مقاله کامل علمی-پژوهشی

نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد سیزدهم، شماره دوم، ۱۴۰۰
۳۳-۴۶
http://ejfpp.gau.ac.ir

DOI: 10.22069/EJFPP.2021.17724.1607

پایداری اکسایشی روغن ارده کنجد غنی شده با اسانس بادرنجبویه در دمای بالا و طی دوره نگهداری

غلامحسین پورقنبری[1*]، علی صحرایی اردکانی[2]، آیدا ایرجی[3]

[1] گروه علوم درمانگاهی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه اردکان، ایران
[2] گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه اردکان، ایران
[3] آزمایشگاه مرکزی تحقیقات، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، فارس، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۶

چکیده

سابقه و هدف: روغن‌های گیاهی از جمله روغن کنجد حاوی درصد بالایی از اسیدهای چرب غیر اشباع و مستعد اکسایش و تولید متابولیت‌های بسیار سمی هستند. آنتی‌اکسیدان‌ها موجب مهار یا تأخیر در روند اکسایش مواد غذایی از جمله چربی‌ها می‌شوند. بطور معمول، آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در صنایع غذایی استفاده می‌شوند، اما همواره در ارتباط با کیفیت و امنیت آنها مباحثی مطرح بوده است. از طرفی، کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با منشاء گیاهی رو به افزایش است. بادرنجبویه به‌عنوان یک گیاه دارویی، دارای ترکیبات مختلف با خواص متنوع از جمله ویژگی آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی می‌باشد. این مطالعه به‌منظور بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف اسانس بادرنجبویه در مقابل اکسایش روغن ارده کنجد در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در طی زمان، انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: به‌منظور محاسبه ترکیبات اسانس بادرنجبویه از دستگاه کروماتوگرافی طیف سنج جرمی (GC-MS) استفاده شد. سپس، برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی اسانس، از آزمایش اندازه‌گیری محتوای کلی فنل (TPC) استفاده گردید. قدرت اسانس در مهار رادیکال‌های آزاد با ارزیابی قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بررسی شد. همچنین، آزمون رنسمیت برای محاسبه زمان القاء (دوره‌ی اکسایش کند) به کار گرفته شد. به‌منظور اندازه‌گیری اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس بادرنجبویه، غلظت‌های صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ (میکروگرم اسانس در هر میلی‌لیتر روغن ارده کنجد) و آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ به عنوان گروه کنترل مثبت با غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر هر میلی‌لیتر به روغن ارده کنجد اضافه شد و عدد پراکسید (PV) و شاخص اسید تیوباربیتوریک (TBA) در گروه‌های مختلف در طی ۵ مرحله در روزهای ۱، ۵، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ پس از اضافه کردن اسانس به روغن ارده، اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: تجزیه و تحلیل اسانس با GC/MS نشان داد که ترکیبات نرال و جرانیال دارای بالاترین غلظت هستند. گروه‌های دریافت کننده TBHQ و اسانس بادرنجبویه با غلظت ۲۰۰۰ ppm با ۶۱/۶ و ۵۰/۲ درصد، بالاترین ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH را نسبت به گروه کنترل نشان دادند. شاخص دوره القاء (IP) در گروه حاوی TBHQ، ۲۰۰۰ و صفر ppm اسانس به‌ترتیب، ۱۱، ۹/۴ و ۶/۲ ساعت محاسبه گردید. در انتهای مطالعه، عدد پراکسید متعلق به گروه‌های حاوی ۲۰۰۰ ppm اسانس و TBHQ به‌ترتیب ۱۴/۱ و ۱۳/۴ (میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم) و شاخص اسید تیوباربیتوریک در این گروه‌ها به‌ترتیب، ۱/۵ و ۱/۱

[*] مسئول مکاتبه: Hpourghanbari@ardakan.ac.ir

(میکرومول بر گرم) مشاهده گردید. همچنین بین غلظت اسانس بادرنجبویه و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، رابطه مستقیمی مشاهده گردید و با گذشت زمان نگهداری، تمام این شاخص‌ها نیز افزایش یافت (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: یافته‌های پژوهش حاضر نشان دادند که اسانس بادرنجبویه به‌عنوان منبع غنی از مواد آنتی‌اکسیدان از جمله نرال و جرانیال و غیره... موجب افزایش پایداری روغن کنجد در دماهای بالا و نگهداری در زمان‌های طولانی می‌شود؛ به‌طوری که قدرت مهار اکسایش اسانس در غلظت‌های بالا، ۸۵-۷۴ درصد از قدرت مهار اکسایش ترکیب سنتزی به‌دست آمد. بر همین اساس قادر است به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی اکسیدان‌های مصنوعی مطرح شود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اکسایش چربی، اسانس بادرنجبویه، روغن ارده کنجد

مقدمه

روغن‌های گیاهی حاوی درصد بالایی از اسیدهای چرب غیر اشباع و حساس هستند که این ترکیبات طی واکنش‌هایی به محصولات ثانویه اکسایش تبدیل شده و به‌صورت تدریجی موجب کاهش کیفیت مواد غذایی می‌شوند (۱۰، ۱۳). آنتی‌اکسیدان‌ها، ترکیباتی هستند که موجب مهار یا تأخیر در روند اکسایش و تولید رادیکال‌های آزاد می‌شوند. امروزه آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی نظیر BHA[1]، BHT[2]، PG[3]، TBHQ[4]، به‌طور رایج استفاده می‌شوند، اما در ارتباط با امنیت و سلامتی آن‌ها مباحثی مطرح است. این ترکیبات زمانی که در سطوح و مقدار توصیه شده به‌کارگرفته شوند، دارای اثرات مفیدی هستند، اما کاربرد طولانی مدت و بیش از سطح توصیه شده می‌تواند اثرات مضری مانند آسیب‌های کبدی و سرطان را به همراه داشته باشد (۲۶،۳،۱۸). در هر حال، امروزه استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی رو به افزایش است (۲۱). این ترکیبات می‌توانند اثراتی برابر یا گاهی اوقات بیش‌تر از ترکیبات آنتی‌اکسیدان سنتزی را اعمال نمایند. گیاهان منبعی از ترکیبات شیمیایی مختلف هستند و بسیاری از این ترکیبات به‌عنوان مواد آنتی‌اکسیدان طبیعی شناخته شده‌اند(۵). گیاه دارویی بادرنجبویه[5] عضوی از خانواده نعناسانان است. فلاونوئیدها[6]، پلی‌فنل‌ها[7]، گلیکوزیدها[8]، تانن‌ها[9]، منوترپنوئید[10] آلدئیدها[11]، تری‌ترپن[12]، سزکوئی‌ترپن‌ها[13] و غیره به‌عنوان ترکیبات ترکیبات مهم این گیاه مطرح هستند که دارای اثرات متنوعی از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (۱۲).

روغن کنجد به‌عنوان یکی از مرغوب‌ترین و مهم‌ترین روغن‌های گیاهی شناخته شده است (۱۳). از طرفی میزان زیادی از اسیدهای چرب روغن کنجد نظیر اسید اولئیک و اسید لینولئیک، غیراشباع و نسبت به اکسایش حساس هستند. انوعی از روغن کنجد، نظیر روغن ارده کنجد (حاصل از پرس سرد دانه کنجد)، روغن تصفیه شده و روغن ارده کنجد وجود دارند که روش روغن‌کشی در هرکدام متفاوت است. روغن ارده از دانه‌های کنجد پوست گیری شده به‌دست می‌آید. پایداری اکسایشی روغن کنجد حاصل از دانه کنجد پوست کنده نسبت به روغن حاصل از دانه کامل کنجد کم‌تر است. وجود آنتی‌اکسیدان‌های

1. Butylated hydroxyanisole
2. Butylated hydroxytoluene
3. Propyl gallate
4. Tert-Butylhydroquinone

5. *Melissa officinalis*
6. Flavonoids
7. Polyphenols
8. Glycosides
9. Tannins
10. Monoterpene
11. Aldehydes
12. Triterpenes
13. Sesquiterpene

طبیعی مثل گاما توکوفرول[1]، سزامین[2] و سزامولین[3] در پوشش دانه می‌تواند در پایداری اکسایشی روغن دانه کامل کنجد نقش داشته باشد (۲۶). با توجه به استفاده از آب در مسیر روغن کشی روغن ارده، آب وارد فاز کنجاله می‌شود و موجب بالا رفتن عدد پراکسید روغن حاصل از پرس کنجاله می‌شود و بنابراین، ماندگاری این روغن کاهش می‌یابد. در این مطالعه، ترکیبات اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و سپس فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ بر روغن ارده کنجد در دمای بالا و طی دوره نگهداری بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد مصرفی: روغن ارده کنجد خالص و بدون ترکیبات آنتی‌اکسیدان از مراکز فروش واقع در شهر اردکان (استان یزد) خریداری گردید. آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ، اسید استیک خالص، کلروفرم، یدور پتاسیم، تیوسولفات سدیم از شرکت مرک آلمان خریداری گردیدند. اسید گالیک، معرف فولین – سیوکالتو، معرف اتانولی DPPH[4] از شرکت سیگما آلدریچ تهیه شدند.

روش تهیه اسانس: گیاه بادرنجبویه از مزرعه خانگی پرورش گیاهان دارویی در استان یزد تهیه و خشک گردید. سپس ۱۰۰ گرم از گیاه خشک خرد و داخل دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت قرار گرفت و اسانس به‌روش تقطیر جداسازی و با استفاده از سولفات سدیم خشک، آب‌گیری شد. سپس با فیلترهای ۰/۲۲ میکرون تصفیه و در بطری‌های شیشه‌ای تیره تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۸).

تعیین ترکیبات تشکیل دهنده‌ی اسانس: تعیین ترکیبات اسانس بادرنجبویه بر اساس روش عباس‌زادگان و همکاران (۲۰۱۶) انجام گرفت. اسانس مورد نظر بعد از آماده‌سازی، به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی[5] تزریق شد تا نوع و مقدار ترکیب‌های تشکیل دهنده آن مشخص شود (۱).

اندازه‌گیری‌محتوای فنولی تام اسانس: مقدار کل فنول در اسانس بادرنجبویه، به‌روش رنگ‌سنجی و بر اساس روش عباس‌زادگان و همکاران (۲۰۱۶) تعیین شد. در این آزمایش از فولین – سیوکالتو[6] به‌عنوان معرف و از اسید گالیک به عنوان استاندارد استفاده گردید و مقدار کل ترکیبات فنولی بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم اسانس برآورد گردید (۱).

اندازه‌گیری میزان به دام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH: خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس استخراجی بر اساس مهار رادیکال‌های آزاد DPPH به روش طیف سنجی در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه، ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس با ۳/۵ میلی‌لیتر از معرف اتانولی DPPH (۰/۱ میلی‌مولار) مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری گردید. نمونه کنترل هم مطابق روش فوق ساخته و به‌جای نمونه از آب استفاده شد. جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه طیف سنج نوری اندازه‌گیری گردید و درصد بازدارندگی از رابطه ۱ محاسبه گردید (۲۰).

رابطه ۱.

درصد مهار = [(جذب کنترل – جذب نمونه)/(جذب کنترل)] × ۱۰۰

1. γ-Tocopherol
2. Sesamin
3. Sesamolin
4. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
5. Gas chromatography–mass spectrometry
6. Folin-Ciocalteu

ارزیابی رنسیمت: برای ارزیابی پایداری حرارتی روغن ارده حاوی اسانس، از ارزیابی رنسیمت استفاده گردید. این آزمون در ابتدای مطالعه برای گروه‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس و با استفاده از دستگاه رنسیمت (Metrohm, Herisau, 892 Switzerland) و بر اساس روش یانگ و همکاران (۲۰۱۶) انجام گرفت. پس از رسم نمودار، نقطه عطف نمودار به‌عنوان بالاترین درجه مقاومت نمونه‌های روغن در نظر گرفته شد و نتایج به‌صورت زمان القاء (دوره‌ی اکسایش کند) نشان داده شد (۲۵).

گروه‌های آزمایشی: روغن ارده کنجد حاوی اسانس بادرنجبویه با غلظت‌های صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ (میکروگرم اسانس بر هرمیلی لیتر روغن ارده کنجد) و گروه حاوی TBHQ (۲۰۰ µg/ml) در ظروف شیشه‌ایی تیره و در ۳ تکرار تهیه و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۵ روز (شرایط تسریع یافته) نگهداری شدند و در ۵ مرحله در روزهای ۱، ۵، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ پس از شروع مطالعه، عدد پراکسید و شاخص TBA بررسی شدند.

اندازه‌گیری عدد پراکسید: عدد پراکسید برحسب میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم و بر اساس روش یانگ و همکاران (۲۰۱۶) محاسبه شد و میزان جذب نوری در طول موج ۵۶۰ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج اندازه‌گیری شد (۲۵).

اندازه‌گیری شاخص TBA: اندازه‌گیری شاخص اسید تیوباربیتوریک بر اساس روش وایت و همکاران (۱۹۷۰) انجام شد و عدد TBA بر حسب میکرومول مالون دی آلدئید در هر گرم روغن ارده بیان شد (۲۴).

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های به‌دست آمده در این مطالعه با برنامه SPSS نسخه ۲۲ و تحلیل تغییرات یک طرفه از نظر آماری بررسی شد، همچنین برای مقایسه میانگین گروه‌های آزمایشی، آزمون چند دامنه‌ایی دانکن در سطح احتمال خطای کم‌تر از ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

آنالیز ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس: برای شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل شده به طیف سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. نتایج آنالیز ترکیبات اسانس بادرنجبویه استفاده شده در این مطالعه در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که در این جدول آمده است، ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس شامل جرانیال[1] (۲۶/۸ درصد)، نرال[2] (۱۹/۱۹ درصد)، اکسید کاروفیلن[3] (۱۱/۸۵ درصد) و کاریوفیلن[4] (۱۱/۳۵درصد) می‌باشند. در حقیقت ترکیب جرانیال (سیترال A) و نرال (سیترال B) مشتقات سیترال‌ها هستند که در منابع طبیعی مانند گیاهان وجود دارند و به‌عنوان مواد آنتی‌اکسیدان بسیار قوی مطرح شده‌اند. جرانیال یک ماده بیولوژیکی فعال و از لحاظ ساختار شیمیایی در منوتروپنوئیدها طبقه‌بندی گردیده است. این مواد دارای خواص دارویی و شیمیایی متنوعی مانند فعالیت ضدمیکروبی، ضدسرطانی، ضدالتهاب، ضد قارچ، ضد حشرات، اثرات حمایتی از سیستم عصبی، افزایش فعالیت آنزیمی کبد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کبد هستند، همچنین این ترکیبات می‌توانند رادیکال‌های آزاد DPPH را مهار کنند و فعالیت ضداکسایشی داشته باشند. (۱۴،۲۳،۱۵،۱۸). در مطالعه‌ای گزارش شده است که سیترونلال[5] (۳۷/۳۳ درصد)، تیمول[6] (۱۱/۹۶ درصد)، سیترال (۱۰/۱۰ درصد) و بتاکاریوفیلن (۷/۲۷

1. Geranial
2. Neral
3. Caryophyllene oxide
4. Caryophyllene-E
5. Citronellal
6. Thymol

درصد) به‌عنوان مهم‌ترین ترکیبات اسانس بادرنجبویه هستند (۴). همچنین در مطالعه دیگر، مقدار جرانیال، نرال و سیترونلال اسانس گیاه بادرنجبویه به‌ترتیب، ۴۴/۲، ۳۰/۲ و ۶/۳ درصد عنوان شده است. به هر حال، مقادیر مختلفی از این ترکیبات در پژوهش‌ها گزارش شده است و این تفاوت‌ها به دلایل مختلف از جمله مرحله رشد گیاه و منطقه جغرافیایی مرتبط می‌باشد (۱۲).

جدول ۱- نتایج تجزیه و تحلیل اسانس روغنی بادرنجبویه با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل شده به طیف سنج جرمی

Table 1. Chemical composition of *Melissa officinalis* essential oil with GC/MS

پیک Peak	ترکیب Compound		اندیس بازدارنده[1] KI[a]	مساحت (درصد) Area (%)
1	لینالول	Linalool	1084	1.87
2	سیترونلال	Citronellal	1129	0.71
3	ایزوپولگول	Isopulegol	1159	2.46
4	نرال	Neral	1220	19.19
5	جرانیال	Geranial	1251	26.8
6	متیل جرانات	Methyl geranate	1300	0.64
7	جرانیل استات	Geranyl acetate	1361	4.57
8	ناشناخته	Unknown	1368	0.85
9	کاریوفیلن-ای	Caryophyllene-E	1415	11.35
10	هومولن-آلفا	Humulene-α	1445	1.05
11	آمورفن-سیگما	Amorphene-δ	1511	0.44
12	کاریوفیلن اکساید	Caryophyllene oxide	1566	11.85
13	ویریدیفلورول	Viridiflorol	1574	1.92
14	هومولن-اپوکسید	Humulene-epoxide II	1586	0.67
15	کاریوفیلا-۴ (۱۲)، ۸ (۱۳)- دی ان ۵-آلفا ال	Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5α-ol	1613	0.74
16	ناشناخته	Unknown	1648	1.26
17	تترادکانوئیک اسید	Tetradecanoic acid	1747	0.71
18	۱، ۲-بنزن دی کربوکسیلیک اسید، بیس (۲-متیل پروپیل) استر	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	1822	0.2
19	۲-پنتادکانون، ۶، ۱۰، ۱۴-تری متیل	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl	1829	0.61
20	ان-هگزادکانوئیک اسید	N-Hexadecanoic acid	1958	8.43
21	۱۳- اپیمانول	13-Epimanool	2032	1.59
22	۵،۳،۱-سیکلوهپتاتری ان، ۲، ۴-دی هگزیل-۷، ۷-دی متیل	1,3,5-Cycloheptatriene, 2,4-dihexyl-7,7-dimethyl	2081	1.1
23	فیتول	Phytol	1368	0.944238

[1] شاخص بازدارنده بر مبنای نرمال آلکان‌های تزریق شده ($C_{30}-C_8$) در ستون DB-1MS

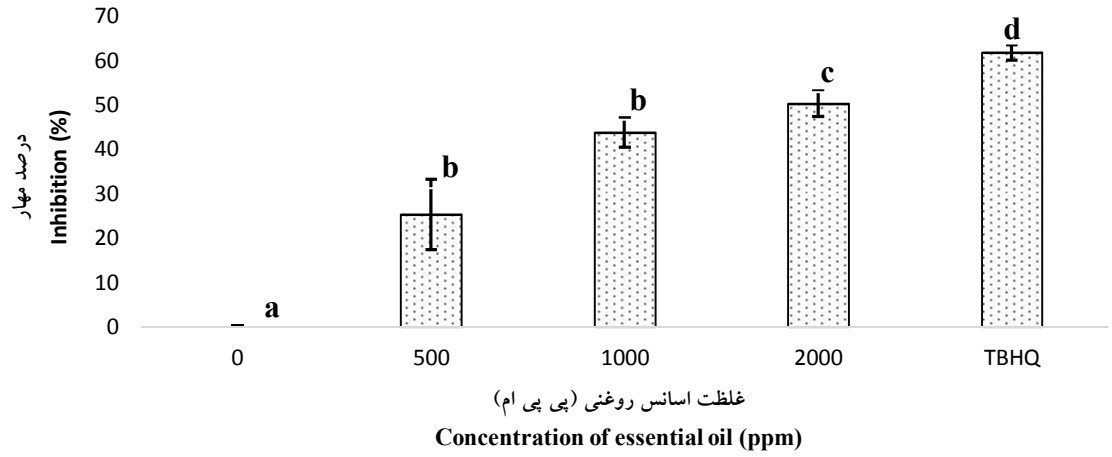
[a] Kovats index relative to n-alkanes (C9–C17) on a DB-1MS column.

محتوای فنلی تام: محتوای فنلی تام اسانس بادرنجبویه ۰/۶۸± ۶۹/۴۱ میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم از اسانس محاسبه شد. فرانکو و همکاران (۲۰۱۸) میزان محتوای فنلی عصاره بادرنجبویه را ۱۳± ۱۷۷ میلی گرم اسید گالیک در هر گرم از عصاره خشک متانولی به‌دست آوردند. همچنین در پژوهشی دیگر، این شاخص ۳۰۳/۲ میلی گرم اسید گالیک بر هر ۱۰۰ گرم از گیاه تازه به‌دست آمد (۶). اثر مهاری

ترکیبات فنلی گیاهان در برابر رادیکال‌های آزاد به خوبی شناخته شده است. اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی به شاخصه‌های اکسایش و احیا آنها مرتبط است؛ به‌صورتی که به‌عنوان یک ترکیب احیا کننده، دهنده هیدروژن و اطفاء کننده اکسیژن عمل می‌کنند. در مطالعات مختلفی، ارتباط مستقیم بین میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی گزارش شده است (۲۲،۱۲).

ویژگی آنتی‌اکسیدانی یک گیاه خاص در بررسی‌های مختلف بر اساس ترکیبات آن‌ها، نوع گونه آن گیاه، شرایط آماده‌سازی و مرحله رشد گیاه متفاوت است. در پژوهشی نشان داده شده است که محتوای کل فنلی بادرنجبویه در سه مرحله برداشت گیاه بین ۲۰/۱۶ الی ۳۸/۷۷ میلی‌گرم اسیدگالیک در هر گرم از عصاره خشک نوسان داشته است (۲۱). در هر صورت، محتوای فنلی گیاه بادرنجبویه در مطالعات مختلف از جمله تحقیق حاضر می‌تواند متفاوت باشد.

توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH: در این مطالعه به منظور محاسبه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس بادرنجبویه آزمون ارزیابی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH به کار گرفته شد و توانایی مهار رادیکال‌های آزاد توسط غلظت‌های مختلف اسانس با توانایی مهاری TBHQ به‌عنوان آنتی‌اکسیدان سنتزی مقایسه گردید (شکل ۱).



شکل ۱- قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در گروه‌های مختلف آزمایشی. در این مطالعه از آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ با غلظت ۲۰۰ ppm استفاده گردید. درصد مهار با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر محاسبه گردید.

***حروف کوچک انگلیسی در بالای هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است (P<۰/۰۵).**

Figure 1. Free radical scavenging activity of different *Melissa officinalis* essential oil concentration (ppm), compared to that of the synthetic antioxidant TBHQ (ppm) and measured based on the activity of DPPH by spectrophotometer at wavelengths of 517 nm.

*Non-similar small letters indicate a significant difference between treatments (P<0.05).

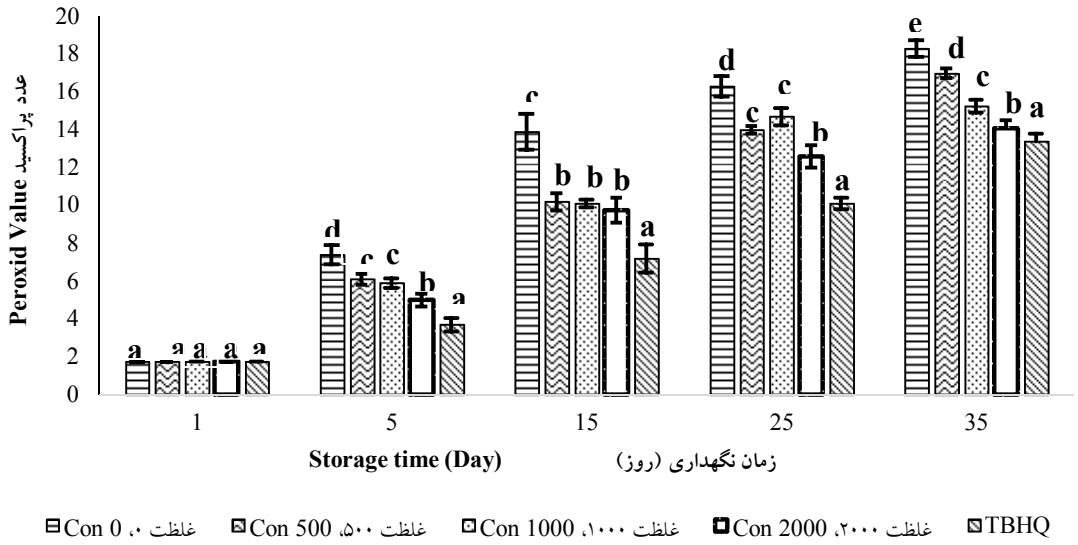
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گروه‌های دریافت کننده TBHQ و اسانس با غلظت ۲۰۰۰ PPM به‌ترتیب، ۱/۷۱±۶۱/۶۸ و ۲/۹۲±۵۰/۲۱ درصد اندازه‌گیری گردید. غلظت‌های مختلف اسانس با هم تفاوت آماری معنی‌داری را نشان دادند. همچنین با گروه حاوی TBHQ نیز تفاوت معنی‌دار داشتند (P<۰/۰۵) (شکل ۱). آزمون DPPH بر اساس احیاء DPPH به DPPH-H انجام می‌گیرد و به‌عنوان یکی از مهم‌ترین آزمون‌های ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات جدید مطرح است. توانایی اسانس در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH به غلظت اسانس وابسته بود و هرچه غلظت افزایش پیدا کرد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش یافت. پژوهش‌های مختلفی نیز عنوان کرده‌اند که ظرفیت ترکیبات گیاه دارویی بادرنجبویه

در مهار رادیکال‌های آزاد، وابسته به غلظت است (۶،۴). در بررسی‌های متعددی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره بادرنجبویه ارزیابی شده است و عموما نتایج به‌دست آمده با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت دارند (۱۰،۱۶).

عدد پراکسید و شاخص اسید تیوباربیتوریک: عدد پراکسید و شاخص TBA در روغن ارده کنجد در روز اول آزمایش به‌ترتیب، ۰/۳۲±۱/۷۵ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم و ۰/۰۴۱± ۰/۲۶ میکرومول بر گرم به‌دست آمد. بر اساس نتایج درج شده در شکل ۲ و ۳، عدد پراکسید و شاخص TBA در گروه‌های آزمایشی حاوی غلظت‌های متفاوت اسانس بادرنجبویه، روندی خطی را نشان دادند، به‌صورتی که با افزایش غلظت اسانس، این شاخص‌ها نسبت به گروه کنترل کاهش یافت. همچنین عدد پراکسید و TBA با گذشت زمان افزایش یافت ($P<0/05$). گروه کنترل منفی (بدون هیچ‌گونه افزودنی) و گروه کنترل مثبت که حاوی آنتی‌اکسیدان طبیعی TBHQ هستند به‌ترتیب، با ۳±۱۸/۴۵ و ۰/۰۴±۱۳/۴، بیش‌ترین و کم‌ترین عدد پراکسید را در روز ۳۵ مطالعه نشان دادند. بالاترین میزان TBA در روز ۳۵، ۰/۲۹± ۲/۶ میلی اکی والان بر کیلوگرم مشاهده گردید و این در حالی بود که این شاخص در گروه حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی و گروه حاوی ۲۰۰۰ میکروگرم اسانس به ترتیب، ۰/۱۵± ۱/۱ و ۰/۱۳± ۱/۵ میلی اکی والان بر کیلوگرم ثبت گردید. همچنین گروه کنترل منفی، بالاترین شاخص اسید تیویاربیتوریک را در زمان‌های مختلف آزمایش، نشان داد ($P<0/05$).

همان‌طور که در شکل‌های ۲ و ۳ مشاهده می‌شود، عدد پراکسید و شاخص TBA در طول زمان افزایش یافت و با افزایش غلظت اسانس بادرنجبویه ، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس نیز بیش‌تر شد. ترکیبات پراکسید به‌عنوان محصولات اولیه اکسایش روغن‌ها مطرح هستند و عدد پراکسید یک شاخص مناسب برای اندازه‌گیری میزان اکسایش روغن‌ها است. یانگ و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که پایداری اکسایشی روغن‌ها با افزایش عدد پراکسید کاهش می‌یابد (۲۵). همچنین گزارش شده است که عدد پراکسید در روغن آفتابگردان غنی شده با اسانس بادرنجبویه با گذشت زمان افزایش پیدا می‌کند که این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۲).

ترکیبات فراری مانند آلدئید، کتون و اپوکسید از تغییر شکل هیدروپرواکسیدهای چربی در مرحله دوم اکسایش روغن‌ها ایجاد می‌شوند. اصولا محصولات مرحله دوم اکسایش با اندازه‌گیری شاخص TBA ارزیابی می‌شوند (۲۳). اندازه‌گیری عدد پراکسید به همراه شاخص TBA تقریبا می‌تواند اطلاعات مفیدی در ارتباط با میزان اکسایش روغن‌ها را نشان دهد (۷). در مطالعه‌ایی عنوان شده است که شاخص TBA در مغز موش‌هایی که دچار استرس‌های اکسایشی شده‌اند و همزمان با عصاره آبی بادرنجبویه نیز تغذیه شده بودند، کاهش یافت و در واقع خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی از این عصاره مشاهده گردید (۱۵). کالجا و همکاران (۲۰۱۸) عنوان کردند که تولید محصولات واکنش دهنده TBA در اثر خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره بادرنجبویه در محصولات نانوانی به طور معنی‌داری کاهش یافت (۲). طبق نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، TBHQ به‌عنوان آنتی‌اکسیدان سنتزی در مقایسه با غلظت‌های مختلف اسانس بادرنجبویه، دارای اثر آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری بود. به همین صورت، در تحقیقی اظهار شده است که روغن کنجد غنی شده با TBHQ در دمای بالا، نسبت به گروه کنترل، عدد پراکسید کم‌تری را نشان می‌دهد و با گذشت زمان این شاخص افزایش پیدا کرد (۱۶).

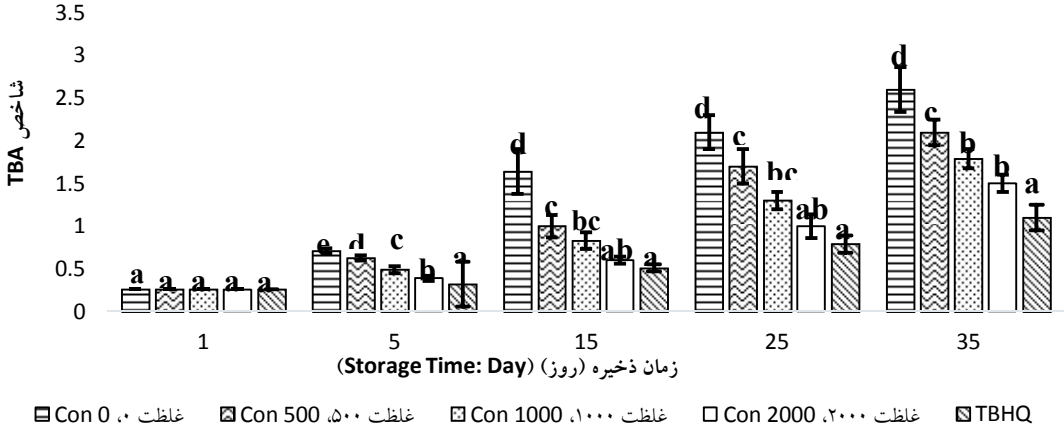


شکل ۲- تغییرات در عدد پراکسید (میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم) نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی و غلظت‌های مختلف اسانس بادرنجبویه (میکروگرم بر میلی لیتر روغن ارده کنجد) نگهداری شده در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد

***حروف کوچک انگلیسی در بالای هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است (P<۰/۰۵).**

Figure 2. Changes in peroxide value (mEq/Kg) of samples containing synthetic antioxidants and different concentrations of *Melissa officinalis* essential oil (µg/ml sesame Ardeh oil) stored at 60 ˚C and different days after adding compounds to sesame Ardeh oil. Con: Concentration

*Non-similar letters on each day indicate a significant difference between treatments (*P*<0.05).



شکل ۳- تغییرات در شاخص TBA (میکرومول بر گرم) نمونه‌های حاوی آنتی اکسیدان سنتزی و غلظت‌های مختلف اسانس بادرنجبویه (میکروگرم بر میلی لیتر روغن ارده کنجد) نگهداری شده در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد

***حروف کوچک انگلیسی در بالای هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است (P<۰/۰۵).**

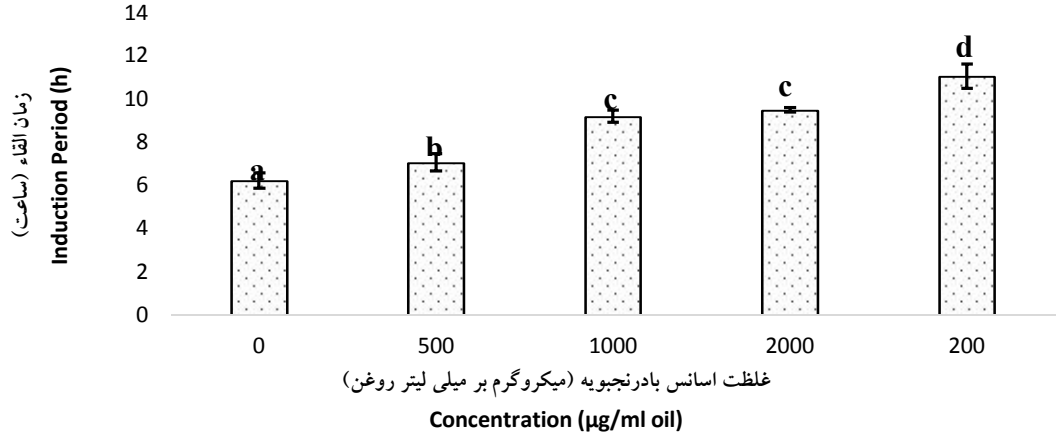
Figure 3. Changes in TBA value (µmol/gr) of samples containing synthetic antioxidants and different concentrations of *Melissa officinalis* essential oil (µg/ml sesame Ardeh oil) stored at 60 ˚C and different days after adding compounds to sesame Ardeh oil. Con: Concentration

*Non-similar letters on each day indicate a significant difference between treatments (*P*<0.05).

آزمون رنسیمت: در این مطالعه از آزمون رنسیمت به‌منظور اندازه‌گیری پایداری اکسایشی روغن ارده کنجد استفاده شد. همان‌طور که در شکل ۴ درج شده است، شاخص زمان القاء در گروه‌های مختلف

آزمایشی دارای اختلاف آماری معنی‌داری بود. زمان القاء از یک الگوی وابسته به غلظت اسانس بادرنجبویه، پیروی کرد، به‌طوری‌که بیش‌ترین و کم‌ترین زمان القاء ۰/۱۱ ± ۹/۴۶ و ۰/۳۴±۶/۲ ساعت به‌دست آمد. همچنین مدت زمان لازم برای تشخیص ترکیبات فرار در گروه کنترل حاوی TBHQ، ۰/۵۶ ± ۱۱/۰۳ ساعت بود (P<۰/۰۵). ارزیابی پایداری اکسایشی روغن‌ها در دمای اتاق روندی خسته کننده و زمان بر است، بر همین اساس استفاده از یک آزمون سریع‌تر در زمان کوتاه‌تر و دمای بالا، لازم و ضروری است. امروزه به‌طور معمول از آزمون رنسیمت به‌منظور بررسی پایداری اکسایشی روغن‌ها استفاده می‌شود. در این آزمون، شاخص زمان القاء با اندازه‌گیری ترکیبات فرار حاصل از اکسایش روغن‌ها در دمای بالا محاسبه می‌شود. هرچه شاخص زمان القاء بالاتر باشد، پایداری اکسایشی روغن نیز بیش‌تر می‌باشد و به‌عبارتی بین زمان القاء و پایداری اکسایشی روغن رابطه مستقیم وجود دارد (۱۱).

بر اساس نتایج این مطالعه که در شکل ۴ درج شده است، هرچه غلظت اسانس بادرنجبویه افزایش پیدا کرد، زمان القاء نیز افزایش یافته است. به‌طوری‌که طولانی‌ترین و کوتاه‌ترین زمان القاء به ترتیب، در گروه‌های حاوی ۲۰۰۰ و صفر میکروگرم اسانس بادرنجبویه بر میلی‌لیتر روغن ارده کنجد به‌دست آمد. پایداری اکسایشی روغن کنجد حاصل از ارزیابی رنسیمت با نتایج حاصل از بررسی ترکیبات اسانس با دستگاه GC/MS که جرانیال و نرال در اسانس دارای درصد قابل توجه‌ایی بودند، مرتبط است و این ترکیبات می‌توانند در حفظ پایداری اکسایشی روغن ارده کمک کنند و در غلظت‌های بالاتر، میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدان نظیر سیترال نیز بیش‌تر است و طبق مطالعات مذکور در ابتدای بحث، این ترکیبات نقش مهمی در بروز اثر آنتی‌اکسیدانی گیاه بادرنجبویه دارند. در هر صورت، نمی‌توان از اثر ترکیبی تمام اجزای اسانس در قالب اثرات هم افزایی، چشم پوشی کرد.



شکل ٤- ارزیابی پایداری اکسایشی نمونه‌های حاوی آنتی اکسیدان سنتزی و غلظت‌های مختلف اسانس بادرنجبویه (میکروگرم بر میلی‌لیتر روغن ارده کنجد) و محاسبه زمان القاء بر حسب ساعت در هر یک از گروه‌های آزمایشی با آزمون رنسیمت

*** حروف کوچک انگلیسی در بالای هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است. (P<۰/۰۵).**

Figure 4- Oxidative stability evaluation of samples containing synthetic antioxidants and different concentrations of *Melissa officinalis* essential oil (µg/ml sesame Ardeh oil by measuring the induction period (hour) through using the Rancimat analysis (P< 0.05).

*Non-similar letters on each day indicate a significant difference between treatments (P<0.05).

نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه پایداری اکسایشی روغن ارده کنجد غنی سازی شده با اسانس بادرنجبویه در شرایط دمایی بالا و در طی دوره نگهداری بررسی و ترکیبات تشکیل دهنده اسانس نیز با آزمون GC/MS تجزیه و تحلیل شد. بر اساس یافته‌های این پژوهش، اسانس بادرنجبویه منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان نظیر سیترال، جرانیال، نرال و پلی‌فنول‌ها است. به طور کلی غلظت‌های مختلف اسانس که در این مطالعه استفاده شدند دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی هستند، اما میزان اثر آن‌ها به غلظت اسانس بستگی داشت. رقت‌های مختلف اسانس دارای خاصیت مهاری بسیار قوی در برابر تولید رادیکال‌های آزاد DPPH بودند و شاخص اسید تیوباربیتوریک و عدد پراکسید در گروه‌های مختلف نسبت به گروه کنترل کاهش یافت. به‌طوری که قدرت مهار اکسایش اسانس در غلظت ۲۰۰۰ PPM، در آزمون های مختلف به میزان ۷۴ الی ۸۵ درصد از قدرت مهار اکسایش ترکیب سنتزی به‌دست آمد. همچنین طی دوره نگهداری و با گذشت زمان شاخص‌های مذکور افزایش یافت و یک روند صعودی از ابتدا تا انتها مطالعه را نشان دادند. بر اساس نتایج این تحقیق، بادرنجبویه می‌تواند پایداری اکسایشی روغن ارده کنجد را در شرایط دمایی بالا افزایش دهد. ترکیب TBHQ به‌عنوان آنتی‌اکسیدان سنتزی در مقایسه با غلظت‌های اسانس بادرنجبویه، قدرت بیش‌تری در حفظ پایداری روغن را دارد، قابل ذکر است خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس در غلظت‌های بالا، تقریبا نزدیک به خواص آنتی‌اکسیدان TBHQ می‌باشد. در پایان پیشنهاد می‌شود مطالعات بیش‌تری در ارتباط با خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس بادرنجبویه و ترکیبات آن به‌صورت جداگانه، به همراه بررسی مکانیسم دقیق آن‌ها انجام گیرد.

سپاسگزاری

بودجه و هزینه‌های این پژوهش از منابع مرتبط با پژوهانه دانشگاه اردکان تأمین گردید و نویسندگان مقاله مراتب سپاس و قدردانی خود را از دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه اردکان به‌دلیل فراهم کردن امکان انجام این پژوهش اعلام می‌کند.

منابع

1.Abbaszadegan, A., Sahebi, S., Gholami, A., Delroba, A., Kiani, A., Iraji, A., and Abbott, P.V. 2016. Time-dependent antibacterial effects of *Aloe vera* and *Zataria multiflora* plant essential oils compared to calcium hydroxide in teeth infected with *Enterococcus faecalis*. Journal of investigative and clinical dentistry, 7: 1. 93-101.

2.Caleja, C., Barros, L., Barreira, J.C., Ciric, A., Sokovic, M., Calhelha, R.C., and Ferreira, I.C. 2018. Suitability of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract rich in rosmarinic acid as a potential enhancer of functional properties in cupcakes. Food chemistry, 250. 67-74.

3.Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F., and Hafezi, S. 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. Turkish Journal of biology, 32: 1. 43-49.

4.Ehsani, A., Alizadeh, O., Hashemi, M., Afshari, A., and Aminzare, M. 2017. Phytochemical, antioxidant and antibacterial properties of *Melissa officinalis* and *Dracocephalum moldavica* essential oils. Veterinary Research Forum, 8: 3. 223-229.

5.Erdmann, M.E., Lautenschlaeger, R., Zeeb, B., Gibis, M., and Weiss, J. 2017. Effect of differently sized O/W emulsions loaded with rosemary extract on lipid oxidation in cooked emulsion-type sausages rich in n-3 fatty acids. LWT-Food Science and Technology, 79. 496-502.

6.Franco, J.M., Pugine, S.M.P., Scatoline, A.M., and de Melo, M.P. 2018. Antioxidant capacity of *Melissa*

Officinalis L. on Biological Systems. Eclética Química Journal, 43: 3. 19-29.
7. Guillen-Sans, R., and Guzman-Chozas, M. 1998. The thiobarbituric acid (TBA) reaction in foods: a review. Critical reviews in food science and nutrition, 38: 4. 315-350.
8. Habibi, H., Ghahtan, N., and Eskandari, F. 2017. Chemical Composition and Antibacterial Effect of Medicinal Plants against Some Food-Borne Pathogen. Research in Molecular Medicine, 5: 2. 14-21.
9. Koksal, E., Bursal, E., Dikici, E., Tozoglu, F., and Gulcin, I. 2011. Antioxidant activity of *Melissa officinalis* leaves. Journal of Medicinal Plants Research, 5: 2. 217-222.
10. Mareček, V., Mikyška, A ,.Hampel, D., Čejka, P., Neuwirthová, J., Malachová, A., and Cerkal, R. 2017. ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt. Journal of cereal science, 73. 40-45.
11. Mateos, R., Uceda, M., Aguilera, M.P., Escuderos, M.E., and Maza, G.B. 2006. Relationship of Rancimat method values at varying temperatures for virgin olive oils. European Food Research and Technology, 223: 2. 246-252.
12. Meftahizade, H., Sargsyan, E., and Moradkhani, H. 2013. Investigation of antioxidant capacity of *Melissa officinalis* L. essential oils. Journal of Medicinal Plants Research, 4: 14. 1391-1395.
13. Mohdaly, A.A., Smetanska, I., Ramadan, M.F., Sarhan, M.A., and Mahmoud, A. 2011. Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. Industrial Crops and Products, 34: 1. 952-959.
14. Pavan, B., Dalpiaz, A., Marani, L., Beggiato, S., Ferraro, L., Canistro, D., and Comparone, A. 2018. Geraniol pharmacokinetics, bioavailability and its multiple effects on the liver antioxidant and xenobiotic-metabolizing enzymes. Frontiers in pharmacology, 9. 18. doi:10.3389/fphar.2018.00018
15. Pereira, R.P., Fachinetto, R., de Souza Prestes, A., Puntel, R.L., Da Silva, G.N.S., Heinzmann, B.M., and Morel, A.F. 2009. Antioxidant effects of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*. Neurochemical research, 34: 5. 973-983.
16. Prasad, N., Siddaramaiah, B., and Banu, M. 2015. Effect of antioxidant tertiary butyl hydroquinone on the thermal and oxidative stability of sesame oil (*sesamum indicum*) by ultrasonic studies. Journal of food science and technology, 52: 4. 2238-2246.
17. Prasad, S.N., and Muralidhara, M. 2017. Analysis of the antioxidant activity of geraniol employing various in-vitro models: relevance to neurodegeneration in diabetic neuropathy. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 10: 7. 101.
18. Rašković, A., Milanović, I., Pavlović, N., Ćebović, T., Vukmirović, S., and Mikov, M. 2014. Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. BMC complementary and alternative medicine, 14: 1. 225.
19. Saeb, K., Gholamrezaee, S., andAsadi, M. 2011. Variation of antioxidant activity of *Melissa officinalis* leaves extracts during the different stages of plant growth. Biomedical and Pharmacology Journal, 4: 2. 237-243.
20. Sui, X., and Zhou, W. 2014. Monte Carlo modelling of non-isothermal degradation of two cyanidin-based anthocyanins in aqueous system at high temperatures and its impact on antioxidant capacities. Food Chemistry 148. 342-350. doi:10.1016/j.foodchem. 2013.10.060.
21. Taghvaei, M., and Jafari, S.M. 2015. Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. Journal of food science and technology, 52: 3. 1272-1282.
22. Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., and El-Elimat, T. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian

plant species. Food chemistry, 104: 4. 1372-1378.

23. Villalobos, M.C. 2015. Antioxidant activity and citral content of different tea preparations of the above-ground parts of lemongrass (*Cymbopogon citratus Stapf*.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46: 3. 1111-1115.

24. Witte, V.C., Krause, G.F., and Bailey, M.E. 1970. A new extraction method for determining 2□thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. Journal of food Science, 35: 5. 582-585.

25. Yang, Y., Song, X., Sui, X., Qi, B ,. Wang, Z., Li, Y., and Jiang, L. 2016. Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. Industrial Crops and Products, 80: 141-147.

26. Yoshida, H., and Takagi, S. 1997. Effects of seed roasting temperature and time on the quality characteristics of sesame (*Sesamum indicum*) oil. Journal of the Science of Food and Agriculture, 75: 1. 19-26.

EJFPP, Vol. 13 (2): 33-46
http://ejfpp.gau.ac.ir

Oxidative stability of sesame Ardeh oil enriched with *Dracocephalum* essential oil at high temperature and during storage

Gholamhosein Pourghanbari[1*], Ali Sahrae Ardakani[2], Aida Iraji [3]

[1]Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ardakan University, Iran.
[2]Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Ardakan University, Iran
[3]Central Research Laboratory, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
Received: 2020/02/18; Accepted: 2020/06/15

Abstract

Background and objectives: Vegetable oils such as sesame oil contain a high percentage of unsaturated fatty acids and prone to oxidation and production of highly toxic metabolites. Antioxidants are compounds that inhibit or delay the process of food oxidation. Synthetic antioxidants have been commonly used in the food industry, but there has always been debate about their quality and safety. On the other hand, the use of natural antioxidant compounds such as medicinal plants derivatives are increasing. Lemon balm is known as a medicinal plant that contain various constituents with different properties such as strong antioxidant activity. This study was carried out to investigate the antioxidant effect of different concentrations of *Melissa officinalis* essential oil against oxidation of sesame Ardeh oil at 60 °C during storage.

Materials and Methods: *Dracocephalum* essential oil was extracted and GC-MS analysis was used to calculate the composition of the essential oil. Then, the total phenolic content of oil was measured using the Folin–Ciocalteau method. In this study, the concentrations of 0, 500, 1000 and 2000 ppm of the essential oil were added into the sesame Ardeh oil. Also, TBHQ as synthetic antioxidant was used as positive control group with concentration of 200 ppm. Scavenging activity was assessed by evaluation of DPPH free radical scavenging activity. Rancimat assay was also used to calculate the induction period of the volatile compounds produced. Then, the antioxidant effect of essential oil in different groups were evaluated on 1, 5, 15, 25, and 35 days after adding essential oil to the sesame Ardeh oil by measuring the peroxide (PV) and thiobarbituric acid index (TBA).

Results: The results of GC/MS analysis showed that Neral and Geranial compounds had the highest concentration in Lemon balm essential oil. The highest DPPH free radical scavenging activity was observed in the groups receiving TBHQ (61.6%) and 2000 ppm essential oil (50.2%). The induction period index (IP) of the groups containing TBHQ, 2000 and 0 ppm essential oil were calculated to be 11, 9.4 and 6.2 hours. Moreover, at the end of the study peroxide value of the TBHQ and 2000 ppm groups were obtained to be 13.4 and 14.1 (mEq/Kg), respectively. Thiobarbituric acid index at these groups were shown to be 1.1 and 1.5 (µmol/gr). Also there was a direct relationship between the essential oil concentration and antioxidant activity indexes. However, the parameters were increased in all experimental groups during storage.

Conclusion: The findings of the present study showed that the lemon balm essential oil is a rich source of antioxidants compounds including neral and geraniol. It could increase the stability of sesame Ardeh oil which exposed to the high temperatures during storage time in such a way that oxidation inhibitory activity of essential oils at high concentrations was calculated to be 74-85% of TBHQ oxidation inhibitory capacity. Accordingly, it can be considered as a suitable alternative to synthetic antioxidants.

[*]Corresponding author: Hpourghanbari@ardakan.ac.ir

Keywords: Antioxidant, lipid oxidation, *Melissa officinalis*, Sesame Ardeh oil