Archive of SID

بررسی اثرات فرآیندهای پالایش روی میزان ترکیبات جزیی روغن فندق

بهرام فتحی آچاچلوئی [1*]، صدیف آزاد مرد دمیرچی [2]، جواد حصاری [2]

1- عضو هیات علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی
2- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
(تاریخ دریافت: 87/4/20 تاریخ پذیرش: 87/6/15)

چکیده

فندق یک منبع غنی از انرژی و حاوی 60-40 درصد لیپید است و به خاطر داشتن مقدار بالای روغن، اسیدهای چرب ضروری ، فیتواسترول ها، آنتی اکسیدانها و مواد معدنی دارای ارزش تغذیه ای بالایی می باشد. با این حال ،محصولات اکسیداسیونی فیتواسترولها (POPs) می توانند اثر سویی بر سلامتی داشته باشند. در این مطالعه آثار فرآیند پالایش بر اسیدهای چرب، فیتواسترولها، POPs و مقدارتوکوفرول‌های روغن فندق بررسی شد. بعد از جداسازی و غنی سازی با کروماتوگرافی ستونی (SPE)، اسیدهای چرب، فیتواسترولها و POPs با کروماتوگرافی گازی و توکوفرولها با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا اندازه گیری شدند. مراحل مختلف تصفیه اثر ناچیزی بر ترکیب اسیدهای چرب روغن فندق داشت. اگرچه، این مراحل روی ترکیبات فیتواسترولها، POPs و مقدار توکوفرولها تاثیر قابل توجهی داشت، بطوری که در آخر فرآیند تصفیه شیمیایی، مقادیر کلی فیتواسترولها، POPs و مقدار توکوفرولها به ترتیب از 1369/8ppm، 10/57ppm و334/4 ppm به 1061ppm، 3/19ppm و183 ppm کاهش پیدا کردند.

کلید واژه گان: فیتواسترول ها، محصولات اکسیداسیونی فیتواسترول ها، توکوفرولها، اسیدهای چرب، تصفیه شیمیایی، روغن فندق

1- مقدمه

هر ساله حدود 700000 تن فندق در جهان تولید می شود که تقریبا حدود 70 % از تولید جهانی مربوط به کشور ترکیه است و بقیه آنرا کشورهای دیگر از جمله ایتالیا، فرانسه، آمریکا، اسپانیا تولید می کنند [1]. فندق یک منبع غنی از انرژی و حاوی 60-40 درصد لیپید می باشد و به خاطر داشتن مقدار بالای روغن، اسیدهای چرب ضروری ، استرول ها، آنتی اکسیدانها و مواد معدنی دارای ارزش تغذیه ای بالایی می باشد [1 ، 2 ،3 و4]. فندق همچنین حاوی مقدار قابل توجهی ویتامین E می باشد. بخاطر نقش آنتی اکسیدانی که این ویتامین دهنده اتم هیدروژن به رادیکالهای آزاد است و قادر به جذب رادیکالهای آزاد شده در بدن می باشد و در نتیجه در جلوگیری از بیماریهایی مثل سرطان، دیابت و تصلب شرایین موثرمی باشد [5]. محققان زیادی نشان داده‌اند که روغن فندق حاوی مقدار زیادی اسیدهای چرب تک غیراشباعی(MUFAS)[1] و چند غیر اشباعی (PUFAS)[2]، ویتامینE و استرول‌های گیاهی(فیتواسترولها) می‌باشد که در کاهش دادن مقدار کلسترول لیپوپروتئینی با دانسیته

* مسئول مکاتبات: bahram1356@yahoo.com

1. Monounsaturated fatty acids
2. Polyunsaturated fatty acids

www.SID.ir

Archive of SID

پایین (LDL)[3] سرم خون و بیماریهای قلبی- عروقی در انسان نقش به سزایی را ایفاء می کنند [6]. همچنین فندق علاوه بر نقش تغذیه ای و سلامتی، در برخی از فرآورده های غذایی، یک طعم و مزه ویژه ای را به محصولات می دهد [7]. از مهمترین اسیدهای چرب فندق که در ترکیب لیپیدی فندق شناخته شده‌است ،می‌توان به اسیداولئیک، اسیدلینولئیک، اسیدلینولنیک، اسیدپالمیتیک، اسیداستئاریک، اسیدایکوزانوئیک[4] (اسید آراشیدیک) اشاره کرد [3، 6، 8 و9]. همچنین مهمترین استرول های موجود در روغن فندق شامل استیگماسترول5، کمپسترول[6]، بتا- سیتو سترول[7] و دلتا 5- اوناسترول[8] هستند[6، 9 و10]. فیتواسترولها یکی از مهمترین ترکیبات موجود در مواد غیر قابل صابونی شونده چربیها وروغنهای خوراکی بوده و از لحاظ تغذیه ای و پایداری روغنها وچربیهای خوراکی دارای اهمیت زیادی هستند, ومقادیر آنها می تواند از 1000-2000ppm در روغن فندق متغییر باشد. در بین اسیدهای چرب موجود اسیداولئیک فراوانترین اسید چرب و در بین استرول‌ها ، بتا - سیتو سترول فراوانترین استرول در روغن فندق می‌باشد[1،4،6 و9]. بتا - سیتوسترول در کاهش مقادیر کلسترول و جلوگیری از تعدادی از بیماری‌ها و برخی از سرطان‌ها از جمله سرطان روده بزرگ یا کولون، سرطان پروستات و سرطان‌پستان و ممانعت از رشد تومورها گزارش شده‌است [4،11،12 و13]. فیتواسترول ها نیز همانند سایر لیپید های غیر اشباع وقتی در معرض هوا، حرارت، نور و کاتالیست های شیمیایی قرار گیرند، می توانند اکسید شوند. اخیرا گزارش هایی در مورد زیان های احتمالی محصولات اکسیداسیونی فیتواسترول ها (POPs)[9] بر سلامتی انسان گزارش شده است [14]. به همین دلیل تحقیقات زیادی در حال انجام است تا بتوان با روشی ساده و قابل اعتماد این مواد اکسید شده را در چربی ها و روغن های گیاهی و مواد غذایی حاوی روغن ها و چربیها اندازه گرفت [14 و 15].

روغن های گیاهی خام جهت حذف ناخالصی ها و مواد نامطلوب روغن، تحت فرآیند تصفیه قرار می گیرند[16]. فرآیند های تصفیه معمولا شامل مراحل مختلف صمغ گیری،خنثی سازی،رنگبری و بوگیری می باشد[16]. فرآیند های تصفیه می تواند روی ترکیبات کمیاب موجود در مواد غیرقابل صابونی شونده روغنهای گیاهی تاثیر بگذارد[16]. هدف از این مطالعه بررسی اثرات فرآیندهای تصفیه روی فیتواسترولها، محصولات اکسیداسیونی آنها، اسید های چرب و مقدار ویتامین E روغن فندق می باشد.

2- مواد و روش ها

تمامی حلال ها و مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش، تولیدی شرکت تجاری مرک بودند.

2-1- نمونه ها

نمونه های فندق از باغات کشت صنعت مغان تهیه شده و روغن آن مطابق روش آزادمرد دمیرچی و همکاران [17] به شرح زیر استخراج شدند:

به لوله های استیلی حاوی 10 گرم از مغز های خرد شده فندق، 30 میلی لیتر محلول هگزان/ ایزوپروپانول (3:2 ، حجمی- حجمی) اضافه شد. 4 عدد ساچمه های فولادی نیز برای تسریع عمل هموژنیزاسیون به داخل لوله انداخته شد. لوله های استیلی در دمای اتاق برای یک ساعت تحت تکان شدید توسط دستگاه تکان دهنده قرار گرفتند. سپس محتوی لوله ها با استفاده از قیف بوخنر و کاغذ صافی واتمن شماره 4 صاف شدند. تفاله های باقیمانده دو بار،هربار با 20 ml از همان محلول شسته شدند، سپس 35 ml محلول سولفات سدیم 6/7 % به محلول صاف شده اضافه شد تا آب احتمالی جدا شود. با استفاده از قیف جدا کننده لایه حاوی حلال و روغن جدا شده و در دستگاه تبخیر در خلاء در 40ºC تبخیر شد. روغن های استخراج شده برای استفاده در مراحل بعدی آنالیز در 20- ºC نگه داری شدند.

3. Low density lipoprotein
4. Eicosanoic Acid
5. Stigmasterol
6. Campesterol
7. β-Sitosterol
8. Δ5-avenasterol
9. Phytosterol Oxidation Products

www.SID.ir

Archive of SID

2- 2- مراحل مختلف تصفیه شیمیایی روغن

تصفیه شامل مراحل صمغ گیری، خنثی سازی، رنگبری و بوگیری می باشد که طبق روش بورتولومزی و همکاران [18] بطور خلاصه به شرح زیر انجام گرفت. برای صمغ گیری، روغن با 3 درصد آب در 70ºC مخلوط و به هم زده شد، سپس فاز روغنی بوسیله سانتریفوز جدا گردید. روغن صمغ گیری شده برای خنثی سازی اسیدهای آزاد با مقدار مناسبی از سود سوزآور (10 درصد در آب) تیمار شد و پس از جدا سازی صابون تشکیل شده، روغن خنثی شده با 1درصد خاک رنگبر فعال شده با اسید رنگبری شد. سپس تحت خلاء در دمای 220ºC بوگیری شد.

2- 3- اندازه گیری اسید های چرب

آماده سازی مشتق متیل استر اسیدهای چرب و آنالیز آنها با دستگاه کروماتوگرافی گازی بر اساس روش گزارش شده توسط آزادمرد دمیرچی و داتا [15] انجام گرفت. در حدود 10 میلی گرم روغن در 0/5 میلی لیتر هگزان در لوله آزمایش حل شده و سپس 2 میلی لیتر NaOH 0/01 مولار تهیه شده در متانول خشک به لوله آزمایش اضافه شد. لوله آزمایش حاوی محلولهای یاد شده در حمام آب 60ºC به مدت 10 دقیقه نگه داری گردید . سپس 3 میلی لیتر معرف BF3 افزوده و 10 دقیقه دیگر در حمام آب 60ºC نگهداری شد . بعد از انجام واکنش، لوله آزمایش یاد شده تحت جریان آب ، سرد شده و 2 میلی لیتر محلول نمک 20 % و 1 میلی لیتر هگزان اضافه شد . بعد از مخلوط کردن کامل ، سانتریفوژ کرده و لایه هگزان حاوی متیل استر های اسید های چرب جدا سازی گردید .

سپس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به ستون موئینی سیلیکانی BPX70 (SGE, AUSTIN, USA) با طول 50 متر وقطر 0/22 میلی متر با ضخامت فیلم 25 /0 میکرومتر برای جدا سازی متیل استر های اسید های چرب استفاده شد. دمای اولیه 158 ºC بود و با افزایش 2 درجه سانتی گراد در دقیقه به 220 درجه سانتی گراد رسید و در این دما 20 دقیقه نگهداری شد. دمای پورت تزریق 230ºC و دمای آشکار ساز 250ºC بود . همچنین تزریق به GC بصورت Split انجام گرفت.

2- 4- اندازه گیری استرول ها

عمل صابونی کردن و آنالیز استرول های نمونه های روغن بوسیله کروماتوگرافی گازی طبق روش آزادمرد دمیرچی و همکاران [17] و آزادمرد دمیرچی و داتا[10] انجام گرفت. همچنین شناسایی و تشخیص استرول ها بوسیله گاز کروماتوگرافی- اسپکتروفوتومتری جرمی طبق روش آزادمرد دمیرچی و داتا [10] انجام گرفت. همچنین تزریق به GC بصورت Split انجام گرفت.

2- 5- آنالیزتوکوفرول‌ها بوسیله کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)

آنالیز ویتامین توکوفرول‌ها طبق روش آزادمرد دمیرچی و داتا [15] انجام گرفت.

α- توکوفرول با دتکتور فلورسنس در طول موج 294 nm و 320 nm به ترتیب برای تحریک و نشر اندازه گیری شد . از محلول هپتان : ترت – بوتیل اتر : تترا هیدروفوران : متانول (2/0 :98 /0: 20 : 79) با سرعت 102 ml/min بعنوان فاز متحرک استفاده شد . مقدار α - توکوفرول در روغنها با استفاده از روش استاندارد خارجی محاسبه شد .

2- 6- ترانس استریفیکاسیون

ترانس استریفیکاسیون نمونه های روغن طبق روش اسچمار وهمکاران [19] انجام گرفت. مقدار 250 میلی گرم روغن در 2/5 میلی لیتر متیلات سدیم (10درصد در متانول) رقیق شده با ترت- بوتیل متیل اتر (4:6 v/v) حل شد و به خوبی مخلوط گشت. مخلوط به مدت نیم ساعت در دمای اتاق نگهداری شد بعد باز به خوبی بهم زده شد و برای بار دوم به مدت نیم ساعت نگهداری شد تا واکنش ترانس استریفیکاسیون کامل گردد. سپس 2 میلی لیتر آب و 5 میلی لیتر کلروفرم به مخلوط اضافه شد و به خوبی بهمزده شد و در 2000 rpm بمدت 2 دقیقه سانتریفوژ شد. سپس لایه آبی جدا و دور ریخته شد. برای خنثی

www.SID.ir

Archive of SID

سازی 2 میلی لیتر اسید سیتریک (1 درصد در آب) به فاز کلروفرمی باقیمانده اضافه شد و بعد از بهمزدن دوباره سانتریفوژ شد و فاز آبی جدا گردید. فاز کلروفرم باقیمانده تحت جریان نیتروژن خشک شد و باقیمانده در 1 میلی لیتر هگزان: دی اتیل اتر (9:1v/v) حل شد.

2- 7- جداسازی و غنی سازی POPs بوسیله SPE [1]

مقدار کمی سولفات سدیم روی SPE (1 گرم سیلیکا) ریخته شد وسپس با 5 میلی لیتر هگزان ستون شستشو داده شد. نمونه آماده سازی شده از مرحله ترانس استریفیکاسیون نیز بر ستون وارد شد. ناخالصی ها و فیتواسترول های اکسید نشده به ترتیب با 15 میلی لیتر و 10 میلی لیتر هگزان: دی اتیل اتر با نسبت های 9:1 و1:1 حجمی/ حجمی شستشو و جدا سازی شد. در نهایت بخش POPs با 10 میلی لیتر استون شسته شده و جمع آوری شد. مقدار 2 میکروگرم 5 آلفا – کلستن بعنوان استاندارد داخلی اضافه شد تا اندازه گیری کمی بر اساس آن انجام شود.

2- 8- آنالیز POPs بوسیله GC

آنالیزهای GC با دستگاه Varian Star 3400 Cx انجام گرفت. در این دستگاه از آشکارگر یونش شعله ای و ستون DB5-MS (10 متر , 0/18 میلی متر , 0/18 میکرومتر) استفاده شد. دمای تزریق کننده و آشکارگر به ترتیب 260˚C و310˚C بود. شرایط دمای اون 60˚C بمدت1 دقیقه سپس افزایش با سرعت 50˚C / min تا 260˚C وماندن بمدت 5 دقیقه در این دما و سپس افزایش 1 ˚C/min تا دمای نهایی 280˚C و ماندن بمدت 10 دقیقه بود. هلیم نیز به عنوان گاز حامل استفاده شد. تزریق به GC بصورت Split/ Splitless انجام گرفت.

2- 9- آنالیز POPs با GC-MS

برای شناسایی POPs , آنالیز GC-MS بوسیله گاز کروماتوگرافی GC 8000 Top همراه با اسپکتروفتومترجرمی Voyager انجام شد. ستون و شرایط آنالیز همانند شرایط توضیح داده شده برای GC بود. اسپکتروفتومتر جرمی کامل در نوع یونش الکترونی مثبت (EI^+) در انرژی الکترون 70 ev و دمای منبع یون 200 ˚C انجام گرفت. POPs بر اساس اسپکتروفتومتری جرمی گزارش شده در مقالات چاپ شده شناسایی شدند [15، 20 و 21]. تزریق به GC بصورت Splitless / Split انجام گرفت.

2- 10- کارهای آماری

تمامی آزمایشات و اندازه گیری ها در سه تکرار انجام گرفته و با استفاده از نرم افزار Excel میانگین داده ها، انحراف معیار و CV محاسبه شد.

3- نتایج و بحث

در این تحقیق نمونه روغن فندق در معرض فرآیند تصفیه (صمغ گیری، خنثی سازی، رنگبری و بوگیری) قرار گرفت و اثرات تصفیه بر روی اسیدهای چرب، مقدار فیتواسترول‌ها، POPs، و توکوفرول‌ها مورد مطالعه قرار گرفت.

مهمترین اسید های چرب اندازه‌گیری شده در روغن فندق شامل، اسید اولئیک (C18:1)، اسید لینولئیک (C18:2)، اسید لینولنیک (C18:3)، اسید پالمیتیک (C16:0)، اسید استئاریک (C18:0)، اسید آراشیدیک(C20:0) و اسید ایکوزنوئیک (C20:1) می باشد که در بین اسید های چرب اندازه گیری شده اسید اولئیک بیشترین مقدار (80%) را به خود اختصاص می دهد. این نتایج با یافته های فتحی و همکاران [9] موافقت دارد. در آن مطالعه اسیدهای چرب روغنهای فندق از نواحی مختلف ایران آنالیز شده بود. همچنین نتایج حاصله از این مطالعه نشان دادند که فرآیندهای تصفیه اثر خیلی ناچیزی بر روی ترکیب اسیدهای چرب دارد (جدول1).

چهار فیتواسترول عمده در روغن فندق بوسیله GC و GC-MS شناسایی و اندازه گیری شد (جدول 2). سیتواسترول بیشترین مقدار(1167ppm) را داشت و بعد از

1. Solid Phase Extraction

www.SID.ir

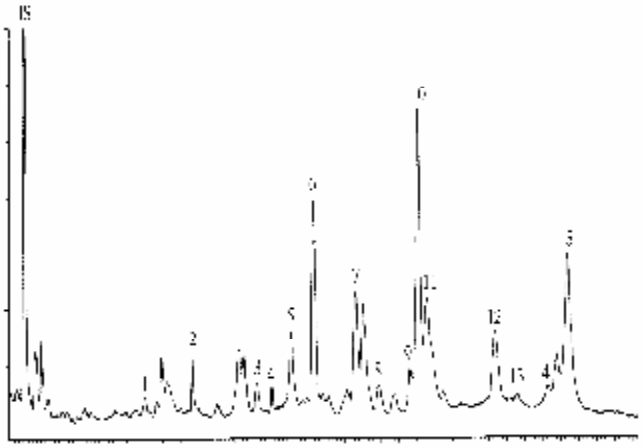
Archive of SID

آن بـــه ترتیـــب دلتـــا 5- آونـــا اســـترول(108ppm)، کامپسترول(82ppm) و اسـتیگما اسـترول (13ppm) قـرار داشتند (جدول 2). این نتایج با یافته های فتحی و همکاران [9] مطابقت دارد.

فیتواسترول ها بیشترین کاهش را در طول مراحل خنثی سازی و رنگبری داشتند. کاهش فیتواسترول ها در طول تصفیه انتخابی نبود، یعنی مقدار فیتواسترول ها با توجه به میزان کل آنها، کاهش را نیز داشتند بطوریکه بعد از آخرین مرحله تصفیه نسبت و درصد آنها در فیتواسترول کل مشابه قبل از تصفیه و در روغن خام بود (جدول2). مطالعات قبلی نیز نشان داده بودند که تصفیه روغنهای خوراکی موجب کاهش فیتواسترولها می‌شود [16 و 18].

POPs معمولا در مقادیر کـم در غـذاها و روغـن هـای گیاهی وجود دارد. در روغنهای گیاهی خام مقدار POPs از دامنه 2-70ppm متغییر است که بستگی به نـوع، منـشاء و شرایط استخراج دارد [15]. بنابراین، غنی سازی آنها قبل از آنالیز بوسیله GC یا GC-MS ضروری می باشـد. اولـین مرحله در تعیین POPs، ترانس استریفیکاسیون یا صـابونی کردن سرد نمونه های روغن یا چربی می باشد. اسـچمار و همکاران [19] ترانس استریفیکاسیون را به جـای صـابونی کردن سرد قبـل از جداسـازی و غنـی سـازی محـصولات اکـسیداسیونی فیتواســترول‌هــا معرفــی کردنــد. تــرانس استریفیکاسیون وقت کمی (60 دقیقه) را می گیرد و انجـام آن آسان بوده و هیچ گونه ترکیبی مداخله کننده در آزمایش در طول واکنش تشکیل نمی شـود [19]. بنـابراین در ایـن تحقیق، از روش ترانس استریفیکاسیون استفاده شد.

در این تحقیق، بعد از ترانس استریفیکاسیون، POPs با روش SPE جداسازی و غنی سازی شد وبعد از آن با GC و GC-MS آنالیز شد[15]. در این تحقیق 14 نوع محصول اکسیداسیونی مختلف فیتواسترول‌ها با منشاء سیتواسترول، کامپسترول و استیگماسترول بوسیله GC-MSشناسایی شدند. شکل 1 الگوی جداسازی POPs را در روغن خام فندق نشان می دهد. مقدار کلیPOPs در نمونه روغن فندق 10/6ppm بود که با نتایج منتشر شده قابل مقایسه می باشد [18 و21].



شکل 1 کروماتوگرام آنالیز مشتقات اتری تری متیل سیلیل (TMS) محصولات اکسیداسیونی فیتو استرول های روغن خام فندق بوسیله GC-MS

IS, Internal standard; 1, 7α-hydroxycampesterol; 2, 7α-hydroxysitosterol; 3, 24-hydroxycampesterol; 4, β-sitosterol ; 5, 7β-hydroxysitosterol; 6, 6β-hydroxysitostanol; 7, campestanetriol; 8, 25-hydroxysitosterol; 9, 5α,6α-epoxysitosterol; 10, sitostanetriol; 11, 24-ethylcholest-4-ene-6β-ol-3-one; 12, 7-ketocampesterol; 13, 7-ketostigmasterol; 14, 24-ethylcholest-4-ene-6α-ol-3-one; 15, 7-ketositosterol.

مقدار POPs برای برخی از روغنهـای تجـاری موجـود گزارش شده است: روغن بادام زمینـی (7/1ppm)، روغـن زیتـون (7/7ppm)، روغـن ذرت (4/3ppm) [20]. در مطالعه دیگر مقدار POPs برای برخـی از روغنهـای خـام گیاهی که تحت فرآیند تصفیه قرار گرفته است، اندازه گیری شـــده اســـت: روغـــن بـــادام‌زمینـــی (2/6-9/6ppm)، روغـــن‌آفتـــابگردان (4/5-67/5ppm) روغـــن زیتـــون (1/5-2/5ppm)، روغـــــن ذرت (4/1-60/1ppm) [18 و21]. تقریبا در تمام روغن های آنالیز شـده، اکـسید هـای فیتواسترول بویژه مـشتقات 7α- and 7β–hydroxyl از ا سترولهای اصلی و 7-keto-β-sitosterol وجود داشتند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول 1 اثرات مراحل مختلف تصفیه بر اسیدهای چرب(%) روغن فندق

اسید های چرب	خام	صمغ گیری شده	خنثی سازی شده	رنگبری شده	بوگیری شده
پالمیتیک اسید	5,8	5,5	5,5	5,0	5,0
اسید استئاریک	1,9	1,8	1,7	1,6	1,6
اسید اولئیک	78,6	78,0	77,9	77,5	77,6
اسید لینولئیک	12,9	12,8	12,8	12,9	12,9
اسید لینولنیک	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1
اسید آراشیدیک	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
اسید ایکوزنوئیک	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1

جدول2 اثرات مراحل مختلف تصفیه بر مقدار فیتواسترول‌ها(ppm) روغن فندق

ترکیب	RRT[1]	خام	صمغ گیری شده	خنثی شده	رنگبری شده	بوگیری شده
کامپسترول	1,52	82,3 (6,0)[2]	80,5 (6,0)	76,5 (6,1)	66,2 (6,2)	65,1 (6,1)
استیگمااسترول	1,59	12,9 (0,9)	12,4 (0,9)	10,9 (0,9)	8,6 (0,8)	8,3 (0,8)
سیتواسترول	1,71	1166,7 (85,2)	1151,3 (85,4)	1073,8 (85,4)	909,2 (84,8)	901,4 (85,09)
Δ5-آوناسترول	1,74	107,9 (7,9)	103,8 (7,7)	96,7 (7,7)	87,8 (8,2)	86,2 (8,1)
کل		1369,8	1348,0	1257,9	1071,8	1061,0

1- زمان ماندگاری نسبی نسبت به استاندارد داخلی (5α-cholestane)، تعیین شده در سه تکرار (2>%CV)

2- اعداد داخل پرانتز به درصد نوشته شده است.

جدول4 اثرات مراحل تصفیه بر مقدار توکوفرول(ppm) روغن فندق

توکوفرول	خام	صمغ گیری شده	خنثی سازی شده	رنگبری شده	بوگیری شده
آلفا	243,8 (72,9)[1]	241,4 (72,9)	198,9 (71,4)	138,3 (68,0)	126,1 (68,9)
بتا	10,7 (3,2)	10,6 (3,2)	8,1 (2,9)	6,4 (3,1)	5,5 (3,0)
گاما	74,5 (22,3)	73,9 (22,3)	67,3 (24,2)	54,9 (27,0)	48,3 (26,4)
دلتا	5,4 (1,6)	5,4 (1,6)	4,2 (1,5)	3,8 (1,9)	3,1 (1,7)
کل	334,4	331,3	278,5	203,4	183,0

1. اعداد داخل پرانتز به درصد نوشته شده است. تعیین شده در سه تکرار (3>%CV)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول3 اثرات مراحل تصفیه بر مقدارمحصولات اکسیداسیونی فیتواسترول‌ها(ppm) روغن فند

ترکیب	RRT[1]	خام	صمغ گیری شده	خنثی سازی شده	رنگبری شده	بوگیری شده
7α-Hydroxycampesterol	1,33	0,30 (2,84)[2]	0,21 (2,17)	0,15 (2,33)	0,11 (2,85)	0,10 (3,13)
7α-Hydroxysitosterol	1,46	0,56 (5,30)	0,45 (4,64)	0,24 (3,73)	0,15 (3,87)	0,12 (3,76)
24-Hydroxycampesterol	1,63	0,26 (2,46)	0,25 (2,58)	0,17 (2,64)	0,10 (2,59)	0,10 (3,13)
7β-Hydroxysitosterol	1,73	0,47 (4,45)	0,41 (4,23)	0,28 (4,35)	0,15 (3,87)	0,10 (3,13)
6β-Hydroxysitostanol	1,79	1,72 (16,27)	1,42 (14,65)	0,69 (10,73)	0,68 (17,62)	0,63 (19,75)
Campestanetriol	1,90	0,98 (9,27)	0,95 (9,80)	0,64 (9,95)	0,43 (11,14)	0,40 (12,54)
25-Hydroxysitosterol	1,96	0,32 (3,03)	0,33 (3,14)	0,20 (3,11)	0,13 (3,37)	0,10 (3,13)
5α,6α-Epoxysitosterol	2,00	0,85 (8,04)	0,80 (8,26)	0,53 (8,24)	0,21 (5,44)	0,13 (4,07)
Sitostanetriol	2,07	1,92 (18,16)	1,92 (19,81)	1,80 (27,99)	0,80 (20,72)	0,5 (15,67)
24-Ethylcholest-4-ene-6β-ol-3-one	20,10	0,40 (3,78)	0,36 (3,71)	0,16 (2,49)	0,12 (3,11)	0,10 (3,13)
7-Ketocampesterol	2,28	0,66 (6,24)	0,58 (5,99)	0,21 (3,27)	0,13 (3,37)	0,10 (3,13)
7-Ketostigmasterol	2,34	0,15 (1,42)	0,13 (1,34)	0,10 (1,55)	ناچیز	ناچیز
24-Ethylcholest-4-ene-6α-ol-3-one	2,41	0,14 (1,32)	0,12 (1,24)	0,10 (1,55)	ناچیز	ناچیز
7-Ketositosterol	2,48	1,84 (17,41)	1,76 (18,16)	1,16 (18,04)	0,85 (22,02)	0,81 (25,39)
کل		10,57	9,69	6,43	3,86	3,19

1- زمان ماندگاری نسبی نسبت به استاندارد داخلی (5α-cholestane)، تعیین شده در سه تکرار (%CV<5)

2- اعداد داخل پرانتز به درصد نوشته شده است.

مقدار کل محصولات اکسیداسیونی فیتواسترول ها در روغن خام 11 ppm بود که بعد از تصفیه در روغن تصفیه شده به 3 ppm رسید. بیشترین کاهش، در مراحل خنثی سازی ورنگبری رخ داد بطوریکه این کاهش در حدود 35% در طول خنثی سازی و25% درطول رنگبری بود. در بین محصولات اکسیداسیونی در روغن خام، بیشترین مقدار را سیتواسترول (18%) و 7- کتوسیتو استرول (17%) و 6 بتا – هیدروکسی سیتواسترول(16%) داشتند (جدول 3) مطالعات قبلی نیز نشان داده است که تصفیه روغن‌های خوراکی می‌تواند موجب کاهش در مقدار محصولات اکسیداسیونی استرول‌ها شود[18 و21].

چهار نوع توکوفرول در روغن فندق بوسیله HPLC شناسایی و اندازه گیری شد. در روغن آنالیز شده، آلفاتوکوفرول بیشترین مقدار (244ppm) را داشت و بعد از آن به ترتیب گاما توکوفرول (75ppm) و بتاتوکوفرول (11ppm) و دلتا توکوفرول (5ppm) بود. به فعالیت آنتی اکسیداسیونی آلفا، بتا، گاما و دلتا به ترتیب افزوده شده و از خاصیت ویتامینی آن کاسته می شود. بر اساس نتایج بدست

www.SID.ir

Archive of SID

آمده، روغن فندق، بدلیل مقدار بالای آلفا-توکوفرول دارای خاصیت ویتامین E بالایی است هر چند به علت وجود نسبتا بالای آلفا و گاما توکوفرول، از خصوصیات آنتی اکسیداسیونی توکوفرول ها در روغن فندق نبایدچشم پوشی کرد. مطالعات قبلی نیز نشان دادند که آلفا توکوفرول بیشترین مقدار را در بین توکوفرولها در روغن های فندق آنالیز شده از مناطق مختلف ایران را دارا بود [9].

همانند فیتواسترول ها و محصولات اکسیداسیونی آنها، خنثی سازی و رنگبری بیشترین تاثیر را در کاهش توکوفرول ها داشت(جدول 4). در کل، توکوفرول به میزان 45% در صد در طول مراحل تصفیه از روغن جداسازی می شود. باید توجه داشت با توجه به نتایج بدست آمده، کاهش توکوفرول ها نیز همانند فیتواسترول ها انتخابی نبود و نسبت های توکوفرول ها نسبت به میزان کل آنها در تمام مراحل تصفیه تقریبا مشابه می باشد (جدول4). مطالعات قبلی نیز نشان داده است که در طول تصفیه توکوفرول‌ها تا حدی از روغن جداسازی می‌شوند[16].

4- نتیجه‌گیری

در این مطالعه با استفاده از روشی سریع و آسان SPE محصولات اکسیداسیونی روغن فندق در مراحل مختلف تصفیه، جداسازی و با کروماتوگرافی گازی از لحاظ کمی وکیفی تعیین شد. نتایج نشان داد که همانند سایر ترکیبات جزیی موجود در روغن فندق (توکوفرول‌ها، استرول‌ها) محصولات اکسیداسیونی استرول‌ها نیز در طول تصفیه کاهش می‌یابند.

5- منابع

[1] Crews,C., Hough, P., Godward, J., Brereton, P., Lees, M., Guiet, S., and Winkelmann,W.(2005). Study of the main constituents of some authentic hazelnut oils. J. Agric. Food Chem., 53:4843- 4852.

[2] Carlos Bada, J., Leon- Camacho, M., Prieto, M., and Alonso, L. (2004). Characterization of oils of hazelnut oils from Asturias, Spain, J. Lipid Sci. Technol. 106: 294-300.

[3] Alasalvar, C., Shahidi F., Liyanapathirana, C.M., and Ohshima, T. (2003). Turkish Tombul hazelnut (*Corylus avellana L.*).1.Compositional characteristics. J. Agric. Food Chem., 51: 3790- 3796.

[4] Alasalvar, C., Shahidi, F., Ohshima, T., Wanasundara,U., Yurttas,H.C., Liyanapathirana,C.M., and Rodrigues, F.B.(2003). Turkish Tombul hazelnut (*Corylus avellana L.*). 2. Lipid Characteristics and oxidative stability. J. Agric. Food Chem., 51: 3797- 3805.

[5] Thompson, L.U. (1994). Antioxidant and hormone-mediated health benefits of whole grains. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 34: 473-497.

[6] Parcerisa, J., Richardson, Daryl G., Rafecas,M.,Codony,R., and Boatella,J. (1998). Fatty acid, tocopherol and sterol content of some hazelnut varieties (*Corylus avellana L.*) harvested in Oregon (USA). J. Chrom. A., 805: 259- 268.

[7] Ackurt, F., Ozdemir, M., Biringen, G., and Loker, M. (1999). Effects of geographical origin and variety on vitamin and mineral composition of hazelnut (*Corylus avellana L.*) varieties cultivated in Turkey. Food Chem., 65: 309- 313.

[8] Parcerisa, J., Richardson, Daryl G., Rafecas,M.,Codony,R., and Boatella,J. (1997). Fatty acid distribution in polar and nonpolar lipid classes of hazelnut oil (*Corylus avellana L.*). J. Agric. Food Chem., 45: 3887- 3890.

[9] Fathi-Achachlouei, B., Azadmard-Damirchi, S., Seyedsharifi, R., Asghari Zakaria, R., and Sirousazar, M. (2007). Chromatographic measurement of fatty acids, sterols and vitamin E in hazelnuts grown in selected area of Iran. J. Agric. Sci., 17(1):99-107.

[10] Azadmard-Damirchi S, and Dutta,P.C .(2006). Novel solid-phase extraction method to separate 4-desmethyl-, 4-

www.SID.ir

Archive of SID

[16] O ´ Brien RD (2003). Fats and oils: formulating and processing for application. CRC Press, Florida, pp 57–174.

[17] Azadmard-Damirchi, S., Savage, G. P., and Dutta,P.C. (2005). Sterol fractions in hazelnut and virgin olive oils and 4,4'-dimethylsterols as possible markers for detection of adulteration of virgin olive oil. J. Am. Oil Chem. Soc., 82: 717- 725.

[18] Bortolomeazzi R, Cordaro F, Pizzale L, and Conte LS. (2003). Presence of phytosterol oxides in crude vegetable oils and their fate during refining. J. Agric. Food Chem., 51:2394–2401.

[19]Schmarr,H.G.,Gross,H.B.&Shibamoto,T. (1996). Analysis of polar cholesterol oxidation products: Evaluation of a new method involving transesterification , solid phase extraction and gas chromatography. J. Agric. Food Chem., 44,512-517.

[20] Johnsson L, and Dutta PC, 2003. Characterization of side-chain oxidation products of sitosterol and campesterol by chromatographic and spectroscopic methods. J. Am. Oil Chem. Soc., 80:767–776

[21] Lambelet P, Grandgirard A, Gregoire S, Juaneda P, Sebedio JL, and Bertoli C. (2003). Formation of modified fatty acids and oxyphytosterols during refining of low erucic acid rapeseed oil. J. Agric. Food Chem., 51:4284–4290.

monomethyl-, and 4,4'-dimethylsterols in vegetable oils. J. Chrom. A., 1108: 183-187.

[11] Hicks, K.B.and Moreau, R.A. (2001). Phytosterols and phytostanols: Functional food cholesterol busters. Food Technol., 55(1), 63-67.

[12] Hollingsworth, P. (2001). Margarine: the over – the top functional food. Food Technol., 55(1), 59-62.

[13] Savage, G. P., McNeil, D. L. and Dutta, P. C.(1997). Lipid composition and oxidative stability of oils in hazelnuts (Corylus avellana L.) grown in New Zealand. J. Am. Oil Chem. Soc., *74*: 755-759.

[14] Dutta PC, 2004. Chemistry, analysis, and occurrence of phytosterol oxidation products in foods. Pp 397–418. In: Dutta PC (ed) Phytosterols as functional food components and nutraceuticals. Marcel Dekker, Inc., New York.

[15] Azadmard-Damirchi S, and Dutta PC, 2008. Stability of minor lipid components with emphasis on phytosterols during chemical interesterification of a blend of refined olive oil and palm stearin. J. Am. Oil Chem. Soc., 85, 13-21.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of effects of refining processes on minor compounds of hazelnut oil

Fathi Achachlouei, B.[1*], Azadmard Damirchi, S. [2], Hesari, J. [2]

1- Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2- Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz
(Received:87/4/20 Acceped:88/6/15)

Hazelnut is a rich source of energy and contains 40-60% lipid. Because of its high oil content, essential fatty acids, phytosterols, antioxidants and minerals has a high nutritional value. However, phytosterol oxidation products (POPs) may have negative effects on health. In this study, effects of hazelnut oil refining were studied on fatty acid composition, phytosterols, POPs and tocopherols. Fatty acid composition, phytosterols and POPs after separation and enrichment with solid phase extraction (SPE) were analyzed with gas chromatography (GC) and tocopherols determined with high performance liquid chromatography (HPLC). Refining processes had negligible effects on fatty acid composition of analyzed hazelnut oil sample. However, refining processes had noticeable effects on phytosterols, POPs and tocopherols. In the refined oil, total amount of phytosterols, POPs and tocopherols were reduced from 1369.8 ppm, 10.57 ppm and 334.4 ppm to 1061 ppm, 3.19 ppm and 183 ppm, respectively.

Keywords: Phytosterols, phytosterol oxidation products, tocopherols, fatty acids, chemical refining, hazelnut oil

* Corresponding Author E-mail address: bahram1356@yahoo.com

www.SID.ir