

Investigation of Thermal Stability of Sunflower and Olive Triacylglycerols under the Influence of Gallic Acid and Methyl Gallate

M. Akbari¹, R. Farhoosh^{2*}, M. Moeenfar³

1, 2 and 3- Ph.D. Student, Professor and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: rfarhoosh@um.ac.ir)

Received: 15.01.2023
Revised: 19.06.2023
Accepted: 25.06.2023
Available Online: 26.06.2023

How to cite this article:

Akbari, M., Farhoosh, R., & Moeenfar, M. (2024). Investigation of thermal stability of sunflower and olive triacylglycerols under the influence of gallic acid and methyl gallate. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 20(2), 217-227. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.80273.1228>

Introduction

Today, many edible oils such as palms, corn, soybeans and sunflowers are used in food preparation. Essential oleic, linoleic and linolenic fatty acids, found abundantly in olive, sunflower and soybean oils, respectively, play an important role in maintaining health. Antioxidant compounds are used to increase the shelf life of oils, which are classified into two groups of natural and synthetic antioxidants based on the source of production. Phenolic acids are a subset of a large group of phenolic compounds that are used as natural antioxidants in industry. Gallic acid is much stronger than protocatechuic acid due to its three hydroxyl groups. However, the presence of more than three hydroxyl groups does not seem to increase the antioxidant effect in oily systems. The position of the hydroxyl group on the aromatic ring also affects the antioxidant activity, so that the replacement of the hydroxyl group in the ortho and para position increases the antioxidant activity of phenolic acids. Methyl gallate, which is widely found in plants and polyphenolic secondary metabolites, is a natural antioxidant. Despite efforts to date, no suitable natural antioxidant has been proposed to control the thermal oxidation of oils at high temperatures. Therefore, due to the widespread use of oils in food, the thermal stability of natural antioxidants gallic acid and methyl-gallate compared to the powerful but synthetic antioxidant TBHQ, depending on the degree of satiety of the lipid system (sunflower oil and olive oil) and 80 degrees Celsius will be evaluated in this study.

Material and Methods

Samples of sunflower and olive oil were purchased from local stores. All chemicals and solvents were provided by Merck and Charlot. Sunflower and olive oil were purified by column chromatography to remove natural antioxidants. Oxidation of purified sunflower oil (1 g per oil) in the presence of a concentration level of gallic acid, methyl gallate and TBHQ (1.2 $\mu\text{mol/g}$) in glass bottles. The rate of progression of oxidative reactions and the evaluation of oil quality during temperature application is possible by measuring the peroxide number. The carbonyl number is determined using 2-propanol as solvent and 2,4 decodenal as standard and absorbance at 420 nm. The effect of antioxidants (InH) on the oxidation of the test samples can be measured based on the kinetic parameters. These parameters are stability factor F, ORR oxidation rate ratio, activity A and average consumption of WInH antioxidants.

Results and Discussion

The minimum and maximum induction times are related to the control sample and the sample containing the synthetic antioxidant TBHQ, respectively, which, considering the position of the two hydroxyl groups in the para



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.80273.1228>

position relative to each other in the TBHQ molecule, make this antioxidant stronger. Justifies. At 80 °C and in sunflower oil, the antioxidant methyl gallate shows a more effective stability factor (F) and antioxidant activity (A), indicating greater antioxidant power than gallic acid. Similarly, F-ORR-A values in methylgallate treatment have a significant effectiveness compared to other treatments. The higher oxidative stability of olive oil against sunflower oils can be attributed to the small amounts of oleic acid and especially the small amounts of linolenic acid in olives. Stability factor (F), is significantly higher for the TBHQ antioxidant than the values obtained for the other two. This factor is affected by the induction period of antioxidants and can be expected due to the effectiveness of antioxidants in increasing the duration of the induction period. The highest value obtained for the ORR oxidation rate parameter, is related to the antioxidant gallic acid. The parameter of antioxidant activity A, in TBHQ is higher than the other two antioxidants. Measurement of carbonyl compounds resulting from the decomposition of hydroperoxides is a good measure of the rate of development of oxidative reactions. In the treatment of gallic acid and TBHQ, the changes in the carbonyl number decrease at the end of the annealing, which is probably due to the decomposition of carbonyl compounds and the production of polymer compounds. Which cannot be measured by carbonyl number test.

Conclusion

Better efficacy of gallic acid compared to methyl gallate in olive oil and better efficacy of methyl gallate compared to gallic acid in sunflower oil at 80 °C show the composition of fatty acids, the nature of lipid systems and the position of antioxidants in the reaction medium. Have a great effect on improving the performance of antioxidants. Determination of oxidative stability based on carbonyl number shows similar results to peroxide number.

Keywords: Oxidative indices, Thermal kinetics, Thermal stability

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۴۰۳، ص. ۲۱۷-۲۲۷

بررسی پایداری حرارتی تری‌آسیل‌گلیسرول‌های آفتابگردان و زیتون تحت تأثیر اسیدگالیک و متیل‌گالات

مژگان اکبری^۱ - رضا فرهوش^{۲*} - مرضیه معین فرد^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۴

چکیده

در پژوهش حاضر، تجزیه و تحلیل سینتیکی رفتار آنتی‌اکسیدانی اسیدگالیک، متیل‌گالات و TBHQ در تری‌آسیل‌گلیسرول‌های روغن‌زیتون و آفتابگردان انجام شد. فرایند اکسایش روغن‌ها در رژیم سینتیکی (غلظت بالای اکسیژن) در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد و در یک سطح غلظتی (۱/۲ میکرو مول بر گرم) در محیط تاریک صورت گرفت. پارامترهای سینتیکی مختلف شامل فاکتور پایداری (F) که نمایانگر میزان کارآمدی، نسبت سرعت اکسایش (ORR) که نمایانگر قدرت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (A) که ترکیب فاکتور پایداری و قدرت موردبررسی قرار گرفت. پایداری اکسایشی تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها به‌صورت معنی‌داری در حضور آنتی‌اکسیدان‌های افزوده‌شده در سطح غلظتی و دمایی، نسبت به نمونه کنترل بهبود یافت. در دمای ۸۰ و هر دو نوع تری‌آسیل‌گلیسرید مورد استفاده، قدرت آنتی‌اکسیدانی TBHQ به‌طور معنی‌داری از اسیدگالیک و متیل‌گالات بیشتر بود. در روغن آفتابگردان، متیل‌گالات قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به اسیدگالیک نشان داد و نتایج به‌دست‌آمده با خاصیت حمله بالاتر اسیدگالیک مطابقت نداشت، درحالی‌که در روغن‌زیتون، اسیدگالیک قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نشان داد. زمان لازم برای رسیدن به حد بحرانی عدد کربونیل، برای هر دو نوع تری‌آسیل‌گلیسرول و تمام تیمارها به‌صورت معنی‌دار نسبت به تیمار کنترل، در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد، بهبود نشان داد و بین دو تیمار اسیدگالیک و متیل‌گالات، متیل‌گالات مؤثرتر بود.

واژه‌های کلیدی: پایداری حرارتی، سینتیک، عدهای اکسیداسیون

مقدمه

به واکنش‌های اکسایشی از خود نشان می‌دهند (Matalgyto & Al-Khalifa, 1998). اسیدهای چرب ضروری اولئیک، لینولئیک و لینولنیک که به‌ترتیب در روغن‌های زیتون، آفتابگردان و سویا به‌فراوانی یافت می‌شوند، نقش مهمی در حفظ سلامت و ادامه حیات دارند و خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان را کاهش می‌دهند. (Matalgyto & Al-Khalifa, 1998). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در جهت افزایش ماندگاری روغن‌ها مورد استفاده می‌باشند، که براساس منشأ تولید به دو گروه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی طبقه‌بندی می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های به‌کاررفته در فرایند مواد غذایی باید ارزان، غیر سمی، مؤثر در غلظت کم، پایدار، و باقی در شرایط فرایند (دارای

امروزه بسیاری از روغن‌های خوراکی نظیر انواع نخل، ذرت، سویا و آفتابگردان صرف آماده‌سازی مواد غذایی می‌شوند. روغن‌های پنبه‌دانه، ذرت، بادام‌زمینی و زیتون حاوی میزان کمی اسیدلینولنیک بوده و منبع مناسبی از نظر اسیدهای چرب چند غیراشباع به شمار می‌روند. روغن‌های خوراکی مختلف حائز درجه سیرناشدگی و ساختار اسیدچربی متفاوتی بوده و کیفیت و کمیت ترکیبات غیرتری‌آسیل‌گلیسرولی آن‌ها نیز باهم فرق دارد (Kamal-Eldin, 2006). برخلاف روغن‌های حیوانی که عمدتاً اشباع هستند و به‌راحتی با اکسیژن وارد واکنش نمی‌شوند، روغن‌های گیاهی کمتر اشباع‌اند و حساسیت بیشتری نسبت

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: rfarhoosh@um.ac.ir)

داخل ستون ریخته شد. مقدار ۹۰ گرم از نمونه‌های روغن به آرامی روی ستون آلومینا منتقل گردید و با برقراری خلأ نمونه‌های روغن از ستون عبور داده شدند. به‌منظور جلوگیری از اکسایش روغن، اطراف ستون کروماتوگرافی و ارلن جمع‌آوری روغن با فویل آلومینیوم کاملاً پوشانده شد (Asnaashari et al., 2014). برای اطمینان از صحت فرایند تخلیص میزان ترکیبات توکوفرولی، فنل و عدد پراکسید روغن‌های تخلیص شده اندازه‌گیری شد.

آزمون پایداری اکسایشی روغن‌ها در آون

اکسایش روغن تخلیص شده آفتابگردان و زیتون (میزان ۴ گرم از هر روغن) در حضور یک سطح غلظتی اسیدگالیک، متیل‌گالات و TBHQ (۱/۲ میکرو مول بر گرم) در بلیت‌های شیشه‌ای با قطر داخلی ۹ سانتی‌متر و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در آون پایش شد. نمونه‌گیری در زمان‌های متوالی (۱۵ دقیقه‌ای) انجام شد و دوره القای تولید هیدروپراکسیدها تعیین گردید. به‌منظور محاسبه دوره القای اکسایش لیپیدی برحسب عدد پراکسید، نمودار تغییرات شاخص‌های مزبور در مقابل زمان ترسیم گردید. سپس، معادلات خطی مرتبط با بخش‌های آغازین و انتشار اکسایش لیپیدی برازش داده شد و آنگاه دوره‌های القا از تلاقی دادن معادلات خطی یادشده محاسبه گردید. (Farhoosh & Hoseini-Yazdi, 2014).

عدد پراکسید

میزان پیشرفت واکنش‌های اکسایشی و ارزیابی کیفیت روغن در طی اعمال دما، با اندازه‌گیری فرآورده‌های حاصل از واکنش‌های تخریبی هیدرولیز و اکسایش امکان‌پذیر می‌باشد. در روش مورد استفاده از قابلیت پراکسیدهای لیپیدی در اکسایش یون‌های آهن دو استفاده می‌شود. یون‌های آهن II در شرایط واکنش، کمپلکس رنگی تولید می‌کنند که با روش اسپکتروفتومتری قابل اندازه‌گیری است (Shantha & Decker, 1994).

عدد کربونیل

عدد کربونیل با استفاده از ۲-پروپانول به‌عنوان حلال و ۲،۴ دکا دی انال به‌عنوان استاندارد و جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر تعیین می‌گردد. در این روش، ترکیبات کربونیلی با ۲، ۴-دی نیتروفنیل هیدرازین واکنش داده و مشتقات ۲، ۴-دی نیتروفنیل هیدرازون را تشکیل می‌دهد که این ماده به کینوئیدال‌ها تبدیل می‌شود. کینوئیدال‌ها در محلول‌های قلیائی، رنگ شرابی تولید می‌کنند. با اندازه‌گیری جذب محلول، ترکیبات کربونیل تعیین مقدار می‌شود. (Endo et al., 2001)

استرهای اسیدگالیک (متیل‌گالات، پروپیل‌گالات، لوریل‌گالات) در متیل‌لینولات در ۹۰ درجه سانتی‌گراد، به اثربخشی بیشتر متیل‌گالات نسبت به سایر استرهای اسیدگالیک پی بردند. اثنی عشری و همکاران (Asnaashari et al., 2014) نشان دادند پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکا در حضور متیل‌گالات نسبت به اسیدگالیک و توکوفرول در ۵۵ درجه سانتی‌گراد بیشتر می‌باشد. در تحقیقی که قابلیت آنتی‌اکسیدانی اسیدگالیک و متیل‌گالات در برابر تشکیل هیدروپراکسیدهای لیپیدی و ترکیبات قطبی متفاوت در شرایط دمایی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، در تری‌آسیل گلیسرول‌های روغن آفتابگردان مورد ارزیابی قرار گرفت، مشخص شد ترکیبات فنلی طبیعی اسیدگالیک و متیل‌گالات نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی و قدرتمند TBHQ در دماهای بالا قابلیت جلوگیری از اکسایش کلی بهتری دارند. علی‌رغم فعالیت آنتی‌اکسیدانی ضعیف‌تر اسیدگالیک در دماهای پائین، در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نشان داد (Farhoosh & Nystrom, 2018). با توجه به اهمیت حفظ کیفیت روغن‌ها در برابر تنش حرارتی، محققان آنتی‌اکسیدان‌های مختلفی را مورد بررسی قرار داده‌اند که از آن جمله می‌توان به استفاده از پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها اشاره کرد. به‌رغم تلاش‌های صورت گرفته تاکنون آنتی‌اکسیدان طبیعی مناسب برای کنترل اکسایش حرارتی روغن‌ها در دمای بالا پیشنهاد نشده است. لذا با توجه به کاربرد گسترده روغن‌ها در مواد غذایی، پایداری حرارتی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی اسیدگالیک و متیل‌گالات نسبت به آنتی‌اکسیدان قدرتمند اما سنتزی TBHQ به تبعیت از درجه سیرناشدگی سیستم لیپیدی (روغن آفتابگردان و روغن زیتون) و درجه حرارت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در این تحقیق مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

نمونه روغن آفتابگردان و زیتون از فروشگاه‌های محلی خریداری شدند. تمام مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده از قبیل آلومینا ۶۰ در این پژوهش از درجه آنالیتیکال بودند و از شرکت‌های مرک و شارلو تأمین شدند. آزمون‌ها در محل آزمایشگاه تجزیه دانشگاه انجام گرفت.

تخلیص روغن

به‌منظور حذف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، روغن آفتابگردان و زیتون به روش کروماتوگرافی ستونی تخلیص گردیدند (Marinova & Yanishlieva, 1995). بدین‌صورت که انتهای ستون شیشه‌ای کروماتوگرافی با قطر داخلی ۲/۵ سانتی‌متر و طول ۵۲ سانتی‌متر به ارلن خلا متصل شد. ۱۰۰ گرم آلومینا ۶۰ (نوع ۱ فعال خنثی) که در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت فعال شده بود به‌طور یکنواخت

حد مجاز عدد کربونیل یک روغن سرخ‌کردنی مستعمل کمتر یا مساوی ۴۳/۵ میکرو مول بر گرم گزارش شده است. (Farhoosh & Tavasoli, 2011)

پارامترهای سینتیکی اکسایش

اثر آنتی‌اکسیدان‌ها (InH) بر اکسایش نمونه‌های مورد آزمایش بر پایه پارامترهای سینتیکی که اکسایش لیپیدها را در طول مراحل اولیه مشخص می‌کنند، قابل اندازه‌گیری است. این پارامترها عبارت‌اند از فاکتور پایداری (F)، نسبت سرعت اکسایش (ORR)، فعالیت (A) و متوسط مصرف آنتی‌اکسیدان (W_{InH}) که نحوه محاسبه آن‌ها در ادامه ذکر شده است (Yanishlieva et al., 1999; Farhoosh, 2005). پارامتر (F) به عنوان احتمال توقف فرآیند رادیکالی زنجیره‌ای به وسیله مهارکنندگی رادیکال‌های پراکسید شناخته می‌شود. این پارامتر مسئول مدت دوره القا (IP) می‌باشد:

$$F = IP_{inh} / IP_0 \quad (1)$$

که IP_{inh} و IP_0 در حضور و غیاب آنتی‌اکسیدان می‌باشند. هر چه مقدار F بیشتر باشد یعنی آنتی‌اکسیدان اثربخش‌تر است. ORR معکوس معیار قدرت است که آن را نسبت سرعت اکسایش نیز می‌نامند و هر چه مقدار آن کمتر باشد آنتی‌اکسیدان قوی‌تر است. اگر مقدار آن از یک بیشتر باشد، آنتی‌اکسیدان یک پراکسیدان محسوب می‌شود:

$$ORR = W_{inh} / W_0 \quad (2)$$

که W_0 و W_{inh} سرعت اکسایش در حضور و غیاب آنتی‌اکسیدان است (تانژانت مرحله آغازین خطی منحنی سینتیک اکسایش لیپید)

سرعت‌های اکسایش از $meq\ kg^{-1}h^{-1}$ به MS^{-1} توسط معادله (۳) مجدداً محاسبه می‌شوند (Marinova & Yanishlieva, 1992). اکتیویتی (A) پارامتر معمولی است که پارامترهای F و ORR را به هم مرتبط می‌کند:

$$1meqkg^{-1}h^{-1} = 1.4 \times 10^{-7}MS^{-1} \quad (3)$$

$$A = F/ORR \quad (4)$$

در نهایت با بررسی و تجزیه و تحلیل پارامترهای یادشده می‌توان روند فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های مورد مطالعه در دمای مشخص شده را در سیستم‌های لیپیدی تحت مطالعه تعیین نمود (Denisove & Khudyakov, 1987).

تجزیه و تحلیل آماری

همه اندازه‌گیری‌ها در ۳ تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها برای صفات اندازه‌گیری شده بر اساس طرح‌های کاملاً تصادفی انجام شد. میانگین صفات کمی با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد مقایسه شدند. تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم گردید (Asnaashari et al., 2014).

نتایج و بحث

پارامترهای سینتیکی اندازه‌گیری شده در روغن آفتابگردان در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در جدول ۱ و روغن زیتون در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱- پارامترهای سینتیکی روغن آفتابگردان در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد*

Table 1- Kinetics parameter of sunflower oil at 80°C (the mean difference at the 0.05% level is significant)

AH Type نوع آنتی‌اکسیدان	AH (mM) غلظت آنتی اکسیدان	IP (min) دوره القا	K_{ip} (mMh ⁻¹) شیب نمودار غلظت هیدروپراکسید نسبت به زمان	[LOOH] _{max} (mM) حداکثر غلظت هیدروپراکسید	F فاکتور پایداری	ORR (10 ⁻³) نسبت سرعت اکسایش	A فعالیت
CONTROL	0	265 ^a ±0.44	9.81 ^d ±0.06	196 ^d ±2	0	0	0
GA	1.2	2252 ^b ±3	0.22 ^c ±0.00	131 ^b ±2	8.49 ^a ±0.02	23 ^b ±0.04	368 ^a ±9
MG	1.2	2523 ^c ±3	0.22 ^b ±0.00	159 ^c ±0.4	9.51 ^b ±0.02	22.8 ^b ±0.023	416 ^a ±3
TBHQ	1.2	5402 ^d ±6	0.08 ^a ±0.00	113 ^a ±0.58	20.3 ^c ±0.0	8.1 ^a ±0.35	2501 ^b ±104

* (اختلاف میانگین‌ها^۱ در سطح ۰/۰۵٪ معنی‌دار است)

جدول ۲- پارامترهای سینتیکی روغن زیتون در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد

Table 2- Kinetics parameter of olive oil at 80°C (the mean difference at the 0.05% level is significant)

AH Type نوع آنتی اکسیدان	AH (mM) غلظت آنتی اکسیدان	IP (min) دوره القا	K _{ip} (mMh ⁻¹) شیب نمودار غلظت هیدروپراکسید نسبت به زمان	[LOOH]m ax (mM) حداکثر غلظت هیدروپراکسید	F فاکتور پایداری	ORR (10 ⁻³) نسبت سرعت اکسایش	A فعالیت
CONTROL	0	1052 ^a ±0.78	0.61 ^d ±0.01	94.7 ^a ±0.7	0	0	0
GA	1.2	4313 ^c ±8.	0.09 ^b ±0.00	111 ^c ±1	4.09 ^b ±0.00	0.15 ^b ±0.00	26.8 ^a ±0.4
MG	1.2	3443 ^b ±10	0.12 ^c ±0.00	120 ^d ±1	3.27 ^a ±0.00	0.19 ^c ±0.00	16.5 ^a ±0.2
TBHQ	1.2	11188 ^d ±44	0.01 ^a ±0.0	104 ^b ±1	10.6 ^c ±0.0	0.02 ^a ±0.00	363 ^b ±10

* (اختلاف میانگین ها در سطح ۰/۰۵٪ معنی دار است)

از دیدگاه ساختار اسید چربی را می توان به روغن زیتون نسبت داد. پایین بودن پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان را می توان به بالا بودن میزان PUFA و نیز پایین بودن میزان تک غیر اشباع (MUFA) آن نسبت داد. بر طبق پایداری اکسایشی تری آسیل گلیسرول ها، روغن زیتون بیشترین پایداری حرارتی در تشکیل محصولات اولیه (هیدروپراکسیدها) و ثانویه اکسایش را داراست و روغن آفتابگردان به طور قابل توجهی ناپایدارتر از زیتون می باشد. پایداری اکسایشی بیشتر روغن زیتون در برابر روغن های آفتابگردان را می توان به مقادیر جزئی بیشتر اسید اولئیک و به ویژه مقادیر جزئی اسید لینولنیک در زیتون مرتبط دانست. سرعت اکسایش نسبی اسیدهای اولئیک، لینولئیک و لینولنیک به ترتیب ۱:۱۲:۲۵ گزارش شده است (Hsieh & Kinsella, 1980). از مقایسه مقادیر زمان القا، شیب نمودار در ناحیه خطی (K_{IP}) در دو نمونه روغن آفتابگردان و زیتون، مشاهده می شود روغن زیتون به علت بالا بودن مقدار اسیدهای چرب تک غیر اشباع، پایداری اکسایشی بالاتری نسبت به روغن آفتابگردان نشان می دهد. طول دوره القا (مدت زمان لازم برای انتقال واکنش از فاز آغازین به فاز انتشار) به عنوان معیاری مناسب برای اندازه گیری کمی پایداری اکسایشی سیستم های لیپیدی در نظر گرفته می شود. تغییرات عدد پراکسید در برابر زمان نشان می دهد سرعت تشکیل هیدروپراکسیدها در زمان خاص به یک باره دچار تغییر شده، شروع به افزایش می کند که این بیانگر انتقال واکنش از فاز آغازین به فاز انتشار می باشد (Farhoosh, 2016) هر دو آنتی اکسیدان اسیدگالیک و متیل گالات دارای سه گروه هیدروکسیل متصل به حلقه آروماتیک هستند با این تفاوت که در متیل گالات یک گروه متیل استر جایگزین گروه کربوکسیلی شده است. گروه های هیدروکسیل در متیل گالات به دلیل وجود گروه متیل استر، آنتالپی تفکیک پیوند کمتری دارند و در نتیجه قدرت الکترون دهنده گی بیشتری از خود نشان می دهند (Farhoosh & Nystrom, 2018; Asnaashari et al., 2014) پارامترهای سینتیکی مربوط به اثر آنتی اکسیدان ها بر سرعت تشکیل هیدروپراکسیدها در روغن آفتابگردان در جدول ۱ نشان داده شده اند. فاکتور پایداری (F) که توانائی آنتی اکسیدان ها در متوقف

همان طور که در جدول ۱ و ۲ مشاهده می شود، کمترین و بیشترین زمان القا، به ترتیب مربوط به نمونه کنترل و نمونه حاوی آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ می باشد که با عنایت به قرارگیری دو گروه هیدروکسیل در موقعیت پارا نسبت به هم در ملکول TBHQ، قوی تر بودن این آنتی اکسیدان را توجیه می کند. در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد و در روغن آفتابگردان، آنتی اکسیدان متیل گالات، فاکتور پایداری (F) و فعالیت آنتی اکسیدانی (A) اثربخش تری را نشان می دهد که نشان دهنده قدرت آنتی اکسیدانی بیشتر از اسیدگالیک، می باشد. وجود گروه متیل استخلافی در کربوکسیل ملکول متیل گالات، منجر به افزایش تشکیل پیوند هیدروژنی درون ملکولی شده و در نتیجه خاصیت آنتی اکسیدانی مناسب تری را به وجود می آورد. هر چند به علت اختلاف کم قدرت آنتی اکسیدانی بین دو ملکول اسیدگالیک و متیل گالات، سرعت اکسایش در حضور این دو آنتی اکسیدان معنی دار نمی باشد. در روغن زیتون، کمترین و بیشترین مقدار غلظت هیدروپراکسید، مربوط به نمونه کنترل و تیمار متیل گالات می باشد. به همین ترتیب مقادیر F-ORR-A در تیمار متیل گالات، اثربخشی قابل ملاحظه ای نسبت به تیمارهای دیگر دارد. در تحقیقات انجام شده مقدار اسیدهای چرب چند غیر اشباع (PUFA) به ترتیب به روغن های آفتابگردان (۵۵/۲۲ درصد) و زیتون (۹/۲۸ درصد) اختصاص داشت. اسیدهای لینولئیک و اولئیک، اسیدهای چند غیر اشباع و تک غیر اشباع عمده روغن آفتابگردان و زیتون بودند (به ترتیب ۵۴/۶۰ و ۲۷/۸۶ درصد و ۸/۶۷ و ۶۸/۰۴ درصد). روغن آفتابگردان حاوی بیشترین میزان اسید چرب چند غیر اشباع لینولنیک در بین روغن های مورد مطالعه بود و پس از آن از این حیث، روغن زیتون قرار گرفت. میزان بالای اسیدهای چرب چند غیر اشباع سبب افزایش اکسایش پذیری روغن ها و در نتیجه کاهش پایداری آن ها می شود. نسبت اسیدهای چرب چند غیر اشباع به اشباع (PUFA/SFA) در روغن آفتابگردان و روغن زیتون، به ترتیب ۳/۳۹ و ۰/۴۸ درصد بود. این نسبت معمولاً به عنوان معیاری از میزان سیرناشدگی روغن ها و چربی ها و نیز تمایل آن ها به خود اکسایش لیپیدی در نظر گرفته می شود (Mendez et al., 1996). از این رو، بیشترین میزان پایداری اکسایشی

کردن زنجیره رادیکالی اکسایش به وسیله ایجاد برهمکنش های مختلف با رادیکال پراکسید نشان می دهد، برای آنتی اکسیدان TBHQ به طور معنی دار، بالاتر از مقادیر به دست آمده برای دو آنتی اکسیدان دیگر می باشد. این فاکتور متأثر از دوره القای آنتی اکسیدان ها می باشد و با توجه به اثربخشی آنتی اکسیدان ها در افزایش طول دوره القا، قابل انتظار می باشد. بالاترین مقدار به دست آمده در مورد پارامتر سرعت اکسایش ORR، که شرکت آنتی اکسیدان در سایر واکنش ها را نشان می دهد، مربوط به آنتی اکسیدان اسیدگالیک می باشد. پارامتر فعالیت آنتی-اکسیدانی A که نشانگر کارایی کلی آنتی اکسیدان ها است در TBHQ بالاتر از دو آنتی اکسیدان دیگر می باشد. در خصوص فعالیت اسیدهای دی هیدروکسی بنزوئیک در برابر رادیکال های پراکسیل به روش انتقال هیدروژن، دو خصوصیت مهم ساختمانی مطرح است: اول این که گروه هیدروکسیلی که قرار است اتم هیدروژن را انتقال دهد باید در موقعیت متا نسبت به گروه کربوکسیل باشد و دوم این که این گروه هیدروکسیل باید در موقعیت پارا یا اورتو نسبت به سایر گروه های هیدروکسیل قرار گیرد (Pe' rez-Gonza'lez et al., 2014). محققان گزارش نموده اند عملکرد آنتی اکسیدان ها به عوامل مختلفی از جمله برهمکنش آن با محیط اکسایشی، روغن یا امولسیون، بستگی دارد. بر طبق پدیده ای که به تناقض قطبی^۱ از آن یاد می شود، آنتی اکسیدان های قطبی در محیط های روغنی تا امولسیونی مؤثرتر واقع می شوند (Huang et al., 1994; Frankel et al., 1996). تأثیر قطبیت آنتی اکسیدان ها بر عملکرد آن ها در سیستم های آبی-لیپیدی توسط پورتر (Porter, 1993) مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج حاکی از آن بود فعالیت آنتی اکسیدان های غیر قطبی در مقایسه با آنتی اکسیدان های قطبی در سیستم های پراکنده حاوی فسفولیپید بیشتر است که این اثر را تناقض قطبی نامید. همچنین در مقابل، آنتی اکسیدان های قطبی عملکرد بهتری در سیستم خالص روغنی تا آنتی اکسیدان های غیر

قطبی داشتند. اسیدگالیک به دلیل دارا بودن تعداد کافی گروه های هیدروکسیل تمایل زیادی به فاز آبی نشان می دهد که این امر نشان دهنده قطبیت بالای آن است (Mattia et al., 2009). در سیستم روغنی، فعالیت آنتی اکسیدان ها بسته به قطبیت این ترکیبات و نیز توانایی هیدروژن دهنده گی آن ها است و آنتی اکسیدان های هیدروفیل در سطح مشترک روغن-هوا قرار می گیرند و لذا بهتر قادر به محافظت روغن در مقابل اکسایش می باشند، نسبت به آنتی اکسیدان های غیر قطبی که در فاز روغن پراکنده می شوند (Zhu et al., 2013). طبق نظریه تناقض قطبی، متیل گالات با وجود قدرت مهارکنندگی ضعیف تر رادیکال آزاد نسبت به اسیدگالیک، اما به دلیل قطبیت کمتر در مقایسه با اسیدگالیک، در سیستم امولسیونی بهتر از اسیدگالیک عمل نمود (Asnaashari et al., 2014). هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسایش لیپیدی می باشند که به دلیل پایداری کم از طریق مکانیسم های تجزیه ای مختلف، ترکیبات کربونیل با پایداری بالاتر را به وجود می آورند. اندازه گیری ترکیبات کربونیل حاصل از تجزیه هیدروپراکسیدها، معیار مناسبی برای سنجش میزان توسعه واکنش های اکسایشی است. اندازه گیری این ترکیبات اهمیت بسیار بالایی در سنجش تندی و ایمنی روغن های گیاهی در فرآیندهای حرارتی دارند. تغییرات عدد کربونیل حین آون گذاری برای همه نمونه های روغن، روند افزایشی نشان داد.

همان طور که مشاهده می شود زمان لازم برای رسیدن به عدد کربونیل بحرانی در دو تیمار اسیدگالیک و TBHQ، بیشتر بوده و در نتیجه عملکرد بهتری داشتند. در تیمار اسیدگالیک و TBHQ، تغییرات عدد کربونیل، در انتهای آون گذاری با کاهش روبرو می شود که احتمالاً ناشی از تجزیه ترکیبات کربونیل و تولید ترکیبات پلیمری است. که با آزمون عدد کربونیل قابل اندازه گیری نیستند.

جدول ۳- عدد کربونیل روغن آفتابگردان در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد (اختلاف میانگین ها در سطح ۰/۰۵٪ معنی دار است)
Table 3- Carbonyl index of sunflower oil at 80°C (the mean difference at the 0.05% level is significant)

AH Type	AH (mM)	IP (min)	T _{43.5} (min)	CV _{IP} (mMg ⁻¹)
نوع آنتی اکسیدان	غلظت آنتی اکسیدان	دوره القا	زمان لازم برای رسیدن به عدد کربونیل ۴۳/۵	عدد کربونیل در دوره القا
CONTROL	0	265 ^a ± 0.44	351 ^a ± 1	28.8 ^c ± 0.0
GA	1.2	2252 ^b ± 3	3001 ^c ± 16	21.8 ^a ± 0.8
MG	1.2	2523 ^c ± 3	2936 ^b ± 9	29.9 ^d ± 0.0
TBHQ	1.2	5402 ^d ± 6	6639 ^d ± 47	23.2 ^b ± 0.7

جدول ۴- عدد کربونیل روغن زیتون در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد (اختلاف میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵٪ معنی‌دار است)

Table 4- Carbonyl index of olive oil at 80°C (the mean difference at the 0.05% level is significant)				
AH Type	AH (mM)	IP (min)	T _{43.5} (min)	CV _{IP} (mMg ⁻¹)
نوع آنتی‌اکسیدان	غلظت آنتی‌اکسیدان	دوره القا	زمان لازم برای رسیدن به عدد کربونیل ۴۳/۵	عدد کربونیل در دوره القا
CONTROL	0	1052 ^a ±0.78	1221 ^a ±10	26.8 ^b ±1.0
GA	1.2	4313 ^c ±8	4932 ^c ±51	26.5 ^b ±1.1
MG	1.2	3443 ^b ±10	4560 ^b ±31	20.5 ^a ±2.8
TBHQ	1.2	11188 ^d ±44	13092 ^d ±143	26.5 ^b ±1.5

نتیجه‌گیری

اثر بخشی بهتر اسیدگالیک در مقایسه با متیل‌گالات در روغن زیتون و اثر بخشی بهتر متیل‌گالات در مقایسه با اسیدگالیک در روغن آفتابگردان تحت دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد، نشان می‌دهد ترکیب اسید چرب، ماهیت سیستم‌های لیپیدی و موقعیت قرارگیری آنتی‌اکسیدان‌ها

در محیط واکنش، تأثیر بسزایی در بهبود عملکرد آنتی‌اکسیدان‌ها دارند. تعیین پایداری اکسایشی بر اساس عدد کربونیل، نتایج مشابهی با عدد پراکسید نشان می‌دهد و تیمارهای با عملکرد بهتر در به تأخیر انداختن دوره القا، عملکرد به مراتب بهتری در کاهش تولید ترکیبات کربونیل از خود نشان دادند.

References

- Asnaashari, M., Farhoosh, R., & 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, 439-444. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.038>
- Borde, V., UPangrikar, P.P., & Tekale, S.U. (2011). Gallic acid in ayurvedic herbs and formulations. *Recent Research in Science and Technology*, 3(7), 51-54.
- Cao, G., Sofic, E., & Prior, R.L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships, 22(5), 749-760. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(96\)00351-6](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(96)00351-6)
- Denisove, E., & Khudyakov, I. (1987). Mechanism of action and reactivities of the free radicals of inhibitors. *Chemical Reviews*, 87, 1313-1357. <https://doi.org/10.1021/cr00082a003>
- Endo, Y., Li, C.M., Tagiri-Endo, M., & Fugimoto, K. (2001). A modified method for the estimation of total carbonyl compounds in heated and frying oils using 2-propanol as a solvent. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 10, 1021-1024. <https://doi.org/10.1007/s11746-001-0381-1>
- Farhoosh, R. (2005). Antioxidant activity and mechanism of action of butein in linoleic acid. *Food Chemistry*, 93, 633-639. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.041>
- Farhoosh, R. (2007). The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf life of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84, 205-209. <https://doi.org/10.1007/s11746-006-1030-4>
- Farhoosh, R., Niazmand, R., Rezaei, M., & Sarabi, M. (2008). Kinetic parameter determination of vegetable oil oxidation under rancimat test conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 587-592. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200800004>
- Farhoosh, R., & Tavasoli Kafrani, M.H. (2011). Simultaneous monitoring of conventional qualitative indicators during frying of sunflower oil. *Food Chemistry*, 125, 209-213. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.064>
- Farhoosh, R., & Hoseini-Yazdi, S.Z. (2013). Shelf-life prediction of olive oils using empirical models developed at low and high temperatures. *Food Chemistry*, 141, 557-565. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.024>
- Farhoosh, R., & Hoseini-Yazdi, S.Z. (2014). Evolution of oxidative values during Kinetic studies on olive oil oxidation in the Rancimat test. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(2), 281-293. <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2368-z>
- Farhoosh, R., Johnny, S., Asnaashari, M., Molaahmadibahraseman, N., & Sharif, A. (2016a). Structure-antioxidant activity relationships of *o*-hydroxyl, *o*-methoxy, and alkyl ester derivatives of *p*-hydroxybenzoic acid. *Food Chemistry*, 194, 128-134. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.003>
- Farhoosh, R., Sharif, A., Asnaashari, M., Johnny, S., & 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, 555-567. <https://doi.org/10.1007/s11746-016-2790-0>
- Farhoosh, R., & Nystrom, L. (2018). Antioxidant potency of gallic acid, methyl gallate and their combinations in sunflower oil triacylglycerols at high temperature. *Food Chemistry*, 244, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.025>

15. Frankel, E.N. (1980). Lipid oxidation. *Progress in Lipid Research*, 19, 1-22. [https://doi.org/10.1016/0163-7827\(80\)90006-5](https://doi.org/10.1016/0163-7827(80)90006-5)
16. Frankel, E.N. (2005). *Lipid oxidation*. The Oily Press LTD. Dundee, Scotland.
17. Frankel, E.N., Huang, S.W., Kanner, J., & German, J.B. (1994). Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils vs. emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 1054-1059. <https://doi.org/10.1021/jf00041a001>
18. Hsieh, R.J., & Kinsella, J.E. (1980). Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. *Advances in Food and Nutrition Research*, 33, 233-341. [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(08\)60129-1](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(08)60129-1)
19. Huang, S.W., Frankel, E.N., Schwarz, K., Aeschbach, R., & German, J.B. (1996). Antioxidant activity of carnosic acid and methyl carnosate in bulk oils and oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 2951-2956. <https://doi.org/10.1021/jf960068r>
20. Kamal-Eldin, A. (2003). *Lipid oxidation pathways*. AOCS Press: USA. <https://doi.org/10.1201/9781003040316>
21. Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., & Taniguchi, H. (2002). Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2161-2168. <https://doi.org/10.1021/jf011348w>
22. Kim, S.H., Jun, C.D., Suk, K., Choi, B.J., Lim, H., Park, S., Lee, S.H., Shin, H.Y., Kim, D.K., & Shin, T.Y. (2006). Gallic acid inhibits histamine release and pro-inflammatory cytokine production in mast cells. *Toxicol Science*, 91, 123-131. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfj063>
23. Leopoldini, M., Pitarch, I.P., Russo, N., & Toscano, M. (2004a). Structure, conformation and electronic properties of apigenin, luteolin, and taxifolin antioxidants. A first principle theoretical study. *The Journal of Physical Chemistry A*, 108, 92-96. <https://doi.org/10.1021/jp035901j>
24. Leopoldini, M., Marino, T., Russo, N., & Toscano, M. (2004b). Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism. *The Journal of Physical Chemistry A*, 108, 4916-4922. <https://doi.org/10.1021/jp037247d>
25. Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125, 288-306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.012>
26. Marinova, E.M., & Yanishlieva, N.V. (1992). Effect of temperature on the antioxidative action of inhibitors in lipid autoxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 60, 313-318. <https://doi.org/10.1002/JSFA.2740600307>
27. Matalgto, F.S., & Al-Khalifa, A.S. (1998). Effect of microwave oven heating on stability of some oil and fats. *Arab Gulf Journal of Scientific Research*, 16, 21-40. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1152481>
28. Mattia, C.D.D., Sacchetti, G., Mastrocola, D., & Pittia, P. (2009). Effect of phenolic antioxidants on the dispersion state and chemical stability of olive oil O/W emulsions. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 42(8), 1163-1170. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.05.017>
29. Merkl, R., Hradkova, I., Filip, V., & Smidrkal, J. (2010). Antimicrobial and antioxidant properties of phenolic acids alkylesters. *Czech Journal of Food Sciences*, 28, 275-279. <https://doi.org/10.17221/132/2010-CJFS>
30. Mendez, E., Sanhueza, J., Speisky, H., & Valenzuela, A. (1996). Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73, 1033-1037. <https://doi.org/10.1007/BF02523412>
31. Pekkarinen, S., Heinonen, M., & Hopia, A. (1999). Flavonoids quercetin, myricetin, kaemferol and (+)-catechin as antioxidants in methyl linoleate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 499-506. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(19990315\)79:4<499::AID-JSFA204>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(19990315)79:4<499::AID-JSFA204>3.0.CO;2-U)
32. Pe'rez-Gonza'lez, A., Galano, A., & Alvarez-Idaboy, J.R. (2014). Dihydroxybenzoic acids as free radical scavengers: Mechanisms, kinetics, and trends in activity. *New Journal of Chemistry*, 38, 2639-2652. <https://doi.org/10.1039/C4NJ00071D>
33. Pokorny, J. (1987). Major factors affecting the autoxidation of lipids. In H.W.S. Chan (Ed.), *Autoxidation of Unsaturated Lipids* (pp. 141-205). Academic Press: London.
34. Porter, W.L. (1993). Paradoxical behavior of antioxidants in food and biological systems, in *Antioxidants: Chemical, Physiological, Nutritional and Toxicological Aspects* (William, G.M., ed.), (pp. 93-122). Princeton Scientific, Princeton. <https://doi.org/10.1177/0748233793009001-209>
35. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Chemistry*, 20, 933-956. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)
36. Shantha, N.C., & Decker, E.A. (1994). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*, 77, 421-424. <https://doi.org/10.1093/jaoac/77.2.421>

37. Wanasundara, P.K., & Shahidi, F. (2005). Antioxidants: science, technology, and applications. In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. Pp: 431-489. <https://doi.org/10.1002/047167849X.bio002>
38. Yanishlieva, N.V., & Marinova, E.M. (1992). Inhibited oxidation of lipids I. Complex estimation and comparison of the antioxidative properties of some natural and synthetic antioxidants. *Fats Science Technology*, 94, 374-379. <https://doi.org/10.1002/lipi.19920941004>
39. Yanishlieva, N.V., & Marinova, E.M. (1995). Effects of antioxidants on the stability of triacylglycerols and methyl esters of fatty acids of sunflower oil. *Food Chemistry*, 54, 371-382. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)00061-M](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)00061-M)
40. Yanishlieva, N.V., Marinova, E.M., Gordon, M.H., & Raneva, V.G. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, 64, 59-66. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00086-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00086-7)
41. Zhu, Y., Long, Q.Z., Zhou, B., Prenzler, P.D., & Zhong, H.Y. (2013). Antioxidant activity of phenolic compounds in bulk camellia oil and corresponding oil in water (O/W) emulsions. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 5, 1238-1243. <https://doi.org/10.19026/ajfst.5.3089>