بررسی خواص فیزیکوشیمیایی روغن حاصل از بذر توتون کشت‌شده در ایران

حمیدرضا جلیلیان*، داود بیک‌نژاد

گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گرگان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۰۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۱۰)

چکیده

زمینه و هدف: در سال‌های اخیر گونه‌های گیاهی غیرمعمول و کمتر استفاده شده، به عنوان منابع جدید روغن مورد توجه قرار گرفته‌اند. بسیاری از آنها حاوی مقادیر قابل توجهی روغن با نسبت بالایی از اسیدهای چرب حایز اهمیت به لحاظ غذایی، پزشکی یا صنعتی هستند.

مواد و روش‌ها: روغن بذر توتون کشت شده در شمال ایران در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفت. مقدار روغن، خاکستر و رطوبت بذر به همراه ترکیب اسیدهای چرب، عدد اسیدی، عدد یدی، عدد پراکسید، عدد صابونی، عدد پاراآنیزیدین، چگالی، گرانروی، ضریب شکست، پایداری اکسایشی، پروفایل‌های گرماسنجی پویشی تفاضلی و تجزیه وزن‌سنجی گرمایی، طیف‌های UV-Vis، FT-IR و فلوئورسانس، میزان ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی اکسیدانی روغن استخراج شده مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان دادند که بذر توتون حاوی مقدار زیادی روغن می‌باشد (حدود ۴۰٪). مهمترین اسیدهای چرب موجود در روغن بذر توتون عبارت بودند از: لینولئیک اسید (۷۱٫۳۵ درصد)، اولئیک اسید (۱۴٫۵۷درصد) و پالمیتیک اسید (۸٫۶۷ درصد). روغن بذر توتون با دارا بودن جذب در نواحی UV-B وUV-C، می‌تواند به عنوان محافظ تابش ماوراءبنفش مورد استفاده قرارگیرد. نتایج آزمون‌های وزن‌سنجی حرارتی و کالریمتری روبشی تفاضلی حاکی از پایداری روغن می‌باشد. مقدار ترکیبات فنولی بیشتر از روغن‌های سویا، کتان و ذرت می‌باشد. همچنین براساس مقدار بدست آمده برای IC_{50}، می‌توان روغن بذر توتون را در دسته‌ی روغن‌های با خصلت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه قرار داد.

نتیجه‌گیری: روغن بذر توتون می‌تواند به عنوان منبع جدیدی از ترکیبات چرب سودمند، در زمینه‌های مختلف مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژگان

استخراج، بذر توتون، خواص فیزیکوشیمیایی، روغن بذر توتون، ضایعات کشاورزی.

* نویسنده مسئول، رایانامه: hr_jalilian@yahoo.com

مقدمه

گیاه توتون (Nicotiana tabacum) گیاهی پایا به ارتفاع ۹۰ الی ۱۸۰ سانتی‌متر است. این گیاه دارای برگ‌های بیضی‌شکل بزرگ و گل‌های صورتی رنگ بوده و کپسول‌های سبزرنگ آن حاوی تعداد زیادی بذر بسیار ریز می‌باشند. گیاه توتون در بیش از ۱۲۰ کشور جهان کشت می‌شود و برگ توتون که محصول تجاری گیاه می‌باشد، در تولید سیگار مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲و۱). بذر توتون از جمله محصولات جانبی تولید برگ توتون می‌باشد. در ایران تنها مقدار کمی از بذر توتون جهت کشت در سال زراعی آینده جمع‌آوری می‌شود، درحالی که بیشتر آن بحال خود رها می‌شود. ارزش تغذیه‌ای روغن بذر توتون بهتر از روغن‌های بادام زمینی و پنبه دانه بوده و با روغن روغن بذر گلرنگ قابل مقایسه می‌باشد (۴و۳). بعد از استخراج روغن، از کنجاله‌ی بذر توتون می‌توان به عنوان ماده‌ی غذایی سرشار از نیتروژن در خوراک حیوانات استفاده گردد (۶و۵). ضمن اینکه کاربرد روغن حاصل از بذر توتون در تولید سوخت‌های زیستی نیز در موارد متعددی گزارش شده است (۸و۷).

در سال‌های اخیر استخراج روغن به روش پرس سرد با اقبال عمومی روبرو شده است. از جمله‌ی مزیت‌های این روش می‌توان به سادگی، سازگاری با محیط زیست، عدم آلودگی شیمیایی، عدم نیاز به صرف انرژی زیاد، تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از محصولات غذایی ایمن و طبیعی، باقی ماندن ترکیبات فنولی بذر در روغن، عدم نیاز به افزودن آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی اشاره کرد. هرچند مهمترین عیب این روش راندمان کمتر آن در مقایسه با روش‌های استخراج با حلال می‌باشد (۱۱-۹).

بررسی روش‌های استخراج و همچنین خواص روغن حاصل از بذر توتون مورد توجه محققین در کشورهای مختلف بوده است (۱۳و۱۲). نتایج بررسی‌ها حاکی از افزایش بازده استخراج روغن با آسیاب کردن بذر قبل از استخراج، افزایش دمای استخراج و افزایش نسبت بذر به حلال است. همچنین اخیراً جهت تسهیل استخراج روغن بذر توتون از امواج مافوق صوت نیز کمک گرفته شده است (۱۴). زلاتانوف و همکاران مقدار و نوع لیپیدهای موجود در هفت گونه توتون کشت شده در بلغارستان را بررسی کردند. نتایج استخراج با هگزان نشان داد که سه اسید چرب پالمیتیک، اولئیک و لینولئیک ترکیبات غالب در پروفایل اسیدهای چرب بودند (۱۵). موارد متعددی از استخراج روغن انواع بذرها و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی آنها در ایران گزارش شده‌اند (۲۰-۱۶). بررسی نگارندگان نشان داد سابقه‌ای در زمینه‌ی مطالعه‌ی خواص فیزیکوشیمیایی روغن بذر توتون کشت شده در ایران در منابع علمی یافت نشده است.

مواد و روش‌ها

استخراج روغن

بذر توتون با استفاده از آسیاب برقی با دور بالا به مدت یک دقیقه آسیاب گردید و روغن موجود در۳۰ گرم از آن به کمک ۳۰۰ میلی‌لیتر حلال در سیستم سوکسله طی مدت ۹۰ دقیقه (معادل شش چرخه‌ی استخراج) جدا گردید. حلال حاوی روغن استخراج شده با استفاده از دستگاه تبخیرکننده‌ی گردان، تا حصول وزن ثابت تبخیر گردید. استخراج روغن به روش پرس سرد با استفاده از دستگاه مدل KK10 ساخت شرکت کرن-کرافت آلمان انجام گرفت.

خواص فیزیکی روغن بذر توتون

چگالی روغن استخراج شده طبق روش پیشنهادی AOCS با استفاده از پیکنومتر اندازه‌گیری شد (۲۱). میزان ضریب شکست با استفاده از دستگاه رفراکتومتر آبه مدل 2WAJ (PCE Group-انگلستان) انجام شد. گرانروی نمونه‌ی روغن بذر توتون با استفاده از دستگاه

ویسکومتر چرخشی بروکفیلد مدل RVDV-II+Pro و اسپیندل شماره S00 در سرعت چرخش ۶۰rpm انجام گرفت. میزان رطوبت با حرارت دادن نمونه‌ی بذر در دمای۱۱۰°C تعیین گردید.

خواص شیمیایی روغن بذر توتون

پروفایل اسیدهای چرب

ترکیب اسیدهای چرب روغن حاصل از بذر توتون به روش کروماتوگرافی گازی انجام گردید. کروماتوگراف گازی Agilent مدل 7890B با ستون ۶۰ متری از نوع BPX-70 (از کمپانی SGE Analytical Science) و انژکتور Split-splitless مجهز به آشکارساز FID مورد استفاده قرار گرفت. از نسبت تقسیم ۱:۱۰۰ در تزریق نمونه استفاده گردید. قطر داخلی ستون ۰٫۲۲ میلی‌متر و ضخامت فیلم آن ۰٫۲۵ میکرومتر بود. مقدار نمونه‌ی تزریق شده ۰/۵ میکرولیتر بود و دمای انژکتور در۲۵۰°C تنظیم گردید. از نیتروژن با جریان ۲۵ ml/min به عنوان گاز حامل استفاده شد. دمای آشکارساز FID در ۲۷۰°C تنظیم شد. از گازهای هیدروژن با جریان ۳۰ ml/min و هوا با جریان ml/min ۴۰۰ در آشکارساز استفاده گردید. دمای گرمخانه ابتدا در دمای۵۰°C تنظیم گردید و سپس با سرعت ۱۰°C/min تا رسیدن به دمای ۱۷۰°C حرارت داده شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در این دما ثابت نگه داشته شد. سپس با سرعت°C/min ۳ تا رسیدن به دمای۲۴۰°C حرارت داده شد. سپس به مدت ۵ دقیقه در این دما ثابت نگه داشته شد. اسیدهای چرب با استفاده از استاندارد خارجی شناسایی و تعیین مقدار شدند.

میزان خاکستر

اندازه‌گیری میزان خاکستر با حرارت دادن ۵ گرم نمونه در دمای ۵۵۰°C انجام گرفت و برحسب درصد وزنی گزارش گردید.

اسیدیته

اندازه‌گیری میزان اسیدیته طبق روش Cd 3d-63 انجام گرفت (۲۲).

عدد یدی

میزان عدد یدی با استفاده از اطلاعات حاصل از پروفایل اسیدهای چرب طبق روش Mohibbe و همکاران محاسبه و برحسب میلی‌گرم I_2 به ازای یکصد گرم روغن گزارش گردید (۲۳):

$$IV=\sum\left(\frac{254\times D\times A_i}{MW_i}\right)$$ رابطه‌ی (۱)

که در آن IV عدد یدی و D، A_i و MW_i به ترتیب تعداد پیوندهای دوگانه، درصد اسید چرب و وزن مولکولی استر مربوطه می‌باشند.

عدد پراکسید

میزان عدد پراکسید طبق روش AOCS 96/33 انجام گرفت و برحسب meq/kg گزارش گردید(۲۲).

اندیس پاراآنیزیدین

اندازه‌گیری میزان اندیس پاراآنیزیدین طبق روش ISO 6885 انجام گرفت (۲۴).

عدد صابونی

میزان عدد صابونی با استفاده از اطلاعات حاصل از پروفایل اسیدهای چرب طبق روش Mohibbe و همکاران محاسبه و برحسب میلی‌گرم KOH به ازای یک گرم روغن گزارش گردید (۲۳):

$$SV=\sum\left(\frac{560\times A_i}{MW_i}\right)$$ رابطه‌ی (۲)

که در آن SV عدد صابونی و A_i و MW_i به ترتیب درصد اسید چرب و وزن مولکولی استر مربوطه می‌باشند.

اندازه‌گیری شاخص پایداری اکسایشی

جهت اندازه‌گیری شاخص پایداری اکسایشی دستگاه رنسیمت مدل ۷۴۳ مورد استفاده قرار گرفت. جریانی از هوای خشک و تمیز با سرعت ۹ لیتر بر ساعت به درون ظرف حاوی ۳ گرم نمونه‌ی روغن دمیده شد. هوای حامل اسیدهای آلی فرار ناشی از اکسایش نمونه به ظرف اندازه‌گیری هدایت الکتریکی حاوی ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر هدایت گردید. شاخص پایداری اکسایشی به طور خودکار در دمای ۱۱۰°C اندازه‌گیری شد (۲۵).

بررسی خواص حرارتی به روش‌های DSC و TGA

خواص حرارتی روغن بذر توتون با روش گرماسنجی پویشی تفاضلی (DSC) با حرارت دادن نمونه در دستگاه DSC مدل DSC1 ساخت کارخانه Mettler Toledo اندازه‌گیری شد. جریانی از گاز نیتروژن با خلوص ۹۹/۹۹۹٪ مورد استفاده قرار گرفت. در ابتدا نمونه به دمای ۷۰°C رسانده و با سرعت ۱۰°C/min تا ۶۵°C- سرد شد. سپس با سرعت ۱۰°C/min تا دمای ۷۰°C رسانده شد. برای آزمون اکسایش حرارتی، نمونه تا دمای۱۰°C سرد شد و عمل روبش با سرعت ۱۰°C تا ۳۵۰°C در حضور گاز اکسیژن با جریان ۱۰۰ ml/min انجام گرفت. بررسی خواص حرارتی روغن بذر توتون با روش تجزیه وزن‌سنجی گرمایی (TGA) با حرارت دادن نمونه در معرض هوا تا دمای۶۰۰°C با سرعت ۱۰°C/min در دستگاه TGA مدل TGA/SDTA851 ساخت کارخانه Mettler Toledo انجام گرفت.

طیف FT-IR

طیف FT-IR نمونه‌ی روغن با استفاده از اسپکتروفوتومتر Bruker مدل Tensor 27 با تفکیک $4cm^{-1}$ در محدوده‌ی $4000-450cm^{-1}$ بدست آمد.

طیف UV-Vis

طیف UV-Vis نمونه‌ی روغن بذر توتون با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومترCecil مدل CE5501 بدست آمد.

طیف فلوئورسانس

طیف فلوئورسانس نمونه‌ی روغن بذر توتون با استفاده از دستگاه اسپکتروفلوئوریمترCary-Eclipse کمپانیAgilent بدست آمد.

اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئید

۶۰۰ میلی‌گرم از روغن بذر توتون در ۲ میلی‌لیتر سیکلوهگزان حل شد. میزان کلروفیل و کاروتنوئید به روش رنگ‌سنجی مطابق روش گزارش شده توسط Minguez-Masquera و همکاران تعیین گردید (۲۶). بیشینه‌ی جذب در ۶۷۰ و ۴۷۰ نانومتر به ترتیب با مقدار کلروفیل و کاروتنوئید روغن مرتبط هستند. مقادیر ثابت‌های خاموشی ویژه‌ی استفاده شده عبارت بودند از ۶۱۳= E0 برای فئوفیتین به عنوان مؤلفه‌ی اصلی در بخش کلروفیلی و۲۰۰۰=E0 برای لوتئین به عنوان مؤلفه‌ی اصلی در بخش کاروتنوئیدی نمونه‌های روغن. بنابراین مقادیر رنگدانه‌ها با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند:

رابطه‌ی (۳)

$$\text{کلروفیل (mg/kg)} = (A_{670} \times 10^6)/(613 \times 100 \times d)$$

رابطه‌ی (۴)

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

که در آنها A نماینده‌ی میزان جذب و d نماینده‌ی ضخامت سل اسپکتروفوتومتر (۱ سانتی‌متر).

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی تام

در ابتدا نمونه‌ی روغن (۳ گرم) در هگزان (۱۵ میلی‌لیتر) حل و سه بار و هر بار با ۵ میلی‌لیتر متانول

با تکان دادن شدید به مدت دو دقیقه استخراج گردید. نمونه به مدت یک شب در کناری گذاشته شد. سپس عصاره متانولی با ۲۵ میلی‌لیتر هگزان شسته شد. یک میلی‌لیتر از عصاره به بالن حجم‌سنجی ۱۰ میلی‌لیتری حاوی ۰٫۵ میلی‌لیتر معرف فولین– سیوکالتو منتقل گردید. محلول فوق تکان داده و به مدت ۳ دقیقه به حالت سکون قرارداده شد. سپس یک میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۱۰ درصد افرزوده و بالن با آب به حجم رسانده شد. بعد از یک ساعت، میزان جذب نمونه در ۷۲۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومترCecil مدل CE5501 قرائت گردید. میزان ترکیبات فنولی تام براساس معادل میلی‌گرم گالیک اسید برگرم وزن روغن بیان گردید (۲۷).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن حاصل از بذر توتون بر اساس قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه‌گیری شد (۲۸). ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه با ۱٫۴ میلی‌لیتر اتانول مخلوط و به یک میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۰۴درصد از DPPH در اتانول اضافه گردید. مخلوط به شدت تکان داده شد و جذب نمونه در ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. از اسید آسکوربیک به عنوان آنتی‌اکسیدان مرجع استفاده گردید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید:

رابطه‌ی (۵)

$$\text{درصد بازداری} = \frac{A_{blank}-A_{sample}}{A_{blank}} * 100$$

A_{blank} و A_{sample} به ترتیب میزان جذب شاهد و نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر هستند. پس از ترسیم نمودار درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد IC_{50} محاسبه گردید.

اندازه‌گیری خواص سوختی

مقدارHHV روغن بذر توتون با قرار دادن مقادیر عدد یدی (IV) و عدد صابونی شدن (SV) در رابطه‌ی (۶) که به وسیله‌ی دمیرباش[1] معرفی شده است، بدست آمد (۲۹).

رابطه‌ی (۶)

$$HHV(MJ/kg)=49.43-(0.041\times SV)-(0.015\times IV)$$

مقدار عدد ستان[2] روغن با استفاده از رابطه‌ی معرفی شده به وسیله‌ی بوزه[3] محاسبه گردید (۳۰).

رابطه‌ی (۷)

$$CN\ (MJ/kg)= 46.3 + 5458/SV - 0.225 \times IV$$

داده‌های بدست آمده از آزمایش نمونه‌ها به صورت میانگین دو بار آزمایش ثبت شدند.

یافته‌ها

استخراج روغن

نتایج استخراج روغن به دو روش پرس سرد و استخراج با حلال به روش سوکسله در جدول ۱ آورده شده است. در روش پرس سرد ۲۸٫۵۳ درصد از روغن بذر توتون استخراج شد. در حالی‌که در روش سوکسله راندمان استخراج روغن با حلال هگزان و پترولیوم اتر به ترتیب ۳۹٫۸۶ و ۴۰٫۳۵ درصد بوده است.

شکل ۱- روغن بذر توتون حاصل از روش پرس سرد (الف)، بذر توتون قبل از استخراج (ب)، بذر توتون بعد از روغن گیری به روش سوکسله (ج)، تفاله حاصل از روغن گیری به روش پرس سرد (د).

1. Demirbas
2. Cetane Number
3. Bose

جدول ۱- مقایسه‌ی روش‌های مختلف استخراج روغن بذر توتون

روش استخراج	راندمان استخراج	توضیحات
پرس سرد	۲۸٫۵۳	-
سوکسله (حلال هگزان)	۳۹٫۸۶	نسبت حلال به نمونه : ۱:۱۰ ، زمان: ۴ ساعت، دما: ۶۸°C
سوکسله (حلال پترولیوم اتر)	۴۰٫۳۵	نسبت حلال به نمونه : ۱:۱۰، زمان: ۴ ساعت، دما: ۶۰°C-۴۰

خواص فیزیکی روغن بذر توتون

خواص فیزیکی بذر و روغن بذر توتون در جدول ۲ نمایش داده شده‌اند.

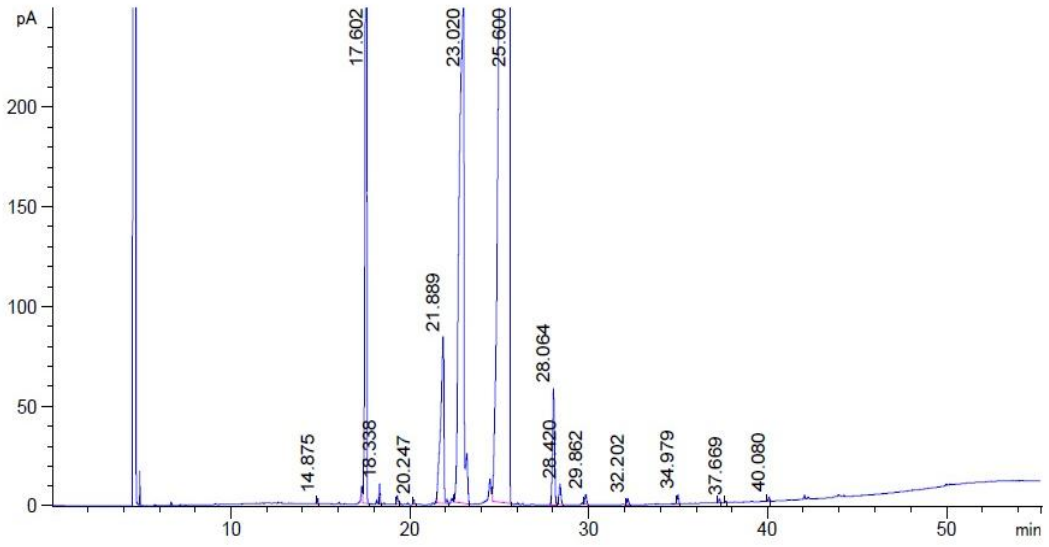
جدول ۲- خواص فیزیکی و شیمیایی بذر و روغن بذر توتون

کمیت اندازه گیری شده	بذر توتون	روغن بذر توتون
خاکستر (درصد وزنی)	۴٫۳۸	
رطوبت (درصد وزنی)	۶٫۵۲	
درصد روغن براساس وزن خشک (به روش سوکسله و حلال هگزان)	۳۹٫۸۶	
چگالی (g/cm^3 در ۲۰°C)		۰٫۹۲۰
گرانروی (mm^2/S)		۴۸٫۰(۲۴ °C) ۲۸٫۷(۳۸ °C)
ضریب شکست (در ۲۷°C)		۱٫۴۷۳۳
اسیدیته (mgKOH/g)		۳٫۴۴
اندیس پاراآنیزیدین		۲٫۹۷
عدد پراکسید (meq/kg)		۳٫۹۴
عدد TOTOX		۱۰٫۸۵
عدد صابونی (mgKOH/g)		۲۰۰٫۴۳
عدد یدی (g/100g)		۱۴۶٫۱۹
عدد القای رنسیمت (ساعت)		۳٫۳۱
مقدار کلروفیل(mg/kg)		۰٫۶۲
مقدار کاروتنوئید(mg/kg)		۰٫۵۷
ترکیبات فنولی µg/g برحسب گالیک اسید		۱۵٫۴۱
فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC_{50}, g/ml)		۰٫۴۳۸
(MJ/kg) HHV		۳۹٫۰۱
(MJ/kg) CN		۴۰٫۵

خواص شیمیایی روغن بذر توتون

پروفایل اسیدهای چرب

کروماتوگرام مربوط به پروفایل اسیدهای چرب در شکل ۲ نشان داده شده است. جدول ۳ میزان درصد هریک از اسیدهای چرب را نشان می‌دهد. حدود ۸۷٫۷۲ درصد از مقدار کل اسیدهای چرب از نوع غیراشباع بودند و ۱۲٫۲۸ درصد بقیه از نوع اشباع بودند. اسید چرب عمده‌ی روغن بذر توتون از نوع لینولئیک اسید (C18:2) بود (۷۱٫۳۵ درصد). همچنین باید اشاره کرد که اسید اولئیک (C16:0) نیز به مقدار قابل توجهی (۱۴٫۵۷ درصد) در روغن موجود است. در مقام سوم اسید پالمیتیک با ۸٫۶۷ درصد قرار دارد. در چنین مواردی باید به خاطر داشت که مقدار اسیدهای چرب به میزان رسیده بودن بذرها نیز وابسته است (۳۱). جدول۳ درصد اسیدهای چرب در پژوهش حاضر را با نتایج پژوهش‌های مشابه که بر روی استخراج روغن از بذر توتون انجام گرفته، مقایسه کرده است. در مقایسه با سایر پژوهش‌های مشابه، روغن حاصل از بذر توتون بررسی شده دارای مقدار اسیدهای چرب اشباع کمتر و اسیدهای چرب غیراشباع بیشتری است. همچنین روغن بذر توتون تهیه شده در این پژوهش حاوی ۱٫۳۸ درصد آلفالینولنیک اسید بود در حالیکه چنین ترکیبی در پژوهش‌های مشابه گزارش نشده است (جدول ۳). آلفالینولنیک اسید در بدن موجودات زنده از طریق واکنش‌های طویل شدن و غیراشباع شدن به اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیره‌ی بلندتر (PUFA)، ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) تبدیل می‌شود (۳۲).



شکل ۲- کروماتوگرام مربوط به پروفایل اسیدهای چرب

جدول ۳- مقایسه نوع و درصد اسیدهای چرب در پژوهش حاضر با پژوهش‌های مشابه

شماره	نام ترکیب	علامت اختصاری	پژوهش حاضر	مارتینز و همکاران (۳۳)	جیانلوس و همکاران (۳۴)	اوستا و همکاران (۳۵)	بایدر و تورگوت (۳۶)	مختار و همکاران (۳۷)
۱	اسید کاپریلیک	C8:0	۰٫۰۰		<۰٫۰۱			
۲	اسید کاپریک	C10:0	۰٫۰۰		<۰٫۰۱			
۳	اسید لاوریک	C12:0	۰٫۰۰		<۰٫۰۱			
۴	اسید میریستیک	C14:0	۰٫۰۲۲	۰٫۲۰	۰٫۰۹	۰٫۱۵	۰٫۲۱	۱٫۳۸
۵	اسید پالمیتیک	C16:0	۸٫۶۶۶	۸٫۹۰	۱۱٫۹۰	۹٫۰۵	۹٫۹۵	۹٫۴۵
۶	اسید پالمیتولئیک	C16:1	۰٫۱۱۱	۰٫۰۰	۰٫۲۰	۰٫۱۱	۰٫۰۰	۱٫۴۲
۷	اسید مارگاریک	C17:0	۰٫۰۷۳		۰٫۱۰			
۸	اسید مارگارولئیک	C17:1	۰٫۰۳۳		۰٫۰۵			
۹	اسید استئاریک	C18:0	۳٫۲۴۹	۳٫۵۰	۳٫۳۴	۳٫۵۶	۳٫۴۳	۲٫۵۸
۱۰	اسید اولئیک	C18:1n9cis	۱۴٫۵۶۹	۱۴٫۵۴	۱۴٫۳۳	۱۲٫۲۲	۱۲٫۶۲	۱۳٫۲۵
۱۱	اسید لینولئیک	C18:2n6cis	۷۱٫۳۴۸	۶۹٫۴۹	۶۹٫۰۲	۷۳٫۷۹	۶۹٫۴۶	۷۱٫۰۰
۱۲	اسید گاما لینولنیک	C18:3n6	۰٫۰۰	۰٫۶۹	۰٫۷۲	۰٫۷۸	۴٫۳۴	۰٫۹۳
۱۳	اسید آلفا لینولنیک	C18:3n3	۱٫۳۷۷					
۱۴	اسید آراشیدیک	C20:0	۰٫۲۳۴	۰٫۳۰	۰٫۲۲	۰٫۱۸	۰٫۰۰	۰٫۰۰
۱۵	اسید گادولئیک	C20:1n9	۰٫۱۰۳	۰٫۱۵	۰٫۱۲	۰٫۱۱	۰٫۰۰	۰٫۰۰
۱۶	اسید بهنیک	C22:0	۰٫۰۰	۰٫۲۵	۰٫۱۲	۰٫۰۶	۰٫۰۰	۰٫۰۰
۱۷	اسید دوکوزادینویک	C22:2	۰٫۰۸۱					
۱۸	اسید لیگنوسریک	C24:0	۰٫۰۳۲		۰٫۰۴			
۱۹	اسیدهای اشباع (٪)		۱۲٫۲۷۶	۱۳٫۱۵	۱۵٫۸۱	۱۳	۱۳٫۵۹	۱۳٫۴۱
۲۰	اسیدهای غیراشباع (٪)		۸۷٫۷۲۴	۸۴٫۷۲	۸۴٫۲۷	۸۶٫۹	۸۶٫۴۲	۸۶٫۶

میزان خاکستر

میزان خاکستر برای بذر توتون مقدار ۴٫۳۸ درصد می‌باشد. این مقدار کمتر از مقدار گزارش شده برای بذر کدو تنبل (۵٫۳ درصد) توسط گوهری اردبیلی و همکاران است (۲۲). میزان خاکستر در ارتباط نزیک با مقدار فلزات موجود در نمونه و در نتیجه عاملی تعیین کننده در ارزیابی ارزش تغذیه‌ای نمونه‌ی خوراکی می‌باشد.

اسیدیته

مواد چرب گیاهی دارای مقادیر جزئی اسید آزاد می‌باشند. در اثر عواملی مانند فاسدکننده‌ها و هیدرولیز، این مقدار ممکن است از حد مجاز تجاوز کند. بنابراین اندازه‌گیری اسیدیته‌ی وسیله‌ای است که نمایانگر فساد روغن است. مقدار اسیدیته برحسب اسید اولئیک برای روغن بذر توتون عدد mgKOH/g ۳٫۴۴ بدست آمد.

عدد یدی

عدد یدی معیاری از میزان غیراشباع بودن مواد چرب است. از آنجایی که عدد یدی در دمای خاص، مختص روغن مورد بررسی می‌باشد، بنابراین می‌تواند در بررسی تقلب و دستکاری در روغن به عنوان معیار مورد استفاده قرارگیرد. علاوه بر این، قدرت خشک شوندگی[1] روغن با عدد یدی آن ارتباط نزدیکی دارد. روغن‌هایی که عدد یدی بالایی دارند به عنوان روغن‌های خشک شونده معروف هستند و در صنعت رنگ به عنوان محیط پخش کننده جهت رنگدانه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳۸). مقدار عدد یدی برای روغن بذر توتون g/100g ۱۴۶٫۱۹ بدست آمد.

عدد پراکسید

مقدار عدد پراکسید روغن بذر توتون عدد meq/kg ۳٫۹۴ بدست آمد. این مقدار کمتر از مقدار گزارش شده برای روغن بذر توتون کشت شده در هندوستان (meq/kg ۴٫۸۶) می‌باشد (۳۹). بنابراین روغن بذر توتون را می‌توان بدون اینکه تغییر قابل ملاحظه‌ای در کیفیت آن اتفاق بیافتد، برای مدت طولانی نگهداری نمود.

اندیس پاراآنیزیدین

مقدار اندیس پاراآنیزیدین روغن بذر توتون عدد meq/kg ۲٫۹۷ بود. این مقدار کمتر از مقدار گزارش شده برای روغن بذر توتون کشت شده در هندوستان می‌باشد (۳۹). مقدار اندیس پاراآنیزیدین روغن بذر معیاری از وجود مقادیر قابل ملاحظه از محصولات اکسایش ثانویه می‌باشد. بنابراین روغن بذر توتون را می‌توان بدون تغییر قابل ملاحظه در کیفیت آن، به مدت طولانی نگهداری کرد.

عدد صابونی

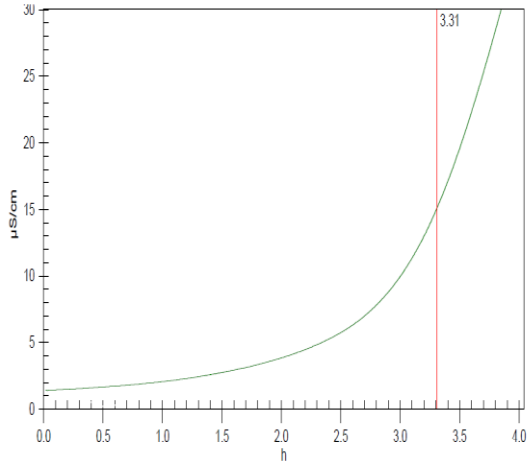
مقدار عدد صابونی برای روغن بذر توتون برابر mgKOH/g ۲۰۰٫۴۳ بدست آمد. مقدار نسبتاً بالای عدد صابونی نشانه‌ی مقدار زیاد تری‌آسیل‌گلیسرول‌های با وزن مولکولی پایین می‌باشد (۴۰). بعلاوه، عدد صابونی نشانه‌ای از وزن مولکولی میانگین روغن نیز می‌باشد، عدد صابونی بالا حاکی از نسبت بیشتر از اسیدهای چرب با وزن مولکولی کم در ترکیب روغن می‌باشد (۴۱).

اندازه‌گیری مقاومت حرارتی نمونه‌ی روغن به روش رنسیمت

روش رنسیمت محصولات ثانویه‌ی حاصل از اکسایش روغن را اندازه‌گیری می‌کند و برمبنای آن می‌توان پایداری اکسایشی روغن‌ها را پیش‌بینی کرد. جریانی از هوا از محل واکنش اکسایش به سل محتوی آب مقطر هدایت شده و هدایت الکتریکی آب اندازه‌گیری می‌شود. افزایش هدایت الکتریکی آب به

1. Drying power

عنوان شاخصی از پیشرفت اکسایش لحاظ می‌شود. مدت زمانی که از لحظه‌ی شروع تا نقطه‌ی صعود ناگهانی هدایت الکتریکی طول می‌کشد تحت عنوان زمان پایداری یا دوره القا نامیده[1] می‌شود (۴۲). خروجی دستگاه رنسیمت در اندازه‌گیری مقاومت حرارتی نمونه‌ی روغن بذر توتون در شکل ۳ نمایش داده شده است. مقدار عدد القای بدست آمده برابر ۳٫۳۱ ساعت بود.



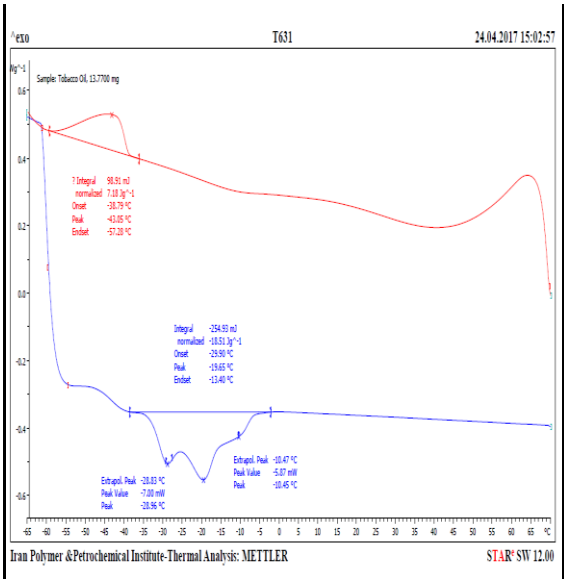
شکل ۳- خروجی دستگاه رنسیمت در اندازه‌گیری مقاومت حرارتی نمونه‌ی روغن بذر توتون

بررسی خواص حرارتی به روش‌های DSC و TGA

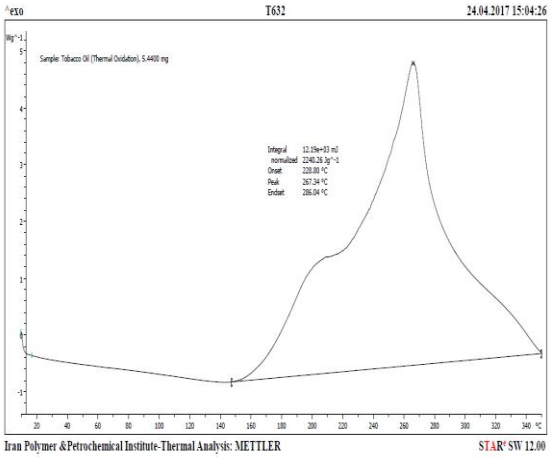
نتایج آزمون گرماسنجی پویشی تفاضلی روغن بذر توتون در شکل ۴ نشان داده شده است. نمونه در محدوده‌ی ۲°C- الی ۴۰°C-، سه گذار حرارتی نشان داد. دو گذار حرارتی با مقادیر پیک ۲۸٫۹۶°C- و ۱۹٫۵۰°C- به ترتیب نشان دهنده‌ی ذوب بلورها در اشکال پلی‌مورفیک α و β می‌باشند (۴۳). یک گذار حرارتی کوچک نیز در ۱۰٫۴۵ °C- رخ داده است.

نتایج آزمون اکسایش حرارتی نمونه‌ی روغن بذر توتون در شکل۵ نشان داده شده است. اکسایش نمونه‌ی روغن در دمای حدود ۱۵۰°C شروع می‌شود که کاملاً در محدوده‌ی گزارش شده برای روغن‌های خوراکی (۱۳۰-۱۸۰°C) قرار می‌گیرد. پیک دوم در محدوده‌ی ۲۲۸-۲۸۶°C نشانه‌ی عدم توان نمونه در جذب اکسیژن می‌باشد که نتیجه‌ی آن پلیمری شدن حرارتی کامل می‌باشد.

نتایج آزمون تجزیه وزن‌سنجی گرمایی نمونه‌ی روغن بذر توتون (شکل ۶) حاکی از پایداری حرارتی آن تا ۲۹۳°C همراه با کاهش ۵ درصدی جرم اولیه است. مقدار این کمیت در مورد روغن آفتابگردان ۲۴۷٫۵°C می‌باشد. ۹۰ درصد کاهش در وزن اولیه در ۴۸۳°C ملاحظه می‌شود. مقدار این کمیت در مورد روغن آفتابگردان ۲۸۳٫۳°C می‌باشد (۴۴).

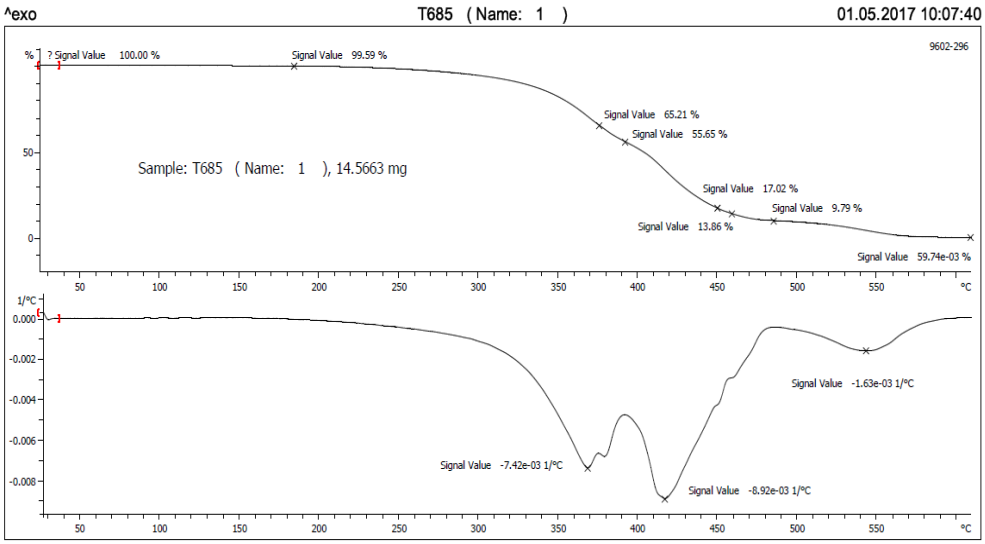


شکل ٤- نتایج آزمون گرماسنجی پویشی تفاضلی نمونه‌ی روغن بذر توتون



شکل ۵- نتایج آزمون اکسایش حرارتی نمونه روغن بذر توتون

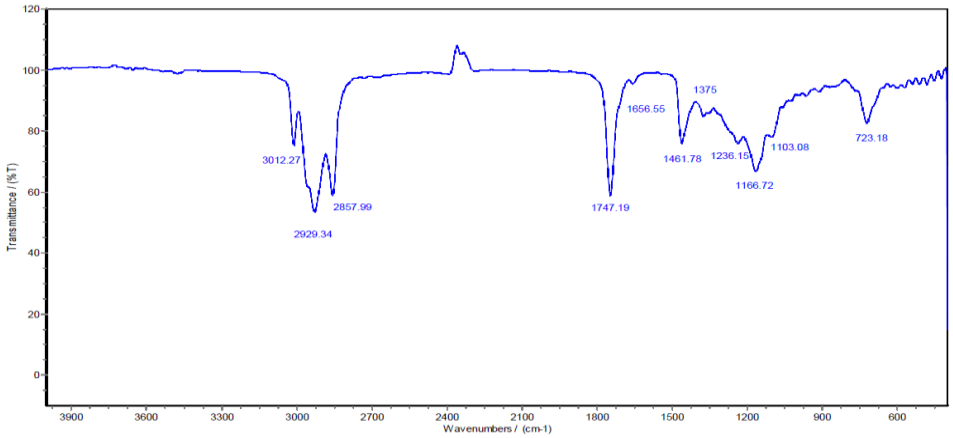
1. Induction period



شکل۶- نتایج آزمون تجزیه وزن‌سنجی گرمایی نمونه‌ی روغن بذر توتون

طیف FT-IR

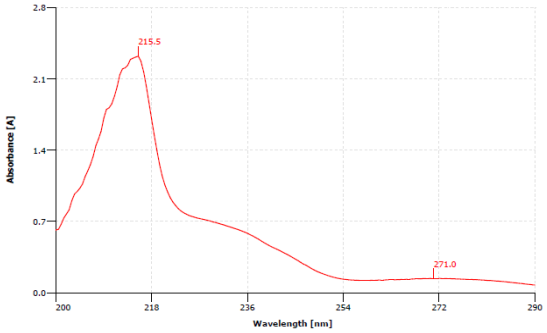
در مقام مقایسه با دیگر روش‌های دستگاهی، روش FT-IR روشی سریع، غیرتخریبی و آسان است. مضافاً مرحله‌ی آماده‌سازی، به نمونه‌ی کمتری نیاز دارد. بنابراین منجر به کاهش در مصرف مواد شیمیایی می‌شود (۴۵). روش FT-IR بطور موفقیت‌آمیز در اندازه‌گیری پارامترهای مختلف روغن‌ها و چربی‌ها مورد استفاده قرارگرفته است (۴۹-۴۶). طیف FT-IR نمونه روغن بذر توتون در شکل ۷ نشان داده شده است. وجود ارتعاشات کششی پیوند C-H در گروه آلکان به وسیله‌ی سه پیک در ۲۸۵۸، ۲۹۲۹ و ۳۰۱۲ cm^{-1} تأیید می‌شود. وجود نوار جذبی در ۱۷۴۷ cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی C=O می‌باشد. وجود نوار جذبی در ۱۶۳۷ cm^{-1} را به ارتعاشات کششی C=C می‌توان ارتباط داد. جذب در ۱۴۶۱ cm^{-1} و ۱۳۷۵را می‌توان به ارتعاشات از نوع δ(C-H) در گروه متیل نسبت داد. سه پیک در ۱۲۳۶ cm^{-1}و ۱۱۶۶، ۱۱۰۳ به ارتعاشات از نوع ν(C-H) در C-O-C مربوط هستند. جذب در ۷۲۳ cm^{-1} را می‌توان به ارتعاشات از نوع گهواره ای در – CH_2 نسبت داد (۵۰ و ۵۱).



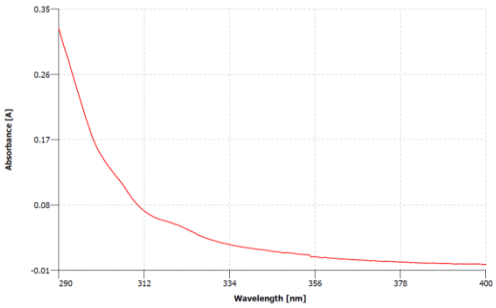
شکل ۷- طیف FT-IR نمونه روغن بذر توتون

طیف UV-Vis

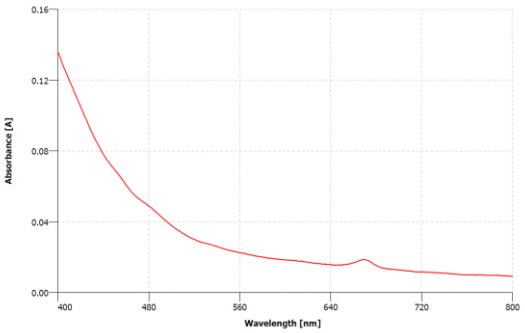
طیف‌های UV-Vis نمونه‌ی روغن بذر توتون در نواحی مختلف در شکل‌های ۸ الی ۱۰ آورده شده‌اند. بررسی طیف ماورای بنفش در محدوده‌ی ۴۰۰nm-۲۰۰ نشان می‌دهد که روغن بذر توتون دارای جذب قابل ملاحظه در نواحیUV-B و UV-C و جذب نسبتاً کمتر در ناحیه‌ی UV-A می‌باشد. بنابراین می‌توان از روغن بذر توتون به عنوان محافظ تابش خورشید در نواحیUV-B و UV-C استفاده کرد (۵۲).



شکل ۸- طیف ماوراء بنفش نمونه‌ی روغن توتون در محدوده‌ی طول موج ۲۹۰-۲۰۰ نانومتر



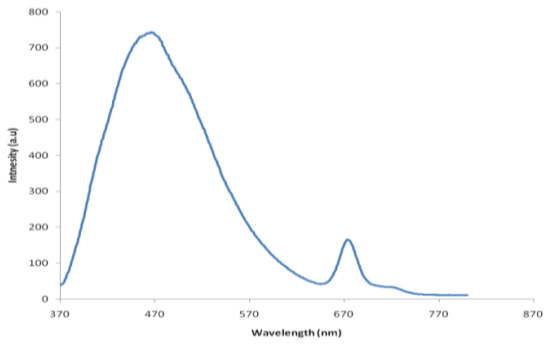
شکل ۹- طیف ماوراء بنفش- مرئی نمونه‌ی روغن توتون در محدوده‌ی طول موج ۴۰۰-۲۹۰ نانومتر



شکل ۱۰- طیف مرئی نمونه‌ی روغن توتون در محدوده‌ی طول موج ۸۰۰-۴۰۰ نانومتر

طیف فلوئورسانس

بررسی منابع علمی نشان می‌دهد که تهییج در طول موج ۳۶۰nm نتایج قابل قبولی می‌دهد؛ لذا این مقدار در این پژوهش مورد استفاده قرارگرفت. طیف نشری نیز در محدوده‌ی ۸۰۰nm-۳۷۰ روبش گردید. طیف فلوئورسانس نمونه‌ی روغن بذر توتون در شکل ۱۱ نشان داده شده است. پیک ظاهر شده در ۶۷۲nm نشانه‌ی وجود کلروفیل است. نتایج طیف فلوئورسانس با نتایج طیف مرئی نمونه‌ی روغن بذر توتون (در محدوده‌ی ۸۰۰nm-۴۰۰) در انطباق می‌باشد. شانه‌ی ظاهر شده در حدود ۵۲۰nm مربوط به ویتامین E می‌باشد(۴۳).



شکل ۱۱- طیف فلوئورانس نمونه‌ی روغن بذر توتون

مقدار اندیس اکسایش کل (TOTOX)

مقدار اندیس اکسایش کل با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید (۵۳):

$$TOTOX = 2PV + p\text{-}AV \quad (۸)$$ رابطه‌ی

مقدار اکسایش کل برای بذر توتون در پژوهش حاضر برابر ۱۰٫۸۵ بود که قابل مقایسه با روغن بذر تمشک می‌باشد. بنابراین روغن بذر توتون را می‌توان در رده‌ی روغن‌های خوراکی جای داد (۵۴)، هر چند این نوع روغن سالهاست که در برخی نقاط جهان از جمله بلغارستان، ترکیه، تونس و یونان به مصرف خوراکی می‌رسد (۳۹).

میزان کلروفیل و کاروتنوئید

در دانه‌های روغنی، لوتئین و فئوفیتین به ترتیب مهمترین ترکیبات کاروتنوئیدها و کلروفیل‌ها می‌باشند. مضافاً هر دو دسته‌ی کاروتنوئیدها و کلروفیل‌ها در فرایندهای خوداکسایش و فتواکسایش مؤثر می‌باشند (۲۶). همچنین این ترکیبات در روغن‌های گیاهی در صورت وجود نور به عنوان پیش‌اکساینده و در تاریکی به عنوان آنتی اکسیدان عمل می‌کنند (۵۵).

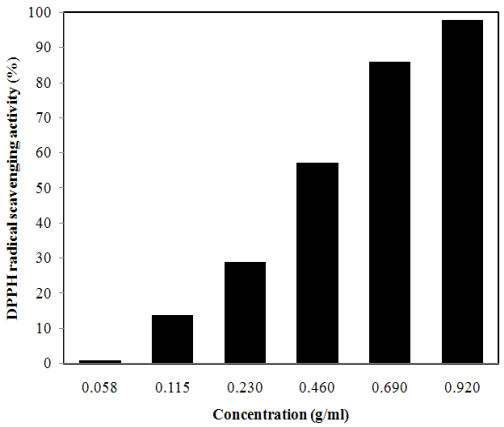
مقدار کلروفیل و کاروتنوئید روغن بذر توتون به ترتیب ۰٫۶۲ mg/kg و ۰٫۵۷ mg/kg بدست آمد. همانگونه که توسط پژوهشگران متعددی گزارش شده است، میزان رنگدانه‌ها در روغن‌های گیاهی به چندین عامل از جمله گونه‌ی گیاه، شرایط خاک، آب و هوا، میزان رسیدگی میوه و همچنین روش فراوری آن بستگی دارد (۵۶). در پژوهشی که سارولیچ و همکاران بر روی روغن زیتون کرواسی انجام دادند، مقدار کلروفیل ۴٫۷۵- mg/kg ۳٫۸۶ و میزان کاروتنوئید ۲٫۰۶ mg/kg -۱٫۸۹ بدست آمده است (۵۷). این مقادیر برای روغن بذر گیاه پالم به ترتیب مقدار کلروفیل ۰٫۱ mg/kg و میزان کاروتنوئید ۵٫۵۱ mg/kg بدست آمده است (۵۸).

ترکیبات فنولی تام

انتقال ترکیبات فنولی از بذر به روغن مورد توجه پژوهشگران بوده است. این ترکیبات با دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌رادیکالی، علاوه بر نقشی که در حفظ سلامت انسان دارند، می‌توانند با جلوگیری از اکسید شدن، باعث افزایش ماندگاری روغن شوند. مقدار ترکیبات فنولی در روغن بذر توتون برابر µg/g ۱۵٫۴۱برحسب گالیک اسید بدست آمد. این مقدار بیشتر از مقادیر گزارش شده برای روغن سویا، ذرت و کتان می‌باشد (۵۹).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن حاصل از بذر توتون

رقیق‌سازی‌های مختلفی برروی نمونه‌های روغن بذر توتون انجام شد و نتایج روش مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در شکل ۱۲ نشان داده شده است. روغن حاصل از بذر توتون دارای قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH قابل ملاحظه‌ای با مقدار IC_{50} معادل ۰٫۴۳۸ g/ml بود. بیشترین مقدار مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH کمی کمتر از مقدار مربوط به ترکیب مرجع اسید آسکوربیک (۴mg/ml، ٪۹۶٫۰۸) بود. برای غلظت‌های روغن بذر توتون در محدوده‌ی ۰٫۰۵۸ الی ۰٫۹۲۰ گرم در میلی‌لیتر، مقادیر مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در محدوده‌ی ٪۰٫۷۸ الی ٪۹۷٫۰۶ بدست آمد.



شکل ۱۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن بذر توتون به روش مهار رادیکال آزاد DPPH. اسید آسکوربیک در غلظت mg/mL ٤ به عنوان کنترل استفاده شده است

اندازه‌گیری خواص سوختی روغن حاصل از بذر توتون

کمیت HHV[1] که تحت عناوین جمع کل ارزش کالری[2] یا جمع کل انرژی[3] نیز از آن یاد می‌شود، نشان دهنده‌ی گرمای آزاد شده توسط اکسایش سوخت در هوا می‌باشد. HHV عبارت است از مقدار گرمای تولید شده طی احتراق کامل مقدار واحد سوخت.

1. Higher Heating Value
2. Gross Calorific Value
3. Gross Energy

مقدارHHV روغن بذر توتون با قرار دادن مقادیر عدد یدی (IV) و عدد صابونی شدن (SV) در رابطه‌ی۶، برابر ۳۹٫۰۱ MJ/kg بدست آمد. مقدار عدد ستان روغن با استفاده از رابطه‌ی۷ برابر ۴۰٫۵ MJ/kg بدست آمد.

نتیجه‌گیری

مصرف جهانی روغن‌های گیاهی از دهه‌ی۱۹۷۰ میلادی بطور متوسط سالیانه ۵٪ رشد داشته است. مضافاً افزایش نیاز به مشتقات روغن‌های گیاهی، به ویژه بیودیزل، منجر به افزایش نیاز به روغن‌های گیاهی شده است. این روال امروزه با وقایع دیگری از جمله خشکسالی، شرایط آب و هوایی نامناسب، زمین‌خواری و رشد کم در تولید روغن درآمیخته و منجر به کاهش تدریجی در تعداد تولیدکنندگان جهانی روغن‌های گیاهی شده است. موارد ذکر شده در بالا منجر به ایجاد نیاز جهت یافتن منابع دیگر روغن‌های گیاهی گردیده تا جایگزین تعدادی از روغن‌های معمول شده و باعث کاهش قیمت آنها گردند. با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، یکی از روغن‌های جایگزین از دسته‌ی روغن‌های غیرمرسوم می‌تواند روغن بذر توتون باشد.

سپاسگزاری

از حمایت معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان و همچنین همکاری آقایان مهندس شامل و کرُ از مرکز تحقیقات توتون تیرتاش صمیمانه قدردانی می‌شود.

منابع و مآخذ

1. Copeland, L.O. and McDonald, M. 2012. *Principles of seed science and technology*. Springer Science & Business Media.
2. Shew, H.D. and Lucas, G.B. 1991. *Compendium of tobacco diseases*. American Phytopathological Society.
3. Mukhtar A, Ullah H, Mukhtar H. Extraction and characterization of tobacco seed oil. Asian J Chem. 2006; 18(1): 20-24.
4. Talaqani TE, Shafik J, Mustafa FK. Fatty acid composition of seed oil of certain tobacco varieties cultivated in Northern Iraq. Indian J Agric Chem. 1986; 19: 147-154.
5. Patel JA, Patel BK, Chakraborty MK. Production potential and quality aspects of tobacco seed oil. Tobacco Res. 1998; 24: 44–49.
6. Ranjhan S.K. Use of agro-industrial by-products in feeding ruminants in India. *Revue Mondiale de Zootechnie (FAO)-Revista Mundial de Zootecnia (FAO)*, 1978.
7. Giannelos PN, Zannikos F, Stournas S, Lois E, Anastopoulos G. Tobacco seed oil as an alternative diesel fuel: physical and chemical properties. Ind Crops Prod. 2002; 16(1):1-9.
8. Usta N, Aydoğan B, Çon AH, Uğuzdoğan E, Özkal SG. Properties and quality verification of biodiesel produced from tobacco seed oil. Energy Convers Manag. 2011; 52(5):2031-2039.
1. 9) Guneser BA, Yilmaz E. Bioactives, Aromatics and sensory properties of cold-pressed and hexane-extracted lemon (Citrus Limon L.) Seed Oils. J Am Oil Chem Soc. 2017; 94(5):723-731.
9. Siger A, Dwiecki K, Borzyszkowski W, Turski M, Rudzińska M, Nogala-Kałucka M. Physicochemical characteristics of the cold-pressed oil obtained from seeds of Fagus sylvatica L. Food Chem. 2017; 225:239-245.
10. Boskou D. Edible Cold Pressed Oils and Their Biologically Active Components. J Exp Food Chem. 2017; 3(1):e108.
11. Roberts WL, Schuette HA. The Characteristics and Composition of Wisconsin-Grown Tobacco Seed Oil. J Am Oil Chem Soc. 1934; 56(1): 207-209.
12. Stanisavljević IT, Lazić ML, Veljković VB. Ultrasonic extraction of oil from tobacco (Nicotiana tabacum L.) seeds. Ultrason Sonochem. 2007; 14(5):646-652.
13. Stanisavljević I, Lakićević S, Veličković D, Lazić M, Veljković V. The extraction of oil from tobacco (Nicotiana tabacum L.) seeds. Chem Ind Chem Eng Q. 2007; 13(1): 41-50.
14. Zlatanov M, Angelova M, Antova G. Lipid composition of tobacco seeds. Bulg J Agric Sci. 2007; 13(5): 539-544.
15. Sahari MA, Ataii D, Hamedi M. Characteristics of tea seed oil in comparison with sunflower and olive oils and its effect as a natural antioxidant. J Am Oil Chem Soc. 2004; 81(6): 585-588.
16. Yousefi M, Nateghi L, Gholamian M. Physico-chemical properties of two types of shahrodi grape seed oil (Lal and Khalili). Euro J Exp Bio. 2013; 3(5): 115-118.
17. Gohari Ardabili A, Farhoosh R, Haddad Khodaparast MH. Chemical composition and physicochemical properties of pumpkin seeds (Cucurbita pepo subsp. pepo var. Styriaka) grown in Iran. J Agric Sci Technol. 2011;13: 1053-1063.
18. Gharibzahedi SM, Etemad V, Ghahderijani M, Karbasi Baboldashti M. 2010. Biochemical composition and analytical characterization of iranian moringa peregrine seed oil: an excellent source for oils blend formula. In Proceeding of the *3rd International seminar on oilseeds and edible oils*. 22-23 Dec, Tehran.

19. Moghanloo Z, Ziarati P, Asgarpanah J. Fatty Acid Profile of Acacia tortilis (Forssk.) Hayne Seed Oil Growing Wild in South of Iran. Orient J Chem. 2015; 31(1):489-491.
20. AOCS O, 1990. Tentative Methods of the American Oil Chemists' Society. American Oil Chemists Society Press, Champaign.
21. American Oil Chemists' Society and Firestone, D., 1994. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. AOCS press.
22. Azam MM, Waris A, Nahar NM. Prospects and potential of fatty acid methyl esters of some non-traditional seed oils for use as biodiesel in India. Biomass Bioenergy. 2005; 29(4):293-302.
23. ISO Animal and vegetable fats and oils- ISO 6885.2000. Determination of anisidine value.
24. Farhoosh R. The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. J Am Oil Chem Soc. 2007; 84(3):205-209.
25. Minguez-Mosquera MI, Rejano-Navarro L, Gandul-Rojas B, SanchezGomez AH, Garrido-Fernandez J. Color-pigment correlation in virgin olive oil. Am Oil Chem Soc. 1991; 68(5):332-336.
26. Haiyan Z, Bedgood Jr DR, Bishop AG, Prenzler PD, Robards K. Endogenous biophenol, fatty acid and volatile profiles of selected oils. Food Chem. 2007;100(4), 1544-1551.
27. Zhang S, Zu YG, Fu YJ, Luo M, Liu W, Li J, Efferth T. Supercritical carbon dioxide extraction of seed oil from yellow horn (Xanthoceras sorbifolia Bunge.) and its anti-oxidant activity. Bioresour Technol. 2010; 101(7), 2537-2544.
28. Demirbaş A. Fuel properties and calculation of higher heating values of vegetable oils. Fuel, 1998; 77(9-10):1117-1120.
29. Bose PK. Empirical approach for predicting the cetane number of biodiesel. Int J Automot Technol. 2009; 10(4):421-429.
30. Eromosele IC, Eromosele CO, Innazo P, Njerim P. Studies on some seeds and seed oils. Bioresour Technol. 1998; 64(3):245-247.
31. Siger A, Nogala-Kalucka M, Lampart-Szczapa E. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. J Food Lipids, 2008; 15(2): 137-149.
32. García-Martínez N, Andreo-Martínez P, Quesada-Medina J, de los Ríos AP, Chica A, Beneito-Ruiz R, Carratalá-Abril J. Optimization of non-catalytic transesterification of tobacco (Nicotiana tabacum) seed oil using supercritical methanol to biodiesel production. Energy Convers Manag. 2017; 131:99-108.
33. Giannelos PN, Zannikos F, Stournas S, Lois E, Anastopoulos G. Tobacco seed oil as an alternative diesel fuel: physical and chemical properties. Ind Crops Prod. 2002; 16(1):1-9.
34. Usta N, Aydoğan B, Çon AH, Uğuzdoğan E, Özkal SG. Properties and quality verification of biodiesel produced from tobacco seed oil. Energy Convers Manag. 2011; 52(5):2031-2039.
35. Baydar H, Turgut İ. Variations of fatty acid composition according to some morphological and physiological properties and ecological regions in oilseed plants. Turk J Agric For. 1999; 23(EK1):81-86.
36. Mukhtar A, Ullah H, Mukhtar H. Fatty acid composition of tobacco seed oil and synthesis of alkyd resin. Chin J Chem. 2007; 25(5):705-708.
37. Georgogianni KG, Kontominas MG, Tegou E, Avlonitis D, Gergis V. Biodiesel production: reaction and process parameters of alkali-catalyzed transesterification of waste frying oils. Energy Fuels, 2007; 21(5):3023-3027.
38. Nagaraj G. 2009. *Oilseeds: properties, processing, products and procedures*. New India Publishing.
39. Viriya-Empikul N, Krasae P, Puttasawat B, Yoosuk B, Chollacoop N, Faungnawakij K. Waste shells of mollusk and egg as biodiesel production catalysts. Bioresour Technol. 2010; 101(10):3765-3767.

40. Booth FE, Wickens GE.1988. *Non-timber uses of selected arid zone trees and shrubs in Africa* (No. 19). Food & Agriculture Org..

41. Gutiérrez Rosales F. Determinación de la estabilidad oxidativa de aceites de oliva vírgenes: comparación entre el método del oxígeno activo (AOM) y el método Rancimat. Grasas Aceites, 1989; 40(1):1-5.

42. Oomah BD, Dumon D, Cardador-Martínez A, Godfrey DV. Characteristics of Echinacea seed oil. Food Chem. 2006; 96(2):304-312.

43. Nehdi IA, Sbihi H, Tan CP, Al-Resayes SI. Evaluation and characterisation of Citrullus colocynthis (L.) Schrad seed oil: Comparison with Helianthus annuus (sunflower) seed oil. Food Chem. 2013; 136(2):348-353.

44. Nurrulhidayah AF, Man YB, Al-Kahtani HA, Rohman A. Application of FTIR spectroscopy coupled with chemometrics for authentication of Nigella sativa seed oil. J Spectrosc. 2011; 25(5):243-250.

45. Maggio RM, Kaufman TS, Del Carlo M, Cerretani L, Bendini A, Cichelli A, Compagnone D. Monitoring of fatty acid composition in virgin olive oil by Fourier transformed infrared spectroscopy coupled with partial least squares. Food Chem. 2009; 114(4):1549-1554.

46. Sherazi STH, Kandhro A, Mahesar SA, Bhanger MI, Talpur MY, Arain S. Application of transmission FT-IR spectroscopy for the trans fat determination in the industrially processed edible oils. Food Chem. 2009; 114(1):323-327.

47. Rohman A, Man YBC. The use of Fourier transform mid infrared (FT-MIR) spectroscopy for detection and quantification of adulteration in virgin coconut oil. Food Chem. 2011; 129(2):583-588.

48. Man YC, Ammawath W, Mirghani MES. Determining α-tocopherol in refined bleached and deodorized palm olein by Fourier transform infrared spectroscopy. Food Chem. 2005; 90(1):323-327.

49. Rohman A, Man YC. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil. Food Res Int. 2010; 43(3):886-892.

50. Silverstein RM, Webster FX, Kiemle DJ, Bryce DL. 2014. *Spectrometric identification of organic compounds*. John Wiley & Sons.

51. Bouaziz A, Dhifi W, Bellili S, Bahloul N, Ouni A, Al-Garni AK, Mnif W. Physico-chemical Characterization, Composition and Potential Uses of Albizia julibrissin Seed Oil. J Essent Oil Bear Pl. 2016; 19(1):194-199.

52. Shahidi F, Wanasundara UN. 2002. Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils. *Food lipids: Chemistry, nutrition and biotechnology*: 387-403.

53. Oomah BD, Ladet S, Godfrey DV, Liang J, Girard B. Characteristics of raspberry (Rubus idaeus L.) seed oil. Food Chem. 2000; 69(2):187-193.

54. Psomiadou E, Tsimidou M. Stability of virgin olive oil. 1. Autoxidation studies. J Agric Food Chem. 2002; 50(4):716-721.

55. Psomiadou E, Tsimidou M. Pigments in Greek virgin olive oils: occurrence and levels. J Sci Food Agric. 2001; 81(7):640-647.

56. Šarolić M, Gugić M, Friganović E, Tuberoso CIG, Jerković I. Phytochemicals and other characteristics of Croatian monovarietal extra virgin olive oils from Oblica, Lastovka and Levantinka varieties. Molecules, 2015; 20(3):4395-4409.

57. Nehdi I, Omri S, Khalil MI, Al-Resayes SI. Characteristics and chemical composition of date palm (Phoenix canariensis) seeds and seed oil. Ind Crops Prod. 2010; 32(3):360-365.

58. Tavakoli A, Sahari MA, Barzegar M. Antioxidant activity of Berberis integerrima seed oil as a natural antioxidant on the oxidative stability of soybean oil. Int J Food Prop. 2017; 20(3): 2914-2925.