نشریه علمی ترویجی فناوری گیاهان دارویی ایران
دوره۵- شماره ۱- پیاپند ۸- بهار و تابستان ۱۴۰۱

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گلبرگ زعفران در سیستم‌های مدل روغنی

Investigating the antioxidant activity of saffron petal extract in oil model systems

سودابه عین افشار*

۱. استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران ، (نگارنده مسئول)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۳ - شناسانهٔ برنمود رقمی:10.22092/mpt.2023.363001.1126

چکیده

عین افشار، س.، . بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گلبرگ زعفران در سیستم‌های مدل روغنی
نشریه علمی ترویجی فناوری گیاهان دارویی ایران، دوره ۵ - شماره ۱- پیاپند ۸- بهار و تابستان ۱۴۰۱ صفحه: ۸۰-۶۷

به منظور بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی گلبرگ زعفران در دو سیستم مدل روغنی و امولسیونی، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره اتانولی گلبرگ زعفران به روغن سویا (بدون آنتی‌اکسیدان و تخلیص شده) و امولسیون آب در روغن سویا اضافه شدند. نمونه‌های روغن به همراه نمونه های شاهد – (بدون هیچ آنتی اکسیدان) و شاهد + (حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان بی اچ تی) در دو دمای ۲۵ و ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز نگهداری شدند و هر روز عدد پراکسید آنها اندازه‌گیری شد همچنین مقاومت حرارتی (پایداری اکسایشی) روغن‌ها به روش رنسیمت و در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان دادند عصاره در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام قادر بود همانند آنتی‌اکسیدان سنتزی روند اکسایش را کند نماید. عصاره اتانولی گلبرگ زعفران در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام، بدون داشتن اختلاف معنی‌دار با بی‌اچ‌تی، بالاترین دوره القا را داشت (۱۳/٤ ساعت). روغن سویا حاوی عصاره گلبرگ زعفران در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام در دمای نگهداری ۲۵ و ۵۰ درجه سلسیوس کمترین عدد پراکسید را از خود نشان داد (به ترتیب با ۱۳/۵ و ۳۹/۵۸ میلی‌ا کی والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم روغن) . اثر متقابل غلظت و سیستم روغنی نشان‌داد بیشترین میزان پراکسید در تیمار غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام سیستم امولسیونی و کمترین میزان پراکسید مربوط به غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام سیستم روغنی بود. اثر متقابل کلیه تیمارها نشان‌داد سیستم روغنی بر میزان عدد پراکسید به‌طور معنی‌داری تاثیر داشت به طوریکه عدد پراکسید در سیستم امولسیون بیش از روغن سویا بود و تیمار شاهد منفی و عصاره ۱۰۰ پی‌پی‌ام به ترتیب با ۸۹/ ۲۰ و ۱۹/۷٤ میلی‌اکی‌والان‌گرم اکسیژن بر کیلوگرم روغن در سیستم امولسیونی و دمای ۵۰ درجه سلسیوس بالاترین عدد پراکسید را داشتند.

واژه های کلیدی: عصاره اتانولی، استخراج عصاره، پایداری اکسایشی، امولسیون.

آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: (soodabeheyn@yahoo.com)

مقدمه

زعفران با نام علمی *Crocus sativus*، گیاهی چند ساله از خانواده زنبقیان(*Iridaceae*) با جام گلی مشتمل بر، سه گلبرگ و سه کاسبرگ به رنگ‌های بنفش یا بنفش روشن مایل به ارغوانی بوده که دارای سه پرچم زرد و کلاله سه‌شاخه‌ای به رنگ قرمز پررنگ است. به‌دلیل پتانسیل کاربرد در بخش سلامت و صنایع غذایی، اخیراً ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در بخش‌های گل این گیاه، مورد توجه جامعه‌ی علمی قرارگرفته‌است. زعفران حاوی ترکیبات بیولوژیکی دارای فعالیت آنتی‌رادیکالی است که قابلیت کاربرد به عنوان آنتی‌اکسیدان در غذاهای فراسودمند و نوشیدنی‌ها استفاده شود(Assimopoulou *et. al.,* 2005) . گلبرگ زعفران مهم‌ترین محصول جانبی زعفران است که حاوی مقادیر قابل توجهی ترکیبات فنولی با قدرت آنتی‌اکسیدانی بالا است(Goli *et al.,* 2012) . ترکیبات فنولی موجود در عصاره متانولی قسمت‌های مختلف زعفران شامل برگ، کلاله، گلبرگ و پیاز اندازه‌گیری و گزارش شد، بیشترین میزان ترکیبات فنلی در گلبرگ و کلاله زعفران وجود دارد .(Tajic *et al.,* 2017) بخش قابل توجهی از ضایعات جانبی صنعت زعفران را گلبرگ‌های آن تشکیل می‌دهد به‌طوری‌که حدود ۸۴ درصد بر اساس وزن مرطوب) یا حدود ۹۶ درصد بر اساس وزن خشک از گل کامل زعفران متعلق به گلبرگ‌های آن است طبق بررسی‌ها می‌توان از این محصول جانبی صنعت زعفران جهت مصارف غذایی و دارویی بهره جست، این در حالی است که حجم بالایی از آن به‌دلیل غیر قابل استفاده بودن سالانه دور ریخته می‌شود (*Lahmass et al*., 2018) اما در برخی کشورها مانند هند از طبق طبق تحقیقات انجام‌شده گلبرگ‌های زعفران جهت مصارف دارویی استفاده می‌گردد گلبرگ زعفران حاوی فلاونول‌های روتین، میریستین، کوئرستین، کامپفرول و دو نوع آنتوسیانین به نام‌های دلفینیدین و پتونیدین می‌باشد ۲۰۱۳) (Serrano-Díaz *et al*., اکثر آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی که در صنایع غذایی استفاده می‌گردد به جهت سلامت عمومی مضر هستند. ازاین‌رو، به‌دلیل اثبات اثرات مفید آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بر سلامتی تمایلات رو به رشد اقتصادی جهت بکارگیری منابع آنتی‌اکسیدانی طبیعی در صنایع غذایی و دارویی وجود دارد (Khazaei, *et al.,* 2016). خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدافسردگی و کاهندگی فشارخون عصاره گلبرگ زعفران به اثبات رسیده است (Sanchez-Vioque *et al.,* 2012; Hosseinzadeh *et al.,* 2007; Basti *et al.,* 2007; Fatehi *et al.,* 2003). گلبرگ زعفران حاوی آنتی‌اکسیدان‌های قوی مانند فلاونوئیدها می‌باشد که به صورت متصل به آلبومین در سرم خون حمل گردیده و با این پروتئین اثرات متقابل دارد از طرف دیگر تأثیرات فلاونوئیدها در کاهش کلسترول (Nijveldt, *et al.,* 2001) ویژگی‌های ضد رادیکالی (Catoni, *et al.,* 2008) آن در تحقیقات متعددی به اثبات رسیده‌است. خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی گلبرگ زعفران بر سلول‌های سرطانی اپیتلیوم روده انسان بررسی گردید. در آزمون اکسایش بتاکاروتن دارای

۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر خاصیت بازدارندگی و در آزمون ظرفیت ضد رادیکالی ۲ و ۲ دی فنیل - ۱- پیکروهیدرازیل تا ۳۲ بار خاصیت بازدارندگی آن بیشتر از منابع آنتی‌اکسیدانی همانند انگور و توت بود (Sanchez- Vioque *et al.*, 2012).

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که قادرند از گسترش طعم و بوی نامطلوب و در نتیجه افت ویژگی‌های حسی و کیفیت تغذیه‌ای ناشی از واکنش‌های اکسایش در غذا جلوگیری کنند یا آن را به تعویق اندازند. اکسایش لیپیدها یکی از مهمترین دلایل تخریب موادغذایی مانند، گوشت فراورده‌های گوشتی و لبنی است. برای جلوگیری یا به تأخیر انداختن اکسایش موادغذایی آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان یک افزودنی در چربی‌ها و روغن‌ها و در فرآوری موادغذایی استفاده می‌شوند همچنین آنتی‌اکسیدان‌ها مواد حیاتی هستند که توانایی محافظت بدن در برابر آسیب‌های ایجاد شده در اثر رادیکال‌های آزاد ناشی از اکسایش را دارند. رادیکال‌های آزاد معمولاً در فرایندهای متابولیک منجر به تخریب اکسایشی لیپید، پروتئین و اسید نوکلئیک می‌گردند و بر بسیاری از بیماری‌ها مانند بیماری‌های شریان قلبی و ریوی برخی از انواع سرطان‌ها آب مروارید بیماری‌های خودایمنی، آماس آرتریت‌ها و عملکرد غیر عادی مغز تأثیر می‌گذارند (Pokorny, *et al.*, 2001). آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است به صورت طبیعی در غذا وجود داشته باشند و یا به صورت سنتزی به محصولات یا به مواد در حال فرایند اضافه شوند آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مجاز در فراورده‌های غذایی شامل بی‌اچ‌آ.[1]، بی اچ تی[2] پروپیل گالات[3] و تی‌بی‌اچ کیو[4] هستند اما نگرانی ناشی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به لحاظ مسایل مربوط به سلامت و ایمنی و نیز محدودیت در محدوده مجاز، مصرف‌کنندگان موادغذایی را به استفاده از فراورده‌های طبیعی در موادغذایی ترغیب نموده‌است. اهمیت آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در موادغذایی جهت نگهداری از خود غذاها و فراهم کردن آنتی‌اکسیدان‌های حیاتی و ضروری بافت زنده درون سلولی به خوبی مشخص و درک شده است. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از بافت‌های مختلف گیاهی و حیوانی استخراج می‌شوند که میزان ترکیبات فعال آنها بسته به نوع منبع متفاوت است. رایج‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی شامل توکوفرول‌ها، کاروتنوئیدها، اسیدهای فنلی (مشتقات اسید بنزوئیک و اسید سینامیک، فلاونوئیدها و دی‌ترپن‌ها هستند. موسسه غذا و داروی آمریکا عصاره‌های طبیعی را در فهرست ترکیبات ایمن قرارداده‌است ازاین‌رو، تا زمان اثبات خلاف آن محدودیتی در مصرف آن‌ها وجود نخواهد داشت با این وجود جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی با انواع طبیعی از جنبه‌های امکان مصرف در انواع موادغذایی، پایداری حلالیت سهولت تولید و هزینه چندان ساده نیست (Pratt, D., 992). باتوجه به فقدان تحقیقات کافی در خصوص کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های استخراج شده از گلبرگ زعفران در موادغذایی، این تحقیق

---

۱ BHA, Butylated hydroxyanizole

۲ BHT, Butylated hydroxytoluene

۳ PG, Propyl gallat

٤ TBHQ, tertiary butylhydroquinone

به بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره گلبرگ زعفران در دو سیستم مدل روغنی و امولسیونی پرداخته است.

مواد و روش‌ها

گلبرگ و کاسبرگ زعفران از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی تهیه و تحت شرایط محیطی و با استفاده از جریان هوای طبیعی، در سایه خشک، با استفاد از آسیاب خانگی به پودر تبدیل و در بسته‌های نایلونی (به منظور جلوگیری از نفوذ رطوبت) بسته‌بندی در محل تاریک و خنک تا زمان آزمایش نگهداری شدند.

استخراج عصاره

برای تهیه عصاره از حلال اتانول ۸۰ درصد استفاده شد. برای استخراج عصاره، پودر آسیا شده گلبرگ زعفران به نسبت ۱ به ۲۰ با اتانول ۸۰ درصد مخلوط شد و طی یک شبانه روز در دمای اتاق مخلوط و سپس صاف شد. بر روی صافی مجددا به همان نسبت اتانول تازه افزوده و فرایند فوق تکرار شد. حلال توسط آون تحت خلا (در دمای ۵۰ درجه سلسیوس) خشک ((Isik *et al.,* 2017 و بازده استخراج و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره حاصل اندازه گیری شد.

اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فنولی

مقدارکل ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌ها از طریق رنگ‌سنجی به روش فولین ـ سیوکالتو اندازه‌گیری شد. اساس کار، احیاء معرف فولین توسط ترکیبات‌فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی‌رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۰ نانومتر نشان می‌دهد (Capannesi *et al.,* 2000).

اندازه گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH[5]

برای اندازه گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد آنتی اکسیدان ها از رادیکال‌های آزاد DPPH استفاده می‌شود (Siger, *et al.,* 2007) و درصد ممانعت‌کنندگی از رابطه ۱ محاسبه می‌شود

رابطه ۱

$$\%DPPH = [(A_{DPPH} - A_S)/A_{DPPH}] \times 100$$

As جذب نمونه و A_{DPPH} جذب محلول شاهد حاوی رادیکال آزاد DPPH است. IC_{50} میزان آنتی‌اکسیدان مورد نیاز برای رساندن مقدارجذبDPPH به ۵۰ درصد مقداراولیه را نشان می‌دهد.

اندازه گیری قدرت احیاکنندگی آهنIII (روش FRAP[6])

اندازه گیری قدرت احیاکنندگی آهن III: برای ارزیابی قدرت احیاکنندگی آنتی اکسیدان ها از روش FRAP استفاده‌شد (Benzie and Strain, 1996).آزمایشها در سه تکرار انجام شدند و داده‌های حاصلبر اساس تجزیه واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شدند و میانگین‌ها با استفاده از نرم افزار MSTATC و بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵درصد مقایسه شدند، نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

به منظور تعیین خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره گلبرگ در سه غلظت (۵۰۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) به روغن سویا تخلیص شده و امولسیون ۵۰ درصد روغن سویا تخلیص شده در آب اضافه شد و پایداری اکسایشی آن با استفاده از دستگاه رنسیمت و آون ۵۰ درجه سلسیوس

۵ - 2,2- Diphenyl- picrylhydrazyl

٦- Ferric reducing activity of plasma

اندازه‌گیری شد.

تخلیص روغن سویا

انتهای ستون شیشه‌ای کروماتوگرافی با قطر داخلی ۲/۵ سانتیمتر و طول ۲۵ سانتیمتر به ارلن بوخنر متصل به خلا وصل شد. صد گرم آلومینا (نوع ۶۰ فعال خنثی) که قبلاً در دمای ۲۰۰ درجه سلسیوس به مدت سه ساعت فعال شده بود به طور یکنواخت داخل ستون قرار گرفت و سپس ۲۰۰ گرم روغن سویا تصفیه شده بدون آنتی اکسیدان (بدون حلال) از ستون عبور داده شد. برای اطمینان از حذف ترکیبات آنتی اکسیدانی، روغن حاصل دوباره از ستون پر شده با آلومینای تازه عبور داده شد (Yoshida, *et al.*, 1992). اطراف ستون و ارلن بوخنر با ورقه آلومینیومی پوشانیده شد تا از اکسایش روغن جلوگیری به عمل آید. مقادیر عدد پراکسید، توکوفرول کل و پلی فنل کل بعد از هر مرحله تخلیص اندازه‌گیری شدند. برای کسب اطمینان، پایداری اکسایشی روغن تخلیص شده با دستگاه رنسیمت در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد و سرعت جریان هوای ۱۵ لیتر بر ساعت اندازه‌گیری شد. شاخص پایداری اکسایشی روغن تصفیه شده آفتابگردان یا سویا بر اساس داده های به‌دست آمده و تجارب پیشین باید حدود پنج ساعت باشد. مقادیر بالاتر این کمیت طبعاً نشان‌دهنده تصفیه نامناسب نمونه روغن است.

تهیه امولسیون ۵۰ درصد

مخلوطی از ۴۹ درصد (وزنی/وزنی) روغن تصفیه‌شده حاوی درصدهای مورد نظر از عصاره متانولی یا فراکسیون‌های تخلیص‌شده، ۲ درصد توین ۲۰ و ۴۹ درصد آب مقطر در دستگاه فراصوت به امولسیون تبدیل شد. این فرایند در دمای ۴ درجه سلسیوس با حداکثر قدرت دستگاه و به مدت ۳ دقیقه انجام شد.

آزمون گرمخانه گذاری

مقدار ۱۰۰، ۵۰۰ ، ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی به روغن تخلیص شده سویا اضافه شد. همچنین شاهد مثبت (نمونه روغن تخلیص شده حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان BHT) و شاهد منفی (روغن تخلیص شده فاقد آنتی‌اکسیدان) تهیه شدند. ده گرم از مخلوط‌های فوق در ظروفی به قطر ۳۸ میلی متر و ارتفاع ۷۵ میلی متر اضافه و در اینکوباتور در دماهای ۲۵ و ۱±۵۰ درجه سانتی‌گراد قرارداده شد. روزانه ۰/۵ میلی لیتر نمونه روغن از ظروف برداشته و آزمون اندازه گیری میزان پراکسید انجام شد. آزمایش برای هر غلظت در سه تکرار انجام شد.

آزمون رنسیمت

برای تخمین پایداری اکسایش از دستگاه رنسیمت مدل ۷۴۳ متروم با سرعت جریان هوای ۲۰ لیتر بر ساعت و دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس و وزن نمونه روغن سویا ۲/۵ گرم (AOCS, 1993) استفاده شد. در این آزمون عصاره اتانولی در سه غلظت ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام در دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس استفاده شد. هوای حامل اسیدهای آلی فرار ناشی از اکسایش نمونه به ظرف اندازه‌گیری هدایت الکتریکی (حاوی ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر) هدایت گردید. شاخص پایداری اکسایش به طور خود کار دردمای ۱۱۰ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد (Farhoosh, 2007).

اندازه‌گیری عدد پراکسید

نمونه روغن بسته به میزان پراکسایش در لوله‌های آزمایش وزن شده و با ۹/۸ میلی‌لیتر حلال کلروفرم –متانول ۳:۷ مخلوط و به مدت

۲ تا ۴ ثانیه هم‌زده شد. سپس به ترتیب ۵۰ میکرولیتر محلول تیوسیونات و محلول آهن II اضافه و بعد از اضافه کردن هرکدام به مدت ۴-۲ ثانیه هم‌زده‌شد . بعد از ۵ دقیقه گرمخانه گذاری دردمای اتاق، جذب نمونه در طول موج ۵۰۰ نانومتر دربرابر شاهد اندازه‌گیری‌شد. عدد پراکسید از فرمول زیر حساب می‌شود :

$$P.V = \frac{A_S - A_b \times m}{111/68 \times w}$$

m: شیب بدست آمده از منحنی کالیبراسیون

A_S: جذب نمونه در طول موج ۵۰۰ نانومتر

A_b: جذب شاهد

W: وزن نمونه روغن است (Decker, 1994 Shantha and).

داده‌های بدستآمده به صورت آنالیز واریانس یکطرفه و به کمک نرم افزار MSTATC ، تجزیه و تحلیل شدند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نمودارها با نرم افزار EXCEL رسم شدند.

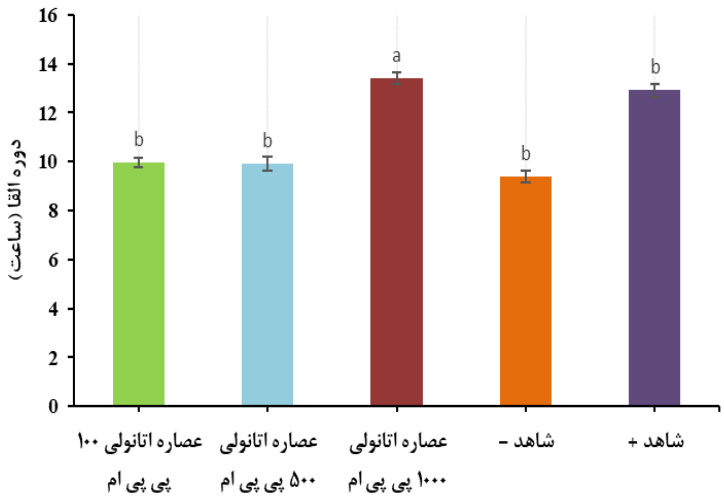
نتایج و بحث

اثر غلظتهای مختلف عصاره اتانولی گلبرگ زعفران بر دوره القاء روغن سویا

تجزیه حرارتی و یا خروج آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق تبخیر در دماهای بالا دو عامل اساسی درکاهش کارایی آنها در طی فرآیند سرخ کردن و پخت موادغذایی است. مقاومت در برابر تجزیه حرارتی و تبخیر و یا تقطیر با بخار آب در مورد آنتی‌اکسیدان‌ها به خصوصیات حملی موسوم[۷] است. کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در دماهای بالا احتمالاً مربوط به‌خصوصیات حملی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است به‌طوری‌که در دماهای بالا بر فراریت آن‌ها افزوده و از فعالیت و کارایی آنها کاسته می‌شود.

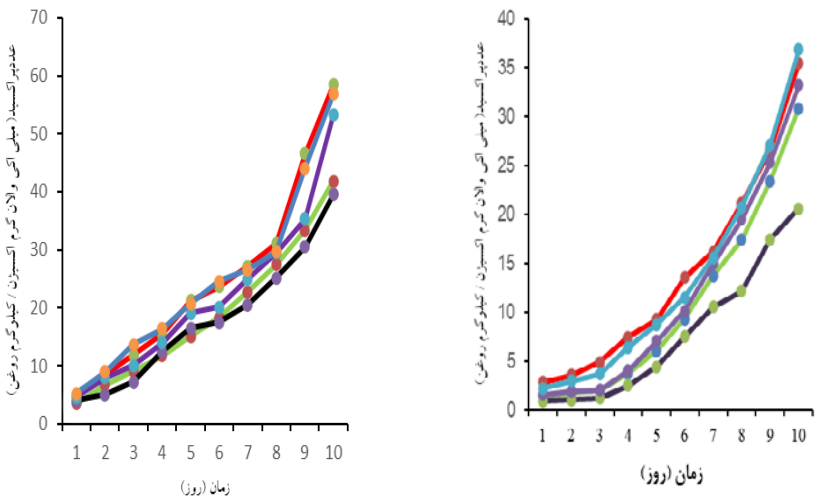
همچنین خصوصیات آنتی‌اکسیدانی گیاهان وابسته به نوع و خصوصیات حلالی که برای استخراج آن‌ها استفاده می‌شود به‌طوری‌که متناسب با نوع ومیزان پلی‌فنلی‌های استخراجی قدرت و خصوصیات آنتی‌اکسیدان‌ها عصاره متفاوت است. مثلا عصاره اتانولی گیاه مرزه باعث بهبود شرایط اکسایشی و پایداری روغن آفتابگردان در دمای ۱۸۰ درجه سلسیوس شد که علت آن حضور دو ترکیب تیمول و کار واکرول در عصاره بود. تجزیه حرارتی و مقاومت حرارتی پلی فنل‌ها نشان داد مقاومت حرارتی چهارآنتی‌اکسیدان سنتزی به ترتیب عبارتست از:BHA BHT, TBHQ, و PG (Hamama and Nawar,1991) .در بین ترکیبات فنلی، توکوفرول‌ها به دلیل داشتن وزن مولکولی بالا و ساختمان خاص خود در دمای بالا فرار نیستند و برای استفاده در روغن‌های سرخ کردنی مناسب هستند و مشابه TBHQ عمل می‌کنند. برای بررسی مقاومت حرارتی تیمارها در روش رنسیمت از شرایط تشدید شده اکسایش مانند دمای بالا و جریان هوا استفاده می‌شود و افزایش هدایت الکتریکی آب به عنوان شاخصی از پیشرفت اکسایش درنظرگرفته‌می‌شود. زیرا در حین اکسایش روغن‌ها، اسیدهای آلی فرار بخصوص اسید فرمیک بوجود می‌آیند که هدایت الکتریکی را افزایش می‌دهند.اندازه‌گیری هدایت الکتریکی تا زمانی ادامه پیدا می‌کند که میزان آن به شدت افزایش یابد. مدت زمانی را که طی آن میزان این کمیت در آب مقطر سل اندازه‌گیری

۷ - Carry over properties



شکل ۱- دوره القا عصاره‌های اتانولی، نمونه فاقد آنتی‌اکسیدان (شاهد-) و نمونه دارای آنتی‌اکسیدان BHT (شاهد +).

حروف غیر یکسان نشانه اختلاف معنی‌دار است ($P<0/05$)



۲۵ درجه سلسیوس ۵۰ درجه سلسیوس

شکل ۲- تاثیر زمان نگهداری روغن سویا حاوی غلظتهای مختلف آنتی‌اکسیدان گلبرگ زعفران (۱۰۰ ــــ، ۵۰۰ ــــ و **۱۰۰۰ پی پی ام** ــــ) در مقایسه با شاهد + ــــ و شاهد - ــــ بر عدد پراکسید در دمای نگهداری ۲۵ و ۵۰ درجه سلسیوس

جدول۱. ثاثیر غلظت آنتی‌اکسیدان و سیستم روغن بر عددپراکسید

سیستم روغن	غلظت	عدد پراکسید
امولسیون	۱۰۰	۱۹/۷۴±۰/۱۱ a
	۵۰۰	۱۶/۱۹±۰/۲۵ b
	۱۰۰۰	۱۴/۸۱±۰/۳۲ c
	شاهد+	۱۲/۸±۰/۰۹ C
	شاهد –	۲۰/۸۹±۰/۳۷ A
روغن	۱۰۰	۵/۴۹۸±۰/۰۵ d
	۵۰۰	۵/۰۸۱±۰/۰۶ d
	۱۰۰۰	۴/۴۸۲±۰/۰۱ e
	شاهد+	۴/۲۱±۰/۰۴ E
	شاهد –	۶/۷±۰/۰۷ D

حروف غیر یکسان در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵)

هدایت الکتریکی از لحظه شروع تا نقطه صعود ناگهانی را تحت عنوان دوره القای نمونه مورد محاسبه قرار می‌دهند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین طول دوره القادر شکل (۱) گزارش شده است. نتایج تجزیه واریانس عصاره‌ها نشان داد که میانگین عصاره‌ها دارای اختلاف معنی‌دار بودند(P□۰/۰۵).

شکل ۱ نشان می‌دهد افزودن عصاره اتانولی به روغن سویای تخلیص شده به طور معنی‌داری پایداری اکسایشی روغن را افزایش داد. دوره القا عصاره اتانولی در غلظت ۱۰۰ و۵۰۰ پی پی ام، تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد منفی نداشت اما با افزایش غلظت عصاره اتانولی تا ۱۰۰۰ پی پی ام، این تفاوت معنی‌دار شد به‌طوری‌که عصاره اتانولی همانند آنتی‌اکسیدان شیمیایی BHT دوره القا اکسایش را در مقایسه با دو غلظت دیگر و شاهد منفی، افزایش‌داد. بررسی مقاومت حرارتی عصاره پوست‌انار نشان‌داد تیمار حاوی ۱۰۰۰ PPM عصاره متانولی در مقایسه با شاهد بدلیل حضور ترکیباتی مثل کامپفرول و لوتئین، توانایی بیشتری در مهارراديکال آزاد و بیشترین میانگین زمانی دوره القاء را نسبت به سایر تیمارهای آنتی‌اکسیدانی داشت(Yazdanpanah, *et al.,* 2009) . تاثیر حرارت بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست پرتقال قرمز نشان داد که با افزایش غلظت عصاره مقاومت حرارتی

جدول۲. اثر متقابل سیستم مدل روغن، غلظت آنتی‌اکسیدان و دمای نگهداری بر عدد پراکسید

سیستم	دما	غلظت	عدد پرکسید
		۱۰۰	۳۳/۲۳ ۰±/۰۴a
		۵۰۰	۲۷/۴۷ ۰±/۰۳ b
		۱۰۰۰	۲۵/۶۵ ۰±/۰۳ c
		شاهد +	۲۵/۰۱ ۰±/۰۵ c
		شاهد –	۳۵/۳۰ ۰±/۰۴ a
	۲۵	۱۰۰	۶/۹۳۱ ۰±/۰۵ d
		۵۰۰	۶/۲۵۳ ۰±/۰۸ d
		۱۰۰۰	۵/۷۰۹ ۰±/۰۷ e
		شاهد +	۵/۶۹۱ ۰±/۰۸ e
		شاهد –	۷/۴۷۱ ۰±/۰۳ d
	۵۰	۱۰۰	۴/۹۳۴ ۰±/۰۸ f
		۵۰۰	۴/۹۱۰ ۰±/۰۴ f
		۱۰۰۰	۴/۴۵۳ ۰±/۰۵ f
		شاهد +	۵/۵۸۱ ۰±/۰۷ e
		شاهد –	۵/۷۶۳ ۰±/۰۸ e
روغنی		۱۰۰	۴/۰۶۵ ۰±/۰۴ f
		۵۰۰	۴/۰۲۹ ۰±/۰۳ f
		۱۰۰۰	۳/۹۵۹ ۰±/۰۱ f
		شاهد +	۴/۳۹۳ ۰±/۰۸ f
		شاهد –	۵/۴۳۷ ۰±/۰۴E

حروف غیر یکسان در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵)

نیز بالا رفت (Jorge *et al.*, 2016).

تاثیر زمان نگهداری بر عدد پراکسید

شکل۲ اثر زمان نگهداری را بر افزایش عدد پراکسید روغن‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره گلبرگ زعفران در مقایسه با شاهد _ و + نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود با افزایش زمان نگه‌داری عدد پراکسید افزایش یافت. افزایش در عدد پراکسید را میتوان به تشکیل هیدروپراکسیدها، یعنی محصولات اولیه اکسایش، نسبت داد. در روزهای پایانی بدلیل مصرف و تخریب آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی در اثر حرارت و گذشت زمان، اختلاف تیمارها با یکدیگر بیشتر شد. نمونه شاهد بالاترین عدد پراکسید را در همه روزها داشت که بدلیل عدم حضور آنتی‌اکسیدان افزوده شده به این نمونه بود. از طرف دیگر،نمونه روغن سویای مورد بررسی تصفیه‌شده بود و بخشی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی موجود در آن مثل توکوفرول ها ازدست‌رفته‌اند. اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک هسته انار بر شدت تشکیل پراکسیدها در روغن سویا طی ۱۲ روز موثر بود و در طول زمان عدد پراکسید افزایش یافت .(Samadloiy *et al.*, 2008)

شکل ۲ نشان می‌دهد قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی در غلظت ۱۰۰۰پی‌پی‌ام در سیستم روغنی و در دمای ۲۵ و ۵۰ درجه

سلسیوس در کاهش اندیس پراکسید، از قدرت آنتی‌اکسیدانی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در دمای ۵۰ درجه سلسیوس بیشتر بود.

اثر متقابل غلظت و سیستم (امولسیونی،روغنی) بر عددپراکسید

اثر متقابل غلظت و سیستم روغنی بر عدد پراکسید روغن سویا معنی‌دار بود (P ۰/۰۵) (جدول۱). جدول ۱ نشان می‌دهد بیشترین میزان پراکسید در تیمار غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام سیستم امولسیونی و کمترین میزان پراکسید مربوط به غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام سیستم روغنی است. نتایج بیانگر آن است که با افزایش غلظت عصاره اتانولی توان آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش یافت. همچنین اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام در سیستم روغنی بر کاهش عدد پراکسید روغن سویا، مشابه آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بود. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی زیره سبز نشان‌داد فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی در سیستم روغنی ۲/۶ مرتبه از سیستم امولسیونی بیشتر است (Einafshar *et al.,* 2012). افزودن غلظت‌های مختلف ترکیبات فنلی موجود در پوست پسته به روغن سویا موجب کندشدن روند اکسایش شد (Goli *et al.,* 2005). عصاره دانه انگور حاوی ترکیبات فنولیک است که در روغن آفتابگردان دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی است(Shaker, 2006) . ۸۰۰ پی‌پی‌ام عصاره برگ زیتون همانند آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام میزان پراکسید روغن آفتابگردان را از ۴۳ به ۳۳ میلی‌اکی‌والان گرم اکسیژن در کیلوگرم روغن کاهش‌داد (Farag et al. 2003).

اثر متقابل سیستم روغن، غلظت آنتی‌اکسیدان و دما بر عدد پراکسید

نتایج مقایسات میانگین اثر متقابل سیستم روغن، غلظت آنتی‌اکسیدان و دمای نگهداری روغن بر عدد پراکسید (جدول ۲) نشان داد سیستم روغنی بر میزان عدد پراکسید به طور معنی‌داری تاثیر داشت به‌طوری‌که عدد پراکسید در سیستم امولسیون بیش از روغن سویا بود. اثر دما هم بر عدد پراکسید معنی‌دار بود. در هر دو سیستم روغن و امولسیون، عدد پراکسید نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۵۰ درجه سلسیوس به طور معنی‌داری بیشتر از دمای ۲۵ درجه سلسیوس بود. در بین همه تیمارها تیمار شاهد منفی و عصاره ۱۰۰ پی‌پی‌ام به‌کاررفته در سیستم امولسیونی و دمای ۵۰ درجه سلسیوس بالاترین عدد پراکسید را داشتند. غلظت بالای اسانس گیاه زاتاریا در روغن سویای خام در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۲ ساعت از اکسایش روغن جلوگیری نمود (Shahsavari *et al.,* 2008).

یافته‌های ترویجی

ضایعات گل زعفران حاوی ترکیبات فنلی دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی هستند. باتوجه به غنی بودن پوشش گیاهی شمال شرق کشور وبا در نظر گرفتن اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بر سلامت انسان، می‌توان زمینه استفاده از آن را به عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدانی جدید در صنایع غذایی و دارویی فراهم نمود. مقایسه تاثیر عصاره اتانولی گلبرگ زعفران با انواع شیمیایی بر میزان پایداری اکسایشی روغن سویای تخلیص شده نشان داد که عصاره گلبرگ زعفران همانند آنتی‌اکسیدان‌های

شیمیایی قابلیت افزایش پایداری اکسایشی روغن‌ها یا امولسیون‌های مربوطه را دارد. افزودن عصاره اتانولی گلبرگ زعفران به روغن سویا و امولسیون آن سبب افزایش پایداری آن در شرایط مساعد به اکسایش گردید که با توجه به اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی می‌تواند جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی شود.

-ضایعات گل زعفران جمع‌آوری و در سایه خشک شوند.

-عصاره با استفاده از اتانول ۸۰ درصد استخراج شود.

-عصاره حلال‌زدایی شود و به نسبت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام به روغن یا امولسیون اضافه شده و در دمای ۲۵ تا ۵۰ درجه سلسیوس نگهداری شود.

References

AOCS, O. 1993. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society.Press.

Assimopoulou, A.N., Sinakos, Z., and Papageorgiou, V. 2005. Radical scavenging activity of *Crocus sativus* L. extract and its bioactive constituents. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 19(11), 997-1000.

Basti, A.A., Moshiri, E., Noorbala, A.A., Jamshidi, A.H., Abbasi, S.H., and Akhondzadeh, S. 2007. Comparison of petal of *Crocus sativus* L. and fluoxetine in the treatment of depressed outpatients: a pilot double-blind randomized trial. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 31(2), 439-442.

Benzie, I.F., and Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical biochemistry, 239(1), 70-76.

Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M., and Parenti, A. 2000. Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. Food Chemistry, 71(4), 553-562.

Catoni, C., Schaefer, H.M., and Peters, A. 2008. Fruit for health: the effect of flavonoids on humoral immune response and food selection in a frugivorous bird. Functional Ecology, 649-654.

Einafshar, S., Poorazrang, H., Farhoosh, R., and Seiedi, S.M. 2012. Antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of cumin seed (*Cuminum cyminum*). European Journal of Lipid Science and Technology, 114(2), 168-174.

Farag, R.S., El-Baroty, G.S., and Basuny, A.M. 2003. The influence of phenolic extracts obtained from the olive plant (cvs. Picual and Kronakii), on the stability of sunflower oil. International journal of food science and technology, 38(1), 81-87.

Farhoosh, R. 2007. The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction

of soybean oil. Journal of the American Oil Chemists' Society, 84, 205-209.

Fatehi, M., Rashidabady, T., and Fatehi-Hassanabad, Z. 2003. Effects of *Crocus sativus* petals' extract on rat blood pressure and on responses induced by electrical field stimulation in the rat isolated vas deferens and guinea-pig ileum. Journal of ethnopharmacology, 84(2-3), 199-203.

Goli, A.H., Barzegar, M., and Sahari, M.A. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. Food chemistry, 92(3), 521-525.

Goli, A.H., Mokhtari, F., and Rahimmalek, M. 2012. Phenolic compounds and antioxidant activity from saffron (*Crocus sativus* L.) petal. Journal of Agricultural Science, 4(10), 175.

Tajic, S., Zarrin Kamar, F. and Niknam, V. 2017. Evaluation of antioxidant activity and phenolic content from saffron organs (*Crocus sativus* L.). Modares Journal of Biotechnology, 8 (2), 160 - 170.

Hamama, A.A., and Nawar, W.W. 1991. Thermal decomposition of some phenolic antioxidants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39(6), 1063-1069. DOI: 10.1021/jf00006a012

Hosseinzadeh, H., Motamedshariaty, V., and Hadizadeh, F. 2007. Antidepressant effect of kaempferol, a constituent of saffron (*Crocus sativus*) petal, in mice and rats. Pharmacologyonline, 2, 367-370.

Isik, L., Koldewyn, K., Beeler, D., and Kanwisher, N. 2017. Perceiving social interactions in the posterior superior temporal sulcus. Proceedings of the National Academy of Sciences, 114(43), E9145-E9152.

Jorge, N., Silva, A.C.D., and Aranha, C.P. 2016. Antioxidant activity of oils extracted from orange (*Citrus sinensis*) seeds. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 88, 951-958.

Lahmass, I., Ouahhoud, S., Elmansuri, M., Sabouni, A., Elyoubi, M., Benabbas, R., ... and Saalaoui, E. 2018. Determination of antioxidant properties of six by-products of *Crocus sativus* L. (saffron) plant products. Waste and Biomass Valorization, 9, 1349-1357.

Khazaei, K.M., Jafari, S.M., Ghorbani, M., Kakhki, A.H., and Sarfarazi, M. 2016.

Optimization of anthocyanin extraction from saffron petals with response surface methodology. Food Analytical Methods, 9, 1993-2001.

Nijveldt, R.J., Van Nood, E.L. S., Van Hoorn, D.E., Boelens, P.G., Van Norren, K., and Van Leeuwen, P.A. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. The American journal of clinical nutrition, 74(4), 418-425.

Pokorny, J., Yanishlieva, N., and Gordon, M.H. (Eds.). 2001. Antioxidants in food: practical applications. CRC press.

Pratt, D., 1992. Natural antioxidants from plant material. Washington DC. ACS Publication.

Samadloiy, H.R., Azizi, M.H., and Barzegar, M. 2008. Physico-chemical quality of seeds of pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in Iran and antioxidative activity of their phenolic component. Journal of Food Science and Technology-Mysore, 45(2), 190-192.

Sánchez-Vioque, R., Rodríguez-Conde, M.F., Reina-Ureña, J.V., Escolano-Tercero, M.A., Herraiz-Peñalver, D., and Santana-Méridas, O. 2012. In vitro antioxidant and metal chelating properties of corm, petal and leaf from saffron (*Crocus sativus* L.). Industrial Crops and Products, 39, 149-153.

Serrano-Díaz, J., Sánchez, A.M., Martínez-Tomé, M., Winterhalter, P., and Alonso, G.L. 2013. A contribution to nutritional studies on *Crocus sativus* flowers and their value as food. Journal of Food Composition and Analysis, 31(1), 101-108.

Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M.A., and Naghdi Badi, H. 2008. An investigation on the antioxidant activity of essential oil of *Zataria multiflora Boiss*. in soybean oil. Journal of Medicinal Plants, 7(28), 56-68.

Shaker, E.S. 2006. Antioxidative effect of extracts from red grape seed and peel on lipid oxidation in oils of sunflower. LWT-Food Science and Technology, 39(8), 883-892.

Shantha, N.C., and Decker, E.A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. Journal of AOAC International, 77(2), 421-424.

Siger, A., Nogala-kalucka, M., and Lampart-Szczapa, E. 2008. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. Journal of food lipids, 15(2), 137-149.

Yazdanpanah, S., Arjmand, P., Porazarang, H., and Mohanadi Jafari, M. 2009. Investigation of heat stablity of pomegranate peel extract. JWSS-Isfahan University of Technology, 13(47), 95-102.

Yoshida, H., Kondo, I., and Kajimoto, G. 1992. Participation of free fatty acids in the oxidation of purified soybean oil during microwave heating. Journal of the American Oil Chemists' Society, 69, 1136-1140.

Investigating the antioxidant activity of saffron petal extract in oil model systems

Soodabeh Einafshar*

1. Assistant Professor, Agricultural Engineering Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad/IRAN. . (Corresponding author)

Received: July 2023 Accepted: September 2023 - DOI: 10.22092/mpt.2023.363001.1126

Abstract

Einafshar. S., Investigating the antioxidant activity of saffron petal extract in oil model systems
Iranian Medicinal Plants Technology, Vol 5, No. 1, 2021-22 08-09: 67-80(in Persian)

Abstract

To investigate the antioxidant properties of saffron petal ethanol extract in two oil and emulsion model systems, 100, 500 and 1000 ppm of saffron petal ethanol extract were added to soybean oil (without antioxidant and purified) and water in soybean oil emulsion. The oil samples along with control - (without any antioxidant) and control + (containing 100 ppm BHT antioxidant) samples were kept at two temperatures of 25 and 50˚C for 10 days, and their peroxide value was tested every day, as well as resistance The thermal (oxidative stability) of the oils was evaluated by Rancimet method at a temperature of 120˚C. The results showed that the extract at a concentration of 1000 ppm was able to slow down the oxidation process like synthetic antioxidants. The ethanolic extract of saffron petals at a concentration of 1000 ppm had the highest induction period (13.4 hours) without having a significant difference with BHT. Soybean oil containing saffron petal extract at a concentration of 1000 ppm at storage temperatures of 25 and 50˚C showed the lowest peroxide number (respectively with 13.5 and 39.58 milliequivalent grams of oxygen per kilogram of oil). The interaction effect of concentration and oil

Email address of the corresponding author: (soodabeheyn@yahoo.com)

system showed that the highest peroxide value was in the treatment of 100 ppm concentration of the emulsion system and the lowest amount of peroxide was related to the concentration of 1000 ppm of the oil system. The interaction effect of all treatments showed that the oil system had a significant effect on the amount of peroxide value, so that the peroxide value in the emulsion system was more than soybean oil. In the emulsion system and temperature of 50˚C, the negative control treatment and 100 ppm extract with 20.89 and 19.74 milliequivalents of oxygen per kilogram of oil, respectively, showed the highest peroxide value.

Keywords: Ethanolic extract, extract extraction, oxidative stability, emulsion.