مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال دهم، شماره 4، زمستان 1394، صفحات 74-63

بهبود پایداری اکسیداسیون روغن زیتون بکر با استفاده از ریز جلبک اسپیرولینا به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی

نصیره علوی[1]، ملیحه کرامت[1]، محمدتقی گلمکانی[2]، محمود امین لاری[3]، شهرام شکرفروش[4]، مسعود نوروزی[5]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، ایران

2- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، ایران، پست الکترونیکی: golmakani@shirazu.ac.ir

3- استاد بخش بیوشیمی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، ایران

4- استاد گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، ایران

5- مربی بخش مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرودشت، ایران

تاریخ دریافت: 94/1/28 تاریخ پذیرش: 94/5/12

چکیده

سابقه و هدف: امروزه از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌منظور جایگزینی با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی برای به تأخیر انداختن و یا ممانعت از اکسیداسیون روغن‌های خوراکی استفاده می‌شود. در این تحقیق، از ریزجلبک اسپیرولینا (آرتروسپیرا پلاتنسیس) به‌عنوان یک ترکیب طبیعی برای بهبود پایداری اکسیداتیو و افزایش زمان ماندگاری روغن زیتون بکر استفاده شده است.

مواد و روش‌ها: در مرحله نخست، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسپیرولینا و خصوصیات فیزیکوشیمیایی اولیه روغن زیتون بکر ارزیابی شد. در مرحله دوم، اثر افزودن اسپیرولینا بر پایداری اکسیداتیو روغن زیتون بکر با روش اکسیژن فعال (AOM) بررسی شد. سه نمونه روغن زیتون بکر با 0/5 درصد وزنی-وزنی اسپیرولینا (به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی)، 0/01 درصد وزنی-وزنی BHT (به‌عنوان آنتی‌اکسیدان سنتزی) و بدون آنتی‌اکسیدان (کنترل) تهیه شدند. میانگین دوره القا، فاکتور حفاظت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی محاسبه شد. تجزیه و تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS 19 انجام شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل نشان داد که اسپیرولینا حاوی مقدار مناسبی از فنول کل (67/72 میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم)، فلاوونوئید کل (9/16 میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم)، مقدار IC_{50} (0/364 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و فعالیت کل آنتی‌اکسیدانی (17/98 میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم) است. دوره القا، فاکتور حفاظت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه حاوی اسپیرولینا (به ترتیب 31/15 ساعت، 1/37 و 0/42) به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه کنترل (به ترتیب 22/85 ساعت، 1 و 0) بیشتر و نسبت به نمونه حاوی BHT (به ترتیب42/71 ساعت، 1/87 و 1/00) کمتر بود.

نتیجه گیری: با توجه به غیرمجاز بودن استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در روغن زیتون بکر و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسب اسپیرولینا، می‌توان از اسپیرولینا به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی جهت بهبود پایداری اکسیداتیو روغن زیتون بکر استفاده کرد.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اکسیداسیون، اسپیرولینا، روغن زیتون بکر

• مقدمه

اسپیرولینا، زیست توده خشک سیانوباکتری آرتروسپیرا پلاتنسیس (*Artrhrospira platensis*) می‌باشد (1). میزان تولید جهانی این ریز جلبک بالغ بر 5000 تن در سال بوده و بزرگ‌ترین مزرعه تولید اسپیرولینا با درجه غذایی (food garde) در جهان با مساحت کل تالاب 75000 متر مربع و ظرفیت تولید سالانه اسپیرولینا با درجه غذایی 200 تن می‌باشد (2). اسپیرولینا غنی از پروتئین، رنگدانه (شامل کلروفیل، میکسوزانتوفیل، بتاکاروتن، زی زانتین و زانتوفیل)، کربوهیدرات، مقدار نسبتاً بالایی از سیانوکوبالامین (ویتامین B_{12})، موادمعدنی و سوپراکسید دیسموتاز است. سوپراکسید دیسموتاز مهارکننده رادیکال آزاد است (3). برای C-فایکوسیانین موجود در اسپیرولینا خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی (4)، اثرات آنتی‌اکسیدانی در شرایط آزمایشگاهی و در شرایط *in vivo*، اثرات ضد التهابی، حفاظت عصبی و محافظت کبدی (5) گزارش شده است. خواص آنتی‌اکسیدانی فایکوسیانین به فعالیت مهارکنندگی رادیکال و کلاته کردن

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

فلز نسبت داده شد (6). فلاوونوئید، بتا کاروتن، ویتامین A و آلفا توکوفرول موجود در اسپیرولینا تا حد زیادی در فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی حاصل از این ریزجلبک شرکت می‌کنند (7). گزارش شده است عصاره اسپیرولینا (استخراج شده با سیال فوق بحرانی) به‌عنوان آنتی‌اکسیدانی قابل دسترس و ایمن، می‌تواند جایگزینی برای آنتی‌اکسیدان‌ها و ضد میکروب‌های سنتزی باشد (8).

آنتی‌اکسیدان‌ها به‌منظور جلوگیری یا به تأخیر انداختن فساد اکسیداتیو در مواد غذایی به‌طور گسترده به‌عنوان مواد افزودنی در روغن‌ها و چربی‌ها و در فرآوری مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (9). BHA و BHT به‌عنوان پرکاربردترین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، موجب پایداری بالای سیستم‌های غذایی مختلف می‌شوند. با این حال، کاربرد آن‌ها در مواد غذایی به دلیل عملکرد مشکوک در سرطان‌زایی و همچنین به دلیل عدم پذیرش کلی مواد افزودنی سنتزی توسط مصرف کنندگان به شدت کاهش یافته است (10). محصولات طبیعی سالم‌تر و ایمن‌تر از آنتی‌اکسیدان سنتزی هستند. از سال 1980 آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی پدیدار شدند (9).

روغن زیتون بکر، تنها با روش‌های مکانیکی و یا فیزیکی تحت شرایط حرارتی به‌گونه‌ای که منجر به دگرگونی روغن نشود به دست می‌آید (11). در طول 20 سال گذشته، تولید جهانی از 1/7 به 2/8 میلیون تن (افزایش 70 درصدی) افزایش یافته است (12). بر طبق شورای بین‌المللی روغن زیتون IOC (2015) استفاده از افزودنی‌ها مانند آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به روغن بکر مجاز نیست. پایداری روغن زیتون در مقایسه با روغن‌های گیاهی دیگر به نسبت بالای اولئیک اسید به لینولئیک اسید و به تجزیه کلروفیل‌ها به فئوفیتین نسبت داده می‌شود (13). علاوه بر این، پایدای روغن به وجود آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند ترکیبات فنولی، توکوفرول و هیدروکسی تیروزول، تیروزول، کافئیک اسید و غیره ربط داده می‌شود. با این حال، روغن زیتون مانند روغن‌های گیاهی دیگر، به اکسیداسیون حساس است. بسیاری از تغییرات نامطلوب در روغن زیتون به فرایندهای اکسیداتیو نسبت داده می‌شود (14). اکسیداسیون لیپید دلیل اصلی افت کیفیت ماده غذایی است (15). رنسیدیته به‌عنوان ایجاد طعم نامناسب در نظر گرفته می‌شود که حاصل از تجمع ترکیبات تجزیه شده واکنش‌های اکسیداسیون و یا هیدرولیز است. در ایجاد، ارزیابی و کنترل کیفیت روغن‌ها و چربی‌های خوراکی، مقاومت محصولات به اکسیداسیون و هیدرولیز، اهمیت نخست را دارد (16). برای رسیدن به یک شاخص مناسب، زمان ماندگاری در یک دوره کوتاه مدت، روش‌های پیش‌بینی پایداری اکسیداتیو در طی نگهداری روغن زیتون انجام می‌شود. یکی از این روش‌های بررسی، روش اکسیژن فعال (AOM) است که یکی از 4 روش رایج برای پیش‌بینی پایداری روغن زیتون در طی نگهداری است. این 4 روش شامل روش اکسیژن فعال (AOM)، شاخص پایداری روغن (OSI)، اکسیدوگراف و آزمون شال هستند. روش اکسیژن فعال و شاخص پایداری روغن پر کاربردترین روش‌ها در مطالعات انجام شده بر روی روغن زیتون بکر هستند. (17).

هدف از انجام این مطالعه، بررسی امکان استفاده از ریزجلبک اسپیرولینا به‌عنوان ترکیبی طبیعی جهت بهبود پایداری اکسیداسیون و زمان ماندگاری روغن زیتون بکر می‌باشد. اثر این ترکیب بر پایداری اکسیداتیو روغن با پایداری اکسیداتیو روغن زیتون بکر (بدون هیچ آنتی‌اکسیدانی) و آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) مقایسه شد.

• مواد و روش‌ها

نمونه‌ها و مواد شیمیایی: آرتروسپیرا پلاتنسیس (به شکل پودر سبزرنگ) از شرکت Swisse، ملبورن، استرالیا خریداری گردید. متانول، استیل کلرید و هگزان فوق خالص مخصوص GC، tert-Butylhydroquinone (TBHQ)، معرف نئوکوپرین، آلومینیوم کلرید، سدیم کربنات، پتاسیم استات، مس کلرید، ایزواکتان، سیکلوهگزان، اسید استیک گلاسیال 100%، دی اتیل اتر، اتانول، هگزان، پتاسیم هیدروکسید، یدید پتاسیم و کلروفرم از شرکت Merck آلمان؛ گالیک اسید، آسکوربیک اسید، کوئرستین، معرف فولین، دی فنیل پیکریل هیدرازیل و معرف آنیزیدین از شرکت Sigma- Aldrich (St. Louis, MO)؛ سدیم تیوسولفات از شرکت کیمیا مواد ایران؛ و متانول از شرکت دکتر مجللی ایران تهیه شد. بافر آمونیوم استات از شرکت BDH انگلستان تهیه شد.

تعیین خصوصیات آنتی‌اکسیدانی اسپیرولینا: به‌منظور تعیین خصوصیات آنتی‌اکسیدانی اسپیرولینا، ابتدا عصاره متانولی تهیه شد. 5 گرم پودر اسپیرولینا درون فالکون ریخته شد و 25 سی‌سی متانول به آن اضافه و با ورتکس به مدت 2 دقیقه هم زده شد. در سانتریفوژ به مدت 5 دقیقه با سرعت 5000 دور در دقیقه و دمای 15 درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. سپس لایه رویی به آرامی و به دقت برداشته شد. رسوب موجود در فالکون با قاشقک به هم زده شد و با 25 سی‌سی متانول تازه به مدت 2 دقیقه در ورتکس هم زده شد. سپس،

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

با همان شرایط ذکر شده سانتریفوژ شد. لایه رویی جدید به دست آمده به عصاره استخراج شده مرحله قبلی افزوده شد. این عصاره‌ها با کاغذ صافی (واتمن شماره 1) فیلتر شدند. محلول فیلتر شده، با شرایط ذکر شده مجدداً سانتریفوژ شد. سپس محلول به دست آمده با متانول به حجم 50 میلی‌لیتر رسید. عصاره متانولی عصاره حاصل تا زمان آنالیز در فریزر با دمای 18- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بررسی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره با روش‌های مهار رادیکال DPPH (18)، تعیین ترکیبات فنولی (19)، فلاوونوئیدی (20) و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی به روش Cupric Reducing Antioxidant Capacity؛ CUPRAC (21) انجام شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH : فعالیت آنتی‌اکسیدانی با اندازه‌گیری اثر مهار رادیکال آزاد عصاره متانولی اسپیرولینا بر رادیکال سنتزی DPPH ارزیابی شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی برطبق روش استفاده شده توسط Burits و Bucar اندازه‌گیری شد (18). جذب محلول 1:1 عصاره (در رقت‌های مختلف) و محلول متانولی DPPH بعد از نگهداری در تاریکی و دمای اتاق به مدت 30 دقیقه در طول موج 515 نانومتر با اسپکتروفتومتر(مدل VIS-7220G/UV-9200، شرکت Beijing Beifen-Ruili ، چین) خوانده شد. فعالیت آنتی رادیکالی به‌صورت غلظت نسبی استاندارد مورد نیاز جهت کم کردن غلظت اولیه DPPH تا 50% تعریف شد (IC_{50}).

مقدار فنول کل: مقدار فنول کل بر طبق روش Sun و همکاران و روش اصلاح شده Sun و همکاران (2007) با تغییرات اندک بر طبق رویه Lu و همکاران انجام شد (19). به‌طور خلاصه، 0/1 میلی‌لیتر عصاره متانولی با 0/75 میلی‌لیتر معرف فولین 10% مخلوط، و پس از گذشت زمان 10 دقیقه، 0/75 میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات 2 درصد افزوده شد و پس از نگهداری در تاریکی به مدت 45 دقیقه جذب در طول موج 765 نانومتر خوانده شد. مقدار فنول کل از منحنی کالیبراسیون تهیه شده از استانداردهای گالیک اسید تعیین شد. نتایج برحسب میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم وزن اسپیرولینا بیان شد.

مقدار فلاوونوئید کل: مقدار فلاوونوئید کل با استفاده از روش رنگی آلومینیوم کلرید انجام شد (20). 0/5 میلی‌لیتر عصاره با 0/1 میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید10%، 0/1 میلی‌لیتر پتاسیم استات و 2/8 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و پس از نگهداری به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق جذب مخلوط در طول موج 415 نانومتر خوانده شد. کوئرستین به‌عنوان استاندارد استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن اسپیرولینا بیان شد. منحنی کالیبراسیون با استفاده از خواندن جذب غلظت‌های مختلف کوئرستین به دست آمد.

ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (Cupric Reducing Antioxidant Capacity): بر طبق روش به کار رفته توسط Apak و همکاران که شامل مخلوط کردن محلول آنتی‌اکسیدانی (0/3 میلی‌لیتر) با محلول مس (II) کلرید 0/01 مولار (1 میلی‌لیتر)، 1 میلی‌لیتر محلول الکلی نئوکوپرین 0/0075 مولار (2,9- دی متیل-1، 10- فنانترولین) و بافر آبی آمونیوم استات ا مولار در pH برابر 7 (1 میلی‌لیتر) و متعاقب آن اندازه‌گیری جذب بسط داده شده در طول موج 450 نانومتر پس از 1 ساعت بود (21). غلظت مورد استفاده برای اسپیرولینا، 10 میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. از آسکوربیک اسید به‌عنوان استاندارد در محدوده غلظت 0/01 تا 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر متانول استفاده شد. نمودار کالیبراسیون استاندارد به همین روش به‌صورت جذب در مقابل غلظت ایجاد شد و جذب مولی روش CUPRAC اسپیرولینا از شیب خط کالیبراسیون مربوطه پیدا شد.

خصوصیات فیزیکوشیمیایی روغن زیتون بکر: روغن زیتون بکر از کارخانه روغن نباتی گنجه رودبار (اتکا) خریداری گردید. پروفایل اسید چرب و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی اولیه روغن زیتون بکر اندازه‌گیری شد.

ترکیب اسیدهای چرب روغن زیتون بکر: ترکیب اسیدهای چرب برای روغن زیتون کنترل در زمان صفر بر طبق روش به کار رفته توسط Golmakani و همکاران تعیین شد (22). ترکیب اسید چرب روغن زیتون، با استفاده از دستگاه GC (مدل SP-3420A، چین) مجهز به تزریق کننده split/splitless، با شناساگر Flame ionization و ستون مویین BPX70 (فاز ساکن از جنس پلیمر Bis–cyanopropylsiloxane-silphenylene، با طول 30 متر، ضخامت 0/25 میکرومتر و قطر داخلی 0/25میلی‌متر) و نیتروژن به‌عنوان گاز حامل آنالیز شد. برنامه دمایی مورد استفاده به این صورت بود: از دمای 140°C شروع شد و 5 دقیقه در این دما باقی ماند. با سرعت 20°Cدر دقیقه، دما به 180°C رسیده و 9 دقیقه در این دما باقی ماند. در انتها دما با سرعت 20°C در دقیقه، افزایش و به 200°C رسید که 3 دقیقه در این دما بود. دمای شناساگر 300°C و دمای قسمت تزریق 250°C و در حالت تقسیم (split) با نسبت 1:10 بود. میزان 3 میکرولیتر از نمونه تهیه شده درون قسمت تزریق،

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

تزریق شد. به‌منظور آنالیز کروماتوگرام‌ها از نرم‌افزار Chormaotgraphy Data Handling System استفاده شد.

عدد یدی روغن زیتون بر اساس روش AOCS به شماره Cd 1c-85 و به شکل مستقیم از ترکیب‌های اسیدهای چرب شناسایی شده توسط کروماتوگرافی گازی متیل استرهای اسیدهای چرب تعیین شد (23).

دانسیته و ضریب شکست: ضریب شکست نمونه بر طبق روش رسمی AOCS Tp 1a-64 با استفاده از رفراکتومتر Carl Zeiss Abbe از نوع رومیزی، ساخت آلمان غربی اندازه‌گیری شد. وزن مخصوص روغن زیتون بر طبق روش رسمی AOCS To 1a-64 با استفاده از پیکنومتر (Glassco، انگلستان) تعیین شد (23).

محتوای اسید چرب آزاد: اندازه‌گیری اسید چرب آزاد به روش تیتراسیون غیر آبی نمونه در مخلوط دی اتیل اتر- اتانول (1:1) با استفاده از محلول اتانولی 0/1 مولار پتاسیم هیدروکسید انجام شد (24).

عدد پراکسید: عدد پراکسید به روش اسیداستیک- کلروفرم بر طبق روش انجمن شیمیدان‌های روغن آمریکا، AOCS، Cd 8-53 محاسبه شد (23). به‌طور مختصر، 5 گرم نمونه روغن در 30 میلی‌لیتر محلول اسید استیک-کلروفرم (نسبت 3 به 2)، با افزودن 0/5 میلی‌لیتر محلول اشباع پتاسیم یدید و پس از گذشت زمان 1 دقیقه، افزودن 30 میلی‌لیتر آب و در حضور شناساگر نشاسته، با محلول سدیم تیوسولفات 0/01 نرمال تیتر شد. آزمون شاهد هم در کنار آن انجام شد.

عدد پارا-آنیزیدین (*p*-AV): بر طبق روش رسمی Cd 18-90 AOCS عدد آنیزیدین در طول موج 350nm در سل کووت 1 سانتی‌متری محلول حاوی 1 گرم روغن در 100 میلی‌لیتر مخلوط حلال و معرف آنیزیدین بر طبق روش توصیف شده در AOCS، خوانده شد و بر طبق معادله مربوطه، محاسبه شد (23).

عدد توتوکس: شاخص TOTOX به دست آمده از PV و *p*-AV بر طبق رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{توتوکس} = (\text{عدد پراکسید} \times 2) + \text{عدد پارا} - \text{آنیزیدین}$$

ضریب خاموشی ویژه در طول موج UV (جذب نور فرابنفش): جذب محلول 1 درصد روغن در حلال ایزواکتان در سل کووت 1 سانتی‌متری در طول موج‌های 232nm و 268nm بر طبق روش AOCS Ch 5-91 خوانده شد (23). معمولاً ضریب خاموشی ویژه را با K نشان می‌دهند.

محتوای کاروتنوئید و کلروفیل: محتوای کلروفیل و کاروتنوئید روغن زیتون برطبق روش‌های توصیف شده توسط Minguez-Mosquera و همکاران اندازه‌گیری شد. جزء کلروفیلی با اسپکتروفتومتر UV9200 در طول موج 670nm و جزء کاروتنوئیدی در طول موج 470nm اندازه‌گیری شد (25).

محتوای فنول کل روغن زیتون بکر: محتوای فنول کل روغن بر طبق روش Gutfinger تعیین شد (26). فنول موجود در محلول روغن (2/5 گرم) در 5 میلی‌لیتر حلال هگزان با 5 میلی‌لیتر متانول 60% با استفاده از همزن مکانیکی استخراج شد. پس از سانتریفوژ (3500 دور در دقیقه، به مدت 10 دقیقه)، 0/2 میلی‌لیتر فازمتانولی با آب تا حجم 5 میلی‌لیتر رقیق شد، و سپس 0/5 میلی‌لیتر معرف فولین افزوده شد. پس از زمان 3 دقیقه و افزودن 1 میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات 35 درصد، با آب تا حجم 10 میلی‌لیتر رقیق شد.جذب محلول در برابر شاهد در طول موج 725 نانومتر خوانده شد. کالیبراسیون با استفاده از محلول استاندارد گالیک اسید (0/5-0/05 میلی‌گرم در میلی‌لیتر) انجام شد.

ارزیابی رنگ نمونه‌های روغن زیتون بکر به روش L*a*b*: اثر افزودن ترکیبات مورد مطالعه بر رنگ نمونه‌های روغن زیتون بکر در زمان صفر بررسی شد. نمونه‌های تهیه شده برای بررسی پایداری اکسیداتیو آن‌ها، روغن زیتون حاوی اسپیرولینای 0/5 درصد وزنی-وزنی و نمونه روغن حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در مقدار 0/01 درصد (100 پی پی ام) بود. برطبق روش Afshari-Jouybari & Farahnaky (2011) از نمونه‌های روغن در یک جعبه با یک محیط بسته سفید رنگ عکس برداری شد (27). با استفاده نرم‌افزار فوتوشاپ (CS3) پارامترهای رنگی مورد ارزیابی قرار گرفت. در سیستم مختصاتی L*a*b* ، عدد L* مقدار روشنایی، محدوده‌ای از 0 (سیاه) تا 100 (سفید)، عدد a* محدوده‌ای از 100- (سبز) تا 100+ (قرمز)، عدد b* محدوده‌ای از 100- (آبی) تا 100+ (زرد) است. L*a*b* نمونه کنترل منفی، نمونه کنترل مثبت و نمونه اسپیرولینا تعیین شد. اختلاف رنگ هرکدام از نمونه‌های اسپیرولینا و BHT از نمونه کنترل (ΔE) با استفاده از فرمول زیر به دست آمد.

$$\text{اختلاف رنگ} = \sqrt{[(L^* \text{روغن حاوی ترکیب اضافه شده} - L^* \text{روغن کنترل})^2 + (a^* \text{روغن حاوی ترکیب اضافه شده} - a^* \text{روغن کنترل})^2 + (b^* \text{روغن حاوی ترکیب اضافه شده} - b^* \text{روغن کنترل})^2]}$$

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

آزمون پایداری اکسیداتیو تحت شرایط تسریع یافته: پایداری حرارتی روغن کنترل (بدون افزوده شدن هیچ آنتی‌اکسیدانی)، روغن حاوی 0/5 درصد اسپیرولینا و روغن حاوی 0/01 درصد آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (کنترل مثبت) با استفاده از روش AOM مورد بررسی قرار گرفت. آزمون اکسیژن فعال در کارخانه روغن نباتی نرگس شیراز انجام شد. 20 میلی‌لیتر از هرکدام از نمونه‌های تهیه شده و به‌طور کامل ذوب شده در لوله واکنش ریخته شد و در گرم کننده با دمای ثابت در 0/2 ± 97/8 °C نگه داشته شد. با استفاده از لوله هوادهی، هوا از میان نمونه‌های آزمایشی با استفاده از دیواره‌های موئینی که قبلا کالیبره شده بودند جریان یابد، نرخ کل جریان در 2/33 میلی‌لیتر / لوله / دقیقه تنظیم شد. زمان مورد نیاز برای رسیدن به عدد پراکسید 100 میلی‌اکی والان / کیلوگرم روغن با روش استاندارد AOM لحاظ شد (method Cd 12-57). دو مقدار عدد پراکسید بین 75 تا 175 میلی اکی والان / کیلوگرم روغن به دست آمد و در برابر زمان واکنش رسم شد. مقدار عدد پایداری AOM، زمان (بر حسب ساعت) است که در آن خط اتصال این دو نقطه، تلاقی هماهنگ برای 100 PV می‌باشد (23). زمان القاء، فاکتور حفاظت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی محاسبه شد: زمان القاء بر اساس روش استاندارد اکسیژن فعال به‌عنوان تعداد ساعات مورد نیاز برای رسیدن عدد پراکسید نمونه به 100 محاسبه شد. اعداد فاکتور حفاظت (PF) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسپیرولینا بر طبق معادله‌های زیر محاسبه شدند (28):

$$\text{فاکتور حفاظت} = \frac{\text{زمان القای نمونه حاوی آنتی اکسیدان طبیعی بر حسب ساعت}}{\text{زمان القای نمونه بدون هیچ افزودنی بر حسب ساعت}}$$

$$\text{فعالیت آنتی اکسیدانی} = \frac{\left(\text{زمان القای نمونه بدون هیچ افزودنی بر حسب ساعت} - \text{زمان القای نمونه حاوی آنتی اکسیدان طبیعی بر حسب ساعت}\right)}{\left(\text{زمان القای نمونه بدون هیچ افزودنی بر حسب ساعت} - \text{زمان القای نمونه حاوی آنتی اکسیدان سنتزی BHT بر حسب ساعت}\right)}$$

آنالیز آماری: آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (SPSS 19, USA) تعیین شد. آزمایش‌ها در سه تکرار صورت گرفت. داده‌های مختلف به‌صورت میانگین± انحراف معیار بیان شدند. تفاوت بین میانگین‌ها توسط آنالیز واریانس یکطرفه انجام و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها، از آزمون دانکن در سطح $p<0/05$ استفاده شد.

• یافته‌ها

خصوصیات آنتی‌اکسیدانی اسپیرولینا: IC_{50} عصاره اسپیرولینا و IC_{50} نسبی اسپیرولینا (مقایسه با BHT)، مقدار فنول کل، فلاوونوئید کل و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی عصاره اسپیرولینا در جدول 1 گزارش شده است. IC_{50} نسبی که از تقسیم IC_{50} آنتی‌اکسیدان BHT بر IC_{50} اسپیرولینا محاسبه شده است، برای خود BHT همواره عدد یک خواهد بود. غلظت نسبی به دست آمده برای اسپیرولینا نشان می‌دهد که غلظت بیشتری نسبت به BHT برای کاهش 50 درصدی غلظت اولیه رادیکال آزاد DPPH نیاز است. بنابر نتایج به دست آمده طبق جدول 1، اسپیرولینا به علت وجود فنول، فلاوونوئید و ترکیباتی دیگر، خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد.

جدول 1. خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره اسپیرولینا

خصوصیت آنتی‌اکسیدانی	فراوانی
IC_{50} (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	0/364±0/003[1]
IC_{50} نسبی	0/10±0/01
فنول کل (میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم اسپیرولینا)	67/72±2/92
فلاوونوئید کل (میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم اسپیرولینا)	9/16±0/51
ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم اسپیرولینا)	17/98±1/36

[1] اعداد به‌صورت میانگین±انحراف معیار سه تکرار گزارش شده‌اند.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

خصوصیات فیزیکوشیمیایی روغن زیتون بکر

ترکیب اسیدهای چرب روغن زیتون بکر: درصد اسیدهای چرب موجود در روغن زیتون بکر در جدول 2 آمده است. درصد اسیدچرب‌های محاسبه شده برای روغن مورد آزمون، در محدوده استاندارد اعلام شده توسط شورای بین‌المللی روغن زیتون (IOC) بود. محدوده‌های استاندارد برای درصد اسیدهای چرب موجود در روغن زیتون بکر و درصد اسیدهای چرب اشباع، درصد اسیدهای چرب تک غیراشباعی، درصد اسیدهای چرب چند غیراشباعی و عدد یدی نیز در جدول 2 آورده شده است. بیشترین اسید چرب موجود در روغن، اسیدچرب تک غیراشباعی یعنی اسید اولئیک بود.

خصوصیات اولیه روغن زیتون: جدول 3 ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی اولیه روغن زیتون بکر را نشان می‌دهد. هم‌چنین محدوده‌های استاندارد برای شاخص‌ها در جدول 3 آورده شده است. اعداد پارامترهای کیفی روغن زیتون بکر در این مطالعه مانند عدد اسیدی، عدد پراکسید، K_{232} و K_{268} کمتر از محدوده استاندارد برای روغن زیتون بکر بود (11).

جدول 2. ترکیب اسیدهای چرب (درصد) اولیه روغن زیتون بکر

شاخص	فراوانی	محدوده استاندارد (30، 29 ،11)
پالمیتیک اسید (%)	17/14±0/05[1]	7/5-20
استئاریک اسید (%)	0/42±0/16	0/5-5
اولئیک اسید (%)	75/44±3/77	55-83
لینولئیک اسید (%)	5/71±3/03	3/5-21
لینولنیک اسید (%)	1/29±0/53	حداکثر 1
نسبت اولئیک به لینولئیک اسید (O/L)	15/16±5/22	
اسیدهای چرب اشباع (%)	17/59±0/16	14
اسیدهای چرب غیراشباع (%)	82/41±0/16	
اسیدهای چرب تک غیراشباع (%)	74/90±2/75	72
اسیدهای چرب چند غیراشباع (%)	7/51±2/60	14
نسبت تک غیراشباع به چند غیراشباع	11/55±5/04	
حساسیت اکسیداتیو[2]	487/90±135/29	
عدد یدی	78/63±2/47	75 -94

[1] اعداد به‌صورت میانگین±انحراف معیار سه تکرار گزارش شده‌اند.

[2] حساسیت اکسیداتیو= اسیدهای چرب تک غیراشباع+ (45×اسید لینولئیک)+ (100×اسیدلینولنیک)

جدول 3. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی روغن زیتون بکر

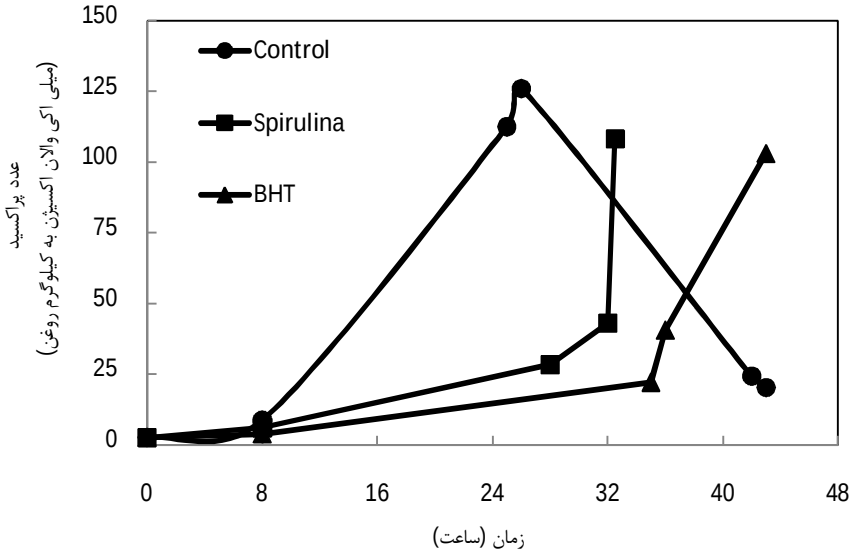
شاخص	فراوانی	محدوده استاندارد (32-30، 11)
اسید چرب آزاد (درصد اولئیک اسید)	1/76±0/15[1]	کمتر یا مساوی 2
عدد پراکسید (meq O_2/kg)	4/18±0/21	کمتر یا مساوی 20
عدد پارا-آنیزیدین (mg/kg)	3/77±0/05	
عدد توتوکس	12/13±0/37	
K_{232}	1/25±0/12	کمتر یا مساوی 2/60
K_{268}	0/12±0/00	کمتر یا مساوی 0/25
محتوای کاروتنوئید (ppm)	9/16±0/10	کمتر یا مساوی 100
محتوای کلروفیل (ppm)	15/49±0/22	1-10
فنول کل (میکروگرم معادل گالیک اسید بر گرم روغن)	294/00±0/03	100-300
ضریب شکست	1/4706±0/0021	1/4677 -1/4705
دانسیته (g/ml)	0/910±0/000	0/910 – 0/916

[1] اعداد به‌صورت میانگین±انحراف معیار سه تکرار گزارش شده‌اند.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

ارزیابی رنگ روغن حاوی اسپیرولینا: اثر افزودن اسپیرولینا و BHT به روغن زیتون بکر بر شاخص‌های رنگی L*، a* و b* در جدول 4 گزارش شده است. اختلاف رنگی روغن حاوی اسپیرولینا با روغن کنترل نشان می‌دهد که افزودن اسپیرولینا به روغن باعث کاهش شاخص روشنایی روغن (کاهش در L*)، افزایش رنگ سبز (افزایش a* به سمت منفی) و کاهش رنگ زرد روغن (کاهش b*+) شده است. نتیجه به دست آمده می‌تواند به علت مشارکت رنگدانه‌های موجود در اسپیرولینا در رنگ روغن زیتون باشد. رنگدانه‌های موجود در اسپیرولینا از جمله کلروفیل و کاروتنوئید در روغن حل شده و باعث اثرگذاری بر رنگ روغن شده است. با این حال، افزودن اسپیرولینا به روغن زیتون بر اساس آنالیز امتیازات ارزیابی حسی، اثر نامطلوبی بر رنگ روغن زیتون نداشت. روغن زیتون بکر تنها روغنی است که رنگ سبز آن مطلوب و مورد پسند مصرف کننده است. در واقع رنگ سبز از ویژگی‌های مورد قبول مصرف کننده و بیانگر طبیعی‌تر بودن و حضور بیشتر ترکیبات طبیعی با ارزش تغذیه‌ای بالا می‌باشد. افزودن آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به روغن زیتون اثری بر شاخص‌های رنگی روغن زیتون بکر نداشت.

پایداری اکسیداتیو نمونه‌های روغن: در شکل 1، پیشرفت فرایند اکسیداسیون روغن حاوی اسپیرولینا، BHT و نمونه کنترل نشان داده شده است. بر اساس این شکل، نمودار مربوط به روغن زیتون بکر کنترل نسبت به نمودار نمونه اسپیرولینا، در زمان کوتاه‌تری به حد نهایی روند افزایشی خود رسیده است و پس از آن هیدروپراکسیدهای تشکیل شده طی این روند، تجزیه شده و روغن به‌طور کامل رنسید شده است درحالی‌که اسپیرولینا مقاومت بیشتری نسبت به اکسیداسیون در برابر حرارت نشان داده و در زمان طولانی‌تر و معنی‌دارتری نسبت به روغن زیتون بکر (کنترل) به روند افزایشی ناگهانی رسیده است.



شکل1. تغییرات عدد پراکسید نمونه‌های روغن در زمان.

جدول 4. ویژگی‌های رنگی نمونه‌های روغن زیتون بکر

شاخص‌های رنگی	نمونه کنترل	نمونه حاوی BHT	نمونه حاوی اسپیرولینا
L^*	50/75±0/85[a1]	50/25±0/96[a]	41/50±0/57[b]
a^*	-3/25±0/50[a]	-3/50±0/58[a]	-7/50±1/29[b]
b^*	50/50±1/91[a]	51/00±0/82[a]	47/00±0/82[b]
ΔE^2	-	1/56±0/33[a]	10/86±0/28[b]

[1] اعداد به‌صورت میانگین±انحراف معیار سه تکرار گزارش شده‌اند. میانگین‌های ارائه شده با حروف متفاوت در هر ردیف، بیانگر تفاوت معنی‌دار ($p<0/05$) می‌باشد.
[2] اختلاف رنگی نمونه‌ها نسبت به نمونه کنترل

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

میانگین زمان القاء، فاکتور حفاظت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برای نمونه‌های مورد آزمون، در جدول 5 خلاصه شده است. این سه شاخص برای روغن حاوی اسپیرولینا به‌طور معنی‌داری بیشتر از نمونه کنترل بود. میانگین فاکتور حفاظت برای نمونه کنترل بر اساس معادله، همیشه عدد یک خواهد بود. میانگین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر طبق معادله اشاره شده در متن، بر پایه BHT و مقایسه با آن است. بر اساس این معادله، این مقدار برای کنترل همیشه عدد صفر و برای نمونه حاوی BHT عدد یک خواهد بود. بر اساس نتایج حاصل، اسپیرولینا (در مقدار 0/5 درصد) توانسته است پایداری اکسیداتیو روغن زیتون بکر را به‌طور معنی‌داری نسبت به کنترل افزایش دهد. هم‌چنین باید اشاره نمود که افزودن افزودنی مواد غذایی (آنتی‌اکسیدان سنتزی) به روغن زیتون بکر مجاز نیست (11). معمولاً زمان پایداری روغن زیتون بکر با روش AOM حدود 22 می‌باشد (33). در تحقیق حاضر نیز دوره القای (زمان پایداری) روغن زیتون بکر مورد مطالعه، 22/85 ساعت محاسبه شد.

جدول 5. میانگین زمان القاء، فاکتور حفاظت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های روغن زیتون بکر

نمونه ها	دوره القاء (ساعت)	فاکتور حفاظت	فعالیت آنتی‌اکسیدانی
نمونه کنترل	$22/85\pm0/40^{c}$[1]	$1/00\pm0/00^{c}$	-
نمونه حاوی اسپیرولینا	$31/15\pm0/03^{b}$	$1/37\pm0/02^{b}$	$0/42\pm0/02^{b}$
نمونه حاویBHT	$42/71\pm0/31^{a}$	$1/87\pm0/01^{a}$	$1/00\pm0/00^{a}$

[1] اعداد به‌صورت میانگین±انحراف معیار سه تکرار گزارش شده‌اند. میانگین‌های ارائه شده با حروف متفاوت در هر ستون، بیانگر تفاوت معنی‌دار ($p<0/05$) می‌باشد.

• بحث

امروزه از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌منظور جایگزینی با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی برای به تأخیر انداختن و یا ممانعت از اکسیداسیون روغن‌های خوراکی استفاده می‌شود. در این تحقیق، از ریزجلبک اسپیرولینا (آرتروسپیرا پلاتنسیس) به‌عنوان یک ترکیب طبیعی برای بهبود پایداری اکسیداتیو و افزایش زمان ماندگاری روغن زیتون بکر استفاده شد. نتایج نشان داد که اسپیرولینا پایداری اکسیداتیو روغن زیتون بکر را نسبت به روغن زیتون کنترل بهبود می‌دهد.

خصوصیات آنتی‌اکسیدانی اسپیرولینا: در تحقیقی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل از اسپیرولینا با استفاده از روش استخراج مایع تحت فشار و چهار حلال مختلف (هگزان، پترولیوم سبک، اتانول و آب) در دماها و زمان‌های مختلف به روش DPPH بررسی شد (34). IC_{50} برای هگزان محدوده 47/3-86/9 میکروگرم بر میلی‌لیتر، برای پترولیوم سبک محدوده 52/6 -95/6 میکروگرم بر میلی‌لیتر، برای اتانول محدوده 63/9 -100/1 میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای آب محدوده 279/3-394/5 میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد (34). Shalaby و Shanab در سال 2013 فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اسپیرولینا (متانولی، متانول 50% و آبی) در ارزیابی به روش DPPH را به وجود فنول‌ها به علت داشتن مقدار بالایی از مواد فیتوشیمیایی بیولوژیکی فعال (استرول‌ها، فلاوونوئیدها، قندهای احیاکننده، تانین‌ها و آنتراکوئنون ها) نسبت دادند (35). Jaime و همکاران آنتی‌اکسیدان‌های حاصل از ریزجلبک اسپیرولینا را با روش ترکیبی استخراج مایع تحت فشار، TLC و HPLC-DAD جداسازی و بررسی نمودند. آن‌ها کاروتنوئیدها، ترکیبات فنولی و محصولات تجزیه شده کلروفیل را به‌عنوان مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اسپیرولینا معرفی نمودند (36).

مقدار فنول کل عصاره اسپیرولینا 67/72 میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم نمونه بود. مقدار فنول اندازه‌گیری شده اسپیرولینای خالص توسط Liu و همکاران 19/47 میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم نمونه محاسبه شد (37). معمول‌ترین جزء فنولی موجود در سیانوباکتری ها، اسید آمینه شبیه به مایکوپورین (MAAs) و رنگدانه‌های فنولی هستند. گزارش شده است که این مولکول‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند (38). بررسی اولیه مقدار فنول کل بر روی اسپیرولینا جهت استفاده در پاستا توسط De Marco و همکاران صورت گرفت. از سه عصاره اسپیرولینای تهیه شده (آبی، هگزانی و اتیل استاتی)، تنها عصاره آبی مقدار بیشتری ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که مقدار آن 4/08 میلی‌گرم معادل گالیک اسید به گرم نمونه بود. هم‌چنین پاستای حاوی اسپیرولینا محتوای فنول بیشتر و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر در مقایسه با پاستای کنترل داشت (39).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

مقدار فلاوونوئید کل عصاره متانولی 9/16 میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم نمونه محاسبه شد. Wang و همکاران در بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اسپیرولینا با استخراج کربن دی اکسید فوق بحرانی، محتوای فلاوونوئید را 85/1 گرم در کیلوگرم اندازه‌گیری نمودند. هم‌چنین فعالیت بالای عصاره‌ها را علاوه بر وجود فلاوونوئید به بتاکاروتن، ویتامین A و آلفا توکوفرول نسبت دادند (7).

ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی عصاره اسپیرولینا 17/98 میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم اسپیرولینا بود. در روش CUPRAC، معرف CUPRAC آنتی‌اکسیدان‌های از نوع تیول را سریعاً اکسید می‌کند. هم‌چنین این روش همزمان آنتی‌اکسیدانی‌های هیدروفیلی و لیپوفیلی مانند آلفا توکوفرول را اندازه‌گیری می‌کند. روش CUPRAC ممکن است به‌طور مؤثر برای ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های سنتزی و ترکیب‌های واقعی استفاده شود (21).

ترکیب اسیدهای چرب روغن زیتون بکر: در بررسی ترکیب اسیدهای چرب برخی واریته‌های روغن زیتون تونسی توسط Issaoui و همکارن (2009) حساسیت اکسیداتیو، نسبت اولئیک به لینولئیک (O/L)، نسبت اسیدهای چرب تک غیراشباعی به اسیدهای چرب چند غیراشباعی یعنی MUFA به PUFA به ترتیب محدوده 520 تا 904، 9/25- 3/77، و 8/72- 3/7 بود. روغن با پایداری اکسیداتیو بالا به مقدار بالای O / L و MUFA / PUFA و همبستگی منفی با عدد یدی و با مقدار حساسیت اکسیداتیو، مقدار بالای پلی فنول‌های کل و به مقدار بالای نسبت اسیدهای چرب اشباع به چند غیراشباعی نسبت داده می‌شود (40). اما با این اوصاف، اکسیداسیون شیمیایی یا همان اکسیداسیون خودبخودی روغن زیتون بکر، فرایند مهم تاثیرگذار بر کیفیت این روغن است. فساد اکسیداتیو روغن زیتون بکر را می‌توان با کاربرد روش‌های مناسب به تأخیر انداخت، اما از اکسیداسیون آن نمی‌توان جلوگیری کرد (41). بنابراین با توجه به مطالب ذکر شده و آهسته بودن فرایند اکسیداسیون روغن زیتون بکر، آزمون‌های تسریع کننده برای بررسی پایداری اکسیداتیو این روغن استفاده می‌شوند.

خصوصیات اولیه روغن زیتون: مقدار فنول کل محاسبه شده برای روغن زیتون، 294 میکروگرم معادل گالیک اسید بر گرم روغن زیتون بود. روغن‌های زیتون در مقدار فنول قطبی کل متفاوت هستند. محدوده گسترده‌ای برای مقدار فنول کل (1000-50 پی پی ام) گزارش شده است اما معمولاً بین 100 تا 300 پی پی ام هستند. کلروفیل و کاروتنوئید به علت طبیعت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها نقش مهمی در پایداری اکسیدایتو در شرایط تاریکی و فعالیت پراکسیدانی در وجود نور دارد و اساساً مسئول رنگ روغن زیتون هستند که از رنگ زرد-سبز تا طلایی مایل به سبز تغییر می‌کند (42).

پایداری اکسیداتیو نمونه‌های روغن: تفاوت روند پیشرفت اکسیداسیون بر طبق شکل1 برای نمونه روغن حاوی اسپیرولینا و نمونه کنترل را می‌توان به مشارکت ترکیبات دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسپیرولینا در روغن زیتون بکر نسبت داد. مقدار فنول کل موجود در اسپیرولینا (67/72mg gallic acid eq/g spirulina) حدود 200 برابر بیشتر از فنول کل موجود در روغن زیتون بکر (294 پی پی ام) بوده است. همچنین وجود فلاوونوئید در اسپیرولینا (9/15 mg quercetin eq/g spirulina) و داشتن ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (17/98 mg vit C/g spirulina) نشان می‌دهد که این ترکیبات در فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن زیتون مشارکت داشته و باعث ایجاد تفاوت در روند نمودار پیشرفت اکسیداسیون شده‌اند. روغن حاوی اسپیرولینا زمان بیشتری را نسبت به روغن کنترل سپری کرده است تا به عدد پراکسید 100 برسد. میانگین فاکتور حفاظت برای نمونه کنترل بر اساس معادله، همیشه عدد یک خواهد بود، این عدد برای روغن حاوی اسپیرولینا بیشتر از 1 شده است که نشان دهنده اثر حفاظتی اسپیرولینا بر روغن زیتون بکر است. میانگین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر طبق معادله اشاره شده در متن، برپایه BHT و مقایسه با آن است. بر اساس این معادله، این مقدار برای کنترل همیشه عدد صفر و برای نمونه حاوی BHT عدد یک خواهد بود. میانگین فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن حاوی اسپیرولینا 0/42+ محاسبه شد که نشان دهنده پتانسیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ریزجلبک در روغن زیتون بکر است که (در مقدار 0/5 درصد) تقریباً نصف میانگین فاکتور حفاظت برای روغن حاوی BHT (در مقدار 0/01 درصد) بود. این تفاوت را بر این اساس می‌توان توضیح داد که اگر چه BHT یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی (خالص) است، اما اسپیرولینا توده سلولی است که تنها برخی از اجزای تشکیل دهنده آن دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند. هم‌چنین باید اشاره نمود که افزودن افزودنی مواد غذایی (آنتی‌اکسیدان سنتزی) به روغن زیتون بکر مجاز نیست (11). کارایی ریزجلبک اسپیرولینا بر بهبود پایداری اکسیداسیون روغن زیتون بکر بر اساس شکل 1 و نتایج جدول 5 را می‌توان به مشارکت فنول ها، فلاوونوئیدها،

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

رنگدانه‌ها مانند کاروتنوئیدها، محصولات تجزیه شده کلروفیل و ترکیبات دیگر نسبت داد. در بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی دو زیست توده ریزجلبکی شامل کلریلا وولگاریس (سبز و نارنجی) و هماتوکوکوس پلوویالیس در مقادیر مختلف (0، 0/75 و 1/25 وزنی-وزنی) در امولسیون‌های غذایی روغن (65 درصد وزنی-وزنی) / آب تثبیت شده با اینترفیس پروتئین نخود، افزایش مقاومت به اکسیداسیون در امولسیون‌ها به اثبات رسید (43). ارزیابی اثرآنتی‌اکسیدانی این امولسیون‌های غذایی با تعیین محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون به ترتیب با بررسی عدد پراکسید و پارا- آنیزیدین ارزیابی شد.

در نتیجه‌گیری کلی، وجود ترکیبات فنولی، ترکیبات فلاونوئیدی و داشتن ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی و توانایی مهار رادیکال آزاد نشان داد که اسپیرولینا خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد. استفاده از اسپیرولینا در روغن زیتون بکر با بررسی فاکتورهای پایداری اکسیداتیو اثبات کرد که اسپیرولینا پایداری اکسیداتیو روغن زیتون بکر را نسبت به روغن زیتون کنترل بهبود می‌دهد. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در روغن زیتون بکر بر اساس استانداردهای موجود، مجاز نیست. در نتیجه، می‌توان برای افزایش پایداری اکسیداتیو روغن زیتون بکر، از مقدار بیشتری از اسپیرولینا به‌عنوان یک ترکیب طبیعی استفاده کرد. همچنین می‌توان از اسپیرولینا با ترکیبات طبیعی دیگر که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند، به‌عنوان هم‌افزا در روغن زیتون بکر استفاده کرد.

• References

1. Belay A. Spirulina (Arthrospira): production and quality assurance. In: Gershwin ME, Belay A, editors. Spirulina in human nutrition and health: CRC Press; 2007: 2.
2. Belay A. Mass culture of Spirulina outdoors: the Earthrise Farms experience. S n: Vonshak A, editor. Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, cell-biology and biotechnology: CRC Press; 1997:132.
3. Cohen Z. The chemicals of Spirulina. In: Vonshak A, editor. Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, cell-biology and biotechnology: CRC Press; 1997:175-200.
4. Romay C, Armesto J, Remirez D, González R, Ledon N, García I. Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycocyanin from blue-green algae. Inflamm Res. 1998;47(1):36-41.
5. Romay C, Gonzalez R, Ledon N, Remirez D, Rimbau V. C-phycocyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. Curr Protein Pept Sc. 2003;4(3):207-16.
6. Bermejo P, Piñero E, Villar ÁM. Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of Spirulina platensis. Food Chem. 2008;110(2):436-45.
7. Wang L, Pan B, Sheng J, Xu J, Hu Q. Antioxidant activity of Spirulina platensis extracts by supercritical carbon dioxide extraction. Food Chem. 2007;105(1):36-41.
8. Mendiola J, Jaime L, Santoyo S, Reglero G, Cifuentes A, Ibanez E, et al. Screening of functional compounds in supercritical fluid extracts from Spirulina platensis. Food Chem. 2007;102(4):1357-67.
9. Yanishlieva-Maslarova N, Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M. Inhibiting oxidation. In: Pokorný J, Yanishlieva N, Gordon M, editors. Antioxidants in food: practical applications: Elsevier; 2001:42-43.
10. Namiki M. Antioxidants/antimutagens in food. Crc Cr Rev Food Sci. 1990;29(4):273-300.
11. IOC. International Olive Council, Trade Standard Applying to Olive oils and Olive -pomace oils. Decision COI/T.15/NC No 3/Rev. 8 , 2015..
12. Zampounis V. Olive oil in the world market. In: Boskou D, editor. Olive oil: chemistry and technology. 2 nd ed. AOCS Press; 2006: 25.
13. Ho CT, Shahidi F. Flavor components of fats and oils. In: Shahidi F, editor. Bailey's Industrial Oil and Fat Products. 6 th ed. Vol 1, Edible Oils and Fat products: Chemistry, Properties, and Health effects. Wiley-Interscience; 2005: 404.
14. Morales MT, Przybylski R. Olive oil oxidation. In: Aparicio R, Harwood J, editors. Handbook of olive oil: Springer science+ Business media; 2000: 460.
15. Shahidi F, Zhong Y. Lipid Oxidation: Measurement Methods. In: Shahidi F, editor. Bailey's Industrial Oil and Fat Products. 6 th ed. Vol 1, Edible Oils and Fat products: Chemistry, Properties, and Health effects. Wiley-Interscience; 2005: 357.
16. O'brien RD. Fats and Oils Analysis. In: O'brien RD, editor. Fats and oils: formulating and processing for applications. 3 rd ed. CRC press; 2009: 217.
17. Velasco J, Dobarganes C. Oxidative stability of virgin olive oil. Eur J Lipid Sci Tech. 2002;104(9-10):661-76.
18. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phytother Res. 2000(14):323-8.
19. Lu X, Wang J, Al-Qadiri HM, Ross CF, Powers JR, Tang J, et al. Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (Allium cepa) and shallot (Allium oschaninii) using infrared spectroscopy. Food Chem. 2011;129(2):637-44.
20. Chang C-C, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J Food Drug Anal. 2002;10(3):178-82.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

21. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. J Agr Food Chem. 2004;52(26):7970-81.

22. Golmakani M-T, Mendiola JA, Rezaei K, Ibáñez E. Expanded ethanol with CO 2 and pressurized ethyl lactate to obtain fractions enriched in γ-Linolenic Acid from Arthrospira platensis (Spirulina). J Supercrit Fluid. 2012;62:109-15.

23. AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Champaign, IL: AOCS press; 1998.

24. EC. Commission Regulation (EEC). on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. No. 2568/91 of 11 July 1991. Official Journal of the European Communities, L248/1; 1991.

25. Minguez-Mosquera MI, Rejano-Navarro L, Gandul-Rojas B, SanchezGomez AH, Garrido-Fernandez J. Color-pigment correlation in virgin olive oil. J Am Oil Chem Soc. 1991;68(5):332-6.

26. Gutfinger T. Polyphenols in olive oils. J Am Oil Chem Soc. 1981;58(11):966-8.

27. Afshari-Jouybari H, Farahnaky A. Evaluation of Photoshop software potential for food colorimetry. J Food Eng. 2011;106(2):170-5.

28. Bandonien D, Pukalskas A, Venskutonis P, Gruzdien D. Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil. Food Res Int. 2000;33(9):785-91.

29. Barjol J-L. Introduction. In: Aparicio R, Harwood J, editors. Handbook of olive oil. 2 nd ed. Springer+ Business Media; 2013:4.

30. Codex. CODEX Alimentarius Commission.Codex Standards for olive oils, virgin and refined, and for refined olive pomace oils, CODEX STAN 33-1981.Rev 1-1989: vol 8; 2001.

31. Angerosa F, Campestre C, Giansante L. Analysis and authentication. In: Boskou D, editor. Olive oil: chemistry and technology. 2 nd ed. AOCS Press; 2006: 126.

32. Boskou D, Tsimidou M, Blekas G. Polar Phenolic Compounds. In: Boskou D, editor. Olive oil: chemistry and technology. 2 nd ed. AOCS Press; 2006: 79.

33. O'brien RD. Introduction. In: O'brien RD,editor. Fats and oils: formulating and processing for applications. 3 rd ed. CRC press; 2009: 42.

34. Herrero M, Ibáñez E, Señoráns J, Cifuentes A. Pressurized liquid extracts from Spirulina platensis microalga: Determination of their antioxidant activity and preliminary analysis by micellar electrokinetic chromatography. J Chromatogr A. 2004;1047(2):195-203.

35. Shalaby EA, Shanab SM. Comparison of DPPH and ABTS assays for determing antioxidant potential of water and methanol extracts of Spirulina platensis. Indian J Geo-Mar Sci. 2013;42:556-64.

36. Jaime L, Mendiola JA, Herrero M, Soler-Rivas C, Santoyo S, Señorans FJ, et al. Separation and characterization of antioxidants from Spirulina platensis microalga combining pressurized liquid extraction, TLC, and HPLC-DAD. J Sep Sci. 2005;28(16):2111-9.

37. Liu J-G, Hou C-W, Lee S-Y, Chuang Y, Lin C-C. Antioxidant effects and UVB protective activity of Spirulina (Arthrospira platensis) products fermented with lactic acid bacteria. Process Biochem. 2011;46(7):1405-10.

38. Stengel DB, Connan S, Popper ZA. Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application. Biotechnol Adv. 2011;29(5):483-501.

39. De Marco ER, Steffolani ME, Martínez CS, León AE. Effects of spirulina biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. LWT-Food Sci and Technol. 2014;58(1):102-8.

40. Issaoui M, HASSINE KB, Flamini G, Brahmi F, Chehab H, Aouni Y, et al. Discrimination of some Tunisian olive oil varieties according to their oxidative stability, volatiles compounds and chemometric analysis. J Food Lipids. 2009;16(2):164-86.

41. Di Giovacchino L. Technological Aspects. In: Aparicio R, Harwood J, editors. Handbook of olive oil. 2 nd ed. Springer+ Business Media; 2013: 87.

42. Criado M-N, Romero M-P, Casanovas M, Motilva M-J. Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons. Food Chem. 2008;110(4):873-80.

43. Gouveia L, Raymundo A, Batista AP, Sousa I, Empis J. Chlorella vulgaris and Haematococcus pluvialis biomass as colouring and antioxidant in food emulsions. Eur Food Res Technol. 2006;222(3-4):362-7.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

Improvement of the Oxidative Stability of Virgin Olive Oil Using Spirulina as a Natural Antioxidant

*Alavi N[1], Keramat M[1], Golmakani MT[*2], Aminlari M[3], Shekarforoush S[4], Nowroozi M[5]*

1- MSc Student in Food Science and Technology, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

*2-*Corresponding Author: Assistant Prof, Dept. of Food Science and Technology, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran, Email: golmakani@shirazu.ac.ir*

3- Prof, Dept. of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

4- Prof, Dept. of Hygiene and Food Quality Control, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

5- MSc, Lecturer in Chemical Engineering, Islamic Azad University of Marvdasht, Iran

Received 7 Apr, 2015 **Accepted 3 Aug, 2015**

Background and Objectives: Nowadays, natural antioxidants are used to replace synthetic antioxidants for delaying or preventing the oxidation of edible oils. In this study, microalgae Spirulina (*Arthrospira platensis*), as natural antioxidant, was added to virgin olive oil for improving its oxidative stability.

Materials and Methods: In the first stage, the antioxidant activity of Spirulina and the physico-chemical properties of virgin olive oil were evaluated. In the second stage, the effect of Spirulina addition on the oxidative stability of virgin olive oil was determined using active oxygen method (AOM). Three samples of virgin olive oil with 0.5% (w/w) Spirulina (as natural antioxidant), 0.01% (w/w) BHT (as synthetic antioxidant), and without any antioxidant (as control) were prepared. The mean of induction period, protection factor, and antioxidant activity were calculated. Statistical analysis was performed using SPSS 19 software.

Results: The results showed that Spirulina has good total phenolic content (67.72 mg gallic acid eq/g sample), total flavonoid content (9.16 mg quercetin eq/g sample), IC_{50} value (0.364 mg/ml), and total antioxidant activity (17.98 mg Vit C/g sample). Induction period, protection factor, and antioxidant activity of the sample containing Spirulina (31.15 h, 1.37, and 0.42, respectively) were significantly higher than those of the control sample (22.85 h, 1, and 0.00, respectively) and less than those of the sample containing BHT (42.71 h, 1.87, and 1.00, respectively).

Conclusions: Due to the banned use of synthetic antioxidants in virgin olive oil and appropriate antioxidant activity of Spirulina, Spirulina as natural antioxidant can improve the oxidative stability of virgin olive oil.

Keywords: Antioxidant, Oxidation, Spirulina, Virgin olive oil

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]