترکیب‌هایی هستند که گسترش بدطعمی و فساد روغن‌ها و چربی‌ها را با توسعه زمان پایداری به تأخیر می‌اندازند [1]. با توجه به مشکلات و اثرات جانبی نامطلوب ناشی از مصرف ضداکساینده‌های سنتزی، در سال‌های اخیر، تمایل روزافزونی به استفاده از ترکیب‌های گیاهی به‌عنوان منابع جدید حاوی ضداکساینده‌های طبیعی در صنایع غذایی وجود دارد. به همین دلیل نیز تحقیقات گسترده‌ای در زمینه دستیابی به ترکیب‌های گیاهی به عنوان جایگزین ضداکساینده‌های سنتزی و تدوین دانش فنی کاربرد آن‌ها در مواد غذایی مختلف در سطح جهان انجام می‌گیرد[2]. یکی از سامانه‌های غذایی، روغن‌ها می‌باشند که مصرف بالایی در رژیم غذایی روزانه دارند. روغن سویا، یکی از روغن‌های گیاهی شاخص است که اهمیت آن به دلیل فراوانی، ارزانی و کیفیت خوب آن است. در ضمن به دلیل وجود مقدار به نسبت زیاد اسیدهای چرب غیراشباع در این روغن، پایداری آن در برابر اکسایش کم بوده و مستعد اکسایش می‌باشد. ضداکساینده‌های شیمیایی که بیش‌ترین استفاده را در صنعت غذا دارند شامل BHT، BHA، TBHQ و پروپیل گالات بوده که سرطان‌زایی و اثرات منفی این ترکیب‌ها بر سلامت انسان در تحقیقات متعدد نشان داده‌شده است [3,4]. بنابراین، امروزه استفاده از گروه وسیعی از گیاهان دارویی و ترکیب‌های آروماتیک آن‌ها به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت ضداکسایشی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است [5]. رازیانه (*Foeniculum vulgare*) گیاهی است، چند ساله، معطر، علفی و پایا از خانواده چتریان که منشا آن نواحی مدیترانه و جنوب اروپا گزارش‌شده است و به دلیل کاربردهای متعدد آن در صنایع غذایی، داروسازی و آرایشی- بهداشتی در حال حاضر در بسیاری از نقاط جهان زمین‌های زراعی وسیعی زیر کشت رازیانه قرار دارند[6.] پراکنش طبیعی رازیانه در ایران، مناطق شمالی و غربی کشور را در بر می‌گیرد. در ایران، برداشت رازیانه از اوایل شهریورماه آغاز می‌گردد [7]. بررسی عصاره‌های تهیه‌شده از اندام‌های مختلف گیاه رازیانه، به‌ویژه دانه‌های آن، حاکی از اثرات ضداکسایشی بالای این گیاه می‌باشد[8]. خاصیت احیاکنندگی عصاره دانه رازیانه مربوط به حضور قندهای احیاکننده، ترکیب‌های فلاونوئیدی، گلیکوزید فلاونول‌ها و به خصوص حضور فنیل پروپانوئیدها (ترانس- آنتول و استراگول) و هیدروکربن‌های ترپنی اکسیژنه (فنچون) می‌باشد [9]. هم‌چنین حضور ویتامین E و اسید آسکوربیک نیز در عصاره دانه رازیانه به اثبات رسیده است[10]. ترکیب‌های فنولیک قادرند تا یک اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد بدهند و بدین ترتیب باعث توقف پیش‌روی واکنش‌های زنجیری در طی فرایند اکسایش چربی شوند [11,12]. هم‌چنین، امکان اثر تشدیدکنندگی میان ترکیب‌های دارای اکسیژن و افزایش فعالیت ضداکسایشی نیز وجود دارد [5]. ماتا و همکاران (2007) به بررسی فعالیت ضداکسایشی پنج گیاه رازیانه، نعناع، پونه، رزماری و آویشن پرداختند. نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان دادند که در بین گیاهان تحت بررسی، فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های اتانولی نعناع، آویشن و رازیانه در بالاترین سطح قرار دارد [13]. هینبرگ و همکاران (2006) خاصیت ضداکسایشی و محتوای فنولی را در عصاره‌های ریحان، برگ بو، جعفری، سروکوهی، تخم بادیان رومی، رازیانه، زیره، هل و زنجبیل مورد بررسی قرار دادند [14]. نتایج نشان دادند عصاره‌های مربوط به ریحان و برگ بو، بیش‌ترین فعالیت ضداکسایشی را در مقایسه با سایر گیاهان تحت بررسی دارا می‌باشند. سینگ و همکاران (2006) به بررسی ترکیب‌های شیمیایی و ویژگی‌های ضدقارچی و ضداکسایشی روغن فرار و عصاره استونی رازیانه در روغن کتان پرداختند[15]. خواص ضداکسایشی با اندازه‌گیری مقادیر اندیس پراکسید و تیوباربیتوریک اسید روغن کتان در فواصل زمانی ثابت ارزیابی شد. نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان دادند که هم روغن فرار و هم عصاره استونی رازیانه دارای فعالیت ضداکسایشی بالاتری در مقایسه با BHA و BHT می‌باشند. در این راستا، پاپوویچ (2008) به بررسی ویژگی‌های ضداکسایشی جعفری، آویشن و رازیانه بر روی روغن آفتابگردان غنی‌شده با ید پرداخته و نشان داد که ضداکساینده‌های طبیعی گیاهان تحت بررسی، در پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان مؤثر می‌باشند[16]. بنابراین، هدف از این پژوهش، بررسی ویژگی‌های ضداکسایشی عصاره اتانولی دانه رازیانه در روغن

سویا و مقایسه آن با ضداکساینده‌های سنتزی BHA و BHT می‌باشد.

2-مواد و روش‌ها

2-1- مواد اولیه

دانه‌های رازیانه از پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، روغن سویا تصفیه‌شده عاری از ضداکساینده، از کارخانه روغن محسن و مواد شیمیایی مورد استفاده با خلوص آزمایشگاهی از شرکت مرک آلمان تهیه‌شدند.

2-2-آماده‌سازی نمونه دانه رازیانه

جهت استخراج عصاره دانه رازیانه به روش سوکسله، ابتدا دانه‌های رازیانه، پاک‌سازی و کلیه مواد خارجی جداسازی گردیدند. سپس نمونه‌ها در خشک‌کن با جریان جابجایی هوا و در دمای 40 درجه سانتی‌گراد تا دست‌یابی به رطوبت نهایی متوسط 7/6٪ بر پایه تر خشک‌شدند[17].

2-3-عصاره‌گیری

دانه‌های خشک‌شده با آسیاب برقی (شرکت IKA، مدل11A، ساخت کشور آلمان) آسیاب و از الک با مش 35 عبور داده‌شدند. 25 گرم از پودر به‌دست آمده، با ترازوی دیجیتال با دقت 0/01± گرم (شرکت A&D، ساخت کشور ژاپن)، توزین و به درون کارتوش منتقل شد و در بخش استخراج‌کننده سوکسله قرار گرفت. 100 میلی‌لیتر حلال اتانول 80٪ درون بالن ریخته شد. به‌منظور به حداقل رساندن آسیب ترکیب‌های فنولیک عصاره، استخراج در دمای 50 درجه سانتی‌گراد انجام گردید. عمل استخراج تا زمانی که حلال مورد نظر بی‌رنگ شود ادامه یافت. پس از انجام عصاره‌گیری، عصاره‌ها ابتدا توسط کاغذ صافی واتمن شماره 1 فیلتر شدند. حلال‌زدایی توسط تبخیرکننده دوار تحت خلا (شرکت Buchi، مدل 169B، ساخت کشور آلمان) در دمای 40 درجه سانتی‌گراد و فشار 25 میلی‌متر جیوه انجام گرفت تا میزان آسیب دیدن ترکیب‌های فنولیک به حداقل برسد و در ادامه، با کمک آون خلا (شرکت Ehret، مدل 570VT، ساخت کشور آلمان) در دمای 45 درجه سانتی‌گراد و فشار 25 میلی‌متر جیوه، حلال باقی‌مانده نیز حذف شد[18]. در انتها پس از خشک‌شدن عصاره‌ها، راندمان عصاره‌گیری تعیین شد. به‌منظور جلوگیری از تخریب ترکیب‌های مؤثره موجود در عصاره به‌دست آمده، عصاره حاصل در ظروف شیشه‌ای تیره‌رنگ و در دمای یخچال، تا شروع آزمایش‌ها نگه‌داری شد[10,19] .

2-4-ارزیابی فعالیت ضداکسایشی عصاره دانه رازیانه

عصاره دانه رازیانه پس از استخراج، به‌طور جداگانه، مطابق با جدول 1، در نه سطح، شامل غلظت‌های 0، 100، 200، 300، 400، 500، 600، 700 و 800 میلی‌گرم/لیتر و هم‌چنین ضداکساینده‌های سنتزی BHA به میزان غلظت مجاز 175 میلی‌گرم/لیتر وBHT به میزان غلظت مجاز 75 میلی‌گرم/لیتر و مخلوط هر دو نوع ضداکساینده سنتزی (BHT+BHA) به میزان غلظت مجاز 175 میلی‌گرم/لیتر به روغن سویا تصفیه‌شده عاری از ضداکساینده، افزوده‌شده و به‌طور کامل مخلوط‌شدند[20]. اثر تیمارهای به‌کار رفته بر روی شدت اکسایش روغن سویا در شرایط اکسایش تسریع‌شده، در طول دوره نگه‌داری در دمای 90 درجه سانتی‌گراد (آون Memmert، مدل ULM- 500، ساخت کشور آلمان)، به مدت 4 هفته و در فواصل زمانی ثابت هفت روزه از طریق سنجش اندیس‌های آنیزیدین و پراکسید و محاسبه اندیس توتوکس بررسی گردید[15,21]. در ادامه مدت زمان مقاومت به اکسایش نمونه‌ها نیز توسط دستگاه رنسیمت (شرکت Metrohm، مدل743، ساخت کشور سوئیس) سنجیده شد[18,22]. هم‌چنین، درصد فعالیت ضداکسایشی تمام تیمارها در طی دوره نگه‌داری، به عنوان شاخص ممانعت از اکسایش روغن سویا سنجیده شد[23]. کلیه آزمون‌های ذکرشده در چهار تکرار انجام‌شدند. روش‌های به‌کار رفته در ارزیابی پایداری اکسایشی روغن سویا به گونه‌ای انتخاب‌شدند که بتوان تخمین صحیحی از پیش‌روی تخریب اکسایشی ارائه داد. در روش رنسیمت محصولات ثانویه حاصل از اکسایش روغن‌ها و چربی‌ها شامل آلدهیدها، کتون‌ها و اسیدها سنجیده می‌شوند. درحالی‌که اندیس پراکسید، معیاری است که جهت اندازه‌گیری هیدروپراکسیدها به‌کار می‌رود. هیدروپراکسیدها به عنوان محصولات اولیه اکسایش شناخته‌شده‌اند که ممکن است به فراورده‌های ثانویه فرار و غیرفرار تجزیه شوند. این

جدول(1) کد تیمارهای مورد بررسی

کد	نمونه
E_0	روغن سویا تصفیه‌شده بدون هرگونه افزودنی (شاهد)
E_1	روغن سویا تصفیه‌شده حاوی 100 میلی‌گرم/لیتر عصاره اتانولی دانه رازیانه
E_2	روغن سویا تصفیه‌شده حاوی 200 میلی‌گرم/لیتر عصاره اتانولی دانه رازیانه
E_3	روغن سویا تصفیه‌شده حاوی 300 میلی‌گرم/لیتر عصاره اتانولی دانه رازیانه
E_4	روغن سویا تصفیه‌شده حاوی 400 میلی‌گرم/لیتر عصاره اتانولی دانه رازیانه
E_5	روغن سویا تصفیه‌شده حاوی 500 میلی‌گرم/لیتر عصاره اتانولی دانه رازیانه
E_6	روغن سویا تصفیه‌شده حاوی 600 میلی‌گرم/لیتر عصاره اتانولی دانه رازیانه
E_7	روغن سویا تصفیه‌شده حاوی 700 میلی‌گرم/لیتر عصاره اتانولی دانه رازیانه
E_8	روغن سویا تصفیه‌شده حاوی 800 میلی‌گرم/لیتر عصاره اتانولی دانه رازیانه

درحالی است که اندیس آنیزیدین جهت سنجش محصولات ثانویه اکسایش به‌کار می‌رود. اندیس توتوکس نیز معیاری از اکسایش کل است که شامل فراورده‌های اولیه و ثانویه اکسایش می‌باشد [24]. مدت زمان مقاومت به اکسایش نمونه‌ها توسط دستگاه رنسیمت، مطابق با روش ارایه‌شده از سوی پروستوس و همکاران در سال 2006 انجام گرفت [25]. اندازه‌گیری اندیس پراکسید طبق روش AOCS (1998) با شماره استاندارد cd 8-53 صورت گرفت [26]. اندیس آنیزیدین مطابق با روش IUPAC، 2/504 اندازه‌گیری شد[27]. پس از سنجش اندیس پراکسید و اندیس آنیزیدین، اندیس توتوکس مطابق با رابطه (1) که در سال 2002 از سوی شهیدی و واناسوندرا ارایه شد، محاسبه گردید [28]. در رابطه (1)، PV اندیس پراکسید بوده و AV اندیس آنیزیدین می‌باشد. جهت تعیین درصد فعالیت ضداکسایشی عصاره‌ها از رابطه (2) استفاده شد[23,29].

اندیس توتوکس =AV + 2 PV (1)

(2) درصد فعالیت ضداکسایشی =

[100 × (اندیس پراکسید شاهد /اندیس پراکسید نمونه)] - 100

5-2-تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و در 4 تکرار انجام گردیدند. تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده، با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن با به‌کارگیری بسته نرم‌افزاری SAS و در سطح اطمینان 99٪ انجام شد. رسم نمودارها به کمک نرم افزار EXCEL انجام شد.

3-نتایج و بحث

3-1- راندمان استخراج

در این تحقیق، میانگین راندمان استخراج عصاره به‌دست آمده از روش سوکسله با حلال هیدروالکلی در چهار تکرار، 12/92 گرم در 100 گرم دانه خشک رازیانه تعیین گردید که از اختلاف وزن بالن تبخیرکننده (خالی و پس از تبخیر کامل)، مقدار عصاره و با تقسیم آن بر وزن نمونه، راندمان استخراج به‌دست آمد. در روش سوکسله، گیاه مورد نظر و حلال، در مدت زمان مشخصی، در تماس با یکدیگر قرار می‌گیرند و هر کدام از ترکیب‌های شیمیایی موجود در گیاه، بر اساس میزان حلالیت‌شان در حلال، جدا می‌شوند و در نهایت، پس از عمل استخراج، حلال جدا می‌شود[30]. نوع روش به‌کار رفته برای استخراج و عصاره‌گیری، به بافت گیاهی مورد استفاده، نوع

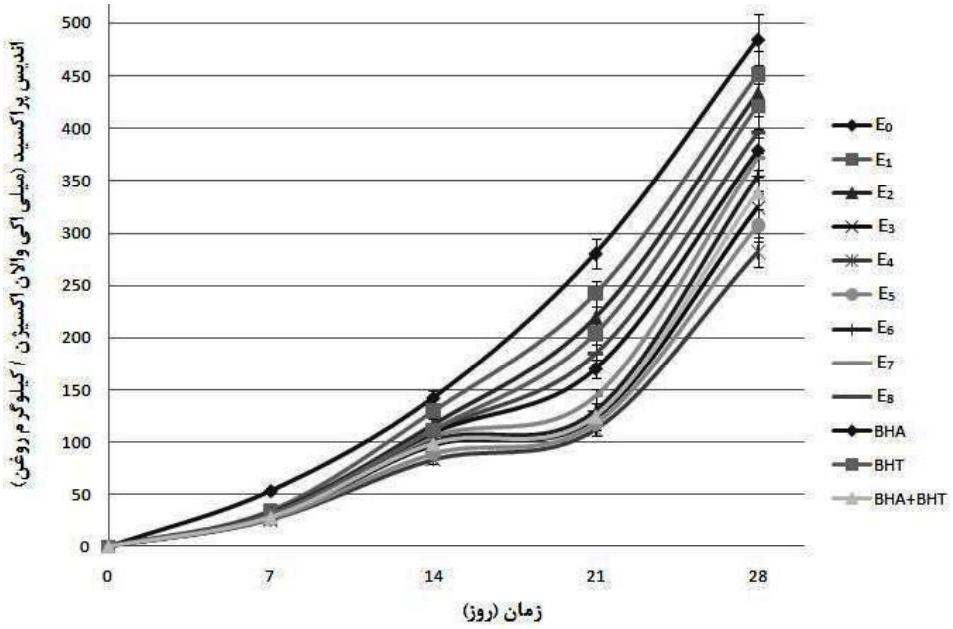
ماده جداشدنی و مقاومت ماده جداشده به دمای به‌کار رفته بستگی دارد و انتخاب یک روش استخراج مناسب می‌تواند از تخریب ضداکساینده‌ها جلوگیری کند. هر روش، راندمان استخراج متفاوتی دارد و ترکیب‌های مختلفی در عصاره حاصل از هر روش موجود است[31]. بوکس و همکاران (1997) راندمان استخراج عصاره اتانولی به روش خیساندن را 23/8٪ اعلام کردند[32]. اکتای و همکاران (2003) راندمان استخراج عصاره آبی و اتانولی رازیانه را به‌ترتیب 16/20 و 10/95 گرم در 100 گرم پودر دانه رازیانه اعلام کردند[33]. سینگ و همکاران (2006) راندمان استخراج عصاره استونی رازیانه را 3/7٪ اعلام کردند [15]. ماتا و همکاران (2007) راندمان استخراج عصاره آبی و اتانولی پودر خشک دانه رازیانه را به‌ترتیب 26/5 و 6/9 گرم در 100 گرم وزن خشک اعلام کردند[13]. لازم به ذکر است که اختلاف در میزان راندمان استخراج عصاره دانه رازیانه در پژوهش‌های مختلف، ریشه در تفاوت شرایط کشت، منطقه جغرافیایی، زمان برداشت نمونه رازیانه و هم‌چنین شرایط استخراج عصاره رازیانه به روش سوکسله، شامل مدت زمان و دمای استخراج، اندازه ذرات پودر رازیانه، تفاوت در نوع و میزان خلوص حلال مورد استفاده و نسبت میزان پودر به حلال دارد.

3-2- روند تغییرات اندیس پراکسید در طی دوره نگه‌داری

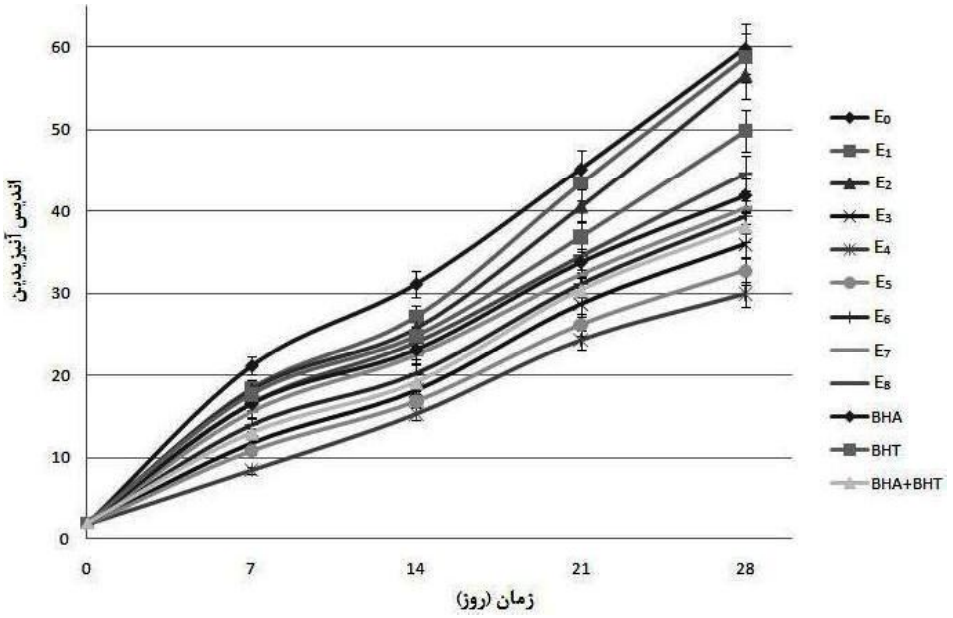
تغییرات اندیس پراکسید نمونه‌های مورد بررسی در شکل 1 نشان داده‌شده است. نتایج نشان داد که از زمان صفر تا روز 28 دوره نگه‌داری در شرایط اکسایش تسریع‌شده، که در این پژوهش اعمال شد، اندیس پراکسید در کلیه تیمارها افزایش یافته و یک روند صعودی داشته است. مطابق با شکل 1 میانگین شاخص پراکسید در نمونه شاهد با تمام تیمارهای تحت بررسی، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح $p<0/01$ دارد. پایین‌ترین میزان میانگین اندیس پراکسید در روغن سویا حاوی 400 میلی‌گرم/لیتر عصاره و پس از آن 500 میلی‌گرم/لیتر به‌دست آمد. علاوه‌براین، شکل 1 نشان می‌دهد با افزایش غلظت عصاره دانه رازیانه تا 400 میلی‌گرم/لیتر میزان اندیس پراکسید و سرعت اکسایش کاهش یافته اما در غلظت‌های بالاتر از میزان ذکرشده به‌علت افزایش اثرات پرواکسیدانی سرعت اکسایش افزایش می‌یابد. نمونه شاهد نیز بیش‌ترین میزان اندیس پراکسید را نسبت به کلیه تیمارها از خود نشان داد که ناشی از عدم افزوده‌شدن ضداکساینده بوده اما از طرف دیگر چون روغن سویا مورد استفاده در این پژوهش، تصفیه‌شده بود، بخشی از ترکیب‌های طبیعی آن مانند توکوفرول‌ها از دست رفته‌اند که خود در تسریع اکسایش مؤثر بوده است. همان‌طور که در شکل 1 مشاهده می‌گردد، نتایج حاصل از سنجش شاخص پراکسید در این پژوهش، با نتایج گزارش‌شده توسط تهامی و همکاران در سال 1391 مطابقت دارد. این محققان فعالیت ضداکسایشی عصاره دانه رازیانه را روی روغن آفتابگردان بررسی کردند و بیان کردند که عصاره دانه رازیانه دارای فعالیت ضداکسایشی بالاتری نسبت به ضداکساینده‌های سنتزی رایج BHA و BHT در روغن آفتابگردان می‌باشد[18]. هم‌چنین روزبهان و همکاران (2008)، به بررسی خاصیت ضداکسایشی عصاره استخراجی از تفاله انگور در جلوگیری از اکسایش روغن سویا پرداختند[34]. نتایج آن‌ها در گزارش اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نشان داد که عصاره حاوی تانن تفاله انگور، دارای فعالیت مناسبی در مهار اکسایش روغن سویا بوده و حتی از ضداکساینده‌های سنتزی نیز عملکرد بهتری داشته است. نتایج حاصل از پژوهش قره‌خانی و همکاران (1388) در به تأخیراندازی اکسایش روغن سویا با استفاده از عصاره برگ گزنه نیز نتایج فوق را تأیید کردند[35]. در توضیح سازوکار عملکرد ترکیب‌های ضداکسایشی، این احتمال وجود دارد که ضداکساینده‌های فنولی دانه رازیانه، علاوه‌بر سازوکار رادیکالی، از طریق یک سازوکار غیررادیکالی نیز، هیدروپراکسیدهای روغن سویا را به مواد غیررادیکالی تخریب کرده و بنابراین میزان هیدروپراکسیدها و به دنبال آن، شاخص پراکسید را کاهش دهند. ضمن این که، میزان رادیکال‌های آزاد نیز در این حالت کاهش می‌یابند. بنابراین می‌توان این‌گونه استنباط کرد که، عصاره دانه رازیانه از آن دسته ضداکساینده‌هایی است که نحوه عملکرد ضداکسایشی آن‌ها، از طریق تجزیه ترکیب‌های هیدروپراکسید به مواد غیررادیکالی می‌باشد[9].

3-3- روند تغییرات اندیس آنیزیدین در طی دوره نگه‌داری

تغییرات اندیس آنیزیدین نمونه‌های مورد بررسی در شکل



شکل(1) تغییرات اندیس پراکسید در طی دوره نگه‌داری در نمونه‌های روغن سویا حاوی عصاره دانه رازیانه مورد بررسی (meq O_2/ kg oil)

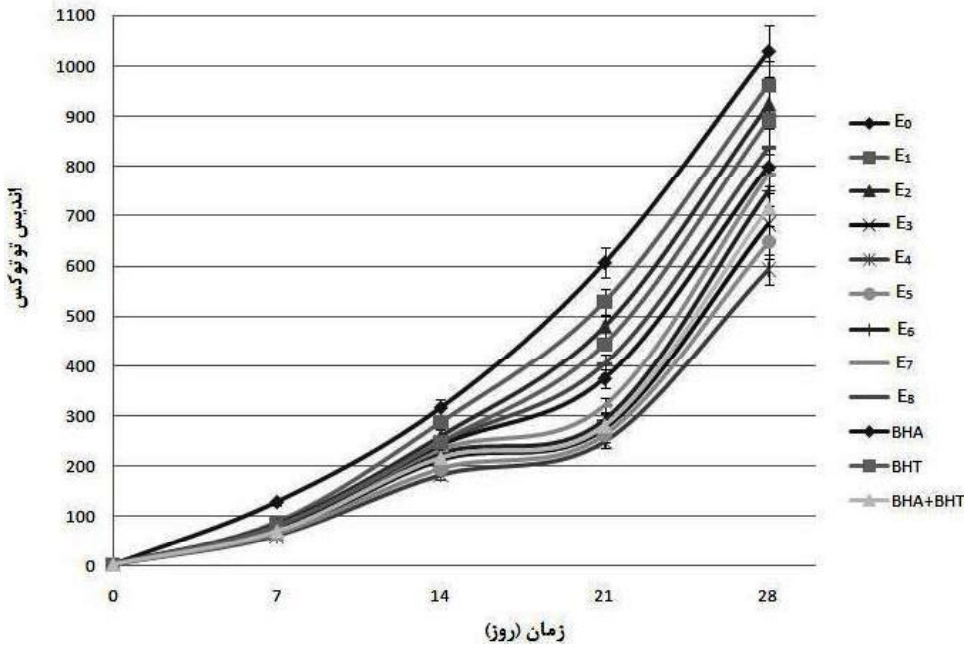


شکل(2) تغییرات اندیس آنیزیدین در طی دوره نگه‌داری در نمونه‌های روغن سویا حاوی عصاره دانه رازیانه مورد بررسی

2 نشان داده‌شده است. نتایج نشان داد که از زمان صفر تا روز 28 دوره نگه‌داری در شرایط اکسایش تسریع‌شده، که در این پژوهش اعمال شد، اندیس آنیزیدین در کلیه تیمارها افزایش یافته و یک روند صعودی داشته است. مطابق با شکل 2 میانگین شاخص آنیزیدین در نمونه شاهد با تمام تیمارهای مورد بررسی، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح p<0/01 دارد. پایین‌ترین میزان میانگین اندیس آنیزیدین در روغن سویا حاوی 400 میلی‌گرم/لیتر عصاره و پس از آن 500 میلی‌گرم/لیتر به‌دست آمد. هم‌چنین، بالاترین میزان اندیس آنیزیدین نیز در نمونه شاهد مشاهده شد. به‌علاوه، شکل 2 نشان می‌دهد با افزایش غلظت عصاره دانه رازیانه تا 400 میلی‌گرم/لیتر میزان تولید محصولات ثانویه اکسایش و هم‌چنین شدت اکسایش کاهش یافته اما در غلظت‌های بالاتر از میزان ذکرشده به‌علت افزایش اثرات پرواکسیدانی شدت اکسایش افزایش می‌یابد. همان‌طور که شکل 2 نشان می‌دهد، افزایش اندیس آنیزیدین در غلظت‌های بالای عصاره دانه رازیانه مربوط به اثرات پرواکسیدانی ترکیب‌های فنولیک در غلظت‌های بالا می‌باشد. سوتیریوس و واسیلیکی (2005) و هم‌چنین کمال‌الدین و اپل‌کویست (1996) اعلام کردند که افزودن بیش از حد ترکیب‌های فنولیک به روغن سویا، اثر ضداکسایشی را کاهش می‌دهد[36,37]. علت این موضوع را به افزایش میزان ناخالصی‌ها در عصاره به موازات افزایش ترکیب‌های فنولیک و ایجاد خطا در سنجش میزان جذب نسبت می‌دهند. علت دیگری که برای این موضوع ذکر می‌شود حضور بالای ترکیب‌های فنولیک و فلاونوئیدهای عصاره دانه رازیانه در واکنش‌های قهوه‌ای‌شدن آنزیمی است که منجر به از دست رفتن خاصیت ضداکسایشی در آن‌ها می‌شود[38]. در فرضیه‌ای که توسط آرماندو و همکاران (1998) بیان شد، علت این پدیده را مربوط به اثر بلوکه کننده آلفاتوکوفرول موجود در روغن سویای تصفیه‌شده روی ترکیب‌های دارای گروه‌های هیدروکسیل در عصاره دانه رازیانه دانستند که منجر به دام انداختن ضداکساینده‌ها و به دنبال آن افزایش سرعت اکسایش، به خصوص در غلظت‌های بالای عصاره و دماهای بالای نگه‌داری به‌طور همزمان می‌شود[39]. افزایش اندیس آنیزیدین، بیان‌گر گسترش واکنش اکسایش خودبه‌خودی و افزایش محصولات ثانویه حاصل از تجزیه هیدروپراکسیدها و ترکیب‌های کربونیل‌دار با گذشت زمان می‌باشد. این احتمال وجود دارد که ذرات معلق، و تا حدودی تغییر رنگ روغن حاوی غلظت‌های بالای عصاره مذکور، بتواند در سنجش شدت جذب در طول موج 350 نانومتر مداخله کرده و ایجاد خطا کند. یکی دیگر از دلایل احتمالی نتایج حاصل، می‌تواند انجام واکنش میلارد یا شبه میلارد باشد. عصاره، حاوی میزان بالایی مواد قندی است، ضمن این که اغلب ترکیب‌های فنولیک دانه رازیانه به فرم گلیکوزیدی بوده که می‌توانند در اثر دما به آگلیکون و قند مربوطه تجزیه شوند[40]. عامل آلدهید موجود در قند، می‌تواند با ترکیب‌های آمین‌دار دانه رازیانه واکنش میلارد انجام دهد. می‌توان گفت که در غلظت‌های بالای عصاره، میزان مواد قندی و ترکیب‌های آمین‌دار و به دنبال آن احتمال وقوع واکنش میلارد بیش‌تر است. بنابراین انجام واکنش میلارد در اثر افزایش دما، به‌ویژه در زمان‌های طولانی و با غلظت‌های بالای عصاره دانه رازیانه دور از انتظار نیست. مشاهده رنگ تیره و حتی رنگدانه‌های قهوه‌ای رنگ به خصوص در قسمت تحتانی شیشه‌های حاوی تیمارهای مختلف با غلظت‌های بالا، می‌تواند با انجام این فرایندها در ارتباط باشد. واکنش میلارد، ترکیب‌های کربونیل‌دار تولید می‌کند که این ترکیب‌ها، می‌توانند با معرف p-آنیزیدین که یک معرف غیراختصاصی است واکنش داده و از طرفی این ترکیب‌ها در طول موج 350 نانومتر دارای جذب بوده و باعث افزایش غیرعادی شدت جذب می‌گردند [9].

3-4- روند تغییرات اندیس توتوکس در طی دوره نگه‌داری

تغییرات اندیس توتوکس نمونه‌های مورد بررسی در شکل 3نشان داده‌شده است. نتایج نشان داد که از زمان صفر تا روز 28 دوره نگه‌داری در شرایط اکسایش تسریع‌شده، اندیس توتوکس در کلیه تیمارها افزایش یافته و یک روند صعودی داشته است. مطابق با شکل 3 میانگین شاخص توتوکس در نمونه شاهد با تمام تیمارهای مورد بررسی، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح p<0/01 دارد. پایین‌ترین میزان میانگین اندیس توتوکس در روغن سویا حاوی 400 میلی‌گرم/لیتر عصاره و پس از آن 500 میلی‌گرم/لیتر به‌دست آمد. بالاترین میزان تولید محصولات اولیه و ثانویه نیز در نمونه شاهد مشاهده شد.

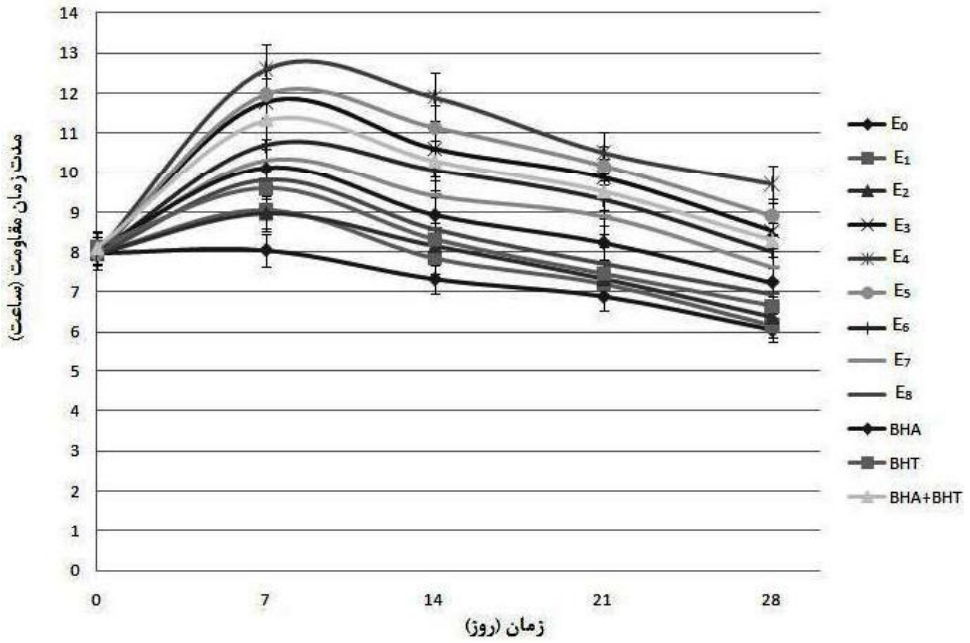


شکل(3) تغییرات اندیس توتوکس در طی دوره نگه‌داری در نمونه‌های روغن سویا حاوی عصاره دانه رازیانه مورد بررسی

به‌علاوه شکل 3 نشان می‌دهد با افزایش غلظت عصاره دانه رازیانه تا 400 میلی‌گرم/لیتر میزان تولید محصولات اولیه و ثانویه اکسایش و هم‌چنین شدت اکسایش کاهش یافته اما در غلظت‌های بالاتر از میزان ذکرشده، به‌علت افزایش اثرات پرواکسیدانی، شدت اکسایش افزایش می‌یابد. همان‌طورکه در شکل 3 مشاهده می‌گردد، نتایج حاصل از آزمایش‌ها در روز هفتم، بیان‌گر کارایی بالای غلظت 400 میلی‌گرم/لیتر عصاره دانه رازیانه نسبت به ضداکساینده‌های سنتزی مورد بررسی می‌باشد. در هفته‌های بعدی نیز نتایج به‌دست آمده در خصوص کارایی نمونه‌ها روند مشابهی را از خود نشان می‌دهند. نتایج حاصل از سنجش اندیس توتوکس در این پژوهش، با نتایج گزارش‌شده توسط تهامی و همکاران در سال 1391 مطابقت دارد[18]. نتایج حاصل از پژوهش صمدلویی و همکاران (2007) نیز اثر ضداکسایشی ترکیب‌های فنولیک هسته انار بر روی روغن سویا را تأیید کردند. لازم به ذکر است که در این پژوهش، عصاره هسته انار دارای فعالیت ضداکسایشی معادل با ضداکساینده سنتزی BHA می‌باشد[41].

3-5- مدت زمان مقاومت نسبت به اکسایش در طی دوره نگه‌داری

تغییرات مدت زمان مقاومت نسبت به اکسایش در کلیه نمونه‌های مورد بررسی در شکل 4 نشان داده‌شده است. نتایج نشان داد که با افزودن عصاره‌های دانه رازیانه به روغن سویا و اعمال شرایط اکسایش تسریع‌شده، از روز صفر الی روز هفتم دوره نگه‌داری، به‌علت عملکرد ترکیب‌های فنولیک عصاره، مدت زمان مقاومت نسبت به اکسایش در تمام تیمارهای طبیعی افزایش یافته به‌طوری که در روز هفتم و در روغن سویا حاوی 400 میلی‌گرم/لیتر عصاره دانه رازیانه، بالاترین میزان زمان پایداری حرارتی در روغن سویا مشاهده شد. این بدین معنا است که تیمار حاوی 400 میلی‌گرم/لیتر عصاره دانه رازیانه دارای فعالیت ضداکسایشی به مراتب بالاتری نسبت به هر دو ضداکساینده سنتزی BHA و BHT و مخلوط آن‌ها در روغن سویا می‌باشد ($p<0/01$). اما از روز هفتم الی روز بیست و هشتم، با افزایش طول دوره نگه‌داری نمونه‌های مورد بررسی در شرایط اکسایش تسریع‌شده، در کلیه تیمارهای مورد

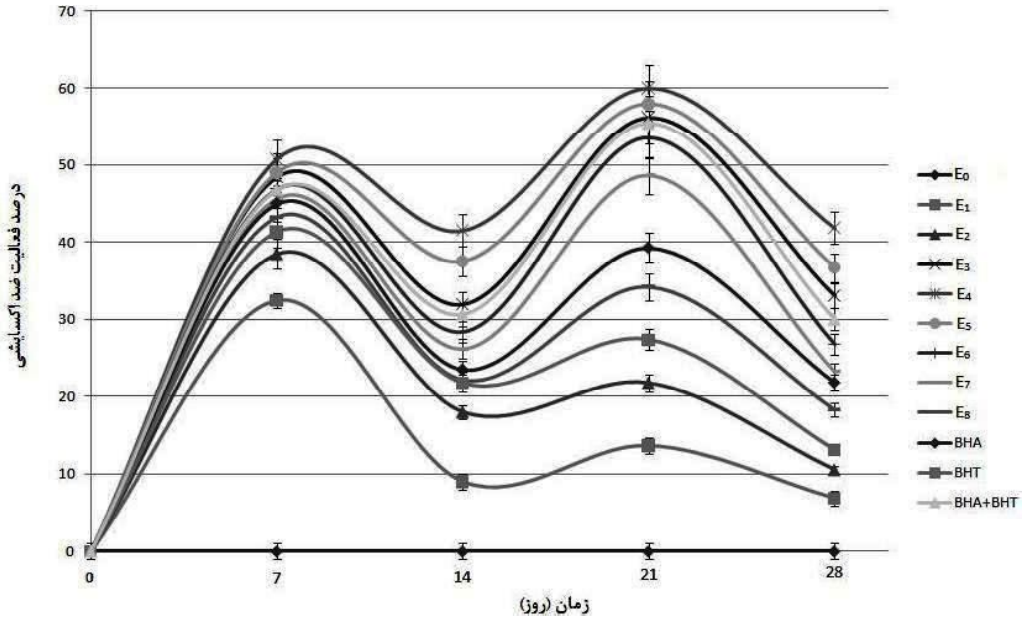


شکل(4) تغییرات مدت زمان مقاومت نسبت به اکسایش در طی دوره نگه‌داری در نمونه‌های روغن سویا حاوی عصاره دانه رازیانه مورد بررسی (ساعت)

بررسی، به‌علت تخریب و یا مصرف ترکیب‌های طبیعی دارای فعالیت ضداکسایشی، پایداری اکسایشی روغن سویا کاهش یافته و از روند نزولی پیروی می‌کند. قابل ذکر است که با توجه به شکل 4، نتایج حاصل از آزمون رنسیمت، نتایج حاصل از آزمون‌های قبلی را تأیید کردند. نتایج حاصل از سنجش مدت زمان مقاومت نسبت به اکسایش در این پژوهش، با نتایج گزارش‌شده توسط تهامی و همکاران در سال 1391 مطابقت دارد[18]. محققی ثمرین و همکاران (1387)، به بررسی خاصیت ضداکسایشی عصاره استخراجی از پوست سیب‌زمینی در جلوگیری از اکسایش روغن سویا با روش رنسیمت پرداختند[22]. نتایج آن‌ها نشان داد که عصاره مورد بررسی، دارای فعالیت مناسبی در جلوگیری از اکسایش روغن سویا بوده و فعالیت ضداکسایشی مشابه با ضداکسایندههای سنتزی BHA و BHT داشته است.

6-3- تعیین درصد فعالیت ضداکسایشی عصاره‌ها در طی دوره نگه‌داری

تغییرات درصد فعالیت ضداکسایشی نمونه‌های مورد بررسی در شکل 5 نشان داده‌شده است. نتایج نشان داد که درصد فعالیت ضداکسایشی عصاره‌ها وابسته به غلظت تیمارها است ولی یک رابطه خطی و مستقیم بین غلظت تیمارها و درصد فعالیت ضداکسایشی آن‌ها در روغن سویا دیده نشد. بررسی‌های آماری اختلاف آماری معنی‌داری را در سطح $p<0/01$ بین میانگین فعالیت ضداکسایشی غلظت‌های مختلف عصاره و ضداکسایندههای سنتزی مورد استفاده در این پژوهش نشان داد. بالاترین میزان قدرت ضداکسایشی عصاره‌های مصرفی در هفته سوم و سپس هفته اول رخ داد. اما در هفته‌های دوم و چهارم، اگرچه همه تیمارهای حاوی ضداکسایندههای طبیعی توانستند اثر ضداکسایشی بهتری نسبت به نمونه شاهد از خود نشان دهند ولی نسبت به دو هفته دیگر یعنی هفته سوم و سپس هفته اول، درصد فعالیت ضداکسایشی پایین‌تری از خود نشان دادند. علت این پدیده را در ادامه بدین صورت می‌توان توجیه کرد که حضور ترکیب‌های ضداکسایشی عصاره دانه رازیانه، از گسترش واکنش زنجیری اکسایش از طریق واکنش با رادیکال‌های آزاد اسید چرب و رادیکال‌های پراکسی جلوگیری می‌کنند و در این حالت به موازات عملکرد ضداکسایندههای مربوطه، میزان



شکل(5) نمودار تغییرات درصد فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های اتانولی دانه رازیانه در طی دوره نگه‌داری روغن سویا

هیدروپراکسیدها و رادیکال‌های آزاد ضداکساینده در روغن سویا افزایش می‌یابد که این موضوع خود نشان دهنده کارایی بالای ضداکساینده مصرفی در طولانی کردن دوره اکسایش کند در روغن می‌باشد و در نهایت منجر به تأخیر در شروع مرحله اکسایش خودبه‌خودی روغن می‌شود. رادیکال‌های آزاد ضداکساینده پس از تشکیل در روغن، ممکن است که با یکدیگر ترکیب گردند و به‌طور مجدد ضداکساینده اولیه را تولید کنند بدین ترتیب بخشی از ضداکساینده مصرف‌شده به‌طور مجدد تشکیل می‌گردد. هم‌چنین ممکن است رادیکال‌های آزاد ضداکساینده با یک مولکول دیگر رادیکال پراکسی ترکیب‌شده و از این طریق به واکنش زنجیری اکسایش خاتمه دهند. به این ترتیب چنین ضداکساینده‌ای در دو نوبت بر روند اکسایش اثر می‌گذارد. امروزه علت کارایی بالای ترکیب‌های ضداکسایشی را به وجود رزونانس در رادیکال‌های آزاد تشکیل‌شده از آن‌ها مربوط می‌دانند[38]. محققین نشان دادند که پایین‌ترین میزان شاخص پراکسید و به دنبال آن بالاترین درصد فعالیت ضداکسایشی در روغن، در حضور غلظت‌های معینی از ضداکساینده‌های طبیعی به‌کار رفته، به‌دست می‌آید بنابراین درصد فعالیت ضداکسایشی با شدت اکسایش لیپید اثر معکوسی دارد[29]. با توجه به شکل 5، بالاترین درصد فعالیت ضداکسایشی در بین تیمارهای مختلف مورد بررسی در این پژوهش، تیمار حاوی 400 میلی‌گرم/لیتر و سپس تیمار 300 میلی‌گرم/لیتر عصاره دانه رازیانه می‌باشند که به جهت دارا بودن اختلاف آماری معنی‌داری در افزایش فعالیت ضداکسایشی نسبت به کلیه تیمارهای سنتزی به‌کار رفته در این پژوهش کاراتر می‌باشند. این در حالی است که تیمار حاوی 300 میلی‌گرم/لیتر عصاره، علاوه‌براین که با تیمار مخلوط دو ضداکساینده سنتزی (BHA+BHT) قابل قیاس است، دارای فعالیت ضداکسایشی به مراتب بالاتری نسبت به هر دو ضداکساینده سنتزی BHA و BHT، در مقادیر استفاده‌شده در این پژوهش، در سطح 1٪ بود. قره‌خانی و همکاران (1388) بیان کردند که عصاره‌ها به علت دارا بودن ضداکساینده‌های طبیعی توانایی واکنش با رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسایش لیپیدها را داشته و موجب قطع واکنش‌های زنجیری و افزایش زمان اکسایش کند و کاهش شدت اکسایش خودبه‌خودی می‌شوند[35]. این موضوع بیان‌گر این است که روش استخراج عصاره، عدم حضور ناخالصی‌ها در عصاره، روش مورد آزمون جهت سنجش فعالیت ضداکسایشی عصاره، غلظت عصاره

مصرفی و سایر شرایط به‌کار رفته در انجام آزمون از جمله دما و نیز نوع بستر چربی روی میزان فعالیت ضداکسایشی یک عصاره به‌طور چشم‌گیری مؤثر است. اکتای و همکاران (2003) به بررسی فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های مختلف دانه رازیانه و مقایسه آن با ضداکساینده‌های استاندارد BHA،BHT و آلفاتوکوفرول پرداختند[33]. نتایج آن‌ها نشان داد که عصاره‌های دانه رازیانه نسبت به کلیه ترکیب‌های سنتزی فعال‌تر و دارای قدرت ضداکسایشی بالاتری می‌باشند که بیان‌گر توانایی آن‌ها جهت جایگزینی ضداکساینده‌های رایج در صنعت می‌باشد.

4- نتیجه‌گیری

با توجه به آزمون‌های انجام گرفته و تعیین اثرات ضداکسایشی عصاره دانه رازیانه در این پژوهش، می‌توان نتیجه گرفت که غلظت‌های 300 میلی‌گرم/لیتر و 400 میلی‌گرم/لیتر عصاره اتانولی دانه رازیانه دارای کارایی خوبی در کند نمودن روند اکسایش نسبت به هر دو ضداکساینده سنتزی BHA و BHT و مخلوط آن‌ها در روغن سویا می‌باشند. هم‌چنین، با افزایش غلظت عصاره‌ها، اثر ضداکسایشی آن‌ها بیش‌ترشده ولی در محدوده غلظتی مورد بررسی، رابطه خطی و مستقیم بین غلظت تیمارها و فعالیت ضداکسایشی آن‌ها در روغن سویا دیده نشد. در نهایت می‌توان بیان کرد که دانه رازیانه دارای قدرت احیاکنندگی می‌باشد. این ویژگی به دلیل حضور ترکیب‌های فنولی و سایر ترکیب‌های ضداکسایشی موجود در آن است. بنابراین، عصاره دانه رازیانه پس از انجام آزمایش‌های تکمیلی می‌تواند در غلظت‌های مناسب، به عنوان جایگزین طبیعی ضداکساینده‌های سنتزی BHA و BHT در صنعت به‌کار رود.

منابع

[1] Yanishlieva-Maslarova NV. (2001). Inhibiting oxidation, In: Antioxidants in Food. Pokorny J, Yanishlieva N, Gorden M. Eds. *Woodhead Publishing Ltd. Cambridge*, UK, pp. 22–70.

[2] Martinez-Tome, M., Jimenez, A., Ruggieri, S., Frega, N., Strabbioli, R. & Murcia, M. (2001). Antioxidant properties of mediterranean spices compared with common food additives. *Journal of Food Protection*, 64:1412–1419.

[3] Kahl R and Kappus H. (1993). Toxicity of synthetic antioxidants BHT and BHA in comparison with natural antioxidants vitamin E. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 196: 329- 338.

[4] Namiki M. (1990). Antioxidants, antimutagens in food. *Journal of Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29(4): 273-300.

[5] Kulisic T, Radonic A and Katalinic V.(2004). Use of different methods for testing antioxidative of oregano essential oil. *Journal of Food Chemistry*, 85: 633-640.

[6] Marino, S.D., Gala, F., Borbone, N. Zollo, F. Vitalini, S. Visioli, F. Iorizzi, M. (2007). Phenolic glycosides from *Foeniculum vulgare* fruit and evaluation of antioxidative activity. *Journal of Phytochemistry*, 68: 1805–1812.

[7] Anonymous.(1390). Agricultural statistics of Ministry of Agriculture of Iran. Available from: http://www.maj.ir.

[8] Guillen MD and Manzanos MJ. (1996). A study of several parts of the plant *Foeniculum vulgare* as a source of compounds with industrial interest. *Journal of Food Research International*, 29(1):85-88.

[9] Pokorny J, Yanishlivea N, and Gordon M. (2001). *Antioxidants in food.* CRC Press, 380p.

[10] Barros L, Heleno SA, Carvalho AM, Ferreira ICFR. (2009). Systematic evaluation of the antioxidant potential of different parts of *Foeniculum vulgare* Mill. from Portugal. *Journal of Food and Chemical Toxicology*, 47: 2458–2464.

[11] Sanchez-Mareno C, Larrauri JA, Sauro-Calixto F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 76:270-276.

[12] Yanishlieva, NV, Marinova EM. (1998). Activity and mechanism of action of natural antioxidants in lipids. *Journal of Recent Research and Development in Oil Chemistry*, 2: 1–14.

[13] Mata AT, Proenc C, Ferreira AR, Serralheiro MLM, Nogueira JMF, Arau´ jo MEM. (2007). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Journal of Food Chemistry*, 103: 778–786.

[14] Hinneburg I, Damien Dorman HJ, Hiltunen R . (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Journal of Food Chemistry*, 97: 122–129.

[15] Singh GS, Maurya MP, Lampasona DE, Catalan C. (2006). Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. *Journal of Food Control*, 17: 745–752.

[16] Popovich KM. (2008). The influence of natural antioxidants on the oxidative stability of iodine-fortified sunflower oil in the process of storage. *Journal of Surface Engineering and Applied Electrochemistry*, 44(5): 415-421.

[17] Lucinewton SM, Raul NCJr, Mirian BS, Lin CM, Angela AM. (2005). Supercritical fluid extraction from fennel (*Foeniculum vulgare*): global yield, composition and kinetic data. *Journal of Supercritical Fluids*, 35: 212–219.

[18] Tahami F, Basiri A. (1391). Evaluation of antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extract in sunflower oil. J*ournal of Food Technology and Nutrition*, 1(10):71-78.

[19] Singh BH. (2002). Extraction of phenolic compounds from red grape marce for using as food lipid antioxidant. *Journal of Food Chemistry*, 66: 209-15.

[20] Anonymous. (1384). ISIRI 3608. *Antioxidants. Institute of Standards and Industrial Research of Iran*.

[21] Bandoniene D, Venskutonis PR, Gruzdiene D, & Murkovic M. (2002). Antioxidant activity of Sage (*Salvia officinalis L.*), Savory (*Satureja hortensis L.*) and Borage (*Borago officinalis L.*) extracts in rapeseed oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104: 286–292.

[22] Mohagheghi Samarin, A., Poorazarang, H., Elhamirad, A. H., Dezashibi1, Z., Hematyar, N. (2011). Extraction of phenolic compounds from potato peel (*Ramus variety*) with solvent and ultrasound-assisted methods and evaluation of its antioxidant activity in soybean oil. *Journal of Food Science and Technology*, 8(1): 81-91.

[23] Abdalla AE, Roozen JP. (1999). Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Journal of Food Chemistry*, 64(3):323-329.

[24] Shahidi, F. & Zhong, Y. (2005). Lipid Oxidation: Measurement Methods, Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 6th Ed., Six Volume Set. *Memorial University of Newfoundland, Canada*.

[25] Proestos C, Boziaris IS, Nychas GJE, Komaitis M.(2006). Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Journal of Food Chemistry*, 95: 664-671.

[26] AOCS. (1998). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society, 5th Ed., pp. 8–53. AOCS Press.

[27] IUPAC.(1987). International Union of Pure and Applied Chemistry, Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives. Blackwell Scientific Publishers, 7th Ed.

[28] Shahidi F, Wanasundara UN. (2002). Methods for Measuring Oxidative Rancidity in Fats and Oils. Food lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology. 2nd Ed. New York: Marcel Dekker, pp. 465–487.

[29] Yekrang A., Javanmard M. (2009). Evaluation of antioxidant activity of grapefruit seed extract on the stability of anchovy oil. *Journal of Food Technology and Nutrition*, 9 (1): 49-60.

[30] SamsamShariat H. (1371). Extraction and extraction of medicinal plants and methods to identify and evaluate them. Maani Eds. Isfahan. 258 pp.

[31] Suhaj M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: A review. *Journal of Food Compos Anal*, 19: 531-7.

[32] Beaux D, Fleurentin J, Mortier F. (1997). Diuretic action of hydroalcohol extract of *Foeniculum vulgare* var. dulce (D.C.) roots in rats. *Journal of Phytotherapy Research*, 11: 320–322.

[33] Oktay MI, Gulcin O, Kufrevioglu I. (2003). Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *Journal of Lebensm.-Wiss. U.-Technol*, 36: 263-271.

[34] Rouzbehan Y, Alipour D, Barzegar M, Azizi MH. (2008). Antioxidant activity of phenolic compounds of grape pomace. *International Journal of Food Science and Technology*, 5(3): 69-74.

[35] Gharekhani M., Ghorbani M., Ebrahimzadeh M.A. (1388). Effect of nettle (*Urtica dioica*) leaves extract on the inhibition of soybean oil oxidation. *Electronic Journal of Food Processing and Preservation*, 1(2): 85-102.

[36] Sotirios K, and Vassiliki O. (2005). Antioxidation properties of natural carotenoid against the AAPH-initiated oxidation of food emulsion. J*ournal of Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7: 132-139.

[37] Kammal-Eldin A., and Appelqvist L. (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Journal of Lipids*, 31: 671-701.

[38] Fatemi H.(1378). Food Chemistry. *Enteshar corporation Eds*. 480pp.

[39] Armando, C., Maythe, S., Beatriz N.P. (1998). Antioxidant activity of Grapefruit seed extract on vegetableb oils. *Journal of the Science of Food and Agricalture*, 77(4): 463-467.

[40] Shahidi, F. & Naczk, M. (2003). *Phenolics in food and nutraceuticals*. CRC Press. pp: 403-426.

[41] Samadloiy H.R., Azizi M.H.,Barzegar M.(2007). Antioxidative effect of pomegranate seed phenolic componends on soybean oil. *Journal of Agricaltural Sciences and Natural Resources*, 14(4):193-200.