Archive of SID

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۵، آذر- دی ۱۳۹۵، ص. ۵۷۱-۵۶۵

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 5, Dec- Jan 2017, p. 565-571

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک و استر متیل آن در روغن ماهی کیلکا و امولسیون روغن در آب آن

نجمه ملااحمدی بهراسمان[۱]، رضا فرهوش[۲*]، علی شریف[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۷/۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۲/۰۳

چکیده

در پژوهش حاضر، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، ساختار اسید چربی و پایدارسازی روغن ماهی کیلکا بررسی شد. اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک، استر متیل آن و آلفا-توکوفرول به‌عنوان شاهد مثبت، با یکدیگر مقایسه شدند. ۲۰۰ پی‌پی‌ام از آنتی‌اکسیدان‌های مذکور به روغن تخلیص شده اضافه شد و شرایط رژیم سینتیکی اکسایش در سه دمای ۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد مهیا گردید. پس از رصد مداوم اکسایش طی زمان توسط آزمون پراکسید، نمودار تغییرات پراکسید نسبت زمان ترسیم و دوره القاء و شاخص‌های سینتیکی F، ORR و A محاسبه شدند. بمنظور بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدان‌ها در محیط آبی، امولسیون ده درصد روغن در آب تهیه و ۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان به آن اضافه شد و روند اکسایش آن در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد پایش گردید. نتایج آزمایش تعیین ساختار اسید چربی نشان داد ساختار اسیدچربی این روغن، حاوی انواع غیراشباع، اشباع و چندغیراشباع (عمدتا اسیدهای لینولئیک، ایکوزاپنتانوئیک و دوکوزاهگزانوئیک) است. دما تاثیر معنی‌داری بر روند اکسایش روغن داشت. پاراهیدروکسی متیل بنزوات اندکی بیش از اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک پایداری اکسایشی روغن را افزایش داد. آلفا-توکوفرول در مقایسه با سایر آنتی‌اکسیدان‌ها عملکرد بهتری داشت. عملکرد پاراهیدروکسی متیل بنزوات نسبت به شاهد، در امولسیون بهتر بود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اسید بنزوئیک، امولسیون روغن در آب، روغن ماهی

مقدمه

ماهی یکی از منابع روغنی ارزشمند در طبیعت است (Pak, 2005). روغن ماهی منبع غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ بخصوص اسیدهای ایکوزاپنتانوئیک و دوکوزاهگزاانوئیک است. اهمیت و نقش این اسیدهای چرب در سلامت انسان به اثبات رسیده است. کاهش کلسترول خون، پیشگیری از بیماری‌های قلبی- عروقی، رشد سلولهای مغز و تقویت سیستم ایمنی بدن از جمله فواید این اسیدهای چرب هستند (Fomuso *et al*., 2002). اسیدهای چرب امگا-۳ از دسته اسیدهای چرب چندغیراشباع هستند و وجود بیش از دو پیوند دوگانه در ساختمان آنها موجب حساسیت بیش از حد به اکسایش می‌شود. اکسایش همچنین عامل محدودکننده کاربرد روغن ماهی در مواد غذایی فراوری شده و مکمل‌های غذایی بوده است (Frankel *et al*., 2002). اهمیت بسیار بالای غذاهای عملگرا و غنی‌سازی‌شده (Diplock *et al*., 1998) و گرایش افراد به مصرف این گونه محصولات غذایی، اهمیت مطالعه رفتار اکسایشی چربی‌های حاوی اسیدهای چرب امگا-۳ را در سیستم‌های مختلف غذایی توجیه می‌نماید. مطالعه اکسایش چربی در امولسیون‌ها و محیط‌های آبی و درک درست رفتار اکسایشی چربی در این سامانه‌ها به انتخاب و استفاده بهینه آنتی‌اکسیدان در آنها کمک می‌کند. از اینرو امکان استفاده از این روغن بسیار مفید و مغذی را در غنی‌سازی بسیاری از فراورده‌های امولسیونی مانند خامه، مایونز، بستنی، سوپ‌ها، سس‌ها، نوشابه‌ها و غذای کودک افزایش می‌دهد.

افزودن آنتی‌اکسیدان متداول‌ترین شیوه‌ی به تاخیر انداختن فساد اکسایشی و جلوگیری از افت کیفییت روغن‌ها در طول فرایند تولید و نیز زمان انبارداری مواد غذایی است. برای این منظور اغلب از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی استفاده می‌شود. کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی همواره با سوال در خصوص ایمنی و عواقب نامطلوب کاربرد آنها در مواد غذایی همراه بوده‌است. امروزه استفاده از آنتی-اکسیدان‌های طبیعی به‌عنوان روشی موثر و مفید برای کنترل فساد و

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

www.SID.ir

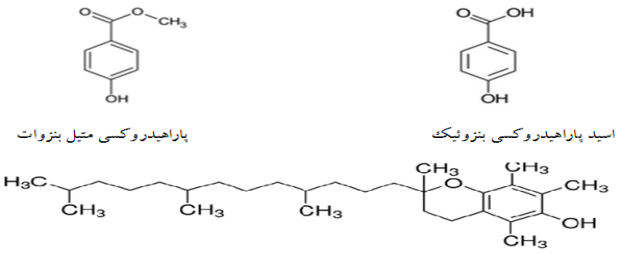
Archive of SID

کاهش کیفیت و عوارض ناشی از آن مطرح است (Maqsood & Benjakul, 2010). در بررسی پایداری اکسایشی روغن ماهی در حضور مقادیر مختلف اسید کارنوسیک مشخص گردیده، اسید کارنوسیک می‌تواند بطور موثری از تولید محصولات اکسایشی در روغن ماهی ممانعت بعمل آورد (Wang *et al*., 2011). Maqsood و Benjakul (۲۰۱۰) قدرت آنتی‌اکسیدانی چهار ترکیب فنولی (کاتچین، اسید کافئیک، اسید فرولیک و اسید تانیک) را بر اکسایش‌پذیری امولسیون روغن ماهی بررسی کردند. موثرترین آنتی-اکسیدان در این خصوص اسید تانیک گزارش شد. Pazos و همکاران (۲۰۰۵) پایداری اکسایشی روغن ماهی و امولسیون آن در آب را در حضور پلی‌فنل‌های انگور مورد بررسی قراردادند. در پژو هشی دیگر، اثر اسانس‌های پونه کوهی، جعفری و پساب روغن‌کشی زیتون در امولسیون ۵ درصد روغن ماهی مورد مطالعه قرار گرفت (Jimenez-Alvarez *et al*., 2008).

مشتقات اسیدهای بنزوئیک و سینامیک، دو گروه عمده از اسیدهای فنولی هستند که از دسته آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی محسوب می‌شوند. این ترکیبات بطورگسترده در اکثر مواد غذایی گیاهی نظیر چای، تمشک، وانیل، انگور، کانولا، برنج و زیتون یافت می‌شوند از اینرو، بخشی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند (Marinova & Yanishlieva, 1994). اسیدهای فنلی ممکن است به شکل آزاد، مزدوج یا استری وجود داشته باشند. این ترکیبات توانایی مهار رادیکالهای آزاد و شکستن زنجیره اکسایش چربی‌ها را دارا هستند.

وجود یک حلقه فنلی و زنجیره‌های جانبی در ساختمان ملکولی اسیدهای فنولی، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد را به آنها بخشیده است (Shahidi, 2005). Merkel و همکاران (۲۰۱۰) فعالیت آنتی-اکسیدانی استرهای پاراهیدروکسی بنزوئیک را در روغن آفتابگردان به روش رنسیمت مورد بررسی قرار دادند. آنها بیشترین فعالیت آنتی-اکسیدانی را برای استر بوتیل و کمترین فعالیت را برای استر متیل گزارش نمودند.

در تحقیق حاضر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک و استر متیل آن در روغن ماهی کیلکا در درجه حرارت‌های ۳۵، ۴۵ و ۵۵ سانتی‌گراد و امولسیون روغن در آب آن، در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد، بررسی و با آلفا- توکوفرول مقایسه شد.



مواد و روش‌ها

مواد

کلیه مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این تحقیق تولیدی شرکت‌های تجاری مرک و سیگما با درجه خلوص تجزیه‌ای بودند. روغن خام ماهی کیلکا نیز از شرکت شیلات شمال ایران (بابلسر) تهیه گردید.

روش‌ها

ساختار اسید چربی روغن ماهی کلیکا توسط کروماتوگرافی گازی مشخص شد. دو خصوصیت قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH و قطبیت نسبی(Log P) به ترتیب با روش‌های سیجر (Siger *et al*., 2008) و گوردون (Gordon *et al*., 2001) ارزیابی گردید. روغن خام ماهی کیلکا (خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن در جدول ۱ آمده است) با روش کروماتوگرافی جذبی تخلیص، مواد آنتی و پروکسیدانی آن حذف و تری‌آسیل‌گلیسرول‌های آن استحصال شد. به ۴ گرم روغن تخلیص شده ۲۰۰ پی‌پی‌ام اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک، پاراهیدروکسی متیل بنزوات و آلفا-توکوفرول اضافه شد و درون پلیت‌هایی با قطر ۸ سانتی‌متر که ضخامت روغن درون آنها کمتر از یک میلی‌متر بود داخل آون در معرض دمای ۳۵، ۴۵، ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. به منظور پایش مداوم وضعیت اکسایش و بررسی تاثیر آنتی‌اکسیدان‌ها، در طول آون‌گذاری در فواصل زمانی معین از روغن داخل پلیت‌ها نمونه برداری شد و عدد پراکسید بر اساس روش شانتا و دکر اندازه‌گیری گردید (Shantha & Decker, 1994). نمودار تغییرات عدد پراکسید نسبت به زمان ترسیم و دوره القاء و شاخص‌های سینتیکی A، F و ORR (جدول۲) محاسبه گردید (Farhoosh & Hoseini-Yazdi, 2013) (شکل ۱). بمنظور بررسی رفتار آنتی‌اکسیدان‌ها در سامانه آبی، امولسیون ۱۰ درصد روغن درآب، حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام از آنتی‌اکسیدان‌های مذکور، با پروتئین ایزوله سویا به‌عنوان امولسیفایر، و دستگاه اولتراسوند تهیه، درون لوله‌هایی با حجم ۱۰ میلی‌لیتر ریخته و داخل آون با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد

www.SID.ir

Archive of SID

نهاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Mini Tab و بر اساس آزمون توکی در سطح پنج درصد ($P < ۰/۰۵$) انجام پذیرفت.

جدول۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی روغن ماهی کیلکا

پارامتر	مقدار
موم (درصد)	۱۱/۰۷ ±۰/۶۸
مواد غیرصابونی شونده (درصد)	۲/۶ ±۰/۲۲
ترکیبات استرولی (درصد)	۷/۵۲ ±۰/۲۸
ترکیبات توکوفرولی (میلی‌گرم توکوفرول بر کیلوگرم روغن)	۱۰۲/۸۶ ±۴/۸۹
ترکیبات فنلی (میلی‌گرم اسید گالیک بر کیلوگرم روغن)	۶/۶۱ ±۱۳۴/۰۲
عدد پراکسید (میلی‌گرم اکسیژن در کیلوگرم روغن)	۱/۷۸ ±۰/۰۴
عدد اسیدی (میلی‌گرم هیدروکسید پتاسیم در گرم روغن)	۱۳/۹۸ ±۰/۴۳
دانسیته (کیلوگرم بر مترمکعب)	۹۵۰/۵۷ ±۰/۵۲

میانگین ± انحراف معیار

جدول۲- شاخصهای سینتیکی اکسایش چربی

شاخص	فرمول	توضیحات
سرعت واکنش W_{inh} (MS^{-1})		شیب منحنی دوره آغازین
شاخص پایدارسازی (F)	$F = IP_{inh}/IP_o$	حاصل نسبت دوره القاء با و بدون آنتی‌اکسیدان
نسبت سرعت اکسایش	$ORR= W_{inh}/W_o$	نسبت سرعت اکسایش در حضور و عدم حضور آنتی‌اکسیدان
فعالیت	$A = F/ORR$	توانایی آنتی‌اکسیدان در مهار رادیکال و کاهش سرعت اکسایش

نتایج و بحث

ساختار اسید چربی

تعیین ساختار اسید چرب روغن کیلکا با کروماتوگرافی گازی نشان داد، اسیدهای چرب این روغن به ترتیب انواع غیراشباع (بخصوص اسید اولئیک)، اشباع (بخصوص اسید پالمتیک) و چند غیر-اشباع (اسیدهای لینولئیک، ایکوزاپنتانوئیک و دوکوزاهگزانوئیک) است.

فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در روغن

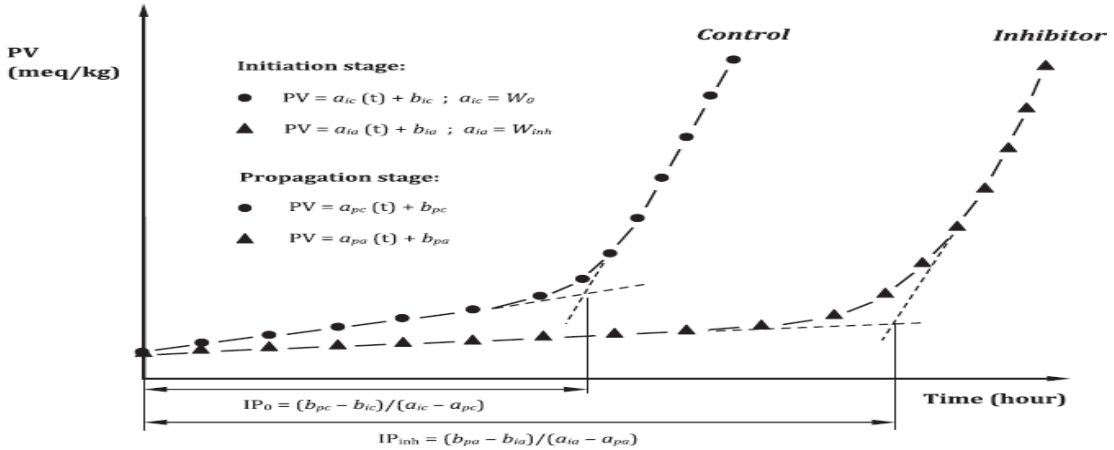
افزایش ده درجه‌ای دما، اثر معنی‌داری بر اکسایش روغن داشت بطوریکه دوره القاء(IP) نمونه شاهد از ۱۰/۱۷ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به ۲/۱ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت (جدول ۳). نمودار تغییرات عدد پراکسید نسبت به زمان نمایی بود (شکل ۱)، بطوریکه پس از دوره القا و مرحله انتشار واکنش، روندی کاهشی در آن مشاهده شد؛ زیرا هیدروپراکسیدها ترکیباتی ناپایدار هستند و به‌سرعت تجزیه می‌شوند. در هر سه دمای مورد آزمون، پاراهیدروکسی متیل بنزوات اندکی بیش از اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک پایداری اکسایشی روغن را افزایش داد. اما بطور کلی تفاوت آماری معنی‌داری بین داده‌های آنها و نمونه شاهد مشاهده نشد. آلفا-توکوفرول نسبت به دو آنتی‌اکسیدان مذکور فعالیت قوی‌تری از خود نشان داد بطوریکه حائز بیشترین مقدار IP و کمیت-های سینتیکی A و F در هر سه دمای ۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد بود. دلایل نتایج فوق را می‌شود در ماهیت بسیار ناپایدار و حساس به اکسایش روغن ماهی و ساختار مولکولی آنتی‌اکسیدان‌های مورد آزمون، جست.

محققان پیشین نیز قدرت آنتی‌اکسیدانی اسیدهای فنلی و مشتقات آنها را با ساختمان مولکولی و بخصوص نوع، تعداد و محل گروه‌های هیدروکسیل و متوکسی روی حلقه آروماتیک مرتبط دانسته‌اند. حضور گروه‌های دهنده الکترون روی حلقه فنلی، انرژی لازم برای جداشدن اتم هیدروژن را کاهش می‌دهند و در نتیجه قرارگیری اتم هیدروژن در اختیار رادیکال پراکسی آسانتر شده، موجب کاهش سرعت واکنش زنجیره‌ای اکسایش چربی‌ها می‌شود (Duh, 1994). یافته‌ها نشان می‌دهد اسیدهای فنلی دارای یک عامل هیدروکسیل نسبت به اسیدهای دارای چند عامل هیدروکسیل قدرت آنتی اکسیدانی کمتری دارند (Shahidi, 2005). داده‌های آزمون DPPH با مشاهدات Bountagkidou و همکاران (۲۰۱۰) همخوانی داشت،آنها اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک را فاقد توان مهار DPPH گزارش کرده‌بودند. افزایش طول زنجیره استری در اسیدهای فنلی، قدرت آنتی‌اکسیدانی آنها را افزایش می‌دهد. در واقع افزایش طول زنجیره هیدروکربنی، جدا شدن اتم هیدروژن از حلقه فنلی را تسهیل

www.SID.ir

Archive of SID

می‌نماید. در سری پارابن‌ها استر متیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری دارد. چنین نتیجه‌ای در پژوهش حاضر نیز بدست آمد. در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی استرهای اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک در روغن آفتابگردان نشان داده‌شد استر متیل کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارد (Merk *et al.*, 2010).



شکل ۱- نمایی از منحنی سینتیک تولید پراکسید طی اکسایش چربی و چگونگی محاسبه شاخصهای سینتیکی

جدول٤- قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH (IC_{50}) و شاخص قطبیت نسبی(Log P)

آنتی‌اکسیدان	IC_{50} (میکرو مول بر لیتر)	Log P
اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک	-	۰/۰۶۵ ±۰/۰۳^{c}
پاراهیدروکسی متیل بنزوات	-	۰/۸۷ ±۰/۰۳^{b}
الفا- توکوفرول	۱۰۵/۲۹±۰/۲۳^{a}	۲/۳ ±۰/۰۴^{a}

جدول۳- شاخص‌های سینتیکی (A: میزان فعالیت، ORR: نسبت سرعت اکسایش، F: شاخص پایدارسازی، W_{inh}: سرعت اکسایش در دوره القاء در حضور آنتی‌اکسیدان) و IP: دوره القاء (ساعت) روغن کیلکا در سه دمای ۳۵، ٤۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد و غلظت۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان.

دما، آنتی‌اکسیدان	IP	شاخص‌های سینتیکی			
		W_{inh}	F	ORR	A
دمای ۳۵ درجه					
شاهد	۱۰/۱۷ ±۰/۳^{d}	۰/۹۱ ±۰/۰۵^{hi}	-	-	-
اسید پارا هیدروکسی بنزوئیک	۱۰/۲۹ ±۰/۳۵^{d}	۱/۳۷ ±۰/۰۱^{gh}	۱/۰۱ ±۰/۰۳^{d}	۱/۵۰ ±۰/۰۱^{abc}	۰/۶۷ ±۰/۰۱^{d}
پاراهیدروکسی متیل بنزوات	۱۱/۰۳ ±۰/۳۱^{d}	۱/۷۳ ±۰/۳۵^{fg}	۱/۰۸ ±۰/۰۲^{d}	۱/۹۱ ±۰/۳۸^{ab}	۰/۵۸ ±۰/۱۲^{d}
آلفا-توکوفرول	۵۶/۴۷ ±۱/۵۹^{a}	۰/۵۳ ±۰/۰۲^{i}	۵/۶۴ ±۰/۱۵^{C}	۰/۵۹ ±۰/۰۲^{b}	۹/۶۷ ±۰/۲۲^{c}
دمای ۴۵ درجه					
شاهد	۳/۸۸ ±۰/۲^{ef}	۲/۷۳ ±۰/۰۵^{e}	-	-	-
اسید پارا هیدروکسی بنزوئیک	۴/۳۱ ±۰/۲۵^{e}	۳/۶۳ ±۰/۱۵^{c}	۱/۱۴ ±۰/۰۶^{d}	۱/۳۲ ±۰/۰۵^{abcd}	۰/۸۴ ±۰/۰۵^{d}
پاراهیدروکسی متیل بنزوات	۴/۳۷ ±۰/۰۶^{e}	۳/۴۳ ±۰/۱۵^{cd}	۱/۲۸ ±۰/۳^{d}	۲/۰۱ ±۰/۳۷^{ab}	۱/۰۱ ±۰/۲۹^{d}
آلفا- توکوفرول	۲۸/۹۶ ±۰/۹۶^{b}	۰/۹ ±۰/۰۶^{hi}	۷/۷۱ ±۰/۲۴^{a}	۰/۳۲ ±۰/۰۲^{b}	۲۳/۹۶ ±۲/۰۷^{a}
دمای ۵۵ درجه					
شاهد	۲/۱ ±۰/۰۲^{g}	۴/۴۶ ±۰/۰۵^{b}	-	-	-
اسید پارا هیدروکسی بنزوئیک	۲/۰۸ ±۰/۰۸^{g}	۸/۲۶ ±۰/۰۸^{a}	۱/۰۰ ±۰/۰۸^{d}	۱/۸۴ ±۰/۰۲^{ab}	۰/۵۳ ±۰/۰۵^{d}
پارا هیدروکسی متیل بنزوات	۲/۲۱ ±۰/۰۸^{g}	۷/۹۵ ±۰/۱۴^{a}	۱/۰۶ ±۰/۰۱^{d}	۱/۷۶ ±۰/۰۵^{ab}	۰/۶ ±۰/۰۱^{d}
آلفا- توکوفرول	۱۳/۵۲ ±۰/۴۹^{c}	۱/۷۹ ±۰/۰۶^{fg}	۶/۴۳ ±۰/۰۱^{b}	۰/۴۰ ±۰/۰۱^{abcd}	۱۶/۰۹ ±۰/۰۱^{b}

www.SID.ir

Archive of SID

فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در امولسیون

جدول ۵ نتایج آزمون پایداری اکسایشی امولسیون را نشان می‌دهد. در میان آنتی‌اکسیدان‌های مذکور آلفا-توکوفرول بیشترین افزایش را در IP ایجاد نمود و پس از آن به ترتیب، پاراهیدروکسی متیل بنزوات و اسید پاراهیدروکسی بنزوئیک پایداری اکسایشی امولسیون را تحت تاثیر قرار دادند (دوره القاء به ترتیب ۶۵/۶۵، ۳۷/۶۳، ۳۳/۷ ساعت). پاراهیدروکسی متیل بنزوات در امولسیون عملکرد بهتری داشت (A=۱/۳) و تفاوت آماری معنی‌داری بین IP امولسیون حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام از این آنتی‌اکسیدان و نمونه شاهد مشاهده شد. این امر احتمالا با قطبیت پائین (Log p = ۰/۸۷) آن مرتبط است (نتایج در جدول ۴ نشان داده شده است). بر طبق پدیده تناقض قطبی، خصوصیت آبگریزی، پاراهیدروکسی متیل بنزوات را به فصل مشترک آب- روغن سوق می‌دهد (Porter *et al*., 1989). این امر ممانعت از واکنش‌های اکسایش را به‌دنبال خواهد داشت. در تحقیق مشابهی Stöckmann و همکاران (۲۰۰۰) دریافتند فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشتقات اسید گالیک در سامانه امولسیونی با افزایش قطبیت کاهش می‌یابد، بطوری که دودسیل گالات (غیرقطبی‌ترین) بیشترین فعالیت را داشت در حالی که اسید گالیک اثر پروکسیدانی از خود نشان‌داد. رفتار آلفا-توکوفرول، علاوه بر قدرت مهارکنندگی نسبتا خوبی (IC_{50}= ۱۰۵/۲۹) که دارد (جدول۴) با استدلال مشابهی قابل توجیه است؛ آلفا توکوفرول که قطبیت پائینی دارد (Log P=۲/۳) با قرارگیری در فصل مشترک آب- روغن و جهت یابی در آن منطقه، از پیشرفت اکسایش ممانعت به عمل می‌آورد.

بطورکلی، مکانیسم اکسایش چربی در سامانه‌های روغنی و امولسیونی متفاوت است (Frankel *et al*., 1994). محققان همواره بر این مسئله اتفاق نظر داشته‌اند که اکسایش در امولسیون‌ها پدیده پیچیده‌ای است و عوامل موثر بر آن پیچیده‌تر و متنوع‌تر هستند؛ قطر قطرات روغن، بارالکتریکی امولسیون، نوع و اندازه امولسیفایر، رفتار امولسیفایر در فصل مشترک آب – روغن از جمله عوامل موثر بر واکنشهای اکسایش چربی در امولسیون‌ها می‌باشند (Frankel *et al*., 1994; Hu *et al*., 2003; McClements & Decker, 2000).

محققان در بررسی پایداری اکسایشی امولسیون روغن ماهی در آب، در حضور سه امولسیفایر پروتئین ایزوله آب پنیر، کازئینات سدیم و پروتئین ایزوله سویا مشاهده کردند امولسیون حاوی پروتئین ایزوله سویا در مقایسه با دو امولسیفایر دیگر بیشترین پایداری اکسایشی را نشان داد. آنها علت این امر را قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد و توانایی غیرفعال‌سازی فلزات بیان کردند (Faraji *et al*, 2004). علاوه‌بر این، Patel و همکان (۲۰۰۱) گزارش‌کردند پروتئین سویا حاوی ایزوفلاوون است که در مهار رادیکال‌های پراکسیل موثر است. پایداری اکسایشی نمونه فاقد آنتی‌اکسیدان (شاهد) در سامانه امولسیونی نسبت به روغنی افزایش چشمگیری نشان داد (دوره القاء به ترتیب ۲/۱ و ۳۱/۳۳ ساعت). این افزایش پایداری احتمالا به پروتئین ایزوله سویا ارتباط دارد. اثر ضداکسایشی پروتئین ایزوله سویا با مهار رادیکال‌های آزاد توسط برخی اسیدهای آمینه و ایجاد لایه‌ی محافظ اطراف ذرات روغن اعمال می‌شود.

جدول۵-شاخص‌های سنتیکی(A: میزان فعالیت، ORR: نسبت سرعت اکسایش، F: کارایی، W_{inh}: سرعت اکسایش در دوره القاء در حضور آنتی-اکسیدان) و IP: دوره القاء(ساعت) امولسیون در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و غلظت۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان.

		شاخص‌های سینتیکی			
آنتی‌اکسیدان	IP	W_{inh}	F	ORR	A
شاهد	۳۱/۳۳ ±۰/۲۴^{c}	۰/۲۳ ±۰/۰۱^{a}	–	–	–
اسید پارا هیدروکسی بنزوئیک	۳۳/۷ ±۱/۵۳^{bc}	۰/۲۳ ±۰/۰۱^{a}	۱/۰۷ ±۰/۰۴^{b}	۰/۹۷ ±۰/۰۳^{a}	۱/۱ ±۰/۰۱^{b}
پاراهیدروکسی متیل بنزوات	۳۷/۶۳ ±۱/۵۳^{b}	۰/۲۲ ±۰/۰۲^{a}	۱/۲ ±۰/۰۴^{b}	۰/۹۳ ±۰/۰۹^{a}	۱/۳ ±۰/۱۹^{b}
آلفا- توکوفرول	۶۵/۶۵ ±۴/۹۱^{a}	۰/۱۳ ±۰/۰۳^{b}	۲/۰۹ ±۰/۱۵^{a}	۰/۶ ±۰/۱۶^{b}	۳/۵۶ ±۰/۵۲^{a}

منابع

Bountagkidou, O. G., Ordoudi, S. A., & Tsimidou, M. Z. (2010). Structure–antioxidant activity relationship study of natural hydroxybenzaldehydes using in vitro assays. *Food Research International*, 43(8), 2014-2019.

Diplock, A. T., Charlux, J.L., Willi, G.C., Kok, F.J., Evans, C.R., Roberfroid, M., Stahl, W., and Ribes, J.V. (1998). Functional food science and defence against reactive oxidative species. *Journal of Nutrition*, 80, 77-112.

Duh, G. C. Y. n. A. P. D. (1994). Scavenging Effect of Methanolic Extracts of Peanut Hulls on Free-Radical and Active-Oxygen Species. *Journal of agricultural and food chemistry*.

Faraji, H., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2004). Role of continuous phase protein on the oxidative stability of fish oil-in-water emulsions. Journal of agricultural and food chemistry, 52(14), 4558-4564.

Farhoosh, R., & Hoseini-Yazdi, S.-Z. (2013). Shelf-life prediction of olive oils using empirical models developed at low and high temperatures. *Food Chemistry*, 141(1), 557-565.

www.SID.ir

Archive of SID

Fomuso, L. B., Corredig, M., & Akoh, C. C. (2002). Effect of emulsifier on oxidation properties of fish oil-based structured lipid emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10), 2957-2961.

Frankel, E. N., Huang, S.-W., Kanner, J., & German, J. B. (1994). Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils vs emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 42(5), 1054-1059.

Frankel, E. N., Satué-Gracia, T., Meyer, A. S., & German, J. B. (2002). Oxidative stability of fish and algae oils containing long-chain polyunsaturated fatty acids in bulk and in oil-in-water emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(7), 2094-2099.

Gordon, M. H., Paiva-Martins, F., & Almeida, M. (2001). Antioxidant activity of hydroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(5), 2480-2485.

Hu, M., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2003). Lipid oxidation in corn oil-in-water emulsions stabilized by casein, whey protein isolate, and soy protein isolate. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(6), 1696-1700.

Jimenz-Alvarez, D., Giuffrida, F., Golay, P.A., Cotting, C., Lardeau, A., Keely, B.J. (2008). Antioxidant activity of oregano, parsley and olive mill wastewaters in bulk oils and oil in water emulsions enriched in fish oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16): 7151–7159.

Maqsood, S., & Benjakul, S. (2010). Comparative studies of four different phenolic compounds on in vitro antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. *Food Chemistry*, 119(1), 123-132.

Marinova, E., & Yanishlieva, N. (1994). Effect of lipid unsaturation on the antioxidative activity of some phenolic acids. J*ournal of the American Oil Chemists' Society*, 71(4), 427-434.

McClements, D., & Decker, E. (2000). Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Impact of Molecular Environment on Chemical Reactions in Heterogeneous Food Systems. Journal of Food Science, 65(8), 1270-1282.

Merkl, R., HRádkoVá, I., FIlIp, V., & ŠMIdRkal, J. (2010). Antimicrobial and antioxidant properties of phenolic acids alkyl esters. *Czech J Food Sci*, 28(4), 275-279.

Pak, C. S. (2005). Stability and quality of fish oil during typical domestic application. Final Project. Wonsan University of fisheries Kangwon Province, *DPR of Korea.*

Patel, R. P., Boersma, B. J., Crawford, J. H., Hogg, N., Kirk, M., Kalyanaraman, B., & Darley-Usmar, V. (2001). Antioxidant mechanisms of isoflavones in lipid systems: paradoxical effects of peroxyl radical scavenging. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(12), 1570-1581.

Pazos, M., Gallardo, J. M., Torres, J.L., and Medina, I. (2005). Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. *Food Chemistry*, 92(3): 547-557.

Porter, W. L., Black, E. D., & Drolet, A. M. (1989). Use of polyamide oxidative fluorescence test on lipid emulsions: contrast in relative effectiveness of antioxidants in bulk versus dispersed systems. *Journal of agricultural and food chemistry*, 37(3): 615-624.

Shahidi, F. (2005). Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 6 Volume Set. Chapter.

Shantha, N. C., & Decker, E. A. (1993). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*, 77(2), 421-424.

Siger, A., nogala- kalucka, M., & lampart-szczapa E. (2008). The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold pressed plant oils. *Journal of Food Lipids*, 15(2), 137-149.

Stöckmann, H., Schwarz, K., & Huynh-Ba, T. (2000). The influence of various emulsifiers on the partitioning and antioxidant activity of hydroxybenzoic acids and their derivatives in oil-in-water emulsions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(5), 535-542.

Wang, H., Liu, F., Yang, L., Zu, Y., Wang, H., Qu, S., & Zhang, Y. (2011). Oxidative stability of fish oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during long-term storage. *Food Chemistry*, 128(1), 93-99.

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 5, Dec- Jan 2017, p. 565-571

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۵، آذر- دی ۱۳۹۵، ص. ۵۷۱-۵۶۵

Antioxidant activity of Para-hydroxybenzoic acid and its methyl ester in triacylglycerols of Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion

N. Molaahmadibahraseman[1], R. Farhoosh[2*], A. Sharif[3]

Received: 2014.09.26
Accepted: 2015.04.23

Introduction: Medical benefits of Omega 3 fatty acids have appealeda lot of research to be done on of fish oil. Among marine fish, kilka has the most industrial application. Kilka oil contains significant amount of omega-3 fatty acids. In this study, physiochemical properties, fatty acid composition and stabilization of kilka oil were investigated. *p*- hydroxy benzoic asid, its methyl ester and alpha-tocopherol as control were compared to each other.

Materials and Methods: Crude Kilka fish oil was supplied by Khazarcompany (Babolsar, Iran). All chemicals and solvents used in this study were of analytical reagent grade and purchased from Merck (Darmstadt, Germany) and Sigma–Aldrich (St. Louis, MO). 200 ppm of the mentioned antioxidants was added to the purified oil and kinetic regime of oxidation at temperatures of 35, 45 and 55°C was prepared. After monitoring theoxidation over time using peroxide test, graph of peroxide changes over time was plotted and induction period and kinetic parameters (F, ORR and A) were calculated. In order to compare the performance of antioxidants in oil and water, 10% emulsion of Kilka oil-in-water was prepared and 200 ppm of antioxidant was added to it and its oxidation process was monitored at 55°C.

Results and Discussion: Results showed that the fatty acid composition of this oil contains a variety of unsaturated fatty acids, saturated and polyunsaturated (mainly linoleic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids). Temperature had significant effect on oxidation. *p*-hydroxymethylbenzoate, a little more than *p*-hydroxybenzoic asid, could increase oxidative stability of oil. Alpha-tocopherol had better performance as compared with other antioxidants. Performance of methyl*p*-hydroxybenzoatewas better in emulsion than oil. In general, the emulsifier and emulsion preparation as compared with antioxidant had a more prominent role in the oxidative stability of Kilka oil.

Keyword: Antioxidant, fish oil, benzoic asid, O/W emulsion

1 , 2 and 3. Former Msc student, Professor and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad.
(*Corresponding Author Email: rfarhoosh@um.ac.ir)

www.SID.ir