



تغییرات در ویژگی‌های کیفی روغن استخراج شده با پرس سرد از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با محلول اتانولی در طی نگهداری

روشنک حق‌گوی^۱، صدیف آزادمرد دمیچی^{۲*}، محمدعلی تربتی^۳، مریم خاکباز حشمتی^۴

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

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

۳- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز، تبریز، ایران

۴- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۳

کلمات کلیدی:

سیاه‌دانه،

پیش تیمار شده با اتانول،

پرس سرد،

روغن

گزارش‌های علمی فراوانی در مورد اثرات سلامت بخشی همچون ضد سرطانی، ضد دیابتی، ضد میکروبی، ضد التهابی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی برای روغن سیاه‌دانه منتشر شده است. هر چند، یکی از مشکلات اساسی در استخراج روغن از سیاه‌دانه، بازده پایین و همچنین کیفیت پایین روغن استخراجی است. روش‌های مختلفی همچون تیمار با مایکروویو، برشته‌کردن و رطوبت‌دهی برای بهبود شرایط استخراج و کیفیت روغن سیاه‌دانه قبل پرس سرد انجام شده است. در این مطالعه، سیاه‌دانه با اتانول (۷۰ درصد) در درصدهای صفر (نمونه کنترل)، ۱، ۳ و ۶ درصد پیش تیمار و سپس روغن با پرس سرد استخراج شد. ویژگی‌های کیفی روغن‌های استخراجی (عدد اسیدی، عدد پروکسید، مقدار کلروفیل، مقدار کاروتنوئید و مقدار ترکیبات فنلی) در روز تولید و هر ۳۰ روز در طی ۹۰ روز نگهداری بررسی شد. همچنین پایداری اکسیداتیو روغن سیاه‌دانه با آزمون شال اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش درصد اتانول در پیش تیمار سیاه‌دانه، عدد اسیدی و عدد پروکسید به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) کاهش و پایداری اکسیداتیو، مقدار کلروفیل، مقدار کاروتنوئید و مقدار ترکیبات فنلی روغن استخراجی به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش یافت. در طی نگهداری، عدد اسیدی و عدد پروکسید نمونه‌های روغن افزایش و مقدار کلروفیل و مقدار کاروتنوئید به دلیل تجزیه مقادیر آن‌ها کاهش یافت. در پایان نگهداری، روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با بالاترین درصد اتانول، کمترین مقدار عدد اسیدی ($4.61 \text{ mg NaOH/g oil}$) و عدد پروکسید ($7.03 \text{ meq O}_2/\text{Kg oil}$) و بیشترین مقدار کلروفیل (21.21 mg/Kg oil)، مقدار کاروتنوئید (3.86 mg/Kg oil) و ترکیبات فنلی ($296.30 \text{ caffeic acid/Kg of oil}$) و پایداری اکسیداتیو را در بین تمام نمونه‌های روغن داشت. در کل نتایج نشان داد که می‌توان برای بهبود ویژگی‌های کیفی و پایداری روغن از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با اتانول قبل پرس سرد استفاده کرد.

DOI: 10.22034/FSCT.20.138.162

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.138.13.5

* مسئول مکاتبات:

sodeifazadmard@yahoo.com

۱- مقدمه

سیاه‌دانه گیاهی یک ساله با نام علمی (*Nigella sativa* L.) از خانواده آلاله^۱ است. این گیاه بومی جنوب غربی آسیا، شمال آفریقا و جنوب اروپا است. همچنین در بسیاری از کشورهای حاشیه مدیترانه و خاورمیانه از جمله ایران، هند، پاکستان، عربستان سعودی، ترکیه و سوریه کشت می‌شود [۱].

روغن سیاه‌دانه منبع بسیار خوبی از فیتواسترول‌ها، توکوفرول‌ها، پلی‌فنل‌ها، اسیدهای چرب ضروری، اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه و فسفولیپیدها است. خواص درمانی و تغذیه‌ای روغن سیاه‌دانه به دلیل وجود ترکیبات زیست فعال مانند لیپیدهای قطبی، فسفولیپیدها و برخی اسیدهای چرب ضروری مانند اسید لینولنیک (امگا ۳) و اسید لینولئیک (امگا ۶)، استرول‌ها و دیگر ترکیبات است [۲]. روغن سیاه‌دانه به طور گسترده برای درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله آسم، برونشیت، روماتیسم، فلج، یرقان، سوءهاضمه و اختلالات عصبی استفاده می‌شود. هم چنین دارای خواص سودمند از جمله کاهنده فشارخون، اثرات ضد میکروبی، ضد التهابی، ضد دیابتی، ضد تومور، ضد درد، ادرارآور، ضد سرطان، آنتی‌اکسیدانی و اثر تحریک کننده بر سیستم ایمنی بدن است. علاوه بر این، اعتقاد بر این است که سیاه‌دانه دارای خواص شبه آنتی‌هیستامینی است که برای درمان احتقان مناسب است [۳].

درصد روغن استخراجی از سیاه‌دانه‌ها براساس نوع روش استخراج (روش پرس یا استخراج با حلال) از ۲۸ تا ۳۹ درصد متغیر است [۱ و ۴]. همچنین روش استخراج روغن بر کیفیت و ویژگی‌های تغذیه‌ای آن مؤثر است. استخراج روغن با پرس سرد در مقایسه با استخراج روغن با حلال به دلیل عدم استفاده از مواد شیمیایی و عدم تصفیه ارزش غذایی و خواص طبیعی بهتری دارد و انجام آن به دلیل

مراحل کمتر در مقایسه با استخراج روغن با حلال ساده‌تر است [۱، ۷-۵].

با وجود خواص درمانی و تغذیه‌ای فراوان روغن سیاه‌دانه، این روغن دارای پایداری کمی بوده و عدد اسیدی و عدد پروکسید بالایی دارد که استفاده از آن را محدود ساخته است [۱، ۴ و ۶]. به همین خاطر با توجه به پایداری کم و مشکلات در تجارت روغن استخراجی از سیاه‌دانه استاندارد بین‌المللی نیز تدوین نشده است. برای غلبه بر این مشکلات، راهکارهای مختلفی به منظور کاهش عدد اسیدی و عدد پروکسید این روغن پیشنهاد شده است. پرس همزمان مخلوطی از دانه‌های سیاه‌دانه با سایر دانه‌های روغنی یکی از این راهکارها است [۷ و ۸]. از دیگر راهکارها، استفاده از پیش تیمارهای مختلفی از جمله اولتراسوند، میکروویو و برشته کردن و رطوبت دهی جهت بهبود شرایط استخراج و ترکیبات زیست فعال از سیاه‌دانه بوده است [۴، ۹-۱۲]. با توجه به عدد اسیدی و عدد پروکسید بالا و پایداری اکسیداتیو پایین روغن سیاه‌دانه، هدف از پژوهش حاضر، بررسی امکان استفاده از اتانول به منظور پیش تیمار سیاه‌دانه قبل از پرس سرد و بررسی ویژگی‌های کیفی روغن استخراجی از آن در طی نگهداری بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

دانه سیاه‌دانه از بازار (تبریز، آذربایجان شرقی) خریداری شد. تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش از شرکت سیگما با درجه خلوص آزمایشگاهی تهیه گردیدند.

۲-۲- واجد شرایط کردن نمونه‌ها

سیاه‌دانه پس از الک و تمیز کردن از ناخالصی‌های احتمالی، در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد [۱۳].

۲-۶- مقدار کلروفیل

مقدار کلروفیل نمونه روغن با دستگاه اسپکتروفتومتر (Unique, UK) در سه طول موج ۶۳۰، ۶۷۰ و ۷۱۰ نانومتر اندازه‌گیری و با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{Chlorophyll (mg/kg)} = 345.5 \times (A_{670} - 0.5 \times A_{630} - 0.5 \times A_{710}) / L$$

A: جذب در طول موج‌های مذکور (نانومتر) و L: ضخامت سل اسپکتروفتومتر (میلی‌متر) است [۱۶].

۲-۷- مقدار کاروتنوئید

۷/۵ گرم نمونه روغن در یک بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتری توزین و با سیکلوهگزان به حجم رسانده و جذب در ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Unique, UK) اندازه‌گیری شد. مقدار کاروتنوئید (میلی‌گرم/کیلوگرم روغن) با فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{Carotenoid (mg/kg)} = (A_{470} \times 10^6) / 2000 \times 100 \times d$$

۲۰۰۰ = ضریب خاموشی (E_0) برای لوتئین (ترکیب عمده از گروه کاروتنوئید) و d نیز ضخامت سل (۱ سانتی‌متر) است [۱۷].

۲-۸- مقدار ترکیبات فنلی

مقدار ترکیبات فنلی نمونه روغن به روش رنگ سنجی فولین-سیوکالتیو طبق روش کپنسی و همکاران [۱۸] انجام شد.

۲-۹- آزمون شال

برای تعیین پایداری اکسیداتیو با استفاده از آزمون شال، نمونه روغن در بطری شیشه‌ای در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد تا ۱۰ روز نگهداری و هر ۲۴ ساعت عدد پروکسید آن اندازه‌گیری شد [۱۹].

۲-۱۰- آنالیز آماری

نمونه‌های سیاه‌دانه با اسپری کردن درصدهای صفر (نمونه کنترل)، ۱، ۳ و ۶ درصد اتانول (۷۰ درصد) پیش تیمار شدند. دانه‌های تیمار شده در کیسه‌های پلی اتیلن در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شدند.

۲-۳- استخراج روغن

از سیاه‌دانه توسط پرس حلزونی (مدل ۸۵ mm Kern Kraft، آلمان) در دمای زیر ۴۰ درجه سانتی‌گراد روغن کشی انجام شد [۱۴]. نمونه‌های روغن استخراجی با صافی واتمن شماره ۲ صاف شدند و با توجه به جذب محلول اتانول به کیک و کنجاله دانه در فرآیند پرس، امکان شناسایی و اندازه‌گیری اتانول در روغن استخراجی میسر نشد. سپس نمونه‌های روغن در شیشه‌های تیره به آزمایشگاه منتقل و به مدت ۹۰ روز در تاریکی نگهداری شدند. آزمون‌های کیفی عدد اسیدی، عدد پروکسید، مقدار کلروفیل، مقدار کاروتنوئید و مقدار ترکیبات فنلی در روزهای ۱، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ و آزمون پایداری اکسیداتیو طی ۱۰ روز روی روغن استخراجی انجام شد.

۲-۴- عدد اسیدی

برای اندازه‌گیری مقدار عدد اسیدی، ۳-۴ قطره معرف فنل فتالین به روغن توزین و حل شده در ۱۰۰ میلی‌لیتر مخلوط اتانول و کلروفرم (۱:۱) اضافه و با محلول هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال تیترا شد [۱۵].

۲-۵- عدد پروکسید

برای اندازه‌گیری عدد پروکسید، ۰/۵ میلی‌لیتر یدید پتاسیم اشباع به ۵ گرم روغن حل شده در ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط استیک اسید و کلروفرم (۲:۳) اضافه و به مدت ۱ دقیقه در تاریکی نگهداری شد و پس از افزودن ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال تیترا شد [۱۵].

اتانول در پیش تیمار سیاه‌دانه قبل از استخراج روغن به روش پرس سرد، مقدار عدد اسیدی نمونه‌های روغن به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) کاهش یافت. کاهش مقدار عدد اسیدی روغن را می‌توان به غیرفعال شدن لیپاز به دلیل تخریب ساختار سلولی نسبت داد. در نتایج تحقیقات حاصل از روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با حرارت نیز کاهش عدد اسیدی روغن آن گزارش شده است که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد [۹ و ۱۰].

همچنین نتایج نشان داد که در طی نگهداری مقادیر عدد اسیدی نمونه‌های روغن به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش یافت و این افزایش در نمونه‌های روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با اتانول نسبت به نمونه کنترل (4.95 ± 0.02 mg NaOH/g oil) کمتر بود (جدول ۱). کمترین مقدار عدد اسیدی پس از ۹۰ روز نگهداری (mg 3.87 ± 0.01 NaOH/g oil) مربوط به نمونه روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با بالاترین درصد اتانول بود. افزایش عدد اسیدی با گذشت زمان را می‌توان ناشی از افزایش تشکیل اسیدهای چرب آزاد از هیدرولیز تری‌آسیل-گلیسرول‌های موجود در روغن سیاه‌دانه دانست [۱۲]. نتایج مطالعات قبلی نیز نشانگر افزایش مقدار عدد اسیدی در طی ۹۰ روز نگهداری بود [۷، ۸ و ۲۱].

در این پژوهش، از طرح آماری کاملاً تصادفی ساده استفاده گردید. تمامی آزمون‌ها در سه تکرار انجام و میانگین محاسبه شد. اطلاعات حاصل با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) تحلیل و به منظور تعیین اختلاف بین میانگین نمونه‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ ($p < 0.05$) مورد استفاده قرار گرفت. نرم‌افزار SPSS 22 برای این منظور استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- عدد اسیدی

یکی از عوامل مهم در بررسی کیفیت روغن‌های خوراکی عدد اسیدی است. مقدار عدد اسیدی بالا نشانگر هیدرولیز تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها و تولید اسیدهای چرب آزاد است. اسید چرب آزاد زیاد در روغن می‌تواند باعث کاهش نقطه دود و کاهش پایداری روغن در برابر اکسیداسیون شود. فعالیت آنزیم لیپاز، نگهداری روغن در شرایط نامناسب و حرارت دهی روغن در حضور رطوبت از عوامل تأثیرگذار بر افزایش مقدار عدد اسیدی روغن هستند [۲۰]. بررسی نتایج تغییرات مقادیر عدد اسیدی در روز تولید نمونه‌های روغن سیاه‌دانه نشان داد که مقادیر عدد اسیدی نمونه‌های روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با اتانول در مقایسه با نمونه روغن کنترل کمتر بود و با افزایش درصد

Table 1 Effect of ethanolic pre-treatment of seeds on acid value (mg NaOH/g oil) of the black cumin seed oil

Sample*	Storage time (Day)			
	1	30	60	90
Control	4.95 ± 0.02^{dA}	5.61 ± 0.02^{dB}	6.47 ± 0.00^{dC}	7.09 ± 0.01^{dD}
1% Ethanol	3.87 ± 0.01^{cA}	4.40 ± 0.01^{cB}	5.01 ± 0.04^{cC}	5.23 ± 0.02^{cD}
3% Ethanol	3.85 ± 0.02^{bA}	4.24 ± 0.02^{bB}	4.72 ± 0.03^{bC}	4.93 ± 0.02^{bD}
6% Ethanol	3.8 ± 0.00^{aA}	4.02 ± 0.01^{aB}	4.41 ± 0.01^{aC}	4.61 ± 0.01^{aD}

*Oil extracted from seeds without pretreatment (control sample) and from seeds pretreated with different levels (%) of ethanol

Different small and capital letters shows significantly differences ($p < 0.05$) in columns and rows, respectively.

۳-۲- عدد پروکسید

عدد پروکسید معیاری از مقاومت روغن در برابر اکسیداسیون است. روغن با پایداری بالا در برابر اکسیداسیون، عدد پروکسید پایین و همچنین در طی نگهداری و یا حرارت دهی افزایش کمتری را خواهد داشت [۲۲ و ۲۳]. علیرغم خواص درمانی و تغذیه‌ای فراوان روغن سیاه‌دانه، این روغن پایداری کمی داشته و عدد پروکسید بالایی دارد. عدد پروکسید این روغن نسبت به سایر روغن استخراجی از دانه‌های روغنی تفاوت چشمگیری دارد. معمولاً این روغن از همان لحظه استخراج عدد پروکسید بالاتری نسبت به سایر روغن‌های گیاهی دارد. بنابراین، مستلزم استفاده از روش‌های مختلف به منظور کنترل افزایش عدد پروکسید از همان لحظه استخراج است. هرچند، این روغن دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مختلفی است که مهم‌ترین آن ترکیبی به نام تیموکینون است که دارای خواص درمانی مختلفی هم است [۲۰، ۲۱، ۲۴ و ۲۵].

نتایج عدد پروکسید نمونه‌های روغن در روز اول استحصال نشان داد که بیشترین مقدار عدد پروکسید مربوط به نمونه روغن کنترل بود، در حالیکه با افزایش درصد اتانول در پیش تیمار سیاه‌دانه قبل از پرس سرد مقادیر عدد پروکسید نمونه‌های روغن به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) کاهش یافت (جدول ۲). بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که اتانول با تخریب ساختار سلولی سیاه‌دانه باعث افزایش انتقال ترکیبات زیست فعال و مواد آنتی‌اکسیدانی از دانه به روغن

می‌شود. نتایج مطالعات نشان داده است که پیش تیمار سیاه‌دانه با حرارت قبل از استخراج روغن با پرس سرد به دلیل افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی روغن سیاه‌دانه در جلوگیری از اکسیداسیون و کاهش پروکسید روغن استخراجی مؤثر بوده است [۴، ۹ و ۱۰].

مقادیر عدد پروکسید نمونه‌های روغن استخراجی از سیاه‌دانه در طی نگهداری به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش یافت که این افزایش در نمونه کنترل ($\text{meq O}_2/\text{Kg oil}$ ۹/۸۴-۵/۱۰) نسبت به سایر نمونه‌ها بیشتر بود، در حالیکه این افزایش مقادیر عدد پروکسید در نمونه‌های روغن در طی نگهداری، با افزایش درصد اتانول در پیش تیمار سیاه‌دانه قبل از پرس سرد با شیب کمتری رخ داد به طوری که پس از ۹۰ روز نگهداری نمونه‌های روغن، کمترین مقدار عدد پروکسید مربوط به نمونه روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با بالاترین درصد اتانول ($\text{meq O}_2/\text{Kg oil}$ ۷/۰۳) بود. همچنین نتایج نشان داد که پیش تیمار سیاه‌دانه با اتانول قبل از استخراج روغن با پرس سرد می‌تواند در پایداری اکسیداسیونی و ماندگاری این روغن مؤثر باشد که با نتایج حاصل از آزمون شال نیز همخوانی دارد. روند افزایشی مقدار عدد پروکسید می‌تواند ناشی از جذب بیشتر اکسیژن توسط اسیدهای چرب غیر اشباع و اکسیداسیون باشد [۲۶ و ۲۷]. نتایجی همسو با این پژوهش در رابطه با افزایش مقدار عدد پروکسید با افزایش مدت زمان نگهداری روغن سیاه‌دانه گزارش شده است [۷، ۸ و ۲۱].

Table 2 Effect of ethanolic pre-treatment of seeds on peroxide value ($\text{meq O}_2/\text{Kg oil}$) of the black cumin seed oil

Sample*	Storage time (Day)			
	1	30	60	90
Control	5.10±0.03 ^{dA}	7.37±0.01 ^{dB}	8.96±0.03 ^{dC}	9.84±0.01 ^{DD}
1% Ethanol	4.02±0.02 ^{cA}	5.98±0.03 ^{cB}	7.37±0.02 ^{cC}	8.16±0.04 ^{CD}
3% Ethanol	3.86±0.04 ^{bA}	5.78±0.02 ^{bB}	7.06±0.01 ^{bC}	7.74±0.01 ^{BD}

6% Ethanol	3.50±0.01 ^{aA}	5.37±0.02 ^{aB}	6.49±0.01 ^{aC}	7.03±0.02 ^{aD}
*Oil extracted from seeds without pretreatment (control sample) and from seeds pretreated with different levels (%) of ethanol				
Different small and capital letters shows significantly differences ($p < 0.05$) in columns and rows, respectively.				

۳-۳- مقدار کلروفیل

مقدار کلروفیل روغن سیاه‌دانه با تخریب ساختار سلولی همراه بوده است [۴ و ۹]. همچنین نتایج نشان داد که مقدار کلروفیل تمامی نمونه‌های روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با اتانول با گذشت زمان به طور معنی‌داری کاهش ($p < 0.05$) یافت (جدول ۳). بیشترین مقدار کلروفیل در روز ۹۰ مربوط به نمونه روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با بالاترین درصد اتانول (mg/Kg oil ۲۱/۲۱) بود. علت کاهش مقدار کلروفیل در طی نگهداری را می‌توان به تجزیه و تخریب آن در طی نگهداری نسبت داد. نتایج مشابهی از کاهش مقدار کلروفیل روغن سیاه‌دانه در طی نگهداری گزارش شده است [۷ و ۸].

کلروفیل موجود در روغن‌های خوراکی در نور موجب اکسیداسیون نوری و کاهش پایداری روغن به اکسیداسیون می‌شود [۲۸]. نتایج مقدار کلروفیل در روز تولید نشان داد که با افزایش درصد اتانول در پیش تیمار سیاه‌دانه قبل از استخراج روغن با پرس سرد مقدار کلروفیل نمونه‌های روغن به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش یافت که این افزایش می‌تواند ناشی از تخریب ساختار سلولی سیاه‌دانه باشد. کلروفیل به دلیل نگهداری روغن در شرایط تاریک و همچنین افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با اتانول، اثر چندانی در اکسیداسیون نداشت. نتایج مطالعات قبلی نیز نشانگر افزایش

Table 3 Effect of ethanolic pre-treatment of seeds on chlorophyll content (mg/Kg oil) of the black cumin seed oil

Sample*	Storage time (Day)			
	1	30	60	90
Control	14.29±0.01 ^{aD}	14.06±0.02 ^{aC}	13.75±0.01 ^{aB}	13.31±0.01 ^{aA}
1% Ethanol	18.47±0.00 ^{bD}	18.15±0.01 ^{bC}	17.71±0.01 ^{bB}	17.08±0.02 ^{bA}
3% Ethanol	20.31±0.02 ^{cD}	19.98±0.01 ^{cC}	19.32±0.01 ^{cB}	19.10±0.01 ^{cA}
6% Ethanol	22.19±0.01 ^{dD}	22.54±0.02 ^{dC}	21.44±0.01 ^{dB}	21.21±0.00 ^{dA}

*Oil extracted from seeds without pretreatment (control sample) and from seeds pretreated with different levels (%) of ethanol

Different small and capital letters shows significantly differences ($p < 0.05$) in columns and rows, respectively.

نشده (۳/۳۰ mg/Kg oil) به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش یافت که احتمالاً به دلیل تخریب ساختار سلولی سیاه‌دانه توسط اتانول و امکان انتقال بیشتر رنگدانه کاروتنوئید از دانه به روغن استخراجی است. نتایج تحقیقات نشان داده است که افزایش مقدار کاروتنوئید نمونه‌های روغن سیاه‌دانه ناشی از تخریب ساختار سلولی بود که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد [۴ و ۹].

۳-۴- مقدار کاروتنوئید

کاروتنوئیدها بر رنگ روغن و همچنین بر پایداری روغن در برابر اکسیداسیون و ویژگی‌های تغذیه‌ای روغن‌های گیاهی تأثیر می‌گذارند [۲۹]. نتایج حاصل از مقدار کاروتنوئید روز تولید نمونه‌های روغن نشان داد که افزایش درصد اتانول در پیش تیمار سیاه‌دانه مقدار کاروتنوئید نمونه‌های روغن نسبت به نمونه روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار

بالاترین درصد اتانول ($3/86 \text{ mg/Kg oil}$) و نمونه روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار نشده (mg/Kg oil) $3/06$ بود. نتایجی همسو با پژوهش حاضر در مورد کاهش مقدار کاروتنوئید در طی ۹۰ روز نگهداری روغن سیاه‌دانه در دمای اتاق گزارش شده است [۷ و ۸].

مقدار کاروتنوئید نمونه‌های روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با اتانول در طول ۹۰ روز نگهداری به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) کاهش یافت که می‌تواند به دلیل اکسید و تجزیه شدن این ترکیب باشد (جدول ۴). بیشترین و کمترین مقدار کاروتنوئید در روز ۹۰ به ترتیب مربوط به نمونه روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با

Table 4 Effect of ethanolic pre-treatment of seeds on carotenoid content (mg/Kg oil) of the black cumin seed oil

Sample*	Storage time (Day)			
	1	30	60	90
Control	3.30 ± 0.01^{aD}	3.16 ± 0.01^{aC}	3.13 ± 0.01^{aB}	3.06 ± 0.00^{aA}
1% Ethanol	4.08 ± 0.01^{bD}	3.75 ± 0.01^{bC}	3.68 ± 0.00^{bB}	3.60 ± 0.01^{bA}
3% Ethanol	4.27 ± 0.01^{cD}	3.87 ± 0.02^{cC}	3.77 ± 0.01^{cB}	3.69 ± 0.00^{cA}
6% Ethanol	4.62 ± 0.01^{dD}	4.09 ± 0.01^{dC}	3.93 ± 0.01^{dB}	3.86 ± 0.01^{dA}

*Oil extracted from seeds without pretreatment (control sample) and from seeds pretreated with different levels (%) of ethanol

Different small and capital letters shows significantly differences ($p < 0.05$) in columns and rows, respectively.

متصل به آن‌ها باشد که باعث تسهیل در استخراج آن‌ها از سیاه‌دانه به روغن آن می‌شود. نتایج مطالعات قبلی نشان دادند که پیش تیمار حرارتی سیاه‌دانه قبل از پرس سرد موجب افزایش ترکیبات فنلی روغن استخراجی شد که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد [۴ و ۹]. همچنین با توجه به نتایج حاصل (جدول ۵) ترکیبات فنلی نمونه‌های روغن طی مدت زمان نگهداری افزایش معنی‌داری ($p < 0.05$) داشت که می‌تواند ناشی از تجزیه ترکیبات فنلی کمپلکس و تولید ترکیبات فنلی ساده باشد که قادر به واکنش با فولین و نشان دادن جذب بیشتر در اسپکتروفتومتری است. بیشترین مقدار ترکیبات فنلی در روز ۹۰ ($\text{mg caffeic acid/Kg of oil}$) $496/30$ مربوط به نمونه روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با بالاترین درصد اتانول بود. نتایج مشابهی در مورد افزایش مقدار ترکیبات فنلی با افزایش مدت زمان نگهداری روغن سیاه‌دانه گزارش شده است [۷].

۳-۵- مقدار ترکیبات فنلی

ترکیبات فنلی فاکتوری مهم در ارزیابی کیفیت روغن شناخته می‌شود؛ زیرا خواص تغذیه‌ای، ارگانولپتیکی و آنتی-اکسیدانی را در روغن نشان می‌دهد [۳۰ و ۳۱]. به دلیل شناخته شدن روغن سیاه‌دانه به عنوان منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند ترکیبات فنلی و توکوفرول‌ها از آن برای بهبود پایداری اکسیداتیو سایر روغن‌های گیاهی استفاده شده است [۳۲].

بررسی نتایج تغییرات مقدار ترکیبات فنلی در روز تولید نمونه‌های روغن سیاه‌دانه نشان داد که با افزایش درصد اتانول در پیش تیمار سیاه‌دانه، اجزای فنلی آن‌ها به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش یافتند. نمونه‌های روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با اتانول مقادیر ترکیبات فنلی بالایی نسبت به نمونه روغن کنترل ($\text{mg caffeic acid/Kg of oil}$) $156/01$ داشتند که می‌تواند به دلیل قطبیت ترکیبات فنلی و دناتوراسیون پروتئین‌های

Table 5 Effect of ethanolic pre-treatment of seeds on total phenolic content ($\text{mg caffeic acid/Kg of oil}$) of the black cumin seed oil

Sample*	Storage time (Day)
---------	--------------------

	1	30	60	90
Control	156.01±0.01 ^{aA}	170.72±0.01 ^{aB}	184.23±0.01 ^{aC}	200.07±0.01 ^{aD}
1% Ethanol	400.02±0.01 ^{bA}	416.03±0.01 ^{bB}	432.96±0.01 ^{bC}	450.16±0.01 ^{bD}
3% Ethanol	406.33±0.01 ^{cA}	424.54±0.01 ^{cB}	441.63±0.01 ^{cC}	469.54±0.01 ^{cD}
6% Ethanol	413.93±0.01 ^{dA}	434.24±0.01 ^{dB}	454.83±0.01 ^{dC}	496.30±0.02 ^{dD}

*Oil extracted from seeds without pretreatment (control sample) and from seeds pretreated with different levels (%) of ethanol

Different small and capital letters shows significantly differences ($p < 0.05$) in columns and rows, respectively.

۳-۶- آزمون شال

پایداری اکسایشی بیانگر مقاومت روغن‌ها و چربی‌های خوراکی به تندی اکسایشی و افت کیفی ناشی از آن است. مقاومت به تندی اکسایشی، شاخص عملکرد و عمر نگهداری فرآورده لیپیدی است. آزمون شال، پایداری اکسیداسیون روغن در طول ذخیره سازی را نشان می‌دهد و می‌تواند پیش بینی خوبی از ثبات روغن در طول عملیات حرارتی روغن‌ها ارائه دهد. پایداری اکسیداتیو روغن‌های گیاهی تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند ترکیب اسیدهای چرب، آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات جزئی قرار می‌گیرد [۷].

مقادیر عدد پروکسید نمونه‌های استخراجی از سیاه‌دانه به طور معنی‌داری روند افزایشی داشتند به طوری که پس از ۱۰ روز حرارت دهی در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد مقدار عدد پروکسید نمونه‌های روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با اتانول ثبات بالاتری نسبت به نمونه کنترل داشتند و با افزایش درصد اتانول در پیش تیمار سیاه‌دانه پایداری اکسیداسیون روغن استخراجی افزایش یافت (شکل

۱) که ممکن است به دلیل افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و غیر فعال شدن آنزیم‌های اکسیداتیو مانند لیپاز، پراکسیداز و لیپواکسیژناز باشد [۴ و ۳۲]. بالا بودن مقدار عدد پروکسید در روز اول نسبت به روز دوم می‌تواند به دلیل ماهیت ناپایدار برخی ترکیبات طبیعی موجود در روغن سیاه‌دانه باشد که خود را به جای پروکسید نشان دادند. نتایج نشان داد که مقادیر عدد پروکسید نمونه روغن استخراجی از سیاه‌دانه پیش تیمار شده با ۶ درصد اتانول ($\text{meq O}_2/\text{Kg}$ oil ۳/۶۷-۶/۶۹) در طی ۱۰ روز حرارت دهی کمترین و همچنین پایدارترین نمونه روغن در بین تمام نمونه‌ها بود، در حالیکه نمونه روغن کنترل ($\text{meq O}_2/\text{Kg oil}$ ۱۰/۷۸-۵/۴۶) به طور قابل توجهی کمترین ثبات را در بین تمام نمونه‌ها داشت. در پژوهشی نیز افزایش مقادیر عدد پروکسید روغن سیاه‌دانه در طی ۱۰ روز حرارت دهی در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد (آزمون شال) گزارش شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد [۷].

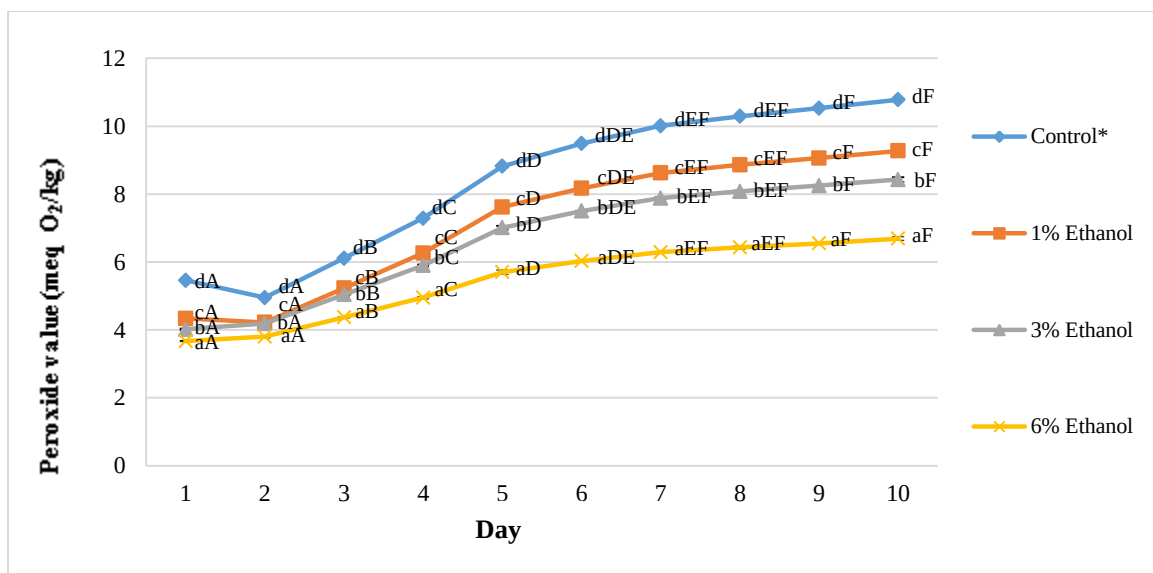


Figure 1 Effect of ethanolic pre-treatment of seeds on the peroxide value (meq O₂/Kg oil) of the black seed oil during Schaal test (10 days at 65 °C).

*Oil extracted from seeds without pretreatment (control sample) and from seeds pretreated with different levels (%) of ethanol

Different small and capital letters shows significantly differences ($p < 0.05$) in columns and rows, respectively.

of the volatile and fixed oils of *Nigella sativa* L. extracted by supercritical carbon dioxide. Industrial Crops and Products, 46, 317-323.

[3] Salem, M. L., & Hossain, M. S. (2000). Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* L. against murine cytomegalovirus infection. International journal of immunopharmacology, 22(9), 729-740.

[4] Mazaheri, Y., Torbati, M., Azadmard-Damirchi, S., & Savage, G. P. (2019). Effect of roasting and microwave pre-treatment of *Nigella sativa* L. seeds on lipase activity and the quality of the oil. Food Chemistry, 274, 480-486.

[5] Azadmard-Damirchi, S., & Dutta, P. C. (2007). Free and esterified 4, 4'-dimethylsterols in hazelnut oil and their retention during refining processes. Journal of the American Oil Chemists' Society, 84(3), 297-304.

[6] Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S. A., Najmi, A. K., Siddique, N. A., Damanhour, Z. A., & Anwar, F. (2013). A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 3(5), 337-352.

[7] Mazaheri, Y., Torbati, M., Azadmard-Damirchi, S., & Savage G. P. (2019). Oil extraction from blends of sunflower and black cumin seeds by cold press and evaluation of its physicochemical properties. Journal of Food Processing and Preservation, 43(10), e14154.

[8] Afkhami Sarai, E., Azadmard-Damirchi, S., & Gharekhani, M. (2021). Oil extraction from black cumin seeds incorporated with rosemary leaf by cold

۴- نتیجه گیری

علیرغم کاربردهای فراوان روغن سیاه دانه در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی و بهداشتی، این روغن پایداری مناسبی نداشته و بلافاصله پس از استخراج، عدد اسیدی و عدد پروکسید بالایی دارد. در این مطالعه، امکان استفاده از اتانول برای پیش تیمار سیاه دانه قبل از استخراج روغن با روش پرس سرد به منظور کنترل عدد اسیدی و عدد پروکسید افزایش پایداری روغن استخراجی میسر شد. البته نیاز هست مطالعات بیشتری در مورد مقدار ترکیبات زیست فعال و آنتی اکسیدانی استخراجی از سیاه دانه به روغن آن و ماندگاری این ترکیبات در طی نگهداری انجام شود.

۵- منابع

[1] Mazaheri, Y., Torbati, M., Azadmard-Damirchi, S., & Savage, G. P. (2019). A comprehensive review of the physicochemical, quality and nutritional properties of *Nigella sativa* L. oil. Food Reviews International, 35(4), 342-362.

[2] Piras, A., Rosa, A., Marongiu, B., Porcedda, S., Falconieri, D., Dessi, M., Ozcelik, B., & Koca, U. (2013). Chemical composition and in vitro bioactivity

during storage. Journal of Food science and technology, 116(18), 195-203.

[22] Kamal-Eldin, A., Mäkinen, K., & Lampi, A. M. (2003). The challenging contribution of hydroperoxides to the lipid oxidation pathways mechanism. Lipid oxidation pathways, 1-36.

[23] Dehghan-Manshadi, A., Peighambaroust, S. H., Azadmard-Damirchi, S., & Niakousari, M. (2020). Effect of infrared-assisted spouted bed drying of flaxseed on the quality characteristics of its oil extracted by different methods. Journal of the Science of Food and Agriculture, 100(1), 74-80.

[24] Forouzanfar, F., Bazzaz, B. S. F., & Hosseinzadeh, H. (2014). Black cumin (*Nigella sativa*) and its constituent (thymoquinone): A review on antimicrobial effects. Iranian Journal of basic medical sciences, 17(12): 929-938.

[25] Afkhami Saray, E., Azadmard-Damirchi, S., & Gharekhani, M. (2022). Combination Therapy Against Breast Cancer Cells by Docetaxel With Rosmarinic and Thymoquinone: An Experimental Study. Crescent Journal of Medical and Biological Sciences, 9(1), 63-69.

[26] Monowar, T., Rahman, M., Bhore, S. J., Raju, G., & Sathasivam, K. V. (2019). Secondary metabolites profiling of *Acinetobacter baumannii* associated with chili (*Capsicum annuum* L.) leaves and concentration dependent antioxidant and prooxidant properties. BioMed research international, 6951927.

[27] Drinić, Z., Mudrić, J., Zdunić, G., Bigović, D., Menković, N., & Šavikin, K. (2020). Effect of pomegranate peel extract on the oxidative stability of pomegranate seed oil. Food Chemistry, 333, 127501.

[28] Pokopny, J., Kalinova, L., & Dyssele, P. (1995). Determination of chlorophyll pigments in crude vegetable oils: Results of collaborative study and the standardized method (Technical Report). Pure and Applied Chemistry, 67(10), 1781-1787.

[29] Przybylski, R., & Eskin, N. M. (2006). Minor components and the stability of vegetable oils-Roman Przybylski and NA Michael Eskin share why the stability of oil cannot be predicted and how the. Inform-International News on Fats Oils and Related Materials, 17(3), 186-189.

[30] Taghvaei, M., Jafari, S. M., Assadpoor, E., Nowrouzieh, S., & Alishah, O. (2014). Optimization of microwave-assisted extraction of cottonseed oil and evaluation of its oxidative stability and physicochemical properties. Food Chemistry, 160, 90-97.

[31] Azadmard-Damirchi, S., Emami, S. H., Hesari, J., Peighambaroust, S. H., & Nemati, M. (2011). Nuts composition and their health benefits. World Academy of Science, Engineering and Technology, 5(9), 544-548.

screw press and evaluation of some of its qualitative properties. Journal of food science and technology (Iran), 113(18), 225-232. (In Persian)

[9] Suri, K., Singh, B., & Kaur, A. (2022). Impact of microwave roasting on physicochemical properties, millard reaction products, antioxidant activity and oxidative stability of *Nigella* seed (*Nigella sativa* L.) oil. Food Chemistry, 368, 130777.

[10] Suri, K., Singh, B., Kaur, A., & Singh, N. (2019). Impact of roasting and extraction methods on chemical properties, oxidative stability and Millard reaction products of peanut oils. Journal of Food Science and Technology, 56(5), 2436-2445.

[11] Al Juhaimi, F., Uslu, N., & Özcan, M. M. (2018). The effect of preultrasonic process on oil content and fatty acid composition of hazelnut, peanut and black seeds. Journal of Food Processing and Preservation, 42(1), e 13335.

[12] Bakhshabadi, H., Mirzaei, H., Ghadvali, A., Jafari, S. M., Zaiaifar, A. M., & Farzaneh, V. (2017). The effect of microwave pretreatment on some physicochemical properties and bioactivity of black cumin seeds' oil. Industrial Crops and Products, 97, 1-9.

[13] AOAC. (1990). Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemst. AOAC International, Arlington (USA). N° 934.06.

[14] Willems, P., Kuipers, N. J. M., & De Haan, A. B. (2008). Hydraulic pressing of oilseeds: Experimental determination and modeling of yield and pressing rates. Journal of Food Engineering, 89, 8-16.

[15] AOCS. (2017). Official methods and recommended practices of the American oil Chemist'society (7th ed.). Champaign: AOCS Press.

[16] Daun, J. K. (2012). Spectrophotometric analysis of chlorophyll pigments in canola and rapeseed oils. Lipid Technology, 24(6), 134-136.

[17] Azadmard-Damirchi, S. (2012). Food chemistry and analysis. Tabriz. Amidi Press. 476. (In Persian).

[18] Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M., & Parenti, A. (2000). Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. Food Chemistry. 71(4), 553-562.

[19] American Oil Chemist' Society. (2000). Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. Urb ana, IL: Author.

[20] Kiralan, M. (2014). Changes in Volatile Compounds of black Cumin (*Nigella sativa* L.) seed oil during thermal oxidation. International Journal of Food Properties. 17(7), 1482-1489.

[21] Soltani, R., Azadmard-Damirchi, S., Gharakhani, M., & Torbati, M. A. (2021). Effect of Oregano, Thyme and Rosemary essential oils in comparison with tert-butyl hydroquinone on the quality characteristic of *Nigella sativa* L. seed oil

levels in blends from sunflower and black cumin oils as affected by storage at room temperature. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 93(4), 229-236.

[32] Kiralan, M., Ulas, M., Özaydin. A., Özdemir, N., Özkan, G., Bayrak, A., & Ramadan, M. (2016). Changes in hexanal, thymoquinone and tocopherols



Scientific Research

Changes in qualitative properties of cold press extracted oil from *Nigella sativa* L. seed pre-treated with ethanol solution during storage

Haghgouy, R.¹, Azadmard-Damirchi, S.^{2*}, Torbati, M. A.³, Khakbaz Heshmati, M.⁴

- 1- M.Sc. Graduated Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
- 2- Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
- 3- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Nutrition and Food Science, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran
- 4- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

ABSTRACT

Many scientific reports have been published about the health effects of black cumin seed (*Nigella sativa*) oil such as anti-cancer, anti-diabetic, anti-microbial, anti-inflammatory and antioxidant properties. However, one of the main problems in extracting oil from black cumin seed (BS) is the low yield and also the low quality of the extracted oil. Various methods such as microwave treatment, roasting and soaking have been performed to improve the extraction conditions and quality of BS oil before cold pressing. In this study, BS was pre-treated with ethanol (70%) at 0 (control sample), 1, 3 and 6% and then oil extracted by cold press. Extracted oil qualitative characteristics (acid value, peroxide value, chlorophyll content, carotenoid content and total phenolic content) were assessed in production day and every 30 days during 90 days of storage. Also, oxidative stability of BS oil was measured by Schaal test. The results demonstrated that by increasing the level of ethanol in the pre-treatment of BS, acid value and peroxide value significantly ($p < 0.05$) decreased and oxidative stability, chlorophylls, carotenoids and phenolic contents of extracted oil significantly ($p < 0.05$) increased. Acid value and peroxide value increased and chlorophyll and carotenoid contents due to decomposition of their contents decreased during storage. Oil extracted from BS pre-treated with highest level of ethanol had the lowest acid value (4.61 mg NaOH/g oil) and peroxide value (7.03 meq O₂/Kg oil) and the highest chlorophyll (21.21 mg/Kg oil), carotenoid (3.86 mg/Kg oil) and total phenolic (496.3 mg caffeic acid/Kg of oil) contents at the end of the storage. In conclusion, the results showed that pretreatment of BS by ethanol before cold pressing can be used to improve qualitative properties and stabilize the extracted oil.

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2023/4/19

Accepted: 2023/5/24

Keywords:

Nigella sativa L.,

Pre-treated with ethanol,

Cold press,

Oil

DOI: 10.22034/FSCT.20.138.162

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.138.13.5

*Corresponding Author E-Mail:
sodeifazadmard@yahoo.com