دراسة تأثير كل من نوع الزيت النباتي وشركته المنتجة ومزجه مع الزيوت الأخرى على فعاليته المضادة للأكسدة وتغيراتها مع الزمن

د. زينب صارم*

رؤى الصوا**

(تاريخ الإيداع 25 / 1 / 2021. قُبِل للنشر في 10 / 5 / 2021)

□ ملخّص □

تنصح المنظمات الغذائية بواردٍ كافٍ يومياً من الأحماض الدسمة غير المشبعة نظراً لدورها الحيوي الهام. تُعتبر الزيوت النباتية من المصادر الغنية بهذه الأحماض ذات الروابط المضاعفة في بنيتها، مما يجعلها عرضة للتأكسد والتلف عند تعرضها لدرجات حرارة مرتفعة أثناء الطهي أو التخزين لفترة طويلة. تمتع الزيوت النباتية بالفعالية المضادة للأكسدة التي تحافظ على قيمتها التغذوية وثباتها. تتعلق الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت بتركيبها الكيميائي و نوعية مكوناتها المضادة للأكسدة وكميتها، إضافة إلى عمليات التكرير التي تُجرى على الزيوت قبل تسويقها و التي تؤثر على محتواها من هذه المكونات، مما يترتب عليه اختلاف الفعالية المضادة للأكسدة بين هذه الزيوت، و الذي يؤدي بدوره إلى اختلافها على مستوى كل من القيمة التغذوية و الثباتية.

يهدف هذا البحث إلى قياس الفعالية المضادة للأكسدة لبعض الزيوت النباتية المتوفرة محلياً (زيت الصويا، زيت الذرة، زيت دوار الشمس، زيت الزيتون) والمنتجة من قبل شركات مختلفة باستخدام طريقة القدرة الإرجاعية (PFRAP: potassium ferricyanide reducing power) وهي طريقة طيفية لونية تعتمد على إرجاع شوارد الحديد (III) إلى شوارد الحديدي (II) وتشكيل معقد لوني تُقاس امتصاصيته بطول موجة 700nm لتحديد نوع الزيت والمزيج الأكثر فعالية مضادة للأكسدة مخبرياً.

تم جمع العينات من السوق المحلية في محافظة اللاذقية، وتم القياس على فترات زمنية متعاقبة بفارق زمني (2 شهر)، لُوحظ اختلاف الفعالية المضادة للأكسدة بين الأنواع المختلفة للزيوت النباتية وبين الشركات المنتجة للنوع الواحد. كذلك كان هناك انخفاض بالفعالية المضادة للأكسدة مع مرور الزمن لكل الزيوت النباتية المدروسة، وتبين أيضاً أنه يمكن زيادة الفعالية المضادة للأكسدة لبعض الزيوت المراد استخدامها من خلال مزجها مع أنواع أخرى من الزيوت.

الكلمات المفتاحية: الفعالية المضادة للأكسدة الكلية، الزيوت النباتية و مزائجها، طريقة PFRAP

* **مدرسة – قسم الكيمياء التحليلية و الغذائية– كلية الصيدلة–جامعة تشرين– اللاذقية– سورية**

** **طالبة ماجستير – قسم الكيمياء التحليلية و الغذائية– كلية الصيدلة– جامعة تشرين–اللاذقية– سورية**

Studying the effect of vegetable oil type, its producing company and its mixture with other oils on its antioxidant activity and its changes over time.

Dr. Zeinab Sarem*
Roaa Alssowa**

(Received 25 / 1 / 2021. Accepted 10 / 5 / 2021)

□ ABSTRACT □

Food organizations recommend an adequate daily intake of unsaturated fatty acids due to their important vital role. Vegetable oils are one of the rich sources in these acids, which have double bonds in their structure, making them vulnerable to oxidation and spoilage when exposed to high temperatures during cooking or storage for a long time. The antioxidant effect of vegetable oils may maintain their nutritional value and stability. The antioxidant effectiveness of oils relates to their chemical composition, quality and quantity of their antioxidant components, in addition to the refining operations carried out on oils before their marketing, which affects their content of these components, resulting in differences in the antioxidant activity between these oils, which in turn leads to their differences on the level of both stability and nutritional value.

This research aims to measure the antioxidant activity of some locally available vegetable oils (soybean oil, corn oil, sunflower oil and olive oil) produced by different companies, using the PFRAP method (potassium ferricyanide reducing power), a color spectrophotometric method based on reducing ferric iron (III) ions to ferrous (II) ions and forming a color complex whose absorbance is measured at a wavelength of 700 nm to determine the type of oil and the most effective antioxidant mixture in the laboratory.

Samples were collected from the local market in Lattakia, Syria and were measured on consecutive time periods with a time difference (2 months). It was found that the antioxidant activity was different among the different types of vegetable oils and among the companies producing the same type. Also, there was a decrease in the antioxidant effectiveness with the passage of time for all the studied vegetable oils, additionally, it was also found that the antioxidant effectiveness of some oils could be increased by mixing them with other types of oils.

Key words: total antioxidant activity, vegetable oils and their mixtures, (PFRAP) method

***Assistant Professor, Analytical and Food Chemistry Department, Faculty of Pharmacy- Tishreen University, Lattakia, Syria.**

****Postgraduate Student, Analytical and Food Chemistry Department, Faculty of Pharmacy- Tishreen University, Lattakia, Syria.**

مقدمة

يزداد عدد المصابين بالاضطرابات المتعلقة بالتغذية كتصلب الشرايين، الأمراض العصبية، السرطان و الداء السكري، وتزداد معدلات الوفيات بها حول العالم سنوياً. تنتج هذه الاضطرابات، تبعاً لتقرير منظمة الصحة العالمية 2018، عن إتباع الأنظمة الغذائية غير الصحية المتمثلة بالمحتويات العالية من الدسم المشبعة و الكربوهيدرات المكررة والمترافقة بنمط الحياة الخامل،والتي تسبب تراكم الجذور الحرة وإجهاد الجسم تأكسدياً.

تنتج الجذور الحرة بنوعيها جذور الأوكسجين والنتروجين الحرة، إما من مصدر داخلي كعملية التنفس الهوائي للكائن الحي في المتقدرات، أو من مصدر خارجي كالتعرض للإشعاعات، المعادن الثقيلة، التدخين والنظام الغذائي غير الصحي. على الرغم من الدور الفيزيولوجي الضروري و الهام الذي تلعبه الجذور الحرة بتراكيزها المنخفضة حيوياً كتنظيم عمل العضلات الملساء، وعمل البالعات، وتنبيه العمليات الكيميائية الحيوية داخل الخلية، إلا أن التراكيز المرتفعة منها تعمل على أكسدة الجزئيات الحيوية كاللبيدات، وتعديل و نترجة البروتينات والحموض النووية (1)، مما يولد أضراراً قد لا يمكن للجسم إصلاحها على الرغم من تمتعه بأنظمة مضادة للأكسدة شديدة التعقيد تعمل بشكل تآزري على منع النشوء غير المضبوط للجذور الحرة وتراكمها. على الرغم من تنوع مضادات الأكسدة داخل الجسم البشري بين أنزيمية مثل(الغلوتاتيون بيروكسيداز، الغلوتاتيون ريدوكتاز، سوبرأكسيد ديسموتاز و كاتالاز) وغير أنزيمية مثل (فيتامين E، فيتامينC، الميلاتونين، الكارتينوئيدات و الفلافونوئيدات) بشكل تآزري وبعضها يجدد خصائصه ضمن ما لكن قد لا تكفي وحدها لإعادة التوازن بين المادة المؤكسدة والمادة المضادة للأكسدة إلى وضعه الطبيعي (2)، فلا بد من الاعتماد على مصادر خارجية لهذه المواد. نظراً لوجود أدلة متضاربة فيما إذا كانت المكملات الغذائية الحاوية على مواد ذات فعالية مضادة للأكسدة ذات تأثير صحي مفيد أو ضار(3)، لذلك لا تستخدم مكملات مضادات الأكسدة لتحل محل نظام غذائي صحي غني بهذه المضادات.

يزداد الاهتمام في الآونة الأخيرة بتناول الأحماض الدسمة سواء وحيدة أو متعددة عدم الإشباع، حيث تنصح المنظمات الغذائية باستبدالها بالأحماض الدسمة المشبعة ضمن النظام الغذائي، نظراً لدورها في خفض كولسترول البروتينات الشحمية منخفضة الكثافة (LDL–c) وزيادة كولسترول البروتينات الشحمية مرتفعة الكثافة (HDL–c)، مما يقلل من عوامل خطر الإصابة بالعديد من الأمراض المتعلقة بالتغذية (4). وجود الروابط المضاعفة في بنية الأحماض الدسمة متعددة عدم الإشباع يجعلها عرضة للأكسدة، ولا سيّما عند تعرضها لدرجات حرارة مرتفعة أثناء عمليات الطهي، مما يسبب تلفها و تزنخها واكتسابها نكهة ورائحة غير مرغوبة، مما يتطلب وجود مواد مرافقة مضادة للأكسدة لحمايتها والحفاظ على فعاليتها وثباتيتها وإطالة فترة تخزينها. تُعتبر الزيوت النباتية التي يتم الحصول عليها أما من البذور الزيتية (بذور دوار الشمس) أو من الثمار (ثمار الزيتون) أو من البقوليات (فول الصويا) من المصادر الغذائية الغنية بالأحماض الدسمة متعددة الإشباع شائعة الاستخدام في مجتمعاتنا.

تحتوي جميع الزيوت النباتية على99.9% من وزنها مواد دسمة من بينها أحماض دسمة وحيدة ومتعددة عدم الإشباع من النمطين (أوميغا3,6)، إضافة إلى مكونات أخرى أثبتت الدراسات السابقة أنها ذات فعالية مضادة للأكسدة كالمركبات الفينولية (5) ، نظائر التوكوفيرولات (α, β, γ, and δ)(6)، الستيرولات والسكوالين (7) وكذلك الكارتينوئيدات والتي تختلف كميتها بين زيت وأخر(8). تخضع الزيوت النباتية أيضاً قبل تسويقها للمستهلكين لعملية التكرير بمراحلها المختلفة (إزالة الصمغ (9)، التعديل والتبييض(10) وإزالة الروائح (11)) كوسيلة لإزالة المكونات

غير المرغوبة، مما يؤدي إلى خسارتها جزءاً من مكوناتها المضادة للأكسدة، مما يترتب عليه اختلاف في الفعالية المضادة للأكسدة والثباتية بين هذه الزيوت.

أهمية البحث وأهدافه

أهمية البحث

إن تمتع الزيوت النباتية بالفعالية المضادة للأكسدة يمنع تعرض مكوناتها ذات القيمة التغذوية كالأحماض الدسمة متعددة الإشباع للتأكسد والتلف ويحافظ على فعاليتها وثباتها عند تعرضها لدرجات حرارة مرتفعة أثناء الطهي أو التخزين لفترة طويلة. يؤدي اختلاف التركيب الكيميائي للزيوت النباتية إلى اختلاف نوعية مكوناتها المضادة للأكسدة وكميتها، إضافة إلى أن عمليات التكرير التي تُجرى على الزيوت قبل تسويقها تؤثر على محتواها من هذه المكونات، مما يترتب عليه اختلاف الفعالية المضادة للأكسدة بين هذه الزيوت، والذي يؤدي بدوره إلى اختلافها على مستوى كل من القيمة التغذوية والثباتية.

أهداف البحث

مقارنة الفعالية المضادة للأكسدة المحددة مخبرياً لمجموعة من الزيوت النباتية المسوقة محلياً وتحديد الزيت ومزيج الزيوت الأكثر قيمة تغذوية وثباتية استناداً إلى فعاليتها المضادة للأكسدة.

طرائق البحث ومواده

- **المواد والتجهيزات المستخدمة**

استخدمت في الدراسة مجموعة من التجهيزات المخبرية المتوفرة في مخابر كلية الصيدلة والمذكورة في الجدول(1) كما استخدمت مجموعة من المواد المذكورة في الجدول (2).

الجدول(1): الأجهزة المستخدمة في الدراسة

الجهاز	الطراز
ميزان ذو حساسية 0.0001 g	RADWAG, AS 220/C/2
مقياس الطيف الضوئي Spectrophotometer	Jasco V-530 UV
حمام مائي Waterbath	K&H Industries
ميكروبيبت Micropipette (100.1000 µl)	Labkit (chemelex ,S.A. Spain)
مثفلة Laboratory centrifuge	Labofuge 200 Heraeus, REMI Laboratory centrifuge R4C

الجدول (2): المواد والمحلات المستخدمة في الدراسة.

المادة	الشركة
ميتانول methanol	Emsure, Germany
فري سيانيد البوتاسيوم potassium ferriccyanide	May &Bak LTD, England
حمض الخل ثلاثي الكلور TCA Tri chloroacetic acid	Riedel-De Hean AG,Germany
كلور الحديد اللامائي Ferric Chloride D Anhydrous	Qualikems,India
كبريتات الحديدي اللامائية Ferrous Sulfate anhydrous	BDH, China
خلات الايتيل ethyl Acetate	BDH,China
ماء مقطر حديثاً	–
فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين	MERCK, Germany
فوسفات البوتاسيوم أحادية الهيدروجين	MERCK, Germany

- **تحضير المحاليل و الكواشف**

تم تحضير المحاليل المستخدمة في تحديد الفعالية الكلية المضادة للأكسدة وفق طريقة القدرة الإرجاعية وفق (PFRAP: potassium ferricyanide reducing power) (12)

✓ **محلول كاشف فري سيانيد البوتاسيوم 1%:**

يُحضر بوزن (0.5 g) من فري سيانيد البوتاسيوم إلى بالون المعايرة سعة (50 ml) وإكمال الحجم بالماء المقطر حتى خط العيار.

✓ **محلول ثلاثي كلور حمض الخل 10%:**

يُحضر بوزن (5g) من حمض الخل ثلاثي الكلور إلى بالون المعايرة سعة (50 ml) وإكمال الحجم بالماء المقطر حتى خط العيار.

✓ **محلول كلور الحديد 0.1%:**

يُحضر بوزن (0.025 g) من كلور الحديد إلى بالون المعايرة سعة (25 ml) وإكمال الحجم بالماء المقطر حتى خط العيار.

✓ **محلول الوقاء الفوسفاتي (pH= 6.6, 0.2M):**

يُحضر بوزن (3.4807 g) من فوسفات ثنائية البوتاسيوم أحادي الهيدروجين ذات الوزن الجزيئي (174.18 g/mol) وبوزن (2.7204 g) من فوسفات أحادية البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين ذات الوزن الجزيئي (136.09g/mol) إلى بالون المعايرة سعة (100 ml) وإكمال الحجم بالماء المقطر حتى خط العيار.

✓ **سلسلة كبريتات الحديدي العيارية:**

تم تحضير محاليل كبريتات الحديدي بتراكيز (25, 50, 100, 150, 200, 300) ميكرومول \50مل ابتداءً من محلول أم بتركيز (1000 µM\50 ml) محضر بوزن (0.1390 g) من كبريتات الحديدي ذات الوزن الجزيئي g/mol(151.90) ووضعها في بالون معايرة سعة (50 ml) وإكمال الحجم بالماء المقطر حتى خط العيار، حيث تم إجراء اختبار القدرة الإرجاعية وقياس الامتصاصية ثلاث مرات لكل محلول ثم حساب المتوسط الحسابي للامتصاصية. ويُعبر عن الفعالية المضادة للأكسدة بالتركيز المولي (mM) لشوارد الحديدي المتشكلة بفعل ليتر زيت نباتي (13).

طرائق البحث ومواده

- جمع العينات

شملت الدراسة وفقاً للإمكانية عدداً من منتجات الزيوت النباتية الأكثر استخداماً و المتوافرة في السوق المحلية، جُمعت في التاسع عشر من شهر حزيران 2019، فكانت في الأشهر الأولى من تاريخ إنتاجها، تنوعت ما بين: زيت الزيتون، زيت الذرة، زيت دوار الشمس و زيت فول الصويا المُنتجة من قبل شركات محلية. كذلك، تم اختبار زيت الزيتون المنزلي المنتج سنة 2018. تم جمع عينتين من زيت الصويا لشركتين محليتين مختلفتين وثلاث عينات زيت دوار الشمس وعينتين من زيت الزيتون من المشروع السابع بمدينة اللاذقية وعينة لزيت الذرة من شارع إنطاكية بمدينة اللاذقية كما في الجدول (3).

الجدول(3): عينات الدراسة

المكان	الزيت	الشركة	تاريخ الإنتاج	تاريخ انتهاء الصلاحية
المشروع السابع – اللاذقية	الصويا	A	18\4\2019	18\10\2020
		B	10\4\2019	10\3\2020
	دوار الشمس	A	26\5\2019	25\11\2020
		B	4\5\2019	4\5\2021
		C	9\5\2019	9\5\2021
	زيت الزيتون	A	2\11\2018	1\5\2020
		B	21\11\2018	21\11\2020
شارع أنطاكية	زيت الذرة	A	18\5\2019	16\5\2021

تم حفظ هذه العينات في درجة حرارة الغرفة ليتم قياس فعاليتها المضادة للأكسدة في المرحلة الأولى في الشهر السابع من عم 2019 ثم على مرحلتين متتاليتين بفارق شهرين بين كل مرحلة وأخرى بدءاً من الشهر (7) عام 2019 استمرت للشهر (11) عام 2019.

- **تحديد الفعالية الكلية المضادة للأكسدة وفق طريقة القدرة الإرجاعية (PFRAP):**

تم مزج (2 ml) من الزيت النباتي مع (2 ml)من الميتانول وتحريك المزيج لنصف ساعة بحرارة الغرفة ثم تثفيله(1600) دورة لمدة (5) دقائق ليتم فصله إلى طبقتين: طبقة ميتانولية محبة للماء (hydrophilic fraction) تحتوي المواد المضادة للأكسدة القابلة للانحلال في الماء وطبقة أخرى تُعتبر طبقة محبة للدسم (lipophilic fraction) تحتوي على المواد المضادة للأكسدة غير القابلة للانحلال في الماء ثم تُطبق مراحل مقايسة (PFRAP) (12) من خلال أخذ (1 ml) من الطبقة الميتانولية و (500 µl) من الطبقة الزيتية مضافاً لها (500µl) خلات الايتيل و وضع كل منها في أنبوب، ليضاف(500 µl) من الكاشف فري سيانيد البوتاسيوم و (500µl) وقاء فوسفاتي لكل أنبوب و يُحضن كل من المزيجين ضمن حمام مائي بدرجة حرارة (50°C) ولمدة (20) دقيقة، ثم يُضاف (500µl) من (TCA) لكل من الأنبوبين. يُؤخذ (500µL) من كل من المزيجين الناتجين و يُضاف لها(500µL) من الماء المقطر و(100µL) من كلور الحديد وتُقاس امتصاصية المعقد الناتج عند طول الموجة (700nm) في المجال المرئي بعد ما يتم تصفير الجهاز على البلانك (الوقاء الفوسفاتي) ويتم حساب الفعالية الكلية المضادة للأكسدة لكل طبقة بعد تعويض الامتصاصية الناتجة في معادلة السلسلة العيارية من كبريتات الحديدي، حيث يتم التعبير عنها بالتركيز المولي لشوارد الحديدي المتشكلة بفعل ليتر زيت نباتي ($mmol_{Fe}{}^{+2}$\L). أُجريت التجارب ثلاث مرات ثم تم التعبير عن النتائج بالمتوسط الحسابي للتركيز ± الانحراف المعياري. وتم تطبيق اختبار (t–student) للتأكد من وجود فرق إحصائية بين العينات وفق برنامج (Excel).

- **دراسة مصدوقية الطريقة التحليلية**

✓ دراسة تكرارية الطريقة ضمن يوم واحد:

قسمت عينة زيت الزيتون المنزلي إلى 6 أقسام متساوية، ثم تم تحديد الفعالية المضادة للأكسدة في كل قسم باستخدام طريقة القدرة الإرجاعية(PFRAP)ومن ثم حساب المتوسط الحسابي ($\bar{X}$) لتراكيز الأقسام الستة والانحراف المعياري (SD:Standard Deviation) والانحراف المعياري النسبي (SD: Relative Standard Deviation) أي معامل التباين (CV: Coefficient of Variation).

✓ دراسة تكرارية الطريقة التحليلية خلال عدة أيام:

قسمت عينة زيت الزيتون المنزلي إلى 6 أقسام متساوية،ثم تم تحديد الفعالية المضادة للأكسدة خلال ستة أيام متتالية باستخدام الطريقة المذكورة سابقاً، بعد ذلك، تم حساب ($\bar{\bar{X}}$) لتراكيز الأقسام الستة والانحراف المعياري (SD) والانحراف المعياري النسبي (CV) للتراكيز المقاسة.

✓ تحديد حدي الكشف الكيفي والكمي:

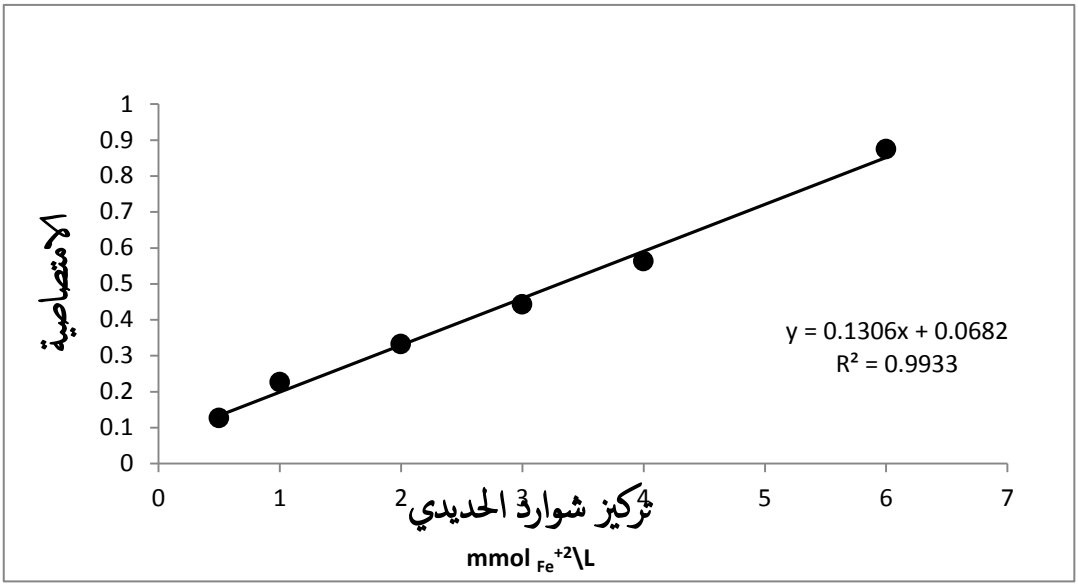
يتم تحديد حد الكشف الكيفي (LOD: Limit Of Detection) وفق القانون (LOD= 3.3 σ/S)، بينما يتم تحديد حد الكشف الكمي (LOQ: Limit Of Quantification) وفق القانون (LOQ=10σ/S)، حيثσ: الانحراف المعياري لاستجابة محلول البلانك &S: ميل الخط البياني المستقيم لسلسلة كبريتات الحديدي العيارية.

النتائج والمناقشة

1-1 دراسة مصدوقية الطريقة التحليلية

- **تحضير سلسلة عيارية من كبريتات الحديدي:**

تم التعبير عن الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت النباتية أثناء دراسة مصدوقية الطريقة التحليلية استناداً إلى المعادلة الخطية للسلسلة العيارية من كبريتات الحديدي ذات التراكيز (25,50,100,150, 200,300) (ميكرومول \50مل) والموافقة لتراكيز (0.5, 1, 2, 3, 4, 6) ميلي مول \مل والموضحة بالمخطط (1) حيث كانت المعادلة الخطية (y=0.130 x+0.068) وكانت قيمة معامل التحديد (R^2= 0.993) .



المخطط (1): السلسلة العيارية من كبريتات الحديدي المستخدمة للتعبير عن الفعالية المضادة للأكسدة.

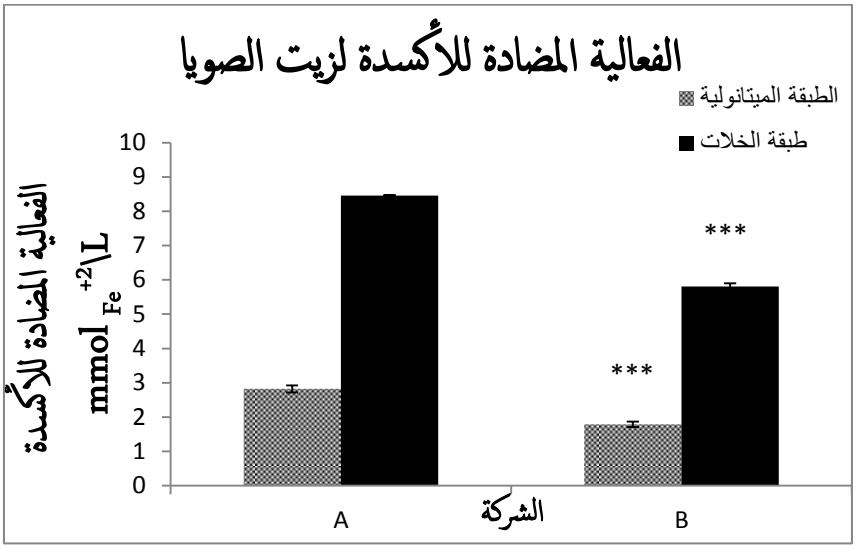
تمت دراسة التكرارية ضمن يوم واحد حيث تم تقسيم عينة زيت الزيتون المنزلي إلى ستة أقسام متساوية وتحديد الفعالية المضادة للأكسدة لكل قسم باستخدام طريقة (PFRAP). بلغ المتوسط الحسابي للفعالية المضادة للأكسدة للطبقة الميتانولية في الأقسام الستة المدروسة (2.1279±0.1076)$mmol_{Fe}^{+2}$\L ومعامل تباينها (4.90%) وهو أصغر من (10%) والمتوسط الحسابي للفعالية المضادة للأكسدة لطبقة الخلات (3.9174±0.1853)$mmol_{Fe}^{+2}$\L ومعامل تباينها (4.73%) وهو أيضاً أقل من (10%)، مما يدل على الدقة الجيدة للطريقة ضمن اليوم الواحد في كلا الطبقتين. بالطريقة ذاتها تمت دراسة تكرارية الطريقة التحليلية بين عدة أيام من خلال تقسيم عينة زيت الزيتون المنزلي إلى عدة أقسام متساوية وتحديد الفعالية لكل قسم كعينة مستقلة وذلك على مدى (6) أيام باستخدام طريقة (PFRAP) وتم الحصول على النتائج . بلغت قيمة المتوسط الحسابي للفعالية المضادة للأكسدة لهذه الأقسام (2.2923± 0.0747)$mmol_{Fe}^{+2}$\Lو معامل التباين (3.26%) للطبقة الميتانولية وهو أصغر من (10%)، أما بالنسبة لطبقة الخلات فكان المتوسط الحسابي للفعالية المضادة للأكسدة للأقسام الستة المدروسة (3.7681±0.1446)$mmol_{Fe}^{+2}$\L ومعامل التباين لها(3.48%) وبما أنه أقل من (10%) إذاً توجد دقة جيدة بين الأيام للطريقة التحليلية المتبعة.

تمت دراسة كل من حدي الكشف الكيفي والكمي للطريقة التحليلية وكانت النتائج على الترتيب (0.0442) و (0.1338) $mmol_{Fe}^{+2}$\L حيث كان (σ) الانحراف المعياري لامتصاصية البلانك (0.00174) وكان (S) وهي ميل المستقيم للسلسلة العيارية (0.130).

2-1 تحديد الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت النباتية المدروسة:

1-2-1 تأثير الشركة على الفعالية المضادة للأكسدة للزيت النباتي:

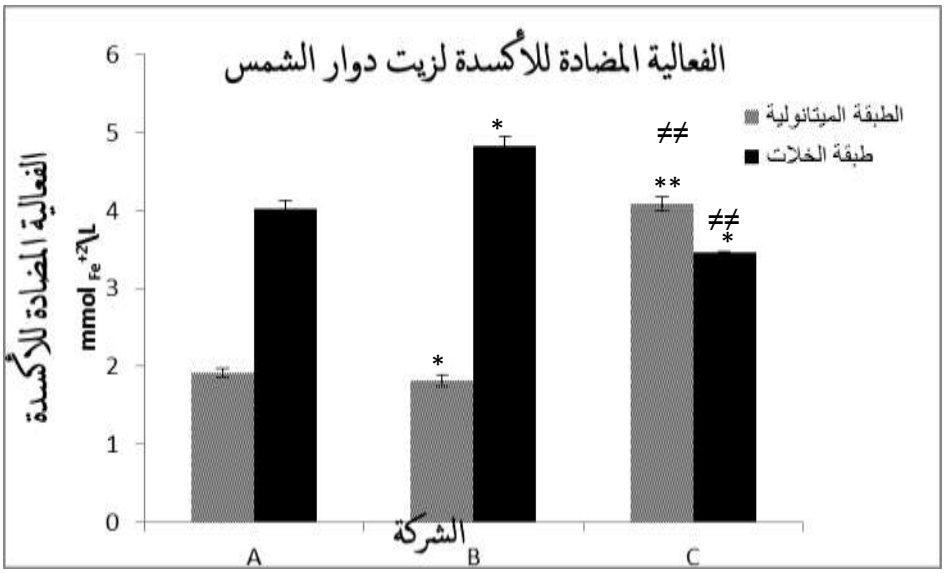
عند قياس الفعالية المضادة للأكسدة لزيت الصويا المنتج من قبل شركتين مختلفتين (A,B)، تفوقت الشركة A بفعاليتها المضادة للأكسدة (2.82±0.1037)و (8.46± 0.0162)$mmol_{Fe}^{+2}$\Lكل من الطبقة الميتانولية و طبقة الخلات على التوالي على الفعالية المضادة للأكسدة لزيت الصويا المُنتج من الشركة B(1.79± 0.083)و (5.81± 0.090) $mmol_{Fe}^{+2}$\L لكل من الطبقة الميتانولية و طبقة الخلات على الترتيب، حيث كانت هذه الفروق هامة إحصائياً ($p<0.001$) لكل من الطبقتين المدروستين، كما في الشكل (1).



الشكل(1): الفعالية المضادة للأكسدة لكل من الطبقة الميتانولية وطبقة الخلات لزيت الصويا المُنتج من قبل الشركتين A و B

***: فرق هام إحصائياً ($p<0.001$) بين كل طبقة ومثيلتها من الشركتين A و B**

أما بالنسبة لزيت دوار الشمس، وُجدت فروق إحصائية هامة في الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت المُنتجة من قبل الشركات المدروسة، حيث تفوقت الشركة Cبفعالية طبقتها الميتانولية (4.09± 0.093) $mmol_{Fe}^{+2}$\L على فعالية الطبقة الميتانولية للزيت المنتج من قبل الشركة (A) وقيمتها (1.92± 0.578) والشركة (B) وقيمتها (1.82± 0.07) وبفارق هام إحصائياً ($p<0.01$) لكل منهما. أما بالنسبة لطبقة الخلات فقد كانت الفعالية الأعلى للشركة (B) وقدرت ب (4.83± 0.128) $mmol_{Fe}^{+2}$\L بفرق إحصائي هام ($p<0.01$) عن الشركة C التي حققت فعالية (3.47± 0.009) $mmol_{Fe}^{+2}$\L وبفرق إحصائي هام ($p<0.05$) مقارنة مع الشركة A التي حققت فعالية (4.02± 0.115) mmolFe+2\L، كما يظهرها الشكل (2).

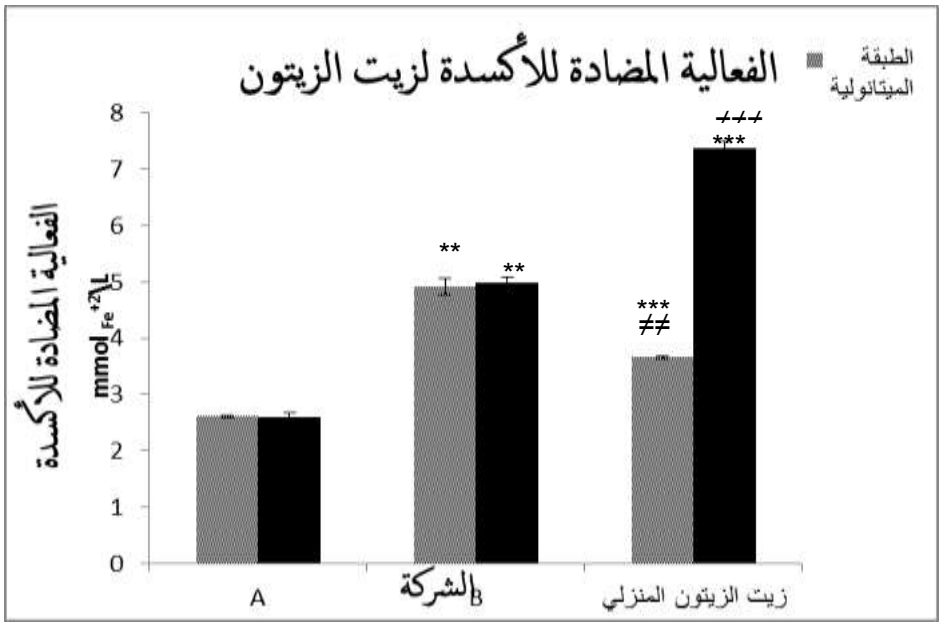


الشكل(2):الفعالية المضادة للأكسدة للطبقتين الميتانولية وطبقة الخلات لزيت دوار الشمس المُنتج من قبل الشركات A، B وC.

****، *: فرق هام إحصائياً ($p<0.01$)، ($p<0.05$) على الترتيب بين كل طبقة من الشركتين C و Bومثيلتها من الشركة A**

≠≠فرق هام إحصائياً ($p<0.01$) بين كل طبقة ومثيلتها من الشركتينC و B

كذلك تم اختبار الفعالية المضادة للأكسدة لزيت الزيتون المنتج من الشركتين A و B والمنتج منزلياً، حيث حققت الشركة B فعالية مضادة للأكسدة أعلى للطبقة الميتانولية (4.92± 0.142) $mmol_{Fe}^{+2}$\L، مقارنة مع الطبقتين الميتانولية لزيت الزيتون المنزلي (3.66± 0.031) $mmol_{Fe}^{+2}$\Lوالشركة A (2.61± 0.0173) $mmol_{Fe}^{+2}$\L بفرق إحصائي هام ($p<0.01$) لكل منهما. أما بالنسبة لفعالية طبقة الخلات المضادة للأكسدة فقد كانت الفعالية الأعلى لزيت الزيتون المنزلي حيث حقق (7.37± 0.122)$mmol_{Fe}^{+2}$\L بفروق إحصائية هامة ($p<0.001$) مقارنة مع الفعالية المضادة للأكسدة للشركتين (A) و(B) ذات القيم(2.60± 0.076) و (4.99± 0.092)$mmol_{Fe}^{+2}$\Lعلى الترتيب (الشكل (3)).



الشكل(3):الفعالية المضادة للأكسدة للطبقتين الميتانولية وطبقة الخلات لزيت الزيتون المُنتج منزلياً ومن قبل الشركتين A، B
****، ***: فرق هام إحصائياً (p<0.01)، (p<0.001) على الترتيب بين كل طبقة من الشركةBو المنتج منزلياًومثيلتها من الشركة A**
≠≠، ≠≠≠فرق هام إحصائياً (p<0.01)، (p<0.001)على الترتيب بين كل طبقة ومثيلتها من الشركة B و المنتج منزلياً

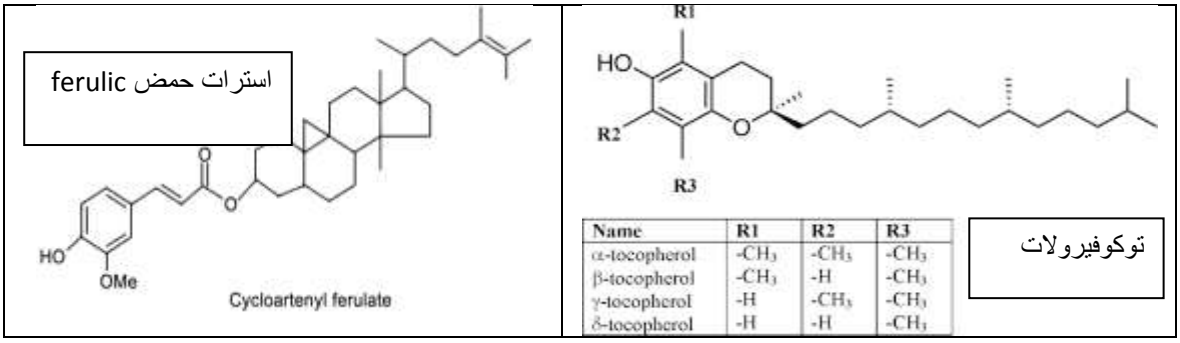
يمكن تفسير التباين في الفعالية المضادة للأكسدة بين الشركات باختلاف نمط المعالجة (درجة الحرارة – الاستخلاص بالمحل) وتكرار عملية التكرير التي تتبعها كل شركة أثناء تصنيع منتجها الزيتي، بالإضافة إلى قيام بعض الشركات بإضافة مضادات أكسدة صناعية لمنتجاتها لتأمين حماية إضافية لها مما يزيد من فعاليتها المضادة للأكسدة، كذلك قد يختلف نمط تعبئة الزيوت بين شركة وأخرى، حيث يفضل التعبئة بزجاج عاتم، بينما تقوم بعض الشركات بتعبئة منتجاتها ضمن عبوات بلاستيكية، مما يعرضها لتناقص فعاليتها المضادة للأكسدة أثناء النقل والتخزين. ارتفاع الفعالية المضادة للأكسدة لزيت الزيتون المنزلي قد يُفسر بكونه يُحضر بالضغط على البارد دون أي معالجة، حرارة ، محلات ودون أي من عمليات التكرير مما يحافظ على مكوناته المضادة للأكسدة.

1-2-2 تأثير نوع الزيت على الفعالية المضادة للأكسدة:

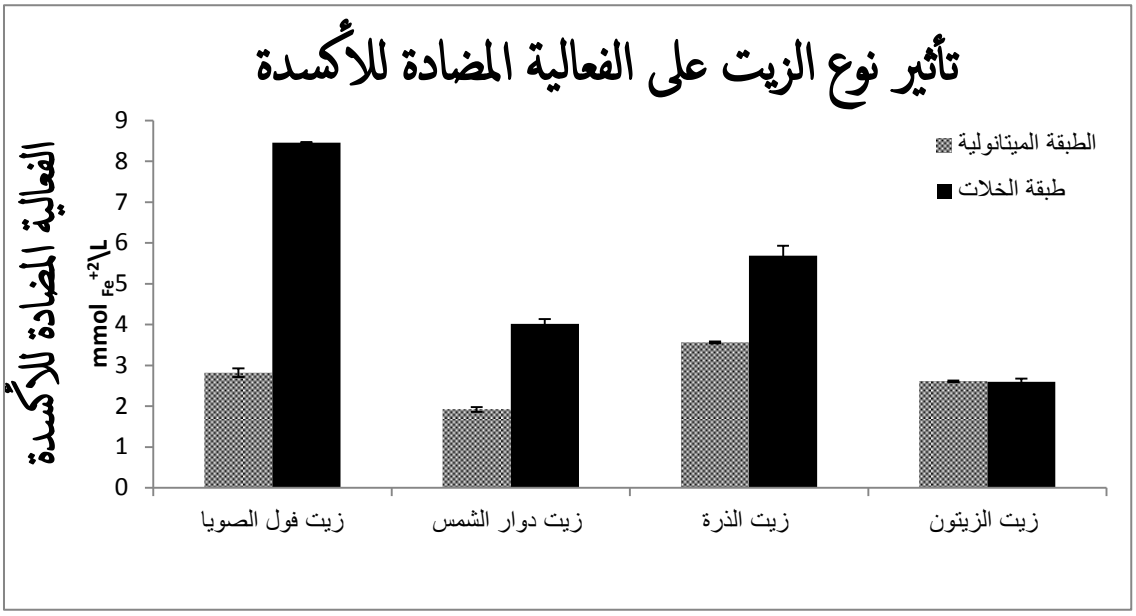
تم اختبار الفعالية المضادة للأكسدة للخلاصة الميتانولية لزيوت الذرة، دوار الشمس، الزيتون وفول الصويا وفق طريقة (PFRAP)، وكانت الفعالية الأعلى المضادة للأكسدة للطبقة الميتانولية لزيت الذرة (0.025 ±3.56) $mmol_{Fe}^{+2}$\L مقارنة مع الطبقة الميتانولية لزيت الزيتون (0.017 ±2.61)$mmol_{Fe}^{+2}$\L بفرق هام إحصائياً عند (p<0.001) وعند(p<0.01) مقارنة مع الطبقة الميتانولية لكل من زيت الصويا(0.104 ± 2.82) $mmol_{Fe}^{+2}$\L و زيت دوار الشمس (0.058 ±1.92)$mmol_{Fe}^{+2}$\L (الشكل (4))، ويمكن تفسير ذلك باحتواء زيت الذرة على نسبة عالية من الأحماض الفينولية وخاصة حمض ال(ferulic) و استراته التي تعرف باسم (oryzanols) كما في الجدول (4) ذات القدرة المضادة للأكسدة العالية نتيجة قدرتها على تثبيط إنتاج جذور الهيدروكسيل وزيادة التعبير الجيني للإنزيمات المضادة للأكسدة مثل كاتالاز والقابلة للاستخلاص ضمن الطبقة الميتانولية(14) أو قد تكون ناتجة عن إضافة مضاد الأكسدة الصنعي (BHT: butyl hydroxy toluene) ذي

الانحلالية الجيدة بالميتانول والذي صُرح عن وجوده على بطاقة البيان الغذائية المُلصقة على المنتج. تطابقت هذه النتائج مع نتائج إحدى الدراسات التي أُجريت على الزيوت النباتية المتوفرة في السوق التركية بتفوق زيت الذرة بخلاصته الميتانولية (15)، أما بالنسبة للفعالية المضادة للأكسدة لطبقة الخلات فكانت الأعلى لزيت الصويا (±8.46 0.016) $mmol_{Fe}^{+2}$\L وبفروق إحصائية هامة ($p<0.01$) مقارنة مع فعالية طبقة الخلات من زيت الذرة (±5.69 0.243) $mmol_{Fe}^{+2}$\L و($p<0.001$) من زيت دوار الشمس (0.115 ±4.02) $mmol_{Fe}^{+2}$\L ومن زيت الزيتون (0.076 ±2.60) $mmol_{Fe}^{+2}$\L وتوافق ذلك مع إحدى الدراسات حيث طبقت طريقة (ABTS: 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic)) لمقايسة الفعالية المضادة للأكسدة لذات الزيوت حيث تم تحضير خلاصات ب (ن.هكسان) وكان زيت الصويا هو الأعلى مقارنة مع البقية وتم تفسير ذلك لمحتواه العالي من التوكوفيرولات(16) كما في الجدول (4).

الجدول(4): الصيغ الكيميائية للتوكوفيرولات واسترات حمض (ferulic)



يمكن تفسير هذا التباين في الفعالية المضادة للأكسدة بين الزيوت لتباين واختلاف تركيبها الكيميائي و محتواها من المركبات المضادة للأكسدة، حيث يظهر الجدول (5) غنى زيت الصويا بمضادات الأكسدة غير القطبية غير القابلة للاستخلاص بالميتانول والتي تتواجد في طبقة الخلات كالستيرولات التي أكدت إحدى الدراسات أن لها فعالية مضادة للأكسدة محتملة (7)، و التوكوفيرولات (γ) التي تمتلك خصائص مضادة للأكسدة، فهي قادرة على التفاعل بسرعة أكبر من الحموض الدسمة متعددة عدم الإشباع مع جذور البيروكسيل مما يؤدي إلى كسر سلسلة تفاعل بيروكسيد اللبيدات (6). يحتوي زيت الصويا على 7.3 غ/ 100 غ من وزنه أحماض دسمة متعددة عدم الإشباع من النمط أوميغا-3 مقارنةً ب(0.96-0.7- 0.1 غ لكل 100 غ) من زيوت الذرة – الزيتون ودوار الشمس على التوالي والتي أُثبت أن لها تأثير كانس للجذور الحرة لسوبراوكسيد وبيروكسي نتريت مخبرياً بشكل معتمد على الجرعة وكذلك تجاه جذور الهيدروكسيل في خلايا (llc-pk1) خلايا ظهارية كلوية للخنازير، كما تم إثبات أن للزيت الغني بها القدرة الكانسة الأعلى لمحلول (DPPH´:2,2-di (4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl) في الدراسة نفسها، أو حيوياً بإحدى التجارب على خلايا شوان(Schwann cells mouse) من نمط (IMS32) لدى الفئران المصابة باعتلال عصبي محيطي سكري، حيث تم حضن هذه الخلايا مع (DHA, EPA) وُوجد أن مستويات (mRNA) للأنزيمات المضادة للأكسدة (HO-1: hemeoxygenase-1) و (Nqo1: NAD(P)H quinine oxidoreductase1) قد زادت، إضافة إلى زيادة مستويات بروتين (HO-1) ونشاط (CAT) ونشاط (Nrf2 promoter luciferase) ذات الفعالية المضادة للأكسدة (17).



الشكل(4):الفعالية المضادة للأكسدة المقاسة في الطبقتين الميتانولية وطبقة الخلات لكل من زيت الذرة، دوار الشمس، الزيتون وفول الصويا

الجدول(5): محتوى الزيوت النباتية من نظائر التوكوفيرولات والستيرولات

Tocopherols (ppm) in crude sunflower, soybean and corn oil

Oil	α	β	γ	δ
Sunflower	608	17	11	–
Soybean	116	34	737	275
Corn (maize)	134	18	412	39

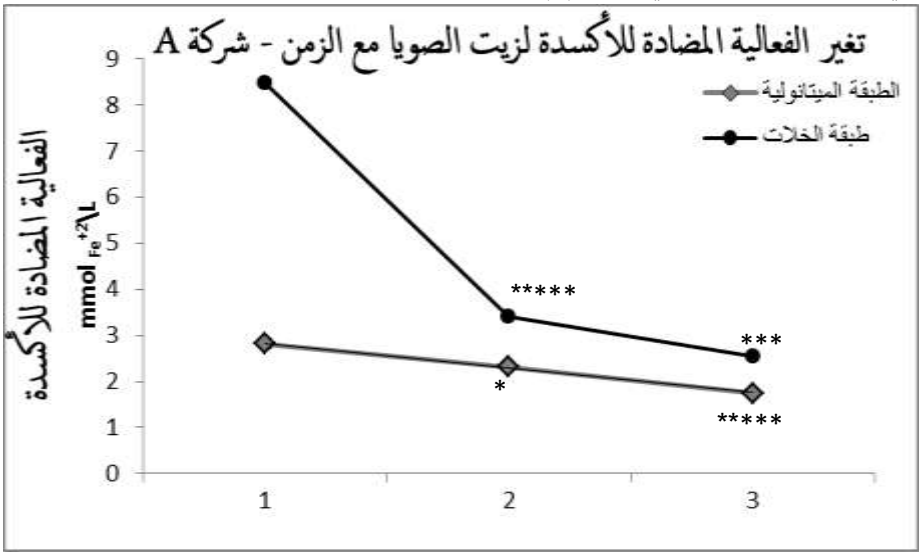
Typical distribution (%) of sterols and sterol esters in crude sunflower, soybean and corn oil

Oil	Sterols	Sterol esters
Sunflower	72	28
Soybean	97	3
Corn (maize)	35	65

1-2-3 تأثير الزمن على الفعالية المضادة للأكسدة للزيت النباتي:

تعد الزيوت وسطاً دسماً غنياً بالروابط المضاعفة مما يعرضها للأكسدة و التزنخ مع الزمن، مما يسبب استهلاك مكوناتها المضادة للأكسدة وتناقص في فعاليتها المضادة للأكسدة في سبيل الحفاظ على بنية الزيت واستقراره، وهذا ما لُوحظ عند قياس الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت المدروسة على فترات زمنية متعاقبة تمثلت بالمرحلة الأولى (جمع العينات) والمرحلة الثانية بفارق زمني (2 شهر) عن المرحلة الأولى والمرحلة الثالثة بفارق زمني (2 شهر) عن المرحلة الثانية، حيث تناقصت الفعالية المضادة للأكسدة للطبقتين الميتانولية وطبقة الخلات لزيت الصويا من الشركة A

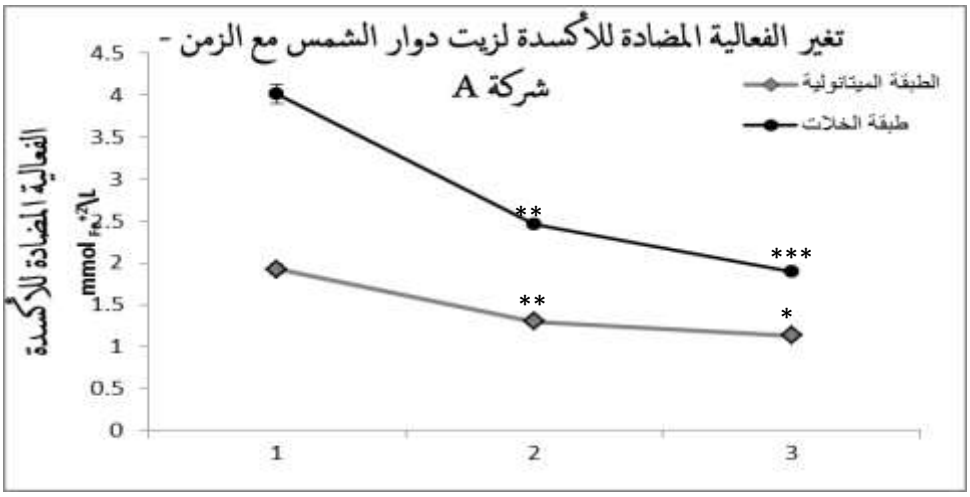
(2.32± 0.021)و (3.4± 0.012)$mmol_{Fe}^{+2}\backslash L$ بفارق إحصائي هام ($p<0.05$) و($p<0.001$) على الترتيب في المرحلة الثانية مقارنة بالمرحلة الأولى(2.82± 0.1037)و (8.46± 0.0162)$mmol_{Fe}^{+2}\backslash L$، وكذلك تناقصت الفعالية المضادة للأكسدة للطبقتين الميتانولية وطبقة الخلات لزيت الصويا من الشركة نفسها في المرحلة الثالثة (1.74± 0.014)و (2.53± 0.032)$mmol_{Fe}^{+2}\backslash L$على التوالي بفرق إحصائي هام عند ($p<0.001$) مقارنة بقيمها في المرحلة الثانية، كما في الشكل(5).



الشكل(5): تغير الفعالية المضادة للأكسدة لزيت الصويا المُنتج من الشركة A مع الزمن. 1: المرحلة الأولى عند جمع العينات، 2: المرحلة الثانية بعد شهرين من جمع العينات، 3: المرحلة الثالثة بعد 4 شهور من جمع العينات.

،: فرق هام إحصائياً ($p<0.05$)، ($p<0.001$) على الترتيب بين قيم كل مرحلة وقيم سابقتها.**

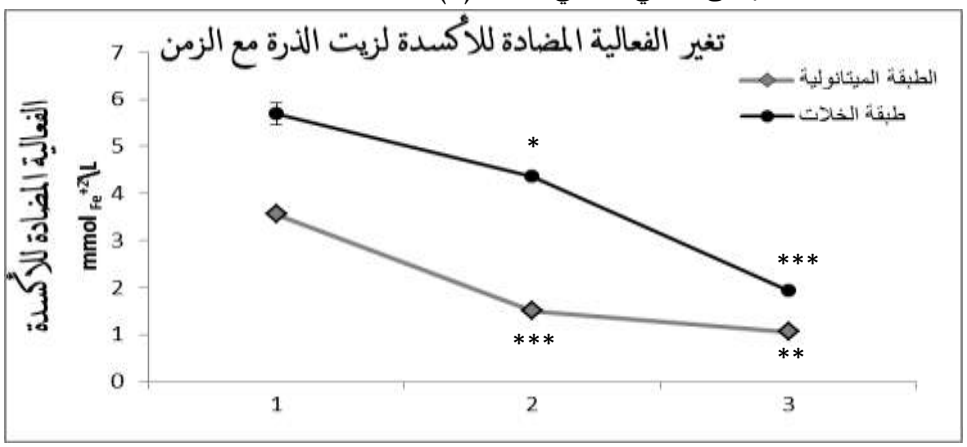
كذلك تناقصت الفعالية المضادة للأكسدة لزيت دوار الشمس المُنتج من الشركة A مع الزمن، حيث وجدت فروق إحصائية هامة ($p<0.05$) و ($p<0.001$) بالنسبة لفعالية الطبقة الميتانولية وطبقة الخلات في المرحلة الثالثة (1.13± 0.041)و (1.9± 0.073)$mmol_{Fe}^{+2}\backslash L$ مقارنة بقيمه في المرحلة الثانية (1.3± 0.006)و (2.46± 0.031)$mmol_{Fe}^{+2}\backslash L$ على التوالي، والتي كانت أيضاً أقل بفارق إحصائي هام ($p<0.01$) من قيمها في المرحلة الأولى (1.92± 0.578) و (4.02± 0.115$mmol_{Fe}^{+2}\backslash L$) كما في الشكل (6).



الشكل(6): تغير الفعالية المضادة للأكسدة لزيت دوار الشمس المُنتج من الشركة A مع الزمن. 1: المرحلة الأولى عند جمع العينات، 2: المرحلة الثانية بعد شهرين من جمع العينات، 3: المرحلة الثالثة بعد 4 شهور من جمع العينات.

،**،: فرق هام إحصائياً ($p<0.05$)($p<0.01$)، ($p<0.001$) على الترتيب بين قيم كل مرحلة وقيم سابقتها.**

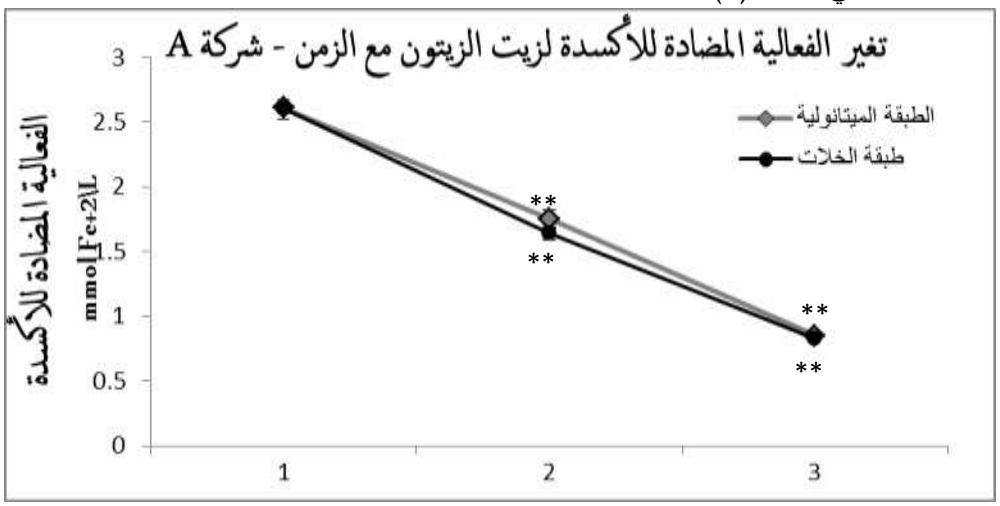
أما بالنسبة لزيت الذرة، فكانت الفعالية المضادة للأكسدة للطبقة الميتانولية وطبقة الخلات في المرحلة الثالثة (1.06± 0.03) و (1.93± 0. 016$mmol_{Fe}^{+2}$\L)أقل بفارق إحصائي هام ($p<0.05$) و ($p<0.001$) على الترتيب من قيمها في المرحلة الثانية (1. 5± 0.009) و (4.35± 0. 033)$mmol_{Fe}^{+2}$\Lوالتي انخفضت أيضاً بفارق هام إحصائياً ($p<0. 01$) عن القيم التي تم الحصول عليها في المرحلة الأولى لكلا الطبقتين (3.56± 0.025) و (5.69± 0. 243$mmol_{Fe}^{+2}$\L)على التوالي كما في الشكل (7)



الشكل(7): تغير الفعالية المضادة للأكسدة لزيت الذرة المُنتج من الشركة A مع الزمن. 1: المرحلة الأولى عند جمع العينات، 2: المرحلة الثانية بعد شهرين من جمع العينات، 3: المرحلة الثالثة بعد 4 شهور من جمع العينات.*،،***: فرق هام إحصائياً ($p<0.05$)($p<0.01$)، ($p<0.001$) على الترتيب بين قيم كل مرحلة وقيم سابقتها.**

كذلك كان هناك تناقص بالفعالية المضادة للأكسدة بالنسبة لزيت الزيتون المُنتج من قبل الشركة A عند قياسها في الطبقتين الميتانولية وطبقة الخلات بفرق إحصائي هام ($p<0.01$) في المرحلة الثالثة (0.01 ±0.85) و (±0.83) 0. 016$mmol_{Fe}^{+2}$\L مقارنة بقيم المرحلة الثانية (0.065 ±1.75) و (1.64± 0. 047$mmol_{Fe}^{+2}$\L) التي كانت

أيضاً أقل بفرق إحصائي هام ($p<0.01$) من القيم المسجلة في المرحلة الأولى (0.017 ±2.61) و (0. ±2.6) $mmol_{Fe}^{+2}$\L076كما في الشكل (8).



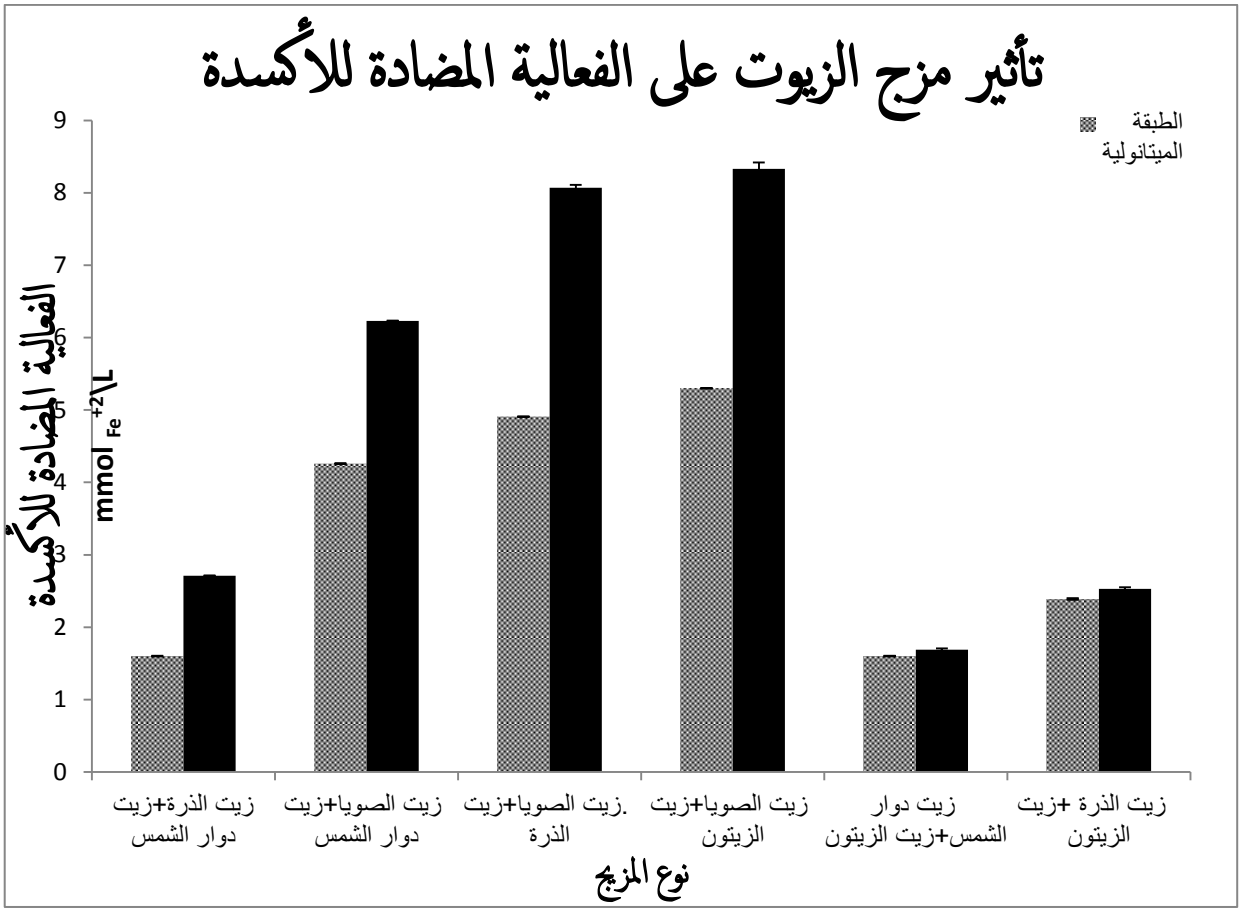
الشكل(8): تغير الفعالية المضادة للأكسدة لزيت الزيتون المُنتج من الشركة A مع الزمن. 1: المرحلة الأولى عند جمع العينات، 2: المرحلة الثانية بعد شهرين من جمع العينات، 3: المرحلة الثالثة بعد 4 شهور من جمع العينات.

****فرق هام إحصائياً ($p<0.01$) بين قيم كل مرحلة وقيم سابقتها.**

يمكن تفسير هذا التناقص في الفعالية المضادة للأكسدة مع الزمن عند جميع الزيوت المدروسة كنتيجة استهلاك مضادات الأكسدة، تعرض الزيت للضوء أثناء التخزين أو النقل أو أماكن عرضها للبيع، حيث يفضل تعبئة الزيت بزجاج عاتم مقاوم للضوء والهواء وإضافة مضادات الأكسدة الصنعية بكمية كافية لحماية مضادات الأكسدة الطبيعية للأكسدة الموجودة في الزيت والتي لها قيمة تغذوية (18).

1-2-5 تأثير المزائج وتحديد المزيج ذي الفعالية الأكبر:

أكدت إحدى الدراسات أن مزج الزيوت يُعتبر أبسط إجراء اقتصادي وفيزيائي لتغيير تركيبة الحموض الدسمة و وزيادة المكونات الفعالة حيوياً ومضادات الأكسدة الطبيعية ، إذ يتفوق كل نوع من الزيوت بمكون ما على غيره فمثلا يعد زيت الزيتون غنياً ب (Mufa) وقليل المحتوى من حموض الأوميغا في حين زيت دوار الشمس يتم وصفه ب زيت الأوميغا لغناه بها ولاسيما أوميغا-6، وهذا ما أوجدته هذه الدراسة فمزيج زيتي الصويا والزيتون حقق الفعالية المضادة للأكسدة الأعلى للطبقتين الميتانولية (0.002 ±5.299)$mmol_{Fe}^{+2}$\L وطبقة الخلات (0.089 ±8.33)$mmol_{Fe}^{+2}$\L بنسبة قدرها يليه مزيج (الصويا والذرة) الذي حقق فعالية ((0.004 ±4.91) & (8.066±0.039))$mmol_{Fe}^{+2}$\L للطبقة الميتانولية وطبقة الخلات على التوالي، متبوعاً بمزيج (الصويا ودوار الشمس) الذي حقق فعالية ((4.26±0.0031) & (0.006 ±6.228))$mmol_{Fe}^{+2}$\L للطبقة الميتانولية وطبقة الخلات على التوالي، كما في الشكل (9).



الشكل(9):الفعالية المضادة للأكسدة المقاسة في الطبقتين الميتانولية وطبقة الخلات للمزائج المشكلة من زيت الذرة، دوار الشمس، الزيتون وفول الصويا.

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات:

- اختلفت الفعالية المضادة للأكسدة للزيت الواحد تبعاً للشركة المنتجة له مما يدل على إتباع الشركات لبروتوكولات تصنيعية وتخزينية تتضمن مراحل وشروط تكرير مختلفة وإضافة كميات و/أو أنواع مختلفة من مضادات الأكسدة الصنعية، فعلى سبيل المثال أبدى زيت الزيتون المنزلي المحضر بالضغط على البارد فعالية أفضل من زيت الزيتون المنتج من شركات محلية.
- اختلفت الفعالية المضادة للأكسدة بين الزيوت المختلفة تبعاً لتركيبها الكيميائي ونوعية وكمية المواد المضادة للأكسدة التي تتواجد فيها، حيث حقق زيت الصويا الفعالية المضادة للأكسدة الأعلى يليه زيت الذرة.
- تقل الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت المدروسة مع الزمن وكان النقص واضحاً خلال فترة الدراسة البالغة 4 أشهر، مما يدل على استهلاك مكوناتها المضادة للأكسدة خلال فترات التخزين.
- يمكن زيادة الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت المراد استخدامها من خلال مزجها مع زيوت أخرى، فإضافة زيت الصويا إلى الزيوت الأخرى زاد من فعاليتها المضادة للأكسدة.

التوصيات:

- تأكيد نتائج قياس الفعالية المضادة للأكسدة مخبرياً باستخدام طرائق أخرى (DPPH,ABTS ...)
- تحديد الفعالية المضادة للأكسدة المثلى للزيوت النباتية والتي تضمن حفاظها على قيمتها التغذوية وثباتيتها خلال فترة التخزين.
- البحث عن بروتوكول تصنيعي للزيوت النباتية يحقق الفعالية المضادة للأكسدة المثلى لهذه الزيوت من خلال تحديد مراحل التكرير وشروط كل مرحلة وكمية ونوعية مضادات الأكسدة الصنعية اللازمة لذلك.
- لفت النظر إلى فاعلية زيت الصويا المضادة للأكسدة العالية واستبداله بالزيوت الأخرى الأقل فاعلية أو مزجه معها لزيادة فاعليتها المضادة للأكسدة.
- دراسة ثباتية مزائج زيت فول الصويا مع الزيوت الأخرى مع الزمن وخصائصها الحسية وتأثير هذا المزج على نكهة الزيت وطعمه.
- دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت النباتية و مزائجها حيوياً (*In Vivo*) وتأثيرها على التعبير الجيني ونشاط الأنزيمات المضادة للأكسدة ضمن العضوية الحية.
- توسيع نطاق الدراسة لتشمل عدد أكبر من الزيوت النباتية وعدداً أكبر من الشركات المُنتجة.

Reference

1. Halliwell B. Antioxidant defenses. Free radicals in biology and in medicine. 1999.
2. Sies H. Role of reactive oxygen species in biological processes. Klinische Wochenschrift. 1991;69(21-23):965-8.
3. Miller ER, Pastor-Barriuso R, Dalal D, Riemersma RA ،Appel LJ, Guallar E. Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. Annals of internal medicine. 2005;142(1):37-46.
4. Lunn J, Theobald H. The health effects of dietary unsaturated fatty acids. Nutrition Bulletin. 2006;31(3):178-224.
5. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free radical biology and medicine. 1996;20(7):933-56.
6. Singh U, Devaraj S, Jialal I. Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. Annu Rev Nutr. 2005;25:151-74.
7. Awad AB, Fink CS. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. The Journal of nutrition. 2000;130(9):2127-30.
8. Council NR. Recommended dietary allowances: National Academies Press; 1989.
9. List G, King J, Johnson J, Warner K, MountsT. Supercritical CO 2 degumming and physical refining of soybean oil. Journal of the American Oil Chemists' Society. 1993;70(5):473-6.
10.Woerfel J, Erickson D. Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization. Champaign, IL: AOCS Press-1995-P. 1995:65-92.
11.Pryde EH. Composition of soybean oil, in Handbook of Soy Oil Processing and Utilization. AOCS Press, Champaign,IL, pp 13–31. 1980;78(9):973-9.
12. Gülçin, İ. (2006). Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology, 217*(2-3), 213-220.
13. Aldiab,D; Alssad,N. *Determination levels of phenolic compounds and their antioxidant activity in some juices.*Tishreen university Journal for Studies and Scientific Resaerch- Health Sciences VOL (37)NO(1) .ISSN: 2079-309X. 2016;37(1).

14. Xu Z, Hua N, Godber JS. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and γ-oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2, 2 ‘-azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride. Journal of agricultural and food chemistry. 2001;49(4):2077-81.er Research. 1979;39(8):2971-7.
15. Güzel S, Herken EN, Ozcan E. Total antioxidant capacity and total phenol contents of Turkish edible oils. Akademik Gıda. 2009;7(6):13-7.
16. Rovellini, P., Azzolini, M., & Cortesi, N. (1997). Tocoferoli e tocotrienoli in oli e grassi vegetali mediante HPLC. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, *74*(1), 1-5.
17. Vinik, A. I. (2004). Advances in diabetes for the millennium: new treatments for diabetic neuropathies. *Medscape General Medicine*, *6*(3 Suppl.
18. Benson AM, Cha Y-N, Bueding E, Heine HS, Talalay P. Elevation of extrahepatic glutathione S-transferase and epoxide hydratase activities by 2 (3)-tert-butyl-4-hydroxyanisole. Canc(1979).