فصلنامه فناوری‌های نوین غذایی، دوره ۵، شماره ۳، صفحه ۵۰۷-۴۹۹، بهار ۱۳۹۷

# بررسی اثر افزودن عصاره متانولی پوست سبز بنه (*Pistacia atlantica*) بر پایداری اکسایشی روغن سویا

نسیم دهقان[1]، حسن برزگر[*2]، محمد امین مهرنیا[2]، حسین جوینده[3]

1. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
2. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
3. دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

(تاریخ دریافت: 96/8/20، تاریخ آخرین بازنگری: 96/10/9، تاریخ پذیرش: 96/10/24)

## چکیده

امروزه با توجه به خاصیت پاد اکسنده‌های طبیعی در جلوگیری از عملکرد رادیکال‌های آزاد و اثرات نامطلوب پاد اکسنده‌های سنتزی کاربرد آن‌ها در صنایع غذایی بیش‌تر مورد توجه واقع شده است. در این پژوهش اندازه‌گیری ترکیبات فنلی و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره حاصل از استخراج متانولی پوست بنه (*Pistacia atlantica*) و اثر پاد اکسندگی آن بر روغن سویا مورد بررسی قرار گرفت. قدرت پاد اکسندگی عصاره ذکر شده به کمک آزمون‌های اندازه‌گیری قدرت مهار رادیکال آزاد به دو روش ABTS و DPPH، اندازه‌گیری قدرت احیا کنندگی آهنIII و اندازه‌گیری ترکبیات فنلی کل به روش فولین-سیوکالتو انجام شد. سپس عصاره استخراج شده در چهار سطح 100، 250، 500 و 1000 ppm به همراه یک نمونه حاوی پاد اکسنده سنتزی BHT به‌عنوان نمونه شاهد، به روغن سویای تصفیه شده بدون پاد اکسنده اضافه شد. نمونه‌ها به مدت 12 روز در دمای 60 °C قرار گرفتند و عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در روزهای 2، 4، 6، 8، 10 و 12 اندازه‌گیری شد. میزان $IC_{50}$ در آزمون DPPH و ABTS به‌ترتیب در غلظت‌های 150 و 500 ppm عصاره مشاهده شد. در روز دوازدهم اعداد تیوباربیتوریک اسید در نمونه حاوی 1000 ppm عصاره و نمونه حاوی 200 ppm BHT به‌ترتیب 78/27±5/937 و 491/909± 2/720 mg مالون آلدهید و اعداد پراکسید در این دو نمونه به‌ترتیب 19/98± 0/01 و 121± 0/816 mEq/kg پراکسید روغن رسید. طبق نتایج این پژوهش فعالیت پاد اکسندگی وابسته به غلظت عصاره بوده و در غلظت‌های بالاتر میزان مهار رادیکال آزاد بیش‌تر مشاهده شد. هم‌چنین با گذشت زمان در نمونه‌های حاوی عصاره نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی قدرت مهار اکسیداسیون بالاتر بود.

**واژه‌های کلیدی: بنه، ترکیبات فنولیک، پاد اکسنده، رادیکال آزاد، پایداری اکسایشی.**

* نویسنده مسئول: hbarzegar@ramin.ac.ir

## 1- مقدمه

ترکیبات پاد اکسنده به‌طور عمده برای به تاخیر انداختن و یا جلوگیری از اکسیداسیون بنیان‌های آزاد چربی‌ها و روغن‌ها که باعث به‌وجود آمدن بوهای نامطبوع و طعمی که تحت عنوان تندی یا رنسیدیتی شناخته می‌شود، به‌کار می‌روند. بیست ترکیب پاد اکسنده تایید شده وجود دارد که مهم‌ترین آن‌ها، بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA)، بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT)، ترسیو بوتیل هیدروکینون (TBHQ) و توکوفرول می‌باشند. این فراورده‌ها به تنهایی و یا به‌صورت ترکیب با اسیدهای تقویت کننده به‌کار برده می‌شود. علی‌رغم وجود پاد اکسنده‌های مختلف درپلاسما، سیستم دفاعی بدن به تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در بدن نیست، به همین جهت نیاز به تامین آنتی‌اکسیدان از منابع خارجی دارد که از طریق منابع غذایی تامین می‌شود [1]. پاد اکسنده‌های طبیعی مانند ترکیبات فنولی به‌دلیل فواید آن‌ها برای سلامتی انسان، کاهش ریسک بیماری‌های کشنده توسط کاهش استرس اکسیداتیو و جلوگیری از اکسیداسیون ماکرومولکول‌ها اهمیت بسیار زیادی دارند [2]. ویژگی‌های پاد اکسندگی ترکیبات فنلی عمدتا ناشی از قدرت احیا کنندگی و ساختار شیمیایی آن‌هاست که آن‌ها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس و یون‌های فلزی و خاموش کردن ملکول‌های اکسیژن سه‌گانه می‌سازد. ترکیبات فنلی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد، واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند [3]. علاوه‌بر فعالیت پاد اکسندگی مطالعات متعددی فعالیت ضد میکروبی فنول‌ها و عصاره‌های فنولی را اثبات کرده است که باعث می‌شود جایگزین‌های خوبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها و نگه‌دارنده‌های شیمیایی باشند [4]. بنه یکی از منابع طبیعی خدادای کشور ایران است که میوه آن درصد بالایی روغن دارد. این گیاه از گونه‌های وحشی پسته است. پسته با نام علمی *Pistacia* جزء خانواده *Anacardiaceae* طبقه بندی می‌شود که شامل یازده گونه است. سه گونه پسته در ایران وجود دارد که شامل پسته خندان، *Pistacia Vera*، بنه، *Pistacia atlantica* و خنجوک، *Pistacia khinjuk* می‌باشد. انتشار بنه از جزایر قناری و کشورهای ساحل دریای مدیترانه شروع می‌شود و تا آسیای صغیر، سوریه، قفقاز، ایران، افغانستان و پاکستان امتداد می‌یابد. بنه مساحت 3000000-2500000 هکتار در سراسر ایران را به خود اختصاص داده است. بنه در حد فاصل استان‌های فارس و کردستان به‌صورت انبوه و در بقیه نقاط کشور به‌صورت پراکنده دیده می‌شود که شامل سه رقم موتیکا، کردیکا و کابولیکا می‌باشد[5]. ترکیب اسید چرب غالب در پوسته بیرونی و مغز هسته گونه بنه، به‌ترتیب پالمیتیک اسید 28 و 12 درصد، پالمیتولئیک اسید 1/5 و 0/5٪ اولئیک اسید 48 و 55٪، لینولئیک اسید 18 و 27٪ و لینولنیک اسید 0/8 و 0/5٪ است[6]. میزان ترکیب اسیدهای چرب موجود در بنه بهتر از خنجوک گزارش شده است به‌طوری که میزان اسیدهای چرب اولئیک، پالمیتیک، پالمتولئیک، لینولئیک، استئاریک و لینولنیک در بنه به‌ترتیب 52/03، 22/5، 7/74، 5/35، 2/39 و 1/16٪ بیان شده است[7]. مطابق پژوهش‌های عباس‌پور و همکاران که بر روی پنج گونه بنه که از غرب جمهوری آذربایجان، استان‌های کردستان، کرمانشاه و ایلام در ایران جمع‌آوری شده بود، ترکیبات فنولی و محتویات فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره بنه با استفاده از روش‌های مختلف از جمله FRAP، DPPH و نیتریک اکسید اندازه‌گیری شد و این آزمون‌ها نشان دادند که مجموع ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره پوست سبز به‌طور معناداری بالاتر از پوسته سخت و عصاره هسته بود. در عصاره پوسته ضریب همبستگی مثبت بین محتوی فنلی کل FRAP ($R^2$=0.9) و DPPH ($R^2$=0.66) مورد سنجش قرار گرفت، که نتایج نشان دادند بالاترین بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی از عصاره پوسته مربوط به میزان بالای ترکیبات فنلی آن است [8]. بنه دارای نقش مهمی در طب سنتی بوده است. در درمان اگزما، عفونت گلو، سنگ کلیه و آسم و هم‌چنین به‌عنوان قابض، ضدالتهاب، ضدتب، ضدباکتری، ضدویروس استفاده می‌شود[9]. صمغ اولئورزینی این گیاه برای ساخت آدامس در ایران استفاده شده و به‌طور سنتی به‌عنوان خوشبوکننده دهان به‌کار می‌رود[10].

## 2- مواد و روش‌ها

### 2-1- مواد اولیه

گونه گیاهی بنه مورد مطالعه از میوه درختان بنه در شهرستان ممسنی استان فارس جمع‌آوری شد. میوه‌ها در سایه و با انجام عمل هوادهی خشک گردیدند و تا زمان آزمون در دمای 5-4 °C

نگه‌داری شدند. روغن سویای تصفیه شده بدون آنتی‌اکسیدان از شرکت نازگل کرمانشاه خریداری شد و تا زمان آزمایشات در دمای زیر صفر نگه‌داری شد.

## 2-2- مواد شیمیایی

پاد اکسنده BHT، یدید پتاسیم، کربنات سدیم، تیوسولفات سدیم پنج آبه، تری کلرو استیک اسید، TBA، متانول، اسید گالیک معرف فولین سیوکالتو، 2 و 2 آزینو بیس 3 اتیل بنزو تیازولین 6 سولفونیک اسید از شرکت مرک آلمان، رادیکال 2-2دی فنیل-1 پیکریل هیدرازیل، در این تحقیق از شرکت سیگما و اتانول 96٪ از شرکت زکریا جهرم ایران، استیک اسید و متانول از شرکت کیان کاوه تهران ایران، کلروفرم از شرکت سامچون کره تهیه گردید.

## 3-2- آماده سازی نمونه‌ها و تهیه عصاره

جهت تهیه عصاره از روش رهمن و همکاران با اندکی تغییرات استفاده گردید [11] . نمونه‌های بنه ابتدا با سایش بر روی سطح الک پوست گیری شدند. پوست‌های جداسازی شده با نسبت 1 به 4 وزنی-حجمی با متانول مخلوط گردید و به مدت 48 ساعت در مکان تاریک بر روی شیکر با دور زیاد قرار داده شد. سپس مخلوط نمونه و متانول از کاغذ صافی واتمن شماره 42 عبور داده شد. برای جدا کردن حلال از نمونه از دستگاه روتاری مدل N-1000W Auto jackNAJ-160 استفاده گردید. در پایان محلول غلیظ عصاره به‌منظور خشک شدن نهایی به دستگاه آون و دمای 40°C انتقال داده شد. عصاره خشک شده با درصد استخراج 9/6±1/3 تا زمان استفاده، به مدت دو هفته بعد از استخراج ) در یخچال نگه‌داری شد.

## 4-2- اندازه‌گیری ترکیبات پوست بنه

ترکیبات شیمیایی پوست از جمله درصد پروتئین، روغن، خاکستر و رطوبت با استفاده از روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد[12].

## 5-2- بررسی کاربرد عصاره متانولی پوست بنه به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در روغن

جهت انجام آزمون از روش قهفرخی و همکاران با اندکی تغییرات استفاده شد[13]. عصاره متانولی پوست سبز بنه در چهار سطح 100، 250، 500 و 1000 ppm و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در سطح 200 ppm به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت 12 روز در دمای 60°C قرار داده و در نهایت عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید طی روزهای 2، 4، 6، 8، 10 و 12 اندازه‌گیری شد.

## 6-2-اندازه‌گیری فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

جهت انجام آزمون DPPH از روش برند-ویلیامز و همکاران با اندکی تغییرات استفاده شد[14]. در این آزمون 0/1 ml نمونه با 2/9میلی لیتر از DPPH، 0/1 Mm در متانول، مخلوط و سپس در دمای اتاق و مکان تاریک به مدت 30 دقیقه قرار داده شد. سپس میزان جذب نمونه‌ها در مقابل نمونه شاهد (متانول) در طول موج 515 nm با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل بر حسب درصد بازدارندگی از طریق رابطه (1) محاسبه گردید.

$$\text{درصد بازدارندگی} = [(A_{blank}-A_{sample}) / A_{blank}]\times 100 \qquad (1)$$

$A_{blank}$ و $A_{sample}$ به‌ترتیب میزان جذب نمونه شاهد و عصاره در طول موج 515 nm هستند. سپس با توجه به درصد بازدارندگی نقاط مختلف میزان $IC_{50}$ محاسبه می‌شود.

## 7-2- اندازه‌گیری فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS

به‌منظور تعیین فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS از روش رابرت و همکاران استفاده شد[15]. برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی با رادیکال‌های آزاد ABTS ابتدا رادیکال ABTS+ تهیه گردید. به این صورت که یک محلول آبی از ABTS به غلظت 7 Mm تهیه و به این محلول، پتاسیم پرسولفات اضافه شد تا غلظت نهایی آن به 2/45 Mm در محلول برسد. محلول حاصل در شرایط دمای اتاق و تاریکی به مدت 16 ساعت قرار داده شد. قبل از استفاده از کاتیون رادیکال ABTS+ لازم است به حدی رقیق سازی توسط متانول یا اتانول انجام شود تا جذب معرف در طول موج 734 nm در محدوده جذبی 0/02± 0/7 باشد. سپس 30 µl از نمونه (عصاره یا استاندارد) به 3 ml از

محلول رادیکال ABTS اضافه کرده و پس از گذشت 6 دقیقه به دستگاه اسپکتوفتومتر انتقال و اعداد مورد نظر ثبت گردید.

### 2-8- بررسی قدرت احیاءکنندگی آهن سه ظرفیتی FRAP

جهت بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی-احیاءکنندگی فریک از روش بنزی و استراین با اندکی تغییر استفاده شد[16]. تست FRAP بر پایه توانایی ترکیبات فنلی در احیای $Fe^{3+}$ به $Fe^{2+}$ استوار می‌باشد[17]. در این آزمون 10 µl نمونه آزمایشی با 300µl معرف FRAP تازه مخلوط شده و میزان جذب در 593nm پس از 8 دقیقه تعیین گردید. اعداد ثبت شده بر حسب معادل ترولکس گزارش شد.

### 2-9- اندازه گیری مقدار ترکیبات فنولی تام عصاره پوست سبز بنه

میزان کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتو با روش سینگلتون و رسی اندازه گیری شد [18]. در این آزمون 2/5 ml از محلول فنل با 1 ml از نمونه مخلوط و بعد از گذشت 6 دقیقه 2/5 ml کربنات سدیم 7٪ اضافه گردید و بعد از مدت زمان یک ساعت به دستگاه اسپکتوفتومتر انتقال و در طول موج 725 nm اعداد مورد نظر ثبت گردید. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده گردید. میزان کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره بر حسب اسید گالیک و با استفاده از معادله به دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج بر حسب معادل اسید گالیک بیان شد.

### 2-10- اندازه‌گیری اکسیداسیون روغن برحسب تیوباربیتوریک اسید

عدد تیوباربیتوریک‌اسید به‌عنوان شاخصی از تشخیص ترکیبات ثانویه اکسیداسیون روغن‌ها است که با استناد به روش باتسگلو و همکاران تعیین شد[19]. در این آزمون یک گرم از نمونه را به لوله فالکون انتقال داده و 2/5 ml سی‌سی از BHT (0/8 درصد در n-هگزان)، 4 ml از تری کلرو استیک اسید (5 درصد ) اضافه کرده و 30 ثانیه با سرعت زیاد تکان داده شد. سپس لوله‌ها به مدت 5 دقیقه به سانتریفوژ با دور 3000 g انتقال داده شد. پس از آن فاز بالایی را دور ریخته و فاز پایینی با محلول تری کلرو استیک اسید به حجم 5 ml رسانده و مجددا شیک کرده، سپس 2/5 ml از نمونه را با 1/5 ml از محلول TBA (0/8 درصد) مخلوط و پس از قرار گرفتن به مدت 10 دقیقه در آب با دمای 100 °C و ظهور رنگ صورتی به آب سرد انتقال و 45 دقیقه در دمای اتاق نگه‌داری و سپس جذب در طول موج 521 nm با دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد. در پایان میزان مالون‌دی‌آلدهید با رسم منحنی استاندارد گزارش شد.

### 2-11- آزمون پراکسید

اندازه‌گیری پراکسید به روش تیتراسیون یدومتری انجام شد[20].

### 2-12- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل مربوط به آزمون‌های شیمیایی در قالب طرح کاملا تصادفی صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها در سه تکرار و با استفاده از نرم‌افزار SPSS 23 و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel 2013 انجام گرفت.

## 3- نتایج و بحث

### 3-1- ترکیبات شیمیایی پوست بنه

مقدار روغن، پروتئین، خاکستر و رطوبت نمونه‌های پوست سبز بنه در جدول (1) ارائه شده است. مقدار روغن در پوست سبز حدود 53٪ بود نتایج به‌دست آمده با نتایج فرهوش و همکاران که مقدار روغن را در پوست سبز پسته وحشی گونه *P. atlantica* حدود 30٪ به‌دست آوردند تفاوت دارد[21]. مرتضوی و همکاران مقدار روغن را در پوست سبز پسته وحشی گونه *P. khinjuk* حدود 84٪ و در مغز هسته حدود 47٪ گزارش کردند[22] از این نظر می‌توان گفت پسته وحشی منبع خوبی از روغن با اسیدهای چرب غیراشباع و ضروری برای بدن است[ 23]. طبق نتایج جدول (1) مقدار پروتئین موجود در نمونه‌های پوست سبز بنه حدود 1٪ به‌دست آمد که با نتایج مطالعه مرتضوی و همکاران بر روی گونه خنجوک مغایرت دارد

[22]. طبق نتایج کوسکونر و همکاران مقدار پروتئین در پسته وحشی گونه *P. vera* ، 20٪ می‌باشد[24]. میزان خاکستر حدود 3٪ گزارش شد که با نتایج مرتضوی و همکاران مطابقت داشت [22].

## 2-3- بررسی فعالیت پاد اکسندگی عصاره متانولی پوست سبز بنه

جدول (2) نشان دهنده ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره‌ی متانولی موجود در پوست سبز بنه است. همان‌طور که ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS نشان داد، افزایش غلظت، تاثیر معنی‌داری بر مهار رادیکال آزاد دارد یعنی فعالیت مهار رادیکال آزاد غلظت‌های مختلف عصاره وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت عصاره میزان مهار رادیکال آزاد بیش‌تر می‌گردد. برای مقایسه فعالیت مهار رادیکال آزاد عصاره‌ها از فاکتوری به نام $IC_{50}$ استفاده شده است که طبق تعریف $IC_{50}$ به آن غلظت از عصاره گفته می‌شود که در این غلظت نیمی از رادیکال‌های آزاد مهار شده است.

## 3-3- آزمون گرم خانه گذاری

روغن سویا به‌دلیل دارا بودن مقادیر زیادی از اسیدهای چرب چند غیر اشباع نظیر اسید لینولئیک مستعد اکسیداسیون است و مانند سایر روغن‌ها زمانی که در معرض نور، دمای بالا و اکسیژن قرار می‌گیرد با سرعت بیش‌تری اکسید می‌شود. نتایج آنالیز آماری نشان داد که اثر تیمار، اثر زمان و اثر متقابل تیمار در زمان بر میزان عدد پراکسید و عدد تیوباربیتوریک اسید در سطح 5٪ معنی‌دار بوده است. جدول (3) تغییرات روزانه مقادیر اعداد پراکسید در غلظت‌های مختلف عصاره پوست سبز بنه و پاد اکسنده سنتزی BHT را نشان می‌دهد افزایش میزان پراکسید شرایط را برای ورود به مرحله اتواکسیداسیون (مرحله توسعه) فراهم می کند[25]. همان‌طور که در جدول (3) مشاهده می‌شود میزان پراکسید در طی افزایش زمان به‌طور چشم‌گیری افزایش یافته است. مطابق با آزمون دانکن در سطح احتمال 5٪ تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های دارای غلظت‌های مختلف عصاره پوست سبز بنه با نمونه حاوی پاد اکسنده سنتزی BHT وجود داشت. با افزایش میزان غلظت عصاره عدد پراکسید به میزان کم‌تری افزایش یافته که این امر می‌تواند ناشی از افزایش ترکیبات فنلی موجود در عصاره با افزایش غلظت آن باشد. در این میان همان‌طور که در جدول فوق مشاهده می‌شود عملکرد غلظت 100 ppm عصاره نیز از عملکرد 200 ppm، BHT بالاتر بوده است. نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش‌های قادری قهفرخی و همکاران [13] که روی فعالیت پاد اکسندگی عصاره متانولی دو واریته بلوط *Q. branti var persica* و *Q. castaneifolia var castaneifolia* در روغن آفتابگردان و هم‌چنین با نتایج روشن و اسماعیل زاده کناری که تاثیر پاد اکسندگی عصاره برگ توت فرنگی در پایداری سازی روغن آفتابگردان طی شرایط ذخیره‌سازی بررسی کردند مطابقت داشت [26].

به‌طور کلی هرچه درجه غیراشباعیت روغن‌ها بیش‌تر باشد،

**جدول (1)** درصد ترکیبات شیمیایی پوست سبز بنه

**Table 1** Chemical components of Pistacia atlantica hull

| نمونه Sample | رطوبت Moisture (%) | پروتئین Protein(%) | خاکستر Ash (%) | چربی Fat (%) |
|---|---|---|---|---|
| پوست سبز بنه *P. atlantica hull* | 8.16±0.25 | 7±1.1 | 3.3±0.38 | 53±55 |

**جدول (2)** ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست بنه

**Table 2** Phenolic and antioxidant compounds of Pistacia atlantica hull extract

| میزان فنل کل Total Phenolics (mg/ml) | $IC_{50}$ DPPH | $IC_{50}$ ABTS | FRAP (mcq/ml) |
|---|---|---|---|
| 113.61±1.59 | 150 | 500 | 1254.665±2.165 |

روغن آمادگی بیش‌تری برای اکسیداسیون دارد. وقتی میزان پراکسید به حد معینی برسد تغییرات مختلفی صورت گرفته و مواد فرار آلدهیدی و کتونی ایجاد می‌شوند که در ایجاد بو و طعم نامطبوع مواد چرب مؤثر می‌باشند و باعث بالا رفتن اندیس تیوباربیتوریک اسید می‌گردد[27]. بنابراین در روزهای پایانی، از تجزیه پراکسیدها، مالون دی آلدهیدها تولید می‌شوند که بیانگر مراحل ثانویه اکسیداسیون می‌باشد. از آن‌جا که مالون آلدهید از تجزیه هیدروپراکسیدها حاصل می‌گردد، در روزهای ابتدایی مقدار تیوباربیتوریک اسید پایین است، اما با گذشت زمان و افزایش مقدار محصولات اولیه اکسیداسیون و شروع تجزیه این محصولات مقدار این اندیس نیز افزایش یافت. جدول (4) تغییرات روزانه مقادیر اعداد تیوبابیتوریک اسید در غلظت‌های مختلف عصاره پوست سبز بنه و پاد اکسنده سنتزی BHT را نشان می‌دهد. این شاخص نیز مانند عدد پراکسید با افزایش غلظت عصاره‌ها کاهش یافته است. در این آزمون بین روزهای دوم و چهارم نگه‌داری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده که می‌توان گفت تا روز چهارم هنوز پراکسیدها به اندازه‌ای تجزیه نشده که مالون دی آلدهید کافی تولید گردد. هم‌چنین تفاوت معنی‌داری بین غلظت 500 و 1000 ppm عصاره پوست سبز بنه در روند ممانعت از تشکیل مالون دی آلدهید مشاهده نشد. نتایج این پژوهش با نتایج صمدلوئی و همکاران که اثر پاد اکسندگی ترکیبات فنولیک هسته انار بر روغن سویا طی زمان نگه‌داری دوازده روزه در دمای 60 °C [28] و هم‌چنین با نتایج رضایی ارمی و همکاران که پژوهش خود را با عنوان فعالیت پاد اکسندگی عصاره پوست گردو واریته تویسرکانی و مقایسه فعالیت ضدرادیکالی آن با پاد اکسنده‌های سنتزی طی زمان 16 روز در دمای 60 °C بررسی بر روی روغن سویا داشتند مطابقت داشت [29]. سینگ و همکاران اثر پاد اکسندگی اسانس برگ دارچین را در روغن خردل با اندازه گیری عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید مورد بررسی قرار دادند که نتایج نشان داد اسانس دارچین در سطح 0/02 درصد دارای اثر بیش‌تری نسبت به BHA، BHT و پروپیل گالات است[30]. نتایج به‌دست آمده از این آزمون و مقایسه آن با نتایج سایر محققین فعالیت ضد اکسایشی عصاره پوست سبز

**جدول (3)** مقادیر پراکسید روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی پوست بنه در مقایسه با روغن حاوی BHT در آزمون گرم‌خانه گذاری (دمای°C 60، 12 روز)

**Table 3** Proxide values of soy bean oil containing different concentrations of methanolic Pistacia atlantica hull extract compared with BHT containing oil (60°C, 12 days)

| زمان نگه‌داری (روز) (Storage time (day | غلظت عصاره متانولی (Methanolic extract Conc. (ppm | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | BHT | 100 | 250 | 500 | 1000 |
| روز دوم 2thday | 5.473± 0.404 Aa | 5.96 ±0.014 Aa | 5.46±0.24 Aa | 5.57±0.334 Aa | 5.96±0 Aa |
| روز چهارم 4th day | 12.48± 0.396Bd | 11.95± 0.0009Bc | 10.46±0.047 Bb | 10.066±0.09 Bb | 8.83±0.235 Ba |
| روز ششم 6th day | 23.916± 0.047 Cd | 15.943±0.012Cc | 11.98± 0.012 Cb | 9.983± 0.012 Ba | 9.95±0.0009 Ca |
| روز هشتم 8th day | 99.566± 0.320 Dd | 69.79±0.057Dc | 29.88±0.048 Db | 19.9±0.0009 Cb | 9.95±0.0009 Ca |
| روز دهم 10th day | 104.2± 3.919 Ee | 84.74± 4Ed | 39.84±0.065 Ec | 21.44±1.273 Db | 15.94± 0.02Da |
| روز دوازدهم 12th day | 121± 0.816 Fe | 90.113±1.816 Fd | 39.88±0.032 Ec | 29.91±0.024 Eb | 19.98±0.01 Ea |

حروف بزرگ اختلاف معنی‌دار در روز، حروف کوچک اختلاف معنی‌دار در غلظت و حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد است.

بنه را نشان می‌دهد.

## 4- نتیجه گیری

ترکیبات پاد اکسنده به‌طور قابل توجهی در منابع گیاهی وجود دارد. امروزه پاد اکسنده‌های سنتزی با وجود کاربرد فراوان به‌دلیل اثرات نامطلوب بر سلامت انسان و سرطان‌زا بودن تمایل روز افزون بشر را به استفاده از پاد اکسنده‌های طبیعی به وجود آورده است. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره پوست سبز بنه به علت داشتن ترکیبات فنلی و پاد اکسنده فراوان می‌تواند یکی از جایگزین‌های مناسب پاد اکسنده‌های سنتزی در مواد غذایی برای جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها باشد.

## 5- تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان بابت حمایت مالی انجام این پایان‌نامه، که مقاله حاضر بخشی از نتایج آن بود، تقدیر و قدردانی می‌نمایند.

**جدول (3)** مقادیر اعداد تیوباربیتوریک اسید روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی پوست بنه در مقایسه با روغن حاوی BHT در آزمون گرم‌خانه گذاری (دمای°C 60، 12 روز)

**Table 3** TBA values of soy bean oil containing different concentrations of methanolic Pistacia atlantica hull extract compared with BHT containing oil (60°C, 12 days)

| زمان نگه‌داری (روز) (Storage time (day | غلظت عصاره متانولی (Methanolic extract Conc. (ppm | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | BHT | 100 | 250 | 500 | 1000 |
| روز دوم 2thday | 23.121 ±0.857Ac | 16.45 ±1.484 Ab | 15.848±0.428Ab | 11.90±1.148 Ab | 9.182±0.742 Aa |
| روز چهارم 4th day | 24.636±2.969Ac | 28.576 ±0.428Ac | 20.091±0.742Ab | 17.66± 0.428Bab | 14.636±0.74Aa |
| روز ششم 6th day | 131.3±4.088Bc | 76.757±1.13Bb | 44.03± 1.868Bb | 26.757±2.13Ca | 35.484±2.14Ba |
| روز هشتم 8th day | 215.84±21.155Cd | 106.445±0.742Cc | 54.939±2.6Cb | 26.757±2.6Da | 37.07±1.55Ba |
| روز دهم 10th day | 250.394±11.50Cd | 107.969 ±2.38Cc | 62.21±4.088Db | 44.03±1.868 Da | 51.909±0.74 Ca |
| روز دوازدهم 12th day | 491.909±2.74Ec | 319.18 ±23.85Eb | 92.212±4.829Eab | 65.454±4.45Ea | 78.27±5.937Da |

حروف بزرگ اختلاف معنی‌دار در روز، حروف کوچک اختلاف معنی‌دار در غلظت و حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد است.

## منابع

[1] Young, I.S., Woodside, J.V. (2001). Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol*., 54(3), 176-186.

[2] Silva, B.M., Andrade, P.B., Valentaoo, P., Ferreves, F., Seabra, R.M., Ferreira, M.A. (2004). Quince (Cydonia oblonga miller) fruit (pulp, peel, and seed) and jam: antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem*., 52, 4705-4712.

[3] Pokenry, J. (2007). Are natural antioxidants better–and safer–than synthetic antioxidants?. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 109(6), 629-642.

[4] Fernandez, M., Garcia, M., Saenz, M. (1996). Antibacterial activity of the phenolic acid fraction of *Scrophularia frutescens* and *Scrophularia sambucifolia*. *J. Ethnopharmacol*., 53, 11-14.

[5] Padulosi, S., Hadj-Hassan, A. (1998). Towards a comprehensive documentation of distribution and use of Pistacia: genetic diversity in central and West Asia, North Africa and Mediterranean Europe. Report of the IPGRI Workshop, 16-26.

[6] Acheheb, H., Aliouane, R., Ferradji, A. (2012). Optimization of oil extraction from Pistacia atlantica Desf. Seeds using hydraulic press. *Asian J. Agric. Res*., 1-10.

[7] Tavakoli, J., Haddad Khodaparast, M.H. ( 2013). Evaluating the fatty acid composition of the oil from fruit hulls of two Pistacia species growing wild in Iran, *Chem. Nat. Compd*., 49.

[8] Abbaspour, N., Darvishzadeh, R., Hatamnia, A. A. (2014). Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. kurdica) fruits. *Food Chem*., 145, 306–311.

[9] Tohidi, M., Khayami, M., Nejati, V., Meftahizade, H. (2011). Evaluation of antibacterial activity and wound healing of *Pistacia atlantica* and P*istacia khinjuk*. *J. Med. Plant Res*., 5, 4310-4314.

[10] Delazar, A., Reid, R.G., Sarker, S. D. (2004). GC-MS analysis of the essential oil from the oleoresin of Pistacia atlantica. Var mutica. Chem. Nat. Compd., 40, 1.

[11] Rehman, Z., Habib, F., Shah, W. H. (2004). Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. *Food Chem*., 85, 215–220.

[12] AOAC International. 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Analytical Chemists, Washington, DC.

[13] قادری قهفرخی، م.؛ اعلمی، م. (1391) بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی دو واریته بلوط *Q. branti var persica* و *Q. castaneifolia var castaneifolia* در روغن آفتاب گردان. *علوم و صنایع غذایی ایران*، ص 117-127.

[14] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C.L.W.T., ( 1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci.Technol*., 28(1), 25-30.

[15] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med*., 26(9), 1231-1237.

[16] Benzie, I.F., Strain, J.J. ( 1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power" the FRAP assay. *Anal. Biochem*., 239(1), 70-76.

[17] Roginsky, V., Lissi, E.A. ( 2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chem*., 92(2), 235-254.

[18] Singelton, V.L., Rossi, J.L. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phsphotungestic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult*., 16, 144-153.

[19] Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J. Papageorgiou, G.E. Vassilopoulos, V.N. Mantis, A. J. ( 1994). Rapid, Sensitive, and Specific Thiobarbituric Acid Method for Measuring Lipid Peroxidation in Animal Tissue, Food, and Feedstuff Samples. *J. Agric. Food Chem*., 42, 1931-1937.

[20] پروانه، و. (1389) کنترل کیفی و آزمایش‌های شیمیای مواد غذایی. انتشارات *دانشگاه تهران*، چاپ پنجم، ص215-214.

[21] Farhoosh, R., Haddad Khodaparast, M.H., Sharif, A. (2009). Bene hull oil a highly stable and antioxidative vegetable oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*., 111, 1259-1265.

[22] مرتضوی، ح.؛ آزادمرد دمیرچی، ص.؛ محمودی، ر.؛ صوتی، م.؛ شیرمحمدی، م. (1394) بررسی ترکیبات شیمیایی و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی پوسته و هسته میوه پسته وحشی (*Pistacia Khinjuk Stocks*). نشریه *پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران*، جلد یازده، شماره 4، ص408-419.

[23] Kashaninejad, M., Mortazavi, A., Safekordi, A., Tabil, L.G. (2006). Some physical properties of Pistachio (*Pistacia vera L.*) nut and its kernel. *J. Food Eng.*, 72, 30-38.

[24] Kucukoner, E., Yart, B. (2003). some chemical characteristics of Pistacia vera varieties produced in Turkey. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*., 217, 308-310.

[25] Matthäus, B. (2006). Utilization of high-oleic rapeseed oil for deep-fat frying of French fries compared to other commonly used edible oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*., 108(3), 200-211.

[26] روشن، م.؛ اسماعیل زاده کناری، ر. (1396) بررسی تاثیر آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ توت فرنگی در پایداری سازی روغن آفتابگردان طی شرایط ذخیره‌سازی. مجله *علوم و صنایع غذایی*، دوره 14، شماره 65، ص301-309.

[27] کبیری، س.؛ سید النگی، ز. ( 1394) مقایسه ویژگی‌های آنتی اکسیدانی عصاره‌های مختلف برگ گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) حاصل از دو روش استخراج غرقابی و استخراج به کمک امواج مایکروویو و تاثیر آن بر پایداری اکسایشی روغن سویا. فصلنامه فناوری‌های نوین غذایی، سال دوم، شماره 8، ص23- 38.

[28] صمدلوئی، ح.؛ عزیزی، م. ح.؛ برزگر، م. (1386) اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک هسته انار بر روغن سویا. مجله *علوم کشاورزی و منابع طبیعی*، جلد چهاردهم، شماره 4، ص193-200.

[29] رضایی ارمی، س.؛ جعفری، م.؛ خمیری، م.؛ بیات، ه. (1391) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوسته گردو واریته تویسرکانی و مقایسه فعالیت ضدرادیکالی آن با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی. نشریه *پژوهش‌های صنایع غذایی*، جلد 22، شماره1، ص40-49.

[30] Singh, G., Maurya, S., Delampasona, M.P. (2007). A comparison of chemical antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food Chem. Toxicol*., 45, 1650-166.