فصلنامه علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال اول، شماره ۲، پاییز ۱۳۸۵ ، صفحات ۳۵ تا ۴۴

تاثیر مخلوط آنتی اکسیدان های طبیعی بر پایداری اکسیداتیو مارگارین

مریم عزیزخانی [۱] ، پروین زندی [۲] ، ایرج گائینی [۳]، حامد صفافر [۴]، زهرا اخوان عطار [۵]

۱- نویسنده مسئول: کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، پست الکترونیکی: maryam_azizkhani@yahoo.com
۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۳- مربی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۴- مشاور آزمایشگاه ملی دانه های روغنی و زیتون
۵- کارشناس آزمایشگاه دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ دریافت: ۸۵/۴/۱۴ تاریخ پذیرش: ۸۵/۶/۲۰

چکیده

سابقه و هدف: پایداری اکسیداتیو روغنها و چربیها و فراورده‌های غذایی پُرچرب تحت تاثیرعوامل مختلفی مانند اکسیژن، نور، حرارت، یون‌های فلزی و آنزیم ها قرار می‌گیرد و در نهایت فساد اکسیداتیو رخ می دهد. کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی برای به تاخیر انداختن فساد اکسیداتیو، با وجود داشتن کارآیی بالا، به دلیل احتمال سمیت و سرطان‌زایی، زیر سؤال قرار گرفته است. هدف از این تحقیق،کاربرد مخلوطی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بود که بیشترین پایداری اکسیداتیو را برای مارگارین فراهم کند، عمر انباری آن را افزایش دهد و بتواند جایگزین آنتی اکسیدان سنتزی ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ) شود.

مواد و روشها: نمونه مارگارین با کمتر از ۰/۱٪ اسید چرب ترانس(۰/۰۸۹٪) و ارزش تغذیه‌ای بالا (P/S+T= ۲/۳۴) و ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی مطلوب تولید شد. تیمارهای آنتی اکسیدانی به کار رفته شامل ۱۰ مخلوط مختلف (F_1- F_{10}) حاوی توکوفرول‌ها (Toc) ، آسکوربیل پالمیتات (AP) ،عصاره رزماری(Ros) ولسیتین (Lec) بود که همراه با یک نمونهٔ بدون آنتی‌اکسیدان به عنوان شاهد(F_0) و یک نمونه حاوی TBHQ (F_{11}) مورد مطالعه قرار گرفتند. ماندگاری نمونه های مارگارین با نگهداری آنها در گرمخانه $60^{\circ}C$ به مدت ۲۵ روز و اندازه‌گیری عدد پراکسید(PV) و عدد آنیسیدین(AV) ، اندازه‌گیری دوره القایی (Induction period) در رنسیمت در$110^{\circ}C$ و نیز نگهداری در یخچال ($4^{\circ}C$) به مدت ۱۴ هفته و سنجشPV بررسی شد. رتبه بندی تیمارهای آنتی‌اکسیدانی بر اساس مدت زمان لازم برای رسیدن به عدد پراکسید ۲۰meq/kg در$60^{\circ}C$ و عدد پراکسید ۵ meq/kg در یخچال ($4^{\circ}C$) ، محاسبه فاکتور پایدارسازی با استفاده از نتایج آزمون رنسیمت و نیز ارزش اقتصادی تیمارها انجام شد.

یافته ها: اندازه گیریPV وAV در آزمون گرمخانه($60^{\circ}C$) در مورد اکثر تیمارها دارای هماهنگی بود و می‌توان به صورت $F_2> F_8>F_{10}$ بیان کرد. در بکارگیری معیار مدت زمان لازم برای رسیدن به عدد پراکسید ۲۰meq/kg دو تیمار $F_7> F_{10}$ اختلاف آماری معنی‌داری با F_{11} نداشتند($p>0/05$). رتبه بندی بر اساس فاکتور پایدارسازی تیمارها، برتری و تفاوت آماری معنی‌داری را میان فعالیت آنتی‌اکسیدانی$F_9>F_{10}>F_{11}$با سایر نمونه ها نشان داد($p<0/05$).مدت زمان لازم برای رسیدن به PV= ۵meq/kg در$4^{\circ}C$ در تیمارهایF_2،F_5، F_9، F_{10} و F_{11} اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشت و این تیمارها نسبت به سایرنمونه ها برتر بودند($p<0/05$). ماندگاری نمونه ها در دمای$4^{\circ}C$ بین یک ماه (F_0 ، F_1 وF_7) و سه ماه (F_{10} وF_{11}) متغیر بود. رتبه بندی نهایی تیمارهای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به این صورت بود: F_7، $F_6> F_4$، F_3، $F_1> F_8$ ، F_9، $F_5> F_{10}> F_2$.

نتیجه‌گیری: با در نظرگرفتن اثرات منفی مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بر سلامت مصرف کنندگان و همچنین با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و معیارهای رتبه بندی، می توان تیمارهایF_2 (۲۰۰ppm AP+۲۰۰ppm Ros) وF_{10} (Toc+۲۰۰ppm Ros + ۱۰۰۰ ppmLec) ۲۰۰ppm) را به عنوان جانشین TBHQ برای حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری مارگارین و ادامه کار در مقیاس وسیع تر پیشنهاد نمود.

واژگان کلیدی: مارگارین، پایداری اکسیداتیو، ماندگاری، آنتی اکسیدان طبیعی

Archive of SID
www.SID.ir

• مقدمه

مارگارین که امروزه جای خود را در سفره ایرانی باز کرده است، یک امولسیون آب در چربی و شامل حداقل ۸۰٪ چربی،حداکثر ۱۶٪ آب و۴٪ ترکیبات افزودنی است. در طول نگهداری روغنها، چربیها و مواد غذایی حاوی روغن، اکسیداسیون لیپیدها، علت اصلی اُفت کیفیت ماده غذایی است.مارگارین نیز به علت بالا بودن محتوای چربی آن از این قاعده مستثنی نیست. به همین دلیل، افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها برای جلوگیری از آغاز و پیشرفت فساد اکسیداتیو و افزایش عمر نگهداری روغنها و چربیها و مواد غذایی حاوی چربی ضروری است(۵-۱).

تحقیقات متعددی، تاثیرگذاری آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مختلف را بر پایداری اکسیداتیو سیستم های غذایی، بررسی کرده‌اند. آلفا، گاما و دلتاتوکوفرول‌ها(Toc)، در روغنهای گیاهی وجود دارند و آنتی اکسیدان های طبیعی اصلی در این روغنها هستند(۶ ،۷). در میان گیاهان علفی توجه زیادی به رزماری(Ros) از تیره نعناع معطوف شده است. از آنجا که عصاره رزماری، لیپوفیل است، برای جلوگیری از اکسیداسیون روغنها، چربیها و موادغذایی حاوی چربی به کار می‌رود(۸،۶). زندی و احمدی (2000) در تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی۸ گونه از گیاهان تیره نعناع نشان دادند که عصاره رزماری در بین گونه های مورد بررسی، موثرترین آنتی اکسیدان در پایدارسازی اکسیداتیو روغن است(۹).

لسیتین(Lec) که عموماً توسط تولیدکنندگان مواد غذایی به عنوان امولسیون کننده به کار می‌رود، می‌تواند دیسپرسیون سایر آنتی‌اکسیدان‌های فعال در سیستم‌های امولسیونی را بهبود بخشیده وانتشار رادیکال‌های آزاد را در محیط محدود کند. تقابل سینرژیستی لسیتین‌ها با آنتی‌اکسیدان‌های فنولیک نیز مشاهده شده است (۱۰، ۱۱). زندی و شفقت احمدی (۱۳۶۶) نشان دادند که می‌توان برای نگهداری دراز مدت روغنهای نباتی مایع از مخلوط ppm۱۰۰ ترت‌بوتیل هیدروکینون (TBHQ) و ppm۵۰۰ Lec استفاده کرد (۱۲). آسکوربیل پالمیتات (AP) آنتی‌اکسیدانی است که معمولا" برای جلوگیری از اکسیداسیون روغنها و چربیهای حساس به اکسیداسیون در مواد غذایی به کار می‌رود، AP قابلیت انحلال پایینی در روغنها دارد، اما می‌توان این ویژگی را با افزودن لسیتین بهبود بخشید(۷). زندی و همکاران (۱۳۸۵) فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۱۶ گونه بومی جنس Salvia از تیره نعناع را در روغن مایع سویا ارزیابی و با آنتی‌اکسیدان‌های متداول در صنعت، مقایسه و گونه‌های برتر را معرفی نمودند. ترتیب فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات متداول عبارت بود از: TBHQ>AP>Ros>BHT (۱۳). امروزه از انواع آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند TBHQ به علت قوی بودن، بیشتراستفاده می‌شود. کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی با وجود داشتن کارآیی بالا، به دلیل احتمال سمیت، متابولیسم وجذب و تجمع در بافت‌های بدن و سرطان‌زایی، زیر سؤال قرار گرفته است (۱۴،۶).

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی که امروزه از نظر فنی بیشترین کاربرد را در صنایع روغن دارند، عبارتند از: توکوفرول‌ها، آسکوربیل پالمیتات، عصاره رزماری و لسیتین‌ها. از آنجا که اکسیداسیون لیپیدها به دنبال مجموعه‌ای پیچیده از مکانیسم‌ها رخ می‌دهد و هیچ آنتی‌اکسیدانی به تنهایی قادر به جلوگیری از همه مراحل اکسیداسیون و دور نگه‌داشتن اکسیژن نیست، می‌توان از مخلوط آنتی‌اکسیدان‌ها برای ایجاد یک تأثیر سینرژیستی استفاده کرد(۶، ۱۰،۱۵). تحقیقات Frankel و همکاران (1994) نشان داد که مخلوط α-Toc و آسکوربیک اسید در پایداری اکسیداتیو روغنها و مخلوط α-Toc و AP در سیستم‌های امولسیونی موثر است(۱۶).

با توجه به اهمیت و نقش چربیهای خوراکی در سلامت انسان، آسیب پذیر بودن این گروه از مواد غذایی در برابر فساد اکسیداتیو، تأثیرات سوء آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بر سلامت مصرف کنندگان و افزایش آگاهی آنان درباره مضرات مصرف ترکیبات سنتزی و نوپا بودن تولید و مصرف مارگارین در خانواده‌های ایرانی، باید سعی بر این باشد که زیربنای تولید این محصول نسبتاً جدید در بازار ایران را از ابتدا درست بنیان نهاده شود و ضمن

Archive of SID

www.SID.ir

معرفی مارگارین به عنوان جانشینی برای کره، محصولی به مصرف کنندگان عرضه شود که از هر نظر، سالم بوده و آنها را به تداوم استفاده از این فراورده به جای کره تشویق کند.

با توجه به اینکه اغلب پژوهش های انجام شده در مورد استفاده از آنتی‌اکسیدانهای طبیعی در روغنهای خوراکی بوده است، هدف از این تحقیق، کاربرد مخلوط آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است که پایداری اکسیداتیو لازم را برای مارگارین فراهم کنند، به طوری که بتوانند جایگزین آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در مارگارین شوند.

• مواد و روشها

نمونه‌ها و مواد مورد استفاده: روغنهای نباتی اولیه مورد استفاده برای تهیه نمونه‌های مارگارین شامل روغن آفتابگردان بدون آنتی اکسیدان (خنثی، بی رنگ و بی بو شده) از شرکت "کشت و صنعت شمال" و روغن پالم استئارین بدون آنتی اکسیدان(خنثی، بی رنگ و بی بو شده) از شرکت PORIM مالزی تهیه شدند.

مخلوط توکوفرول(آلفا،دلتا وگاما)، آسکوربیل پالمیتات، عصاره رزماری، TBHQ و امولسیفایر همودان از شرکت Danisco (دانمارک)، لسیتین سویا از شرکت ADM (Archer Daniels Midlands) ، اسید سیتریک و سوربات پتاسیم از شرکت Merck، محلول بتاکاروتن در روغنهای خوراکی از شرکت Roche (سوئیس)، ویتامین‌های D_3وA از BASF (آلمان)، کازئینات سدیم از شرکت "کازئینات ایران"، کلرید سدیم از شرکت "ایران املاح"، شیر خشک کم‌چربی از شرکت "مغان ایران" و اسانس دی استیل از شرکت "روبرته ایران" تهیه شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده با درجه خلوص بالا و از کارخانه Merck بود.

تولید آزمایشگاهی نمونه‌های مارگارین با تیمارهای‌های آنتی‌اکسیدانی مختلف: نمونه های مارگارین با ۱۶٪ فاز آبی و حدود ۸۰٪ فاز روغنی تولید شدند. فاز روغنی شامل روغنهای آفتابگردان و پالم استئارین(۸۰:۲۰)، امولسیفایر، محلول بتاکاروتن، اسانس، ویتامین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها بود. آنتی اکسیدان‌ها پس از توزین به فاز روغنی اضافه و توسط همزن در این فاز، پخش شدند. تیمارهای آنتی اکسیدانی مورداستفاده عبارت بودند از:

F_0: بدون آنتی‌اکسیدان یا شاهد،

F_1: ۱۰۰ ppmAP +۵۰۰ppmToc

F_2: ۲۰۰ ppmAP +۲۰۰ppmRos

F_3: ۲۰۰ppmRos +۲۰۰ ppmToc

F_4: ۱۰۰ppmRos+۲۰۰ppmToc +۲۰۰ ppmAP

F_5: ۱۰۰۰ppmLec +۱۰۰ppmToc

F_6: ۱۰۰۰ ppmLec +۲۵۰ppm Toc

F_7: ۱۰۰۰ ppmLec +۵۰۰ppm Toc

F_8: ۱۰۰ ppmAP+۵۰۰ppm Toc+ ۱۰۰۰ppm Lec

F_9: ۲۰۰ ppmRos+۱۰۰ ppmAP+۱۰۰۰ppm Lec

F_{10}: ۲۰۰ ppmRos+۲۰۰ppm Toc+ ۱۰۰۰ppm Lec

F_{11}: (۱۲۰ ppm TBHQ).

فاز آبی شامل آب، نمک، شیر خشک، سوربات پتاسیم، اسید سیتریک و کازئینات سدیم بود. فاز روغنی و آبی در دمای ۴۰-۴۵°C با هم مخلوط شدند و پس از تشکیل امولسیون، عمل سرد کردن و ورز دادن تا حصول بافت مناسب انجام شد.

بسته بندی مارگارین در داخل ظروف یکبار مصرف ۲۵۰ گرمی از جنس پلی اتیلن که قبلاً شسته و ضدعفونی شده بودند، انجام شد و محصول بسته بندی شده بلافاصله به فریزر با دمای ۱۸°C- منتقل شد تا کریستالیزاسیون آن تکمیل و کاملاً منجمد شود. مدت زمان مناسب برای تکمیل کریستالیزاسیون در این دما ۴۸ ساعت بود. آزمونهای عدد پراکسید، عدد آنیسیدین، عدد اسیدی، عدد یدی، نقطهٔ ذوب و تعیین ترکیب اسیدهای چرب روی نمونه‌های تهیه شده انجام شد.

آزمون گرمخانه گذاری(Oven test) در ۶۰°C: فاز روغنی نمونه‌ها (از هر تیمار ۳ نمونه) داخل بشر ۴۰۰mlدر گرمخانه ۱°C ± ۶۰ به مدت ۲۵ روز قرار داده شد. عدد پراکسید و عدد آنیسیدین نمونه‌ها در روزهای صفر، ۵ ، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ اندازه‌گیری شد (۱۶،۶) .

آزمون رنسیمت در ۱۱۰°C : برای تعیین دوره القایی (Induction period) فاز روغنی نمونه های مارگارین از دستگاه رنسیمت (Metrohm 679 سوئیس) در

Archive of SID

www.SID.ir

۰/۲°C ±۱۱۰ استفاده شد(۸،۶). تاثیرگذاری مخلوط‌های آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی را می توان به صورت فـاکتور پایدارسازی یـا SF (Stabilization factor) نیـز محاسـبه کرد(۱۸،۶):

$SF=IPinh/ IP_0$

IPinh دوره القایی درحضور آنتی اکسیدان (بازدارنده اکسیداسیون) وIP_0 دوره القایی نمونه شاهد است.

آزمون ماندگاری نمونه‌های مارگارین در یخچال (۴°C): عمر انباری نمونه های مارگارین در روز تولید و سپس به ترتیب ۲، ۴، ۸، ۱۲و ۱۴ هفته پس از تولید طی دوره نگهداری در یخچال (۱°C ±۴)، با اندازه‌گیری عدد پراکسید بررسی شد.

روشهای آزمون: عدد پراکسید، عدد آنیسیدین، عدد اسیدی، عدد یدی و نقطهٔ ذوب با استفاده از روشهای رسمی AOCS (1997) تعیین شد. برای تعیین ترکیب اسیدهای چربِ روغنهای اولیه و فاز روغنی نمونه مارگارین شاهد از گاز کروماتوگراف مدل Varian 3800/Autosampler مجهز به آشکارکننده شعله‌ای (FID) با دمای ۲۷۰°C و ستون موئین (Cp splitter-88 Fame) با ابعاد ۰/۲۵mm ×۰/۲۵ µm ×۱۰۰m و دمای محل تزریق ۲۵۰°C ، فشار گازحامل ۲۷۰ کیلو پاسکال، سرعت جریان ۰/۶ میلی‌لیتر در دقیقه و دمای گرمخانه۱۷۵°C مطابق روش ISO(2002) استفاده شد. گاز نیتروژن به عنوان گاز حامل به کار رفت. اندازه‌گیری به صورت ایزوترمال انجام شد (۱۸،۱۷).

رتبه‌بندی تیمارهای آنتی‌اکسیدانی: رتبه‌بندی تیمارهای آنتی‌اکسیدانی بر اساس مدت زمان لازم برای رسیدن به عدد پراکسید ۲۰meq/kg در۶۰°C(۲۱،۲۰،۶) با استفاده از شکل۲ و عدد پراکسید ۵ meq/kg در یخچال در ۴°C (۱) از شکل ۵ و همچنین نتایج آزمون رنسیمت (۱۱۰°C) و محاسبه فاکتور پایدارسازی (۲۳،۲۲،۶) انجام شد. جنبه‌های اقتصادی کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با توجه به قیمت آنها در بازار مدّ نظر قرار گرفت.

روشهای آماری: تمام آزمایشات در سه تکرار انجام شد. نتایج به دست آمده برای عدد پراکسید و عدد آنیسیدین با آزمون student's t-test و نتایج مربوط به دوره القایی و فاکتور پایدارسازی و معیارهای رتبه‌بندی با آزمون Mann-Whitney، تجزیه و تحلیل آماری شدند. هر دو آزمون در سطح اطمینان ۹۵٪ قرار گرفتند.

• یافته ها

ویژگیهای کیفی روغنهای اولیه و مارگارین: ویژگیهای کیفی شامل عدد پراکسید، عدد آنیسیدین، عدد اسیدی، عدد یُدی، نقطه ذوب و ترکیب اسیدهای چرب روغنهای اولیه و نمونه مارگارین شاهد در جدول۱ و شکل۱ ملاحظه می شود.

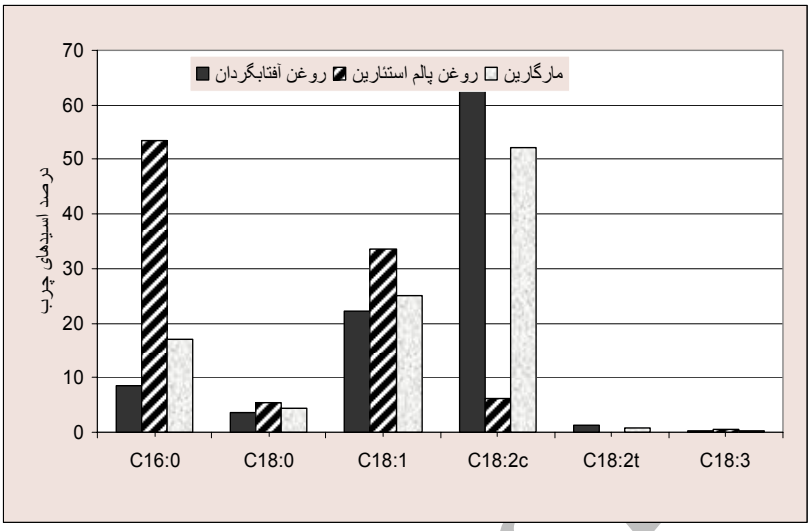
نتایج آزمون گرمخانه (Oven test)**در** ۶۰°C : بررسی تغییرات عدد پراکسید و عدد آنیسیدین (شکلهای۲و۳) فاز روغنی نمونه های مارگارین حاوی تیمارهای مختلف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، TBHQ و نمونه شاهدِ نگهداری شده در گرمخانه ۶۰°C (جدول۲) و ارزیابی نتایج آماری آنها در دوره بیست و پنج روزه نشان می‌دهد که تیمارهای آنتی اکسیدانی $F_{۲}$ ، $F_{۵}$ ، $F_{۹}$ ، $F_{۱۰}$ و $F_{۱۱}$ (TBHQ) نسبت به سایر تیمارها، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشتند($p <$ ۰/۰۵). بررسی مدت زمان رسیدن به عدد پراکسید۲۰ meq/kg در گرمخانه ۶۰°C که برای رتبه بندی تیمارهای آنتی اکسیدانی تعیین شد، نشان می‌دهد که تیمارهای$F_{۲}$ و $F_{۸}$ ($p >$ ۰/۰۵) و سپس، تیمارهای$F_{۷}$ ،$F_{۱۰}$ و $F_{۱۱}$ ($p>$۰/۰۵) دیرتر از سایر نمونه‌ها به عدد پراکسید ۲۰ meq/kg رسیدند ($p <$ ۰/۰۵).

جدول ۱- ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی روغنهای اولیه و مارگارین شاهد

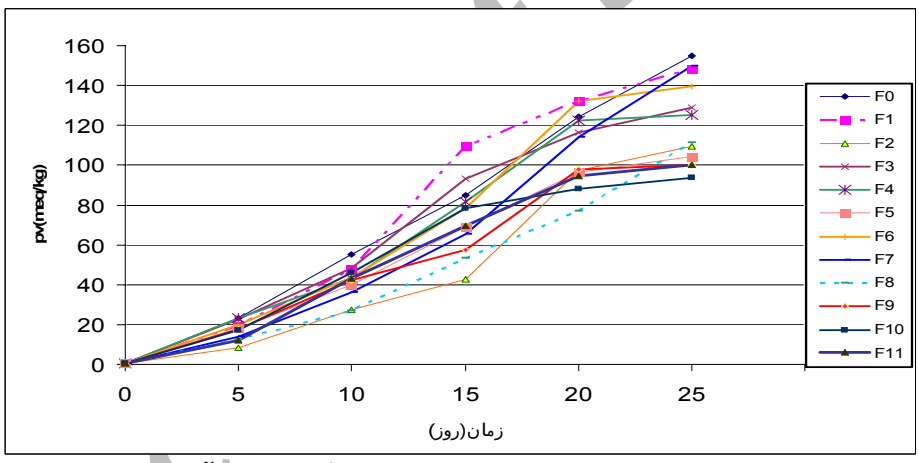
نمونه	ویژگی	عدد پراکسید (meq/kg)	عدد آنیسیدین	عدد یدی (g/100g)	عدد اسیدی (mg/g)	نقطه ذوب (°C)
روغن آفتابگردان		۰/۲ ±۰ /۰۳۵	۱/۲۴ ±۰ /۰۰۲	۱۳۱/۸۷ ±۰ /۷۸	۰/۰۴ ±۰ /۰۰۳	-
روغن پالم استئارین		۰/ ۷۵±۰ /۰۵۴	۲/۰۴ ±۰ /۰۰۶	۳۸/۶۵ ±۰ /۱۹	۰/۰۱±۰ /۰۰۰۴	۴۹±۰/۲۲
مارگارین		۰/۴±۰/۰۴	۱/۵۰ ±۰ /۰۰۳	۱۱۱/۵ ±۰ /۴۵	۰/۰۳± ۰/۰۰۲۵	۳۶/۵±۰/۱۶

Archive of SID

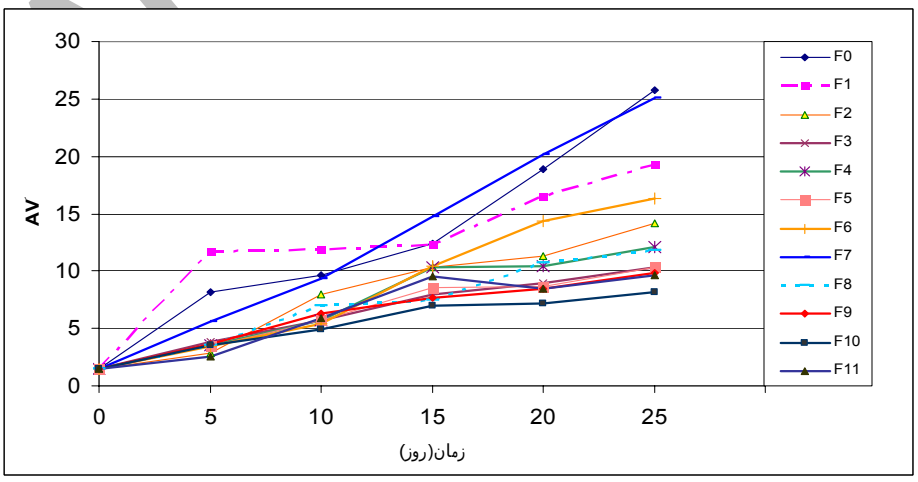
www.SID.ir



شکل ۱- ترکیب اسیدهای چرب روغنهای اولیه مورد استفاده در فرمولاسیون (٪) و فاز روغنی نمونه مارگارین شاهد



شکل۲- تغییرات عدد پراکسید فاز روغني نمونه‌هاي مارگارین حاوي آنتي اکسیدان هاي طبیعي،TBHQ و نمونه شاهد در ٦٠ ° C



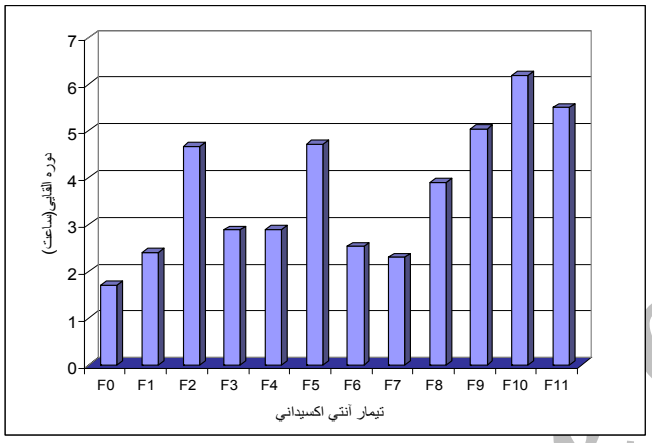
شکل۳- تغییرات عدد آنیسیدین فاز روغني نمونه هاي مارگارین حاوي آنتي اکسیدان‌هاي طبیعي، TBHQ و نمونه شاهد در ٦٠ ° C

www.SID.ir

نتـایج آزمـون رنـسیمت در۱۱۰°C : ارزیـابی پایـداری اکسیداتیو یا دوره القایی (شکل۴) و فـاکتور پایدارسـازی نمونه‌های مارگارین بـه روش رنـسیمت در ۱۱۰±۰/۲°C (جدول۲) و ارزیابی نتایج آماری آنها نشان می دهد که در سطح اطمینان ۹۵٪ تفاوت معنی داری میـان تیمارهـای آنتی‌اکسیدانیF_9 و F_{10} با F_{11} وجود ندارد ($p>0/05$). و پس از آن تیمارهـای F_2 و F_8 فعالیـت آنتـی اکـسیدانی بیشتری نسبت به بقیه تیمارها داشتند ($p < 0/05$).

نتایج تعیین مانـدگاری نمونـه‌هـای مارگـارین در ۴°C: بررسی و ارزیابی نتایج آماری عدد پراکـسید نمونـه‌هـا در یخچـال تـا رسـیدن بـه عـدد پراکـسیدِ نـشانگر فـساد (5meq/kg) جهت تعیین عمر انباری نمونه‌های مارگارین (شکل۵) تفـاوت معنـی‌داری را در سـطح اطمینـان ۹۵٪ میان تیمارهای آنتی اکسیدانی طبیعی شاملF_2، F_5، F_9 و F_{10} با F_{11} نشان نداد ($p >0/05$).

نتایج رتبه بندی تیمارهای آنتـی‌اکـسیدانی: نتـایج بـه دست آمـده مربـوط بـه معیارهـای مـورد اسـتفاده بـرای رتبه‌بندی بر اساس مدت زمان رسیدن به عدد پراکسید ۲۰meq/kg در۶۰°C و عـــدد پراکـــسید 5meq/kg در۴°C، فـاکتور پایـدار سـازی در رنـسیمت (SF) و همچنین جنبه‌های اقتصادی کاربرد آنتی‌اکـسیدان‌هـا در جدول۲ ارائـه شـده اسـت. نتـایج رتبـه‌بنـدی تیمارهـای آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با شاهد و TBHQ در جـدول۳ ملاحظه می‌شود. ارقام ستون "رتبه" مجموع رتبه‌های به دست آمده از سه ستون اول اسـت و ارزش اقتـصادی در نظر گرفتـه نـشده اسـت، ولـی در "رتبـه نهـایی" جنبـه اقتصادی نیز مدّ نظر قرار گرفته است.



شکل٤- دوره القايي فاز روغني نمونه هاي مارگارين حاوي آنتي اكسيدانهاي طبيعي، **TBHQ** و نمونه شاهد در دستگاه رنسيمت در ۱۱۰°C

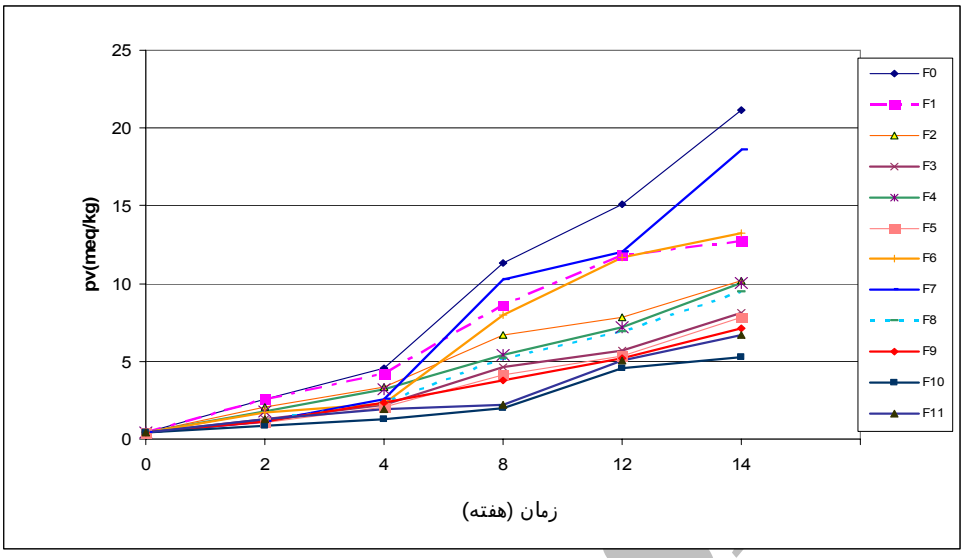
جدول۲- معیارهای مورد استفاده در رتبه بندی تیمارهای آنتی اکسیدانی

معیار تیمارآنتي اكسيداني	مدت زمان رسیدن به PV= ۲۰meq/kg در ۶۰ ° C (روز)	فاکتور پایدارسازی (SF)در ۱۱۰ ° C	مدت زمان رسیدن به PV= ۵meq/kg در ۴ ° C(روز)	هزینه هر تیمار (ریال)
F۰(شاهد)	^{a}٤*	^{a}۱	^{a}۲۹	^{a}۰
F۱	^{a}٤/۹۸	^{a}۱/٤۱	^{a}۳٤	^{b}٦۰
F۲	^{b}۸	^{b}۲/۷٤	^{b}۷۱	^{b}٤۰
F۳	^{a}٤/۳	^{a}۱/٦۹	^{a}٤٥	^{b}٤۰
F٤	^{a}٤/۱	^{a}۱/۷۰	^{a}٥۰	^{b}٥۰
F٥	^{a}٥	^{b}۲/۷۷	^{c}۸٤	^{b}٦۰
F٦	^{a}٤/۹٥	^{a}۱/٤۸	^{a}٤٤	^{c}۷٥
F۷	^{c}٦/۱	^{a}۱/۳٥	^{a}۳۸	^{d}۱۰۰
F۸	^{b}۸	^{b}۲/۲۸	^{b}٥٦	^{d}۱۱۰
F۹	^{a}٥/۱	^{c}۲/۹٦	^{c}۸٤	^{c}۸۰
F۱۰	^{c}٦	^{c}۲/٦۳	^{c}۹۹	^{c}۹۰
F۱۱	^{c}٦/۲	^{c}۲/۲۳	^{c}۹۰	^{b}٤۰

*حروف غیر یکسان نشان دهنده اختلاف آماري معني دار در سطح P<۰/۰٥ در هر ستون است.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل۵- تغییرات عدد پراکسید فاز روغنی نمونه های مارگارین حاوی آنتی اکسیدان های طبیعی، TBHQ و نمونه شاهدِ نگهداری شده در یخچال(C ° ۴)

جدول ۳- رتبه بندي* تيمارهاي آنتي اكسيداني

ويژگي / تيمار آنتي‌اكسيداني	رتبه در آزمون گرمخانه (C ° ٦٠)	رتبه فاكتور پايدارسازي (SF) (C ° ١١٠)	رتبه در آزمون ماندگاري در يخچال(C ° ٤)	رتبه	رتبه در جنبه اقتصادي	رتبه نهايي
F٠(شاهد)	٣	٣	٣	٩	-	-
F١	٣	٣	٣	٩	١	١٠
F٢	١	٢	٢	٥	١	٦
F٣	٣	٣	٣	٩	١	١٠
F٤	٣	٣	٣	٩	١	١٠
F٥	٣	٢	١	٦	١	٧
F٦	٣	٣	٣	٩	٢	١١
F٧	٢	٣	٣	٨	٣	١١
F٨	١	٢	٢	٥	٣	٨
F٩	٣	١	١	٥	٢	٧
F١٠	٢	١	١	٤	٢	٦
F١١	٢	١	١	٤	١	٥

*عدد یک به عنوان بهترین ویژگي در هر ستون در نظر گرفته شده است.

• بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که ترکیب اسیدهای چرب فاز روغنی مارگارینِ فرموله شده شامل ۲۱/۵۸ درصد مجموع اسیدهای چرب اشباع (S)، ۲۴/۹۸درصد اسید اولئیک(تک غیراشباعی یا M)،۵۲/۶۴ درصد اسیدهای چرب چند غیراشباعی یا P، ۰/۸۹ درصد اسیدچرب ترانس(T) و ارزش تغذیه‌ای بالا (P/S+T=۲/۳۴) بود. این مارگارین فرموله شده از ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی مطلوبی هم برخوردار بود (۱).

در روز پنجم گرمخانه‌گذاری در$60^{\circ}C$ (شکل۲)، عدد پراکسید فاز روغنیF_2 (۸/۱۹meq/kg) نسبت به سایر

www.SID.ir

نمونه‌ها کمتر بود ($p<۰/۰۵$) و بعد از آن، فاز روغنی $F_{۱۱}$ و $F_{۸}$ (به ترتیب ۱۲/۱ meq/kg و۱۲/۴) کمترین عدد پراکسید را داشتند ($p<۰/۰۵$). بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی $F_{۸}$ و $F_{۱۱}$ در روز پنجم، از نظر آماری، تفاوت معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵٪ وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). در روزهای۱۰و ۱۵ نیز فاز روغنی تیمارهای $F_{۲}$، $F_{۸}$و $F_{۹}$ کمترین عدد پراکسید را به خود اختصاص دادند و در روزهای۲۰ و ۲۵ تیمارهای$F_{۲}$، $F_{۵}$ ، $F_{۱۰}$،$F_{۹}$ و $F_{۱۱}$ بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به سایر تیمارها نشان دادند ($p<۰/۰۵$). به طور کلی بررسی روند تغییرات عدد پراکسید فاز روغنی نمونه ها در طول ۲۵ روز گرمخانه‌گذاری نشان داد که $F_{۲}$(AP+Ros)، $F_{۸}$ (Toc+AP+Lec) و$F_{۱۰}$ (Ros+Toc+Lec) در میان سایر تیمارهای آنتی‌اکسیدانیِ طبیعی، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشتند ($p<۰/۰۵$). از بین دو تیمار $F_{۲}$ و $F_{۸}$ نیز، $F_{۲}$ با اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵٪ برتر از $F_{۸}$ بود($p<۰/۰۵$). در تحقیقات پژوهشگران دیگر نیز تیمارهای آنتی اکسیدانی شامل AP+Ros، Toc+AP+Lec و Ros+Toc+Lec فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای داشته‌اند (۸،۶).

بررسی روند تغییرات عدد آنیسیدین نمونه‌های مارگارین در طول ۲۵ روز گرمخانه‌گذاری (شکل۳) نشان داد که تیمارهای $F_{۹}$(Ros+AP+Lec)، $F_{۱۰}$. (Ros+Toc+Lec) و $F_{۱۱}$ نسبت به سایر نمونه ها بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشتند($p<۰/۰۵$) و نمونه حاوی تیمار $F_{۱۰}$.، با اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر نمونه‌ها، کمترین عدد آنیسیدین را به خود اختصاص داد ($p<۰/۰۵$). این نتایج با تحقیقات Chu و Hsu (1999) و Hras و همکاران (2000) مطابق است (۸،۶).

معیار مدت زمان رسیدن (بر حسب روز) به عدد پراکسید ۲۰meq/kg (جدول۲) که با دوره القایی روغن مطابقت دارد و طبق توافق عمومی در بالاتر از این نقطه، روغن و ماده غذاییِ چرب، دچار فساد (Rancidity) می‌شود، برای ارزیابی دقیق‌تر فعالیت آنتی‌اکسیدانی تیمارها به‌کار رفت (۲۳،۲۱،۶). در این زمینه، بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به تیمارهای$F_{۲}$ و $F_{۸}$ تعلق داشت که با تیمار$F_{۱۱}$ دارای اختلاف معنی‌داری از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵٪ بودند($p<۰/۰۵$). فاز روغنی این دو تیمار بعد از ۸ روز به عدد پراکسید ۲۰meq/kg رسید. تیمارهای $F_{۲}$ و $F_{۸}$ به ترتیب شامل Ros+AP و Toc+AP+Lec بودند. مطابق تحقیقات سایر پژوهشگران Ros بر AP تاثیر سینرژیستی داشته، افزودن لسیتین قابلیت انحلال AP را در فاز روغنی افزایش داده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن را تقویت کرده است. از طرفی Lec تاثیر سینرژیستی مثبتی روی Toc دارد(۸،۶). تیمارهای آنتی‌اکسیدانی $F_{۱}$ ، $F_{۳}$، $F_{۴}$، $F_{۶}$،$F_{۷}$ و $F_{۹}$ فعالیت کمتری داشتند. دو تیمار $F_{۷}$ و $F_{۱۰}$. اختلاف آماری معنی‌داری با تیمار $F_{۱۱}$ (TBHQ) نداشتند.

ارزیابی پایداری اکسیداتیو (دوره القایی) نمونه‌های مارگارین به روش رنسیمت (۱۱۰°C) وارزیابی نتایج آماری آنها نشان داد که در سطح اطمینان ۹۵٪ تفاوت معنی‌داری میان تیمارهای آنتی اکسیدانی $F_{۹}$ و $F_{۱۰}$. با $F_{۱۱}$ وجود نداشت($p>۰/۰۵$) و پس از آن، تیمارهای $F_{۲}$ و $F_{۸}$ فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به بقیه تیمارها داشتند($p<۰/۰۵$). نتایج به دست آمده با نتایج تحقیقات Chu و Hsu (1999) و Judde و همکاران (2003) مطابقت دارد (۲۴،۸).

برای به دست آوردن معیاری مناسب جهت مقایسه فعالیت تیمارهای آنتی‌اکسیدانی، در آزمون رنسیمت، SF آنها محاسبه (جدول۲) و در رتبه‌بندی تیمارها به کار رفت. SF تیمارهای $F_{۹}$ ، $F_{۱۰}$. و $F_{۱۱}$ تفاوت قابل ملاحظه‌ای با هم نداشتند($p>۰/۰۵$) و از سایر تیمارها بالاتر بودند($p<۰/۰۵$). تیمارهای $F_{۲}$ ، $F_{۵}$ و $F_{۸}$ نتیجه مشابهی داشتند($p>۰/۰۵$) و نسبت به سه تیمار قبلی، رتبه دوم را کسب کردند. بقیه تیمارها شامل$F_{۱}$، $F_{۳}$، $F_{۴}$، $F_{۶}$ و $F_{۷}$ در این آزمون، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای نشان ندادند. این نتیجه با پژوهش Hras و همکاران(2000) و Chu و Hsu (1999) همخوانی دارد (۸،۶). عدد پراکسید فاز روغنی برخی از نمونه‌های مارگارین پس از گذشت ۸ هفته به نقطه دور ریز (۲،۱) رسید (نمونه های $F_{۱۰}$.، $F_{۱}$ ، $F_{۳}$، $F_{۴}$ ، $F_{۶}$ و $F_{۷}$). در حالی

Archive of SID

www.SID.ir

که نمونه‌های F_2 ، F_5، F_9 ، F_{10} و F_{11} پس از این مدت، هنوز قابل مصرف بودند. مدت زمان رسیدن به پراکسید ۵ meq/kg در ۴°C (جدول۳)، در فاز روغنی تیمارهای F_2، F_5، F_9، F_{10} و F_{11} از نظر آماری اختلاف قابل ملاحظه‌ای با یکدیگر نداشت ($p>0/05$) و نسبت به سایر تیمارها با اختلاف آماری معنی‌داری، برتر بودند ($p<0/05$). ماندگاری نمونه های مارگارین در دمای ۴°C بین یک ماه (شاهد، F_{10} و F_7) و سه ماه (F_{10} و F_{11}) متغیر بود.

نتایج حاصل از این تحقیق مشخص نمود که بعضی از مخلوط‌های آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را می‌توان به عنوان جانشین آنتی‌اکسیدان سنتزیTBHQ در مارگارین به کار برد و علاوه بر حذف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی که در بافتها و اندامها تجمع یافته و احتمال دارد باعث ایجاد سرطان و تومور شوند، عمر انباری مارگارین را نیز افزایش داد. نتایج آزمونهای انجام شده روی نمونه‌های مارگارین حاوی انواع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، TBHQ و شاهد دارای هماهنگی و تطابق قابل قبولی بود. تیمارهای F_1، F_3، F_4، F_6 و F_7 نسبت به سایر تیمارها کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشتند. عمر انباری این تیمارها در ۴°C کمتر از دو ماه بود و این نمونه ها زودتر از بقیه به حد غیر قابل مصرف رسیدند. همچنین این نمونه‌ها زودتر از سایر نمونه‌ها به عدد پراکسید ۲۰meq/kg در ۶۰°C رسیده و در ۱۱۰°C کمترین پایداری اکسیداتیو را نشان دادند. تیمار F_5 ماندگاری محصول را در ۴°C به ۱۲ هفته نزدیک ساخت و درآزمونهای دیگر نیز فعالیت قابل قبولی داشت. تیمار های F_8 و F_9 نسبت به تیمارهای ذکر شده در بالا، فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری داشتند.

رتبه بندی نهایی تیمارهای آنتی اکسیدان‌های طبیعی به صورت زیر است(جدول۳):

$F_2 > F_{10} > F_5 ، F_9 > F_8 > F_1 ، F_3 ، F_4 > F_6 ، F_7$.

با در نظر گرفتن اثرات منفی مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بر سلامت مصرف کنندگان و با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و همچنین با عنایت به جنبه‌های اقتصادی می‌توان تیمارهای F_2 (۲۰۰ppm AP + ۲۰۰ppm Ros) و (F_{10} (۲۰۰ pp Toc+۲۰۰+ppmRos۱۰۰۰ FppmLec را به عنوان جانشین TBHQ جهت حفظ کیفیت مارگارین و برای ادامه کار در مقیاس وسیع‌تر پیشنهاد نمود.

سپاسگزاری

از خانم‌ها خدیجه خوش‌طینت و زهرا شریف زاده و آقای ابوالفضل الوند برای همراهی در اجرای پروژه و از مسئولان محترم مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران برای انجام آزمون رنسیمت تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

• منابع

۱. استاندارد ویژگی‌های مارگارین (کره نباتی). شماره ۱۴۳، انتشارات موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۷۸.

2. Codex Alimentarius CommissionCodex Standard for margarine,Codex stan32, Second Edition, 2001.
3. Robbins K,Sewalt V.Extending freshness with rosemary extract. Inform 2005;16(8):534-5.
4. Abdalla AE, Roozen JP.Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. Food Chem 1999; 64:323-9
5. O' Brien RD.Fats and oils: Formulation and processing for application .2nd edition, CRC Press; London & New York, 2004:235-474
6. Hras AR, Hadolin M, Knez Z, et al. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α- tocopherol, ascorbyl palmitate, and citric acid in sunflower oil.Food Chem 2000; 71:229-33.
7. Hamilton RJ ,Kula C, McNeill GP, et al.Effects of tocopherols, ascorbyl palmitate, and lecithin on autoxidation of fish oil.JAOCS 1998; 75(7):813-23
8. Chu YH,Hsu HF.Effects of antioxidants on peanut oil stability.Food Chem 1999;66:29-34.
9. Zandi P, Ahmadi L. Antioxidant effect of plant extracts of Labiatae family. J.Food Sci Tech 2000;37(4):436-439.
10. Koga T, Terao J.Phospholipids increase radical-scavenging activity of vitamin E in a bulk model system.J.Agric.Food Chem 1995; 43(6):1450-4
11. Saito H, Ishihara K.Antioxidant activity and active sites of phospholipids as antioxidants. JAOCS 1997; 74(12):1531-6.

Archive of SID

www.SID.ir

۱۲. زندی، پروین. شفقت احمدی،حشمت بانو.کاربرد آنتی اکسیدان ها در پایدار کردن روغن های نباتی ایران، مجموعه مقالات کنگره ملی نگهداری مواد غذایی۲۷-۲۵ مهر۱۳۶۶، دانشکده فنی،دانشگاه تهران،ص۲۳۱-۲۱۷.

۱۳. زندی، پروین. جمزاد، زیبا. خوش طینت، خدیجه و همکاران. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ۱۶ گونه بومی جنس سالویا. CDمجموعه مقالات دومین همایش و نمایشگاه بزرگ صنایع غذایی،۲۳-۲۰ شهریور ۱۳۸۵، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان.

14. Eskin NAM, Robinson DS.Food shelflife stability.CRC Press.London; 2001:178-82

15. Bandarra NM, Campos RM, Batista I, et al.Antioxidant synergy of α-tocopherol and phospholipids. JAOCS 1999; 76(8): 905-13

16 .Frankel EN, Huang SW, Kanner J, et al. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: Bulk oils vs emulsions.J.Agric.Food Chem 1994; 42(5), 1054-1059

17. AOCS Official methods and recommended practices,5th edition,Edited by Firestone D, AOCS, Champaign, 1997 Methods: Cd8-53, Cd 18-90, Cd 3d-63, Cd 1d-92, Cd 12d-92

18. ISO Animal and vegetable fats and oils- Analysis by gas chromatography of methyl esters of fatty acids, ISO 5508, 2002

19.ISO Animal and vegetable fats and oils-Preparation of methyl esters of fatty acids. ISO 5509, 2002

20. Zandi P, Gordon MH.Antioxidant activity of extracts from old tea leaves. Food Chem 1999; 64:285-8

21. Economou KD, Oreopoulou V, Thomopoulos CD.Antioxidant activity of some plant extracts of the family Labiatae.JAOCS; 1991,68(2),109-13

22.Yanishlieva NV, Marinova EM.Antioxidant effectiveness of some natural antioxidants in sunflower oil.Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und Forschung1996;203:220-3

23. Pokorny J, Yanishlieva NV, Gordon MH. Antioxidants in food.Boca Raton: CRC press; 2001: 342-44,360

24. Judde A, Villeneuve P, Castera AR, et al.Antioxidant effects of soy lecithins on vegetable oil oxidative stability and their synergism with tocopherols. JAOCS, 2003; 80(12):1209-15.

Archive of SID

www.SID.ir