

بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی توکوفرول درمقایسه با TBHQ بر روند اکسیداسیون روغن مایونز طی مدت زمان ماندگاری

ریحانه شاهین¹ - کوشان نایب زاده² - لیلا علیزاده¹ - عبدالرضا محمدی³

1- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

2- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، پست الکترونیکی: Knayebz@sbm.ac.ir

3- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 92/9/24

تاریخ پذیرش: 92/11/12

چکیده

سابقه و هدف: آنتی‌اکسیدان‌های رایج در صنایع غذایی معمولاً ترکیباتی شیمیایی و سنتزی هستند که امروزه سمیت و سرطانزا بودن تعدادی از آنها به اثبات رسیده است. در مطالعه حاضر اثر آنتی‌اکسیدان طبیعی توکوفرول، بر روند اکسیداسیون روغن سس مایونز در دمای اتاق طی شش ماه نگهداری بررسی و با آنتی‌اکسیدان سنتزی رایج در صنعت روغن یعنی TBHQ، مقایسه شده است.

مواد و روش‌ها: به منظور تهیه تیمارهای حاوی آنتی‌اکسیدان طبیعی (MTC) و سنتزی (MTQ)، به ترتیب 450 ppm توکوفرول و 150 ppm، TBHQ به روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان اضافه شد و در فرمولاسیون مایونز به کار رفت. در بررسی کیفیت محصول، اسیدیته، اندیس پراکسید، اندیس آنیزیدین، غلظت هگزانال و نیز ارزیابی‌های حسی در زمان تولید و پایان هر ماه انجام شد.

یافته‌ها: طی شش ماه فاز روغنی در هر دو نمونه دچار اکسیداسیون شد. اندیس اسیدی در هر دو نمونه افزایش یافت و بین دو نمونه در زمان‌های مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. همچنین روند تغییرات اندیس پراکسید طی 6 ماه نگهداری در تیمار MTC بسیار ملایم‌تر از تیمار MTQ بود و آنتی‌اکسیدان توکوفرول به طور مؤثری تشکیل هیدروپراکسیدها را محدود کرد. با این حال در ماه آخر نگهداری عدد پراکسید تیمار MTC نسبت به تیمار MTQ افزایش یافت. اندیس آنیزیدین و هگزانال در تیمار MTC نسبت به تیمار MTQ در هیچ یک از زمان‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. رتبه ارزیابی حسی در هر دو نمونه با گذشت زمان به صورت مشابهی کاهش یافت. این نتیجه نشان می‌دهد آنتی‌اکسیدان توکوفرول با سایر ترکیبات موجود در امولسیون تداخلات طعمی ندارد و اثر نامطلوبی روی ویژگی‌های حسی به جا نمی‌گذارد.

نتیجه‌گیری: آنتی‌اکسیدان طبیعی توکوفرول به طور مؤثری قادر است اکسیداسیون را در فاز روغنی مایونز کنترل نماید و جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در این محصول باشد.

واژگان کلیدی: توکوفرول، TBHQ، مایونز، اکسیداسیون، عمرنگهداری

• مقدمه

شده که آستانه بویایی پایینی داشته و می‌توانند روی ویژگی‌های حسی روغن‌ها و محصولات حاوی روغن تأثیر بگذارند (3). در واقع اکسیداسیون موجب تندی، تولید مواد طعم‌زا نامطلوب، رنگ نامطلوب و به طور کلی تغییر در ویژگی‌های ارگانولپتیک ماده غذایی می‌شود. به علاوه منجر به تخریب مواد مغذی مانند ویتامین‌ها شده و ارزش تغذیه‌ای محصول غذایی کاهش می‌یابد؛ همچنین برخی از ترکیبات حاصل از اکسیداسیون تهدیدی برای سلامت انسان محسوب

مایونز، امولسیون نیمه جامد روغن در آب است که حاوی زرده تخم مرغ، نمک، سرکه، روغن، مواد قوام دهنده و طعم دهنده نظیر خردل است و احتمالاً یکی از قدیمی‌ترین و پرمصرف‌ترین سس‌های موجود در جهان است (1). سس مایونز به دلیل pH پایین و چربی بالا نسبت به فساد میکروبی بسیار پایدار است (2). اکسیداسیون روغن‌ها و چربی‌ها مهم‌ترین عامل تخریب غذا در غذاهایی با چربی بالا است. در نتیجه اکسیداسیون روغن ترکیبات فراری تشکیل

نتایج نشان داد که آلفاتوکوفرول به دلیل ویژگی چربی دوستی اثر آنتی‌اکسیدانی در امولسیون دارد ولی در این مطالعه ارتباط معنی‌داری بین غلظت مصرفی توکوفرول و ویژگی آنتی‌اکسیدانی مشاهده نشد (9). همچنین Frisenfeldt Horn و همکارانش در سال 2009 اثر گاماتوکوفرول را روی محصولی انرژی زا حاوی مقادیر بالایی روغن ماهی طی ده هفته نگهداری در دمای محیط بررسی نمودند. نتایج نشان داد گاماتوکوفرول افزوده شده به روغن ماهی در غلظت‌هایی بالاتر از 440 میکروگرم در گرم بطور مؤثری قادر است از اکسیداسیون روغن طی نگهداری ممانعت به عمل آورد و بهترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت 660 میکروگرم در گرم روغن ماهی مشاهده شد (10).

با توجه به مطالب عنوان شده، در این مطالعه تلاش شده با بررسی اثر آنتی‌اکسیدان طبیعی توکوفرول، بر روند اکسیداسیون روغن سس مایونز در دمای اتاق طی شش ماه نگهداری و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان سنتزی رایج در صنعت غذا یعنی TBHQ، جایگزینی مناسب جهت استفاده در این محصول یافت شود.

• مواد و روش‌ها

تهیه مواد شیمیایی: حلال ان-دودکان جهت میکرواستخراج از شرکت سیگما آمریکا، همچنین آنتی‌اکسیدان توکوفرول از نوع مخلوط انواع ایزومرها از شرکت Vitaenatural اسپانیا و سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در انجام آزمایشات، از شرکت مرک آلمان تهیه گردید.

تهیه نمونه‌های مایونز: نمونه‌های مایونز در میکسر هموژنایزر آزمایشگاهی به حجم 6 کیلوگرم در واحد تحقیق و توسعه شرکت مهram تولید گردید. مراحل تولید سس در شکل 1 آمده است. منظور از دیسپرسیون آبی، آب به همراه مواد پودری مجاز در تهیه مایونز، شامل صمغ زانتان و نگهدارنده سوربات و بنزوات ونیز شکر می‌باشد. در تهیه مایونز حاوی آنتی‌اکسیدان طبیعی، به روغن سویا فاقد آنتی‌اکسیدان 450ppm توکوفرول و جهت تولید تیمار حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی، TBHQ، 150ppm به روغن سویا فاقد آنتی‌اکسیدان اضافه شد سپس در فرمولاسیون مایونز بکار رفت. از آنجایی که 60% محصول را روغن تشکیل می‌داد و از طرفی آنتی‌اکسیدان توکوفرول در پایه ای از روغن حل شده بود، میزان نهایی توکوفرول خالص در محصول

می‌شود. (5، 4). مطالعات موجود نشان می‌دهد مکانیسم اکسیداسیون در سیستم‌های چند فازی بسیار پیچیده‌تر از سیستم‌های تک‌فازی است (5). به همین دلیل با وجود مطالعات زیاد بر روی اکسیداسیون در سیستم‌های ساده و یا روغن‌ها مکانیسم دقیق اکسیداسیون در امولسیون‌های پیچیده غذایی نظیر مایونز به طور کامل مشخص نیست زیرا امولسیون‌ها حداقل دارای سه فاز هستند: فاز آبی، فاز روغنی و فاز میان سطح بین آب و روغن که اکسیداسیون در یکی از این سه فاز رخ خواهد داد. در مطالعات قبلی مشخص شده غلظت نمک، شکر، امولسیفایر، pH محصول و بسیاری از عوامل دیگر روی سرعت شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد و در نتیجه سرعت اکسیداسیون اثر گذاراند (6).

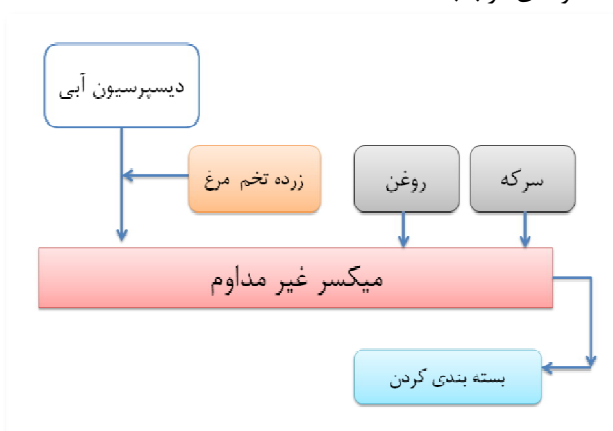
به منظور به حداقل رساندن تخریب اکسیداتیو می‌توان از آنتی‌اکسیدان‌ها در طی پروسه تولید بهره جست. آنتی‌اکسیدان‌های رایج در صنایع غذایی که از گذشته رواج داشته است، آنتی‌اکسیدان‌هایی سنتزی هستند که امروزه سمیت و سرطانزا بودن تعدادی از آنها به اثبات رسیده است. بنابراین توجه محققان و صنعت غذا به سوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی جلب شده است. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی نه تنها فاقد برخی زیان‌های آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی هستند، بلکه مصرف آنها می‌تواند به حفظ و تأمین سلامت بیشتر منجر گردد (7).

یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی توکوفرول است که در حد وسیعی در مواد غذایی بخصوص روغن‌های گیاهی وجود دارد توکوفرول به صورت ایزومرهای مختلفی در طبیعت یافت می‌شود که با نام‌های α ، β ، γ و δ توکوفرول شناخته شده و در مجموع با عنوان ویتامین E خوانده می‌شوند. توانایی توکوفرول در جذب رادیکال‌های آزاد اسید چرب و خواص سلامت بخش این ترکیب بسیار بالاست که منجر شده نظر محققان زیادی به این ماده معطوف گردد. در سال 2001، توسط Jacobsen و همکاران اثر غلظت آنتی‌اکسیدان توکوفرول در دو نوع محلول در آب و چربی به میزان 20-280 ppm بر نمونه‌های مایونز حاوی روغن ماهی بررسی شد و معلوم گردید که توکوفرول محلول در آب در تمامی غلظت‌ها خاصیت پرواکسیدانی دارد در حالی که اثر آنتی‌اکسیدانی توکوفرول محلول در چربی وابسته به غلظت به کار گرفته شده می‌باشد (8). در سال 2012 اثر آنتی‌اکسیدانی آلفاتوکوفرول توسط Kim و همکاران در سیستم امولسیونی روغن در آب بررسی شد.

تزریق به دستگاه کروماتوگرافی گازی صورت پذیرفت. در این مطالعه از ستون کاپیلاری HP-1 با ابعاد $30\text{m} \times 0/25\text{ mm I.D.}$ و ضخامت فاز ساکن $0/2\ \mu\text{m}$ جهت جداسازی ترکیبات استخراجی استفاده شد. کپسول گاز حاوی He (99/999% خلوص) به عنوان گاز حامل بود. همچنین برنامه ریزی دمایی آن شامل دما اولیه 40°C با زمان توقف 5 دقیقه و شیب دمایی اولیه $5^\circ\text{C}/\text{min}$ تا دمای 80°C و توقف 1 دقیقه ای در این دما است؛ شیب دمایی ثانویه $30^\circ\text{C}/\text{min}$ تا دمای 280°C و توقف 5 دقیقه ای در این دما می باشد. سرعت جریان گاز حامل $0/8$ میلی لیتر در دقیقه در تمامی آزمایشات استفاده شد. شناسایی ترکیبات فورانی با استفاده از دتکتور MS در حالت SIM (selected ion monitoring) انجام شد. در استخراج هگزانال از فضای فوقانی روش آماده سازی نمونه به این صورت می باشد که مقدار 2 گرم نمک کلرید سدیم و $0/2$ گرم از نمونه را به دورن یک ویال استخراجی 17 میلی لیتری حاوی یک مگنت مغناطیسی 1 سانتی متری و 10 میلی لیتر آب مقطر، منتقل نموده؛ سپس درب واپری را روی ویال نمونه قرار داده و سیل آلومینیومی را به وسیله یک پرس دستی بر روی آن محکم پرس می کنیم. پس از آن به منظور هموژن سازی، به مدت 30 ثانیه ویال را روی همزن قرار می دهیم. سرانجام ویال نمونه را درون ظرف حمام آب قرار داده، بر روی پلیت حرارتی مجهز به همزن مغناطیسی منتقل نموده و تحت دمای 45°C حمام آب و دور همزن 700 rpm قرار می دهیم. پس از گذشت زمان 10 دقیقه و برقراری تعادل حرارتی درون ویال، سوزن سرنگ حاوی 3 میکرو لیتر حلال استخراجی را به درون ویال وارد نموده و با پایین آوردن پلانگر سرنگ، قطره حلال در نوک سوزن و در فضای فوقانی بالای محلول نمونه مایونز یا روغن معلق می گردد. انتقال جرم مولکول های آنالیت به درون قطره حلال صورت گرفته و پس از گذشت زمان مناسب جهت استخراج (15 دقیقه) پلانگر را بالا کشیده و با بیرون کشیدن سوزن سرنگ از ویال نمونه، قطره درون سرنگ را به درون دستگاه GC، جهت شناسایی کیفی و تعیین کمی ترکیبات استخراجی تزریق می شود. (15) تمامی آزمون های فیزیکوشیمیایی در آزمایشگاه تحصیلات تکمیلی دانشکده تغذیه دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام پذیرفت. همچنین ارزیابی های حسی در بخش تحقیق و توسعه صنایع غذایی مهram انجام شد.

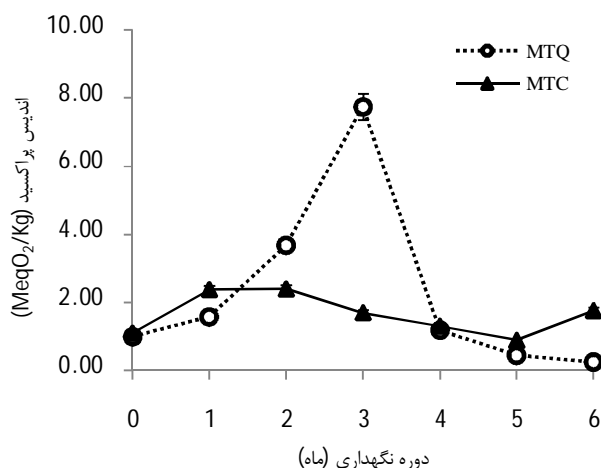
آنالیزهای آماری: در این مطالعه 7 دوره زمانی طی شش ماه نگهداری و 2 نوع تیمار مختلف وجود داشت. برای

ppm 189 شد. پس از تهیه تیمار مورد نظر، نمونه ها در ظروف شیشه ای 240 گرمی بسته بندی شده و به منظور جلوگیری از ورود نور لیبیل گذاری و غلاف گذاری گردید و تا زمان انجام آزمایشات در دمای محیط نگهداری شدند. شایان ذکر است که در هر مرحله از آزمایشات، از نمونه ی درب بسته استفاده شده است.



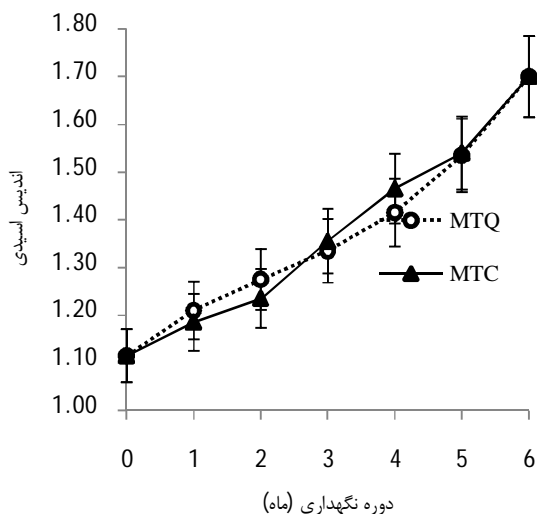
شکل 1. مراحل تولید نمونه مایونز

بررسی روند اکسیداسیون: تمامی آزمایشات در زمان تولید نمونه ها در پایان هر ماه طی شش ماه نگهداری انجام پذیرفت که در مجموع هفت دوره آزمایش را شامل می شد. عدد پراکسید و اندیس اسیدی با روش تیتراسیون و طبق استاندارد AOCS به ترتیب به شماره ها Ja 8-87 و Te 2a- 68 اندازه گیری شد (11، 12). برای بررسی اندیس آنیزیدین از روش اسپکتروفتومتری و بر طبق استاندارد AOCS به شماره 18-90 Cd استفاده شد (اسپکتروفتومتر UV-Vis مدل CE 7200 ساخت انگلستان و در طول موج 530 نانومتر) (13). تمامی آزمایشات شیمیایی با سه بار تکرار انجام شد. ارزیابی های حسی بر طبق استاندارد ملی ایران به شماره 3443 و توسط 5 ارزیاب آموزش دیده انجام شد. نمونه های مایونز با اعداد تصادفی سه رقمی نامگذاری شدند و ارزیابی با استفاده از مقیاس هدونیک پنج نقطه ای به ترتیب معادل بسیار مطلوب، مطلوب، متوسط، نامطلوب و بسیار نامطلوب و با بررسی پذیرش کلی انجام گرفت که در آن شماره 1 نشان دهنده بسیار نامطلوب و شماره 5 بسیار مطلوب می باشد. قبل از شروع ارزیابی حسی، توضیحاتی در زمینه روش درجه بندی و کلیاتی از مطالعه در اختیار ارزیابان قرار می گرفت. برای شست و شوی ذائقه و طعم بین نمونه ها از آب استفاده می شد (14). ارزیابی مقدار هگزانال موجود در فضای فوقانی با روش میکرواستخراج با فاز مایع و



شکل 2. نمودار تغییرات اندیس پراکسید طی دوره نگهداری

اندیس اسیدی: بررسی اندیس اسیدی تیمارها طی شش ماه نگهداری در دمای محیط، نشان می‌دهد با گذشت زمان میزان اسیدیته تمامی نمونه‌ها به مرور افزایش یافته است ($p < 0/05$). بنابراین در هر تیمار مستقل کمترین و بیشترین مقدار اسیدیته به ترتیب مربوط به زمان صفر (بدو تولید) و پایان زمان نگهداری می‌باشد. همان طور که در شکل 3 ملاحظه می‌شود در تمامی زمان‌ها تفاوتی میان اندیس اسیدی نمونه‌ها از لحاظ آماری وجود ندارد ($p > 0/05$) و با روند نسبتاً مشابهی تغییر می‌یابد.



شکل 3. نمودار تغییرات اندیس اسیدی طی دوره نگهداری

آزمون‌های شیمیایی جهت تجزیه و تحلیل آماری از روش تحلیل واریانس اندازه‌های تکراری یا ANOVA-GLM بر اساس حداقل تفاوت معنی‌داری یا LSD جهت بررسی و تعیین معنی‌داری تفاوت میانگین‌های هر نمونه در مراحل زمانی مختلف استفاده شد.

از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA-One Way) و در صورت نیاز از آزمون مقایسه‌های چندگانه دانکن (Duncan) برای تعیین تفاوت معنی‌داری میانگین‌ها بین نمونه‌های مختلف و در آزمون تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف استفاده شد.

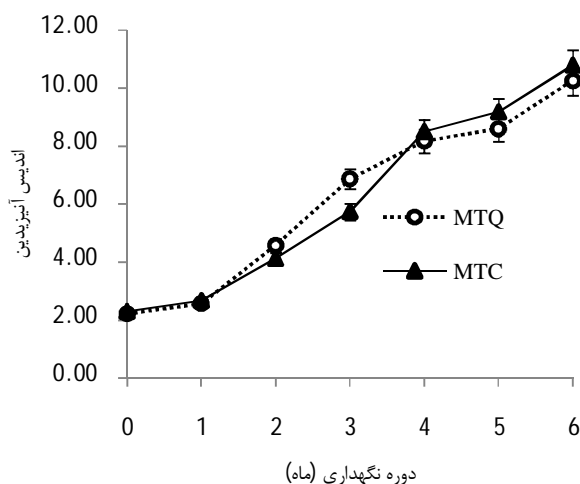
برای مشخص نمودن تفاوت معنی‌دار بین میانگین نتایج آزمون‌های حسی از روش ناپارامتری کوریسکال-والیس (Kruskal-wallis H) و برای مقایسه بین نمونه‌ها در یک زمان مشخص از آزمون من ویتنی یو (Mann-Whitney U) و از روش فریدمن (Friedman Test) و در صورت نیاز از آزمون تعقیبی ویلکاکسون (Wilcoxon) برای مقایسه یک نمونه مستقل در مراحل مختلف زمانی استفاده شد.

سطح معنی‌داری در این مطالعه $p < 0/05$ در نظر گرفته شد و جهت آنالیز داده‌ها از نرم افزار SPSS V.16.0 استفاده گردید.

• یافته‌ها

اندیس پراکسید: همان طور که در شکل 2 ملاحظه می‌شود، با وجود آنکه در زمان تولید اندیس پراکسید هر دو تیمار مشابه یکدیگر است ($p > 0/05$) روند تغییرات آن در طول زمان الگو متفاوتی را نشان می‌دهند. اندیس پراکسید در تیمار MTQ از زمان تولید به مرور افزایش می‌یابد ($p < 0/05$) و در پایان ماه سوم به بالاترین مقدار خود یعنی 7/745 (میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم روغن) می‌رسد. در ماه چهارم اندیس پراکسید به صورت ناگهانی کاهش یافته و این روند کاهشی در ماه‌های بعد نیز ادامه می‌یابد به طوری که در پایان ماه ششم مقدار آن از زمان صفر نیز کمتر شده است (0/25). الگوی افزایش، کاهشی بسیار ملایمی در تیمار MTC به چشم می‌خورد. بالاترین میزان پرکسید در این تیمار در پایان ماه دوم مشاهده می‌شود که 2/39 (میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم روغن) است. پس از آن عدد پراکسید در نمونه حاوی توکوفرول به مرور کاهش یافته و در پایان زمان پنج به کمتر از مقدار ابتدایی خود نیز می‌رسد (0/89) (میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم روغن). در نهایت در ماه آخر نگهداری مجدداً اندیس پراکسید افزایش یافته است.

(جدول 3). در زمان تولید تیمارها، رتبه حسی هر دو نمونه مشابه بوده و اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارد ($p>0/05$). این عدم تفاوت از لحاظ آماری در ارزیابی‌های حسی به غیر از پایان ماه دوم در سایر زمان‌ها طی شش ماه نگهداری نیز مشاهده می‌شود.



شکل 4. نمودار تغییرات اندیس آنیزیدین طی دوره نگهداری

تغییرات غلظت هگزانال و اندیس آنیزیدین: الگوی کلی
تغییرات آنیزیدین و غلظت هگزانال در هر دو تیمار مشابه بوده و روند رو به افزایش را نشان می‌دهد بنابراین در هر تیمار کمترین و بیشترین مقدار اندیس آنیزیدین و غلظت هگزانال به ترتیب در زمان صفر و پایان ماه ششم مشاهده می‌شود (جدول 1). در تمامی زمان‌ها، مقدار آنیزیدین دو نمونه اختلاف معنی داری را با یکدیگر نشان نمی‌دهد ($p>0/05$)، به جز در پایان ماه سوم که اندیس آنیزیدین تیمار MTQ بالاتر و همچنین پایان ماه پنجم که تیمار MTC مقدار بیشتری را نشان می‌دهد (شکل 4). همان طور که بیان شد تغییرات غلظت هگزانال در نمونه‌ها شباهت زیادی به تغییرات اندیس آنیزیدین دارد. (جدول 2). تفاوت معنی داری بین دو تیمار در هیچ یک از دوره‌های زمانی طی این شش ماه مشاهده نمی‌شود ($p>0/05$).

ارزیابی حسی: در طی دوره نگهداری و با افزایش زمان، رتبه ارزیابی حسی برای هر دو تیمار به مرور کاهش می‌یابد

جدول 1. میانگین اندیس آنیزیدین در نمونه‌های روغن استخراجی از مایونز طی شش ماه نگهداری

تیمار	زمان برحسب ماه						
	6	5	4	3	2	1	0
MTQ	10/26±0/28 ^E	8/600±0/113 ^{BD}	8/180±0/169 ^{CD}	6/875±0/332 ^{bBCD}	4/580±1/230 ^{ABC}	2/570±0/240 ^{AB}	2/215±0/148 ^A
MTC	10/79±0/25 ^D	9/180±0/070 ^{BD}	8/500±0/070 ^C	5/745±0/148 ^{AB}	4/120±1/103 ^A	2/670±0/014 ^A	2/300±0/254 ^A

* میانگین±انحراف معیار (n=3)

**حروف کوچک متفاوت در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار می‌باشد

جدول 2. میانگین تغییرات غلظت هگزانال (ng/g) در نمونه‌های مایونز طی شش ماه نگهداری

تیمار	زمان برحسب ماه						
	6	5	4	3	2	1	0
MTQ	412/04±134/82 ^C	340/15±47/475 ^B	329/16±26/044 ^B	326/17±197/42 ^B	21/437±14/864 ^A	68/265±38/580 ^A	3/339±0/479 ^A
MTC	516/55±270/39 ^C	476/06±226/68 ^C	397/27±105/15 ^{BC}	169/45±151/47 ^B	57/384±27/576 ^{AB}	7/620±8/512 ^A	7/845±2/722 ^A

* میانگین±انحراف معیار (n=3)

**حروف کوچک متفاوت در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار می‌باشد

جدول 3. تغییرات رتبه کلی ارزیابی حسی نمونه های مایونز طی شش ماه نگهداری

زمان برحسب ماه						تیمار
6	4	3	2	1	0	
1/80±0/44 ^{cA}	2/20±0/83 ^{cB}	2/60±0/54 ^{cB}	3/20±0/83 ^{bC}	3/60±0/54 ^c	4/40±0/89 ^D	MTQ
2/00±0/70 ^{cA}	2/40±0/54 ^{cB}	2/60±0/54 ^{cBC}	3/00±0/70 ^{cC}	3/60±0/89 ^{CD}	4/20±0/83 ^D	MTC

* میانگین ± انحراف معیار (نتایج بدست آمده از ارزیابی انجام شده توسط 5 نفر ارزیاب n=5)

** حروف کوچک متفاوت در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار می باشد

• بحث

اندیس اسیدی: اسیدیته معیاری برای تعیین فساد هیدرولیتیکی می باشد که در اثر هیدرولیز اسیدهای چرب در حضور آب افزایش می یابد. از این رو پایش اسیدیته یکی از پارامترهای کنترل کیفیت اکسیداسیون است. بطور کلی اسیدیته مایونز باید همواره در گستره مناسبی باشد زیرا اگر اسیدیته بیشتر از 1/5 درصد باشد در فرآورده نهایی طعم نامطلوبی داشته و قابل مصرف نمی باشد بر عکس اگر اسیدیته خیلی کم باشد محصول زود دچار فاسد میکروبی خواهد شد. اسیدیته بهینه مایونز بین 0/5 و 1/2 درصد است (19).

اسیدیته در هر دو نمونه با گذشت زمان افزایش یافته است. علت این امر این است که مایونز امولسیون روغن در آب است و بنابراین فاز آبی موجود در امولسیون مایونز قادر می باشد محیط مناسبی برای هیدرولیز شدن اسیدهای چرب از تری گلیسیریدهای موجود در فاز روغنی ایجاد نماید؛ همچنین مطالعات گذشته نشان می دهد حضور نمک شرایط مناسبی را برای لیپولیز فراهم می نماید. با این وجود در پایان زمان نگهداری اندیس اسیدی دو تیمار اختلاف معنی داری را بایکدیگر نشان نمی دهند. دلیل این امر این است که درصد آب و سایر ترکیبات موجود در فرمولاسیون به جز آنتی اکسیدان و نیز شرایط نگهداری دو تیمار کاملاً مشابه است، به عبارت دیگر نتایج نشان می دهد نوع آنتی اکسیدان ها تأثیری در فساد هیدرولیتیکی مایونز نداشته است. شاید در توضیح افزایش تدریجی اسیدیته در روغن استخراجی از مایونز بتوان به این واقعیت نیز اشاره نمود که اسیدی بودن محیط مایونز و همچنین داشتن pH پایین می تواند به عنوان پرواکسیدان عمل کرده و در واقع باعث آزاد شدن یون های آهن از فسفوتین و لیپوویتلین از زرده تخم مرغ شده و به عنوان فعال کننده آنزیم های لیپاز عمل کرده و موجب هیدرولیز شدن تری گلیسیریدها در فاز روغنی شوند،

اندیس پراکسید: اندیس پراکسید، معیاری جهت اندازه گیری هیدروپراکسیدهای موجود در محصول است که در مراحل اولیه اکسیداسیون تولید می گردند. افزایش عدد پراکسید در طول زمان ناشی از شدت یافتن اکسیداسیون با افزایش مدت زمان نگهداری است. از آنجایی که مایونز امولسیون روغن در آب است و فاز روغنی آن در تماس با سطح وسیعی از آب قرار می گیرد بسیار مستعد فساد اکسیداتیو می باشد. از سوی دیگر فاز آبی در امولسیون مایونز حامل مقادیر بالایی از اکسیژن است که سبب افزایش اکسیداسیون می شود، از این رو عدد پراکسید در هر دو نمونه با گذشت زمان افزایش یافته است. با تجزیه شدن هیدروپراکسیدها به ترکیبات ثانویه، در انتهای ماه سوم مقدار آنها کاهش شدیدی را در تیمار MTQ نشان می دهد. در این مرحله سرعت شکستن هیدروپراکسیدها از سرعت تشکیل شان بیشتر است. نتایج مشابهی در مطالعات گذشته نیز بدست آمده است (16-18). اما در تیمار MTC روند افزایشی هیدروپراکسیدها بسیار کند است که نشان می دهد آنتی اکسیدان توکوفرول به طور مؤثری تشکیل هیدروپراکسیدها را مهار کرده است بطوریکه سرعت اکسیداسیون در مراحل اولیه از تیمار MTQ به طور معنی داری کم تر است. در توضیح علت آن لازم به ذکر است که توکوفرول یک آنتی اکسیدان اولیه است و به طور مستقیم با رادیکال های آزاد تشکیل شده در مراحل اولیه اکسیداسیون واکنش داده و آنها را مهار می کند. افزایش ملایم عدد پراکسید در تیمار MTC در ماه آخر نگهداری احتمالاً به دلیل ادامه روند اکسیداسیون و اکسیده شده اسیدهای چرب غیر اشباع در این تیمار می باشد.

پایداری اکسیداتیو روغن آفتابگردان انجام شد، دریافتند که مقادیر آلدئیدها همچون هگزانال روند افزایشی را در طی دوره 9 روزه نگهداری در شرایط تسریع شده اکسیداسیون نشان می‌دهد (22). با این وجود تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار در هیچ یک از دوره‌های زمانی طی این شش ماه مشاهده نمی‌شود. به عبارت دیگر آنتی‌اکسیدان طبیعی مصرفی در این مطالعه با وجود آنکه مراحل اولیه اکسیداسیون را به خوبی کنترل نموده، در مهار تشکیل ترکیبات ثانویه ناشی از اکسیداسیون مشابه آنتی‌اکسیدان سنتزی عمل کرده است. در سایر مطالعات نیز نتایج مشابهی به دست آمده است. Samotyja و همکاران (2006) نشان دادند افزودن آنتی‌اکسیدان توکوفرول و رزماری گرچه به طور مؤثری از تشکیل هیدروپراکسیدها در امولسیون روغن کلزا در آب جلوگیری می‌کند، اما تشکیل هگزانال در این نمونه‌ها بیشتر از نمونه حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT است (23). همانطور که پیش از این نیز بیان شد مراحل نخست اکسیداسیون بطور مؤثری در تیمار حاوی توکوفرول کنترل شده است که مؤید آن روند ملایم تغییرات اندیس پراکسید در این تیمار نسبت به سایر تیمارها است ولی تغییرات غلظت هگزانال تیمار حاوی توکوفرول مشابه تیمار حاوی TBHQ است. Cuvelier و همکاران توضیح این عملکرد آنتی‌اکسیدان توکوفرول را در امولسیون به ویژگی‌های ساختاری آن نسبت دادند. طبق نتیجه‌گیری این محققان، توکوفرول یک آنتی‌اکسیدان اولیه است که بطور مستقیم با رادیکال‌های آزاد واکنش داده و قادر است تشکیل هیدروپراکسیدها را بطور مؤثری محدود نماید. با این وجود در ساختار شیمیایی این ترکیب بخش‌های شلاته‌کننده (chelator site) وجود ندارد، بنابراین قدرت کم تری در جلوگیری از مراحل ثانویه اکسیداسیون دارد (24).

ارزیابی حسی: در طی دوره نگهداری و با افزایش زمان، رتبه ارزیابی حسی برای هر دو تیمار به مرور کاهش می‌یابد. علت این امر پیشروی اکسیداسیون و تشکیل مواد مولد طعم و بوی نامطلوب با گذشت زمان است که روی ویژگی‌های حسی محصول اثر منفی دارد. عدم تفاوت معنی‌دار در رتبه حسی بین دو نمونه نشان می‌دهد که آنتی‌اکسیدان توکوفرول مصرفی در این مطالعه خود به تنهایی فاقد بو و طعم بود و این آنتی‌اکسیدان مشابه TBHQ تداخلات طعم با

و به این ترتیب آزاد شدن تعداد بیشتری از اسیدهای چرب در طول زمان نگهداری و افزایش یافتن اسیدیته قابل مشاهده باشد.

اندیس آنیزیدین: اندیس آنیزیدین روشی جهت ارزیابی مقدار آلدئیدهایی است که در اثر شکست هیدروپراکسیدها تولید می‌شوند (به طور کلی 2 آلکنال‌ها و 2 و 4 آلکا دی‌ان‌ها). این روش بیشتر به آلدئیدهای غیر اشباع حساس است و معیاری جهت بررسی مراحل ثانویه اکسیداسیون و ارزیابی محصولات ناشی از آن می‌باشد. اکسیداسیون روغن با افزایش مدت زمان نگهداری همچنان ادامه می‌یابد، بنابراین مقدار اندیس آنیزیدین نیز در نمونه‌ها زیاد می‌شود و در پایان دوره نگهداری به حداکثر رسیده است.

در تمامی زمان‌ها، مقدار آنیزیدین دو نمونه اختلاف معنی‌داری را با یکدیگر نشان نمی‌دهد ($p > 0/05$)، به جز در پایان ماه سوم که اندیس آنیزیدین تیمار MTQ بالاتر بوده و پایان ماه پنجم که تیمار MTC مقدار بیشتری را نشان می‌دهد. این تفاوت‌ها با نتایج حاصل از اندیس پراکسید نیز مطابقت دارد زیرا افزایش مشابهی در میزان هیدروپراکسیدها در این مرحله زمانی رخ داده بود و بنابراین می‌توان انتظار داشت که شدت تجزیه هیدروپراکسیدها نیز افزایش یافته و سبب تشکیل ترکیبات ثانویه بیشتری شده است (20).

تغییرات غلظت هگزانال: تغییرات غلظت هگزانال در نمونه‌ها شباهت زیادی به تغییرات اندیس آنیزیدین دارد. هر دو تیمار الگوی رو به افزایش را در مقدار غلظت هگزانال نشان می‌دهند (جدول 2). با توجه به محتوای بالای اسیدهای چرب غیر اشباع (اسید اولئیک، اسید لینولئیک و اسید لینولنیک) در روغن سویا انتظار می‌رفت که نمونه‌ها نسبت به اکسیداسیون بسیار حساس بوده و ترکیبات ثانویه همچون الکل‌ها، اسیدها، هیدروکربن‌ها، کتون‌ها و آلدئیدها در آنها تشکیل شوند؛ نتایج به دست آمده با پژوهش‌های پیشین مطابقت دارد به طوری که تعدادی از محققان نیز در مطالعات خود به نتایج مشابهی دست یافتند (21). در مطالعات پیشین از هگزانال به عنوان یکی از عمده‌ترین و فراوان‌ترین ترکیبات ثانویه اکسیداسیون نام برده شده و عنوان شده در واقع تشکیل هگزانال طی تجزیه پراکسیدها صورت می‌پذیرد. در تحقیقی که در سال 2012 بر روی

آنتی‌اکسیدان طبیعی توکوفرول می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان سنتتزی TBHQ باشد. بررسی مقدار اسیدیتته در هر دو نمونه نیز نشان داد، استفاده از توکوفرول منجر می‌شود، فساد هیدرولیتیکی مشابه کاربرد TBHQ در مایونز کنترل شود و هرگز عدد اسیدی در طی شش ماه از محدوده استاندارد خارج نگردد. همچنین ارزیابی‌های حساسی نیز نشان داد توکوفرول تداخلات طعمی با سایر ترکیبات امولسیون مایونز ندارد و در واقع بدون نگرانی از اثرات منفی بر روی ویژگی‌های حساسی، به راحتی در مایونز قابل کاربرد است.

سایر اجزا امولسیون ندارد و اثر منفی بر ویژگی‌های حساسی نمی‌گذارد.

به طور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که آنتی‌اکسیدان طبیعی توکوفرول به طور مؤثری قادر است اکسیداسیون را در فاز روغنی مایونز کنترل نماید. نتایج حاصل از بررسی عدد پراکسید نشان می‌دهد، تشکیل هیدروپراکسیدهای حاصل از اکسیداسیون در تیمار حاوی توکوفرول روند بسیار کندی یافته است. به علاوه بررسی ترکیبات ثانویه ناشی از اکسیداسیون (اندیس آنیزیدین و مقدار هگزانال) و عدم تفاوت معنی‌دار در نتایج آزمایشات بررسی اکسیداسیون بین دو نمونه TBHQ و توکوفرول مؤید این مطلب است که

• References

- McClements D, editor. Food Emulsions: Principles, Practice, and Techniques. 2th ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2005. p. 189.
- Depree JA, Savage GP. Physical and flavour stability of mayonnaise. Trends Food Sci Tech. 2001;12(5-6):157-63.
- Beltran G, Aguilera MP, Gordon MH. Solid phase microextraction of volatile oxidation compounds in oil-in-water emulsions. Food Chem 2005;92(3):401-6.
- Sherwin ER. Oxidation and antioxidants in fat and oil processing. J Am Oil Chem Soc. 1978;55(11):809-14.
- Jacobsen C, Meyer AS, Adler-Nissen J. Oxidation mechanisms in real food emulsions: oil-water partition coefficients of selected volatile off-flavor compounds in mayonnaise. Z Lebensm Unters F A. 1999;208(5-6):317-27.
- Thomsen MK, Jacobsen C, Skibsted LH. Mechanism of initiation of oxidation mayonnaise enriched with fish oil as studied by electron spin resonance spectroscopy. Eur Food Res Technol. 2000;211(6):381-6
- Fatemy H. Lipids. Food chemistry: Sherkate Sahami Enteshar; 1999. p. 181-7.[in persian]
- Jacobsen C, Hartvigsen K, Lund P, Thomsen MK, Skibsted LH, Hølmer G, et al. Oxidation in fish oil-enriched mayonnaise: 4. Effect of tocopherol concentration on oxidative deterioration. Eur Food Res Technol. 2001;212(3):308-18
- Kim TS, Decker EA, Lee J. Antioxidant capacities of α -tocopherol, trolox, ascorbic acid, and ascorbyl palmitate in riboflavin photosensitized oil-in-water emulsions. Food Chem 2012;133(1):68-75.
- Horn AF, Nielsen NS, Jacobsen C. Additions of caffeic acid, ascorbyl palmitate or γ -tocopherol to fish oil-enriched energy bars affect lipid oxidation differently. Food Chem 2009;112(2):412-20.
- Peroxide Value. Ja 8-87. AOCS (Official Methods and Recommended Practices of the AOCS).
- Acid Value. Te 2a-64: AOCS (Official Methods and Recommended Practices of the AOCS).
- p-Anisidine Value. Cd 18-90: AOCS (Official Methods and Recommended Practices of the AOCS).
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Sensory Analysis – Methodology Evaluation Of Food Products By Methods Using Scales. ISIRI. No 3443. Karaj: ISIRI; 1978 [in persian].
- Enteshari M, Mohammadi A, Nayebzadeh K, Azadnia E. Optimization of Headspace Single-Drop Microextraction Coupled with Gas Chromatography–Mass Spectrometry for Determining Volatile Oxidation Compounds in Mayonnaise by Response Surface Methodology. Food Anal Meth. 2013:1-11.
- Guillén MaD, Cabo N. Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. Food Chem 2002;77(4):503-10.
- Guillen MD, Cabo N, Ibargoitia ML, Ruiz A. Study of both Sunflower Oil and Its Headspace throughout the Oxidation Process. Occurrence in the Headspace of Toxic Oxygenated Aldehydes. J Agr Food Chem. 2005;53(4):1093-101.
- Miyashita K, Takagi T. Study on the oxidative rate and prooxidant activity of free fatty acids. J Amer Oil Chem Soc. 1986;63(10):1380-4.
- Maghsoudi S. The Technology of Sauces Producing. Iran: Marz-e-Danesh; 2005[in persian]

20. Akoh CC, Min DB. Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology: CRC Press; 2008.
21. Bett Karen L, Boylston TD. Effect of Storage on Roasted Peanut Quality. *Lipid Oxidation in Food*: American Chemical Society; 1992. p. 322-43.
22. Petersen KD, Kleeberg KK, Jahreis G, Fritsche J. Assessment of the oxidative stability of conventional and high-oleic sunflower oil by means of solid-phase microextraction-gas chromatography. *Int J Food Sci Nutr*. 2012;63(2):160-9.
23. Samotyja U, Małacka M. Effects of blackcurrant seeds and rosemary extracts on oxidative stability of bulk and emulsified lipid substrates. *Food Chem* 2007;104(1):317-23.
24. Cuvelier M-E, Bondet V, Berset C. Behavior of phenolic antioxidants in a partitioned medium: structure—Activity relationship. *J Am Oil Chem Soc*. 2000;77(8):819-24.

Antioxidant effect of tocopherol and TBHQ on oil oxidation over the shelf life of mayonnaise

Shahin R¹, Nayebzadeh K^{2*}, Alizadeh L¹, Mohammadi A³

- 1- M.Sc. Graduated in Food Sciences and Food Technology, Students' Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 2- *Corresponding author: Assistant Prof, Dept. of Food Sciences and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, E-mail: Knayebz@sbmu.ac.ir
- 3- Assistant Prof, Dept. of Food Sciences and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received 15 Dec, 2013

Accepted 1 Feb, 2014

Background and Objectives: Common antioxidants in the food industry are usually synthetic compounds, some with proven toxic and carcinogenic natures. The present study examined the effect of tocopherol on oil oxidation in mayonnaise at room temperature over its 6 mo shelf life and compared its performance with common synthetic antioxidants.

Materials and Methods: The treatments were the natural and synthetic antioxidants of 450 ppm tocopherol (MTC) and 150 ppm TBHQ (MTQ) added to plain oil, which was then used to produce mayonnaise. The quality of the products was evaluated by measuring the acidity, peroxide and anisidine values, hexanal concentration, and by sensory evaluation.

Results: The results showed that the oil phase in both samples oxidized during the 6 mo shelf life. The acid value, which indicates hydrolytic rancidity, increased for both treatments, but showed no significant difference between treatments over time. The change in peroxide levels in MTC was much less than in MTQ. Tocopherol limited hydroperoxide formation effectively; however, in the last month, the peroxide value for MTC was more than for MTQ. Anisidine value and hexanal concentration are the secondary products of oxidation and showed no significant differences between two treatments. Sensory scores for the two treatments decreased similarly over the course of the shelf life. These results indicate that tocopherol produced no flavor interaction with other compounds in emulsion and showed no adverse effects on sensory characteristics.

Conclusions: It can be concluded overall that tocopherol as a natural antioxidant was able to control oil phase oxidation in mayonnaise effectively and can be good substitute for TBHQ in mayonnaise.

Keywords: Tocopherol, TBHQ, Mayonnaise, Oxidation