مطالعه اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی کنجاله زیتون بر پایداری اکسایشی روغن سویا در مقایسه با برخی آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی

زهره موجرلو[1*]، امیرحسین الهامی راد[2]، علی نجفی[3]

[1] کارشناسی ارشد، گروه آموزشی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، سبزوار، ایران.
[2] دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، دانشکده مهندسی علوم و صنایع غذایی، سبزوار، ایران.
[3] هیئت علمی گروه علوم و صنایع غذایی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۳

چکیده

اکسایش لیپیدها از مشکلات اصلی در نگهداری و بکارگیری روغن‌ها و چربی‌های خوراکی می‌باشد. یکی از موثرترین راه‌های به تاخیر انداختن اکسایش، بکارگیری آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد. ثابت شده است که افزودن آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی می‌تواند باعث ایجاد جهش و یا سرطان گردد. بنابراین، بسیاری از گیاهان، که منبع عالی از ترکیبات فنلی طبیعی هستند و گزارش شده که عصاره فنلی آن‌ها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی می باشد می‌توانند به عنوان جایگزین مناسبی جهت پایداری اکسایشی استفاده شوند. در این پژوهش ابتدا عصاره‌گیری از کنجاله زیتون با استفاده از اتانول انجام گرفت و ترکیبات فنولی کل موجود در عصاره تعیین گردید، سپس اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره کنجاله زیتون در غلظت‌های مختلف (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام) و همچنین آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی BHT و BHA (با غلظت ppm ۷۵)، بر پایداری اکسایشی روغن سویا در طول دوره نگهداری به مدت ۴ هفته از طریق سنجش اندیس پراکسید، آنیزیدین، توتوکس و زمان مقاومت به اکسایش بررسی شد. نتایج این تحقیق نشان داد که در بین غلظت‌های تحت بررسی عصاره کنجاله زیتون، غلظت ppm ۱۵۰ دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده و موثرترین سطح غلظتی عصاره بر پایداری اکسایشی روغن سویا تعیین گردید. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت بهینه ۱۵۰ppm عصاره، نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های BHT و BHA فعالیت آنتی-اکسیدانی بیشتری را دارا بود. بنابراین روغن سویا حاوی عصاره کنجاله زیتون می‌تواند به عنوان یک غذای جدید و سالم استفاده شده و علاوه بر این، از کنجاله زیتون به عنوان یک ضایعات استفاده بهینه می‌شود.

واژه های کلیدی: آنتی‌اکسیدان شیمیایی، آنتی‌اکسیدان طبیعی، روغن سویا، عصاره کنجاله زیتون، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

*مسوول مکاتبات: z_mojerlou@yahoo.com

۱- مقدمه

چربی‌ها و روغن‌ها از جایگاه ویژه‌ای در رژیم غذایی انسان برخوردارند و سهم عمده‌ای از نیاز بدن به انرژی را تامین می‌کنند. اکسایش لیپیدها در مواد غذایی، یکی از مهمترین عوامل تخریب مواد غذایی در طول فرآوری، انبارمانی و پخش از طریق اثرات نامطلوب بر روی عطر، رنگ، ارزش غذایی و همچنین تولید ترکیبات سمی به شمار می‌آیند (۳۳). یکی از موثرترین راه‌های به تاخیر انداختن اکسایش، بکارگیری آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌ها به دو گروه عمده طبیعی و شیمیایی طبقه‌بندی می‌شوند. در این میان آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی پروپیل‌گالات[1]، بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن[2]، بوتیل‌هیدروکسی‌آنیزول[3] و ترشیاری‌بوتیل‌هیدروکینون[4]، پرمصرف‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی به شمار می‌آیند که جهت جلوگیری از پیشرفت اکسایش بکار می‌روند. بر اساس آمار منتشر شده سالانه حدود ۱۱ میلیون کیلوگرم آنتی‌اکسیدان شیمیایی در آمریکا تولید می‌شود (۲۳). با توجه به اثرات نامطلوب ناشی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی (از مهمترین این عوارض می‌توان به اثر سرطان‌زایی اشاره نمود)، امروزه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به دلیل ایمنی و سودمند بودن برای سلامتی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱، ۱۹).

از آنجاییکه گیاهان دارویی از مهمترین منابع تامین ترکیبات غذایی و دارویی بشر بوده‌اند، جایگاه ویژه‌ای در پیشگیری و درمان بیماری‌ها دارند (۷). بسیاری از گیاهانی که معمولا جهت طعم دادن به مواد غذایی استفاده می‌شوند، منابع بسیار مهمی از ترکیبات فنولی هستند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی از خود نشان می‌دهند (۷). امروزه تحقیقات زیادی برای یافتن منابع آنتی‌اکسیدانی طبیعی و استفاده از آن‌ها به منظور کاهش اکسایش روغن‌ها در حال انجام است. به عنوان مثال از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی که در روغن‌های سرخ‌کردنی استفاده شده‌اند، می‌توان به عصاره‌های مرزنگوش در روغن پالم، عصاره متانولی برگ چای و عصاره یولاف در روغن پنبه دانه، عصاره‌های رزماری و مریم گلی در روغن پالم، عصاره رازیانه در روغن کتان، آفتابگردان و سویا، عصاره متانولی برگ چای و عصاره یولاف در روغن پنبه دانه، پودر اسفناج در روغن سویا و عصاره سبزیجات برگی (کلم، برگ‌های گشنیز جعفری، اسفناج و آویشن) در روغن آفتابگردان اشاره نمود (۱۰، ۱۷، ۲۲). آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند توکوفرول، فلاوونوئیدها، سزامول، گوسیپول، فسفولیپید، لستین، اسید آسکوربیک، اولئوروپین و اسید فتیک می‌باشد. حداقل هفت نوع توکوفرول در روغن سویا وجود دارد که دارای خصوصیات ضداکسیدانی با شدت‌های مختلف هستند. آلفا، گاما، دلتا توکوفرول در روغن خام و تصفیه شده سویا وجود داشته و گرچه مقدار گاما توکوفرول بیشتر است ولی آلفا توکوفرول بالاترین فعالیت ویتامین E را داشته و دلتا توکوفرول به عنوان یک ماده ضداکسایش بهتر عمل می‌کند. مقدار بتا توکوفرول موجود کمتر از ۳ درصد کل توکوفرول‌هاست. عمل تصفیه، تاثیری بر ترکیب اسیدهای چرب روغن نداشته ولی سبب خارج شدن قسمت عمده اسیدهای چرب آزاد و رنگدانه‌ها شده و موادی که به مقدار کم در روغن وجود دارند، نظیر توکوفرول‌ها (به مقدار ۴۷-۳۱ درصد)، استرول‌ها (۳۲-۲۵ درصد) و اسکوالن (۳۷-۱۵ درصد) کاهش می‌یابد. زیتون یکی از گیاهان دارویی می‌باشد که به خاطر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی خود شناخته شده است. در بین بخش‌های مختلف درخت زیتون، میوه زیتون، منبع ترکیبات فنولی بوده و الئوروپین فراوان‌ترین و مهمترین ترکیب فنولی موجود در برگ می‌باشد (۱۲). ترکیبات موجود در کنجاله زیتون شامل ترکیبات سکوریدوید (مانند الئوروپین، لیگستروئید، دی‌متیل‌الئوروپین و الئوزید) همچنین ترکیبات فلاونوئید مانند آپیجنین، کامپفرول، لوتئین و ترکیبات فنولی شامل اسید کافئیک، تیروزول و هیدروکسی‌تیروزول می‌باشد (۲). با وجود اینکه اثرات آنتی‌اکسیدانی کنجاله زیتون تاکنون در تحقیقات متعددی مورد تایید قرار گرفته است، ولی اثر آن به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی در روغن‌های خوراکی کمتر مورد بررسی قرار گرفته است (۱۵). نظر به اهمیت این موضوع، این پژوهش با هدف ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره کنجاله زیتون بر پایداری اکسایشی روغن سویا و مقایسه کارایی آن با غلظت‌های مجاز آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی BHT و BHA انجام گرفت.

[1] PG
[2] BHT
[3] BHA
[4] TBHQ

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

روغن سویای تصفیه شده بدون آنتی‌اکسیدان از شرکت بهشهر، کنجاله زیتون از شرکت سینا ابتکار، اتانول ۹۶٪، کاغذ صافی واتمن شماره ۱، کلروفرم، اسید استیک، یدید پتاسیم اشباع، سدیم تیوسولفات، چسب نشاسته، آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی BHT و BHA، ایزواکتان و P-anisidine از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

۲-۲-روش‌ها

۲-۲-۱- استخراج عصاره کنجاله زیتون

کنجاله زیتون آماده شده، در هوای ۴۰ درجه سانتیگراد تا رطوبت حدود ۷٪ خشک گردید. بعد از آسیاب کردن کنجاله خشک شده، از الک (مش ۳۵) عبور داده شد. سپس استخراج عصاره کنجاله زیتون به روش سوکسله با استفاده از حلال اتانول ۸۰ درصد و در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد انجام گرفت، بعد از آن عصاره بدست آمده بوسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شده و سپس حلال‌زدایی بوسیله یک تبخیرکننده دوار تحت خلاء انجام گرفت. عصاره حاصل در ظروف شیشه‌ای تیره رنگ در یخچال تا زمان بکارگیری آن نگهداری شد (۹، ۲۴، ۳۰).

۲-۲-۲- اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره کنجاله زیتون

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی عصاره کنجاله روغن زیتون به روش فولین سیوکالتیو انجام شد. در این روش، معرف فولین در حضور ترکیبات فنولی در محلول قلیایی، احیاء و رنگ آبی در محلول تولید می‌کند. شدت رنگ را می‌توان در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه طیف سنج نوری تعیین کرد. در نهایت مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره‌ها معادل میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم نمونه محاسبه گردید (۳۲).

۲-۲-۳-سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره کنجاله زیتون

برای تعیین تاثیر عصاره کنجاله روغن زیتون به عنوان آنتی‌اکسیدان بر روغن سویا و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی مجاز، عصاره خام کنجاله زیتون را در ۹ سطح ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰ و ۴۰۰پی‌پی ام و همچنین آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی BHA و BHT هر کدام با غلظت ۷۵ ppm به روغن سویای تصفیه شده عاری از آنتی‌اکسیدان افزوده و کاملا مخلوط شدند (۱۶). اثر تیمارهای بکار رفته بر پایداری اکسیداتیو روغن سویا در طول دوره نگهداری در یک آون، در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴ هفته و در فواصل زمانی ثابت ۷ روزه از طریق سنجش اندیس آنیزیدین، اندیس پراکسید، اندیس توتوکس و سپس مدت زمان مقاومت به اکسایش بررسی گردید (۶، ۲۹، ۸). سنجش اندیس پراکسید (PV) مطابق روش توصیه شده انجمن شیمی‌دانان آمریکا (AOCS، ۱۹۹۸) با شماره استاندارد cd ۸-۵۳ انجام گرفت. اندیس پراکسید مطابق رابطه ۱ محاسبه گردید (۱۸).

$$(S-B) \times N \times 1000/W \qquad (۱)$$

۲-۲-۳-۱- اندیس پراکسید

در رابطه فوق، B حجم محلول تیوسولفات سدیم مصرفی در آزمایش شاهد برحسب میلی‌لیتر، S حجم محلول تیوسولفات سدیم مصرفی در آزمایش نمونه برحسب میلی‌لیتر است، N نرمالیته تیوسولفات سدیم مصرفی و W وزن نمونه برحسب گرم است. اندیس آنیزیدین (AV) مطابق روش IUPAC، ۲/۵۰۴ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu ، مدل UV-2550) در طول موج ۳۵۰ نانومتر ارزیابی شده و طبق رابطه ۲ محاسبه شد (۵).

$$25 \times (1.2\ A_S - A_b)/m \qquad (۲)$$

۲-۲-۳-۲- اندیس آنیزیدین

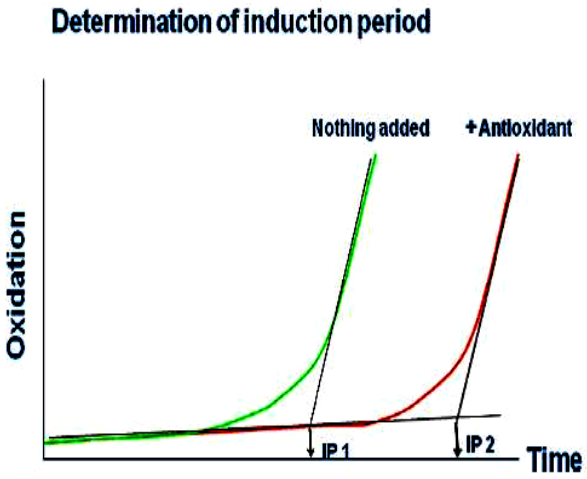
در رابطه فوق، A_S جذب محلول چربی پس از واکنش، A_b جذب محلول چربی قبل از واکنش و m وزن نمونه روغن (گرم) می‌باشد. اندیس توتوکس نیز معیاری برای ارزیابی فعالیت آنتی-اکسیدانی بوده که ارزیابی را دقیق‌تر کرده و نشان‌دهنده اکسایش کل می‌باشد و مطابق رابطه ۳ بدست می‌آید (۱۳):

$$2PV + AV \qquad (۳)$$

۲-۲-۳-۳- اندیس توتوکس

در رابطه ۳، PV اندیس پراکسید و AV اندیس آنیزیدین می‌باشد. مدت زمان مقاومت به اکسایش نمونه‌ها توسط دستگاه رنسیمت مدل ۷۴۳ ساخت شرکت Metrohm مطابق روش ارایه شده از سوی پورستوس و همکاران در سال ۲۰۰۶ سنجیده شد (۲۶).

اکسایش مولکولی‌های چربی یا روغن باعث تولید پراکسیدها شده و بعد از مدتی اسیدهای چرب بطور کامل تخریب می‌شوند و محصولات ثانویه‌ای که از اکسایش تشکیل می‌گردند شامل آلدهیدها، کتون‌ها و اسیدهای آلی کوچک مولکول دیگر هستند که اسیدهای آلی تولید شده توسط افزایش هدایت شناسایی می-شوند(۲۱). زمانی که سپری می‌شود تا محصولات ثانویه واکنش پدیدار شوند، زمان هدایت یا ضریب پایداری[1] نامیده می‌شود. دستگاه بطور اتوماتیک نمودار و زمان مربوطه را به شکل گراف جهت چاپ به پرینتر ارسال و عدد رنسمیت را ثبت می‌نماید.



شکل ۱-چگونگی اندازه‌گیری زمان هدایت (ضریب پایداری)

۲-۲-۴-تجزیه آماری داده‌ها:

در این تحقیق، تمام آزمون‌ها در چهار تکرار و نتایج با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی تجزیه واریانس گردید. آزمون مقایسه میانگین‌ها با استفاده از بسته نرم افزاری SPSS (version 19.0)بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن، (در سطح اطمینان ۹۵٪) صورت گرفت.

۳-نتایج و بحث

۳-۱-میزان ترکیبات فنولی عصاره کنجاله زیتون

نتایج آزمایشات نشان داد که ترکیبات فنولی در عصاره اتانولی آبی کنجاله زیتون حدود ۶۴/۴۹ (بر حسب میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره) بوده و حاکی از آن است که میزان استخراج ترکیبات فنولی از کنجاله زیتون در حد بسیار مطلوبی قرار دارد. البته قابل ذکر است که میزان ترکیبات فنلی استخراج شده می‌تواند به دمای استخراج، روش و شرایط عصاره‌گیری بستگی داشته باشد. در این پژوهش برای اینکه صدمه کمتری به ترکیبات فنلی وارد شود از دمای ۵۰ درجه سانتیگراد استفاده شد.

۳-۲-نتایج تغییرات اندیس پراکسید

تغییرات اندیس پراکسید روغن سویا خالص تحت تاثیر افزودن ۹ غلظت از عصاره اتانولی آبی کنجاله زیتون و آنتی‌اکسیدان شیمیایی BHA و BHT، طی ۴ هفته در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد در جدول ۱ آورده شده است. در روز اول پس از تولید، مقدار اندیس پراکسید برابر ۰/۳۲ (کیلوگرم روغن/میلی اکی والان اکسیژن) بود.

جدول ۱- نتایج اندیس پراکسید (meq O2/Kg oil) طی گذشت ۴ هفته

غلظت تیمارها	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم
۰	۱۴/۱۰^{a}	۲۰/۶۰^{a}	۳۲/۵۲^{a}	۶۸/۴۴^{a}
۵۰	۱۱/۳۱^{d}	۱۶/۰۸^{b}	۲۶/۶۷^{c}	۵۰/۲۴^{e}
۱۰۰	۱۰/۳۴^{e}	۱۳/۲۶^{e}	۲۵/۱۶^{d}	۴۷/۵۷^{f}
۱۵۰	۵/۵۳^{j}	۸/۱۱^{j}	۱۰/۲۳^{k}	۴۱/۳۴^{k}
۲۰۰	۷/۰۴^{h}	۹/۰^{i}	۲۴/۰۶^{h}	۴۶/۴۵^{h}
۲۵۰	۷/۹۴^{g}	۱۲/۵۱^{g}	۲۵/۶۱^{g}	۴۷/۲۵^{g}
۳۰۰	۱۱/۳۱^{d}	۱۴/۲۵^{d}	۲۵/۴۵^{f}	۵۰/۴۴^{d}
۳۵۰	۱۲/۴۷^{c}	۱۵/۷۰^{c}	۲۶/۱۴^{e}	۵۱/۴۴^{c}
۴۰۰	۱۲/۲۰^{b}	۱۶/۴۶^{b}	۲۷/۸۷^{b}	۵۲/۲۷^{b}
BHA	۶/۵۴^{i}	۱۰/۴۱^{h}	۱۹/۶۳^{j}	۴۴/۴۴^{j}
BHT	۹/۶۱^{f}	۱۲/۸۲^{f}	۲۰/۴۹^{i}	۴۵/۴۶^{i}

اختلاف در حروف لاتین در هر ستون، بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین-ها در سطح اطمینان ۹۵٪ می‌باشد.

با مقایسه روند تغییرات عدد پراکسید در روغن سویا طی ۴ هفته، همانطورکه در جدول ۱ نشان داده شده است، اندیس پراکسید تیمار شاهد و سایر تیمارها افزایش قابل توجهی را نشان می‌دهد. اندیس پراکسید نمونه‌ها در هفته چهارم نسبت به هفته اول، دوم و سوم با گذشت زمان، اختلاف آماری معنی‌داری از خود نشان داد و نتایج حاصله طی ۴ هفته نشان داد که میانگین اندیس پراکسید در روغن سویا حاوی ۱۵۰ppm عصاره کنجاله زیتون در حداقل مقدار خود قرار داشته و این غلظت نسبت به سایر سطوح غلظتی

[1] OSI

تحت بررسی و همچنین BHA و BHT تفاوت معنی‌داری در کاهش شدت اندیس پراکسید داشته و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به سایر تیمارها نشان داد. بعد از این غلظت از عصاره، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به BHA می‌باشد. علاوه بر این مطابق جدول ۱، افزایش غلظت عصاره کنجاله زیتون تا ppm ۱۵۰ میزان افزایش اندیس پراکسید و سرعت اکسایش کاهش یافته اما در غلظت‌های بالاتر از ppm ۱۵۰ میزان اندیس پراکسید و سرعت اکسایش افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد که این می‌تواند به علت افزایش اثرات پراکسایشی ترکیبات فنلی در غلظت‌های بالا باشد. نتایج پژوهش‌های سوتیریوس و همکاران (۲۰۰۵) نیز مطلب فوق را تایید می‌کند. این محققان نشان دادند که ترکیبات فنلی در غلظت‌های بالا در روغن سویا باعث کاهش اثر آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌شود (۲۸). همچنین نتایج حاصل از ارزیابی اندیس پراکسید در این پژوهش با نتایج بدست آمده توسط مظاهری و همکاران (۱۳۹۳) و تهامی و همکاران (۱۳۹۲) در مورد اثر عصاره دانه رازیانه در روغن‌های سویا و آفتابگردان از نظر روند تاثیر اثر آنتی‌اکسیدانی مطابقت دارد. آن‌ها نشان دادند که فعالیت ضداکسایشی عصاره دانه رازیانه به ترتیب در روغن‌های سویا و آفتابگردان بالاتر از آنتی‌آکسیدان‌های شیمیایی BHA و BHT می‌باشد (۳۰، ۳۱). همچنین قره خانی و همکاران در سال ۱۳۸۸ به بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ گزنه بر روغن سویا پرداختند و نتایج مشابهی گرفتند (۴). علاوه بر این یکرنگ و جوانمرد (۲۰۰۹) نشان دادند که پایین‌ترین میزان اندیس پراکسید در روغن در حضور غلظت‌های معینی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بکار رفته بدست آمد (۱۱) که از این حیث با نتایج حاصل از این تحقیق هم‌خوانی دارد.

۳-۳-نتایج تغییرات اندیس آنیزیدین

جدول ۲ نتایج حاصل از اندیس آنیزیدین تحت تاثیر افزودن سطوح غلظتی متفاوت عصاره کنجاله زیتون و آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی مورد مطالعه با غلظت ppm۷۵، طی ۴ هفته نگهداری در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد را نشان می‌دهد. در روز اول پس از تولید، مقدار اندیس آنیزیدین برابر ۱/۱۰ بود.

در بین تمام تیمارها، غلظت ppm۱۵۰ عصاره بیشترین تاثیر را در کاهش اندیس آنیزیدین داشت. در بین آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی تیمار BHA با غلظت تحت بررسی نسبت به آنتی‌اکسیدانBHT تفاوت معنی‌داری در کاهش آنیزیدین از خود نشان داد. همچنین با توجه به نتایج آزمون مشاهده شد که در پایان هفته اول، غلظت ppm۲۰۰ عصاره اثر برابری با BHA در کاهش اندیس آنیزیدین داشت اما در طول نگهداری در هفته‌های

جدول۲- نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های تغییرات اندیس آنیزیدین

غلظت تیمارها	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم
۰	۸/۷۴ ^{a}	۱۳/۲۹ ^{a}	۱۸/۶۲ ^{a}	۲۴/۸۵ ^{a}
۵۰	۶/۵۷ ^{c}	۱۱/۷۸ ^{b}	۱۴/۸۳ ^{d}	۱۶/۸۹ ^{e}
۱۰۰	۶/۲۹ ^{d}	۹/۸۲ ^{f}	۱۲/۸۳ ^{h}	۱۵/۲۸ ^{g}
۱۵۰	۵/۲۳ ^{g}	۷/۸۷ ^{j}	۸/۵۴ ^{k}	۱۰/۱۱ ^{j}
۲۰۰	۵/۷۳ ^{f}	۸/۲۶ ^{i}	۱۳/۳۵ ^{g}	۱۵/۸۶^{f}
۲۵۰	۶/۱۰ ^{e}	۹/۳۳ ^{g}	۱۳/۷۶ ^{f}	۱۶/۸۰ ^{e}
۳۰۰	۶/۲۸ ^{d}	۱۰/۶۲ ^{e}	۱۴/۳۴ ^{e}	۱۷/۲۵ ^{d}
۳۵۰	۶/۶۵ ^{c}	۱۰/۸۲ ^{d}	۱۵/۳۶ ^{c}	۱۸/۸۷ ^{c}
۴۰۰	۶/۸۸ ^{b}	۱۱/۵۶ ^{c}	۱۶/۱۳ ^{b}	۲۰/۸۸ ^{b}
BHA	۵/۷۹ ^{f}	۸/۴۵ ^{h}	۱۱/۰۹ ^{j}	۱۲/۱۴ ^{i}
BHT	۶/۱۴ ^{e}	۱۱/۷۶ ^{d}	۱۲/۴۰ ^{i}	۱۳/۷۵ ^{h}

اختلاف در حروف لاتین در هر ستون، بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح اطمینان ۹۵٪ می‌باشد.

بعدی در پایان هفته سوم و چهارم اثر BHA در کاهش اندیس آنیزیدین بیشتر از غلظت ppm ۲۰۰ بود. همچنین از جدول ۲ می‌شود چنین استنباط کرد که با افزایش غلظت عصاره کنجاله زیتون در روغن سویا تا میزان ppm ۱۵۰، مقدار محصولات ثانویه اکسایش و همچنین شدت اکسایش، کاهش قابل چشمگیری داشته اما در غلظت‌های بالاتر از میزان فوق، به علت افزایش اثرات پراکسایشی، روند اکسایش شدت یافته و مقدار محصولات ثانویه اکسایش افزایش می‌یابند(۱۴). کمال‌الدین و اپلکویست (۱۹۹۶) نشان دادند با افزایش غلظت ترکیبات فنلی، اثرات ضداکسایشی کاهش و شدت اکسایش افزایش می‌یابد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد (۳۴). افزایش اندیس آنیزیدین نشان دهنده توسعه واکنش‌های خود به خودی و افزایش محصولات ثانویه حاصل از تجزیه هیدروپراکسیدها و ترکیبات کربونیل دار در طول زمان نگهداری می‌باشد (۱۴). همچنین

احتمال انجام واکنش‌های میلارد و مشابه میلارد در دماهای بالا و در زمان طولانی و غلظت‌های بالای عصاره وجود دارد و ترکیبات فوق می‌توانند معرف آنیزیدین را مهار کرده و باعث ایجاد خطا در شدت جذب طول موج شده و در نتیجه ممکن است اندیس آنیزیدین را بیشتر نشان دهد. (۲۷).

۳-۴- نتایج تغییرات اندیس توتوکس

در روز اول مقدار اندیس توتوکس برابر ۲/۰۴ بوده است. میزان اندیس توتوکس پس از ۴ هفته در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد در جدول۳ ذکر شده است. با بررسی تغییرات اندیس توتوکس در طی ۴ هفته مشاهده شد که بین سطوح غلظت عصاره‌های کنجاله زیتون و میزان اندیس توتوکس نوعی رابطه درجه ۲ با نقطه مینیمم برقرار است. به طوری که متناسب با افزایش سطح غلظت عصاره از اولین سطح غلظت مورد بررسی تا سطح ۱۵۰ppm میزان اندیس توتوکس به صورت معنی‌داری کاهش یافته و سپس از سطح غلظت ۱۵۰ppm تا آخرین سطح غلظتی تحت بررسی به صورت معنی‌داری افزایش یافته است. همچنین غلظت ۱۵۰ppm از عصاره نسبت به هر دو آنتی‌اکسیدان BHA و BHT اثر بیشتری بر کاهش روند افزایشی اندیس توتوکس داشت. علاوه بر این غلظت ۲۰۰ppm تا پایان هفته دوم اثر بیشتری در کاهش شدت اندیس توتوکس نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های BHA و BHT از خود نشان داد اما در ادامه نگهداری بعد از هفته دوم اثر هر دو آنتی‌اکسیدان شیمیایی فوق در کاهش روند افزایشی اندیس توتوکس بیشتر بود.

با توجه به نتایج مندرج در جدول ۲ می‌توان گفت بالاترین میزان تولید محصولات اکسایشی در نمونه عاری از هر گونه آنتی-اکسیدان ایجاد شده است. علت افزایش شدت اندیس توتوکس در غلظت‌های بالاتر از ppm ۱۵۰ نیز می‌تواند به دلیل افزایش اثرات پر اکسایشی ترکیبات فنلی توجیه گردد (۱۴).

۳-۵- نتایج آزمون زمان مقاومت به اکسایش (رنسیمت)

نتایج آزمون سنجش زمان مقاومت به اکسایش روغن سویا تحت اثر غلظت‌های مختلف عصاره کنجاله زیتون در مقایسه با غلظت مجاز آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی مورد بررسی پس از ۴ هفته در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد در جدول۴ نشان داده شده است. نتایج حاصل از این آزمون نشان می‌دهد که غلظت ۱۵۰ppm عصاره تا پایان هفته چهارم بیشترین تاثیر را در افزایش پایداری حرارتی و اکسایشی داشت به طوری که حتی بعد از گذشت چهار هفته باز

جدول۳- نتایج مقایسه میانگین‌های تغییرات اندیس توتوکس

غلظت تیمارها	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم
۰	۴۱/۰۴ a	۶۰/۶۰ a	۸۵/ ۷۲ a	۱۸۱/۶۱ a
۵۰	۲۹/۳۲ d	۵۱/۱۴ b	۷۲/۲۱ c	۱۳۷/۱۲ e
۱۰۰	۲۷/۰۳ f	۴۳/۳۵ d	۶۸/۵۴ e	۱۳۰/۲۱ g
۱۵۰	۱۴/۴۹ k	۲۴/۰۹ k	۴۰/۹۹ k	۱۱۲/۳۲ k
۲۰۰	۲۰/۲۰ i	۲۸/۰۵ j	۶۱/۸۷ h	۱۲۹/۴۴ h
۲۵۰	۲۱/۹۱ h	۳۴/۴۷ h	۶۴/۹۸ g	۱۳۱/۲۵ f
۳۰۰	۲۸/۸۹ e	۴۰/۱۲ f	۶۷/۲۴ f	۱۳۸/۱۳ d
۳۵۰	۳۱/۹۸ c	۴۲/۲۹ e	۶۹/۶۵ d	۱۴۲/۶۰ c
۴۰۰	۳۲/۶۷ b	۴۵/۰۸ c	۷۳/۸۷ b	۱۴۵/۸۳ b
BHA	۱۸/۹۸ j	۲۹/۸۷ i	۵۰/۳۴ j	۱۲۰/۶۲ j
BHT	۲۵/۴۵ g	۳۷/۴۱ g	۵۳/۳۸ i	۱۲۴/۶۶ i

اختلاف در حروف لاتین در هر ستون، بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین-ها در سطح اطمینان ۹۵٪ می‌باشد

جدول ۴- میانگین های میزان زمان مقاومت به اکسایش (بر حسب ساعت) در طی ۴ هفته

غلظت تیمارها	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم
۰	۶/۲۶ g	۳/۴۷ i	۲/۸۴ j	۲/۳۱ h
۵۰	۷/۵۶ e	۵/۱۶ h	۳/۱۱ i	۲/۴۵ g
۱۰۰	۱۰/۲۵ b	۷/۰۸ e	۶/۸۲ d	۶/۷۶ d
۱۵۰	۱۲/۴۸ a	۸/۸۸ a	۷/۸۹ a	۶/۹۰ a
۲۰۰	10/55 b	۸/۵۸ b	۷/۶۱ b	۶/۲۰ b
۲۵۰	۹/۳۵ c	۶/۸۱ f	۶/۴۲ e	۵/۷۴ c
۳۰۰	۸/۸۳ d	۵/۶۸ g	۵/۳۵ f	۴/۷۷ d
۳۵۰	۸/۲۱ e	۵/۴۸ g	۴/۷۴ g	۳/۸۲ e
۴۰۰	۷/۷۲ f	۵/۲۲ h	۴/۲۳ h	۳/۴۷ f
BHA	۱۰/۵۸ b	۷/۷۹ c	۷/۰۹ c	۶/۱۲ b
BHT	۹/۴۱ c	۷/۴۳ d	۶/۸۵ d	۵/۸۲۰ c

کمیت‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، از لحاظ آماری تفاوت معنی-داری با هم ندارند (آزمون دانکن $p<0.05$)

هم زمان مقاومت به اکسایش در غلظت ۱۵۰ppm عصاره نسبت به پایان هفته اول نمونه شاهد بیشتر بود. آنتی‌اکسیدان BHA در افزایش پایداری اکسایشی نسبت به BHT برتر بود. همچنین

غلظت ۲۰۰ppm عصاره از نظر زمان مقاومت به اکسایش دارای اثر برابری با BHA بود. غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ppm نیز اثر برابری با BHT نشان دادند.

سالتا و همکارانش(۲۰۰۹) نشان داند که وقتی عصاره برگ زیتون حاوی پلی‌فنل‌ها به روغن‌های تجاری (زیتون، آفتابگردان و پالم) اضافه می‌گردد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و پایداری اکسیداتیو بطور قابل توجهی بهبود یافته است که با نتایج حاصل از این پژوهش نیز مطابقت می‌کند. آن‌ها همچنین نشان دادند که غلظت ۲۰۰ppm ترکیبات فنولی آزاد استخراج شده از برگ‌های زیتون نسبت به بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را در به تاخیر انداختن رنسیدیتی اکسیداتیو روغن آفتابگردان دارد (۲۰).

نتایج مقایسه شاخص‌های مورد بررسی نشان داد که با گذشت زمان، میزان اکسایش افزایش یافت. قره‌خانی و همکاران (۱۳۸۸) نتیجه گرفتند که عصاره گزنه به علت دارا بودن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی قادر هستند با رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسایش لیپیدها واکنش داده و موجب قطع واکنش‌های زنجیری و افزایش زمان اکسایش گردند (۲۵). نتایج حاصل از ارزیابی مدت زمان مقاومت به اکسایش در این پژوهش با نتایج گزارش شده از مظاهری و همکاران در سال ۱۳۹۳، تهامی و همکاران (۹۱) و محققی ثمرین و همکاران (۱۳۸۷) در استفاده از آنتی‌اکسیدان-های طبیعی مطابقت دارد (۳۰، ۳۱، ۱۱).

۴- نتیجه‌گیری

نتایج مقایسه شاخص‌های مورد بررسی حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که اندیس‌های پراکسید، آنیزیدین و توتوکس هر یک از سطوح غلظتی عصاره کنجاله زیتون و آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی با غلظت مورد بررسی، با گذشت زمان روند افزایشی از خود نشان دادند و زمان مقاومت به اکسایش یک روند کاهشی در تمامی تیمارها داشت ولی با این وجود مشاهده شد که غلظت ۱۵۰ppm عصاره کنجاله زیتون در روغن سویا به صورت معنی-داری دارای بیشترین توانایی در کنترل شاخص‌های مورد بررسی نسبت آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی BHA و BHT بود. بنابراین غلظت فوق به عنوان غلظت بهینه تعیین گردید. عصاره کنجاله زیتون در غلظت‌های پایین تر از غلظت بهینه تاثیر زیادی بر بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی نداشتند همچنین در غلظت‌های بالاتر از محدوده غلظت بهینه، اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره کاهش می‌یابد که می‌تواند به علت تبدیل آنتی‌اکسیدان‌ها به پرواکسیدان‌ها در غلظت‌های بالا بوده که به تشدید اکسایش کمک می‌کند.

در مجموع با توجه به اینکه کنجاله زیتون یک منبع طبیعی و حاصل ضایعات کارخانجاتی مثل روغن‌کشی است، بکارگیری آن نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی ارجحیت دارد. لذا غلظت ۱۵۰ppm عصاره کنجاله زیتون بعد از آزمایشات تکمیلی می-تواند به عنوان یک جایگزین مناسب به جای آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی مطالعه شده در این پژوهش در روغن سویا مورد استفاده قرار بگیرد.

۵-منابع

۱. قره‌خانی،م. قربانی،م. قره‌خانی،ا. صادقی ماهونک،ع. جبرائیلی،ش. قاسمی،ی.(۱۳۹۰). اثر عصاره‌های پوست و گوشت میوه پرتقال تامسون با پایه‌های مختلف در جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا. فصلنامه گیاهان دارویی.۶۶-۵۵: ۳۸.

۲. رفیعی، ز. جعفری،م. اعلمی،م. خمیری،م.(۱۳۹۰). ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون و کاربرد آن در روغن آفتابگردان. مجله پژوهش‌های صنایع غذایی. ۲۳-۱۱ : ۲۱.

۳. محققی ثمرین آ، پورآذرنگ ه، الهامی راد اح، دزاشیبی ز، همت یار ن. (۱۳۹۰). استخراج ترکیبات فنولی پوست سیب زمینی راموس با دو روش اولتراسوند و پرکولاسیون و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آن در روغن سویا. فصلنامه علوم و صنایع غذایی. ۹۱-۸۱ : ۸.

۴. مظاهری کلهرودی، م.، بصیری، ع. و جلالی ح. (۱۳۹۳). بررسی اثر ضداکسایشی عصاره دانه رازیانه (Foeniculum vulgare) در روغن سویا و مقایسه آن با ضداکساینده‌های شیمیایی BHA و BHT. فصلنامه علوم و صنایع غذایی. سال اول، شماره ۳، ۱۵-۲۷

5. AOCS. (1998). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society, 5th Ed., pp. 8–53. AOCS Press.

6. Anonymous. (1384). ISIRI 3608. Antioxidants. Institute of Standards and Industrial Research of Iran.

7. Anwar, F. Ali, M. Ijaz Hussain, A. Shahid, M. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (Foeniculum

vulgare Mill.) seeds from Pakistan. Flavour and Fragrance Journal.24:170-176.
8. Bandoniene D, Venskutonis PR, Gruzdiene D, & Murkovic M. (2002). Antioxidant activity of Sage (salvia officinalis L), Savory (Satureja hortensis L.) and Borage extracts in rapeseed oil. European Journal of Lipid Science and Technology, 104: 286–292.
9. Barros, LA. Heleno, S. Carcalho, AMCFR. Ferreira I. 2009. Systematic evaluation of the antioxidant potential of different parts of Foeniculum vulgare Mill. From Portugal. Food and chemical toxicology, 47:2458-2464
10. Che Man Y.B. and Jaswir I. (1999). Effects of natural and synthetic antioxidants on
changes in refined bleached and deodorized palm olein during deep – fat frying of
potato chips, Journal American Oil Chemistry Society 76: 331–339.
11. Gharekhani, M., Ghorbani, M. Ebrahimzadeh, M.A. (1388). Effect of nettle (Urtica dioica) leaves extract on the inhibition of soybean oil oxidation. Electronic Journal of Food Processing and Preservation, 1(2): 85-102.
12. Hinneburg, I. Damien Dorman, H,J. Hiltunen, R. (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. Food chemistry.97:122-129.
13. IUP AC. (1987). International Union of Pure and Applied Chemistry, Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives. Blackwell Scientific Publishers, 7th Ed.
14. Kammal-Eldin, A. and Appelqvist, L. (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. Journal of Lipids, 31: 671-701.
15. Lee, O. Lee, B. Kim, Y. Shetty, K. 2008. Radical Scavenging-Linked Antioxidant Activity of Ethanolic Extracts of Diverse Types of Extra Virgin Olive Oils. Journal of Food Science, 73 (7): C519-C525
16. Liu, M. Li, X. Q. Weber, C. Lee, C. Y. Brown, J. and Liu, R. H. 2002. Antioxidant and antiproliferation activities of raspberries. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50 (10): 2926-2930.
17. Lolos M., Oreopoulou V. and Tzia C. (1999). Oxidative stability of potato chips: effect of frying oil type, temperature and antioxidants. Journal of the Science of Food and Agriculture 79: 1524–1528.
18. Mohagheghi Samarin, A., Poorazarang, H. Elhamirad, A. H. Dezashibi1, Z. Hematyar, N. (2011). Extraction of phenolic compounds from potato peel (Ramus variety) with solvent and ultrasound-assisted methods and evaluation of its antioxidant activity in soybean oil. Journal of Food Science and Technology, 8(1): 81-91.
19. Namiki, M. (1990). Antioxidants, antimutagens in food. Journal of Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 29(4): 273-300.
20. Pokorny, J, Yanishlivea N, and Gordon M. (2001). Antioxidants in food.CRC Press, 380p.
21. Proestos, C, Boziaris, IS, Nychas, GJE, Komaitis, M. (2006). Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. Journal of Food Chemistry, 95: 664-671.
22. Ryan, D and Robards, K. 1998. Phenolic compounds in olives. Journal of Analyst.
123: 1-14
23. Ruberto, G. Tiziana Baratta, M,G. Deans, S. Damien Dorman, H,J. (2000). Antioxidant and Antimicrobial activity of foeniculum vulgare and crithmum maritimum Essential oils. Planta medica.66:687-693.
24. Saddiqi, HA. Iqbal, Z. 2011. Usage and Significance of Fennel (Foeniculum vulgare Mill.) Seeds in Eastern Medicine. Nuts & Seeds in Health and Disease Prevention, 10:461-467.
25. Salta, FN. Mylona, A. Chiou A, Boskou, G. Andrikopoulos, NK. 2009. Oxidative stability of edible vegetable oils endriched in polyphenols with olive leaf extract. Food. Sci. Technol. Int, 13: 413-421
26. Shahidi, F. Wanasundara, UN. (2002). Methods for Measuring Oxidative Rancidity in Fats and Oils. Food lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology. 2nd Ed. New York: Marcel Dekker, pp. 465–487.
27. Shahidi, F . & Naczk, M. (2003). Phenolics in food and nutraceuticals. CRC Press. pp: 403-426.
28. Shahidi, F. & Zhong, Y. (2005). Lipid Oxidation: Measurement Methods, Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 6th Ed., Six Volume Set. Memorial University of Newfoundland, Canada.
29. Singh, GS. Maurya, MP. Lampasona, DE. Catalan, C. (2006). Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of Foeniculum vulgarevolatile oil and its acetone extract. Journal of Food Control, 17: 745–752
30. Singh, G. Maurya, S. and Delampasona, M. P. (2007). A comparison of chemical antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. Food and Chemical Toxicology. 45: 1650-1661
31. Sotirios, K. & Vassiliki, O. (2005). Antioxidation properties of natural carotenoid against the AAPH-initiated oxidation of food

emulsion. Journal of Innovative. Food Science and Emerging Technologies, 7: 132-139.

32. Tahami, F. Basiri, A. (1391). Evaluation of antioxidant activity of fennel (Foeniculum vulgare) seed extract in sunflower oil. Journal of Food Technology and Nutrition, 1(10):71-78.

33. Wasowicz, E. Gramza, A. Hes, M,H. Jelen, H. Korczak, J. Malecka, M. Mildner-Szkudlarz, S. Rudzinska, M. Samotyja, U. Zawirska-Wojtasiak, R. (2004). Oxidation of lipids in food. Polish journal of food and nutrition sciences.13/54:87-100.

34. Yekrang, A., Javanmard, M. (2009). Evaluation of antioxidant activity of grapefruit seed extract on the stability of anchovy oil. Journal of Food Technology and Nutrition, 9(1): 49-60.