

مقاله پژوهشی

بهینه‌سازی اثر همزمان تغییر عوامل مؤثر بر رنگبری بر کیفیت روغن آفتابگردان به روش سطح پاسخ

لیلا صداقت بروجنی^۱، مهرداد قوامی^۲، زهرا پیراوی ونک^{۳*}، عبدالله قاسمی پیربلوطی^۴

۱. دانشجوی دکترا، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات
۲. استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات
۳. دانشیار، پژوهشکده صنایع غذایی و فرآورده‌های کشاورزی، پژوهشگاه استاندارد، کرج
۴. استاد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس

(تاریخ دریافت: ۹۹/۱/۴، تاریخ آخرین بازنگری: ۹۹/۱/۲۱، تاریخ پذیرش: ۹۹/۲/۱۳)

چکیده

رنگبری در تصفیه روغن‌های خوراکی یک مرحله اساسی است. جاذب‌های مورد استفاده برای رنگبری، رنگدانه‌ها و دیگر ناخالصی‌ها مانند صابون، فلزات، فسفولیپیدها و محصولات اکسیداسیون را حذف می‌کند. حذف این ناخالصی‌ها خواص حسی و مقاومت به اکسید شده روغن بی‌بو شده را بهبود می‌بخشد. با توجه به اهمیت فرآیند رنگبری در عملیات تصفیه روغن‌های خوراکی، در این تحقیق روغن آفتابگردان انتخاب شد و اثر فرآیند رنگبری بر ویژگی‌های شیمیایی روغن به منظور بهینه‌سازی فرآیند مورد مطالعه قرار گرفت. برای این منظور، اثر زمان (۱۵، ۲۵، ۳۵، ۴۵ و ۵۵)، دما (۸۰، ۹۰، ۱۰۰، ۱۱۰ و ۱۲۰ و غلظت خاک رنگبر (۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱ و ۱/۲٪) با استفاده از طرح آماری حداقل سطح پاسخ در ۵ سطح به روش طرح مرکب مرکزی^۱ با هدف کاهش مصرف خاک رنگبر بررسی شد. پاسخ‌های مورد مطالعه شامل اندازه‌گیری کاروتنوئیدها، استرول، توکوفرول و مقدار فلزات مس و آهن بودند. پس از انجام بهینه‌سازی با هدف باقی ماندن حداقل عوامل نامطلوب پس از رنگبری و حداقل مصرف خاک رنگبر بهترین شرایط در روغن آفتابگردان زمان ۳۹/۱۸ min، دمای ۱۰۳/۸۵°C و غلظت خاک رنگبر ۰/۹۴٪ پیش‌بینی شد که قادر بود ۵۷٪ انتظارات را برآورده کند. نتایج عملی هیچ اختلاف معناداری با مقادیری که از طریق تئوری به دست آمده بود نشان نداد و مؤید این نتایج بود.

کلیدواژه‌ها: بهینه‌سازی، روغن آفتابگردان، رنگبری، RSM

* نویسنده مسئول: zpiravi@gmail.com

۱. مقدمه

منجر به بروز بیماری‌های متعدد مانند سرطان، دیابت، تصلب شرایین، بیماری‌های قلبی و عروقی، پیری و بیماری‌های التهابی می‌شود [۵].

طی فرآیند رنگبری با استفاده از خاک‌رنگبر نه تنها ترکیبات رنگی، بلکه سایر ناخالصی‌های باقیمانده در روغن، مانند صابون‌ها، فسفاتیدها و ترکیبات اکسیژن‌دار نیز از روغن جدا می‌شوند [۶]. با این حال، ترکیبات با ارزش مانند توکوفرول‌ها و استرول‌ها نیز ممکن است حذف شوند و به این ترتیب باعث از دست رفتن بخش قابل توجهی از پایداری روغن در برابر اکسایش شوند [۷]. خاک رنگبر رایج در کارخانجات، از جنس سیلیکات آلومینیوم بوده که به منظور افزایش قابلیت جذب سطحی، با اسید فعال شده است. این خاک معمولاً به میزان ۰/۵ تا ۱/۰٪ روغن خام و در برخی موارد ۰/۵ تا ۲/۰٪ [۸] استفاده می‌شود.

اسکوپین و همکاران (۲۰۱۲) در خصوص بررسی اثر پارامترهای رنگبری بر کارایی رنگبری، پایداری اکسیداتیو و مقدار و ترکیب مواد فعال زیستی (توکوفرول و استرول) با استفاده از نوع خاصی خاک رس در روغن سویا، به این نتایج رسیدند که مقدار خاک رس بیشترین اثر را در بازده رنگبری دارد و روغن سویا خنثی‌شده به مدت ۲۰ min در ۹۵ °C با یک درصد خاک رس رنگبری بالاترین پایداری اکسیداتیو، بهترین بازده رنگبری و مطلوب‌ترین محتوای استرول را نشان داد؛ اگرچه محتوای توکوفرول کاهش یافت [۷]. اکوو و نیوبان (۲۰۱۳) روش سطح پاسخ را به منظور مطالعه بهینه‌سازی رنگبری روغن پالم با استفاده از خاک رس محلی را مورد استفاده قرار دادند. جذب رنگ روغن با استفاده از اسپکتروفتومتر در محدوده UV و در طول موج ۴۴۵ nm اندازه‌گیری شد و نتایج نشان داد که شرایط بهینه برای فرایند رنگبری ۱۰۰ °C، زمان ۳۰ min و دوز ۲/۴ g خاک رنگبری که منجر به ۹۹/۱۷٪ رنگبری روغن پالم بود. این مطالعه نشان داد که طراحی باکس ویلسن ۳ تکنیک خوبی برای مطالعه اثر پارامترهای اصلی فرایند روی فاکتور پاسخ توسط کاهش قابل توجه تعداد آزمایش‌ها در مطالعه یک فرایند رنگبری ناپیوسته است [۹]؛ بنابراین هدف از این

روغن دانه آفتابگردان از گیاه هلیانتوس^۱ که به طور عمده در روسیه، آرژانتین، غرب و شرق اروپا، چین و ایالات متحده رشد می‌کند به دست می‌آید. این روغن به طور گسترده به عنوان یک روغن پخت و پز استفاده می‌شود و به عنوان بخش مهمی از اسپردهای نرم ارزش دارد. در سال‌های اخیر کشت واریته‌های حاوی مقادیر بالاتری از اولئیک اسید نیز گسترش یافته‌اند [۱]. روغن آفتابگردان مثل اکثر روغن‌های نباتی از تری آسیل گلیسرول‌ها (۹۸ تا ۹۹٪) و بخش کوچکی از فسفولیپیدها، توکوفرول‌ها، استرول‌ها و موم‌ها^۲ تشکیل شده است. مشخصه روغن آفتابگردان معمولی وجود غلظت بالای لینولئیک اسید و پس از آن اولئیک اسید است. مقدار اسیدهای چرب اشباع آن (بیشتر اسیدپالمیتیک و اسید استئاریک) از بیش از ۱۵٪ کل اسیدهای چرب موجود تجاوز نمی‌کند [۲].

استرول در روغن آفتابگردان معمولی، شامل جزء اصلی β -سیتواسترول و پس از آن Δ -۷-استیگماسترول است که مورد اخیر را می‌توان به عنوان یک ردیاب تقلب در روغن آفتابگردان استفاده کرد. با توجه به اینکه اکثر روغن‌های نباتی (به جز روغن گلرنگ) دارای مقادیر نسبتاً کم Δ -۷-استیگماسترول (کمتر از ۰/۷٪) هستند. ماده غیرقابل صابونی در روغن خام آفتابگردان معمولی معمولاً در محدوده ۰/۵ تا ۱/۵٪ و یا کمتر از ۱۵ g/kg با توجه به کدکس استاندارد ۱۹۹۹-۲۱۰ است. علاوه بر استرول‌ها (حدود ۲/۴ g/kg تا ۴/۶) و توکوفرول‌ها و توکوتری انول‌ها (۰/۴ تا ۱/۵)g/kg، ترکیبات جزئی از روغن آفتابگردان وجود دارد [۲].

اکسیداسیون چربی‌ها و روغن‌ها طی فراوری و نگهداری غذا، نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه‌ای و هضمی آن می‌شود، بلکه ترکیباتی مانند رادیکال‌های آزاد تولید می‌کند که این ترکیبات منجر به واکنش‌های نامطلوب شیمیایی و احتمالاً بیولوژیکی می‌شوند [۳]. رادیکال‌های آزاد، اتم‌ها یا مولکول‌های با الکترون جف نشده هستند که قادرند به مولکول‌های سامانه‌های زیستی بدن آسیب وارد کرده [۴]

1. *Helianthus annuus*
2. Waxes

۲.۲. ترکیب اسیدهای چرب روغن

به منظور آنالیز اسیدهای چرب نمونه‌های روغن از دستگاه GC 6890 Agilent مجهز به اتوسمپلر و دتکتور FID استفاده شد.

ستون مورد استفاده Cpsil88 $250\mu\text{m} \times 0.2\mu\text{m} \times 5\text{m}$ دمای تزریق 260°C ، دمای آون 180°C ، دمای دتکتور 280°C ، نسبت تزریق ۱ به ۱۰۰، گاز حامل نیتروژن و حجم تزریق ۱ ml بود.

آماده‌سازی نمونه: آماده‌سازی متیل استر اسیدهای چرب مطابق استاندارد ملی ایران، به شماره ۲-۱۳۱۲۶ و ۴-۱۳۱۲۶ انجام شده است. مطابق روش، حدود ۱۰g نمونه به بالن انتقال داده شد. به آن ۱۰ ml هگزان و ۵ ml KOH متانولی ۲ M افزوده شد و محتویات بالن به مدت ۱۵ min در دمای 70°C رفلاکس شد. پس از آن محتویات بالن خنک شد و به آن ۱۰ ml محلول NaCl اشباع افزوده شد. ترکیب به خوبی هم زده شد و سپس اجازه داده شد مخلوط حاصل، دو فاز می‌شود. لایه آلی جدا و به یک ویال^۱ منتقل شد. حدود ۱ g سدیم هیدروژن فسفات به ویال اضافه و به خوبی هم زده شد. سپس ویال سانتریفیوژ شد و از لایه رویی برای تزریق به دستگاه GC استفاده شد. مقادیر اسیدهای چرب به صورت درصد زیر پیک بیان شد [۱۰].

۳.۲. تعیین استرول‌ها

محتوا و ترکیب استرول، توسط GC و روش 1999: 12228 ISO انجام شد. بخش استرول، آماده (۱ μl) و به یک گازکروماتوگرافی مجهز به ستون لوله موئین DB-17 (۳۰ mm \times ۰.۳۲ mm \times ۳۰ m)، حاوی ۵۰ درصد فاز ثابت phenyl-methylpolysiloxane، تزریق شد. هلیوم به عنوان یک حامل در یک سرعت ثابت ۰.۳۶ ml/min استفاده شد. دمای تزریق 280°C و دمای دتکتور 290°C قرار داده شد. دمای ستون آون به منظور افزایش 6°C از دمای اولیه 180°C تا 270°C برنامه‌ریزی شد و سپس در این مقدار برای ۳۰ min باقی ماند. پیک‌ها توسط مقایسه زمان‌های بازداری استرول‌ها با استانداردها شناسایی شد. تعیین کمی

پژوهش، بررسی اثر همزمان تغییرات عوامل مؤثر بر رنگبری در ۵ سطح شامل دما (80°C ، 90°C ، 100°C ، 110°C و 120°C)، زمان (۱۵، ۲۵، ۳۵، ۴۵ و ۵۵ min) و غلظت خاک رنگبر (۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱ و ۱/۲٪) بر کیفیت روغن‌های آفتابگردان به منظور جلوگیری از هزینه اضافی و بهترین ترکیب دما، زمان و غلظت خاک رنگبری برای دریافت روغن آفتابگردان با بهترین کیفیت و با استفاده از روش سطح پاسخ بود. آنالیزهای انجام‌شده، شامل اندازه‌گیری کاروتنوئیدها، توکوفرول، کاتیون‌ها و استرول بود.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. رنگبری آزمایشگاهی روغن آفتابگردان

رنگبری روغن آفتابگردان در شرایط آزمایشگاهی مطابق روش اسکوین و همکاران (۲۰۱۲) در فلاسک ۲۰۰۰ ml مجهز به دماسنج و متصل به یک پمپ خلاء و همزن با دور ۳۰ rpm انجام شد. رنگبری با استفاده از یک مخلوطکن الکترومغناطیسی با هیتر قابل تنظیم مجهز به ترموکوپل و سیستم قطع دما انجام شد. برای تنظیم دقیق دما با استفاده از یک ترمومتر، فرمان قطع و وصل را به هیتر اعمال و دما در درجه حرارت‌های موردنظر تنظیم شد. روغن خنثی‌شده به طور صنعتی، به یک فلاسک ته گرد توزین شد و با مخلوط کردن تحت خلاء حرارت داده شد. خاک رنگبر فعال با اسید با غلظت‌های ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱ و ۱/۲٪ به روغن پیش‌گرم با دمای 60°C اضافه شد. سپس روغن به تدریج به دمای مورد نظر رنگبری (80°C ، 90°C ، 100°C ، 110°C و 120°C) با همزدن ثابت تحت خلاء، به منظور پخش شدن خاک رنگبری به طور کامل رسید. پس از رسیدن به دماهای مورد نظر، حرارت دهی به نمونه‌ها در زمان‌های از پیش تعیین‌شده (۱۵ min، ۲۵، ۳۵، ۴۵ و ۵۵ min) اعمال شد. در پایان رنگبری، حرارت دهی قطع و خلاء شکسته شد. پس از رنگبری مخلوط خاک رنگبر و روغن گرم از فلاسک از طریق دستگاه میلی‌پور در خلاء فیلتر شد. نمونه روغن رنگبری شده تا انجام آزمایش‌های مربوطه در 18°C -نگهداری شد [۷].

$$C_{\beta\text{-carotene}} = \frac{A \times v}{W \times 0.261} \quad (1)$$

که A: جذب، V: حجم محلول (ml)، W: وزن نمونه (g).

۷.۲. طراحی بهینه‌سازی تجربی و آنالیز آماری

روش سطح پاسخ با ۳ فاکتور دما (۸۰-۱۲۰ °C)، زمان (۵-۵۵ min) و غلظت خاک رنگبری (۱/۲-۱/۴٪) در ۵ سطح و شش تکرار در نقطه مرکزی به روش (CCD)^۲ در جدول (۱) مورد استفاده قرار گرفت که با در نظر گرفتن این فاکتورها و سطوح آن‌ها (۲۰ فرایند رنگبری) جدول طرح آماری طراحی در جدول (۲) آمده است. در این طرح X_1 (زمان)، X_2 (دما) و X_3 (غلظت خاک رنگبری) سه فاکتور مستقل و اندازه‌گیری مقدار استرول، توکوفرول، کاتیون‌ها و کاروتنوئیدها چهار متغیر وابسته بودند. در روش RSM برای هر متغیر وابسته مدلی طراحی می‌شود که آثار اصلی و متغیر فاکتورها را بر روی هر متغیر جداگانه بیان می‌کند. مدل چند متغیره به صورت معادله (۲) است:

(۲)

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \beta_{ij} X_i X_j$$

که در آن:

β_i : ضریب رگرسیون عامل i

β_{ij} : ضریب رگرسیون برهم کنش دو عامل i و j

X_i : زمان و دما و غلظت خاک رنگبری

جدول (۱) سطوح مورد نظر در طراحی آزمون سطح پاسخ.

Table 1. The levels in response surface design methodology.

آلفا α	-2	-1	۰	+1	+2
زمان Time(min)	15	25	35	45	55
دما Temperature(°C)	80	90	100	110	120
غلظت خاک رنگبری Concentration(%)	0.4	0.6	0.8	1	1.2

همه استرول‌ها براساس استاندارد داخلی توسط الفا کلستانول^۱ بود [۱۱].

۴.۲. اندازه‌گیری توکوفرول‌ها

محتوا و ترکیب توکوفرول با استفاده از روش استاندارد ISO 9936:2006 تعیین شد. آنالیز توسط HPLC با دکتور فلورسانس انجام گرفت. نمونه با حل کردن ۰/۱g روغن در ۱۰ ml n-hexane آماده و ۲۰ μ l از محلول به ستون تزریق شد. تعیین توکوفرول در یک طول موج برانگیختگی ۲۹۵ nm و طول موج نشر ۳۳۰ nm انجام گرفت. کروماتوگرافی ایزوکراتیک در دمای اتاق با یک فاز متحرک ۰/۷ درصد در propan-2-ol در n-hexane در سرعت جریان ۰/۶ ml/min استفاده شد. تعیین کمی توکوفرول‌ها با استفاده از منحنی‌های کالیبراسیون استاندارد α و γ -توکوفرول که طیف کسر جرمی ۵-۷۵۰ mg/kg را پوشش می‌دهد، اجرا شد [۱۲].

۵.۲. تعیین مقدار فلزات مس و آهن

جهت اندازه‌گیری آهن و مس از روش AOCS شماره 75-Ca15 برای هر نمونه استفاده شد که در این روش ابتدا نمونه مورد نظر خاکستر شد پس از آن، اسید به آن اضافه شد و پس از تهیه استانداردهای مس و آهن غلظت این فلزات توسط دستگاه جذب اتمی همراه با اتمیزر شعله و سوخت استیلن-هوا با فلوی ۱/۵ به ۳ و لامپ هالوکاتد چند عنصره تعیین شد [۱۳].

۶.۲. تعیین مقدار کاروتنوئیدها

غلظت کاروتنوئیدها مانند مقدار β -carotene از طریق اسپکتروفوتومتر تعیین شد. اندازه‌گیری‌های جذب ویژه با اسپکتروفوتومتر UV visible انجام شد. مطابق این روش، ۱g روغن در ۲۵ ml فلاسک در ایزواکتان حل و تا خط توسط ایزواکتان پر شد. حداکثر جذب در ۴۴۰-۴۵۵ nm به ثبت رسید و غلظت β کاروتن از معادله زیر محاسبه شد [۱۴]:

1. Vial

2. α -cholestanol

جدول (۲) طراحی روش سطح پاسخ برای مطالعه حاضر با استفاده از نرم افزار Design expert.

Table 2. Design of response surface methodology for the present study using design expert software.

غلظت خاک رنگبر Concentration (%)	دما Temperature (°C)	زمان Time (min)	ترتیب آزمون Order	تیمار Treatment
0.8	120	35	1	12
0.8	80	35	2	11
1.2	100	35	3	14
1	110	45	4	8
0.8	100	55	5	10
0.8	100	35	6	18
0.6	110	45	7	4
0.4	100	35	8	13
1	90	45	9	6
1	90	25	10	5
0.8	100	35	11	15
0.8	100	35	12	16
1	110	25	13	7
0.6	90	45	14	2
0.8	100	35	15	20
0.8	100	35	16	17
0.8	100	35	17	19
0.8	100	15	18	9
0.6	110	25	19	3
0.6	90	25	20	1

نشان داده شده است که با Codex Stan 210-1999

۳. نتایج و بحث

مطابقت داشت [۱۵].

۱.۳. ترکیب اسیدهای چرب روغن آفتابگردان

ترکیب اسیدهای چرب روغن آفتابگردان در جدول (۳)

جدول (۳) ترکیب اسیدهای چرب روغن آفتابگردان

Table 3. Fatty acids composition of sunflower oil

درصد Percent	اسید چرب Fatty acid
0.53	C14
0.1	C14:1
8.15	C16
0.17	C16:1
3.82	C18
0.15	C18:1t
29.27	C18:1e9
0.5	C18:1e11
56.86	C18:2c
0.25	C20

۲.۳. استرول

یکی از ترکیباتی که در حین رنگبری ممکن است در اثر عوامل مؤثر بر رنگبری، تغییر مقدار دهد استرول‌های گیاهی موجود در روغن خام است. با توجه به اهمیت وجود استرول‌ها در روغن اثر رنگبری بر مقدار آن‌ها پس از عملیات رنگبری مورد بررسی قرار گرفته است.

با توجه به جدول (۴)، تنها عوامل مؤثر در کاهش استرول‌ها، زمان انجام واکنش و مقدار خاک رنگبر است و هیچ تأثیر معنی‌داری از دما مشاهده نشد؛ بنابراین اثری که پیش‌تر در اثر کاهش ویسکوزیته در دمای بالاتر طبق معادله استوک-انیشتن در این مبحث انتظار می‌رفت آن‌چنان ضعیف است که اثر معنی‌داری بر کاهش استرول نداشته است. شاید بتوان دلیل آن را مقدار کم استرول‌های اولیه در روغن آفتابگردان دانست که باعث شده است خطاهای آزمایش اثر دما را معنی‌دار نشان ندهد.

برای اثبات این فرضیه می‌توان به اثر عوامل مورد مطالعه بر روی کلاسترول اشاره کرد که به دلیل مقدار اولیه بسیار کم، معادله پیشنهاد شده دارای ضریب تبیین بسیار پایین‌تر از باقی استرول‌ها است (معادل ۰/۶۳) که احتمالاً به دلیل خطای آزمایش و میزان دقت دستگاه است. مدلی که در این جدول برای تمامی استرول‌های مورد مطالعه مشاهده شده است، مدل خطی بوده و در آن زمان و غلظت خاک رنگبر معنی‌دار است. برهم کنش عوامل با توجه به کم بودن ضرایب تأثیر این دو عامل بسیار اندک و غیر معنی‌دار شده است؛ لذا نرم‌افزار مدل خطی را پیشنهاد نموده است. در این بین، تغییرات سیتوسترول به عنوان استرول اصلی روغن آفتابگردان بسیار حائز اهمیت است، تنها عامل معنی‌دار در بتاسیتواسترول غلظت خاک رنگبر است. در باقی استرول‌ها نیز ضریب تأثیر غلظت خاک رنگبر در کاهش میزان استرول‌ها از اثر زمان بسیار بیشتر است که می‌تواند توجیه

کننده کاهش بتاسیتواسترول باشد. مطابق قانون اول فیک^۱ افزایش سطح خاک رنگبر می‌تواند اثر مستقیمی در افزایش میزان جذب استرول‌ها در خاک رنگبر داشته باشد. بیشترین تأثیر غلظت خاک رنگبر در بین اجزای استرولی در درجه اول مربوط به بتاسیتواسترول و سپس مربوط به دلتا-۵-اوناسترول است. منفی بودن ضرایب B_1 و B_3 حاکی از اثر منفی بر غلظت استرول‌های مورد مطالعه است و توان دریافت که حداکثر میزان B_0 ، B_1 و B_3 مربوط به غلظت کلی استرول‌ها است که غلظت اولیه آن‌ها از تک تک استرول‌ها بیشتر است که پس از آن بتاسیتواسترول بیشترین ضریب مربوط به خاک رنگبر را دارد که دلیل آن، سهم بالاتر آن از کل استرول‌ها است. نتایج جدول نشان می‌دهد که نمودار برازش شده برای اغلب استرول‌های مورد مطالعه برازش بسیار مطلوبی ($R^2=0/9$) داشته است که تنها استثنا در این رابطه کلاسترول با $R^2=0/63$ است که قبلاً ذکر شد می‌تواند مربوط به مقدار بسیار ناچیز آن و درصد خطای آزمون بر مقادیر محاسبه شده باشد. در تمامی استرول‌های مورد مطالعه فاکتور کفایت دقت^۲ بالاتر از ۴ است که نشان‌دهنده دقت کافی در نتایج به دست آمده است؛ البته با استفاده از سایر تبدیلات RSM می‌توان ضریب تبیین و دقت را بالاتر برد. در مطالعه توسط ارتگا-گارسیا بر روی روغن گلرنگ نشان داده شد که بعد از صمغ‌گیری، کاهش قابل توجهی در مقدار استرول استریفیه شده و افزایش قابل توجهی در مقدار استرول آزاد مشاهده شد. این کاهش ممکن است توسط هیدرولیز کاتالیز شده با اسید از استرهای استریل^۳ روی خاک رنگبر فعال با اسید توضیح داده شود. همچنین کاهش معنی‌داری در مقدار استرول‌های کل در طی رنگبری مشاهده شد که مربوط به کاهش بخش استرول استریفیه است که نتایج ارتگا و همکاران (۲۰۰۶) موافق نتایج این مطالعه بود [۱۶].

1. Fick
2. Adeq precision
3. Steryl esters

جدول (۴) اثر پارامترهای رنگبری بر تغییرات استرول‌های روغن آفتابگردان.

Table 4. The effect of bleaching parameters on changes in sunflower oil sterols.

فاکتور کفایت دقت adeq precision	ضریب تبیین R ²	B ₃	B ₂	B ₁	B ₀	مدل Model	استرول Sterol
21.253	0.85	-0.025	ns	ns	0.052	خطی	کمپسترول Campesterol
9.59	0.63	-1.0296*10 ⁻⁶	ns	-1.273*10 ⁻⁶	0.0004	خطی	کلسترول Cholesterol
36.039	0.94	-0.0094395	ns	2.7747*10 ⁻⁵	0.0298	خطی	استیگماسترول Stigmasterol
69.64	0.98	-0.011158	Ns	-2.1528*10 ⁻⁵	0.0204	خطی	دلتا-۵-آوناسترول Δ ₅ -avenasterol
62.94	0.98	-0.015477	Ns	-2.1528*10 ⁻⁵	0.0325	خطی	دلتا-۷- استیگماسترول Δ ₇ -stigmasterol
88.57	0.99	-0.09784	Ns	ns	0.2327	خطی	بتاسیتواسترول β-sitosterol
40.27	0.95	-0.00917484	Ns	-3.01569*10 ⁻⁵	0.0182	خطی	اوناسترول Avenasterol
46.55	0.96	-0.00887927	Ns	-2.40862*10 ⁻⁵	0.0295	خطی	سایر استرول‌ها Other sterols
100.76	0.99	-0.17718	Ns	-0.00027809	0.4162	خطی	کل استرول‌ها Total sterols

۳.۳. توکوفرول

می‌دهد؛ بدین ترتیب پایداری روغن را تحت تأثیر قرار

می‌دهد [۱۸-۱۹].

(۳)

=توکوفرول

$$693.20145-0.025295A-3.13290B-46.97045C+0.014399B^2$$

ضریب تبیین ۰/۹۸ و فاکتور کفایت دقت ۱۸/۲۵ نشانگر انطباق نسبتاً مطلوب معادله به دست آمده با مقادیر تجربی است. با توجه به معادله (۳) به دست آمده، هر سه عامل دما، زمان و غلظت خاک رنگبری بر کاهش میزان توکوفرول‌ها در طول زمان مؤثر بود و هر سه عامل، اثر منفی داشته‌اند. اثر زمان با توجه به قانون اول فیک قابل تحلیل است به دلیل این‌که با توجه به قانون اول فیک هرچه زمان بیشتر، میزان انتقال جرم بیشتر است. اثر دما هم که ذکر شد با قانون استوک-اینشتین و اثر دما بر کاهش ویسکوزیته و در ادامه افزایش میزان جذب D قابل توجیه بوده و افزایش غلظت

گروه دیگری از اجزا جزئی روغن‌های گیاهی، توکوفرول‌ها هستند که به دلیل فعالیت ویتامینی و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی به محافظت کردن اسیدهای چرب ضروری در مقابل اکسیداسیون مهم هستند [۱۶]. پایداری اکسیداتیو روغن مربوط به حضور توکوفرول‌ها است [۱۷].

اثر سه عامل دما، زمان و غلظت خاک رنگبری بر میزان توکوفرول‌ها در روغن آفتابگردان در زمان رنگبری با توجه به معادله به دست آمده از معادله درجه دوم تبعیت نموده است. با توجه به معادله (۳) توان اول زمان، دما و غلظت خاک رنگبری و توان دوم دما معنی‌دار بوده است. هر سه عامل اثر کاهشی بر میزان توکوفرول‌ها داشته‌اند و بالاتر بودن ضریب غلظت خاک رنگبری نشان‌دهنده اثر بیشتر غلظت خاک رنگبری بر کاهش میزان توکوفرول‌ها در مدت زمان رنگبری است. در مرحله رنگبری، توکوفرول‌ها جذب خاک رنگبری می‌شوند و اکسید می‌شوند، این مسئله فقدان توکوفرول‌ها را افزایش

این خاک‌ها شوند یا با توجه به منبع معدنی این خاک‌ها مقدار آن‌ها در روغن افزایش یابد [۱].

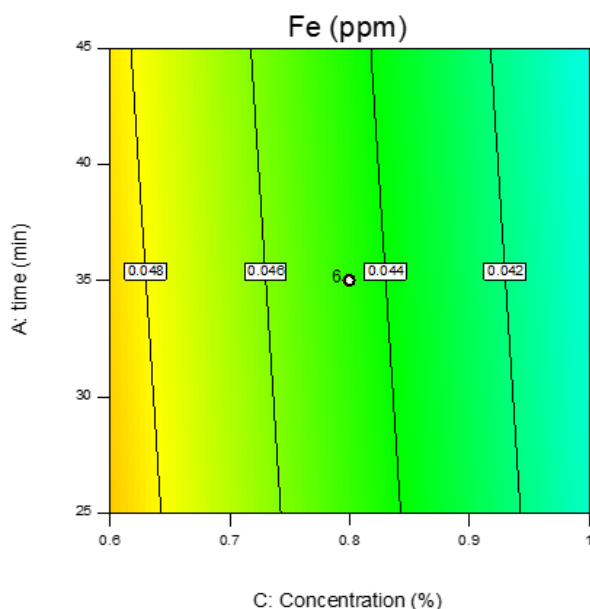
۱.۴.۳ آهن

مقدار آهن در روغن خام آفتابگردان ppm ۰/۰۵۳ بوده است که پس از انجام تحقیق حاضر می‌توان دریافت که تنها عامل مؤثر بر تغییرات آهن، غلظت خاک رنگبر مصرفی بوده است. بررسی نتایج به دست آمده با مدل حداقل سطح پاسخ نشان داد که تغییرات مقدار آهن با عوامل مورد بررسی از معادله خطی پیروی نموده است که در معادله (۴) آمده است.

$$\text{Fe (ppm)} = 0.0627 - 0.020C \quad (4)$$

مقادیر ضریب تبیین ۰/۹۷ و فاکتور کفایت دقت ۰/۶۰/۷۴، نشانگر دقت بسیار بالای معادله (۴) در پیشگویی اثرات عوامل مورد مطالعه بر محتوای آهن موجود در روغن پس از رنگبری دارد.

با توجه به معادله (۴) می‌توان دریافت که افزودن خاک رنگبر اثر بر میزان آهن موجود در روغن اثر کاهندگی داشته است؛ این امر در شکل (۲) قابل مشاهده است.

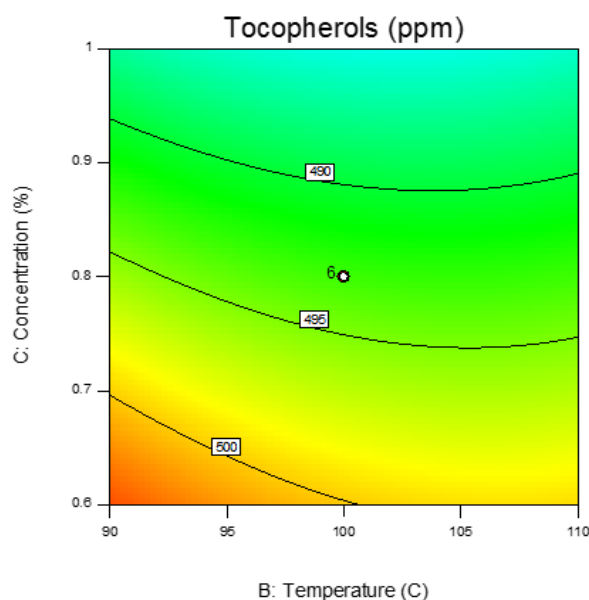


شکل (۲) اثر زمان و غلظت خاک رنگبر بر میزان آهن روغن آفتابگردان در عملیات رنگبری.

Fig 2. The effect of time and clay concentration on Fe in sunflower oil in bleaching processing.

خاک‌رنگبر هم علاوه بر اثر مستقیم با افزایش A در قانون اول فیک علاوه بر اثر بر میزان نهایی می‌تواند در سرعت کاهش میزان توکوفرول‌ها نیز مؤثر باشد.

میانگین کاهش در مقدار توکوفرول در مطالعه آیردی و رازی (۲۰۱۶) در روغن آفتابگردان، تقریباً ۸٪ است. خاک رنگبر اسیدی و قلیایی ممکن است به مولکول‌های توکوفرول آسیب برساند. خاک رنگبر فعال با اسید می‌تواند توکوفرول استریفیه شده را کاتالیز کند. اسید نیز می‌تواند نقشی در پروتونه کردن توکوفرول و تولید یون‌های اکسونیوم^۱ بازی کند [۲۰]. اثر دما و غلظت خاک رنگبر بر توکوفرول‌های روغن آفتابگردان در شکل (۱) قابل مشاهده است.



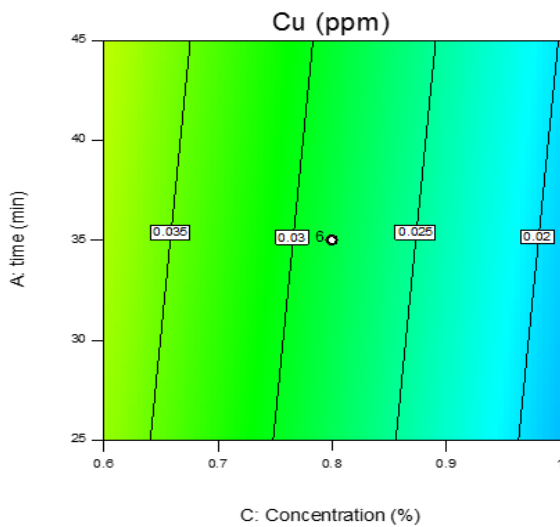
شکل (۱) اثر دما و غلظت خاک رنگبر بر توکوفرول روغن آفتابگردان.

Fig 1. The effect of temperature and clay concentration on tocopherol in sunflower oil.

۴.۳ کاتیون‌ها

سطح خاک رنگبر فعال شده با اسید از یون‌های منفی پوشیده شده است. با توجه به اهمیت وجود کاتیون‌ها، به خصوص یون‌های مس و آهن در روغن، تغییرات آن‌ها در تحقیق حاضر مورد بررسی قرار گرفته است و همچنین به علت بار منفی خاک‌های فعال شده با اسید، می‌توانند جذب

1. Oxonium



شکل (۳) بررسی اثر زمان و غلظت خاک رنگبر بر میزان مس روغن آفتابگردان در فرایند رنگبری.

Fig 3. The effect of time and clay concentration Cu in sunflower oil in beaching processing.

۵.۳. کاروتنوئیدها

با بررسی عوامل مؤثر بر میزان کاروتنوئید روغن آفتابگردان می‌توان دریافت که ارتباط این عوامل با محتوای کاروتنوئید از رابطه خطی تبعیت می‌کند. نتایج تحلیل آماری نشان داد معادله خطی (۶) برای بررسی اثر این عوامل معنی‌دار و فقدان برازش آن غیرمعنی‌دار بود که این بیانگر برازش این معادله با نتایج تجربی است. مقدار ضریب تبیین 0.98 و فاکتور کفایت دقت $64/62$ ، نشانگر دقت مطلوب این معادله در پیشگویی رفتار عوامل مورد مطالعه است. در معادله پیشنهادی، تنها اثر خاک رنگبر به عنوان تنها فاکتور مؤثر بر تغییرات میزان کاروتنوئیدها معنی‌دار شده است؛ بنابراین میزان تغییرات کاروتنوئید در اثر عوامل ناچیزتر بوده و اثر آن‌ها غیرمعنی‌دار شده است. اثر زمان و غلظت خاک رنگبر بر میزان کاروتنوئیدها در روغن آفتابگردان در شکل (۴) دیده می‌شود.

صانعی و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که اثر غلظت خاک رنگبر بر میزان بتاکاروتن بیش از دیگر فاکتورهاست. با افزایش غلظت خاک رنگبر، مقدار بتاکاروتن به صورت خطی کاهش می‌یابد. تأثیر زمان بر حذف بتاکاروتن کمتر از دو

۲.۴.۳. مس

خاک رنگبر فعال‌شده با اسید بر مقدار مس با همان مکانیسمی که در مورد آهن گفته شد، مؤثر است. بررسی‌ها نشان داد که در این مورد نیز مهم‌ترین و تنها عامل معنی‌دار غلظت خاک رنگبر بود. دلیل اصلی این امر را می‌توان به این نکته مرتبط دانست که مکانیسم جذب کاتیون‌ها به خاک رنگبر به جاذبه یونی وابسته است؛ بنابراین معادلات عادی انتشار بر آن بی‌تأثیر بوده است؛ بنابراین اثر زمان بر میزان جذب کاهش یافته و تأثیر دمای فرآیند و متعاقب آن ویسکوزیته روغن بر پدیده انتشار به حداقل رسیده است. اثر عوامل مورد مطالعه بر میزان محتوای مس در روغن آفتابگردان در مدت عملیات رنگبری در معادله (۵) نشان داده شده است. مقادیر ضریب تبیین 0.65 و فاکتور کفایت $60/75$ دقت نشان از دقت مناسب معادله (۵) برای پیشگویی اثرات عوامل مورد مطالعه بر میزان محتوای مس در زمان رنگبری دارد.

$$\text{Cu (ppm)} = 0.050931 - 0.046563C \quad (5)$$

شمای اثر عوامل مورد مطالعه بر مقدار مس موجود در روغن آفتابگردان در شکل (۳) آمده است. نتایج تحقیق حاضر موافق نتایج موکاسا و همکاران (۲۰۱۴) بود. آهن و مس با افزایش درصد جرمی اسید مورد استفاده به شدت کاهش یافتند. کاهش معنی‌داری در مقدار آهن و مس در روغن‌های رنگبری شده با خاک‌های فعال‌شده با اسید، به دلیل برخورداری از بالاترین مقدار اسمکتیت^۱ مشاهده شد؛ بنابراین خاک رنگبر با ظرفیت بالای به دست آمده، یون‌های فلزی روغن‌ها را در طول فرایند رنگبری جذب می‌کند. خاک رنگبر خام شسته نشده، ظرفیت جذبی کمتری برای یون‌های فلزی نشان دادند. به دلیل این‌که به تعداد بسیار کمی از سایت جذبی در ساختار دسترسی دارند و سایت‌های جذبی توسط تبادل یونی در لایه‌های داخلی اشغال شده‌اند [۲۱].

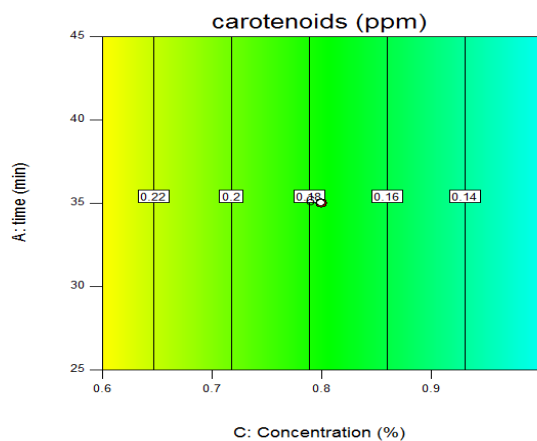
1. Smectite

۴. نتیجه‌گیری

نتایج به طور کلی نشان داد که می‌توان عملیات رنگبری را با اهداف دیگری به غیر از صرفاً کاهش رنگ انجام داد؛ به‌عنوان مثال، با تغییر پارامترهای مؤثر بر رنگبری می‌توان ترکیبات مفید باقیمانده در روغن مانند استرول‌ها، توکوفرول‌ها و سایر کنترل و حفظ کرد. مهم‌ترین پارامتر در رسیدن به شرایط بهینه روغن، غلظت خاک رنگبر است. مقدار مطلوب در شرایط بهینه شده حدود ۷۱٪ است که در این حالت مقدار مطلوب استفاده از ۱٪ خاک رنگبر به دست آمد. مقادیر پیش‌بینی شده توسط نرم‌افزار و مقادیر عملی در جدول نشان داده شد. دستیابی به شرایط پیش‌بینی شده توسط نرم‌افزار از طریق عملی امکان‌پذیر بود و نتایج عملی اختلاف معنی‌داری با پیش‌بینی نرم‌افزار نداشته است؛ بنابراین می‌توان با دقت بالایی در خصوص روغن مورد مطالعه به نتایج نرم‌افزار استناد کرد.

فاکتور دیگر است. کارایی زمان در کاهش میزان بتاکاروتن زیاد نیست. نتایج صانعی و همکاران با نتایج به دست آمده منطبق بود [۲۲].

$$(۶) \text{ کاروتنوئید} = 0.41450 - 0.28125C$$



شکل (۴) اثر زمان و غلظت خاک رنگبر بر میزان کاروتنوئیدها در روغن آفتابگردان.

Fig 4. The effect of time and clay concentration on carotenoids in sunflower oil

جدول (۵) مقادیر بهینه پارامترهای مورد ارزیابی و نتایج تئوری و عملی آزمون‌ها در فرآوری روغن آفتابگردان

Table 5. Optimal values of evaluated parameters and theoretical and practical results of tests in sunflower oil processing.

مقدار عملی Practical value	مقدار پیش‌بینی predicted value	فکتورها Factors
	0.706	مقدار مطلوبیت Desirability
37.5	37.49	زمان Time(min)
97	97.53	دما Temperature(°C)
1	1	غلظت خاک رنگبر Concentration(%)
0.02±0.01	0.02	کمپسترول Campesterol
ns	Ns	کلسترول cholesterol
0.016±0.002	0.017	استیگماسترول Stigmasterol
0.009±0.001	0.009	دلتا-۵-آوناسترول Δ ⁵ -avenasterol
0.015±0.002	0.015	دلتا-۷-استیگماسترول Δ ⁷ -stigmasterol
0.12±0.02	0.13	بتاسترواسترول



		β-sitosterol
0.008±0.001	0.008	اوناسترول Avenasterol
0.018±0.003	0.019	سایر استرول ها Other sterols
0.213±0.01	0.218	کل استرول ها Total sterols
479.32±23.2	485.02	توکوفرول Tocopherol (ppm)
0.11±0.02	0.12	کاروتنوئید Carotenoid (ppm)
0.02±0.01	0.02	مس Cu (ppm)
0.04±0.01	0.04	آهن Fe (ppm)

منابع

- [1] Gunstone, F.D. (2005). Vegetable oils. In: F. Shahidi (Eds.). *Bailey's industrial oil and fat products* (6th ed). Wiley-interscience publication.
- [2] Grompone, M.A. (2005). Sunflower oil. In: F. Shahidi (Eds.). *Bailey's industrial oil and fat products* (6th ed). Wiley-interscience publication.
- [3] Ahmadi, F., Kadivar, M., & Shahedi, M. (2007). Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Moza. in model and food systems. *Food Chem.*, 105, 57-64.
- [4] Thomas, M.J. (2000). The role of free radicals antioxidants. *Am J Clin Nutr.*, 16, 716 - 724.
- [5] Roy, P., Amdekar, S., Kumar, A., & Singh, V. (2011). Preliminary study of the antioxidant properties of flowers and roots of *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl) Miers. *BMC Complement Altern. Med.*, 11, 69.
- [6] Seng, C.E., Lee, C.G., & Liew, K.Y. (2001). Adsorption of chromium (VI) and nickel (II) ions on acid- and heatactivated deoiled spent bleaching clay. *J. AOCS.*, 78(8), 831-835.
- [7] Skevin, D., Domijan, T., Kraljic, K., Gajdoš, J., Nederal, S., & Obranova, M. (2012). Optimization of bleaching parameters for soybean oil. *Food Technol Biotech.*, 50(2), 199-207.
- [8] Foletto, E.L., Alves, C.C.A., Sganzerla, L. R., & Porto, L.M. (2002). Regeneration and utilization of spent bleaching clay. *Lat Am Appl Res.*, 32(2), 205-208.
- [9] Nwabanne, J.T., & Ekwu, F.C. (2013). Experimental Design Methodology Applied to Bleaching of Palm Oil Using Local Clay. *Int J Appl Sci Technol.*, 3, 69-70.
- [10] National Standard of Iran. (2015). *Animal and vegetable fats and fats - Gas chromatography of fatty acid methyl esters - Part 2: Preparation of fatty acid methyl esters*. No. 13126-2 and 13126-4. [In Persian]
- [11] Anon. (1999). *Animal and vegetable fats and oils - Determination of Individual and Total Sterols Contents - Gas Chromatographic Method*, ISO Method 12228:1999, Geneva, Switzerland.
- [12] Anon. (2006). *Animal and vegetable fats and oils - Determination of Tocopherols and Tocotrienols Content by High-Performance Chromatography*, ISO Method 9936:2006, Geneva, Switzerland.
- [13] AOCS. (2007). *Official methods and recommended practices of the American oil chemist's Society*.
- [14] AOCS. (1998). *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society (4th ed.)*. Champaign, IL: AOCS Press.
- [15] Codex Stan 210. (1999). Codex Alimentarius International Food Standards, www.codexalimentarius.org.
- [16] Ortega-García, J., Gámez-Meza, N., Noriega-Rodríguez, J. A., Dennis-Quinonez, O., García Galindo, H. S., Angulo-Guerrero, J.O., & Medina-Juárez, L.A. (2006). Refining of high oleic safflower oil: Effect on the sterols and tocopherols content. *Eur Food Res Technol.*, 223, 775-779
- [17] O'Brien, D.R., Jones, L.A., King, C.C., Wakelyn, P.J., & Wan, P.J. (2005). *Bailey's Industrial Oil and Fat Products (6th Ed.)*. New York: Longman.

- [18] Wu, Y., Zhou, R., Wang, Z., Wang, B., Yang, Y., & Ju, X. (2019). The effect of refining process on the physicochemical properties and micronutrients of rapeseed oils. *PLoS One.*, 14(3), 1-16. **ID**
- [19] Ergönül, P.G., & Köseoğlu, O. (2014). Changes in α -, β -, γ - and δ -tocopherol contents of mostly consumed vegetable oils during refining process. *J Food.*, 12(2), 199-202.
- [20] Ayerdi, A., & Rhazi, L. (2016). Effects of refining process on sunflower oil minor components: A review. *J Food Sci Technol.*, 52(7), 4613-4618.
- [21] Mukasa-Tebandeke, I.Z., Mukasa Ssebuwufu, P.J., Nyanzi, S.I., Schumann, A., Nyakairu, G.W., & Lugolobi, F. (2014). Using trace metals, peroxide, acid and iodine values to characterize oils bleached using clays from central and Eastern Uganda. *Am J Analyt Chem.*, 5, 1302-1312.
- [22] Sanei, M., Goli, A.M., Keramat, J., Shirvani, M., & Vatankhah, H. (2014). Optimization of soybean oil bleaching process by response surface methodology. In: Proceeding of the 3th Int. Cong. of New Approach Energ Conserv. [In Persian]

**Research Article****Optimizing the simultaneous effect of change in bleaching parameters on the quality of sunflower oil using response surface methodology (RSM)****Leila Sedaghat Boroujeni¹, Mehrdad Ghavami², Zahra Piravi Vanak^{3*}, Abdollah Ghasemi Pirbalouti⁴****1. Ph.D Student, Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University****2. Professor, Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University****3. Associate Professor, Food Technology and Agricultural Products Research Center, Standard Research Institute (SRI), Karaj****4. Professor, Research Center for Medicinal Plants, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University****Abstract**

In edible oil refining, the bleaching treatment is an essential step. The adsorbents used for bleaching can remove pigments and other impurities, such as soap particles, trace metals, phospholipids, and oxidation products. The removal of these impurities improves the sensory quality and the oxidative stability of the deodorized oil.

Considering the importance of bleaching in edible oil refining, in this research sunflower oil was selected and the effect of bleaching agent on some chemical characteristics of the oil was investigated and optimized. In this regard, the effect of time (15, 25, 35, 45, and 55 min), temperature (80, 90, 100, 110, and 120°C), and concentration of bleaching clay (0.4, 0.6, 0.8, 1, and 1.2%) each in 5 levels have been studied using response surface methodology (RSM) with the aim of reduction in bleaching clay consumption. Chemical tests were determination of carotenoid, sterol, tocopherol and heavy metals. Results indicated that the best situation in the sunflower oil was 39.18min, 103.85°C, and 94% concentration of bleaching clay that met 57% of desirable demands. Practical results showed no significant difference between software suggestions and practical data.

Keywords: Optimization, Sunflower oil, Bleaching, RSM

* Corresponding author: zpiravi@gmail.com