

ارزیابی کمی و کیفی آلفاتوکوفرول و بتاسیتواسترول موجود در تقطیرات بی‌بوکننده روغن زیتون

فاطمه کلاته سیف‌ری^a، مهرداد قوامی^{b*}، بابک غیائی طرزی^c

^a دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^b استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^c دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۱۰/۲۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۴/۲۲

چکیده

مقدمه: روغن زیتون به عنوان یکی از منابع اصلی چربی در رژیم غذایی علاوه بر داشتن سطح بالایی از اسید چرب غیر اشباع، حاوی ترکیبات بیولوژیکی مانند آنتی‌اکسیدان‌های فنولی بوده که قادر به جلوگیری از تأثیر مخرب رادیکال‌های آزاد و جهش‌های حاصل بر ساختارهای سلولی می‌باشد. ترکیبات غیر صابونی شونده روغن‌های گیاهی منبع غنی از ترکیبات اختصاصی مختلف از جمله استرول‌ها، توکوفرول‌ها، اسکوالن و اسیدهای چرب آزاد می‌باشد. هدف از انجام این تحقیق شناسایی و اندازه‌گیری ترکیبات غیر صابونی شونده می‌باشد که در زمان بوگیری از روغن خارج و در تقطیرات بی‌بوکننده تجمیع می‌گردد.

مواد و روش‌ها: نمونه روغن‌های زیتون و تقطیرات بی‌بوکننده از کارخانه روغن زیتون در زمان‌های مختلف جمع‌آوری شد. بر این اساس ترکیبات استرولی و توکوفرولی موجود در روغن زیتون قبل و بعد از بوگیری و در تقطیرات بی‌بوکننده مورد ارزیابی قرار گرفت. بعد از استخراج و جداسازی ترکیبات غیر صابونی شونده، بر روی صفحه کروماتوگرافی لایه نازک، شناسایی و اندازه‌گیری استرول‌ها و توکوفرول‌ها به کمک روش کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا انجام گردید.

یافته‌ها: نتایج آزمایش‌ها نشان دادند که در اثر فرایند بوگیری ترکیبات غیرصابونی روغن زیتون که شامل استرول‌ها، توکوفرول‌ها، هیدروکربن‌ها و ترکیبات دیگری از جمله اسیدهای چرب آزاد، ۴-متیل استرول‌ها، تری‌ترین‌الکل‌ها، تری‌ترین‌دیول‌ها، کاروتنوئیدها و غیره هستند کاهش یافته و در تقطیرات بی‌بوکننده جمع‌آوری می‌شوند. شایان ذکر است که به دلیل درجه حرارت بوگیری روغن زیتون که نسبتاً پایین‌تر از درجه حرارت بوگیری متداول برای روغن‌های نباتی دیگر چون سویا و آفتابگردان است تجمع این ترکیبات در تقطیرات بی‌بوکننده کمتر از روغن‌های ذکر شده می‌باشد درصد ترکیبات استرولی جمع‌آوری شده در تقطیرات بی‌بوکننده با درصد ترکیبات استرولی موجود در روغن‌های آزمایش شده تفاوت معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: تقطیرات بی‌بوکننده جمع‌آوری شده در زمان بوگیری روغن زیتون که منبع غنی از استرول‌های گیاهی و آلفا توکوفرول می‌باشد می‌تواند در فرمولاسیون مواد غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: آلفا توکوفرول، روغن زیتون، کروماتوگرافی گازی، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، مشتقات استرولی

مقدمه

میوه زیتون *Olea Europaea* دارای اندام بیضی شکل که ساختار آن متشکل از لایه بیرونی (پریکارپ) و لایه درونی (اندوکارپ)، مغز و هسته تشکیل شده^۱ است (Boskou *et al.*, 2006). هزاران سال است که زیتون در کشورهای پیرامون دریای مدیترانه کشت شده و در رژیم غذایی مردم این ناحیه و همچنین در اقتصاد و فرهنگ آن‌ها نقش مهمی دارد (Harwood, 2001). روغن زیتون یکی از منابع روغنی بسیار مفید برای سلامتی بوده، که مصرف آن در مقایسه با سایر روغن‌های خوراکی، نه تنها اثرات زیان بار بر روی سلامتی نداشته بلکه اثرات سلامتی بخش بسیاری برای آن بیان شده است (Shaddeh *et al.*, 2014). پایداری روغن‌های گیاهی در مقابل اکسیداسیون وابسته به ترکیب اسیدهای چرب، به ویژه درجه غیراشباعیت و میزان ترکیب اجزای جزیی روغن مثل توکوفرول‌ها، استرول‌های خاص، هیدروکربن‌ها (اسکوالن)، کاروتنوئیدها، پلی‌فنل‌ها و فلزات جزیی است (Boskou, 2010; Naz *et al.*, 2012). ویژگی که روغن زیتون را از دیگر روغن‌های گیاهی متمایز می‌کند روش استخراج روغن با پرس سرد است و روغن زیتون بکر بدون فرایند تصفیه تهیه می‌شود و بنابراین میزان زیادی از ترکیبات زیستی فعال مهم میوه زیتون را در خود نگه می‌دارد (Shahidi, 1990). بی‌بو کردن آخرین مرحله از تصفیه روغن‌های خوراکی است که اساساً یک عمل تقطیر با بخار در درجه حرارت بالا و تحت خلاء می‌باشد. هدف از بی‌بو کردن چربی‌ها و روغن‌ها در درجه اول خارج کردن ناخالصی‌های فرار معطر از روغن و تولید یک محصول بدون طعم و بوی خاص است. همچنین توسط این فرآیند اسیدهای چرب آزاد و مواد حاصل از اکسیداسیون چربی‌ها و روغن‌ها تبخیر و خارج شده و به این ترتیب عمر نگهداری روغن افزایش می‌یابد. بی‌بو کردن بوی خاص به وجود آمده در چربی‌ها و روغن‌های هیدروژنه (بوی همین هیدروژناسیون) را نیز از بین می‌برد (Malek, 2006). اسیدهای چرب آزاد در چربی‌ها و روغن‌ها آسان تر از سایر مواد تبخیر شده و بوسیله بی‌بو کردن مقدار آن‌ها به کمتر از ۰/۰۳ درصد کاهش می‌یابد. بنابراین افت بی‌بو کردن شامل تمام اسیدهای چرب آزاد موجود در روغن ورودی می‌شود (Tubaileh *et al.*, 2002;)

(Revaghi & Hadad khodaparas, 2008). امروزه سیاست تدوین قوانین زیست‌محیطی استفاده از سیستم‌های مجزا برای بازیابی تقطیر شده و همچنین استفاده از سیستم‌های مدار بسته معمول است. فرآورده تقطیر بوگیری^۱ حاصل از تصفیه شیمیایی به دلیل ترکیبات جزیی با ارزش مانند توکوفرول‌ها، استرول‌ها می‌تواند ارزش بالاتری داشته باشد (Silva *et al.*, 2014). توکوفرول‌ها اجزای تشکیل دهنده مهمی هستند. آن‌ها سبب پایداری قابل ملاحظه روغن می‌شوند و یکی از فواید بیولوژیکی آنها مهار رادیکال‌های آزاد است. همچنین توکوفرول‌ها در افزایش پایداری اکسیداتیو روغن طی نگهداری در حضور نور نقش موثری دارد و اثر سینرژیستی آلفا توکوفرول افزوده شده به سیستم محتوی ارتو-دی فنل نیز به اثبات رسیده است (Fennema *et al.*, 2017). برای اینکه پایداری اکسیداتیو یک روغن بی‌بو شده در حد مطلوب باشد باید مقدار زیادی از توکوفرول‌ها در روغن بی‌بو شده باقی بمانند. استرول‌ها از مهمترین ترکیبات غیر گلیسیریدی هستند و مقدار آن ۲۶۵-۱۸۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم روغن زیتون می‌باشد و ۲۰ درصد وزن ماده غیرقابل صابونی شونده را تشکیل می‌دهد و تأثیرشان در پایداری روغن در دمای بالا به‌عنوان بازدارنده واکنش‌های پلیمریزاسیون ثابت شده است اگر چه در دماهای پایین کارایی چندانی ندارد (Bohacenko & Kopicova, 2001). در طی سال‌های اخیر روش‌های مختلفی برای جداسازی ترکیبات دارای ارزش افزوده بالا از ضایعات مراحل تصفیه روغن‌ها انجام گردید. Mahesar و Sherazi در سال ۲۰۱۶ به بررسی تقطیرات بی بوکننده در روغن‌های گیاهی به‌عنوان یک منبع غنی از ترکیبات زیستی طبیعی مانند توکوفرول‌ها، استرول‌ها، اسکوالن و اسیدهای چرب آزاد که کاربردهای صنعتی فراوانی داشته پرداختند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که، بخش اعظم ترکیبات حاصل در تقطیرات بی بوکننده طی تصفیه شیمیایی روغن‌های خوراکی شامل غلظت‌های بالای از مشتقات توکوفرول‌ها و فیتواسترول‌ها و مقادیر ناچیزی از دیگر مشتقات اسیدهای چرب بود. Akgun و همکاران در سال ۲۰۱۳ با بکارگیری دو تکنیک متفاوت برای دستیابی به توکوفرول‌ها، فیتواسترول‌ها و اسکوالن از تقطیرات بی بوکننده روغن زیتون در حضور و بدون استفاده

^۱ Deodorization Distillate

در این پژوهش از شرکت‌های داخلی و مرک آلمان دارای درجه خلوص بالا و مخصوص آزمون‌های تجزیه‌ای تهیه گردید و همچنین مجموع آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی توسط دستگاه‌های مربوط مورد ارزیابی قرار گرفتند.

- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی روغن زیتون

بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه روغن زیتون مطابق با روش Ghavami و همکاران (۲۰۰۸) انجام گرفت:

اندیس اسیدی: ۲۰ میلی‌لیتر اتانول و ۲۰ میلی‌لیتر دی-اتیل اتر و ۵ قطره فنل فتالین را با هم مخلوط کرده و به آن ۵ گرم از نمونه روغن ارائه گردید. سپس مخلوط خالص را با هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال تیترا گردید. سپس با استفاده از رابطه (۱) اندیس اسیدی محاسبه گردید. از خلال خالص بدون نمونه جهت شاهد استفاده گردید (AOCS, Cd 3d-63).

(۱)

$$\text{اندیس اسیدی} = \frac{56.1 \times \text{نرمالته قلیا} \times (\text{حجم قلیا مصرفی شاهد} - \text{حجم قلیای مصرفی نمونه})}{\text{وزن نمونه}}$$

۴۵

عدد صابونی: بر مبنای روش AOC3 شماره Cd 3-25 اندازه‌گیری شد. تعیین عدد یدی و عدد پراکسید به ترتیب بر مبنای AOCS شماره Cd 1c-85 و Cd 8-53 تعیین گردید. اندیس آنیزیدین: ۴ گرم روغن شفاف و خشک را با ایزواکتان به حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر می‌رسانیم. سپس توسط دستگاه اسپکتروسکوپی جذب را در طول موج ۳۵۰ نانومتر می‌خوانیم. سپس ۱ میلی‌لیتر معرف انیسیدین به ۵ میلی‌لیتر از نمونه اضافه شد و پس از ۱۰ دقیقه دوباره جذب در طول موج ۳۵۰ نانومتر خوانده شد و از رابطه (۲) اندیس آنیزیدین محاسبه گردید (IUPAC, 1987).

(۲)

$$\text{اندیس آنیزیدین} = \frac{25 \times (\text{جذب محلول چربی} - \text{جذب محلول چربی بعد از واکنش 1.2})}{\text{وزن نمونه}}$$

اندازه‌گیری دانسیته: دانسیته به روش پیکنومتری اندازه‌گیری شد. ابتدا پیکنومتر خالی در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد وزن شد سپس پیکنومتر با روغن پر شد و وزن

از سیال فوق بحرانی را مقایسه کردند. استراتژی شامل استخراج نمونه‌های خام با استفاده از دو نوع ظرف استخراج مختلف است و بنابراین تأثیر پارامترهای فرآیند مانند دما، فشار، نوع و مقدار اصلاح‌کننده، زمان استخراج، نوع فاز ثابت و متحرک و مقدار نمونه استفاده شده مورد ارزیابی قرار گرفت. Angeles Carmona و همکاران در سال ۲۰۱۵ به بررسی تکنولوژی‌های نوین در بازیافت فیتوسترول‌ها از تقطیرات بی‌بوکننده روغن‌ها پرداختند. در این پژوهش براساس روش‌های جدید برای بازیابی فیتوسترول‌ها از تقطیرات بی‌بوکننده روغن‌ها عمدتاً بر ۴ اساس تقطیر مولکولی، تیمار آنزیمی، کریستالیزاسیون یا استخراج با سیال فوق بحرانی تاکید بسیار شد. Zhao و همکاران در سال ۲۰۱۴ به بازیافت فیتوسترول‌ها در تقطیرات بوگیری روغن سویا از روش تخمیر با کاندیدا ترئوپیکالیس پرداختند، در این تحقیق اسیدهای چرب آزاد به عنوان تنها منبع کربن استفاده گردید و بعنوان پیش ماده بین سلولی در طول تخمیر در تقطیرات بوگیری برای رشد سلول‌های مخمر استفاده گردید. در طی سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای به ترکیباتی همچون توکوفرول‌ها، استرول‌ها، اسیدهای چرب آزاد، اسکوالن و غیره با سیستم‌های سیال فوق بحرانی گاز کربنیک صورت گرفته است. اما ایراداتی همچون نیاز به حجم بالای سرمایه‌گذاری اولیه، نیاز به نیروی کار متخصص، استهلاک بالای تجهیزات مورد استفاده، حجم کم فرآوری و تولید محصول سبب شده که در این پژوهش با هدف شناسایی و اندازه‌گیری آلفاتوکوفرول و بتاستوسترول‌های موجود در تقطیرات مرحله تقطیر روغن زیتون، میزان افت این ترکیبات را در طی مراحل تصفیه، اندازه‌گیری نمود. هدف از انجام این پژوهش، بررسی و شناسایی دقیق مقادیر کمی و کیفی آلفاتوکوفرول و بتاستوسترول موجود در تقطیرات بوگیری شده روغن زیتون و اندازه‌گیری ترکیبات غیر صابونی شونده در طی دفعات نمونه‌گیری در تقطیرات بی‌بوکننده بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه مورد استفاده در این پژوهش شامل نمونه‌های روغن قبل از فرایند بوگیری، بعد از بوگیری و تقطیرات بی‌بوکننده روغن زیتون از سیستم غیر مداوم موجود در کارخانه روغن زیتون تهیه گردید که نمونه‌برداری دوبار و هر بار در دو تکرار انجام شد. محلول‌های شیمیایی مورد استفاده

ارزیابی کمی و کیفی آلفاتوکوفرول و بتاسیتواسترول تقطیرات بی‌بوکننده روغن زیتون

آن در همان دما یادداشت گردید سپس با استفاده از رابطه (۳) دانسیته نمونه اندازه‌گیری شد.

$$\text{وزن پیکنومتر خالی} - \text{وزن پیکنومتر پر شده با نمونه} \\ = \frac{\text{حجم بر حسب میلی‌لیتر}}{\text{دانسیته در دما مورد نظر}}$$

- تعیین درصد ترکیبات غیر صابونی شونده

جهت تعیین درصد و استخراج ترکیبات غیر صابونی شونده نخست مقدار مشخصی نمونه روغن با محلول هیدروکسید پتاسیم در حضور اتانول و پترولیوم اتر با استفاده از مبرد طبق روش Ghavam و همکاران (۲۰۰۸) صابونی و جدا شدند و مقدار آن طبق رابطه (۴) محاسبه گردید.

$$\text{ترکیبات غیرصابونی شونده (\%)} = \frac{(m_1 - m_0)}{W} \times 100$$

که براساس فرمول ترکیبات غیر قابل صابونی شونده:

m_1 : وزن بالن و ترکیبات غیرصابونی شونده (گرم)

m_0 : وزن بالن خالی (گرم)

W: وزن نمونه روغن (گرم)

- شناسایی و تعیین ترکیبات استرولی در نمونه‌های روغن زیتون

ترکیبات غیر صابونی استخراج شده از روغن را بر روی صفحات کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) ساخته شده از سیلیکاژل G از نوع ۶۰ نقطه گذاری کرده و ترکیبات غیر صابونی را طبق روش Ghavam و همکاران (۲۰۰۸) به اجزاء و باندهای مختلف جدا و سپس ترکیبات استرولی را پس از جداسازی از صفحه TLC به دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 6890 مجهز به آشکار کننده شعله‌ای و ستون SE 54 تزریق و با مقایسه استانداردهای مربوطه مقدار کمی و کیفی استرول‌ها شناسایی شدند (Goodall et al., 1977).

- شناسایی و تعیین مقدار توکوفرول در نمونه‌های روغن زیتون

شناسایی و تعیین مقدار توکوفرول‌های روغن‌های مورد استفاده در این پژوهش به وسیله کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مطابق استاندارد AOCS به شماره ce8-89 انجام گردید (Ahmed et al., 2005; Firestone, 1994;). HPLC مدل Youngling Acme, 9000 مورد استفاده مجهز به آشکارکننده UV-Visible در طول موج ۲۹۵ نانومتر با ستون (C-18 lichrosphereRP-100) پر شده با اندازه ذرات، طول ستون و قطر داخلی بترتیب به ابعاد (250mm×4.6mm×5μm) و از آب دوبر تقطیر به عنوان فاز متحرک با سرعت جریان ۱ میلی‌متر بر دقیقه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد استفاده گردید (Firestone, 1994).

- تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل از داده‌های مورد استفاده در این پژوهش به کمک نرم‌افزار (SAS) نسخه ۹/۱ مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفت، در نهایت با بررسی جدول آنالیز واریانس (ANOVA) داده‌های مورد استفاده در این پژوهش یکطرفه در سطح معنی‌داری (P<۰/۰۵) مورد برازش قرار گرفته و میانگین‌های حاصل به کمک آزمون دانکن گروه‌بندی و مقایسه شدند.

یافته‌ها

- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی روغن زیتون اولیه مورد استفاده در این پژوهش

نتایج حاصل از ارزیابی آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه اولیه روغن‌های زیتون دریافتی از کارخانه در جدول ۱ نشان داده شده است. اندازه‌گیری اسیدیته آزاد، اندیس پراکسید و عدد صابونی از آن جهت که از عوامل مهم کیفی بوده و جهت طبقه‌بندی روغن‌های زیتون استفاده می‌شود در یک نسبت متناسب با استاندارد می‌باشد. با عنایت به اینکه اسیدهای چرب آزاد نتیجه واکنش‌های شیمیایی مختلف خصوصاً هیدرولیز تری گلیسریدها هستند. اسیدهای چرب آزاد علاوه بر واکنش‌های هیدرولیز، طی فرآیند اکسیداسیون نیز به عنوان یک فرآورده نهایی تشکیل شده و باعث کاهش نقطه دود روغن سرخ کردنی می‌گردند. حضور اسیدهای

¹ Packed Column

محدوده مناسب قرار دارد. در نهایت با ارزیابی مهمترین خصوصیات فیزیکی روغن زیتون نظیر دانسیته و ویسکوزیته دینامیکی و ارزیابی متوسط وزن مولکولی اسیدهای چرب غیر اشباع و هیدروکسی اسیدها و مقاومت نسبی روغن در برابر جریان صورت گرفت.

- ارزیابی درصد ترکیبات غیر صابونی شونده

نتایج حاصل از این پژوهش طی دو مرحله نمونه‌گیری انجام شده است. دو نمونه شامل نمونه‌های روغن زیتون قبل و بعد از بوگیری با میانگین سه تکرار در نمودار ۱ نشان داده شده است. طی دو بار نمونه‌گیری میزان ترکیبات غیر صابونی شونده موجود در روغن زیتون به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) کاهش یافت. به طوری که بخش عظیمی از ترکیبات غیر صابونی شونده در مخازن تقطیرات بوگیری قرار گرفته و به عنوان یک منبع مناسب جهت تامین پسماندهای روغن زیتون در نظر گرفته شد.

چرب آزاد در روغن سرخ کردنی هیدرولیز تری‌گلیسریدها را کاتالیز می‌کند (Ghavami *et al.*, 2003). عدد صابونی نمایانگر میانگین وزن مولکولی اسیدهای چرب در تری‌گلیسریدهای روغن می‌باشد. عدد صابونی نمونه‌ها همگی در محدوده استاندارد روغن زیتون بود. این محدوده طبق استاندارد کدکس بین ۱۸۴ تا ۱۹۶ (میلی‌گرم پتاس بر گرم روغن) می‌باشد. همچنین تشکیل هیدروپراکسیدها با میزان اکسیداسیون اسیدهای چرب و سطوح آنتی‌اکسیدانی در ارتباط است. هیدروپراکسیدها ترکیبات شیمیایی ناپایداری هستند ولی با این وجود شاخص اجباری برای وضعیت اکسیداسیون روغن‌های گیاهی بخصوص نمونه روغن زیتون می‌باشد، بنابراین افزایش اندیس پراکسید به عنوان یک نشانه جهت پی بردن به وقوع اکسیداسیون می‌باشد (Casal *et al.*, 2010). علاوه بر این شاخص یدی بیانگر میزان غیر اشباعیت روغن بوده که نتایج مربوط به تعیین اندیس یدی و عدد آنیزیدین در نمونه اولیه مطابق استاندارد کدکس در

جدول ۱- آزمون فیزیکی و شیمیایی نمونه اولیه روغن زیتون

روغن	اسید چرب آزاد (درصد)	اندیس پراکسید (میلی‌اکی‌والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم روغن)	عدد صابونی (میلی‌گرم پتاس بر گرم روغن)	عدد یدی (گرم ید بر گرم روغن)	اندیس آنیزیدین (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	ویسکوزیته دینامیکی (سانتی‌پواز)	دانسیته (گرم بر میلی‌لیتر)
زیتون	۰/۲۱ ± ۰/۰۰۳	۶/۳ ± ۰/۰۱	۱۹۱/۳۱ ± ۲/۲۱	۸۰/۹۸ ± ۰/۱۷	۴۳/۲ ± ۰/۴	۲۲۱/۰۷ ± ۰/۳۳	۹۱۲/۹ ± ۰/۶



شکل ۱- ترکیبات غیر صابونی شونده موجود در روغن زیتون

شناسایی ترکیبات غیرصابونی شونده

نتایج حاصل از این پژوهش بر روی شناسایی اجزاء تشکیل دهنده ترکیبات غیر صابونی شونده به کمک کروماتوگرافی لایه نازک و بر اساس قطبیت این ترکیبات انجام گرفت. میزان ترکیبات غیرصابونی شونده بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم روغن مورد آزمایش بر اساس فاکتور تاخیر یا Relative Factor (RF) در رابطه (۵) گزارش گردید. مقادیر نسبی درصد ترکیبات اختصاصی غیر صابونی شونده جدا شده از روغن زیتون شامل استرولها، ۴ متیل استرول، تری ترین الکل، توکوفرول و هیدروکربن در جدول ۲ نشان داده شد. رابطه (۵):

Relative Factor (RF) = مسافت طی شده توسط یک ترکیب از یک مبدا / مسافت طی شده توسط حلال از همان مبدا $\times 100$

تجزیه و تحلیل ترکیبات استرولی نمونه روغن زیتون قبل و بعد از بوگیری

نتایج بدست آمده حاصل از این پژوهش، طی دو مرحله نمونه‌گیری، بر روی نمونه‌های (۱ و ۲) روغن زیتون قبل از بوگیری با میانگین سه تکرار در جدول ۳ نشان داده شده است. با تفسیر نمودار مذکور طی دوبار نمونه‌گیری، در نمونه دوم میزان استرولها و ترکیبات استرولی نمونه روغن زیتون قبل از بوگیری در مقایسه با نمونه اول به طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) روند افزایشی داشت که در میان ترکیبات استرولی موجود، ترکیب بتاسیتواسترول در هر دو نمونه بعنوان استرول غالب ارزیابی گردید. مقادیر ترکیب مذکور در دو حالت قبل و بعد از فرایند بوگیری اختلاف معنی‌داری داشتند. همچنین

با مقایسه میانگین داده‌های آزمایشگاهی و ضرایب (انحراف معیار) بدست آمده با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری (LSD) و آزمون دانکن در سطح ۹۵٪ و همچنین به کمک جدول تجزیه واریانس (ANOVA) بین پاسخ‌های بدست آمده از نمونه روغن زیتون بعد از بوگیری و ارزیابی صحت مدل بدست آمده با مجموع مربعات، معنی‌داری در سطح ۵٪ بین برخی از ترکیبات استرولی ارزیابی گردید. بر این اساس در میان ترکیبات استرولی مذکور بیشترین ترکیب بدست آمده مربوط به بتاسیتواسترول و کمترین مقدار آن در ارتباط با کلسترول بود. این در حالی هست که روند کلسترول بعنوان شناخته‌ترین نوع استرولها در نمونه اول بعد از بوگیری به مراتب نسبت به نمونه دوم بیشتر بود. این در حالی است که عدم معنی‌داری در مقادیر ترکیب استرولی مذکور در قبل و بعد از فرایند بوگیری مشاهده گردید (جدول ۳). شایان ذکر است که ترکیبات استرولی موجود در روغن زیتون حدود ۳۰ درصد ترکیبات غیر صابونی شونده را تشکیل می‌دهد.

شناسایی ترکیبات استرولی نمونه روغن در تقطیرات بی بوکننده

با توجه به نتایج آنالیز آماری داده‌های کمی بدست آمده حاصل از این پژوهش، طی دو مرحله نمونه‌گیری بر روی نمونه‌های روغن زیتون در بخش تقطیرات بوگیری با میانگین سه تکرار در جدول ۴ نشان داده شده است. درصد ترکیبات استرولی موجود در تقطیرات روغن زیتون همان درصد ترکیباتی را شامل می‌شوند که در قسمت استرولی روغن زیتون حضور داشتند.

جدول ۲- شناسایی اجزاء ترکیبات غیرصابونی شونده روغن زیتون

باند تشکیل شده	اندیس تقریبی $RF \times 100$	رنگ باند تحت اشعه UV بعد از پاشیدن رودامین ۶G در اتانول
فاصله نقطه گذاری و استرولها	۰-۷/۴	-
استرولها	۷/۴-۱۱/۶	زرد- طلایی
۴- متیل استرولها	۱۱/۶-۱۶/۳	زرد- طلایی
تری ترین الکل	۱۶/۳-۲۱/۱	زرد- طلایی
توکوفرولها	۲۱/۱-۴۲/۱	بنفش
فاصله توکوفرولها و هیدروکربنها	۴۲/۱-۸۹/۵	بنفش
هیدروکربن	۸۹/۵-۱۰۰	زرد

جدول ۳- ارزیابی مقادیر ترکیبات استرولی قبل و بعد از فرایند بوگیری

ردیف	ترکیبات استرولی	دفعات نمونه‌گیری	مقادیر استرول (%) قبل از بوگیری	مقادیر استرول (%) بعد از بوگیری
۱	کلسترول	نمونه ۱	۰/۵۵۶±۰/۱۱ ^{fA}	۰/۶۳۳±۰/۱۵ ^{fA}
۲	کامپسترول	نمونه ۱	۱/۳۳۳±۰/۲۵ ^{eA}	۳/۱۶۶±۰/۴۰ ^{dB}
۳	استیگماسترول	نمونه ۱	۰/۸۶۶±۰/۱۰ ^{efcA}	۱/۱۶۶±۰/۳۰ ^{dfA}
۴	بتاسیتواسترول	نمونه ۱	۷۵/۰۱±۴/۲۰ ^{baA}	۸۰/۵۳±۳/۲۱ ^{aB}
۵	دلتا-۵-اوناسترول	نمونه ۱	۷/۸۰±۱/۰۸ ^{cA}	۶/۶۶±۰/۵۵ ^{cA}
۶	دلتا-۷-استیگماسترول	نمونه ۱	۰/۶۱±۰/۳۰ ^{fA}	۰/۶۸±۰/۲۳ ^{fA}
۷	کلسترول	نمونه ۲	۰/۳۵۵±۰/۰۷۵ ^{fA}	۰/۴۰±۰/۰۱ ^{fB}
۸	کامپسترول	نمونه ۲	۳/۷۶۶±۰/۱۵۲ ^{edA}	۲/۷۶۶±۰/۱۵۲ ^{deB}
۹	استیگماسترول	نمونه ۲	۲/۹۳۶±۰/۱۱۸ ^{dA}	۲/۲۳۳±۰/۲۵ ^{eB}
۱۰	بتاسیتواسترول	نمونه ۲	۸۱/۶۶±۳/۵۲ ^{aA}	۷۶/۴۴±۲/۰۲ ^{bB}
۱۱	دلتا-۵-اوناسترول	نمونه ۲	۹/۰۳۳±۰/۴۰ ^{cA}	۷/۶۳±۰/۳۳ ^{cB}
۱۲	دلتا-۷-استیگماسترول	نمونه ۲	۰/۳۰±۰/۱۱ ^{fA}	۰/۵۰۶±۰/۰۵ ^{fB}

حروف غیر یکسان بزرگ (A-B)، نشانگر تفاوت معنی‌داری مشتقات استرولی در یک سطر با سطح $\alpha=0/05$ می‌باشد. همچنین نتایج آنالیز انجام شده با حروف کوچک (a-b-c) نمایانگر اختلاف معنی‌داری مشتقات استرولی در یک ستون را نشان می‌دهد ($P<0/05$).

جدول ۴- ترکیبات استرولی موجود در تقطیرات بوگیری روغن زیتون

ردیف	مشتقات استرولی	دفعات نمونه‌گیری	مقادیر استرول (%)
۱	کلسترول	نمونه ۱	۰/۴۶±۰/۱۵ ^d
۲	کامپسترول	نمونه ۱	۴/۰۰±۰/۲۰ ^c
۳	استیگماسترول	نمونه ۱	۲/۵۰±۰/۲۰ ^c
۴	بتاسیتواسترول	نمونه ۱	۷۵/۷۶±۱/۸۱ ^a
۵	دلتا-۵-اوناسترول	نمونه ۱	۸/۸۳±۰/۶۴ ^b
۶	دلتا-۷-استیگماسترول	نمونه ۱	۰/۴۰±۰/۱۰ ^{de}
۷	کلسترول	نمونه ۲	۰/۴۳±۰/۱۵ ^d
۸	کامپسترول	نمونه ۲	۴/۰۰±۰/۲۰ ^c
۹	استیگماسترول	نمونه ۲	۲/۸۶±۰/۲۰ ^c
۱۰	بتاسیتواسترول	نمونه ۲	۷۶/۳۰±۳/۷۷ ^a
۱۱	دلتا-۵-اوناسترول	نمونه ۲	۷/۲۳±۰/۵۵ ^b
۱۲	دلتا-۷-استیگماسترول	نمونه ۲	۰/۲۷±۰/۱۱ ^e

حروف غیر مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح $P\leq 0/05$ تفاوت معنی‌داری دارند.

نوع استرول‌ها در نمونه اول تقطیرات بوگیری به مراتب نسبت به نمونه دوم کمتر بود

- ارزیابی مقدار توکوفرول‌های موجود در روغن‌های زیتون قبل و بعد از بوگیری

با ارزیابی منحنی کالیبراسیون یک همبستگی بالا (۹۸٪) بین غلظت‌های مختلف ترکیب روغن زیتون مورد نظر بدست آمد که این همبستگی یک ارتباط مناسب را بین نمونه‌های

بر این اساس در برخی از ترکیبات استرولی روند افزایشی معنی‌دار و در برخی روند کاهشی عدم معنی‌داری مشاهده گردید که علت را احتمالاً می‌توان به حساسیت و ناپایداری برخی از این ترکیبات استرولی مذکور در بخش تقطیرات بوگیری نسبت داد. در میان ترکیبات استرولی مذکور، بتاسیتواسترول بیشترین ترکیب بدست آمده و کمترین مقدار مربوط به دلتا-۷-استیگماسترول با مقدار ۰/۲۷۳ درصد بود. این در حالی بوده که روند کلسترول بعنوان شناخته‌ترین

ارزیابی کمی و کیفی آلفا توکوفرول و بتاسیتواسترول تقطیرات بی بوکننده روغن زیتون

استرول‌های موجود در روغن زیتون شامل بتا سیتواسترول، دلتا ۵ اوناسترول و کمپسترول، آستیگماسترول، کلسترول و دلتا ۷ اوناسترول می‌باشد (Cunha *et al.*, 2007). Lin و Koseoglu در سال (۲۰۰۳) به جداسازی استرول‌ها از تقطیرات بی بوکننده با کریستالیزاسیون پرداختند. نتایج نشان داد که بالای ۹۰٪ توکوفرول‌ها و اسکوالن در تقطیرات بی بوکننده در فراکسیون فیلتر شده بازیابی شدند در حالی که کمتر از ۸۰٪ از استرول‌های کل در تقطیرات بی بوکننده در بخش فراکسیون جامد باقی ماندند و بازیابی گردیدند که نتایج حاصل با نتایج این پژوهش مغایرت در مقدار داشت که می‌توان علت را به فرسوده و مستهلک بودن تجهیزات و یا وارپته زیتونی در جهت استحصال روغن از آن دانست. Narine و Dumont در سال ۲۰۰۷ به بررسی ذخیره‌سازی ترکیبات صابونی، ویژگی‌های تقطیرات بی بوکننده، استخراج و کاربرد روغن‌های گیاهی شمال آمریکا پرداختند. نتایج حاصل از این پژوهش نیز نشان داد که بیشترین مقادیر حذف توکوفرول‌ها در طول مرحله بی بو کردن نمونه روغن رخ می‌دهد. به طوری که مقدار توکوفرول‌ها در مطالعه آن‌ها نسبت به مقدار اولیه تقریباً ۲۳٪ کاهش یافت. Carmona و همکاران در سال ۲۰۱۲ به بررسی تکنولوژی‌های جدید در بازیافت فیتواسترول‌ها از تقطیرات بی بوکننده روغن‌ها پرداختند. در این پژوهش تقطیرات بی بوکننده روغن‌ها که محصول جانبی صنایع تصفیه روغن است حاوی نسبت‌های متفاوتی از ترکیبات گوناگون از جمله فیتواسترول‌ها هستند

روغن مورد استفاده در این پژوهش براساس توکوفرول در منحنی استاندارد نشان می‌دهد. با تفسیر داده‌های کمی حاصل، با گذشت زمان میزان آلفا-توکوفرول نمونه روغن زیتون روند کاهشی مشاهده گردید که این اختلاف مقادیر عددی از لحاظ آماری در سطح ۵ درصد کاملاً معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$). نمودار ۲ تغییرات ترکیبات توکوفرولی که در ارتباط با روغن زیتون، آلفا توکوفرول بوده را در نشان می‌دهد که تغییرات قبل و بعد از بوگیری مقدار آلفا توکوفرول موجود در تقطیرات بوگیری با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشت.

بحث

ویژگی اختصاصی نمونه‌های روغن خوراکی اولیه مورد آزمون در این پژوهش، بررسی خصوصیات شیمیایی آن محصول می‌باشد. بر این اساس مقادیر کمی اسیدهای چرب روغن زیتون حاوی ۱۲/۶ درصد اسید چرب اشباع، ۷۷/۵ درصد اسید چرب تک غیر اشباعی و حدود ۹/۹ درصد اسید چرب چند غیر اشباعی ارزیابی گردید. استرول‌ها جز اصلی ترکیبات غیر قابل صابونی روغن را تشکیل می‌دهند. بر این اساس در رابطه با ترکیبات استرولی، نتایج حاصل از پژوهش Vlahakis و Hazebroek (۲۰۰۰) نشان دادند، فیتواسترول‌های اصلی روغن زیتون بتا سیتواسترول، دلتا-۵-اوناسترول و دلتا-۷-اوناسترول می‌باشند و حد مجاز کامپسترول و استیگما استرول به ترتیب ۴ و ۳ درصد است که طبق مطالعات انجام شده با نتایج بدست آمده از این تحقیق بر روی روغن زیتون مطابقت داشت. فراوانترین



شکل ۲- میزان آلفا توکوفرول نمونه روغن زیتون در طول فرایند

(حروف غیر مشابه از نظر آماری در سطح $P \leq 0.05$ تفاوت معنی‌داری دارند)

سلامت محور در کنار حفظ منابع طبیعی با توجه به سیاست‌های ابلاغی اقتصاد مقاومتی بر افزایش تولید داخلی محصولات و کالاهای اساسی (بویژه در اقلام وارداتی) برای رسیدن به خود کفایی، باید گامی جدی جهت تامین روغن مورد نیاز کشور برداشته شود.

منابع

Ahmed, M. K., Daun, J. K. & Przybylski, R. (2005). FT-IR based methodology for quantitation of total tocopherols, tocotrienols and plastochromanol-8 in vegetable oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(5), 359-364 .

Akgün, N. A., Gece, G. & Tekneci, E. (2013). Strategies to obtain tocopherols, phytosterols and squalene from deodorizer distillates and acid oils using supercritical fluids. *Lipids*, 9, 67-84 .

Angeles Carmona, M., Jimenez-Sanchidrian, C. & Rafael Ruiz, J. (2015). Recent Developments in Phytosterol Recovery from Oil Deodorizer Distillates. *Current Nutrition & Food Science*, 11(1), 4-10 .

Bohacenko, I. & Kopicova, Z. (2001). Detection of olive oils authenticity by determination of their sterol content using LC/GC. *Czech Journal of Food Sciences*, 19(3), 97-104 .

Boskou, D., Blekas, G. & Tsimidou, M. (2006). Olive oil composition Olive Oil (pp. 41-72): Elsevier.

Boskou, G. (2010). Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market Olives and olive oil in health and disease prevention (pp. 925-934): Elsevier.

Carmona, C. J., Ramírez-Gallego, S., Torres, F., Bernal, E., del Jesús, M. J. & García, S. (2012). Web usage mining to improve the design of an e-commerce website: OrOliveSur.com. *Expert Systems with Applications*, 39(12), 11243-11249 .

Casal, S., Malheiro, R., Sendas, A., Oliveira, B. P. & Pereira, J. A. (2010). Olive oil stability under deep-frying conditions. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2972-2979 .

Cunha, S. C., Lehotay, S. J., Mastovska, K., Fernandes, J. O., Beatriz, M. & Oliveira, P. (2007). Evaluation of the QuEChERS sample preparation approach for the analysis of pesticide residues in olives. *Journal of Separation Science*, 30(4), 620-632 .

که به طور گسترده در صنایع دارویی، غذایی و آرایشی استفاده می‌شوند (Sujith Kumar *et al.*, 2017). آلفا-توکوفرول، گیرنده چربی‌های رادیکالی است و از این طریق به واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های چربی خاتمه می‌دهد و بعنوان آنتی‌اکسیدان اثر خود را اعمال می‌کند. Verhe و همکاران در سال ۲۰۰۶ به بررسی اثر تصفیه روغن‌های گیاهی بر ترکیبات جزئی و تفاوت در تصفیه شیمیایی و فیزیکی آن پرداختند. نتایج نشان داد که کاهش مقادیر توکوفرول‌ها در روغن تصفیه شده عمدتاً به دلیل اکسیداسیون توکوفرول‌ها است، نتایج دستگاهی افت توکوفرول‌ها در تصفیه فیزیکی روغن ذرت در دمای ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد، فشار ۲ میلی‌بار، بخار ۱/۵ درصد و زمان ۸۰ دقیقه، آلفا-توکوفرول: ۳۲/۹ درصد، گاما-توکوفرول: ۲۷/۳ درصد، دلتا-توکوفرول: ۳۱/۴ درصد و کل توکوفرول‌ها: ۲۸/۳ درصد بدست آمد که در مقایسه با نتایج حاصل از این پژوهش که در نتیجه‌گیری جدول ۴ این پژوهش بر روی روغن زیتون آمده مغایرت داشت.

نتیجه‌گیری

پایداری روغن‌های گیاهی در مقابل اکسیداسیون وابسته به ترکیب اسیدهای چرب، به ویژه درجه غیراشباعیت و میزان ترکیب اجزای جزئی روغن مثل توکوفرول‌ها به خصوص آلفا-توکوفرول، استرول‌های خاص، هیدروکربن‌ها (اسکوالن)، کاروتنوئیدها، پلی‌فنل‌ها، ترکیبات ضد کف و فلزات جزئی است. با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش می‌توان اشاره داشت که بخشی از محصولات حاصل از ترکیبات غیر صابونی شامل استرول‌ها، ۴-متیل استرول‌ها، تری‌ترین‌ال‌ها، تری‌ترین‌دیول‌ها، توکوفرول‌ها و اسکوالن در تقطیرات بوگیری جمع‌آوری می‌گردند. همچنین حضور ترکیبات آلفا توکوفرول و استرول‌ها به عنوان ترکیباتی فراسودمند در صنایع غذایی و همچنین بعنوان پیش ماده در صنایع آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. بنابراین با توجه به مطالعه انجام شده بخش عمده‌ای از این ترکیبات از طریق فرایند بی‌بو کردن خارج شده و به نوعی به هدر می‌روند. پس فرایند تقطیر بوگیری مناسب‌ترین روش جهت بازیابی این ترکیبات و استفاده از آن‌ها در فرمولاسیون مواد غذایی دیگر و همچنین دیگر صنایع می‌باشد. لذا با حرکت به سمت خود اتکایی در تولید محصولات ضروری و

- Dumont, M. J. & Narine, S. S. (2007). Soapstock and deodorizer distillates from North American vegetable oils: Review on their characterization, extraction and utilization. *Food Research International*, 40(8), 957-974 .
- Fennema, O. R., Damodaran, S. & Parkin, K. L. (2017). Introduction to food chemistry Fennema's Food Chemistry (pp. 1-16): CRC Press.
- Firestone, D. (1994). American Oil Chemists' Society. Champaign, IL, USA: AOCS press.
- Ghavami, A., Sadalpure, K. S., Johnston, B. D., Lobera, M., Snider, B. B. & Pinto, B. M. (2003). Improved syntheses of the naturally occurring glycosidase inhibitor salacinol. *Synlett*, 2003(09), 1259-1262 .
- Ghavami, M., Charachorloo, M. & Ghiassi Tarzi, B. (2008). Laboratory Techniques - Oil & Fats. Islamic Azad University Press, Research and Sciences Branch, Tehran, 155-146 [In Persian].
- Goodall, A., Wilkinson, M. & Hearn, J. (1977). Mechanism of emulsion polymerization of styrene in soap-free systems. *Journal of polymer science: Polymer chemistry edition*, 15(9), 2193-2218 .
- Harwood, A. J. (2001). Regulation of GSK-3: a cellular multiprocessor. *Cell*, 105(7), 821-824 .
- IUPAC. (1987). International union of pure and applied chemistry, standard methods and applications (Vol. 7th). New York :Blackwell Scientific Publishers.
- Lin, K. M. & Koseoglu, S. (2003). Separation of sterols from deodorizer distillate by crystallization. *Journal of Food Lipids*, 10(2), 107-127 .
- Malek, F. (2006). Olive oil: chemistry and technology, Tehran University Press, 1th Ed, 1-201 [In Persian].
- Nalda-Romero, P., Masson, L., Ortiz, J., Gonzalez, K., Tapia, K. & Dobaganes, C. (2007). Effect of α -tocopherol, α -tocotrienol and Rosa mosqueta shell extract on the performance of antioxidant stripped canola oil (*Brassica sp.*) at high temperature. *Food Chemistry*, 104, 383-389 .
- Naz, S., Sherazi, S., Talpur, F. N., Talpur, M. Y. & Kara, H. (2012). Determination of unsaponifiable constituents of deodorizer distillates by GC-MS. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(6), 973-977 .
- Revaghi, M. & Hadad khodaparast, V., (2008), Investigating the benefits of physical treatment of olive oil and pumice oil, First specialized conference on olive oil (21-February), 63-58 [In Persian].
- Shaddel, R., Maskooki, A., Haddad-Khodaparast, M. H., Azadmard-Damirchi, S., Mohamadi, M. & Fathi-Achachlouei, B. (2014). Optimization of extraction process of bioactive compounds from Bene hull using subcritical water. *Food Science and Biotechnology*, 23(5), 1459-1468 .
- Shahidi, F. (1990). Canola and rapeseed: production, chemistry, nutrition, and processing technology: Springer Science & Business Media.
- Sherazi, S. T. H. & Mahesar, S. A. (2016). Vegetable oil deodorizer distillate: a rich source of the natural bioactive components. *Journal of oleo science*, ess16125 .
- Silva, S. M., Sampaio ,K. A., Ceriani, R., Verhe, R., Stevens, C., De Greyt, W. & Meirelles, A. J. (2014). Effect of type of bleaching earth on the final color of refined palm oil. *LWT-Food Science and Technology*, 59(2), 1258-1264 .
- Sujith Kumar, M., Mawlong, I. & Singh, D. (2017). Phytosterol recovery from oilseeds: Recent advances. *Journal of Food Process Engineering*, 40(3), e12466 .
- Tubaileh, R. M., Garrido-Fernández, A., Ruiz-Méndez, M. V., León-Camacho, M. & Graciani-Constante, E. (2002). Effects of physical refining on contents of waxes and fatty alcohols of refined olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(1), 101-104 .
- Verhé, R., Verleyen, T., Van Hoed, V. & De Greyt, W. (2006). Influence of refining of vegetable oils on minor components. *Journal of Oil Palm Research*, 4, 168-179 .
- Vlahakis, C. & Hazebroek, J. (2000). Phytosterol accumulation in canola, sunflower, and soybean oils: effects of genetics, planting location, and temperature. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(1), 49-53 .
- Zhao, G., Hu, T. & Zhao, L. (2014). Fermentation of soybean oil deodorizer distillate with *Candidatropicalis* to concentrate phytosterols and to produce sterols-rich yeast cells. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 41(3), 579-584 .

Evaluation of α -Tocopherol and β -Sitosterol in Distillates of Refined Olive Oil

F. Kalateh Seifari^a, M. Ghavami^{b*}, B. Ghiasi Tarzi^c

^a M. Sc. Graduated of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

^b Professor of the Department of Food Science and Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

^c Associate Professor of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 15 January 2018

Accepted: 13 July 2018

Abstract

Introduction: Olive oil, as the major source of lipids in the diet, has a high amount of unsaturated fatty acids and biological components such as phenolic antioxidants that could prevent the destructive effect of free radicals and mutation of cell structures. The nonsaponifiable components of vegetable oils are good sources of specific compounds such as sterols, tocopherols, squalene, fatty acids, and other substances. The aim of this investigation is to determine the components in particular α -Tocopherol and β -Sitosterol through deodorization process and have been accumulated in the distillate tank.

Materials and Methods: Olive oil and distillates were provided by Roghan-e-Ziton Nabe Tavakoly manufacturing company. Sterols and tocopherols were evaluated before and after the deodorization process and in the distilled tank. Qualitative and quantitative determination of sterols and tocopherols were conducted using gas chromatography and high-performance liquid chromatography after the extraction of nonsaponifiable matters.

Results: The results showed that the deodorization process decreased the nonsaponifiable matters of olive oil such as sterols, tocopherols, hydrocarbons and some other components namely free fatty acids. Due to the lower temperature of the deodorization process for olive oil, in comparison to soyabean or sunflower oils, the accumulation of these components in the distilled tank were lower. There was no significant difference between sterol composition in distilled tank and oil samples.

Conclusion: Collected compounds in the distilled tank are valuable sources of vegetable sterols and α -tocopherol which might be employed in food and pharmaceutical formulation and industries.

Keywords: *α -Tocopherol, Gas Chromatography, High-Performance Liquid Chromatography, Olive Oil, Sterols.*

* Corresponding Author: mehrdad_ghavami@yahoo.com