

## فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره پوست سیبزمینی راجا

آزاده محققی ثمرین<sup>۱</sup>، هاشم پورآذرنگ<sup>۲</sup>، هاشم اخلاقی<sup>۳</sup>، امیرحسین الهامی راد<sup>۴</sup>، نیما همت یار<sup>۵</sup>

۱- نویسنده مسئول: دانشآموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار  
پست الکترونیکی: azadeh\_mohagheghi7882@yahoo.co.in

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار گروه علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار

۴- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار

۵- کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی

تاریخ پذیرش: ۲۰/۶/۸۷

تاریخ دریافت: ۲۱/۱۱/۸۶

### چکیده

**سابقه و هدف:** ترکیبات فنلی که در منابع گیاهی وجود دارد، با کاهش سرعت اکسیداسیون چربی‌ها ارزش تقدیمه‌ای مواد غذایی را بهبود می‌بخشند. استفاده از آنتیاکسیدان‌های سنتزی به دلیل سمیت و خطراتی که دارد محدود شده است. در این مطالعه، فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره پوست سیبزمینی راجا در روغن سویا بررسی شد در زمینه استخراج ترکیبات فنلی از پوست سیبزمینی راجا تحقیقاتی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** ترکیبات فنلی با استفاده از روش پرکولاسیون با حلال مтанول و روش فراصوت با ۵ حلال مтанول، اتانول، هگزان، استن و آب از پوست سیبزمینی راجا استخراج شد. اندازه‌گیری غلظت ترکیبات فنلی عصاره‌ها با روش فولین سیوکالتون انجام شد. فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره پوست سیبزمینی راجا در روغن سویا با استفاده از دو روش گرمخانه‌گذاری و رنسیمیت بررسی شد و اعداد پراکسید و تیوبارتیتریک برای بررسی پیشرفت واکنش اکسیداسیون اندازه‌گیری شدند.

**یافته‌ها:** بیشترین راندمان عصاره‌گیری به حلال‌های آب (۱۵/۵٪) و مтанول (۹/۶٪) و بیشترین مقدار ترکیبات فنلی به حلال مтанول (۶۸/۶٪) به ازای گرم وزن خشک گیاه) با روش فراصوت مربوط بود. پس از ۱۶ روز گرمخانه‌گذاری در ۶۳°C نمونه‌های روغن سویای حاوی عصاره‌های مtanولی پوست سیبزمینی راجا اعداد پراکسید و تیوبارتیتریک کمتری نسبت به نمونه روغن شاهد داشتند. بررسی فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره‌ها با روش رنسیمیت نشان داد که روغن‌های حاوی عصاره پوست سیبزمینی راجا در غلظت‌های ۱۶۰۰ و ۲۴۰۰ ppm دارای پایداری حرارتی بسیار مناسبی هستند.

**نتیجه‌گیری:** استفاده از روش فراصوت سبب افزایش مقدار کل ترکیبات فنلی استخراج شده نسبت به روش پرکولاسیون شد و زمان عصاره‌گیری را کاهش داد. عصاره مtanولی پوست سیبزمینی راجا دارای فعالیت آنتیاکسیدانی بسیار قوی و قابل مقایسه با آنتیاکسیدان‌های تجاری BHT و BHA است.

**وازن گلیدی:** پوست سیبزمینی، ترکیبات فنلی، فعالیت آنتیاکسیدانی، روغن سویا، فراصوت

### • مقدمه

میوه‌ها و سبزی‌ها مانند آلفاتوکوفرول (ویتامین E) گلوتاکیون، بتاکاروتون و اسیداسکوربیک (ویتامین C) در رژیم غذایی می‌توان از این آسیب‌ها جلوگیری کرد (۳، ۴). رژیم‌های غذایی غنی از این ویتامین‌های آنتیاکسیدانی موجب حفظ سلامتی شده و خطر ابتلا به

روغن‌ها و چربی‌ها طی نگهداری در درجه حرارت‌های بالا اکسیده می‌شوند و کیفیت تغذیه‌ای آنها کاهش می‌یابد (۱). فرایند اکسیداسیون روغن‌ها و چربی‌ها و تشکیل رادیکال‌های آزاد سبب ایجاد و پیشرفت سرطان می‌شود (۲). با مصرف ترکیبات آنتیاکسیدانی موجود در

روغن نباتی قو تهران تهیه شد. مواد شیمیایی با خلوص بالا از شرکت مرك آلمان و اسیدگالیک و آنتیاکسیدان‌های تجاری، BHA، BHT و TBHQ با خلوص ۹۷٪ از شرکت دانیسکو دانمارک تهیه شد. غده‌های سیب‌زمینی راجا پوست‌گیری شد و پوست‌ها در شرایط اتاق خشک شد. پوست‌های خشک شده، پودر و از الکی با مش ۴۰ عبور داده شد.

**عصاره‌گیری:** عصاره پوست سیب‌زمینی راجا با دو روش پرکولاسیون و فراصوت تهیه شد. در روش فراصوت، پوست سیب‌زمینی پودر شده توسط اتانول، متانول، هگزان، استن و آب عصاره‌گیری شد. در این روش، مقدار ۱ گرم پودر پوست سیب‌زمینی با ۲۰ ml حلال، مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه تحت امواج فراصوت عصاره‌گیری شد. برای حذف تفاله و مواد غیر محلول، عصاره‌ها با کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شد. بعد از این مرحله، به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۵ °C در دمای ۳۰۰۰ g × ۵ سانتریفوژ شد (۱۰). در روش پرکولاسیون ۱۰ گرم پوست سیب‌زمینی پودرشده توسط ۲۰۰ ml متانول به مدت ۲۴ ساعت با استفاده از یک دستگاه همزن مغناطیسی در دمای اتاق عصاره‌گیری شد. عصاره حاصل با کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شد و رسوب حاصل تحت همان شرایط دوباره عصاره‌گیری شد. پس از مخلوط کردن عصاره‌های صاف شده، با استفاده از دستگاه تبخیرگردان تحت خلاء، حلال در دمای کمتر از ۴۰ °C تبخیر و عصاره تا حد امکان تغليظ شد. بعد از این مرحله به منظور جداسازی مواد غیر محلول باقیمانده، عصاره به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۵ °C در g × ۳۰۰۰ سانتریفوژ شد (۱۰). سپس، عصاره‌های حاصل از پوست راجا در دمای کمتر از ۴۰ °C تحت خلاء خشک و وزن شد تا راندمان و مقدار کل ترکیبات فنلی آنها تعیین شود. عملیات عصاره‌گیری سه بار تکرار شد و باقیمانده عصاره جهت ارزیابی فعالیت آنتیاکسیدانی، مورد استفاده قرار گرفت.

**اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنلی:** غلظت کل ترکیبات فنلی در عصاره‌ها به روش فولین سیوکالتو (۱۱) تعیین و نتایج بر اساس استاندارد اسیدگالیک بیان

بیماری‌های قلبی و سرطان را کاهش می‌دهد (۵). آنتیاکسیدان‌های سنتزی به ویژه بوتیلیت‌هیدروکسی آنیزول (BHA) و بوتیلیت‌هیدروکسی تولوئن (BHT) معمولاً برای ممانعت از واکنش اکسیداسیون استفاده می‌شوند. اثرات سمی و سرطان‌زاوی این آنتیاکسیدان‌های سنتزی در انسان شناخته شده است. همچنین، آنتیاکسیدان‌های سنتزی ممکن است باعث تورم کبد شوند و روی فعالیت‌های آنزیمی کبد تاثیر بگذارند (۶).

سیب‌زمینی یک منبع خوب آنتیاکسیدانی است و حاوی اسیداسکوربیک و آلفاتوكوفرول است که اثر یکدیگر را تشدید می‌کنند (۷). سیب‌زمینی حاوی فلاوان آگلیکون‌ها (flavone aglycones) نیز هست که گروه مهمی از ترکیبات فنلی هستند و خاصیت آنتیاکسیدانی دارند. پوست سیب‌زمینی، کوئرستین (Quercetin) دارد که یک فلاوانول با خاصیت آنتیاکسیدانی است (۸). همچنین، پوست سیب‌زمینی دارای اسید کلروژنیک است که خاصیت آنتیاکسیدانی دارد. سیب‌زمینی منبع خوبی از گلوتاتیون است که یک آنتیاکسیدان محلول در آب و ضدسرطان است و به عملکرد سایر آنتیاکسیدان‌ها مانند ویتامین‌های C و E و بتاکاروتون کمک می‌کند (۴).

مطالعات متعددی استفاده از فراصوت را برای استخراج ترکیبات فنلی از منابع گیاهی گزارش کرده‌اند (۹) اما تاکنون استفاده از روش فراصوت برای استخراج فنلیک‌ها از پوست سیب‌زمینی گزارش نشده است. بنابراین، با توجه به اثرات مضر آنتیاکسیدان‌های سنتزی و اثرات سودمند آنتیاکسیدان‌های طبیعی در حفظ سلامت و ایمنی غذاها و بدن انسان‌ها دارند، در این مطالعه استفاده از پوست قرمز رنگ سیب‌زمینی راجا (Raja) به عنوان یک ماده گیاهی و منبع طبیعی آنتیاکسیدان در روغن سویا و برای نخستین بار در گونه‌های سیب‌زمینی کشور مورد بررسی قرار گرفت.

## • مواد و روش‌ها

**مواد:** غده‌های سیب‌زمینی راجا با پوست قرمز به مقدار ۳۰ کیلوگرم از منطقه فریدن اصفهان جمع‌آوری شد. روغن سویایی بدون آنتیاکسیدان سنتزی از کارخانه

بر آن در روش آون و رنسیمت، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. میانگین‌ها به روش دانکن و در سطح معنی‌دار  $0.05$  مقایسه شد. نرم افزار مورد استفاده برای تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها SPSS<sup>13</sup> بود. نمودارها توسط نرم افزار Excel رسم شدند.

#### ۰ یافته‌ها

اثر نوع حلال و روش استخراج بر راندمان عصاره‌گیری: مقایسه میانگین راندمان عصاره‌گیری از گونه راجا در حلال‌های مختلف تفاوت معنی‌داری نشان داد. حلال آب، دارای بیشترین راندمان عصاره‌گیری ( $15/5$  درصد) بود و حلال‌های متانول با  $6/9$  درصد، اتانول با  $2/25$  درصد، استن با  $2/1$  درصد و هگزان با راندمان ناچیز به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. جدول ۱ کارایی حلال‌ها در عمل عصاره‌گیری و مقایسه راندمان عصاره‌گیری (توسط متانول) با دو روش استخراج فraciatot و پرکولاسیون را نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود، راندمان عصاره‌گیری با متانول در گونه راجا با دو روش استخراج فraciatot و پرکولاسیون، تفاوت قابل ملاحظه‌ای نداشتند.

جدول ۱ - درصد راندمان استخراج عصاره‌های به دست آمده از پوست سبب‌زمینی راجا با حلال‌های مختلف

راندمان (%)	روش استخراج / حلال
a $0.03 \pm 7/0.4$	متانول / پرکولاسیون
b $0.05 \pm 15/50$	fraciatot / آب
a $0.03 \pm 6/90$	fraciatot / متانول
c $0.05 \pm 2/25$	fraciatot / اتانول
d $0.01 \pm 2/11$	fraciatot / استن
e $0.00 \pm .$	fraciatot / هگزان

\* حروف غیریکسان نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح  $5\%$  است ( $P < 0.05$ )

اثر نوع حلال و روش استخراج بر میزان ترکیبات فنلی: بررسی مقایسه مقدار ترکیبات فنلی استخراج شده با حلال‌های متانول، اتانول، آب، استن و هگزان نشان داد که اختلاف معنی‌داری میان پنج عصاره در سطح  $5\%$  وجود دارد. بیشترین مقدار ترکیبات فنلی مربوط به عصاره متانولی بود و عصاره‌های آبی، اتانولی، استنی و

شد. اندازه گیری میزان ترکیبات فنلی در عصاره‌ها سه بار تکرار شد و نتایج حاصل به صورت میانگین بیان شد. استفاده از عصاره پوست سبب‌زمینی راجا در روغن سویا: عصاره متانولی تغلیظ شده راجا در چهار سطح مختلف ( $200$ ,  $800$ ,  $1600$  و  $2400$  ppm) به روغن اضافه شد. عمل اختلاط به وسیله همزن مغناطیسی مجهز به سیستم حرارتی در دمای  $60^{\circ}\text{C}$  به مدت  $15$  دقیقه انجام شد. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و TBHQ در سطح مجاز  $200$  ppm در شرایط کاملاً مشابه به روغن اضافه شد و مقداری از روغن سویای اولیه بدون افزودن هرگونه آنتی‌اکسیدان سنتزی به عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

اندازه گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی: ظروف نمونه روغن‌ها، شیشه‌های قهوه‌ای با حجم  $100\text{ ml}$  بودند که تا حدود  $80\text{ ml}$  پرشدن و نمونه‌ها به گرمخانه  $63^{\circ}\text{C}$  منتقل و به مدت  $16$  روز نگهداری شد. پیشرفت اکسیداسیون در فواصل زمانی معین با اندازه گیری عدد پراکسید و عدد تیوباربیتوريک اسید به ترتیب به روش استاندارد AOCS Cd 8-53 و AOCS Cd 19-90 تعیین شد (۱۲). فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از این فرمول (۱۳) محاسبه شد:

$$(100 \times \text{عدد پراکسید شاهد}) / (\text{عدد پراکسید نمونه}) = 100$$

همچنین برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست سبب‌زمینی راجا در روغن سویا از روش رنسیمت (Dستگاه Rensimet مدل Metrohm 743) استفاده شد. گرم از نمونه‌های روغن در دماهای  $90$ ,  $120$  و  $150^{\circ}\text{C}$  و با سه تکرار، مورد آزمایش قرار گرفتند. سرعت جريان هوا  $20$  لیتر در ساعت تنظیم شد. داده‌های به دست آمده بر مبنای طول دوره القایی و فاکتور اثربخشی F مقایسه شد. (فاکتور اثربخشی : طول دوره القایی در حضور آنتی‌اکسیدان / طول دوره القایی شاهد).

تجزیه و تحلیل آماری: برای بررسی اثر حلال و روش استخراج بر راندمان عصاره‌گیری و میزان ترکیبات فنلی، آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. برای بررسی توانایی آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست راجا در روغن سویا و تعیین اثر غلظت و دما

قابل توجهی با نمونه شاهد داشت. افزودن عصاره پوست سیب زمینی هم اثر قابل ملاحظه‌ای در جلوگیری از افزایش اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید روغن سویا طی ۱۶ روز نگهداری در  $63^{\circ}\text{C}$  نشان داد.

از نتایج به دست آمده چنین برمی‌آید که با افزایش غلظت عصاره پوست سیب زمینی، اثرات ممانعت کنندگی از اکسیداسیون به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد. پس از ۱۶ روز گرمانه‌گذاری در  $63^{\circ}\text{C}$  عدد پراکسید روغن‌های سویای حاوی ۲۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ ppm عصاره پوست سیب زمینی به ترتیب ۴۳/۸۳، ۴۳/۸۳ و ۳۸/۹۳ meq/kg و  $24/41$  و عدد تیوباربیتوریک اسید به ترتیب  $6.6/2$ ،  $6.8/0.6$ ،  $6.6/2$  و  $5.6/2.2$  تعیین شد و تفاوت قابل ملاحظه‌ای از لحاظ آماری وجود داشت. اما تفاوت مهمی بین آنتیاکسیدان BHA در غلظت ppm و عصاره پوست سیب زمینی در غلظت ppm ۲۰۰ و همچنین بین آنتیاکسیدان BHT در غلظت ppm ۲۰۰ و عصاره پوست سیب زمینی در غلظت‌های ۱۶۰۰ و ppm ۲۴۰ وجود نداشت. علاوه بر این، تفاوت قابل ملاحظه‌ای در اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید بین غلظت‌های ۲۰۰ و ۸۰۰ ppm و بین غلظت‌های ۱۶۰۰ و ppm ۲۴۰ عصاره مشاهده نشد (جدول ۳).

جدول ۳- فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره پوست سیب زمینی راجا، TBHQ و BHT در روغن سویا پس از ۱۶ روز نگهداری در  $63^{\circ}\text{C}$

نوع تیمار	فعالیت آنتیاکسیدانی (%)
200 ppm TBHQ	۸۴/۴۵ a
عصاره پوست راجا 2400 ppm	۶۱/۹۱ b
عصاره پوست راجا 1600 ppm	۵۹/۸۲ b
200 ppm BHT	۵۵/۱۸ b
200 ppm BHA	۴۸/۱۲ c
800 ppm راجا	۳۹/۲۵ cd
200 ppm راجا	۳۱/۶۰ d
شاهد	۰/۰۰ e

حروف غیریکسان نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ است ( $P < 0.05$ )

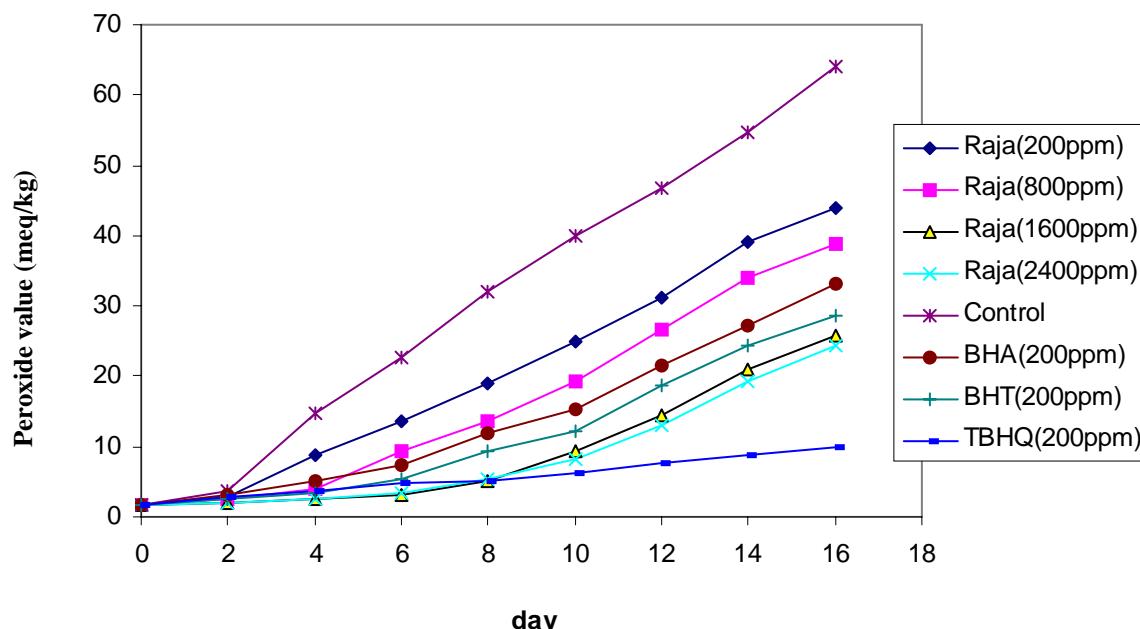
هگزانی به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. عصاره استخراج شده به روش فراصوت با بیشترین مقدار ترکیبات فنلی را داشت (جدول ۲). به عبارت دیگر، استفاده از امواج ماورای صوت به طور معنی‌داری سبب افزایش استخراج ترکیبات فنلی نسبت به روش پرکولاسیون در گونه راجا شد. ( $P < 0.05$ ).

جدول ۲ - میزان ترکیبات فنلی استخراج شده از پوست سیب زمینی راجا با استفاده از روش‌ها و حالات مختلف

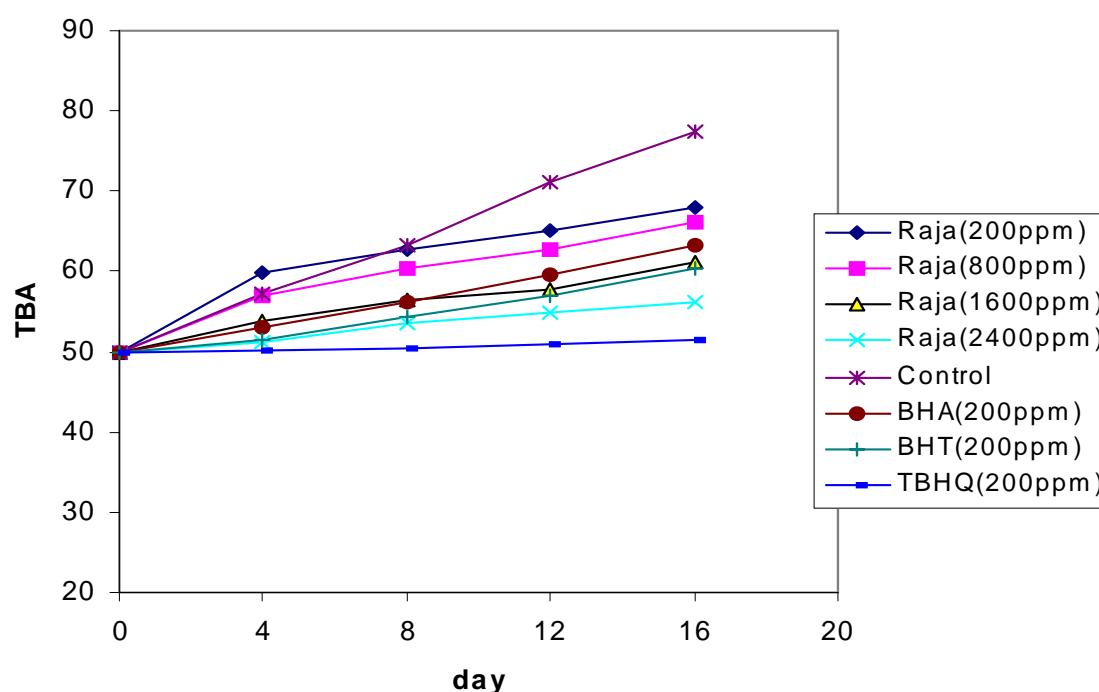
روش استخراج / حال	میزان ترکیبات فنلیک (میگروگرم اسید گالیک / گرم ماده خشک)
متانول / پرکولاسیون	a $4/40 \pm 5.5/4.90$
فراصوت / آب	c $7/0.5 \pm 5.1/4.20$
فراصوت / متانول	b $5/5.0 \pm 6.8/0.68$
فراصوت / اتانول	d $5/5.0 \pm 3.1/0.80$
فراصوت / استن	e $4/4.4 \pm 2.7/5/5.0$
فراصوت / هگزان	f $0/0.0 \pm 0.0/0.0$

\* حروف غیریکسان نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ است ( $P < 0.05$ )

بررسی فعالیت آنتیاکسیدانی توسط آزمون گرمانه: بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های روغن، طی ۱۶ روز گرمانه‌گذاری در  $63^{\circ}\text{C}$  به طور تدریجی افزایش یافت که بسته به غلظت عصاره‌ها و نوع آنتیاکسیدان سنتزی متفاوت بود (شکل‌های ۱ و ۲). عدد پراکسید روغن سویای بدون آنتیاکسیدان (شاهد) پس از ۱۶ روز گرمانه‌گذاری از  $1/69$  meq/kg به  $1/69$  meq/kg و  $64/0.8$  meq/kg افزایش یافت. تغییرات این اعداد طی نگهداری روغن سویا در  $63^{\circ}\text{C}$  نشان داد که افزودن AHA، BHA و TBHQ پیشرفت فساد را به تعویق می‌اندازد، اما اثر حفاظتی TBHQ بهتر از BHT و BHA بود، به طوری که عدد پراکسید به ترتیب در نمونه‌های حاوی AHA، BHA و TBHQ برابر  $28/72$ ،  $33/24$  و  $9/96$  meq/kg تعیین شد. همچنین، عدد تیوباربیتوریک اسید به ترتیب در نمونه‌های حاوی AHA، BHA و TBHQ برابر  $63/36$  تعیین شد که در هر دو مورد، اختلاف  $51/45$  و  $60/46$  تعیین شد.



شکل ۱- اثر عصاره پوست سیب‌زمینی راجا بر اکسیداسیون روغن سویا با تعیین تغییرات عدد پراکسید در دمای ۶۳°C



شکل ۲ - روند تغییرات عدد تیوبارتیتوریک اسید در ۴ تیمار آنتی اکسیدانی روغن سویا (عصاره پوست راجا)، و شاهد طی نگهداری در دمای ۶۳ °C

مقادیر فاکتور اثربخشی F برای غلظت‌های مختلف عصاره و در دماهای مختلف در جدول ۵ نشان داده شده است. مطابق یافته‌های جدول ۵ مقدار عددی F تحت تاثیر دما تغییر می‌کند؛ به گونه‌ای که با افزایش دما از ۱۲۰ به ۱۵۰°C اثربخشی F در روغن‌های حاوی عصاره‌های آنتیاکسیدانی حاصل از پوست سیب‌زمینی، به طور معنی‌داری کاهش یافت البته، اختلاف معنی‌داری بین دماهای ۹۰ و ۱۲۰°C مشاهده نشد. همچنین، با افزایش غلظت، فاکتور F نیز افزایش یافت. بنابراین، غلظت بر کارایی عصاره تأثیرگذار است. بررسی نتایج نشان می‌دهد که میان غلظت‌های ۲۰۰ و ۸۰۰ ppm و همچنین بین مقادیر ۱۶۰۰ و ۲۴۰۰ ppm از عصاره آنتیاکسیدانی پوست سیب‌زمینی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد اما این اختلاف بین غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۶۰۰ ppm معنی‌دار بود و F افزایش یافت ( $P < 0.05$ ).

بررسی فعالیت آنتیاکسیدانی توسط آزمون رنسیمت: در بررسی نمونه‌های روغن سویای حاوی عصاره پوست سیب‌زمینی گونه راجا در سه دمای ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰°C طول دوره القایی تیمارها به این ترتیب بود: TBHQ < BHA < BHT < ppm ۱۶۰۰ راجا < ppm ۲۴۰۰ راجا < ppm ۲۰۰ راجا < ppm ۸۰۰ راجا < شاهد همه تیمارهای آنتیاکسیدانی، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند ( $P < 0.05$ ) به جز تیمارهای ۲۰۰ ppm و ۸۰۰ ppm راجا و BHA و همچنین ۸۰۰ ppm راجا و BHT در دمای ۹۰°C که با هم برابر بودند. نتایج حاصل از مقایسه طول دوره القایی در جدول ۴ آورده شده است.

همان طور که مشاهده می‌شود، با افزایش دما، طول دوره القایی نمونه‌ها کاهش یافت. اختلاف میان سطوح مختلف غلظت عصاره معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) و بیشترین اختلاف مربوط به غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۶۰۰ ppm بود.

جدول ۴ - اثر افزودن عصاره متانولی پوست راجا، BHT، BHA و TBHQ بر دوره القایی (ساعت) روغن سویا به روش رنسیمت

عصاره متانولی پوست راجا (ppm)									
۲۴۰۰	۱۶۰۰	۸۰۰	۲۰۰	TBHQ	BHT	BHA	شاهد	(°C)	
۳۲/۰۹ ± ۰/۳۲b	۳۱/۱۶ ± ۰/۲۰c	۲۸/۵۲ ± ۰/۲۲ed	۲۸/۲۷ ± ۰/۱۰e	۶۰/۲۰ ± ۰/۱۱a	۲۹/۷۰ ± ۰/۱۲d	۲۸/۸۹ ± ۰/۰۵e	۲۵/۷۰ ± ۰/۰۲f	۹۰	
۴/۰۵ ± ۰/۰۶ b	۲/۹۱ ± ۰/۰۲c	۳/۵۲ ± ۰/۰۷f	۳/۴۵ ± ۰/۰۰g	۶/۸۶ ± ۰/۰۴a	۳/۷۱ ± ۰/۰۷d	۳/۶۵ ± ۰/۰۰e	۳/۲۰ ± ۰/۰۱h	۱۲۰	
۰/۶۱ ± ۰/۰۰b	۰/۶۰ ± ۰/۰۰c	۰/۵۹ ± ۰/۰۰f	۰/۵۶ ± ۰/۰۱g	۱/۰۱ ± ۰/۰۲a	۰/۶۳ ± ۰/۰۰d	۰/۶۲ ± ۰/۰۰e	۰/۵۵ ± ۰/۰۰h	۱۵۰	

\* حروف غیریکسان نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است ( $P < 0.05$ )

جدول ۵ - مقادیر F محاسبه شده عصاره متانولی پوست راجا و آنتیاکسیدان‌های سنتزی در روغن سویا به روش رنسیمت

(°C)

۹۰	۱۲۰	۱۵۰c	آنٹیاکسیدان (ppm)
a1/10	۱/۰۷ a	c1/۰۲	۲۰۰ عصاره راجا
a1/11	۱/۱۰ a	۱/۰۷ c	۸۰۰ عصاره راجا
۱/۲۱b	۱/۲۲ b	۱/۰۹ d	۱۶۰۰ عصاره راجا
۱/۲۵b	۱/۲۶ b	۱/۱۱ d	۲۴۰۰ عصاره راجا
۳۴,۲	۲/۱۴	۱/۸۴	۲۰۰ TBHQ
۱/۱۵	۱/۱۶	۱/۱۴	۲۰۰ BHT
۱/۱۲	۱/۱۴	۱/۱۳	۲۰۰ BHA

\* حروف غیریکسان نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است ( $P < 0.05$ )

بنابراین، روش فراصوت به دلیل کاهش قابل توجه زمان عصاره‌گیری و افزایش کارایی نسبت به روش پرکولاسیون، ارجح است. گلی و همکاران در سال ۲۰۰۵ در بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی پوست پسته و جکز و همکاران در سال ۲۰۰۵ در مطالعه راندمان عصاره‌گیری از برگ بلوط با دو روش فراصوت و پرکولاسیون نتایج مشابهی را گزارش کردند (۱۶، ۱۵). به نظر می‌رسد که تغییر شرایط استخراج با فراصوت (زمان، دما، حلال و...) تأثیر فراوانی در راندمان عصاره‌گیری دارد. در بررسی میزان ترکیبات فنلی می‌توان نتیجه‌گرفت که مقدار ترکیبات فنلی عصاره‌های مذکور با افزایش قطبیت حلال افزایش می‌یابد. حلال آب با وجود راندمان بالا ترکیبات فنلی کمتری نسبت به حلال متانول استخراج کرد. در واقع، حلال آب، مواد جامد قابل استخراج بیشتری را در خود حل کرده، اما همه این ترکیبات لزوماً فنلی نیستند. رودریگر و همکاران در سال ۱۹۹۴ استخراج ترکیبات فنلی را از پوست سیب‌زمینی با استفاده از متانول و آب بررسی کردند و دریافتند که استخراج متانولی در دمای ۴۰°C راندمان بالاتری در مقایسه با استخراج آبی در دمای ۲۵°C دارد (۱۷). پوست سیب‌زمینی حاوی ترکیبات فنلی بسیار زیادی (CGA) است. بیشترین بخش، شامل اسید کلروژنیک (CGA) است که مشتق اسید کافئیک (CFA) و اسید کوئینیک (QNA) است (۱۸). تفاوت اندکی در محتوای ترکیبات فنلی بین بخش‌های یک غده سیب‌زمینی وجود دارد، بجز پوست و کورتکس که حاوی مقادیر بیشتری از سایر بخش‌ها هستند (۱۹). ترکیبات فنلی، بیشتر بین پوست و کورتکس سیب‌زمینی توزیع شده‌اند و حدود ۵۰ درصد از کل ترکیبات فنلیک سیب‌زمینی در پوست و بافت‌های مجاور آن قرار گرفته است. میزان باقیمانده از بیرون به طرف مرکز غده سیب‌زمینی کاهش می‌یابد (۲۰). کریستین‌لوبز و همکاران در سال ۱۹۹۸ در مطالعه روی آنتوسیانین‌ها، فلاونونئیدها و اسیدهای فنلی در

## • بحث

برای اینکه حلالی بتواند یک ماده را در خود حل کند، ابتدا باید بر جاذبه بین مولکولی ماده حل شونده غلبه کند و سپس برهم‌کنش‌های مناسبی با ماده حل شونده ایجاد کند. طبق نتایج به دست آمده، به نظر می‌رسد که بازده عصاره‌گیری با افزایش قطبیت حلال افزایش یافته است. در بین حلال‌های مورد استفاده، آب بالاترین قطبیت را دارد که این امر ممکن است در بالابودن راندمان عصاره‌گیری با آب مؤثر باشد. زیرا بخش عمده‌ای از ترکیبات پوست سیب‌زمینی را مواد قطبی تشکیل می‌دهند (۱۴). در مطالعه ضیا-رحمان و همکاران در سال ۲۰۰۴ دامنه گزارش شده برای راندمان عصاره‌گیری از پوست سیب‌زمینی با حلال‌های متانول، اتانول، استن و هگزان بین ۵/۸۸ تا ۱۴/۷۵ درصد است. در حالی که راندمان عصاره‌گیری با حلال‌های مذکور در این پژوهش، بین ۰ تا ۶/۹ درصد تعیین شد. علت این تفاوت‌ها به گونه سیب‌زمینی، درجه خلوص حلال‌های مورد استفاده و روش استخراج نسبت داده می‌شود.

در فرایند استخراج با فراصوت، کاویتاسیون (cavitation) ناشی از امواج فراصوت، نیروهای ایجاد می‌کند که دیواره‌های سلول را به طور مکانیکی تجزیه می‌کند و انتقال مواد را بهبود می‌بخشد. به همین دلیل، راندمان عصاره‌گیری حاصل از روش پرکولاسیون طی ۲۴ ساعت تقریباً برابر با مدت زمان ۱۵ دقیقه در روش استخراج فراصوت است. تاثیر فرایند فراصوت در افزایش راندمان استخراج به تشدید و تقویت انتقال ماده نسبت داده می‌شود که از فروریختگی حباب‌های کاویتاسیون در نزدیک دیواره سلول ناشی می‌شود. همان طور که بیان شد، با شکستن دیواره سلولی، تماس بین حلال و ماده گیاهی افزایش می‌یابد. به علاوه وقتی حباب‌های کاویتاسیون فرومی‌ریزند، جت فراصوت مثل یک پمپ عمل می‌کند و حلال را به داخل سلول می‌فشارد. در نتیجه، دسترسی حلال به سلول گیاهی آسان‌تر می‌شود.

غلظت‌های ۱۶۰۰ و ۲۴۰۰ ppm معنی‌دار نبود؛ اما در فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره‌ها در غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۶۰۰ ppm اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. ( $P < 0.05$ ) ضیا-رحمان و همکاران در سال ۲۰۰۴ فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره پترولیوم اتری پوست سیب‌زمینی را در جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا در حد آنتیاکسیدان‌های تجاری BHA و BHT و عدم وجود رابطه خطی میان غلظت و فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره پوست سیب‌زمینی را گزارش کردند<sup>(۱)</sup>). علت تفاوت بین نتیجه حاصل از اثر عصاره‌های هگزان در مطالعه حاضر و پترولیوم اتر در مطالعه ضیا-رحمان و همکاران، به روش استخراج و گونه سیب‌زمینی نسبت داده می‌شود. زیرا در مطالعه ضیا-رحمان سیب‌زمینی پوست قهقهه‌ای بررسی شد و ترکیبات متفاوتی دارند. رودریگر و همکاران نیز در سال ۱۹۹۴ فعالیت آنتیاکسیدانی پوست سیب‌زمینی را با استفاده از آزمون گرمخانه طی ۴ روز نگهداری روغن سویا در  $63^{\circ}\text{C}$  بررسی کردند و آن را برابر با BHT یافتند<sup>(۲۳)</sup>. بررسی تغییرات اکسیداسیون در طول زمان (شکل‌های ۱ و ۲) نشان می‌دهد که روند تغییرات اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید با یکدیگر متفاوت است و عدد پراکسید، افزایش ناگهانی داشته، اما عدد تیوباربیتوریک به صورت آهسته افزایش یافته است. بنابراین، در دوره زمانی مورد بررسی در این مطالعه میزان تولید مالون آلدئید به عنوان یکی از فراورده‌های ثانویه اکسیداسیون افزایش زیادی نداشته است.

برای بررسی مقاومت حرارتی تیمارها در روش رنسیمت از شرایط تشدید شده اکسیداسیون مانند دمای بالا و حریقان هوا استفاده می‌شود و افزایش هدایت الکتریکی آب به عنوان شاخصی از پیشرفت اکسیداسیون در نظر گرفته می‌شود. زیرا در حین اکسیداسیون روغن‌ها، اسیدهای آلی فرار به خصوص اسیدفرمیک به وجود می‌آید که هدایت الکتریکی را افزایش می‌دهند<sup>(۲۴)</sup>. در آزمون رنسیمت، پایداری حرارتی عصاره متابولی

بخش‌های مختلف گیاه سیب‌زمینی گزارش کردند که مقدار اسیدهای فنلی در غده‌های پوست قرمز تقریباً دو برابر گونه‌های با پوست معمولی است. همچنین، تفاوتی کمتر اما معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) در غلظت فلاونوئیدها بین غده‌های پوست قرمز و پوست معمولی مشاهده شد و مقدار بسیار زیادی آنتوسیانین در غده‌های رنگی وجود داشت. در مطالعات انجام شده، همبستگی بسیار زیادی بین غلظت آنتوسیانین‌ها و اسیدهای فنلی وجود دارد که تأیید می‌کند غده‌های رنگی‌تر حاوی مقادیر بیشتری اسیدهای فنلی هستند<sup>(۲۱)</sup>. بنابراین، تفاوت مقدار ترکیبات فنلی به گونه گیاه، وابسته است. بر اساس یافته‌های این پژوهش، روش فراصوت اگرچه از نظر راندمان عصاره‌گیری با روش پرکولاسیون، برابری کرد، اما توانست ترکیبات فنلی بیشتری را استخراج کند. این افزایش توسط گلی و همکاران<sup>(۱۵)</sup> و چو-تینگ لیو و همکاران<sup>(۲۲)</sup> در سال ۲۰۰۵ نیز مشاهده شده است. با توجه به راندمان و میزان زیاد ترکیبات فنلی استخراج شده توسط حلal متابول، این حلal برای ادامه آزمایش‌ها انتخاب شد. زیرا حلal آب با وجود بازده بالا ترکیبات فنلی کمتری استخراج کرد.

بر اساس نتایج حاصل از ارزیابی تغییرات اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در دمای  $63^{\circ}\text{C}$  پس از ۱۶ روز، اختلاف معنی‌داری از نظر آماری در غلظت ppm ۸۰۰ عصاره پوست سیب‌زمینی با BHA و در غلظت‌های ۱۶۰۰ و ۲۴۰۰ ppm با BHT وجود ندارد<sup>(P > 0.05)</sup> که نشان دهنده فعالیت آنتیاکسیدانی قوی است، اما این فعالیت در تمام غلظت‌ها کمتر از TBHQ بود. شدت بروز خاصیت آنتیاکسیدانی به غلظت عصاره وابسته بود. به طوری که این فعالیت با افزایش غلظت عصاره به طرز معنی‌داری افزایش و اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید، کاهش یافت که به تجمع ترکیبات فنلی نسبت داده می‌شود. این ارتباط به صورت خطی نبوده و اختلاف میان غلظت‌های ۲۰۰ و ۸۰۰ ppm میان

خواص آنتیاکسیدانی قوی است و می‌تواند به عنوان یک منبع طبیعی آنتیاکسیدان پس از انجام آزمون‌های سم شناسی مورد استفاده قرار بگیرد. مقاومت حرارتی عصاره حاصل از پوست سیب‌زمینی، چندان بالا نیست، اما فعالیت آنتیاکسیدانی مناسبی در دماهای پایین‌تر دارد. به این ترتیب، پیشنهاد می‌شود فعالیت آنتیاکسیدانی و ترکیبات فنلی پوست سایر گونه‌ها به ویژه گونه‌هایی که سطح زیر کشت بیشتری دارند و در کارخانجات بیشتر استفاده می‌شوند، مورد ارزیابی قرار بگیرد و با گونه حاضر مقایسه شود. همچنین، تخلیص عصاره، تفکیک اجزا تشکیل دهنده، ارزیابی فعالیت آنتیاکسیدانی اجزا و بهینه‌سازی شرایط استخراج با فراصوت از نظر متغیرهایی مانند دما، زمان و نسبت ماده اولیه به حلال پیشنهاد می‌شود.

### سپاسگزاری

از جناب آقای مهندس حسن طاهری مسئول محترم بخش سیب‌زمینی دفتر سبزی و صیفی وزارت کشاورزی، جناب آقای مهندس محسن کشمیری (کارخانه روغن نباتی قو) و جناب آقای مهندس محمد سلامی نیا به دلیل همکاری در زمان انجام تحقیق قدردانی می‌شود.

### • References

- Zia-ur R, Habib F, Shah WH. Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. *Food Chem* 2004; 85 (2): 215-220.
- Kinsler TW, Taffe BG. Free radicals in tumor promotion. *Adv free radical. Biol Med* 1986; 2: 347-388.
- Machlin LJ, Bendich A. Free radical damage: Protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J* 1987; 1: 441-445.
- Jones DP, Coates RJ, Flagg EW, Block G, Greenberg RS, Gunter ET, Jackson B. Glutathione in foods listed in the national cancer Institutes health habits and history food frequency questionnaire. *Nutr cancer* 1992; 17: 57-75.
- Byers T, Perry G. Dietary carotenes, vitamin C and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Annu Rev Nutr* 1992; 12: 139-159.
- Martin AD, Gilbert D. Enzyme change accompanying liver enlargement in rats treated with 3-tert.butyl-4-hydroxyanisol. *Biochem J* 1968; 106 :22-27.
- Byers T, Perry G. Dietary carotenes, vitamin C and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Annu Rev Nutr* 1992; 12: 139-159.
- Pratt DE, Watts BM. The antioxidant activity of vegetables extracts I. flavone aglycones. *J Food Sci* 1964; 29: 27-33.
- Albu S, Joyce E, Paniwnyk L, Lorime JP, Manson TJ. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from Rosmarinus officinalis for the food and pharmaceutical industry. *Ultrason Sonochem* 2004; 11(3-4): 261- 265.
- Sotillo RD, Hadley M, Holm ET. Phenolics in aqueous potato peel extract: Extraction, identification and degradation. *JFood Sci* 1994 ;59(2): 649-651.

raga در چهار سطح غلظتی (۰، ۲۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ ppm) و در سه دما (۰، ۱۲۰ و ۹۰ °C) در روغن سویا مورد بررسی قرار گرفت. سطوح مختلف غلظت برای بررسی نحوه تابعیت اثر آنتیاکسیدانی عصاره از غلظت و سطوح مختلف دما برای مشاهده اثر دما بر فعالیت آنتیاکسیدانی و مقاومت حرارتی عصاره به کار رفت. در بررسی مقاومت حرارتی عصاره مтанولی پوست راجا در روش رنسیمت بر اساس یافته‌های این پژوهش اختلاف معنی‌داری بین دماهای ۹۰ و ۱۲۰°C وجود نداشت، اما اختلاف معنی‌داری بین دماهای ۱۲۰ و ۱۵۰°C مشاهده شد که نشان می‌دهد این عصاره در بالاتر از دمای ۱۲۰°C مقاومت حرارتی مناسبی ندارد. تاثیر مثبت افزایش غلظت بر کارایی عصاره مtanولی و غیرخطی بودن این رابطه در روش رنسیمت نیز مانند آزمون گرمخانه مشاهده شد. مارونیو و یانیش نیز در سال ۱۹۹۵ عدم وجود رابطه خطی بین غلظت و اثربخشی ترکیبات آنتیاکسیدانی را گزارش کردند (۲۵).

به طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که انتخاب نوع حلal و روش استخراج، تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر راندمان عصاره‌گیری و میزان ترکیبات فنلی استخراج شده دارد. نتایج نشان می‌دهد که عصاره پوست سیب‌زمینی دارای

11. Singh RP, Murthy KNC, Jayaprakasha GK. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *J Agr Food Chem* 2002 ; 50: 81-86.
12. A.O.C.S, Official methods of analysis 1997; Cd 8-53, Cd 19-90, American Oil Chemists Society.
13. Abdalla AE, Roozen JP. Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Food Chem* 1999; 64: 323-329.
14. Jones DP, Coates RJ, Flagg EW, Block G, Greenberg RS, Gunter ET, Jackson B. Glutathione in foods listed in the national cancer Institutes health habits and history food frequency questionnaire. *Nutr cancer* 1992; 17: 57-75.
15. Goli AH, Barzegar M, Sahari MA. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistacia vera*) hull extracts. *Food chem* 2005; 92(3) :521-525.
16. Jacques RA, Freitas LS, Pérez VF, Dariva C, Oliveira AP, Oliveira JV, Caramão EB. The use of ultrasound in the extraction of *Ilex paraguariensis* leaves: A comparison with maceration. *Ultrasound sonochem* 2007; 14(1) : 6-12.
17. Sotillo RD, Hadley M, Holm ET. Phenolics in aqueous potato peel extract: Extraction, identification and degradation. *J Food Sci* 1994; 59(2): 649-651.
18. Lisinska G, Leszczynski W. Potato tubers as raw material for processing and nutrition.ch.2 In: G.lisinska, leszczynski W editor. Potato science and technology. London: Elsevier Applied Science; 1987.
19. Saikhan MS, Howard LR, Miller JC. Antioxidant activity and total phenolics in different genotypes of potato (*Solanum tuberosum, L.*). *J Food Sci* 1995; 60 (2): 341-343.
20. Friedman M. Chemistry, Biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. *J Agr Food Chem* 1997; 45: 1523-1540.
21. Lewis CE, Walker JRL, Lancaster JE, Sutton KH. Determination of anthocyanins, flavonoids and phenolic acids in potatoes: Coloured cultivars of *Solanum tuberosum L.* *J Sci Food Agric* 1998; 77: 45-57.
22. Liu CT, Wu CY, Weng YM, Tseng CY. Ultrasound-assisted extraction methodology as a tool to improve the antioxidant properties of herbal drug Xiao-chia-hu-tang. *J Ethnopharmacol* 2005; 99(2): 293-300.
23. Sotillo RD, Hadley M, Holm ET. Potato peel waste: stability and antioxidant activity of a freeze-dried extract. *J Food Sci* 1994; 59(5): 1031-1033.
24. Pokorny J, Yanishheva N, Gordon M. Antioxidants in food: practical Applications. Boca Raton: CRC Press LLC 2001; Fl.
25. Marinova EM, Yanishlieve NN. Antioxidant activity of extracts from selected species of the family lamiaceae in sunflower oil. *Food Chem* 1997; 58: 245-248.