

# تعیین خواص فیزیکوشیمیایی و حرارتی روغن استخراج شده از هسته‌ی انار منطقه‌ی سبزوار

شادی بصیری<sup>۱\*</sup>، فخری شهیدی<sup>۲</sup>، رضا فرهوش<sup>۳</sup>، رسول کدخدایی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، مشهد، ایران

<sup>۲</sup> استاد گروه صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

<sup>۳</sup> عضو هیئت علمی پژوهشکده علوم و صنایع غذایی خراسان رضوی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۵/۲۲

## چکیده

هسته‌ی انار، حاوی ترکیبات زیست فعال با ارزش تغذیه‌ای بالا است و به دلیل عدم فرآوری مناسب به عنوان ضایعات کارخانه‌های فرآوری انار، محسوب می‌شود. این پژوهش با هدف شناسایی خواص فیزیکی (گرانروی، رنگ، ضربی شکست)، شیمیایی (ساختار اسیدهای چرب، تری گلیسرید و مقادیر و نوع ترکیبات فنلی، توکولی و استرولی) و حرارتی روغن هسته‌ی انار انجام شد. برای این منظور از روش‌های کلاسیک و دستگاهی استفاده شد. نتایج، نشان داد که مقادیر گرانروی، ضربی شکست و رنگ (قرمزی/زردی) روغن هسته‌ی انار به ترتیب ۱۵۵/۵۷ سانتی پواز، ۱/۵۰۹۵ - ۱/۵۰۸۸ و ۶/۷۱ و اسیدهای پونیسیک، لینولئیک و اولئیک اسیدهای چرب غالب در روغن بودند. تری گلیسریدهای روغن هسته‌ی انار در پنج گروه با اکی والان کربن نامبر برابر ۳۶، ۳۸، ۴۰، ۴۲ و بیش تر یا مساوی ۴۴ دسته بندی شدند. بیش ترین میزان تری گلیسرید اندازه گیری شده با اکی والان کربن نامبر مساوی ۳۶، بود. روغن هسته‌ی انار حاوی ترکیبات فنلی، توکولی و استرولی با مقادیر به ترتیب ۱۳، ۱۶۸/۹۵، ۴۲۵/۹۵ و ۷/۵۹۸۱ میلی گرم در هر کیلوگرم روغن بود. تعیین خواص فیزیکی روغن و همچنین رفتارهای حرارتی و محاسبه‌ی میزان انرژی‌های آزاد شده و یا جذبی آن به کمک آزمون تجزیه‌ی گرماسنجی افتراقی انجام شد. وجود نقاط ذوب و بلورین متعدد در این روغن در نتیجه‌ی نوع ساختار تری گلیسریدی آن می‌باشد. نتیجه‌ی کلی حاصل از اجرای پژوهش، نشان می‌دهد که روغن هسته‌ی انار ارزش تغذیه‌ای بالایی داشته و غنی در ترکیبات مختلف می‌باشد که کاربردهای زیاد در صنایع خوراکی، دارویی و بهداشتی دارند.

**واژه‌های کلیدی:** روغن هسته‌ی انار، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی، ویژگی‌های حرارتی.

**۱- مقدمه**

مختلف انار از نظر وزنی متفاوت بوده، در محدوده‌ی ۳۰ الی ۱۴۳ گرم بر کیلو گرم وزن میوه می‌باشد. مقدار وزنی روغن و ترکیبات فعال موجود در هسته‌ی انار نیز بستگی به رقم میوه داشته و در محدوده‌ی ۷۰ الی ۱۱۰ گرم بر کیلو گرم وزن خشک هسته‌ها است (۲۰). در حدود ۸۰ درصد از اسیدهای چرب روغن هسته‌ی انار از نوع غیراشباع هستند (۱۴). روغن هسته‌ی انار، یکی از محدود منابع گیاهی است که دارای اسیدهای چرب مزدوج سه‌تایی به نام اسید لینولنیک مزدوج<sup>۱</sup> بوده که از نظر بیولوژیکی از اسیدهای لینولنیک مزدوج<sup>۲</sup> قوی تر است. اسید چرب مزدوج ۱۸ کربنه در روغن هسته‌ی انار، اسید پونیسیک نام دارد. اسید پونیسیک دارای خواص ضدالتهابی و تسکین دهنده‌ی دردهای عضلانی است (۳۸) همچنین، باعث تقویت سیستم ایمنی بدن شده در مبارزه با بیماری‌هایی نظیر سرطان، چاقی مفرط، دیابت و بیماری‌های قلبی و بهبود کشسانی پوست و ترمیم بافت‌های تخربی شده بسیار موثر است (۷). روغن هسته‌ی انار غنی‌ترین منبع گیاهی شناخته شده از ترکیبات استروئیدی با خاصیت آنتی‌اسیدانی قوی می‌باشد. همچنین، مقادیر قابل توجهی ترکیبات استروولی از جمله بتا-سیتوسترونول، استیگماسترون و کمپسترون و نیز ترکیبات توکولی از نوع آلفا، بتا و گاما در این روغن وجود دارد (۱۶).

با توجه به اهمیت میوه‌ی انار، به منظور حداکثر استفاده از این محصول و پسماندهای حاصل از فراوری آن، پژوهش حاضر با هدف تعیین خواص فیزیکوشیمیایی روغن استحصال شده از هسته‌ی انار رقم بومی منطقه سبزوار، انجام شد.

**۲- مواد و روش‌ها**

نمونه‌ی انار مورد استفاده در این پژوهش از رقم بومی ملس با وزن تقریبی هر میوه ۲۵۰ گرم با شاخص رسیدگی تجاری از منطقه‌ی خسروجرد از توابع شهرستان سبزوار، تهیه گردید.

**۱-۲- جداسازی هسته از میوه**

پس از شست و شو و برش میوه به قطعات کوچک تر، دانه‌ها با دست از بافت جدا و از طریق مالش ملایم بر روی توری فلزی عصاره‌ی آن‌ها استخراج گردید. به منظور جداسازی ذرات

انار با نام علمی *Punica granatum L.* به خانواده Punicaceae تعلق دارد. این خانواده، یک جنس و دو گونه دارد. درخت انار کوچک و ارتفاع آن به حداقل ۶ متر می‌رسد. در اقلیم‌های خشک و نیمه گرمسیری و مدیترانه‌ای رشد می‌کند و باردهی خوبی دارد با مناطق دارای تابستان‌های گرم و زمستان‌های سرد گار است و از مقاومت نسبتاً زیادی نسبت به عوامل اکولوژی برخوردار می‌باشد. بومی ایران، اسپانیا، مصر، روسیه، فرانسه، آرژانتین، چین، ژاپن، آمریکا، هند و مناطق مدیترانه‌ای است (۳۶).

ایرانیان از حدود ۳۰۰۰ سال پیش با کشت انار آشنا شده‌اند و در کتبه‌های تخت جمشید می‌توان کنده‌کاری‌هایی راجع به آن مشاهده کرد (۳). بخش‌های وسیعی از ایران در نواحی کویر مرکزی (دشت کویر و کویر لوت) با شرایط آب و هوایی خشک و نیمه گرمسیری، مناسب پرورش انار هستند.

بر اساس آمار سال ۱۳۸۵ وزارت جهاد کشاورزی، سطح زیر کشت باغ‌های بارور انار در ایران ۶۳۷۳۰ هکتار، میزان تولید آن ۷۰۵۱۶۴ تن بوده است. مطابق بررسی‌های انجام شده حدود ۷۶۰ رقم انار اعم از اهلی، وحشی و زینتی در اقصی نقاط کشور شناسایی شده است که هر یک از نظر رنگ، طعم، مزه، زمان رسیدگی، نحوه مصرف، بازارپسندی، قابلیت نگهداری و سازگاری متفاوت هستند. مهم‌ترین ارقام تجاری انار که بیش از ۹۵ درصد از صادرات را شامل می‌شود، ملس ساوه، شیشه‌ی کپ فردوس، خزر بردسکن، ملس یزد و بجستان هستند که دارای پوست قرمز و نسبتاً کلفت، دانه‌ی قرمز و مزه‌ی ملس متمایل به شیرین می‌باشند (۲ و ۴).

میوه‌ی درخت انار، درشت و کروی با پوستی به رنگ زرد روشن تا قرمز تیره است. شکل میوه، علاوه بر رنگ پوست، مزه، درصد آب دانه‌ها و دوام و مقاومت به امراض، متاثر از نوع انار است. میوه‌ی انار بسته به نوع رقم از اواسط تابستان تا انتهای پاییز، آماده برداشت می‌شود (۱). انار و فرآورده‌های آن، علاوه بر مصرف تازه خوری به صورت رب، آبمیوه، کنسانتره، ژله، لواشک و نوشابه و به عنوان افزودنی در صنایع نساجی، بهداشتی و آرایشی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۵؛ ۲۸؛ ۴۲). وزن میوه بین ۲۰۰ تا ۷۵۰ گرم متغیر است. انار، دارای تعداد زیادی دانه‌ی حامل مایع اصلی میوه‌ی انار با طعمی ترش، شیرین یا ملس و هسته‌ای سخت حاوی روغنی ارزشمند می‌باشد. مقدار هسته در ارقام

۷۰ (با ۶۰ متر طول، ۰/۲۵ میلی متر قطر و ۰/۲۵ میکرومتر اندازه ذرات، شناسایی شدند (۱۳)).

## ۸-۲- ساختار تری گلیسیریدی

اندازه گیری و شناسایی تری گلیسیریدهای روغن هسته‌ی انار با دستگاه کروماتوگرافی با کارایی بالا به شیوه‌ی فاز معکوس، ساخت شرکت Young Lin HPLC System کشور کره‌ی جنوبی با ستون RP-18 و ۲۵۰ میلیمتر طول و ۴ میلیمتر قطر و اندازه ذرات ۵ میکرومتر صورت گرفت. تری گلیسیریدهای شناسایی شده بر اساس روش ECN که با استفاده از فرمول ذیل محاسبه می‌شود دسته‌بندی شدند:

[ تعداد باندهای مضاعف در مولکول تری گلیسیرید ] $\times$  [ تعداد کربن‌های موجود در تری گلیسیرید = ECN ]

## ۹-۲- اندازه گیری ترکیبات فنلی

مقدار ترکیبات فنلی نمونه‌ی مورد نظر به روش اسپکتوفوتومتری با کمک معرف فولین سیوکالچو اندازه گیری شد (۱۱).

## ۱۰-۲- شناسایی و تعیین مقدار اجزاء ترکیبات فنلی

شناسایی و تعیین مقدار اجزاء ترکیبات فنلی نمونه توسط دستگاه کروماتوگرافی با کارایی بالا، ساخت شرکت Young Lin مدل Acme 9000 کشور کره‌ی جنوبی با ستون luna C18 و اندازه ذرات ۵ میکرومتر، طول ۲۵ سانتیمتر و قطر داخلی ۳ میلیمتر صورت گرفت (۸).

## ۱۱-۲- ترکیبات توکولی

شناسایی و اندازه گیری ترکیبات توکولی نمونه‌ی روغن به کمک دستگاه کروماتوگرافی با کارایی بالا، ساخت شرکت Young Lin Hypersil ODS مدل Acme 9000 کشور کره‌ی جنوبی با ستون C18 با اندازه ذرات ۵ میکرومتر و طول ستون ۲۵ سانتیمتر و قطر ۴/۶ میلیمتر صورت گرفت (۲۱)

## ۱۲-۲- ترکیبات استرولی

برای اندازه گیری ترکیبات استرولی از دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل ۶۱۰۰، ساخت شرکت Young Lin Acme، کره‌ی جنوبی با ستون DB-5 (5% phenyl methyl poly siloxane column)

باقیمانده‌ی گوشت، هسته‌ها با آب شست و شو، سپس بر روی پارچه‌ی تمیز پهن شده و در دمای اتاق خشک گردیدند. هسته‌های خشک شده به کیسه‌ی کتانی منتقل و تا زمان مصرف در فریزر ۱۸°C - نگه داری شدند.

## ۲-۲- استخراج روغن

هسته‌های انار به کمک آسیاب به صورت پودر در آمد. پودر حاصل با حلal هگزان نرمال به نسبت ۱:۴ (وزنی به حجمی)، مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت، هم زده شد. مخلوط حلal حاوی روغن، در دمای محیط و زیر هود تبخیر شد و روغن باقیمانده به بطری شیشه‌ای منتقل و پس از جایگزینی هوای خالی بالای ظرف با گاز ازت، دریندی و در دمای ۱۸°C - برای انجام آزمایش‌های بعدی نگه داری شد.

## ۳-۲- اندازه گیری مقدار رطوبت و روغن هسته

مقدار رطوبت هسته‌های انار بر اساس روش AOAC به شماره‌ی ۹۸۴/۲۵ (۶) و استخراج روغن با کمک حلal هگزان (مرک، آلمان) با روش سوکسله بر اساس روش پیشنهادی AOAC به شماره‌ی ۹۶۳/۱۵ صورت پذیرفت (۶).

## ۴-۲- اندازه گیری عدد اسیدی روغن

عدد اسیدی بر طبق روش Aa 6-38 (۵) محاسبه شد.

## ۵-۲ اندازه گیری عدد پراکسید روغن

عدد پراکسید با روش اسپکتوفوتومتری تیوسیونات محاسبه گردید (۴۳).

## ۶-۲- شاخص پایداری اکسایشی روغن (OSI)

مقاومت اکسایشی روغن به کمک دستگاه رنسیمت<sup>۱</sup> (مدل ۷۴۳، ساخت شرکت Metrohm Ltd. Herisau کشور سوئیس) تعیین گردید (۱۵).

## ۷-۲- ساختار اسیدچرب

اسیدهای چرب روغن با دستگاه گاز کروماتوگرافی ساخت SGE (BPX) شرکت Young Lin Acme کره‌ی جنوبی با ستون-

درصد (۳۵) قابل توجه بوده و ارزش اقتصادی خوبی دارد. پاراشار و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰ مقدادیر روغن موجود در هسته ۲۵ رقم مختلف انار را محدوده  $۶/۶ - ۱۹/۳$  درصد گزارش نمودند.

میزان اسیدهای چرب آزاد و عدد پراکسید روغن به ترتیب ۵۵٪ میلی گرم هیدروکسیدپتاسیم بر گرم روغن و ۷۹٪ میلی اکسیلان گرم اکسیژن بر کیلو گرم روغن بودند که نشان دهنده کیفیت مناسب و غیر اکسایشی روغن مورد مطالعه می‌باشد.

شاخص پایداری روغن هسته‌ی انار در دمای ۱۱۰ درجه‌ی سانتیگراد به طور میانگین  $۳/۰/۳$  ساعت اندازه گیری گردید. در مقایسه با شاخص‌های پایداری روغن دانه‌ی بزرک (۱/۵۷) ساعت (۱۰) و روغن هسته‌ی انگور (۱۹/۷ ساعت) (۲۶)، مشخص می‌گردد که شاخص پایداری روغن هسته‌ی انار در محدوده‌ی قابل قبول است. عوامل مختلف نظیر مقدادیر اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در روغن‌ها نقشی مهمی را در تعیین پایداری اکسیداتیو آن‌ها بر عهده دارند. از آن‌جا که  $۹/۸$  درصد اسیدهای چرب روغن هسته‌ی انار غیر اشباع هستند بنابراین، پایداری آن نسبتاً پایین می‌باشد.

یکی از ویژگی‌های اساسی یک روغن، گرانزوی آن می‌باشد که مقدار آن مستقیماً به ساختار اسیدچرب روغن بستگی دارد (۱۷). روغن هسته‌ی انار در درجه‌ی حرارت اتاق، مایع بوده و گرانزوی آن  $۱۵۵/۵۷$  سانتی پواز می‌باشد که در مقایسه با روغن‌های مشابه مانند روغن آفتاب گردان ( $۳۲/۶$  سانتی پواز)، روغن سویا ( $۳۲/۹$  سانتی پواز) (۳۹) بسیار زیاد می‌باشد. وجود اسیدهای چرب کوتزوه‌گه در روغن هسته‌ی انار به عنوان یک عامل موثر در خصوصیات عملکردی می‌تواند علت اصلی گرانزوی بالای این روغن باشد (۳۳).

رنگ از جمله ویژگی‌های مهم روغن بوده و به عنوان راهنمای در تصفیه‌ی روغن‌های خوراکی استفاده می‌شود. متوسط مقدادیر شاخص‌های رنگی روغن هسته‌ی انار R، Y و B به ترتیب  $۱/۹$  و  $۱۲/۷۵$  و صفر بودند. اعداد R، Y و B، به ترتیب میزان قرمزی (کدورت) و زردی (شفافیت) و سبزی روغن را نشان می‌دهند. در سیستم رنگ سنجی لاویاند، رنگ روغن را به صورت نسبت Y/R (نسبت درجه زردی به قرمزی) محاسبه می‌شود (۴۰) مقدار این عدد در روغن هسته‌ی انار،  $۶/۷۱$  تعیین گردید.

Agilent Jand W، ۳۰ متر طول،  $۰/۲۵$  میلیمتر قطر داخلی، استفاده شد (۲۲).

### ۱۳-۲- ویژگی‌های حرارتی

مشخصات حرارتی روغن هسته‌ی انار با دستگاه DSC مدل DSC F3 200 Maia آلمان اندازه گیری گردید. سرعت تغییرات درجه حرارت از  $۱۳۰^{\circ}\text{C}$  تا  $۳۰^{\circ}\text{C}$  به میزان  $5^{\circ}\text{C}$  در دقیقه بود.

### ۱۴- گرانزوی

گرانزوی نمونه روغن به وسیله‌ی گرانزوی سنج چرخشی<sup>۱</sup>، مدل Brookfield LVDV-III Ultra Rheometer کشور آمریکا اندازه گیری شد.

### ۱۵- ضریب شکست<sup>۲</sup>

ضریب شکست روغن هسته‌ی انار با استفاده از رفراکتومتر، مدل RX-7000α ساخت شرکت ATAGO کشور ژاپن در دمای  $40^{\circ}\text{C}$  اندازه گیری شد (۲۳).

### ۱۶- رنگ

رنگ نمونه‌ی روغن با استفاده از رنگ سنج تینتومتر لاویاند<sup>۳</sup> مدل PFX 995 ساخت کشور انگلیس اندازه گیری شد. نمونه‌ی روغن به یک سل  $10$  میلیمتری انتقال و رنگ آن در دمای  $30^{\circ}\text{C}$  با انطباق بر اسلاید‌های رنگی استاندارد، اندازه گیری گردید (۲۷).

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- خواص فیزیکوشیمیایی روغن هسته‌ی انار

مشخصات هسته و برخی ویژگی‌های روغن هسته‌ی انار در جدول ۱ آورده شده است. با تعیین ویژگی‌های روغن و چربی می‌توان ارزیابی دقیقی از کیفیت تغذیه‌ای و پایداری اکسایشی آن‌ها به منظور تعیین زمان مناسب نگه داری و کاربرد آن‌ها انجام داد.

میانگین مقدار روغن موجود در دانه‌ی انار  $۱۷/۳۳$  درصد در ماده‌ی خشک بود. این مقدار روغن در مقایسه با دانه‌های مشابه مانند سیاهدانه با  $۴۰ - ۴۰/۵$  درصد (۱۲) و روغن بزرک با  $۹ - ۲۸$  درصد (۲۸) و روغن بزرک با

<sup>1</sup>. Rotational viscometer

<sup>2</sup>. Refractive index

<sup>3</sup>. Lovibond Tintometer

جدول ۱- مشخصات هسته‌ی انار و برخی ویژگی‌های روغن هسته‌ی انار

مقدار	کمیت اندازه گیری شده
$۳/۷۵ \pm ۰/۲۰$	مقدار رطوبت هسته (گرم در ۱۰۰ گرم)
$۱۷/۳۳ \pm ۱/۱۳$	مقدار روغن هسته (وزن خشک)
	ویژگی‌های روغن هسته انار
$۰/۵۵۹ \pm ۰/۱۱$	اسیدهای چرب آزاد (میلی گرم هیدروکسید پتاسیم بر گرم روغن)
$۰/۷۹۱ \pm ۰/۱۹$	عدد پراکسید (میلی اکی والان کرم اکسیژن بر کیلو گرم روغن)
$۳/۰۳ \pm ۰/۱۵$	شاخص پابداری اکسایشی (OSI)
$۱/۵۰۹۵ - ۱/۵۰۸۸$	ضریب شکست
$۱۵۵/۵۷ \pm ۰/۳$	گرانزوی ظاهری (سانتی پواز)
$۶/۷۱ \pm ۰/۱۶$	رنگ (زردی به قرمزی)

یاماساکی و همکاران در سال ۲۰۰۶، گزارش نمودند که مقدار اسید پونیسیک موجود در دانه‌ی انار  $۱/۸۳$  درصد می‌باشد. اسید پونیسیک توانایی زیادی در مقابله با رشد سلول‌های سرطانی دارد. تاثیر محافظتی اسید پونیسیک علیه سرطان در ارتباط با چربی اکسید شده می‌باشد. مقدار بالای این اسید با درجه‌ی غیر اشباعی بالا باعث ایجاد حساسیت در روغن نسبت به اکسیداسیون می‌شود، این حساسیت به اکسیداسیون موجب بروز خاصیت عملگرایی روغن دانه‌ی انار در بیماری‌های سرطانی می‌گردد. در یک آزمایش تکمیلی، پژوهشگران با افزودن آنتی اکسیدان به روغن هسته‌ی انار مانع از اکسیداسیون آن شدند ولی در نهایت این روغن اثرات محافظت کننده‌ی خود را علیه بیماری سرطان از دست داد (۱۸).

اسیدهای چرب لینولئیک و اوئلیک با مقادیر به ترتیب  $۸/۵۶$  و  $۸/۴۸$  درصد در روغن هسته‌ی انار بعد از اسید پونیسیک بیش ترین مقدار را دارا بودند. نتایج به دست آمده از تحقیقات میرتنز تالکوت و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان داد که مقادیر اسیدهای لینولئیک و اوئلیک در روغن هسته‌ی انار به ترتیب  $۵/۸$  و  $۵/۹$  درصد بودند. این نتیجه، علی رغم تفاوت مقداری نشان می‌دهد که نتایج حاصل از تحقیق فعلی خارج از محدوده نمی‌باشد. نایاک و پاتر طی تحقیقی در سال ۲۰۱۰، به این نتیجه رسیدند که اختلافات موجود در مقادیر روغن به دست آمده از میوه‌های انار جمع آوری شده از مناطق مختلف و ترکیب اسیدهای چرب آنها، به رقم میوه، شرایط مختلف آب و هوایی، موقعیت و نحوه پرورش درختان بستگی دارد.

یکی از شاخص‌های اولیه‌ی تشخیص نوع روغن، ضریب شکست می‌باشد. ضریب شکست روغن هسته‌ی انار در محدوده‌ی  $۱/۵۰۹۵ - ۱/۵۰۸۸$  بود که در مقایسه با ضریب شکست روغن های کلزا، پنبه دانه به ترتیب  $۱/۴۶۷۰ - ۱/۴۶۴۰$  و  $۱/۴۵۸۰$ ، بالا بوده و نشان دهنده‌ی مقدار بالای اسیدهای چرب غیر اشباع روغن می‌باشد. هر چه میزان غیر اشباع بودن روغن بیشتر باشد، ضریب شکست آن نیز بیش تر خواهد بود.

### ۲-۳- ساختار اسید چرب

ساختار اسید چربی روغن هسته‌ی انار در جدول ۲ گزارش شده است. اسیدهای چرب موجود در روغن هسته‌ی انار شامل اسیدهای چرب پالمتیک ( $۳/۸۹$  درصد)، استاریک ( $۲/۸۱$ ) درصد، اوئلیک ( $۸/۴۸$  درصد)، لینولئیک ( $۸/۵۶$  درصد)، لینولینیک ( $۸/۶۵$  درصد) و پونیسیک ( $۱۱/۷۵$  درصد) بودند. این روغن، دارای  $۷/۲$  درصد اسیدهای چرب اشباع (SFA) و  $۹۲/۸$  درصد اسیدهای چرب غیر اشباع (USFA) بوده که از این مقدار  $۸۴/۳۲$  درصد چند غیر اشباع و  $۸/۴۸$  درصد تک غیر اشباع می‌باشد. نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع به اشباع (USFA/SFA) معمولاً به عنوان معیاری از میزان سیرناشدگی روغن‌ها و چربی‌ها و نیز تمایل آن‌ها به خود اکسایش لیپیدی در نظر گرفته می‌شود (۲۹).

### ۴-۳- ترکیبات فنلی

روغن هسته‌ی انار حاوی ۱۶۸/۱۳ میلی گرم ترکیبات فنلی در هر کیلوگرم روغن بود. ترکیبات فنلی موجود در روغن‌های تخم خربزه و تخم کدو به ترتیب ۱۸ و ۱۸/۷ میلی گرم بر کیلوگرم بودند (۳۴). ترکیبات فنلی شناسایی شده و مقادیر آنها در جدول ۴ به صورت جداگانه گزارش شده است. اسیدهای فرولیک و وانیلیک غالب ترین اسیدهای فنلی به همراه ترکیبات دیگر مانند اسید کلروژنیک و اسید پارا هیدروکسی بنزوئیک در گیاهان هستند (۴۴). اهمیت وجود ترکیبات فنلی در یک ماده به واسطه‌ی ثبات آنتی اکسیدانی آن‌ها می‌باشد.

### ۵- ترکیبات توکولی

مقادیر توکوفرول‌ها و توکوتراکنول‌های موجود در روغن هسته‌ی انار در جدول ۵، آورده شده‌اند. مقادیر کلی توکول‌ها در روغن هسته‌ی انار ۴۲۵/۹۵ میلی گرم بر کیلوگرم روغن بود که در مقایسه با نمونه‌هایی از روغن نظیر هسته‌ی پالم (۵۱۵/۴ میلی گرم بر کیلوگرم) و تخم کدو (۸۰۶ میلی گرم بر کیلوگرم) (۳۴) مقدار پایین‌ولی ارزشمند می‌باشد. توکوفرول‌ها کاربرد وسیعی در صنایع مختلف غذایی، دارویی، بهداشتی و خواراک دام دارند. در صنایع غذایی از توکوفرول‌ها به عنوان آنتی اکسیدان به صورت افزودنی در تولید مارگارین، روغن سرخ کردنی و استک‌ها استفاده می‌شود. اجزای مختلف توکولی به عنوان آنتی اکسیدان، زنجیره‌ی رادیکالی را در مembran‌ها و لیپوپروتئین‌های پلاسمما و غذا شکسته، باعث کاهش ابتلا به بیماری‌های قلبی و انواع خاصی از سرطان‌ها می‌شود (۴۱).

### جدول ۲- ترکیب اسید چرب روغن دانه‌ی انار

اسید چرب	مقدار (درصد)
اسید پالmitیک (C <sub>16:0</sub> )	۳/۸۹
اسید استاریک (C <sub>18:0</sub> )	۲/۸۱
اسید آرشیدیک (C <sub>20:0</sub> )	۰/۵۰
اسید اولئیک (C <sub>18:1</sub> )	۸/۴۸
اسید لینولئیک (C <sub>18:2</sub> )	۸/۵۶
اسید لینولنیک (C <sub>18:3</sub> )	۰/۶۵
اسید پونیسیک (C <sub>18:2</sub> )	۷۵/۱۱
اسیدهای چرب اشباع (SFA)	۷/۲
اسیدهای چرب غیر اشباع (USFA)	۹۲/۸
اسیدهای چرب تک غیر اشباع	۸/۴۸
اسید چرب چند غیر اشباع (PUFA)	۸۴/۳۲
USFA/SFA	۱۲/۸۸

### ۳-۳- ساختار تری گلیسریدی (تری آسیل گلیسرول)

توزیع تری گلیسریدهای روغن هسته‌ی انار در جدول ۳، با ۵ گروه تری گلیسرید (۴۴ و ۳۶، ۳۸، ۴۰، ۴۲، ۴۴ = ECN<sup>۱</sup>) مشاهده می‌شود. مکانیسم جداسازی تری گلیسریدها بر اساس طول زنجیره و همچنین درجه‌ی غیر اشباعی اسیدهای چرب می‌باشد (۱۹). کافمن و ویسمن در سال ۲۰۰۷، ساختار تری گلیسریدها را در روغن هسته‌ی انار تعیین نمودند. نتایج به دست آمده شباهت زیاد با پژوهش حاضر دارد.

### جدول ۳- ترکیب تری گلیسریدی (TAG) روغن هسته‌ی انار

ترکیب تری گلیسریدی*	مقدار (گرم در ۱۰۰ گرم)	ECN
-	۱/۲۶	منو و دی گلیسریدها
PnPnPn, PnLnPn	۶۱/۲۵	۳۶
PnLPn, PnLLn, LnLLn,	۱۰/۸۴	۳۸
PnPnPn, PnOPn, LPnL, PPP	۱۶/۸۷	۴۰
LLL, OPnL, PnPL, PnSPn	۹/۷۰	۴۲
PPnP, SPnL, LOL, OPnO	۰/۱	۴۴≥

\* Pu, punicic acid; Ln, linolenic acid; L, linoleic acid; O, oleic acid; P, palmitic acid; S, stearic acid.

محاسبه‌ی میزان انرژی‌های آزاد شده و یا جذبی می‌باشد<sup>(۹)</sup>. در شکل ۱، منحنی‌های حرارتی روغن هسته‌ی انار را در حالات گرمایی و سرمایی با سرعت تغییرات  $5^{\circ}\text{C}$  در دقیقه، نشان می‌دهد. در قسمت گرمایی منحنی، سه پیک مرکب و در قسمت گرمایی منحنی، دو پیک مرکب مشاهده می‌شود. مشخصات حرارتی منحنی‌های ذوبی و انجامادی DSC روغن هسته‌ی انار به ترتیب در جداول ۷ و ۸ آورده شده است. وجود سه پیک ذوبی مشخص در نتیجه‌ی وجود تری گلیسریدهای مختلف با مقادیر مختلف اسیدهای چرب می‌باشد.

جدول ۵- ترکیبات توکولی روغن هسته‌ی انار

ترکیب توکولی	مقدار (میلی گرم در کیلو گرم)
آلفا توکوفرول	۲۷/۳۸
بتا توکوفرول	۵/۷
گاما توکوفرول	۱۴۰/۲۶
دلتا توکوفرول	۱۸۷/۷۲
آلفا توکوتربنول	۴۶/۸۴
بتا و گاما توکوتربنول	۲/۱۴
دلتا توکوتربنول	۷/۷۱
شناسایی نشده	۸/۲
جمع	۴۲۵/۹۵

جدول ۶- ترکیبات استروولی روغن هسته‌ی انار

ترکیب استروولی	مقدار (گرم در ۱۰۰ گرم)
کلسترول	۰/۱۸
براسیکاستروول	۰/۱۴
کلروستروول	۰/۷۱
کمپستروول	۸/۵۵
استیگماماستروول	۴/۹۰
سیتوستروول	۷۶/۰۱
اوستروول <sup>۵</sup>	۶/۸۴
استیگماماستادی <sup>۵,۲۳</sup>	۱/۲۹
انول	
استیگماماستروول <sup>۷</sup>	۰/۵۹
اوستروول <sup>۷</sup>	۰/۷۷
جمع	۵۹۸۱/۷۶ (mg/kg)

### ۶-۳- ترکیبات استروولی

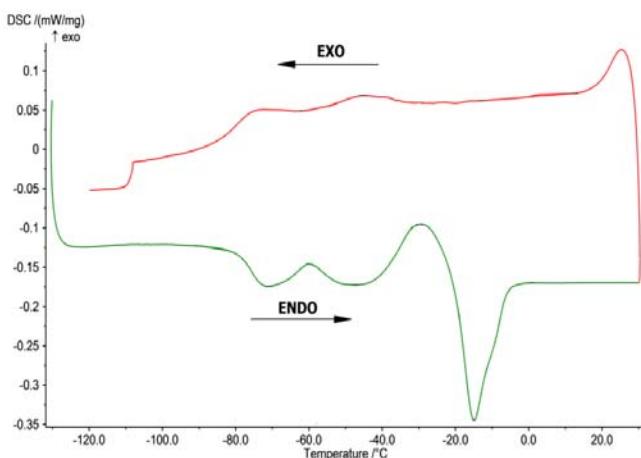
استروول‌های گیاهی گروهی از الکل‌های استروئیدی بوده که بخش عمده فاز صابونی ناشونده روغن‌های گیاهی را تشکیل می‌دهند. یکی از شاخص‌های شناسایی روغن‌های گیاهی به منظور تعیین کیفیت، اندازه گیری مقادیر فینواستروول‌های آن‌ها می‌باشد. همان‌گونه که در جدول ۶، مشاهده می‌شود مقدار کلی استروول‌ها در روغن هسته‌ی انار در این پژوهش ۵۹۸۱/۱۷ میلی گرم در ۱۰۰ گرم روغن تعیین شد. این مقدار در مقایسه با مقادیر استروول‌های موجود در روغن‌های تخم کدو (۲۷۳ میلی گرم در ۱۰۰ گرم روغن) (۳۴) و هسته پالم (۳۳۶ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم روغن) (۳۲)، مقدار قابل ملاحظه‌ای می‌باشد. فراوان ترین استروول موجود در روغن هسته‌ی انار سیتواستروول (۴۵۴/۶۷ میلی گرم در ۱۰۰ گرم روغن) و بعد از آن کمپستروول (۵۱/۱۴ میلی گرم در ۱۰۰ گرم روغن) است. کمپستروول با ساختار شیمیایی مشابه کلسترول، کاهش دهنده‌ی میزان کلسترول خون بوده و همچنین با داشتن قدرت ضد التهابی بالا از بروز بسیاری التهاب‌های اولیه در بدن جلوگیری می‌کند.

جدول ۴- ترکیبات فلی روغن هسته‌ی انار

ترکیب فلی	مقدار (گرم در ۱۰۰ گرم)
اسید وانیلیک	۹/۱۱
اسیدسیرینجیک	۰/۹۵
اسید پارا کوماریک	۱/۰۹
اسید فرولیک	۲/۴۰
اسید کوماریک	۵/۱۳
اسید آلفا اپی کالازین	۱۰/۶۶
اسید بتا اپی کالازین	۱۱/۳۷
اسید گالیک	۱/۸۴
تیریمر‌های ناشناخته	۷/۴۸

### ۷-۳- مشخصات حرارتی روغن

آزمون تجزیه‌ی گرماسنجی افتراقی DSC<sup>۱</sup> یک روش ساده، سریع و مستقیم به منظور ارزیابی کیفی روغن می‌باشد. این آزمون به منظور مطالعه تری گلیسریدهای تشکیل دهنده‌ی روغن و تعیین خواص ذوبی و کریستالی آن با استفاده از رفتار‌های حرارتی و



شکل ۱- ترموگرام روغن هسته‌ی انار، EXO (گرمایش) و ENDO (گرمابگیر)

کریستالیزاسیون اولین گروه تری گلیسریدها از نقطه‌ی C<sup>۱۲/۶</sup> شروع شده و دارای نقطه‌ی آغازین C<sup>۰/۶</sup>- و آنتالپی کریستالینه شدن C<sup>۱۴/۰</sup>- ژول بر گرم بود. این پیک به احتمال زیاد مربوط به تری گلیسریدهای اشباع (PPP) و همیطنتور تری- گلیسریدهای حاوی اسیدهای چرب اشباع (PnPPn, PPnL) می‌باشد. هرچه درجه‌ی اشباعی تری گلیسرید بیشتر، انجماد زودتر و در دمای بالاتری صورت می‌گیرد. گروه دوم تری گلیسریدها که شامل تری گلیسریدهای غیر اشباع می‌باشد در نقطه‌ی C<sup>۴۵/۲</sup>- کریستال شدند و در دمای C<sup>۵۶/۵</sup>- به صورت کامل جامد شدند.

#### ۴-نتیجه گیری

اطلاعات و تجربیات به دست آمده در زمینه‌ی شناسایی ترکیبات و اجزای تشکیل دهنده‌ی روغن هسته‌ی انار و بررسی خواص آن، تلاشی در جهت یافتن کاربردهای صنعتی این محصول در زمینه‌های مختلف می‌باشد. هسته‌ی انار به عنوان محصول فرعی و جانی کارخانه‌های صنعتی فرآوری انار، منبع خوبی از ترکیبات ارزشمند غذایی بوده و به عنوان افزودنی خوراکی به صورت مستقیم یا غیر مستقیم می‌تواند کاربردهای زیادی داشته باشد. با توجه به این که اطلاعات زیادی از ترکیبات زیست فعال روغن هسته‌ی انار ایرانی در دسترس نبود، نیاز به انجام تحقیقات شناسایی ترکیبات انار رقم بومی وجود داشت.

تن و چی من در سال ۲۰۰۲، در خصوص رابطه‌ی نوع تری گلیسرید و دما گزارش نمودند که تری گلیسریدهای دارای اسیدهای چرب اشباع (SSS) در درجه حرارت‌های بالاتری نسبت به تری گلیسریدهای با اسیدهای چرب غیر اشباع (UUU) ذوب می‌شوند و نقطه‌ی ذوب تری گلیسریدهای SSU و SUU در محدوده‌ی ذوبی بین دو گروه قرار می‌گیرند.

پیک اول منحنی با کم ترین نقطه‌ی ذوب در مقایسه با سایر پیک‌ها، شامل تری گلیسریدهایی است که دارای اسیدهای چرب چند غیر اشباع بیشتر می‌باشد. بر اساس جدول ۳ که ساختار تری گلیسریدی روغن هسته‌ی انار را نشان می‌دهد می‌توان گفت، به احتمال زیاد، تری گلیسریدهای با ECN برابر ۳۶ با اسیدهای چرب عمده PnLnPn و PnPnPnP در این محدوده (پیک) قرار می‌گیرند. پیک دوم منحنی ذوبی، می‌تواند مربوط به تری گلیسریدهای با PnLPn, PnLLn، ECN برابر ۳۸ با اسیدهای چرب عمده LnLLn و پیک سوم مربوط به تری گلیسریدهای با ECN برابر ۴۰ و ۴۲ با اسیدهای چرب عمده PnPnPn, PnOPn, LPnL, PPP باشند. در این پیک‌ها به علت وجود اسیدهای چرب با میزان غیر اشباعی کم تر نسبت به پیک اول، نقاط ذوب بالاتر هستند.

تن و چی من در سال ۲۰۰۰ گزارش نمودند که ذوب دو یا چند ترکیب تری گلیسریدی در یک محدوده‌ی دمایی مشخص می‌تواند به صورت توأم در یک زمان، صورت گرفته و در منحنی DSC به صورت پیک مرکب مشاهده شود. در نتیجه‌ی این رخداد، نقاط ذوب تری گلیسریدها همپوشانی<sup>۱</sup> داشته و یک منطقه‌ی مشخص را به صورت پیک پهن تری نشان می‌دهند. تن و چی من در سال ۲۰۰۲ دلیل این موضوع را چنین بیان نمودند که زمانی که نمونه‌ی روغن گرم می‌شود، تری گلیسریدهایی که مقاومت کمی به درجه حرارت دارند، در دمای پایین تر ذوب شده و مابقی تری گلیسریدهای موجود در روغن، تغییر آرایش داده و باعث ایجاد کریستال‌های جدید می‌شوند.

همچنین مطابق آنچه در بحث ذوب شدن مطرح گردید تفاوت ساختار تری گلیسریدی موجود در روغن هسته‌ی انار، به طور یقین عامل بروز ۲ پیک مرکب در مرحله‌ی گرمایی منحنی حرارتی می‌باشد (شکل ۱).

جدول ۷- مشخصات حرارتی منحنی‌های ذوبی DSC روغن هسته‌ی انار

مشخصات	پیک اول	پیک دوم	پیک سوم
دماهی آغازین (درجه سانتیگراد)	-۷۸/۸	-۵۹	-۲۱/۳
دماهی ذوب (درجه سانتیگراد)	-۷۱	-۴۷/۴	-۱۴/۸
آنالپی ذوبی (ژول بر گرم)	۵/۰۶۸	۱۰/۶۵	۲۴/۷۴

جدول ۸- مشخصات حرارتی منحنی‌های انجامادی DSC روغن هسته‌ی انار

مشخصات	پیک اول	پیک دوم
دماهی آغازین (درجه سانتیگراد)	-۰/۶	-۵۶/۵
دماهی انجاماد (درجه سانتیگراد)	۱۲/۶	-۴۵/۲
آنالپی انجاماد (ژول بر گرم)	۰/۱۴۱	۲/۵۵۷

تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، معاونت آموزش و تجهیز نیروی انسانی. کرج، ایران.

۲- بی نام. ۱۳۸۵. آمارنامه‌های کشاورزی، وزارت جهاد کشاورزی. انتشارات دفتر فناوری و اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی.

۳- بی نام. ۱۳۸۹. شناسنامه‌ی تصویری انار. وزارت جهاد کشاورزی. انتشارات دفتر امور میوه‌ها، ۴۳ صفحه.

۴- وارسته، ف.، ارزانی، ک.، زمانی، ذ. ۱۳۸۷. بررسی تغییرات فصلی فیزیکوшیمیایی میوه‌ی انار (Punica granatum L.) (۱) ۳۸: ۳۸-۲۹.

5. AOCS. 1993. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society*. 4th Ed. Method Aa 6-38. The Society: Champaign, IL.

6. AOAC. 2005. *Official methods of analysis of the Association of the Official Analytical Chemists*. VA: Assoc of Anal Chem Inc.

7. Aslam, M. N., Lansky, E. P., Varani, J. 2006. Pomegranate as a cosmeceutical source: Pomegranate fractions promote proliferation and procollagen synthesis and inhibit matrix metalloproteinase-1 production in human skin cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 103: 311-318.

8. Bendini, A., Bonoli, M., Cerretani, L., Biguzzi, B., Lercker, G., & Gallina Toschi, T. 2003. Liquid-liquid and solid-phase extractions of phenols from virgin olive oil and their separation by chromatographic and electrophoretic methods. *Journal of Chromatography A*, 985(1-2), 425-433.

9. Besbes, S., Blecker, C., Deroanne, C., Drira, N. E. and Hamadi, A. 2004. "Date seeds: chemical composition and characteristic profiles of the lipid fraction", *Food Chemistry*, 84: 577-584.

10. Bozan, B. and Temelli, F. 2008. Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and

نتایج، نشان داد که از ۹۲/۸ درصد اسیدهای چرب غیر اشباع روغن هسته‌ی انار، اسید پونیسیک، بیشترین میزان اسیدهای چرب غیر اشباع را به خود اختصاص می دهد. وجود این اسید و حساسیت آن به اکسیداسیون باعث بروز خواص زیست فعالی در آن می شود. در بین تری گلیسریدهای موجود در روغن هسته‌ی انار ECN=۳۶ با PnLnPn و PnPnPn میش ترین فراوانی (۶۱/۲۵) درصد) را دارند.

اسید پونیسیک اسید چرب با ساختار غیر اشباع، دارای نقطه‌ی ذوب پایین می باشد. لذا تری گلیسرید ساخته شده از آن نقطه‌ی ذوب بسیار کم داشته و روغن هسته‌ی انار با داشتن مقادیر قابل ملاحظه از این اسید چرب دارای خواص فیزیکو شیمیایی مشابه اسید پونیسیک می باشد. از آن جا که روغن هسته‌ی انار نقطه‌ی ذوب پایین داشته و در دمای محیط مایع می باشد، لذا کاربرد زیاد در تهیه‌ی محصولات آرایشی و بهداشتی دارد. روغن مورد مطالعه، دارای مقادیر قابل توجه ترکیبات فنلی (۱۶۸/۱۳) میلی گرم بر کیلو گرم روغن، ترکیبات توکولی (۴۲۵/۹۵) میلی گرم بر کیلو گرم روغن)، ترکیبات استرولی (۵۹۸۱/۷) میلی گرم بر کیلو گرم روغن) می باشد.

## ۵- منابع

۱- بهزادی شهربابکی، حبیب. ۱۳۷۷. پراکندگی و تنویر ارقام انار در ایران، نشر آموزش کشاورزی، وزارت کشاورزی. سازمان

- antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. *Food chemistry*. DOI: 10.1016/j.foodchem.03.040
27. Manral, M., Pandey, M. C., Jayathilakan, K., Radhakrishna, K. and Bawa, A. S. 2008. Effect of fish (*Catla catla*) frying on the quality characteristics of sunflower oil. *Food Chemistry*, 106 (2): 634-639.
  28. Martinez, J. J., Melgarejo, P., Hernandez, F., Salazar, D. M. and Martinez, R. 2006. Seed characterization of five new pomegranate varieties. *Scientia Horticulturae*. 110: 241–246.
  29. Mendez, E., Sanhueza, J., Speisky, H., and Valenzuela, A. 1996. Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73: 1033-1037.
  30. Mertens-Talcott, S. U., Jilma-Stohlawetz, P., Rios, J., Hingorani, L., and Derendorf, H. 2006. Absorption, Metabolism, and Antioxidant Effects of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Polyphenols after Ingestion of a Standardized Extract in Healthy Human Volunteers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(23), 8956-8961.
  31. Mukherjee, C. and Bhattacharyya, S. 2002. Dietary Effects of Punicic Acid on the Composition and Peroxidation of Rat Plasma Lipid. *J Oleo Sci*, 51(8): 513-522.
  32. Nehdi, I. 2011. Characteristics, chemical composition and utilisation of *Albizia julibrissin* seed oil. *Industrial Crops and Products*, 33(1), 30-34.
  33. Nugteren, D. and Christ-Hazelhof, E. 1987. Naturally occurring conjugated octadecatrienoic acids are strong inhibitors of prostaglandin biosynthesis. *Prostaglandins*, 33:403–417.
  34. Nyam, K. L., Tan, C. P., Lai, O. M., Long, K. and Che Man, Y. B. 2009. Physicochemical properties and bioactive compounds of selected seed oils. *LWT - Food Science and Technology*, 42: 1396–1403.
  35. Oomah, B. D. and Sitter, L. 2008. Characteristics of flaxseed hull oil. 2008. *Food Chemistry*, 114: 623–628.
  36. Ozgen, M., Durgac, C., Serce, S. and Kaya, C. 2008. Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in the Mediterranean region of Turkey. *Food Chem.* 111, 703-706.
  37. Parashar, A., Sinha, N. and Singh, P. 2010. Lipid contents and fatty acids composition of seed oil from twenty five pomegranates varieties grown in India. *Advance Journal of Food Science and technology*, 2 (1): 12-15.
  38. Saha, S. S. and Ghosh, M. 2009. Comparative study of antioxidant activity of [alpha]-eleostearic acid and punicic acid against oxidative stress generated by sodium arsenite. *Food and Chemical Toxicology*, 47(10): 2551-2556.
  39. San Jose' Alonso, J., Lo'pez Sastreb, J. A., Romero-A' Vila, C. and Lo'pez, E. 2008. A note on the combustion of blends of diesel and soya, sunflower and rapeseed vegetable oils in a light boiler. *Biomass and Bioenergy*, 32 (9): 880-886.
  40. Satyanarayana, A., Rao, P. P., and Rao, D. G. 2010. Influence of source and quality on the color characteristics of annatto dyes and formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43(9): 1456-1460.
  - poppy seed and seed oils. *Bioresource Technology*, 99 (14): 6354-6359.
  11. 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.
  12. Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Bentati, B., Blecker, C., Deroanne, C., Attia, H. 2007. *Nigella sativa* L.: Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chemistry*, 101 (2): 673-681.
  13. Christie, W. W. 1993. Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. . In: *Advances in lipid methodology*. (W. W. Christie ed), Oily Press, P: 69–111.
  14. El-Nemr, S. E., Ismail, I.A., Ragab, M., 1990. Chemical composition of juice and seed of pomegranate fruit. *Die Nahrung* 34, 601 .606.
  15. Farhoosh, R. 2007. The Effect of Operational Parameters of the Rancimat Method on the Determination of the Oxidative Stability Measures and Shelf-Life Prediction of Soybean Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(3), 205-209.
  16. Faria, A and Calhau C. 2010. Pomegranate in Human Health: An Overview. In: Ronald Ross W, Victor RP, editors. *Bioactive Foods in Promoting Health*. San Diego: Academic Press, pp: 551-63.
  17. Grampone, M. A. 2005. Sunflpwer oil (Sixth Edition), In: *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, (Shahidi, F. ed), John Wiley & Sons, Inc.
  18. Grossmann, M. E., Mizuno, N. K., Schuster, T., Cleary, M. P. 2010. Punicic acid is an omega-5 fatty acid capable of inhibiting breast cancer proliferation. *International Journal Oncology*. 36(2): 421-6.
  19. Gutierrez, V.R. and Barron, L.J.R. 1995. Method for analysis of triacylglycerols. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 671: 133-168.
  20. Hernandez, P., Melgarejo, J., Olias, M., Artes, F. 1998. Fatty acid composition and total lipid content of seed oil from three commercial pomegranate cultivars. CIHEAM-Options Méditerranéennes.
  21. ISO. 9936. 1997. Animal and vegetable fats and oils-Determination of tocopherols and tocotrienols content – Method using high performance liquid chromatography.
  22. ISO. 12228: 1999, Animal and vegetable fats and oils – Determination of individual and total sterol contents – Gas chromatographic method.
  23. Jiménez, E., Cabanas, M., Segade, L., García-Garabal, S. and Casas, H. 2001. Excess volume, changes of refractive index and surface tension of binary 1,2-ethanediol + 1- propanol or 1-butanol mixtures at several temperatures. *Fluid Phase Equilibria*, 180 (1-2): 151-164.
  24. Kaufman, M and Wiesman, Z. 2007. Pomegranate oil analysis with emphasis on MALDI-TOF/MS triacylglycerol fingerprinting. *J Agriculture of Food Chemistry*, 55(25): 10405-13.
  25. Lansky, E. P., Newman, R. A. 2007. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(2): 177-206.
  26. Lutterodt, H., Slavin, M., Whent , M., Turner , E. and Yu, L. 2011. Fatty acid composition, oxidative stability,

41. Schwartz, H., Ollilainen, V., Piironen, V and Lampi, A-M. 2008. Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(2): 152-161.
42. Seeram, N.P., Schulman, R. N. and Heber, D. 2006. Pomegranates: Ancient roots to modern medicine. CRC Press, Boca Raton, FL.
43. Shantha, N. C., and Decker, E. A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *J AOAC Int*, 77(2), 4.
44. Siger, A., Nogala-Kalucka, M., and Lampart-Szczapa, E. 2008. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *Journal of Food Lipids*, 15: 137–149.
45. Suzuki, R., Noguchi, R., Ota, T., Abe, M., Miyashita, K., and Kawada, T. 2001. Cytotoxic effects of conjugated trienoic fatty acids on mouse tumor and human monocytic leukemia cells. *Lipids* 36: 477-482.
46. Tan, C. P., and Che Man, Y. B. 2000. Differential scanning calorimetry analysis of edible oils: comparison of thermal properties and chemical composition. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77: 143–155.
47. Yamasaki, M., Kitagawa, T., Koyanagi, N., Chujo, H., Maeda, H., Kohno-Murase, J. and Yamada, K. 2006. Dietary effect of pomegranate seed oil on immune function and lipid metabolism in mice. *Nutrition*, 22(1): 54-59.