Archive of SID

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 2, June. July. 2016, p. 239- 249

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۳۹۵ ص.۲۴۹-۲۳۹

پایداری اکسایشی تری آسیل گلیسرول روغن ماهی کیلکا (*Clupeonella cultiventris caspia*) تحت تأثیر روغنهای مغز و پوست بنه و اجزاء صابونی‌ناشونده آنها

سمانه پژوهان‌مهر [۱]، رضا فرهوش* [۲]، رضا اسماعیل‌زاده کناری [۳]، علی شریف [۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۳/۲۴

چکیده

.در این تحقیق، پایداری اکسایشی روغن تخلیص شده ماهی کیلکا (*Clupeonella cultiventris caspia*) در حضور روغن‌های مغز و پوست بنه (۲-۱ درصد وزنی/ وزنی) و اجزاء صابونی‌ناشونده آنها (۱/۵-۱ درصد وزنی/ وزنی) بررسی و با اثر آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی رایج نظیر آلفاتوکوفرول و بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) (۱۰۰ پی‌پی‌ام) با استفاده از روش رنسیمت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد مقایسه شد. تغییرات شاخص پایداری اکسایشی نمونه‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد (.$OSI_{ء}$، ساعت) بعنوان معیار سنجش پایداری اکسایشی در نظر گرفته شد. نتایج بر اساس داده‌های شاخص پلی ان و میزان ترکیبات صابونی ناشونده، توکوفرولی، فنلی و استرولی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. اجزاء تشکیل دهنده ترکیبات صابونی ناشونده روغن‌های مغز و پوست شناسایی و تعیین مقدار شدند. بیشترین میزان اجزاء تشکیل دهنده مواد صابونی ناشونده مغز و پوست بنه به ترکیبات توکوفرولی و توکوتری انولی تعلق داشت. .$OSI_{ء}$ نمونه های شاهد (۱/۶۶ ساعت) در حضور کلیه ترکیبات آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. به طور کلی ترکیبات صابونی ناشونده مغز بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان داد، بطوری که .$OSI_{ء}$ در حضور غلظت ۱/۵ درصد از این ترکیب تا ۸/۱۲ برابر افزایش یافت (.$OSI_{ء}$ برابر با ۱۳/۴۸ ساعت) ($p<۰/۰۵$).

واژه‌های کلیدی: پایداری اکسایشی، تری آسیل گلیسرول، روغن بنه، کیلکا، اجزاء صابونی‌ناشونده

مقدمه

روغن ماهی به عنوان منبعی غنی از اسیدهای چرب ضروری چند غیراشباع [۵] (بویژه امگا ۳ نظیر DHA [۶] و EPA [۷] و امگا ۶) و ویتامین‌های A و D، و یکی از بهترین منابع غذایی و دارویی به شمار می‌رود (Connor, 2000; Pirestani *et al*., 2010). ساختار اسید چرب این روغن و خواص دارویی آن در کاهش فشار خون، افزایش قدرت حافظه، تقویت سیستم ایمنی، جلوگیری از آلزایمر و شب کوری، درمان انواع سرطان و بیماریهای قلبی، پوستی و چشم سبب انتخاب این روغن در جیره غذایی هفتگی افراد شده است. از طرفی این ساختار اسید چربی سبب افزایش قابلیت اکسایش و فسادپذیری روغن ماهی می‌شود و به دلیل تولید ترکیبات نامطلوب، موجبات کاهش کیفیت و ارزش غذایی آن را فراهم می‌آورد (Wanasundara and Shahidi, 1998).

ماهی کیلکا از جمله منابع ارزشمند روغن ماهی و از فراوان ترین گونه‌های مهم شیلاتی دریای خزر بشمار می‌رود. گونه‌های کیلکای دریای خزر به جنس *Clupeonella* تعلق دارند و سه گونه‌ی عمده این جنس عبارت از کیلکای معمولی (*C. delicatula*)، کیلکای آنچوی (*C. engrauliformis*) و کیلکای چشم درشت (*C. grimmi*) می‌باشند (Fazli *et al*., 2009). استخراج روغن ماهی کیلکا با روش بلای و دایر[۸] مقدار روغن این ماهی را ۶/۶۳ درصد نشان داده است (هنری، ۱۳۸۳). در میان سه گونه مزبور، کیلکای معمولی دریای خزر از اهمیت صنعتی و اقتصادی بالاتری برخوردار می‌باشد. مقادیر اسیدهای چرب چند غیراشباع و امگا ۳ در روغن گونه معمولی به ترتیب ۱۹/۴۳ و ۱۶/۸۱ درصد گزارش شده‌اند (Pirestani *et al*.,

۱، ۲ و ۴- به ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ساری
(* - نویسنده مسئول: Email: rfarhoosh@um.ac.ir)

5 Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA)
6 Docosahexaenoic Acid
7 Eicosapentaenoic Acid

8 Bligh and Dyer

www.SID.ir

Archive of SID

2010; Fazel *et al*., 2008). همچنین بررسی‌های صورت گرفته نشان داده است روغن ماهی کیلکای معمولی نسبت به روغن سایر ماهیان دریای خزر دارای نسبت امگا ۳ به امگا ۶ بیشتری است و به این ترتیب از ارزش غذایی بالاتری نیز برخوردار می‌باشد (Pirestani *et al*., 2010). مقادیر نسبت اسیدهای چرب امگا ۳ به امگا ۶ روغن‌های ماهی به عنوان شاخصی مناسب برای مقایسه ارزش تغذیه‌ای آنها در نظر گرفته شده است (Piggott and Tucker, 1990)؛ به طوری که نسبتی معادل حداقل ۱ تا ۵ نشان دهنده بالا بودن کیفیت تغذیه‌ای این روغنهاست (Osman *et al*., 2001). از این رو روغن ماهی کیلکای معمولی با نسبتی معادل ۶/۴۲ به عنوان منبع تغذیه‌ای ارزشمند مورد توجه بوده است، تا آنجا که حتی در مقایسه با روغن ماهی‌های ارزشمند (از نظر اقتصادی) مدیترانه ای نظیر picarel (*Spicara smaris*)، black goby (*Gobius niger*) و salema (*Sarpa salpa*) (نسبتهای امگا ۳ به امگا ۶ به ترتیب معادل ۲/۴۶، ۴/۴۰ و ۵/۵۸) نیز در مقام بالاتری قرار گرفته است (Pirestani *et al*., 2010; Prato and Biandolino, 2012). در نظر گرفتن شاخص پلی ان۱ بعنوان شاخص اکسایش پذیری روغن ماهی نشان داده است روغن ماهی کیلکای معمولی در بین مهمترین گونه‌های جنوب دریای خزر نظیر pike perch (*Sander lucioperca*)، common carp (*Caprinus carpio*) و golden gray mullet (*Liza aurata*) بیشترین مقدار این شاخص را (به ترتیب ۰/۶۵، ۰/۵۷، ۰/۵۲ و ۰/۴۱) دارا بوده، از این نظر بالاترین اکسایش پذیری را نیز به خود اختصاص می‌دهد (Pirestani *et al*., 2010). علی‌رغم افزایش سالانه صید ماهی کیلکا از دریاهای کشور، به دلیل بالا بودن قابلیت اکسایش روغن این ماهی و نیز فساد و گسترش بدطعمی در آن، مصارف مفید روغن این ماهی کمتر مورد توجه قرار گرفته است. همچنین به رغم بالا بودن خواص تغذیه‌ای و دارویی روغن ماهی کیلکا تاکنون تحقیق جامعی در زمینه تولید روغن خوراکی از این ماهی و افزایش کیفیت روغن آن برای مصارف انسانی در کشور انجام نشده است و بررسیهای صورت گرفته طی سالهای اخیر صرفاً به تولید پودر ماهی برای خوراک آبزیان و کنسرو ماهی کیلکا اختصاص داشته است.

استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به قصد افزایش پایداری اکسایشی روغن ماهی، راهکار مناسبی برای بهبود کیفیت آن محسوب می‌گردد. در حال حاضر، آنتی اکسیدانهای سنتزی مجاز در فرآورده‌های غذایی شامل ترسیوبوتیل هیدروکینون (TBHQ)[2]، پروپیل گالات (PG)[3]، هیدروکسی تولوئن بوتیله (BHT)[4] و هیدروکسی آنیزول بوتیله (BHA)[5] می‌باشند (Warner *et al*., 1986). بررسی‌های انجام شده شده حاکی از آن است که برخی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی دارای آثار فیزیولوژیکی نامطلوب در بدن انسان می‌باشند. بنابراین بمنظور کاهش و یا جلوگیری از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در مواد غذایی و نیز تمایل مصرف‌کنندگان به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی ایمن، استفاده از ترکیبات طبیعی بخصوص طی دو دهه اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (Namiki, 1990). متداولترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی عبارت از مشتقات اسید سینامیک، اسیدهای آمینه، پپتیدها، اسیدهای آلی چند عاملی، توکوفرولها و فلاونوئیدها می‌باشند (Pratt, 1992; Matthaus, 2002; Cheng *et al*., 2003). اجزاء مواد صابونی ناشونده (USM)[6] روغن‌های گیاهی متشکل از هیدروکربن‌ها، الکلهای ترپنی، توکوفرول‌ها، استرول‌ها و برخی ترکیبات فنلی نیز در بهبود پایداری اکسایشی روغنهای گیاهی تأثیرگذار بوده و بطور معمول ۰/۵ تا ۲/۵ درصد از روغن‌ها را تشکیل می‌دهند. با وجود این، برخی روغن‌ها دارای مقادیر بیشتری (حدود ۵ تا ۶ درصد) از مواد صابونی ناشونده می‌باشند. (Sims *et al*., 1972; Bosku and Morton, 1976).

بنه (*Pistacia atlantica*) از انواع پسته وحشی رایج در ایران و منبعی غنی از آنتی‌اکسیدانهای طبیعی است. سه گونه رایج آن عبارت از موتیکا (*mutica*)، کردیکا (*kurdica*) و کابولیکا (*cabulica*) هستند که گونه اول در ایران شناخته شده‌تر و گسترده‌تر (بیش از ۹۰ درصد) است. بنه در مناطق مختلف ایران در استانهای سیستان و بلوچستان، خراسان و کرمان به صورت پراکنده و در نیمه غربی کشور بویژه استانهای فارس، کردستان، ایلام و کرمانشاه به صورت انبوه دیده می‌شود. وسعت درختان بنه در ایران بیش از یک میلیون و دویست هزار هکتار است (توکلی و همکاران، ۱۳۸۷). بررسی‌های انجام شده در خصوص مقدار روغن موجود در مغز و پوست بنه نشان داده است مغز و پوست بنه به ترتیب حاوی حدود ۵۶ و ۴۰ درصد روغن با پایداری اکسایشی بسیار بالا می‌باشند. بالا بودن پایداری اکسایشی روغن پوست و مغز بنه و همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی آنها در روغنهای گیاهی (نظیر کانولا و آفتابگردان) تا حد زیادی ناشی از وجود مقادیر قابل توجه ترکیبات توکوفرولی و فنولی در این منابع روغنی است. مقدار ترکیبات توکوفرولی روغن مغز و پوست بنه گونه موتیکا به ترتیب ۸۱۸/۵۸ و ۵۷۳ میلی‌گرم آلفاتوکوفرول در کیلوگرم روغن و مقدار ترکیبات فنولی آنها به ترتیب ۸۱/۱۲ و ۲۷۷ میلی‌گرم اسید گالیک در کیلوگرم روغن گزارش شده است (Sharif *et al*., 2009; Farhoosh *et al*., 2008; Sharayei *et al*., 2011a). از طرفی بررسی‌ها نشان داده است اثر اجزای صابونی‌ناشونده روغنهای

1 Polyene index: (EPA+DHA)/C16:0
2 *Tert*- Butylhyroquinone
3 Propyl gallate
4 Butylated hydroxytoluene
5 Butylated hydroxyanisole
6 Unsaponifiable matters

www.SID.ir

Archive of SID

مغز و پوست بنه در افزایش پایداری اکسایشی روغن‌های گیاهی ناشی از وجود فراکسیون‌های فعال آنتی‌اکسیدانی نظیر الکلهای ترپنی، استرول‌ها و توکوفرول‌ها در این اجزاء می‌باشد (Farhoosh and Tavassoli Kafrani, 2011; Farhoosh *et al*., 2011a,b; Sharayei *et al*., 2011b; Farhoosh *et al*., 2012).

با توجه به ارزش غذایی و دارویی روغن ماهی کیلکا و نیز بمنظور استفاده بهینه از این منبع غنی و با ارزش، تولید این روغن برای مصارف انسانی و بهبود کیفیت آن از جمله اهداف صنایع غذایی و دارویی به شمار می‌رود. بعلاوه براساس خاصیت آنتی‌اکسیدانی روغنهای مغز و پوست بنه و اجزاء صابونی‌ناشونده آنها در روغن‌های گیاهی انتظار می‌رود این منابع آنتی‌اکسیدانی طبیعی به طرز قابل توجهی سبب افزایش پایداری اکسایشی روغن ناپایدار ماهی کیلکا شوند. از این رو هدف از این پژوهش بهبود پایداری اکسایشی روغن ناپایدار ماهی کیلکا با استفاده از روغنهای آنتی‌اکسیدانی مغز و پوست بنه و اجزاء صابونی ناشونده آنها می‌باشد.

مواد و روش

مواد

نمونه بنه (*Pistacia atlantica var mutica*) از شهرستان اسلام آباد در ایلام تأمین گردید. نمونه‌ها تا زمان استخراج و انجام آزمایشهای مربوطه در پلاستیکهای پلی اتیلنی دربسته و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. روغن‌های خام ماهی کیلکا از شرکت خزر از شهرستان بابلسر تهیه و تا زمان اجرای آزمایشها در فریزر نگهداری (۱۸- درجه سانتی‌گراد) شدند. استاندارد متیل استر اسیدهای چرب و تمام مواد شیمیایی و حلالهای مورد استفاده در این تحقیق از درجه آنالیتیکال بودند و از شرکتهای مرک و سیگما تامین گردیدند.

استخراج روغن بنه

پس از خشک کردن بنه در سایه، پریکارپ آن برداشته و مغز در آسیاب پودر شد. هر یک از روغنهای پوست بنه و پودرهای مغز طی مدت ۴۸ ساعت با هگزان نرمال (به نسبت ۱ به ۴ وزنی حجمی) و تحت شرایط دمای محیط، تاریکی و همزدن استخراج شدند. حلال تحت خلأ و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر گردید. نمونه‌های روغن استخراج شده تا زمان اجرای آزمایش‌ها در ظروف تیره، تحت ازت و در فریزر (۱۸- درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردیدند.

تخلیص روغن ماهی کیلکا

بمنظور حذف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در روغن ماهی و تولید تری‌آسیل‌گلیسرول خالص[1] (PKO)، تخلیص روغن ماهی کیلکا با استفاده از کروماتوگرافی ستونی چندلایه‌ای (آلومینا- سیلیکاژل) به همراه اصلاحاتی در روش Belhaj و همکاران (۲۰۱۰) صورت گرفت. آلومینا و سیلیکاژل پیش از استفاده به مدت ۳ ساعت به ترتیب در دماهای ۲۰۰ و ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد فعال شدند. انتهای ستون شیشه‌ای کروماتوگرافی با قطر داخلی ۳ سانتی‌متر و طول ۴۰ سانتی‌متر به ارلن بوخنر متصل به خلا وصل شد. پس از پر کردن یکنواخت ستون به ترتیب با پنجاه گرم آلومینا (نوع ۶۰ فعال خنثی) و ۸۰ گرم سیلیکاژل (۶۰ تا ۲۰۰ مش)، صد گرم روغن خام ماهی کیلکا بدون نیاز به حلال از ستون عبور داده شد. برای اطمینان از حذف ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، روغن حاصل دوباره از ستون پر شده با آلومینا و سیلیکاژل تازه عبور داده شد و مقادیر عدد پراکسید، توکوفرول کل و پلی‌فنل کل نیز بعد از هر مرحله تخلیص اندازه گیری گردید. اطراف ستون و ارلن بوخنر با ورقه آلومینیومی پوشانیده شد تا از اکسایش نوری روغن جلوگیری به عمل آید.

ساختار اسید چربی

بمنظور تعیین ساختار اسیدچربی روغن‌های مغز و پوست بنه، محلولی از ۰/۳ گرم نمونه روغن در ۷ میلی‌لیتر هگزان نرمال با ۲ میلی‌لیتر پتاس متانولی ۷ نرمال به مدت ۱۰ دقیق در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد بشدت هم زده شد تا اسیدهای چرب نمونه روغن به استرهای متیل مربوطه تبدیل شوند. استرهای متیل با دستگاه کروماتوگراف[2] مجهز به ستون موئینه[3] و آشکارساز یونیزه کننده شعله‌ای[4] (FID) تعیین مقدار شدند (درصد). ازت با سرعت جریان ۰/۷۵ میلی‌لیتر بر دقیقه بعنوان گاز حامل مورد استفاده قرار گرفت. دمای آون ۱۹۸ درجه سانتی‌گراد و دمای بخشهای تزریق نمونه و آشکارساز ۲۵۰ درجه سانتی گراد بود (Farhoosh *et al*., 2008a).

تعیین ساختار اسید چربی روغن ماهی کیلکا نیز به روش Sharina و Jumat (۲۰۰۶) صورت گرفت.

استخراج مواد صابونی ناشونده و جداسازی اجزاء آن

مواد صابونی ناشونده روغن‌ها بر اساس روش Lozano و همکاران (۱۹۹۳) استخراج و تعیین مقدار شد. جداسازی اجزاء تشکیل دهنده ترکیبات صابونی‌ناشونده روغنهای مغز و پوست بنه با استفاده از

[1] Purified Common Kilka oil
[2] HP-5890, Hewlett-Packard, CA, USA
[3] Supel Co., Inc., Bellefonte, PA, 60 m×0.22 mm I.D., 0.2 µm film thickness
[4] Flame Ionization Detector

www.SID.ir

Archive of SID

کروماتوگرافی لایه نازک و بر حسب روش Frega و Lercker (۱۹۸۵) انجام شد.

کمیت‌های ساختاری

ترکیبات استرولی بر طبق واکنش رنگی لیبرمن بورچارد تعیین مقدار گردید (Sabir *et al*., 2003). میزان ترکیبات توکوفرولی به روش رنگ سنجی اندازه‌گیری شد (Wong *et al*., 1998). ترکیبات فنلی به روش طیف سنجی مبتنی بر معرف فولین سیوکالچیو تعیین مقدار گردید (Capannesi *et al*., 2000). عدد یدی بر طبق روش AOAC (920.158) اندازه گیری شد.

پایداری اکسایشی

شاخص پایداری اکسایشی[1] (OSI) تری آسیل گلیسرول خالص روغن ماهی کیلکا و روغنهای مغز و پوست به ترتیب در دماهای ۶۰ و ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت جریان ۲۰ لیتر بر ساعت ($OSI_{۶۰}$، $OSI_{۱۲۰}$) با استفاده از دستگاه رنسیمت مدل ۷۴۳ تعیین شد (Farhoosh *et al*., 2008a; Mendez *et al*., 1996). بمنظور بررسی اثر آنتی اکسیدانی ترکیبات مورد نظر، ۳ گرم از نمونه‌های تری آسیل گلیسرول خالص روغن ماهی کیلکا حاوی روغن‌های مغز و پوست بنه (۱ و ۲ درصد)، مواد صابونی ناشونده آنها (۱ و ۱/۵ درصد) و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی آلفاتوکوفرول و BHT (۱۰۰ پی پی ام) در دستگاه رنسیمت (دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت جریان هوا ۲۰ لیتر بر ساعت) حرارت‌دهی شدند

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تمام اندازه گیری‌ها در سه تکرار انجام و نتایج در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه واریانس گردید. میانگین صفات با نرم افزار آماری MSTATC و بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. به منظور ترسیم نمودارهای مربوطه از نرم افزارهای Excel و SlideWrite استفاده شد.

نتایج و بحث

ساختار شیمیایی و اسید چربی تری آسیل گلیسرول روغن ماهی کیلکا (PKO) و روغنهای مغز و پوست بنه در جدول ۱ نشان داده شده است. ساختار اسید چرب PKO به ترتیب شامل اسیدهای چرب تک غیر اشباع[2]، اشباع[3] و چند غیر اشباع[4] بود و هیچ‌گونه ترکیبات توکوفرولی، فنلی و صابونی ناشونده در آن شناسایی نشد. بر اساس استاندارد دپارتمان سلامت انگلستان[5]، کمترین مقدار PUFA/SFA اعلام شده در روغن ماهی ۰/۴۵ می باشد، به این ترتیب PKO با نسبت PUFA/SFA معادل ۰/۷۳ کاملاً با این استاندارد مطابقت دارد (HMSO, UK, 1994). ساختار اسید چربی روغن پوست و مغز بنه نشان داد بخش اعظم اسیدهای چرب روغن مغز بنه را PUFA تشکیل داده‌اند، در حالی که اسید چرب غالب در روغن پوست بنه به ترتیب SFAو MUFA بوده اند. این ساختار اسید چرب برای روغنهای مغز و پوست بنه با نتایج گزارش شده توسط فرهوش و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت داشت (جدول ۱).

مقادیر اسیدهای چرب EPA و DHA در PKO به ترتیب برابر ۶/۳۵ و ۵/۸۹ درصد بود و از این نظر تقریباً به روغن rainbow trout (از غذاهای دریایی ارزشمند و مغذی کشور ترکیه) شباهت داشتند (جدول ۱) (Celik *et al*., 2008). EPA و DHA در کاهش LDL[6] پلاسما و جلوگیری از بیماری‌های قلبی مؤثر می‌باشند. بعلاوه از آنجایی که EPA پیش‌ساز اسیدهای چرب امگا-۳ ایکوزانوئید می‌باشد، بعنوان مهمترین اسید چرب ضروری در گروه امگا-۳ نیز مورد توجه قرار می‌گیرد (Frankel, 1998; Uauy and Valenzuela, 2000). به دلیل بالا بودن مقادیر اسیدهای چرب امگا-۳ نسبت به امگا-۶ در PKO، نسبت امگا-۳ به امگا-۶ در این روغن برابر ۱/۶۰ بود (جدول ۱) و از این نظر با روغن ماهی Indian mackerel (Rastrelliger kanagurta) (۱/۶۷) مشابهت دارد (Osman *et al*., 2001). مقادیر شاخص پلی ان و نسبت‌های امگا ۳ به امگا ۶ و PUFA/SFA نشان دادند PKO قابلیت اکسایش بالایی دارد و از این نظر استفاده از آنتی‌اکسیدان به منظور جلوگیری از اکسایش و بهبود کیفیت آن امری ضروری می‌نماید (جدول ۱) (Pirestani *et al*., 2010; Osman *et al*., 2001). مقایسه شاخص اکسایش پذیری PKO ($OSI_{۶۰}$ برابر ۱/۶۶ ساعت) و روغن ماهیانی نظیر ساردین۷ (۶/۷ ساعت) و هیک لیور۸ (۶/۳ ساعت) نیز سهولت اکسایش روغن ماهی کیلکا را تأیید کرد (جدول ۱) (Frankel, 1998; Mendez *et al*., 1996).

عدد یدی شاخصی از درجه غیر اشباعیت اسیدهای چرب روغن بوده و مقاومت روغن را در برابر اکسایش بیان می‌کند. بررسی عدد یدی PKO نشان داد عدد یدی روغن این ماهی (۱۱۴/۹۹) نسبت به روغن ماهیانی نظیر سالمون[9] (۱۶۵/۸)، ساردین (۱۵۶/۲) و کد[1] (۱۴۲)

1 Oil/Oxidative stability Index
2 Mono unsaturated fatty acid (MUFA)
3 Saturated fatty acid (SFA)
4 Poly-unsaturated fatty acid (PUFA)

5 UK Department of Health
6 Low density lipoprotein
7 Sardine
8 Hake liver
9 Salmon

www.SID.ir

Archive of SID

کمتر می‌باشد (جدول ۱). از طرفی نتایج تحقیقات پیشین نشان داده است تفاوت در عدد یدی روغن‌ها ناشی از تفاوت ساختار اسید چربی آنهاست (Frankel, 1998; Endo *et al*., 2005).

همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، روغن مغز بنه در مقایسه با پوست مقادیر بیشتری از ترکیبات صابونی ناشونده، توکوفرول کل، فنول کل و استرول‌ها را دارا بود. با توجه به تأثیر این ترکیبات در افزایش پایداری اکسایشی روغن‌ها می‌توان بالاتر بودن شاخص اکسایش پذیری ($OSI_{۱۲۰}$) روغن مغز بنه (۹/۴۶ ساعت) را در مقایسه با پوست (۷/۹۱ ساعت) به وجود این ترکیبات نسبت داد (جدول ۱) (Farhoosh and Sharif *et al*., 2009; Tavassoli Kafrani, 2010a,b; Sharayei *et al*., 2011a,b; Farhoosh *et al*., 2012).

جدول ۲ اجزاء تشکیل دهنده ترکیبات صابونی‌ناشونده روغن‌های مغز و پوست بنه را نشان می‌دهد. مواد صابونی‌ناشونده روغنهای مغز و پوست بنه به هیدروکربن‌ها، کاروتن‌ها، توکوفرول‌ها و توکوتری-انول‌ها، الکل‌های خطی و تری ترپنی (۴و۴′- دی متیل استرول)، متیل استرول‌ها (۴- متیل استرول)، استرول‌ها (دسمتیل استرول)، دی الکل‌های تری‌ترپنی و استر متیل دی‌الکل‌های تری‌ترپنی تفکیک شدند (جدول ۲). ترکیبات توکوفرولی و توکوتری‌انولی بیشترین میزان مواد صابونی‌ناشونده روغن مغز و پوست بنه را به ترتیب با ۶۰/۷۲ و ۵۱/۷۹ درصد از کل مواد صابونی ناشونده تشکیل دادند. این ترکیبات با داشتن نقش ویتامینی و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی از اهمیت زیادی در سلامتی انسان برخوردار (Lercker and Rodriguez-Estrada, 2000). هیدروکربن‌های مواد صابونی‌ناشونده روغن مغز و پوست بنه، به ترتیب ۱۳/۷۷ و ۹/۷۹ درصد از کل مواد صابونی‌ناشونده را به خود اختصاص دادند (جدول ۲). هیدروکربن‌ها عمدتاً ترکیبات خطی با تعداد کربن زیاد هستند. اغلب ترکیبات هیدروکربنی را مشتقات اسکوآلن تشکیل می‌دهند (Lercker and Rodriguez-Estrada, 2000). اسکوآلن دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بخصوص در درجه حرارت‌های بالاست (Rao and Achaya, 1968; Boskou, 1998). ترکیبات کاروتنی (بر حسب بتا-کاروتن)، به ترتیب ۱۰/۲۸ و ۶/۹۴ درصد از کل مواد صابونی‌ناشونده روغن مغز و پوست بنه را به خود اختصاص دادند. کاروتنوئیدها بعنوان آنتی‌اکسیدان‌های اولیه از طریق به دام انداختن رادیکال‌های آزاد و یا بعنوان آنتی‌اکسیدان ثانویه از طریق فرونشانی اکسیژن یگانه عمل می‌کنند (Wanasundara and Shahidi, 2005). مقدار ترکیبات استروئیدی شامل الکل‌های خطی و تری‌ترپنی (۴و۴′- دی متیل استرول)، متیل استرولها (۴- متیل استرول)، استرول‌ها (دسمتیل استرول)، دی الکل‌های تری‌ترپنی و استر متیل دی الکل‌های تری‌ترپنی مواد صابونی‌ناشونده روغن مغز و پوست بنه را به ترتیب ۱۵/۲۴ و ۳۱/۴۹ درصد از کل مواد صابونی‌ناشونده بود. ترکیبات استروئیدی از اهمیت بسزایی در شیمی روغنها و چربی‌های خوراکی برخوردار هستند. فیتوسترول‌ها مانع از جذب کلسترول می‌شوند و از این طریق مقدار کلسترول سرم را کاهش می‌دهند (Ling and Jones, 1995). بعلاوه، فیتوسترول‌ها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند (Wang *et al*., 2002).

تغییرات شاخص پایداری اکسایشی PKO ($OSI_{۱۲۰}$) در حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی طی فرآیند حرارتی در شکل ۱ نشان داده شده است. طی اکسایش روغن ماهی، اسیدهای چرب چند غیراشباع آن سریعاً اکسید شده، تولید هیدروپراکسید (محصولات اولیه اکسایش) می‌کنند. هیدروپراکسیدها ترکیبات ناپایداری هستند و بلافاصله تجزیه شده، ترکیبات ثانویه فرار و غیرفرار نظیر الکل‌ها، هیدروکربن‌ها، آلدئیدها، کتون‌ها، اسیدهای آلی و ترکیبات اپوکسی تولید می‌نمایند. رنسیمت از جمله روش‌های تسریع شده بسیار شناخته شده در سنجش اکسایش‌پذیری روغن‌هاست که با استفاده از اعمال دما و تزریق هوا به داخل روغن، تغییر غلظت اسیدهای آلی تولید شده در اکسایش (اساساً اسید فرمیک) را بر اساس هدایت الکتریکی به طور خودکار اندازه گیری و تحت عنوان OSI بیان می‌کند. این روش بمنظور بررسی آثار آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مختلف در روغن و نیز پایداری اکسایشی انواع روغن‌ها مورد استفاده قرار گرفته است (Frankel, 1998). همانطورکه در شکل ۱ نشان داده شده است کلیه ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی، شاخص اکسایش‌پذیری نمونه‌های PKO را افزایش دادند، گرچه در نمونه‌های حاوی روغن پوست و تیمار ۱ درصد روغن مغز، تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد ($p<۰/۰۵$). بعلاوه، تأثیر اجزاء صابونی‌ناشونده روغن‌های مغز (۱ درصد) و پوست بنه (۱/۵ درصد) در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی آلفاتوکوفرول و BHT (۱۰۰ پی‌پی‌ام) اختلاف معنی‌داری را در افزایش $OSI_{۱۲۰}$ نمونه‌های روغن نشان نداد ($p<۰/۰۵$) (شکل ۱). بطورکلی در بین کلیه تیمارهای آنتی‌اکسیدانی، بیشترین تأثیر افزایش $OSI_{۱۲۰}$ در حضور ترکیبات صابونی‌ناشونده مغز (به ویژه در غلظت ۱/۵ درصد) مشاهده شد، بطوری که $OSI_{۱۲۰}$ نمونه شاهد در حضور غلظت ۱/۵ درصد از این ترکیب تا حدود ۸/۱۲ برابر افزایش یافت (شکل ۱). درحالیکه این افزایش مقدار در حضور ۱۰۰ پی‌پی‌ام از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی آلفاتوکوفرول و BHT حدود ۴/۵ برابر بود. هر یک از ترکیبات صابونی‌ناشونده مغز و پوست بنه در مقایسه با روغن آنها در غلظت‌های مشابه (۱ درصد) اثر بیشتری را در بهبود پایداری اکسایشی PKO نشان دادند. بعلاوه، افزایش غلظت این ترکیبات نیز اثر قابل ملاحظه‌تری را در مقایسه با روغنهای مغز و پوست بنه به‌همراه داشت (شکل ۱).

1 Cod

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- ساختار شیمیایی و اسید چربی روغن تخلیص شده ماهی کیلکا (PKO) و روغنهای مغز و پوست بنه[۱]

شاخص	PKO	روغن پوست بنه	روغن مغز بنه
اسید چرب [%]			
C14:0	۶/۲۲ ± ۰/۰۵	–	–
C16:0	۱۷/۳۱ ± ۰/۰۱	۱۹/۷۰ ± ۰/۱۳ a	۹/۶۱ ± ۰/۱۲ b
C16:1 ω-7	۱۳/۲۳ ± ۰/۰۷	۱۶/۱۶ ± ۰/۱۲ a	۱/۳۶ ± ۰/۰۵ b
C17:0	۱/۸۹ ± ۰/۰۶	–	–
C18:0	۳/۲۳ ± ۰/۰۴	۲/۹۰ ± ۰/۰۱ a	۳/۰۴ ± ۰/۰۸ a
C18:1 ω-9	۲۷/۵۱ ± ۰/۰۶	۵۳/۲۷ ± ۰/۱۶ a	۵۱/۲۹ ± ۰/۱۳ b
C18:2 ω-6	۸/۱۶ ± ۰/۱۵	۴/۷۴ ± ۰/۰۶ b	۳۲/۸۳ ± ۰/۱۴ a
C18:3 ω-3	۱/۱۷ ± ۰/۰۹	۰/۸۵ ± ۰/۱۷ a	۰/۶۴ ± ۰/۰۶ a
C20:0	۱/۱۶ ± ۰/۰۶	–	–
C20:4 ω-6	۰/۲۱ ± ۰/۰۳	–	–
C20:5 (EPA) ω-3	۶/۳۵ ± ۰/۰۵	–	–
C22:6 (DHA) ω-3	۵/۸۹ ± ۰/۰۳	–	–
SFA	۲۹/۸۰ ± ۰/۱۲	۲۲/۶۰ ± ۰/۱۴ a	۱۲/۶۴ ± ۰/۰۴ b
MUFA	۴۰/۷۴ ± ۰/۰۱	۶۹/۴۳ ± ۰/۰۴ a	۵۲/۶۴ ± ۰/۰۸ b
ω-3[۲]	۱۳/۴۰ ± ۰/۱۱	۰/۸۵ ± ۰/۱۷ a	۰/۶۴ ± ۰/۰۶ a
ω-3:ω-6	۱/۶۰ ± ۰/۰۵	۰/۱۸ ± ۰/۰۳ a	۰/۰۲ ± ۰/۰۰ b
PUFA	۲۱/۷۷ ± ۰/۰۶	۵/۵۹ ± ۰/۲۳ b	۳۳/۴۷ ± ۰/۰۸ a
PUFA/SFA	۰/۷۳ ± ۰/۰۱	۰/۲۵ ± ۰/۰۱ b	۲/۶۵ ± ۰/۰۲ a
(EPA+DHA)/C16:0	۰/۷۱ ± ۰/۰۰۲	–	–
عدد یدی[۳]	۱۱۴/۹۹ ± ۱/۱۰	۷۱/۵۸ ± ۰/۵۳ b	۱۰۳/۹۲ ± ۰/۱۵ a
مواد صابونی‌ناشونده[۳]	–	۱/۳۹ ± ۰/۰۷ b	۲/۵۳ ± ۰/۳۰ a
ترکیبات توکوفرولی کل[۳]	–	۵۷۷/۸۶ ± ۶/۵۹ b	۶۳۳/۸۶ ± ۵/۳۷ a
ترکیبات فنولی کل[۳]	–	۱۲۶/۱۸ ± ۳/۳۰ a	۱۳۴/۳۱ ± ۴/۵۸ a
ترکیبات استرولی[۳]	–	۳/۳۹ ± ۰/۱۲ b	۴/۴۵ ± ۰/۱۸ a
شاخص اکسایش پذیری (OSI)	۱/۶۶ ± ۰/۲۳[۴]	۷/۹۱ ± ۰/۴۰[۵] b	۹/۴۶ ± ۰/۵۶[۵] a

۱) ارقام دارای حروف مشترک در هر ردیف (میانگین ± انحراف معیار) از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون دانکن، $P < ۰/۰۵$).

۲) امگا ۳: (C18:3 n-3 + C20:5 n-3 + C22:6 n-3)

۳) عدد یدی (گرم ید بر صد گرم روغن)، مواد صابونی ناشونده (درصد از روغن)، ترکیبات توکوفرولی کل (میلی‌گرم آلفاتوکوفرول در کیلوگرم روغن)، ترکیبات فنولی کل (میلی‌گرم اسید گالیک در کیلوگرم روغن)، ترکیبات استرولی (درصد)

۴) شاخص اکسایش پذیری در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد (OSI۶۰)

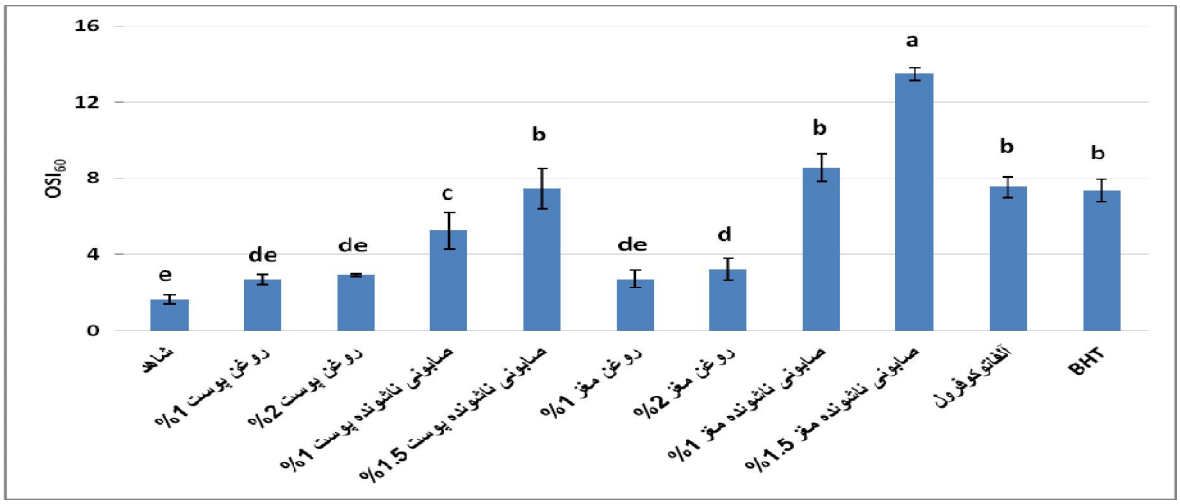
۵) شاخص اکسایش پذیری در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد (OSI۱۲۰)

جدول۲- مقدار اجزاء مواد صابونی‌ناشونده روغن های مغز و پوست بنه (درصد از کل مواد صابونی ناشونده)

فراکسیون	روغن مغز بنه	روغن پوست بنه
هیدروکربن‌ها	۱۳/۷۷ ± ۰/۵۱ a	۹/۷۹ ± ۰/۶۲ b
بتا- کاروتن‌ها	۱۰/۲۸ ± ۰/۸۳ a	۶/۹۴ ±۰ /۲۵ b
توکوفرول‌ها و توکوتری‌انول‌ها	۶۰/۷۲ ± ۱/۲۷۶ a	۵۱/۷۹ ± ۱/۲۴ b
الکل‌های خطی و تری‌ترپنی (٤و٤′- دی متیل استرول‌ها)	۵/۰۰ ± ۰/۵۹ a	۲/۷۳ ±۰ /۰۸ b
متیل استرول‌ها (٤- متیل استرول)	۳/۱۴ ±۰ /۵۶ b	۱۰/۸۹ ±۰ /۲۲ a
استرول‌ها (٤- دسمتیل استرول‌ها)	۲/۷۴ ±۰ /۷۷ b	۶/۴۵ ±۰ /۸۱ a
دی‌الکل‌های تری‌ترپنی	۳/۱۱ ±۰ /۶۱ b	۵/۶۹ ± ۰/۸۰ a
استرهای متیل دی‌الکل‌های تری‌ترپنی	۱/۲۷ ± ۰/۰۸ b	۵/۷۴ ± ۰/۹۳ a

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- شاخص پایداری اکسایشی ($OSI_{۶۰}$) تری‌آسیل گلیسرول تخلیص شده روغن کیلکا در حضور روغن‌های مغز و پوست بنه (۱-۲ درصد وزنی/وزنی) و ترکیبات صابونی ناشونده آنها (۱-۱/۵ درصد وزنی/ وزنی) در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی آلفاتوکوفرول و BHT (۱۰۰ پی‌پی‌ام). ستون‌های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون دانکن $P < ۰/۰۵$). تیرک‌های ترسیم شده بر بالای ستون‌ها نشان‌دهنده انحراف استاندارد داده های اندازه‌گیری شده است.

علت این امر را می‌توان به بالاتر بودن درجه خلوص ترکیبات صابونی‌ناشونده نسبت داد. بررسی‌های پیشین اثر آنتی‌اکسیدانی روغن‌های مغز و پوست بنه را ناشی از وجود مقادیر زیاد ترکیبات توکوفرولی، فنلی، استرولی و صابونی‌ناشونده در این روغن‌ها دانسته‌اند (Farhoosh *et al*., 2008; Sharif *et al*., 2009). از طرفی گزارش شده‌است اثر آنتی‌اکسیدانی مواد صابونی‌ناشونده روغن‌های مغز و پوست بنه ناشی از اجزاء آنتی‌اکسیدانی تشکیل‌دهنده این ترکیبات بوده است و در این میان مؤثرترین اجزاء عبارت از توکوفرول‌ها و توکوتری انول‌ها و ترکیبات ترپنوئیدی نظیر ۴و۴′- دی متیل استرول و دی الکل‌های تری ترپنی می‌باشند (Farhoosh *et al*., 2011b; Farhoosh and Hosseini Yazdi, 2013). با توجه به ساختار شیمیایی روغن‌های مغز و پوست بنه (جدول ۱) و نیز اجزاء صابونی‌ناشونده آنها (جدول ۲) بالاتر بودن پایداری اکسایشی نمونه‌ها در حضور روغن مغز و ترکیبات صابونی‌ناشونده آن را می‌توان به بالا بودن ترکیبات صابونی‌ناشونده، توکوفرولی، فنلی و استرولی در مغز نسبت داد. بنظر می‌رسد ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی با جذب رادیکال‌های آزاد سبب تأخیر در تشکیل هیدروپراکسیدها و جلوگیری از تولید اسیدهای آلی در رنسیمت شده و به این ترتیب در جلوگیری از اکسایش روغن‌ها تأثیرگذار بوده‌اند (Wanasundara and Shahidi, 2005).

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد ساختار اسید چربی روغن کیلکا اگرچه آن را در گروه منابع غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ قرار می‌دهد، لیکن موجبات اکسایش پذیری شدید این روغن را نیز فراهم می‌آورد. داده‌های آزمون رنسیمت در این تحقیق نیز مؤید این امر بود. نظر به اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیبات استخراج شده از مغز و پوست بنه می‌توان آن را به عنوان منبع طبیعی آنتی‌اکسیدانی در بهبود کیفیت و پایداری اکسایشی روغن کیلکا معرفی نمود و به این ترتیب مشکلات و نگرانیهای ناشی از مصرف آنتی‌اکسیدانهای سنتزی را نیز کاهش داده و یا برطرف نمود.

منابع

توکلی، ج.، فرهوش، ر. و حداد خداپرست، م. ح.، ۱۳۸۷، بررسی ساختار شیمیایی روغن دو گونه رایج بنه (*Pistacia atlantica*) در ایران، هجدهمین کنگره ملی صنایع غذایی ایران.

هنری، س.، معموری، م.، اکبری، ج.، عنایتی فرد، ر.، و حیدری، م.، ۱۳۸۳، مقایسه روش های مختلف استخراج روغن از کبد کوسه ماهی و ماهی کیلکا و مقدار ویتامین های A و D در آنها، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، (۲)۶، ۵۹-۵۰.

AOAC: Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists,Washington, DC (USA) 2005.

www.SID.ir

Archive of SID

Belhaj, N., Arab-Tehrany, E., Linder, M., 2010, Oxidative kinetics of salmon oil in bulk and in nanoemulsion stabilized by marine lecithin. Process Biochem., 45, 187–195.

Bosku, D., Morton, 1.D., 1976, Effect of plant sterols on the rate of deterioration of heated oils. *Journal Science Food Agricultural*, 27, 928–932.

Boskou, D., 1998, Frying temperatures and minor constituents of oils and fats. Grasas y Aceites, 49, 326–330.

Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M., Parenti, A., 2000, Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chem*., 71, 553–562.

Celik, M., Gokce, M. A., Basusta, N., Kucukgulmez, A., Tasbozan, O., Tabakoglu, S. S., 2008, Nutritional quality of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) caught from the Ataturk dam lake in Turkey. J. *Muscle Foods*., 19, 50–61.

Cheng, Z., Ren, J., Li, Y., Chang, W., Chen, Z., 2003, Establishment of a quantitative structure activity relationship model for evaluating and predicting the protective potentials of phenolic antioxidants on lipid peroxidation. *Journal pharmaceut Science*, 92, 475–484.

Connor, W. E., 2000, Importance of n-3 fatty acids in health and disease. American j. *Clinical Nutrition*, 71, S171–S175.

Endo, Y., Tagiri-Endo, M., Kimura, K., 2005, Rapid determination of iodine value and saponification value of fish oils by near-infrared spectroscopy. *J. Food Sci*., 70, 127–131.

Farhoosh, R., Niazmand, R., Rezaei, M., Sarabi, M., 2008a, Kinetic parameter determination of vegetable oil oxidation under Rancimat test conditions. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*., 110, 587–592.

Farhoosh, R., Tavakoli. J., Haddad Khodaparast, M. H., 2008, Chemical composition and oxidative stability of kernel oils from two current subspecies of Pistacia atlantica in Iran. *Journal of the American Oil Chemists'* Society, 85, 723-729.

Farhoosh, R., Haddad Khodaparast, M. H., Sharif, A., 2009, Bene hull oil as a highly stable and antioxidative vegetable oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*., 111, 1259–1265.

Farhoosh, R., Tavassoli Kafrani, M. H., 2010a, Polar compounds distribution of sunflower oil as affected by unsaponifiable matters of Bene hull oil (BHO) and tertiary-butylhydroquinone (TBHQ) during deep-frying. *Food Chem*., 122, 381–385.

Farhoosh, R., and Tavassoli-Kafrani, M. H., 2010b, Frying performance of the hull oil unsaponifiable matter of Pistacia atlantica subsp. mutica. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 343–348.

Farhoosh, R., Tavassoli-Kafrani, M. H., Sharif, A., 2011a, Antioxidant activity of sesame, rice bran and bene hull oils and their unsaponifiable matters. *Eur J Lipid Sci Technol*., 113, 506–512.

Farhoosh, R., Tavassoli-Kafrani, M. H., Sharif, A., 2011b, Antioxidant activity of the fractions separated from the unsaponifiable matter of bene hull oil. *Food Chem*., 126, 583–9.

Farhoosh, R., Haddad-Khodaparast, M. H., Sharif, A., Hoseini-Yazdi, S. Z., Zamani-Ghalehshahi, A., 2012, Antioxidative and synergistic effects of bene kernel and hull oils during oxidation of virgin olive oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*., 114, 1284–1291.

Farhoosh, R., Hoseini-Yazdi, S. Z., 2013, Evolution of Oxidative Values during Kinetic Studies on Olive Oil Oxidation in the Rancimat Test. *J. Am. Oil Chem. Soc*., 91, 281–293.

Fazel, M., Sahari, M. A., Barzegar, M., 2008, Determination of main tea seed oil antioxidants and their effects on common Kilka oil. *J. International Food Research*, 15, 209–217.

Fazli, H., Zhang, Ch. I., Hay, D. E., Lee, Ch. W., 2009, Stock assessment and management implications of anchovy kilka (Clupeonella engrauliformis) in Iranian waters of the Caspian Sea. *Fisheries Research*, 100, 103–108.

Frankel, E. N., 1998, Lipid oxidation, The Oily Press, Scotland (Dundee).

HMSO, UK., 1994. Nutritional aspects of cardiovascular disease (report on health and social subjects No. 46). London: HMSO.

Lercker, G., Rodriguez-Estrada, M.T., 2000, Chromatographic analysis of unsaponifiable compounds of olive oils and fat containing foods. *Journal of Chromatogr* A, 881, 105–129.

Lozano, Y. F., Mayer, C. D., Bannon, C., Gaydou, E. M., 1993, Unsaponifiable matter, total sterol and tocopherol contents of avocado oil varieties. *J. Am. Oil Chem. Soc*., 70, 561–565.

Ling, W. H., Jones, P. J. H., 1995, Dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects. Life Science, 57, 195–206.

Matthaus, B., 2002, Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *J. Am. Oil Chem*. Soc., 50, 3444–3452.

Mendez, E., Sanhueza, J., Speisky, H., Valenzuela, A., 1996, Validation of the Rancimat Test for the Assessment of the Relative Stability of Fish Oils. *J. Am. Oil Chem. Soc*., 73, 1033–1037.

Namiki, M., 1990, Antioxidant/antimutgens in food. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 29, 273–300.

Osman, H., Suriah, A.R., Law, E.C., 2001, Fatty acid composition and cholesterol content of selected marine fish in Malaysian water. *Food Chem*., 73, 55–60.

Piggott, G. M., Tucker, B. W., 1990, Effect of Technology on nutrition. New York: Marcel Dekker.

Pirestani, S., Sahari, M. A., Barzegar, M., Nikoopour, H., 2010, Lipid, cholesterol and fatty acid profile of some

www.SID.ir

Archive of SID

commercially important fish species from south Caspian sea. J. *Food Biochem*., 34, 886–895.

Pratt, D.E., 1992, Natural antioxidants from plant material. In: Phenolic Compounds in Food and Their Effect on Health. Huang, M.T., Ho, C.T., and Lee, C.Y., American Oil Chemist's Society, Washington, DC.

Rao, M.K., Achaya, K. T, 1968, Antioxidant activity of squalene. J. Am. Oil Chem. Soc., 45, 296.

Sharayei, P., Farhoosh, R., Poorazrang, H., Haddad Khodaparast, M. H., 2011a, Effect of bene kernel oil on the frying stability of canola oil. J. Am. Oil Chem. Soc., 88, 647–654.

Sharayei, P., Farhoosh, R., Poorazrang, H., Haddad Khodaparast, M. H., 2011b, Improvement of canola oil frying stability by bene kernel oil's unsaponifiable matter. *J. Am. Oil Chem*. Soc., 88, 993–1000.

Sharif, A., Farhoosh, R., Haddad Khodaparast, M. H., Tavassoli Kafrani, M. H., 2009, Antioxidant activity of bene hull oil compared with sesame and rice bran oils during the frying process of sunflower oil. J. Food Lipids, 16, 394–406.

Sharina, s., Jumat, s., 2006, physicochemical characteristics of aji-fish seriola nigrofasciata lipid. *Malaysia J. Analytical Sci.,* 10, 55–58.

Sabir, S. M., Hayat, I., Gardezi, S. D. A., 2003, Estimation of sterols in edible fats and oils. Pak. J. Nutr. 2, 178–181.

Sims, R. J., Fioriti, J. A., Kanuk, M., 1972, Sterol additives as polymerization inhibitors in frying oils. *J. Am. Oil Chem. Soc*., 49, 298–301.

Uauy, R., Valenzuela, A., 2000, Marine oils: The health benefits of n-3 fatty acids. Nutrition, 16, 680–684.

Wanasundara, N. U., Shahidi, F., 1998, Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. *Food Chem.*, 63(3), 335–342.

Wanasundara, P. K., Shahidi, F., 2005. Antioxidants: science, technology, and applications. In Bailey's industrial oil and fat products. Shahidi, F. (Eds). John Wiley & Sons, Inc. New Jersey.

Wang, T., Hicks, K. B., Moreau, R., 2002, Antioxidant activity of phytosterols, oryzanol, and other conjugates. *J. Am. Oil Chem*. Soc., 79, 1201–1206.

Warner, C., Daniels, D., Lin, F., Joe, F., Fazio, T., 1986, Fate of antioxidants and antioxidant-derived products in deep-fat frying and cookie baking, *J. Am. Oil Chem*. Soc., 34, 1–5.

Wong, M. L., Timms, R. E., Goh, E. M., 1988, Colorimetric determination of total tocopherols in palm oil, olein and stearin. *J. Am. Oil Chem*. Soc., 65, 258–261.

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 2, June. July. 2016, p. 239- 249

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۳۹۵ ص.۲۴۹-۲۳۹

Oxidative stability of Purified Common Kilka (*Clupeonella cultiventris caspia*) triacylglycerols as affected by the Bene kernel and hull oils and their Unsaponifiable matters

S. Pazhouhanmehr[1], R. Farhoosh[2]*, R. Esmaeilzadeh Kenari[3], A. Sharif[4]

Received: 2014.03.10
Accepted: 2014.06.14

Introduction: Common Kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) is one of the most abundant and industrial fish in the Caspian Sea located in the north of Iran, and also the best source of long-chain polyunsaturated fatty acids, especially EPA and DHA [Fazli *et al.,* 2009, Connor, 2000]. Due to high level of the ω3 : ω6 ratio and polyene index, the common Kilka oil is expected to be highly susceptible to oxidation [Pirestani *et al*., 2010]. The interesting antioxidative characteristics of the oils and unsaponifiable matter (USM) extracted from the kernel and hull of bene fruit (*Pistacia atlantica subsp*. *Mutica*) attracted our attention to use them as natural alternatives for stabilizing the common Kilka oil and compare with BHT and α-tocopherol [Farhoosh *et al.*, 2012].

Materials and method:

The ripe bene fruits were collected from the fields of Islamabad in the Ilam province. After drying and also grounding to powder, the oils from the kernel (BKO) and the hull (BUO) of bene were extracted with *n*-hexane (1:4 w/v). Moreover, the USM content of the kernel (UKO) and hull (BHO) oils of bene were determined by the method described by Lozano et al, 1993. Chemical compositions of the bene oils' unsaponifiable matter were determined by a thin-layer chromatography [Lercker and Rodriguez-Estrada, 2000]. Crude Kilka oil was purified by a multilayer column chromatography to eliminate the majority of pro-oxidant and antioxidant compounds normally present in it. The purified Kilka oil (PKO) was blended separately with 1 and 2% (w/w) of the antioxidative oils (BKO and BHO), 1 and 1.5% (w/w) of the oils' unsaponifiable matter (UKO and UHO), and 100 mg/kg α-tocopherol and BHT and then exposed to the following stability test. Fatty acid composition of the oil samples was determined by gas-liquid chromatography [Sharina and Jumat, 2006]. The iodine value (IV) was measured according to the AOAC Official Method 920.158 [AOAC, 2005]. A colorimetric method was used to determine total tocopherols (TT) content [Wong *et al*., 1988]. Total phenolics (TP) content was spectrophotometrically determined using Folin–Ciocalteau's reagent [Capannesi *et al*., 2000]. A Metrohm Rancimat model 743 (Herisau, Switzerland) was used for the oil/oxidative stability index (OSI) measurement in airflow rate of 20 L/h. The temperatures in measuring of the OSI were 60 °C for the PKO, OSI60, and 120 °C for the BHO and BKO, OSI120 [Farhoosh *et al.,* 2008a; Mendez *et al*., 1996]. The analysis of variance (ANOVA) was carried out according to MStatC and SlideWrite software. Significant differences between means were determined by Duncan's multiple range tests; p values less than 0.05 were considered statistically significant.

Results and Discussion: The initial quality parameters of the PKO, BHO and BKO are shown in Table 1. The PKO was mainly constituted of MUFA, followed by the SFA and PUFA, and there was no measurable contents of TP, TT and USM fractions in it. The PKO showed a PUFA/SFA ratio higher than the minimum value recommended by the UK Department of Health (0.73 vs. 0.45) [HMSO. UK., 1994]. The ω_3/ω_6 ratio of the PKO was relatively similar to that of Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) (1.60 and 1.67, respectively) (Table 1) [Osman, Suriah, & Law, 2001].

The IV, as an indicator of the oil unsaturation and resistance to oxidation, for the PKO (114.99) was much lower than sardine (156.2) and salmon (165.8) oils [Frankel, 1998; Endo, Tagiri-Endo, & Kimura, 2005].

As can be seen in Table 1, the BKO had higher contents of the USM, tocopherols and phenolic compounds

1, 2 and 4- PhD student, Professor and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Ferdowsi, Mashhad, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Sari, Sari, Iran.
(*Corresponding author: rfarhoosh@um.ac.ir)

www.SID.ir

Archive of SID

than the BHO. The valuable effects of minor components especially polyphenols and tocopherols of the BHO and BKO on the oxidative stability of vegetable oils have been shown in the previous studies [Farhoosh et al., 2012]. The differences in the fatty acid composition and the amounts of minor components led to the greater OSI_{120} of the BKO than the BHO (9.46 *vs.* 7.91 h).

The major constituents of the UHO and UKO were tocopherols and tocotrienols (Table 2). These compounds, which are particularly important functional constituents of the USM of vegetable oils, have nutritional importance for human health and render antioxidative properties [Lercker and Rodriguez-Estrada, 2000].

The OSI_{60} values of the PKO as affected by the antioxidative compounds are presented in Fig 1. As shown in Fig. 1, the OSI_{60} of the PKO (1.66 h) significantly increased in presence of the antioxidants added. Moreover, the highest significant stabilizing effect belonged to the UKO 1.5%, so that it was able to increase significantly the OSI_{60} up to 8.12 fold (OSI_{60}, 13.48 h) ($p < 0.05$). Previous findings have demonstrated antioxidant activities of the constituents of the UKO and UHO in vegetable oils. In addition, it has been reported that the fraction of tocopherols and tocotrienols, and terpenoid compounds, particularly triterpenic dialcohols and 4,4'-dimethylsterols, possess antioxidative effects, in overall, better than those of other fractions examined [Farhoosh et al., 2008; Sharif et al., 2009]. Due to the higher amounts of these active fractions (Table 2), the UKO showed higher antioxidative effect on the PKO stability.

Keywords: Oxidative stability- triacylglycerols - bene oil- kilka- unsaponifiable matter

www.SID.ir