

ارزیابی خلوص روغن‌های زیتون بر اساس سنجش میزان تری گلیسریدهای پلیمریزه

مریم فهیم دانش

استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهریار (شهر قدس)
(پست الکترونیک: fahimdanesh78@yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۲/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۲/۲۴

چکیده

در این تحقیق با به کارگیری " کروماتوگرافی سائز حذفی با کارایی بالا" میزان تری گلیسریدهای پلیمریزه در ۹ نمونه روغن زیتون مختلف داخلی و دو نمونه روغن زیتون وارداتی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که تری گلیسرید پلیمریزه در همه‌ی نمونه‌های روغن زیتون، وجود داشت. به عبارت دیگر، در اکثر روغن‌های زیتون خریداری شده، علی‌رغم درج جملاتی مانند "۱۰۰٪ خالص" و یا "روغن زیتون بکر" با مقداری روغن زیتون تصفیه شده مخلوط شده بود. به طوری که نمونه‌ی M3 با ۱٪، M4 با ۰/۷۸٪ و M5 با ۰/۳۶٪ تری گلیسرید پلیمریزه شده به ترتیب بیش‌ترین میزان این ترکیبات را در این نمونه‌ها داشتند و نمونه‌ی M6 نیز با ۰/۰۴٪، M2 با ۰/۰۹٪ درصد کم‌ترین مقدار تری گلیسرید پلیمریزه را داشتند.

واژه‌های کلیدی: روغن زیتون بکر، درصد خلوص، تری گلیسرید پلیمریزه، HPLC.

۱- مقدمه

که بستگی به حضور اکسیژن دارد. اگرچه مکانیسم تشکیل این ترکیبات کاملاً مشخص نیست اما می‌توان گفت که این ترکیبات برای سلامت انسان مضر نیستند.

Gomes در سال ۱۹۹۲ کیفیت روغن‌های زیتون مختلف را بر اساس اندازه‌گیری مقدار کمی ترکیبات اولیگوپلیمری توسط "کروماتوگرافی سایز حذفی با کارایی بالا" انجام داد و نشان داد که میزان متوسط اولیگوپلیمرها در ۱۰۰ نمونه روغن زیتون تصفیه شده به طور میانگین ۰/۷٪ و حداقل دوبرابر برای روغن تفاله‌ی زیتون و روغن تصفیه شده می‌باشد. همچنین در روغن‌های زیتون تصفیه شده، تری‌گلیسریدهای اکسید شده و تری‌گلیسریدهای دایمر و تریمر را می‌توان شناسایی کرد. درحقیقت، این تحقیق، نشان داد که وجود مقدار جزئی ترکیبات اکسید شده نشان دهنده‌ی تماس روغن با حرارت می‌باشد (۶). از این رو عدم حضور اولیگو پلیمرها در روغن زیتون بکر می‌تواند به عنوان یک استاندارد و معیاری برای تشخیص تقلب روغن زیتون بکر با روغن‌های تصفیه شده به کار رود (۱).

براساس استاندارد آلمان در صورتی که در روغن زیتون، تری‌گلیسرید پلیمریزه شده وجود داشته باشد، حتماً نشان دهنده‌ی حضور روغن تصفیه شده در آن است. همچنین یکی دیگر از نکات مورد توجه در مورد این آزمون، این است که با استفاده از این روش می‌توان درصد تقریبی میزان روغن تصفیه شده‌ی اضافه شده به روغن زیتون بکر را تخمین زد.

با توجه به اهمیت روز افزون روغن‌ها و جایگاه ویژه‌ی رژیم غذایی در زندگی امروز و تاثیر آن‌ها در سلامتی و بیماری‌های قلبی - عروقی لازم است تا حداقل در گزینش روغن مصرفی و انتخاب نوع و کیفیت روغن مورد مصرف، مطالعه و تحقیق بیش تری انجام شود. در بین دانه‌ها و میوه‌های روغنی شاید اکثر متخصصین و محققین بر روی خواص منحصر به فرد و یکتای روغن زیتون متفق القول می‌باشند. روغن زیتون یکی از اجزای مهم تشکیل دهنده‌ی رژیم غذایی نواحی مدیترانه است که با روش استخراج مکانیکی از میوه‌ی درخت *Olea europaea* متعلق به خانواده‌ی زیتون به دست می‌آید. با توجه به این که خواص روغن زیتون با کیفیت آن در ارتباط می‌باشد و قیمت روغن‌های زیتون با کیفیت بالاتر، گران تر است، این روغن همیشه در معرض انواع تقلب‌ها قرار گرفته است. رایج ترین تقلب‌ها در روغن زیتون شامل افزودن روغن زیتون تصفیه شده به روغن زیتون بکر، افزودن روغن تفاله‌ی زیتون به انواع دیگر و همچنین مخلوط کردن درصدی از روغن‌های نباتی دیگر با روغن زیتون می‌باشد. برای شناسایی و تشخیص این تقلب‌ها، روش‌های استاندارد محدود و مشخصی توسط سازمان‌های بین‌المللی ارائه شده است.

تعیین اولیگوپلیمرها در روغن‌ها و چربی‌ها روشی است که اخیراً بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است. علت توجه به این ترکیبات و تعیین مقدار آن‌ها، شاخص مقدار اکسیداسیون و همچنین تغییرات حرارتی در طی حرارت دهی مخصوصاً در حین فرآیند تصفیه و سرخ کردن می‌باشد (۱ و ۲).

به کاربرگیری "کروماتوگرافی سایز حذفی با کارایی بالا" مناسب ترین روش برای اندازه‌گیری این ترکیبات است. معمولاً ۲ یا ۳ ستون به صورت سری به یکدیگر متصل می‌شوند که این ستون‌ها با پلیمرهای استیرن دی‌ونیل - بنزن با قطر ذرات کم تر از $10 \mu\text{m}$ پر شده‌اند.

تری‌گلیسریدهای پلیمریزه شده (PTG) در روغن، در دماهای بالاتر از ۱۰۰ درجه‌ی سانتیگراد تحت شرایطی نظیر فرآیند تصفیه، رنگبری، بی‌بوکردن و یا سرخ کردن ایجاد می‌شوند (۱). این ترکیبات می‌توانند قطبی و یا غیرقطبی باشند

جدول ۱ - استاندارد آلمان در مورد حد مجاز تری‌گلیسرید پلیمریزه شده در روغن زیتون (۳)

نوع روغن	حداکثر مجاز
روغن زیتون بکر	حداکثر ۰/۰۵٪
روغن رنگبری شده در ۱۰۰ درجه‌ی سانتیگراد	بیش تر از ۰/۰۵ تا ۰/۱٪
روغن مخلوط بوگیری شده در ۱۴۰-۱۲۰ درجه‌ی سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه	بیش تر از ۰/۱٪
روغن به شدت بوگیری شده	بیش تر از ۰/۰۵

۲-۲- مراحل تهیه و آماده سازی نمونه

۷ نمونه از روغن‌های زیتون تجاری ایرانی با مارک‌های مختلف و ۱ نمونه روغن زیتون بکر ممتاز ایتالیایی برای مقایسه تری‌گلیسریدهای پلیمریزه به صورت کاملاً تصادفی خریداری شدند. بر روی برچسب همگی آن‌ها به جز شماره‌ی ۷ که «تصفیه شده و بی بو» ذکر شده بود، سایر نمونه‌ها روغن زیتون ۱۰۰٪ خالص و بکر ممتاز درج شده بود. مشخصات درج شده بر روی نمونه‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲ - مشخصات ذکر شده بر روی برچسب نمونه‌های روغن زیتون

نمونه	مشخصات ذکر شده بر روی برچسب نمونه‌ها
M1	Virgin Olive Oil
M2	Virgin Olive Oil
M3	Virgin Olive Oil
M4	Pure Olive oil 100%
M5	Virgin Olive oil
M6	Extra Virgin Olive oil
M7	روغن زیتون تصفیه شده بی بو شده

حدود ۰/۵ gr از نمونه روغن زیتون را به دقت در یک بالون ژوژه با حجم ۲۵ ml وزن کرده و با مخلوطی از حلال‌های هگزان / دی‌اتیل اتر (۹۰ : ۱۰) به حجم رسانده شد.

برای تهیه‌ی نمونه‌ی استاندارد، ۰/۵ gr روغن زیتون بکر را با محلول تتراهیدروفوران در بالون ژوژه ۲۵ ml به حجم رسانده، سپس یک کارتریج (ستون‌های سیلیکا) را به انتهای سرنگ وصل کرده و در مرحله‌ی اول برای آماده کردن ستون ۹ cc از محلول هگزان/ اتانل اضافه شد.

۱ ml از نمونه‌ی مورد آزمایش را به داخل سرنگ متصل به کارتریج ریخته، پس از اتمام آن، ۱۰ ml از محلول هگزان /

حضور مونو و دی‌گلیسریدها در روغن زیتون می‌تواند ناشی از بیوسنتز ناقص باشد (۴) اما مهم‌ترین علت آن هیدرولیز روغن است (۳). Paganuzzi در سال ۱۹۸۷ میزان مونوگلیسریدها را در روغن زیتون بکر بسیار ناچیز و کم تر از ۰/۲۵ درصد گزارش کرد (۵).

۲- مواد و روش‌ها

این آزمایش براساس روش استاندارد DGF C11 3d با عنوان اندازه‌گیری میزان جزئی تری‌گلیسریدهای پلیمریزه (دی و اولیکومریک) انجام شد (۳). برای استاندارد مرجع تری‌گلیسریدهای مونومریک از روغن زیتون بکر استفاده شد.

۲-۱- تهیه‌ی محلول استاندارد روغن زیتون بکر

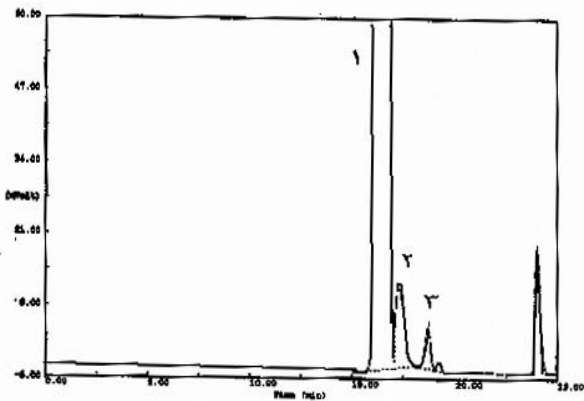
حدود ۰/۳ - ۰/۱ گرم از روغن زیتون بکر ممتاز را در بالون ژوژه ۱۰ ml وزن کرده، با حلال تتراهیدروفوران به حجم رسانده شد. این محلول مستقیماً و بدون فیلتر کردن به دستگاه (HPLC (Varian , 9610 , USA با مشخصات زیر تزریق گردید :

پمپ HPLC با جریان ۰/۷۵ ml/min (Knauer 64, Bad Hamburg, Germany) دکتور: رفاکت با حساسیت ۱۶، فاز متحرک : تتراهیدروفوران، دو عدد ستون از جنس استنلس استیل با مشخصات زیر:

1) Phenomene × Uko1625_501367 GER
06021_58830-0

2) Phenosel
طول ۳۰۰ mm، تخلخل ذرات A ۱۰۰° و قطر داخلی ۷/۶ mm، قطر ذرات داخلی ۵ μm

درجه حرارت آون و دکتور: ۳۵ درجه‌ی سانتیگراد

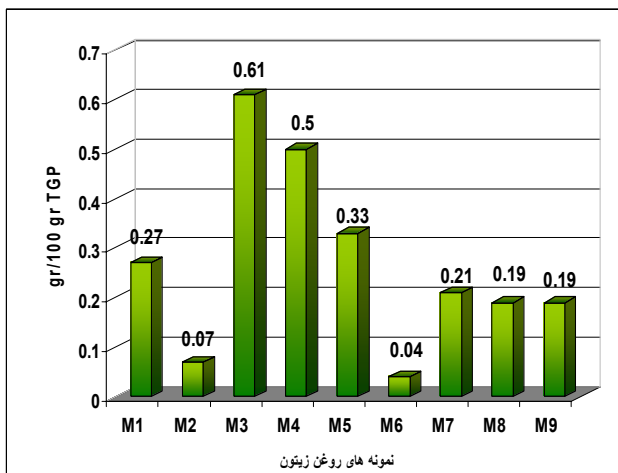


شکل ۲- تری گلیسرید پلیمریزه در روغن زیتون بکر (۱) = تری گلیسرید مونومریک ۲ = دی گلیسرید ۳ = مونو گلیسرید

۳- نتایج و بحث

تری گلیسریدهای اولگیلو پلیمریزه شده مجموع تری گلیسریدهای تریمر و تری گلیسریدهای دایمر است که حضور آن‌ها در روغن زیتون، ناشی از فساد اکسیداتیو و اعمال فرایند حرارتی در طی فرآیند تصفیه می‌باشد.

همان‌طور که در شکل‌های ۳ و ۴ مشاهده می‌شود، در تمامی نمونه‌های مورد آزمایش در این تحقیق، تری گلیسرید پلیمریزه تعیین گردید. نمونه‌ی M3 با ۱٪، M4 با ۰/۷۸٪ و M5 با ۰/۳۶٪ تری گلیسرید پلیمریزه شده، به ترتیب بیش‌ترین میزان این ترکیبات را در نمونه‌های مورد بررسی نشان دادند و نمونه‌ی M6 با ۰/۰۴٪ و M2 با ۰/۰۹٪ درصد کم‌ترین مقدار تری گلیسرید پلیمریزه را دارا بودند.



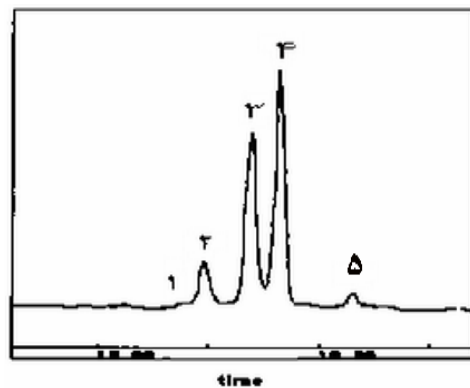
شکل ۳- درصد دی گلیسریدهای موجود در نمونه‌ها

اتانل اضافه شد. در انتها ۲۰ ml دی اتیل اتر درون سرنگ ریخته، محتوای خروجی از آن در لوله‌ی آزمایش جداگانه جمع آوری شد. سپس حلال داخل لوله‌ی آزمایش، توسط گاز ازت کاملاً خشک شد.

پس از آن ۵۰۰ µl از حلال THF (تتراهیدروفوران) اضافه شده و به دقت ۵۰ µl از این محلول برداشته، به دستگاه HPLC تزریق گردید.

۲-۳- شناسایی و تعیین کیفیت مقدار گلیسریدهای پلیمریزه شده

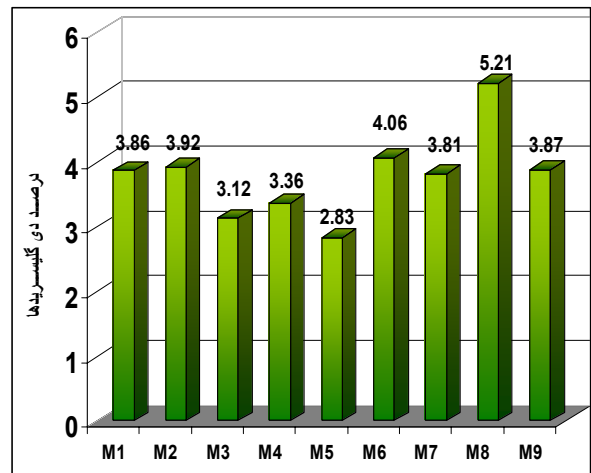
زمان خروج تری گلیسریدهای مونومریک توسط تزریق محلول استاندارد روغن زیتون مشخص می‌شود. در این آزمون فقط پیک‌هایی که زمان خروج آن‌ها در کروماتوگرام کم‌تر از اسیدهای چرب آزاد است مورد توجه هستند. مجموع سطح زیر منحنی تمام پیک‌هایی که زمان خروج کم‌تری نسبت به تری گلیسریدهای مونومریک دارند، نشان‌دهنده‌ی میزان کل تری گلیسریدهای پلیمریزه شده (دی و اولیگومریک) می‌باشد که بر حسب گرم در هر ۱۰۰ گرم (درصد) در نمونه‌های روغن زیتون محاسبه گردید.



شکل ۱- پروفیل تری گلیسرید پلیمریزه در روغن تفاله‌ی زیتون تصفیه شده (۱) = تری گلیسرید تریمر ۲ = تری گلیسرید دایمر ۳ = تری گلیسرید مونومر اکسید = ۴ = دی گلیسرید = ۵ = اسید چرب آزاد

۴- نتیجه گیری

مقدار تری‌گلیسریدهای پلیمریزه در روغن زیتون و روغن‌های نباتی دیگر در مراحل مختلف فرایند تصفیه متفاوت است و بستگی به درجه‌ی حرارت، زمان رنگبری و بی‌بوکردن دارد. به همین علت در روغن استخراج شده با پرس، تری‌گلیسریدهای پلیمریزه وجود ندارد و یا بسیار ناچیز است. روش تعیین میزان تری‌گلیسریدهای پلیمریزه را می‌توان به عنوان یک روش مطمئن جهت بررسی صحت خلوص روغن‌های زیتون بکر به کار گرفت به طوری که حتی مقادیر جزئی روغن زیتون تصفیه شده در روغن زیتون بکر قابل شناسایی می‌باشد.



شکل ۴ - میزان تری‌گلیسریدهای پلیمریزه در نمونه‌ها

۵- منابع

- 1-Gomes, T. 1992. Oligopolymer, diglyceride and oxidized triglyceride contents as measure of olive oil quality. *J Amer Oil.Chem Soc* 69(12): 1219-1223.
- 2-Daniel B. A. and Victoria R. M. 1999. Loss of tocopherols and formation of degradation compounds in triacylglycerol model systems heated at high temperature, *J.Sci Food Agric* 79: 1923-1928.
- 3- Firestone, D. 1993. Worldwide regulation of frying fats and oils. *INFORMA* 4:1366-1371.
- Frega, N., Bocci, F. and Lercker, G. 1993. Free fatty acids and diacylglycerols as quality parameters of extra virgin olive oil. *Riv.Ital.Sost.Grasse* 70:153-155.
- 4-Paganuzzi, V. 1987. Monoglycerides in vegetable oils. Note 1. *Riv.Ital.Sost.Grasse* 4:411-415.
- 5-Kiosseoglu, V. and Kouzounas, P. 1993. The Role of diglycerides, monoglycerides and free fatty acids in olive oil minor surfaceactive lipid interaction with properties at oil/water interfaces. *J.disp.Sci.Tech.* 14:527-530.

با توجه به مقدار تری‌گلیسرید پلیمریزه شده می‌توان نتیجه گرفت نمونه‌ی M6 که میزان تری‌گلیسرید پلیمریزه آن کم‌تر از ۰/۰۵٪ می‌باشد در گروه روغن زیتون بکر قرار می‌گیرد. نمونه‌های M2 و M6 روغن زیتون مخلوط هستند که درصد روغن تصفیه شده‌ی اضافه شده به آن‌ها بسیار کم می‌باشد. نمونه‌ی M3 احتمالاً با مقداری روغن تفاله‌ی زیتون نیز مخلوط شده است. سایر نمونه‌ها همگی در گروه "روغن زیتون" قرار می‌گیرند.

با توجه به استاندارد ذکر شده و نتایج به دست آمده برای ۹ نمونه روغن زیتون مشخص شد که فقط در نمونه‌ی M6، مقدار تری‌گلیسرید پلیمریزه شده کم‌تر از ۰/۰۵٪ است و با قاطعیت می‌توان آن را در گروه روغن زیتون بکر قرار داد. میزان تری‌گلیسرید پلیمریزه شده نمونه‌ی M2 ۰/۰۷ درصد تعیین گردید که نشان دهنده‌ی این است که روغن زیتون بکر با مقدار بسیار ناچیز روغن تصفیه شده مخلوط شده است. نمونه‌های M1، M4، M5، M7، M8 و M9 همگی جزو گروه "روغن زیتون" یعنی روغن‌های زیتون تصفیه شده مخلوط با روغن زیتون بکر هستند که می‌توان گفت مثلاً در نمونه‌ی M4، به میزان بسیار کمی روغن زیتون بکر اضافه شده است. نمونه‌ی M3 روغن زیتون تصفیه شده، کاملاً بوگیری شده است.