

بررسی ویژگی های شیمیایی و ظرفیت آنتی اکسیدانی هسته انار و برخی تفاله های گیاهی در تقابل با پراکسیداسیون حرارتی روغن سویا در فرآوری خوراک

سیداحسان غیائی^{۱*}، رضا ولی زاده^۲ و عباسعلی ناصریان^۲

۱- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه بیرجند، ۲- استاد گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد

*نویسنده مسؤول: s.e.ghiasi@birjand.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۰۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۰۵

چکیده

هدف از مطالعه حاضر مقایسه تفاله های هسته انار، گوجه فرنگی، سیب، لیمو ترش و پرتقال با یکدیگر و در برابر علوفه خشک یونجه، اسید آسکوربیک، آلفا توکوفرول و بوتیلید هیدروکسی تولوئن (BHT) به عنوان اجزاء آنتی اکسیدانی رایج در جیره از لحاظ ترکیب شیمیایی، پتانسیل ممانعت از پراکسیداسیون اسیدهای چرب روغن و توانایی خنثی نمودن رادیکال های آزاد پراکسید بود. اثر دما و مدت زمان های مختلف اکسیداسیون بر محتوای پراکسید و ساختار اسیدهای چرب روغن سویا طی فرآوری شبیه سازی شده خوراک نیز مورد بررسی قرار گرفت. افزایش دما و زمان اکسیداسیون به طور معنی داری باعث افزایش محتوای پراکسید نمونه های روغن خام سویا گردید. محتوای کل اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع در اثر اکسیداسیون به طور معنی داری به ترتیب افزایش و کاهش یافت. عصاره متانولی هسته انار در مقایسه با سایر نمونه های گیاهی و آنتی اکسیدان های شیمیایی به طور معنی داری بیشترین میزان ترکیبات پلی فنولی، قابلیت خنثی کنندگی رادیکال های آزاد و ممانعت از پراکسیداسیون اسیدهای چرب را نشان داد. هسته انار دارای فیبر، پروتئین خام، عصاره اتری، مس، روی و پتانسیل اسیدی کننده قابل ملاحظه ای نسبت به سایر مواد مورد آزمایش بود. از این رو جهت استفاده به عنوان یک مکمل خوراکی دارای خواص آنتی اکسیدانی و متابولیکی برای بازه زمانی پیرامون زایش مناسب به نظر می رسد.

کلمات کلیدی: هسته انار، آنتی اکسیدان، پراکسیداسیون، روغن سویا، فرآوری خوراک دام

مقدمه

امروزه استفاده از روغن‌ها و دانه‌های روغنی در خوراک دام به دلیل نقش‌های بیولوژیکی متعدد مورد توجه محققین قرار گرفته است. کاهش تقاضای انرژی در دام از طریق کاهش چربی شیر در ابتدای شیردهی، توسط برخی اسیدهای چرب خاص (بایومان و گریناری، ۲۰۰۳)، افزایش تغذیه کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها برای تأمین نیاز متابولیکی دام (اورتون و والدرون، ۲۰۰۴) و تمایل به افزایش غلظت اسید لینولئیک کانجوگه (CLA) در محصولات دامی به دلیل تأثیرات آن بر سلامت انسان (پاریزا و همکاران، ۲۰۰۱)، (پرابو و همکاران، ۲۰۱۰) را می‌توان از دلایل این رویکرد بر شمرد. به طور معمول چربی به کار رفته در جیره دام از منبع دانه‌های روغنی تأمین می‌شود که غالباً در مسیر فرآوری یا استخراج روغن تحت تأثیر تیمارهای حرارتی قرار می‌گیرد. مطالعات نشان می‌دهد حرارت دادن دانه‌های روغنی زیست‌هیدروژنه شدن چربی در شکمبه را در شرایط مختلف (گانتیر و همکاران، ۲۰۰۵) با اختلال مواجه می‌کند. همچنین تغذیه روغن سویای اکسید شده باعث کاهش عملکرد تولیدی دام (واز کوثرآنون و همکاران، ۲۰۰۸) و استفاده از سویای اکستروود شده باعث کاهش چربی شیر می‌گردد. افزایش غلظت محصولات پراکسیداسیون اسیدهای چرب در اثر حرارت از جمله دلایل ذکر شده برای این شواهد می‌باشد (نیوز و همکاران، ۲۰۰۷). علاوه بر نقش اکسیداتیو القایی چربی‌های حرارت دیده، ورود حیوان به گامه‌هایی نظیر تکامل بافتی قبل از زایمان، تولید شیر و احتمالاً رشد سریع عضلانی نیز به دلیل افزایش نیاز به اکسیژن مولکولی، تولید رادیکال‌های آزاد ناشی از زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی را افزایش می‌دهد (والکو و همکاران، ۲۰۰۷). اکسیژن فعال اضافی موجود در خون محیطی در شرایط فیزیولوژیکی مختلف و نیز با تغذیه چربی‌های با محتوای پراکسید بالا (کاستیلو و همکاران، ۲۰۰۵)، می‌تواند با افزایش شدت استرس اکسیداتیو، دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن را تضعیف نماید. استفاده از مکمل‌های چربی و دانه‌های روغنی بدون پایدار کننده و نگهدارنده می‌تواند عاملی معنی‌دار در تشدید استرس اکسیداتیو (اندرو و همکاران، ۲۰۰۶) و به دنبال آن افزایش نرخ بازسازی دستگاه گوارش، پاسخ‌های ایمنی‌تقلیل یافته و توسعه واکنش‌های التهابی (اسمدمن و همکاران، ۲۰۰۵) باشد. افزودن آنتی‌اکسیدان به جیره می‌تواند باعث خنثی نمودن رادیکال‌های

آزاد و تعدیل اثرات منفی مشتقات پراکسیداسیون اسیدهای چرب گردد (فرانکل، ۲۰۰۵).

آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک عمدتاً شامل ترکیبات فنولی ساده و پلی‌هستند که به دلیل سرطان‌زا بودن استفاده از آن‌ها محدود شده و گرایش به استفاده از ترکیبات طبیعی در مواد خوراکی افزایش یافته است (زینول و همکاران، ۲۰۰۳). مطالعات نشان می‌دهد که ضایعات صنایع تبدیلی محصولات کشاورزی مانند تفاله گوجه‌فرنگی (کائو و همکاران، ۱۹۹۶)، تفاله مرکبات (ارول و همکاران، ۲۰۰۹) و هسته انار (کلیک و همکاران، ۲۰۰۹) غنی از پلی‌فنول‌هایی نظیر فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها بوده که پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی در تقابل با رادیکال‌های آزاد از خود نشان می‌دهند. هسته انار نیز غنی از ترکیباتی نظیر پانیکالاژین، الازیتانین و اسید گالیک (هبر و همکاران، ۲۰۰۷) است که اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی آن‌ها با بوتیلات هیدروکسی تولوئن تجاری برابری می‌کند (رجبیان و همکاران، ۲۰۰۸). در مورد مقایسه توان آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فعال زیستی موجود در هسته انار و سایر ضایعات صنایع تبدیلی محصولات کشاورزی در تقابل با رادیکال‌های آزاد ناشی از پراکسیداسیون اسیدهای چرب شکل گرفته در طی فرآوری حرارتی خوراک دام، اطلاعات کافی در منابع مشاهده نشد. از این رو در مطالعه حاضر اثر دما و مدت زمان‌های مختلف حرارت دهی و هوادهی بر محتوای پراکسید و ساختار اسیدهای چرب روغن سویا به عنوان مدلی از شرایط فرآوری حرارتی خوراک دام مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین پتانسیل ممانعت از پراکسیداسیون اسیدهای چرب روغن، توانایی خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد ناشی از پراکسیداسیون و ترکیب شیمیایی تفاله‌های هسته انار، گوجه‌فرنگی، سیب، لیموترش و پرتقال در مقایسه با علفه خشک یونجه، اسید آسکوربیک، آلفا توکوفرول و BHT به روش آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مراحل انجام آزمایشات و جمع‌آوری داده‌ها

روغن خام سویا با عبور حباب‌های هوا از خلال روغن در دماهای ۰، ۳۵، ۴۵، ۵۵، ۶۵، ۷۵، ۸۵ و ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ و ۲۴ ساعت در معرض اکسیداسیون قرار گرفت (AOCs، ۲۰۰۷). ارزش عددی مشتقات پراکسید اسید چرب در نمونه‌های روغن (AOCs، ۲۰۰۳) بر حسب میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم روغن خام تازه و اکسید شده اندازه‌گیری شد. دو

پتانسیل آنتی اکسیدانی (*Zn, Cu, Fe*) با استفاده از دستگاه اسپکترومتری جذب اتمی *Varian* مدل *B ۵۰* آنالیز شد (جورهم، ۲۰۰۰).

استخراج عصاره متانولی و کل ترکیبات فنولی با استفاده از روش *ISO:14502-1* (۲۰۰۵) تعیین شد. توان آنتی اکسیدانی نمونه های گیاهی در خنثی سازی رادیکال های آزاد ناشی از پراکسیداسیون اسیدهای چرب در اثر حرارت با ترکیبی از روش های *AOCS: cd 8-53* (۲۰۰۳) و آتویی و همکاران (۲۰۰۵) با مختصری اصلاحات انجام شد. به این نحو که ۱ گرم روغن اکسید شده با ارزش عددی پراکسید $۷/۰۶۶ \pm ۰/۰۴۵$ میلی اکی والان در کیلوگرم به همراه ۶ میلی لیتر محلول آلی (محلول کلروفورم و اسید استیک با نسبت ۲ به ۳) و ۱ میلی لیتر نمونه عصاره متانولی گیاه (رقیق شده با ۴ میلی لیتر متانول ۷۰ درصد) یا محلول های آنتی اکسیدانی استاندارد (غلظت های ۱، ۰/۱، ۰/۰۵ و ۰/۰۲ میلی گرم ویتامین ث در هر میلی لیتر متانول ۷۰ درصد و ۱ میلی گرم آلفاتوکوفرول و *BHT* در هر میلی لیتر متانول ۷۰ درصد) یا کنترل منفی (متانول ۷۰ درصد) در یک ارلن ۵۰ میلی لیتری ریخته شد و با هم زن مغناطیسی به مدت ۱۰ ثانیه مخلوط گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر محلول یدید پتاسیم اشباع اضافه شده و بلافاصله پس از ۶۰ ثانیه مخلوط شدن، ۶ میلی لیتر آب مقطر جوشیده سرد به آن اضافه شد. سپس ۴۰۰ میکرولیتر محلول معرف نشاسته (۱ گرم نشاسته پخته شده سیب زمینی در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) به مخلوط اضافه شده و با تیوسولفات سدیم ۰/۰۰۱ نرمال با استفاده از بورت دیجیتالی تا ناپدید شدن رنگ آبی تیترا گردید. سپس با استفاده از معادله زیر درصد خنثی سازی رادیکال های پراکسید توسط نمونه های گیاهی در مقابل کنترل محاسبه شد.

$$۱۰۰ \times (\text{تیترا کنترل} / \text{تیترا نمونه} - \text{تیترا کنترل}) = \text{درصد}$$

خنثی سازی ترکیبات پراکسید

همچنین پتانسیل آنتی اکسیدانی عصاره متانولی گیاه (رقیق شده با اتانول مطلق به میزان ۲ برابر) در ممانعت از پراکسیداسیون حرارتی اسید های چرب روغن تازه سویا پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در تاریکی و در حمام آب گرم ۸۰ درجه سانتیگراد در مقایسه با محلول ۱ میلی گرم در میلی لیتر اتانول مطلق ویتامین ث، آلفا توكوفرول و *BHT* با روش فریک تیوسیانات (آنیسینی و همکاران، ۲۰۰۸) و با استفاده از دستگاه الیزا ریدر *STAT FAX 303 Plus* مورد ارزیابی قرار گرفت. کلیه آزمایشات در مجموعه آزمایشگاه های دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد.

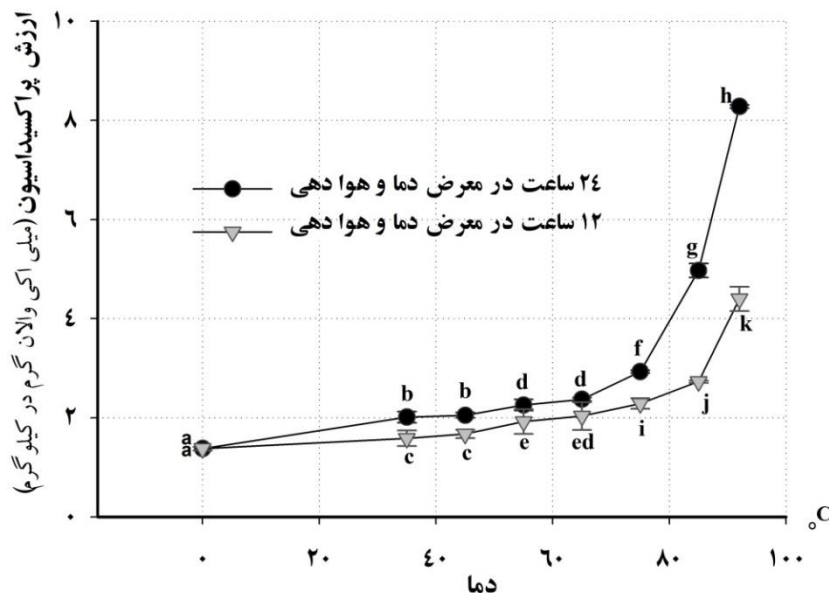
نمونه روغن خام تازه و اکسید شده سویا در دمای ۹۲ درجه سانتیگراد (*AOCS*، ۲۰۰۷)، به ترتیب با ارزش عددی پراکسیداسیون $۱/۳۷۳ \pm ۰/۰۳۷$ و $۷/۰۶۶ \pm ۰/۰۴۵$ میلی اکی والان در کیلوگرم به منظور تجزیه شیمیایی اسیدهای چرب مشتق سازی شد (کرامر و همکاران، ۱۹۹۷) و ترکیب اسیدهای چرب آن ها با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی *Varian* مدل *CP ۳۸۰۰* مجهز به انجکتور *FID ۱۱۷۷* و ستون *CP-Sill ۸۸* (به ترتیب با قطر داخلی، طول و ضخامت پوشش $۰/۲۵$ میکرومتر، ۱۰۰ متر و $۰/۲$ میکرومتر) تعیین شد. در ابتدا دمای ستون به مدت ۱۰ دقیقه در $۵۰^\circ C$ قرار داشت، سپس با نرخ $۵^\circ C$ در دقیقه به دمای $۲۶۰^\circ C$ افزایش یافت و این شرایط به مدت ۳۰ دقیقه ادامه یافت (کرامر و همکاران، ۲۰۰۱). از هلیوم با نرخ $۱/۲$ میلی لیتر در دقیقه تحت فشار ۳۵۵ کیلوپاسکال به عنوان گاز حامل استفاده شد. استاندارد داخلی (*C1۹:۰*) و سایر استانداردهای به کار رفته در تجزیه اسیدهای چرب، مطابق با جدول ۱ از شرکت *Sigma-Aldrich* تهیه گردید.

تجزیه تقریبی تفاله گونه های لیموترش (*Citrus limon*)، پرتقال (*Citrus sinensis*)، سیب (*Malus domestica*)، گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) و هسته انار (*Punica granatum*)، شامل تعیین پروتئین خام (*CP*)، عصاره اتری (*EE*)، درصد ماده خشک (*DM*)، درصد فیبر نا محلول در شوینده های اسیدی و خنثی و درصد خاکستر (*Ash*)، انجام شد (*AOAC*، ۲۰۰۵). پتانسیل تغییر اسیدیته، پس از ۳۰ و ۶۰ دقیقه مخلوط شدن ۱ گرم ماده خشک نمونه گیاهی در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر توسط همزن مغناطیسی و با نرخ ۲۰۰ دور در دقیقه، با استفاده از *pH* متر *Metrohm* مدل ۶۹۱ استاندارد شده با کالیبراتور اسیدیته *Merck* اندازه گیری شد. برای اندازه گیری کل مواد محلول در آب ۲ گرم ماده خشک نمونه در داخل بسته های کاغذی ایزوله از جنس کاغذ صافی واتمن ۴۲ پیچیده شده و درون بشر یک لیتری حاوی آب مقطر به مدت نیم ساعت در معرض جریان آب ناشی از همزن مغناطیسی قرار گرفت و سپس با آب مقطر تمیز آبکشی شد. باقیمانده نمونه و کاغذ صافی در آون در دمای ۶۰ درجه به مدت ۷۲ ساعت خشک شده و نسبت تفاضل وزن نمونه اولیه از باقیمانده تقسیم بر وزن نمونه اولیه به عنوان مواد محلول ناپدید شده در آب در نظر گرفته شد. همچنین میزان همی سلولز و کربوهیدرات های غیر فیبری با استفاده از فرمول های ارائه شده توسط گیونز و همکاران (۲۰۰۰) محاسبه گردید. نمونه های گیاهی برای تعیین غلظت مواد معدنی دارای

روش‌های آماری

τ تیمار i و ε_{ij} خطای تصادفی یا واریانس بین اندازه‌گیری‌های Z در تیمار i بود. آنالیزهای آزمایشگاهی با ۳ تکرار و ۲ اجرا به انجام رسید.

مقایسه میانگین فراسنجه‌ها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با مدل آماری $y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$ و با استفاده از مقایسات چند دامنه‌ای دانکن و رویه GLM نرم افزار آماری SAS (۲۰۰۹) انجام شد. در مدل فوق y_{ij} مشاهده Z ام در گروه i ، μ میانگین،



شکل ۱- تغییرات ارزش عددی محتوای پراکسید اسیدهای چرب ($\pm SD$) در نمونه‌های روغن در اثر تیمارهای دمایی و زمانی مختلف (تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) فراسنجه بین تیمارهای دمایی و زمانی بر روی نمودار با حروف لاتین متفاوت مشخص شده است)

کاهش نشان داد (جدول ۱). غلظت ایزومری‌های اشباع و غیراشباع ۱۸ تا ۲۴ کربنه در اثر اکسیداسیون به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0.05$). این کاهش در ایزومری اسید تریکوزانویک (C۲۳:۰) از لحاظ آماری معنی دار نبود. غلظت ایزومری اسید سیس-۱۰-هپتادکنوئیک (C۱۷:۱) در روغن تازه و اکسید شده مشابه بود. همچنین غلظت ایزومری‌های اسید پنتادکانوئیک (C۱۵:۰) و هپتادکانوئیک (C۱۷:۰) نیز در اثر اکسیداسیون به طور معنی داری کاهش یافت، در حالی که کاهش مذکور در ایزومری اسید سیس-۹-هگزادکنوئیک (C۱۶:۱) تنها متمایل به معنی داری بود. غلظت ایزومری‌های اشباع ۱۲، ۱۴ و ۱۶ کربنه و غیراشباع ۱۴ و ۱۵ کربنه در اثر اکسیداسیون به طور معنی داری در مقایسه با روغن تازه افزایش یافت ($P < 0.05$). نتایج پرایو و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که محتوای ارزش پراکسید در اثر افزایش دما و مدت زمان حرارت‌دهی به طور معنی داری افزایش می‌یابد. براساس این مطالعه اسیدهای چرب غیر اشباع در اثر فرآیند اکسیداسیون احتمالاً با دو مکانیسم اشباع شدن

نتایج و بحث

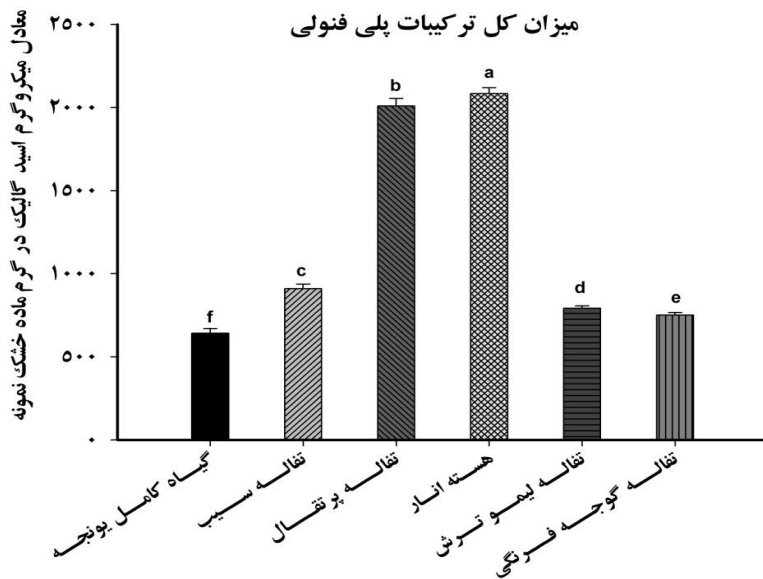
شکل ۱ اثر شبیه سازی شرایط فرآوری خوراک دام و دانه‌های روغنی را بر روند پراکسیداسیون چربی در مدل فرآیند حرارتی نشان می‌دهد. افزایش دما و مدت زمان قرار گرفتن در معرض هوادهی و حرارت به طور معنی داری باعث افزایش محتوای پراکسید نمونه‌های روغن خام سویا گردید. این افزایش در دماهای ۰ تا ۶۵ درجه سانتیگراد روند خطی داشت که با بالاتر رفتن دما و زمان، الگویی نمایی نشان داد. از آنجا که روش اکسیداسیون مورد استفاده توأم با دمیدن هوا می‌باشد، احتمالاً شکسته شدن اسیدهای چرب از محل پیوندهای دوگانه و تشکیل رادیکال‌های کوتاه زنجیر پراکسید (پرایو و همکاران، ۲۰۱۰) عامل افزایش محتوای پراکسید در نمونه‌های مذکور است. محتوای کل اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع در اثر قرار گرفتن روغن خام سویا در معرض دمای ۹۲ درجه سانتیگراد برای مدت ۲۴ ساعت به ترتیب به طور معنی داری در روغن اکسید شده نسبت به روغن تازه افزایش و

پیوندهای دوگانه و شکستن زنجیره از محل پیوند دوگانه کاهش می‌یابد. همچنین اسیدهای چرب اشباع با زنجیره بلندتر از ۱۸ کربن نیز دچار شکست می‌گردد که باعث افزایش غلظت اسیدهای چرب با زنجیره کوتاهتر می‌شود (واژکوژآنون و جنکینز، ۲۰۰۷). این ساز و کار با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر هم خوانی دارد.

جدول ۱ - چگالی و ترکیب اندازه‌گیری شده اسیدهای چرب روغن سویای تازه و اکسید شده (میلی‌گرم در گرم)

مورد	فرمول مختصر	تازه ^۱	اکسید شده ^۱	معنی داری
اسید دودکانوئیک	C12:0	۰/۰±۰۷۴/۰۰	۰/۰±۴۵۹/۰۱	p<۰/۰۰۱
اسید تترادکانوئیک	C14:0	۰/۰±۷۲۷/۰۰	۱/۰±۰۵۵/۰۱	p<۰/۰۰۱
اسید سیس-۹-تترادکانوئیک	C14:1	۱/۰±۱۵۰/۰۱	۴/۰±۰۴۴/۰۵	p<۰/۰۰۱
اسید پنتادکانوئیک	C15:0	۰/۰±۱۹۷/۰۰	۰/۰±۰۸۸/۰۰	p<۰/۰۰۱
اسید سیس-۱۰-پنتادکانوئیک	C15:1	۰/۰±۱۶۳/۰۰	۰/۰±۲۲۹/۰۰	p<۰/۰۰۱
اسید هگزادکانوئیک	C16:0	۱۰/۷/۰±۳۲۸/۰۶	۱۳/۶/۰±۵۵۶/۰۵	p<۰/۰۰۱
اسید سیس-۹-هگزادکانوئیک	C16:1	۰/۰±۶۹۷/۰۱	۰/۰±۶۷۷/۰۰	p=۰/۰۰۶
اسید هپتادکانوئیک	C17:0	۰/۰±۹۴۷/۰۱	۰/۰±۸۳۸/۰۱	p<۰/۰۰۱
اسید سیس-۱۰-هپتادکانوئیک	C17:1	۰/۰±۴۳۴/۰۱	۰/۰±۴۳۹/۰۱	p=۰/۰۹۶
اسید اکتادکانوئیک	C18:0	۳۹/۰±۲۳۴/۰۳	۳۳/۰±۸۶۵/۰۳	p<۰/۰۰۱
اسید سیس-اکتادکانوئیک	C18:1	۲۱۸/۰±۶۶۳/۰۴	۲۰۷/۰±۰۵۵/۰۶	p<۰/۰۰۱
اسید سیس-اکتادکا دی انوئیک**	C18:2c	۵۲۵/۰±۱۹۱/۰۸	۵۰۹/۰±۲۱۰/۰۹	p<۰/۰۰۱
اسید ترانس-اکتادکا دی انوئیک*	C18:2t	۵/۰±۸۷۶/۰۲	۰/۰±۱۰۸/۰۰	p<۰/۰۰۱
اسید سیس-۹، ۱۲، ۱۵ اکتادکا تری انوئیک (آلفا)	C18:3 n-3	۷۳/۰±۶۸۳/۰۷	۶۸/۰±۸۴۵/۰۱	p<۰/۰۰۱
اسید سیس-۶، ۹، ۱۲ اکتادکا تری انوئیک (گاما)	C18:3 n-6	۱/۰±۰۳۸/۰۱	۰/۰±۰۹۹/۰۰	p<۰/۰۰۱
اسید ایکوزانوئیک	C20:0	۲/۰±۹۲۹/۰۶	۱/۰±۶۲۱/۰۲	p<۰/۰۰۱
اسید ایکوزانوئیک	C20:1	۱/۰±۹۸۹/۰۴	۰/۰±۰۷۷/۰۰	p<۰/۰۰۱
اسید ایکوزادی انوئیک	C20:2	۰/۰±۳۵۵/۰۱	۰/۰±۲۱۸/۰۰	p<۰/۰۰۱
اسید سیس-۱۱، ۱۴، ۱۷ ایکوزا اسید تری انوئیک	C20:3	۰/۰±۲۹۵/۰۰	-	p<۰/۰۰۱
اسید سیس-۵، ۸، ۱۱، ۱۴ ایکوزا تترا انوئیک	C20:4	۰/۰±۴۹۲/۰۱	۰/۰±۲۲۲/۰۱	p<۰/۰۰۱
اسید هنیکوزانوئیک	C21:0	۰/۰±۰۷۸/۰۰	-	p<۰/۰۰۱
اسید دوکوزانوئیک	C22:0	۳/۰±۶۷۸/۰۵	۱/۰±۹۱۷/۰۲	p<۰/۰۰۱
اسید سیس-۱۳-دوکوزانوئیک	C22:1	۰/۰±۰۷۲/۰۰	-	p<۰/۰۰۱
اسید سیس-دوکوزا هگزانوئیک**	C22:6	۰/۰±۴۸۰/۰۱	۰/۰±۳۲۲/۰۰	p<۰/۰۰۱
اسید تریکوزانوئیک	C23:0	۰/۰±۲۷۷/۰۲	۰/۰±۲۴۷/۰۱	p=۰/۱
اسید تتراکوزانوئیک	C24:0	۱/۰±۲۹۹/۰۳	۰/۰±۶۴۲/۰۱	p<۰/۰۰۱
اسید سیس تتراکوزانوئیک	C24:1	۰/۰±۱۴۷/۰۱	۰/۰±۱۱۷/۰۰	p<۰/۰۰۵
سایر اسید های چرب	-	۱۲/۰±۱۲۹/۰۷	۳۱/۰±۱۵۴/۰۳	-
اسید های چرب غیر اشباع	-	۸۳۱/۰±۱۰۲/۳۴	۷۹۱/۰±۵۵۷/۲۵	p<۰/۰۰۱
اسید های چرب اشباع	-	۱۵۶/۰±۷۶۸/۲۸	۱۷۷/۰±۲۸۹/۱۷	p<۰/۰۰۱
چگالی روغن (گرم در میلی لیتر)	-	۰/۰±۸۵۹/۰۱	۰/۰±۸۹۷/۰۱	p<۰/۰۰۵

* ترکیبات مختلف ایزومری های ترانس شامل: ترانس/سیس، ترانس و ترانس، سیس/ترانس. ** همه پیوندها آرایش سیس دارند.^۱ ارزش عددی پراکسید در روغن تازه و اکسید شده به ترتیب ۰/۰۳۷ ± ۱/۳۷۳ و ۰/۰۴۵ ± ۷/۰۶۶ میلی اکی والان در کیلوگرم می‌باشد



شکل ۲- محتوای کل ترکیبات پلی فنولی بر اساس معادل میکروگرم اسید گالیک در هر گرم ماده خشک نمونه ($\pm SD$) (تفاوت معنی دار $(P < 0.05)$) فراسنجه بین نمونه‌های گیاهی بر روی نمودار با حروف لاتین متفاوت مشخص شده است.

میلی‌لیتر) و تفاله پرتقال به ترتیب در رده‌های بعدی جای گرفت، هر چند که برتری توان آنتی‌اکسیدانی (خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد) هسته انار نسبت به محلول ۰/۰۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ویتامین ث و تفاله‌های سیب و لیموترش از لحاظ آماری معنی دار نبود.

پراکسیداسیون چربی‌ها در بدن یک مکانیسم مؤثر در القای تخریب غشاهای زیستی، تجزیه DNA و توسعه واکنش‌های التهابی است. بنابراین ممانعت از پراکسیداسیون از قابلیت‌های مهم آنتی‌اکسیدانی به شمار می‌رود (برداپوسکا و اسزافای، ۲۰۰۳). دومین شاخص قابلیت آنتی‌اکسیدانی مورد مطالعه براساس توانایی عصاره متانولی نمونه‌های گیاهی در ممانعت از اکسیداسیون روغن سویای تازه یا ممانعت از تشکیل رادیکال‌های آزاد پراکسید در اثر اعمال تیمار حرارتی در شکل ۴ نشان داده شده است.

بر این اساس عصاره‌های هسته انار و علوفه خشک یونجه به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین محافظت از اسیدهای چرب روغن را به نمایش گذاشتند. توانایی ممانعتی هسته انار تفاوت معنی داری با ویتامین ث نداشت، در حالی که برتری هسته انار بر سایر نمونه‌های گیاهی و آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی از لحاظ آماری معنی دار بود. مطالعات ارول و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که میان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان غلظت پلی‌فنول‌ها یک همبستگی خطی با ضریب تعیین ۰/۹۳۷ وجود دارد. همچنین مطالعات یو و همکاران (۲۰۰۵) و نگی و همکاران (۲۰۰۵) نیز این یافته‌ها را تأیید می‌نماید.

رنگ قرمز تفاله گوجه‌فرنگی مربوط به کاروتنوئیدها است. کاروتنوئیدها با رنگ‌های زرد، نارنجی و قرمز، محلول در چربی‌ها بوده و دارای قابلیت آنتی‌اکسیدانی در ممانعت از اکسیژن فعال در سیستم‌های زیستی‌اند (سای و همکاران،

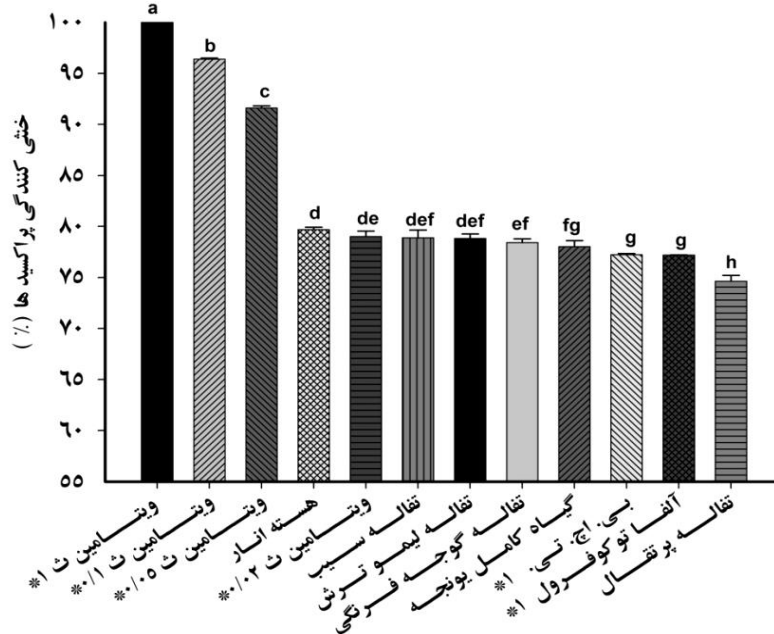
افزایش تولید رادیکال‌های آزاد پراکسی ($ROO\cdot$) در اثر حرارت و هوادهی اسیده‌های چرب عامل احتمالی افزایش شکست در زنجیره اسیده‌های چرب بلند زنجیر بوده که خود باعث تولید رادیکال‌های جدید و افزایش تصاعدی تولید مشتقات پراکسید اسید چرب می‌گردد (فرانکل، ۲۰۰۵). رشد نمایی میزان عددی ارزش پراکسیداسیون در مطالعه حاضر با ساز و کار یاد شده مطابقت دارد.

براساس نتایج (شکل ۲) هسته انار در مقایسه با سایر نمونه‌های گیاهی مورد مطالعه به طور معنی داری بیشترین میزان ترکیبات پلی فنولی را دارا بود. تفاله‌های پرتقال، سیب، لیمو ترش، گوجه فرنگی و علوفه خشک یونجه از این لحاظ به ترتیب به طور متفاوتی با یکدیگر ($P < 0.05$) در مراتب بعدی جای گرفتند. چندین مکانیزم برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد که مؤثرترین آن‌ها توانایی حذف رادیکال‌های آزاد محیط با توانایی هیدروژن‌دهندگی ترکیبات آنتی‌اکسیدان است (کارلو و همکاران، ۱۹۹۹).

از این رو بر اساس نتایج بیشترین قابلیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های گیاهی مورد مطالعه بر مبنای پتانسیل خنثی‌کنندگی ترکیبات پراکسید ناشی از اکسیداسیون اسیده‌های چرب و روغن حرارت دیده، متعلق به عصاره متانولی هسته انار بود که به طور معنی داری نسبت به پتانسیل خنثی‌کنندگی رادیکال محلول ۰/۰۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ویتامین ث کمتر و در مقایسه با محلول ۰/۰۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ویتامین ث بیشتر بود (شکل ۳). پتانسیل خنثی‌کنندگی رادیکال عصاره متانولی تفاله سیب، تفاله لیموترش، تفاله گوجه‌فرنگی، علوفه خشک یونجه، BHT (۱) میلی‌گرم در میلی‌لیتر، آلفا توکوفرول (۱) میلی‌گرم در

توانایی آنتی اکسیدانی تفاله مرکبات در خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد پراکسی ($ROO\cdot$) مربوط به خاصیت هیدروژن‌دهندگی پلی‌فنول‌هایی نظیر لیمونین و نارنجین می‌باشد.

(۲۰۰۷). آنتوسیانین‌ها نیز در گوجه‌فرنگی از کلاس فلاونوئیدها و عضو خانواده بزرگ پلی‌فنول‌ها می‌باشند (Cao و همکاران، ۱۹۹۶). پی‌یتا (۲۰۰۰) بیان نمود که فعالیت ضد رادیکالی فلاونوئیدها وابسته به ساختار و جانشینی حلقه‌های هتروسایکلک و حلقه B موجود در آن و



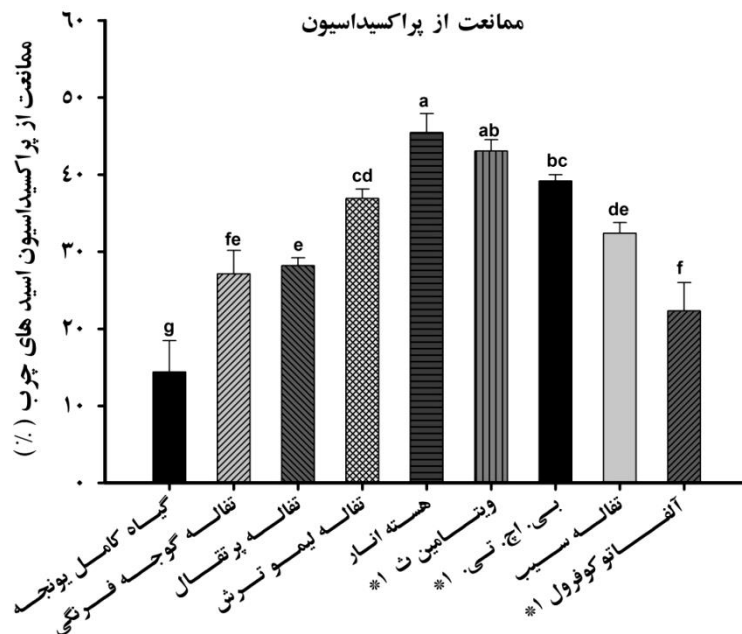
شکل ۳ - پتانسیل خنثی‌کنندگی رادیکال‌های پراکسید ناشی از پراکسیداسیون اسیدهای چرب در روغن دلبده با مقدار عددی پراکسید 0.1045 ± 0.066 میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم توسط عصاره متانولی نمونه‌های گیاهی (تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) فراسنجه بین نمونه‌های گیاهی بر روی نمودار با حروف لاتین متفاوت مشخص شده است). * غلظت ترکیب بر حسب میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد.

تفاوت ترکیبات موجود در نمونه‌های گیاهی اشاره دارد. ویتامین ث توانایی خنثی‌کنندگی بالاتری نسبت به هسته انار دارد، در صورتی که هسته انار ممانعت‌کننده‌ای بهتر در مقابل پیشرفت پراکسیداسیون به شمار می‌رود. همچنین توانایی خنثی‌کنندگی و ممانعت‌کنندگی هسته انار به طور معنی‌داری نسبت به *BHT* و آلفا توکوفرول بهتر بوده است. بنابراین ترکیبات فعال زیستی هسته انار با هر دو ساز و کار خنثی‌کنندگی و ممانعت‌کنندگی، اثر آنتی‌اکسیدانی خود را بر جای می‌گذارند.

جدول ۲ نتایج مربوط به آنالیز مواد معدنی دارای پتانسیل اثر در سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی را نشان می‌دهد. بر این اساس عنصر روی به ترتیب در تفاله گوجه‌فرنگی، علفه خشک یونجه و هسته انار به طور معنی‌داری نسبت به سایر نمونه‌ها بالاتر بود. بالاترین مقدار عنصر مس در بین نمونه‌ها به ترتیب متعلق به تفاله گوجه‌فرنگی و هسته انار بود. همچنین محتوای آهن هسته انار به طور معنی‌داری پس از تفاله لیموترش پایین‌ترین مقدار را به خود اختصاص داد.

موری-اوکاموتو و همکاران (۲۰۰۴) خواص آنتی‌اکسیدانی انار را مرتبط با ترکیبات فعال زیستی موجود در آن نظیر کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و پلی‌فنول‌ها عنوان نمودند. همچنین شوبرت و همکاران (۱۹۹۹) و رجیبیان و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که ترکیبات پلی‌فنولی نظیر اسید گالیک، الازیتانین و پونیکالازین توانایی آنتی‌اکسیدانی بالا معادل با *BHT* از خود نشان می‌دهند. سیرام و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که هسته انار بیش از ۱۰۰ ترکیب فعال زیستی داشته که از این لحاظ در میان گیاهان مورد مطالعه منحصر به فرد می‌باشد. براساس نتایج (شکل ۱) و منابع موجود توانایی آنتی‌اکسیدانی بالاتر هسته انار احتمالاً به دلیل تنوع و غلظت بالاتر پلی‌فنول‌ها و ترکیبات فعال زیستی موجود در هسته انار نسبت به سایر نمونه‌ها است.

همانطور که نتایج نشان می‌دهد (شکل ۳ و ۴) رفتار متفاوت عصاره‌های گیاهی در توانایی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد ناشی از پراکسیداسیون و نیز محافظت و ممانعت از فرآیند پراکسیداسیون احتمالاً به دو ساز و کار



شکل ۴ - ممانعت از پراکسیداسیون اسیدهای چرب ($\pm SD$) در اثر حرارت در حضور عصاره نمونه‌های گیاهی با پتانسیل آنتی‌اکسیدانی متفاوت. تفاوت معنی‌دار ($p < 0.05$) فراسنجه بین نمونه‌های گیاهی بر روی نمودار با حروف لاتین متفاوت مشخص شده است. * غلظت ترکیب بر حسب میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر اتانول مطلق.

ضایعات صنایع تبدیلی کشاورزی علاوه بر رویکرد آنتی‌اکسیدانی از دیدگاه تغذیه‌ای نیز حائز اهمیت است. بر اساس نتایج (جدول ۳) هسته انار از لحاظ محتوای فیبر گیاهی شباهت بالایی با تفاله گوجه فرنگی داشته و نسبت به یونجه و سایر نمونه‌ها به طور معنی‌داری خشبی‌تر بود. محتوای بالای *ADF* و *NDF* هسته انار آن را جزء نمونه‌های فیبری طبقه‌بندی می‌کند. بالاتر بودن همی‌سلولز هسته انار نسبت به سایر نمونه‌ها نشان می‌دهد که دیواره سلولی از کیفیت تغذیه‌ای مناسبی برخوردار است (گیونز و همکاران، ۲۰۰۰).

مطالعات نشان می‌دهد که مس و روی علاوه بر جایگاه کوآنزیمی در بسیاری از مسیرهای متابولیکی، جزئی از کمپلکس فعال ساز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بدن مانند سوپراکسید دیسموتاز می‌باشند (سینگ و همکاران، ۱۹۹۹). هاست و ایملائی (۲۰۰۵) نیز بیان نمودند که نقش آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز در خنثی‌سازی استرس اکسیداتیو ناشی از اشکال مختلف اکسیژن فعال، به طور معنی‌داری به غلظت روی و مس در سلول وابسته است. از این رو هسته انار و تفاله گوجه‌فرنگی منابع مناسبی برای تأمین این دو ریز مغذی برای بدن دام به شمار می‌روند. مطالعات ایملائی و همکاران (۱۹۸۸) نشان می‌دهد که آنتی‌اکسیدان آهن در واکنش فنتون به عنوان مسیری برای تولید رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل مؤثر بوده و در تخریب *DNA* توسط آب اکسیژنه به عنوان واسطه عمل می‌کند. همچنین این مطالعات نشان می‌دهد چنانچه آهن را با باندکننده‌های اختصاصی در سلول مهار کنیم، فرآیند تخریب کنندگی آب اکسیژنه مهار می‌شود. از این رو خاصیت باندکنندگی آهن به عنوان یک مکانیزم احتمالی برای قابلیت آنتی‌اکسیدانی گروه‌های فنولی مطرح می‌باشد (سابه‌شینی و همکاران، ۲۰۱۱). بنابراین پایین بودن آهن در هسته انار با قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالای آن همخوانی دارد. استفاده از

جدول ۲- محتوای مواد معدنی کم مصرف در هسته انار در مقایسه با سایر ضایعات محصولات کشاورزی و یونجه به عنوان شاخص

فراسنجه ^۲	علوفه خشک	هسته انار	تفاله پرتقال	تفاله لیمو	تفاله گوجه فرنگی	تفاله سیب	خطای استاندارد	معنی داری
یونجه								
روی ^۱	۲۸/۳۴ ^b	۱۹/۷۵۷ ^c	۱۲/۷۱۲ ^d	۱۱/۲۵۵ ^d	۳۷/۳۴۶ ^a	۶/۹۹۵ ^e	۰/۶۷۵	$P < 0.01$
مس ^۱	۷/۰۸۵ ^c	۱۳/۴۴۱ ^a	۳/۹۹۴ ^d	۴/۳۲۰ ^d	۱۴/۰۶۸ ^a	۹/۸۳۱ ^b	۰/۳۴۲	$P < 0.01$
آهن ^۱	۲۸۷/۶۶۲ ^b	۱۳۶/۵۷۸ ^d	۱۸۹/۲۴۸ ^c	۱۴/۴۷۲ ^e	۳۱۶/۶۷۲ ^a	۲۸۰/۴۶۹ ^b	۱۰/۹۳۹	$P < 0.05$

^۱ میکرو گرم در گرم ماده خشک ^۲ میانگین ها با حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف دارای اختلاف معنی دار می باشند.

گوجه‌فرنگی نسبت به سایر نمونه‌ها بالاتر بود. مطالعات لانسکی و همکاران (۲۰۰۵) نشان می‌دهد که هسته انار ۱۰ تا ۱۵ درصد ماده خشک روغن داشته که ۷۲ درصد آن را اسید پونیسیک تشکیل می‌دهد. همچنین آن‌ها نشان دادند که اسید پونیسیک دارای خواص ضد سرطان، ضد تصلب شرایین و ضد دیابت است.

کربوهیدرات‌های غیر فیبری در هسته انار به طور معنی داری پایین تر از یونجه بود که با توجه به درصد فیبر بالا قابل توجه است. تفاله پرتقال در بین نمونه‌ها کمترین میزان *ADF* و *NDF* و بیشترین مقدار کربوهیدرات‌های غیر فیبری را به خود اختصاص داد که از لحاظ تغذیه‌ای حائز اهمیت است. درصد عصاره اتری بعد در هسته انار بعد از تفاله

جدول ۳ - ماده خشک، فیبر نامحلول در شوینده های اسیدی و خنثی، عصاره اتری، پروتئین خام، خاکستر، کربوهیدرات های غیر فیبری، همی سلولز، کل مواد محلول در آب و پتانسیل تغییر اسیدیته محلول آبی هسته انار و سایر ضایعات محصولات کشاورزی در مقایسه با یونجه خشک به عنوان شاخص

فراسنجه ^۲	یونجه خشک	هسته انار	تفاله پرتقال	تفاله لیمو	تفاله گوجه فرنگی	تفاله سیب	خطای استاندارد	معنی داری
ماده خشک ^۱	۸۶/۴۶ ^c	۹۵/۴۸ ^c	۹۶/۳۱ ^b	۹۷/۹۵ ^a	۹۶/۳۷ ^b	۹۶/۷۹ ^b	۰/۱۱۵	$P < 0.01$
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ^۳	۳۹/۶۷ ^b	۴۷/۸۰ ^a	۱۵/۶۰ ^d	۲۳/۸۰ ^c	۴۹/۸۰ ^a	۴۴/۰۷ ^b	۰/۱۵۹	$P < 0.01$
فیبر نامحلول در شوینده خنثی ^۳	۵۲/۷۳ ^d	۶۱/۴۷ ^b	۱۶/۲۷ ^f	۳۳/۴۰ ^e	۶۲/۲۷ ^a	۵۰/۹۳ ^c	۰/۱۸۴	$P < 0.01$
عصاره اتری ^۳	۲/۲۷ ^e	۹/۳۹ ^b	۲/۶۸ ^e	۷/۰۴ ^c	۱۱/۸۵ ^a	۵/۵۱ ^d	۰/۳۳۹	$P < 0.01$
پروتئین خام ^۳	۱۸/۰۱ ^a	۱۴/۹۹ ^b	۵/۸۳ ^c	۵/۷۶ ^c	۱۷/۸۸ ^a	۵/۵۹ ^c	۰/۴۲	$P < 0.01$
کربوهیدرات های غیر فیبری ^۴	۲۱/۰۸ ^c	۱۲/۵۷ ^d	۵۴/۰۱ ^a	۵/۲۹ ^e	۳/۱۷ ^e	۳۴/۹۲ ^b	۰/۷۴	$P < 0.01$
همی سلولز ^۴	۱۳/۰۷ ^a	۱۳/۶۷ ^a	۰/۶۷ ^d	۹/۶۰ ^b	۱۲/۴۷ ^a	۶/۸۷ ^c	۰/۱۸۷	$P < 0.01$
کل مواد محلول در آب ^۳	۲۷/۱۴ ^b	۱۷/۵۹ ^c	۵۴/۲۱ ^a	۲۷/۰۰ ^b	۲۰/۷۷ ^{bc}	۲۷/۵۶ ^b	۲/۲۲	$P < 0.01$
پتانسیل تغییر اسیدیته محلول (۳۰ دقیقه) ^۵	۰/۶۳ ^b	-۱/۱۲ ^d	۴/۳۹ ^a	۰/۴۰ ^c	-۱/۱۳ ^d	-۱/۴۶ ^e	۰/۰۱	$P < 0.01$
پتانسیل تغییر اسیدیته محلول (۶۰ دقیقه) ^۵	۰/۵۶ ^b	-۱/۰۹ ^c	۴/۱۱ ^a	۰/۶۸ ^b	-۱/۰۳ ^c	-۱/۸۰ ^d	۰/۰۹	$P < 0.01$

^۱ درصد. ^۲ میانگین ها با حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف دارای اختلاف معنی دار می باشند. ^۳ درصد از ماده خشک. ^۴ محاسبه شده بر اساس فرمول های زیر: ($NDF-ADF=$ همی سلولز)، ($EE-Ash-NDF-CP=100$ = کربوهیدرات های غیر فیبری). ^۵ pH

کل مواد محلول در آب که بخش عمده‌ای از آن شامل کربوهیدرات‌ها، مواد معدنی، مواد آلی و ترکیبات ازته محلول در آب می‌شود، در هسته انار و تفاله پرتقال به ترتیب پایین‌ترین و بالاترین مقدار را داشت که این تغییرات با توجه به درصد کربوهیدرات‌های غیر فیبری به طور منطقی قابل توجه است. این فراسنجه از لحاظ ارتباط آن با نقش کربوهیدرات‌های سریع‌التخمیر در شکمبه پس از مصرف خوراک، حائز اهمیت است (دیکسترا و همکاران، ۲۰۰۵).

از این رو انتظار می‌رود، علاوه بر ترکیبات پلی فنولی موجود در هسته انار، بخشی از ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی آن مربوط به ویتامین‌های محلول در چربی و اثرات بیولوژیکی اسید پونیسیک نیز باشد. درصد پروتئین خام هسته انار به طور معنی داری نسبت به یونجه و تفاله گوجه‌فرنگی پایین‌تر بود، اما این میزان در مقایسه با سایر نمونه‌ها برتری معنی داری نشان داد. از این رو با توجه به درصد بالای پروتئین خام و عصاره اتری در هسته انار کاهش ارزش غذایی ناشی از فیبر بالا تا حدودی جبران می‌گردد.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی هسته انار در میان نمونه‌های گیاهی مورد مطالعه به دلیل دارا بودن بالاترین میزان ترکیبات پلی فنولی، و بالاترین فعالیت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد و ممانعت‌کنندگی از پراکسیداسیون اسیدهای چرب حتی در مقایسه با BHT و نیز دارا بودن مقادیر قابل توجهی از عناصر کم مصرف مس و روی، ترکیب آنتی‌اکسیدانی مناسبی به شمار می‌رود. از این رو جهت مقابله با استرس اکسیداتیو در دوره پیرامون زایش مفید به نظر می‌رسد. همچنین به دلیل دارا بودن پتانسیل کاهش اسیدیته جهت استفاده به عنوان یک اسیدی‌کننده در مدیریت تغذیه دام‌های خشک پیشنهاد می‌گردد.

پتانسیل تغییر اسیدیته محلول در هر دو شرایط زمانی برای تفاله سیب، تفاله گوجه‌فرنگی و هسته انار منفی و برای سایر ترکیبات مثبت بود. این نشان می‌دهد که تفاله‌های سیب، گوجه‌فرنگی و انار قادرند، اسیدیته دستگاه گوارش را به طور نسبی کاهش دهند. از آنجا که اسیدی فایرها در مدیریت دام‌های خشک برای پیشگیری از عوارضی همچون تب شیر و کتوز دارای تأثیرات مثبت می‌باشند (دی‌گروت و همکاران، ۲۰۱۰؛ سیفی و همکاران، ۲۰۱۰) توجه به این نقش متابولیکی برای این ترکیبات از لحاظ تغذیه‌ای علاوه بر نقش آنتی‌اکسیدانی، در دوره پیرامون زایش دارای اهمیت می‌باشد.

منابع

- Andrews, J., Vazquez-Anon, M. and Bowman, G., 2006. Fat stability and preservation of fatty acids with AGRADO_ antioxidant in feed ingredients used in ruminant rations. *Journal of Dairy Science*. 89(Suppl. 1):60.
- Anesini, C., Ferraro, G. E. and Filip, R., 2008. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *J. Agric. Food Chem.* 56: 9225–9229.
- AOAC, 2005. *Official Methods of Analysis (18th ed)*. USA.: Association of Official Analytical Chemists.
- AOCS, 2003. *Official Method: Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils, Cd 8-53 • Peroxide Value*.
- AOCS, 2007. *Official Method: Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils, Cd 12-57 • Fat Stability*.
- Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G. and Panagiotis, K. P., 2005. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*. 89: 27-36.
- Baer-Dubowska, W. and Szaefer, H., 2003. The effect of plant phenolics on the processes involved in the initiation and promotion of carcinogenesis: Lipid peroxidation. *Polish Journal of Food and Nutrition Science*. 12:128–132.
- Bauman, D. E. and Griinari, J. M., 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Ann. Rev. nutr.* 23:203–227.
- Cao, G., Sofic, E. and Prior, R. L., 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44:3426-3431.
- Carlo, G.D., Mascolo, N., Izzo, A.A. and Capasso, F., 1999. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences*. 65: 337-353.
- Castillo, C., Hernandez, J., Bravo, A., Lopez-Alonso, M., Pereira, V. and Benedito, J. L., 2005. Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *Veterinary Journal*. 169:286-292.
- Celik, I., Temur, A. and Isik, I., 2009. Hepatoprotective role and antioxidant capacity of pomegranate (*Punica granatum*) flowers infusion against trichloroacetic acid-exposed in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 47(1):145–149.
- De Groot, M. A., Block, E. and French, P. D., 2010. Effect of prepartum anionic supplementation on periparturient feed intake, health and milk production. *Journal of Dairy Science*. 93:5268-5279.
- Dijkstra, J., Forbes, J. M. and France, J., 2005. *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism (2nd ed)*. Wallingford, UK.: CAB International.
- Erol, N. T., Sar, F., Polat, G. and Velioglu, Y. S., 2009. Antioxidant and Antibacterial Activities of Various Extracts and Fractions of Fresh Tea Leaves and Green Tea. *Tarim Bilimleri Dergisi*. 15(4):371-378.
- Frankel, E. N., 2005. *Lipid Oxidation*. Bridgwater, UK.:The Oily Press.
- Givens, D. I., Owen, E., Axford, R. F. E. and Omed, H. M., 2000. *Forage evaluation in ruminant nutrition*. New York. USA.: CAB international.

- Gonthier, C., Mustafa, A. F., Ouellet, D. R., Chouinard, P. Y., Berthiaume, R. and Petit, H. V., 2005. Feeding micronized and extruded flaxseed to dairy cows: Effects on blood parameters and milk fatty acid composition. *Journal of Dairy Science*. 88:748–756.
- Hassett, D. J. and Imlay, J. A., 2006. Oxidative Stress Systems. in *Bacteria: Four Model Organisms in: Nickerson, C. A., Schurr, M. J. (Eds.), Molecular Paradigms of Infectious Disease. A Bacterial Perspect.* pp. 544-574.
- Heber, D., Seeram, N. P., Wyatt, H., Henning, S. M., Zhang, Y., Ogden, L. G., Dreher, M. and Hill, J. O., 2007. Safety and antioxidant activity of a pomegranate ellagitannin-enriched polyphenol dietary supplement in overweight individuals with increased waist size. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55:10050-10054.
- Imlay, J. A., Chin, M. S. and Linn, S., 1988. Toxic DNA damage by hydrogen peroxide through the Fenton reaction in vivo and in vitro. *Science*. 240:640–642.
- ISO 14502-1, 2005. Determination of substances characteristic of green and black tea. Part 1: Content of total polyphenols in tea. Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent. International Organization for Standardization, Switzerland
- Jorhem, L., 2000. Determination of metals in foods by atomic absorption spectrometry after dry ashing. *J. AOAC International*. 83: 1204–1211.
- Kramer, J. K. G., Fellner, V., Dugan, M. E. R., Sauer, F. D., Mossoba, M. M. and Yurawecz, M. P., 1997) Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. *Lipids*. 32: 1219-1228.
- Kramer, J. K. G., Cruz-Hernandez, C. and Zhou, J., 2001. Conjugated linoleic acids and octadecenoic acids: Analysis by GC. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 103: 594- 632.
- Lansky, E. P., Harrison, G., Froom, P. and Jiang, W. G., 2005. Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel™. *Invest. New Drugs*. 23(2):121-122.
- Mori-Okamoto, J., Otawara-Hamamoto, Y., Yamato, H. and Yoshimura, H., 2004. Pomegranate extract improves a depressive state and bone properties in menopausal syndrome model ovariectomized mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 92:93-101.
- Negi, P. S., Chauhan, A. S., Sadia, G. A., Rohinishree, Y. S. and Ramteke, R. S., 2005. Antioxidant and antibacterial activities of various seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) seed extracts. *Food Chemistry*. 92: 119-124.
- Neves, C. A., Santos, G. T., Matsushita, M., Alves, E. M., Oliveira, R. L., Branco, A. F., Silva, D. C., Furlan, A. C. and Petit, H. V., 2007. Intake, whole tract digestibility, milk production and milk composition of Holstein cows fed extruded soybeans treated with or without lignosulfonate. *Animal Feed Science and Technology*. 134: 32–44.
- Overton, T. R. and Waldron, M. R., 2004. Nutritional Management of Transition Dairy Cows: Strategies to Optimize Metabolic Health. *Journal of Dairy Science*. 87(E. Suppl.):E105–E119.
- Pariza, M. W., Park, Y. and Cook, M. E., 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog. Lipid Res*. 40:283–298.
- Pietta, P. G., 2000. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod*. 63: 1035-1042.
- Privé, F., Combes, S., Cauquil, L., Farizon, Y., Enjalbert, F. and Troegeler-Meynadier, A., 2010. Temperature and duration of heating of sunflower oil affect ruminal biohydrogenation of linoleic acid in vitro. *Journal of Dairy Science*. 93: 711–722.
- Rajabian, T., Fallah Hussein, H., Karami, M., Rasooli, I. and Faghihzadeh, S., 2008. Effect of Pomegranate Fruit Juice and Seed Oil on Serum Lipid Levels and Atherosclerosis Development in Hypercholesterolemic Rabbits. *Journal of Medicinal Plants*. 25: 93-105.
- SAS, (2009). *SAS User's Guide: Statistics. Ver 9.2. USA.: SAS Institute. Cary. N.C.*
- Schubert, S., Lansky, E. and Neeman, I., 1999. Antioxidant and eicosanoid enzyme in habitation properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *Journal of Ethnopharmacology*. 66:11-17.
- Seeram, N. P., Zhang, Y., Reed, J. D., Krueger, C. G. and Vaya, J., 2006. Pomegranate phytochemicals. In: *Pomegranates: Ancient Roots to Modern Medicine*. N. P. Seeram, Schulman, R. N. and Heber, D., FL: CRC Press. Taylor and Francis Group. BocaRaton. pp.3-29.
- Seifi, H. A., Mohri, M., Farzaneh, N., Nemati, H. and Nejhad, S. V., 2010. Effects of anionic salts supplementation on blood pH and mineral status, energy metabolism, reproduction and production in transition dairy cows. *Research in Veterinary Science*. 89: 72-77.

- Singh, A. K., Dobashi, K., Gupta, M. P., Asayama, K., Singh, I. and Orak, J. K., 1999. Manganese superoxide dismutase in rat liver peroxisomes: biochemical and immunochemical evidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 197: 7-12.
- Smedman, A., Basu, S., Jovinge, S., Fredrikson, G. N. and Vessby, B., 2005. Conjugated linoleic acid increased C-reactive protein in human subjects. *British Journal of Nutrition*. 94(5): 791-795.
- Subhashini, N., Thangathirupathi, A. and Lavanya, A., 2011. Antioxidant activity Of trigonella foenum graecum using various in vitro and ex-vivo models. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3(2): 96-102.
- Tsai, H., Chang, S. and Chang, S., 2007. Antioxidant Content and Free Radical Scavenging Ability of Fresh Red Pummelo [Citrus grandis (L.) Osbeck] Juice and Freeze-Dried Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 2867-2872.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 39: 44-84.
- Va'zquez-An'o'n, M. and Jenkins T., 2007. Effects of feeding oxidized fat with or without dietary antioxidants on nutrient digestibility, microbial nitrogen and fatty acid metabolism. *Journal of Dairy Science*. 90: 4361-4367.
- Va'zquez-An'o'n, M., Nocek J., Bowman G., Hampton T., Atwell C., Va'zquez P. and Jenkins T., 2008. Effects of Feeding a Dietary Antioxidant in Diets with Oxidized Fat on Lactation Performance and Antioxidant Status of the Cow. *Journal of Dairy Science*. 91: 3165-3172.
- Yu, J., Ahmedna, M. and Goktepe, I., 2005. Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. *Food Chemistry*. 90: 199-206.
- Zainol, M. K., Abd-hamid, A., Yusof, S. and Muse, R., 2003) Antioxidant activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica* (L.) urban. *Journal of Food Chemistry*. 81: 575-581.

A study on chemical characteristics and antioxidant capacity of pomegranate seed and some herbal pomace against thermal peroxidation of soybean oil during feed processing

S.E. Ghiasi ^{*1}, R. Valizadeh ² and A.A. Naserian ²

1- Assistant Professor, Department of Animal Science, University of Birjand, 2- Professor, Department of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad

*Corresponding Author Email: s.e.ghiasi@birjand.ac.ir

Submitted: 25 May 2024

Accepted: 23 August 2025

Abstract

The study was carried out to evaluate the polyphenol content, chemical composition, radical scavenging activity and inhibition potential of peroxidation of pomegranate seed and other agricultural by-products such as tomato, apple, lemon and orange pomace in comparison with alfalfa, ascorbic acid, alpha-tocopherol and butylated hydroxyl toluene (BHT) as common antioxidant source of diet. Effect of temperature and duration of oxidation on peroxide value of raw soybean oil were investigated as food processing simulation. The results indicated that peroxide value of soybean oil samples increased by rising temperature and time of oxidation significantly. Total saturated and unsaturated fatty acid contents of oil significantly increased and decreased by oxidation, respectively. The pomegranate seeds methanolic extract had the highest values of polyphenol, radical scavenging activity and inhibition potential of peroxidation among all investigated materials. Pomegranate seeds had notably high fiber, CP, EE, Cu, and Zn content and acidifying potential compared with other investigated by-products. Therefore, pomegranate seed seems to be effective antioxidant and beneficial supplement for peri-parturation period from metabolic point of view.

Keywords: Pomegranate seed, Antioxidant, Peroxidation, Soybean oil, Animal feed processing