

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و پارامترهای سینتیک اکسایشی اسید سیرینجیک و اسید گالیک در روغن آفتابگردان

رضا فرهمندفر^{۱*} و مریم اثنی عشری^۲

۱- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

۲- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۹/۰۸ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۲/۰۱)

چکیده

عملکرد آنتی اکسیدان‌ها به عوامل مختلفی از جمله ساختمان شیمیایی، برهم‌کنش با محیط اکسایشی، میزان آبریزی و شرایط حرارتی روغن بستگی دارد و به سبب پیچیدگی‌های رفتاری، نتایج آنها در سیستم‌های روغنی غیر قابل پیش‌بینی است. لذا، قدرت آنتی اکسیدانی اسید گالیک و اسید سیرینجیک با آزمون DPPH، پایداری اکسایشی آن با دستگاه رنسمیت و پروفایل اسید چرب روغن آفتابگردان با روش GC-MS مورد ارزیابی قرار گرفت. در آزمون آون، روغن آفتابگردان بدون آنتی اکسیدان در حضور چهار سطح غلظتی اسید سیرینجیک و اسید گالیک (۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام) در دمای ۱۱۰ و ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد پایش شد. نمونه‌گیری در زمان‌های متوالی انجام شد و دوره القاء تولید هیدروپراکسیدها و دی‌ان و تری‌ان مزدوج تعیین گشت. نتایج نشان داد، ساختار اسید چرب روغن آفتابگردان عمدتاً حاوی اسیدهای چرب غیراشباع (بخصوص اسید لینولئیک، C18:2 و اسیدهای چرب اشباع (بخصوص اسید پالمیتیک، C16:0) بود. نتایج حاصل از پارامترهای اکسایشی نشان داد، هر دو آنتی اکسیدان نسبت به نمونه شاهد سبب افزایش پایداری روغن آفتابگردان شدند و تاثیر گذاری آنتی اکسیدانی (F) و فعالیت آنتی اکسیدانی (A) اسید گالیک نسبت به اسید سیرینجیک و آنتی اکسیدان سنتزی BHT به طور معنی داری در هر دو دما بیشتر بود. همچنین با افزایش دما، قدرت آنتی اکسیدانی اسید گالیک در اغلب تیمارها به طور معنی داری کاهش کمتری نسبت به اسید سیرینجیک داشت که ناشی از خاصیت حمله بالاتر اسید گالیک است. به طور کلی، اسید گالیک و اسید سیرینجیک دارای توان بالایی در ارتقاء پایداری اکسایشی روغن‌های خوراکی می‌باشند و می‌توانند به عنوان جایگزین آنتی اکسیدان‌های سنتزی استفاده شوند.

کلید واژگان: اسید گالیک، اسید سیرینجیک، پارامترهای سینتیک اکسایشی، روغن آفتابگردان، فعالیت آنتی اکسیدانی

*مسئول مکاتبات: r.farahmandfar@sanru.ac.ir

۱- مقدمه

چربی‌ها و روغن‌ها از جایگاه ویژه‌ای در رژیم غذایی انسان برخوردارند و سهم عمده‌ای از نیاز بدن به انرژی را تأمین می‌کنند [۱]. اکسایش چربی‌ها یکی از بزرگترین عوامل کاهش کیفیت چربی‌ها و مواد غذایی دارای چربی است. فساد اکسایشی همچنین زیان‌های اقتصادی زیادی به صنعت غذا وارد می‌سازد؛ زیرا بسیاری از خصوصیات کیفی مواد غذایی مانند عطر و طعم، رنگ، بافت و خصوصیات تغذیه‌ای آن را تخریب می‌نماید. روغن آفتابگردان یکی از روغن‌های گیاهی با ارزش تغذیه‌ای بالا است که به طور گسترده در صنعت غذا استفاده می‌شود، اما غیراشباعیت بالای اسیدهای چرب آن، این روغن را مستعد اکسایش می‌کند. لذا تولیدکنندگان مواد غذایی از دیرباز شیوه‌های گوناگونی برای افزایش ماندگاری و پایداری اکسایشی مواد غذایی به کار می‌برده‌اند. افزودن آنتی اکسیدان متداولترین شیوه در به تاخیر انداختن فساد اکسایشی و جلوگیری از افت کیفیت روغن‌ها در طول فرآیند تولید و نیز زمان انبارداری مواد غذایی است. آنتی اکسیدان‌ها در مقادیر کم سبب جلوگیری از اکسایش لیپیدی یا به تأخیر افتادن آن می‌شوند [۲]. آنتی اکسیدان‌های به کار رفته در فرآیند مواد غذایی باید ارزان، غیرسمی، موثر در غلظت کم و در فرآیندهای صنعت غذا پایدار باشند. انتخاب نوع آنتی اکسیدانی که به کار می‌رود به نوع و ماهیت محصول و قوانین موجود بستگی دارد. آنتی اکسیدان‌ها نه تنها زمان نگهداری محصولات را می‌افزایند بلکه ضایعات مواد خام و افت تغذیه‌ای را کاهش و محدوده کاربرد چربی‌ها در محصولات خاص را افزایش می‌دهند [۳]. آنتی اکسیدان‌ها همچنین از ایجاد رادیکال‌های آزاد که در بدن به صورت طبیعی از واکنش‌های اکسایشی به وجود می‌آیند و منجر به اکسایش سلول‌های چربی و آسیب DNA و به تبع آن منجر به بروز انواع سرطان‌ها می‌شوند، جلوگیری می‌کنند. آنتی اکسیدان‌های رژیم غذایی با مهار رادیکال‌های آزاد از وارد آمدن آسیب به سلول‌ها و DNA ممانعت می‌کنند و احتمالاً اسیدهای چرب اکسیده

یا موتاژن‌های عامل بیماری‌های قلبی یا سرطان را کاهش می‌دهند [۴ و ۵]. صدها ترکیب سنتزی یا طبیعی وجود دارند که دارای خواص آنتی اکسیدانی هستند [۶]. آنتی اکسیدان‌های مصنوعی از جمله هیدروکسی آنیزول بوتیل‌ه (BHT) و تری بوتیل هیدروکینون (TBHQ) به سبب کارایی بیشتر و نیز قیمت پایین‌تر، همواره بیش از انواع طبیعی مد نظر بوده‌اند. اما گزارش‌های اخیر حاکی از سرطان‌زایی این ترکیبات سنتزی بوده است [۷]. بنابراین، آنتی اکسیدان‌های سنتزی بتدریج از فهرست افزودنی‌های ایمن حذف شده و تمایل به مصرف انواع طبیعی رو به افزایش گذارده است [۸]. در حقیقت، پایداری اکسایشی را می‌توان مقاومت روغن‌ها و چربی‌ها تحت شرایط تعریف شده و فساد ناشی از آن که باعث تولید طعم و بوی نامطلوب می‌شود، تعریف کرد. به عبارت دیگر، پایداری اکسایشی عبارت از مدت زمان لازم برای رسیدن به نقطه‌ای است که در آن یکی از کمیت‌های اکسایشی پس از طی نمودن روند افزایشی خود به طور ناگهانی افزایش می‌یابد. مدت زمان لازم برای رسیدن به این نقطه به عنوان دوره القاء خوانده می‌شود. آزمون‌های تسریع شده در بررسی پایداری اکسایشی، سرعت فرآیندهای اکسایشی طبیعی را افزایش می‌دهند و ابزار کنترل کیفی مهمی برای تعیین پایداری محصول می‌باشند. از این آزمون‌ها برای ارزیابی اثر تغییرات فرمولاسیون در غذاها، پارامترهای فرآیند و دیگر عواملی که در اکسایش لیپیدی موثر هستند، استفاده می‌شود. این روش‌ها همچنین در بررسی و ارزیابی آثار آنتی اکسیدان‌ها در نگهداری مواد غذایی و جلوگیری از اکسایش لیپیدی سودمند هستند [۹].

اسیدهای فنلی به عنوان آنتی اکسیدان‌های طبیعی و موثر می‌تواند از اکسایش لیپیدی ممانعت کنند و منجر به افزایش ماندگاری مواد غذایی شوند. آنها را از دیدگاه ساختمانی (تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل در حلقه آروماتیک) به دو گروه اسید هیدروکسی سینامیک و اسید هیدروکسی بنزوئیک تقسیم می‌کنند

1. Butylatedhydroxy anisole
2. Butylatedhydroxytoluene
3. Tertiary butylhydroquinone

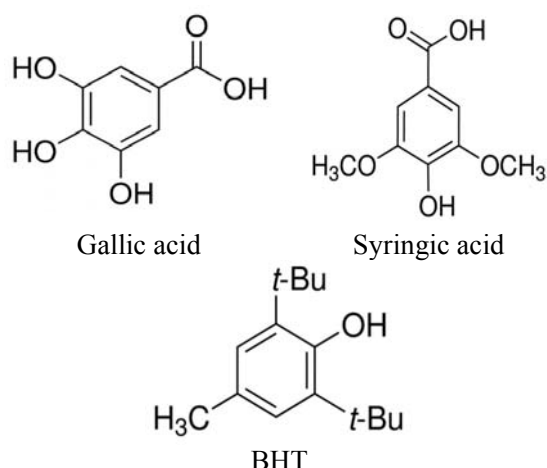


Fig 1 Molecular structure of gallic acid, syringic acid and BHT.

از این رو انتظار می‌رود اسید سیرینجیک و اسید گالیک متاثر از دما و غلظت، در روغن آفتابگردان تحت شرایط تسریع شده، عملکرد آنتی‌اکسیدانی متفاوتی از خود بروز دهند. لذا، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر دما بر روند اکسایشی روغن آفتابگردان در حضور اسید سیرینجیک و اسید گالیک، تعیین بهترین غلظت آنتی‌اکسیدان در روغن آفتابگردان و مقایسه رفتار آنتی‌اکسیدانی آنها انجام می‌شود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

روغن آفتابگردان از شرکت پرتو دانه بهشهر و اسید سیرینجیک و اسید گالیک از شرکت سیگما خریداری شد (شکل ۱). حلال‌های کلروفرم، متانول، هگزان و تولوئن، محلول DPPH از شرکت های مرک و سیگما تهیه شد.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- تخلیص روغن آفتابگردان

تخلیص روغن آفتابگردان با اکسید آلومینوم مطابق با روش Belhaj و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد [۱۸]. در این روش از ستون کروماتوگرافی شیشه‌ای با طول ۳۰ سانتی‌متر و قطر داخلی ۵ سانتی‌متر متصل به ارلن بوخنر استفاده گردید. ستون از

[۱۰]. گرچه مکانیسم‌های متعددی برای توصیف رفتار آنتی‌اکسیدانی وجود دارد، شیوه غالب در مورد اسیدهای فنلی عبارت از مهار رادیکال‌ها با در اختیار گذاری اتم هیدروژن است [۱۱]. اهداء الکترون و فرونشانی اکسیژن از جمله دیگر طرق مهار کنندگی آنها به شمار می‌آید. اسیدهای فنلی دارای گروه متوکسی (OCH_3) از متداول‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که در طیف وسیعی از فرآورده‌های گیاهی یافت می‌شوند. اسیدهای سیناپیک^۴، فرولیک^۵، سیرینجیک^۶ و وانیلیک^۷ از این دسته‌اند. اسید سیرینجیک (3-OCH_3 و 5-OCH_3 دی‌متوکسی، 4-H هیدروکسی بنزوئیک اسید) با دارا بودن دو گروه متوکسی از قدرت مهارکنندگی رادیکال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی برخوردار است (شکل ۱) و قابلیت استفاده در پایدارسازی روغن‌ها، چربی‌ها و امولسیون‌های غذایی را دارا می‌باشد. تاکنون محققان زیادی تاثیر آن را در روغن های خوراکی، امولسیون‌های غذایی، داروها و محصولات آرایشی و بهداشتی مورد بررسی قرار داده‌اند [۱۲ و ۱۳]. اثر درمانی اسید سیرینجیک در ممانعت از تکثیر سلول‌های سرطان پوست، روده بزرگ و سینه به اثبات رسیده است [۱۴]. همچنین، اسید گالیک^۸ (اسید $3,4,5\text{-OH}$ تری هیدروکسی بنزوئیک) و مشتقات آن به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به طورگسترده‌ای در گیاهان از جمله چای یافت می‌شوند (شکل ۱). متوسط دریافت روزانه اسید گالیک در آمریکا یک گرم گزارش شده است [۱۵]. برخی استرهای اسید گالیک با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و بیولوژیکی در طیف وسیعی از محصولات غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. مطالعات سم‌شناسی نشان داده است که اسید گالیک و گالات به ترتیب در سطوح کمتر از ۱۲۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم/کیلوگرم در روز فاقد هر گونه اثر نامطلوبی بر موش‌های آزمایشگاهی بوده‌اند [۱۶] و همچنین مشتقات آسیل اسید گالیک در پیشگیری از پراکسایش چربی‌ها در غشاء سلول موثر واقع شده‌اند [۱۷].

4. Sinapic acid
5. Ferulic acid
6. Syringic acid
7. Vanillic acid
8. Gallic acid
9. 3,4,5- Trihydroxybenzoic acid

نانومتر در برابر شاهد قرائت گردید و درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد محاسبه شد [۱۹].

$$A\% = \frac{A_C - A_S}{A_C} \times 100 \quad \text{معادله (۱)}$$

که A% درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، A_C جذب شاهد و A_S جذب نمونه است.

۲-۲-۴- آزمون پایداری اکسایشی با دستگاه رنسیمت

برای تعیین پایداری اکسایشی از دستگاه رنسیمت مدل ۷۴۳ (متروم، سوئیس) استفاده شد. برای این منظور، سه گرم نمونه روغن در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد مطابق با روش Farhoosh و همکاران (۲۰۰۷) مورد آزمایش قرارگرفت [۲۰]. سرعت جریان هوا ۱۵ لیتر بر ساعت بود.

۲-۲-۵- تعیین دوره القاء تولید هیدروپراکسیدها با آزمون پراکسید

۰/۱ تا ۰/۲ گرم نمونه روغن، بسته به میزان پراکسایش آن، در لوله‌های آزمایش ۱۵ میلی‌لیتری وزن شد و با ۹/۸ میلی‌لیتر حلال کلروفرم: متانل (به نسبت ۳:۷) مخلوط و به مدت ۲ تا ۴ ثانیه همزده شد. سپس به ترتیب ۵۰ میکرولیتر محلول تیوسیانات آمونیوم (۵۰ میلی لیتر، ۳۰ درصد وزنی-حجمی) و محلول آهن II (۰/۴ گرم باریم کلرید دوآبه در ۵۰ میلی لیتر آب + ۰/۵ گرم سولفات آهن ۷ آبه در ۵۰ میلی لیتر آب + ۲ میلی لیتر اسید کلریدریک ۱۰ نرمال) اضافه و بعد از اضافه کردن هر کدام به مدت ۲ تا ۴ ثانیه محلول همزده شد. پس از ۵ دقیقه گرمخانه گذاری در دمای اتاق، جذب نمونه در طول موج ۵۰۰ نانومتر در برابر شاهد تعیین شد. تمامی مراحل این روش زیر نور ملایم و به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. عدد پراکسید از معادله ۲ محاسبه شد:

$$PV = \frac{(As - Ab) \times m}{55/84 \times W \times 2} \quad \text{معادله (۲)}$$

که A_S ، جذب نمونه و A_B جذب شاهد در طول موج ۵۰۰ نانومتر است. m شیب به دست آمده از منحنی کالیبراسیون (۴۰/۸۶) با ضریب تبیین (۰/۹۹) و W وزن نمونه روغن است [۲۱].

سیلیکاژل و اکسید آلومینیوم با نسبت ۸۰:۷۰ پر شد، به طوری که ابتدا ۶۰ گرم آلومینا (نوع ۶۰ فعال خنثی) که قبلاً در دمای ۲۴۰ درجه سانتیگراد به مدت سه ساعت فعال شده را به طور کاملاً یکنواخت در داخل ستون ریخته و سپس ۸۰ گرم سیلیکاژل (فعال شده در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد به مدت سه ساعت) و در نهایت قدری کربن فعال بر بالای ستون ریخته و با چندین ضربه ستون فشرده‌تر و یکنواخت‌تر گردید. در هر نوبت تخلیص، ۱۲۰ گرم روغن در ستون قرار داده شد. اطراف ستون و ارلن بوخنر با ورقه آلومینیومی پوشانده شد تا از اکسایش روغن در طول عملیات جلوگیری به عمل آید. این روش نیازی به استفاده از حلال برای عبور روغن از ستون نداشت و تنها به کمک نیروی خلاء بویژه در مراحل انتهایی تخلیص امکان پذیر گردید.

۲-۲-۲- تعیین ساختار اسید چرب روغن آفتابگردان

ترکیب اسید چرب نمونه روغن به وسیله کروماتوگرافی گاز- مایع تعیین و بر اساس درصد نسبی سطوح گزارش شد. استرهای متیل اسیدهای چرب از اختلاط ۰/۱ میلی لیتر روغن تخلیص شده آفتابگردان با ۱ میلی لیتر هگزان و ۰/۵ میلی متوکسید سدیم تهیه شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۰ تا ۱۵ ثانیه همزده شد، سپس لایه شفاف بالای لوله برداشته به کروماتوگراف گاز- مایع تزریق شد. کروماتوگراف مورد استفاده مجهز به ستون BPX-70 با طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۳۲ میلی متر و ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر بود. گاز نیتروژن به عنوان گاز حامل استفاده گردید. آنالیزها با دمای اولیه ۱۲۰ درجه سانتیگراد آغاز شد و با افزایش دما در هر دقیقه (۳ درجه سانتیگراد) تا دمای نهایی ۲۴۰ درجه سانتیگراد انجام پذیرفت.

۲-۲-۳- ارزیابی خصوصیات آنتی اکسیدانی اسید گالیک و اسید سیرینجیک با آزمون DPPH^{۱۰}

محلول ۰/۰۰۶ درصد رادیکال آزاد DPPH در متانول تهیه شد. سپس به لوله‌های آزمایش حامل یک میلی‌لیتر محلول متانولی نمونه با غلظت‌های مختلف (۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام) و BHT (۲۰۰ پی‌پی‌ام)، یک میلی‌لیتر از محلول فوق اضافه شد. لوله‌های آزمایش بعد از ورتکس شدن به مدت نیم ساعت در جای تاریک نگهداری و سپس جذب آنها در طول موج ۵۱۷

که IP_{inh} دوره القاء در حضور آنتی اکسیدان و IP_0 دوره القاء نمونه شاهد می باشد.

نسبت سرعت اکسایش (ORR): قدرت آنتی اکسیدان در شرکت در سایر واکنش ها است که در نهایت بر سرعت اکسایش تاثیر می گذارد و از رابطه زیر محاسبه می گردد:

$$ORR = W_{inh} / W_0 \quad \text{معادله (۴)}$$

در این رابطه W_{inh} سرعت اکسایش در حضور آنتی اکسیدان و W_0 سرعت اکسایش نمونه شاهد است. در حقیقت ORR عکس قدرت آنتی اکسیدان را نشان می دهد.

کارایی آنتی اکسیدان (A): تاثیر آنتی اکسیدان را در پایان دادن به واکنش اکسایش نشان می دهد و از رابطه زیر محاسبه می گردد:

$$A = F / ORR \quad \text{معادله (۵)}$$

به منظور محاسبه دوره القاء اکسایش لیپیدی بر حسب عدد پراکسید، نمودار تغییرات شاخص های مزبور در مقابل زمان ترسیم گردید. سپس، معادلات خطی مرتبط با بخش های آغازین و انتشار اکسایش لیپیدی برازش داده شد و آنگاه دوره های القاء از تلاقی دادن معادلات خطی یاد شده محاسبه گردید (شکل ۲). تاثیر آنتی اکسیدان بر روغن آفتابگردان را می توان با کمک پارامترهای سنتیکی بررسی نمود [۲]:

فاکتور پایداری (F) یا تاثیرگذاری آنتی اکسیدان متأثر از دوره القاء آنتی اکسیدان است و توانایی آنتی اکسیدان را در متوقف کردن زنجیره رادیکالی اکسایش نشان می دهد و از رابطه زیر بدست می آید:

$$F = IP_{inh} / IP_0 \quad \text{معادله (۳)}$$

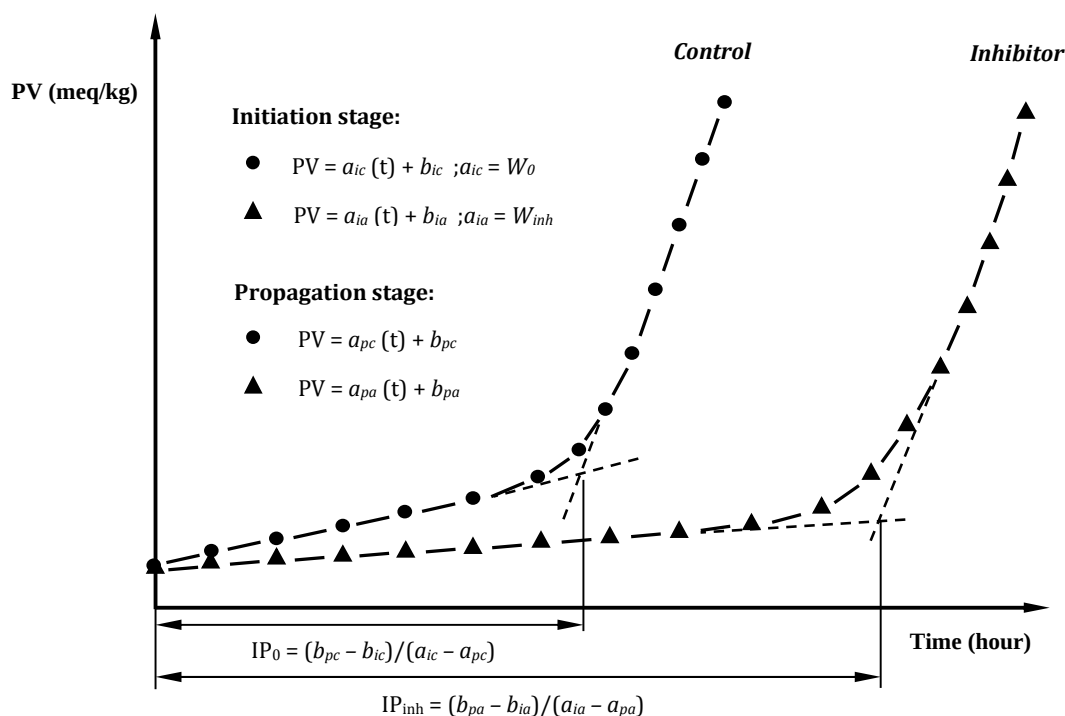


Fig 2 A schematic kinetic curve of peroxide accumulation during oxidation of lipid systems, and the corresponding kinetic values.

دی ان مزدوج) و ۲۶۸ نانومتر (برای تری ان مزدوج) خوانده شد. میزان جذب نمونه شاهد نیز با خواندن میزان جذب هگزان به

۲-۲-۶- تعیین عدد دی ان و تری ان مزدوج

نمونه روغن به نسبت ۱ : ۶۰۰ با هگزان نرمال رقیق شد. سپس میزان جذب نمونه رقیق شده در طول موج ۲۳۴ نانومتر (برای

اشباع^{۱۳} (SFA)، به خصوص اسید پالمیتیک، (C16:0) بود. میزان اسیدهای چرب اشباع در روغن آفتابگردان ۱۴/۳۳ درصد بدست آمد. میزان اسیدهای چرب تک غیراشباع روغن آفتابگردان ۲۸/۷۶ درصد و اسیدهای چرب چندغیراشباع (که جزء اسیدهای چرب ضروری می باشند) آن برابر ۵۵/۳۱ درصد تعیین شد. مقادیر یاد شده در محدوده رایج روغن های آفتابگردان قرار داشتند [۲۵ و ۲۴]. با توجه به اثر سلامتی بخش اسیدهای چرب خانواده ω₃، این روغن دارای جایگاه ارزشمندی در میان سایر روغن های خوراکی است. نسبت C18:2 به C18:3 و نسبت PUFA به SFA نیز نشان می دهد روغن آفتابگردان دارای ارزش تغذیه ای فوق العاده ای است و طبعاً باید در رژیم غذایی گنجانده شود.

Table 1 The fatty acid composition of sunflower oil.

Fatty acid	Percent (%)
C14:0	0.15 ± 0.05
C16:0	8.94 ± 0.18
C18:0	4.23 ± 0.11
C18:1	28.1 ± 1.96
C18:2	53.12 ± 2.15
C18:3	2.19 ± 1.09
C20:1	0.66 ± 0.04
C22:0	1.01 ± 0.08
Others	1.6 ± 0.05
SFA	14.33 ± 0.06
MUFA	28.76 ± 0.01
PUFA	55.31 ± 1.53
PUFA/SFA	3.86 ± 0.01
C18:2/ C18:3	24.25 ± 0.02

۲-۳- قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

توانایی آنتی اکسیدان در متوقف کردن مرحله انتشار در فرآیند اکسایش به معنای واکنش سریعتر آن با رادیکال های آزاد نسبت به اسیدهای چرب چند غیراشباع است. محلول رادیکال DPPH که دارای رنگ بنفش شدیدی است با افزودن آنتی اکسیدان، احیاء می شود و رنگ آن به زرد تغییر پیدا می کند. کاهش میزان جذب محلول در طول موج مذکور، معیار اندازه گیری توانایی آنتی اکسیدان در اهداء الکترون یا اتم هیدروژن است. میزان

دست آمد. مقدار ترکیبات دیان و تریان مزدوج از فرمول زیر محاسبه شد [۲۲ و ۲۳]:

$$\text{Conjugated value} = \frac{A \times 600 \times 1000}{29000} \quad (\text{معادله } ۶)$$

A = میزان جذب نمونه در طول موج ۲۳۴ نانومتر (برای دیان مزدوج) و ۲۶۸ نانومتر (برای تریان مزدوج)، ۶۰۰ = رقت نمونه در هگزان، ۲۹۰۰۰ = ضریب ثابت

۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش ها در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در سه تکرار، چهار سطح غلظتی (۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ پی پی ام) و دو سطح دمایی (۱۱۰ و ۱۲۰ درجه سانتی گراد) انجام شد. میانگین ها با نرم افزار SPSS و بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد ($P < 0.05$) مقایسه شد. نمودارها با نرم افزار Microsoft Excel ترسیم گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ساختار اسید چرب روغن آفتابگردان

روغن های خوراکی مختلف درجه غیراشباعیت و ساختار اسید چرب متفاوتی دارند لذا کیفیت و کمیت ترکیبات غیرتری آسیل گلیسرولی آنها با هم تفاوت دارد. تفاوت های ساختاری به نوبه خود به ایجاد اختلاف در ویژگی های فیزیکوشیمیایی و پایداری اکسایشی آنها منجر می شود. برخلاف روغن های حیوانی که عمدتاً اشباع هستند و به راحتی با اکسیژن وارد واکنش نمی شوند، روغن های گیاهی کمتر اشباع اند و حساسیت بیشتری نسبت به واکنش های اکسایشی از خود نشان می دهند. ساختار اسید چرب روغن تخلیص شده آفتابگردان در جدول ۱ نشان داده شده است. برای تعیین ترکیب اسید چرب، ابتدا تری آسیل گلیسرول های روغن آفتابگردان به متیل استرهای مربوطه تبدیل و توسط کروماتوگرافی گازی تعیین مقدار شدند. ساختار اسید چرب این روغن عمدتاً حاوی به ترتیب انواع اسیدهای چندغیراشباع^{۱۱} (PUFA)، عمدتاً اسیدهای لینولئیک، (C18:2 ω₃)، تک غیراشباع^{۱۲} (MUFA)، به خصوص اسید اولئیک، (C18:1 ω₉) و

13. Saturated fatty acids

11. Polyunsaturated fatty acids
12. Monounsaturated fatty acids

حقیقت، قدرت گیرندگی رادیکال آزاد در اسیدهای فنلی به تعداد گروه‌های هیدروکسیل و متوکسی متصل به حلقه آروماتیک اسید بنزوئیک وابسته است. اسید گالیک با سه گروه هیدروکسیل و یک گروه کریوکسیل، فعال‌تر از اسید سیرینجیک با یک گروه هیدروکسیل و دو گروه متوکسی می‌باشد [۲۶] (شکل ۱).

۳-۳- شاخص پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان حاوی اسید گالیک و اسید سیرینجیک یک توسط آزمون رنسیمت

بسته به نوع و ماهیت ماده غذایی، آزمون‌ها و روش‌های متفاوتی برای تعیین پایداری به کار گرفته می‌شود. Farhoosh در سال ۲۰۰۷ روش رنسیمت را تکنیکی ارزشمند و سریع برای تعیین پایداری روغن و چربی‌های خوراکی معرفی کرد [۲۰]. لذا اثر افزودن ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام اسید گالیک بر روغن آفتابگردان در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد در شکل ۴ مورد آنالیز قرار گرفت. تمام سطوح غلظتی آنتی‌اکسیدان مورد مطالعه به طور معنی‌داری سبب افزایش شاخص پایداری اکسایشی (OSI) روغن آفتابگردان شدند ($P < 0.05$). افزایش سطوح غلظتی اسید گالیک تا ۸۰۰ پی‌پی‌ام سبب افزایش شاخص پایداری اکسایشی از ۴/۱۵ به ۳۰/۹۴ ساعت شد و پس از آن، افزایش غلظت به ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام تغییر نامحسوسی در افزایش پایداری اکسایشی (۳۳/۹۵ ساعت) داشته است. در حالیکه در اسید سیرینجیک با افزایش غلظت از صفر تا ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام از ۳/۶۶ ساعت به ۱۲/۹۴ ساعت رسید. در حقیقت، مهار رادیکال‌های آزاد از جمله شیوه‌های اثر ممانعت‌کنندگی از پیشرفت واکنش اکسایش، توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است. همان‌گونه که نتایج آزمون DPPH نشان داد اسید سیرینجیک از قدرت الکترون‌دهندگی بالایی برخوردار نبودند و عدم کارایی آنها در افزایش شاخص پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان دور از انتظار نیست. Natella و همکاران (۱۹۹۹) فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسیدهای پاراهیدروکسی بنزوئیک و سیرینجیک را با مشتقات متناظرشان از گروه اسید سینامیک (اسیدهای پاراکوماریک و سیناپیک) مقایسه کردند. در این تحقیق، آنها آنتی‌اکسیدان را در شرایط آزمایشگاهی به

بازدارندگی اسید گالیک و اسید سیرینجیک در برابر رادیکال‌های آزاد DPPH در شکل ۳ آمده است. نتایج آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH نشان داد اسید گالیک از توانایی بیشتری در این خصوص برخوردار است که این مطلب با نتایج تحقیق Lu و همکاران (۲۰۰۶) همخوانی داشت [۱۷]. قدرت مهارکنندگی آنتی‌اکسیدان‌ها ابتدا با افزایش غلظت به صورت خطی بود و سپس با شیب کمتری ادامه پیدا کرد و قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در سطوح غلظتی مختلف اسید گالیک و اسید سیرینجیک با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$) (شکل ۳).

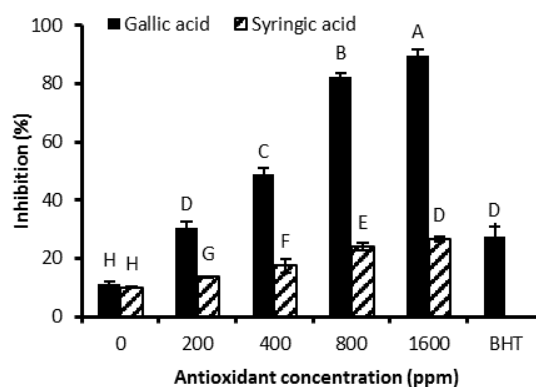


Fig 3 Antioxidant activity of different concentration of gallic acid and syringic acid determination by DPPH assay (The same uppercase letters are not significantly different at $P > 0.05$).

مهار رادیکال‌های آزاد از جمله مکانیسم‌های بسیار رایج آنتی‌اکسیدان‌ها و روغن‌های آنتی‌اکسیدانی است. در ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام، اسید گالیک با توانایی ۸۹/۶۱ درصد در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH از اسید سیرینجیک با ۲۶/۶۷ درصد، از قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری برخوردار است. همچنین آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام ۲۷/۳۶ درصد مهارکنندگی نشان داد که با اسید گالیک با ۳۰/۵۷ درصد تفاوت معنی‌داری ندارد. در حالیکه، اسید سیرینجیک با ۱۳/۶۴ درصد نسبت به BHT و اسید گالیک توانایی کمتری در مهار رادیکال آزاد DPPH از خود نشان داد. Karamac و همکاران (۲۰۰۵) نیز در مقایسه قدرت گیرندگی رادیکال آزاد DPPH چهارده اسید فنلی، اسید گالیک را حائز بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی معرفی کردند. در

لیپو پروتئین با دانسیته^۱ پایین انسان اضافه نموده و مشاهده کردند مشتقات اسید سینامیک از قدرت بیشتری برخوردار بودند [۲۷]. همچنین، Yanishlieva و Marinova (۲۰۰۳) به بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی چند اسید فنلی (اسید سیرینجیک، ۴،۳-دی هیدروکسی بنزوئیک اسید، اسید سیناپیک و اسید کافئیک) در دماهای مختلف (۲۲ و ۹۰ درجه سانتی گراد) پرداختند و پارامترهای اکسایشی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت، قدرت آنتی اکسیدانی اسید سیرینجیک در روغن تخلیص شده آفتابگردان افزایش می یابد و اسید سیرینجیک و ۴،۳-دی هیدروکسی بنزوئیک اسید در هر دو دما عملکرد مشابهی نشان دادند اما اسید سیناپیک و اسید کافئیک در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد نسبت به دمای اتاق عملکرد بهتری داشتند [۲۸].

لیپیدی در طول زمان عمدتاً از تابع نمایی تبعیت می کند [۲۹]. مقادیر دوره القاء و پارامترهای سینتیک از قبیل میزان پایداری آنتی اکسیدان (F)، نسبت سرعت اکسایش (ORR)، شیب ناحیه اول منحنی اکسایش (W_{inh}) و فعالیت آنتی اکسیدانی (A) با افزودن غلظت های مختلف اسید گالیک و اسید سیرینجیک به روغن تخلیص شده آفتابگردان به صورت جداگانه در جدول های ۲ و ۳ ارائه شده اند. همان طور که مشاهده می شود، افزودن اسید گالیک و اسید سیرینجیک در دو دما اثر معنی داری بر پایداری روغن تخلیص شده آفتابگردان نسبت به نمونه شاهد داشت ($P < 0.05$) و فعالیت آنتی اکسیدانی با افزایش غلظت افزایش یافت. همان گونه که مشاهده می شود، با افزایش غلظت آنتی اکسیدان در هر دما، شاخص های F، IP و A افزایش یافته و مقدار شاخص های W_{inh} و ORR کاهش می یابند. مسلماً با افزایش غلظت آنتی اکسیدان توانایی آن در مهار رادیکال های آزاد افزایش می یابد و افزایش شاخص های F و A بیانگر همین موضوع می باشند. کاهش دو شاخص W_{inh} و ORR را می توان با پایداری رادیکال حاصل پس از جدا شدن اتم هیدروژن مرتبط دانست. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی در غلظت های مختلف اسید گالیک نشان داد از غلظت ۴۰۰ پی پی ام به ۸۰۰ پی پی ام، جهشی بزرگ در قدرت آنتی اکسیدانی ایجاد شد، در حالی که قدرت آنتی اکسیدانی با افزایش غلظت تا ۱۶۰۰ پی پی ام با روند ملایمتری افزایش پیدا کرد. در حقیقت افزودن ۸۰۰ پی پی ام اسید گالیک قادر است بخش عظیمی از رادیکال های پراکسی را مهار کند و از پیشرفت زنجیره اکسایش به طور چشمگیری جلوگیری نماید. بررسی روند دوره القاء نیز نشان داد ۲۰۰ پی پی ام اسید گالیک (۲۰/۳۶ ساعت) و ۲۰۰ پی پی ام BHT (۱۸/۴۲ ساعت) در دماهای ۱۱۰ درجه سانتی گراد با یکدیگر اختلاف معنی داری ندارند. همچنین با افزایش غلظت اسید سیرینجیک، میزان تاثیرگذاری (F)، قدرت آنتی اکسیدانی و در نتیجه عملکرد آن در پایان دادن به زنجیره خود اکسایش روغن افزایش یافت، به طوری که فعالیت آنتی اکسیدانی در دمای ۱۱۰ درجه سانتی گراد از ۲/۸۴ در ۲۰۰ پی پی ام به ۲۶/۱۱ در ۱۶۰۰ پی پی ام و در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد از ۲/۶۶ به ۱۶/۱۷ با افزایش غلظت رسید.

لیپو پروتئین با دانسیته^۱ پایین انسان اضافه نموده و مشاهده کردند مشتقات اسید سینامیک از قدرت بیشتری برخوردار بودند [۲۷]. همچنین، Yanishlieva و Marinova (۲۰۰۳) به بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی چند اسید فنلی (اسید سیرینجیک، ۴،۳-دی هیدروکسی بنزوئیک اسید، اسید سیناپیک و اسید کافئیک) در دماهای مختلف (۲۲ و ۹۰ درجه سانتی گراد) پرداختند و پارامترهای اکسایشی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت، قدرت آنتی اکسیدانی اسید سیرینجیک در روغن تخلیص شده آفتابگردان افزایش می یابد و اسید سیرینجیک و ۴،۳-دی هیدروکسی بنزوئیک اسید در هر دو دما عملکرد مشابهی نشان دادند اما اسید سیناپیک و اسید کافئیک در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد نسبت به دمای اتاق عملکرد بهتری داشتند [۲۸].

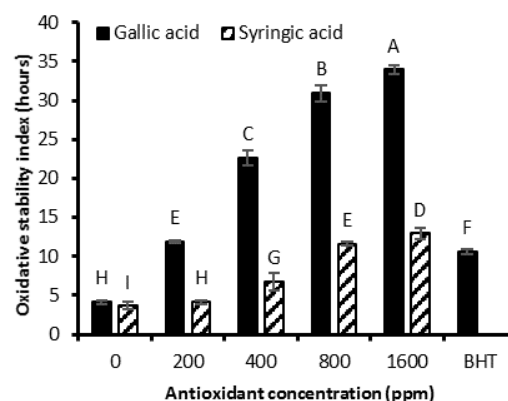


Fig 4 Oxidative stability index (OSI, Rancimat test) of sunflower oil as affected by different concentration of gallic acid and syringic acid and BHT (200 ppm) at 120 °C and airflow rate of 15 l/h (The same uppercase letters are not significantly different at $P > 0.05$).

۳-۴- مقایسه قدرت آنتی اکسیدانی اسید گالیک و اسید سیرینجیک در روغن آفتابگردان براساس تغییرات شاخص پراکسید

عدد پراکسید که نماد کمی محصولات اولیه اکسایش لیپیدی است پس از دوره القاء و مرحله انتشار واکنش، روندی کاهشی از خود نشان داد؛ زیرا هیدروپراکسیدها ترکیباتی ناپایدار هستند و به سرعت تجزیه می شوند. روند تغییرات محصولات اولیه اکسایش

1. Low-density lipoprotein (LDL)

Table 2 Kinetic parameters characterizing the inhibited lipid oxidation of sunflower oil containing different concentrations of gallic acid and syringic acid at 110 °C.

Antioxidant	Concentration	IP	F ^a	W _{inh} ^b	ORR ^c	A ^d
Control	0	5.39±0.78 ^H		4.41±0.80 ^A		
Gallic acid	200	20.36±2.37 ^{DE}	3.77±0.61 ^D	1.47±0.29 ^D	0.33±0.03 ^C	11.33±1.54 ^F
	400	41.72±3.14 ^C	7.77±0.34 ^C	1.05±0.27 ^E	0.24±0.02 ^D	32.51±4.67 ^C
	800	51.13±1.67 ^B	9.48±0.18 ^B	0.43±0.06 ^G	0.1±0.01 ^F	97.29±6.94 ^B
	1600	63.12±5.14 ^A	11.71±1.02 ^A	0.32±0.01 ^H	0.07±0.00 ^G	161.39±10.67 ^A
Syringic acid	200	7.16±0.31 ^G	1.33±0.04 ^F	2.06±0.37 ^B	0.47±0.04 ^A	2.84±1.28 ^I
	400	12.64±1.03 ^F	2.34±0.28 ^E	1.84±0.28 ^C	0.42±0.02 ^B	5.62±2.34 ^H
	800	21.14±2.07 ^D	3.92±0.87 ^D	1.07±0.16 ^E	0.24±0.05 ^D	16.16±4.67 ^E
	1600	22.98±2.19 ^D	4.26±0.90 ^D	0.72±0.03 ^F	0.16±0.00 ^E	26.11±8.97 ^D
BHT	200	18.42±2.97 ^E	3.14±1.57 ^D	1.67±0.32 ^{CD}	0.38±0.09 ^{BC}	9.02±3.41 ^G

* Means within a column with the same uppercase letters are not significantly different at P>0.05.

^a Stabilization factor

^b Slope of the linear initiation stage of lipid oxidation

^c Oxidative rate ratio

^d Antioxidant activity

Table 3 Kinetic parameters characterizing the inhibited lipid oxidation of sunflower oil containing different concentrations of gallic acid and syringic acid at 120 °C.

Antioxidant	Concentration	IP	F ^a	W _{inh} ^b	ORR ^c	A ^d
Control	0	3.15±0.64 ^G		6.14±0.60 ^A		
Gallic acid	200	10.63±1.21 ^D	3.37±0.51 ^C	2.93±0.17 ^C	0.48±0.02 ^B	7.07±1.54 ^F
	400	20.57±1.75 ^C	6.53±0.28 ^B	1.81±0.14 ^E	0.29±0.01 ^C	22.15±4.67 ^C
	800	28.34±2.52 ^B	9.00±0.61 ^A	0.83±0.08 ^H	0.13±0.01 ^E	66.55±6.94 ^B
	1600	31.17±1.18 ^A	9.89±0.77 ^A	0.41±0.04 ^I	0.1±0.00 ^F	148.18±10.67 ^A
Syringic acid	200	4.87±1.21 ^F	1.54±0.63 ^E	3.57±0.64 ^B	0.58±0.17 ^A	2.66±1.28 ^H
	400	6.41±0.75 ^E	2.03±0.08 ^D	2.39±0.71 ^D	0.39±0.13 ^C	5.23±2.34 ^G
	800	11.2±1.48 ^D	3.55±0.39 ^C	1.94±0.13 ^E	0.31±0.02 ^C	11.25±4.67 ^E
	1600	12.03±3.31 ^D	3.82±1.04 ^C	1.45±0.01 ^F	0.24±0.00 ^D	16.17±8.97 ^D
BHT	200	10.34±1.18 ^D	1.91±0.86 ^E	1.07±0.05 ^G	0.24±0.00 ^D	7.90±1.12 ^F

* Means within a column with the same uppercase letters are not significantly different at P>0.05.

^a Stabilization factor

^b Slope of the linear initiation stage of lipid oxidation

^c Oxidative rate ratio

^d Antioxidant activity

دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد رسید. درحالی‌که قدرت آنتی‌اکسیدانی اسید سیرینجیک در همان غلظت از ۲۶/۱۱ به ۱۶/۱۷ رسید. در واقع اسید گالیک از خاصیت حملی^{۱۵} بهتری نسبت به اسید سیرینجیک برخوردار بود؛ بدین معنی که اسید گالیک در دماهای بالا تیخیر و تیخیر نشد و عملکرد بهتری در ممانعت از اکسایش لیپیدی از خود نشان داد. Kikuzaki و همکاران (۲۰۰۲) نیز شاخص پایداری اکسایشی (OSI) در ۹۰ درجه سانتی

همانطور که انتظار می‌رفت، سرعت خود اکسایش نمونه‌های روغن آفتابگردان با بالا رفتن درجه حرارت افزایش یافت. بررسی روند کاهش دوره القاء و قدرت آنتی‌اکسیدانی اسید گالیک و اسید سیرینجیک نشان می‌دهد، در دمای بالا قدرت آنتی‌اکسیدانی اسید سیرینجیک نسبت به اسید گالیک کاهش محسوس‌تری دارد که ناشی از مقاومت حرارتی بیشتر اسید گالیک در دماهای بالا می‌باشد به طوریکه در ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام، قدرت آنتی‌اکسیدانی اسید گالیک از ۱۶۱/۳۹ در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد به ۱۴۸/۱۸ در

15. Carry – through property

گرا (۰/۲ میکرومول متیل گالات در هر گرم متیل لینولات را ۲۷/۲ ساعت در مقابل ۹/۴ ساعت برای اسید گالیک گزارش نمودند [۳۰].

۳-۵- مقایسه قدرت آنتی اکسیدانی اسید گالیک و اسید سیرینجیک در روغن آفتابگردان براساس تغییرات دیان و تریان مزدوج

نتایج تولید دیان مزدوج و تریان مزدوج در روغن آفتابگردان حاوی سطوح غلظتی صفر تا ۱۶۰۰ پی پی ام از اسید گالیک و اسید سیرینجیک در دمای ۱۱۰ و ۱۲۰ درجه سانتی گراد در جدول ۴ آورده شده است. با افزایش غلظت هر دو آنتی اکسیدان از صفر تا ۱۶۰۰ پی پی ام، مقدار دیان مزدوج و تریان مزدوج (در هر دو دما) کاهش چشمگیری داشت ($P < 0.05$). دوره القاء تولید دیان و تریان مزدوج که از منحنی تولید آن طی زمان بدست آمد، نشان داد که دوره القاء حاصل از دیان مزدوج نمونه های حاوی صفر تا ۱۶۰۰ پی پی ام اسید گالیک در دمای ۱۱۰

درجه سانتی گراد از ۵/۹۷ به ۶۵/۸۲ ساعت و تریان مزدوج از ۶/۶۴ به ۶۸/۱۲ ساعت رسید. در حالی که دوره القاء حاصل از دیان مزدوج اسید سیرینجیک از ۵/۹۷ به ۲۲/۰۲ ساعت و تریان مزدوج از ۶/۶۴ به ۲۱/۴۳ ساعت رسید. از طرف دیگر، در دمای ۱۲۰ °C با افزایش غلظت آنتی اکسیدان ها از صفر الی ۱۶۰۰ پی پی ام، مقدار دیان و تریان مزدوج در نمونه های اسید گالیک به ترتیب در محدوده ۴/۱۹ الی ۲۹/۴۳ و ۵/۱۵ الی ۳۰/۵۲ و در نمونه های اسید سیرینجیک در محدوده ۴/۱۹ الی ۱۱/۳۵ و ۵/۱۵ الی ۱۱/۶۲ قرار داشت. حضور گروه های متوکسی در موقعیت اورتو نسبت به گروه هیدروکسیل امکان تشکیل پیوند هیدروژنی را افزایش و در نتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی اسید سیرینجیک را کاهش می دهد [۳۱]. در نهایت، این دو آنتی اکسیدان از آنتی اکسیدان سنتزی BHT با دوره القاء ۱۰/۲۷ و ۱۰/۵۵ ساعت به ترتیب حاصل از دیان و تریان مزدوج در دمای ۱۱۰ درجه سانتی گراد عملکرد بهتری داشتند.

Table 4 The induction period of conjugated diene and triene production in sunflower oil including antioxidants calculated from oxidation curve at 110 °C and 120 °C.

Antioxidant	Concentration	110 °C		120 °C	
		Conjugated diene	Conjugated triene	Conjugated diene	Conjugated triene
Control	0	5.97±0.24 ^F	6.64±0.18 ^I	4.19±1.03 ^H	5.15±0.28 ^F
Gallic acid	200	21.74±1.09 ^D	23.17±0.71 ^D	9.26±0.74 ^E	11.32±1.02 ^D
	400	41.71±6.57 ^C	40.28±5.29 ^C	22.14±3.63 ^C	19.27±2.10 ^C
	800	52.18±2.98 ^B	49.24±7.81 ^B	27.13±4.63 ^B	22.15±3.18 ^B
	1600	65.82±4.67 ^A	68.12±10.4 ^A	29.43±0.72 ^A	30.52±7.24 ^A
Syringic acid	200	6.42±1.03 ^F	9.03±0.44 ^H	5.03±0.39 ^G	3.75±0.07 ^G
	400	11.67±1.47 ^E	11.21±3.12 ^F	6.89±2.16 ^F	5.61±0.86 ^F
	800	21.31±2.09 ^D	25.77±6.18 ^D	10.21±1.05 ^D	9.03±1.36 ^E
	1600	22.02±2.68 ^D	21.43±5.29 ^E	11.35±1.24 ^D	11.62±2.19 ^D
BHT	200	10.27±1.69 ^E	10.55±0.17 ^G	5.69±0.23 ^G	5.9±1.43 ^F

* Means within a column with the same uppercase letters are not significantly different at $P > 0.05$.

نتایج محققان پیشین نیز قدرت آنتی اکسیدانی اسیدهای فنلی و مشتقات آنها را با ساختمان مولکولی و به خصوص نوع، تعداد و محل گروه های هیدروکسیل و متوکسی روی حلقه آروماتیک مرتبط دانسته اند. حضور گروه های دهنده الکترون روی حلقه فنلی، انرژی لازم برای جدا شدن اتم هیدروژن را کاهش می دهند و در نتیجه قرارگیری اتم هیدروژن در اختیار رادیکال پراکسی آسانتر می شود و این امر موجب کاهش سرعت واکنش های

زنجیره ای اکسایش روغن ها می گردد [۳۲]. Rice-Evans و همکاران (۱۹۹۶) در بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی هیدروکسی تیروزول^{۱۶}، الکل پروتوکاتچوویل^{۱۷} و الکل گالوویل^{۱۸} در روغن زیتون به وضوح نشان دادند الکل گالوویل بیشترین قدرت آنتی رادیکالی و بیشترین افزایش را در دوره القاء روغن زیتون پدید

16. Hydroxytyrosol
17. Protocatechuy alcohol
18. Galloyl alcohol

تمایل رادیکال حاصل از آنتی اکسیدان (پس از جدا شدن اتم هیدروژن) به شرکت در واکنش‌های زنجیره‌ای اکسایش لیپیدی یکی از دلایل عملکرد بالای آنتی اکسیدان در محیط اکسایشی است. این خصوصیت در مورد اسید گالیک صدق می‌کند؛ رادیکال‌های اسید گالیک انرژی پائینی دارند، لذا به اسیدهای چرب غیراشباع حمله نکرده و اکسایش را گسترش نمی‌دهند. عامل دیگری که در بیان علت عملکرد خوب اسید گالیک در سامانه روغنی نسبت به مشتقات اسیدهای فنلی به خصوص اسید سیرینجیک می‌توان ذکر کرد، قابلیت بالای اسید گالیک در مهار رادیکال سوپراکسید است.

۴- نتیجه گیری

در پژوهش حاضر، پایداری اکسایشی اسید گالیک و اسید سیرینجیک در چهار سطح غلظتی (۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام) در روغن تخلیص شده آفتابگردان در دو دمای ۱۱۰ و ۱۲۰ درجه سانتیگراد مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد، ساختار اسید چرب این روغن عمدتاً از اسید لینولئیک به میزان ۵۳/۱۲ درصد و اسید پالمیتیک به میزان ۸/۹۴ درصد تشکیل شده بود. اسید گالیک و اسید سیرینجیک توانایی خوبی در افزایش پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان داشتند. در مجموع، اسید گالیک عملکرد بهتری در ممانعت از اکسایش لیپیدی در روغن از خود نشان داد و این اثر به خصوص در دماهای بالا (۱۲۰ درجه سانتیگراد) به دلیل خاصیت حمله بالاتر مشهودتر بود. بنابراین رفتار آنتی اکسیدان در روغن به عوامل مختلفی از جمله قطبیت و خاصیت ذاتی خود آنتی اکسیدان، محیط لیپیدی، غلظت آنتی اکسیدان، دما و شرایط محیطی وابسته است و با مطالعات سینتیکی فرآیند اکسایش در روغن آفتابگردان و اثر آنتی اکسیدان‌ها در به تاخیر انداختن این فرآیند و بررسی پایداری اکسایشی سیستم‌های لیپیدی حاوی آنتی اکسیدان‌های مختلف طبیعی ضمن حذف آنتی اکسیدان سنتزی، می‌توان رفتار روغن در حضور آنتی اکسیدان‌های طبیعی را پیشگویی و تحلیل کرد.

آورد. بر طبق مشاهدات آنها وجود سومین گروه هیدروکسیل روی حلقه فنلی ترکیبات آنتی اکسیدانی، قدرت مهار رادیکال و فعالیت آنتی اکسیدانی آن را افزایش می‌دهد [۳۳]. در همین راستا محققین نشان دادند اسیدهای فنلی دارای یک عامل هیدروکسیل نسبت به اسیدهای دارای چند عامل هیدروکسیل از نظر قدرت آنتی اکسیدانی در رده پایین‌تری قرار دارند [۳۴ و ۳۵].

براساس داده‌های حاصل از دوره القاء، تولید هیدروپراکسیدها و دی‌ان مزدوج طی اکسایش روغن تخلیص شده آفتابگردان همبستگی خوبی نشان می‌دهند (شکل ۵). این یافته با نتایج حاصل از Saguy و Peri (۲۰۱۵) در ارزیابی اکسایشی روغن‌ها همخوانی دارد [۳۶]. این نتایج نشان می‌دهد که می‌توان اکسایش روغن آفتابگردان را در حضور غلظت‌های مختلف از اسیدهای فنلی از طریق روش فیزیکی دی‌ان مزدوج نسبت به روش شیمیایی عدد پراکسید مورد پایش قرار داد که به مراتب از سرعت، دقت و سهولت بیشتری برخوردار است و نیاز به مواد شیمیایی چندانی ندارد.

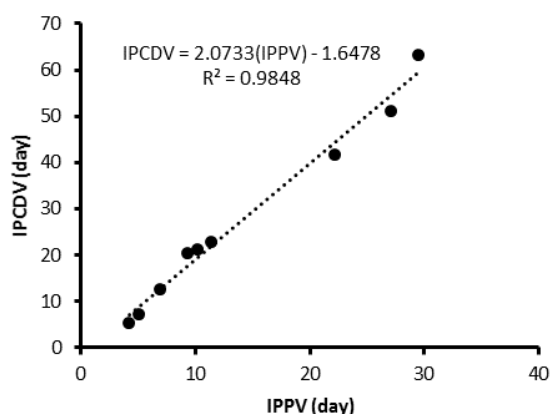


Fig 5 Correlation between the induction periods of the formation of hydroperoxides (IP_{PV}) and conjugated dienes (IP_{CDV}) during the storage of sunflower oil samples at 110°C

لذا در نهایت بیشترین مقدار شاخص‌های اکسایشی شامل دوره القاء و قدرت آنتی اکسیدانی حاصل از عدد پراکسید و دی‌ان و تری‌ان مزدوج در دو دمای ۱۱۰ و ۱۲۰ درجه سانتیگراد در غلظت ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام اسید گالیک مشاهده شد (جدول ۲، ۳ و ۴). این بدان معنی است که اسید گالیک نسبت به سایرین، بهترین عملکرد را در روغن آفتابگردان داشته است. انرژی پایین و عدم

Measurement and Characterization, 9(2), pp.215-224.

- [9] Shahidi, F. 2005. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. A John Wiley & Sons, Inc., Publication.
- [10] Garrido, J., Gaspar, A., Garrido, E.M., Miri, R., Tavakkoli, M., Pourali, S., Saso, L., Borges, F. and Firuzi, O., 2012. Alkyl esters of hydroxycinnamic acids with improved antioxidant activity and lipophilicity protect PC12 cells against oxidative stress. *Biochimie*, 94(4), pp.961-967.
- [11] Lodovici, M., Guglielmi, F., Meoni, M. and Dolara, P., 2001. Effect of natural phenolic acids on DNA oxidation in vitro. *Food and Chemical Toxicology*, 39(12), pp.1205-1210.
- [12] Bountagkidou, O.G., Ordoudi, S.A. and Tsimidou, M.Z., 2010. Structure-antioxidant activity relationship study of natural hydroxybenzaldehydes using in vitro assays. *Food research international*, 43(8), pp.2014-2019.
- [13] Tokmak, M., Yuksel, Y., Sehitoglu, M.H., Guven, M., Akman, T., Aras, A.B., Cosar, M. and Abbed, K.M., 2015. The neuroprotective effect of syringic acid on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rats. *Inflammation*, 38(5), pp.1969-1978.
- [14] Orabi, K.Y., Abaza, M.S., El Sayed, K.A., Elnagar, A.Y., Al-Attiyah, R. and Guleri, R.P., 2013. Selective growth inhibition of human malignant melanoma cells by syringic acid-derived proteasome inhibitors. *Cancer cell international*, 13(1), p.82.
- [15] Tong, L.M., Sasaki, S., McClements, D.J. and Decker, E.A., 2000. Mechanisms of the antioxidant activity of a high molecular weight fraction of whey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), pp.1473-1478.
- [16] Niho, N., Shibutani, M., Tamura, T., Toyoda, K., Uneyama, C., Takahashi, N. and Hirose, M., 2001. Subchronic toxicity study of gallic acid by oral administration in F344 rats. *Food and Chemical Toxicology*, 39(11), pp.1063-1070.
- [17] Lu, Z., Nie, G., Belton, P.S., Tang, H. and Zhao, B., 2006. Structure-activity relationship analysis of antioxidant ability and neuroprotective effect of gallic acid derivatives. *Neurochemistry international*, 48(4), pp.263-274.

۵- تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به دلیل پشتیبانی مالی از این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی مصوب با شماره طرح ۰۵-۱۳۹۶-۰۲ و همچنین از تمام افرادی که ما را در انجام این طرح پژوهشی یاری نمودند، تشکر و قدردانی به عمل آورند.

۶- منابع

- [1] Farahmandfar, R., Shokooh Saremi, E., Shahiri Tabarestani, H., Azizkhani, M. 2014. *Fundamental comprehensive microbiology of food technology*, Sahra press, Iran.
- [2] Asnaashari, M., Farhoosh, R. and Sharif, A., 2014. Antioxidant activity of gallic acid and methyl gallate in triacylglycerols of Kilka fish oil and its oil-in-water emulsion. *Food chemistry*, 159, pp.439-444.
- [3] López-Alarcón, C. and Denicola, A., 2013. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Analytica chimica acta*, 763, pp.1-10.
- [4] Krings, U., El-Saharty, Y.S., El-Zeany, B.A., Pabel, B. and Berger, R.G., 2000. Antioxidant activity of extracts from roasted wheat germ. *Food Chemistry*, 71(1), pp.91-95.
- [5] Suja, K.P., Abraham, J.T., Thamizh, S.N., Jayalekshmy, A. and Arumughan, C., 2004. Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection. *Food Chemistry*, 84(3), pp.393-400.
- [6] Johnson, D.R. and Decker, E.A., 2015. The role of oxygen in lipid oxidation reactions: a review. *Annual review of food science and technology*, 6, pp.171-190.
- [7] Iqbal, S. and Bhanger, M.I., 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*, 100(1), pp.246-254.
- [8] Asnaashari, E., Asnaashari, M., Ehtiati, A. and Farahmandfar, R., 2015. Comparison of adaptive neuro-fuzzy inference system and artificial neural networks (MLP and RBF) for estimation of oxidation parameters of soybean oil added with curcumin. *Journal of Food*

- derivatives as antioxidants: Structure– activity relation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(4), pp.1453-1459.
- [28] Marinova, E.M. and Yanishlieva, N.V., 2003. Antioxidant activity and mechanism of action of some phenolic acids at ambient and high temperatures. *Food Chemistry*, 81(2), pp.189-197.
- [29] Farhoosh, R. and Hoseini-Yazdi, S.Z., 2013. Shelf-life prediction of olive oils using empirical models developed at low and high temperatures. *Food Chemistry*, 141(1), pp.557-565.
- [30] Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K. and Taniguchi, H., 2002. Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7), pp.2161-2168.
- [31] Farhoosh, R., Johnny, S., Asnaashari, M., Molaahmadibahraseman, N. and Sharif, A., 2016a. Structure–antioxidant activity relationships of o-hydroxyl, o-methoxy, and alkyl ester derivatives of p-hydroxybenzoic acid. *Food chemistry*, 194, pp.128-134.
- [32] Farhoosh, R., Sharif, A., Asnaashari, M., Johnny, S. and Molaahmadibahraseman, N., 2016b. Temperature-dependent mechanism of antioxidant activity of o-hydroxyl, o-methoxy, and alkyl ester derivatives of p-hydroxybenzoic acid in fish oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93(4), pp.555-567.
- [33] Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G., 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), pp.933-956.
- [34] Heleno, S.A., Martins, A., Queiroz, M.J.R. and Ferreira, I.C., 2015. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food chemistry*, 173, pp.501-513.
- [35] Shahidi, F. and Ambigaipalan, P., 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects–A review. *Journal of functional foods*, 18, pp.820-897.
- [36] Peri, I. and Saguy, I.S., 2015. Continuous injection of water and antioxidants possible roles on oil quality during frying. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), pp.919-925.
- [18] Belhaj, N., Arab-Tehrany, E. and Linder, M., 2010. Oxidative kinetics of salmon oil in bulk and in nanoemulsion stabilized by marine lecithin. *Process Biochemistry*, 45(2), pp.187-195.
- [19] Lima, C.F., Fernandes-Ferreira, M. and Pereira-Wilson, C., 2006. Phenolic compounds protect HepG2 cells from oxidative damage: relevance of glutathione levels. *Life sciences*, 79(21), pp.2056-2068.
- [20] Farhoosh, R., 2007. The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(3), pp.205-209.
- [21] Farahmandfar, R., Asnaashari, M. and Sayyad, R., 2015. Comparison antioxidant activity of Tarom Mahali rice bran extracted from different extraction methods and its effect on canola oil stabilization. *Journal of food science and technology*, 52(10), pp.6385-6394.
- [22] González, M.J., Medina, I., Maldonado, O.S., Lucas, R. and Morales, J.C., 2015. Antioxidant activity of alkyl gallates and glycosyl alkyl gallates in fish oil in water emulsions: Relevance of their surface active properties and of the type of emulsifier. *Food chemistry*, 183, pp.190-196.
- [23] Saguy, I.S., Shani, A., Weinberg, P. and Garti, N., 1996. Utilization of jojoba oil for deep-fat frying of foods. *LWT-Food Science and Technology*, 29(5-6), pp.573-577.
- [24] Dubois, V., Breton, S., Linder, M., Fanni, J. and Parmentier, M., 2007. Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(7), pp.710-732.
- [25] Ramos, M.J., Fernández, C.M., Casas, A., Rodríguez, L. and Pérez, Á., 2009. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. *Bioresource technology*, 100(1), pp.261-268.
- [26] Karamac, M., Kosińska, A. and Pegg, R.B., 2005. Comparison of radical-scavenging activities for selected phenolic acids. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 14(2), pp.165-170.
- [27] Natella, F., Nardini, M., Di Felice, M. and Scaccini, C., 1999. Benzoic and cinnamic acid

Assessment of antioxidant activity and kinetic oxidative parameters of syringic acid and gallic acid in sunflower oil

Farahmandfar, R. ^{1*}, Asnaashari, M. ²

1. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Iran

2. PhD Student, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Iran

(Received: 2017/11/29 Accepted: 2018/04/21)

The performance of antioxidants depends on different factors, including chemical structure, interaction with oxidative environment, hydrophobicity and thermal conditions of the oil, and due to behavioral complexities, their results are unpredictable in oil systems. Therefore, gallic acid and syringic acid antioxidant activity were evaluated by DPPH assay, its oxidative stability by Rancimat and fatty acids profile of sunflower oil using GC-MS. In oven test, sunflower oil without antioxidants was monitored in presence of four levels of syringic acid and gallic acid (200, 400, 800 and 1600 ppm) at 110 and 120 °C. Sampling was carried out at continuous time intervals and the induction period of hydroperoxides, conjugated dienes and trienes formation was determined. The results showed the fatty acid structure of sunflower oil consisted mainly of unsaturated fatty acids (especially linoleic acid, C18:2 ω_3) and saturation ones (especially palmitic acid, C16:0), respectively. The results of oxidative parameters showed that both antioxidants increased the stability of sunflower oil compared to the control sample, and the antioxidant activity of gallic acid was significantly higher in both temperatures than syringic acid and synthetic antioxidant, BHT. Also, with increasing temperature, the stabilization factor (F) and antioxidant activity (A) of gallic acid in the most treatments had significantly lower reduction than that of syringic acid, which is due to the higher carry-through property of gallic acid. In general, gallic acid and syringic acid have high potential for enhancing the oxidative stability of edible oils and can be used as a substitute for synthetic antioxidants.

Keywords: Gallic acid, Syringic acid, Kinetic oxidative parameters, Sunflower oil, Antioxidant activity

* Corresponding Author E-Mail Address: r.farahmandfar@sanru.ac.ir