



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

نسیم دهقان^۱، حسن برزگر^{۲*}، محمد امین مهرنیا^۲، حسین جوینده^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

۲. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

۳. دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

(تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۲۰، تاریخ آخرین بازنگری: ۹۶/۱۰/۹، تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۲۴)

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 آهن III و اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل به روش فولین-سیوکالتو انجام شد. سپس عصاره استخراج شده در چهار سطح ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ 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 ۱۲ روز در دمای ۶۰ °C قرار گرفتند و عدد پراکسید و تیوباربیتریک اسید در روزهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ اندازه‌گیری شد. میزان IC₅₀ در آزمون DPPH و ABTS به ترتیب در غلظت‌های ۱۵۰ و ۵۰۰ ppm عصاره مشاهده شد. در روز دوازدهم اعداد تیوباربیتریک اسید در نمونه حاوی ۱۰۰۰ ppm عصاره و نمونه حاوی BHT ۲۰۰ ppm به ترتیب ۷۸/۲۷±۵/۹۳۷ و ۴۹۱/۹۰۹±۲/۷۲۰ mg مالون آلدئید و اعداد پراکسید در این دو نمونه به ترتیب ۰/۰۱±۱۹/۹۸ و ۰/۸۱۶±۱۲۱ 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.

۱- مقدمه

امتداد می‌یابد. بنه مساحت ۳۰۰۰۰۰۰-۲۵۰۰۰۰۰ هکتار در سراسر ایران را به خود اختصاص داده است. بنه در حد فاصل استان‌های فارس و کردستان به صورت انبوه و در بقیه نقاط کشور به صورت پراکنده دیده می‌شود که شامل سه رقم موتیکا، کردیکا و کابولیکا می‌باشد [۵]. ترکیب اسید چرب غالب در پوسته بیرونی و مغز هسته گونه بنه، به ترتیب پالمیتیک اسید ۲۸ و ۱۲ درصد، پالمیتولئیک اسید ۱/۵ و ۰/۵، اولئیک اسید ۴۸ و ۵/۵، لینولئیک اسید ۱۸ و ۲۷٪ و لینولنیک اسید ۰/۸ و ۰/۵ است [۶]. میزان ترکیب اسیدهای چرب موجود در بنه بهتر از خنجوک گزارش شده است به طوری که میزان اسیدهای چرب اولئیک، پالمیتیک، پالمیتولئیک، لینولئیک، استئاریک و لینولنیک در بنه به ترتیب ۵۲/۰۳، ۲۲/۵، ۷/۷۴، ۵/۳۵، ۲/۳۹ و ۱/۱۶٪ بیان شده است [۷]. 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 آنتی‌اکسیدانی 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 به طور 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 [۸]. بنه دارای نقش مهمی در طب سنتی بوده است. در درمان اگزما، عفونت گلو، سنگ کلیه و آسم و هم‌چنین به عنوان قابض، ضدالتهاب، ضدتب، ضدباکتری، ضدویروس استفاده می‌شود [۹]. صمغ اولئورزینی این گیاه برای ساخت آدامس در ایران استفاده شده و به طور سنتی به عنوان خوشبوکننده دهان به کار می‌رود [۱۰].

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- 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 $4-5^{\circ}C$

ترکیبات پاد اکسنده به طور عمده برای به تاخیر انداختن و یا جلوگیری از اکسیداسیون بنیان‌های آزاد چربی‌ها و روغن‌ها که باعث به وجود آمدن بوهای نامطبوع و طعمی که تحت عنوان تندی یا رنسدیتی شناخته می‌شود، به کار 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 به صورت ترکیب با اسیدهای تقویت کننده به کار برده می‌شود. علی‌رغم وجود پاد اکسنده‌های مختلف در پلاسما، 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 [۱]. پاد اکسنده‌های طبیعی مانند ترکیبات فنولی به دلیل فواید آن‌ها برای سلامتی انسان، کاهش ریسک بیماری‌های کشنده توسط کاهش استرس اکسیداتیو و جلوگیری از اکسیداسیون ماکرومولکول‌ها اهمیت بسیار زیادی دارند [۲]. ویژگی‌های پاد اکسندگی ترکیبات فنلی عمدتاً 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 [۳]. علاوه بر 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 [۴]. 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

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

۲-۲- مواد شیمیایی

پاد اکسنده BHT، یدید پتاسیم، کربنات سدیم، تیوسولفات سدیم پنج آب، تری کلرو استیک اسید، TBA، متانول، اسید گالیک معرف فولین سیوکالتو، ۲ و ۲ آزینو بیس ۳ اتیل بنزو تیزولین ۶ سولفونیک اسید از شرکت مرک آلمان، رادیکال ۲-۲ دی فنیل-۱ پیکریل هیدرازیل، در این تحقیق از شرکت سیگما و اتانول ۹۶٪ از شرکت زکریا جهرم ایران، استیک اسید و متانول از شرکت کیان کاوه تهران ایران، کلروفرم از شرکت سامچون کره تهیه گردید.

۳-۲- آماده سازی نمونه‌ها و تهیه عصاره

جهت تهیه عصاره از روش رهمن و همکاران با اندکی تغییرات استفاده گردید [۱۱]. نمونه‌های بنه ابتدا با سایش بر روی سطح الک پوست گیری شدند. پوست‌های جداسازی شده با نسبت ۱ به ۴ وزنی-حجمی با متانول مخلوط گردید و به مدت ۴۸ ساعت در مکان تاریک بر روی شیکر با دور زیاد قرار داده شد. سپس مخلوط نمونه و متانول از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ 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 به منظور خشک شدن نهایی به دستگاه آون و دمای ۴۰°C انتقال داده شد. عصاره خشک شده با درصد استخراج ۱۳±۹/۶ تا زمان استفاده، به مدت دو هفته بعد از استخراج (در یخچال نگهداری شد).

۴-۲- اندازه‌گیری ترکیبات پوست بنه

ترکیبات شیمیایی پوست از جمله درصد پروتئین، روغن، خاکستر و رطوبت با استفاده از روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد [۱۲].

۵-۲- بررسی کاربرد عصاره متانولی پوست بنه به عنوان

آنتی‌اکسیدان طبیعی در روغن

جهت انجام آزمون از روش قهفرخی و همکاران با اندکی

تغییرات استفاده شد [۱۳]. عصاره متانولی پوست سبز بنه در چهار سطح ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در سطح ۲۰۰ ppm به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۲ روز در دمای ۶۰°C قرار داده و در نهایت عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید طی روزهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ اندازه‌گیری شد.

۶-۲- اندازه‌گیری فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

جهت انجام آزمون DPPH از روش برند-ویلیامز و همکاران با اندکی تغییرات استفاده شد [۱۴]. در این آزمون ۱ ml نمونه با ۲/۹ میلی لیتر از DPPH، ۰/۱ Mm در متانول، مخلوط و سپس در دمای اتاق و مکان تاریک به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. سپس میزان جذب نمونه‌ها در مقابل نمونه شاهد (متانول) در طول موج ۵۱۵ nm با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل بر حسب درصد بازدارندگی از طریق رابطه (۱) محاسبه گردید.

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

A_{sample} و A_{blank} به ترتیب میزان جذب نمونه شاهد و عصاره در طول موج ۵۱۵ nm هستند. سپس با توجه به درصد بازدارندگی نقاط مختلف میزان IC_{50} محاسبه می‌شود.

۷-۲- اندازه‌گیری فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS

به منظور تعیین فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS از روش رابرت و همکاران استفاده شد [۱۵]. برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی با رادیکال‌های آزاد ABTS ابتدا رادیکال +ABTS تهیه گردید. به این صورت که یک محلول آبی از ABTS به غلظت ۷ Mm تهیه و به این محلول، پتاسیم پرسولفات اضافه شد تا غلظت نهایی آن به ۲/۴۵ Mm در محلول برسد. محلول حاصل در شرایط دمای اتاق و تاریکی به مدت ۱۶ 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 ۷۳۴ nm در محدوده جذبی 0.2 ± 0.7 باشد. سپس ۳۰ μ l از نمونه (عصاره یا استاندارد) به ۳ ml از

۳۰۰۰ g انتقال داده شد. پس از آن فاز بالایی را دور ریخته و فاز پایینی با محلول تری کلرو استیک اسید به حجم ۵ ml رسانده و مجدداً شیک کرده، سپس ۲/۵ ml از نمونه را با ۱/۵ از محلول TBA (۰/۸ درصد) مخلوط و پس از قرار گرفتن به مدت ۱۰ دقیقه در آب با دمای °C ۱۰۰ و ظهور رنگ صورتی به آب سرد انتقال و ۴۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس جذب در طول موج ۵۲۱ nm با دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد. در پایان میزان مالون‌دی‌آلدهید با رسم منحنی استاندارد گزارش شد.

۲-۱۱- آزمون پراکسید

اندازه‌گیری پراکسید به روش تیتراسیون یدومتری انجام شد [۲۰].

۲-۱۲- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل مربوط به آزمون‌های شیمیایی در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ 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.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ترکیبات شیمیایی پوست بنه

مقدار روغن، پروتئین، خاکستر و رطوبت نمونه‌های پوست سبز بنه در جدول (۱) ارائه شده است. مقدار روغن در پوست سبز حدود ۵۳٪ بود نتایج به دست آمده با نتایج فرهوش و همکاران که مقدار روغن را در پوست سبز پسته وحشی گونه *P. atlantica* حدود ۳۰٪ به دست آوردند تفاوت دارد [۲۱]. مرتضوی و همکاران مقدار روغن را در پوست سبز پسته وحشی گونه *P. khinjuk* حدود ۸۴٪ و در مغز هسته حدود ۴۷٪ گزارش کردند [۲۲] از این نظر می‌توان گفت پسته وحشی منبع خوبی از روغن با اسیدهای چرب غیراشباع و ضروری برای بدن است [۲۳]. طبق نتایج جدول (۱) مقدار پروتئین موجود در نمونه‌های پوست سبز بنه حدود ۱٪ به دست آمد که با نتایج مطالعه مرتضوی و همکاران بر روی گونه خنجوک

محلول رادیکال ABTS اضافه کرده و پس از گذشت ۶ دقیقه به دستگاه اسپکتوفتومتر انتقال و اعداد مورد نظر ثبت گردید.

۲-۸- بررسی قدرت احیاءکنندگی آهن سه ظرفیتی FRAP

جهت بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی-احیاءکنندگی فریک از روش بنزی و استرین با اندکی تغییر استفاده شد [۱۶]. تست FRAP بر پایه توانایی ترکیبات فنلی در احیاء Fe^{3+} به Fe^{2+} استوار می‌باشد [۱۷]. در این آزمون ۱۰ μ l نمونه آزمایشی با ۳۰۰ μ l معرف FRAP تازه مخلوط شده و میزان جذب در ۵۹۳ nm پس از ۸ دقیقه تعیین گردید. اعداد ثبت شده بر حسب معادل ترولکس گزارش شد.

۲-۹- اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی تام عصاره پوست سبز بنه

میزان کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتو با روش سینگلتن و رسی اندازه‌گیری شد [۱۸]. در این آزمون ۲/۵ ml از محلول فنل با ۱ ml از نمونه مخلوط و بعد از گذشت ۶ دقیقه ۲/۵ ml کربنات سدیم ۷٪ اضافه گردید و بعد از مدت زمان یک ساعت به دستگاه اسپکتوفتومتر انتقال و در طول موج ۷۲۵ 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.

۲-۱۰- اندازه‌گیری اکسیداسیون روغن بر حسب تیوباربیتوریک اسید

عدد تیوباربیتوریک‌اسید به‌عنوان شاخصی از تشخیص ترکیبات ثانویه اکسیداسیون روغن‌ها است که با استناد به روش باتسگلو و همکاران تعیین شد [۱۹]. در این آزمون یک گرم از نمونه را به لوله فالکون انتقال داده و ۲/۵ سی‌سی از BHT (۰/۸ درصد در n-هگزان)، ۴ ml از تری کلرو استیک اسید (۵ درصد) اضافه کرده و ۳۰ ثانیه با سرعت زیاد تکان داده شد. سپس لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه به سانتریفیوژ با دور

در زمان بر میزان عدد پراکسید و عدد تیوباربیتوریک اسید در سطح ۵٪ معنی‌دار بوده است. جدول (۳) 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 می‌کند [۲۵]. همان‌طور که در جدول (۳) مشاهده می‌شود میزان پراکسید در طی افزایش زمان به‌طور چشم‌گیری افزایش یافته است. مطابق با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ 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 ۱۰۰ ppm عصاره نیز از عملکرد ۲۰۰ ppm BHT بالاتر بوده است. نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش‌های قادری قهفرخی و همکاران [۱۳] که روی فعالیت پاد اکسندگی عصاره متانولی دو وارسته بلوط *Q. castaneifolia var castaneifolia* و *Q. branti var persica* 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 [۲۶].

به‌طور کلی هرچه درجه غیراشباعیت روغن‌ها بیشتر باشد،

[۲۲]. طبق نتایج کوسکونر و همکاران مقدار پروتئین در پسته وحشی گونه *P. vera*، ۲۰٪ می‌باشد [۲۴]. میزان خاکستر حدود ۳٪ گزارش شد که با نتایج مرتضوی و همکاران مطابقت داشت [۲۲].

۲-۳- بررسی فعالیت پاد اکسندگی عصاره متانولی پوست سبز بنه

جدول (۲) نشان دهنده ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره 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.

۳-۳- 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

جدول (۱) درصد ترکیبات شیمیایی پوست سبز بنه

Table 1 Chemical components of Pistacia atlantica hull

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

جدول (۲) ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست بنه

Table 2 Phenolic and antioxidant compounds of Pistacia atlantica hull extract

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

روغن آمادگی بیشتری برای اکسیداسیون دارد. وقتی میزان پراکسید به حد معینی برسد تغییرات مختلفی صورت گرفته و مواد فرار آلدیدی و کتونی ایجاد می‌شوند که در ایجاد بو و طعم نامطبوع مواد چرب مؤثر می‌باشند و باعث بالا رفتن اندیس تیوباربیتوریک اسید می‌گردد [۲۷]. بنابراین در روزهای پایانی، از تجزیه پراکسیدها، مالون دی آلدیدها تولید می‌شوند که بیانگر مراحل ثانویه اکسیداسیون می‌باشد. از آنجا که مالون آلدید 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 (۴) تغییرات روزانه مقادیر اعداد تیوباربیتوریک اسید در غلظت‌های مختلف عصاره پوست سبز بنه و پاد اکسند سنتری 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 آلدید کافی تولید گردد. همچنین تفاوت معنی‌داری بین غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm عصاره پوست سبز بنه در روند ممانعت از تشکیل مالون دی آلدید مشاهده نشد. نتایج این پژوهش با نتایج صمدلویی و همکاران که اثر پاد اکسندگی ترکیبات فنولیک هسته انار بر روغن سویا طی زمان نگهداری دوازده روزه در دمای ۶۰ °C [۲۸] 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 اکسندگی سنتری طی زمان ۱۶ روز در دمای ۶۰ °C بررسی بر روی روغن سویا داشتند مطابقت داشت [۲۹]. 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 ۰/۰۲ درصد دارای اثر بیشتری نسبت به BHT، BHA و پروپیل گالات است [۳۰]. نتایج به دست آمده از این آزمون و مقایسه آن با نتایج سایر محققین فعالیت ضد اکسایشی عصاره پوست سبز

جدول (۴) مقادیر پراکسید روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی پوست بنه در مقایسه با روغن حاوی BHT در آزمون گرم‌خانه گذاری (دمای ۶۰ °C، ۱۲ روز)

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

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

حروف بزرگ اختلاف معنی‌دار در روز، حروف کوچک اختلاف معنی‌دار در غلظت و حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

بنه را نشان می‌دهد. می‌تواند یکی از جایگزین‌های مناسب پاد اکسنده‌های سنتزی در مواد غذایی برای جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها باشد.

۴- نتیجه گیری

ترکیبات پاد اکسنده به‌طور قابل توجهی در منابع گیاهی وجود دارد. امروزه پاد اکسنده‌های سنتزی با وجود کاربرد فراوان به دلیل 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

۵- 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 (۳) مقادیر اعداد تیوباربتوریک اسید روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی پوست بنه در مقایسه با روغن حاوی BHT در آزمون گرم‌خانه گذاری (دمای °C ۶۰، ۱۲ 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)

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

حروف بزرگ اختلاف معنی‌دار در روز، حروف کوچک اختلاف معنی‌دار در غلظت و حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

منابع

- jam: antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 4705-4712.
- [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., Valentao, P., Ferreves, F., Seabra, R.M., Ferreira, M.A. (2004). Quince (*Cydonia oblonga miller*) fruit (pulp, peel, and seed) and
- [3] Pokenry, J. (2007). Are natural antioxidants better—and safer—than synthetic antioxidants?. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 109(6), 629-642.

- در روغن آفتاب گردان. علوم و صنایع غذایی ایران، ص ۱۱۷-۱۲۷.
- [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-phosphotungestic 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.
- [۲۰] پروانه، و. (۱۳۸۹) کنترل کیفی و آزمایش‌های شیمیایی مواد غذایی. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ پنجم، ص ۲۱۵-۲۱۴.
- [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.
- [۲۲] مرتضوی، ح؛ آزادمرد دمیرچی، ص؛ محمودی، ر؛ صوتی، م؛ شیرمحمدی، م. (۱۳۹۴) 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 ۴، ص ۴۰۸-۴۱۹.
- [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 *Pistacia 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.
- [۱۳] قادری قهفرخی، م؛ اعلمی، م. (۱۳۹۱) بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی دو وارسته بلوط *Q. castaneifolia var castaneifolia* و *Q. branti var persica*

[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.

[۲۶] روشن، م؛ اسماعیل زاده کناری، ر. (۱۳۹۶) بررسی تاثیر آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ توت فرنگی در پایداری سازی روغن آفتابگردان طی شرایط ذخیره‌سازی. مجله علوم و صنایع غذایی، دوره ۱۴، شماره ۶۵، ص ۳۰۱-۳۰۹.

[۲۷] کبیری، س؛ سیدالنگی، ز. (۱۳۹۴) مقایسه ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی 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 ۸، ص ۲۳-۳۸.

[۲۸] صمدلوئی، ح؛ عزیزی، م. ح؛ برزگر، م. (۱۳۸۶) اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک هسته انار بر روغن سویا. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد چهاردهم، شماره ۴، ص ۱۹۳-۲۰۰.

[۲۹] رضایی ارمی، س؛ جعفری، م؛ خمیری، م؛ بیات، ه. (۱۳۹۱) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوسته گردو وارپته توپسرکانی و مقایسه فعالیت ضدرادیکالی آن با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۲۲، شماره ۱، ص ۴۰-۴۹.

[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.