مجله تحقیقات مهندسی کشاورزی/جلد ۱۵/ شماره ۱/سال ۱۳۹۳/ص ٦٦-۵۵

بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراجی سبوس برنج در شرایط آون و مقایسه با BHT

فرهاد مختاری، مرتضی خان‌احمدی، بیژن عسکری*، لاله مشرف، امیرحسین الهامی‌راد**

* نگارنده مسئول: گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ص. پ. ۴۹۱۳۸۱۵۷۳۹، تلفن: ۴۴۲۶۴۳۲(۰۱۷۱)، پیام‌نگار: bijan.askari@gau.ac.ir

** به‌ترتیب: پژوهشگر؛ و استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان؛ دانشجوی دکتری گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان؛ استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان؛ و استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۱۹

چکیده

گاما اوریزانول یکی از آنتی‌اکسیدان‌های قوی است که مانع اکسیداسیون روغن می‌شود. این ماده در سبوس برنج وجود دارد. گاما اوریزانول سطح کلسترول خون را پایین آورده و منجر به کاهش احتمال خطر بیماری تصلب شرایین می‌شود. در این تحقیق عصارهٔ آنتی‌اکسیدانی سبوس دو گونه برنج ایرانی، به‌نام زاینده‌رود و سازندگی با حلال متانول با روش پرکولاسیون استخراج و به روغن فاقد آنتی‌اکسیدان در غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام اضافه شد و در شرایط گرم‌خانهٔ ٦۳ درجه سلسیوس و در چهار فاصله زمانی ۰، ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت، تغییرات شیمیایی و پایداری حرارتی آنها با آزمون‌های رنسیمت، عدد اسیدی، عدد پراکسید و درصد مهار رادیکال با ۳ تکرار بررسی شد. تجزیه و تحلیل آماری بر پایهٔ طرح کاملا تصادفی و مقایسهٔ میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۱، با استفاده از نرم‌افزار SPSS ١٦ نشان می‌دهد که تأثیر عصارهٔ سبوس برنج گونه سازندگی بر پایداری اکسیداسیون روغن سویا طی ۷۲ ساعت بیشتر از تأثیر BHT است و اختلاف معنی‌داری با سایر عصاره‌ها دارد ($p<0.01$).

واژه‌های کلیدی

آنتی‌اکسیدان، رنسیمت، سبوس برنج، عدد اسیدی، عدد پراکسید، گاما اوریزانول

مقدمه

روغن و چربی از گذشته‌های بسیار دور از اجزای مهم تشکیل‌دهندهٔ غذای انسان بوده‌اند. روغن سویا در دامنهٔ نسبتاً وسیع حرارتی به‌صورت مایع است و ترکیبات غیر اشباع آن نیز بالاست. در حین فرآوری روغن در کارخانه‌ها، به‌علت حرارت‌دهی، مقاومت روغن کاهش یافته و شرایط مناسب برای اکسیداسیون ایجاد می‌شود و عدد پراکسید آن به آسانی افزایش می‌یابد.

در کارخانه‌های فرآوری روغن به‌منظور افزایش مقاومت روغن نسبت به اکسیداسیون از آنتی‌اکسیدان‌ها استفاده می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌خصوص ترکیبات فنلی قادرند از اثر کلسترول با دانسیته پایین[1] جلوگیری کنند و باعث به تاخیر انداختن گسترش بیماری‌های قلبی و عروقی شوند (Gaziano, 1994; Kromhout *et al.*, 2002). بنابراین استفاده از مواد غذایی حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با

1- Low Density Lipoprotein Cholesterol

تقاضای بیشتری روبه‌رو شده است (Longeril, 1994). در حال حاضر برای جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها، آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند BHA، BHT و پروپیل گالات به فرآورده‌های غذایی افزوده می‌شوند. از طرفی به‌دلیل تأثیرات نامطلوب استفادهٔ طولانی‌مدت از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، تقاضا برای استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و ایمن رو به افزایش است (Yu *et al*., 2002).

روغن سبوس برنج حاوی ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و مواد مغذی است، بررسی‌ها نشان می‌دهد، روغن سبوس برنج در رژیم غذایی، به‌طور مشخص از افزایش پلاکت جلوگیری می‌کند و مانع بیماری‌های قلبی- عروقی می‌شود (Masic & Yodice, 2006). استیل و همکاران (Steel *et al*., 1997) مشاهده کرده‌اند که روغن ترکیبی سبوس برنج با سایر منابع، به‌دلیل آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در روغن سبوس برنج (گاما- اوریزانول)، دارای اثر کاهندگی بر کلسترول است.

موهدالی و همکاران (Mohdaly *et al*., 2011) تأثیر حفاظتی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی کنجد را در پایداری روغن آفتابگردان و سویا، در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، ارزیابی و با اندازه‌گیری عدد پراکسید مشخص کردند که عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی کنجد در روغن آفتابگردان و سویا نسبت به BHT و BHA، اثر آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری دارند. همچنین با استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی سبوس برنج به‌کمک حلال اتانولی نشان داده شد که عصارهٔ به‌دست آمده از نظر کارایی حرارتی، در مقایسه با BHA دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی قابل قبولی است (Zha *et al*., 2009). با بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فیتوشیمیایی انواع سبوس برنج با رنگ‌های مختلف، مشخص شده است که میزان گاما اوریزانول در دامنهٔ ۵۹۱۱/۱۲- ۳۸۶۱/۹۳ میکروگرم بر گرم وزن خشک سبوس (بر مبنای خشک) قرار دارد، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که سبوس برنج دارای منابع طبیعی ترکیبات شیمیایی هیدروفیل و لیپوفیل است که در کنترل کیفیت انواع سیستم‌های غذایی و استفاده در غذا داروها و ترکیبات فراسودمند غذایی کاربرد دارد (Min *et al*., 2011). در بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی غلاف، سبوس و آندوسپرم در برنج تایلند مشخص شد که سبوس برنج دارای بالاترین میزان گاما اوریزانول و توکوفرول‌هاست. نتایج نشان می‌دهد که سبوس برنج و غلاف آن دارای منابع ارزشمندی از ترکیبات زیست فعال با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی مطلوب است (Butsat & Siriamornpun, 2010). هدف از این پژوهش بررسی کارایی آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراجی سبوس برنج در شرایط آون (به‌منظور ایجاد شرایط دمایی بالا برای ارزیابی رادیکال گیرندگی عصاره‌ها و پیشرفت روند اکسیداسیون) در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT است.

مواد و روش‌ها

سبوس برنج مورد استفاده در این پژوهش از دو گونه سازندگی و زاینده‌رود از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان تهیه شد. سبوس‌ها پس از آسیاب شدن، از الک با مش ۲۰۰ عبور داده شد و برای تثبیت سبوس، از مایکروویو با توان ۵۵۰ وات با دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۳ دقیقه استفاده شد (Malekian *et al*., 2000). سپس، نمونه‌های سبوس در دمای اتاق خنک و در بسته‌بندی پلی‌اتیلن در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

روغن سویای خالص بدون آنتی‌اکسیدان از کارخانهٔ سه‌گل نیشابور تهیه شد و سایر مواد با

درجهٔ خلوص آزمایشگاهی از شرکت مرک آلمان (Merck) تهیه شد.

استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌روش پرکولاسیون

استخراج طبق روشی اجرا شد که چوتی‌مارکورن و همکاران (Chotimarkorn *et al.*, 2008) اجرا کرده‌اند. ده گرم سبوس با ۱۵۰ میلی‌لیتر متانول خالص به‌مدت ۱۲ ساعت با همزن الکتریکی در دمای اتاق مخلوط گردید. محتویات ظرف با کاغذ صافی واتمن صاف شد و مواد بر جای مانده بر کاغذ صافی، بار دیگر با متانول خالص (مانند روش قبل) مخلوط شد و استخراج ادامه یافت، ترکیبات استخراج شده با هم مخلوط شدند. مخلوط به‌کمک تبخیرکنندهٔ گردان تا حد امکان تغلیظ شد و نمونهٔ بر جای مانده با استفاده از آون تحت خلأ آبگیری شد. نمونهٔ تغلیظ شده تا زمان آزمایش در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شد (این دما به‌منظور جلوگیری از افت عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره انتخاب گردید).

آماده‌سازی نمونه‌ها

به درون شیشه‌های تمیز، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی استخراج شده از سبوس برنج با غلظت (۱۰۰ و۱۵۰ پی‌پی ام) و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT با غلظت (۱۰۰ پی‌پی‌ام) به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان افزوده شد و به‌مدت چند دقیقه به‌خوبی مخلوط گردید. تا زمان آغاز آزمون، نمونه‌ها در شیشه‌های در بسته نگهداری شدند. غلظت‌های فوق به‌لحاظ دستیابی به حداکثر کارایی آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ سبوس برنج و پس از بررسی نتایج تحقیقات دیگر محققان (Juliano, 1985) انتخاب شد.

آزمون رنسیمت: برای تعیین عملکرد آنتی‌اکسیدانی و اندازه‌گیری پایداری حرارتی، از دستگاه رنسیمت (مدل METROHM 743، ساخت سوئیس) استفاده شد. ابتدا ۴ گرم نمونه (روغن سویای) تصفیه و بوگیری شدهٔ فاقد آنتی‌اکسیدان در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس و با سرعت جریان هوای ۲۰ لیتر بر ساعت مورد آزمایش قرار گرفت و برای مقایسه از نمونه شاهد یا آنتی‌اکسیدان BHT استفاده شد (Anon, 2005).

اندازه‌گیری اسیدیته

برای تعیین میزان اسیدیته، طبق رابطه ۱، در ابتدا مقدار ۲/۵ تا ۳ گرم نمونه روغن در ارلن مایر توزین و سپس ۳۰ میلی‌لیتر الکل و چند قطره معرف فنل‌فتالئین به آن اضافه گردید. در ضمن هم زدن، با محلول سود ۰/۰۱ نرمال تا ایجاد رنگ ارغوانی کم‌رنگ تیتر شد، به‌طوری‌که به‌مدت ۳۰ ثانیه این رنگ باقی ماند (Hashemi-Tonekaboni, 1985).

$$\text{اسیدیته} = \frac{\text{حجم سود مصرفی} \times ۲۸/۲ \times \text{نرمالیته سود مصرفی}}{\text{وزن نمونه}} \quad (۱)$$

اندازه‌گیری عدد پراکسید

پراکسید، محصول اولیهٔ اکسیداسیون چربی‌ها است، و هرچه درجهٔ غیر اشباعی روغن‌ها بیشتر باشد، روغن یا چربی آمادگی بیشتری برای اکسیداسیون دارد. برای اندازه‌گیری عدد پراکسید ابتدا ۵ گرم نمونهٔ روغن در ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتر توزین و ۳۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک: کلروفرم (به‌نسبت ۲:۳) به آن اضافه و کاملا به‌هم زده شد تا روغن حل شود. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر محلول یدیدپتاسیم اشباع به آن اضافه و به‌شدت تکان داده شد. پس از ۱ دقیقه قرار دادن در محل تاریک، ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. تیتراسیون با سدیم تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال تا از بین رفتن رنگ زرد انجام شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر معرف نشاسته اضافه شد و تیتراسیون

تا از بین رفتن رنگ آبی ادامه یافت. همراه با نمونه، تیتراسیون شاهد (در مورد نمونه شاهد تمام محلول‌ها به‌جز روغن به ارلن اضافه گردید) نیز اجرا شد. عدد پراکسید روغن بر حسب میلی‌اکی‌والان گرم اکسیژن در ۱ کیلوگرم روغن از رابطهٔ ۲ محاسبه شد (Anon, 1998).

$$\text{عدد پراکسید} = \frac{\text{حجم تیوسولفات مصرفی} \times 1000 \times \text{نرمالیته تیوسولفات سدیم}}{\text{وزن نمونه}} \quad (۲)$$

تعیین کل مقدار ترکیبات فنلی

مقدار کل ترکیبات فنلی عصارهٔ دو گونه بر اساس روش فولین سیوکالتو بررسی شد. مقدار ۰/۰۰۵ گرم از عصاره‌های خشک در ۱۰ میلی‌لیتر مخلوط متانول و آب (۴:۶ v/v) حل و به آن ۱ میلی‌لیتر معرف فولین‌سیوکالتو و ۰/۸ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه شد، مخلوط به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. جذب محلول در ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. از اسید گالیک به‌عنوان استاندارد در رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. مقدار کل ترکیبات فنلی، برحسب میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم وزن سبوس تعیین گردید. بازده استخراج از نسبت عصارهٔ استخراجی به‌مقدار سبوس اولیه، به‌دست آمد (Singh *et al.*, 2002).

تعیین فعالیت آنتی رادیکالی

فعالیت آنتی رادیکالی از معرف ۲ و ۲- دی فنیل پیکریل هیدازیل[1] به‌روش بلویس (Blois, 1985) یا آزمون DPHH تعیین شد. ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول استخراج شده با غلظت ۵۰ میلی‌لیتر بر میلی‌گرم تهیه گردید؛ سپس به آن ۳/۹ میلی‌لیتر متانول و ۱ میلی‌لیتر محلول DPPH (۱ میلی‌مولار در متانول) اضافه و پس از ۳۰ دقیقه، جذب محلول فوق در مقابل نمونهٔ شاهد با طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد مهار رادیکال آزاد با استفاده از رابطهٔ ۳ محاسبه شد:

(۳) درصد مهار رادیکال آزاد = (میزان جذب کنترل – میزان جذب نمونه /میزان جذب کنترل) × ۱۰۰

نتایج و بحث

نتایج آزمون رنسیمت در ارزیابی و پیش‌بینی پایداری اکسیداتیو روغن سویا نشان می‌دهد که با افزایش زمان ماندگاری در شرایط آون، طول دوره القا نیز کاهش می‌یابد و روند تغییرات در مورد روغن شاهد در مقایسه با روغن حاوی عصاره بسیار چشمگیر است. روغن حاوی عصارهٔ گونه سازندگی در زمان ۲۴ ساعت، نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی، دارای اختلاف معنی‌داری نیست، در صورتی‌که با افزایش زمان ماندگاری در شرایط آون، اختلاف معنی‌داری را بین روغن حاوی عصارهٔ گونه سازندگی با روغن حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی در سطح ۱ درصد نشان می‌دهد (جدول ۱).

عصاره‌های حاصل از گونه‌های سازندگی و زاینده‌رود با روش پرکولاسیون در دو سطح غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام و در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس برای ارزیابی پایداری حرارتی با آزمون رنسیمت مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که عصارهٔ سبوس برنج گونه سازندگی در غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام، نسبت به گونه زاینده‌رود دارای پایداری حرارتی بیشتری است (جدول ۲).

1- 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH)

جدول ۱- اثر زمان ماندگاری در شرایط آون بر طول دورهٔ القای تیمارهای آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی در آزمون رنسیمت

زمان (ساعت) / ارقام	۰	۲۴	۴۸	۷۲
سازندگی	۱۰/ ۹ a	۱۰/۱ a	۹/۹ a	۹/۴ a
زاینده‌رود	۱۰/۵ a	۹/۵ b	۸/۹ b	۸/۳ b
BHT	۱۰/۹ a	۹/۹ a	۹/۱ b	۸/۶ b
نمونهٔ شاهد	۲/۸ b	۲/۲ c	۱/۵۴ c	۰/۴۸ c

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۲- میزان پایداری حرارتی عصاره‌های سبوس برنج در غلظت‌های مورد آزمون (برحسب ساعت)

غلظت (پی‌پی‌ام) / گونه سبوس برنج	۱۰۰	۱۵۰
سازندگی	۱۰/۹۲a	۱۲/۴۱a
زاینده‌رود	۱۰/۴۱b	۱۱/۸۲b
BHT	۱۰/۹۱a	۱۲/۴۸a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

با توجه با نتایج این تحقیق، کل ترکیبات فنلی و بازده استخراج گونه سازندگی بیشتر است تا گونه زاینده‌رود. عصارهٔ برنج گونه سازندگی دارای بالاترین میزان کل ترکیبات فنلی است ($p<0.01$) (جدول ۳)، و نیز عصارهٔ استخراج شده برنج گونه سازندگی با روش پرکولاسیون دارای بیشترین مقدار درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد است. بنابراین، تفاوت در اثر زمان ماندگاری در شرایط آون و بالا بودن ترکیبات فنلی، بیانگر کارایی حرارتی بیشتر عصارهٔ سازندگی است. در این مطالعه، نشان داده شد که روغن حاوی عصارهٔ آنتی‌اکسیدانی سبوس برنج گونه سازندگی در برابر تغییرات شیمیایی مقاومت بیشتری از خود نشان داده است و اختلاف معنی‌داری با سایر عصارها دارد ($p<0.01$).

فرهوش (Farhoosh, 2003) نیز با بررسی مقایسه‌ای مقاومت حرارتی آنتی اکسیدانی برگ نوروزک[1] با BHT و α- توکوفرول به این نتیجه رسیدند که بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب به‌BHT، آنتی اکسیدان، نوروزک و α- توکوفرول در دمای ۹۰ درجه سلسیوس تعلق دارد اما ترتیب نزولی خصوصیات حملی[2] آنها با افزایش دما عبارت است از: α-توکوفرول، آنتی اکسیدان عمده برگ نوروزک و BHT. مردانی و همکاران (Mardani *et al.*, 2011)، تأثیر عصاره گل مغربی را بر پایداری روغن سویا بررسی کردند، نتایج تحقیقات آنها نشان داد که عصارهٔ گل مغربی نسبت به BHT با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام عملکرد بهتری داشته است. محققی‌ثمرین و همکاران (Mohagheghi-Samarin *et al.*, 2007) تأثیر عصارهٔ متانولی دو گونه سیب‌زمینی را بر پایداری روغن سویا بررسی و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه کردند.

1- *Salvia Leriifolia*

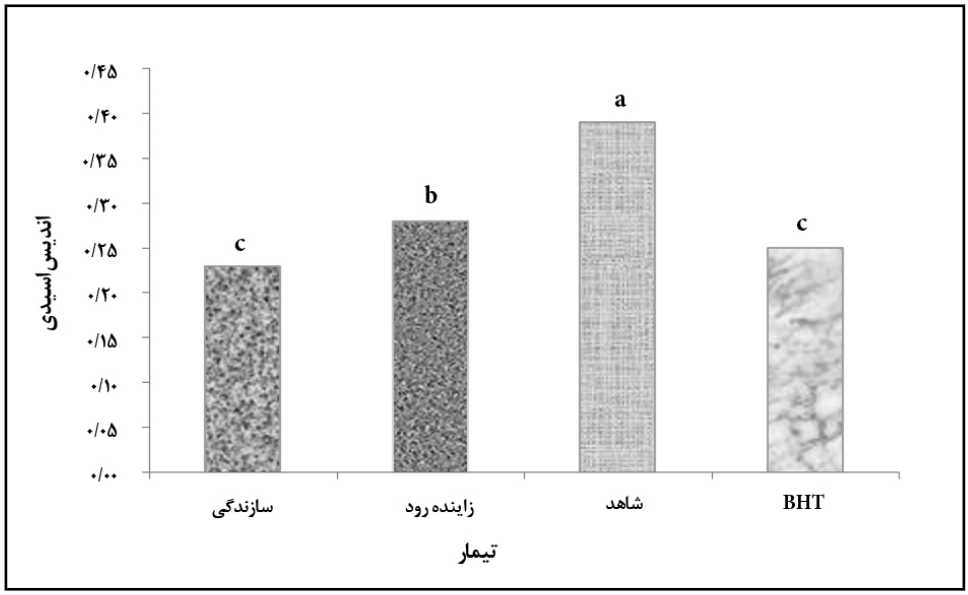
2- Protective Characteristics

نتایج بررسی‌های این محققان نشان داد که عصارهٔ متانولی در غلظت‌های ۲۰۰ و ۸۰۰ پی‌پی‌ام، در مقایسه با BHT، به‌طور معنی‌داری ($p<0.01$) پایداری روغن سویا را به‌میزانی کمتر افزایش داد، اما در غلظت‌های ۱۶۰۰ و ۲۴۰۰ پی‌پی‌ام، در مقایسه با BHT، طول دورهٔ القا را به‌میزانی بالاتر افزایش می‌دهد.

کرمی (Karami, 2011) تأثیرغلظت‌های مختلف عصارهٔ سیر را در پایداری روغن سویا بررسی و نتایج را با غلظت ۱۲۰ پی‌پی‌ام، TBHQ مقایسه کرده و نشان داده است که عصاره در غلظت‌های بالا باعث پایداری نمونه‌ها می‌شود. همچنین رنوکادوی و همکاران (Renuka-Devi *et al.*, 2007) مشاهده کردند که افزودن روغن سبوس برنج به روغن‌های خوراکی در جلوگیری از اکسیداسیون مؤثر است.

اندازه‌گیری عدد اسیدی

نتایج حاصل از مقایسهٔ میانگین داده‌های عدد اسیدی بین نمونه‌های حاوی عصاره‌های ارقام سازندگی و زاینده‌رود و نمونه‌های روغن بدون آنتی‌اکسیدان (شاهد) و نمونهٔ حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، وجود اثر آنتی‌اکسیدانی را برای هر دو عصارهٔ حاصل نشان می‌دهد. نتایج همچنین روند تولید عدد اسیدی روغن فاقد آنتی‌اکسیدان یا شاهد را بسیار سریع نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، بین نمونه‌های روغن حاوی عصاره‌ها و روغن شاهد بدون آنتی‌اکسیدان در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد.



شکل ۱- عدد اسیدی تیمارهای مختلف در شرایط آون

اثر عصارهٔ گونه سازندگی سبوس برنج بر اکسیداسیون روغن سویا طی ۷۲ ساعت، نزدیک به آنتی‌اکسیدان BHT است. همچنین، عصاره‌های ارقام سازندگی و زاینده‌رود با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند و بنابراین، عصارهٔ سبوس برنج گونه زاینده‌رود دارای ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری است.

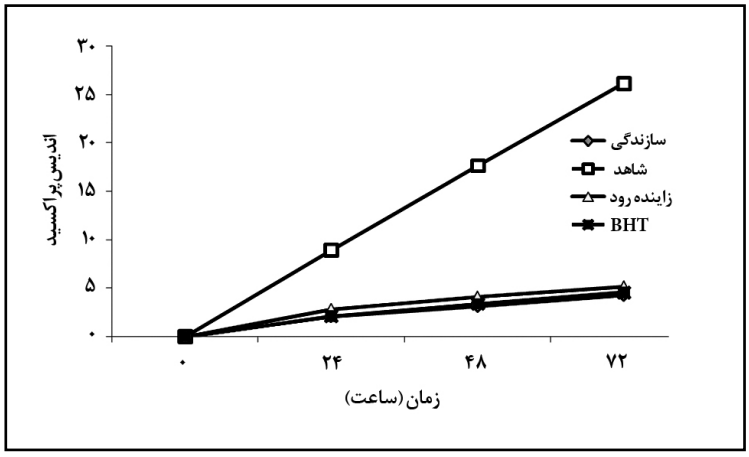
چوتی‌مارکورن و همکاران (Chotimarkorn *et al.*, 2008) طی تحقیقاتی روی سبوس پنج گونه برنج

دانه دراز در تایلند نشان دادند که عصارهٔ سبوس برنج گونه سوپرکرنال[1] به‌دست آمده با حلال متانول به‌روش پرکولاسیون، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر و بازده بهتری دارد.

اندازه‌گیری عدد پراکسید

در این بررسی مشخص شد که با افزایش زمان ماندگاری در شرایط آون، میزان عدد پراکسید افزایش می‌یابد و همچنین میزان تولید پراکسید با افزایش زمان در روغن‌های حاوی عصاره و BHT، در مقایسه با روغن بدون آنتی‌اکسیدان (شاهد)، بسیار قابل توجه است (شکل ۲).

نتایج حاصل از مقایسهٔ داده‌های اندازه‌گیری عدد پراکسید نشان می‌دهد که عصارهٔ گونه سازندگی با روش پرکولاسیون، با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT اختلاف معنی‌داری ندارد ولی اختلاف آن با عصاره زاینده‌رود در سطح ۱ درصد معنی‌داری است. نمونهٔ شاهد، حد بالای مقادیر پراکسید و عصارهٔ گونه سازندگی حاصل از روش پرکولاسیون و BHT حد پایین این مقادیر را دارند.



شکل ۲- روند میزان تولید عدد پراکسید تیمارها در زمان‌های مختلف در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در شرایط آون

غلظت هیدروپراکسید تولید شده با افزایش دورهٔ زمانی افزایش می‌یابد (شکل ۲). مقدار هیدروپراکسیدها معیاری برای تعیین میزان اکسیداسیون محسوب می‌شود. همچنین تحقیقات تسیمیدو و همکاران (Tsimidou *et al.*, 2005) نشان می‌دهد که با افزایش زمان نگهداری روغن زیتون در محیط در بسته و تاریک با دمای ۲۰ درجه سلسیوس، میزان پراکسید نیز افزایش خواهد یافت. سیکوِس و دودو (Sikwese & Duodu, 2007) ترکیبات آنتی‌اکسیدانی استخراج شده از سبوس ذرت خوشه‌ای را برای پایداری روغن سویا به‌کار بردند و با اندازه‌گیری عدد پراکسید مشخص کردند که این ترکیبات باعث پایداری روغن سویا می‌شود.

کل مقدار ترکیبات فنلی

کل ترکیبات فنلی به‌روش فولین سیوکالتو تعیین و نتایج به‌صورت اکی‌والان اسیدگالیک در جدول ۲ نشان داده شد. کل ترکیبات فنلی گونه سازندگی بالاتر از کل ترکیبات فنلی گونه زاینده‌رود و بازده استخراج در عصارهٔ گونه زاینده‌رود کمتر از بازده استخراج در عصاره گونه سازندگی است (به‌ترتیب ۱۲/۸و ۲۱/۶۵ درصد). عصاره برنج گونه سازندگی به‌روش پرکولاسیون

1- Superkernal

با مقدار ۴۰/۳۳۹ پی‌پی‌ام اسیدگالیک بر گرم سبوس، دارای بالاترین میزان کل ترکیبات فنلی است (جدول ۳). در تحقیقات عرب و همکاران (Arab *et al.*, 2011) روی دو گونه سبوس برنج فجر و طارم و اثر سه حلال متانول، اتانول و اتیل‌استات مشخص شدکه عصارهٔ گونه فجر استخراجی با حلال متانول، دارای بیشترین بازده در حد ۳/۳۱ میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم سبوس برنج است. در تحقیق چوتی‌مارکورن و همکاران (Chotimarkorn *et al.*, 2008) روی سبوس پنج گونه برنج تایلند، گونه سوپرکرنال استخراجی با حلال متانول دارای بیشترین ترکیبات فنلی در حد ۳/۵۹ میلی‌گرم اسیدگالیک برگرم سبوس برنج تعیین شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH دو گونه سبوس برنج زاینده‌رود و سازندگی با روش استخراج پرکولاسیون در جدول ۴ ارائه شده است. عصارهٔ استخراج شده برنج گونه سازندگی با روش پرکولاسیون با میزان IC_{50} معادل ۲۸/۶۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارای بیشترین مقدار درصد مهار رادیکال آزاد است.

جدول ۳- میانگین بازده اسیدگالیک موجود در دو گونه برنج

نوع گونه	غلظت اسیدگالیک بر گرم سبوس	میانگین بازده (درصد)
سازندگی	۴۰/۳۳۹a	۲۱/۶۵
زاینده‌رود	۲۶/۵۱۳b	۱۲/۸

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ٤- میزان مهار رادیکال بر اساس گونه

گونه	۳۰ پی‌پی‌ام	۴۰ پی‌پی‌ام	۵۰ پی‌پی‌ام	۶۰ پی‌پی‌ام	۷۰ پی‌پی‌ام	IC_{50}
سازندگی	۷۶/۶۵	۸۴/۹۴	۹۱/۴۱	۹۴/۱۶	۹۵/۴۶	۲۸/۶۵
زاینده‌رود	۷۱/۹۵	۸۳/۰۱	۸۹/۲۳	۹۱/۹۹	۹۴/۰۷	۲۹/۵

نتایج نشان می‌دهد که، عصارهٔ استخراج شده به‌روش پرکولاسیون سبوس برنج گونه سازندگی، در مقایسه با گونه زاینده‌رود، دارای ترکیبات فنلی بالاتری است. بنابراین درصد مهار رادیکال عصارهٔ گونه سازندگی تفاوت چشمگیری با درصد مهار عصارهٔ گونه زاینده‌رود دارد.

این نتایج با نتایج تحقیقات عرب و همکاران (Arab *et al.*, 2011) و چوتی‌مارکورن و همکاران (Chotimarkorn *et al.*, 2008) مطابقت دارد و عصارهٔ استخراج شده با حلال متانول نسبت به دو حلال اتانول و اتیل‌استات دارای بازده بالاتری بوده است و میزان مهار رادیکال عصارهٔ متانولی ۹۳/۹۱ درصد است.

ژو و همکاران (Zhou *et al.*, 2004) ترکیبات آنتی‌اکسیدانی سبوس گندم را با چند حلال متانول، اتانول و استون استخراج کردند و نشان دادند که بازدهی استخراج با حلال متانول، نسبت به دو حلال دیگر ۷۰ درصد بهتر است. لای و همکاران (Lai *et al.*, 2009) با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ سبوس برنج با حلال‌های متانول و هگزان مشخص کردند که بازدهی

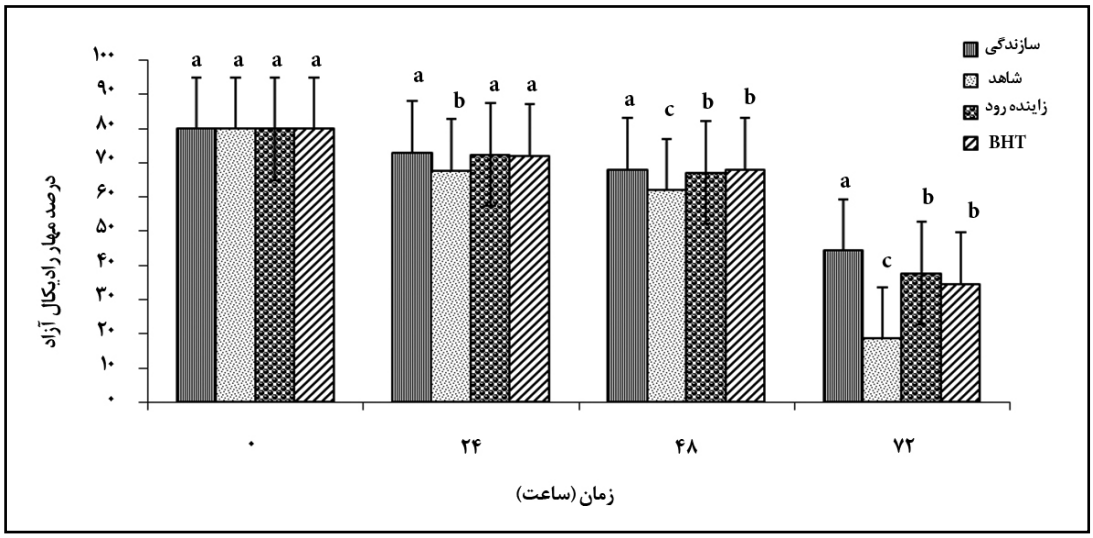
استخراج با حلال متانول بهتر و میزان مهار رادیکال آزاد DPPH آن در حد ۹۳ درصد است. مطالعه چوتی‌مارکورن و همکاران (Chotimarkorn *et al.*, 2008) روی سبوس پنج گونه برنج تایلند نشان می‌دهد که استخراج با حلال متانول خاصیت مهار رادیکال خوبی دارد و میزان IC_{50} آن معادل ۰/۷۴- ۰/۳۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است.

نتایج فعالیت آنتی رادیکالی مربوط به آزمون آون

مهار رادیکال آزاد، یکی از شناخته‌ترین مکانسیم‌هایی است که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از طریق آن می‌توانند مانع از اکسیداسیون شوند (Chung *et al.*, 2003).

میزان مهار رادیکال نمونه‌های آون گذاری شده نشان می‌دهد که در روز اول نمونه‌های حاوی عصارهٔ آنتی‌اکسیدانی سبوس برنج با هم اختلاف معنی‌داری نداشته‌اند اما بعد از ۴۸ ساعت، نمونه حاوی عصاره استخراج شده گونه سازندگی دارای بیشترین خاصیت مهار رادیکال بود (شکل ۳).

با بررسی تأثیر زمان‌های گرم‌خانه‌گذاری بر میزان مهار رادیکال عصاره‌های حاصل از سبوس برنج می‌توان نتیجه گرفت که عصارهٔ حاصل از گونه سازندگی نسبت به سایر عصاره‌ها دارای خاصیت آنتی رادیکالی معنی‌داری است ($p<0.01$).



شکل ۳- میزان مهار رادیکال آزاد عصاره‌ها در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در شرایط آزمون آون و زمان‌های مختلف

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصارهٔ آنتی‌اکسیدانی استخراجی از سبوس برنج را می‌توان به‌عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدانی طبیعی مطلوب در روغن سویا استفاده کرد و با افزایش زمان ماندگاری نمونه در شرایط آون، میزان تغییرات شیمیایی را بیشتر کرده و میزان مقاومت حرارتی آن را کاهش داد. روغن حاوی عصارهٔ آنتی‌اکسیدانی سبوس برنج گونه سازندگی مقاومت بیشتری در برابر تغییرات شیمیایی از خود نشان می‌دهد و اختلاف معنی‌داری با سایر عصاره‌ها دارد ($p<0.01$). همچنین، بین عصارهٔ آنتی‌اکسیدانی فوق، در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، در زمان‌های اولیه اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. با افزایش زمان نگهداری در شرایط آون اختلاف معنی‌داری بین عصارهٔ سبوس برنج سازندگی با آنتی‌اکسیدان BHT مشاهده می‌شود ($p<0.01$).

قدردانی

از همکاری‌های بی‌دریغ ریاست و معاونت محترم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان و کارکنان زحمتکش این مرکز پژوهشی که در اجرای این پژوهش یاری‌رسان ما بودند، صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

مراجع

Anon. 1998. The Determination of Peroxide Value in Edible Oils and Fats. Institute of Standard and Industrial Research of Iran (ISIRI). (in Farsi)

Anon. 2005. Methods of Measuring Edible Oils and Fats Stability Against Oxidation. Institute of Standard and Industrial Research of Iran (ISIRI). (in Farsi)

Arab, F., Alemzadeh, I. and Maghsoudi, V. 2011. Determination of antioxidant component and activity of rice bran extract. Sci. Iran. 18(6): 1402-1406.

Blois, M. S. 1985. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 181, 1199-1200.

Butsat, S. and Siriamornpun, S. 2010. Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice. Food Chem. 119, 606-613.

Chotimarkorn, C., Benjakul, S. and Silalai, N. 2008. Antioxidant components and properties of five long-grained rice bran extracts from commercial available cultivars in Thailand. Food Chem. 111, 636-641.

Chung, L. M., Cheung, P. C. K. and Ooi, V. E. C. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. J. Food Chem. 81, 249-255.

Farhoosh, R. 2003. Extraction, purification and identification the main fraction of antioxidant from *Salvia leriifolia* leaves and investigation of its characteristics. Ph. D. Thesis. Faculty of Food Science and Technology. Ferdowsi University of Mashhad. Mashhad. Iran. (in Farsi)

Gaziano, J. M. 1994. Antioxidant vitamins and coronary artery disease risk. Am. J. Med. 97, 18-21.

Hashemi-Tonekaboni, A. 1985. Tests for Edible Oils and Fats. Tehran University Press. (in Farsi)

Juliano, B. O. 1985. Rice Bran. In: Juliano, B. O. (Ed.) Rice: Chemistry and Technology. The American Association of Cereal Chemists, Inc.

Karami, F., 2011. Effect of garlic extract on soybean oil stability with Rancimat test. Proceeding of the 20th National Food Science and Industries Congress. Nov. 21-23. Sharif University of Technology. Tehran. Iran. (in Farsi)

Kromhout, D., Menottim, A., Kesteloot, H. and Sans, S. 2002. Prevention of coronary heart disease by diet and lifestyle: Evidence from prospective cross-cultural, cohort, and intervention studies. Circulation. 105, 893-898.

Lai, P., Li, K. Y., Lu, Sh. and Chen, H. H. 2009. Phytochemicals and antioxidant properties of solvent extracts from Japonica rice bran. Food Chem. 117, 538-544.

Longeril, M. D., Renaud, S., Salen, P., Mamelle, N., Salen, P., Monjaud, I., Mamelle, N., Martin, J. L., Guidollet, J., Touboul, P. and Delaye, J. 1994. Mediterranean alpha-linolic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. Lancet. 343, 1454-1459.

Malekian, F., Rao, R. M., Prinyawiwatkul, W., Marshall, W. E., Windhauser, M. and Ahmedna, M. 2000. Lipase and Lipoxygenase Activity, Functionality, and Nutrient Losses In Rice Bran During Storage. Bulletin No. 870. Baton Rouge. LSU Agricultural Center. Louisiana Agricultural Experiment Station.

Mardani, V., Alami, M., Arabshahi., S., Sadeghi, A. R. and Soleymani, M. H. 2011. Evaluation of antioxidant activity the extract of evening promise (Oenothera biennis) and its impact on the stability of soybean oil. Proceeding of the 20th National Food Science and Industries Congress. Nov. 21-23. Sharif University of Technology. Tehran, Iran. (in Farsi)

Masic, V. and Yodice, R. 2006. The dietary role of monounsaturates. Inform. 3(6): 681-686.

Min, B., McClung, A. M. and Chen., M. H. 2011. Phytochemicals and antioxidant capacities in rice brans of different color. J. Food Sci. 76(1): 117-133.

Mohagheghi-Samarin, A., Porazarang, H., Elhamiye-Rad, A. H. and Akhlaghi, H. 2007. Investigating of antioxidant characteristics of Raja potato. M. Sc. Thesis. Faculty of Food Science and Technology. Islamic Azad University. Sabzevar Branch. Sabzevar. Iran. (in Farsi)

Mohdaly, A., Smetanskaa, I., Ramadan, M. F., Sarhanb, M. S. and Mahmoud, A. 2011. Antioxidant potential of sesame (Sesamum indicum) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. Ind. Crop. Prod. 34 (1): 952-959.

Renuka-Devi, R., Jayalekshmy, C. and Arumughan, A. 2007. Antioxidant efficacy of phytochemical extracts from defatted rice bran in the bulk oil system. Food Chem. 104, 658-66.

Sikwese, F. E. and Duodu, K. G. 2007. Antioxidant effect of a crude phenolic extract from sorghum bran in sunflower oil in the presence of ferric ions. Food Chem. 104, 324-331.

Singh, R. P., Chidambara-Murthy, K. N. and Jayaprakasha, G. K. 2002. Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. J. Agric. Food Chem. 50, 81-86.

Steel, R. G. D., Torrie, J. H. and Dickey, D. A. 1997. Principles and Procedures of Statistics. Abiometrical Approach. New York. MC Graw Hill Book Co, Inc.

Tsimidou, M. Z., Georgiou, A., Koidis, A. and Boskou, D. 2005. Loss of stability of ‘‘veiled” (cloudy) virgin olive oils in storage. Food Chem. 93, 377-383.

Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J. and Qian, M. 2002. Free radical scavenging properties of wheat extracts. J. Agric. Food Chem. 50, 1619-1624.

Zha, X. Q., Wang, J. H., Yang, X. F., Liang, H., Zhao, L. L., Bao, S. H., Luo, J. P., Xu, Y. Y. and Zhou, B. B. 2009. Antioxidant properties of polysaccharide fractions with different molecular mass extracted with hot-water from rice bran. Carbohy. Polym. 78, 570-575.

Zhou, K. and Liangli, Y. 2004. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. LWT. Food Sci. Technol. 37(7): 717-721.

Journal of Agricultural Engineering Research/Vol.15/No.1/2014/P:55-66

Comparison of Antioxidant Efficiency in Oven Aging and Addition of BHT for Rice Bran Extract

F. Mokhtari, M. Khanahmadi, B. Askari*, L. Mosharef and A. H. Elhamirad

* Corresponding Author: Ph. D. Student, Department of Food Materials and Process Design Engineering, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: bijan.askari@gau.ac.ir
Received: 8 August 2012, Accepted: 9 March 2013

γ-oryzanol is one of the strongest antioxidants. It inhibits oxidation and is only present in rice bran. This composition decrease cholesterol, which decreases the risk of atherosclerosis. Ther prestn study extracted antioxidant from two varieties of rice bran (Zayandeh Rood and Sazandegi) using methanol solvent and percolation. The extracts were added to edible oil without antioxidants in 100 and 150 ppm concentrations and incubated at 63°C at intervals of 0, 24, 48 and 72 h. Chemical changes and thermal stability of the samples were examined using a Rancimat, and the acid and peroxide contents and radical scavenging percentage were recorded. Statistical analysis was done using a completely randomized design and Duncan's test at $\alpha = 0.01$ using SPSS 16 software. All tests were replicated 3 times. The results showed that the effect of rice bran extract was greater for the Sazandegi variety for stable oxidation by oven aging of soybean edible oil for 72 h than for the addition of BHT and was significantly different from other extracts ($p < 0.01$).

Keywords: Acid index, Antioxidant, Peroxide index, Rancidity, Rice bran