Archive of SID

تاثیر درجه غیر اشباعیت سیستم لیپیدی و درجه حرارت بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترسیوبوتیل هیدروکینون

هادی مهدویان مهر[۱]، رضا فرهوش [۲*]، علی شریف [۳]

۱- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲- استاد و عضو هیات علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- استادیار و عضو هیات علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(تاریخ دریافت: ۹٤/۱۲/۰۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۷/۰۳)

چکیده

در این تحقیق به منظور تاثیر غیراشباعیت سیستم لیپیدی و درجه حرارت بر فعالیت آنتی اکسیدان ترسیوبوتیل هیدروکینون، از محیط‌های تری‌آسیل-گلیسرولی (به دور از تاثیر سایر آنتی‌اکسیدان و پراکسیدانها) ماهی، کانولا و زیتون که دارای درجه غیر اشباعیت متفاوت هستند، در محدوده دمایی ٦۰ تا ۱۰۰ درجه سانتیگراد در حضور غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۰۲٪ این آنتی اکسیدان استفاده گردید. با افزایش نسبت اسیدهای چرب تک غیر اشباعی به چند غیراشباعی در روغن ماهی، کانولا و زیتون (به ترتیب ۱/۸۷، ۲/۲۸ و ۵/۷۸) کاهش سرعت اکسایش در این روغنها بدون حضور آنتی اکسیدان مشاهد گردید (۱۵/۲٤، ۷/۲۳ و ۰/۰۰٦ میلی اکی والان پراکسید بر گرم در ساعت در دمای ٦۰ درجه سانتیگراد). با افزایش دما سرعت تشکیل پراکسید در تمامی روغنها افزایش یافت، اما بیشترین افزایش به ترتیب در روغن زیتون و سپس ماهی با افزایش دما از ٦۰ به دمای ۸۰ درجه سانتیگراد مشاهده گردید. بیشترین و کمترین ضریب حفاظتی و کارآیی ترسیوبوتیل هیدروکینون به ترتیب در غلظت ۰/۰۲٪ دمای ٦۰ درجه سانتیگراد روغن کانولا (٤٤/٤۷ و٤٦۵۲۱/۵۲) و در غلظت ۰/۰۱٪ دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد روغن ماهی (٦/۸٦ و ۲۰۱/۸٤) مشاهده گردید. نتایج تحقیق نشان داد که با افزایش دما از ٦۰ تا ۸۰ درجه سانتیگراد در روغن ماهی با درجه غیر اشباعیت بالا میزان تشکیل پراکسید بدون حضور آنتی اکسیدان حدود ۲ برابر بیشتر از تاثیر دما در سایر سیستم‌ها است. علاوه بر این نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که درجه غیر اشباعیت سیستم لیپیدی و درجه حرارت تاثیر قابل توجهی بر فعالیت آنتی اکسیدان دارند.

کلید واژگان: ترسیوبوتیل هیدروکینون، تری آسیل گلیسرول، کانولا، زیتون، ماهی کلیکا.

* مسئول مکاتبات: RFarhoosh@um.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

۱- مقدمه

اکسایش چربیها فرآیند رادیکالی مخربی است که سبب توسعه طعم و بوی نامطبوع و نیز کاهش ارزش تغذیه‌ای روغنها، فرآورده‌های غذایی حاوی روغن و بویژه روغنهای غیراشباع می‌گردد [٤-١]. تخریب اکسایشی حائز اهمیت اقتصادی فوق-العاده‌ای در تولید غذاهای حاوی چربی است. با توجه به ارزش تغذیه‌ای روغنهای چند غیراشباع در سلامت بشر اما پایداری کم آنها حتی در شرایط محیطی، امروزه اهمیت آنتی‌اکسیدان‌ها بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است.

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که گسترش بدطعمی و تند شدن را با توسعه زمان پایداری به تاخیر می‌اندازند. در مواد غذایی دارای چربی، آنتی‌اکسیدان ها فرایند اکسایش را به تأخیر می‌اندازند و یا شدت پیشرفت آن را کند می‌کنند. این مواد یا به طور طبیعی در ترکیب ماده غذایی وجود دارند، یا عمداً به ماده غذایی اضافه می‌شوند و یا طی فرآیند به وجود می‌آیند. نقش اصلی آنها بهبود کیفیت ماده غذایی نیست بلکه حفظ آن و افزایش زمان ماندگاری غذاست. آنتی‌اکسیدان‌های به کار رفته در فرآیند مواد غذایی باید ارزان، غیر سمی، موثر در غلظت کم، پایدار و باقی در شرایط فرآیند (دارای خصوصیات حملی[1]) باشند. رنگ، طعم و بوی این مواد باید حداقل باشد. انتخاب نوع آنتی‌اکسیدانی که به کار می‌رود به قابلیت محصول و قوانین موجود بستگی دارد [٥]. آنتی‌اکسیدان‌ها نه تنها زمان نگهداری محصولات را افزایش می‌دهند، بلکه ضایعات مواد خام و افت تغذیه‌ای را کاهش و محدوده‌ی کاربرد چربیها در محصولات خاص را افزایش می‌دهند [٦]. آنتی‌اکسیدان‌ها همچنین از ایجاد رادیکال‌های آزاد که در بدن به صورت طبیعی از واکنشهای اکسایشی تولید می‌شود و منجر به اکسایش سلولهای چربی و آسیب DNA و به تبع آن بیماریهای جدی می‌شود، جلوگیری می‌کنند. آنتی-اکسیدان‌های رژیم غذایی با مهار رادیکالهای آزاد از وارد آمدن آسیب به سلولها و DNA ممانعت می‌کنند و احتمالاً اسیدهای چرب اکسیده یا موتاژن‌های عامل بیماریهای قلبی یا سرطان را کاهش می‌دهند. صدها ترکیب سنتزی یا طبیعی وجود دارد که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند اما کاربرد آنها در مواد غذایی به دلیل ایمن نبودن محدود می‌باشد. متداولترین آنتی-اکسیدان‌های اولیه به کار رفته در مواد غذایی، ترکیبات سنتزی هستند. مثالهایی از آنتی‌اکسیدان‌های فنلی اولیه مهم، هیدروکسی آنیزول بوتیله (BHA[2])، هیدروکسی تولوئن بوتیله (BHT[3])، پروپیل گالات (PG[4]) و ترسیوبوتیل هیدروکینون (TBHQ[5]) است. ترسیوبوتیل هیدروکینون بعنوان قویترین آنتی‌اکسیدان سنتزی در روغن‌های گیاهی، چربیهای حیوانی و محصولات گوشتی بطور گسترده‌ای استفاده می‌شود. این ترکیب توسط اورتو- دمتیلاسیون بوتیل هیدروکسی آنیزول و اکسایش در مرحله بعد تولید می‌شود. این ترکیب دارای خصوصیات حملی خوب و فعالیت مناسب در شرایط سرخ کردن می‌باشد. مکانیسم فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها تحت تاثیر سیستم چربی و درجه حرارت ممکن است روند افزایشی یا کاهشی و یا بدون تغییر را دنبال نماید [٧]. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی گفته شده‌است که نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی کمتر تابع شرایط محیطی هستند [٨]. TBHQ بعنوان قویترین آنتی‌اکسیدان سنتزی و خصوصیات حملی مناسب در تحقیقات فراوان میزان فعالیت‌های متفاوتی را در مقایسه با آنتی‌اکسیدانهای طبیعی را از خود نشان داده است [١٣-٩]. با وجود تحقیقات فراوان انجام شده در مورد این آنتی اکسیدان سنتزی، اطلاعات کمی در مورد تاثیر درجه غیر اشباعیت و درجه حرارت به طور همزمان در مورد آن موجود است.

بنابراین در این تحقیق به منظور مشخص شدن تاثیر متغیرهای درجه غیراشباعیت سیستم لیپیدی و درجه حرارت بر فعالیت آنتی اکسیدانی TBHQ، فعالیت این آنتی‌اکسیدان در روغن-های ماهی، کانولا و زیتون با ترکیب اسید چرب و درجه غیر اشباعیت مختلف در دماهای ٦٠ تا ١٠٠ درجه مورد بررسی قرار گرفت تا تاثیر هر کدام از متغیرها بر فعالیت TBHQ محرز شود.

1. Carry-through property

2. Butylated hydroxyanisole
3. Butylated hydroxytoluene
4. Propyl gallate
5. tert-Butylhydroquinone

www.SID.ir

Archive of SID

۲- مواد و روشها

۲-۱- مواد اولیه

روغن ماهی کیلکا، کانولا رقم اوکاپی[1] و زیتون روغنی بکر به ترتیب از شرکت شیلات خزر- بابلسر، صنایع غذایی آلیا گلستان- گرگان و شرکت زیتون فدک سراج- قم تهیه شدند. TBHQ از شرکت سیگما خریداری شد. حلالهای کلروفرم، متانول، هگزان و تولوئن، ۱- اکتانول، محلول DPPH، تیوسیانات آمونیوم، کلرید باریم دو آبه، سولفات آهن هفت آبه، اسید کلریدریک، استات سدیم سه‌آبه، اسید استیک، کلرید آهن III شش آبه، سیلیکاژل و اکسید آلومنیوم، از شرکتهای مرک و سیگما خریداری شد.

۲-۲- تخلیص روغن ماهی، کانولا و زیتون

به منظور حذف تاثیر ترکیبات دیگر بر اکسایش در این تحقیق ابتدا تمامی روغنها تخلیص شدند و اکسایش در تری‌آسیل-گلیسرول خالص بررسی گردید. برای تخلیص روغن ماهی (حذف توکوفرول و سایر آنتی‌اکسیدان‌ها) از روش کروماتوگرافی استفاده شد. در این روش از ستون کروماتوگرافی شیشه‌ای با طول ۳۰ سانتی‌متر و قطر داخلی۵ سانتیمتر متصل به ارلن بوخنر استفاده شد. ستون از سیلیکاژل و اکسید آلومنیوم با نسبت ۶۰:۸۰ پرگشت، به طوری که ابتدا ٦۰ گرم آلومینا (نوع ٦۰ فعال خنثی) که قبلا در دمای۲٤۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه ساعت فعال شده بود را به طور کاملا یکنواخت داخل ستون ریخته شد و سپس ۸۰گرم سیلیکاژل فعال شده در دمای۱۱۰ درجه به مدت سه ساعت و در نهایت قدری کربن فعال بر بالای ستون ریخته و با چندین ضربه ستون فشرده‌تر و یکنواخت‌تر گردید. در هر نوبت تخلیص،۱۲۰ گرم روغن در ستون قرار گرفت [۱٤]. تخلیص روغن کانولا و زیتون نیز توسط دو بار عبور دادن ۲۰۰ گرم روغن از ستون با قطر داخلی ۵/۲ سانتی‌متر و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر که داخل آن توسط ۱۰۰ گرم اکسید آلومنیوم فعال پر شده بود، انجام گردید. اطراف ستون و ارلن بوخنر با ورقه آلومنیومی پوشانیده شد تا از اکسایش روغن در طول عملیات جلوگیری به عمل آید. این روش نیازی به استفاده از حلال برای عبور روغن از ستون نداشت و تنها به کمک نیروی خلاء بویژه در مراحل انتهایی تخلیص امکان پذیر گردید. برای اطمینان از جداسازی ترکیبات آنتی اکسیدانی، میزان ترکیبات توکوفرولی باقی‌مانده توسط روش اسپکتروفتومتری ونگ و همکاران ۱۹۸۸ اندازه‌گیری شد [۱۵].

۲-۳- تجزیه اسیدهای چرب

ترکیب اسید چربی نمونه روغن به وسیله تهیه استر متیله اسیدهای چرب[2](FAME) شناسایی و بر اساس درصد نسبی سطوح گزارش شد. اسیدهای چرب استری شده که از تکان دادن شدید محلولهای روغن در هگزان (۰/۱میلی لیتر‌روغن در ۱ میلی لیتر هگزان) با ۰/۵ میلی لیتر متوکسید سدیم به مدت۱۵-۱۰ثانیه ایجاد شد. FAME با استفاده از کروماتوگراف گازی شیمادزو -A۱۷GC مجهز به ستونهای مویینه-۷۰BPX، ٦۰ متر طول در ۰/۳۲ میلی متر قطر داخلی، ۰/۲۵میکرومتر ضخامت فیلم و شناساگر یونی شعله‌ای[3] شناسایی شد. گاز نیتروژن به عنوان گاز حامل با سرعت جریان۰/۷۵میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. تزریق کننده وشناساگر در دمای۲٦۰ و ۲۸۰ درجه سانتیگراد حفظ شد.

۲-٤- آزمون رنسیمت

ثابت پایداری اکسایشی (OSI[4]) نمونه‌ها توسط دستگاه رنسیمت مدل ۷٤۳ در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد و با سرعت جریان هوای عبوری ۲۰ لیتر بر ساعت اندازه‌گیری شد. تمامی قطعات پلاستیکی و شیشه ای، الکترود و لوله‌های مرتبط بعد از هر آزمایش بطور کامل شسته شدند. این آزمون در دو تکرار انجام شد.

۲-۵- آماده‌سازی نمونه‌های روغن حاوی آنتی‌اکسیدان

نمونه تری‌آسیل‌گلیسرول روغن‌های ماهی، کانولا و زیتون دارای غلظت‌های مختلف با افزودن محلول استنی TBHQ به نمونه ها و حذف حلال در مجاورت گاز نیتروژن انجام شد.

1. Okapi

2. Fatty acids methyl esters
3 . Flame ion detector
4. Oxidative stability index

www.SID.ir

Archive of SID

۲-٦- آزمون پایداری اکسایشی در آون

اکسایش روغن‌های تخلیص شده ماهی، کانولا و زیتون (بدون توکوفرول و فنول طبیعی) در حضور دو سطح غلظتی ۰/۰۱٪ و ۰/۰۲٪ TBHQ در دماهای٦۰، ۸۰ و۱۰۰ درجه سانتیگراد در آون پایش شد. نمونه‌گیری در زمانهای متوالی انجام شد و دوره اکسایش کند تولید هیدروپراکسیدها بر حسب ساعت تعیین گردید. به منظور محاسبه دوره اکسایش کند لیپیدی بر حسب عدد پراکسید، نمودار تغییرات شاخص‌های مزبور در مقابل زمان ترسیم گردید. سپس معادلات خطی مرتبط با بخشهای آغازین و انتشار اکسایش لیپیدی برازش داده شد و آنگاه زمان دوره اکسایش کند از تلاقی دادن معادلات خطی یاد شده محاسبه گردید [١٦].

تاثیر آنتی‌اکسیدان بر روغن‌ها را می‌توان با کمک پارامترهای سنیتیکی بررسی نمود:

اول: ضریب حفاظتی آنتی‌اکسیدان (PF) که توانایی آنتی-اکسیدان در متوقف کردن زنجیره رادیکالی اکسایش به وسیله ایجاد برهم‌کنش‌های مختلف با رادیکالهای پراکسید را نشان می‌دهد. این فاکتور متاثر از زمان دوره اکسایش آنتی‌اکسیدان می‌باشد و از رابطه زیر بدست می‌آید:

$$PF = IP_{inh} / IP_o$$ معادله (۱)

که IP_{inh} دوره اکسایش کند در حضور آنتی‌اکسیدان و IP_o دوره اکسایش کند نمونه شاهد می‌باشد.

دوم: قدرت آنتی‌اکسیدان در شرکت در سایر واکنش‌ها است که در نهایت بر سرعت اکسایش تاثیر می‌گذارد. این پارامتر با کمیت دیگری تحت عنوان نسبت سرعت اکسایش (ORR) محاسبه می‌گردد:

$$ORR = W_{inh} / W_o$$ معادله (۲)

در این رابطه W_{inh}سرعت تشکیل هیدروپراکسید در حضور آنتی‌اکسیدان و W_oسرعت تشکیل هیدروپراکسید نمونه شاهد است. در حقیقت ORR عکس قدرت آنتی‌اکسیدان را نشان می‌دهد [١٧].

پارامتر کلی کارایی آنتی‌اکسیدان (A) تاثیر آنتی‌اکسیدان را در پایان‌دادن به واکنش اکسایش و به عبارت دیگر توانایی آن در کاستن از سرعت اکسایش تا رسیدن به زمان خاتمه دوره اکسایش کند را نشان می‌دهد. کمیت کارایی آنتی‌اکسیدان (A) از رابطه زیر محاسبه می‌گردد:

$$A = F / ORR$$ معادله (۳)

۲-۷- اندازه‌گیری عدد پراکسید نمونه روغن

۰/۱ تا ۰/۲ گرم نمونه روغن، بسته به میزان پراکسید آن، در لوله‌های آزمایش ۱۵ میلی‌لیتری وزن شد و با ۹/۸ میلی‌لیتر حلال کلروفرم : متانل (به نسبت ۳:۷) مخلوط و به مدت ۲ تا ٤ ثانیه هم زده شد. بقیه مراحل مشابه ترسیم منحنی کالیبراسیون بود. تمامی مراحل این روش زیر نور ملایم و به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. عدد پراکسید از معادله (٤) محاسبه شد:

معادله(٤)

$$PV = \frac{(As - Ab) \times m}{55.84 \times W \times 2}$$

که As، جذب نمونه و Ab جذب شاهد در طول موج ۵۰۰ نانومتر است. m شیب به دست آمده از منحنی کالیبراسیون است (٤۰/۸٦ با ضریب تبیین ۰/۹۹) و W وزن نمونه روغن است [١٨].

۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایشها در قالب طرح آزمایشی کاملا تصادفی در سه تکرار، دو سطح غلظتی TBHQ در سه سطح دمایی (٦۰، ۸۰ و ۱۰۰درجه سانتیگراد) انجام شد. میانگینها با نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد ($P<0/05$) مقایسه شد. نمودارها با نرم افزار Microsoft Excel ترسیم گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ترکیب اسیدهای چرب روغن‌ها و پایداری حرارتی آنها

ترکیب اسید چرب نمونه روغن‌های ماهی، کانولا و زیتون مطابق با محدوده گزارش شده در انتشارات پیشین است

www.SID.ir

Archive of SID

(جدول ۱). بیشترین مقدار اسید چرب اشباع در روغن ماهی کلیکا (۲۹/۷۸٪) مشاهده گردید که عمدتاً شامل اسیدهای چرب میرستیک، پالمیتیک و استئاریک بود. روغن زیتون و کانولا به ترتیب با دارا بودن ۵/۱۸ و ۷/۷ درصد اسید چرب اشباع (عمدتاً پالمیتیک و استئاریک) در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند.

Table 1 Fatty acid composition of Fish, Canola and Olive oils

Fatty acid	Oil sample		
	Fish oil	Canola oil	Olive oil
C14:0	6.21 ± 0.03 ^{c}	0.06 ± 0.02 ^{i}	–
C16:0	17.31 ± 0.09 ^{bA}	4.20 ± 0.02 ^{dC}	12.4 ± 0.08 ^{bB}
C16:1	13.23 ± 0.00 ^{cA}	0.20 ± 0.03 ^{hiC}	1.00 ± 0.03 ^{eB}
C17:0	1.88 ± 0.05 ^{fA}	0.10 ± 0.03 ^{iB}	0.20 ± 0.05 ^{fB}
C17:1	–	–	0.20 ± 0.02^{f}
C18:0	3.21 ± 0.02 ^{eB}	2.50 ± 0.06 ^{eC}	4.90 ± 0.14 ^{dA}
C18:1	27.55 ± 0.15 ^{aC}	61.70 ± 0.03 ^{aB}	67.69 ± 0.16 ^{aA}
C18:2	8.15 ± 0.08 ^{cC}	18.70 ± 0.11 ^{bA}	11.2 ± 0.29 ^{cB}
C18:3	1.17 ± 0.01^{gB}	9.20 ± 0.37 ^{cA}	0.80 ± 0.02 ^{eB}
C20:0	1.15 ± 0.03 ^{gA}	0.80 ± 0.01 ^{gB}	0.79 ± 0.01 ^{eB}
C20:1	–	1.20 ± 0.1 ^{f}	0.40 ± 0.06 ^{f}
C20:4	0.21 ± 0.02^{h}	–	–
C20:5 (EPA ^{a})	6.35 ± 0.04^{e}	–	–
C22:0	–	0.40 ± 0.00 ^{h}	0.20 ± 0.02 ^{f}
C22:6 (DHA ^{b})	5.89 ± 0.06^{d}	–	–
C22:1	–	0.40 ± 0.02^{h}	–
C24:0	–	0.20 ± 0.01^{hi}	–
C24:1	–	0.19 ± 0.03^{hi}	–
SFA ^{c}	29.78 ± 0.05 ^{A}	8.26 ± 0.14 ^{C}	18.50 ± 0.12 ^{B}
MUFA ^{d}	40.79 ± 0.14 ^{C}	63.7 ± 0.11 ^{B}	69.30 ± 0.03 ^{A}
PUFA ^{e}	21.77 ± 0.20 ^{B}	27.90 ± 0.26 ^{A}	12.00 ± 0.32 ^{C}
MUFA/PUFA ratio	1.87 ± 0.01 ^{C}	2.28 ± 0.01 ^{B}	5.77 ± 0.15 ^{A}

Means in the same column with different lowercase letters are significantly different ($p < 0.05$)
Means in the same row with different capital letters are significantly different ($p < 0.05$)

تمامی روغن‌ها حاوی مقادیر زیاد اسید چرب تک غیر اشباع (بیشتر از ٤۰٪) بودند. در روغن ماهی اسیدهای چرب تک غیر اشباع پالمیتولئیک و اولئیک (٤۱٪) و در روغن زیتون و کانولا، اسید اولئیک به ترتیب ٦۸٪ و ٦۲٪ ترکیب اسید چرب را به خود اختصاص داد. اسید لینولئیک عمده‌ترین اسید چرب چند غیر اشباع روغن زیتون بود (۱۱٪) و اسید لینولئیک و لینولنیک (۲۸٪) و اسید لینولئیک، ایکوزاپنتانوئیک و دکوزاهگزانوئیک (۲۰٪) به ترتیب اسیدهای چند غیراشباع عمده روغن کانولا و ماهی بودند. بر طبق سرعت تشکیل پراکسید از تری‌آسیل-گلیسرول‌ها که در جدول۲ مشاهده می‌شود، روغن زیتون بیشترین پایداری حرارتی در تشکیل محصولات اولیه (پراکسیدها) را دارا است. روغن کانولا به طور قابل توجهی ناپایدارتر از زیتون است و کمترین پایداری اکسایشی بر اساس سرعت تشکیل پراکسید مربوط به روغن ماهی بود. میزان پایداری اکسایشی در آزمون رنسیمت در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود پایدار اکسایشی در این آزمون نیز دال بر ناپایداری بیشتر روغن ماهی و کانولا نسبت به زیتون می‌باشد. در آزمون رنسیمت محصولات ثانویه و نهایی اکسایش اندازه‌گیری می‌شوند، بالطبع نسبت به محصولات اولیه اکسایش (پراکسیدها) درآزمون آون، زمانی اکسایش کند طولانی‌تری را نشان می‌دهد. نتایج مشابهی توسط فرهوش و حسینی یزدی ارائه گردیده است [۱٦].

www.SID.ir

Archive of SID

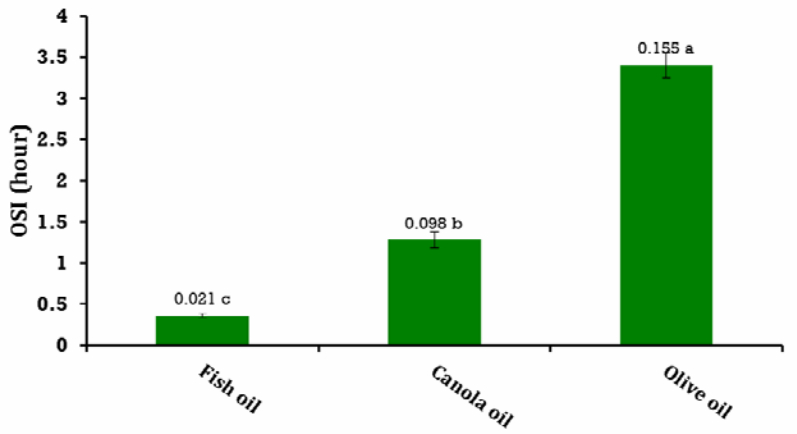

Fig 1 Oxidative stability of Fish, Canola and Olive oils in Rancimate test

با افزایش درجه حرارت در تمامی تری آسیل گلیسرولها شاهد افزایش معنی‌داری در سرعت تشکیل پراکسیدها و به تبع آن کاهش پایداری اکسایشی هستیم($p<0/05$). با افزایش دما از ٦٠ به ٨٠ درجه سانتیگراد سرعت تشکیل پراکسیدها در روغن زیتون حدود ٢٤٥ برابر شد که در مقایسه با سایر روغنها و حتی افزایش دما از ٨٠ به ١٠٠ درجه سانتیگراد در این روغن نیز بطور معنی‌داری بیشتر بود. اگر چه شاخص‌های کمی مانند نسبت اسیدهای چرب تک غیر اشباع به چند غیر اشباع، شاخص پلی ان (نسبت اسیدهای چند غیر اشباع به اشباع) و یا عدد کوکس[1] به منظور نشان دادن پایداری اکسایشی روغن‌ها استفاده می‌شوند. اما در این روغن‌ها تنها نسبت اسیدهای چرب تک غیراشباع به چند غیراشباع شاخص مناسبی برای توصیف پایداری حرارتی بود. پایداری اکسایشی بیشتر روغن زیتون در برابر کانولا را می‌توان به مقادیر جزئی بیشتر اولئیک اسید و بویژه مقایر جزئی لینولنیک اسید در زیتون مرتبط دانست. سرعت اکسایش نسبی اسید اولئیک، لینولئیک و لینولنیک به ترتیب ١:١٢:٢٥ گزارش گردیده است [١٩]. حساسیت نسبتاً بالای روغن ماهی به اکسایش را می‌توان به مقادیر پایین اسیدهای چرب تک غیر اشباعی و مقادیر نسبتا قابل توجه اسیدهای چرب چند غیراشباعی مستعد اکسایش مرتبط دانست. نسبت اسیدهای تک غیر اشباعی به چند غیراشباعی در روغن زیتون، کانولا و ماهی به ترتیب برابر با ٥/٧٨، ٢/٢٨ و١/٨٧ بود. پورتر و همکاران ١٩٨١ سرعت اکسایش اسید آراشیدونیک را ٢/٩ برابر اسید لینولئیک گزارش نمودند [٢٠]. هچنین اکسیژن مصرفی EPA و DHA بعد از مرحله اکسایش کند ٥/٢ و٨/٥ برابر سریعتر از اتیل لینولئات گزارش گردیده است [٢١]. با توجه به مقادیر زیاد اسیدهای چرب اشباع روغن ماهی که سرعت اکسایش آنها ٠/١ اسید اولئیک می‌باشد، انتظار کاهش مقداری از حساسیت به اکسایش منطقی به نظر می‌رسد [١٩].

٣-٢- ارزیابی فعالیت TBHQ در سیستم های مختلف بر اساس غیر اشباعیت

همانطور که در جدول ٢ مشاهده می‌گردد، افزودن TBHQ کمترین میزان تاثیر را در روغن ماهی از خود نشان داد. این نتایج با توجه به ساختار اسید چرب بسیار ناپایدار روغن ماهی و سرعت بالای تشکیل پراکسیدهای اسیدهای چرب ماهی که به طور معنی‌داری در تمام دماهای مورد بررسی بیشتر از سایرین بود، منطقی به نظر می‌رسد. در روغنهای مختلف مورد بررسی در دماهای ٦٠ و ٨٠ درجه سانتیگراد ضریب حفاظتی همبستگی مستقیمی با میزان کارآیی آنتی‌اکسیدان دارد. بیشترین ضریب حفاظتی و کارآیی TBHQ در دمای ٦٠ و٨٠ درجه سانتیگراد در روغن کانولا و در غلظت٠/٠٢٪ مشاهده گردید، اما کمترین مقادیر در دمای ٦٠ درجه مربوط به سطح ٠/٠١٪ در روغن ماهی و در دمای ٨٠ در این غلظت در روغن زیتون بود. اما در دمای ١٠٠ درجه سانتیگراد نتایج متفاوت بود. TBHQدر روغن زیتون با وجود ضریب حفاظتی کمی بیشتر از کانولا (٣٢/٠٧ در برابر ٣٠/٣٤ در غلظت ٠/٠٢٪) در این روغن دارای کارآیی بسیار کمتری بود (١٩١٨/٣٢ در برابر ٧٦٧٠/١٨).

1. Cox value

www.SID.ir

Archive of SID

Table 2 Kinetic parameters of the oxidation of fish, canola and olive triacylglycerols in presence of different concentrations of TBHQ at 60 – 100 °C

Oil	Concentration (%)	Protection factor	Peroxide formation rate	Activity
		Temprature		60°C
Fish	0.00		15.243±0.117^{aC}	
	0.01	20.28±0.14^{fB}	0.163±0.01^{cC}	1911.24±172.03^{dA}
	0.02	29.02±0.04^{cB}	0.066±0.015^{cC}	6854.48±1392.16^{cdA}
Canola	0.00		7.231±1.54^{bC}	
	0.01	32.44±0.54^{bA}	0.009±0.002^{cC}	27297.79±1012.72^{bA}
	0.02	47.44±0.28^{aA}	0.007±0.001^{cC}	46521.52±6445.02^{aA}
Olive	0.00		0.006±0.004^{cC}	
	0.01	21.11±0.11^{eB}	0.002±0.001^{cC}	5990.36±317.505^{cdA}
	0.02	25.68±0.1^{dB}	0.0019±0.001^{cB}	8084.79±722.036^{cA}
		Temprature		80°C
Fish	0.00		68.521±1.296 aB	
	0.01	27.02±0.88cA	1.597±0.101cB	1160.72±37.12dB
	0.02	37.14±1.5aA	1.056±0.054cdB	2417.88±216.61cB
Canola	0.00		17.047±1.01bB	
	0.01	22.49±0.8dB	0.046±0.002dB	8258.61±714.68bB
	0.02	30.48±0.75bB	0.044±0.004dB	1174.6±1110.13aB
Olive	0.00		1.474±0.353cB	
	0.01	11.65±0.12fC	0.021±0.001dB	1120.71±96.13dC
	0.02	13.73±0.63eC	0.011±0.003dB	1971.32±494.34cdB
		Temprature		100°C
Fish	0.00		186.167±16.185aA	
	0.01	6.86±0.13fC	6.344±0.252cA	201.84±11.66dC
	0.02	9.06± 0.33e	4.205±0.078cA	401.26±8.53dC
Canola	0.00		34.007±5.769bA	
	0.01	24.72±0.97dC	0.163±0.006cA	5163.19±148.69bC
	0.02	24.72±0.97bB	0.137±0.021cA	7670.18±1139.6aB
Olive	0.00		3.459±0.398cA	
	0.01	30.34±0.18cA	0.064±0.003cA	1534.74±77.95cB
	0.02	32.07±0.03aA	0.060±0.016cA	1918.32±460.47cB

a, Peroxide formation rate (meq/kg h)
b, Means in the same column with different lowercase letters are significantly different ($p < 0.05$)
c, Means in the same row with different capital letters are significantly different ($p < 0.05$)

www.SID.ir

Archive of SID

افزودن آنتی اکسیدان TBHQ باعث کاهش معنی داری در سرعت اکسایش تمامی روغن‌های مورد بررسی گردید. از آنجایی که ضریب حفاظتی از نسبت دوره اکسایش کند نمونه حاوی آنتی اکسیدان به نمونه شاهد محاسبه می‌شود و این فاکتور نشاندهنده میزان شرکت آنتی اکسیدان در واکنش اصلی مهار رادیکال پراکسید می باشد، افزایش دما در روغنهای ماهی ابتدا تا دمای ۸۰ درجه سانتیگراد سبب افزایش شرکت در این واکنش و افزایش ضریب حفاظتی می‌گردد. اما در روغن کانولا افزایش دما سبب شرکت در واکنش‌هایی به جز واکنش اصلی شده که باعث کاهش ضریب حفاظتی می‌شود که این اختلاف بین دمای ۸۰ تا ۱۰۰ درجه سانتیگراد از نظر آماری معنی‌دار نبود. اما روند در روغن زیتون کمی پیچیده‌تر است بطوریکه با افزایش دما تا ۸۰ درجه سانتیگراد ضریب حفاظتی کاهش و سپس با افزایش بیشتر دما تا ۱۰۰ درجه سانتیگراد افزایش می-یابد. فاکتور کارآیی که پارامتر مهمتری برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدان بشمار می‌آید که در آن علاوه بر دوره اکسایش کند، سرعت تشکیل پراکسید را نیز مورد بررسی قرار می‌دهند. با توجه به اینکه سرعت تشکیل پراکسید در تمامی سیستم‌ها با دما روند افزایشی دارد. در روغن ماهی با توجه به افزایش ضریب حفاظتی شاهد کاهش کارآیی به دلیل افزایش سرعت تشکیل پراکسید هستیم. در روغن کانولا و زیتون افزایش دما سبب تغییرات ثابتی در سرعت تشکیل پراکسید می‌شود و در اینجا عامل تاثیر گذار بر روی کارآیی تنها ضریب حفاظتی است.

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که آنتی‌اکسیدان TBHQ گزینه مناسبی برای پایدار سازی روغن‌های غیر اشباع مانند کانولا است و بعد از آن با توجه به اشباعیت بیشتر روغن زیتون، فعالیت آن بیشتر از روغن‌های خیلی غیراشباع مانند ماهی کلیکا است. نتایج مشابهی توسط محققین دیگر دال بر فعالیت زیاد این آنتی‌اکسیدان در دماهای بالا برای پایدارسازی روغن کانولا است [۹]. علاوه بر این واناسوندارا و شهیدی در سال ۱۹۹٤ عنوان نمودند که غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از TBHQفعالیت بیشتری نسبت به غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آنتی اکسیدانی کانولا در پایداری این روغن دارد [۱۰]. وانگ و همکاران، فعالیت TBHQ را مشابه و کمی بیشتر از آنتی‌اکسیدان طبیعی اسید کارنوسیک در روغن ماهی گزارش کردند [۱۱]. فعالیت آنتی اکسیدانی TBHQ در روغن زیتون گزارش گردیده است که بیشتر از سایر آنتی اکسیدان‌های سنتزی است [۱۲]. اما با این وجود فرهوش و همکاران در غلظت مساوی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را در مورد ترکیبات غیرصابونی شونده روغن پسته وحشی (بنه) در مقایسه با TBHQ در روغن زیتون گزارش کردند [۱۳].

٤- نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که نسبت اسیدهای چرب تک غیر اشباعی به اسیدهای چرب چند غیراشباعی، شاخص مناسبی برای سرعت تشکیل پراکسید (سرعت اکسایش) در روغنهای مورد بررسی می‌باشد. افزایش چشمگیر سرعت تشکیل پراکسید با دما از ٦۰ به ۸۰ درجه سانتیگراد در روغن زیتون و سپس ماهی نشاندهنده تغییر شدید روند اکسایش در این روغن‌ها می‌باشد. در حضور TBHQ با افزایش دما روند تغییرات سرعت اکسایش در روغنهای مورد بررسی، رفتار بسیار متفاوتی نسبت به عدم حضور آنتی اکسیدان داشت. بنابراین بایستی مطالعات عمیق‌تری در خصوص مکانیسم رفتار این آنتی اکسیدان سنتزی انجام گردد. علاوه بر این نتایج نشان داد که درجه غیر اشباعیت سیستم لیپیدی، عامل تاثیر گذار مهمی در فعالیت آنتی اکسیدانی TBHQ می‌باشد که در این رابطه بایستی تاثیر متقابل این عامل با درجه غیر اشباعیت نیز بررسی گردد. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از یک آنتی‌اکسیدان برای همه روغن‌ها و در شرایط مختلف مصرف ایده مناسبی نیست و با توجه به کاربرد و شرایط سیستم بایستی برای هر کدام از روغنها آنتی‌اکسیدان مناسبی استفاده نمود. علاوه بر این آنتی‌اکسیدان TBHQ با توجه به نتایج تحقیق گزینه مناسبی برای روغن هایی با ترکیب اسید چربی مشابه کانولا در دامنه درجه حرارت ٦۰-۱۰۰ درجه سانتیگراد می‌باشد.

۵- منابع

[1] Min, D.B., and Smouse, T. H. 1985. Flavor chemistry of fats and oils, American Oil Chemists' Society, Champaign.

[2] Aruoma, O.I. 1991. Prooxidant properties: An Important Consideration for Food Additives and/or Nutrient Components?, in Free Radicals and Food Additives (O.I.

www.SID.ir

Archive of SID

Aruoma, and B. Halliwell, eds.), 173-194, Taylor & Francis, London.

[3] Nawar, W. 1996. Lipids. In: Fennema OR, editor. Food chemistry. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 225–319.

[4] Min, D. B., Boff, J. M. 2002. Lipid oxidation of edible oil. In: Akoh CC, Min DB editors. Food Lipids.2nd edition. New York: Marcel-Dekker. 335-363.

[5] Frankel, E. N. 1998. Lipid Oxidation. The Oily Press, Dundee, Scotland, 1-303.

[6] Coupland, J. N., and McClements, D. J. 1996. Lipid Oxidation in Food Emulsions, Trends Food Science and Technology. 7: 83–91.

[7] Yanishlieva, N. V., and Marinova, E. M. 2003. Kinetic Evaluation of the Antioxidant Activity in Lipid Oxidation Lipid Oxidation Pathways. Ed by Kamal-Eldin, A. AOCS Publishing.

[8] Pokorny., J. (2007). Are natural antioxidants better- and safer – than synthetic antioxidants?. European Journal of Lipid Science and Technology. 109, 629-642

[9] Hawrysh, Z. J., Shand, P. J., Tokarska, B., & Lin, C. (1988). Effects of tertiary butylhydroquinone on the stability of canola oil. I. Accelerated storage. Canadian Institute of Food Science and Technology Journal, 21, 549-554.

[10] Wanasundara, U. N., & Shahidi, F. 1994. Canola Extract as an Alternative Natural Antioxidant for Canola Oil. American Oil Chemists' Society. 8, 817-822.

[11] 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 , 93–99.

[12] Kiritsakisi, A.K, Stine, C. M., and Dugan, L. R. (1983). Effect of Selected Antioxidants on the Stability of Virgin Olive Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society. 7,*1286-1289.

[13] Farhoosh, R., Haddad Khodaparast, M. H., Sharif, A., Zamani-Ghalehshahi, A., and Hoseini-Yazdi, S.Z., (2012). Oxidative Stability of Virgin Olive Oil as Affected by the Bene Unsaponifiable Matters and Tertiary-Butylhydroquinone. Journal of Food Science. 6, 697-702.

[14] Pazhouhanmehr, S., Farhoosh, R., Sharif, A., & Esmaeilzadeh Kenari, R. (2016). Oxidation kinetics of common Kilka (Clupeonella cultiventris caspia) oil in presence of bene oils' unsaponifiable matter. Food Chemistry, 190, 748–754.

[15]Wong, M.L., Timms, R.E., and Goh, E.M. 1988. Colorimetric determination of total tocopherols in palm oil, olein and stearin. Journal of American Oil Chemistry Society ., 65: 258–261.

[16] Farhoosh, R., Hoseini-Yazdi, S.Z. 2013. Shelf-life of olive oils using empirical models developed at low and high temperature. Food Chemistry, 141: 557-565.

[17]Marinova, E. M., & Yanishlieva, N. V. 1992. Inhibited oxidation of lipids. II. comparison of the antioxidative properties of some hydroxy derivatives of benzoic and cinnamic acids. Fat Science Technology, 94: 428–432.

[18] Shantha, N. C., Decker, E. A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. Journal of AOAC International, 77: 421-424.

[19] Hsieh, R. J., & Kinsella, J. E. (1989). Oxidation of polyunsaturated fatty acids: Mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. Advances in Food and Nutrition Research, 33, 233–341.

[20] Porter, N. A., Lehman, L. S., Weber, B. A., & Smith, K. J. (1981). Unified mechanism for polyunsaturated fatty acid autoxidation. Competition of peroxy radical hydrogen atom abstraction, β-scission, and cyclization. Journal of the American Oil Chemists' Society, 103, 6447–6455.

[21] Cho, H. Y. (1997). Reaction mechanisms and kinetics of antioxidant using Arrhenius equation in soybean oil oxidation. Journal of Food Science and Nutrition, 2, 6–10.

www.SID.ir

Archive of SID

Effects of unsaturation degree of lipid system and temperature on antioxidant acitivity of tert-Butylhydroquinone (TBHQ)

Mahdavianmehr, H. [1], Farhoosh, R. [2*], Sharif, A. [3]

1. Ph.D Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad .
2. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
3. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.

(Received: 2016/04/28 Accepted: 2016/06/25)

In order to study the net effects of unsaturation of lipid system and temperature on antioxidant activity in this research, used triacyleglycerols from fish, canola and olive oil (without other antioxidant and proxidant) with difference degree of unsaturation at temperature 60-100 in presence concentration 0,0.01% and 0.02% TBHQ. Increased the portion of mono-unsaturated fatty acid than polyunsaturated fatty acid from fish, canola and olive (1.87, 2.28 and 5.78, respectively) caused to decreased oxidation rate in absence of TBHQ (15.24, 7.23 and 0.006 meq g^{-1} h^{-1}, in 60). Increased the temperature caused to rise proxide accumulation in all lipid systems, the highest increased related to olive, then fish triacylglycerol from 60 to 80. The hishest and lowest effectiveness and activity of TBHQ observed in 0.02% at 60 (44.47 ,46521.52) and 0.01% at 100 (6.86, 201.84) in canola and fish, respectively. The results showed that increased temperature from 60 to 80 in fish oil (high degree of polyunsaturation system) rise about more than 2 fold proxide accumulation than other systems and temperatures. In addition the results showed that effects of degree of unstauration system and temperature have considerable effect on activity of antioxidant.

Keywords : Canola, Kilika fish, TBHQ, Triacylglycerol, Olive

* Corresponding Author E-Mail Address: RFarhoosh@um.ac.ir

www.SID.ir