سومین کنگره بین المللی علوم و صنایع غذایی، کشاورزی و امنیت غذایی

مقایسه عمر فروشگاهی ناشی از جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های آسکوربیل‌پالمیتات و توکوفرول به جای ترشیاری‌بوتیل‌هیدروکسی‌کینون (TBHQ) در روغن آفتابگردان

نویسنده اول (بتول عرب سرخی میشابی)

مدیر تحقیق و توسعه شرکت فرآورده‌های روغنی ایران (فریکو)

نویسنده دوم (الهام پورعبدالله)

کارشناس تحقیق و توسعه شرکت فرآورده‌های روغنی ایران (فریکو)

نویسنده سوم (سارا سلطانی)

کارشناس تحقیق و توسعه شرکت فرآورده‌های روغنی ایران (فریکو)

چکیده

اکسیداسیون به عنوان مهمترین فرآیند تخریب روغن‌های مایع سبب کاهش ارزش تغذیه‌ای، خصوصیات کیفیتی و مدت زمان ماندگاری روغن می‌شود. لذا همیشه به عنوان یک مشکل کیفی مهم در دنیا مطرح شده است. برای حل این مشکل، اضافه کردن آنتی‌اکسیدان‌ها به روغن یک امر اجتناب‌ناپذیر است. یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های مورد استفاده در صنعت روغن ترشیاری‌بوتیل‌هیدروکسی‌کینون (TBHQ) می‌باشد. در پی جایگزینی مناسب برای این آنتی‌اکسیدان، در این مطالعه از آنتی‌اکسیدان‌های D–آلفاتوکوفرول و آسکوربیل‌پالمیتات در روغن آفتابگردان استفاده شد و تاثیر این آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بر پایداری روغن آفتابگردان توسط فاکتور عمر فروشگاهی محصول تعیین شد. در مرحله نخست به منظور دستیابی به بهینه‌ترین غلظت، پایداری رنسیمت نمونه‌های روغن آفتابگردان با غلظت‌های متفاوت D–آلفاتوکوفرول و آسکوربیل‌پالمیتات ارزیابی شد. نتایج نشان دادند که نمونه‌های حاوی ۲۰۰ppm آسکوربیل‌پالمیتات به همراه ۱۰۰ppm از D–آلفاتوکوفرول بالاترین مقاومت رنسیمت را دارند. این مهم حاکی از اثر هم افزایی ترکیب D–آلفاتوکوفرول با آسکوربیل‌پالمیتات می‌باشد که پایداری بهتری نسبت به اثر انفرادی هر کدام از آنتی‌اکسیدان‌ها دارد. در گام دوم، سه سری نمونه روغن به منظور تست عمر فروشگاهی محصول مورد بررسی قرار گرفتند: نمونه‌های سری A حاوی روغن آفتابگردان همراه با غلظت بهینه ۲۰۰ ppm آسکوربیل‌پالمیتات و ۱۰۰ ppm D–آلفاتوکوفرول؛ نمونه‌های سری B شامل روغن آفتابگردان به همراه ۱۰۰ ppm TBHQ؛ و در نهایت نمونه‌های سری C شامل روغن آفتابگردان شاهد است. به منظور بررسی کمی و دقیق عمر فروشگاهی محصول، روش تسریع شده دمایی (ASLT) انتخاب شد و در بازه‌های زمانی مختلف میزان پیشرفت واکنش اکسیداسیون توسط عدد پراکسید، اندیس آنیزیدین و میزان اسیدهای چرب آزاد (FFA) تعیین شد. با به دست آوردن زمان ماندگاری در دماهای بالا از طریق معادله آرنیوس و تعیین فاکتور Q_{10}، زمان ماندگاری در دمای محیط (۲۵ درجه سانتیگراد) برون‌یابی شد. نتایج نشان دادند روند پیشرفت اکسیداسیون در نمونه‌های سری اول مشابه با نمونه‌های سری دوم بوده‌است و حضور آنتی‌اکسیدان‌های آسکوربیل پالمیتات و توکوفرول قابل قیاس با TBHQ بوده‌است و تا حد زیادی روند افزایشی مشابه داشته است. لذا می‌توانند جایگزین مناسبی برای TBHQ باشد.

واژگان کلیدی: عمر فروشگاهی محصول، آنتی‌اکسیدان آسکوربیل‌پالمیتات، آنتی‌اکسیدان D-آلفاتوکوفرول، روش تسریع شده دمایی.

۱-مقدمه

روغن خوراکی به عنوان یکی از سه منبع اصلی انرژی، جایگاه ویژه‌ای در سبد کالای خانوار دارد (Green, 2019) به طوری‌که طبق گزارش ارائه شده برای تأمین نیازهای مصرفی، تولید جهانی روغن نباتی به ۱۹۸ میلیون تن در سال ۲۰۱۹-۲۰۱۸ رسیده‌است(Zhang et al., 2021) . بدیهی است که با این میزان مصرف، نوع ترکیبات موجود در روغن‌های خوراکی و موضوع پایداری این ترکیبات به طور مستقیم بر سلامت جامعه اثرگذار است. طبق تحقیقات صورت گرفته وضعیت مصرف گروه‌های غذایی و مـواد مغـذی با بروز بیماری‌های غیرواگیر در کشورهای در حال توسعه در ارتباط بوده‌است (Passi, 2017). یکی از فاکتورها و پارامترهای مهم در تعیین پایداری روغن عمر فروشگاهی محصول یا عمر انباری[1] می‌باشد. در علوم و فناوری غذا، به مدت‌زمانی که ماده انبارشده قابل مصرف باقی می‌ماند و کیفیت قابل قبول خود را در شرایط توزیع و ذخیره‌سازی حفظ کند، عمر فروشگاهی محصول گفته می‌شود (Steele, 2004). در حین نگهداری و توزیع، موادغذایی در معرض طیف وسیعی از شرایط محیطی قرار می‌گیرند. عوامل محیطی مانند دما، رطوبت، اکسیژن و نور می‌توانند مکانیسم‌های واکنش تخریب را تحریک کنند (Steele, 2004). از بین همه عوامل خارجی، دما بیشترین تأثیر را در میزان زوال غذاهای فاسدشدنی دارد(Aung et al., 2014).

تغییرات شیمیایی، فیزیکی و میکروبیولوژیکی مهمترین دلایل خراب شدن غذا هستند. مهمترین تغییرات شیمیایی واکنش‌های اکسیداسیون لیپیدها می‌باشد (Ahmed et al., 2016). وجود اسیدهای چرب غیراشباع در غذاها دلیل اصلی ایجاد ترشیدگی در حین ذخیره‌سازی است (تیمورو همکاران ۲۰۱۲) . بنابراین در صنعت غذایی استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها امری اجتناب‌ناپذیر است. یکی از آنتی‌اکسیدان‌های پرمصرف در فرآورده‌های غذایی و روغنی، TBHQ[2] می‌باشد (شاهین و همکاران۲۰۱۴) . طی مطالعات انجام شده این آنتی‌اکسیدان برای سلول‌های انسانی از ppm ۵۰ به بالا سمی شناخته شده است و به همین دلیل در اروپا استفاده از آن منسوخ شده است (Ding et al., 2012). بنابراین محققین به دنبال استفاده از ترکیبات طبیعی جایگزین می‌باشند.

در عمل سه روش برای ارزیابی عمر ماندگاری وجود دارد: ۱- آزمایش‌های انبارداری واقعی ۲- آزمایش‌های تسریع شده و ۳- تخمین‌های شبیه سازی بر پایه مدل ریاضی. به دلایل علمی به ویژه هنگامی که زمان انبارداری طولانی است، صنعت به روش‌های آزمون تسریع شده که به طور قابل توجهی فرایند دسترسی به داده‌های آزمایشی ضروری را کوتاه می‌کند، متوسل می‌شود. مهم‌ترین مزیت آزمون‌های تسریع شده عمر ماندگاری[3] (ASLT) به دست آوردن عمر فروشگاهی محصول در یک فاصله زمانی کوتاه‌تر نسبت به عمر ماندگاری واقعی است (Manzocco et al., 2012). در دهه ۱۹۸۰ Ted Labuza بر اساس معادله آرنیوس (رابطه مستقیم بین دما و سرعت تخریب محصول) معادله‌ای برای زمان ماندگاری پیشنهاد داد (Labuza et al., 1993). این معادله برای ماندگاری غذاهایی که براساس واکنش‌های شیمیایی مانند اکسیداسیون لیپیدها تعیین می‌شوند، به خوبی عمل می‌کند و معتبر است. در روش تسریع شده دمایی، در عمل، ماده غذایی تحت تأثیر درجه حرارت بالا قرار می‌گیرد و نتایج از طریق معادله آرنیوسی و فاکتور تهییج دما[4] (Q_{10}) به دمای محیط تعمیم داده می‌شود (Calligaris et al., 2019).

در حال حاضر روش‌های مختلفی برای ارزیابی اکسیداسیون لیپیدها استفاده می‌شود. بیشتر روش‌های موجود را می‌توان به عنوان روش‌هایی طبقه‌بندی کرد که تغییرات اولیه یا ثانویه را اندازه‌گیری می‌کنند. محصولات اولیه اکسیداسیون را می‌توان از طریق مقدار پراکسید (واکنش اکسیداسیون تشکیل هیدروپراکسیدها) (PV)، افزایش وزن، از دست دادن اسیدهای چرب اشباع نشده و غیره کنترل

[1] Shelf life
[2] Tertiary butylhydroquinone
[3] Accelerated shelf-life testing
[4] Temperature acceleration factor

کرد. تغییرات ثانویه به طور کلی با مقدار p-anisidine (AV)، آزمایش اسید و تکنیک‌های کروماتوگرافی که ترکیبات اکسیداسیون خاص را تجزیه و تحلیل می‌کنند، اندازه‌گیری می‌شوند (Syed, 2016).

در این مطالعـه از آنتی‌اکسیدان آسکوربیل‌پالمیتات و توکوفرول (به عنوان آنتی‌اکسیدان‌هایی از خانواده ویتامین‌ها) به جای آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ استفاده شد. سپس پایداری روغن آفتابگردان با افزودن آسکوربیل‌پالمیتات و توکوفرول نسبت به افزودن TBHQ با ارزیابی اکسیداسیون روغن (اندازه‌گیری مقدار پراکسید، عدد آنیزیدین و درصد اسیدهای چرب آزاد) به روش ASLT بررسی شد.

۲- مبانی تحقیق

بر اساس پژوهش انجام شده توسط باستورک و همکارانش مشاهده شد که دما، زمان انبارداری و غلظت یون فلزی به طور چشمگیری باعث افزایش عدد پراکسید خواهد شد در حالی‌که افزایش غلظت آسکوربیل‌پالمیتات منجر به کاهش عدد پراکسید در مقایسه با نمونه بدون آنتی‌اکسیدان شد. آن‌ها همچنین دریافتند که غلظت آسکوربیل‌پالمیتات به طور خطی با کاهش عدد پراکسید متناسب است(Baştür et al., 2017) .

تینگ لو و همکارانش ترکیب بهینه ای از آنتی اکسیدان ها برای پایداری روغن دانه کتان و افزایش ماندگاری آن مورد بررسی قرار دادند. برای دستیابی به این هدف ترکیبی از چهار نوع آنتی اکسیدان شامل توکوفرول ، آسکوربیل پالمیتات (AP) ، فیتیک اسید (PA) و منبع پلی فنول (آنتی اکسیدان برگ بامبو (AOB) ، عصاره رزماری (RE) ، عصاره پلی فنول های چای (TP) و پلی فنل چای پالمیتات (TPP) به روغن دانه کتان اضافه شد. مشخص شد که روغن دانه کتان حاوی ۸۰ میلی گرم در کیلوگرم توکوفرول ، ٤٠ میلی گرم در کیلوگرم AP، ٤٠ میلی گرم در کیلوگرم PA و ٢٤٠ میلی گرم در کیلوگرم TPP نسبت به نمونه های دیگر در برابر اکسیداسیون پایدارتر بوده و ۳.۲۲ برابر طول عمر بیشتری نسبت به نمونه های دیگر دارد(Lu et al., 2020) .

لت و همکارانش در سال ۲۰۰۷ قابلیت گاماتوکوفرول، تیلن دی آمین تتراستات و آسکوربیل پالمیتات را برای تولید روغن ماهی غنی شده دسر سالاد در مقابل اکسیداسیون طی ٦ هفته انبارداری در دمای اتاق بررسی کردند. نتایج حاکی از آن بود که گاماتوکوفرول در غلظت های ۲۲۰ و ۸۸۰ میلی گرم بر گرم قادر به کاهش عدد پراکسید از ٣٤ تا ۳۹ درصد شد(Let et al., 2007) .

در پژوهش دیگر اثر غلظت‌های مختلف آسکوربیل‌پالمیتات رزماری و مخلوط توکوفرول‌ها با TBHQ روی پایداری اکسایشی روغن سویای انبار شده در بطری‌های PET مورد بررسی قرار گرفت. در نتیجه این پژوهش مخلوط ۵۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره رزماری و آسکوربیل‌پالمیتات فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به TBHQ داشت (Ibsch et al., 2018).

در بررسی دیگر برای تعیین مقدار بهینه افزودن آنتی اکسیدان های آلفاتوکوفرول و آسکوربیل پالمیتات به روغن ساردین غنی از امگا حداقل محصولات اولیه اکسیداسیون در غلظت های کم آلفاتوکوفرول ۵۰ الی ۲۰۷ میلی گرم بر کیلوگرم به دست آمد.(Morales-Medina et al., 2015)

در پژوهشی دیگر اثر آلفاتوکوفرول، آسکوربیل پالمیتات روی اکسیداسیون روغن پامچال بررسی شد. غلظتت های ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از سه آنتی اکسیدان به روغن پامچال اضافه شد و بررسی ها از طریق اندازه گیری عدد پراکسید در دمای

۵۰ درجه سانتیگراد به مدت یک هفته بررسی شد. آلفاتوکوفرول بیشترین محافظت روغن از اکسیداسیون اولیه را در غلظت های ۲۵۰ الی ۷۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نشان داد(Youdim et al., 1999) .

در یک پژوهش روغن خوراکی ضایعاتی به وسیله دو تیمار حرارتی و هوادهی آماده شد و اثر بازدارندگی توکوفرول روی این روغن از طریق اندازه گیری عدد اسیدی بررسی شد. میزان عدد اسیدی روغن خوراکی ضایعاتی حاوی ٦.٧ درصد آلفا توکوفرول، ۰.۲ درصد بتا توکوفرول، ۷۱.۲ درصد گاما توکوفرول و ۲۱.۹ درصد گاما توکوفرول، ۰.۱ تا ۱ درصد کمتر از روغن تیمار نشده بود. این نتایج نمایانگر آن بود که افزودن توکوفرول برای پیشگیری از فساد روغن ضایعاتی سودمند بود(Ogata et al., 2014).

۳- روش تحقیق

۳-۱ تهیه مواد اولیه

نمونه‌های روغن اولیه آفتابگردان تصفیه‌شده از کارخانه فریکو (شرکت فرآورده‌های روغنی ایران) تهیه شدند. نمونه‌های روغن تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای محیط نگهداری شدند. سطح روغن در معرض گاز نیتروژن با فشار ۲ بار (۲/۰۳۹٤٤ کیلوگرم بر سانتی‌مترمربع) قرار گرفت. D-آلفاتوکوفرول (α-T) و آسکوربیل‌پالمیتات (AP) از شرکت CO.LTD Biotech چین خریداری شدند. اسید استیک گلاسیال، ایزواوکتان، سدیم تیوسولفات، پتاسیم یدید، معرف آنیزیدین، سدیم سولفات، اتانول، فنل فتالئین، TBHQ، از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

۳-۲ وسایل و تجهیزات

به منظور گرم کردن نمونه‌ها در دماهای ٤۰، ۸۰ و ۱۱۰ درجه سانتیگراد از آون با برند Memmert UN75 (آلمان) استفاده شد. جرم نمونه‌های جامد با ترازو مدل Sartorius AZ64 (آلمان) با دقت ۰.۰۰۰۱ اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری مقاومت نمونه‌های مورد آزمون از دستگاه رنسیمت با برند Metrohm (سوئیس) استفاده شد. مقدار آنیزیدین بر اساس دستورالعمل AOCS Cd 18-90 با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری GENESYS 30 (آمریکا) با سل یک سانتی‌متری اندازه‌گیری شد.

۳-۳ آماده سازی نمونه‌ها و روش کار

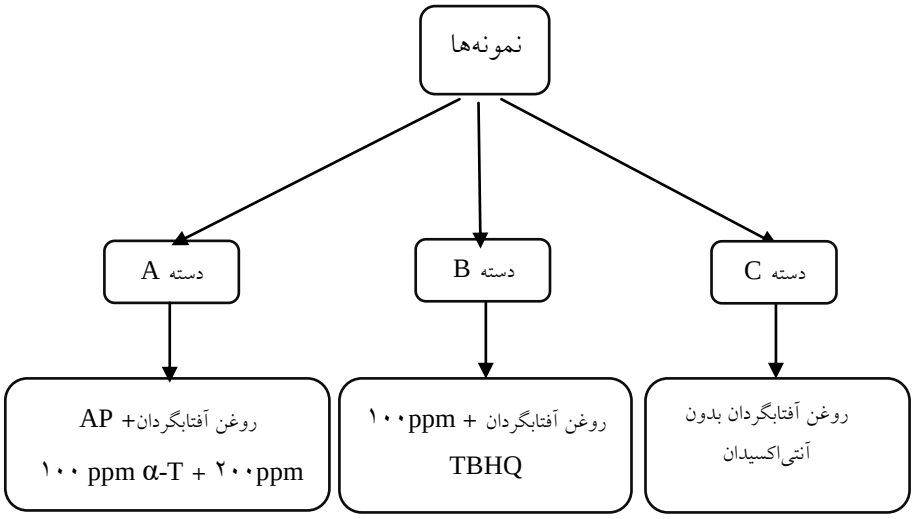
در مطالعه حاضر، از روغن‌های آفتابگردان تصفیه‌شده فاقد آنتی‌اکسیدان استفاده شد. برای تعیین غلظت بهینه، غلظت‌های معینی از آنتی‌اکسیدان‌های آسکوربیل‌پالمیتات و D-آلفاتوکوفرول طبق جدول ۱ به نمونه روغن آفتابگردان بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شد و مقاومت نمونه‌ها با دستگاه رنسیمت طبق دستورالعمل استاندارد ملی ایران به شماره ۳۷۳٤ اندازه گیری شد (جدول ۱). به این ترتیب که پمپ دیافراگمی گاز متصل شد و جریان به طور دقیق در ۲۰ لیتر بر ساعت و دمای قالب حرارتی در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد تنظیم شد. بر اساس نتایج حاصل از مقاومت پایداری، ترکیب ۲۰۰ ppm از آسکوربیل‌پالمیتات و ۱۰۰ ppm D-آلفاتوکوفرول بهینه‌ترین غلظت می‌باشد و برای آزمایشات بعدی انتخاب شد.

جدول ۱: نتایج حاصل از مقاومت رنسیمت غلظت‌های مختلف آنتی‌اکسیدان‌های آسکوربیل‌پالمیتات و D-آلفاتوکوفرول.

شماره نمونه	غلظت آنتی‌اکسیدان D-آلفاتوکوفرول (ppm)	غلظت آنتی‌اکسیدان آسکوربیل‌پالمیتات (ppm)	مقاومت رنسیمت
۱	۱۰۰	۵۰	۷.۹۸ ±۰.۱۱
۲		۷۵	۸.۰۱±۰.۱۸
۳		۱۰۰	۸.۱۰ ±۰.۳۰
٤		۱۲۵	۸.۱۸ ±۰.۲۱
۵		۱۵۰	۸.۱۹ ±۰.۱۰
٦		۱۷۵	۸.۹۲ ±۰.۳۱
۷		۲۰۰	۱۰.۰۱ ±۰.۳٤
۸	۱۵۰	۵۰	۸.۱۰ ±۰.۲٤
۹		۷۵	۸.۲٤±۰.۱۹
۱۰		۱۰۰	۸.۵۱ ±۰.۳٦
۱۱		۱۲۵	۸.۱۸ ±۰.۱۰
۱۲		۱۵۰	۹.۹۱±۰.۱۹
۱۳		۱۷۵	۸.۸۳ ±۰.۱۷
۱٤		۲۰۰	۹.۷۸ ±۰.۳۱
۱۵	۲۰۰	۵۰	۹.۱۰ ±۰.۳۱
۱٦		۷۵	۸.۷۸ ±۰.۱۳
۱۷		۱۰۰	۸.۹۳ ±۰.۲۳
۱۸		۱۲۵	۹.۷۲±۰.٤۱
۱۹		۱۵۰	۹.۸۲±۰.۳۵
۲۰		۱۷۵	۸.۸۹±۰.۳۵
۲۱		۲۰۰	۸.۹۹ ±۰.۱۵

۲۲		۵۰	۸.۸۰ ±۰.۱۳
۲۳		۷۵	۸.۷۵ ±۰.۲۱
۲٤		۱۰۰	۸.۸۲ ±۰.٤۳
۲۵	۲۵۰	۱۲۵	۸.۷۹ ±۰.۲۵
۲٦		۱۵۰	۸.۸۰ ±۰.۱٤
۲۷		۱۷۵	۸.۸۲ ±۰.٤۱
۲۸		۲۰۰	۸.۷۹ ±۰.۱۷

پس از انجام این مرحله، سه سری نمونه شامل (سری A)، (سری B) و (سری C) تهیه شدند (شکل ۱). پس از تهیه تیمار مورد نظر، نمونه‌ها در ظروف درب دار بسته‌بندی و لیبل‌گذاری شدند.



شکل ۱: طرح شماتیک سه نوع نمونه مورد بررسی در این تحقیق.

٤-۳ بررسی روند اکسیداسیون

پس از تهیه نمونه‌ها ، به منظور بررسی کمی و دقیق پیشرفت واکنش اکسیداسیون برای هر سه سری نمونه عدد پراکسید، اندیس آنیزیدین و درصد اسیدهای چرب آزاد برحسب زمان‌های مختلف در دماهای ٤۰، ۸۰ و ۱۱۰ درجه سانتیگراد اندازه‌گیری شد. هر آزمایش سه بار تکرار شد و میانگین داده‌ها با استفاده از نرم افزار Excel در رسم نمودار مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری عدد پراکسید، اندیس آنیزیدین و درصد اسیدهای چرب آزاد به ترتیب بر اساس دستورالعمل‌های AOCS Cd ،AOCS° Cd 8b-90

[5] American Oil Chemists Society

18-90 و AOCS Ca 5a-40 انجام گرفت. لازم به ذکر است که نمونه‌های آفتابگردان پس از اندازه‌گیری پارامترهای شرح داده شده، تحت جریان گاز نیتروژن قرار داده شدند، درب بندی به خوبی انجام شد و در تاریکی تا زمان انجام آنالیز بعدی قرارگرفتند.

۳-۵ فرمول‌ها و معادلات

آزمایش سرعت ماندگاری سریع بر اساس اندازه‌گیری ثابت سرعت (k) در چندین درجه حرارت مختلف و به دنبال آن برون‌یابی نمودار خط مستقیم برای کاهش درجه حرارت برای مدت زمان ماندگاری پیش بینی شده است. اثر دما بر سرعت واکنش اکسیداسیون بااستفاده از رابطه آرنیوس (رابطه ۱) به دست آمد که در آن k ثابت سرعت، T دمای مطلق بر حسب کلوین، R ثابت جهانی گازها و E_a انرژی فعالسازی بر حسب ژول می‌باشد.

$$k = Ae^{-Ea/(RT)}$$ معادله ۱

معادلات زیر مدل را برای سینتیک مرتبه صفر (معادله ۲) و مرتبه اول (معادله ۳) توصیف می کنند:

$$\text{Zero order: } [A]=[A]_0 - kt$$ معادله ۲

$$\text{First order: } [A]=[A]_0 \exp-kt$$ معادله ۳

که در آن $[A]_0$ غلظت ابتدایی آنالیت و t زمان نگهداری روغن می باشد.
زمان ماندگاری برای مدل های مرتبه صفر و مرتبه اول از طریق واکنش های زیر به دست می آید

$$\text{Zero order: } SL= (I_{lim}-I_0) /k$$ معادله ٤

$$\text{First order: } SL= (LnI_{lim} - Ln\, I_0) /k$$ معادله ٥

همچنین مقدار Q_{10} در هر مرحله از رابطه ٦ به دست می‌آید

(Calligaris et al., 2019; Manzocco et al., 2012)

$$Q_{10}= \frac{\text{rate at temperature (T+10)}}{\text{rate at temperature T}}$$ معادله ٦

جذر میانگین مربعات خطا (RMSE) نیز از رابطه ۷ به دست می آید:

$$RMSE = \sqrt{\sum \frac{(Zi - zi*)^2}{n}}$$ معادله ۷

که در آن Zi و Zi* به ترتیب مقادیر واقعی و درون یابی شده می باشد.

٤- یافته‌ها

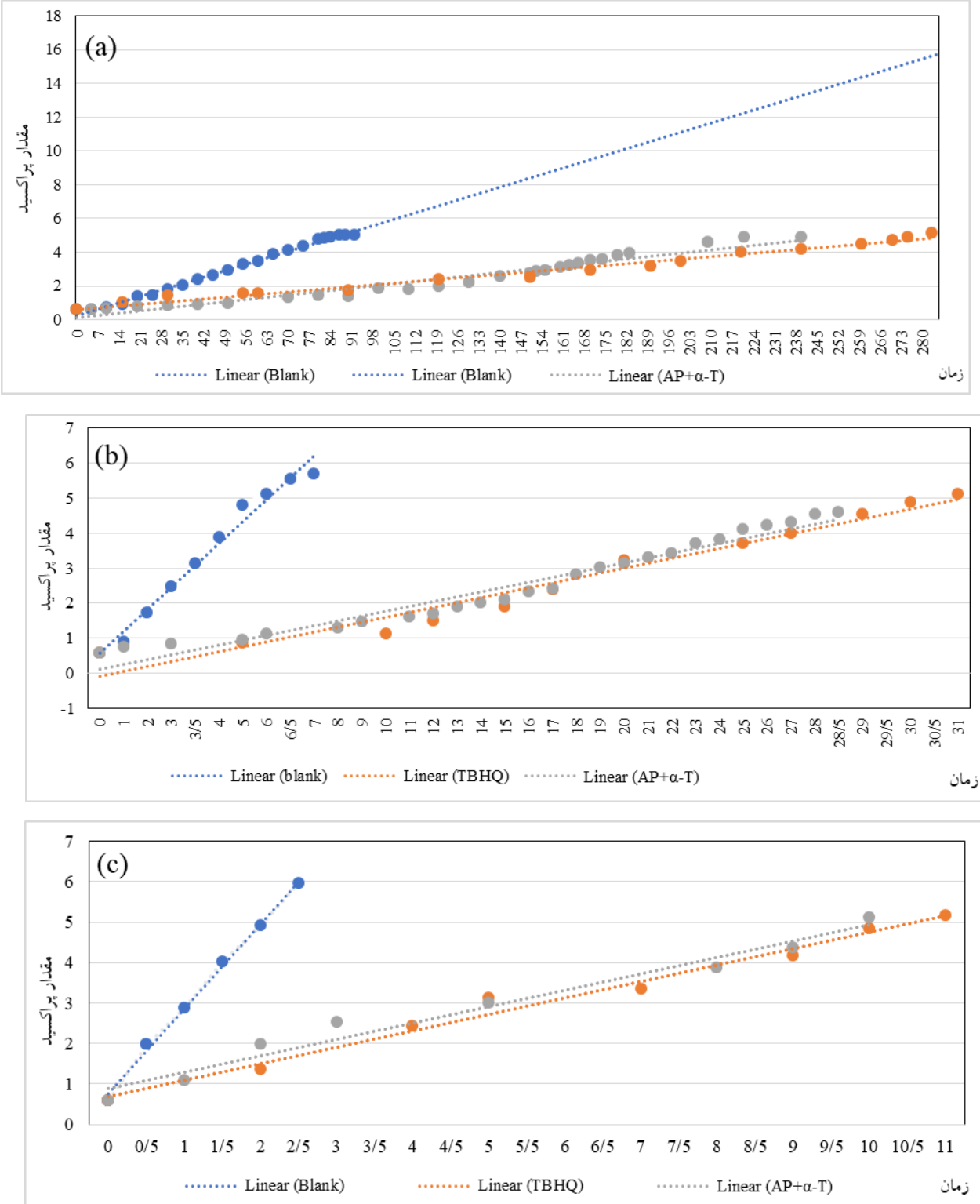
آزمون عدد پراکسید روش خوبی برای اندازه‌گیری مقدار محصولات اکسیداسیون اولیه است. روغن‌هایی با مقادیر حائز اهمیت پراکسید، در صورتی که هنوز اکسیداسیون ثانویه شروع نشده باشد، ممکن است هنوز بی‌بو باشند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری عدد پراکسید بر حسب زمان در دماهای ٤٠ و٨٠ و ١١٠ درجه سانتیگراد برای نمونه‌های A، B و C در شکل ٢ نشان داده‌شده است. با توجه به نتایج می‌توان پیشرفت تشکیل پراکسیدها را با گذشت زمان در هر نمودار مشاهده کرد. با وجود آن که در زمان تولید اندیس پراکسید نمونه‌ها مشابه یکدیگر است، روند تغییرات آن در طول زمان الگوی متفاوتی را نشان می‌دهند. هم چنین با مقایسه نمودارها با یکدیگر در زمان ثابت با افزایش دما (٤٠ تا ١١٠ درجه سانتیگراد) در تمامی نمونه‌ها مقدار پراکسید افزایش یافته است که دور از انتظار نمی‌باشد. همان‌طور که در هر سه نمودار شکل ٢ مشاهده می‌شود، روند پیشرفت اکسیداسیون در نمونه شاهد سریع‌تر از سایر نمونه‌ها است زیرا در نبود آنتی‌اکسیدان سرعت فرآیند اکسیداسیون افزایش می‌یابد. لازم به ذکر است که حد مجاز عدد پراکسید بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ١٣٠٠ با عنوان"روغن آفتابگردان- ویژگی‌ها و روش‌های آزمون"، برای مصرف‌کنندگان ٥ میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن است. نمودار در دمای ٤٠ درجه سانتیگراد (شکل ٢a) نشان می‌دهد که میزان پراکسید روغن نمونه A تا روز ١٣٢ از نمونه B کمتر بوده است.

همچنین نمودارها در دمای ٨٠ و ١١٠ درجه سانتیگراد (شکل ٢b و ٢c) نشان می‌دهند روند پیشرفت اکسیداسیون در نمونه‌های A و B مشابه یکدیگر بوده‌است و تقریبا شیب هر دو نمودار یکسان است (به طور مثال برای دمای٨٠ درجه‌سانتیگراد شیب نمودار TBHQ و AP آلفاتوکوفرول به ترتیب ٠.٣٢٧٤ و ٠.٣٢٣٧ می‌باشد). در دمای ٤٠ درجه سانتیگراد نمونه A پس از گذشت ٢٦٠ روز به حد مجاز ٥ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن می‌رسد و برای نمونه B پس از ٢٧٥ روز به این حد مجاز می‌رسد.

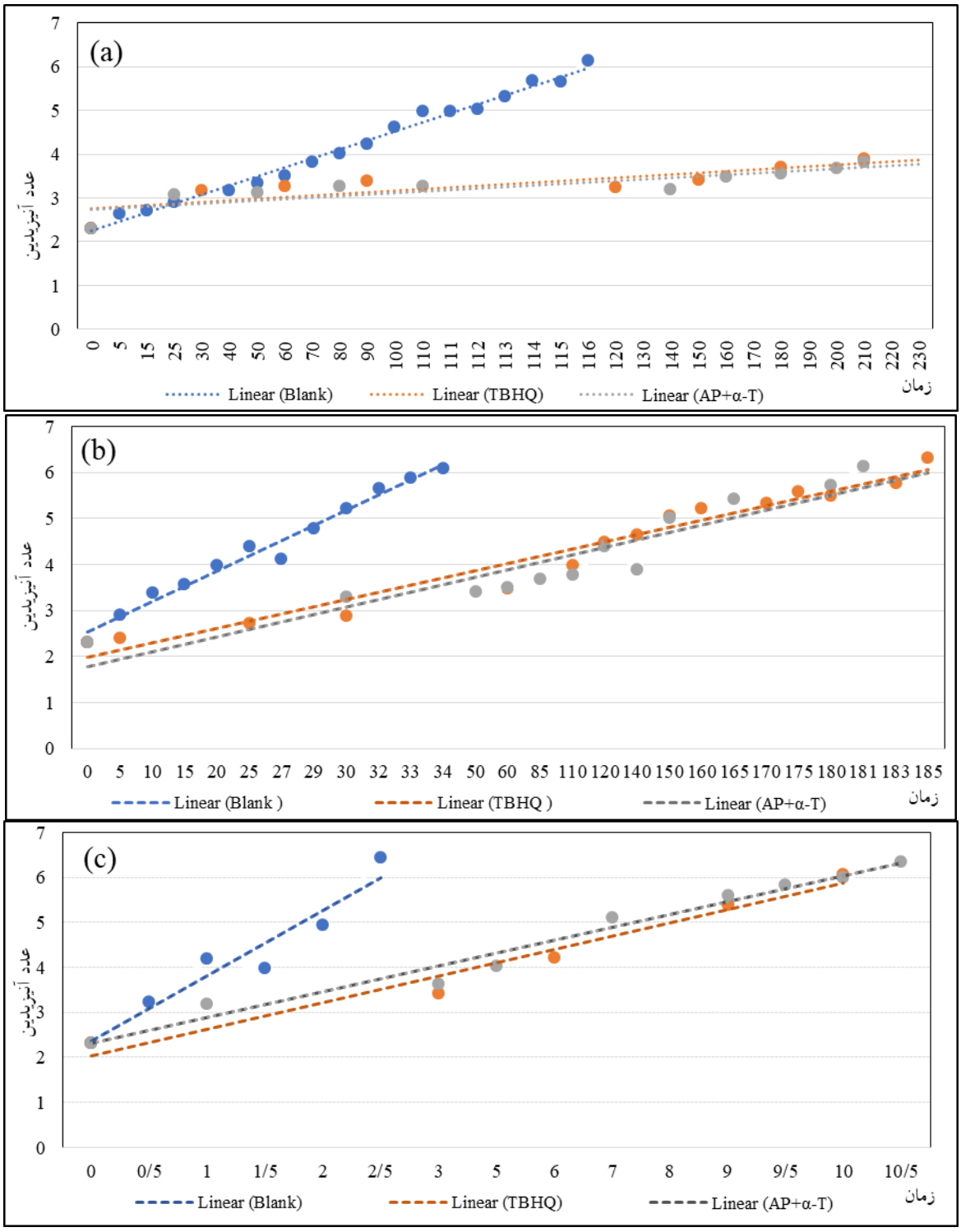
از کنار هم قراردادن همه این اطلاعات درباره میزان پراکسید روغن، می‌توان دریافت که آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد استفاده تا حد زیادی پتانسیلی مشابه با TBHQ دارند و آنتی‌اکسیدان‌های آلفاتوکوفرول و آسکوربیل‌پالمیتات به طور موثری تشکیل هیدروپراکسیدها را مهار کرده‌اند و با رادیکال‌های آزاد تشکیل شده واکنش می‌دهند. هم‌چنین پس از رسم نمودار Lnk برحسب 1/T مقدار Ea/R k.mol ٥٦١١ و Q_{10} ١/٨٤١٧ به دست آمد.

مرحله اکسیداسیون ثانویه زمانی رخ می‌دهد که هیدروپراکسیدها، تجزیه شده و کربونیل‌ها به ویژه آلدئیدها تشکیل شوند. تشکیل این ترکیبات به روغن بوی فساد می‌دهد و با اندازه‌گیری عدد آنیزیدین مقدار آنها مشخص می‌شود. در استاندارد ملی ایران به شماره ١٣٠٠ با عنوان "روغن آفتابگردان- ویژگی‌ها و روش‌های آزمون"، حد مجاز مقدار عدد آنیزیدین ٦ گزارش شده است. بنابراین تست‌ها برای هر سه سری نمونه تا رسیدن به این عدد ادامه پیدا کرد. با ارزیابی نمودارها در شکل ٣ می‌توان دریافت که شیب نمودارهای A و B (مربوط به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و آنتی‌اکسیدان TBHQ) در هر سه دمای ٤٠، ٨٠ و ١١٠ درجه سانتیگراد به هم نزدیک بوده‌اند. هم چنین پس از رسم نمودار Lnk برحسب 1/T مقدار Ea/R (k.mol ٥٩٢٨) و Q10 (١/٩٠٦٤) به دست آمد.

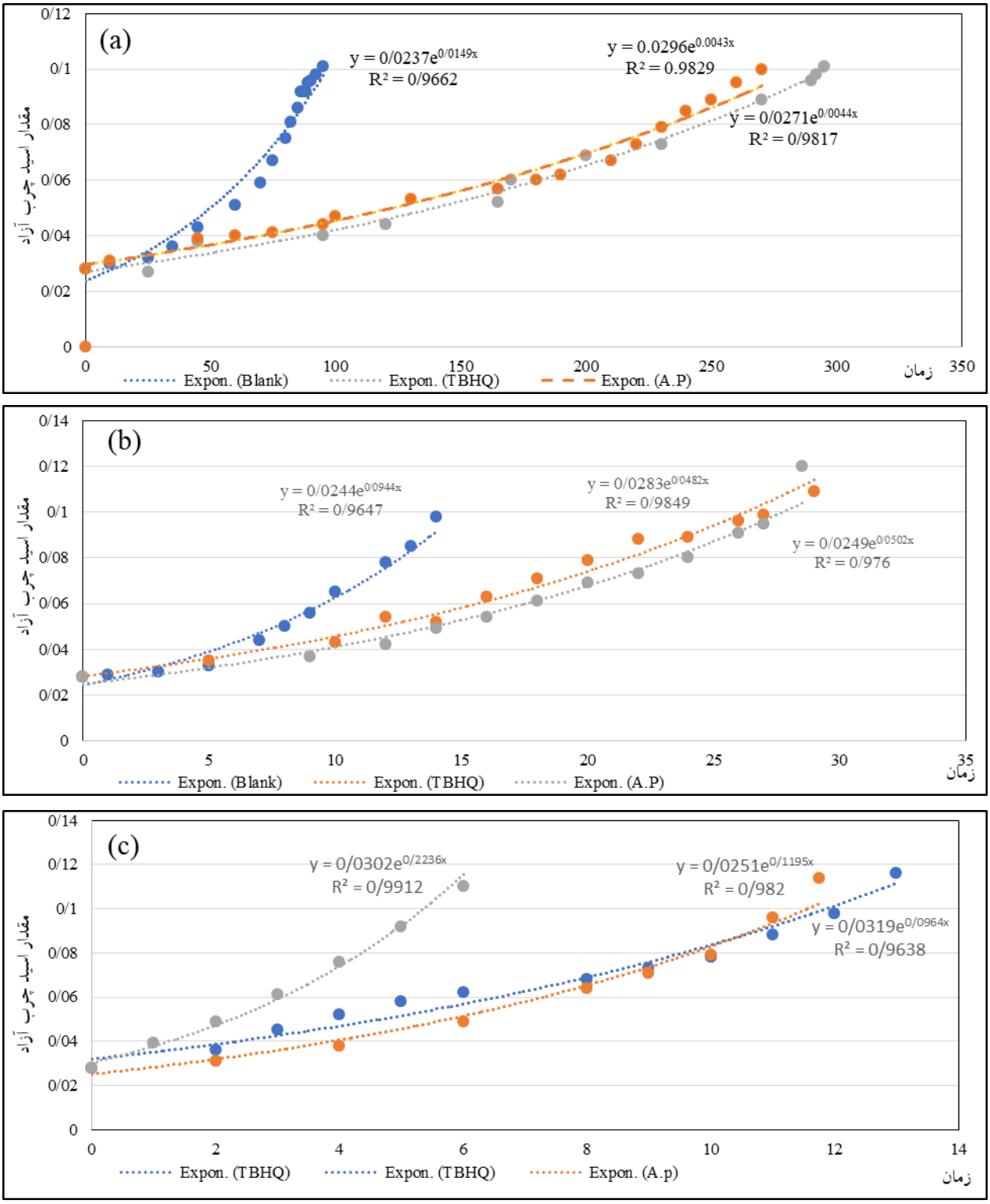
در نمودارهای a تا c از شکل ٤ تغییرات درصد اسیدهای چرب به ترتیب در دماهای ٤٠، ٨٠ و ١١٠ درجه سانتیگراد نشان داده شده است. الگوی تغییرات درصد اسیدهای چرب در هر دو نوع نمونه A و B مشابه بوده‌اند و روند رو به افزایش را نشان می‌دهد. در دمای ٤٠ درجه سانتیگراد در تمامی‌زمان‌ها مقدار درصد اسیدهای چرب دو نمونه A و B اختلاف معناداری را با یکدیگر نشان نمی دهند. پس از رسم نمودار Lnk برحسب 1/T مقدار Ea/R (k.mol ٥٩٠٨) و Q_{10} (١/٨٤١١) به دست آمد.



شکل ۲: نتایج حاصل از اندازه‌گیری عدد پراکسید بر حسب زمان در دماهای (a) ۴۰ درجه سانتیگراد، (b) ۸۰ درجه سانتیگراد و (c) ۱۱۰ درجه سانتیگراد برای نمونه‌های حاوی آسکوربیل پالمیتات و توکوفرول (AP+α-T)، TBHQ و شاهد.



شکل ۳: نتایج حاصل از اندازه‌گیری عدد آنیزیدین بر حسب زمان در دماهای (a) ٤٠ درجه سانتیگراد، (b) ٨٠ درجه سانتیگراد و (c) ١١٠ درجه سانتیگراد برای نمونه‌های حاوی آسکوربیل پالمیتات و توکوفرول (AP+α-T)، TBHQ و شاهد.



شکل ٤: نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار اسیدهای چرب بر حسب زمان در دماهای (a) ٤٠ درجه سانتیگراد، (b) ٨٠ درجه سانتیگراد و (c) ١١٠ درجه سانتیگراد برای نمونه‌های حاوی آسکوربیل پالمیتات و توکوفرول (AP+α-T)، TBHQ و شاهد.

جدول ۲: اعتبارسنجی مطالعات انجام شده

متغیر وابسته	معادله	R^2	Shelf life	RMSE
عدد پراکسید (meq/kq) در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد برای نمونه شاهد	Y=0.0543x+ 0.204	0.9938	88.32	0.12
عدد پراکسید (meq/kq) در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد برای نمونه AP+α-T	Y=0.0191x+0.197	0.9504	251.46	0.52
عدد پراکسید (meq/kq) در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد برای نمونه TBHQ	Y= 0.0148x+0.62	0.9818	295.94	0.21
عدد پراکسید (meq/kq) در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد برای نمونه شاهد	Y=0.6292X-0.056	0.980	8.03	0.28
عدد پراکسید (meq/kq) در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد برای نمونه AP+α-T	Y= 0.1463X-0.0182	0.9609	34.30	0.29
عدد پراکسید (meq/kq) در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد برای نمونه TBHQ	Y= 0.1401X-0.2174	0.9603	37.24	0.62
عدد پراکسید (meq/kq) در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد برای نمونه شاهد	Y=1.0506X-0.2887	0.9962	5.03	0.13
عدد پراکسید (meq/kq) در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد برای نمونه AP+α-T	Y= 0.303X+0.688	0.9694	14.23	0.21
عدد پراکسید (meq/kq) در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد برای نمونه TBHQ	Y=0.304X+0.711	0.9648	14.10	0.29
عدد آنیزیدین در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد برای نمونه شاهد	Y=0.09075X-2.43	0.9886	81.91	0.33
عدد آنیزیدین در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد برای نمونه AP+α-T	Y= 0.0202X-2.4874	0.9717	۳۱۹.۸	0.32
عدد آنیزیدین در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد برای نمونه TBHQ	Y=0.0210X-1.9809	0.9627	376.190	0.28
عدد آنیزیدین در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد برای نمونه شاهد	Y=0.1301X+2.2074	0.9788	29.23	0.37
عدد آنیزیدین در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد برای نمونه AP+α-T	Y=0.04561X+1.5351	0.9612	112.5	0.42
عدد آنیزیدین در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد برای نمونه TBHQ	Y=0.0381X+1.471	0.9603	151.7	0.23
عدد آنیزیدین در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد برای نمونه شاهد	Y=0.773X+1.626	0.9738	5.51	0.44
عدد آنیزیدین در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد برای نمونه AP+α-T	Y=0.2873X+2.017	0.9753	13.87	0.18
عدد آنیزیدین در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد برای نمونه TBHQ	Y=0.2943X+1.749	0.9654	14.44	0.43

مقدار اسید چرب آزاد در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد برای نمونه شاهد	$Y= 0.0237e^{0.01496x}$	0.9662	۹۶.۶۲	0.011
مقدار اسید چرب آزاد در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد برای نمونه AP+α-T	$Y= 0.0296e^{0.0043x}$	0.9829	۲۹۳.۹۱	0.18
مقدار اسید چرب آزاد در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد برای نمونه TBHQ	$Y= 0.0271e^{0.0044x}$	0.9817	۳۰۳.۵۴	0.21
مقدار اسید چرب آزاد در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد برای نمونه شاهد	$Y= 0.0244e^{0.0944x}$	0.9647	۱٤.۹٤	0.011
مقدار اسید چرب آزاد در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد برای نمونه AP+α-T	$Y= 0.0283e^{0.20482x}$	0.9817	۲۷.۷۷	0.20
مقدار اسید چرب آزاد در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد برای نمونه TBHQ	$Y= 0. 0249e^{0.0502x}$	0.976	۲٦.۱۸	0.08
مقدار اسید چرب آزاد در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد برای نمونه شاهد	$Y= 0.0302e^{0.2236x}$	0.9921	۵.۳۵	0.02
مقدار اسید چرب آزاد در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد برای نمونه AP+α-T	$Y=0.0251e^{0.1195x}$	0.982	۱۱.۶۶	0.04
مقدار اسید چرب آزاد در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد برای نمونه TBHQ	$Y= 0.0319e^{0.0964x}$	0.9638	۱۱.۸۵	0.09

جدول ۳: مقادیر زمان ماندگاری پیش بینی شده بر اساس فاکتور Q_{10}.

نوع متغیر وابسته	مقدار Ea/R	Q10	Shelf life in 25 °C
عدد پراکسید	٥٦١١	١/٨٤١٧	٦٢٨.٤٨٨
عدد آنیزیدین	٥٩٢٨	١/٩٠٦٤	٨٤١.٧٨
مقدار اسید چرب آزاد	٥٩٠٨	١.٨٢١١	٧٣٤.٢٢

۵- نتیجه‌گیری

نتایج بررسی‌های مطالعه حاضر نشان داد که آنتی‌اکسیدان آلفاتوکوفرول و آسکوربیل‌پالمیتات به طور مؤثری قادر هستند فرآیند اکسیداسیون را در روغن آفتابگردان مهار نمایند. روند فرآیند اکسیداسیون در این مطالعه با اندازه‌گیری مقدار پراکسید، مقدار اندیس آنیزیدین و درصد اسیدهای چرب آزاد بررسی شد. نتایج حاصل از بررسی عدد پراکسید نشان می‌دهد، تشکیل هیدروکسیدهای حاصل از اکسیداسیون در نمونه حاوی آلفاتوکوفرول و آسکوربیل‌پالمیتات روند مشابهی با TBHQ دارد. هم چنین بررسی ترکیبات آنیزیدین و اسیدهای چرب آزاد نشان داد تفاوت معنی‌دار در نتایج آزمایشات بین دو نمونه A و B دیده نمی‌شود. نتایج این بررسی حاکی از آن است که آلفاتوکوفرول و آسکوربیل‌پالمیتات جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان سرطان‌زای TBHQ می‌باشد.

٦- منابع

Ahmed, M., Pickova, J., Ahmad, T., Liaquat, M., Farid, A., & Jahangir, M. (2016). Oxidation of Lipids in Foods. *Sarhad Journal of Agriculture*, *32*(3).

Aung, M. M., & Chang, Y. S. (2014). Temperature management for the quality assurance of a perishable food supply chain. *Food Control*, *40*, 198–207.

Baştür, A., Boran, G., & Javidipour, I. (2017). Effects of ascorbyl palmitate and metal ions on oxidation of sunflower oil under accelerated oxidation conditions. *J Anim Plant Sci*, *27*(6), 2014–2024.

Calligaris, S., Manzocco, L., Anese, M., & Nicoli, M. C. (2019). Accelerated shelf life testing. In Food Quality and Shelf Life (pp. 359–392). Elsevier.

Choe, E., & Min, D. B. (2009). Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *8*(4), 345–358.

Ding, M., & Zou, J. (2012). Rapid micropreparation procedure for the gas chromatographic–mass spectrometric determination of BHT, BHA and TBHQ in edible oils. *Food Chemistry*, *131*(3), 1051–1055.

Green, M. B. (2019). *Eating oil: Energy use in food production*. Routledge.

Ibsch, R. B. M., Bueno, A. M., Warmling, B. R., de Carvalho, L. F., Bertoli, S. L., & de Souza, C. K. (2018). effects of different antioxidants on oxidative stability of soybean oil in pet bottles efeitos de diferentes antioxidantes na estabilidade oxidativa do óleo de soja em garrafas pet. *Revista Do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos*, *4*(1).

Labuza, T. P., & Fu, B. (1993). Growth kinetics for shelf-life prediction: theory and practice. *Journal of Industrial Microbiology*, *12*(3), 309–323.

Let, M. B., Jacobsen, C., & Meyer, A. S. (2007). Ascorbyl palmitate, γ-tocopherol, and EDTA affect lipid oxidation in fish oil enriched salad dressing differently. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(6), 2369–2375.

Lu, T., Shen, Y., Wang, J., Xie, H., Wang, Y., Zhao, Q., Zhou, D., & Shahidi, F. (2020). Improving oxidative stability of flaxseed oil with a mixture of antioxidants. *Journal of Food Processing and Preservation*, *44*(3), e14355.

Manzocco, L., Panozzo, A., & Calligaris, S. (2012). Accelerated shelf life testing (ASLT) of oils by light and temperature exploitation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *89*(4), 577–583.

Morales-Medina, R., García-Moreno, P. J., Muñío, M. M., Guadix, A., & Guadix, E. M. (2015). Optimization of α-tocopherol and ascorbyl palmitate addition for the stabilization of sardine oil. *Grasas y Aceites*, *66*(2), e069–e069.

Mukai, K., Ouchi, A., Mitarai, A., Ohara, K., & Matsuoka, C. (2009). Formation and decay dynamics of vitamin E radical in the antioxidant reaction of vitamin E. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, *82*(4), 494–503.

Ogata, F., Tanaka, Y., & Kawasaki, N. (2014). Effect of tocopherol treatment on deterioration of edible oil quality (acid

value, carbonyl value, free fatty acid and radical activity). *Journal of Oleo Science*, ess13096.

Passi, S. J. (2017). Prevention of non-communicable diseases by balanced nutrition: population-specific effective public health approaches in developing countries. *Current Diabetes Reviews, 13*(5), 461–476.

Steele, R. (2004). *Understanding and measuring the shelf-life of food.* Woodhead Publishing.

Syed, A. (2016). Oxidative stability and shelf life of vegetable oils. In Oxidative stability and shelf life of foods containing oils and fats (pp. 187–207). Elsevier.

Traber, M. G., & Atkinson, J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology and Medicine*, *43*(1), 4–15.

Youdim, K. A., Damien Dorman, H. J., & Deans, S. G. (1999). The antioxidant effectiveness of thyme oil, α-tocopherol and ascorbyl palmitate on evening primrose oil oxidation. *Journal of Essential Oil Research, 11*(5), 643–648.

Zhang, Y., Zhuang, P., Wu, F., He, W., Mao, L., Jia, W., Zhang, Y., Chen, X., & Jiao, J. (2021). Cooking oil/fat consumption and deaths from cardiometabolic diseases and other causes: prospective analysis of 521,120 individuals. *BMC Medicine*, *19*(1), 1–14.

تیمور, م., محمدحسین, ع., & اقدس, ت .*بررسی رابطه بین ترکیب اسیدهای چرب با پایداری روغن در مخلوط روغن های آفتابگردان و کانولا* .

شاهین, ریحانه, زاده, ن., کوشان, علیزاده, & محمدی. (۲۰۱٤). بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی توکوفرول درمقایسه با TBHQ بر روند اکسیداسیون روغن مایونز طی مدت زمان ماندگاری. *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*, ۸(٤), ۲۲۷–۲۳٦.