

تاثیر مخلوط آنتی اکسیدان های طبیعی بر پایداری اکسیداتیو مارگارین

مریم عزیزخانی^۱، پروین زندی^۲، ایرج گائینی^۳، حامد صفافر^۴، زهرا اخوان عطاری^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 فراورده های غذایی پُرچرب تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند اکسیژن، نور، حرارت، یون های فلزی و آنزیم ها قرار می گیرد و در نهایت فساد اکسیداتیو رخ می دهد. کاربرد آنتی اکسیدان های سنتزی برای به تاخیر انداختن فساد اکسیداتیو، با وجود داشتن کارایی بالا، به دلیل احتمال سمیت و سرطان زایی، زیر سؤال قرار گرفته است. هدف از این تحقیق، کاربرد مخلوطی از آنتی اکسیدان های 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 ۱٪ اسید چرب ترانس (۰/۸۹٪) و ارزش تغذیه ای بالا (P/S+T= ۲/۳۴) و ویژگی های فیزیکی و شیمیایی مطلوب تولید شد. تیمارهای آنتی اکسیدانی به کار رفته شامل ۱۰ مخلوط مختلف (F_۱- F_{۱۰}) حاوی توکوفرولها (Toc)، آسکوربیل پالمیتات (AP)، عصاره رزماری (Ros) و لسیتین (Lec) بود که همراه با یک نمونه بدون آنتی اکسیدان به عنوان شاهد (F_۰) و یک نمونه حاوی TBHQ (F_{۱۱}) مورد مطالعه قرار گرفتند. ماندگاری نمونه های مارگارین با نگهداری آنها در گرمخانه ۶۰°C به مدت ۲۵ روز و اندازه گیری عدد پراکسید (PV) و عدد آیسیدین (AV)، اندازه گیری دوره القایی (Induction period) در رسیمت در ۱۱۰°C و نیز نگهداری در یخچال (۴°C) به مدت ۱۴ هفته و سنجش PV بررسی شد. رتبه بندی تیمارهای آنتی اکسیدانی بر اساس مدت زمان لازم برای رسیدن به عدد پراکسید ۲۰ meq/kg در ۶۰°C و عدد پراکسید ۵ meq/kg در یخچال (۴°C)، محاسبه فاکتور پایداری با استفاده از نتایج آزمون رسیمت و نیز ارزش اقتصادی تیمارها انجام شد.

یافته ها: اندازه گیری PV و AV در آزمون گرمخانه (۶۰°C) در مورد اکثر تیمارها دارای هماهنگی بود و می توان به صورت F_۸>F_۷>F_{۱۰} بیان کرد. در بکارگیری معیار مدت زمان لازم برای رسیدن به عدد پراکسید ۲۰ meq/kg دو تیمار F_۷>F_{۱۰} اختلاف آماری معنی داری با F_{۱۱} نداشتند (p>۰/۰۵). رتبه بندی بر اساس فاکتور پایداری تیمارها، برتری و تفاوت آماری معنی داری را میان فعالیت آنتی اکسیدانی F_{۱۱}>F_{۱۰}>F_۷ با سایر نمونه ها نشان داد (p<۰/۰۵). مدت زمان لازم برای رسیدن به PV= ۵ meq/kg در ۴°C در تیمارهای F_۲، F_۹، F_{۱۰} و F_{۱۱} اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشت و این تیمارها نسبت به سایر نمونه ها برتر بودند (p<۰/۰۵). ماندگاری نمونه ها در دمای ۴°C بین یک ماه (F_۰، F_۱، F_۷) و سه ماه (F_{۱۰} و F_{۱۱}) متغیر بود. رتبه بندی نهایی تیمارهای آنتی اکسیدان های طبیعی به این صورت بود: F_۲>F_{۱۱}>F_۷>F_۹>F_{۱۰}>F_۸>F_۱>F_۳>F_۴>F_۶>F_۵.

نتیجه گیری: با در نظر گرفتن اثرات منفی مصرف آنتی اکسیدان های سنتزی بر سلامت مصرف کنندگان و همچنین با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و معیارهای رتبه بندی، می توان تیمارهای F_۲ (۲۰۰ ppm AP+۲۰۰ ppm Ros) و F_{۱۰} (۲۰۰ ppm Lec+۲۰۰ ppm Toc) 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

• 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 و ۴٪ ترکیبات افزودنی است. در طول نگهداری روغن‌ها، چربیها و مواد غذایی حاوی روغن، اکسیداسیون لیپیدها، علت اصلی آفت 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 سیستم‌های غذایی، بررسی کرده‌اند. آلفا، گاما و دلتا توکوفرول‌ها (Toc)، در روغنهای گیاهی وجود دارند و آنتی‌اکسیدان‌های 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 مواد غذایی حاوی چربی به کار می‌رود (۶، ۸). زندی و احمدی (۲۰۰۰) در تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی ۸ گونه از گیاهان تیره نعناع نشان دادند که عصاره رزماری در بین گونه‌های مورد بررسی، موثرترین آنتی‌اکسیدان در پایداری 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 بخشد و انتشار 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 ۱۰۰ ppm ترت‌بوتیل هیدروکینون (TBHQ) و ۵۰۰ ppm Lec استفاده کرد (۱۲). آسکوربیل پالمیتات (AP) آنتی‌اکسیدانی است که معمولاً 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، بیشتر استفاده می‌شود. کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی با وجود داشتن کارایی بالا، به دلیل احتمال سمیت، متابولیسم جذب و تجمع در بافت‌های بدن و سرطان‌زایی، زیر سؤال قرار گرفته است (۴، ۱۴).

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 (۱۹۹۴) 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

روغنی اضافه و توسط همزن در این فاز، پخش شدند.

تیمارهای آنتی اکسیدانی مورداستفاده عبارت بودند از:

F_۱: بدون آنتی اکسیدان یا شاهد،

F_۱: ۱۰۰ ppmAP + ۵۰۰ ppmToc

F_۲: ۲۰۰ ppmAP + ۲۰۰ ppmRos

F_۳: ۲۰۰ ppmRos + ۲۰۰ ppmToc

F_۴: ۱۰۰ ppmRos + ۲۰۰ ppmToc + ۲۰۰ ppmAP

F_۵: ۱۰۰۰ ppmLec + ۱۰۰ ppmToc

F_۶: ۱۰۰۰ ppmLec + ۲۵۰ ppm Toc

F_۷: ۱۰۰۰ ppmLec + ۵۰۰ ppm Toc

F_۸: ۱۰۰ ppmAP + ۵۰۰ ppm Toc + ۱۰۰۰ ppm Lec

F_۹: ۲۰۰ ppmRos + ۱۰۰ ppmAP + ۱۰۰۰ ppm Lec

F_{۱۰}: ۲۰۰ ppmRos + ۲۰۰ ppm Toc + ۱۰۰۰ ppm Lec

F_{۱۱}: (۱۲۰ ppm TBHQ)

فاز آبی شامل آب، نمک، شیر خشک، سوربات

پتاسیم، اسید سیتریک و کازئینات سدیم بود. فاز روغنی

و آبی در دمای ۴۵-۴۰°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، نقطه 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 ۴۰۰ml در

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 نمونه‌های مارگارین از

دستگاه رنسیمت (Metrohm 679 سوئیس) در

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 پژوهش‌های 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 آنتی‌اکسیدان (خنثی، بی رنگ و بی بو

شده) از شرکت "کشت و صنعت شمال" و روغن پالم

استتارین بدون آنتی‌اکسیدان (خنثی، بی رنگ و بی بو

شده) از شرکت PORIM مالزی تهیه شدند.

مخلوط توکوفرول (آلفا، دلتا و گاما)، 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 A و D₃ از BASF (آلمان)، کازئینات سدیم از

شرکت "کازئینات ایران"، کلرید سدیم از شرکت "ایران

املاح"، شیر خشک کم چربی 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 تیمارهای

آنتی‌اکسیدانی مختلف: نمونه‌های مارگارین با ۱۶٪ فاز

آبی و حدود ۸۰٪ فاز روغنی تولید شدند. فاز روغنی

شامل روغنهای آفتابگردان و پالم استتارین (۸۰:۲۰)،

امولسیفایر، محلول بتاکاروتن، اسانس، ویتامین‌ها و

آنتی‌اکسیدان‌ها بود. آنتی‌اکسیدان‌ها پس از توزین به فاز

(110°C) و محاسبه فاکتور پایداری (۲۳،۲۲،۶) انجام شد. جنبه‌های اقتصادی کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با توجه به قیمت آنها در بازار مد 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 پایداری و معیارهای رتبه‌بندی با آزمون Mann-Whitney، تجزیه و تحلیل آماری شدند. هر دو آزمون در سطح اطمینان ۹۵٪ قرار گرفتند.

• یافته‌ها

ویژگیهای کیفی روغنهای اولیه و مارگارین: ویژگیهای کیفی شامل عدد پراکسید، عدد آنیسیدین، عدد اسیدی، عدد یدی، نقطه ذوب و ترکیب اسیدهای چرب روغنهای اولیه و نمونه مارگارین شاهد در جدول ۱ و شکل ۱ ملاحظه می‌شود.

نتایج آزمون گرمخانه (Oven test) در 60°C : بررسی تغییرات عدد پراکسید و عدد آنیسیدین (شکل‌های ۳ و ۲) فاز روغنی نمونه‌های مارگارین حاوی تیمارهای مختلف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، TBHQ و نمونه شاهد نگهداری شده در گرمخانه 60°C (جدول ۲) و ارزیابی نتایج آماری آنها در دوره بیست و پنج روزه نشان می‌دهد که تیمارهای آنتی‌اکسیدانی F_2 ، F_5 ، F_9 ، F_{10} و F_{11} (TBHQ) نسبت به سایر تیمارها، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشتند ($p < 0.05$). بررسی مدت زمان رسیدن به عدد پراکسید 20 meq/kg در گرمخانه 60°C که برای رتبه‌بندی تیمارهای آنتی‌اکسیدانی تعیین شد، نشان می‌دهد که تیمارهای F_2 و F_8 ($p > 0.05$) و سپس، تیمارهای F_{10} ، F_{11} و F_7 ($p > 0.05$) دیرتر از سایر نمونه‌ها به عدد پراکسید 20 meq/kg رسیدند ($p < 0.05$).

$110 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ استفاده شد (۸،۶). تاثیرگذاری مخلوط‌های آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی را می‌توان به صورت فاکتور پایداری یا SF (Stabilization factor) نیز محاسبه کرد (۱۸،۶):

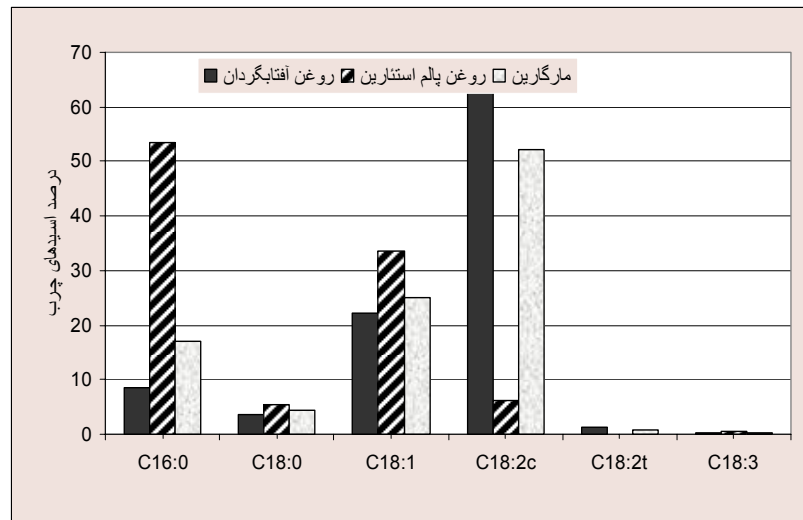
$$SF = \frac{IP_{inh}}{IP_0}$$
 دوره القایی در حضور آنتی‌اکسیدان (بازدارنده اکسیداسیون) و IP_0 دوره القایی نمونه شاهد است.
 آزمون ماندگاری نمونه‌های مارگارین در یخچال (4°C):
 عمر انباری نمونه‌های مارگارین در روز تولید و سپس به ترتیب ۲، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۴ هفته پس از تولید طی دوره نگهداری در یخچال ($4 \pm 1^{\circ}\text{C}$)، با اندازه‌گیری عدد پراکسید بررسی شد.

روشهای آزمون: عدد پراکسید، عدد آنیسیدین، عدد اسیدی، عدد یدی و نقطه ذوب با استفاده از روشهای رسمی AOCs (1997) تعیین شد. برای تعیین ترکیب اسیدهای چرب روغنهای اولیه و فاز روغنی نمونه مارگارین شاهد از گاز کروماتوگراف مدل Varian 3800/Autosampler مجهز به آشکارکننده شعله‌ای (FID) با دمای 270°C و ستون موئین (Cp splitter-88 Fame) با ابعاد $25 \mu\text{m} \times 0.25 \text{ mm}$ و 100 m و دمای محل تزریق 250°C ، فشار گاز حامل 270 کیلو پاسکال، سرعت جریان 0.6 میلی‌لیتر در دقیقه و دمای گرمخانه 175°C مطابق روش ISO (2002) استفاده شد. گاز نیتروژن به عنوان گاز حامل به کار رفت. اندازه‌گیری به صورت ایزوترمال انجام شد (۱۸،۱۷).

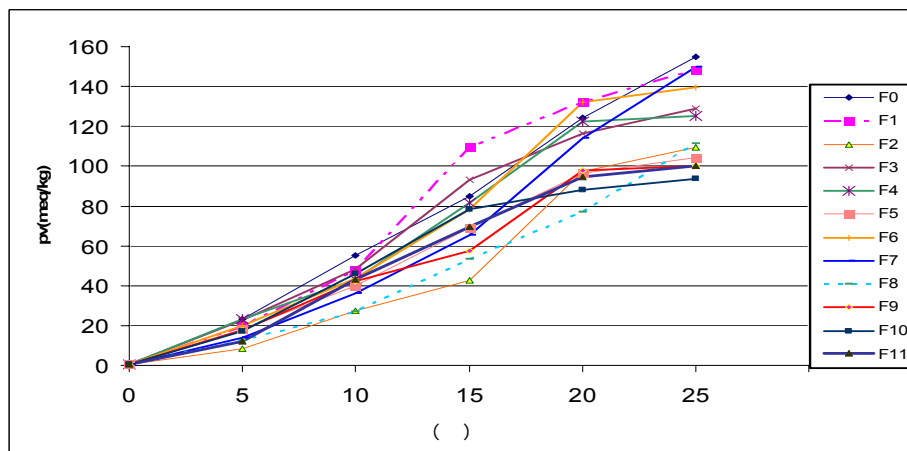
رتبه‌بندی تیمارهای آنتی‌اکسیدانی: رتبه‌بندی تیمارهای آنتی‌اکسیدانی بر اساس مدت زمان لازم برای رسیدن به عدد پراکسید 20 meq/kg در 60°C (۲۱،۲۰،۶) با استفاده از شکل ۲ و عدد پراکسید 5 meq/kg در یخچال در 4°C (۱) از شکل ۵ و همچنین نتایج آزمون رنسیمت

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

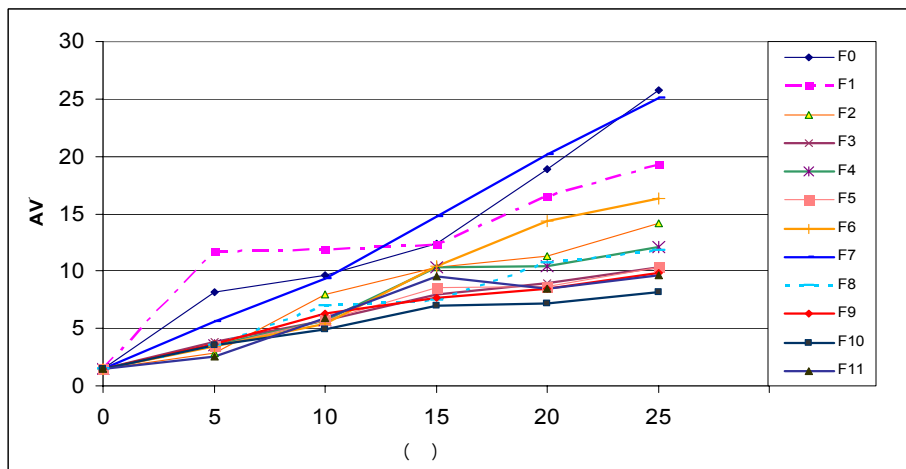
ویژگی نمونه	عدد پراکسید (meq/kg)	عدد آنیسیدین	عدد یدی (g/100g)	عدد اسیدی (mg/g)	نقطه ذوب ($^{\circ}\text{C}$)
روغن آفتابگردان	0.2 ± 0.035	1.24 ± 0.002	131.87 ± 0.078	0.04 ± 0.003	-
روغن پالم استئارین	0.75 ± 0.054	2.04 ± 0.006	38.65 ± 0.19	0.1 ± 0.004	49 ± 0.22
مارگارین	0.4 ± 0.04	1.5 ± 0.003	111.5 ± 0.45	0.03 ± 0.0025	36.5 ± 0.16



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

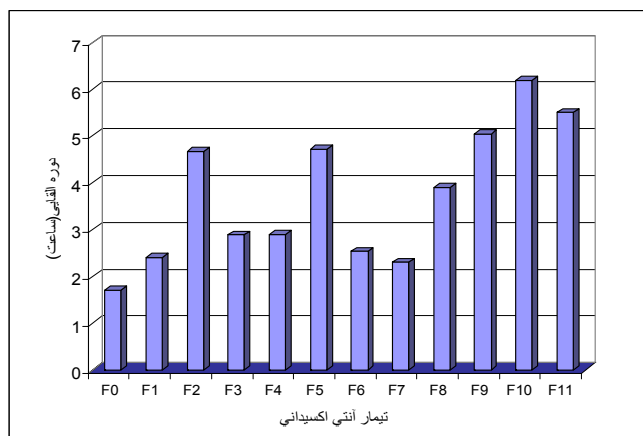


° C TBHQ



° C TBHQ

همچنین جنبه‌های اقتصادی کاربرد آنتی‌اکسیدان‌ها در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج رتبه‌بندی تیمارهای آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با شاهد و TBHQ در جدول ۳ ملاحظه می‌شود. ارقام ستون "رتبه" مجموع رتبه‌های به دست آمده از سه ستون اول است و ارزش اقتصادی در نظر گرفته نشده است، ولی در "رتبه نهایی" جنبه اقتصادی نیز مد نظر قرار گرفته است.



TBHQ
°C

نتایج آزمون رنسیمت در 110°C : ارزیابی پایداری اکسیداتیو یا دوره القایی (شکل ۴) و فاکتور پایداری سازی نمونه‌های مارگارین به روش رنسیمت در $110 \pm 0/2^{\circ}\text{C}$ (جدول ۲) و ارزیابی نتایج آماری آنها نشان می‌دهد که در سطح اطمینان ۹۵٪ تفاوت معنی داری میان تیمارهای آنتی‌اکسیدانی F_9 و F_{10} با F_{11} وجود ندارد ($p > 0/05$). پس از آن تیمارهای F_8 و F_7 فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به بقیه تیمارها داشتند ($p < 0/05$).

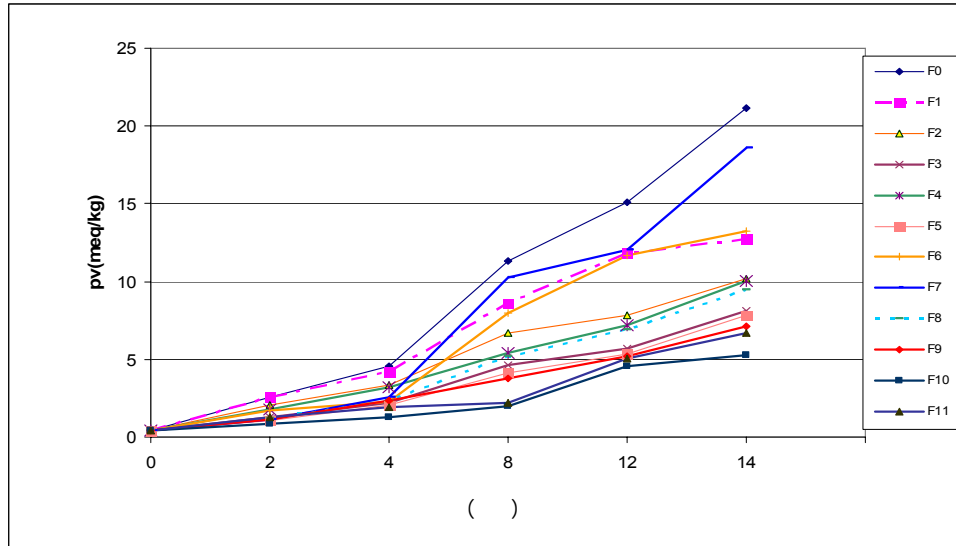
نتایج تعیین ماندگاری نمونه‌های مارگارین در 4°C : بررسی و ارزیابی نتایج آماری عدد پراکسید نمونه‌ها در یخچال تا رسیدن به عدد پراکسید نشانگر فساد ($\Delta\text{meq/kg}$) جهت تعیین عمر انباری نمونه‌های مارگارین (شکل ۵) تفاوت معنی داری را در سطح اطمینان ۹۵٪ میان تیمارهای آنتی‌اکسیدانی طبیعی شامل F_2 ، F_5 ، F_9 و F_{10} نشان نداد ($p > 0/05$).

نتایج رتبه‌بندی تیمارهای آنتی‌اکسیدانی: نتایج به دست آمده مربوط به معیارهای مورد استفاده برای رتبه‌بندی بر اساس مدت زمان رسیدن به عدد پراکسید 20 meq/kg در 60°C و عدد پراکسید $\Delta\text{meq/kg}$ در 4°C ، فاکتور پایداری سازی در رنسیمت (SF) و

جدول ۲- معیارهای مورد استفاده در رتبه‌بندی تیمارهای آنتی‌اکسیدانی

هزینه هر تیمار (ریال)	مدت زمان رسیدن به $PV = 20 \text{ meq/kg}$ در 60°C (روز)		مدت زمان رسیدن به $PV = 5 \text{ meq/kg}$ در 4°C (روز)		F
	a	*a	a	a	
a	a	a	a	a	()F
b	a	a /	a /	a /	F
b	b	b /	b /	b /	F
b	a	a /	a /	a /	F
b	a	a /	a /	a /	F
b	c	b /	a	a	F
c	a	a /	a /	a /	F
d	a	a /	c /	c /	F
d	b	b /	b	b	F
c	c	c /	a /	a /	F
c	c	c /	c	c	F
b	c	c /	c /	c /	F

P < /



شکل ۵- تغییرات عدد پراکسید فاز روغنی نمونه های مارگارین حاوی آنتی اکسیدان های طبیعی، TBHQ و نمونه شاهد نگهداری شده در یخچال (۴° C)

*

(° C)

(SF)
(° C)

(° C)

()F

F

F

F

F

F

F

F

F

F

F

F

• بحث

اسیدچرب ترانس (T) و ارزش تغذیه ای بالا (P/S+T=۲/۳۴) بود. این مارگارین فرموله شده از ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی مطلوبی هم برخوردار بود (۱). در روز پنجم گرمخانه گذاری در ۶۰° C (شکل ۲)، عدد پراکسید فاز روغنی F_۲ (۸/۱۹ meq/kg) نسبت به سایر

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که ترکیب اسیدهای چرب فاز روغنی مارگارین فرموله شده شامل ۲۱/۵۸ درصد مجموع اسیدهای چرب اشباع (S)، ۵۲/۶۴ (M یا غیراشباعی) یا ۲۴/۹۸ درصد اسید اولئیک (تک غیراشباعی) یا P، ۰/۸۹ درصد

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به تیمارهای F_2 و F_8 تعلق داشت که با تیمار F_{11} دارای اختلاف معنی‌داری از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵٪ بودند ($p < 0.05$). فاز روغنی این دو تیمار بعد از ۸ روز به عدد پراکسید ۲۰ meq/kg رسید. تیمارهای F_2 و F_8 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_1 ، F_3 ، F_4 ، F_6 ، F_7 و F_9 فعالیت کمتری داشتند. دو تیمار F_7 و F_{10} اختلاف آماری معنی‌داری با تیمار F_{11} (TBHQ) نداشتند.

ارزیابی پایداری اکسیداتیو (دوره القایی) نمونه‌های مارگارین به روش رنسیمت (110°C) و ارزیابی نتایج آماری آنها نشان داد که در سطح اطمینان ۹۵٪ تفاوت معنی‌داری میان تیمارهای آنتی‌اکسیدانی F_9 و F_{10} با F_{11} وجود نداشت ($p > 0.05$) و پس از آن، تیمارهای F_2 و F_8 فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به بقیه تیمارها داشتند ($p < 0.05$). 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 (جدول ۲) و در رتبه‌بندی تیمارها به کار رفت. SF تیمارهای F_9 ، F_{10} و F_{11} تفاوت قابل ملاحظه‌ای با هم نداشتند ($p > 0.05$) و از سایر تیمارها بالاتر بودند ($p < 0.05$). تیمارهای F_2 ، F_5 و F_8 نتیجه مشابهی داشتند ($p > 0.05$) و نسبت به سه تیمار قبلی، رتبه دوم را کسب کردند. بقیه تیمارها شامل F_1 ، F_3 ، F_4 ، F_6 و F_7 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 (نمونه‌های F_1 ، F_3 ، F_4 ، F_6 و F_7). در حالی

نمونه‌ها کمتر بود ($p < 0.05$) و بعد از آن، فاز روغنی F_{11} و F_8 (به ترتیب ۱۲/۴ و ۱۲/۱ meq/kg) کمترین عدد پراکسید را داشتند ($p < 0.05$). بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی F_8 و F_{11} در روز پنجم، از نظر آماری، تفاوت معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵٪ وجود نداشت ($p > 0.05$). در روزهای ۱۰ و ۱۵ نیز فاز روغنی تیمارهای F_2 ، F_8 و F_9 کمترین عدد پراکسید را به خود اختصاص دادند و در روزهای ۲۰ و ۲۵ تیمارهای F_2 ، F_5 ، F_9 ، F_{10} و F_{11} بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به سایر تیمارها نشان دادند ($p < 0.05$). به طور کلی بررسی روند تغییرات عدد پراکسید فاز روغنی نمونه‌ها در طول ۲۵ روز گرمخانه‌گذاری نشان داد که $(AP+Ros)F_2$ ، F_8 (Toc+AP+Lec) و F_{10} (Ros+Toc+Lec) در میان سایر تیمارهای آنتی‌اکسیدانی طبیعی، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشتند ($p < 0.05$). از بین دو تیمار F_2 و F_8 نیز، F_2 با اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵٪، برتر از F_8 بود ($p < 0.05$). در تحقیقات پژوهشگران دیگر نیز تیمارهای آنتی‌اکسیدانی 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 (شکل ۳) نشان داد که تیمارهای $(Ros+AP+Lec)F_9$ ، F_{10} و $(Ros+Toc+Lec)F_{11}$ نسبت به سایر نمونه‌ها بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشتند ($p < 0.05$) و نمونه حاوی تیمار F_{10} ، با اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر نمونه‌ها، کمترین عدد آنیسیدین را به خود اختصاص داد ($p < 0.05$). 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 ۲۰ meq/kg (جدول ۲) که با دوره القایی روغن مطابقت دارد و طبق توافق عمومی در بالاتر از این نقطه، روغن و ماده غذایی چرب، دچار فساد (Rancidity) می‌شود، برای ارزیابی دقیق‌تر فعالیت آنتی‌اکسیدانی تیمارها به کار رفت (۲۳،۲۱،۶). در این زمینه، بالاترین

تیمارهای F_2 (۲۰۰ppm AP + ۲۰۰ppm Ros) و F_1 (۲۰۰ pp Toc+۲۰۰+ppmRos)۱۰۰۰ FppmLec) را به عنوان جانشین TBHQ جهت حفظ کیفیت مارگارین و برای ادامه کار در مقیاس وسیع تر 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 مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۷۸.
2. Codex Alimentarius Commission Codex 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.

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 5 meq/kg در 4°C (جدول ۳)، 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 نمونه‌های مارگارین در دمای 4°C بین یک ماه (شاهد، F_1 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 سنتزی TBHQ 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_2 ، F_4 ، F_6 و F_7 نسبت به سایر تیمارها کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشتند. عمر انباری این تیمارها در 4°C کمتر از دو ماه بود و این نمونه‌ها زودتر از بقیه به حد غیر قابل مصرف رسیدند. همچنین این نمونه‌ها زودتر از سایر نمونه‌ها به عدد پراکسید 20 meq/kg در 60°C رسیده و در 110°C کمترین پایداری اکسیداتیو را نشان دادند. تیمار F_5 ماندگاری محصول را در 4°C به ۱۲ هفته نزدیک ساخت و در آزمونهای دیگر نیز فعالیت قابل قبولی داشت. تیمارهای F_8 و F_9 نسبت به تیمارهای ذکر شده در بالا، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشتند.

رتبه بندی نهایی تیمارهای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به صورت زیر است (جدول ۳):

$$F_2 > F_1 > F_5, F_9 > F_8 > F_1, F_3, F_4 > F_6, F_7$$

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

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 für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung 1996;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.
۱۲. زندی، پروین. شفقت احمدی، حشمت بانو. کاربرد آنتی اکسیدان‌ها در پایدار کردن روغن‌های نباتی ایران، مجموعه مقالات کنگره ملی نگهداری مواد غذایی ۲۵-۲۷ مهر ۱۳۶۶، دانشکده فنی، دانشگاه تهران، ص ۲۳۱-۲۱۷.
۱۳. زندی، پروین. جمزاد، زیبا. خوش طینت، خدیجه و همکاران. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ۱۶ گونه بومی جنس سالویا. CD مجموعه 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