

تولید نانوذله کیتوزان و گالیک اسید و اثر آن در پایداری اکسیداسیونی سس مایونز حاوی روغن آفتابگردان

سودا احمدزاده^{۱*}، صدیف آزادمرد دمیرچی^۲، هادی ولی زاده^۳، سید هادی پیغمبردوست^۴

۱. کارشناس ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲. استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳. استاد، گروه داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه تبریز

۴. استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۲۱ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۶/۰۶/۱۸ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۰۸/۰۹)

چکیده

در این پژوهش، گالیک اسید با کیتوزان به وسیله‌ی ماده اتصال کربودی امید با روش تجمع خود به خود با هدف افزایش اثر آنتی‌اکسیدانی گالیک‌اسید، رهایش تدریجی و افزایش مدت اثرگذاری بصورت نانوذله تهیه شد. به این صورت که محلول ۰/۵ درصد کیتوزان با محلول ۱۱ اتیل ۳ دی متیل آمینو پروپیل کربودی امید و پودر گالیک اسید مخلوط می‌شود ۲۴ ساعت هم زده می‌شود سپس تحت عمل سانتریفیوژ قرار گرفته سپس تحت خلاء خشک شده و نهایتاً در محلول ۱ درصد استیک اسید حل می‌شود. بعد از انجام آزمون اندازه‌گیری اندازه ذرات در سه غلظت صفر (نمونه کنترل)، ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm به سس حاوی روغن آفتابگردان اضافه شده و نمونه‌ها به مدت ۶۰ روز در یخچال نگهداری شدند. آزمون‌های عدد اسیدی، عدد پراکسید، آزمون شال و اندازه‌گیری میزان کاروتنوئید و آزمون طیف سنجی مادون قرمز (FTIR) انجام گرفت. با آنالیز طیف مادون قرمز پیوند بین کیتوزان و گالیک اسید ثابت شد. عدد اسیدی، عدد پراکسید و آزمون شال با گذشت زمان در هر سه تیمار افزایش یافت، اما میزان افزایش در نمونه کنترل بیشتر بود. مقدار کاروتنوئید با گذشت زمان کاهش یافت که این کاهش در نمونه کنترل بیشتر بود. در بین سه تیمار بهترین اثر آنتی‌اکسیدانی مربوط به نمونه ۲۰۰ ppm بود نتایج نشان داد که نانوذله کیتوزان گالیک‌اسید می‌تواند خاصیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی از خود نشان دهد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اکسیداسیون، گالیک اسید، کیتوزان، نانوذله.

مقدمه

اکسیداسیون باعث تغییراتی در رنگ و بو و بافت و ویتامین‌ها و موجب تغییر در کیفیت و کاهش ارزش تغذیه‌ای می‌شود. رادیکال‌های آزاد که طی متابولیسم‌های سلولی بوجود می‌آیند (Fransen *et al.*, 2005) موجب بسیاری از بیماری‌ها مثل بیماری‌های وابسته به قلب و عروق، بیماری‌های عصبی، سرطان، دیابت می‌شوند (Inoue *et al.*, 1995; Aoki *et al.*, 2001; Tomaino *et al.*, 2005).

یکی از راهکارهای مهم مقابله با اکسیداسیون روغن‌ها استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها است. در مورد امنیت و تاییدیه و مقادیر مصرفی و کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی تردید وجود دارد (Shahidi., 2005; Akoh & Min., 2008). در سال‌های اخیر تمایل زیادی برای جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی وجود دارد. اسیدهای فنلی همانند

مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید و مشتقات هیدروکسی بنزوئیک اسید آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی هیدروفیلی هستند. گالیک اسید که یکی از مشتقات هیدروکسی بنزوئیک اسید می‌باشد ترکیبات زیست فعال و ضد سرطان هستند که در توت، مرکبات، غلات، نوشیدنی‌هایی همچون چای سبز وجود دارند. خاصیت آنتی‌اکسیدانی این اسیدهای فنلی بر اساس خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و شکستن زنجیر و شلاته کردن فلزات بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات مربوط به گروه‌های هیدروکسیل موجود در ساختار این اسیدهای فنلی است. توانایی آنتی‌اکسیدانی آنها بستگی به پارامترهایی همچون غلظت، ساختار سیستم مورد آزمایش و سوبسترای که باید محافظت شود دارد. طبیعت هیدروفیل این ترکیبات اثر آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات را در محیط لیپوفیل کاهش می‌دهد. اتصال این اسیدهای فنلی با ترکیباتی مثل کیتوزان و الیگوساکاریدها توانایی رهاسازی آهسته و قدرت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد (Eom *et al.*, 2012). کیتوزان یک پلیمر زیست

* نویسنده مسئول: s.ahmadzadeh69@gmail.com

کریستالیزاسیون، پلیمریزاسیون، پیوند تشعشعی، پیوند گروه‌های عاملی در تشکیل نانوذله استفاده شده است (Yallapu *et al.*, 2007).

با توجه به نیاز به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در سیستم‌های روغنی برای حفاظت و جلوگیری از اکسیداسیون و با توجه به ویژگی‌های یاد شده در مورد نانوذله و همچنین ویژگی‌های گالیک‌اسید و کیتوزان در این پژوهش اثرات نانوذله کیتوزان و گالیک‌اسید بعنوان سیستم آنتی‌اکسیدانی طبیعی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد

شامل روغن آفتابگردان درنیکا (ایرانی)، سرکه مه‌رام (ایرانی)، اتیل ۳ دی متیل آمینو پروپیل کربو دی ایمید مرک (آلمان) با وزن مولکولی ۱۹۱/۷۰ گرم بر مول، کیتوزان با وزن مولکولی پایین سیگما (آلمان)، گالیک‌اسید سیگما (آلمان (ایرانی)، صمغ گزانتان (ایرانی).

روش‌ها

تولید سس مایونز

برای تولید سس از روغن آفتابگردان بدون آنتی‌اکسیدان و سرکه و صمغ گزانتان استفاده شد. ۴۰۰ میلی لیتر روغن آفتابگردان با ۴۰۰ میلی لیتر سرکه مخلوط شد به این گونه که ابتدا نانوذله‌های کیتوزان و گالیک‌اسید در سرکه حل شد سپس سرکه و روغن در مخلوط کن مخلوط شد و ۰/۶ درصد صمغ گزانتان به آن اضافه گردید (به ازای هر ۱۰۰ میلی لیتر ۰/۱۵ گرم صمغ گزانتان) تا نمونه‌ای یکنواخت و هموزن و پایدار بدست آید.

تولید نانوذله کیتوزان و گالیک‌اسید

۰/۵ گرم کیتوزان با وزن مولکولی پایین در محلول آبی استیک اسید ۱ درصد تا غلظت نهایی ۰/۵ درصد حل شد. محلول کیتوزان با افزودن متانول رقیق گردید سپس در دمای اتاق هم‌زده شد این محلول که pH آن ۳/۵-۴ است سپس تحت سونیکاسیون (Elma) ساخت کشور آلمان قرار گرفت ۷۰۰ میکرو لیتر محلول ۱ اتیل ۳ دی متیل آمینو پروپیل کربودی ایمید به پودر گالیک‌اسید افزوده شده، سپس این مخلوط به محلول کیتوزان افزوده و عملیات هم‌زدن بمدت ۲۴ ساعت ادامه یافت. سپس به منظور رسوب کردن کمپلکس کیتوزان و گالیک‌اسید pH با افزودن سود ۰/۱ نرمال به ۸/۵-۹ افزایش یافت. نانوذله‌ها با پیوندهای کوالانسی بین گروه‌های آمینی کیتوزان و گروه کربوکسیل زنجیرهای گالیک‌اسید تشکیل شد. نهایتاً عمل سانتریفیوژ (ollmann and co) ساخت کشور آلمان

تخریب پذیراست که از داستیل‌اسیون بخشی از کیتین بدست می‌آید و می‌تواند بعنوان ماتریکس برای انکپسولاسیون اسیدهای فنلی استفاده شود (Shahidi *et al.*, 1999). دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بدلیل وجود گروه‌های قطبی همچون گروه آمین و هیدروکسیل است که می‌توانند بعنوان دهنده هیدروژن عمل کنند کیتوزان دارای توانایی شلاته کردن فلزات بخاطر داشتن اتم نیتروژن است (Burke Yil maz & Hasir Ci., 2000).

کمپلکس کیتوزان و گالیک‌اسید بخوبی در آب حل می‌شود. دارای ساختار خطی متشکل از انستیل‌دی گلوکز آمین با گروه‌های قطبی همچون گروه آمین و هیدروکسیل که می‌توانند بعنوان دهنده هیدروژن عمل کنند (Shahidi *et al.*, 1999). کمپلکس کیتوزان گالیک‌اسید دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی تقویت شده در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و در مواقعی که یون‌های فلزی موجودند می‌باشد (Pasanphan *et al.*, 2007). اتصال گالیک‌اسید به کیتوزان باعث می‌شود کیتوزان دارای ویژگی‌های منحصر به فردی باشد (۱) فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس غیرفعالسازی اتم آهن (۲) بعنوان شکننده زنجیر اکسیدانی با دادن اتم هیدروژن از گروه تری هیدروکسیل گالیک‌اسید (۳) بهبود حلالیت آبی کیتوزان بخاطر وجود گروه‌های هیدروفیل گالیک‌اسید. (Pasanphan *et al.*, 2007). گالیک‌اسید و کافئیک اسید خاصیت آنتی‌اکسیدانی تری متیل کیتوزان را بطور موثری افزایش می‌دهند ترکیب کیتوزان با هیدروکسی سینامیک و کافئیک و فرولیک منجر به تولید کمپلکس‌هایی می‌شود که خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات کمپلکس در مقایسه با کیتوزان معمولی بیشتر است (Ren *et al.*, 2013).

گالیک‌اسید با روش‌های مختلفی به داخل کیتوزان پیوند می‌یابد: (۱) اتیل ۳ دی متیل آمینو پروپیل کربو دی ایمید (۲) N-هیدروکسی سوکسینیمید (۳) پلیمریزاسیون کاتالیز شده بالا کاز (۳) سیستم آسکوربیک اسید هیدروپروکسید. کربو دی ایمید ماده‌ای اتصال دهنده است که خاصیت سمی ندارد در صنعت داروسازی کاربرد دارد و باعث اتصال گروه آمین کیتوزان به گروه کربوکسیل گالیک‌اسید می‌شود.

در بین حامل‌ها نانوذله بخاطر ظرفیت بارگیری و حلالیت و پایداری بالا و ویژگی‌های رهش بهتر نسبت به سایر حامل‌ها برتر است. علاوه بر آن براساس نانو بودن سایز ذرات به اثرات فاکتورهای محیطی مثل نور، قدرت یونی، pH، دما بر روی مواد زیست فعال مثل عصاره روغنی گیاهی واکنش نشان می‌دهد (Rasoli *et al.*, 2008). شبکه اتصالی زنجیره پلیمری نانوذله پدیده تجمع خود به خودی تشکیل می‌شود. روش‌های مختلف اتصالی مثل: پیوند یونی، پدیده تجمع خود به خود،

آزمایش شال

نمونه‌های سس در آون در درمای ۶۵ درجه بمدت ۵ روز قرار داده شد و هر روز نمونه سس برداشته و روغن آن استخراج شده و آزمایش‌های عدد پراکسید و عدد اسیدی انجام گرفت (Azadmard., 2009).

اندازه گیری کاروتنوئید

روغن از نمونه سس استخراج شده و حلال سیکلوهگزان به روغن افزوده شد و جذب آن در طول موج ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Azadmard., 2009).

آنالیز آماری

آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی براساس طرح کاملا تصادفی سه تیماردسه تکرار انجام می‌گیرد برای تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسه‌ی میانگین‌های دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شده و نرم افزار spss در تحلیل داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

اثر افزودن نانوذله کیتوزان و گالیک اسید بر ویژگی‌های شیمیایی روغن آفتابگردان

اندازه گیری سایز ذرات

با استفاده از دستگاه DLS، اندازه ذرات اندازه‌گیری شد. اندازه بیش از ۵۰ درصد ذرات زیر ۳۴۴ نانومتر بود (شکل ۱) بعد از عمل فیلتراسیون محلول نانوذله کیتوزان و گالیک اسید با استفاده از فیلتر ۰/۲ میکرومتر اندازه ذرات به زیر ۲۰۰ نانومتر کاهش یافت (شکل ۲). در مطالعه دیگر که از دکستین برای ساخت نانوذله استفاده شد بود اندازه ذرات با دستگاه DLS اندازه‌گیری شده و رنج اندازه ذرات ۲۵ الی ۱۵۰ نانومتر بود (Carvalho *et al.*, 2010). همچنین در مطالعه ای که نانوذله کیتوزان و سینامیک اسید بعنوان حامل عصاره ای نعنا تولید شده بود رنج اندازه ذرات ۴۰ نانومتر الی ۳۵۰ نانومتر بود (Beyki *et al.*, 2014).

آنالیز طیف مادون قرمز

آنالیز طیف مادون قرمز برای بررسی انجام پیوند بین گالیک-اسید و کیتوزان انجام گرفت بررسی‌ها نشان داد که وجود پیک-های مربوط به طول موج ۱۷۳۰ بیانگر وجود پیوند استری حاصل از پیوند عامل کربوکسیل و عامل هیدروکسیل است. وجود پیک در طول موج ۱۶۴۰ نیز بیانگر وجود پیوند آمیدی حاصل از پیوند عامل کربوکسیل و عامل NH_2 است که این دو پیوند نشانگر اتصال موفقیت‌آمیز کیتوزان با گالیک اسید می‌باشد.

برای جداسازی نانوذله‌های رسوب شده انجام گرفت. برای حذف ناخالصی‌ها نانوذله‌ها ۳ مرتبه با آب و اتانول شست و شو داده شد. رسوب بدست آمده در دمای اتاق تحت خلا توسط خشک کن انجمادی (Christ) ساخت کشور آلمان بمدت ۲۴ ساعت خشک شد و سپس در استیک اسید ۱ درصد دوباره بحالت محلول درآمد سپس فیلتراسیون با فیلتر ۰/۲ نانومتر انجام گرفت تا نانوذله‌های کیتوزان و گالیک اسید یکنواخت شوند (Beyki *et al.*, 2014).

افزودن نانوذله به سس

نانوذله حاصله در غلظت‌های صفر (نمونه کنترل)، ۱۰۰ ppm، ۲۰۰ ppm در هنگام تولید سس به سرکه اضافه شده و در مخلوط‌کن همزده شد. و در روز یک، روز ۲۰، روز ۴۰، روز ۶۰ آزمون‌های کیفی اندازه‌گیری شد. طی ۶۰ روز نگهداری هر ۲۰ روز یکبار از تمامی تیمارها نمونه برداری صورت گرفته و نمونه‌ها از لحاظ ویژگی‌های اکسیداسیونی مورد بررسی قرار گرفتند.

استخراج روغن

مخلوطی از حلال‌های کلروفرم و متانول به نسبت ۱ به ۱ به نمونه سس اضافه شد مخلوط حاصله بمدت ۱ دقیقه در سرعت ۵۰۰ rpm روی شیکر قرار گرفت سپس بمدت ۱ دقیقه در سرعت ۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد حلال در بالا و روغن در قسمت پایین قرار گرفت سپس حلال از قسمت فوقانی حذف شده و فاز روغنی پایین جمع‌آوری شد مقدار حلال ناچیز باقی مانده در روغن توسط اوپراتور تحت خلاء بخار شد تا روغن خالص بدست آید (Asnaashari *et al.*, 2014).

آزمون‌ها

اندازه گیری اندازه ذرات

اندازه نانوذله‌ها با استفاده از دستگاه DLS اندازه‌گیری شد. (Malvern instrument Ltd., UK)

آنالیز طیف مادون قرمز

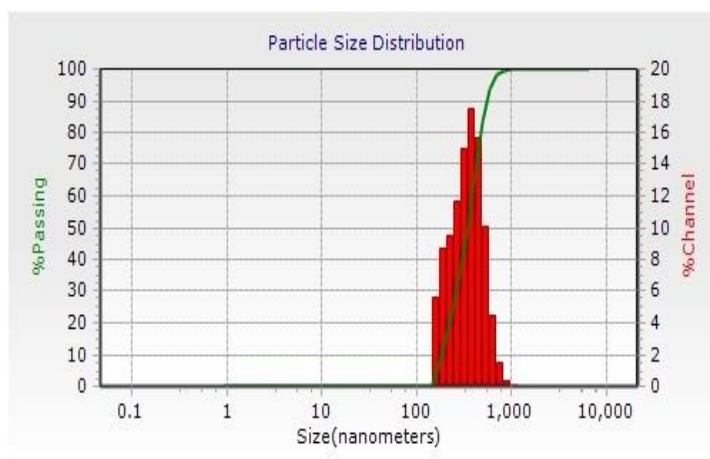
طیف نانوذله‌های کیتوزان و گالیک اسید توسط دستگاه طیف سنج مادون قرمز (FTIR) ثبت شد فرکانسی که دستگاه کار می‌کند در رنج ۴۰۰ تا $cm^{-1} 4000$ می‌باشد نمونه و پتاسیم برومید به نسبت ۱ به ۱۰ با هم مخلوط شده بصورت قرص‌هایی تهیه می‌شوند. (Tensor 27, Bruker)

اندازه گیری عدد اسیدی

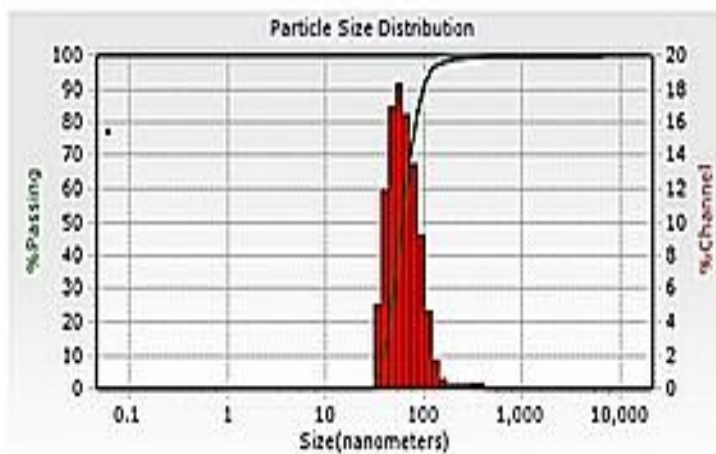
از طریق روش تیتراسیون مطابق روش AOAC (2005) انجام شد.

اندازه گیری عدد پروکسید

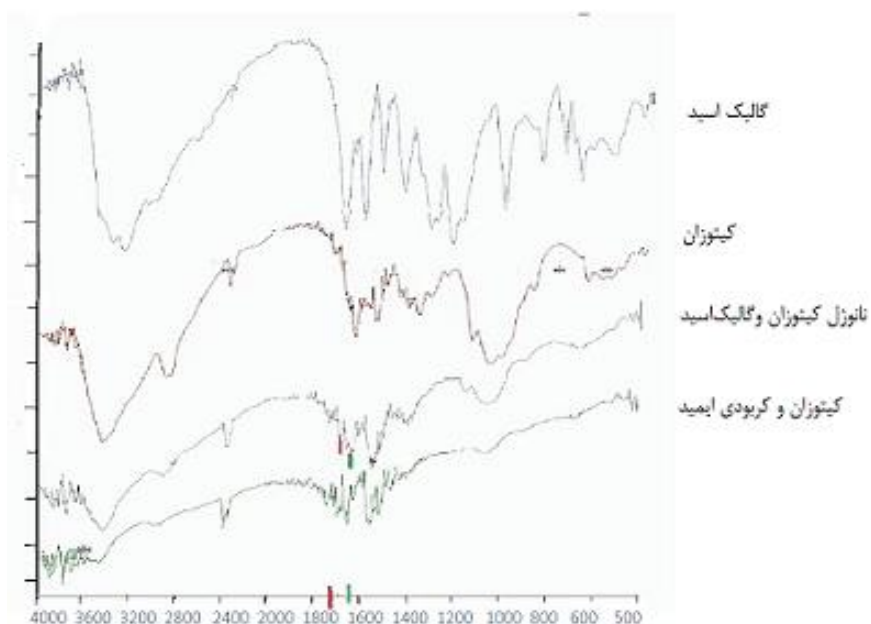
از طریق روش تیتراسیون و یدومتری مطابق روش AOAC شماره ۹۶۵،۳۳ انجام شد.



شکل شماره ۱. اندازه ذرات قبل از فیلتر کردن با فیلتر ۰/۲



شکل ۲- اندازه ذرات بعد از فیلتر کردن با فیلتر ۰/۲



شکل ۳. مربوط به طیف مادون قرمز گالیک اسید، کیتوزان، نانوزل کیتوزان و گالیک اسید، کیتوزان و اتیل ۳ دی متیل کربودی ایمید

عدد اسیدی

دار است ($p < 0.05$) در نمونه ۱۰۰ ppm اختلاف بین روز اول با ۲۰ ام و بین روزهای ۴۰ ام با ۶۰ ام معنی دار نیست ($p < 0.05$) اما اختلاف بین روزهای ۱ و ۲۰ با روزهای ۴۰ و ۶۰ معنی دار است در نمونه ۲۰۰ ppm اختلاف معنی دار بین روزهای ۱ و ۲۰ و ۴۰ وجود ندارد ($p < 0.05$). نتایج بدست آمده بخاطر خاصیت آنتی اکسیدانی گالیک اسید است که اتصال این اسیدهای فنلی با ترکیباتی مثل: کیتوزان و الیگوساکاریدها توانایی رهش آهسته و قدرت آنتی اکسیدانی را افزایش می دهد (جدول ۱).

عدد اسیدی در نمونه های سس روغن آفتابگردان محتوی نانوذله نسبت به سس روغن آفتابگردان کنترل (بدون نانوذله) کمتر است در روز اول نگهداری اختلاف معنی دار در عدد اسیدی بین نمونه ها مشاهده نمی شود اما از روز ۴۰ ام اختلاف بین نمونه ها معنی دار است ($p < 0.05$) در تمامی نمونه ها با گذشت زمان عدد اسیدی افزایش می یابد اما افزایش عدد اسیدی در نمونه کنترل بیشتر از نمونه های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm است در نمونه ۲۰۰ روند افزایش عدد اسیدی کمتر از نمونه ۱۰۰ ppm است. در نمونه کنترل بین روزهای نگهداری اول و ۲۰ ام اختلاف معنی

جدول ۱. تغییرات عدد اسیدی در طی ۶۰ روز زمان نگه داری در نمونه های حاوی نانوذله و بدون نانوذله

نمونه	روزهای نگهداری			
	۱	۲۰	۴۰	۶۰
T ₁	۰/۱۵Ca±۰/۰۴۰۴	۰/۱۸Ba±۰/۰۱۰۴	۰/۴Aa±۰/۱	۰/۴Aa±۰/۰۷۶
T ₂	۰/۱۵Ba±۰/۰۴۰۴	۰/۱۶Ba±۰/۰۱۲۵	۰/۲۵Ab±۰/۰۵۰۳	۰/۳Ab±۰/۰۰۲
T ₃	۰/۱۳Ba±۰/۰۰۲۸	۰/۱۷Ba±۰/۰۰۷۶	۰/۱۸Bc±۰/۰۰۲	۰/۲۵Ac±۰/۰۱۰۴

در هر ردیف میانگین هایی که هیچ حرف مشترکی ندارند در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی دار دارند. ($p < 0.05$) حروف انگلیسی کوچک متفاوت بیانگر اختلاف بین تیمارها (ردیف ها) و حروف انگلیسی بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف بین روزهای نگهداری (ستون ها) است. T₁: نمونه کنترل، T₂: نمونه حاوی ۱۰۰ ppm، T₃: نمونه حاوی ۲۰۰ ppm

عدد پروکسید

جدول ۲ اثر افزودن نانوکمپلکس کیتوزان و گالیک اسید بر عدد پروکسید سس حاوی روغن آفتابگردان و روند تغییرات عدد پروکسید طی ۶۰ روز را نشان می دهد. در روز اول اختلاف معنی دار در عدد پروکسید بین تیمارها دیده نمی شود ($p < 0.05$) اما از روز ۴۰ ام به بعد عدد پروکسید در تمام نمونه ها افزایش می یابد در روز ۴۰ ام و ۶۰ ام اختلاف بین تیمارها معنی دار است ($p < 0.05$). تاثیر گالیک اسید در برابر اکسیداسیون در روز ۴۰ ام و ۶۰ ام مشخص می شود زیرا که عدد پروکسید در نمونه های حاوی ۱۰۰ ppm و ۲۰۰ نانوذله کیتوزان گالیک اسید کمتر از نمونه کنترل است میزان افزایش عدد پروکسید در نمونه کنترل بیشتر از نمونه های حاوی ۱۰۰ ppm و ۲۰۰ ppm نانوذله کیتوزان گالیک اسید است بیشترین مقدار مربوط به نمونه کنترل در روز ۶۰ ام می باشد. در تمامی نمونه ها اختلاف بین روزهای ۱ و ۲۰ معنی دار است ($p < 0.05$) اما اختلاف بین روزهای ۴۰ و ۶۰ معنی دار نیست ($p < 0.05$). وجود نانوذله وجود گالیک اسید بعنوان یک ترکیب فنلی زیست فعال و از طرفی اتصال آن با کیتوزان که موجب افزایش اثر آنتی اکسیدانی و افزایش اثر بخشی این ترکیب فنلی می شود باعث شده در ترکیبات حاوی نانوذله سرعت اکسیداسیون کمتر باشد.

در مطالعه ای اثر آنتی اکسیدانی عصاره سیب زمینی را در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن آفتابگردان بررسی شد. مقدار عدد اسیدی برای هر دو نوع نمونه با گذشت زمان حرارت دهی افزایش پیدا می کند. بالاترین و کمترین مقدار عدد اسیدی در پایان دوره مربوط به نمونه حاوی TBHQ و نمونه حاوی ۸۰۰ ppm عصاره می باشد (Soltan et al., 2013).

در مطالعه ای تغییرات عدد اسیدی روغن آفتابگردان حاوی عصاره خرمالو را بررسی شد. که در طی نگهداری در دمای ۳۰ °C نمونه های روغن حاوی ۴۰۰ ppm عصاره خرمالو و آنتی اکسیدان سنتزی دارای کمترین مقدار عدد اسیدی و نمونه های حاوی ۸۰۰ ppm عصاره خرمالو دارای بیشترین مقدار عدد اسیدی بودند در نمونه های روغن حاوی ۴۰۰ ppm عصاره خرمالو و حاوی TBHQ با افزایش زمان نگهداری عدد اسیدی در تمامی زمان های نگهداری روند افزایشی داشت بطوری که بالاترین مقدار برای عدد اسیدی مربوط به نمونه های روز ۶۰ ام و پایین ترین مقدار عدد اسیدی مربوط به نمونه های روز صفر است در حالی که در نمونه های حاوی ۸۰۰ ppm عصاره خرمالو تا روز ۴۵ ام عدد اسیدی روند صعودی دارد و از روز ۴۵ ام به بعد روند نزولی پیدا می کند (Ali negad et al., 2013).

جدول ۲- تغییرات عدد پروکسید در طی ۶۰ روز زمان نگهداری در نمونه‌های حاوی نانوزل و بدون نانوزل

روزهای نگهداری				
نمونه	۱	۲۰	۴۰	۶۰
T ₁	۰/۵ ^{Ca±} ۰/۰۷۶	۲/۵ ^{Ba±} ۰/۶۵۵	۴ ^{Aa±} ۰/۷۶۳	۵ ^{Aa±} ۰/۷۶۳
T ₂	۰/۵ ^{Ca±} ۰/۰۲۸۸	۲ ^{Bb±} ۰/۷۵۰۵	۳ ^{Ab±} ۰/۲۸۸	۳ ^{Ab±} ۰/۵
T ₃	۰/۵ ^{Ca±} ۰/۰۷۶	۲ ^{Bb±} ۰/۶۰۲	۳ ^{Ab±} ۰/۹۲۹	۳ ^{Ab±} ۰/۲۸۸

در هر ردیف میانگین‌هایی که هیچ حرف مشترکی ندارند در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی دار دارند. (۰/۰۵ < p) حروف انگلیسی کوچک بیانگر اختلاف بین تیمارها و حروف انگلیسی بزرگ متفاوت اختلاف بیانگر بین روزهای نگهداری است. T₁: نمونه کنترل، T₂: نمونه حاوی ۱۰۰ ppm، T₃: نمونه حاوی ۲۰۰ ppm

آلماجانو ۲۰۰۷ زمانی که کاتچین را با آلومین مخلوط کرد که در مورد امولسیون روغن آفتابگردان استفاده کردند بدست آمد (von Staszewski et al, 2014).

آزمایش شال

آزمایش شال برای مطالعه پایداری اکسیداسیونی روغنی و محصولات روغنی انجام می‌گیرد که به دلیل دمای بالا می‌تواند نحوه اکسیداسیون را سریعتر نشان دهد. در این آزمایش اثر افزودن نانوکمپلکس کیتوزان و گالیک اسید بر سس مایونز در طول ۵ روز در دمای ۶۵ درجه ارزیابی شد. در روز اول و دوم تفاوت محسوسی بین تیمارها در عدد پروکسید وجود ندارد از روز سوم تا پنجم تفاوت در عدد پروکسید بین نمونه‌ها قابل توجه است بیشترین عدد پروکسید مربوط به نمونه کنترلی در روز پنجم است در روز چهارم و پنجم عدد پروکسید نمونه ۱۰۰ ppm کمتر از نمونه ۲۰۰ ppm است که احتمالاً بخاطر خاصیت پراکسیدانی گالیک اسید است. در هر سه تیمار اختلاف بین روزهای نگهداری معنی دار است (جدول ۳).

جدول ۳. داده‌های مربوط به آزمون شال در طی ۵ روز نگهداری در بین تیمارهای مختلف

روزهای نگهداری				
نمونه	۱	۲	۳	۴
T ₁	۰/۵ ^{aE±} ۰/۳۶	۸/۵ ^{aD±} ۰/۵۷۷	۲۰ ^{aC±} ۱/۰۴	۳۸ ^{aB±} ۱/۰۴
T ₂	۰/۵ ^{aE±} ۰	۸/۵ ^{aD±} ۰/۲۹۱	۱۶ ^{bC±} ۰/۷۶۳	۱۶ ^{cB±} ۰/۵
T ₃	۰/۵ ^{aE±} ۰	۸/۲۵ ^{aD±} ۰/۲۸۸	۱۶ ^{bC±} ۰/۵	۱۹ ^{bB±} ۱/۰۴

در هر ردیف میانگین‌هایی که هیچ حرف مشترکی ندارند در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی دار دارند. حروف انگلیسی کوچک بیانگر اختلاف بین تیمارها و حروف انگلیسی بزرگ بیانگر اختلاف بین روزهای نگهداری است. T₁: نمونه کنترل، T₂: نمونه ۱۰۰ ppm، T₃: نمونه ۲۰۰ ppm

بالای غلظت بحرانی اثر پراکسیدانی دارد در این مطالعه آنتی-اکسیدان موثر در جلوگیری از اکسیداسیون لیپید در امولسیون‌های بر پایه لیپید آسکوربیل پالمیتات در غلظت ۰/۰۰۵ درصد

در مطالعه ای فرولیک اسید متصل به کیتوزان تولید و پایداری دمایی و استفاده از آن بعنوان آنتی‌اکسیدان برای فیلم‌های بسته بندی تخریب‌پذیر بیولوژیک بررسی شد. چپس‌های نگهداری شد در فیلم حاوی مواد بیولوژیک دارای عدد پروکسید = ۳/۷۶ به ازای کیلوگرم محصول و چپس‌های نگهداری شده در فیلم حاوی مواد بیولوژیک و کیتوزان و فرولیک اسید دارای عدد پروکسید = ۲/۵۶ به ازای کیلوگرم محصول است پایین ترین عدد پروکسید در نمونه فیلم حاوی مواد بیولوژیک و کیتوزان و فرولیک اسید نشان‌دهنده اثر مثبت وجود مقادیر پایین فرولیک اسید است (Woranuch et al, 2013).

در مطالعه ای نانوکمپلکس‌های بتالاکتوگلوبولین حاوی پلی‌فنل‌های چای سبز را تولید کردند و رفتار بین سطحی و پایداری اکسیداسیونی روغن ماهی را مورد بررسی قرار دادند. غلظت هیدروپروکسید امولسیون روغن ماهی از ۲۰ به ۲۱۴ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم روغن در امولسیون تثبیت شده با بتالاکتوگلوبولین رسید و در امولسیون حاوی نانوکمپلکس بتالاکتوگلوبولین حاوی پلی‌فنل‌های چای سبز در مدت انبارداری از ۴۰ میلی‌اکی‌والان تجاوز نکرد همین نتیجه توسط

طبق مطالعه ای برای هر آنتی‌اکسیدان یک غلظت بحرانی در ماتریکس مواد غذایی برای ایجاد ماکزیموم کیفیت وجود دارد زیرا این غلظت بحرانی اثر آنتی‌اکسیدانی زیر اپتیمم است و

گالیک اسید بیشتری است و وجود گالیک اسید از اکسیداسیون کاروتنوئیدها تا حدودی جلوگیری می‌کند در نمونه کنترل بین تمامی روزهای نگاهداری اختلاف معنی‌دار وجود دارد. ($p < 0.05$) در نمونه ۲۰۰ ppm و ۱۰۰ ppm بین روزهای ۲۰ و ۴۰ و ۶۰ اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. ($p < 0.05$). کاروتنوئیدها به دلیل داشتن پیوندهای دوگانه ترکیباتی حساس به اکسیداسیون هستند نمونه‌هایی که دارای نانوزل کیتوزان و گالیک اسید هستند میزان کاروتنوئید بیشتری دارند که به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانوزل کیتوزان و گالیک اسید کاروتنوئید تا حدودی از اکسیداسیون حفظ شده است.

است که با اندازه‌گیری عدد آنیزیدین و عدد پروکسید معلوم شد (Staszewski et al, 2014 von).

اندازه‌گیری کاروتنوئید

در طی ۶۰ روز نگاهداری میزان کاروتنوئید در تمامی نمونه‌ها کاهش می‌یابد (جدول ۴). نمونه‌ها در روز اول اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) با هم ندارند و در روز ۶۰م اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها وجود دارد. در تمامی روزهای نگاهداری بیشترین کاروتنوئید مربوط به ۲۰۰ ppm و کمترین میزان کاروتنوئید مربوط به نمونه کنترل است. نمونه حاوی ۲۰۰ ppm دارای مقدار کاروتنوئید بیشتری نسبت به بقیه تیمارها است زیرا دارای

جدول ۴. تغییرات مربوط به اندازه‌گیری کاروتنوئید در طی ۶۰ روز نگاهداری در نمونه‌های حاوی نانوزل و بدون نانوزل

روزهای نگاهداری				
نمونه	۱	۲۰	۴۰	۶۰
T ₁	۲,۹ ^{Aa} ± ۰,۱۵۲	۲,۱ ^{Ba} ± ۰,۳۵۴	۱,۸ ^{Ca} ± ۰,۱۵	۱,۵ ^{Cc} ± ۰,۲۰۸
T ₂	۲,۹ ^{Aa} ± ۰,۳۵۱	۲,۱ ^{Ba} ± ۰,۳۵۴	۲,۱ ^{Bb} ± ۰,۲۵۱	۱,۹ ^{Bb} ± ۰,۲۵۱
T ₃	۳ ^{Aa} ± ۰,۱۰۶	۲,۴ ^{Ba} ± ۰,۱	۲,۹ ^{Bb} ± ۰,۱۱۵	۲,۶ ^{Ba} ± ۰,۱۵۲

p در هر ردیف میانگین‌هایی که هیچ حرف مشترکی ندارند در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌دار دارند. (< 0.05)

حروف انگلیسی کوچک بیانگر اختلاف بین تیمارها و حروف انگلیسی بزرگ بیانگر اختلاف بین روزهای نگاهداری است

T₁: نمونه کنترل، T₂: نمونه حاوی ۱۰۰ ppm، T₃: نمونه حاوی ۲۰۰ ppm

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده در طی ۶۰ روز نگاهداری تیمار ۲۰۰ ppm نانوزل کیتوزان گالیک اسید موثرتر از تیمار ۱۰۰ ppm است بهترین نتایج مربوط به نمونه ۲۰۰ ppm است بنابراین استفاده از نانوزل کیتوزان گالیک اسید موجب افزایش مدت پایداری روغن‌ها می‌شود. گالیک اسید خاصیت آنتی-

اکسیدانی کیتوزان را بطور موثری افزایش می‌دهند ترکیب کیتوزان با گالیک اسید منجر به تولید کمپلکس‌هایی می‌شود که خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات کمپلکس در مقایسه با کیتوزان معمولی و گالیک اسید بیشتر است. میزان فعالیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد نانوکمپلکس گالیک اسید و کیتوزان با افزایش غلظت نانوکمپلکس افزایش می‌یابد.

REFERENCES

- Akoh, C. C., & Min, D. B. (2008). Food lipids chemistry, nutrition, and biotechnology (3th ed). London, New York: CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton
- Alinejad, S., esmailzadeh kenari, K., Bolandi, M. (1392) Antioxidant effect of Persimmon peel extract in stabilization of sun flower oil. *Journal of Food Science and Technology Innovation*, 143-148(In farsi).
- Aoki, K., Ishiwata, S., Sakagami, H., Kusama, K., Katayama, T. (2001) Modification of apoptosis inducing activity of gallic acid by saliva, *Anticancer Res*, 21, 1879-1883.
- Asnaashari, M., Farhoosh, R and Sharif, A. (2014) Antioxidant activity of gallic acid and methyl gallate in triacylglycerols of Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion. *Food Chemistry*, 159, 439-444.
- Azadmard Damirchi, S. (1389) Chemistry and Analysis of Edible Oils and Fats. 1st Ed. Tabriz: Amidi Publication. vol. 1. 241-245. (In Farsi)
- Beyki, M., Zhavah, S., Khalili, S.T., Rahmani-Cherati, T., Bayat, M., Tabatabaei, M and Mohsenifar, A. (2014) Encapsulation of Mentha piperita essential oils in chitosan-cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. *Industrial Crops and Products*, 54, 310-319.
- Burke, A., Yilmaz, E., & Hasirci, N. (2000) Evaluation of chitosan as a potential medical iron (III) ion adsorbent. *Turk Journal of Medical Sciences*, 30, 623-624.
- Eom, T., Senevirathne, M., Kim, S-K. (2012) Synthesis of phenolic acid conjugated chito oligosaccharides and evaluation of their antioxidant activity. *environmental toxicology and pharmacology*, 34, 519-527.

- Fransen, M., Nordgren, M., Wang, B., Apanasets, A. (2010) Role of peroxisomes in ROS/RNS-metabolism: implication for human disease. *Biochim. Biophys. Acta*, 1822 (9), 1363–1373.
- Inoue, M., Suzuki, R., Sakaguchi, N., Li, Z., Takeda, T., Ogihara, Y., Jiang, B.Y., Chen, Y. (1995) Selective induction of cell death in cancer cells by gallic acid, *Biol. Pharm. Bull.*, 18, 1526–1530
- Pasanphan, W and Chirachanchai, S. (2008) Conjugation of gallic acid onto chitosan: An approach for green and water-based antioxidant. *Carbohydrate Polymers*, 72(1), 169-177.
- Pasanphan, W., Buettner, G. R., Chirachanchai, S. (2010) Chitosan gallate as a novel potential polysaccharide antioxidant: an EPR study. *Carbohydrate Research*, 345(1), 132-140.
- Ren, J., Li, Q., Dong, F., Feng, Y., Guo, Z. (2013) Phenolic antioxidants-functionalized quaternized chitosan synthesis and antioxidant properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 53, 77-81.
- Salcedo, C- L., Frias, M-A., Cutro, A-C., Nazareno, M-A and Disalvo, E-A. (2014) Antiradical activity of gallic acid included in lipid interphases. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1838(10), 2656-2661.
- Shahidi, F. (2005) *Bailey's industrial oil and fat products (6th Ed)*. New Jersey: John Wiley & Sons. vol 6.
- Shahidi, F., Arachchi, J.K.V., Jeon, Y.J. (1999) Food application of chitin and chitosans. *J. Trends Food Sci. Technol.*, 10, 37–51.
- Soltan, S-T., Esmaelzadeh, R., Nahidi, F. (1392) Evaluation of Antioxidant Effect of Potato peel extract to postponement sunflower oil oxidation during Thermal Condition. *Journal of Food Science and Technology Innovation*, 111-118. (In Farsi)
- Staszewski V, M., Pizones Ruiz-Henestrosa, V. M., Pilosof, A. (2014) Green tea polyphenols- β -lactoglobulin nanocomplexes: Interfacial behavior, emulsification and oxidation stability of fish oil. *Food Hydrocolloids*, 35, 505-511.
- Tomaino, A., Cimino, F., Zimbalatti, V., Venuti, V., Sulfaro, V., De Pasquale, A. (2005) Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. *Food Chemistry*, 89, 549-554.
- Woranuch, S. and Yoksan, R. (2013) Preparation, characterization and antioxidant property of water-soluble ferulic acid grafted chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 96(2), 495-502.
- Yu, S-H., Mi, F-L., Pang, J-Ch., Jiang, Sh-Ch., Kuo, T-H., Wu, Sh-J and Shyu Sh-Sh. (2011) Preparation and characterization of radical and pH-responsive chitosan-gallic acid conjugate drug carriers. *Carbohydrate Polymers*, 84(2), 794-802.