



## کاربرد شاخص دی‌ان مزدوج به عنوان معیاری از پیشرفت اکسایش گردو

\*حامد حسینی<sup>۱</sup>، محمد قربانی<sup>۲</sup>، علیرضا صادقی ماهونک<sup>۳</sup> و یحیی مقصدلو<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، <sup>۲</sup>استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، <sup>۳</sup>دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۱۷

### چکیده

چربی‌ها و روغن‌ها به اکسایش آسیب‌پذیر هستند و شیوه‌های تجزیه‌ای برای سنجش پیشرفت اکسایش آن‌ها مورد نیاز است. روش‌های طیف‌سنجی نوری، یدسنجی و رنگ‌سنجی می‌توانند برای اندازه‌گیری مراحل اولیه اکسایش چربی استفاده شوند. در این مطالعه نمونه‌های گردو جهت ارزیابی همبستگی بین دو شاخص عدد پراکسید و عدد دی‌ان مزدوج انتخاب گردید و در دو حالت پوسته‌دار یا فاقد پوسته سخت در دمای ۶۲، ۷۲ و ۸۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. برخی از مشخصات شیمیائی و فیزیکی روغن گردو تعیین شد. اندازه‌گیری دی‌ان‌های مزدوج روغن گردو به روش طیف‌سنجی نوری توسط خواندن جذب فرابنفش در طول موج ۲۳۳ نانومتر انجام شد. عدد پراکسید به روش مرسوم تیتراسنجی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که عدد پراکسید، عدد دی‌ان مزدوج و اسیدیته گردو تازه به ترتیب ۰/۳ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن گردو، ۴/۳۵۴ میکرومول بر گرم روغن گردو و ۰/۶۴ درصد بر حسب اسید اولئیک بود. معادلات خطی درجه اول با ضریب همبستگی ۰/۹۸ و ۰/۹۹ رابطه بین عدد پراکسید و عدد دی‌ان مزدوج در روغن استخراج شده از گردو کامل و مغز گردو را طی نگهداری در دماهای متفاوت (۶۲، ۷۲ و ۸۲ درجه سانتی‌گراد) بیان نمودند. یک معادله کلی برای بیان رابطه بین دو شاخص دی‌ان مزدوج و پراکسید استفاده شد، زیرا تفاوت شیب و عرض از مبدا این معادلات در هر سه دما و برای هر دو حالت نمونه گردو معنی‌دار نشد.

واژه‌های کلیدی: گردو، اکسایش روغن، عدد پراکسید، عدد دی‌ان مزدوج

\* مسئول مکاتبه: [hosseini\\_hamed63@yahoo.com](mailto:hosseini_hamed63@yahoo.com)

## مقدمه

چربی‌ها ماکروملکول‌های مهم در مواد غذایی هستند. شاخص تغذیه‌ای یک محصول غذایی علاوه بر طعم، بافت، پذیرش کلی و عمر ماندگاری تحت تاثیر ترکیبات چربی موجود در ماده غذایی می‌باشد (رولستاد و همکاران، ۲۰۰۵). ویژگی‌های اساسی شامل عمر ماندگاری و کیفیت تغذیه‌ای برای مواد غذایی معین، همانند روغن‌های خوراکی، به منبع آن‌ها وابسته است. دانستن کیفیت چربی قبل از ارسال محصول به بازار یا استفاده در تهیه مواد غذایی برای تولیدکننده اهمیت اقتصادی دارد. چربی‌ها به اکسایش آسیب‌پذیر هستند، از این رو شیوه‌های تجزیه‌ای برای اندازه‌گیری کیفیت آن‌ها مورد نیاز است. روش‌های طیف‌سنجی (اسپکتروفوتومتری)، یدسنجی (یدومتریک) و رنگ‌سنجی (کالرومتری) می‌تواند برای اندازه‌گیری مراحل اولیه اکسایش چربی استفاده شود (شهیدی، ۲۰۰۵).

اکسایش چربی تنها عامل طعم‌های نامطبوع در مواد غذایی نیست اما می‌تواند انواع اکسیژن فعال مضر را تولید کند که ممکن است منجر به ایجاد سرطان و پیری در انسان شود (فراری و تورس، ۲۰۰۳). در طی واکنش‌های اکسایش، رادیکال‌های آلکیل تشکیل شده بعلت تثبیت رزونانسی (تمایل الکترون‌ها برای قرار گرفتن در پایدارترین حالت فضایی) دچار یک تغییر در موقعیت باندهای دوگانه می‌شوند و در نتیجه آن هیدروپراکسیدهای مشابه (ایزومری) که اغلب حاوی پیوندهای دوگانه مزدوج هستند تشکیل می‌شوند (فن‌نما، ۱۹۹۶). در شیمی آلی اصطلاح دی‌ان مزدوج مربوط به دو پیوند دوگانه می‌باشد که توسط یک پیوند یگانه از هم مجزا شده‌اند. این ساختار برای اسیدهای چرب چند غیراشباعی غیر معمول است بطوری‌که آن‌ها دارای ساختار دی وینیل متان (غیر مزدوج) می‌باشند. بنابراین بطور کلی پذیرفته شده که وجود دی‌ان‌های مزدوج در چربی‌ها نشان دهنده بروز اکسایش روغن است. تشخیص دی‌ان‌های مزدوج در چربی‌های غیر اشباع یک آزمون حساس است، اما مقدار تغییرات در جذب به سادگی با مقدار اکسایش مرتبط نیست و تعداد اسیدهای چرب غیر اشباع بر روی آن موثر است (گری، ۱۹۷۸). برای تشکیل دی‌ان‌های مزدوج، نمونه‌های چربی حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع با حداقل دو باند دوگانه مورد نیاز است. مهمترین اسید چرب از این گروه در مواد غذایی اسید لینولئیک است.

روش دی‌ان مزدوج نسبت به تعیین شاخص پراکسید سریع‌تر، ساده‌تر، مستقل از واکنش‌های شیمیایی یا توسعه رنگ بوده و به مقدار نمونه کمتر نیاز دارد. روغن‌های حاوی کاروتنوئید جذب بیش از انتظار در طول موج ۲۳۳ نانومتر نشان می‌دهند که علت آن وجود باندهای دوگانه در ساختارهای

مزدوج کاروتنوئیدها می‌باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که هیدروژناسیون روغن‌ها به علت افزایش دی‌ان‌های مزدوج در طی این فرایند باعث افزایش جذب در طول موج ۲۳۳ نانومتر می‌شود (رولستاد و همکاران، ۲۰۰۵). محققین مختلف به بررسی ارتباط بین میزان دی‌ان‌های مزدوج و هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در طی نگهداری نمونه‌های متفاوت در شرایط مختلف پرداخته‌اند. در طی یک مطالعه جهت ارزیابی پایداری اکسایشی روغن نارگیل در حضور و عدم حضور آنتی‌اکسیدان به مدت ۴۰ روز در آون با دمای ۶۳ درجه سانتی‌گراد شاخص‌های شیمیائی شامل عدد پراکسید، قابلیت جذب ویژه دی‌ان‌های مزدوج و تری‌ان‌های مزدوج اندازه‌گیری شد (رحمان و همکاران، ۲۰۱۱). تکین و همکاران (۲۰۰۹) در طی ارزیابی کارایی حرارتی روغن فندق، روغن میوه زیتون، روغن دانه انگور و روغن آفتاب‌گردان جهت سرخ‌کردن نشان دادند که افزایش در مقدار دی‌ان‌های مزدوج با دریافت اکسیژن و تشکیل پراکسیدها طی مراحل اولیه اکسایش و تشکیل حرارتی الیگومرها و پلیمرها متناسب می‌باشد. نپوته و همکاران (۲۰۰۹) پس از ارزیابی رابطه بین پذیرش نهایی و شاخص‌های شیمیائی در بادام زمینی آرژانتینی رابطه منفی را بین خواص حسی و افزایش شاخص‌های پراکسید و دی‌ان مزدوج گزارش کردند. محققان همبستگی بالایی را بین دریافت اکسیژن، شاخص پراکسید، دی‌ان مزدوج و زمان نگهداری در روغن سویای حاوی آنتی‌اکسیدان و پراکسیدان و در شرایط نور و تاریکی گزارش نمودند (چانگ و همکاران، ۲۰۰۴). علاوه بر این همبستگی بین ترکیبات قطبی و شاخص پراکسید در روغن آفتاب‌گردان در طی نگهداری در دماهای متفاوت مطرح شده بود (کراپیسته و همکاران، ۱۹۹۹). فرهوش و موسوی (۲۰۰۹) در طی بررسی کارایی دو شاخص شیمیائی در ارزیابی کیفیت روغن‌های سرخ‌کردنی اذعان داشتند که همبستگی مناسبی (۹۸ درصد) بین عدد دی‌ان مزدوج و درصد ترکیبات قطبی وجود دارد. گزارش شده که در طی سرخ‌کردن روغن‌ها در دمای بالا همبستگی کمی بین شاخص پراکسید و دی‌ان مزدوج وجود دارد زیرا در دمای بالا مقداری از پراکسیدها تجزیه می‌شود و با کاهش دما مقداری پراکسید تشکیل می‌شود (آگوستین و بری، ۱۹۸۳). محققین رابطه بین تغییرات در شاخص پراکسید و دی‌ان مزدوج را طی اکسایش روغن آفتاب‌گردان با درجه متفاوت غیر اشباعی بررسی نمودند و ضریب همبستگی بالایی بین شاخص‌های پراکسید و دی‌ان مزدوج برای درجه‌های متفاوت اشباعیت مشاهده کردند (مارمسات و همکاران، ۲۰۰۹).

شرط تشکیل باندهای دی‌ان مزدوج وجود اسیدهای چرب با دو باند دوگانه می‌باشد و روغن گردو نیز حاوی مقدار بالایی (۵۰-۶۲ درصد) اسید لینولئیک (مارتینز و همکاران، ۲۰۰۶؛ مهران،

۱۹۷۴) است، بنابراین می‌توان تعیین عدد دی‌ان مزدوج را با روش تعیین عدد پراکسید، که به مقدار زیاد نمونه روغن و مواد شیمیائی مضر نیاز دارد، جایگزین نمود. بنابراین هدف از این پژوهش به‌دست آوردن یک رابطه بین عدد پراکسید و عدد دی‌ان مزدوج می‌باشد که با استفاده از آن بتوان، بدون تعیین عدد پراکسید، میزان کیفیت نمونه گردو را با یک روش ساده و با مصرف مقدار کمتر نمونه تعیین نمود. قابل ذکر است که پژوهش مشابه برای گردو یافت نگردید.

### مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده: کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت‌های مرک<sup>۱</sup> و اپلیکم<sup>۲</sup> تهیه شدند. نمونه‌های گردو پوست کاغذی در اواسط شهریور سال ۱۳۸۹ به پیشنهاد جهاد کشاورزی استان خراسان رضوی از یک باغ مشخص جمع‌آوری شد. رطوبت نمونه‌ها به روش مرسوم خشک کردن در سایه (دمای  $26 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۳۳ تا ۳۵ درصد به مدت ۱۰ روز) به حدود ۳ درصد رسانده شد (لوپز و همکاران، ۲۰۰۵).

**روش نگهداری گردو:** جهت تسریع واکنش‌های اکسایش و کاهش زمان نگهداری، نمونه‌های گردو و مغز گردو بر روی سینی‌های استیل ضد زنگ در داخل آون (ممرت، UFE ۵۰۰، آلمان) در دمای ۶۲، ۷۲ و ۸۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ روز نگهداری شد. نمونه‌برداری تصادفی در دمای ۶۲ درجه سانتی‌گراد هر سه روز، در ۷۲ درجه سانتی‌گراد هر ۲ روز و در ۸۲ درجه سانتی‌گراد هر روز انجام گرفت (لوپز- دوآرت و ویدال- کوئینتانر، ۲۰۰۹).

**استخراج روغن مغز گردو:** جهت استخراج روغن، ۳۰ گرم نمونه گردو توسط یک چاقوی استیل خرد شده و به مدت ۱۲ ساعت در دمای محیط (۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد)، داخل ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال دی‌اتیل‌اتر قرار گرفت و پس از دربندی کامل با درپوش‌های پلاستیکی مقاوم به حلال آلی، در تاریکی نگهداری شد. بعد از ۱۲ ساعت، مخلوط کنجاله و میسلا توسط کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شده و جهت تغلیظ روغن از یک تبخیرکننده در خلاء چرخان<sup>۳</sup>

---

1- Merck  
2- Applichem  
3- Rotary vacuum Evaporator

(IKA, RV05 Basic, آلمان) تحت خلا مجهز به حمام آب الکتریکی (IKA, HB 4 Basic, آلمان) استفاده گردید. نمونه روغن حاصل فوراً جهت انجام آزمایش‌های شیمیایی مورد استفاده قرار گرفت. تجزیه شیمیایی: بلافاصله بعد از انتقال نمونه‌های گردو به آزمایشگاه، مقدار رطوبت، پروتئین خام، چربی کل، فیبر خام و مقدار خاکستر نمونه‌های گردو بر طبق روش‌های استاندارد (AOAC, 2005) تعیین شد و مقدار کربوهیدرات به روش محاسبه‌ای تعیین گردید. برای تعیین نسبت مغز به گردو، پوسته سخت 5 کیلوگرم گردو کامل توسط گردو شکن جدا گردید سپس پوسته‌ها و مغزها به طور جداگانه وزن شدند. عدد پراکسید به روش تیترسنجی با استفاده از اسید استیک و کلروفرم با نسبت 3 به 2 به عنوان حلال و در حضور محلول 0/01 نرمال تیوسولفات سدیم مطابق روش استاندارد جامعه متخصصان شیمی روغن آمریکا<sup>1</sup> (2003) تعیین شد. شاخص اسید تیوباریتوریک براساس روش استاندارد جامعه متخصصان شیمی روغن آمریکا (2009) توسط طیف‌سنج نوری با استفاده از بوتانول به‌عنوان حلال نمونه روغن و خواندن مقدار جذب در طول موج 530 نانومتر، تعیین شد. ضریب شکست و اسیدیته روغن گردو بر اساس روش‌های مرجع جامعه متخصصان شیمی روغن آمریکا (1998) و شاخص‌های دی و تری‌ان مزدوج براساس روش اتحادیه بین‌المللی شیمی محض و کاربردی<sup>2</sup> (IUPAC, 1987) به‌ترتیب در طول موج 233 و 268 نانومتر با استفاده از ایزواکتان به‌عنوان حلال روغن تعیین شد. بر طبق این روش مقدار 0/1 تا 0/3 گرم روغن با حلال ایزواکتان مخلوط گردید و مقدار جذب محلول حاصل در طول موج 233 و 268 نانومتر به‌ترتیب به‌منظور تعیین مقدار باندهای دی و تری‌ان مزدوج قرائت گردید.

### تجزیه و تحلیل آماری

کلیه مراحل این پژوهش، از ابتدا تا انتها، در سه تکرار انجام گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو متغیر شامل وجود پوسته گردو و دما انجام شد و مقایسه LSD توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد بوسیله نگارش 9 نرم‌افزار سیستم تجزیه و تحلیل آماری<sup>3</sup> و رسم نمودار توسط نرم‌افزار اکسل<sup>4</sup> صورت گرفت.

- 1- American Oil Chemists Society
- 2- International Union of Pure and Applied Chemistry
- 3- Statistical Analyses System (SAS)
- 4- Excel

## نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی گردو: ترکیب شیمیایی و بازدهی مغز گردو در جدول ۱ قابل مشاهده می‌باشد. برخی از ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی روغن استخراج شده از گردو تازه در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۱- برخی مشخصات شیمیایی و فیزیکی گردو.

| رطوبت (درصد) | روغن (درصد) | پروتئین (درصد) | خاکستر (درصد) | فیبر (درصد) | کربوهیدرات (درصد) | گردو/مغز (درصد) |
|--------------|-------------|----------------|---------------|-------------|-------------------|-----------------|
| ۲/۹±۰/۳      | ۶۸/۶±۲      | ۱۴/۹±۰/۳       | ۱/۹۳±۰/۱۹     | ۱/۹۸±۰/۵۴   | ۹/۶۹              | ۴۸/۲۵±۳         |

رطوبت بالای گردو در زمان برداشت باعث رشد کپک‌ها و فعالیت آنزیم‌ها می‌شود. فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز سبب تیرگی پوسته نازک خارجی گردو و فعالیت آنزیم لپاز سبب آزاد شدن اسیدهای چرب آزاد می‌شود. بنابراین رطوبت گردو پس از برداشت باید توسط خشک کردن آن کاهش داده شود. میزان کاهش رطوبت به کشور تولید کننده آن بستگی دارد، به عنوان مثال گردوها در آمریکا تا ۸ درصد رطوبت و در فرانسه تا ۱۲ درصد رطوبت خشک می‌شوند. به طور کلی بهتر است برای حفظ کیفیت گردو در طی نگهداری این مقدار به کمتر از ۳ درصد نرسد (لوپز و همکاران، ۱۹۹۵).

مقادیر مربوط به ترکیب شیمیایی مغز گردو تازه (جدول ۱) با برخی نتایج گزارش شده مشابه می‌باشد. به عنوان مثال براساس اسناد سازمان مواد غذایی و کشاورزی ملل متحد (فائو)<sup>۱</sup> ترکیب شیمیایی گردوی ایرانی (*Juglans regia*) شامل ۲/۶ درصد رطوبت، ۱۴/۸ درصد پروتئین، ۶۵/۲ درصد روغن، ۱۵/۵ درصد کربوهیدرات، ۲/۱ درصد فیبر و ۱/۹ درصد خاکستر می‌باشد. مهران (۱۹۷۴) بعد از مطالعه ترکیب شیمیایی ۵ نوع مختلف گردوی ایرانی اذعان داشت که مقدار رطوبت آن‌ها بین ۲ تا ۳/۲ درصد و ضریب شکست روغن آن‌ها بین ۱/۴۶۷ تا ۱/۴۶۹ در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد (معادل ۱/۴۷۲۲۵ تا ۱/۴۷۴۲۵ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) تغییر می‌کند. به طور کلی مقدار ضریب شکست برای روغن‌های متفاوت بین ۱/۴۴۷ تا ۱/۴۸۲ تغییر می‌کند (شهیدی، ۲۰۰۵).

1- Food and Agriculture Organization (FAO)

جدول ۲- برخی شاخص‌های شیمیایی و فیزیکی روغن استخراج‌شده از مغز گردو تازه.

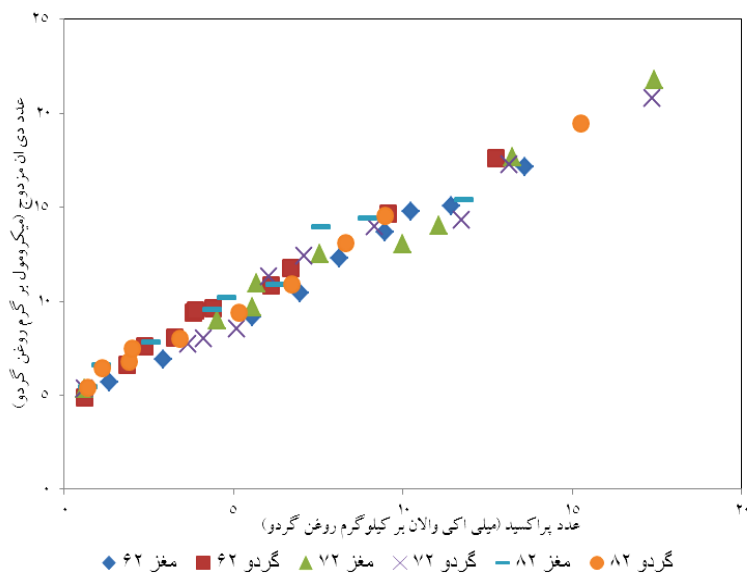
| عدد پراکسید<br>(میلی‌اکی‌والان<br>بر کیلوگرم) | عدد دی‌ان مزدوج<br>(میکرو مول بر<br>گرم) | عدد تری‌ان<br>مزدوج (میکرو<br>مول بر گرم) | عدد اسید<br>تیوباربیتورک | اسیدیته<br>(درصد اسید<br>اولئیک) | ضریب شکست<br>در ۲۵ (درجه<br>سانتی‌گراد) |
|-----------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------|-----------------------------------------|
| ۰/۳                                           | ۴/۳۵±۰/۰۴                                | ۰/۴۶±۰/۰۱                                 | ۰/۰۳۶±۰/۰۰۱              | ۰/۰۶۴                            | ۱/۴۷۳۳±۰/۰۰۰۴                           |

درصد مغز آجیل‌ها یکی از مهم‌ترین معیارهای تعیین کیفیت آن‌ها می‌باشد. به‌عنوان مثال در مورد پسته مقادیر مختلف ۴۹، ۵۳/۵ و ۴۴/۷ درصد (ماسکان و کاراتاس، ۱۹۹۹) گزارش شده است و این اختلاف نیز مربوط به تفاوت‌های ترکیبی بین واریته‌ها می‌باشد. علاوه بر این در مورد درصد مغز واریته‌های مختلف گردوی ایران مقادیر ۴۲ تا ۵۸ درصد گزارش شده است (مهران، ۱۹۷۴).

اوستربرگ و همکاران (۲۰۰۱) میانگین عدد پراکسید ۹ رقم مختلف گردو تازه را ۰/۲۹ میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم روغن گردو گزارش نمودند. ساویج (۲۰۰۱) گزارش نمود عدد پراکسید گردو تازه از ۰/۱۵ تا ۰/۲۹ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم تغییر می‌کند. در مطالعه دیگر مقادیر ۰/۰۹ و ۰/۰۷ به ترتیب برای عدد اسید تیوباربیتوریک (معیاری از افزایش جذب در ۵۳۰ نانومتر بدون واحد) و درصد اسیدهای چرب آزاد گردو گزارش گردید (بورانسومپاب و همکاران، ۲۰۰۳). همبستگی عدد پراکسید و عدد دی‌ان مزدوج روغن استخراج شده از شکل‌های متفاوت گردو: طی مراحل اولیه اکسایش افزایش در جذب فرابنفش به علت تشکیل دی‌ان‌های مزدوج و تری‌ان‌های مزدوج با جذب اکسیژن و تولید پراکسیدها متناسب است. بنابراین مقدار این دو می‌تواند به‌عنوان یک معیار نسبی از اکسایش به‌کار رود (رولستاد و همکاران، ۲۰۰۵).

مطابق مقادیر پراکسید در مقابل عدد دی‌ان مزدوج روغن استخراج شده از مغز گردو دارای پوسته و فاقد پوسته در طی نگهداری در دماهای متفاوت (دمای ۶۲، ۷۲ و ۸۲ درجه سانتی‌گراد) رسم شد (شکل ۱). اطلاعات مربوط به همبستگی نقاط موجود در شکل ۱ به همراه تجزیه و تحلیل آماری آن در جدول ۳ قابل مشاهده می‌باشد.

معادلات خطی درجه اول در هر سه دمای ۶۲، ۷۲ و ۸۲ درجه سانتی‌گراد و برای هر دو حالت نگهداری مغز گردو و گردو کامل در شرایط تسریع‌یافته توانستند با ضریب همبستگی مناسبی (۹۸ و ۹۹ درصد) رابطه بین تشکیل هیدروپراکسیدها و دی‌ان‌های مزدوج را برای نمونه‌های گردو در طی اکسایش نشان دهند.



شکل ۱- همبستگی عدد پراکسید و عدد دی‌ان مزدوج روغن استخراج شده از مغز گردو و گردو کامل در طی نگهداری ۲۰، ۳۵ و ۴۵ روزه به ترتیب در دمای ۸۲، ۷۲ و ۶۲ درجه سانتی‌گراد.

جدول ۳- تجزیه و تحلیل همبستگی خطی بین عدد دی‌ان مزدوج (میکرومول بر گرم) و عدد پراکسید (میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم) در گردو و مغز گردو طی نگهداری در دماهای متفاوت.

| ضریب همبستگی | عرض از مبدا          | شیب*                | نوع نمونه                                       | دما (درجه سانتی‌گراد) |
|--------------|----------------------|---------------------|-------------------------------------------------|-----------------------|
| ۰/۹۹         | ۴/۹۸۸۱ <sup>ab</sup> | ۱/۰۰۹۳ <sup>a</sup> | گردو کامل                                       | ۶۲                    |
| ۰/۹۹         | ۴/۲۱ <sup>b</sup>    | ۰/۹۶۸۶ <sup>a</sup> | مغز گردو                                        |                       |
| ۰/۹۷         | ۴/۷۱۲ <sup>ab</sup>  | ۰/۹۲۲۹ <sup>a</sup> | گردو کامل                                       | ۷۲                    |
| ۰/۹۸         | ۴/۷۲۸ <sup>ab</sup>  | ۰/۹۴۵۴ <sup>a</sup> | مغز گردو                                        |                       |
| ۰/۹۹         | ۵/۰۰۷ <sup>ab</sup>  | ۰/۹۵۲۱ <sup>a</sup> | گردو کامل                                       | ۸۲                    |
| ۰/۹۸         | ۵/۴۱۶ <sup>a</sup>   | ۰/۹۴۱۲ <sup>a</sup> | مغز گردو                                        |                       |
|              | ۰/۰۵۷۷               | ۰/۶۰۰۳              | اثر دما بر مشخصات معادله همبستگی (Pr>F)         |                       |
|              | ۰/۳۹۲                | ۰/۸۵۵۵              | اثر پوسته گردو بر مشخصات معادله همبستگی (Pr>F)  |                       |
|              | ۰/۰۵۸۸               | ۰/۶۳۸۵              | اثر متقابل دما و پوسته بر معادله همبستگی (Pr>F) |                       |

میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هر ستون دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P< ۰/۰۵).

\* معادله خطی: عدد دی‌ان مزدوج = (شیب خط همبستگی × عدد پراکسید) + عرض از مبدا.



معادلات خطی درجه اول در هر سه دمای ۶۲، ۷۲ و ۸۲ درجه سانتی‌گراد و برای هر دو حالت نگهداری مغز گردو و گردوی کامل در شرایط تسریع‌یافته توانستند با ضریب همبستگی مناسبی (۹۸ و ۹۹ درصد) رابطه بین تشکیل هیدروپراکسیدها و دی‌ان‌های مزدوج را برای نمونه‌های گردو در طی اکسایش نشان دهند (جدول ۳). اطلاعات موجود در جدول ۳ نشان می‌دهد که شیب و عرض از مبدا معادله همبستگی حاصل در هر سه دما و برای هر دو حالت گردو، تحت اثر دما، وجود پوسته و اثر متقابل این دو، مشابه می‌باشد و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند. بنابراین می‌توان از میانگین اطلاعات موجود در جدول ۳ به‌عنوان یک معادله واحد برای بیان رابطه بین عدد پراکسید و عدد دی‌ان مزدوج گردو استفاده کرد. این معادله کلی به‌شکل زیر قابل بیان می‌باشد.

$$\text{رابطه ۱.} \quad ۴/۸۴۲ + (\text{عدد پراکسید} \times ۰/۹۵۸) = \text{عدد دی‌ان مزدوج}$$

در این رابطه عدد دی‌ان مزدوج بر حسب میکرومول بر گرم روغن گردو و عدد پراکسید بر حسب میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم روغن گردو است.

به‌طور کلی تشکیل پراکسیدها هم زمان با تشکیل باندهای دوگانه مزدوج در اسیدهای چرب چند غیر اشباعی می‌باشد، که می‌تواند با استفاده از قابلیت جذب ویژه دی‌ان‌های مزدوج و تری‌ان‌های مزدوج در طیف فرابنفش اندازه‌گیری شود (واناسوندارا و همکاران، ۱۹۹۵). علاوه بر این جذب فرابنفش در ۲۶۸ نانومتر به عنوان معیاری از تری‌ان‌های مزدوج و محصولات ثانویه اکسایش همانند کتو دی‌ان‌ها و دی‌انال‌های مزدوج می‌باشد (اوستبرگ و همکاران، ۲۰۰۱). اگرچه به‌طور معمول جذب در طول موج ۲۳۲ نانومتر به‌عنوان معیاری از مقدار هیدروپراکسید است، بعضی محصولات حاصل از تجزیه هیدروپراکسیدها همانند ۹- هیدروکسی اکتا دکا - ۱۰، ۱۲- دی انوئیک اسید و ۱۳- هیدروکسی اکتا دکا - ۹، ۱۱ دی انوئیک اسید این ساختار مزدوج را حفظ کرده و در جذب شرکت خواهند کرد. بنابراین اختصاصی بودن این روش نسبت به شاخص پراکسید کمتر است (پوکورنی و همکاران، ۲۰۰۱).

علاوه بر این گزارش شده که هنگام آماده‌سازی نمونه‌های چربی استخراج شده برای انجام آزمایش‌های شیمیایی، هیدروپراکسیدهای اسید چرب تشکیل شده به سرعت به ترکیبات هیدروکسی پایدارتر تبدیل می‌شوند. ترکیبات هیدروکسی اسید چرب تشکیل شده در طی اکسایش چربی حداکثر جذب فرابنفش مشابه با هیدروپراکسیدهای متناظر آن‌ها نشان می‌دهند، اما این ترکیبات در شاخص پراکسید تاثیر ندارند (کولاس و آکمن، ۲۰۰۱). مقدار شاخص دی‌ان مزدوج به ترکیب اسیدهای چرب

نمونه بستگی دارد، بنابراین این روش نمی‌تواند برای مقایسه مستقیم وضعیت اکسایش انواع متفاوت چربی‌ها و روغن‌ها استفاده شود. با این حال طی مراحل اولیه اکسایش افزایش در جذب فرابنفش، به‌علت تشکیل دی و تری‌ان‌های مزدوج، متناسب با دریافت اکسیژن و تولید هیدروپراکسیدها می‌باشد. به این دلیل مقدار دی و تری‌ان‌های مزدوج می‌تواند به‌عنوان یک معیار نسبی از اکسایش به‌کار رود (فارمر، ۱۹۴۶).

بنابراین با توجه به هزینه پایین‌تر و سرعت بالاتر تعیین عدد دی‌ان مزدوج نسبت به تعیین عدد پراکسید، پیشنهاد می‌شود در مواردی که هدف تعیین میزان پیشرفت اکسایش در مراحل اولیه فساد گردو می‌باشد، از این روش به‌عنوان جایگزین شاخص پراکسید استفاده شود.

### نتیجه‌گیری

معادله‌های خطی درجه اول توانستند رابطه بین عدد پراکسید و عدد دی‌ان مزدوج روغن گردو را در طی نگهداری تسریع‌یافته بیان کنند. تفاوت معنی‌داری بین شیب و عرض از مبدا معادلات خطی تحت اثر دما، وجود پوسته سخت گردو و اثر متقابل دما و پوسته سخت گردو مشاهده نشد. طی مراحل اولیه اکسایش افزایش جذب فرابنفش در طول موج ۲۳۳ نانومتر، به‌علت تشکیل دی‌ان‌های مزدوج، متناسب با دریافت اکسیژن و تولید هیدروپراکسیدها می‌باشد. پیشنهاد می‌شود با توجه به هزینه پایین‌تر تعیین عدد دی‌ان مزدوج و همبستگی مناسب بین عدد پراکسید و عدد دی‌ان مزدوج از رابطه یک جهت جایگزینی روش تیترسنجی با روش طیف‌سنجی نوری در محدوده فرابنفش استفاده شود.

### منابع

- AOAC, Official Method of Analysis. 2005. Arlington, VA, USA.
- American Oil Chemists' Society. 1998. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, Champaign.
- American Oil Chemists' Society. 2003. AOCS Official method Cd 8-53. Peroxide value. In Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 5<sup>th</sup> ed. (D. Firestone, ed.). AOCS, Champaign, 111.
- American Oil Chemists' Society. 2009. AOCS Official method Cd 19-90. 2-Thiobarbituric acid value. Direct method. In Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 5<sup>th</sup> ed. (D. Firestone, ed.) AOCS, Champaign. 111.

- Augustin, M. and Berry, S. 1983. Efficacy of the antioxidants BHA and BHT in palm olein during heating and frying. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 60(8), 1520-1523.
- Buransompob, A., Tang, J., Powers, J.R., Reyes, J., Clark, S., and Swanson, B.G. 2003. Rancidity of walnuts and almonds affected by short time heat treatments for insect control. *Journal of Food Processing and Preservation*, 27(6), 445-464.
- Crapiste, G., Brevedan, M., and Carelli, A. 1999. Oxidation of sunflower oil during storage. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 76(12), 1437-1443.
- Chung, H.J., Colakoglu, A.S., and Min, D.B. 2004. Relationships among Headspace Oxygen, Peroxide Value, and Conjugated Diene Content of Soybean Oil Oxidation. *Journal of Food Science*, 69(2), 83-88.
- Farhoosh, R. and Moosavi, S.M.R. 2009. Evaluating the performance of peroxide and conjugated diene values in monitoring quality of used frying oils. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 11(2), 173-179.
- Farmer, E.H. 1946. Peroxidation in relation to olefinic structure. *Journal of Transactions of the Faraday Society*, 42, 228-236.
- Fennema, O.R. 1996. Food chemistry. New York, Marcel Dekker Inc, 257-278.
- Ferrari, C.K.B. and Torres, E.A.F.S. 2003. Biochemical pharmacology of functional foods and prevention of chronic diseases of aging. *Journal of Biomedicine and Pharmacotherapy*, 57(5-6), 251-260.
- Gray, J. 1978. Measurement of lipid oxidation: A review. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 55(6), 539-546.
- IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). 1987. Method 2.505. Evidence of purity and deterioration from ultraviolet spectrophotometry. In Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives, 7th ed. (C. Paquot and A. Hautfenne, ed.). Blackwell Scientific. Palo Alto, Calif, 212-213.
- Kulas, E., and Ackman, R.G. 2001. Different tocopherols and the relationship between two methods for determination of primary oxidation products in fish oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1724-1729.
- Lopez, A., Pique, M.T., Romero, A., and Aleta, N. 1995. Influence of cold-storage conditions on the quality of unshelled walnuts. *International Journal of Refrigeration*, 18(8), 544-549.
- Lopez-Duarte, A.L., and Vidal-Quintanar, R.L. 2009. Oxidation of linoleic acid as a marker for shelf life of corn flour. *Food Chemistry*, 114(2), 478-483.
- Marmesat, S., Morales, A., Velasco, J., Ruiz-Mendez, M.V., and Dobarganes, M.C. 2009. Relationship between changes in peroxide value and conjugated dienes during oxidation of sunflower oils with different degree of unsaturation. *Journal of Grasasy Aceites*, 60(2), 155-160.

- Martinez, M., Mattea, M., and Maestri, D. 2006. Varietal and crop year effects on lipid composition of walnut (*Juglans regia*) genotypes. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83(9), 791-796.
- Maskan, M. and Karatas, S. 1999. Storage stability of whole-split pistachio nuts (*Pistachia vera* L.) at various conditions. *Food Chemistry*, 66(2), 227-233.
- Mehran, M. 1974. Oil characteristics of Iranian walnuts. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 51(11), 477-478.
- Nepote, V., Olmedo, R.H., Mestrallet, M.G., and Grosso, N.R. 2009. A Study of the Relationships among Consumer Acceptance, Oxidation Chemical Indicators, and Sensory Attributes in High-Oleic and Normal Peanuts. *Journal of Food Science*, 74(1), 1-8.
- Osterberg, K., Savage, G.P., and McNeil, D.L. 2001. Oxidative stability of walnuts during long term in shel storage. *Journal of Acta Hort (ISHS)*, 544, 591-597.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., and Gordon, M. 2001. Antioxidants in food. Abington, Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC, 397.
- Rohman, A., Y.B., Che Man, Y.B., Ismail, A., and Hashim, P. 2011. Monitoring the oxidative stability of virgin coconut oil during oven test using chemical indexes and FTIR spectroscopy. *Food Research International*, 18, 303-310.
- Savage, G.P. 2001. Chemical composition of walnuts (*Juglans regia* L.) grown in New Zealand. *Plant Foods for Human Nutrition*, 56(1), 75-82.
- Savage, G., Dutta, P., and Mcneil, D. 1999. Fatty acid and tocopherol contents and oxidative stability of walnut oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(9), 1059-1063.
- Shahidi, F. 2005. Quality Assurance of Fats and Oils, Baileys industrial oil and fat products. F. Shahidi. New Jersey, A. John Wiley & Sons, Inc., 1, 565-575.
- Tekin, L., Aday, M.S., and Ylmaz, E. 2009. Physicochemical changes in hazelnut, olive pomace, grapeseed and sunflower oils heated at frying temperatures. *Journal of Food Science and Technology*, 15(5), 519-524.
- Wanasundara, U.N., Shahidi, F., and Jablonski, C. 1995. Comparison of standard and NMR methodologies for assessment of oxidative stability of canola and soybean oils. *Food Chemistry*, 52(3), 249-253.
- Wrolstad, R.E., Acree, T.E., Decker, E.A., Penner, M.H., Reid, David S., Schwartz, Steven J., Shoemaker, C.F., Smith, D., and Sporns, P. 2005. Lipid oxidation stability, in Handbook of Food Analytical Chemistry: Water, Proteins, Enzymes, Lipids, and Carbohydrates. John Wiley & Sons, Inc., 513-547.



## Application of conjugated diene value as a measure of walnut oxidation progress

**\*H. Hosseini<sup>1</sup>, M. Ghorbani<sup>2</sup>, A.R. Sadeghi Mahoonak<sup>2</sup>  
and Y. Maghsoudlou<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>M.Sc. student, Dept. of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran, <sup>2</sup>Assistant Prof., Dept. of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, <sup>3</sup>Associate Prof. Dept. of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

### Abstract

Lipids and oils are susceptible to oxidation. Analytical protocols are required for measuring their oxidation progress. Spectrophotometric, iodometric, and colorimetric methods may apply for measuring the early stages of lipid oxidation. In this study, walnut samples were selected and were kept shelled or unshelled at 62, 72 and 82°C to evaluate the relationship between peroxide value and conjugated diene value. A number of chemical and physical characteristics of walnut kernel oil were determined. Measuring walnut oil conjugated dienes was carried out spectrophotometrically by reading UV absorption at 233 nm. Peroxide value was measured by conventional titration method. The results showed that peroxide value, conjugated diene value and acidity (by oleic acid) of fresh walnut were 0.3 meqO<sub>2</sub>/kg, 4.354 μmol/g and 0.064 %, respectively. First order linear equations were found to correlate peroxide and conjugated diene values in extracted oil from whole walnut and in walnut kernel, during storage at different temperatures (62, 72 and 82°C), with a regression coefficient of 0.98 and 0.99. A generalized equation was used for expressing the relationship between peroxide and conjugated diene values in walnut, because there was no significant difference between the equations slopes and intercepts for three temperature conditions and two walnut forms.

**Keywords:** Walnut, Oil oxidation, Peroxide value, Conjugated diene value.

---

\*Corresponding author; hosseini\_hamed63@yahoo.com

