بررسی استری‌کردن روغنهای آفتابگردان، سویا و پنبه‌دانه در مبنـــای نیمه صنعتـــی

پروین زندی
استاد

محمدتقی گلدانی
پژوهشیار

هما بهمدی
کارشناسی ارشد

خدیجه خوش‌طینت
پژوهشیار

سیدکاظم حسینی
کارشناسی ارشد

انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

فرایند استری‌کردن (Interesterification) یکی از مهمترین راههای جایگزینی هیدروژنه‌کردن روغنها می‌باشد که به واسطه فراهم نمودن امکان تغییر ویژگیهای عملکردی، فیزیکی و شیمیایی روغنها به نحو مطلوب، بدون تغییر ماهیت شیمیایی اسیدهای‌چرب و عدم انجام ایزومری شدن هندسی، موقعیتی و یا کاهش درجه غیر اشباع اسیدهای‌چرب از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این پژوهش امکان کاربرد روش استری‌کردن شیمیایی تصادفی در مقیاس پایلوت، با استفاده از سه روغن نباتی متداول در ایران (روغنهای سویا، آفتابگردان و پنبه‌دانه) و روغن سویای هیدروژنه‌شده (فلیک) به نسبت‌های مساوی (٪ ۲۵) در مجاورت کاتالیزور متوکسیدسدیم (٪۰/۵ وزنی) در دمای °C ۱۱۰ و زمانهای مختلف فرایند (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ٤٥ دقیقه) مورد بررسی قرار گرفت. ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی شامل نقطه ذوب، عدد اسیدی، عدد یدی، عدد پراکسید، باقیمانده صابون و درصد رطوبت و مواد فرار در مخلوط اولیه (قبل از استری‌شدن) و فراورده‌های استری‌شده، اندازه‌گیری شدند. به منظور مطالعه روند پیشرفت واکنش استری شدن و توزیع کاملاً تصادفی اسیدهای چرب در مولکول تری گلیسرید، قبل و بعد از فرایند استری‌کردن، ترکیب اسیدهای‌چرب سیس و ترانس (اسید الائیدیک) به کمک کروماتوگرافی گازی (GC)، مقدارچربی‌جامد (SFC) به روش رزونانس مغناطیسی‌هسته‌ای و آرایش اسیدهای‌چرب در موقعیت ۲ مولکول تری‌گلیسریدها پس از هیدرولیز آنزیمی با لیپاز، کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) و GC سنجیده شد. نتایج به دست آمده نشان داد که فرایند استری‌کردن با کاهش معنی‌دار نقطه ذوب از °C ٥٤ به °C ۳۵ همراه بود که برای تهیه انواع شورتنینگ و مارگارین مناسب می‌باشد. همانطور که انتظار می‌رفت، مقایسه عدد یدی مخلوطهای اولیه و فراورده استری‌شده تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. استری‌کردن موجب کاهش مقدارچربی جامد در منحنی SFC شد که دلالت بر بهبود خواص رئولوژیکی محصول دارد. سنجش میزان اسیدهای‌چرب نشان داد که در اثر این فرایند ترکیب شیمیایی اسیدهای‌چرب تغییر نکرد و مقدار ایزومر ترانس ثابت باقی ماند. فراورده تولیدی حاوی مقادیر بسیار ناچیز (٪ ۰/۲۱) ایزومر ترانس (ناشی از فلیک) و دارای میزان بالایی از نسبت اسیدهای چرب چند غیراشباعی به اشباع بود (۱/۲۰= PUFA:SAFA) که نشانه برتری تغذیه‌ای آن نسبت به روغن نباتی هیدروژنه‌شده می‌باشد. تعیین آرایش اسیدهای‌چرب در موقعیت ۲ مولکول تری‌گلیسرید نشان داد که تعادل تصادفی مورد نظر پس از گذشت ۳۰ دقیقه از شروع واکنش به دست آمده است.

کلمات کلیدی

استری‌کردن، استری‌کردن شیمیایی تصادفی، روغنها، لیپیدهای بازسازی شده

Study on Interesterification of Sunflower, Soybean and Cottonseed Oils in Pilot Scale

P. Zandi
Professor

M.-T. Goldani
M. Sc.

H. Behmadi
M. Sc.

K. Khoshtinat
M.Sc.

K. Hosseini
M. Sc.

National Nutrition and Food Technology Research Institute,
Shaheed Beheshti University of Medical Sciences

Abstract

Interesterification is one of the most important means for substituting hydrogenation of oils, in which the functional, physical and chemical properties of the oils are suitably altered with neither chemical changes in fatty acid composition nor geometrical or positional isomerization and/or reduction in degree of unsaturation. In this research work the possibility of using random chemical interesterification in pilot scale, using three common vegetable oils in Iran (sunflower, soybean and cottonseed oils) as liquid phase and fully hydrogenated soybean oil (soy flakes) as solid phase (25% each), with sodium methoxide as catalyst (0.5 %), at 110 °C and different processing times (10, 20, 30, 45 min) was investigated. Physical and chemical properties of the mixture, before and after interesterification, including slip melting point, acid value, iodine value, peroxide value, remaining soap and moisture content were evaluated. In order to study the trend of random equilibrium (1, 2, 3-Random Distribution), before and after interesterification, the followings were determined; the profile of fatty acids, cis and trans (elaidic acid), by gas chromatography (GC), the solid fat content (SFC) by NMR and the structure of triglycerids in 2- position by enzymatic (lipase) hydrolysis, thin layer chromatography (TLC) and GC. The results showed that interesterification made significant decrease in slip melting point from 54 °C to 35 °C, which made the product suitable for producing shortening and margarine. As expected, the difference between iodine values of the oil mixtures and interesterified product was not significant. As a result of interesterification SFC was lowered, and the SFC curve indicated better plastic properties in the product. Studies on fatty acid profiles showed that this process did not affect the chemical structure of fatty acids and the amount of trans isomers was constant. The interesterified product had trace amounts (0.21 %) of trans fatty acids (from flake), and higher amounts of unsaturated and essential fatty acids (PUFA: SAFA= 1.20), implying better nutritional quality of interesterified product, as compared to hydrogenated oil. Studies on the 2-position arrangement of fatty acids showed that the expected random equilibrium was achieved after 30 minutes of processing.

Keywords

Esterification, Random Chemical Interesterification, Oils, Tailor-made lipids, Structured lipids

مقدمه

ویژگیهای عملکردی، فیزیکی و شیمیایی خاص روغنهای خوراکی جامد موجب شده در صنعت بخشی از روغنهای نباتی مایع را با به کارگیری روشهای مختلف به روغن جامد تبدیل نمایند. امروزه متداولترین روش جامد کردن روغنها، هیدروژنه‌کردن می‌باشد. طی این فرایند علاوه بر کاهش میزان اسیدهای‌چرب غیراشباع، به ویژه اسیدهای ضروری و چند

غیراشباعی (PUFA) ترکیباتی نظیر ایزومرهای اسیدهای‌چرب ترانس (TFA)، ایزومرهای موقعیتی و اسیدهای‌چرب با پیوندهای دوگانه مزدوج تشکیل می‌گردند که به طور طبیعی در روغنهای نباتی وجود ندارند [۴-۱]. در اثر فرایند هیدروژنه‌کردن صنعتی میزان اسیدهای چرب ترانس ممکن است به بیش از ۵۰ درصد نیز برسد. اسیدهای‌چرب اشباع (SAFA) و همچنین اسیدهای‌چرب غیراشباع به حالت ترانس موجب افزایش مقدار کلسترول LDL وکاهش مقدار کلسترول HDL می‌شوند. این تغییر در وضعیت لیپوپروتئینهای سرم یکی از عوامل اصلی بروز بیماری‌های قلبی ـ عروقی می‌باشد [۱۲-۵]. مطالعات نشان می‌دهند که ایزومرهای ترانس ممکن است با صدمه‌زدن به ساخت اسیدهای‌چرب ضروری، مانع رشد طبیعی جنین گردند. میزان TFA در پلاسمای خون نوزادان نارس با وزن هنگام تولد ارتباط معکوس دارد [۱۳].

فرایند استری کردن (Interesterification) مخلوط روغنهای مایع و چربیهای دارای نقطه‌ذوب بالا، یکی ازمهمترین روشهای جایگزینی هیدروژنه‌کردن نسبی روغنها می‌باشد که در سالهای اخیر مورد توجه روز افزون پژوهشگران و صاحبان صنعت دنیا قرار گرفته و در برخی کشورها به مرحله کاربرد صنعتی نیز رسیده است. در روش استری‌کردن، با جابجایی گروههای آسیل روی مولکولهای گلیسرول، ویژگیهای روغن به نحو مطلوب ومورد نظرتغییر می‌کند. طی این فرایند ماهیت شیمیایی اسیدهای‌چرب دست نخورده باقی می‌ماند و ایزومری شدن هندسی و موقعیتی همچنین کاهش درجه غیراشباع اسیدهای‌چرب با چند پیوند دوگانه رخ نمی‌دهد [۱۴].

برای چگونگی توزیع اسیدهای چرب در مولکولهای تری گلیسرید، تئوری‌های متعددی ارائه شده است که مهمترین آنها عبارتند از: تئوری توزیع حداقل (Minimum Distribution) [۱۵]، تئوری توزیع گسترده یا یکنواخت (Even or Widest Distribution) [۱۵ و ۱۶]، تئوری توزیع تصادفی (1, 2, 3- Random Distribution) [۱۷]، تئوری توزیع تصادفی محدود شده (Restricted Random Distribution) [۱۶ و ۱۸]، تئوری توزیع تصادفی ۱ توزیع تصادفی ۲ و توزیع تصادفی ۳ (3 Random 1 Random-2 Random- Distribution) [۱۶] و تئوری توزیع تصادفی ۱ و ۳ و توزیع تصادفی ۲ (1, 2 Random Distribution -3 Random) [۱۶ و ۱۸].مطابق تئوری توزیع تصادفی، اسیدهای چرب به طور تصادفی داخل ملکول تری‌گلیسرید و بین تمام تری گلیسریدهای موجود توزیع می‌شوند. بنابراین ترکیب اسیدهای چرب هر سه موقعیت مولکول تری گلیسرید مشابه یکدیگر و معادل ترکیب اسید چرب تمام چربی خواهد بود. مقدار تئوری هر یک از تری گلیسریدهایی که می‌توانند در توزیع تصادفی تشکیل شوند، قابل محاسبه است. تئوری توزیع تصادفی ۱ و ۳ و توزیع تصادفی ۲، نسبت به سایر تئوری‌ها، همخوانی بیشتری با نتایج تجربی توزیع اسیدهای چرب در تری گلیسریدهای طبیعی دارد. بر اساس این تئوری، اسیدهای چرب از دو منبع (Pool) مختلف، به طور جداگانه و تصادفی در موقعیت ۲ و موقعیت‌های ۱ و ۳ مولکول تری گلیسرید استری می‌شوند، بنابراین ترکیب اسید چرب در موقعیتهای ۱ و ۳ احتمالاً یکسان خواهد بود.

هدف از انجام این پژوهش بررسی استری‌کردن شیمیایی تصادفی، با استفاده از روند 1, 2, 3-Random Distribution، مخلوط روغنهای مایع سویا، آفتابگردان، پنبه‌دانه و روغن سویای هیدروژنه شده به منظور تولید فراورده‌هایی با ویژگیهای فیزیکی، شیمیایی، تغذیه‌ای و عملکردی مناسب برای تهیه شورتنینگ و مارگارین بوده است.

مواد و روشها

مواد

نمونه‌های روغن: روغنهای مایع مورد استفاده شامل سه روغن نباتی متداول مصرفی کارخانجات کشور (سویا، آفتابگردان و پنبه‌دانه) بود. روغنهای مایع سویا و آفتابگردان خالص پس از خنثی‌سازی و خشک کردن (قبل از ورود به مرحله رنگبری) از خط تولید یکی از کارخانجات برداشته شد. روغن پنبه‌دانه خنثی و رنگبری شده از مخازن نگهداری این روغن در کارخانه تهیه گردید. روغن سویای هیدروژنه شده (فلیک) با استفاده از کنورتور ۲ لیتری تولید شد (خلاء۱۰۰ میلی‌متر جیوه، سرعت همزن ۷۰۰دور در دقیقه، کاتالیزور نیکل تازه ۰/۱ درصد وزنی). فلیک‌های به دست آمده در دفعات مختلف تولید، پس از رنگبری مجدد، با استفاده از آسیاب خانگی، آسیاب شدند و با یکدیگر مخلوط و همگن گردیدند. با تجهیز محفظه واکنش استری‌کردن به شیر مخصوص نمونه‌برداری، نمونه‌گیری از مخلوط واکنش به طریقی صورت پذیرفت که شرایط واکنش و نسبت اجزاء در

باقیمانده مخلوط حفظ شود. نمونه‌های آماده شده تا هنگام انجام آزمایشات مورد نظر، در ظروف پلاستیکی دردار و در دمای یخچال نگهداری شدند. انتخاب نمونه‌ها مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۴۹۳ [۱۹] و یا روشهای توصیه شده AOAC [۲۰] بود. درتمام مراحل، نمونه‌برداری طبق اصول نمونه‌برداری تصادفی انجام گردید. کلیه آزمونهای تعیین کیفیت فیزیکی و شیمیایی با سه تکرار انجام شد.

مواد شیمیایی: مواد شیمیایی مورد استفاده ساخت شرکت Merck و با درجه خلوص Extra Pure یا Pro analysi بودند. کاتالیزور متوکسیدسدیم از شرکت Aldrich با خلوص ٪۹۵ و آنزیم لیپاز Mucor miehei با فعالیت ۱ u/mg از شرکت Sigma تهیه گردید.

دستگاهها و تجهیزات: برای انجام فرایندها و آزمایشات مختلف از دستگاهها و وسایل زیر استفاده شد. گاز کروماتوگراف مدل Varian 3400، شناساگر FID و ستون موئین DB-23 با مشخصات ۳۰m × ۰/۲۵mm (۵۰% Cyano Propyl Methyl Poly Siloxane). دستگاه رزونانس‌مغناطیسی هسته‌ای (NMR) با مارک Bruker مدل Minispec PC 120. کنورتور هیدروژنه‌کردن با ظرفیت ۲ لیتر از جنس فولاد زنگ نزن و مجهز به ترموستات، همزن دو پره‌ای با دور قابل کنترل (تا ۱۰۰ دور در دقیقه)، شیر نمونه‌برداری، ورودی هیدروژن، سیستم تأمین خلاء، فشار سنج و مارپیچ‌های فلزی برای عبور آب سرد. دستگاه لاویباند (تینتومتر) نوع D ساخت Tintometer LTD. رفراکتومتر ساخت شرکت Bausch&Lamb مجهز به حمام آب برای تأمین آب ۴۰°C .

روشها

روش فرایند: برای انجام فرایند از کنورتور ۲ لیتری که معمولا برای هیدروژنه‌کردن به کار می‌رود، استفاده شد. می‌توان این نوع کنورتور را بدون نیاز به تجهیزات جانبی برای استری‌کردن نیز به کار برد. حدود ۲ کیلوگرم از مخلوط روغنهای آفتابگردان خنثی شده، سویای خنثی شده، پنبه‌دانه خنثی و رنگبری شده و فلیک به نسبتهای وزنی مساوی (٪ ۲۵) را به کنورتور منتقل کرده و تحت شرایط همزدن (۶۰۰ دور در دقیقه) و خلاء (۱۰۰ میلی متر جیوه) در دمای ۹۵°C به مدت نیم ساعت حرارت داده شد تا کاملا خشک شود. سپس دما تا ۱۱۰ °C افزایش داده شد و کاتالیزور متوکسید سدیم (٪ ۰/۵ وزنی) وارد مخلوط گردید. زمان شروع واکنش از لحظه ورود کاتالیزور در نظر گرفته شد و پس از ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۵ دقیقه نمونه‌گیری به کمک شیر تعبیه شده در پائین دستگاه صورت گرفت. برای متوقف کردن واکنش و جداسازی صابون و سود تشکیل شده، مخلوط روغن و کاتالیزور با آب مقطر گرم حاوی ۰/۰۱ درصد اسید سیتریک به صورت مخلوط ۵۰ درصد آبی شستشو داده شد و عمل شستشو تا هنگام شفاف شدن لایه آبی ادامه یافت. جدا کردن فاز آبی و روغنی در قیف جداکننده یک لیتری انجام گرفت. در صورت لزوم برای شکستن امولسیون آب و روغن از نمک طعام استفاده شد. سپس بخش روغنی توسط دستگاه تبخیر کننده دوار، تحت خلاء و در دمای حدود ۷۰ °C خشک شد. کلیه فرایندها در دو تکرار انجام گردید.

روشهای آزمون ویژگیهای کیفی: ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی بخشهای جامد (فلیک) و مایع قبل و پس از مخلوط شدن با یکدیگر به نسبت مورد نظر، به شرح زیر تعیین گردید. بخش مایع؛ ضریب شکست، میزان صابون، عدد اسیدی، عدد پراکسید، عدد یدی، ترکیب اسیدهای چرب تشکیل دهنده، درصد رطوبت و مواد فرار و بخش جامد؛ نقطه لغزش، عدد اسیدی، عدد پراکسید، ترکیب اسیدهای چرب تشکیل دهنده و عدد یدی. دو بخش مایع و جامد به نسبتهای مورد نظر توزین شده و حین ذوب شدن به خوبی با یکدیگر مخلوط شدند. بر روی این مخلوط که به نام "مخلوط اولیه" از آن نام برده می‌شود و بر روی محصول تولیدی پس از فرایند استری‌کردن، آزمونهای نقطه لغزش، عدد اسیدی، عدد پراکسید، عدد یدی، درصد رطوبت و مواد فرار، میزان چربی جامد، ترکیب اسیدهای چرب تشکیل دهنده و میزان اسیدهای چرب ترانس (اسید الائیدیک)، آرایش اسیدهای چرب در موقعیت ۲ مولکول تری‌گلیسرید (به منظور بررسی پیشرفت واکنش و برقراری تعادل تصادفی) انجام گردید. همچنین میزان باقیمانده صابون نیز درمحصول تولیدی اندازه‌گیری شد.

نقطه لغزش (Slip melting point) باروش لوله موئین باز (AOCS,Cc4-95) [۲۱]، عدد اسیدی مطابق استاندارد ۴۹۳ ایران [۱۹] و با کاربرد حلال (مخلوط پروپانول و تولوئن به نسبتهای مساوی)، عدد پراکسید مطابق روش AOAC, 965-33 [۲۰]، عدد یدی به روش هانوس مطابق روش AOAC, 920-158 [۲۰]، درصد رطوبت ومواد فرار مطابق استاندارد ۴۹۳ ایران [۱۹] با

استفاده از روش آون خلاء و ضریب شکست به کمک رفراکتومتر و با روش AOAC, 921-80 [۲۰]، میزان باقیمانده صابون با روش AOCS, 17-79 [۲۱] و مقدار چربی جامد به روش رزونانس مغناطیسی هسته‌ای (NMR) با روش Gunstone و همکاران [۲۲] تعیین گردیدند.

در تعیین ترکیب اسیدهای چرب به روش کروماتوگرافی گازی (GC) برای متیله کردن اسیدهای چرب از روش Christie استفاده شد [۲۳].برای کروماتوگرافی درجه حرارت ستون در ابتدا ۱۶۰°C بود که به صورت برنامه‌ریزی شده در هر دقیقه ۱۰°C افزایش یافت تا به ۲۲۰°C برسد. دمای محل تزریق و شناساگر به ترتیب ۲۳۰°C و ۲۵۰°C بود. به عنوان گاز حامل، ازت با فشار ۱۰psi به کار رفت. اندازه‌گیری اسیدهای چرب در موقعیت ۲ مولکول تری‌گلیسرید به منظور پی بردن به کامل شدن واکنش استری شدن تصادفی انجام گرفت.

برای هیدرولیز تری‌گلیسریدها، ۵ میلی‌گرم از نمونه روغن صاف شده داخل لوله آزمایش در سمباده‌ای توزین شد و به آن یک میلی‌لیتر محلول بافر Tris [(هیدروکسی متیل) متیل آمین] یک مولار با pH=۸ و ۰/۱ میلی‌لیتر محلول کلریدکلسیم (۲/۲ درصد) اضافه گردید و به مدت یک دقیقه در حمام آب ۴۰ °C قرار گرفت. سپس یک میلی‌گرم آنزیم لیپاز به آن افزوده شد و به مدت ۴-۲ دقیقه در همان دما توسط شیکر به شدت مخلوط شد. ختم واکنش هیدرولیز آنزیمی با افزودن یک میلی‌لیتر اتانول و سپس یک میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۶ نرمال انجام شد. محصولات ناشی از هیدرولیز سه بار (۳×۱۰ml) توسط مخلوط کلروفرم و متانول (۲:۱v/v) استخراج گردید. لایه آلی دو بار و هر بار با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر شستشو داده شد و با عبور از سولفات سدیم خشک شد. سپس محلول استخراجی با استفاده از حمام آب تا حدود یک میلی‌لیتر تغلیظ گردید.

به منظور جداسازی محصولات هیدرولیز از یکدیگر از صفحات شیشه‌ای کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) به ابعاد ۲۰×۲۰ سانتی‌متر، دارای لایه سیلیکاژل G به ضخامت ۰/۵ میلی‌متر که قبلاً با محلول اسید بوریک اسپری شده بودند و به مدت یک ساعت در آون پنکه‌دار در ۱۱۰°C قرار گرفته بودند، استفاده شد. به کمک میکرو پیپت، ۲۰ میکرولیتر از محلول استخراجی تغلیظ شده و نمونه هیدرولیز شده (۵۰ میلی گرم در یک میلی لیتر محلول کلروفرم :متانول(۲:۱ v/v)) لکه‌گذاری شد. برای شناسایی محل مونوگلیسریدها و اسیدهای چرب، بر روی هر صفحه از استاندارد گلیسریل مونو استئارات حل شده درکلروفرم:متانول (۲:۱v/v) و نیز مخلوط استاندارد اسیدهای چرب استفاده شد. صفحه TLC در تانک حاوی حلالهای پترولیوم اتر: دی اتیل اتر: اسید استیک گلاسیال (۷۰:۲۰:۴ v/v) قرار داده شد. برای آشکار نمودن لکه‌ها شناساگر '۲و '۷ دی کلرو فلورسئین به کار رفت که نقاطی با فلوئورسنت زرد ـ سبز روی زمینه ارغوانی در منطقه ماوراءبنفش (۲۵۴ نانومتر) به وجود آورد. ناحیه ۲ـ مونوگلیسرید [اولین ناحیه پس از مبدأ (گلیسرول)] از روی صفحه به داخل لوله آزمایش تراشیده شده و ۲ـ مونوگلیسریدها از سیلیکاژل توسط ۵ میلی لیتر محلول ۱۰ درصد متانول در پترولیوم اتر به داخل لوله آزمایش دیگری شستشو داده شد. سپس با استفاده از GC با شرایط فوق الذکر جداسازی و تعیین مقدار شدند [۲۴-۲۶]. هنگامی که واکنش استری کردن با روند 1, 2, 3- Random Distribution تکمیل گردد، نسبت موقعیت ۲ برای هر اسید چرب حدود ۳۳/۳ درصد می‌باشد. این نسبت از رابطه شماره ۱ محاسبه می‌شود:

$$\text{نسبت موقعیت ۲ برای یک اسید چرب} = \frac{\text{۳ × مول درصد همان اسید چرب در کل گلیسریدها}}{\text{مول درصد اسید چرب مورد نظر در موقعیت ۲}} \times ۱۰۰$$

(۱)

روشهای آماری: یافته‌های آزمایشگاهی به صورت انحراف معیار ± میانگین ارائه گردیده است. آنالیز آماری توسط برنامه رایانه‌ای SPSS6 تحت ویندوز و با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه و مقایسه مرکب Tukey در سطح ۹۵ درصد انجام شده است.

یافتــه‌ها

مواد اولیه: ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی روغنهای مایع آفتابگردان، سویا، پنبه‌دانه و فلیک سویای مورد استفاده در جداول شماره ۱و ۲ نشان داده شده است.

جدول (۱) میانگین و انحراف معیار شاخصهای فیزیکی و شیمیایی روغنهای اولیه.

ویژگی / نوع روغن	نقطه ذوب (°C)	عدد یدی (g/100 g)	عدد اسیدی (mg/g)	عدد پراکسید (meq/kg)	میزان صابون (ppm)	ضریب شکست در ۴۰ °C	رطوبت ومواد فرار (٪)
آفتابگردان	-	۱۱۶/۲ ±۰/۸۵	۰/۰۵ ±۰/۰۴	۶/۶۱ ±۰/۰۷	۲۵/۴ ±۰/۶۲	۱/۴۶۷۲ ±۰/۰۰۰۳	۰/۱۶ ±۰/۰۰۴
سویا	-	۱۱۹/۰ ±۰/۸۱	۰/۰۳ ±۰/۰۰۴	۸/۶۵ ±۰/۰۳	۳۵/۳ ±۰/۶	۱/۴۶۷۵ ±۰/۰۰۰۳	۰/۰۱ ±۰/۰۰۳
پنبه دانه	-	۱۰۹/۵ ±۰/۷	۰/۳۲ ±۰/۰۰۷	۳/۸۵ ±۰/۰۶	۲۰/۳ ±۰/۶۹	۱/۴۶۶۸ ±۰/۰۰۰۴	۰/۰۳ ±۰/۰۰۳
فلیک سویا	۶۵/۰ ±۰/۴۱	۶/۳۸ ±۰/۴۲	۰/۷۸ ±۰/۰۳۵	۰/۱۰ ±۰/۰۳	-	-	-

جدول (۲) ترکیب اسیدهای چرب روغنهای اولیه.

نوع روغن	اسیدهای چرب (mol٪)					
	C۱۶:۰	C۱۸:۰	C۱۸:۱t	C۱۸:۱	C۱۸:۲	C۱۸:۳
آفتابگردان	۷/۶۸	۳/۹۰	-	۳۰/۶۱	۵۴/۸۶	۲/۰۰
سویا	۱۰/۷۵	۳/۶۱	-	۲۳/۲۳	۵۴/۰۲	۷/۰۵
پنبه دانه	۲۲/۸۰	۲/۸۹	-	۱۸/۹۳	۵۳/۷۶	۰/۹۳
فلیک سویا	۱۰/۹۷	۸۳/۸۹	۲/۲۱	۱/۹۳	-	-

فــراورده‌هــا: در جـدول ۳ ویژگـیهای فیزیکـی و شـیمیایی فـراورده‌هـای تولید شده و همچنین نتایج آزمون آماری ارائه شده است.

جدول (۳) میانگین و انحراف معیار شاخصهای فیزیکی و شیمیایی فراورده‌های استری شده از مخلوط روغنهای آفتابگردان (۲۵٪): پنبه دانه (۲۵٪): سویا (۲۵٪) و فلیک سویا (۲۵٪).

ویژگی / مدت واکنش (دقیقه)	نقطه ذوب (°C)	عدد یدی (g/100 g)	عدد اسیدی (mg/g)	عدد پراکسید (meq/kg)	میزان صابون (ppm)	رطوبت ومواد فرار (٪)
مخلوط اولیه	*a ۵۳/۸ ±۰/۵۲	a ۸۷/۵ ±۰/۸۵	a ۰/۳۴ ±۰/۰۰۹	A ۵/۴۶ ±۰/۰۳	a ۲۳/۲ ±۰/۷۲	a ۰/۰۶ ±۰/۰۰۱
۱۰	b ۳۳/۰ ±۰/۴۵	b ۸۶/۳ ±۰/۷۲	b ۰/۵۲ ±۰/۰۱۲	d ۳/۸۲ ±۰/۱۴	-	-

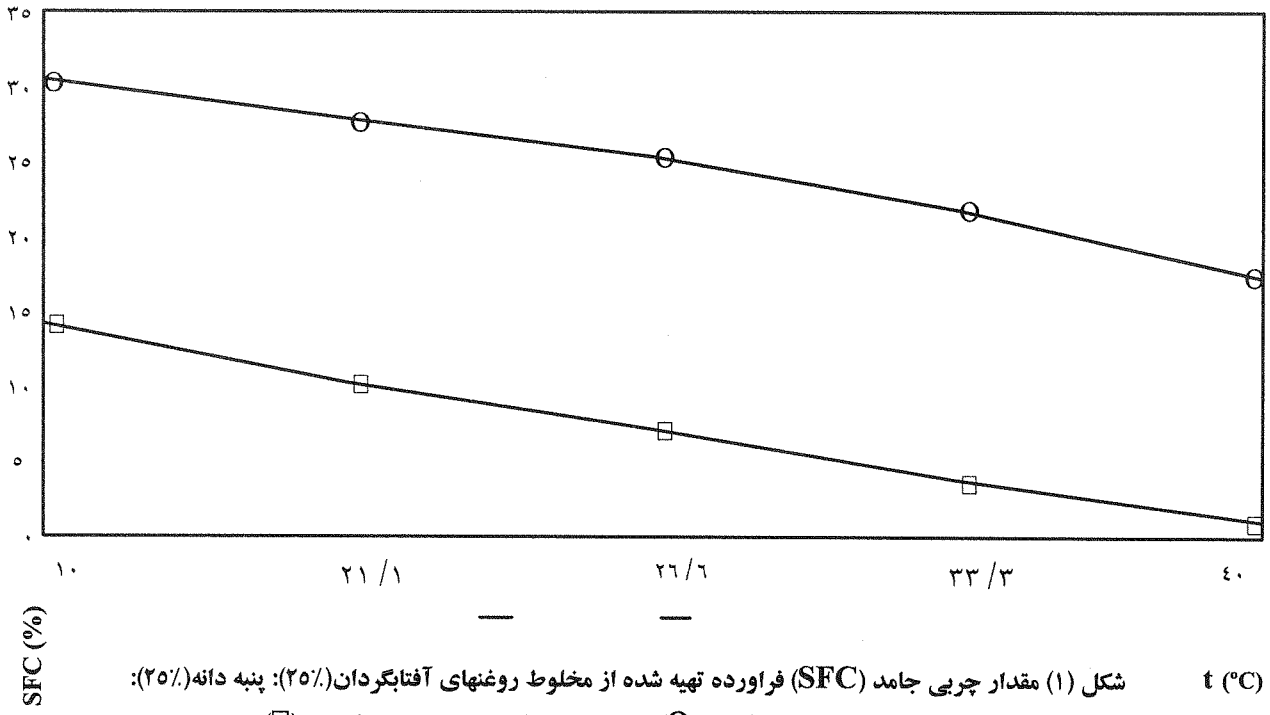
۲۰	c ۳۴/۵ ±۰/۵۵	c ۸۸/۳ ±۰/۹۲	c ۰/۷۵ ±۰/۰۰۵	b ۳/۲۵ ±۰/۰۵	-	-
۳۰	c ۳۵/۰ ±۰/۷۷	a ۸۷/۱ ±۱/۰۰	d ۰/۸۷ ±۰/۰۰۸	c ۳/۶۵ ±۰/۰۵	b ۸۰/۲ ±۱/۰۴	a ۰/۰۶ ±۰/۰۰۱
۴۵	c ۳۴/۹ ±۰/۴۹	b ۸۶/۸ ±۰/۸۴	e ۱/۱۴ ±۰/۰۱۲	e ۴/۲۴ ±۰/۰۴	-	-

***حروف یکسان نشان دهنده عدم وجود اختلاف آماری معنی دار می‌باشد.**

در جدول ۴ و شکل ۱ مقدار چربی جامد (SFC) فراورده تهیه شده از مخلوط روغنهای آفتابگردان، پنبه‌دانه، سویا و فلیک سویا (با نسبت مساوی) قبل و بعد از ۳۰ دقیقه فرایند استری‌کردن نشان داده شده است.

جدول (٤) مقدار چربی جامد (SFC) فراورده تهیه شده از مخلوط روغنهای آفتابگردان(٪۲۵): پنبه دانه(٪۲۵): سویا (٪۲۵) و فلیک سویا (٪۲۵) قبل و بعد از ۳۰ دقیقه فرایند استری کردن.

نوع روغن	SFC(٪)				
	۱۰°C	۲۱/۱°C	۲۶/۶°C	۳۳/۳°C	۴۰°C
مخلوط	۳۰/۴۵	۲۷/۸۵	۲۵/۳۳	۲۱/۹۳	۱۷/۲۶
فراورده	۱۴/۲۵	۱۰/۲۸	۷/۲۲	۳/۷۶	۱/۱۲



شکل (۱) مقدار چربی جامد (SFC) فراورده تهیه شده از مخلوط روغنهای آفتابگردان(٪۲۵): پنبه دانه(٪۲۵): سویا (٪۲۵) و فلیک سویا (٪۲۵) قبل (O) و بعد از ۳۰ دقیقه فرایند استری کردن (□).

در جدول ۵ ترکیب اسیدهای چرب تشکیل دهنده مخلوط روغنهای آفتابگردان، سویا، پنبه‌دانه و فلیک (۲۵:۲۵:۲۵:۲۵) قبل و بعد از ۳۰ دقیقه فرایند استری‌کردن و همچنین نوع و نسبت اسیدهای چرب موجود در موقعیت ۲ مولکول تری‌گلیسرید ارائه شده است.

جدول (۵) اسیدهای چرب تشکیل دهنده مخلوط روغنهای آفتابگردان، سویا، پنبه دانه و فلیک سویا (۲۵:۲۵:۲۵:۲۵)، نوع و نسبت اسیدهای چرب موجود در موقعیت ۲.

	اسیدهای چرب (mol٪)						
	C۱۶:۰	C۱۸:۰	$C۱۸:۱_t$	C۱۸:۱	C۱۸:۲	C۱۸:۳	PUFA* / SAFA
مخلوط اولیه ترکیب اسیدهای چرب	۱۲/۶۷	۲۳/۴۹	۰/۳۹	۱۹/۱۵	۴۱/۰۰	۲/۵۲	۱/۲۰
ترکیب مورد انتظار (محاسبه شده)	۱۳/۰۵	۲۳/۵۷	۰/۵۵	۱۸/۶۸	۴۰/۶۶	۲/۴۹	۱/۱۸
۲- مونوگلیسرید	۳/۵۸	۲۱/۲۳	-	۱۳/۱۸	۴۲/۵۴	۱/۸۰	-
نسبت ۲- مونوگلیسرید	۹/۴	۳۰/۱	-	۲۲/۹	۳۴/۶	۲۳/۸	-
فراورده استری شده ترکیب اسیدهای چرب	۱۲/۶۸	۲۳/۴۵	۰/۲۱	۱۹/۱۳	۴۰/۹۲	۲/۵۱	۱/۲۰
۲ـ مونوگلیسرید	۱۲/۵۶	۲۳/۳۸	-	۱۹/۱۷	۴۱/۴۹	۲/۵۶	-
نسبت ۲ـ مونوگلیسرید	۳۳/۲	۳۲/۳	-	۳۳/۴	۳۳/۸	۳۳/۶	-

***PUFA: SAFA = (C 18:2 + C 18:3): (C 16:0 + C 18:0)**

بحث و نتیجه‌گیری

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود فرایند استری‌کردن موجب کاهش قابل ملاحظه و معنی‌دار نقطه ذوب مخلوط روغنها و چربیها شده است و نقطه ذوب فراورده را به حدود دمای بدن یا کمتر از آن رسانده است که این امر هم از نظر تغذیه‌ای و هم از نظر تکنولوژیکی حائز اهمیت بسیار می‌باشد. فراورده های حاصل با نقطه ذوب‌حدود ۳۵°C-۳۳ برای تهیه انواع مختلف شورتنینگ، روغنهای قنادی و مارگارین مناسب به نظر می‌رسند. Petrauskaite و همکاران (۱۹۹۸) نیز این کاهش مطلق در نقطه ذوب فراورده استری شده را گزارش کرده‌اند. استری‌کردن شیمیایی و تصادفی مخلوط روغن سویا با سویای کاملا هیدروژنه شده و روغن سویا با پالم استئارین در نسبتهای مختلف از ۱۰:۹۰ تا ۲۵:۷۵ به ترتیب باعث کاهش نقطه ذوب از ۹ تا ۳۱ °C و از ۷ تا ۲۵ °C شده است. این محدوده تغییرات و همچنین نقطه ذوب فراورده نهایی مطابقت نزدیکی با نتایج پژوهش حاضر دارد [۸]. List و همکاران در سال ۱۹۹۵ مخلوطی از روغن سویای مایع و روغن سویای کاملا هیدروژنه شده (۲۰:۸۰) را استری کرده‌اند و کاهش نقطه ذوب (۳۵/۶ °C درفراورده استری) را مشاهده نموده‌اند [۲۷]. در مقایسه با نتایج List و همکاران [۲۸] و با در نظر گرفتن این امر که در فرمولاسیون به کار رفته در این پژوهش نسبت بخش جامد به مایع بیشتر بوده است، نقاط ذوب فراورده‌های استری شده پایین‌تر بوده‌اند که این مسأله احتمالا به دلیل تفاوت در مرحله کریستالیزه کردن محصول و همچنین بروز پدیده پلی‌مورفیسم می‌باشد. Lo و Handle (۱۹۸۳) نیز کاهش نقطه ذوب فراورده استری تهیه شده از مخلوط روغنها و چربیها را گزارش نموده‌اند. این پژوهشگران با استری کردن شیمیایی تصادفی مخلوطی از روغن سویا و پیه گاو به نسبت ۴۰:۶۰، نقطه ذوب را از ۴۲ °C در مخلوط اولیه به ۳۹/۸ °C در فراورده استری شده کاهش داده‌اند. این نقطه‌ذوب برای تهیه مارگارین و شورتنینگ مناسب می‌باشد [۲۶]. در پژوهش حاضر کاهش نقطه ذوب (۲۱-۱۹ °C) به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به تحقیق LoوHandle (۲/۲ °C) بیشتر بوده است. در توجیه این امر می‌توان اظهار داشت که در پژوهش حاضر به عنوان بخش جامد از سویای کاملا هیدروژنه شده استفاده شده است که حدود ۹۵ درصد اسیدهای چرب آن، از نوع اشباع می‌باشند و فرایند استری‌کردن با کاهش قابل ملاحظه تری‌گلیسریدهای S_3 با نقطه‌ذوب بالا و تشکیل گلیسریدهای S_2U و U_2S با نقطه ذوب پایین‌تر همراه است. در حالیکه پیه گاو حدود ۵۰ درصد اسیدهای چرب اشباع دارد و بالطبع مقدار گلیسریدهای S_3 آن نسبت به فلیک سویا بسیار کمتر می‌باشد.

همانطور که در جدول ۳ دیده می‌شود، آزمون آماری تفاوت معنی‌داری را بین عدد یدی فراورده استری شده در زمان

۳۰ دقیقه و مخلوط اولیه نشان نمی‌دهد که این امر مورد انتظار بود زیرا در واکنش استری‌شدن تنها جابجایی گروههای آسیل از یک استر به‌استر دیگر و نوآرایی اسیدهای چرب بر روی اسکلت گلیسرولی صورت می‌گیرد [۱۶ و ۱۸] و تغییر شیمیایی قابل ملاحظه‌ای در ماهیت اسیدهای چرب تشکیل دهنده چربی به وجود نمی‌آید. ثابت ماندن عدد یدی طی‌زمانهای مختلف نشانه‌ای از عدم اشباع شدن پیوندهای دوگانه می‌باشد. Lo و Handle (۱۹۸۳) نیز عدم تغییر عدد یدی هنگام استری‌کردن تصادفی را گزارش کرده‌اند [۲۶]. در واقع اعداد یدی بالا، نشانه وجود مقادیر بیشتر اسیدهای چرب غیراشباع نظیر اسید لینولنیک، اسید لینولئیک و اسید اولئیک می‌باشد. در مقایسه با عدد یدی روغن هیدروژنه تولیدی کارخانجات کشور (IV #۶۷) به کمک استری‌کردن می‌توان فراورده هایی تولید نمود که نقطه ذوب حدود روغن هیدروژنه متداول (°C ۴۰-۳۷) داشته باشند اما عدد یدی آنها بسیار بالاتر باشد (IV #۹۰) که این امر از نظر تغذیه‌ای حائز اهمیت بسیار است.

عدد اسیدی فراورده استری‌شده نسبت به مخلوط اولیه افزایش یافته است و این افزایش با پیشرفت زمان به طور معنی‌داری بیشتر شده است که به نظر می‌رسد به دلیل فعالیت خوب کاتالیزوری و همچنین وقوع هیدرولیز اسیدی تری‌گلیسریدها و تشکیل اسیدهای چرب آزاد به واسطه استفاده از آب و محلول اسید سیتریک ۰/۰۱ درصد در مرحله خنثی سازی کاتالیزور باشد. در این تحقیق، افزایش عدد اسیدی از ۰/۲ تا ۰/۸ مشاهده می‌شود. Petrauskaite و همکاران (۱۹۹۸) و Lo و Handle (۱۹۸۳) نیز به ترتیب افزایش ۰/۲ تا ۲/۰ درصد و ۰/۰۵ تا ۰/۱۱ درصد را گزارش کرده‌اند [۸ و ۲۶].

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود هرچند عدد پراکسید در فراورده ها نسبت به مخلوط اولیه کاهش پیدا کرده است اما تغییرات آن در زمانهای مختلف فرایند، روند مشخصی را نشان نمی‌دهد. کاربرد خلأ و شرایط هم‌زدن قبل و حین فرایند موجب خارج شدن پراکسید از محیط واکنش گردیده است. از آنجا که انتظار می‌رود بر روی این فراورده‌های استری واسط فرایندهای رنگبری و بی بو کردن نیز صورت پذیرد، بالا بودن نسبی عدد پراکسید و عدد اسیدی در این مرحله نگران کننده نمی‌باشد.

صابون اصلی‌ترین محصول جانبی در فرایند استری‌کردن می‌باشد [۲۹]. میزان صابون در فراورده استری‌شده ppm ۸۰/۲ بوده است که تقریبا ۳/۵ برابر میزان آن در مخلوط اولیه می‌باشد (جدول ۳). بدیهی است استفاده از مراحل شستشو وسپراتورهای موجود در خط تصفیه روغنها و همچنین اعمال مرحله رنگبری بعد از فرایند استری‌کردن نیز می‌تواند میزان صابون را به نحو چشمگیری کاهش دهد و به حدود صفر برساند.

وجود رطوبت و مواد فرار در مخلوط اولیه موجب کاهش فعالیت کاتالیزوری و در فراورده استری شده موجب کدر شدن محصول و هیدرولیز تری‌گلیسریدها می‌گردد، از این رو کاهش میزان آن به حداقل ممکن ضروری می‌باشد. در این پژوهش با کاربرد شرایط خشک کردن با خلأ میزان رطوبت و مواد فرار در فراورده به حد ابتدایی آن رسانده شده است.

میزان چربی جامد (SFC) تعیین کننده احساس دهانی مناسب در فرمولاسیونهای غذایی مختلف، خواص هواگیری مطلوب هنگام تولید کیک و دسرها (icing) و سفتی پوشش روی فراورده‌های قنادی می‌باشد [۱۴]. همانطور که در جدول ۴ و شکل ۱ مشاهده می‌شود، استری‌کردن موجب کاهش میزان چربی جامد شده است و منحنی SFC چربی استری شده کاملا نسبت به مخلوط اولیه تغییر نموده و در سطح پایین‌تری قرار گرفته است. Lo و Handle [۲۶]، Petrauskaite و همکاران [۸]، List و همکاران [۲۸ و ۳۰] نیز همین روند کاهش را گزارش کرده‌اند. به نظر می‌رسد اصلی‌ترین علت کاهش SFC، تغییر در ساختار تری‌گلیسریدها و کاهش نسبت‌تری‌گلیسریدهای دارای نقطه ذوب بالاتر (S_3 و S_2U) در نتیجه واکنش استری‌کردن باشد. با توجه به مقدار چربی جامد فراورده تهیه شده در دماهای مختلف (جدول ۴) به نظر می‌رسد جهت حصول خواص رئولوژیکی مشابه روغنهای هیدروژنه معمول، استفاده از مقادیر بیشتر چربی جامد (فلیک) در مخلوطهای اولیه ضروری باشد. وجود اعداد SFC معادل ۱۵-۷ درصد در °C ۱۰ (دمای شاخص یخچال) و کمتر از ۳ درصد در دمای C ۳۳/۳ امکان تهیه مارگارینهای با قوام پلاستیکی مناسب در دمای یخچال و احساس دهانی مطلوب را میسر می‌سازند [۱۸، ۳۱ و ۳۲] که این مشخصات با ویژگیهای SFC فراورده‌های استری شده حاضر مطابقت دارد.

از نظر ترکیب اسیدهای چرب، همانطور که در جدول ۵ مشاهده می‌گردد، فرایند استری‌کردن تصادفی ترکیب شیمیایی اسیدهای چرب موجود را تغییر نداده است. وجود ۰/۲ درصد ایزومر اسیدهای چرب ترانس در فراورده استری شده مربوط به استفاده از فلیک سویا می‌باشد که حاوی حدود ۲ درصد ایزومر ترانس (اسیدالائیدیک) است. هرچند سعی شده در تهیه فلیک

سویا هیدروژنه‌کردن به صورت کامل انجام شود اما بخش کوچکی از اسیدهای چرب غیراشباع همچنان در فلیک تولید شده باقی مانده‌اند. به هر حال این‌مقدار ایزومر ترانس به طور طبیعی در بسیاری از مواد غذایی نظیر لبنیات و پیه گاو وجود دارد.

فراورده استری شده در این پژوهش حاوی مقادیر قابل ملاحظه‌ای اسید چرب غیراشباع و به ویژه اسیدهای چرب چند غیراشباعی ضروری می‌باشد. به طوریکه نسبت PUFA: SAFA حدود ۱/۲ برآورد می‌شود. سازمانهای FAO وWHO برای این نسبت مقدار حداقل یک را توصیه می‌کنند. از این نظر فراورده استری شده محصولی مناسب است در حالیکه در روغنهای نباتی هیدروژنه شده تولیدی کشور نسبت فوق الذکر یک پنجم تا یک ششم مقدار توصیه شده جهانی می‌باشد[۳۳]. به طور کلی می‌توان گفت فراورده‌های استری شده از ترکیب اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع مطلوبی برخوردار هستند. نتایج حاصل در این پژوهش، با تحقیقات Lo و Handle، Gavriilidou وBoskou ، List و همکاران و Petrauskaite و همکاران انطباق بسیار نزدیکی دارد [۸، ۲۶، ۲۸، ۳۴].

بررسی آرایش اسیدهای چرب در مولکولهای تری گلیسرید (جدول ۵) نشان داد در مخلوط اولیه روغنها و چربیها که دارای منشأ نباتی می‌باشند، بخش عمده اسیدهای چرب غیراشباع در موقعیت ۲ قرار دارند و بالطبع اسیدهای چرب اشباع پالمیتیک و استئاریک موقعیتهای ۱و ۳ مولکول تری‌گلیسرید را اشغال می‌کنند. به عنوان مثال در مخلوط اولیه ۹/۴ درصد از اسید پالمیتیک و ۳۰/۱ درصد از اسید استئاریک در موقعیت ۲ بوده‌اند. وجود حدود ۳۰ درصد اسید استئاریک در موقعیت ۲ مخلوط اولیه به دلیل استفاده از فلیک سویا می‌باشد که بخش عمده آن تری‌استئارین است. پس از تبادل تصادفی گروههای آسیل طی فرایند استری کردن نسبت اسیدهای پالمیتیک و استئاریک موجود در موقعیت ۲ به ترتیب از ۹/۴ درصد به ۳۳/۲ درصد و از ۳۰/۱ درصد به ۳۲/۳ درصد افزایش یافته است. این تغییر برای اسیدهای چرب‌غیراشباع اولئیک، لینولئیک و لینولنیک موجود در موقعیت ۲ به ترتیب از ۲۲/۹، ۳۴/۶ و ۲۳/۸ درصد در مخلوط اولیه به ۳۳/۴، ۳۳/۸ و ۳۳/۶ درصد در فراورده نهایی بوده است. در مجموع نسبت اسیدهای چرب در موقعیت ۲ مولکول تری‌گلیسریدها با مقدار مورد انتظار در تئوری توزیع تصادفی (1,2,3- Random Distribution) انطباق نزدیکی دارد و تحت شرایط به کار رفته در فرایند استری کردن، تقریباً نسبت تصادفی ۳۳/۳ درصد به دست آمده است.

نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج این تحقیق استفاده از فرایند استری‌کردن برای تولید مارگارین وشورتنینگ در مقیاس پایلوت با تجهیزات موجود در خطوط تولید کارخانجات روغن کشور از نظر فن‌آوری کاملا امکان‌پذیر است. انتظار می‌رود باتوجه به گرایش جهانی برای مصرف روغنهای مایع یا نیمه جامد با درجه غیراشباع بالا و محدود کردن دریافت ایزومرهای ترانس و همچنین انعطاف‌پذیری فرایند استری کردن در تولید محصولات مختلف با ارزش افزوده بالا، این فرایند در آینده، یکی از مطرح‌ترین روشهای فراوری روغنها و چربیها باشد.

تشکر و قدردانی

از انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور برای در اختیار گذاشتن بودجه و امکانات لازم برای اجرای این پژوهش، از کارخانه روغن نباتی پارس برای در اختیار گذاشتن کنورتور و برخی امکانات آزمایشگاهی، از بخش صنایع غذایی (آزمایشگاه روغن) مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران برای همکاری در آنالیز اسیدهای چرب، و از آقایان دکتر مهرداد قوامی و مهندس محمد تقی مظلومی برای همراهی و ارائه راهنماییهای سودمند، سپاسگزاریم.

مراجع

[1] W.M.N.Rantnayake and G.Pelletier. Positional and Geometrical Isomers of Linoleic Acid in Partially Hydrogenated Oils, JAOCS. Vol.69, No.2, 95-105 (1992).

[2] A. Lichtenstein. Trans Fatty Acids and Hydrogenated Fat- What We Know, Nutr. Today. Vol.30, No.3, 102-107 (1995).

[3] M. Naglic, et al. Kinetics of Catalytic Transfer Hydrogenation of Some Vegetable Oils, JAOCS. Vol.75, No. 5, 629-633 (1998).

[4] Y. Miyake and K. Yokomizo, Determination of cis and trans-18: 1 FattyAcid Isomers in Hydrogenated Vegetable Oils by High–Resolution Carbon Nuclear Magnetic Resonance, JAOCS, Vol. 75, No.7, 801-805 (1998).
[5] A. Aro, et al. Analysis of C18:1 cis and trans Fatty Acid Isomers by the Combination of Gas-liquid Chromagraphy of 4,4-Dimethyloxazoline Derivatives and Methyl Esters, JAOCS, Vol.75, No. 8, 977-985 (1998).
[6] G. J. Nelson, Dietary Fat, Trans Fatty Acids, and Risk of Coronary Heart Disease, Nutr.Rev., Vol. 56, No.8, 250-252 (1998).
[7] P.M. Clifton, Margarine and Heart Disease, Nutr., Vol. 10, No. 6, 568 (1994).
[8] V. Petrauskaite, et al., Physical and Chemical Properties of Trans-Free Fats Produced by Chemical Interestrification of Vegetable Oil Blends, JAOCS, Vol.75, No.4, 489-493 (1998).
[9] R. Tsanev, et al., Content of Trans-Fatty Acids in Edible Margarines, JAOCS, Vol.75, No. 2, 143-145 (1998).
[10] J.T. Judd, et al., Dietary Trans-Fatty Acids: Effects on Plasma Lipids and Lipoproteins of Healthy Men and Women, Am.J.Clin. Nutr., Vol.59, 861-863 (1994).
[11] P.L. Zock, et al., Dietary Trans Fatty Acids and Lipoprotein Cholesterol, Am. J. Clin. Nutr.,Vol.61, 617. (1995).
[12] R.R. Mensink and M.B. Katan, Effect of Dietary Trans Fatty Acids of High Density and Low Density Lipoprotein Cholesterol Level in Healthy Subjects, N. Engl.J. Med., Vol.323, 439-445 (1990).
[13] B. Koletzko and T. Decsi, Metabolic Aspects of Trans Fatty Acids, Clin.Nutr., Vol.16, 229-237 (1997).
[14] S. Ramamurthi and R. McCurdy, Lipase Catalyzed Esterification of Oleic Acid and Methanol in Hexane-A Kinetic Study, JAOCS, Vol.71, No.9, 927-930 (1994).
[15] H. H. Husted, Interesterification of Edible Oils, JAOCS, Vol.53, 390-392 (1976).
[16] W. W. Nawar, in: O.R.Fennema (Ed)., Principles of Food Science, 3rd edition, Marcel Dekker, New York, PP.225-319 (1996).
[17] S. Ramamurthi and R. McCurdy, Development and Processing of Vegetable Oils for Human Nutrition. R. Przybylski and B.E. McDonald (Ed), AOCS Press, IL., PP. 62-86 (1995).
[18] D. Anderson, in: Y.H.Hui (Ed), Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Vol.4. 5th ed. John Wiley and Sons Inc., 40-45 (1996).
[۱۹] مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، نمونه برداری و روشهای آزمون روغنها و چربی ، استاندارد شماره ۴۹۳، ۱۳۶۴.
[20] P. Cunniff, (Ed.), Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th Edition, 3 rd Revision, AOAC International, Maryland,Vol. II. (1997).
[21] D. Firestone,(Ed.), Official Methods and Recommended Practices of the AOCS ,4th Edition, American Oil Chemists Society, Champaign, IL, (1989).
[22] F.D. Gunstone, *et al.*(Ed),. "The Lipid Handbook." 2nd edition. Chapman & Hall. London. 594-596, 281-282, (1994).
[23] W.W. Christie, in: Hamilton, R.J; Rossell,J.B.(Ed)., Analysis of Oils and Fats, Elserier Applied Science. London. 313-341, (1987).
[24] A. E. Thomas, et al., Quantitative Estimation of Isomeric Monoglycerides by Thin-Layer Chromatography, JAOCS, Vol.42, No.10,789-792, (1965).
[25] W. W. Christie, et al., Stereospecific Analysis of Triacyl-Sn –glycerols via Resolution of Diastereomeric Diacylglycerol Derivatives by High Performance Liquid Chromatography on Silica, JAOCS, Vol.68, No. 10, 695-701 (1991).
[26] Y.C. Lo and A.P. Handle, Physical and Chemical Properties of Randomly Interesterification Blends of Soybean Oil and Tallow for Use as Margarine Oils, JAOCS, Vol.60, No.4, 815-818 (1983).
[27] G.R. List, et al., Margarine and Shortening Oils by Interestrification of Liquid and Trisaturated Triglycerides, JAOCS, Vol.72, No. 3, 379-382 (1995).
[28] G.R. List, et al., Preparation and Properties of Zero Trans Soybean Oil Margarines, JAOCS, Vol.72, No. 3, 383-384 (1995).
[29] L. Liu, and D. Lampert., Monitoring Chemical Interesterification, JAOCS, Vol.76, No. 7, 783-787 (1999).
[30] G.R. List, et al., Zero Trans Margarines Preparation, Structure and Properties of Interestrified Soybean Oil Trisaturate Blends, JAOCS, Vol.54, No.10, 408-411 (1977).
[31] D. K. Yayashi, et al., Margarine Oils having both Low Trans Unsaturate and Low Intermediate Chain Saturate Content, U.K.Patent No. 2, 239, 256 (1991).
[32] T.K. Mag, Margarine Oils, Blends in Canada, INFORM, Vol.5, No. 12, 1350-1353 (1994).
[۳۳] پروین زندی و هنگامه یوسف زاده، راهنمای روغنهای خوراکی .مؤسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران، کرج .صفحات ۳۸-۱، (۱۳۷۷).
[34] V. Gavriilidou and D. Boskou, Chemical Interestrification of Olive Oil-Tristearin Blends for Margarines, Int. J. of Food Sci. and Tech. Vol.26, 451-456 (1991).