

## امکان فرمولاسیون روغن فراسودمند از امگا ۳ و امگا ۶ از دانه‌های بزرک و گلرنگ و ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن در طی ۴ ماه نگهداری

لیلا نمازی<sup>۱</sup>، محمدعلی سحری<sup>۲\*</sup>، سهیلا زرین‌قلمی<sup>۳</sup>، کیاندرخت قناتی<sup>۴</sup>

- ۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه شهید بهشتی، شعبه بین‌الملل، تهران
- ۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
- ۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان
- ۴- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه شهید بهشتی شعبه بین‌الملل، تهران
- \*آدرس مکاتبه: تهران، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس  
صندوق پستی: ۱۱۱-۱۴۱۱۵، تلفن: ۴۸۲۹۰ (۰۲۱)، نمابر: ۴۸۲۹۲۲۰۰ (۰۲۱)  
پست الکترونیک: sahari@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۶/۹

تاریخ تصویب: ۸۹/۱۱/۱۰

### چکیده

مقدمه: اهمیت مصرف اسیدهای چرب ضروری امگا ۳ و امگا ۶ شناخته شده است. اما اسیدهای چرب امگا ۳ و امگا ۶ از نظر متابولیکی و عملکرد متفاوت بوده و افزایش یکی از آنها در بدن سبب کاهش دیگری است (خاصیت آنتاگونیستی). رعایت نسبت این دو اسید چرب از مصرف اسیدهای چرب ضروری به تنهایی از ارزش بیشتری برخوردار است زیرا بدن قادر به تنظیم نسبت این دو اسید چرب نمی‌باشد.

هدف: بررسی امکان تهیه روغن فراسودمند از منابع گیاهی بزرک (روغن غنی از امگا ۳) و گلرنگ (روغن غنی از امگا ۶)، شامل مراحل استخراج، فرمولاسیون و نگهداری.

روش بررسی: پس از استخراج روغن دانه بزرک و گلرنگ، بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و فرآیند جزء به جزء سازی به منظور بالابردن مقدار امگا ۳ صورت گرفت. سپس مخلوطی به نسبت حدود ۱:۱ امگا ۳ به امگا ۶ از روغن بزرک و گلرنگ به عنوان روغن فراسودمند فرموله شد. میزان پایداری روغن تولید شده در دو محیط یخچال و فریزر در تناوب‌های زمانی ۰، ۱، ۲، ۳، ۴ ماه با استفاده از شاخص‌های پراکسید، اسید تیوباریتوریک و رنسیمت مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که با فرآیند جزء به جزء سازی می‌توان مقدار امگا ۳ روغن بزرک را از ۱۹/۵۰ به ۵۹/۵۲ درصد رساند ( $p < 0/05$ ). عدد پراکسید روغن فراسودمند در طی ۴ ماه نگهداری به ترتیب در محیط یخچال و فریزر از صفر به ۴۳/۱۰۰ و ۹۹/۴ میلی‌اکی‌والان پراکسید درصد گرم روغن، عدد اسید تیوباریتوریک به ترتیب از صفر به ۹۹/۴ و ۰/۲۶ میلی‌گرم دی‌آلدئید در کیلوگرم روغن و عدد رنسیمت به ترتیب از ۱۰/۲ به ۰/۳۳ و ۱۰/۲ به ۳۵/۱ ساعت رسید ( $p < 0/05$ ).

نتیجه‌گیری: در این بررسی نشان داده شد که با استفاده از فرآیند جزء به جزء سازی می‌توان میزان امگا ۳ روغن بزرک را در حدود ۷۸/۴ درصد افزایش داد به طوری که نسبت امگا ۳ با مقدار امگا ۳ اولیه دارای اختلاف آماری معنی‌دار باشد ( $p < 0/05$ ). آزمایش‌های تشخیصی روغن فراسودمند نگهداری شده در فریزر و یخچال نشان داد که عدد پراکسید نمونه نگهداری شده در فریزر زیر حد استاندارد بوده، لذا توصیه می‌شود برای نگهداری این روغن از فریزر استفاده شود.

کل‌واژگان: روغن گلرنگ، روغن بزرک، فرمولاسیون روغن فراسودمند، امگا ۳، امگا ۶، نگهداری



## مقدمه

می‌باشد. پروستاسیکلین از تولید لخته جلوگیری می‌نماید و دارای اثر ضد انعقادی (Antiaggregatory) است. ترومبوسکان‌ها سبب تشکیل لخته می‌شوند. تولید ترومبوسکان و پروستاسیکلین در بدن با یکدیگر خاصیت آنتاگونیستی دارند. لوکوتری‌ان‌ها سبب تعدیل سیستم ایمنی بدن می‌شوند. تولید لوکوتری‌ان‌ها در بدن با تولید هیستامین همراه است لیپوکسین‌ها در گلبول‌های سفید تولید می‌شوند. بر عروق اثر می‌گذارند و سبب تعدیل سیستم ایمنی می‌شوند [۲].

روغن‌ها و چربی‌ها از اجزای مهم فرمولاسیون مواد غذایی در صنعت به شمار می‌آیند [۳] و در بدن وظایف گوناگونی دارند، یکی از اصلی‌ترین وظایف آن‌ها تولید هورمون‌های حیاتی بدن مانند ایکوزانوئیدها است که از اسیدهای چرب ضروری امگا ۳ و امگا ۶ سنتز می‌شوند [۴]. اسیدهای چرب ضروری به اسیدهای چربی گفته می‌شود که در بدن تولید نمی‌شوند و حتماً باید از طریق غذا وارد بدن شوند و شامل اسیدهای چرب گروه امگا ۳ و امگا ۶ است. مغز انسان غنی از اسید آراشیدونیک و اسید دوکوزاهگزانوئیک است. یکی از اجزای اصلی سلول‌های خاکستری مغز انسان، شبکه چشم و بافت قلب اسید دوکوزاهگزانوئیک است. این دو اسید چرب که برای تشکیل مغز نوزادان بسیار مهم هستند، در شیر انسان به وفور یافت می‌شوند [۵]. در اسیدهای چرب گروه امگا ۳ اولین بند دوگانه از انتهای گروه متیل روی سومین کربن قرار دارد و در اسیدهای چرب گروه امگا ۶ اولین بند دوگانه از انتهای گروه متیل روی کربن شماره ۶ قرار دارد [۶].

مهم‌ترین منبع امگا ۳ روغن ماهی است اما با توجه به کمبود منابع ماهی؛ در دسترس نبودن آن در تمام مکان‌ها؛ مدت زمان ماندگاری کوتاه؛ بو و طعم نامطلوب؛ مشکلات آلودگی و طبخ و مهم‌تر از همه آلودگی ماهی‌ها با جیوه و سرب، امروزه بیشتر از منابع گیاهی استفاده می‌شود. منابع گیاهی منابعی سالم‌تر، ارزان‌تر و با قابلیت دسترس بیشتر هستند. بالاترین میزان اسیدچرب اسید آلفالینولنیک (امگا ۳ زنجیر کوتاه) را گیاهان دارا بوده و از بین گیاهان بزرگ دارای بالاترین میزان (حدود ۵۰ درصد) است. بالاترین میزان اسیدچرب امگا ۶ در گیاهان یافت می‌شود که از بین آنها روغن گلرنگ دارای

بالا بردن سلامت افراد یک جامعه از شاخص‌های مهم بهداشتی و پیشرفت جوامع محسوب می‌شود. سلامتی می‌تواند متأثر از دو عامل ژنتیک و عوامل محیطی باشد. انسان‌ها در طول ده هزار سال گذشته به لحاظ ژنتیکی تغییر چندانی نکرده‌اند ولی به لحاظ نوع غذا، مصرف انرژی و فعالیت‌های فیزیکی تغییر زیادی نموده‌اند. در تغذیه انسان‌های اولیه نسبت امگا ۶ به امگا ۳ در حدود ۱:۱ تا ۲:۱ بوده است. به هم خوردن این تعادل یعنی به هم خوردن تنظیم و رشد بدن که متعاقب آن ابتلا به بیماری‌هایی مانند بیماری‌های اکتسابی (Secondary heart disease) قلبی، فشار خون بالا، دیابت، آرتریت روماتوئید (Rheumatoid arthritis)، سرطان و انواع حساسیت‌ها است. درست است که مصرف امگا ۳ باعث ارتقا سلامت افراد می‌شود و خاصیت ضدالتهابی و ضدسرطانی آن شناخته شده است اما اسیدهای چرب امگا ۳ و امگا ۶ از نظر متابولیسمی و عملکرد با یکدیگر متفاوتند و بهترین حالت برای بدن تعادل این دو اسیدچرب می‌باشد [۱]. پس می‌توان نتیجه گرفت رعایت نسبت این دو اسیدچرب از مصرف امگا ۳ به تنهایی از ارزش بیشتری برخوردار است. تبدیل امگا ۶ به امگا ۳ توسط آنزیم دلتا ۳ دی سچوراز ( $\Delta 3$ -desaturase) صورت می‌گیرد ولی پستانداران فاقد این آنزیم می‌باشند. یکی از مهم‌ترین وظایف اسیدهای چرب امگا ۳ و امگا ۶ تولید هورمون‌های حیاتی ایکوزانوئیدها (Eicosanoids) می‌باشد. تنظیم نسبت این دو اسیدچرب باعث عملکرد خوب ایکوزانوئیدها در بدن می‌شود. ایکوزانوئیدها از ایکوزانوئیک اسید ( $C_{20}$ ) تولید می‌شوند. ایکوزانوئیدها شامل پروستاگلاندین‌ها (PG) (Prostaglandin)، پروستاسیکلین‌ها (PGI) (Prostacyclin)، ترومبوسکان‌ها (TX) (Thromboxane)، لوکوتری‌ان‌ها (LT) (Leukotriene) و لیپوکسین‌ها (LX) (Lipoxin) می‌باشند. پروستاگلاندین دارای اثرات فیزیولوژیک مختلف مانند کاهش فشار خون، تنظیم عبور یون‌های مختلف از سیناپس‌های عصبی، خنثی‌سازی اثر برخی از هورمون‌ها، درد زایمان، سقط جنین، درد قاعدگی، منبسط‌کننده عروق و بازدارنده طبیعی چسبندگی پلاکت‌ها



بالاترین میزان اسید لینولئیک (حدود ۷۵ درصد) است [۷]. دانه بزرک با نام علمی *Linume usitatissimum* یکی از مهم‌ترین دانه‌های روغنی در سطح جهان است که در حدود ۴۰ درصد روغن دارد [۶]. دانه بزرک بیشتر از هر دانه روغنی در تولید غذاهای فراسودمند مورد استفاده قرار می‌گیرد. دانه بزرک علاوه بر اینکه منبع خوب اسید چرب ضروری امگا ۳ می‌باشد، حاوی اسیدهای آمینه ضروری آرژینین، هیستیدین، گلوتامین، سیستئین و متیونین (لیگنان) که حاوی فیتواستروژن بوده و تولید استروژن گیاهی می‌کند و از پوکی استخوان (Osteopresis) در زنان یائسه جلوگیری می‌نماید (ترکیبات فنلی) که خاصیت ضدسرطانی داشته (ترکیبات معدنی و ویتامین‌ها) نیز می‌باشد. از گذشته از روغن دانه بزرک در مصارف صنعتی از جمله رنگ ساختمان‌ها، صنایع رنگرزی، تهیه روغن جلا، محافظ بتن، جوهر چاپ و لوازم آرایشی استفاده می‌شده است اما امروزه به دلیل میزان بالای اسید چرب ضروری امگا ۳ مورد توجه قرار گرفته و در فرمولاسیون مواد غذایی به کار می‌رود [۸]. در حال حاضر کانادا ۴۰ درصد بزرک دنیا را تولید می‌نماید و اولین صادر کننده این دانه روغنی به دنیا می‌باشد.

دانه گلرنگ با نام علمی *Carthamus tinctorius L.* گیاهی است که حدود ۳۰ درصد روغن دارد [۹،۱۰] و منشأ جغرافیایی آن را ایران، نواحی مدیترانه و خاورمیانه می‌دانند. طبق تحقیقات انجام شده در اروپا و آمریکا از ۲۰۴۲ ژنوتیپ موجود، ۱۹۹ ژنوتیپ مربوط به ژنوتیپ‌های ایرانی بوده است [۱۱]. گلبرگ‌های گیاه گلرنگ به رنگ‌های زرد، قرمز و نارنجی است و از آن به عنوان رنگ‌دهنده، طعم‌دهنده در غذاها از گذشته تا به امروز استفاده می‌شود [۹].

مقاوم بودن گیاه گلرنگ نسبت به حشرات، از مزایای این گیاه در تولید انبوه محسوب می‌شود. در گذشته برای درمان بیماری‌های قلبی و کبدی از این روغن استفاده می‌شده است. روغن گلرنگ به دو دسته معمولی و حاوی اسید اولئیک بالا تقسیم می‌شود [۸]. در صورت بالا بودن دمای محیط رشد دانه گلرنگ، روغن گلرنگ حاوی اسید اولئیک بالاتری است. زیرا آنزیمی که سبب تبدیل اسید اولئیک به اسید لینولئیک می‌شود

در حرارت بالا از بین می‌رود [۹]. گیاه گلرنگ به علت سازگاری با شرایط محیطی منطقه ایران، مقاومت به خشکی و نیاز به مقدار کم آب از جمله مهم‌ترین دانه‌های روغنی در کشور محسوب می‌شود [۱۱،۱۲].

غذاهای فراسودمند به آن دسته از مواد غذایی اطلاق می‌شود که علاوه بر سالم و ایمن بودن، سودمند نیز باشند و از بروز بیماری‌ها جلوگیری نمایند. روغن‌های فراسودمند نیز جزو همین گروه هستند. این نوع از روغن‌ها باید شامل یکی از دو گروه اسیدهای چرب امگا ۳ یا امگا ۶ یا هر دوی آنها به نسبت مناسب باشد [۱۳].

جزء به جزء سازی یکی از مهم‌ترین فرآیندهای فیزیوشیمیایی جداسازی و خالص‌سازی ترکیبات مختلف موجود در روغن‌ها و چربی‌ها است. فرآیند جزء به جزء سازی برحسب اختلاف در جامد شدن، حلالیت یا فراریت ترکیبات مختلف موجود در ماده غذایی انجام می‌شود. از این فرآیند برای تعدیل خواص فیزیوشیمیایی کامل یا نسبی فرآیندهای جانیشینی استفاده می‌شود. انواع جزء به جزء سازی شامل: تبلور جزء به جزء، تقطیر جزء به جزء، جزء به جزء سازی مایع، جزء به جزء سازی به طریق جذب و جزء به جزء سازی با استفاده از سیال فوق بحرانی می‌باشد [۳،۴].

با توجه به معایب روغن‌های موجود در بازار و محاسن ذکر شده در مورد نسبت متناسب امگا ۶ به امگا ۳ و با در نظر گرفتن این نکته که ایران کشوری است با شرایط تولید دانه‌های روغنی حاوی امگا ۶ (دانه گلرنگ) و امگا ۳ (دانه بزرک)، در این پژوهش سعی بر آن است که امکان تهیه روغن فراسودمند از اسیدهای چرب امگا ۶ و امگا ۳ از منابع گیاهی گلرنگ و بزرک فراهم گردد. همچنین امکان نگهداری فرآورده به دست آمده به منظور استفاده خوراکی و دارویی مورد بررسی قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

### بررسی خواص فیزیوشیمیایی بذر گلرنگ و بزرک

مواد اصلی مورد آزمایش دانه بزرک واریته ایرانی و دانه گلرنگ واریته اصفهان ۲۸ است که با مراجعه به مرکز نهال و بذر کرج تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. مواد شیمیایی مورد



### جزء به جزء سازی اسیدهای چرب ضروری

جزء به جزء سازی یک فرایند فیزیکی به منظور جداسازی اسیدهای چرب است، بدون این که تغییری در ساختمان شیمیایی اسیدچرب به وجود آید. با استفاده از فرایند تبلور جزء به جزء (نوعی فرآیند جداسازی است که در آن جداسازی از طریق تفاوت در نقطه‌ی انجماد صورت می‌گیرد) این میزان را می‌توان افزایش داد. از آنجا که روغن دانه گلرنگ در حدود ۹۰ درصد اسیدچرب غیراشباع دارد جداسازی اسیدهای چرب آن با استفاده از فرایندهای فیزیکی نیاز نیست. روغن دانه بزرک با حدود ۵۰ درصد اسید لینولنیک دارای بالاترین میزان این اسیدچرب در بین دانه‌های روغنی است [۷] که می‌توان با استفاده از یک فرایند فیزیکی مانند جزء به جزء سازی این میزان را افزایش داد. جزء به جزء سازی روغن دانه بزرک به صورت خشک و در شرایط دمایی کنترل شده به این صورت انجام گرفت که ابتدا روغن دانه بزرک که در دمای ۲۴- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد در آن ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد تا کلیه اسیدهای چرب به صورت یکنواخت درآیند. سپس به منظور سرد کردن تری‌گلیسریدهای ذوب شده برای تشکیل هسته بلور در دستگاه سرد کن در دمای ۳۵- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. عمل سرد کردن به مدت ۴۵ دقیقه ادامه پیدا کرد تا حدی رشد بلورها در دیواره و داخل ظرف قابل مشاهده بود. بعد از این مرحله جداسازی دو فاز مایع و جامد تولید شده صورت گرفت. این جداسازی شامل دو مرحله بود. به این ترتیب که در مرحله دوم فاز مایع جدا شده از مرحله اول به ترتیب ذکر شده در بالا جداسازی شده و به منظور ترکیب با روغن گلرنگ مورد استفاده قرار گرفت [۱۴].

### مشتق سازی اسیدهای چرب

برای اندازه‌گیری نوع و مقدار اسیدهای چرب در دستگاه گاز کروماتوگرافی، چربی در ابتدا باید به مشتق اسیدهای چرب فرار تبدیل شود. نوع هر اسیدچرب بر اساس مقایسه زمان بازداری آن با زمان بازداری استانداردهای مربوطه تعیین شده و مقدار آن به روش استاندارد درونی اندازه‌گیری شد [۱۷]. جهت متیلاسیون مواد سود متانولی ۲ درصد، محلول  $\text{BF}_3$  (Boron trifluoride)، حلال هگزان، محلول نمک اشباع (NaCl) استفاده شد.

استفاده نیز همگی با بالاترین خلوص از شرکت مرک آلمان تهیه گردید. دانه‌های بزرک و گلرنگ ابتدا تمیز شده و از مواد خارجی عاری و توسط آسیاب آزمایشگاهی خرد شدند. اندازه‌گیری رطوبت دانه‌ها به روش قرار دادن در آن (۱۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲/۵ الی ۳ ساعت) انجام و سپس توزین تا رسیدن به وزن ثابت انجام گرفت [۱۵]. از دانه‌های خرد شده با رطوبت مشخص برای استخراج روغن به روش غرقابی و با حلال هگزان استفاده شد. بدین ترتیب که دانه‌های بزرک خرد شده را در داخل کارتوش ریخته و کارتوش را در بشر گذاشته و به میزان حدود ۳ برابر وزن دانه خرد شده، حلال هگزان ریخته شد و دهانه بشر به طور کامل پوشانده شد تا از خروج حلال در حین استخراج جلوگیری به عمل آید. سپس بشر در گرمخانه تحت تکان مداوم و حدود ۱۰ ساعت در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس کارتوش‌ها از داخل بشر خارج و حلال از مخلوط حلال و روغن توسط دستگاه تبخیرکننده چرخان تحت خلاء در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد جدا شد [۱۶]. ( $\text{Ai 3-75}$ ) برای تعیین ضریب شکست نمونه‌ها طبق روش استاندارد ملی ایران شماره (۵۱۰۸) اندازه‌گیری ضریب شکست در روغن‌ها و چربی‌ها خوراکی - آبان ماه (۱۳۷۷) انجام شد. برای تعیین عدد صابونی نمونه‌ها طبق روش استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۵۰۱ (روغن‌ها و چربی‌های گیاهی و حیوانی - اندازه‌گیری عدد صابونی) انجام شد. عدد یدی طبق روش استاندارد ملی ایران شماره ۴۸۸۶ (اندازه‌گیری عدد یدی به روش هانوس در روغن‌ها و چربی‌های خوراکی - مرداد ۷۹) انجام شد. برای ارزیابی رنگ نمونه‌ها از دستگاه رنگ‌سنج هانتربل  $\text{Color flex}$  مدل  $\text{A60-1005-654}$  (0/45) استفاده شد و سه فاکتور  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  که به ترتیب بیانگر روشنی، قرمزی و زردی هستند، مورد ارزیابی قرار گرفت. متیلاسیون چربی طبق روش استاندارد ملی ایران شماره ۴۰۹۱ (روش تهیه متیل استرها اسید چرب به روش گاز کروماتوگرافی) انجام شد. روغن به دست آمده جهت انجام آزمایش‌های بعدی در دمای ۲۴- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.



**تعیین میزان اسیدهای چرب با استفاده از دستگاه GC**

برای این کار از دستگاه GC (Unicam 4600) ساخت کشور انگلستان استفاده شد. مقدار ۰/۲ میکرولیتر روغن مورد بررسی مشتق‌سازی شده به دستگاه با شرایط زیر تزریق شد. جنس ستون سیلیکای مذاب از نوع فاز پیوندی، طول ستون ۳۰ متر، قطر داخلی ستون ۰/۲۲ میلی‌متر، قطر فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون، نوع فاز ساکن (BPX70 خیلی قطبی)؛ آشکارساز (FID (Flame ionization detector) از گاز هلیوم با درصد خلوص ۹۹/۹۹ درصد و با سرعت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه به عنوان فاز متحرک استفاده شد؛ دمای محل تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد؛ دمای ستون در ابتدا در ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ دقیقه تنظیم شد. سپس با سرعت ۲۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد رسیده و در این دما ۱۱ دقیقه باقی مانده سپس در همین سرعت به دمای ۱۹۰ درجه سانتی‌گراد رسیده و تا پایان در این دما ماند؛ دمای آشکارساز ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد (Detector) بود. برای شناسایی اسیدهای چرب زمان بازداری هر یک از گونه‌ها با زمان بازداری استانداردهای متیل استر تهیه شده از شرکت آلدريج تحت شرایط آزمایشی یکسان مقایسه شده و محل پیک هر یک از گونه‌ها معین شد.

**تعیین محصولات اولیه اکسیداسیون روغن**

تعیین عدد پراکسید طبق روش استاندارد ملی ایران شماره ۴۱۷۹ (اندازه‌گیری عدد پراکسید در روغن‌ها و چربی‌های خوراکی تیر ۷۷) انجام شد.

**تعیین محصولات ثانویه اکسیداسیون روغن**

محصولات ثانویه اکسیداسیون چربی با شاخص اسید تیوباربیتوریک اندازه‌گیری می‌شود. عدد اسید تیوباربیتوریک وجود مالون دی‌آلدهید موجود در ۱۰۰۰ گرم چربی است. عدد اسید تیوباربیتوریک مطابق با استاندارد ایران به شماره ۱۰۴۹۴ (روغن‌ها و چربی‌های گیاهی - اندازه‌گیری عدد اسید تیوباربیتوریک به روش مستقیم) انجام شد.

**تعیین شاخص پایداری اکسیداتیو روغن (عدد رنسیمت)**

با استفاده از این روش پایداری روغن در برابر اکسیداسیون سنجیده می‌شود [۱۸] که به صورت مدت زمان القا بر حسب ساعت مطابق با استاندارد ایران شماره ۳۷۳۴ (تعیین پایداری روغن‌ها و چربی‌های خوراکی در برابر اکسیداسیون) انجام شد. در این تحقیق از ۳ گرم نمونه روغن در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

**مخلوط کردن روغن‌ها**

در تکنیک مخلوط کردن روغن‌ها در واقع روغنی اصلاح شده به وجود می‌آید که نه تنها اشکال‌های استفاده از هر کدام از روغن‌ها به تنهایی را ندارد بلکه دارای کیفیت و خواص بهتری می‌شود. روغن دانه بزرک و گلرنگ دارای توکول‌ها که مجموعه‌ای از توکوفرول‌ها و توکوتری‌انول‌ها هستند می‌باشند که از جمله فراوان‌ترین و مهم‌ترین مواد ضداکسایش موجود در روغن و دانه‌های روغنی محسوب می‌شوند که به صورت‌های آلفا، بتا، گاما و دلتا در دانه‌های روغنی به مقدار زیاد وجود دارند. در بین توکوفرول‌های موجود در دانه و روغن دانه بزرک، مقدار گاما - توکوفرول نسبت به بقیه بالاتر بوده و مقدار آن با مقدار لینولنیک اسید رابطه مستقیم دارد [۱۹،۲۰] ویژگی ضداکسایش توکوفرول‌ها بستگی به ماهیت شیمیایی و غلظت آنها در روغن دارد. این عمل را به وسیله انواع روش‌های زیست - شیمیایی و زیست-فیزیکی که شامل بلعیدن رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال است انجام می‌دهند [۲۱]. قدرت ضداکسایش توکوفرول‌ها به ترتیب مربوط به توکوفرول‌های دلتا، گاما، بتا و آلفا می‌باشد. آلفا - توکوفرول اصلی‌ترین توکوفرول در روغن دانه گلرنگ است و بعد از آن بتا و گاما - توکوفرول، مهم هستند [۱۹،۲۱] پس می‌توان نتیجه گرفت در روغن تولید شده هم آلفا و هم گاما توکوفرول به میزان بالایی وجود دارد که نشان از بالابودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی این روغن است. از آنجا که روغن بزرک شامل حدود ۱۵ درصد امگا ۶ و حدود ۵۰ درصد امگا ۳ می‌باشد و روغن گلرنگ شامل حدود ۷۰ درصد امگا ۶ می‌باشد، لذا به منظور به دست آوردن نسبت تقریباً مساوی از دو اسید چرب امگا ۳ و امگا ۶، روغن گلرنگ در حدود ۵۰ درصد حجمی روغن بزرک برداشته شد. نتایج مخلوط کردن دو روغن در



فراسودمند تولید شده با استفاده از دستگاه GC در شکل شماره ۸ و ۹ آمده است.

همان‌طور که در جدول شماره ۲، مشخص است میزان اسید چرب اشباع پالمیتیک طی دو مرحله جداسازی (دمای ۳۵- درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه) از ۹۶/۶ درصد ۴۷/۶ درصد کاهش یافت و اسید چرب اشباع استئاریک از ۸۸/۴ درصد به ۹۹/۲ درصد کاهش یافت. همان‌طور که در شکل شماره ۱، مشاهده می‌شود، بین میزان اسید پالمیتیک و اسید استئاریک در مراحل اول و آخر اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد ( $p < 0/05$ ) میزان اسید چرب تک غیراشباع اولئیک از ۶۶/۲۳ درصد به ۹۸/۲۱ درصد رسید و بین میزان آن در مراحل اول و آخر اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد ( $p < 0/05$ ). میزان اسید چرب غیراشباع اسید لینولئیک از ۲۱/۱۴ به ۷۳/۱۵ درصد افزایش نشان داد که بین مراحل اول و آخر اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد ( $p < 0/05$ ). میزان اسید چرب غیراشباع لینولئیک که مهم‌ترین بخش این روغن است از ۱۹/۵۰ درصد به ۵۹/۵۲ درصد رسید که با مرحله‌ی قبل از جزء به جزء سازی اختلاف آماری معنی‌دار دارد ( $p < 0/05$ ). با توجه به جدول شماره ۲ و نیز شکل شماره ۱، می‌توان نتیجه گرفت که میزان اسیدهای چرب غیراشباع از ۸۸/۰۴ درصد به ۹۰/۳۰ درصد افزایش و مجموع اسیدهای چرب اشباع از ۸۵/۱۱ درصد به ۴۶/۹ درصد کاهش یافته است که هر دو دارای اختلاف آماری معنی‌دار است ( $p < 0/05$ ).

کروماتوگرام مربوط به متیل استر اسیدهای چرب این دو روغن نشان داد که میزان امگا ۳ در حدود ۸۷/۳۰ و میزان امگا ۶ در حدود ۶۵/۳۶ است یعنی در حدود نسبت ۱ به ۱ از امگا ۳ و امگا ۶ می‌باشد (شکل شماره ۵).

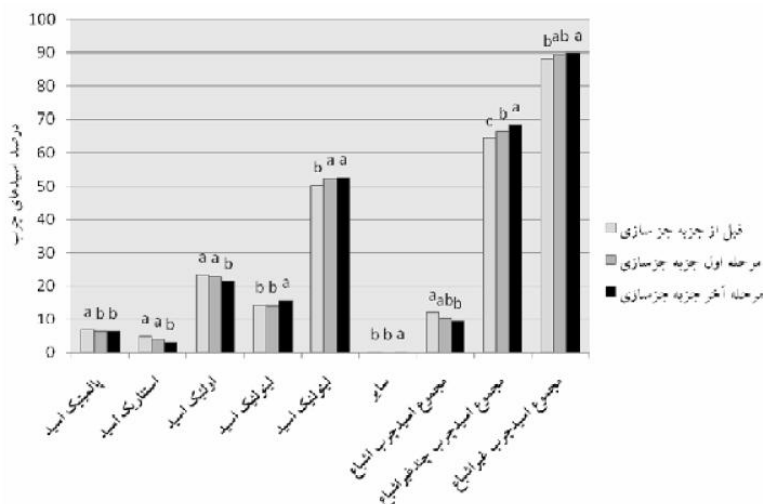
### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با روش تجزیه واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۶ و در قالب کاملاً تصادفی انجام شد. در صورت معنی‌دار بودن اثر فاکتورها به منظور بررسی اختلاف بین میانگین‌های از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد ( $p < 0/05$ ). به عنوان اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها در نظر گرفته شد.

### نتایج

نتایج ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی روغن استخراج شده از بذر گلرنگ گونه اصفهان ۲۸، بزرک ایرانی و روغن فراسودمند تولید شده از این منابع در جدول شماره ۱، آمده است. کروماتوگرام متیل استر اسیدهای چرب روغن گلرنگ، روغن بزرک و روغن فراسودمند تولید شده با استفاده از دستگاه GC در شکل شماره ۶، ۷ و ۱۰ آمده است.

نتایج به دست آمده از فرایند جزء به جزء سازی روغن بزرک در جدول شماره ۲، آمده است. کروماتوگرام متیل استر اسیدهای چرب روغن گلرنگ، روغن بزرک و روغن



شکل شماره ۱- مقایسه میزان اسیدهای چرب موجود در روغن دانه بزرک در طی مراحل جزء به جزء سازی (حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌داری در سطح  $p < 0/05$  می‌باشد).



جدول شماره ۱- نتایج برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی روغن گلرنگ، بزرک و روغن فراسودمند تولیدی

نام	گلرنگ روغن	بزرک روغن	فراسودمند روغن
ضریب شکست (۲۸ درجه سانتی گراد)	۱/۴۶ ± ۰/۳۶	۱/۴۸ ± ۰/۱۰	
عدد یدی $gI_2/100g\ oil$	۱۴۰/۳۷ ± ۵/۰۶	۱۷۰/۶۸ ± ۰/۷۸	
عدد صابونی $meq\ KOH/g\ oil$	۱۶۵/۳۵ ± ۵/۱۲	۱۹۱/۷۳ ± ۱/۶۶	
پالمیتیک اسید (درصد)	۷/۴۶ ± ۰/۷۲	± ۰/۶۱۵/۹۶	۷/۰۵ ± ۰/۳۸
استتاریک اسید (درصد)	۲/۴۷ ± ۰/۰۸	۴/۸۸ ± ۰/۲۹	۳/۹۴ ± ۰/۰۱۵
اولئیک اسید (درصد)	۱۴/۳۶ ± ۰/۱۴	۲۳/۶۳ ± ۰/۱۸	۱۹/۴۷ ± ۰/۰۷
لینولئیک اسید (درصد)	۷۵/۴۹ ± ۰/۶۲	۱۴/۲۱ ± ۰/۱۸	۳۷/۷۴ ± ۰/۲۴
لینولئیک اسید (درصد)	۰/۰۰	۵۰/۱۹ ± ۰/۲۷	۳۱/۷۸ ± ۰/۰۴
a* میزان قرمزی (درصد)	۲/۷۹ ± ۰/۲۳	-۱/۵۰ ± ۰/۰۲	
b* (میزان زردی)	۸۵/۷۹ ± ۰/۴۵	۸۴/۹۰ ± ۰/۰۶	
L* (میزان روشنی)	۷۳/۱۲ ± ۰/۴۱	۷۰/۹۸ ± ۰/۰۴	

\* اعداد، میانگین ± انحراف استاندارد می باشد.

جدول شماره ۲- نتایج به دست آمده از فرایند جزء به جزء سازی روغن بزرک

نام	درصد ترکیبات
پالمیتیک اسید پیش از فرایند جداسازی	۶/۹۶ ± ۰/۱۶
پالمیتیک اسید در مرحله اول جداسازی	۶/۴۶ ± ۰/۲۳
پالمیتیک اسید در مرحله آخر	۶/۴۷ ± ۰/۲۵
استتاریک اسید پیش از فرایند جداسازی	۴/۸۸ ± ۰/۲۹
استتاریک اسید در مرحله اول جداسازی	۴/۰۲ ± ۰/۰۹
استتاریک اسید در مرحله آخر	۲/۹۹ ± ۲/۹۲
اولئیک اسید پیش از فرایند جداسازی	۲۳/۶۶ ± ۰/۲۲
اولئیک اسید در مرحله اول جداسازی	۲۳/۰۶ ± ۰/۴۳
اولئیک اسید در مرحله آخر	۲۱/۹۸ ± ۰/۲۵
لینولئیک اسید (6-ω) پیش از فرایند جداسازی	۱۴/۲۱ ± ۰/۱۸
لینولئیک اسید (6-ω) در مرحله اول جداسازی	۱۴/۱۲ ± ۰/۳۲
لینولئیک اسید (6-ω) در مرحله آخر	۱۵/۷۳ ± ۰/۲۹
لینولئیک اسید (3-ω) در مرحله اول جداسازی	۵۲/۳۲ ± ۰/۴۷
لینولئیک اسید (3-ω) در مرحله آخر جداسازی	۵۲/۵۹ ± ۰/۵۶
مجموع اسیدهای چرب غیراشباع در مرحله پیش از فرایند	۸۸/۰۴ ± ۰/۱۷
مجموع اسیدهای چرب غیراشباع در مرحله آخر	۹۰/۳۰ ± ۰/۸۴
مجموع اسیدهای چرب چندغیراشباع پیش از فرایند	۴/۳۷ ± ۰/۲۷
مجموع اسیدهای چرب چندغیراشباع پس از فرایند	۶۸/۳۲ ± ۰/۶۲
مجموع اسیدهای چرب اشباع پیش از فرایند	۱۱/۸۵ ± ۰/۲۲
مجموع اسیدهای چرب اشباع پس از فرایند	۹/۴۶ ± ۱/۱۵
سایر اسیدهای چرب پیش از فرایند جداسازی	۰/۸ ± ۰/۸۵
سایر اسیدهای چرب در مرحله اول جداسازی	۰/۰۰
سایر اسیدهای چرب در مرحله آخر	۰/۲۱ ± ۰/۰۳

\* اعداد، میانگین ± انحراف استاندارد می باشد.



همان‌طور که در جدول شماره ۳ و در شکل شماره ۲، مشخص است، میزان اسید پالمیتیک به ۶۹/۹ درصد رسیده است که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین روغن فراسودمند تولید شده و روغن دانه بزرک و گلرنگ وجود ندارد ( $p < 0/05$ ). میزان اسید استئاریک به ۸۸/۳ درصد رسیده است که با توجه به شکل شماره ۲، می‌توان نتیجه گرفت که مقدار این اسید بین روغن فراسودمند تولید شده با روغن دانه گلرنگ و بزرک اختلاف آماری معنی‌دار دارد ( $p < 0/05$ ). میزان اسید اولئیک به ۹۹/۱۸ درصد رسیده و با مقایسه‌ی آن با روغن دانه گلرنگ و بزرک در شکل شماره ۲، می‌توان نتیجه گرفت که با مقدار آن در روغن فراسودمند تولید شده از نظر آماری اختلاف معنی‌دار دارد ( $p < 0/05$ ). میزان اسید لینولئیک در روغن فراسودمند به ۶۵/۳۶ درصد رسیده که نسبت به روغن دانه بزرک و گلرنگ به تنهایی دارای اختلاف آماری معنی‌دار است ( $p < 0/50$ ). در روغن فراسودمند تولیدی میزان اسید لینولئیک به ۶۵/۳۶ درصد رسیده که دارای اختلاف آماری معنی‌دار با دو روغن دانه گلرنگ و بزرک است ( $p < 0/05$ ).

با توجه به ضرورت تولید نسبت حدودی ۱ به ۱ از امگا ۳ و امگا ۶ در روغن‌های خوراکی، از روغن دانه گلرنگ به عنوان منبع امگا ۶ و از روغن دانه بزرک به عنوان منبع امگا ۳ استفاده شد. همان‌طور که در جدول شماره ۱، مشخص است میزان اسید لینولئیک در روغن گلرنگ ۷۵/۴۹ درصد و میزان اسید لینولئیک آن در حد صفر است. از طرف دیگر روغن دانه بزرک حاوی ۱۹/۵۰ درصد اسید لینولئیک و ۲۱/۱۴ درصد اسید لینولئیک است. پس می‌توان به منظور تولید روغنی که حاوی نسبت مساوی از این دو اسید چرب باشد در حدود ۳۵ درصد از روغن دانه گلرنگ را با حدود ۱۵ درصد از روغن دانه بزرک مخلوط نمود. نتیجه‌ی آن تهیه روغن فراسودمندی با ۸۷/۳۰ درصد امگا ۳ و ۶۵/۳۶ درصد امگا ۶ است. لازم به ذکر است که این اختلاف جزئی مربوط به بالا بودن میزان امگا ۳ و امگا ۶ روغن بزرک می‌باشد.

در جدول شماره ۳، میزان تغییرات اکسیداتیو و پایداری روغن فراسودمند در دوران نگهداری به مدت ۴ ماه در محیط یخچال و فریزر مورد بررسی قرار گرفت.

جدول شماره ۳- بررسی میزان تغییرات اکسیداتیو و پایداری روغن فراسودمند در دوران نگهداری به مدت ۴ ماه در محیط یخچال

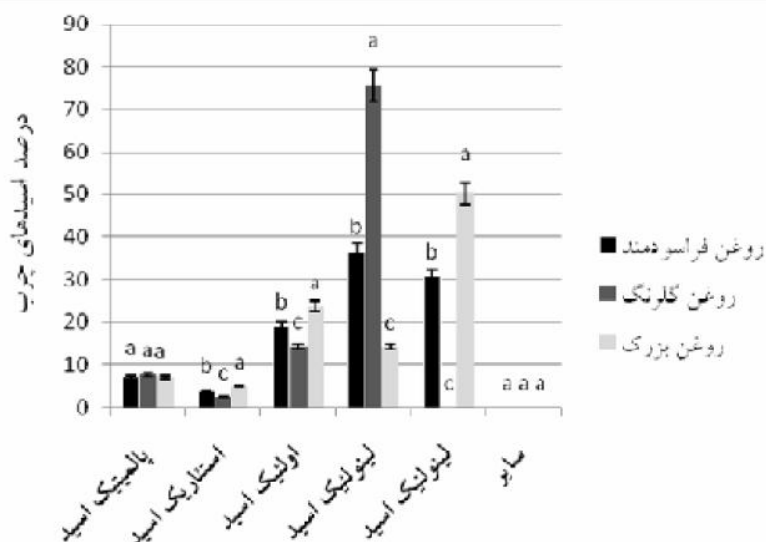
نام	محیط یخچال	محیط فریزر
عدد پراکسید بر حسب meq O <sub>2</sub> /k oil در زمان صفر پس از تولید	۰/۰۰	۰/۰۰
عدد پراکسید meq O <sub>2</sub> /k oil در ماه اول نگهداری	۱۶/۱۵ ± ۱/۰۲	۱/۹۹۶ ± ۱/۰۱
عدد پراکسید meq O <sub>2</sub> /k oil در ماه دوم نگهداری	۲۵/۶۹ ± ۳/۱۴	۲/۹۷ ± ۰/۰۱
عدد پراکسید meq O <sub>2</sub> /k oil در ماه سوم نگهداری	۶۴/۳۰ ± ۳/۰۳	۳/۹۵ ± ۰/۰۲
عدد پراکسید meq O <sub>2</sub> /k oil در ماه چهارم نگهداری	۱۰۰/۴۳ ± ۱۰/۳۱	۴/۹۹ ± ۰/۰۱
عدد تیوباربیتوریک اسید در زمان صفر پس از تولید*	۰/۰۰	۰/۰۰
عدد تیوباربیتوریک اسید در ماه اول نگهداری*	۱/۹۹۷ ± ۰/۰۱۶	۰/۰۰۱۳ ± ۰/۰۰۰۶
عدد تیوباربیتوریک اسید در ماه دوم نگهداری*	۲/۹۷۰ ± ۰/۰۱۰	۰/۰۱۳۰ ± ۰/۰۰۱۰
عدد تیوباربیتوریک اسید در ماه سوم نگهداری*	۳/۹۵۰ ± ۳/۰۲۰	۰/۰۱۶۶ ± ۰/۰۰۱۵
عدد تیوباربیتوریک اسید در ماه چهارم نگهداری*	۴/۹۹۳ ± ۰/۰۱۵	۰/۰۲۶۳ ± ۰/۰۰۱۵
عدد رنسیمت در زمان صفر پس از تولید**	۲/۱۰ ± ۰/۰۵	۲/۱۰ ± ۰/۰۵
عدد رنسیمت در ماه اول نگهداری**	۰/۵۹ ± ۰/۰۲	۱/۹۳ ± ۰/۱۲
عدد رنسیمت در ماه دوم نگهداری**	۰/۵۱ ± ۰/۰۲	۱/۶۵ ± ۰/۰۵
عدد رنسیمت در ماه سوم نگهداری**	۰/۴۹ ± ۰/۰۱	۱/۴۴ ± ۱/۰۴
عدد رنسیمت در ماه چهارم نگهداری**	۰/۳۳ ± ۰/۰۳	۱/۳۵ ± ۰/۰۱

اعداد، میانگین ± انحراف استاندارد می‌باشد.

\* عدد تیوباربیتوریک اسید بر حسب میلی‌گرم مالون دی‌آلدهید در کیلوگرم روغن می‌باشد.

\*\* عدد رنسیمت بر حسب ساعت می‌باشد.





شکل شماره ۲- مقایسه میزان اسیدهای چرب روغن فراسودمند تولید شده با روغن دانه گلرنگ و بزرک  
حروف غیر یکسان نشان دهنده اختلاف آماری معنی داری در سطح  $p < 0.05$  می باشد.

است. عدد پراکسید نمونه‌ی روغن فراسودمند نگهداری شده در یخچال، در زمان صفر تولید روغن صفر، در ماه اول  $5/16$  meq/1000g oil، در ماه دوم  $69/25$  meq/1000g oil، در ماه سوم  $30/64$  meq/1000g oil و در ماه چهارم  $43/100$  meq/1000g oil بود. بین نمونه‌ها در ماه‌های مختلف اختلاف آماری معنی داری ( $p < 0.05$ ) دیده می‌شود (شکل شماره ۳) نکته‌ی مهم در این آزمایش افزایش قابل توجه عدد پراکسید از ماه اول تا ماه چهارم است.

عدد پراکسید نمونه‌ی نگهداری شده در فریزر در زمان صفر تولید صفر، بعد از گذشت یک ماه به  $99/6/1$  meq/1000g oil، بعد از گذشت دو ماه به  $97/2$  meq/1000g oil، در ماه سوم به  $95/3$  meq/1000g oil و در ماه چهارم به  $99/4$  meq/1000g oil می‌رسد. بین نمونه‌ها در ماه‌های مختلف اختلاف آماری معنی داری ( $p < 0.05$ ) دیده می‌شود. همان‌طور که اعداد نشان می‌دهد میزان عدد پراکسید در فریزر افزایش قابل توجهی نداشته است (شکل شماره ۳).

#### عدد اسید تیوباریتوریک

در تعیین عدد اسید تیوباریتوریک میزان مالون دی آلدیدها اندازه‌گیری می‌شود. مالون دی آلدید محصول ثانویه اکسیداسیون روغن می‌باشند. عدد اسید تیوباریتوریک نمونه‌ی

از آنجا که روغن فراسودمند تولید شده دارای  $51/86$  درصد اسیدچرب غیراشباع و  $52/67$  اسیدچرب چند غیراشباع است و حاوی هیچ نوع آنتی‌اکسیدان سنتزی نمی‌باشد، لذا بررسی شرایط نگهداری آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به همین منظور شرایط نگهداری در دو محیط یخچال و فریزر بررسی شد. پارامترهای مورد بررسی شامل عدد پراکسید، عدد اسید تیوباریتوریک و عدد رنسیمت است. در شکل شماره‌های ۳، ۴، ۵ مقایسه‌ی شاخص‌های پراکسید، اسید تیوباریتوریک و رنسیمت در دو محیط یخچال و فریزر با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن آمده است.

#### عدد پراکسید نمونه‌ی یخچالی و نمونه فریزری

عدد پراکسید یکی از وسیع‌ترین و مهم‌ترین آزمایش‌های نگهداری روغن است که محصولات اولیه اکسیداسیون را نشان می‌دهد. عدد پراکسید یک ترکیب حدواسط در اکسیداسیون خود به خودی چربی‌ها می‌باشد. در این آزمایش غلظت پراکسید و هیدروپراکسید اندازه‌گیری می‌شود و میزان آن به صورت میلی‌اکی‌والان در صد گرم روغن به وسیله‌ی تیتراسیون یون‌های یدید بیان می‌شود. عدد پراکسید عدد ثابتی نیست و به مرور زمان میزان آن افزایش می‌یابد. افزایش این عدد نشان از میزان تند شدن روغن دارد، اما بعد از گذشت مدت زمانی میزان آن کاهش می‌یابد که نشان دهنده‌ی شروع اکسیداسیون ثانویه



بین نمونه‌ها اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد ( $p < 0/05$ ). عدد رنسیت نمونه نگهداری شده در فریزر عبارت است از: زمان صفر ۲/۱۰ ساعت، ماه اول ۱/۹۳ ساعت، ماه دوم ۱/۶۵ ساعت، ماه سوم ۱/۴۴ ساعت و ماه چهارم ۱/۳۵ ساعت. تنها بین ماه سوم و چهارم اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد ( $p < 0/05$ ). بین زمان صفر، ماه اول، ماه دوم و ماه سوم اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد ( $p < 0/05$ ) (شکل شماره ۵).

## بحث و نتیجه‌گیری

### بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی دانه‌ی روغنی گلرنگ

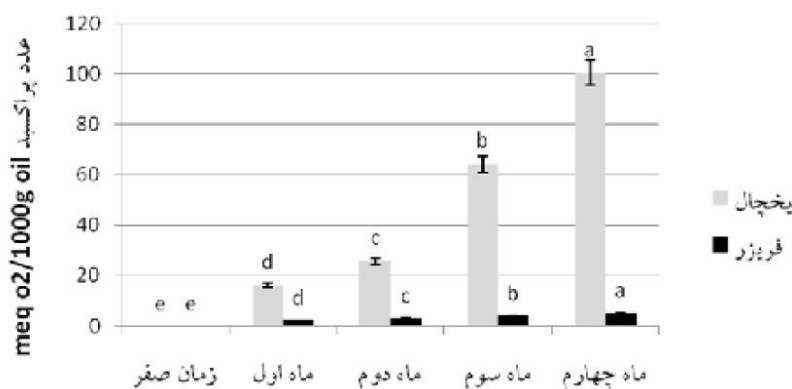
نتایج برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی روغن استخراج شده از دانه گلرنگ در جدول شماره ۱ و شکل شماره ۱، آمده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، ضریب شکست در دمای محیط،  $N_D^{28} 466/1$  به دست آمد. این مقدار با استاندارد ایران و کدکس که این مقدار را بین  $470/1 - 467/1$  اعلام نموده است اختلاف آماری معنی‌داری نداشته ( $p < 0/05$ ) و یکی از نشانه‌های تازه بودن روغن مورد آزمایش می‌باشد. طبق نتایج به دست آمده به وسیله‌ی آرایا و همکاران (۱۹۶۹) و بیکانیک و همکاران (۲۰۰۱) میزان ضریب شکست با عدد پراکسید رابطه مستقیم دارد و مقدار آن با افزایش عدد پراکسید افزایش می‌آید

نگهداری شده در یخچال عبارت است از: در زمان صفر تولید روغن صفر، ماه اول ۹۹۷/۱، ماه دوم ۹۷/۲، ماه سوم ۹۵/۳ و ماه چهارم ۹۹/۴ میلی‌گرم مالون دی‌آلدهید در کیلوگرم روغن. با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌توان نتیجه گرفت که بین کلیه ماه‌ها اختلاف آماری معنی‌دار بین عدد اسید تیوباریتوریک نمونه نگهداری شده در یخچال و فریزر وجود دارد. عدد اسید تیوباریتوریک نمونه‌ی نگهداری شده در فریزر عبارت است از: در زمان صفر تولید روغن صفر، ماه اول ۰/۰۱۳، ماه دوم ۰/۰۱۳، ماه سوم ۰/۰۱۵ و ماه چهارم ۰/۰۲۶۳ میلی‌گرم مالون دی‌آلدهید در کیلوگرم روغن. به جز زمان صفر و ماه اول که دارای اختلاف آماری معنی‌دار با یکدیگر ندارد در بقیه ماه‌ها، اختلاف آماری معنی‌دار بین نمونه‌ها وجود دارد ( $p < 0/05$ ) (شکل شماره ۴)

### عدد رنسیت

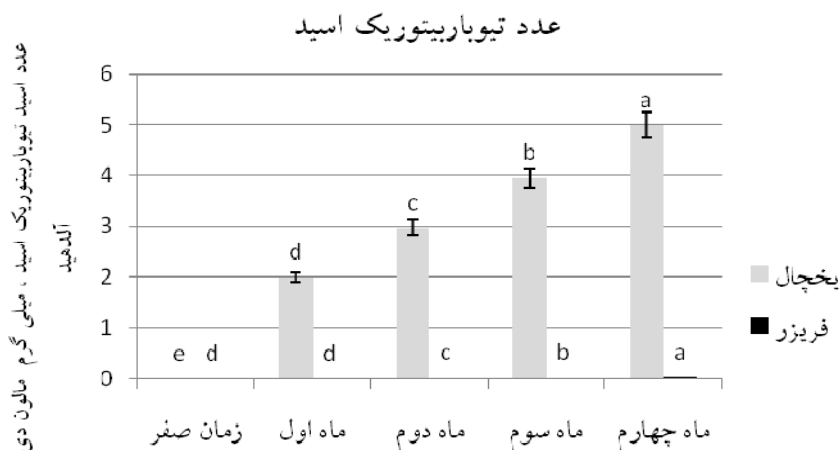
هدف از انجام این آزمایش تعیین پایداری روغن فراسودمند در برابر اکسایش است که به صورت مدت زمان القا برحسب ساعت بیان می‌شود. عدد رنسیت نمونه نگهداری شده در یخچال عبارت است از: در زمان صفر ۱۰/۲ ساعت، ماه اول ۰/۵۹ ساعت، ماه دوم ۰/۵۱ ساعت، ماه سوم ۰/۴۹ ساعت و ماه چهارم ۰/۳۳ ساعت. بین نمونه‌ی نگهداری شده در ماه دوم و سوم اختلاف آماری معنی‌دار وجود ندارد ولی در بقیه‌ی ماه‌ها

عدد پراکسید

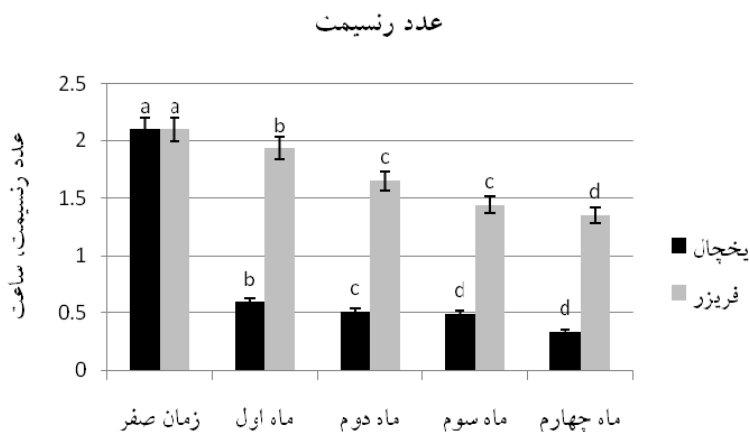


شکل شماره ۳- نتایج حاصل از آزمون دانکن برای عدد پراکسید روغن فراسودمند تولید شده در طول ۴ ماه نگهداری در دمای یخچال و فریزر (حروف غیریکسان نشان‌دهنده‌ی اختلاف آماری معنی‌داری در سطح  $p < 0/05$  می‌باشد)

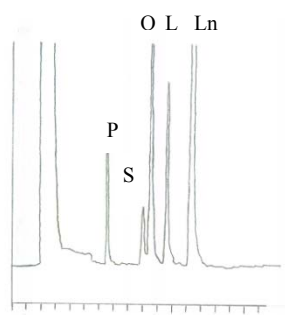




شکل شماره ۴- نتایج آزمون دانکن برای عدد اسید تیوباریتوریک روغن فراسودمند تولید شده در طول ۴ ماه نگهداری در یخچال (حروف غیر یکسان نشان‌دهنده‌ی اختلاف آماری معنی‌داری در سطح  $p < 0.05$  می‌باشد).

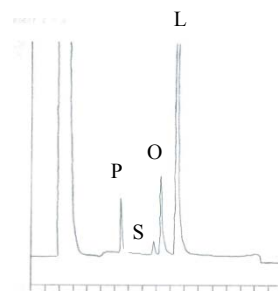


شکل شماره ۵- نتایج حاصل از آزمون دانکن برای عدد رنسیت روغن فراسودمند تولید شده در طول ۴ ماه نگهداری در دمای یخچال (حروف غیر یکسان نشان‌دهنده‌ی اختلاف آماری معنی‌داری در سطح  $p < 0.05$  می‌باشد).



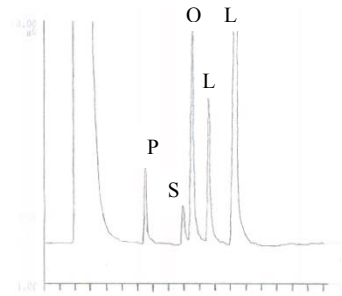
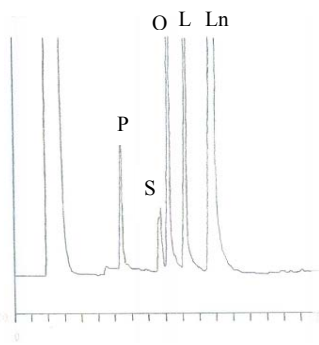
شکل شماره ۷- کروماتوگرام متیل استر اسیدهای چرب بزرگ با استفاده از دستگاه GC

اسید لینولنیک (Ln): اسید لینولئیک (L):



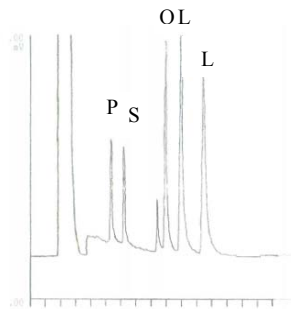
شکل شماره ۶- کروماتوگرام متیل استر اسیدهای چرب گلرنگ با استفاده از دستگاه GC

اسید پالمیتیک (p): اسید استئاریک (S): اسید اولئیک (O):



شکل شماره ۹- کروماتوگرام متیل استر اسیدهای چرب روغن بزرک در مرحله آخر جزء به جزء سازی با استفاده از دستگاه GC  
 اسید لینولئیک: L اسید لینولنیک (Ln):

شکل شماره ۸- کروماتوگرام متیل استر اسیدهای چرب روغن بزرک در فرایند جزء به جزء سازی در مرحله اول با دستگاه GC  
 اسید پالمیتیک: p اسید استتاریک: S اسید اولئیک: O



شکل شماره ۱۰ - کروماتوگرام متیل استر اسیدهای چرب روغن فراسودمند تولید شده با استفاده از دستگاه GC  
 اسید پالمیتیک: p اسید استتاریک: S اسید اولئیک: O اسید لینولئیک: L اسید لینولنیک (Ln):

ترکیب اسیدهای چرب موجود در روغن دانه گلرنگ نمونه‌ی تحقیق حاضر عبارتند از: اسید پالمیتیک ۴۶/۷ درصد، اسید استتاریک ۴۷/۲ درصد، اسید اولئیک ۳۶/۱۴ درصد، اسید لینولئیک ۴۹/۷۵ درصد، اسید لینولنیک صفر درصد. مقدار اسیدهای چرب گزارش شده در تحقیق حاضر با نتایج گزارش شده مروتی و همکاران (۱۳۸۷) که عبارت است از: پالمیتیک ۷۵/۷ درصد، استتاریک ۳۳/۲ درصد، اولئیک ۴۶/۱۳ درصد، لینولئیک ۷۸/۷۵ درصد، لینولنیک ۰/۱۸ درصد، هماهنگی دارد [۱۰].

مقدار اسیدهای چرب گزارش شده به وسیله‌ی بزان و تملی عبارت است از: اسید پالمیتیک ۷/۵۹ درصد، اسید استتاریک ۲/۴۲ درصد، اسید اولئیک ۱۱/۰۴ درصد، اسید لینولئیک ۷۰/۴۶ درصد و اسید لینولنیک صفر درصد. همانطور که مشاهده

[۲۲،۲۳]. در پژوهش حاضر در مورد روغن دانه گلرنگ، عدد یدی ۳۷/۱۴۰ به دست آمد که با استاندارد ایران برای روغن دانه گلرنگ خوراکی و استاندارد کدکس اختلاف آماری معنی‌داری ندارد ( $p < 0/05$ ). عدد یدی به دست آمده در این تحقیق با عدد یدی ۱۴۵ - ۱۳۸ روغن دانه گلرنگ که نولز و موتوالکی (۱۹۶۲) گزارش کردند هماهنگی دارد. عدد یدی به دست آمده در روغن دانه گلرنگ توسط بلوم و همکاران (۱۹۶۳)، ۱۴۵ اعلام شده است [۲۴]. در تحقیق حاضر عدد صابونی روغن دانه گلرنگ ۳۵/۱۶۵ به دست آمد که با استانداردهای ایران و کدکس بین‌المللی اختلاف آماری معنی‌داری دارد ( $p < 0/05$ ). عدد صابونی گزارش شده به وسیله بلوم و همکاران (۱۹۶۳)، ۱۹۱ و توسط کرشنر و هریس ۴/۱۹۲ اعلام شده است [۱۰،۲۵].



پاییز کشت شدند بیشتر از بذرهایی است که در فصل بهار کشت شدند. از سه زمان انتخاب شده برای برداشت، دانه‌ی کامل رسیده دارای بالاترین درصد اسیدهای چرب غیراشباع است [۹].

### بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی روغن دانه‌ی بزرک

نتایج برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی روغن استخراج شده از دانه بزرک در جدول شماره ۱ آمده است. همانطور که مشاهده می‌شود، ضریب شکست در دمای محیط،  $n_D^{28}$  و 488/1 و عدد صابونی ۷۳/۱۹۱ میلی‌اکی والان پتاس درصد گرم روغن به دست آمد. طبق نتایج به دست آمده توسط برا و همکاران (۲۰۰۶)، میزان ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی روغن دانه بزرک، بسته به نوع حلال به کار رفته در استخراج روغن از دانه، متفاوت است. به طوری که ضریب شکست و عدد صابونی روغن به دست آمده با حلال هگزان به ترتیب عبارتند از: ۲/۱ و ۲۲۰ و با حلال آزوتروپ (Azeotrope solvent) (91.53% ethyl acetat + 8.47% water) به ترتیب ۰/۸ و ۲۳۰ است [۲۹]. عدد یدی به دست آمده ۶۸/۱۷۰ گرم ید در ۱۰۰ گرم روغن است. براساس پژوهشی که هانت و همکاران (۱۹۴۶) انجام دادند نشان داده شد که بین ضریب شکست و عدد یدی روغن دانه بزرک رابطه مستقیم وجود دارد. آنها فرراکتومتری با ابعاد کوچک را پیشنهاد دادند که همزمان با نشان دادن ضریب شکست، عدد یدی را نیز اعلام نماید [۳۰]. کوربت و تریسی نیز در سال ۱۹۴۲ ارتباط مستقیم بین ضریب شکست و عدد یدی را در روغن دانه بزرک نشان دادند [۳۱].

کروماتوگرام متیل استر اسیدهای چرب روغن دانه بزرک با استفاده از دستگاه GC نشان داد (شکل شماره ۲) که میزان اسید پالمیتیک ۹۶/۶ درصد، اسید استئاریک ۸۸/۴ درصد، اسید اولئیک ۶۳/۲۳ درصد، اسید لینولئیک ۲۱/۱۴ درصد و اسید لینولنیک ۱۹/۵۰ درصد است. مقدار اسیدهای چرب گزارش شده به وسیله‌ی حسن‌زاده و همکاران (۱۳۸۵) عبارت است از: پالمیتیک ۷۶/۶ درصد، استئاریک ۲۸/۶ درصد، اولئیک ۸/۲۵ درصد، لینولنیک ۱۳/۱۴ درصد و لینولنیک ۱۸/۴۳ درصد که این مقادیر جز در میزان اسید پالمیتیک و اسید لینولئیک در سایر

می‌شود به جز میزان اسیدهای چرب لینولئیک و اولئیک، در میزان سایر اسیدهای چرب با نتایج تحقیق حاضر هماهنگی وجود دارد [۱۹]. کاماس و همکاران مقدار اسیدهای چرب روغن دانه گلرنگ را اینگونه اعلام کردند ۸ - ۶: درصد اسید پالمیتیک، ۳ - ۲ درصد اسید استئاریک، ۲۰ - ۱۹ درصد اسید اولئیک، ۷۵ - ۷۱ درصد اسید لینولئیک که جز در میزان اسید اولئیک در سایر مقادیر مشابه با اعداد به دست آمده نمونه روغن دانه گلرنگ در تحقیق حاضر است [۲۶]. مطابق با جدول شماره ۱ شاخص‌های  $a^*$ ،  $b^*$  و  $L^*$  در روغن دانه گلرنگ تحقیق حاضر به ترتیب ۲/۷۹، ۸۵/۷۹ و ۱۲/۷۳ به دست آمد.

لازم به ذکر است که علت اختلاف در برخی نتایج به نوع رقم، شرایط آب و هوایی، فصل کاشت، نوع حلال و روش استخراج بستگی دارد. به طوری که تحقیق هان و همکاران (۲۰۰۹) که از سیال فوق بحرانی برای استخراج اسیدهای چرب استفاده شد، مجموع اسیدهای چرب غیراشباع از ۸۸/۳۳ درصد (استخراج با حلال (به ۵۷/۹۱ درصد) استخراج با سیال فوق بحرانی گاز دی‌اکسیدکربن) افزایش داشت [۲۷]، همچنین میزان اسیدهای چرب در طول رشد دانه متغیر است. طبق پژوهشی که رحمت‌اله و همکاران (۲۰۰۱) روی چهار وارپته مختلف گلرنگ انجام دادند، میزان اسید پالمیتیک در اکثر گونه‌ها تا حدود ۲۰ روز بعد از گل‌دهی کاهش و بعد از آن افزایش یافت؛ میزان اسید استئاریک متغیر بود؛ میزان اسید اولئیک تقریباً ثابت و میزان اسید لینولئیک جز در یکی از گونه‌ها در سایر موارد با رشد دانه کاهش یافت. آنها همچنین نتیجه گرفتند که مؤثرترین عامل در کاهش یا افزایش میزان اسیدهای چرب زمان رشد دانه است. گرچه بعضی از مطالعات نشان داد که برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی مانند ضریب شکست، رنگ، عدد صابونی و عددپراکسید در تمام وارپته‌ها یکسان است در حالی که عدد یدی غیریکسان می‌باشد [۲۸]. در مطالعه‌ای که توسط گسگل و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد، بین نوع وارپته، زمان کاشت (بهار یا پاییز) و زمان برداشت ۱۵ یا ۳۰ بعد از گل‌دهی یا رسیدن کامل دانه، در سطح ۵ درصد اختلاف آماری معنی‌دار وجود داشت ( $p < 0.05$ ). به طوری که مجموع درصد اسیدهای چرب غیراشباع بذرهایی که در فصل



امگا ۳) مورد توجه و از نظر به هم زدن توازن امگا ۶ به امگا ۳ دارای ضعف می‌باشند. همین عامل سبب ابتلا به بسیاری از بیماری‌ها از قبیل سرطان، سکت، بیماری‌های قلبی و انواع حساسیت‌ها است. امروزه تحقیقات زیادی پیرامون این موضوع شده و بهترین نسبت را حدود یک اعلام کرده‌اند. از آنجا که تولید روغن حاوی نسبت امگا ۶ به امگا ۳ از منابع دریایی پرهزینه بوده و در تمام فصول به راحتی در دسترس نیست لذا هدف این پژوهش تهیه روغن فراسودمند با نسبت حدودی ۱:۱ امگا ۳ به امگا ۶ از منابع گیاهی بزرگ و گلرنگ، جزء به جزء سازی به منظور بالابردن میزان امگا ۳، تعیین میزان پایداری روغن فراسودمند تولید شده طی ۴ ماه نگهداری و در انتها بررسی شرایط نگهداری آن با استفاده از شاخص‌های عدد پراکسید، عدد اسید تیوباربتوریک و عدد رنسیمت بود. نتایج آماری نشان داد که در فرایند جزء به جزء سازی مقدار امگا ۳ از ۱۹/۵۰ درصد به ۵۹/۵۲ درصد رسید که نسبت به مرحله پیش از فرایند دارای اختلاف آماری معنی‌دار است. مقایسه آماری عدد رنسیمت نشان می‌دهد که در ماه اول و دوم و چهارم اختلاف آماری معنی‌دار بین نمونه‌ها وجود دارد و مقدار آن از ۱۰/۲ ساعت به ۰/۳۳ ساعت رسیده است. مقایسه آماری عدد پراکسید و عدد اسید تیوباربتوریک نشان می‌دهد که در ماه اول تا چهارم بین نمونه‌ها اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد و مقدار آن به ترتیب از صفر در ماه اول به ۴۳/۱۰۰ در ماه چهارم و صفر در ماه اول به ۹۹/۴ رسیده است ( $p < 0/05$ ).

نکته‌ی مهم در این آزمایش‌ها افزایش قابل توجه عدد پراکسید از ماه اول تا ماه چهارم است. این افزایش نشان از غیرقابل مصرف بودن نمونه بعد از گذشت یک ماه در یخچال است. زیرا طبق استاندارد ایران عدد پراکسید برای نمونه حدود ۵ گرم تا حدود ۱۲ قابل قبول است. عدد پراکسید در شرایط فریزر پس از ۴ ماه نگهداری طبق استاندارد ایران به شماره (۱۳۷۷) ۱۷۹، در حد مجاز است (استاندارد ایران حد مجازی برای عدد اسید تیوباربتوریک ندارد). لذا توصیه می‌شود جهت نگهداری از روغن فراسودمند تولیدی از شرایط فریزر استفاده شود (شکل شماره ۳).

موارد با اعداد به دست آمده با نمونه تحقیق حاضر هماهنگی ندارد [۳۱]. متوسط میزان اسیدهای چرب به دست آمده از کشورهای آمریکا، هند، اروپا، کانادا، آرژانتین و انگلیس که به ترتیب عبارتند از: پالمیتیک ۷-۴: درصد، ۱۰-۹ درصد، ۶-۴ درصد، ۵-۶ درصد، ۵-۴ درصد و استئاریک ۵-۲: درصد، ۸-۷ درصد، ۳-۲ درصد، ۴-۳ درصد، ۶-۵ درصد و ۲/۵ درصد، اولئیک ۲/۲۶-۴/۱۴: درصد، ۲۱-۱۰ درصد، ۲۲-۱۰ درصد، ۲۰-۱۹ درصد، ۲۱-۱۹ درصد، لینولئیک ۲/۲۲-۲/۱۵ درصد، ۱۵-۱۳ درصد، ۱۸-۱۲ درصد، ۱۶-۱۴ درصد، ۲۴-۱۵ درصد و ۲/۲۴ درصد، لینولئیک ۸/۶۱-۶/۳۹ درصد، ۶۱-۵۰ درصد، ۷۱-۵۶ درصد، ۵۳-۴۵ درصد و ۴/۴۷ درصد است، با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر در برخی موارد هماهنگی دارد [۸]. میزان اسیدهای چرب گزارش شده به وسیله‌ی بزان و تملی (۲۰۰۸) عبارتند از: اسید پالمیتیک ۸۶/۶ درصد، اسید استئاریک ۵۹/۴ درصد، اسید اولئیک ۱۵/۰۷ درصد، اسید لینولئیک ۱۳/۹۶ درصد و اسید لینولئیک ۵۸/۳۱ درصد [۱۹]. اسیدهای چرب اولئیک و لینولئیک تحقیق حاضر با میزان به دست آمده توسط بزان و تملی هماهنگی ندارد. میزان اسیدهای چرب بسته به روش استخراج ممکن است متفاوت باشد. براساس پژوهش ژانگ و همکاران (۲۰۰۸)، استفاده از دستگاه فراصوت برای استخراج روغن سبب افزایش راندمان و افزایش اسیدهای چرب غیراشباع شد. به طوری که میزان اسید لینولئیک از ۵۵/۷۸ درصد به ۵۶/۰۱ درصد افزایش و مجموع اسیدهای چرب ضروری امگا ۶ و امگا ۳ از ۷۲/۰۹ درصد به ۷۲/۳۱ درصد و مجموع اسیدهای چرب غیراشباع از ۹۹/۸۸ درصد به ۳۶/۸۹ درصد افزایش یافت [۳۲]. شاخص‌های  $a^*$ ،  $b^*$  و  $L^*$  در روغن دانه بزرگ در تحقیق حاضر به ترتیب ۵۰/۱، ۹۰/۸۴ و ۹۸/۷۰ است. متوسط به دست آمده این شاخص‌ها در تحقیق چو و همکاران (۲۰۰۷) به ترتیب ۴۱/۶، ۸۴/۹۶ و ۳۰/۶۲ می‌باشد [۳۳].

### بررسی ویژگی‌های روغن فراسودمند تولید شده

امروزه تولید و مصرف روغن‌های حاوی امگا ۶ روز به روز رو به افزایش می‌باشد که از دو جنبه‌ی بالا نبردن کلسترول بد خون و مقاومت به اکسیداسیون (در مقایسه با روغن‌های حاوی



## نتیجه گیری کلی

بوده و استاندارد ایران حد مجازی برای عدد اسید تیوباریتوریک ندارد. عدد پراکسید نمونه نگهداری شده در فریزر، زیر حد استاندارد بوده لذا توصیه می شود برای نگهداری از روغن فراسودمند تولید شده از فریزر استفاده شود.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله مراتب قدردانی خود را از کلیه مسئولین دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس که کمال همکاری را در هنگام انجام آزمایشها داشتند اعلام می دارد. از طرفی از مسئولین موسسه‌ی نهال و بذر کرج که با در اختیار گذاشتن دانه گلرنگ و دانه بزرک ما را یاری کردند، همچنین از قطب علمی مهندسی بازیافت و کاهش ضایعات محصولات استراتژیک کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس صمیمانه سپاسگزاریم.

نتایج آماری نشان داد که در فرایند جزء به جزء سازی مقدار امگا ۳ از ۱۹/۵۰ درصد به ۵۹/۵۲ درصد رسید که نسبت به مرحله پیش از فرایند دارای اختلاف آماری معنی دار است. مقایسه آماری عدد رنسیمت نشان می دهد که در ماه اول و دوم و چهارم اختلاف آماری معنی دار بین نمونه‌ها وجود دارد و مقدار آن از ۱۰/۲ ساعت به ۰/۳۳ ساعت رسیده است. مقایسه آماری عدد پراکسید و عدد اسید تیوباریتوریک نشان می دهد که در ماه اول تا چهارم بین نمونه‌ها اختلاف آماری معنی دار وجود دارد و مقدار آن به ترتیب از صفر در ماه اول به ۴۳/۱۰۰ در ماه چهارم و صفر در ماه اول به ۹۹/۴ رسیده است ( $p < 0/05$ ). در نمونه روغن فراسودمند نگهداری شده در یخچال عدد پراکسید در ماه اول بالاتر از حد استاندارد ایران

## منابع

1. Simopoulos AP and De Meester F. A Balance Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio Cholestrol and Chronary Heart Disease. Kargo Publishers. Switzerland. 2009, pp: 25.
2. Murray RK, Granner DK and Rodwell VW. Harper's Illustrated Biochemistry. 27<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill Companies Press. USA. 2006, pp: 692.
3. Malek F. Edible Oils and Fats. Farhang o ghlam Press. Tehran 2000, pp: 324 – 61.
4. Simopoulos AP. Omega-3 Fatty Acids and Antioxidants in Edible Wild Plants. Biological Research 37. Kargo Press. Switzerland. 2004, pp: 263 – 77.
5. Ward OP and Singh A. Omega-3/6 fatty acids: Alternative sources of production. *Process Biochem.* 2005; 40: 3627 – 52.
6. Jalali H. A Chemical Aspect of Fats and Oils. 1nd ed. amidi Press. Tabriz. 1999, pp: 103 – 47.
7. Russo GL. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochemical Pharmacol.* 2009; 77: 937 - 46.
8. Hassan-Zadeh A, Sahari MA and Barzegar M. Optimization of the  $\omega$ -3 extraction as a functional food from flaxseed. *International of Food Science and Nutrition* 2008; 59 (6): 526 – 34.
9. Gecgel U, Demirci M, Esendal E and Tasan M. Fatty acid composition of the oil from developing seeds of different varieties of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *American Oil Chemists' Society* 2007; 105: 47 – 54.
10. Morovati E, Sahari MA and Barzegar A. Physicochemical Properties of Iranian Varieties/Lines of Safflower Oil and Seed as a Rich Source of  $\omega$ -6. *Medical Plants* 2010; (In Press).
11. Omidi Tabrizi AH. Stability and adaptability estimates of some safflower cultivars and lines in different environmental conditions. *Agricultural Science and Technol.* 2006; 8: 141 - 51.
12. Sharifnabi B and saeidi Gh. Preliminary assessment of *Carthamus tinctorius* L. to Fuzarum



- miri shrub patient. *Agricultural Science and Technol.* 2004; 3: 219 – 26.
13. Arihara K. Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Sci.* 2006; 74: 219 - 29.
14. Rossell JB. Fractionation of lauric oils. *American Oil Chemists' Society* 1985; 62: 385 - 90.
15. Hoseini Z. Common Methods in Food Analytical. 3rd ed. Shiraz university press. 1999, pp: 121 - 52.
16. AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society Champaign, IL: AOCS Press. 2006.
17. Hadad Khodparast MH. Edible oil thecnology. Mashhad Press. 1995, pp: 125 – 43.
18. Movahed S and Ghavami M. Stabilization of Fat System by Natural Bioactive Querestin. 18<sup>th</sup> National Congress on Food Technology of Iran. 2006, 75: 8 – 16.
19. Bozan B and Temelli F. Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. *Bioresource Technol.* 2008; 99: 6354 – 9.
20. Marinova E, Toneva A and Yanishlieva N. Synergistic antioxidant effect of a-tocopherol and myricetin on the autoxidation of triacylglycerols of sunflower oil. *Food Chem.* 2008; 106: 628 – 633.
21. Kamal-Eldin A and Andersson R. A multivariate study of the correlation between tocopherol content and fatty acid composition in vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 1997; 74: 375 – 80.
22. Araya SS, Ramanujam S and Ijayaraghavan PK. Refractive index as an objective method for evaluation of rancidity in edible oils and fats. *American Oil Chemists' Society* 1969; 46: 28.
23. Bicanic D, Dhka O, Luterotti S, Bohren A, Šikovec M and Veldhuizen B, *et al.* assessing the extent of oxidation in thermally stressed vegetable oils. Part I: *Optical Characterization by Photo Thermal and some Conventional Physical Methods* 2001; 43: 416 - 7.
24. Blum JE. The role of safflower oil in edible oil application. *American Oil Chemists' Society* 1996; 43: 416 – 7.
25. Kirschner SL and Harris RS. The effect of chain length on the metabolism of saturated fatty acids by the rat. *Nutrition* 1961; 73: 397 – 402.
26. Çamaş N, Çirak C and Esendal E. Seed yield, oil content and fatty acids composition of safflower grown in northern turkey conditions. *Faculty of Agricultural Ondokuz Mayıs University* 2007; 22: 98 – 104.
27. Han X, Cheng L, Zhang R and Bi J. Extraction of safflower seed oil by supercritical CO<sub>2</sub>. *Food Engineering* 2009; 92: 370 - 6.
28. Rahamatalla AB, Babiker EE, Krishna AG and El Tinay AH. Changes in fatty acids composition during seed growth and physicochemical characteristics of oil extracted from four safflower cultivars. *Plant Foods for Human Nutrition* 2001; 56: 385 – 95.
29. Bera D, Lahiri D, De Leonardis A, De KB and Nag A. A novel azeotropic mixture solvent for solvent extraction of edible oils. *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal* 2006; 8: 1 - 6.
30. Hunt WH, Neustadt MH, Shurkus AA and Zeleny L. A simple iodine-number refractometer for testing flaxseed and soybeans. *American Oil Chemists' Society* 1946; 28: 5 - 8.
31. Corbett WJ and Tracy PH. Relation of degree of saturation of milk fat to development of oxidized flavor. *Dairy Science* 1942; 26: 419 – 27.
32. Zhang ZS, Wang LJ, Li D, Jiao SS, Chen XD and Mao ZH. Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. Separation and Purification. *Technol.* 2008; 62: 192 – 8.
33. Choo WS, Birch J and Dufour JP. Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed flaxseed oils. *Food Composition and Analysis* 2007; 20: 202 - 11.

