مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد اول، شماره چهارم، زمستان ۸۸
۲۵-۴۱
http://ejfpp.gau.ac.ir

پایداری روغن‌های زیتون بکر و تخم کدو بر حسب اندازه‌گیری ساختار ترکیبات قطبی به روش کروماتوگرافی غربال ملکولی با کارایی بالا (HPSEC)

*اشرف گوهری اردبیلی[۱]، رضا فرهوش[۲] و محمدحسین حداد خداپرست[۳]
[۱]دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع‌غذایی دانشگاه فردوسی مشهد، [۲]دانشیار، گروه علوم و صنایع‌غذایی دانشگاه فردوسی مشهد، [۳]استاد، گروه علوم و صنایع‌غذایی دانشگاه فردوسی مشهد
تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۰۹/۰۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۲/۰۳

چکیده

در این پژوهش، ویژگی‌های شیمیایی و پایداری اکسایشی روغن‌های زیتون بکر و تخم کدو طی فرایند حرارتی در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. پایداری اکسایشی با اندازه‌گیری تغییرات مقدار کل ترکیبات قطبی و اجزا تشکیل‌دهنده آن شامل تری‌گلیسریدهای پلیمری، تری‌گلیسریدهای دیمری، تری‌گلیسریدهای اکسیده، دی‌گلیسریدها و اسیدهای چرب آزاد مورد ارزیابی قرار گرفت. ساختار ترکیبات قطبی با استفاده از کروماتوگرافی غربال ملکولی با کارایی بالا تعیین شد. نتایج نشان داد مقدار اسید اولئیک (۶۲/۱۷ در برابر ۳۸/۴۲ درصد) در روغن زیتون بکر و مقدار اسید لینولئیک (۳۹/۸۳ در برابر ۲۰/۰۵ درصد) در روغن تخم کدو بیشتر بود. نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع در روغن زیتون بکر بیشتر از روغن تخم کدو (۵/۳۷ در برابر ۴/۱۷) بود. میزان اسیدهای چرب آزاد و عدد پراکسید روغن زیتون بکر (به‌ترتیب ۰/۱۸ درصد و ۶/۸۹ میلی‌اکی والان گرم بر کیلوگرم) کم‌تر از مقادیر این دو کمیت در خصوص روغن تخم کدو (به‌ترتیب ۰/۳۹ درصد و ۱۰/۸۵ میلی‌اکی والان گرم بر کیلوگرم) بود. روغن تخم کدو ترکیبات پلی‌فنلی (۶۶/۲۷ در برابر ۲۵/۶۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و توکوفرولی (۷۲۵ در برابر ۵۸۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیشتری نسبت به روغن زیتون بکر

*مسئول مکاتبه: as_ar88@stu-mail.um.ac.ir

داشت. نتایج اندازه‌گیری ترکیبات قطبی و اجزای آن طی فرایند حرارتی نشان داد روغن تخم کدو از مقاومت بیشتری نسبت به روغن زیتون بکر برخوردار است.

واژه‌های کلیدی: روغن زیتون بکر، روغن تخم کدو، تخریب اکسایشی و هیدرولیزی، کروماتوگرافی غربال ملکولی با کارایی بالا

مقدمه

امروزه روغن‌های گیاهی به‌دلیل آثار مفیدی چون کاهش کلسترول خون بیشتر مورد توجه قرار گرفته و به‌صورت‌های مختلفی از جمله روغن‌های سالادی، پخت و پز و سرخ کردنی به رژیم‌غذایی افراد راه پیدا کرده‌اند (ماتالگیتو و الخلیفه، ۱۹۹۸). روغن‌های گیاهی از بخش‌های مختلف دانه‌ها و میوه‌های روغنی به‌دست می‌آیند و دارای ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی متفاوتی از نظر درجه سیرناشدگی، ساختار اسید چربی و نیز کیفیت و کمیت ترکیبات غیرصابونی می‌باشند. ساختار شیمیایی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی متفاوت به بروز تفاوت در پایداری اکسایشی آن‌ها منجر می‌گردد (کمال‌الدین، ۲۰۰٦). پایداری اکسایشی یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های روغن‌های گیاهی در خصوص مصرف و کاربرد آن‌ها در مواد غذایی و سایر فراورده‌های تجاری است (پارکر و همکاران، ۲۰۰۳). بر خلاف روغن‌های حیوانی که به‌طور عمده اشباع هستنند و به‌راحتی با اکسیژن وارد واکنش نمی‌شوند، روغن‌های گیاهی کم‌تر اشباع هستند و حساسیت بیشتری نسبت به واکنش‌های اکسایشی از خود نشان می‌دهند (ماتالگیتو و الخلیفه، ۱۹۹۸). واکنش‌های اکسایشی سبب تخریب اسیدهای چرب ضروری و افت کیفیت تغذیه‌ای روغن‌ها می‌شوند؛ ضمن آن که فراورده‌های اکسایشی روغن‌ها سبب بروز بدطعمی و آثار سمی می‌گردند (چو و مین، ۲۰۰٦).

روغن‌های زیتون بکر و تخم کدو در معرض فرایندهای تصفیه قرار نمی‌گیرند که از این رو حامل مقادیر قابل توجه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند. روغن زیتون بکر برای تهیه انواع سالاد و سرخ کردن مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (برنز و همکاران، ۲۰۰۲). مطالعات متعددی درخصوص تغییرات اکسایشی روغن زیتون طی فرایندهای حرارتی یا سرخ کردن انجام شده است (فدلی، ۱۹۸۸؛ باستیدا و سانچز، ۲۰۰۱). مقاومت خوب روغن زیتون بکر به دماهای بالا به مقادیر بالای اسیداولئیک، میزان پایین اسیدهای چرب چند غیراشباع و همچنین حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند

توکوفرول‌ها، استرول‌ها و ترکیبات پلی‌فنلی نسبت داده شده است (والاونیدیس و همکاران، ۲۰۰٤). روغن تخم کدو به‌طور گسترده به‌عنوان روغن سالاد استفاده می‌شود. اسیدهای چرب پالمتیک، استئاریک، اولئیک و لینولئیک حدود ۹۸ درصد از کل اسیدهای چرب آن را تشکیل می‌دهند. میزان بسیار اندک اسید لینولنیک و سایر اسیدهای چرب چند غیراشباع و نیز آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به پایداری اکسایشی خوب روغن تخم کدو طی نگهداری منجر شده است (تساکنیس و همکاران، ۱۹۹۷). آثار سودمند روغن تخم کدو در درمان بیماری غدد پروستات، جلوگیری از افزایش فشار خون، درمان ناراحتی‌های مجاری ادراری، بهبود دیابت و کاهش کلسترول به‌کرات مورد تایید قرار گرفته است (کایلی و همکاران، ۲۰۰٦).

عدد پراکسید و کربونیل یا آنیزیدین به‌ترتیب به نمایندگی از محصولات اولیه و ثانویه اکسایش لیپیدی، شاخص‌های رایج در خصوص ارزیابی میزان اکسایش روغن‌ها و چربی‌های خوراکی محسوب می‌شوند. ارزیابی روند اکسایش حین فرایندهای حرارتی مانند سرخ کردن (دماهای بیش از ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد) بر حسب شاخص‌های یاد شده به‌دلیل فرار بودن برخی محصولات اکسایشی و یا تجزیه‌پذیر بودن آن‌ها ممکن است نتایج چندان دقیق و صحیحی را در اختیار قرار ندهد (گومز و همکاران، ۲۰۰۳). حال آن که سرخ کردن در حضور اکسیژن و رطوبت ناشی از ماده غذایی به ایجاد ترکیبات جدیدی منجر می‌گردد که چندان فرار نیستند و نسبت به تری‌گلیسریدهای تغییر نیافته قطبی‌ترند. میزان ترکیبات قطبی، شاخص بسیار مناسبی برای ارزیابی کیفیت روغن‌ها و چربی‌های خوراکی عنوان شده است. شناخته شده‌ترین روش برای جداسازی و اندازه‌گیری میزان کل ترکیبات قطبی عبارت‌از کروماتوگرافی جذب سطحی[1] است. ساختار شیمیایی ترکیبات قطبی با استفاده از روش کروماتوگرافی غربال ملکولی با کارایی بالا[2] به بخش‌هایی تحت عنوان تری‌گلیسریدهای

1- Adsorption chromatography

2- High-performance size-exclusion chromatography (HPSEC)

پلیمری[1]، تری‌گلیسریدهای دیمری[2]، تری‌گلیسریدهای مونومری اکسیده[3]، دی‌گلیسریدها[4] و اسیدهای چرب آزاد[5] تقسیم‌بندی می‌شود (فایرستون، ۲۰۰۷). به‌این ترتیب، مطالعه کمی و کیفی ترکیبات ناشی از اکسایش، پلیمری شدن و هیدرولیز روغن‌ها و چربی‌ها با دقت و صحت بسیار بالایی به کمک روش‌های کروماتوگرافی جذب سطحی و پس از آن کروماتوگرافی غربال ملکولی امکان‌پذیر است.

هدف از این پژوهش، بررسی پایداری اکسایشی روغن تخم کدو بر پایه اندازه‌گیری میزان ترکیبات قطبی و نیز شناسایی کمی و کیفی اجزای تشکیل‌دهنده آن نسبت به روغن زیتون بکر به‌عنوان روغنی به نسبت پایدار در بین روغن‌های گیاهی بود.

مواد و روش‌ها

دانه‌های خشک کدوی تخم کاغذی (کوکوربیتا پپو زیرگونه پپو رقم استیریاکا[6]) از مزارع تبریز فراهم شدند. دانه‌ها تا زمان استخراج روغن و انجام آزمایش‌های مربوطه در پلاستیک‌های پلی‌اتیلنی دربسته و دما ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. روغن زیتون بکر از بازار محلی خریداری گردید. استانداردهای متیل استر اسیدهای چرب و کلیه حلال‌ها و مواد شیمیایی با درجه آنالیتیکال از شرکت‌های مرک و سیگما- آلدریچ خریداری شدند. برای استخراج روغن از هگزان تولید داخل استفاده شد.

استخراج روغن: تخم‌های کدو پس از تمیز و جدا کردن سنگ و مواد خارجی با آسیاب پودر شدند. پودر حاصل به نسبت ٤:۱ وزنی/حجمی با حلال n- هگزان مخلوط و روغن آن حین هم زدن به‌مدت ۳٦ ساعت در تاریکی و دما محیط استخراج شد. حلال در خلأ و دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر گردید. روغن اسخراج شده تا هنگام انجام آزمایش‌های مربوطه در ظروف تیره تحت ازت و فریزر نگهداری شد.

1- TriGlyceride polymers (TGP)
2- Triglyceride dimmers (TGD)
3- Oxidized triglyceride monomers (oxTGM)
4- Diglycerides (DG)
5- Free fatty acids (FFA)
6- *Cucutbita pepo* subvar. *pepo* var. styriaca

آزمون پایداری: ۲۰۰ گرم نمونه روغن در سرخ‌کن (Tefal model 1250, Paris, France) قرار داده شد و به‌مدت ۸ ساعت در دما ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت دید. نمونه‌برداری با فواصل زمانی یک ساعته صورت پذیرفت. نمونه‌ها پس از خنک شدن به دما محیط و تزریق گاز ازت به ظروف حاوی آن‌ها تا زمان انجام آزمایش‌های پایداری در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

ساختار اسید چربی: ترکیب اسیدچربی نمونه‌های روغن با کروماتوگرافی گاز- مایع تعیین و بر اساس درصد نسبی سطوح گزارش شد. استرهای متیل اسیدهای چرب با اختلاط روغن و هگزان (۰/۳ گرم در ۷ میلی‌لیتر) با ۷ میلی‌لیتر هیدروکسید پتاسیم متانولی ۲ نرمال در دما ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه تهیه شدند. استر اسیدهای چرب با کروماتوگراف(Hewlett-Packard, SC,USA) HP-5890 مجهز به ستون‌های مویینه BPX 70 شیشه‌ای سیلیکا (٦۰ متر طول، ۰/۲۲ میلی‌متر قطر داخلی، ۰/۲ میکرومتر ضخامت لایه داخلی) و آشکارساز یونی شعله‌ای شناسایی گردیدند. گاز حامل عبارت از هلیم با سرعت جریان ۰/۷ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. دمای آون، بخش تزریق و آشکارساز به‌ترتیب ۱۹۸، ۲۸۰ و ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود. آزمایش‌ها در دو تکرار انجام شدند.

محاسبه شاخص اکسایش‌پذیری[1]: شاخص اکسایش‌پذیری نمونه‌های روغن بر حسب درصد اسیدهای چرب غیراشباع ۱۸ کربنه محاسبه شد.

$$Oxidizabilty = \frac{[۱(C۱۸:۱\%) + ۱۰.۳(C۱۸۲\%) + ۲۱.٦(C۱۸۳)]}{۱۰۰}$$

که C18:1، C18:2 و C18:3 به‌ترتیب اسیدهای چرب اولئیک، لینولئیک و لینولنیک هستند (فاطمی و هامند، ۱۹۸۰).

اسید چرب آزاد: مقدار اسید چرب آزاد به روش تیتراسیونی گزارش شده در AOCS (Ca ٥a -٤۰) اندازه‌گیری شد (انجمن شیمیدان‌های روغن آمریکا، ۱۹۹۳).

عدد پراکسید: عدد پراکسید به روش اسپکتروفتومتری فدراسیون بین‌المللی فراورده‌های لبنی (شانتا و دکر، ۱۹۹٤) اندازه‌گیری شد (روش تیوسیانات).

عدد یدی: عدد یدی به‌روش هانوس معرفی شده در روش‌های AOAC (۹۲۰/۱۵۸) اندازه‌گیری شد (AOAC، ۲۰۰۵).

مقدار کل ترکیبات فنلی: مقدار کل ترکیبات فنلی به روش طیف سنجی و با معرف فولین سیوکالچو (کاپانسی و همکاران، ۲۰۰۰) تعیین مقدار گردید. منحنی کالیبراسیون محلول‌های متانولی اسید گالیک

1- Calculated oxidizability (Cox) value

در محدوده غلظتی ۰/۰٤ تا ۰/٤۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ترسیم شد.

مقدار کل توکوفرول‌ها: مقدار کل توکوفرول‌ها به روش رنگ سنجی وانگ و همکاران (۱۹۸۸) اندازه‌گیری شد.

شاخص پایداری اکسایشی[1]: برای تعیین پایداری اکسایشی از دستگاه رنسیمت مدل ۷٤۳ استفاده شد. برای این منظور، ۳ گرم نمونه روغن در دما ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد مورد آزمایش قرار گرفت. سرعت جریان هوا ۱۵ لیتر بر ساعت بود (فرهوش، ۲۰۰۷).

مقدار کل ترکیبات قطبی: مقدار کل ترکیبات قطبی به روش کروماتوگرافی جذب سطحی شولت (۲۰۰٤) با اندکی تغییرات در خصوص شیوه تبخیر حلال (استفاده از آون تحت خلاء در دما ٤۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۰/۵ ساعت به‌جا تبخیر حلال با هوا فشرده یا گاز ازت) به‌منظور آماده‌سازی تعداد زیاد نمونه در زمان کوتاه‌تر اندازه‌گیری شد.

ساختار ترکیبات قطبی: تری‌گلیسریدهای تغییر یافته که بخش قطبی روغن‌های اکسیده شده را تشکیل می‌دهند، با تکنیک کروماتوگرافی غربال ملکولی با کارایی بالا به تری‌گلیسریدهای دیمری و پلیمری، تری‌گلیسریدهای اکسیده، دی‌گلیسریدها و اسیدهای چرب آزاد تفکیک شدند (دوبرگنز و همکاران، ۲۰۰۰). به این منظور، محلولی متشکل از ۱۰ میلی‌گرم ترکیبات قطبی به‌دست آمده از روش کروماتوگرافی ستونی جذب سطحی در حلال تتراهیدروفوران آماده شد. برای اندازه‌گیری اجزای تشکیل‌دهنده ترکیبات قطبی از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (Macherey-Nagel, Duren, Germany) مجهز به آشکارساز ضریب شکست در دما ٤۰ درجه سانتی‌گراد و دو ستون سری نوکلئوژل (GPC 100-´ و GPC 500-´) استفاده شد. فاز متحرک، حلال تترا هیدروفوران با سرعت ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه و حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر بود. ساختار ترکیبات قطبی براساس محاسبه سطح زیر پیک و مقدار کل ترکیبات قطبی محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: کلیه آزمایش‌ها در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با ٤ تکرار انجام شد. میانگین‌ها با نرم‌افزار MstatC و براساس آزمون t در سطح ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

ساختار اسیدچربی و ویژگی‌های شیمیایی: ساختار اسیدچربی و ویژگی‌های شیمیایی روغن‌های

1- Oil/oxidative stability index (OSI)

زیتون بکر و تخم کدو در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میزان اسیدهای استئاریک، اولئیک، لینولئیک و گادولئیک دو نوع روغن مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند. روغن زیتون بکر نسبت به روغن تخم کدو به‌ترتیب حامل مقادیر بالاتری از اسیدهای چرب تک غیراشباع (به‌طور عمده اسید اولئیک) و پایین‌تری از اسیدهای چرب اشباع و چند غیراشباع بود. از جمله ویژگی‌های بارز روغن تخم کدو را می‌توان میزان قابل ملاحظه اسید لینولئیک (اسید چرب ضروری امگا-٦) و نیز میزان بسیار اندک اسید لینولنیک (حساس به اکسایش و به دنبال آن بروز بدطعمی) آن دانست. با وجود نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع بیشتر روغن زیتون نسبت به روغن تخم کدو (۵/۳۷ در برابر ٤/۱۷)، شاخص اکسایش‌پذیری آن از روغن تخم کدو کمتر بود (۲/۹۱ در برابر ٤/٦۳). این به آن علت است که حدود ۷۵ درصد از اسیدهای چرب غیراشباع روغن زیتون بکر را اسید چرب تک غیراشباعی اولئیک تشکیل می‌داد و سهم این اسید چرب در محاسبه شاخص اکسایش‌پذیری کمتر از اسیدهای چرب غیراشباع لینولئیک و لینولنیک است (گونستون و هیلدیچ، ۱۹٤٦). به‌این ترتیب، انتظار می‌رود پایداری اکسایشی روغن زیتون بکر صرفاً بر اساس ساختار اسید چربی بیش از روغن تخم کدو باشد.

میزان اسید چرب آزاد و عدد پراکسید روغن زیتون بکر (به‌ترتیب ۰/۱۸ درصد و ٦/۸۹ میلی‌اکی والان گرم بر کیلوگرم) کم‌تر از مقادیر این دو کمیت در خصوص روغن تخم کدو (به‌ترتیب ۰/۳۹ درصد و ۱۰/۸۵ میلی‌اکی والان گرم بر کیلوگرم) بود. این به آن معنی است که روغن زیتون بکر از کیفیت اولیه بالاتری نسبت به روغن تخم کدو برخوردار بود (جدول ۱). روغن تخم کدو به‌دلیل مقدار بالاتری از اسید لینولئیک، عدد یدی به‌طور معنی‌داری بیش از روغن زیتون بکر داشت (۱۰٤/۳٦ در برابر ۸۹/۳۸ گرم بر ۱۰۰ گرم). روغن تخم کدو میزان ترکیبات پلی‌فنلی (٦٦/۲۷ در برابر ۲۵/٦۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و توکوفرولی (۷۲۵ در برابر ۵۸۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیشتری نسبت به روغن زیتون بکر برخوردار بود. توکوفرول‌ها و پلی‌فنل‌ها از جمله آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در گیاهان به شمار می‌آیند که نقش آن‌ها در خصوص بهبود پایداری اکسایشی و خواص حسی و تغذیه‌ای مواد غذایی بکرات مورد تایید قرار گرفته است (سیگر و همکاران، ۲۰۰۸). شاخص پایداری اکسایشی (OSI) بالاتر روغن تخم کدو (٦/۵۷ ساعت) نسبت به روغن زیتون بکر (٤/۷۵ ساعت) را می‌توان به حضور این گروه از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نسبت داد (جدول ۱).

جدول ۱- ساختار اسید چربی و ویژگی‌های شیمیایی روغن‌های زیتون بکر و تخم کدو.

پارامتر	روغن زیتون بکر	روغن تخم کدو
اسید میریستیک (C14:0)	۰/۳۳ ± ۰/۰۸	-
اسید پالمیتیک (C16:0)	۱۰/٦۳ ± ۰/۱۵a	۱۰/٦۸ ± ۰/٤۲ a
اسید پالمیتولئیک (C16:1)	۰/۵۱ ± ۰/۰۱a	۰/۵۸ ± ۰/۱٤ a
اسید استئاریک (C18:0)	۳/۷٤ ± ۰/۰۷b	۸/٦۷ ± ۰/۲۷ a
اسید اولئیک (C18:1)	٦۲/۱۷ ± ۰/۲۵a	۳۸/٤۲ ± ۰/۳۷ b
اسید لینولئیک (C18:2)	۲۰/۰۵ ± ۰/۳۳b	۳۹/۸۳ ± ۰/۰۸ a
اسید لینولنیک (C18:3)	۱/۰٤ ± ۰/۱۱a	۰/٦۸ ± ۰/۱٤ b
اسید آراشیدیک (C20:0)	۰/۹۲ ± ۰/۱۱	-
اسید گادولئیک (C20:1)	۰/۱۱ ± ۰/۰۵b	۱/۱٤ ± ۰/۰۰ a
اسیدهای چرب اشباع (SFA)	۱۵/٦۲ ± ۰/۱۱b	۱۹/۳۵ ± ۰/۱٦ a
اسیدهای چرب تک غیراشباع (MUFA)	٦۲/۷۹ ± ۰/۲۹a	٤۰/۱۳ ± ۰/۲۳ b
اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFA)	۲۱/۰۸ ± ۰/٤۵b	٤۰/۵۲ ± ۰/۰٦ a
نسبت USFA/SFA	۵/۳۷ ± ۰/۰۵a	٤/۱۷ ± ۰/۰٤ b
شاخص اکسایش‌پذیری	۲/۹۱ ± ۰/۰٦b	٤/٦۳ ± ۰/۰۲ a
اسیدهای چرب آزاد (درصد)	۰/۱۸ ± ۰/۰۰b	۰/۳۹ ± ۰/۰۱ a
عدد پراکسید (میلی‌اکی‌والان گرم بر کیلوگرم)	٦/۸۹ ± ۰/۱۲b	۱۰/۸۵ ± ۰/٦۲ a
عدد یدی (گرم بر ۱۰۰ گرم)	۸۹/۳۸ ± ۰/۸۷b	۱۰٤/۳٦ ± ۰/۰٤ a
مقدار کل ترکیبات فنلی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۲۵/٦۷ ± ۰/۹۰b	٦٦/۲۷ ± ۳/٦۹ a
مقدار کل توکوفرول‌ها (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۵۸٤/۵۰ ± ٦/٤۰b	۷۲٤/٦٦ ± ٤/۸٦ a
شاخص پایداری اکسایشی (OSI)	٤/۷۵ ± ۰/۰۸b	٦/۵۷ ± ۰/۰۹ a

کمیت‌های (± انحراف استاندارد) دارای حروف مشترک در هر ردیف از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون t، P<۰/۰۵)

تغییرات مقدار کل ترکیبات قطبی: تغییرات مقدار کل ترکیبات قطبی روغن‌های زیتون و تخم کدو طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد در جدول ۲ نشان داده شده است. پایش مقدار کل ترکیبات قطبی، روش خوبی برای تعیین میزان تخریب روغن‌های سرخ کردنی طی شرایط سرخ کردن و حرارت دادن می‌باشد (ملتون و همکاران، ۱۹۹٤). روغن زیتون تازه حاوی مقدار کم‌تر ترکیبات قطبی (٦/۳۸ درصد) نسبت به روغن تخم کدو (۹/۲۵ درصد) بود. هر دو نمونه روغن طی ۸ ساعت فرایند حرارتی تقریباً روند افزایشی مشابهی (نمایی با ضریب تبیین بیش از ۰/۹۷) در مقدار کل ترکیبات قطبی نشان دادند اما درصد افزایش مقدار کل ترکیبات قطبی پس از هشت ساعت فرایند حرارتی در روغن زیتون ۳۳٤ درصد و در روغن کدو ۱٥٤ درصد بود. این نشان می‌دهد روغن تخم کدو از مقاومت حرارتی بیشتری نسبت به روغن زیتون بکر برخوردار بوده است.

ساختار ترکیبات قطبی: مقدار کل ترکیبات قطبی نمادی از میزان تخریب اکسایشی و هیدرولیزی روغن محسوب می‌شود. از آن‌جایی که ترکیبات قطبی از اجزا مختلفی تشکیل می‌شوند، شناسایی این اجزا اطلاعات دقیق‌تری در مورد وضعیت واقعی روغن در اختیار قرار می‌دهد. بررسی‌ها نشان داده است روغن‌های دارای مقدار یکسانی از ترکیبات قطبی ممکن است حامل مقادیر مشابه اجزا قطبی نباشند. این به تفاوت الگوهای تجزیه‌ای و واکنش‌های تخریبی روغن نسبت داده شده است (دوبرگنز و همکاران، ۱۹۸۸). از سوی دیگر، مصرف روغن‌های حاوی مقادیر یکسان ترکیبات قطبی دارای اثر تغذیه‌ای مشابهی نبوده‌اند. تری‌گلیسریدهای اکسیده و پلیمری حائز اهمیت بیشتری از دیدگاه فیزیولوژی نسبت به ترکیبات حاصل از واکنش‌های هیدرولیز تشخیص داده شده‌اند، زیرا اسیدهای چرب آزاد و دی‌گلیسریدها محصول طبیعی متابولیسم چربی‌ها در بدن می‌باشند(مارمسات و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین، داده‌های ساختاری ترکیبات قطبی، تخمین واقعی‌تری در مورد کیفیت و میزان تخریب روغن‌ها به دست می‌دهند.

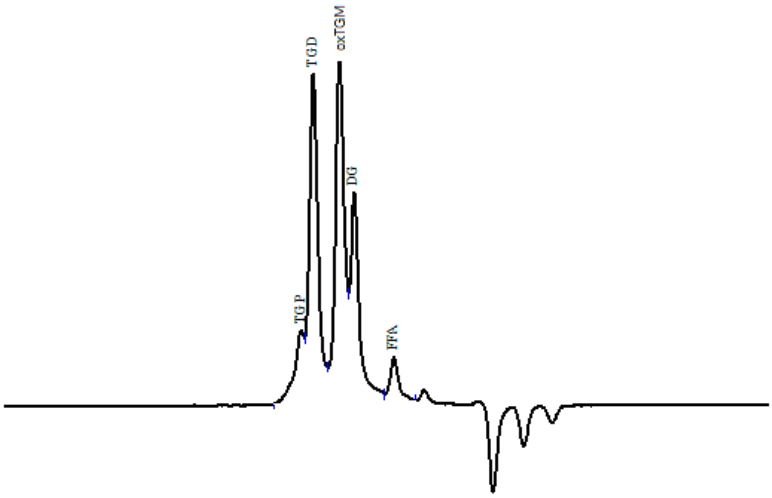
جدول ۲- تغییرات مقدار کل ترکیبات قطبی در روغن تخم کدو و زیتون بکر طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد.

زمان (ساعت)	مقدار کل ترکیبات قطبی (درصد)	
	روغن زیتون بکر	روغن تخم کدو
۰	٦/۳۸ ± ۱/۵۰ [b]	۹/۲۵ ± ۰/۱٤ [a]
۱	۸/۸۸ ± ۱/۲۰ [a]	۹/۳٤ ± ۱/۲۰ [a]
۲	۹/۰۸ ± ۰/۹۹ [a]	۹/۷۲ ± ۱/۰۰ [a]
۳	۹/۲۸ ± ۱/۰۹ [b]	۱۰/۸۳ ± ۰/۲۹ [a]
٤	۱۱/۲۳ ± ۰/٦۹ [a]	۱۰/۹۳ ± ۰/۳۲ [a]
۵	۱۲/۹۳ ± ۰/۵۹ [a]	۱۲/٤۱ ± ۰/۱۰ [a]
٦	۱٤/٦۰ ± ۰/۷۵ [a]	۱۲/۳۱ ± ۰/۹۷ [b]
۷	۱۸/۲۱ ± ۰/۷۵ [a]	۱۵/٤۰ ± ۰/۵۰ [b]
۸	۲۷/٦۸ ± ۰/۵٦ [a]	۲۳/۵۳ ± ۱/۷۲ [b]

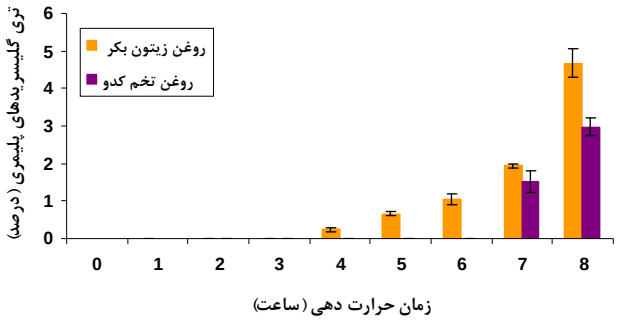
کمیت‌های (± انحراف استاندارد) دارای حروف مشترک در هر ردیف از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون t، P<۰/۰۵)

پنج بخش عمده ترکیبات قطبی شناسایی شده در این مطالعه شامل تری‌گلیسریدهای پلیمری، تری‌گلیسریدهای دیمری، تری‌گلیسریدهای اکسیده، دی‌گلیسریدها و اسیدهای چرب آزاد بود (شکل ۱) که روند تغییرات آن‌ها طی فرایند حرراتی در شکل‌های ۲ تا ۵ نشان داده شده است. چنان‌که ملاحظه می‌شود میزان ترکیبات نام برده به استثنا دی‌گلیسریدها و اسیدهای چرب آزاد در هر دو نمونه روغن با افزایش زمان حرارت‌دهی افزایش یافت. تغییرات مشاهده شده درخصوص اجزای ترکیبات قطبی در این پژوهش با تغییرات گزارش شده توسط سایر پژوهشگران تقریباً هم‌خوانی داشت (مارکوئز- رویز و همکاران، ۱۹۹۵). مقدار ترکیبات پلیمری در هر دو نمونه روغن تازه غیر قابل تشخیص بود. پس از ٤ ساعت فرایند حرارتی، مقادیر معینی از ترکیبات پلیمری در روغن زیتون بکر مشاهده شد که میزان آن با افزایش زمان حرارت‌دهی افزایش یافت (از ۰/۲۵ تا ٤/٦۷ درصد). این در حالی بود که روغن تخم کدو فاقد هر گونه ترکیبات پلیمری تا ششمین ساعت فرایند حرارتی بود و مقدار آن در پایان زمان حرارت‌دهی به ۲/۹۷ درصد رسید (شکل ۲). ترکیبات پلیمری از جمله مهم‌ترین ترکیبات ناشی از تخریب روغن طی سرخ کردن و نیز فرایندهای حرارتی به شمار می‌آیند

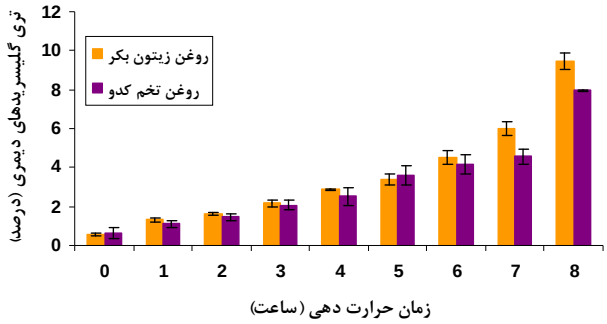
(دوبرگنز و همکاران، ۱۹۸۸). میزان تری‌گلیسریدهای دیمری (شکل ۳) و اکسیده (شکل ٤) در هر دو نمونه روغن با افزایش زمان حرارت‌دهی افزایش یافت به‌طوری که سرعت و میزان افزایش در روغن تخم کدو به‌طور قابل ملاحظه‌ای کم‌تر از روغن زیتون بکر بود. مقدار تری‌گلیسریدهای دیمری در روغن زیتون با ۸/۸٦ واحد افزایش نسبت به زمان شروع به ۱٦/۵ برابر مقدار اولیه در پایان فرایند حرارتی رسید در حالی که میزان دو کمیت یاد شده درخصوص روغن تخم کدو به‌ترتیب ۷/۳۱ واحد و ۱۲/٤ برابر بود. همچنین مقدار افزایش تری‌گلیسریدهای اکسیده در روغن زیتون بکر حدود ۲ برابر این مقدار در روغن تخم کدو (٦/٦٦ در برابر ۳/٦٦ درصد) بود.



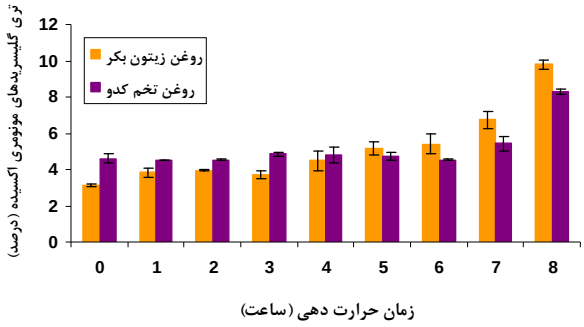
شکل ۱- ساختار ترکیبات قطبی یک نمونه روغن تعیین شده به روش کروماتوگرافی غربال ملکولی با کارایی بالا (HPSEC). TGP، تری‌گلیسریدهای پلیمری (زمان بازداری ۱۲/۰۲ دقیقه)؛ TGD، تری‌گلیسریدهای دیمری (زمان بازداری ۱۲/٤۷ دقیقه)؛ oxTGM، تری‌گلیسریدهای مونومری اکسیده (زمان بازداری ۱۳/٤۷ دقیقه)؛ DG، دی گلیسریدها (زمان بازداری ۱٤/۰۳ دقیقه)؛ FFA، اسیدهای چرب آزاد (زمان بازداری ۱۵/۵۷ دقیقه).



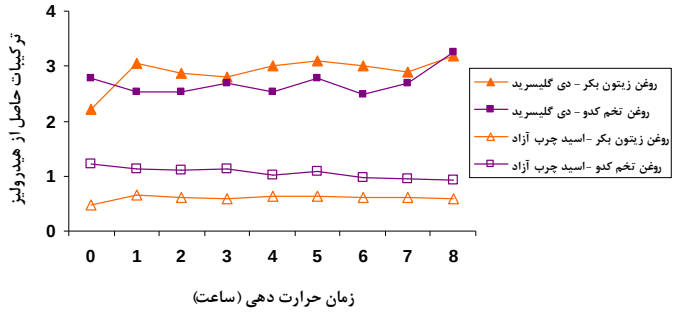
شکل ۲- تغییر میزان تری‌گلیسریدهای پلیمری (TGP) در روغن‌های زیتون بکر و تخم کدو طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد.



شکل ۳- تغییر میزان تری‌گلیسریدهای دیمری (TGD) در روغن‌های زیتون بکر و تخم کدو طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد.

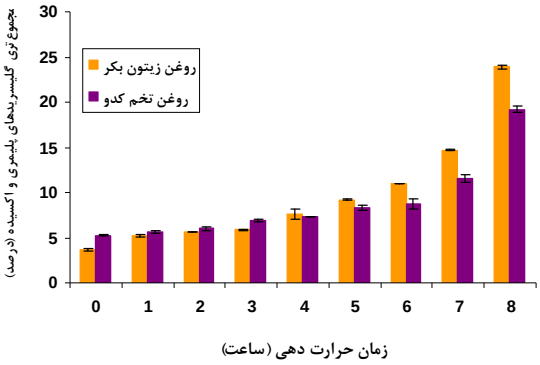


شکل ٤- تغییر میزان تری‌گلیسریدهای اکسیده (oxTGM) در روغن‌های زیتون بکر و تخم کدو طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد.



شکل ۵- تغییر میزان دی‌گلیسریدها (DG) و اسیدهای چرب آزاد (FFA) در روغن‌های زیتون بکر و تخم کدو طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد.

دی‌گلیسریدها محصولات واکنش هیدرولیز تری‌گلیسریدها هستند که فراریت کمتری نسبت به اسیدهای چرب آزاد دارند و به‌عنوان معیاری از میزان واکنش‌های هیدرولیزی پایش می‌شوند (دوبرگنز و همکاران، ۱۹۸۸). بررسی روند تغییرات دی‌گلیسریدها و اسیدهای چرب آزاد (شکل ۵) در این مطالعه نشان داد میزان ترکیبات نام برده در طول فرایند حرارتی هر دو نوع روغن متحمل تغییرات چندانی نمی‌شود. به عبارت دیگر، هیدرولیز عبارت از واکنش‌های عمده مسئول تخریب روغن در شرایط این پژوهش تشخیص داده نشد. در واقع، نتیجه مزبور با توجه به عدم حضور آب تحت شرایط فرایند حرارتی دور از انتظار نبود. ابیدی و همکاران (۱۹۹۹) در بررسی اثر حضور آب بر تغییرات ایجاد شده در روغن سویا طی فرایند حرارتی در دمای ۱۹۰ درجه سانتی‌گراد نشان دادند روغن سویای حاوی ۲ درصد آب پس از ۳۲ ساعت حرارت دیدن حامل ۱۵/۸ درصد دی‌گلیسرید (از کل ترکیبات قطبی) بود، حال آن که مقدار این جزء در صورت عدم حضور آب تنها ۲/۲ درصد گزارش شد. برنز و همکاران (۲۰۰۲) نیز در بررسی اثر فرایند حرارتی در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد بر ساختار ترکیبات قطبی روغن زیتون بکر به نتایج مشابهی دست یافتند.



شکل ٦- تغییر مجموع تری‌گلیسریدهای پلیمری (TGP) و تری‌گلیسریدهای اکسیده (oxTGM) در روغن‌های زیتون بکر و تخم کدو طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد.

پژوهشگران بر این باورند که ارزیابی صحیح‌تر میزان اکسایش روغن‌ها و چربی‌ها با محاسبه مجموع تری‌گلیسریدهای اکسیده و پلیمری میسر است زیرا بخشی از تری‌گلیسریدهای اکسیده به شکل ترکیبات پلیمری ظاهر می‌شوند (گومز و همکاران، ۲۰۰۳). از آن‌جایی که ترکیبات نام برده به عنوان پرواکسیدان عمل می‌کنند و پیش‌ساز محصولات فرار اکسایش محسوب می‌شوند، اندازه‌گیری همزمان آن‌ها دارای اهمیت زیادی در پیش‌بینی پایداری روغن‌هاست (فرانکل و همکاران، ۱۹۸۸). چنان‌که در شکل ٦ مشاهده می‌شود، میزان و سرعت افزایش مجموع تری‌گلیسریدهای اکسیده و پلیمری در روغن زیتون بکر به‌طور قابل ملاحظه‌ای بیش از روغن تخم کدو بود. این کمیت در روغن زیتون بکر از ۳/٦۹ به ۲۳/۸۹ درصد و در روغن تخم کدو از ۵/۲٦ به ۱۹/۱۹ درصد افزایش یافت. این بر مقاومت بیشتر روغن تخم کدو نسبت به روغن زیتون بکر در برابر واکنش‌های مخرب اکسایشی-حرارتی دلالت داشت. پایداری بیشتر روغن تخم کدو را می‌توان به حضور مقادیر بیشتر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی (توکوفرول‌ها و ترکیبات فنلی، جدول ۱) یا ترکیبات فنلی فعال‌تر روغن تخم کدو نسبت داد، گرچه ساختار اسید چربی روغن زیتون بکر مبنی بر شاخص‌های کمی مندرج در جدول ۱ نشانگر پایداری اکسایشی بیشتر آن بود. از این رو، مطالعه ساختار ترکیبات توکوفرولی و فنلی روغن تخم کدو بی‌شک اطلاعات ارزشمندی را در این خصوص در اختیار خواهد گذاشت.

منابع

1.Abidia, S.L., Kimb, I.H., and Rennicka, K.A. 1999. Determination of nonvolatile components of heated soybean oils separated with high-efficiency mixed-bed polystyrene/divinylbenzene columns. *Journal American Oil Chemistry Soceity*, 76, 939–944.

2.AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists*. Washington, DC.

3.AOCS. 1993. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*. AOCS Press, Champaign, IL.

4.Bastida, S., and Sanchez-Muniz, F.J. 2001. Thermal oxidation of olive oil, sunflower oil and a mix of both oils during forty discontinuous domestic frying of different foods. *Food Science Technology Int*ernational, 7, 15–21.

5.Brenes, M., Garciaa, A., Dobarganes, M.C., Velasco, J., and Romero, C.N. 2002. Influence of thermal treatments simulating cooking processes on the polyphenol content in virgin olive oil. *Journal Agricultural Food Chem*istry, 50, 5962–5967.

6.Caili, F., Huan, S., and Quanhong, L. 2006. A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. *Plant Foods Human Nutrition*. 61, 73–80.

7.Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M., and Parenti, A. 2000. Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chemistry*, 71, 553–562.

8.Choe, E., and Min, D.B. 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.* 5, 169–186.

9.Dobarganes, M.C., Velasco, J., and Dieffenbacher, A. 2000. The determination of polar compounds, polymerized triacylglycerols, eroxide triacylglycerols and diacylglycerols in fats and oils. *Pure Apply Chem*istry, 72, 1563–1575.

10.Dobarganes, M.C., Pirez-Camino, M.C., and Marquez-Ruiz, G. 1988. High performance size exclusion chromatography of polar compounds in heated and non heated fats. *Fat Science Technol*ogy, 8, 308–311.

11.Farhoosh, R. 2007. The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. *Journal American Oil Chemistry Soceity*. 84, 205–209.

12.Fatemi, S.H., and Hammond, E.G. 1980. Analysis of oleate, linoleate and linolenate hydroperoxides in oxidized ester mixtures. *Lipids* 15, 379–385.

13.Fedeli, E. 1988. The behaviour of olive oil during cooking and frying. (pp. 52–81), In: Varela, G., A.E., Bender, and I.D. Morton (Eds.), Frying of Foods, Ellis Horwood Ltd, Chichester, England.

14.Firestone, D. 2007. Regulation of frying fat and oil. (Pp. 373–385), In: Erickson, M.D. (ed), Deep Frying: Chemistry, Nutrition and Practical Applications, AOCS Press, Champaign.

15.Gomes, T., Caponio, F., and Delcuratolo, D. 2003. Non-conventional

parameters for quality evaluation of refined oils with special reference to commercial class olive oil. *Food Chem*istry, 83, 403–408.
16. Gunstone, F.D., and Hilditch, T.P. 1946. The autoxidation of methyl oleate in the presence of small proportions of methyl linoleate. *Journal Chemistry Soceity*, 1022–1025.
17. Kamal-Eldin, A. 2006. Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. Eur. *Journal Lipid Science Technol*ogy, 58, 1051–1061.
18. Marmesat, S., Rodrigues-Machado, E., Velasco, J., and Dobarganes, M.C. 2007. Quality of used frying fats and oils: comparison of rapid tests based on chemical and physical oil properties. *International Journal Food Science Technol*ogy, 42, 601–608.
19. Marquez-Ruiz, G., Tasioula-Margari, and Dobarganes, M.C. 1995. Quantification and distribution of altered fatty acids in frying fats. *Journal American Oil Chemistry Soceity*, 72, 1171–1176.
20. Atalgyto, F.S., and Al-Khalifa, A.S. 1998. Effect of microwave oven heating on stability of some oil and fats. *Arab Gulf Journal Scientific Resource*, 16, 21– 40.
21. Melton, S.L., Jafar, S., Sykes, D., and Trigiano, M.K. 1994. Review of stability measurements for frying oils and fried food flavor. *Journal American Oil Chemistry Soceity*, 71, 1301–308.
22. Parker, T.D., Adams, D.A., Zhou, K., Harris, M., and Yu, L. 2003. Fatty acid composition and oxidative stability of cold-pressed edible seed oils. *Journal Food Science*, 68, 41240–1243.
23. Schulte, E. (2004). Economical micromethod for determination of polar components in frying fats. *Eur. Journal. Lipid Sci. Technol*. 106, 772–776.
24. Shantha, N.C., and Decker, E.A. (1994). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal AOAC Int*ernational, 77, 21–424.
25. Siger, A., Nogala-Kalucka, M., and Lampart-Szczapa, E. 2008. The content and antioxidant activity of phenolic compounds on cold-pressed plant oils. *Journal Food Lipids*. 15, 137–149.
26. Tsaknis, J., Lalas, S., and Lazos, E.S. 1997. Characterization of crude and purified pumpkin seed Oil. *Gras Aceit*. 48, 267–272.
27. Valavanidis, A., Nisiotou, C., Papageorgiou, Y., Kremli, I., Satravelas, N., Zinieris, N., and Zygalaki, H. 2004. Comparison of the radical scavenging potential of polar and lipidic fractions of olive oil and other vegetable oils under normal conditions and after thermal treatment. *Journal Agricultural Food Chem*istry, 52, 2358–2365.
28. Wong, M.L., Timms, R.E., and Goh, E.M. 1988. Colorimetric determination of total tocopherols in palm oil, olein and stearin. *Journal American Oil Chemistry Soceity*, 65, 258–261.

Iranian Association of Food Scientists and Technologists

EJFPP, Vol. 1 (4): 25-41
http://ejfpp.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

The Stability of the Virgin Olive and Pumpkin Seed Oils in terms of the Polar Compounds Composition Determined by High-Performance Size-Exclusion Chromatography (HPSEC)

A. Gohari Ardabili[1], R. Farhoosh[2] and M.H. Haddad Khodaparast[3]

[1]Ph.D. student, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, [2]Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, [3]Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad

Received: 2009-11-23; Accepted: 2010-4-23

Abstract

The chemical characteristics and oxidative stability of virgin olive (VOO) and pumpkin seed (PSO) oils during heating at 180 °C were investigated. The oxidative stability was assessed by measuring the rate of changes in total polar compounds (TPC) content and polar fractions including triglyceride polymers (TGP), triglyceride dimers (TGD), oxidized triglycerides monomers (oxTGM), diglycerides (DG), and free fatty acids (FFA). The TPC compositions were analyzed by high-performance size-exclusion chromatography (HPSEC). The VOO had a higher level of oleic acid (62.17 vs. 38.42) while the PSO characterized by its higher level of linoleic acid (39.83 vs. 20.05). The VOO presented a higher ratio of unsaturated to saturated fatty acids than the PSO (5.37 vs. 4.17). The PSO showed significantly higher amounts of the FFA and peroxide value (0.39 % and 10.85 meq/kg, respectively) than the VOO (0.18 % and 6.89 meq/kg, respectively). The PSO contained a higher level of the antioxidative compounds including total tocopherols (725 vs. 585 mg/kg) and phenolics contents (66.27 vs. 25.67 mg/kg) than the VOO. Comparing the results of TPC contents and their compositions during the heating process indicated that the VOO underwent more degradation than the PSO.

Keywords: Pumpkin seed oil; Virgin olive oil; Thermo-oxidative and hydrolytic degradation; High-performance size-exclusion chromatography

*Corresponding author; E-mail: as_ar88@stu-mail.um.ac.ir