

مقاله پژوهشی

پیش تیمار اکوتیپ ایرانی دانه ماریتیغال با امواج مایکروویو و تاثیر آن بر کیفیت روغن استخراجی از دانه

بهرام فتحی آچالویی^{۱*}، صدیف آزادمرد دمیرچی^۲، یونس زاهدی^۳، رضوان شاددل^۲

۱. دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی

۲. استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی

(تاریخ دریافت: ۹۷/۶/۱۳، تاریخ آخرین بازنگری: ۹۷/۷/۱۶، تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۲۸)

چکیده

کاربرد تکنولوژی‌های نوین از جمله پیش تیمار با امواج مایکروویو در دانه‌های روغنی منجر به افزایش راندمان روغن، مواد مغذی- دارویی و نیز پایداری اکسیداتیو بهتر روغن این دانه‌ها می‌شود. در این پژوهش، دانه‌های ماریتیغال اکوتیپ قلعه بابک- آذربایجان شرقی- تحت پیش تیمار مایکروویو ۸۰۰ W در دو زمان مختلف ۲ و ۴ min قرار گرفتند و تاثیر آن روی بهبود راندمان روغن استخراجی، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، پروفیل اسیدهای چرب و میزان توکوفرول‌ها در روغن استخراجی از آن بررسی شد. برای مقایسه نتایج از روغن دانه ماریتیغال بدون تیماردهی با مایکروویو به‌عنوان نمونه کنترل استفاده شد. نتایج نشان داد که پیش تیمار مایکروویو دانه ماریتیغال راندمان روغن استخراج شده، مقدار فنل کل و توکوفرول‌ها را در این نمونه‌ها افزایش داد. هم‌چنین برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی روغن ماریتیغال شامل میزان کلروفیل (۱/۹۱-۱/۰۳ mg pheophytin/kg oil) و عدد صابونی (۱۸۸ mg KOH/g oil - ۱۸۱) با تیمار مایکروویو افزایش یافتند، ولی عدد اسیدی (۴/۲۰-۲/۱۴ mg KOH/g oil)، شاخص پراکسید (۶/۲۲ meqO₂/kg oil - ۳/۲۳) و عدد یدی (۱۰۹-۱۰۰ g I₂/100g oil) با تیمار مایکروویو کاهش پیدا کردند. نتایج نشان داد که تاثیر پیش تیمار مایکروویو روی اسیدهای چرب روغن ماریتیغال ناچیز بود، به طوری که برخی از اسیدهای چرب از اسید اولئیک (C18:1) و اسید لینولئیک (C18:2)، با تیمار مایکروویو کاهش ولی اسید پالمیتیک (C16:0) و اسید استئاریک (C18:0) افزایش یافتند. هم‌چنین نتایج نشان داد که با افزایش زمان تیماردهی با مایکروویو میزان اسیدهای چرب غیر اشباع به‌طور ناچیزی کاهش یافتند. در کل، نتایج نشان داد که پیش تیمار با مایکروویو منجر به افزایش میزان استخراج روغن و توکوفرول‌ها در روغن دانه ماریتیغال می‌شود.

واژه‌های کلیدی: روغن دانه ماریتیغال، پیش تیمار مایکروویو، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، پروفیل اسیدهای چرب، توکوفرول‌ها.

۱. مقدمه

زیادی روغن تهیه کرد که در صنایع آرایشی و بهداشتی نیز قابل استفاده می‌باشد. همچنین روغن حاصل از دانه‌های ماریتیغال حاوی مقادیر بالایی از ترکیبات تغذیه‌ای مانند فسفولیپید، فلاونوئید، استرول‌ها و ویتامین E یا توکوفرول‌ها است [۶].

مهم‌ترین فلاونوئیدهای دانه ماریتیغال عبارتند از: سیلی بین، سیلی کریستین و سیلی دیانین که مجموعه آن‌ها تحت عنوان سیلی مارین شناخته می‌شوند [۳]. بتا- سیتو استرول، کامپسترول، کلسترول، استیگماسترول، کلرواسترول و دلتا ۷- استرول از مهم‌ترین استرول‌های موجود در روغن دانه ماریتیغال است [۳]. نتایج فحی آچاچلونی و آزادمرد دمیرچی نشان دادند که در بین استرول‌های اندازه‌گیری شده در روغن ماریتیغال بتا- سیتواسترول بیش‌ترین مقدار (حدود ۳۵٪ از کل استرول) را در روغن داشت. بنابراین، استفاده از این دانه روغنی که دارای ارزش تغذیه‌ای زیادی می‌باشد، امری سودمند و مؤثر در تولید روغن خوراکی داخل کشور به شمار می‌رود [۳].

امروزه کاربرد میکروویو در خانه و صنعت به‌منظور تهیه مواد خوراکی در مقایسه با روش‌های سنتی معمول همچون جوشاندن، سرخ کردن، برشته کردن در حال افزایش است که این مسئله با سرعت و مزایای اقتصادی این روش در ارتباط است. در یک آن میکروویو، حرارت نتیجه واکنش متقابل میدان مغناطیسی با ترکیبات شیمیایی موجود در ماده غذایی می‌باشد که این مسئله ایجاد حرارت داخلی به‌دلیل اصطکاک مولکولی می‌نماید. مزیت مهم حرارت‌دهی با میکروویو سرعت و کارایی بالای این روش بوده که این امر خود از قدرت نفوذ انرژی میکروویو نشأت می‌گیرد. انرژی میکروویو به ماده غذایی نفوذ کرده و حرارت داخلی تولید می‌کند که این مسئله منجر به نرخ حرارتی بیش‌تر و کوتاه‌تر شدن زمان فرایند می‌گردد. در دانه‌های روغنی آب به‌عنوان یک ماده دو قطبی به میزان فراوانی یافت می‌شود، هرچند در این رابطه مواد دیگری همچون نمک، چربی و پروتئین نیز می‌توانند به‌عنوان ترکیبات دی‌الکتریک عمل نمایند [۷]. نتایج تحقیقات نشان داد که امواج میکروویو در دانه‌های روغنی باعث افزایش راندمان استخراج روغن و ضرایب انتقال جرم می‌شود که ناشی از اثر این امواج در از هم پاشیدن غشای سلولی می‌باشد. همچنین امواج میکروویو موجب ایجاد حفره‌هایی در غشاء سلولی می‌شود که به خروج بیش‌تر روغن از دیواره‌های سلولی کمک می‌نماید. به بیان دیگر امواج میکروویو به خاطر وجود آب و رطوبت موجود

گیاه ماریتیغال از تیره کاسنی با نام علمی *Silybum marianum*، نام انگلیسی Milk thistle و با نام‌های خار مریم، خار علیص و عکوب در فارسی و عربی شناخته می‌شود. ماریتیغال گیاهی است یک یا دو ساله که در جلگه‌های هموار با آب و هوای گرم و در خاک‌های سبک شنی و در حاشیه مزارع، در مجاورت رودخانه‌ها و زمین‌هایی که عملیات خاک ورزی در آن‌ها انجام گرفته، می‌روید. این گیاه در کشورهای اروپایی دارای آب و هوای مدیترانه‌ای، استرالیا، جنوب آمریکا و در بسیاری از نقاط ایران می‌روید [۱]. کاربردهای اصلی دارویی و غذایی ماریتیغال و روغن حاصل از آن مربوط به درمان بیماری‌های کبدی [۲، ۳]، کاهش میزان LDL-کلسترول [۴] و خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی [۲] می‌باشد. سیلی مارین جدا شده از دانه ماریتیغال یک داروی محافظ کبدی است که به‌طور وسیعی در درمان بیماری‌های مختلف کبدی (سیروز، هپاتیت ویروسی و سمی مزمن، کبد چرب و التهاب مجرای صفرا) استفاده می‌شود [۵]. ماریتیغال بیش‌تر به‌عنوان یک گیاه دارویی مطرح بوده، ولی استفاده‌های دیگری نیز برای آن مشخص شده است و به‌عنوان مثال، این گیاه قابلیت آن را دارد که به‌عنوان یک گیاه روغنی مطرح شود. همچنین از کنجاله آن در بعضی از کشورها در تغذیه دام‌ها استفاده می‌شود [۳]. علاوه بر این دانه گیاه ماریتیغال حاوی بتائین، تری متیل گلیسین و میزان زیادی روغن (حدود ۲۹-۲۸٪) به‌عنوان محصول جانبی است که دارای اثرات ضدالتهابی و ضد‌هپاتیتی است [۳]. روغن ماریتیغال حاوی اسیدهای چرب از قبیل اسید لینولئیک (C18:2)، اسید اولئیک (C18:1)، اسید لینولنیک (C18:3)، اسید پالمیتیک (C16:0)، اسید استئاریک (C18:0)، اسید آراشیدیک (C20:0)، اسید ایکوزنوئیک (C20:1)، اسید بهنیک (C22:0) و اسید لیگنوسریک (C24:0) می‌باشند که همگی از مهم‌ترین اسیدهای چرب موجود در روغن‌های خوراکی محسوب می‌شوند. نتایج فحی آچاچلونی و آزادمرد دمیرچی نشان داد که بیش‌ترین میزان اسیدهای چرب موجود به‌ترتیب به اسید لینولئیک و اسید اولئیک مربوط بوده و کم‌ترین میزان اسید چرب، مربوط به اسید چرب میرستیک بود که به‌طور تقریبی در تمامی واریته‌های مورد مطالعه مقدار ناچیزی را به خود اختصاص می‌داد [۳]. بنابراین، از فرآورده‌های جانبی کارخانه‌های داروسازی که اقدام به تهیه دارو از سیلی مارین می‌نمایند، می‌توان مقدار

شده با مایکروویو را در طول حرارت دهی در دمای 170°C را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که میزان اسیدهای چرب غیر اشباع کاهش ولی اسیدهای چرب اشباع افزایش یافت. همچنین تاثیر مایکروویو در دانه‌های کدو منجر به افزایش پایداری اکسیداتیو روغن کدو در طول حرارت دهی شد [۱۲]. در این پژوهش، دانه‌های ماریتیغال اکوتیپ قلعه بابک، آذربایجان شرقی، با پیش تیمار مایکروویو 800 W و فرکانس 2450 MHz در دو زمان تیماردهی مختلف ۲ و ۴ min قرار گرفتند و تاثیر آن روی بهبود راندمان روغن استخراجی، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، پروفیل اسیدهای چرب و میزان توکوفرول-ها در روغن استخراجی از آن بررسی شد.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. آماده سازی دانه‌های ماریتیغال برای تیماردهی با مایکروویو

دانه‌های ماریتیغال اکوتیپ قلعه بابک، آذربایجان شرقی، از دانه‌های روغنی جمع آوری شده در دو سال از مرکز تحقیقات کشاورزی اردبیل خریداری شد. پس از پوست‌گیری و جدا کردن ناخالصی‌ها، عملیات خشک کردن دانه‌ها در دمای 60°C تا رطوبت ۸٪ انجام شد و دانه‌ها قبل از روغن‌گیری تحت پیش تیمار مایکروویو با توان 800 W و فرکانس 2450 MHz در دو زمان مختلف ۲ و ۴ min قرار گرفتند و سپس برای روغن‌گیری خرد و در نهایت بعد از روغن‌گیری تمامی آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام شد و با نمونه شاهد که بدون پیش تیمار دهی با مایکروویو بود، مورد مقایسه قرار گرفت.

۲.۲. استخراج روغن

نمونه‌های روغن از دانه‌های ماریتیغال مطابق روش آزادمرد دمیرچی و همکاران به این شرح استخراج شد [۱۳]: به لوله‌های استیل حاوی 10 g دانه‌های خرد شده ماریتیغال، 30 mL محلول هگزان/ایزوپروپانول (۳:۲، حجمی:حجمی) اضافه و چهار عدد ساچمه فولادی نیز برای تسریع عمل هموژنیزاسیون به داخل هر لوله انداخته شد. لوله‌های استیل در دمای اتاق به مدت یک ساعت تحت تکان شدید توسط دستگاه تکان دهنده قرار گرفته و سپس محتوای لوله‌ها با استفاده از قیف بوختر و کاغذ صافی واتمن شماره ۴ صاف شدند. تفاله‌های باقی‌مانده ۲

در دانه‌های روغنی، جذب شده و در اثر تبخیر آب فشار خیلی زیادی در غشای سلولی ایجاد می‌شود که این فشار از درون سلول منجر به ایجاد منافذ پایدار در غشای سلولی و در نهایت پاره شدن غشای سلول و تسهیل خروج ترکیبات موجود در سلول می‌شود که در نتیجه در موقع روغن کشی در دانه‌های روغنی منجر به افزایش نفوذ حلال و خروج بیش‌تر روغن به دلیل وجود منافذ موجود در غشای سلولی می‌گردد [۸، ۹]. همچنین تحقیقات نشان داده است که اثر زمان تیماردهی با مایکروویو در راندمان استخراج روغن مثبت می‌باشد [۸]. محققان زیادی اثر پیش تیمار مایکروویو را روی ترکیبات اسیدهای چرب، توکوفرول‌ها و فیتواسترول‌ها در روغن‌های گیاهی گزارش نمودند [۸]. آزادمرد دمیرچی و همکاران اثر پیش تیمار مایکروویو روی پایداری اکسیداتیو و برخی از ترکیبات تغذیه‌ای روغن کلزا را مورد بررسی قرار دادند [۱۰]. نتایج آن‌ها نشان داد که پیش تیمار مایکروویو باعث افزایش پایداری روغن کلزا شده و روی راندمان استخراج روغن و میزان ترکیبات مغذی مثل فیتواسترول‌ها و توکوفرول‌ها اثر مثبت داشته و منجر به افزایش این ترکیبات در روغن استخراجی از کلزا می‌شود، به طوری که در اثر پیش تیمار با مایکروویو میزان استخراج فیتواسترول‌ها تا ۱۵٪ و توکوفرول‌ها تا ۵۵٪ در روغن استخراجی از کلزا افزایش یافت [۱۰]. یانگ و همکاران نیز تاثیر تیمار مایکروویو روی پایداری اکسیداتیو و میزان ترکیبات جزئی روغن کلزا را مورد بررسی قرار دادند [۱۱]. نتایج آن‌ها نشان داد که تاثیر مایکروویو منجر به افزایش راندمان استخراج شده به طوری که زمان تیماردهی با مایکروویو و مقدار رطوبت اولیه هر دو تاثیر معنی‌داری روی راندمان استخراج روغن داشتند. همچنین میزان توکوفرول‌های روغن در ابتدا افزایش و سپس در اثر افزایش زمان تیماردهی با مایکروویو کاهش پیدا کرد، ولی میزان رطوبت اولیه دانه روغن تاثیری در میزان توکوفرول‌ها نداشت. همچنین میزان فیتواسترول‌ها و ترکیبات پلی فنلی با افزایش زمان تیماردهی و کاهش میزان رطوبت اولیه دانه‌های روغن کلزا افزایش یافتند. در کل نتایج آن‌ها نشان داد که پیش تیمار مایکروویو قبل از استخراج روغن با پرس منجر به افزایش راندمان استخراج روغن و نیز افزایش ترکیبات فنلی، توکوفرول‌ها و فیتواسترول‌ها می‌شود و اثر مثبتی روی پایداری اکسیداتیو روغن داشت [۱۱]. علی و همکاران نیز پایداری اکسیداتیو و ویژگی‌های ترکیبات روغن دانه‌های کدوی برشته



۷.۳.۲. عدد یدی

روش AOCS به شماره Cd1-25 [۱۶] برای تعیین عدد یدی مورد استفاده قرار گرفت و نتایج مربوطه بر حسب گرم I₂ در ۱۰۰ g روغن گزارش شد.

۸.۳.۲. تعیین میزان ترکیبات فنل کل

به منظور تعیین میزان ترکیبات فنل کل از روش پری و همکاران استفاده شد [۱۷]. یک گرم از هر نمونه روغن دانه ماریتیغال با ۳ mL از متانول در دمای محیط مخلوط و عصاره‌های متانولی به‌وسیله سانتریفوژ جمع آوری شده و باقیمانده روغن دوبار با محلول متانول (2 × 3 mL) عصاره‌گیری شدند. سپس عصاره‌های متانول با سه تکرار با هم مخلوط و حجم نهایی با متانول به ۱۰ mL برای رسیدن به محلول‌های نمونه آزمایشی رسانده شد. هم‌چنین معرف فولین سیوکالتیو برای تعیین میزان فنل کل نمونه روغن‌های ماریتیغال مطابق روش یو و همکاران استفاده شد [۱۸]. به‌طوری که محلولی حاوی ۲۵۰ μL معرف تازه، ۷۵۰ μL از کربنات سدیم ۲۰٪ و ۳ mL آب یونیزه شده با ۵۰ μL از محلول نمونه آزمایشی (عصاره روغن) اضافه شد و سپس بعد از ۲ hr نگهداری در دمای محیط با استفاده از اسپکتروفوتومتر جذب آن در طول موج ۷۶۵ nm برای تعیین فنل کل در روغن انجام گرفت. هم‌چنین اسید گالیک به‌عنوان استاندارد برای اندازه‌گیری میزان فنل کل مورد استفاده قرار گرفت.

۴.۲. اندازه‌گیری اسیدهای چرب

۱.۴.۲. آماده‌سازی متیل استر اسیدهای چرب

آماده‌سازی متیل استر اسیدهای چرب بر اساس روش گزارش شده توسط سویج و همکاران و به شرح زیر انجام شد [۱۹]. در حدود ۱۰ mg لیپید در ۵/۵ mL هگزان در لوله آزمایش حل شده و سپس ۲ mL NaOH ۱ M در متانول خشک اضافه شد. لوله آزمایش حاوی محلول‌های یاد شده در حمام آب ۶۰°C به مدت ۱۰ min نگهداری و سپس ۳ mL معرف BF₃ افزوده و ۱۰ min دیگر نگهداری شد. بعد از انجام واکنش لوله آزمایش یاد شده را تحت جریان آب، سرد کرده و ۲ mL محلول نمک ۲۰٪ و ۱ mL هگزان اضافه و بعد از مخلوط کردن کامل،

بار و ه - ر بار با ۲۰ mL از همان محلول شسته شده، بعد ۳۵ mL محلول سولفات سدیم ۶/۷٪ به محلول صاف شده اضافه شد تا آب احتمالی جدا شود. با استفاده از قیف جداکننده، لایه حاوی حلال و روغن جدا و در دستگاه تبخیر تحت خلاء در دمای ۴۰°C تبخیر شد. نمونه‌های روغن برای استفاده در مراحل بعدی آنالیز در ۲۰°C نگهداری شدند.

۳.۲. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

۱.۳.۲. درصد استخراج روغن

برای تعیین درصد روغن از توزین روغن به دست آمده از ۱۰۰ g نمونه ماریتیغال توسط دستگاه سوکسله استفاده شد [۱۴].

۲.۳.۲. محتوای کلروفیل

مقدار کلروفیل نمونه‌های روغن ماریتیغال با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر طبق روش پوکوپرنی و همکاران اندازه‌گیری شد [۱۵].

۳.۳.۲. ضریب شکست

برای تعیین ضریب شکست روغن ماریتیغال از دستگاه رفاکتومتر در دمای ۳۰°C استفاده شد [۱۶].

۴.۳.۲. عدد اسیدی

روش AOCS به شماره Cd3d-63 [۱۶] جهت تعیین عدد اسیدی مورد استفاده قرار گرفت و نتایج بر حسب درصد اسید اولئیک گزارش شد.

۵.۳.۲. عدد پراکسید

تعیین عدد پراکسید نمونه‌های روغن ماریتیغال مطابق روش AOCS به شماره Cd 8-53 [۱۶] انجام گرفت و نتایج بر حسب میلی‌اکی والان اکسیژن در کیلوگرم روغن گزارش شد.

۶.۳.۲. عدد صابونی

در تعیین عدد صابونی از روش AOCS به شماره Cd3-25 [۱۶] استفاده و نتایج مربوطه به صورت میلی‌گرم پتاس در گرم روغن گزارش شد.

استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۲) میانگین داده‌ها و خطای آزمایش محاسبه شد. آنالیز واریانس با استفاده از رویه GLM انجام گرفت و اثرات تیمارها و تکرارها تخمین زده شد و سطح معنی‌داری در سطح احتمال کم‌تر از ۵٪ تعیین گردید. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

۱.۳. ویژگی‌های فیزیکی و کوشیمیایی

جدول (۱) محتوای روغن و ویژگی‌های فیزیکی و کوشیمیایی نمونه‌های روغن ماریتیغال تحت پیش تیمار مایکروویو را در دو زمان مختلف نشان می‌دهد.

خصوصیات فیزیکی و کوشیمیایی روغن به‌طور مستقیم وابسته به ترکیب گلیسیریدی و لیپیدهای آن است. محتوای روغن دانه‌های ماریتیغال مورد بررسی در محدوده ۳۴-۲۸٪ بود که در مقایسه با نتایج هادولین و همکاران بالاتر است که احتمال دارد متأثر از نوع واریته دانه، شرایط آب و هوایی و نوع خاک منطقه باشد [۶]. میزان کلروفیل در محدوده ۱/۰۳-۱/۹۱ mg pheophytin/kg oil بود. به‌طوری که نتایج حاصل از تیماردهی با مایکروویو در زمان ۴ min نشان داد که کلروفیل روغن ماریتیغال حاصل از آن دارای بیش‌ترین و روغن حاصل از ماریتیغال بدون تیماردهی با مایکروویو دارای کم‌ترین میزان کلروفیل بودند. میزان کلروفیل نمونه‌ها می‌تواند مؤید طول جغرافیایی، شرایط رسیدن دانه، نحوه و شرایط استخراج روغن باشد [۲۲].

عدد اسیدی به‌عنوان یکی از خصوصیات کیفی روغن و معیاری از درجه خلوص آن در نظر گرفته می‌شود. اگرچه روغن‌های تصفیه شده به‌طور تقریبی عاری از اسیدهای چرب آزاد هستند، اما مقادیر قابل ملاحظه‌ای از این ترکیبات در روغن‌های خام موجود می‌باشند. تمامی چربی‌ها و روغن‌های خوراکی دارای مقادیری اسید چرب آزاد هستند ولی ممکن است در اثر هیدرولیز گلیسریدها این مقدار از حد معینی تجاوز کند. بنابراین اندازه‌گیری درصد اسیدهای چرب آزاد به‌عنوان شاخصی از تندشدن روغن می‌باشد. وجود اسید، رطوبت، دما و آنزیم‌های هیدرولیز کننده مانند لیپاز، از جمله عوامل تشدید کننده هیدرولیز روغن‌ها و چربی‌ها هستند [۲۳]. در این تحقیق عدد اسیدی روغن ماریتیغال حاصل از تیمارهای مختلف ۲/۱۴-۴/۲۰ mg KOH/g oil بود. بر اساس نتایج به‌دست آمده،

سانتریفوژ کرده و لایه هگزان حاوی متیل استرهای اسیدهای چرب جداسازی گردید.

۲.۴.۲. آنالیز متیل استرهای اسیدهای چرب با گاز کروماتوگرافی

دستگاه گاز کروماتوگرافی مجهز به ستون موئینی سیلیکائی (SGE, Austin, USA) BPX70 با طول ۵۰ m و قطر ۰/۲۲ mm با ضخامت فیلم ۰/۲۵ μm برای جداسازی متیل استرهای اسیدهای چرب استفاده شد. دمای اولیه °C ۱۵۸ بود و با افزایش °C ۲ در دقیقه به °C ۲۲۰ رسید و در این دما ۲۰ دقیقه نگهداری شد. دمای پورت تزریق °C ۲۳۰ و دمای آشکار ساز °C ۲۵۰ بود [۲۰].

۵.۲. آنالیز ویتامین E (آلفا-توکوفرول) به‌وسیله کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC)

آنالیز ویتامین E (آلفا-توکوفرول) طبق روش سویج و همکاران (۱۹۹۷) به‌وسیله دستگاه HPLC انجام گرفت [۲۱]. ستون پر شده با Lichrosphere 100 NH2 (Lichro CHART 250-4) همراه با ستون محافظ Lichro CHART 4-4 (شرکت مرک، کشور آلمان) مورد استفاده قرار گرفت. A-توکوفرول با دکتور فلورسنس مدل L-4250 (Varian9070) از شرکت "Walnut Greek, CA, USA" در طول موج ۲۹۴ nm و ۳۲۰ nm به‌ترتیب برای excitation (تحریک) و emission (نشر) اندازه‌گیری شد. از محلول هپتان: ترت- بوتیل متیل اتر: تترا هیدروفروران: متانول (۰/۲: ۰/۹۸: ۲۰: ۷۹) با سرعت ۱۰۲ mL/min به‌عنوان فاز متحرک استفاده شد. مقدار آلفا-توکوفرول در روغن‌ها با استفاده از روش استاندارد خارجی محاسبه شد.

۱.۵.۲. آماده سازی نمونه روغن برای آنالیز توکوفرول با HPLC

حدود ۱۰ mg از روغن در ۱ mL هپتان حل شد و ۱۰ μL از آن به HPLC تحت شرایط بالا تزریق و همه نمونه‌ها سه بار مورد آزمون قرار گرفته و میانگین نتایج گزارش گردید.

۶.۲. تجزیه و تحلیل آماری

در اجرای این پژوهش، از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تمامی آزمایشات و اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار انجام گرفته و با

جدول (۱) ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی روغن ماریتیغال اکوتیپ قلعہ بابک تحت پیش تیمار مایکروویو.

Table 1. Physicochemical properties of Milk thistle (Babak Castle ecotype) seed oil with pretreatment by microwave.

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی Physicochemical properties	ماریتیغال (کنترل) Milk thistle (Control)	تیمار ماریتیغال با مایکروویو (۲ دقیقه) Milk thistle pretreatment by microwave for 2 min	تیمار ماریتیغال با مایکروویو (۴ دقیقه) Milk thistle pretreatment by microwave for 4 min
میزان روغن (%) Extraction yield (%)	28.92±0.35 ^c	31.43±0.37 ^b	34.8±0.39 ^a
ضریب شکست (۳۰ °C) Refractive index	1.48±0.01 ^a	1.475±0.04 ^a	1.472±0.03 ^a
میزان کلروفیل Chlorophyll content (mg pheophytin/kg oil)	1.03±0.06 ^c	1.64±0.20 ^b	1.91±0.30 ^a
عدد اسیدی Acid value (mg KOH/g oil)	4.20±0.22 ^a	3.19±0.17 ^b	2.14±0.40 ^c
عدد پراکسید Peroxide value (meq O ₂ /kg oil)	6.22±0.30 ^a	4.26±0.40 ^b	3.23±0.35 ^c
عدد یدی Iodine value (g I ₂ /100 g oil)	109.25±1.24 ^a	104.34±1.44 ^b	100.73±1.31 ^c
عدد صابونی Saponification value (mg KOH/g oil)	181.70±1.32 ^c	184.62±1.22 ^b	188.74±1.42 ^a
میزان فنل کل Total Phenolic content (mg GAE/100 g oil)	394.33±2.45 ^c	424.45±2.54 ^b	453.52±2.73 ^a

a-c: کلمات غیرمشابه در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $p < 0.05$.

a-c: Different letters within the same row represent significant differences ($p < 0.05$)

میانگین اعداد ± انحراف معیار

Means ± standard deviation.

پراکسید بود. به طوری که نتایج حاصل از تیماردهی با مایکروویو در زمان ۴ min نشان داد که عدد پراکسید روغن ماریتیغال حاصل از آن دارای کم‌ترین و روغن حاصل از نمونه بدون تیماردهی با مایکروویو دارای بیش‌ترین میزان عدد پراکسید بودند (جدول ۱). دلیل اصلی کاهش عدد پراکسید روغن حاصل از تیماردهی با مایکروویو ممکن است به خاطر افزایش مقدار ترکیبات فنلی در روغن دانه‌های ماریتیغال تحت پیش تیمار با مایکروویو باشد [۱۰]. مقدار فنل کل نیز به‌عنوان یکی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی روغن تحت تاثیر پیش تیمار مایکروویو قرار گرفت. به طوری که افزایش زمان تیماردهی با مایکروویو در زمان‌های مختلف منجر به افزایش میزان فنل کل روغن استخراجی در مقایسه با نمونه کنترل گردید ($p < 0.05$) (جدول ۱). میزان فنل کل در محدوده ۳۹۴-۴۵۳ mg GAE/100 g oil بود. به طوری که نتایج حاصل از تیماردهی با مایکروویو در زمان

تفاوت معنی‌داری ($p < 0.05$) بین عدد اسیدی تیمارهای نمونه‌های مختلف ماریتیغال وجود داشت (جدول ۱). گزارش‌ها حاکی از آن است که ارتباط معنی‌داری میان افزایش دمای نگهداری و میزان اسیدهای چرب آزاد روغن وجود دارد [۲۴].

عدد پراکسید به‌عنوان مقدار پراکسید در روغن اندازه‌گیری می‌شود. گرما، نور، اکسیژن و فلزات از جمله عوامل تشدید کننده اکسیداسیون هستند [۲۵]. هم‌چنین مشخص شده است که این شاخص همبستگی مناسبی را با خصوصیات ارگانولپتیکی نشان می‌دهد، برای مثال در روغن سویا عدد پراکسید ۱ یا کم‌تر از آن تازگی محصول را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از بررسی این پارامتر برای نمونه‌های مورد بررسی در جدول (۱) بیان شده است. در تحقیق حاضر بین نمونه‌های مورد بررسی از نظر میزان عدد پراکسید اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) وجود داشت و روغن ماریتیغال حاصل از نمونه شاهد دارای بیش‌ترین میزان عدد

هیدرولیز تری گلیسریدهای روغن و افزایش اسیدهای چرب آزاد در آن به خاطر تیماردهی با مایکروویو می‌باشد [۲۳].

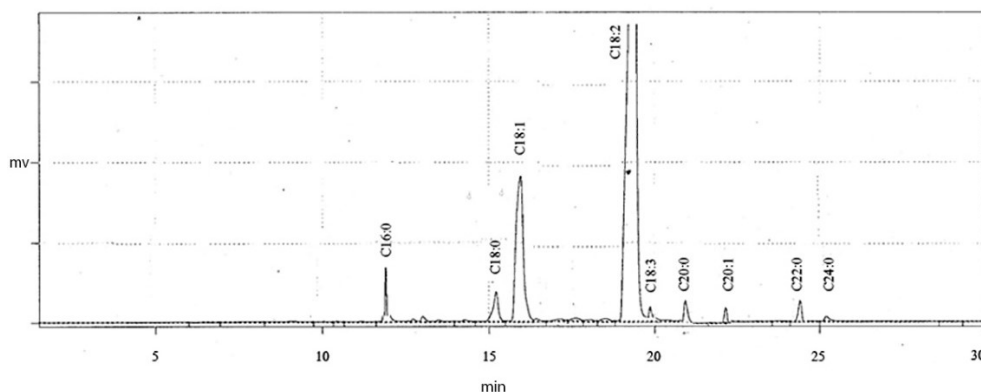
عدد یدی میزان غیراشباعیت روغن‌ها را نشان می‌دهد. این اندیس می‌تواند برای تخمین پایداری اکسیداتیو روغن‌ها نیز مورد استفاده قرار بگیرد. این اندیس در نمونه‌های مورد نظر برابر با $10.9 - 10.0$ mg KOH/g oil بود. با توجه به نتایج مورد نظر روغن حاصل از تیماردهی با مایکروویو در زمان ۴ min دارای کم‌ترین میزان عدد یدی بود که این اختلاف به صورت معنی دار ($p < 0.05$) در مقایسه با سایر نمونه‌ها بود. دلیل کاهش عدد یدی در اثر تیماردهی با مایکروویو را می‌توان احتمالاً به خاطر تجزیه و کاهش مقداری از اسیدهای چرب دارای چندین پیوند دوگانه اشاره کرد. این یافته با نتایج سایر تحقیقات انجام گرفته در اثر امواج مایکروویو روی ترکیبات روغن همخوانی دارد [۸]. عدد یدی روغن ماریتیغال در مقایسه با روغن سویا بیانگر غیراشباعیت کم‌تر و در نتیجه پایداری اکسیداتیو بیش‌تر این روغن می‌باشد و البته از این لحاظ، روغن ماریتیغال مشابه روغن بادام زمینی (یکی از پایدارترین روغن‌ها در برابر اکسیداسیون) است (جدول ۱).

۲.۳. اسیدهای چرب

مشتقات متیلی اسیدهای چرب بعد از متیلاسیون نمونه‌های روغن با هگزان استخراج گردید که با استفاده از نمونه استاندارد اسیدهای چرب توسط GC شناسایی و اندازه‌گیری شد. کروماتوگرام استاندارد متیل‌های اسید چرب تزریق شده به GC در شکل (۱) نشان داده شده است. جدول (۲) نیز نتایج حاصل از اندازه‌گیری اسیدهای چرب در روغن دانه ماریتیغال را نشان می‌دهد.

۴min نشان داد که فنل کل روغن ماریتیغال حاصل از آن دارای بیش‌ترین و روغن حاصل از ماریتیغال بدون تیماردهی با مایکروویو دارای کم‌ترین میزان فنل کل بودند. نتایج آنجم و همکاران نیز نشان داد که برشته کردن با مایکروویو در کل روی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و پایداری اکسیداتیو روغن دانه آفتابگردان تاثیر دارد، به طوری که نتایج آن‌ها نشان داد که ضریب شکست، ماده غیر صابونی شونده و عدد یدی روغن‌ها به طور معنی‌داری با افزایش مدت زمان برشته شدن با مایکروویو کاهش پیدا کرد. هم‌چنین نتایج آن‌ها نشان داد که افزایش مدت زمان برشته شدن با مایکروویو عدد صابونی و میزان اسیدهای چرب آزاد روغن آفتابگردان را افزایش داد [۲۳]. هم‌چنین نتایج رفیعی و همکاران نشان داد که استخراج ترکیبات فنلی از برگ‌های زیتون تحت تیمار با مایکروویو در مقایسه با روش استخراج ماسراسیون با حلال تاثیر بیش‌تری داشت ($p < 0.05$) [۲۷]. به طوری که نتایج آن‌ها نشان داد که تیمار مایکروویو منجر به افزایش راندمان استخراج و کاهش زمان استخراج ترکیبات فنلی برگ‌های زیتون در مقایسه با روش استخراج ماسراسیون با حلال - های مختلف می‌شود [۲۷]. در کل افزایش راندمان استخراج ترکیبات فنلی تحت تاثیر امواج مایکروویو در مقایسه با روش‌های سنتی توسط محققان زیادی گزارش شده است [۳۰-۲۸].

عدد صابونی به‌عنوان پارامتری برای بررسی وزن مولکولی یا طول زنجیره اسیدهای چرب موجود در چربی‌ها و لیپیدها استفاده می‌شود [۲۶]. این پارامتر در نمونه‌های مذکور بین $181 - 188$ mg KOH/g oil بود که بیش‌ترین میزان آن مربوط به روغن حاصل از تیماردهی با مایکروویو در زمان ۴ min بود (جدول ۱). علت افزایش عدد صابونی احتمالاً به خاطر افزایش



شکل (۱) کروماتوگرام استرهای متیل اسیدهای چرب در روغن استخراج شده از ماریتیغال

Fig.1. Gas chromatogram of fatty acid methyl esters in oil extracted from milk thistle

(C_{14:0}, myristic; C_{16:0}, palmitic; C_{16:1}, palmitoleic; C_{18:2}, hexadecadienoic; C_{18:0}, stearic; C_{18:1} oleic; C_{18:2}, linoleic; C_{18:3}, linolenic; C_{20:0}, eicosanoic; C_{20:1}, eicosenoic fatty acid methyl esters)

جدول (۲) ترکیب اسیدهای چرب روغن استخراج شده از نمونه‌های ماریتیغال تیمار شده با مایکروویو اکوتیپ قلعه بابک (درصد).

Table 2. Fatty acids composition (%) in oil extracted from milk thistle (Babak Castle ecotype) seed samples pretreated by microwave.

تیمار ماریتیغال با مایکروویو (۴ دقیقه) Milk thistle pretreatment by microwave for 4 min	تیمار ماریتیغال با مایکروویو (۲ دقیقه) Milk thistle pretreatment by microwave for 2 min	ماریتیغال (کنترل) Milk thistle(Control)	اسیدهای چرب Fatty acids
9.74±0.074 ^a	9.11±0.072 ^b	8.44±0.071 ^c	اسید پالمیتیک (C16:0) Palmitic acid (C16:0)
5.22±0.04 ^a	4.83±0.02 ^b	4.60±0.03 ^c	اسید استئاریک (C18:0) Stearic acid (C18:0)
26.74±0.06 ^c	27.18±0.04 ^b	27.69±0.03 ^a	اسید اولئیک (C18:1) Oleic acid (C18:1)
50.74±0.15 ^c	51.14±0.13 ^b	51.72±0.12 ^a	اسید لینولئیک (C18:2) Linoleic acid (C18:2)
0.21±0.007 ^a	0.22±0.003 ^a	0.22±0.004 ^a	اسید لینولئیک (C18:3) Linolenic acid (C18:3)
2.67±0.05 ^a	2.69±0.03 ^a	2.71±0.04 ^a	اسید آراشیدیک (C20:0) Arachidic acid (C20:0)
0.87±0.03 ^a	0.89±0.04 ^a	0.91±0.02 ^a	اسید ایکوزانویک (C20:1) Eicosenoic acid (C20:1)
2.24±0.04 ^a	2.30±0.03 ^a	2.33±0.04 ^a	اسید بهنیک (C22:0) Behenic acid (C22:0)
0.69±0.04 ^a	0.75±0.02 ^a	0.73±0.03 ^a	اسید لیگنوسریک (C24:0) Lignoceric acid (C24:0)

کلمات غیرمشابه در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ < p.

Different letters within the same row represent significant differences (p<0.05)

میانگین اعداد ± انحراف معیار

Means ± standard deviation.

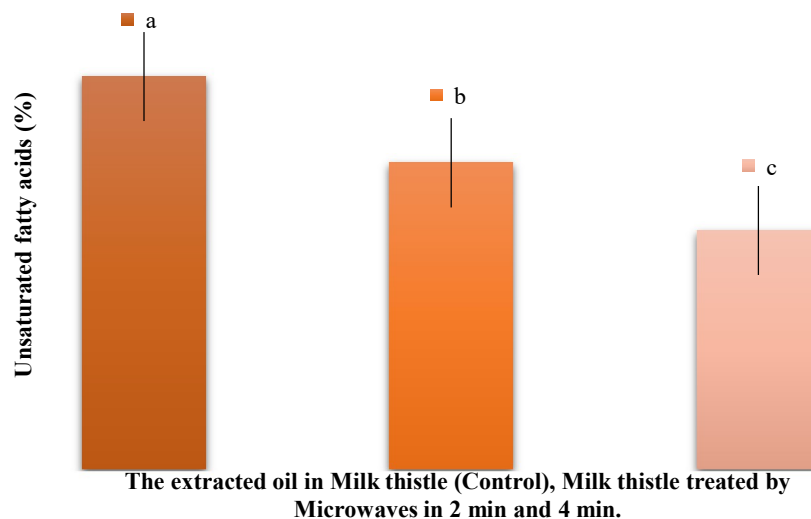
شده با حلال هگزان اسید لینولئیک بود. اعمال پیش تیمار مایکروویو منجر به کاهش نسبتاً جزئی اسید لینولئیک از ۵۱/۷۲ درصد نمونه کنترل (دانه ماریتیغال) به ۵۰/۷۴ درصد دانه‌های ماریتیغال تیمار شده با مایکروویو به مدت ۴ min، کاهش اسید اولئیک از ۲۷/۶۹٪ نمونه کنترل دانه ماریتیغال به ۲۶/۷۳٪ دانه‌های ماریتیغال تیمار شده با مایکروویو به مدت ۴ min، شدند. اما اسیدهای پالمیتیک و استئاریک به ترتیب از ۸/۴۴٪ در دانه ماریتیغال نمونه کنترل به ۹/۷۲٪ دانه‌های ماریتیغال تیمار شده با مایکروویو به مدت ۴ min و ۴/۶۰٪ در دانه ماریتیغال نمونه کنترل به ۵/۲۲٪ دانه‌های ماریتیغال تیمار شده با مایکروویو به مدت ۴ min، افزایش یافتند. این روند احتمالاً به خاطر تجزیه اسیدهای چرب چند غیر اشباعی و اکسیداسیون پیوندهای دوگانه در اثر امواج مایکروویو می‌باشد که مطابق با تحقیقات علی و همکاران بود [۱۲].

کانیتکار گزارش داد که ترکیبات اسید چرب روغن پوسته برنج تحت تاثیر امواج مایکروویو قرار می‌گیرد [۳۴]. نتایج کانیتکار

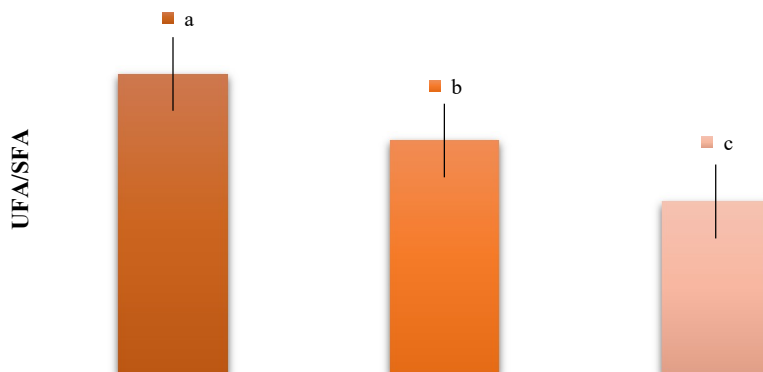
در بین اسیدهای چرب موجود در روغن ماریتیغال مهم‌ترین اسیدهای چرب شامل، اسید اولئیک (C18:1)، اسید لینولئیک (C18:2)، اسید لینولئیک (C18:3)، اسید پالمیتیک (C16:0)، اسید استئاریک (C18:0)، اسید آراشیدیک (C20:0)، اسید ایکوزانویک (C20:1)، اسید بهنیک (C22:0) و اسید لیگنوسریک (C24:0) می‌باشد که در اکوتیپ قلعه بابک، اسید لینولئیک، اسید اولئیک، اسید پالمیتیک و اسید استئاریک بالاترین درصد روغن را به خود اختصاص دادند (جدول ۲). الملاح و همکاران [۳۱] و دراز و همکاران [۳۲]، گزارش کردند که اسید لینولئیک و اسید اولئیک، اسیدهای چرب غالب در روغن ماریتیغال هستند، به طوری که در بین آن‌ها اسید لینولئیک بیش‌ترین مقدار را در روغن ماریتیغال به خود اختصاص می‌دهد. نمونه‌های روغن استخراج شده از دانه‌های ماریتیغال اکوتیپ قلعه بابک در مجموع دارای اسیدهای چرب چند غیر اشباعی بیش‌تری نسبت به اسیدهای چرب اشباع بودند (جدول ۲). نتایج با یافته‌های محققان دیگر مطابقت داشت [۳۳، ۳]. اسید چرب غالب استخراج

متعلق به دانه‌های ماری تیغال نمونه کنترل بود (شکل ۳). در کل تاثیر منفي امواج مايکروويو در کاهش و تجزيه اسيدهای چرب غير اشباع مطابق با گزارش تعدادی از محققان در روغن‌های گیاهی بود [۱۲، ۲۳، ۳۴ و ۳۶]. با توجه به ترکیب و مقدار اسيدهای چرب می‌توان گفت که روغن ماري تيغال در گروه روغن-های اولئیک-لینولئیک قرار می‌گیرد، که در این گروه روغن‌هایی همچون سویا، آفتابگردان و گلرنگ نیز طبقه بندی می‌شوند. مطابق نتایج فتحي آچالووي و آزاد مرد دمیرچی روغن ماري تيغال حاصل از توده‌های قلعه بابک دارای مجموع اسيدهای چرب غير اشباع بالاتری نسبت به سایر نمونه‌ها بود [۳]. از مهم‌ترین پارامترها در مورد ترکیب اسيدهای چرب روغن‌های خوراکی، نسبت اسيدهای چرب غير اشباع به اشباع می‌باشد که از جنبه-های کیفیت تغذیه‌ای و ماندگاری حائز اهمیت است. میزان این پارامتر در مورد روغن ماري تيغال در حدود ۴ بوده که با سایر گزارش‌ها همخوانی دارد [۳۷]. این نسبت در روغن ماري تيغال در مقایسه با روغن‌های دیگر مشابه روغن بادام زمینی می‌باشد [۲۵]. در کل مجموع اسيدهای غير اشباع و نیز نسبت اسيدهای چرب غير اشباع به اشباع که یکی از پارامترهای مهم از نظر تغذیه‌ای می‌باشد، در روغن دانه ماري تيغال اکوتيپ قلعه بابک و مقایسه آن‌ها در روغن دانه‌های مختلف ماري تيغال تحت تيمار مايکروويو به ترتیب در شکل‌های ۲ و ۳ آورده شده است.

نشان داد که روغن پوسته برنج تحت تيمار مايکروويو در مقایسه با روغن پوسته برنج استخراجی با روش معمولی دارای میزان اسيد آراسيديک قابل توجهی بود [۳۴]. هم‌چنين تان و همکاران گزارش دادند که نسبت اسيد لینولئیک به اسيد پالميتیک روغن تحت تيمار مايکروويو با افزایش مقدار توان مايکروويو کاهش پیدا می‌کند [۳۵]. مطابق گزارش آنجم و همکاران نیز میزان اسيدهای اولئیک و لینولئیک نسبت به اسيدهای پالميتیک و استئاریک به شدت تحت تاثیر پيش تيمار مايکروويو قرار می‌گیرد [۲۳]. به طوری که هر چقدر زمان تیماردهی با مايکروويو بیش تر باشد، میزان اسيد لینولئیک به میزان بیش تری کاهش یافت [۲۳]. یوشیدا و همکاران هم‌چنين کاهش در مقدار PUFA در روغن سویا در طول زمان برشته کردن را گزارش کردند [۳۶]. هم‌چنين نتایج این تحقیق نشان داد که مقدار کل اسيدهای چرب غير اشباع (UFA) و اشباع (SFA) در روغن‌های ماري تيغال تحت تيمار مايکروويو در مقایسه با نمونه کنترل (بدون تیماردهی با مايکروويو) به ترتیب کاهش و افزایش یافتند. هم‌چنين مدت زمان تیماردهی با مايکروويو هر چقدر افزایش داشت، میزان اسيدهای چرب غير اشباع کاهش یافتند (شکل ۲). به طوری که کم‌ترین میزان کل اسيدهای چرب غير اشباع (UFA) متعلق به دانه‌های ماري تيغال تحت تيمار با مايکروويو به مدت ۴ min در مقایسه با نمونه کنترل بود (شکل ۲). هم‌چنين نسبت بیش تری از اسيدهای چرب غير اشباع نسبت به اسيدهای چرب اشباع



شکل (۲) مجموع اسيد های چرب غير اشباع (%) موجود در روغن ماري تيغال (اکوتيپ قلعه بابک) تيمار شده با مايکروويو (۲ و ۴ دقيقه) و نمونه کنترل
Fig. 2. Unsaturated fatty acids (%) of Milk thistle (Babak Castle ecotype) seed oil pretreated by microwave (2 min and 4 min) and non-treated (Control)



The extracted oil in Milk thistle (Control), Milk thistle treated by Microwaves in 2 min and 4 min.

UFA: Unsaturated Fatty Acids, SFA: Saturated Fatty Acids

شکل (۳) نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع به اشباع در روغن ماریتیغال (اکوتیپ قلعه بابک) تیمار شده با مایکروویو (۲ و ۴ دقیقه) و نمونه کنترل
Fig. 3. UFA/SFA of Milk thistle (Babak Castle ecotype) seed oil pretreated by microwave (2 min and 4 min) and non-treated (Control)

هم‌چنین مقدار توکوفرول کل در دانه‌های تیمار شده با مایکروویو در مدت زمان ۲ min نسبت به سایر تیمارها دارای بیش‌ترین مقدار بود ($p < 0.05$). با توجه به نتایج اندازه‌گیری عدد پراکسید که در بالا آورده شده است، یکی از دلایل اصلی پایین بودن میزان عدد پراکسید روغن دانه‌های ماریتیغال تیمار شده با مایکروویو در طول زمان ۲ و ۴ min، میزان بالای توکوفرول‌ها و ترکیبات فنلی در روغن نمونه‌های تیمار شده با مایکروویو می‌باشد. آزادمرد دمیچی و همکاران گزارش نمودند که پیش تیمار کلزا به‌وسیله مایکروویو قبل از استخراج روغن منجر به افزایش چشمگیر میزان توکوفرول‌ها در روغن آن‌ها می‌شود. به‌طوری که آن‌ها پیشنهاد کردند که آسیب‌غشای سلولی دانه روغنی به‌وسیله پیش تیمار مایکروویو منجر به افزایش میزان آزادسازی توکوفرول‌ها در روغن استخراجی می‌شود [۱۰]. هم‌چنین نتایج کو و همکاران نشان داد که میزان توکوفرول‌ها در روغن پوسته برنج به‌طور چشمگیری در اثر پیش تیمار با مایکروویو به مدت ۳۰s افزایش یافتند [۳۹]. مطابق با تحقیقات لی و همکاران میزان آلفا توکوفرول در روغن گلرنگ با افزایش دمای برشته کردن تا 160°C افزایش یافت، ولی این افزایش تا دمای 180°C منجر به کاهش میزان آلفا توکوفرول شد [۴۰]. نتایج پژوهش یین نیز نشان داد که توکوفرول‌های روغن کنجد تیمار شده با مایکروویو با فرآوری حرارتی تا 200°C افزایش یافتند، در حالی که دمای فرآوری تا 260°C منجر به کاهش توکوفرول‌ها شد [۴۱].

۲.۳. میزان توکوفرول‌ها (ویتامین E)

مقدار مناسبی ($10 \mu\text{L}$) از نمونه روغن حل شده در هپتان (1mL) به منظور اندازه‌گیری ویتامین E به HPLC تزریق شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری توکوفرول (ویتامین E) در روغن دانه‌های مختلف ماریتیغال در جدول (۳) نشان داده شده است. روغن دانه ماریتیغال منبع خیلی خوبی از توکوفرول‌ها می‌باشد و مقدار توکوفرول روغن دانه‌های ماریتیغال قابل مقایسه با سایر منابع روغن‌های گیاهی مانند روغن آفتابگردان می‌باشد [۳ و ۳۸]. در این مطالعه ترکیب توکوفرول‌ها در روغن دانه ماریتیغال (نمونه کنترل) و روغن دانه‌های ماریتیغال تحت تاثیر مایکروویو در زمان‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی‌ها نشان داد که روغن حاصل از نمونه‌های مختلف از لحاظ میزان توکوفرول‌ها دارای اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) بودند و تیمار مایکروویو روی تمام فراکسیون‌های توکوفرول تاثیر معنی‌داری داشت (جدول ۳). اختلاف در مقادیر مختلف شاید مربوط به تفاوت آب و هوایی و نوع خاک مناطق مختلف می‌باشد. مطابق جدول فوق، مقدار آلفا توکوفرول اندازه‌گیری شده در روغن ماریتیغال از $572-378 \text{ ppm}$ متغیر بوده که نسبت به دیگر انواع توکوفرول دارای مقدار بیش‌تری بود و به ترتیب مربوط به روغن حاصل از نمونه ماریتیغال نمونه کنترل (کم‌ترین مقدار) و دانه‌های تیمار شده با مایکروویو در مدت زمان ۲ min بود.

جدول (۳) مقدار توکوفرول روغن استخراج شده از نمونه‌های ماریتیغال (اکوتیپ قلعه بابک) تیمار شده با مایکروویو (ppm).

Table 3. Tocopherol content (ppm) in oil extracted from milk thistle (Babak Castle ecotype) seed samples pretreated by microwave.

تیمار ماریتیغال با مایکروویو (۴ دقیقه) Milk thistle pretreatment by microwave for 4 min	تیمار ماریتیغال با مایکروویو (۲ دقیقه) Milk thistle pretreatment by microwave for 2 min	ماریتیغال (کنترل) (Control) Milk thistle	توکوفرول‌ها Tocopherols
572.74±1.37 ^b	622.65±1.25 ^a	378.62±0.97 ^c	آلفا توکوفرول α-Tocopherol
32.66±0.79 ^b	41.78±0.83 ^a	20.76±0.72 ^c	بتا توکوفرول β-Tocopherol
27.78±0.56 ^b	38.53±0.56 ^a	18.44±0.54 ^c	گاما توکوفرول γ-Tocopherol
39.77±0.53 ^b	55.27±0.50 ^a	28.68±0.52 ^c	دلتا توکوفرول δ-Tocopherol
672.95 ^b	758.23 ^a	446.50 ^c	توکوفرول کل Total-Tocopherol

کلمات غیرمشابه در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $p < 0.05$.

Different letters within the same row represent significant differences ($p < 0.05$)

میانگین اعداد ± انحراف معیار

Means ± standard deviation.

۴. نتیجه گیری

و پیش تیمار مایکروویو تاثیری در ضریب شکست روغن نداشت ($p > 0.05$). همچنین نتایج نشان داد که با افزایش زمان تیماردهی با مایکروویو میزان اسیدهای چرب غیر اشباع به‌طور ناچیزی کاهش یافتند و نسبت اسیدهای چرب دارای چند باند غیراشباعی به اسیدهای چرب اشباع (PUFA/SFA) در تمام نمونه‌های پیش تیمار شده با مایکروویو کاهش یافتند. در حالی که توکوفرول‌ها در اثر پیش تیمار با مایکروویو به‌طور چشمگیری افزایش داشتند. بنابراین، در کل نتایج نشان داد که پیش تیمار مایکروویو یک روش مناسبی جهت افزایش راندمان استخراج روغن و افزایش برخی از ترکیبات مغذی مانند توکوفرول‌ها و ترکیبات فنلی در روغن حاصل از دانه‌های ماریتیغال می‌باشد.

در این مطالعه، تاثیر پیش تیمار مایکروویو در دانه ماریتیغال اکوتیپ بومی در شمال غرب ایران روی راندمان استخراج روغن، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، پروفیل اسیدهای چرب و مقدار توکوفرول‌های نمونه‌های روغن دانه ماریتیغال مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که پیش تیمار مایکروویو می‌تواند منجر به افزایش راندمان روغن استخراجی از دانه ماریتیغال گردد. همچنین در بین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی روغن دانه ماریتیغال، پیش تیمار مایکروویو منجر به افزایش مقدار کلروفیل، عدد صابونی شونده و میزان کل ترکیبات فنلی شد، در حالی که عدد اسیدی، عدد پراکسید و عدد یدی کاهش یافتند ($p < 0.05$)

منابع

- [۱] امید بیگی، ر. (۱۳۷۶). رهیافت‌های تولید و فراوری گیاهان دارویی. جلد دوم. انتشارات طراحان نشر.
- [2] Gazak, R., Walterova, D., Kren, V. (2007). Silybin and silymarin, new and emerging applications in Medicine, *Curr.Med.Chem.*, 14(3), 315-324.
- [3] Fathi-Achachlouei, B., Azadmard-Damirchi, S. (2009). Milk thistle seed oil constituents from different varieties grown in Iran, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 86, 643-649.
- [4] Locher, R., Suter, P., Weyhenmeyer, R., Vetter, W. (1998). Inhibitory action of silibinin on low density lipoprotein oxidation, *Arzneim. Forsch. Drug Res.*, 48(3), 236-239.
- [5] Kren, V., Ulrichova, J., Kosina, P., Stevenson, D., Sedmera, P., Prikrylova, V., Halada, P., Simanek, V. (2000). Chemoenzymatic preparation of silybin β-glucuronides and their biological evaluation, *Drug Metab. Dispos.*, 28, 1513-1517.
- [6] Hadolin, M., Skerget, M., Knez, Z., Bauman, D. (2001). High pressure extraction of vitamin E-rich oil from *Silybum marianum*, *Food Chem.*, 74, 355-364.
- [7] Sultana, B., Anwar, F., Przybylski, R. (2007). Antioxidant potential of corn cob extracts for stabilization

- [20] Azadmard-Damirchi, S., Dutta, P.C. (2006). Novel Solid-phase extraction method to separate 4-desmethyl-, 4-monomethyl-, and 4,4'-dimethylsterols in vegetable oils, *J. Chromatogr.A.*, 1108, 183- 187.
- [21] Savage, G.P., McNeil, D. L., Dutta, P.C. (1997). Lipid composition and oxidative stability of oils in Hazelnuts (*Corylus avellana* L.) grown in New Zealand, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74, 755- 759.
- [۲۲] ناصری، ف. (۱۳۷۱). دانه‌های روغنی (ترجمه). چاپ اول، انتشارات آستان قدس رضوی مشهد، ص ۱۳۶-۵۳.
- [23] Anjum, F., Anwar, F., Jamil, A., Iqbal M. (2006). Microwave roasting effects on the physico-chemical composition and oxidative stability of sunflower seed oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 83, 777-784.
- [24] Steele, R.J. (1991). Safe Storage of Rapeseed and other Oilseeds. Oilseeds Research Council, Canberra, pp 32.
- [۲۵] گلی، س.ا.ح. کدیور، م، بهرامی، ب، سبزیعلیان، م. (۱۳۸۶). خصوصیات فیزیکی و شیمیایی روغن دانه ماریتیغال. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۴، شماره ۴، ص ۳۱-۲۷.
- [26] Khraisha, Y.H. (2000). Retorting of oil shale followed by solvent extraction of spent shale: experiment and kinetic analysis, *Energy Sources.*, 22, 347-355.
- [27] Rafiee, Z., Jafari, S.M., Alami, M., Khomeiri, M. (2011). Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Olive Leaves; A Comparison with Maceration, *J. Anim. Plant Sci.*, 21(4), 738-745.
- [28] Yan, M.M., Liu, W., Fu, Y.J., Zu, Y.G., Chen, C.Y., Luo, M. (2010). Optimization of the microwave assisted extraction process for four main astragalosides in Radix Astragali, *Food Chem.*, 119, 1663-1670.
- [29] Xiao, W., Han, L., Shi, B. (2008). Microwave assisted extraction of flavonoids from Radix Astragali, *Sep Purif Technol.*, 62, 614-618.
- [30] Hemwimon, S., Pavasant, P., Shotipruk, A. (2007). Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*, *Sep, Purif Technol.*, 54, 44-50.
- [31] El- Mallah, M.H., El-Shami, S.M., Hassanein, M.M. (2003). Detailed studies on some lipids of *Silybum marianum* (L.) seed oil, *Grasas-y-Aceites.*, 54(4), 397-402.
- [32] Deraz, S., Bayram, E. (1995). Evaluation of chemical contents of medicinal plant (*Silybum marianum* (L.) Gaertn) wild-growing in Turkey, *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 32(3), 79-85
- [33] Parry, J., Hao, Z., Luther, M., Su, L. (2006). Characterization of cold pressed onion, parsley, cardamom, mullein, roasted pumpkin, and milk thistle seed oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 83 (10), 847-854.
- [34] Kanitkar, A.V. (2010). Parameterization of microwave assisted oil extraction and its of corn oil subjected to microwave heating, *Food Chem.*, 104, 997-1005.
- [8] Azadmard-Damirchi, S., Alirezalu, K., Fathi-Achachlouei, B. (2011). Microwave pretreatment of seeds to extract high quality vegetable oil, *World Acad. Sci. Eng. Technol.*, 57, 72-75.
- [9] Đurđević, S., Milovanović, S., Šavikin, K., Ristić, M., Menković, N., Pljevljakušić, D., Petrović, S., Bogdanović, A. (2017). Improvement of supercritical CO₂ and n-hexane extraction of wild growing pomegranate seed oil by microwave pretreatment, *Ind Crop Prod.*, 104, 21-27.
- [10] Azadmard-Damirchi, S., Habibi-Nodeh, F., Hesari, J., Nemati, M., Fathi-Achachlouei, B. (2010). Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed, *Food Chem.*, 121 (4), 1211-1215.
- [11] Yang, M., Huang, F., Liu, C., Zheng, C., Zhou, Q., Wang, H. (2013). Influence of microwave treatment of rapeseed on minor components content and oxidative stability of oil, *Food Bioprocess Tech.*, 6(11), 3206-3216.
- [12] Ali, M.A., Nargis, A., Othman, N.H., Noor, A.F., Sadik, G., Hossen, J. (2017). Oxidation stability and compositional characteristics of oils from microwave roasted pumpkin seeds during thermal oxidation, *Int. J. Food Prop.*, 20 (11), 2569-2580.
- [13] Azadmard-Damirchi, S., Savage, G.P., Dutta, P.C. (2005). Sterol fractions in Hazelnut and virgin olive oils and 4,4'- Dimethylsterols as Possible Markers for Detection of Adulteration of virgin olive oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 82, 717- 725.
- [14] Uquiche, E., Jeréz, M., Ortíz, J. (2008). Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraction yield and quality of vegetable oil from Chilean hazelnuts, *Innov. Food Sci. Emerg.*, 9, 495-500.
- [15] Pokopny, J., Kalinova, L., Dysseler, P. (1995). Determination of chlorophyll pigments in crude vegetable oils, *Pure Appl. Chem.*, 67(10), 1781-1787.
- [16] American Oil Chemists' Society (AOCS). (1997). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society, 5th ed.; AOCS Press: Champaign, IL, USA.
- [17] Parry, J., Su, L., Luther, M., Zhou, K., Yurawecz, M.P., Whittaker, P., Yu, L. (2005). Fatty acid composition and antioxidant properties of cold-pressed marionberry, boysenberry, red raspberry and blueberry seed oils, *J. Agric. Food Chem.*, 53 (3), 566-573.
- [18] Yu, L., Perret, J., Harris, M., Wilson, J., Haley, S. (2003). Antioxidant properties of bran extracts from "Akron" wheat grown at different locations, *J. Agric. Food Chem.*, 51(16), 1566-1570.
- [19] Savage, G.P., McNeil, D.L. (1998). Chemical composition of Hazelnuts (*Corylus avellana* L.) grown in New Zealand, *Int. J. Food Sci. Tech.*, 49, 199-203.

- transesterification to biodiesel, Master's Thesis. Louisiana State University, Baton Rouge, LA.
- [35] Tan, C.P., Che Man, Y.B., Jinap, S., Yusoff, M.S.A. (2001). Effects of microwave heating on changes in chemical and thermal properties of vegetable oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 78 (12), 1227-1232.
- [36] Yoshida, H., Shigezaki, J., Takagi, S., Kojimoto, G. (1995). Variations in the composition of various acyl lipids, tocopherols and lignans in sesame seed oils roasted in a microwave oven. *J. Sci. Food Agr.*, 68 (4), 407-415.
- [۳۷] علیرضالو، ک، حصارى، ج، علیرضالو، ا، محمدى، م، فتحى آچالویی، ب. (۱۳۹۰). بررسی خصوصیات فیزیکیوشیمیایی و ترکیب اسید چرب روغن ماریتیغال، پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۲۱، شماره ۱، ص ۲۵-۳۳.
- [38] Gunstone, F.D. (2000). Composition and properties of edible oils. In: Hamm W, Hamilton RJ (eds) Edible oil processing. Sheffield Academic Press, *Sheffield, England*, pp 1-33.
- [39] Ko, S.N., Kim, C.J., Kim, C.T., Kim, H., Chung, S.H., Lee, S.M. (2003). Changes of vitamin E content in rice bran with different heat treatment. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.*, 105(5), 225-228.
- [40] Lee, Y.C., Kim, I.H., Chang, J., Rhee, Y.K., Oh, H.I., Park, H.K. (2004). Chemical compositions and oxidative stability of safflower oil prepared with expeller from safflower seeds roasted at different temperatures. *J. Food Sci.*, 69 (1), 33-38.
- [41] Yen, G.C. (1990). Influence of seed roasting process on the changes in composition and quality of sesame (*Sesame indicum*) oil, *J. Sci. Food Agr.*, 50 (4), 563-570.

*Research Article***Pretreatment of an Iranian Milk Thistle (*Silybum marianum L.*) Ecotype with Microwaves and its Effect on Extracted Oil Quality****Bahram Fathi-Achachlouei^{1*}, Sodeif Azadmard-Damirchi², Younes Zahedi³, Rezvan Shaddel³**

1. Associate Prof, Department of Food Science & Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, P.O. Box 56199-11367 Ardabil, Iran.
2. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
3. Assistant Prof, Department of Food Science & Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, P.O. Box 56199-11367 Ardabil, Iran.

Abstract

Application of novel technologies such as microwaves pretreatment of oil seeds might increase efficiency of oil extraction, a higher quantity of nutraceuticals, and a better oxidative stability of oil. In this study, milk thistle seeds were pretreated with microwaves (800W) at two different periods (2 and 4 min), to investigate the effect of treatment on oil yield, its physicochemical properties, tocopherols content and fatty acids profile of milk thistle seeds oil extracted from Iranian ecotype, namely Ghaleh Babak (in East Azarbaijan). To compare the results, oil was also extracted from non-treated milk thistle seed by solvent as control sample. Results showed that microwave pretreatment of milk thistle seed increased the oil extraction yield, total phenolic content, and tocopherols of the oil extracted by solvent. Some physicochemical properties of seed oil such as chlorophyll content (1.03-1.91 mg pheophytin/kg oil) and saponification value (181-188 mg KOH/g oil) increased, whereas acid value (4.20-2.14 mg KOH/g oil), peroxide value (6.22-3.23 meq O₂/kg oil), and iodine value (109-100 g I₂/100g oil) decreased by treating with microwaves. Microwave pretreatment of milk thistle seeds showed negligible influence on profile and the amount of fatty acids in obtained extracts, while among the fatty acids, oleic and linoleic acids decreased, but palmitic and stearic acids increased after application of microwave. Moreover, the results showed that the longer pretreatment with microwave resulted in slightly lower unsaturated fatty acids contents in milk thistle seed oil. In conclusion, the results recognized microwaves pretreatment as a promising technique for intensification of oil extraction and tocopherols of oil from milk thistle seeds.

Keywords: Milk thistle seed oil, Microwave pretreatment, Physicochemical properties, Fatty acids profile, Tocopherols.

* Corresponding author: b_fathi@uma.ac.ir