

بررسی اثر متیل‌گالات بر سینتیک اکسایش روغن ماهی کیلکای تخلیص شده با استفاده از تحلیل حساسیت مدل شبکه عصبی مصنوعی

مریم اثنی عشری^{۱*}، رضا فرهوش^۲ و علی شریف^۲

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۲ تاریخ پذیرش: ۹۳/۲/۲۰

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد

^۲ استاد و استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد

*مسول مکاتبه: Email: ma.asnaashari@stu.um.ac.ir

چکیده

سینتیک اکسایش روغن ماهی کیلکا تخلیص شده در حضور غلظتهای مختلف متیل‌گالات (صفر، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام) و در دماهای ۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد با محاسبه پارامترهای سینتیکی از قبیل اثربخشی آنتی‌اکسیدان (F)، نسبت سرعت اکسایش (ORR) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (A) مورد مطالعه قرار گرفت. برای پیشگویی این پارامترها از شبکه عصبی مصنوعی پرسپترون چند لایه با دو ورودی (دما و غلظت) و سه خروجی (F، ORR و A) استفاده شد که مدل بهینه با ۷ نورون در لایه پنهان بیشترین تطابق را با داده‌های آزمایشی داشت. همچنین نتایج حاصل از تحلیل حساسیت مدل بهینه حاکی از حساسیت زیاد پارامترهای سینتیکی به ویژه فعالیت آنتی‌اکسیدانی به پارامتر غلظت به سبب فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای متیل‌گالات و عدم شرکت در واکنش‌های جانبی در فاز انتشار بود.

واژگان کلیدی: اکسایش لیپیدی، آنالیز سینتیکی، تحلیل حساسیت، شبکه عصبی مصنوعی، متیل‌گالات

مقدمه

غذایی مختلف ترغیب نموده است. روغن ماهی به دلیل وجود ترکیبات منحصر به فرد غیراشباع (اسیدهای چرب امگا ۳) حائز تفاوت‌های شگرفی با سایر روغن‌ها و چربی‌های خوراکی است. از جمله این اسیدهای چرب خاص، اسید ایکوزاپنتانوئیک^۳ (EPA, C20:5 n-3) و اسید دوکوزاهگزانوئیک^۴ (DHA, C22:6 n-3) هستند که برای سلامت انسان بسیار مفید می‌باشند (یووی و والنزولا

آثار سلامتی بخش روغن ماهی در کاهش خطر بیماری‌های قلبی و عروقی (نستل ۲۰۰۰) و بیماری‌های خودایمنی از جمله التهاب مفاصل^۱ و لوپوس^۲ (کریمر ۱۹۹۶)، پیشگیری از بیماری‌های کبدی (گورا و همکاران ۲۰۰۸) و بهبود عملکرد سیستم ایمنی (فوتزیک و همکاران ۲۰۰۰)، دانشمندان را به استفاده از آن در مواد

^۳Eicosapentaenoic acid

^۴Docosahexaneic acid

^۱Arthritis

^۲Lupus

۲۰۰۰؛ و جاکوبسن و همکاران (۱۹۹۹). اما سیرناشدگی بالای روغن ماهی سبب حساسیت بالای این روغن به اکسایش و در نتیجه تغییر طعم روغن و کاهش کیفیت ماندگاری آن می‌شود. آنتی‌اکسیدانها در مقادیر کم سبب جلوگیری از اکسایش لیپیدی یا به تاخیر افتادن آن می‌شوند (چیپالت ۱۹۶۲). آنتی‌اکسیدانهای مصنوعی از جمله هیدروکسی آنیزول بوتیل^۵ (BHA)، هیدروکسی تولوئن بوتیل^۶ (BHT) و ترسیو-بوتیل هیدروکینون^۷ (TBHQ) به سبب کارایی بیشتر و نیز قیمت پایین‌تر، همواره بیش از انواع طبیعی مد نظر بوده‌اند (کرینگز و همکاران ۲۰۰۰). اما گزارشهای اخیر حاکی از سرطان‌زایی این ترکیبات سنتزی بوده است. بنابراین، آنتی‌اکسیدانهای سنتزی بتدریج از فهرست افزودنیهای ایمن حذف شده و تمایل به مصرف انواع طبیعی رو به افزایش گذارده است (سجا و همکاران ۲۰۰۴). اسیدهای فنلی از جمله آنتی‌اکسیدانهای طبیعی و موثر مطرح در این خصوص محسوب می‌شوند. متیل گالات (استر متیله اسید گالیک) که به طور گسترده‌ای در گیاهان و متابولیت‌های ثانویه پلی‌فنلی یافت می‌شود، به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی مطرح است. همچنین مشتقات اسید گالیک در پیشگیری از پراکسایش چربیها در غشای سلول موثر تشخیص داده شده‌اند. کیکوزاکی و همکاران (۲۰۰۲) با بررسی اثر استرهای اسید گالیک (متیل گالات، پروپیل گالات، لوریل گالات و استئاریل گالات) در متیل لینولئات، به اثربخشی بیشتر متیل گالات نسبت به سایر استرهای اسیدگالیک پی بردند و به پیروی گالاتها از نظریه تناقض قطبی اشاره نمودند. بر طبق این نظریه، آنتی‌اکسیدانهای قطبی در سیستم‌های روغنی به طور معمول موثرتر از انواع غیرقطبی عمل می‌کنند و در مقابل، آنتی‌اکسیدانهای غیرقطبی در محیط‌های امولسیون‌ی تا روغنی موثرتر واقع می‌شوند.

شبکه‌های عصبی مصنوعی^۸ (ANNs) یک سامانه پردازشی داده‌ها برای مدلسازی سیستم‌های چندپارامتری است که مدل‌های ریاضی ساده‌شده‌ی شبکه‌های عصبی بیولوژیک را ارائه می‌دهند. در واقع یک شبکه عصبی مصنوعی، مجموعه‌ای از عناصر محاسباتی (نورون) است که عملکردی مشابه نورون‌های زیستی دارد. در این سیستم، ابتدا ساختار داده‌ای طراحی می‌شود و سپس با ایجاد شبکه‌ای بین این نورونها و اعمال یک الگوریتم آموزشی به آن، شبکه را آموزش می‌دهند و در نهایت ارتباط ذاتی بین داده را کشف می‌نمایند (ویکوند و ویکرانت ۲۰۰۲). امروزه با توسعه فناوری، به طور گسترده از شبکه‌های عصبی مصنوعی به منظور مدلسازی فرایندها و ارزیابی کیفی محصولات استفاده می‌شود. کاویانی (۱۳۹۱) پایداری اکسایشی روغن کانولا طی ۴۰ ساعت سرخ کردن عمیق سیب زمینی در دماهای ۱۵۰، ۱۶۵ و ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد در روغن بدون آنتی‌اکسیدان و در حضور آنتی‌اکسیدان سنتزی تترابوتیل هیدروکینون (TBHQ)، در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام را مورد بررسی قرار داد و سرعت تخریب نمونه‌های روغن را از طریق اندازه‌گیری پارامترهای اکسایشی شامل عدد اسیدی، عدد پراکسید، عدد دی‌ان‌مزدوج، عدد کربونیل، ترکیبات قطبی کل، شاخص رنگ و گرانیروی، با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی مورد تجزیه و تحلیل قرار داد. نتایج نشان داد که مدل‌های طراحی شده به خوبی با داده‌های آزمایشی تطابق دارد. پیریزبیلسکی و زامبیازی (۲۰۰۰) نیز از سیستم شبکه عصبی مصنوعی برای پیش‌بینی پایداری روغنهای گیاهی استفاده کردند. در این پژوهش ترکیبات روغن به عنوان ورودی و زمان دوره القا، شیب ناحیه القا و انتشار به عنوان خروجی‌های شبکه معرفی شدند. نتایج حاصل از مدل نشان داد که شبکه عصبی بخوبی می‌تواند زمان ماندگاری روغن را پیش‌بینی کند.

⁵Butylatedhydroxy anisole⁶Butylatedhydroxytoluene⁷Ter-butyl hydroquinone⁸Artificial neural networks

تخلیص روغن ماهی

برای تخلیص روغن ماهی (حذف توکوفرول و سایر آنتی‌اکسیدانها) از روش کروماتوگرافی ائنی عسری و همکاران (۲۰۱۴) استفاده شد. حداکثر میزان ترکیبات توکوفرولی، عدد پراکسید و میزان اسیدهای چرب آزاد روغن خروجی به ترتیب ۵ میلی‌گرم آلفاتوکوفرول بر کیلوگرم روغن، ۰/۵ میلی‌اکی‌والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم روغن و ۰/۱ میلی‌گرم پتاس در گرم روغن بود.

آزمون آون

اکسایش روغن تخلیص شده ماهی (بدون توکوفرول و فنول طبیعی) در حضور پنج سطح غلظتی متیل گالات (صفر، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام) در سه سطح دمایی (۳۵-۴۵-۵۵ درجه سانتی‌گراد) در آون پایش شد. نمونه‌گیری در زمان‌های متوالی انجام شد و دوره القاء تولید هیدروپراکسیدها به روش شانتا و دکر (۱۹۹۴) تعیین گردید. به منظور محاسبه دوره القاء اکسایش لیپیدی بر حسب عدد پراکسید، نمودار تغییرات شاخص‌های مزبور در مقابل زمان ترسیم گردید. سپس، معادلات خطی مرتبط با بخش‌های آغازین و انتشار اکسایش لیپیدی برآزش داده شد و آنگاه دوره‌های القا از تلاقی دادن معادلات خطی یاد شده محاسبه گردید (شکل ۱) (فرهوش و حسینی یزدی ۲۰۱۳).

گرچه تا به امروز مطالعات زیادی در خصوص استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی در فرایندهای غذایی انجام شده است، مطالعات در پیش‌بینی میزان پایداری اکسایشی روغن براساس شاخص‌های سینتیکی اکسایش بسیار محدود است. پس هدف از این تحقیق، تعیین بهترین مدل برای پارامترهای سینتیکی از جمله پایداری آنتی‌اکسیدان^۹ (F)، نسبت سرعت اکسایش^{۱۰} (ORR) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی^{۱۱} (A) در روغن ماهی کیلکا تخلیص شده در حضور غلظت‌های مختلف متیل گالات (صفر، ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام) و در دماهای ۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد و سپس به منظور بررسی تاثیر تغییرات در هر یک از متغیرهای ورودی به شبکه بر روی متغیرهای خروجی آن، از آزمون تحلیل حساسیت استفاده می‌شود.

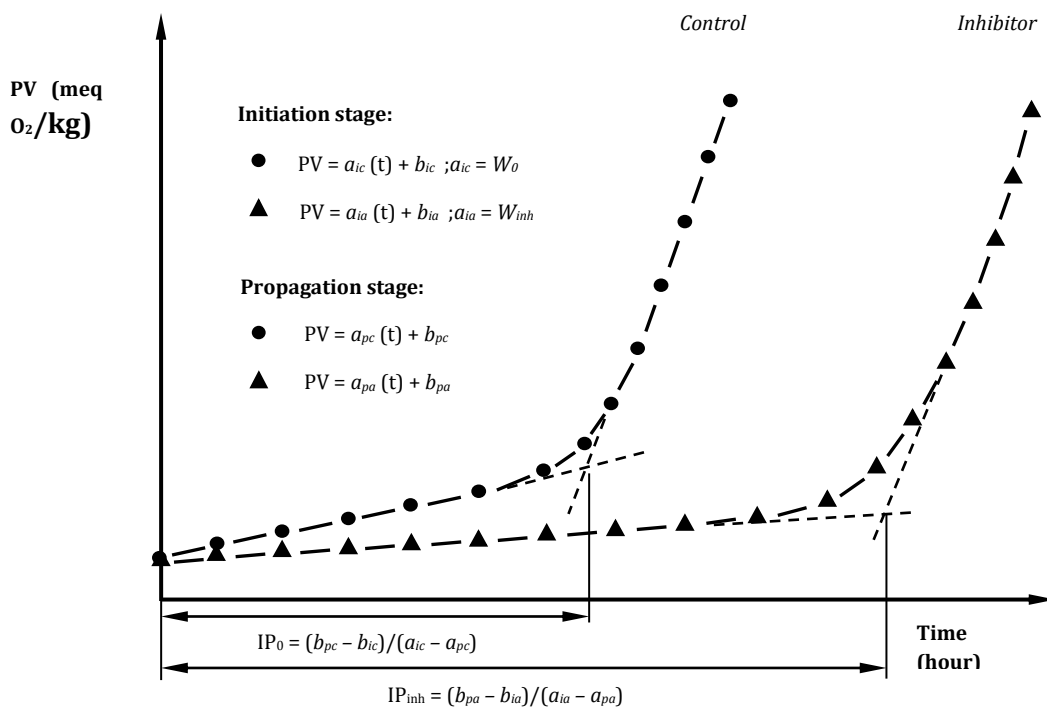
مواد و روش‌ها

روغن ماهی کیلکا از شرکت شیلات خزر تهیه شد. درصد ترکیبات مومی، ترکیبات صابونی ناشونده و ترکیبات استرولی آن به ترتیب ۱۱/۰۷، ۲/۶ و ۷/۵۲۳ بود. میزان ترکیبات توکوفرولی روغن خام ماهی کیلکا ۱۰۲/۸۹ میلی‌گرم آلفاتوکوفرول در کیلوگرم روغن و میزان ترکیبات فنلی ۱۳۴/۰۲ میلی‌گرم اسیدگالیک در کیلوگرم روغن بود. عدد پراکسید و عدد اسیدی آن نیز به ترتیب ۱/۷۸ میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم روغن و ۱۳/۹۸ میلی‌گرم پتاس در گرم روغن و دانسیته آن ۹۵۰/۷۲ کیلوگرم بر متر مکعب بود. متیل گالات از شرکت سیگما و حلالهای کلروفرم، متانول، هگزان و تمامی معرفهای شیمیایی، سیلیکاژل و اکسید آلومینیوم نیز از شرکتهای مرک و سیگما خریداری شد.

⁹ Stabilization factor

¹⁰ Oxidation rate ratio

¹¹ Activity



شکل ۱- منحنی شماتیک سینتیکی تولید پراکسید طی اکسایش سیستم‌های لیپیدی

تأثیر می‌گذارد. این پارامتر با کمیت دیگری تحت عنوان نسبت سرعت اکسایش (ORR) محاسبه می‌گردد:

$$\text{ORR} = W_{\text{inh}} / W_0 \quad \text{معادله (۲)}$$

در این رابطه W_{inh} سرعت اکسایش در حضور آنتی-اکسیدان (شیب ناحیه آغازین منحنی اکسایش روغن ماهی کیلکا در حضور غلظت معینی از آنتی‌اکسیدان) و W_0 سرعت اکسایش نمونه شاهد (شیب ناحیه آغازین منحنی اکسایش روغن ماهی کیلکا فاقد آنتی‌اکسیدان) است. در حقیقت ORR عکس قدرت آنتی‌اکسیدان را نشان می‌دهد (مارینووا و یانیشلیوا ۱۹۹۲).

پارامتر کلی کارایی آنتی‌اکسیدان (A) تأثیر آنتی‌اکسیدان را در پایان دادن به واکنش اکسایش و به عبارت دیگر توانایی آن در کاستن از سرعت اکسایش تا رسیدن به زمان IP را، نشان می‌دهد. کمیت کارایی آنتی‌اکسیدان (A) از رابطه زیر محاسبه می‌گردد:

$$A = F / \text{ORR} \quad \text{معادله (۳)}$$

تأثیر متیل‌گالات بر روغن ماهی کیلکا را می‌توان با کمک شاخص‌های سینتیکی اکسایش بررسی نمود:

اول: اثرگذاری آنتی‌اکسیدان یا فاکتور پایداری (F) که توانایی آنتی‌اکسیدان (InH) در متوقف کردن زنجیره رادیکالی اکسایش به وسیله ایجاد برهمکنش‌های مختلف با رادیکال‌های پراکسید (LO_2^\cdot) را نشان می‌دهد که منجر به تولید هیدروپراکسید (LOOH) و رادیکال آنتی-اکسیدان (In^\cdot) می‌شود. این فاکتور متأثر از دوره القای روغن آنتی‌اکسیدان می‌باشد و از نسبت دوره القای روغن ماهی کیلکا در حضور غلظت معینی از آنتی‌اکسیدان به دوره القا روغن ماهی فاقد آنتی‌اکسیدان از رابطه زیر بدست می‌آید:

$$F = \text{IP}_{\text{inh}} / \text{IP}_0 \quad \text{معادله (۱)}$$

که IP_{inh} دوره القا در حضور آنتی‌اکسیدان (ساعت) و IP_0 دوره القا نمونه شاهد (ساعت) می‌باشد.

دوم: قدرت آنتی‌اکسیدان در شرکت در واکنش‌های مختلف اکسایشی است که در نهایت بر سرعت اکسایش

دلسازی با شبکه عصبی مصنوعی

در این پژوهش به منظور دلسازی پارامترهای سینتیکی اکسایش روغن ماهی تخلیص شده کیلکا در حضور متیل گالات از شبکه عصبی مصنوعی چند لایه پرسپترون^{۱۲} که یکی از پرکاربردترین شبکه‌های پیشخور^{۱۳} می‌باشد، استفاده گردید. این نوع شبکه‌های عصبی مصنوعی از سه جزء لایه ورودی، یک یا چند لایه پنهان و لایه خروجی تشکیل شده است. در درون هر نورون (به جز نورون‌های لایه ورودی که اطلاعات را بدون پردازش انتقال می‌دهند) برای تولید خروجی (y)، محاسبات به صورت زیر انجام می‌شود:

$$y_i = \sum_{j=1}^n f(w_{ij}x_j) + b_j \quad (۴)$$

در معادله فوق w_{ij} ضریب وزنی نورون شماره i که به نورون شماره j متصل است، می‌باشد. N تعداد ورودی-های هر نورون و b_j بردار بایاس نورون j است. بردار بایاس با افزودن یک مقدار ثابت به مجموع حاصل ضرب وزن‌ها در بردارهای ورودی باعث تسریع فرایند یادگیری شبکه عصبی مصنوعی می‌شود. f در این معادله بیانگر تابع فعالسازی می‌باشد. به منظور یافتن بهترین ساختار شبکه عصبی متناسب با سینتیک اکسایش ماهی در حضور متیل گالات، ساختار با یک لایه پنهان دارای ۱ تا ۲۰ نورون در لایه پنهان استفاده گردید، که در آن لایه ورودی شامل ۲ نورون (دما و غلظت) و لایه خروجی شامل ۳ نورون (فاکتور پایداری (F)، نسبت سرعت اکسایش (ORR) و فعالیت آنتی اکسیدانی (A)) می‌باشد. در نورون‌های لایه پنهان از تابع سیگموئیدی و در لایه خروجی از تابع خطی استفاده گردید. از میان روش‌های مختلف آموزش به روش پس‌انتشار خطا، الگوریتم لونیگ-مارگوارت^{۱۴}، به دلیل همگرایی سریعتر در آموزش شبکه‌های با اندازه‌ی متوسط، برای استفاده در تحقیق حاضر انتخاب

شده است. برای این منظور به ترتیب ۵۵، ۱۰ و ۳۵ درصد داده‌ها برای آموزش، ارزیابی و آزمون شبکه استفاده گردید. به منظور مقایسه کارایی شبکه‌های عصبی مختلف برای پیشگویی پارامترهای اکسایشی، از شاخص‌های میانگین مربعات خطا^{۱۵}، میانگین مربعات خطای نرمالیزه شده^{۱۶}، میانگین خطای مطلق^{۱۷} استفاده شد (معادله‌های ۷-۵).

$$MSE = \frac{\sum_{i=1}^N (O_i - T_i)^2}{N} \quad (۵)$$

$$NMSE = \frac{1}{\sigma^2} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (O_i - T_i)^2 \quad (۶)$$

$$MAE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |O_i - T_i| \quad (۷)$$

در معادله‌های فوق T و O به ترتیب مقادیر پیشگویی شده توسط شبکه عصبی مصنوعی و واقعی داده نام، N تعداد داده‌ها و σ^2 واریانس داده‌ها می‌باشد.

تحلیل حساسیت

تحلیل حساسیت این قابلیت را دارد که میزان تاثیر پارامترهای ورودی بر خروجی‌های شبکه عصبی را مشخص کند. در این نظریه، با اعمال اندکی تغییر در ورودی‌های شبکه (مولفه کنترل فعالسازی^{۱۸})، میزان تغییر متناظر در خروجی شبکه را آنالیز می‌کنند و با مولفه معیار خطا^{۱۹} گزارش می‌شود و به عنوان داده حساسیت ارایه می‌گردد.

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در سه تکرار، پنج سطح غلظتی و سه سطح دمایی (۳۵-۴۵-۵۵ درجه سانتی‌گراد) انجام شد. میانگین‌ها با نرم افزار SAS و بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد ($P < 0.05$) مقایسه

¹⁵Mean-Squared Error (MSE)

¹⁶Normalized Mean-Squared Error

¹⁷ Mean Absolute Error (MAE)

¹⁸Activation control component

¹⁹ Error criteria component

¹²Perceptron

¹³ Feed-Forward

¹⁴Levenberg-Marquardt

شد. مدلسازی شبکه عصبی توسط نرم افزار نوروسولوشن^{۲۰} نسخه ۵ انجام گرفت.

نتایج و بحث

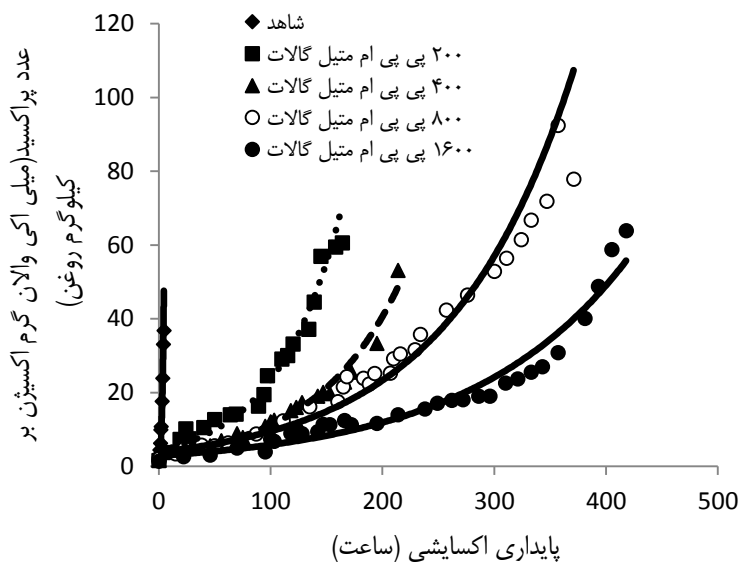
تاثیر متغیرهای فرایند بر پارامترهای سینتیکی

پارامترهای سینتیکی شامل میزان پایداری آنتی‌اکسیدان (F)، نسبت سرعت اکسایش (ORR) و فعالیت آنتی-اکسیدانی (A) با افزودن غلظتهای مختلف متیل‌گالات (صفر، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام) به روغن تخلیص‌شده کیلکا در دماهای ۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتیگراد محاسبه شد. نتایج نشان داد، مقادیر دوره القا با افزایش غلظت در هر سه دما به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد و تمامی سطوح آنتی‌اکسیدانی نسبت به نمونه شاهد افزایش معنی‌داری داشت. به عنوان مثال، روند تغییرات عدد پراکسید با افزودن چهار غلظت مورد آزمایش از متیل‌گالات و نمونه شاهد (غلظت صفر) در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد در شکل ۲ نشان داده شده است. همچنین، با افزایش غلظت متیل‌گالات، میزان پایداری (F)، قدرت آنتی‌اکسیدان (عکس ORR) و در نتیجه عملکرد آن (A) در پایان دادن به زنجیره خود اکسایش روغن افزایش می‌یابد. به طوری که فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد از ۳۷/۶۶ در ۲۰۰ پی‌پی‌ام به ۴۲۴/۴ در ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام رسید. بنابراین بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی متیل‌گالات در هر سه دما در غلظت ۱۶۰۰ پی‌پی‌ام مشاهده شد که در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد F، ORR و A به ترتیب ۳۴/۴۲، ۰/۰۸۱ و ۴۲۴/۴ بود. همچنین با افزایش دما، عملکرد آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش یافت که به دلیل خاصیت حملی^{۲۱} بالای متیل‌گالات می‌باشد. بدین معنی که متیل‌گالات در دماهای بالا تبخیر و تخریب نشد و عملکرد بهتری در ممانعت از اکسایش لیپیدی از خود نشان داد. همچنین، در سیستمهای لیپیدی، برهم‌کنش-

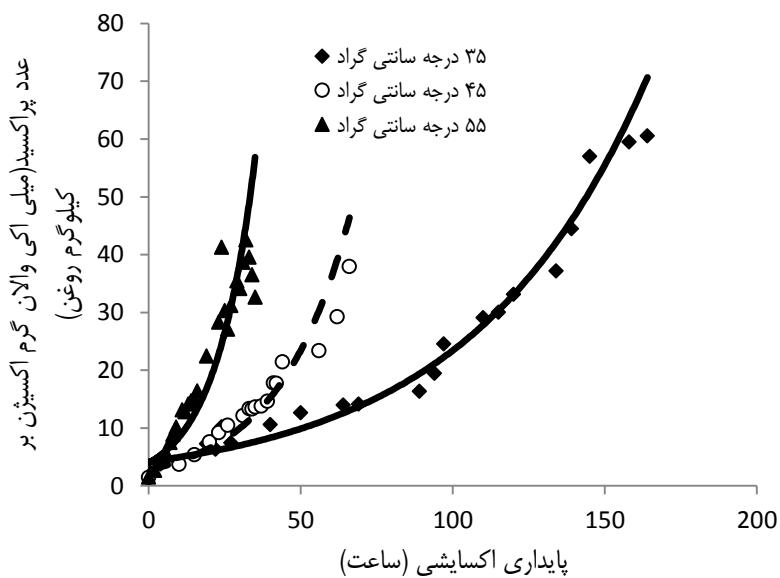
های درون مولکولی میان اتم‌های هیدروژن در گروه متوکسی متیل‌گالات و اتم اکسیژن گروه هیدروکسیل در موقعیت متا سبب ایجاد انتقال الکترونی بین هشت عضو این زنجیره می‌شود. از این رو، توانایی هیدروژن-دهندگی گروه هیدروکسیل از طریق ایجاد رادیکال فنوکسی پایدار افزایش می‌یابد و این امر موجب عملکرد قابل توجه متیل‌گالات در سیستم‌های لیپیدی می‌گردد (اسکواز و همکاران، ۲۰۰۰). کیکوزاکی و همکاران (۲۰۰۲) نیز شاخص پایداری اکسایشی (OSI) در ۹۰ درجه سانتیگراد) ۰/۲ میکرومول متیل‌گالات در هر گرم متیل‌لینولئات را ۲۷/۲ ساعت گزارش کردند که نسبت به نمونه شاهد (۱ ساعت) اثر قابل توجهی داشت. همانطور که انتظار می‌رفت، سرعت خوداکسایش نمونه‌های روغن کیلکا حاوی متیل‌گالات با بالا رفتن درجه حرارت افزایش یافت (شکل ۳).

²⁰Neurosolution Version 5.0

²¹Carry-through property



شکل ۲- روند تغییرات عدد پراکسید در حضور متیل گالات برای روغن ماهی کیلکا در غلظتهای صفر، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ پی پی ام در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد



شکل ۳- تاثیر دمای نگهداری (۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتیگراد) بر سرعت اکسایش روغن ماهی کیلکا در حضور ۲۰۰ پی پی ام متیل گالات

مدلسازی شبکه عصبی مصنوعی

تعداد بهینه نورون‌ها در لایه پنهان جهت تعیین ساختار شبکه عصبی پرسپترون دارای یک لایه پنهان با روش آزمون و خطا تعیین گردید. مقادیر خطای پیشگویی شبکه‌های عصبی مصنوعی مختلف دارای ۱ تا ۲۰ نورون در لایه پنهان مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه این نتایج نشان داد که شبکه عصبی دارای ۷ نورون در

لایه پنهان با مقادیر خطای MAE (۲/۷۴)، NMSE، (۰/۰۱) و MAE (۱/۳۳) برای پارامتر F کمترین میزان خطا و بیشترین همبستگی را با داده های حقیقی دارد. همچنین مقادیر خطای MAE، NMSE و MAE برای پارامتر ORR به ترتیب ۰/۰۰۲، ۰/۰۲ و ۰/۰۲ و برای پارامتر A نیز به ترتیب ۴۹۶۳/۳، ۰/۰۳۶ و ۴۹/۰۲ بود. لذا شبکه عصبی با تعداد ۷ نورون در یک لایه پنهان

بهترین عملکرد را در پیشگویی پارامترهای سینتیکی پایداری، نسبت سرعت اکسایش و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این آزمایش دارد. در حقیقت MSE پایین نشانگر توانایی شبکه در پیش‌بینی مقادیر تغییرات این پارامترها در نتیجه تغییر غلظت و دمای نگهداری می‌باشد. در این مدل از سیستم یادگیری الگوریتم لوبنبرگ-مارکوارت که

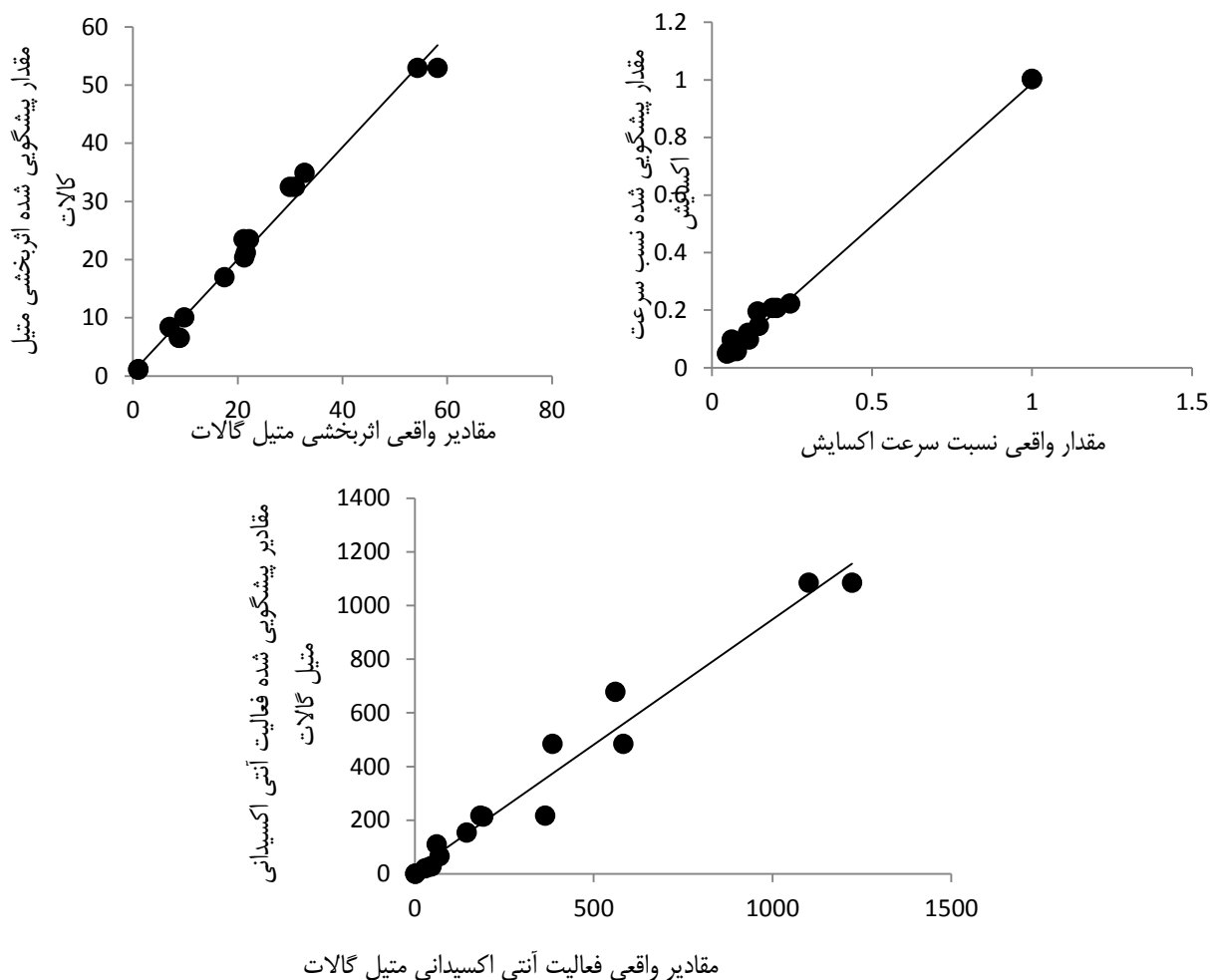
یکی از الگوریتم‌های آموزشی پرکاربرد است، استفاده شد. این سیستم یادگیری، آموزش شبکه را بسیار سریع انجام داده و سطح خطای موجود را حداقل می‌سازد. همچنین مقادیر بردار وزن و بایاس شبکه بهینه دارای یک لایه پنهان در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- مقادیر بردار وزن و بایاس متناظر هر نرون در شبکه عصبی مصنوعی بهینه

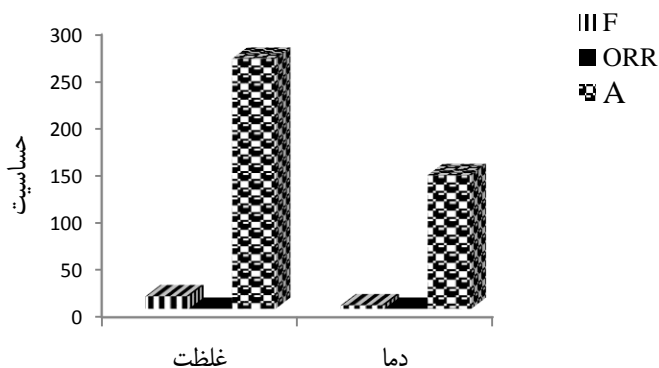
نورونهای لایه پنهان			بایاس		نورونهای لایه خروجی	
A	ORR	F	دما	غلظت	بایاس لایه خروجی	
-۲/۷	-۳/۰۸	۰/۲۲	۲/۸	۵/۱۸۴	-۱/۳۴	۱
۲/۱۴	-۰/۷۸	-۱/۷	-۱/۱۲۴	-۱/۵۲۱	-۱/۱۷	۲
۶/۴۹	۲/۶۹	۳/۱۵	-۴/۱۷	-۱/۷۶۴	۰/۵۹	۳
۳/۳۳	-۳/۵۴	-۳/۰۶	۳/۰۲	۱/۷۵۳	-۵۲/۲	۴
-۰/۱۴	۱۰/۳۴	۳/۹۶	۳/۹۷	-۱۲/۵۵	۲/۴۴	۵
-۰/۸۳	۰/۱	-۴/۶۸	-۲/۹۵	-۰/۱۶	-۲/۵۲	۶
۰/۳۶۵	-۰/۴۷	-۳/۴۲	-۰/۳۸	۵/۵۵	۰/۰۴۶	۷
۳/۲۴۳	-۵/۴۳	۰/۹۷				

میزان کارایی شبکه عصبی مصنوعی بهینه در پیشگویی فاکتور پایداری، نسبت سرعت اکسایش و فعالیت آنتی-اکسیدانی، در مورد داده‌های آزمون که حین آموزش شبکه به آن نشان داده نشده است، در شکل ۴ آورده شده است. در این شکلها مقادیر واقعی پارامترهای سینتیکی در مقابل مقادیر پیشگویی شده، آمده است. مقادیر بالای ضریب همبستگی (۰/۹۹، ۰/۹۷ و ۰/۹۷) به ترتیب برای فاکتور پایداری آنتی‌اکسیدان، نسبت سرعت اکسایش و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، گویای کارایی بالای شبکه عصبی مصنوعی در پیشگویی پارامترهای

سینتیکی اکسایش روغن ماهی کِلِکا در حضور متیل-گالات می‌باشد.



شکل ۴- مقادیر واقعی پارامتر سینتیکی اثر بخشی، نسبت سرعت اکسایش و فعالیت آنتی اکسیدانی متیل گالات در مقابل پیشگویی شده توسط شبکه عصبی مصنوعی بهینه (ضریب همبستگی به ترتیب ۰/۹۹، ۰/۹۷ و ۰/۹۷)



شکل ۵- تحلیل حساسیت پارامتر های خروجی نسبت به متغیر های ورودی بر پایه شبکه عصبی مصنوعی بهینه

آنالیز حساسیت بر پایه شبکه عصبی بهینه

تحلیل حساسیت ورودی‌های شبکه بهینه در مدل پیشنهاد شده برای تخمین پارامترهای سینتیکی اکسایش روغن تخلیص‌شده ماهی در شکل ۵ نشان داده شده است. از شکل چنین بر می‌آید که از بین متغیرهای ورودی به شبکه و در شرایط برابر، تاثیر پارامتر غلظت بر روی تمامی خروجی‌های مدل پیشنهاد شده، بیشترین است. یعنی در نتیجه تغییر جزئی غلظت، شاهد تغییرات زیادتری در پارامترهای سینتیکی اکسایش روغن ماهی کیلکا هستیم. در حقیقت هرچه غلظت متیل-گالات در سیستم لیپیدی افزایش می‌یابد، پایداری آن (InH) در متوقف کردن زنجیره خوداکسایش با ایجاد پیوند با رادیکال پراکسی (ROO) افزایش می‌یابد. درحالیکه با افزایش غلظت متیل‌گالات، شیب ناحیه آغازین و به عبارت دیگر سرعت اکسایش لیپیدی کاهش می‌یابد که منجر به کاهش نسبت سرعت اکسایش (ORR) و افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی می‌شود. با این وجود اثر دما و غلظت بر روی این فاکتور تقریباً مشابه است. مارینوا و یانیشلیوا (۲۰۰۲) نیز با بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترانس-رسوراترول^{۲۲} در محدوده غلظتی ۰/۲ تا ۰/۰۲ درصد در تری‌اسیل-گلیسرول لارد و روغن آفتابگردان مشاهده کردند، با افزایش غلظت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی به سبب افزایش پایداری آنتی‌اکسیدان افزایش می‌یابد، در حالیکه شاخص ORR تغییر محسوسی نداشت. فعالیت آنتی-اکسیدانی بیشتر از دو فاکتور F و ORR تحت تاثیر غلظت قرار می‌گیرد. حساسیت بالای فعالیت آنتی-اکسیدانی به متغیر غلظت را می‌توان به خصوصیت فوق‌العاده آنتی‌اکسیدانی متیل‌گالات و شرکت نکردن در واکنش‌های جانبی در فاز انتشار اکسایش لیپیدی نسبت داد. فرهوش (۲۰۰۵) نیز با بررسی مکانیزم واکنش و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوتئین در اسید لینولئیک در دمای

۴۰ درجه سانتی‌گراد، مشاهده کرد که با افزایش غلظت بوتئین از ۰/۰۲ تا ۰/۲ درصد، میزان F و A افزایش یافت؛ در حالیکه پارامتر ORR رو به کاهش گذاشت. با این وجود درجه حرارت تاثیر کمتری بر پارامتر سینتیکی گذاشته است که می‌توان عمده تاثیر آن را نیز به تغییر در پارامتر F نسبت داد. مارینوا و یانیشلیوا (۲۰۰۲) نیز با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی تعدادی از اسیدهای فنولی شامل اسیدسیرینجیک، اسید سیناپیک، اسید کافئیک و اسید ۴،۳-دی‌هیدروکسی بنزوئیک در تری‌اسیل‌گلیسرول روغن آفتابگردان نیز شاهد اختلاف محسوسی در دو دمای ۲۲ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد نبودند. اثر دمای ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد بر تری‌اسیل‌گلیسرول‌های لارد در حضور غلظت‌های مختلف اسیدفرولیک و آلفا-توکوفرول نیز نشان داد که در اسید فرولیک شاخص F و ORR چندان تحت تاثیر دما قرار نگرفته است، درحالیکه در آلفا-توکوفرول، با افزایش دما، F و A افزایش و ORR کاهش یافت. در حقیقت با افزایش دما، مکانیزم واکنش اسید فرولیک تغییر نمی‌کند. در نتیجه، فاکتور پایداری، قدرت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در دماهای مختلف، ثابت باقی می‌ماند. در حالیکه مکانیزم واکنش در آلفا-توکوفرول با افزایش دما تغییر می‌یابد و آنتی‌اکسیدان از مسیرها و واکنش‌های مختلف دیگری فرایند اکسایش لیپیدی را دنبال می‌کند (مارینوا و یانیشلیوا ۱۹۹۲).

نتیجه گیری

در این مطالعه مقادیر فاکتور پایداری متیل‌گالات، قدرت آنتی‌اکسیدان و فعالیت آنتی‌اکسیدانی طی فرایند اکسایش روغن ماهی کیلکای تخلیص شده توسط شبکه‌های عصبی مصنوعی مدلسازی گردید. با افزایش غلظت، فاکتور پایداری متیل‌گالات، قدرت آنتی‌اکسیدان (عکس نسبت سرعت اکسایش) و به تبع آن فعالیت آنتی-اکسیدانی افزایش یافت. همچنین مشخص گردید که شبکه عصبی مصنوعی پرسپترون دارای یک لایه پنهان

²²Trans-resveratrol

لیپیدی دارد. همچنین تحلیل حساسیت ورودی‌های شبکه بهینه در مدل پیشنهاد شده، نشان داد که پارامتر غلظت بر روی تمامی خروجی‌های این مدل، تاثیر بیشتری نسبت به دما داشت.

و تعداد ۷ نورون در لایه مخفی، بیشترین توانایی را در مدلسازی تاثیر پارامترهای سینتیکی اکسایش روغن ماهی کیلکا در حضور متیل گالات دارد. نتایج بدست آمده نشان از قابلیت شبکه عصبی به عنوان ابزاری توانمند برای پیش‌بینی پارامترهای سینتیکی اکسایش

منابع مورد استفاده

- کاویانی م. ۱۳۹۱. مدل‌سازی پایداری اکسایشی روغن کانولا طی سرخ کردن عمیق سیب زمینی با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان.
- 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.
- Chipault JR 1962. Antioxidants for use in foods, in Lundberg WO (Ed.), *Autoxidation and Antioxidants*. Vol. II pp. 477-542 Wiley Interscience, New York.
- Farhoosh R, 2005. Antioxidant activity and mechanism of action of butein in linoleic acid. *Food Chem* 93: 633-639.
- Farhoosh R, Hoseini-Yazdi SZ, 2013. Shelf-life of olive oils using empirical models developed at low and high temperature. *Food Chemistry* 141: 557-565.
- Foitzik T, Eibl G, Schneider P, Wenger FA, Jacobi CA, Buhr HJ, 2000. Omega-3 fatty acid supplementation increases anti-inflammatory cyto-kines and attenuates systemic disease sequelae in experimental pancreatitis. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 26: 351– 356.
- Gura MK, Lee S, Valim C, Zhou J, Kim S, Modi B, Arsenault DA, Strijbosch AM, Lopes S, Duggan C, Puder M, 2008. Safety and efficacy of a fish-oil-based fat emulsion in the treatment of parenteral nutrition associated liver disease. *Periatrics* 3: 678–686.
- Jacobsen C, Adler-Nissen J, and Meyer AS, 1999. Effect of ascorbic acid on iron release from the emulsifier interface and on the oxidative flavor deterioration in fish-oil-enriched mayonnaise. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 47: 4917–4926.
- Kremer JM, 1996. Effects of modulation of inflammatory and immune parameters in patients with rheumatic and inflammatory disease receiving dietary supplementation of n-3 and n-6 fatty acids. *Lipids* 31: 243–247.
- Krings U, Saharty YSE, Zeany BAE, Pabel B and Berger RG. 2000. Antioxidant activity of extracts from roasted wheat germ. *Food Chemistry* 71: 91–95.
- Kikuzaki H, Hisamoto M, Hirose K, Akiyama K, and Taniguchi H, 2002. Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds, *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50: 2161–2168.
- Marinova EM, Yanishlieva NV, 1992. Inhibited oxidation of lipids. II. Comparison of the antioxidative properties of some hydroxy derivatives of benzoic and cinnamic acids. *Fat Science Technology* 94: 428–432.
- Marinova EM, &Yanishlieva NV, 1992. Effect of temperature of the antioxidative action of inhibitors in lipid oxidation, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 60: 313-318.
- Marinova EM, Yanishleiva NV, 2002. Antioxidant activity and mechanism of action of some phenolic acids at ambient and high temperature. *Food Chemistry* 81: 189-197.
- Marinova EM, Yanishleiva NV, Totseva IR, 2002. Antioxidant activity and mechanism of action of transresveratrol in different lipid systems. *International Journal of Food Science and Technology* 37: 145-152.
- Nestel PJ, 2000. Fish oil and cardiovascular disease: lipids and arterial function. *The American Journal of Chinese Medicine* 71: 228–231.
- Przybylski R, Zambiazzi, RC, Predicting oxidative stability of vegetable oils using neural network system and endogenous oil compounds. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 77: 925-932.

- Shantha NC, Decker EA, 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International* 77: 421-424.
- Schwarz K, Huang SW, German JB, Tiersch B, Hartmann J, Frankel EN, 2000. Activities of antioxidants are affected by colloidal properties of oil-in-water and water-in-oil emulsions and bulk oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 4874-4882.
- Suja KP, Abraham JT, Thamizh SN, Jayalekshmy A, Arumughan C, 2004. Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection. *Food Chemistry* 84: 393-400.
- Uauy R, Valenzuela A, 2000. Marine Oils: the health benefits of n-3 fatty acids. *Nutrition*, 16: 680-684.
- Vinod KJ, Vikrant C, 2002. Neural networks approach to modeling food processing operations. P 1-3, In: Irudayaraj J (ed.), *Food processing operations modeling: design and analysis*. Marcel Dekker, New York.

Evaluation of the methyl gallate effect on oxidation kinetic of purified kilka fish oil using sensitivity analysis based on artificial neural networks modeling

M Asnaashari^{1*}, R Farhoosh² and A Sharif²

Received: January 22, 2014 Accepted: May 10, 2014

¹MSc Student, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

²Professor and Assistant Professor, respectively, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

*Corresponding author: E mail: ma.asnaashari@stu.um.ac.ir

Abstract

A kinetic analysis of purified Kilka fish oil oxidation in presence of different concentrations of methyl gallate (0, 200, 400, 800 & 1600 ppm) at 35, 45 & 55°C based on kinetic parameters including the stabilization factor (F), the oxidation rate ratio (ORR) and the antioxidant activity (A) was performed. The Perceptron multi-layer artificial neural network with 2 inputs (temperature and concentration) and 3 outputs (F, ORR, A) was used to predict the oxidation kinetic parameters. Which indicated that the optimized model with 7 neurons in hidden layer gives the best fitting with the experimental data. Moreover, the results of sensitivity analysis based on optimized model suggested the high sensitivity of kinetic parameters particularly, antioxidant activity on concentration due to high antioxidant activity of methyl gallate and no participation in any propagation side reactions.

Key words: Artificial neural network, Kinetic analysis, Lipid oxidation, Methyl gallate, Sensitivity analysis