

اثر پارامتر محیطی دما روی $\Delta ECN42$ روغن زیتون ایرانی

سمانه آهنگر بناد کوکی^{۱*}، زهرا پیراوی ونک^۲، محمد حسین حداد خدا پرست^۳،

حامد صفافر^۴

۱- کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه سبزوار

۲- استادیار پژوهشگاه استاندارد- سازمان ملی استاندارد ایران

۳- استاد علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد

۴- مدیر عامل آزمایشگاه تکنو آزما

(تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۱/۲۳)

چکیده

در این تحقیق $\Delta ECN42$ روغن زیتون شیراز مربوط به سال زراعی ۱۳۸۸ مورد بررسی قرار گرفت و با نتایج پیراوی (۲۰۰۹) مقایسه شد. نمونه‌برداری صورت گرفته شامل دو گروه روغن زیتون طبیعی و روغن زیتون تصفیه شده بود. آنالیز اسیدهای چرب با دستگاه GC انجام شد و با استفاده از نتایج اسیدهای چرب $ECN42$ تئوری توسط نرم‌افزار ارائه شده توسط شورای بین‌المللی روغن زیتون محاسبه گردید و $ECN42$ واقعی با دستگاه HPLC تعیین شد. نتایج نشان داد که مقدار اسید لینولئیک در اثر برخی شرایط محیطی، مانند دما، افزایش یافت و به دنبال آن میزان $\Delta ECN42$ هم زیاد شد. آنالیز آماری نشان داد که بین دو پارامتر $\Delta ECN42$ و اسید لینولئیک (C18:2) همبستگی مثبت در سطح ۰/۰۵ وجود دارد و آزمون آماری در مورد $ECN42$ تئوری و واقعی نشان داد که بین این دو پارامتر همبستگی مثبت در سطح ۰/۰۱ وجود دارد.

کلید واژگان: $\Delta ECN42$ ، دما، اسیدهای چرب، روغن زیتون

1. Equivalent carbon number

*مسئول مکاتبات: samaneh.ahangar@yahoo.com

۱- مقدمه

کشور ایران از نظر واردات روغن خام و دانه های روغنی حدود ۸۰ درصد به خارج از کشور نیازمند است و یکی از برنامه های مهم وزارت جهاد کشاورزی تامین بخشی از این نیاز توسط کشت زیتون می باشد. تثبیت برقراری ارتباط کشورمان با مجامع بین المللی از طریق عضویت رسمی در شورای بین المللی روغن زیتون^۱ (IOOC) از تاریخ ششم ژانویه ۲۰۰۴ و حضور فعال در اجلاسها و کمیته های فنی و تخصصی این شورا سبب افزایش تولید و مصرف میوه و روغن زیتون شده است [۱].

ترکیب تشکیل دهنده میوه زیتون به عوامل مختلفی بستگی دارد که بیشتر تحت تاثیر وارته میوه قرار دارد، با این وجود دیگر فاکتورهای اصلی مثل شرایط آب و هوایی، منطقه جغرافیایی، ویژگی های خاک، میزان آبیاری، وضعیت رسیدگی میوه و تکنولوژی استخراج می تواند بر بیوستتر ترکیبات میوه و در نتیجه ترکیب اسیدهای چرب و تری آسید گلیسرول های روغن تاثیر بگذارد. اهمیت این موضوع تا حدی است که اعتبار و صحت روغن های زیتون طبیعی در اسپانیا به میزان زیادی با توجه به منطقه جغرافیایی تولید کننده آن تعیین می شود [۲].

۹۸ تا ۹۹ درصد ترکیبات روغن زیتون را مخلوطی از تری آسید گلیسرول های اشباع و غیر اشباع تشکیل می دهند، ترکیب روغن زیتون در ارقام مختلف و شرایط مختلف کاشت به طور قابل توجهی متفاوت اما در طول دوره رشد و نمو هر رقم نسبتاً ثابت است [۳]. تری آسید گلیسرول های کاملاً اشباع نظیر SPS, PSP, SSS, PPP و تری آسید گلیسرول های دارای سه پیوند غیر اشباع در روغن زیتون وجود ندارند [۴]. بر اساس اطلاعات به دست آمده از روغن های زیتون کشورهای اسپانیا، ایتالیا، یونان، پرتغال، و فرانسه تری آسید گلیسرول های اصلی شامل LOO, PLO, POO می باشند [۵].

$\Delta ECN42$ یک پارامتر مهم در شناسایی انواع روغن زیتون طبیعی و تصفیه شده می باشد و امکان شناسایی اختلاط دانه های روغنی در سطح ۳-۱ درصد با استفاده از $\Delta ECN42$ در روغن زیتون امکان پذیر می باشد. از این

پارامتر برای شناسایی مخلوط روغن های زیتون با روغن گیاهی آفتابگردان و سویا که حاوی مقدار اسید چرب لینولئیک (C18:2) به مقدار قابل توجه است استفاده می شود. $\Delta ECN42$ بر اساس تفاوت بین تری آسید گلیسرول ECN42 تئوری و واقعی محاسبه می شود، بنابراین جهت تعیین این پارامتر تری آسید گلیسرول تمامی نمونه ها اندازه گیری شد [۶، ۷].

با توجه به تحقیقات انجام گرفته نشان داده شده که در مناطق گرمسیری میزان اسید اولئیک کاهش یافته در حالیکه در مورد اسیدلینولئیک عکس این حالت مشاهده می شود [۸]. ولی این موضوع در ایران فقط در رابطه با ساختار اسیدهای چرب انجام شده و اثر دما روی $\Delta ECN42$ که تفاوت بین مقدار تری آسید گلیسرول ها از روش HPLC (مقدار واقعی) با مقدار تئوری که از طریق دستگاه GC اندازه گیری می شود، مشخص نشده است. بنابراین هدف از این تحقیق بررسی اثر دمای محیط بر ترکیبات اسیدهای چرب روغن زیتون و $\Delta ECN42$ می باشد.

۲- مواد و روشها

۲-۱- نمونه

تعداد ۱۳ نمونه روغن زیتون از مناطق واقع در شیراز در سال زراعی ۱۳۸۸ مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۴۹۳ تهیه گردید [۹] و با نتایج ۲۲ نمونه دکتر پیراوی (۲۰۰۹) مقایسه شد [۱۱ و ۱۰].

نمونه ها شامل ۲۴ نمونه روغن زیتون بکر و ۱۱ نمونه روغن زیتون تصفیه شده بود.

جدول ۱ کد شناسایی نمونه ها

نام نمونه	علامت اختصاری
شیراز	S
گیلان	G
قزوین	Q
زنجان	Z
گلستان	GO
بکر	V
تصفیه شده	R

1. International olive oil council

۲-۲- مواد مصرفی

تمامی مواد شیمیائی مورد استفاده در این تحقیق به همراه استاندارد مواد شیمیائی مورد نیاز، ساخت شرکت Merck آلمان بودند.

۲-۳- وسایل

- دستگاه GC، ساخت شرکت Younglin مدل Acme 6000، مجهز به دتکتور FID و ستون موئین HP-5 با طول ۱۲۰m، قطر داخلی ۰/۲۵mm و اندازه ذرات ۰/۲۵μm - دستگاه HPLC، ساخت شرکت Younglin مدل Acme 9000 مجهز به آشکار ساز RI، پمپ چهارتایی و برنامه نرم افزاری Autochrom و ستون RP-100 با طول ۲۵cm، قطر داخلی ۴mm و اندازه ذرات ۴μm.

۲-۴- اندازه گیری ΔECN42 در انواع

روغن ها

مقدار تری لینولئین (گلیسرول تری لینولات)، پس از جداسازی تری آسید گلیسرول ها، بر اساس وزن مولکولی و درجه غیر اشباعی با روش HPLC مخصوص روغن های نیمه خشک، تخمین زده می شود. جداسازی بر اساس ناحیه پیک هاست که با عدد زنجیری هم ارز ۴۲ مطابقت دارد. یک عدد زنجیری هم ارز (ECN) با رابطه زیر تعیین می شود: $ECN = CN - 2n$ که در آن CN اتم کربن مولکول تری آسید گلیسرول و n تعداد پیوندهای دوگانه است. این رابطه برای گلیسرول تری لینولات، مقدار ECN را ۴۲ می دهد ($3 \times 18 - 2 \times 6 = 42$) [۶].

۲-۵- تعیین اختلاف بین ECN42 واقعی و

ECN42 تئوری

این آزمون مطابق با روش IOOC انجام شد [۶]. ECN42 تئوری از طریق ترکیب اسید چرب حاصل می شود و ECN42 واقعی با HPLC تعیین می شود. برای تعیین ECN42 واقعی توسط دستگاه HPLC ابتدا، 0.01 ± 0.5 گرم از نمونه در یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتر ریخته و با حلال استون به حجم رسانده می شود. برای تزریق ابتدا بایستی سیستم دستگاه را آماده سازی نمود. برای

این کار از حلال پروپیونتریل^۱ با سرعت ۱/۵ml/min استفاده می شود که وارد دستگاه شده تا داخل سیستم را تمیز نموده و خطایی در آنالیز صورت نگیرد. بعد از وارد کردن حلال منتظر مانده تا خط مبنا ثابت شده و ۱۰μl از نمونه را که قبلاً آماده سازی شده به دستگاه تزریق می شود.

۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

روش تجزیه آماری از نوع آنالیز واریانس دو طرفه و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 18 انجام گرفت. مقایسه میانگین ها در سطح ۰/۰۱ انجام شد و با آزمون پیرسون سطح معنی دار بودن و فاصله اطمینان به دست آمد.

۳- نتایج و بحث

تفاوت روغن ها و چربی ها ناشی از اختلاف در نوع و میزان اسیدهای چرب تشکیل دهنده آنها است. ساختار اسیدهای چرب روغن های گیاهی تحت تاثیر محیط رشد گیاه قرار می گیرد و در بین عوامل محیطی احتمالاً درجه حرارت بیشترین نقش را دارد [۲].

اسید اولئیک (C18:1) مهمترین اسید چرب در ارتباط با ۲ گروه روغن زیتون ایرانی مورد بررسی (بکر و تصفیه) است، که میانگین مقدار آن برای روغن زیتون بکر ۷۰/۰۵ درصد و برای روغن زیتون تصفیه شده ۶۷/۱۹ درصد بوده است، که این نتیجه با تحقیقات بعمل آمده سازگاری دارد [۵]. مقدار اسید اولئیک در روغن زیتون بکر بیشتر از روغن زیتون تصفیه شده است. اسید لینولئیک (C18:2) با مقدار ۱۰/۹۴ درصد برای روغن زیتون بکر و ۱۲/۰۱ درصد برای روغن زیتون تصفیه شده بعد از اسید اولئیک قرار می گیرد که مقدار آن در روغن زیتون تصفیه شده بیشتر است. اسید پالمیتیک مهمترین اسید چرب اشباع در انواع روغن زیتون آنالیز شده بوده است.

بر اساس نتایج حاصله مطابق با جداول ۱ و ۲، مقادیر حاصله از اسیدهای چرب با مقررات اعلام شده از کدکس و شورای بین المللی روغن زیتون مطابقت دارد. اختلاف موجود در ترکیب اسیدهای چرب بر اساس پژوهش های صورت گرفته می تواند به دلیل فاکتورهای مهمی مانند واریته، وضعیت اقلیمی و رسیدگی محصول باشد [۱۳، ۱۲].

جدول ۲ میانگین اسیدهای چرب روغن زیتون بکر (بر حسب درصد)

Sample	C14:0	C16:0	C16:1	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1c	C18:1t	C18:2c	C18:2t	C20:0	C18:3c	C20:1	C22:0	C24:0
VS	۰/۰۳	۱۴/۱۳	۱/۳۶	۰/۰۶	۰/۰۹	۳/۴۱	۶۲/۲۴	۰/۰۳	۱۶/۵۳	۰/۰۲	۰/۴۶	۰/۹۷	۰/۳۱	۰/۱۴	۰/۰۹
VG	۰/۰۰۸	۱۳/۴۴	۰/۰۶	۰/۰۷	۰/۱۰	۳/۱۴	۷۰/۵۴	۰/۰۱	۱۰/۲۱	۰/۰۰۷	۰/۴۹	۰/۵۹	۰/۲۷	۰/۱۱	۰/۰۵
VQ	۰/۰۰۷	۱۲/۴۲	۰/۰۹	۰/۰۶	۰/۱۰	۲/۹۶	۷۲/۳۳	۰/۰۱	۹/۵۷	۰/۰۰۲	۰/۴۵	۰/۵۵	۰/۲۷	۰/۱۳	۰/۰۵
VZ	۰/۰۰۵	۱۲/۱۵	۰/۰۸	۰/۰۴	۰/۰۷	۲/۸۰	۷۲/۵۸	nd*	۹/۹۹	nd*	۰/۵۱	۰/۵۹	۰/۲۷	۰/۰۹	۰/۰۴
VGO	۰/۰۱	۱۲/۹۳	۱/۰۱	۰/۰۴	۰/۰۸	۳/۰۹	۷۲/۳۷	۰/۰۲	۸/۶	۰/۰۰۴	۰/۵۱	۰/۶۴	۰/۲۷	۰/۱۳	۰/۰۷
Mean	۰/۰۱	۱۳/۰۱	۱/۰۲	۰/۰۵	۰/۰۸	۳/۰۸	۷۰/۰۵	۰/۰۱	۱۰/۹۴	۰/۰۰۶	۰/۴۸	۰/۶۶	۰/۲۷	۰/۱۲	۰/۰۶

* Non detected

جدول ۳ میانگین اسیدهای چرب روغن زیتون تصفیه شده (بر حسب درصد)

Sample	C14:0	C16:0	C16:1	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1c	C18:1t	C18:2c	C18:2t	C20:0	C18:3c	C20:1	C22:0	C24:0
RS	۰/۰۳	۱۴/۱۳	۱/۳۶	۰/۰۶	۰/۰۹	۳/۴۱	۶۲/۲۴	۰/۰۳	۱۶/۵۳	۰/۰۲	۰/۴۶	۰/۹۷	۰/۳۱	۰/۱۴	۰/۰۹
RQ	۰/۰۱	۱۳/۹	۰/۰۸	۰/۰۵	۰/۰۹	۳/۰۸	۶۹/۸۳	۰/۰۳	۹/۳۴	۰/۰۲	۰/۶۲	۰/۵۹	۰/۲۸	۰/۱۴	۰/۰۹
RG	۰/۰۱	۱۳/۶۷	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۸	۳/۶۱	۶۹/۵۰	۰/۰۳	۱۰/۱۷	۰/۰۲	۰/۵۷	۰/۶۱	۰/۲۹	۰/۱۴	۰/۰۹
Mean	۰/۰۱	۱۳/۹۰	۱/۰۲	۰/۰۱	۰/۰۵	۳/۶۳	۶۷/۱۹	۰/۰۳	۱۲/۰۱	۰/۰۲	۰/۵۵	۰/۸۲	۰/۲۹	۰/۱۴	۰/۰۹

در دو منطقه آب و هوایی مقادیر $\Delta ECN42$ (۰/۲۳) تا (۰/۴۲) بوده است که با مقادیر حاصل از $\Delta ECN42$ برای انواع روغن زیتون ایرانی مطابقت دارد. آنالیز آماری نشان می‌دهد بین میزان $ECN42$ تئوری و $ECN42$ واقعی همبستگی مثبت بوده است و همچنین میزان این دو پارامتر ($ECN42$ تئوری و $ECN42$ واقعی) و اسید لینولئیک (C18:2) همبستگی مثبت در سطح ۰/۰۱ داشته‌اند.

در شیراز که مقدار اسید لینولئیک آن نسبت به دیگر شهرها بیشتر است دو پارامتر $ECN42$ تئوری و $ECN42$ واقعی بیشتری نیز نسبت به سایر مناطق داشته‌اند. بین دو پارامتر $\Delta ECN42$ و اسید لینولئیک همبستگی مثبت در سطح ۰/۰۵ وجود دارد. بالاترین میزان $\Delta ECN42$ و اسید لینولئیک در شیراز قابل ذکر است.

جدول ۴ میانگین مقادیر $\Delta ECN42$ روغن زیتون بکر

Sample	$\Delta ECN42$
VS	۰/۱۹
VG	۰/۱۵
VQ	۰/۱۲
VZ	۰/۱۰
VGO	۰/۰۶
Mean	۰/۱۲

تریگو با تحقیق روی روغن‌های زیتون جمع آوری شده از تونس نشان داد، روغن بدست آمده از مناطق جنوبی میزان اسید لینولئیک بیشتری نسبت به روغنهای حاصله از مناطق شمالی داشته در حالیکه در مورد اسید اولئیک عکس این حالت مشاهده شد [۸]. در شیراز که در جنوب واقع می‌باشد میانگین اسید لینولئیک ۱۶/۵۳ درصد بوده است که در مقایسه با شهرهای دیگر که در مناطق شمالی کشور قرار دارند بیشتر می‌باشد، در حالیکه در مورد اسید اولئیک عکس این حالت مشاهده و مقدار آن در شمال بیشتر بوده است. و بالاترین مقدار آن با میزان ۷۲/۵۸ درصد در زنجان محاسبه گردید.

نتایج $\Delta ECN42$ و $ECN42$ واقعی و $ECN42$ تئوری به ترتیب در جدول‌های ۳ تا ۶ آورده شده است. همانطور که قبلاً گفته شد $\Delta ECN42$ بر اساس تفاوت بین تری آسید گلیسرول $ECN42$ واقعی و تئوری محاسبه می‌شود، بنابراین جهت تعیین این پارامتر ساختار تری آسید گلیسرول تمامی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. با توجه به جداول ۳ و ۴ مقدار این فاکتور با مقررات تعیین شده از سوی کدکس، اتحادیه اروپا، و شورای بین المللی روغن زیتون مطابقت دارد.

تحقیق بعمل آمده توسط [۱۴] روی $\Delta ECN42$ نشان داده است که در ارتباط با واریته‌های مختلف کرونیکی^۱ زیتون

۵- منابع

- [1] Report of the Ministry of Jihad e Agriculture (Iran) - Bureau of Olive: 2008.
- [2] Dennis, P., Nieddu, G. and Spano, D., 1994, Olive oil quality in relation to environmental condition, *Acta Horticulture*, [33]6Fedeli, E. 1977. Lipids of olive prog Chem. Fast and other lipids, 15: 57.
- [4] Firestone, D., E. Fedeli, and E.W. Emmons.1996. Baileys Industrial Oil & Fat products, 5th Ed., Vol. 2, Y. H. Hui (Ed.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, 241-269
- [5] Ollivier, D., Artaud, J., Pinatel, C., Durbec, J. P. and Guerere, M., 2003, Characterization by chemometrics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 5723 – 5731
- [6] IOOC Determination of the difference between actual and theoretical content of triacylglycerols with ECN 42. 2001 COI/T.20/Doc.no.20.
- [7] Codex. 2003, Codex standard for olive oils and olive pomace oils, stan 33: 1 – 9.
- [8] Trigui, A.1996, Improving the quality and quantity of the production in Tunisia, *Olivae*. No. 61
- [9] ISO5555: 2001 Animal and Vegetable Fats and Oils- Sampling.
- [10] Piravi-vanak, Z., Ghavami, M., Ezzatpanah, H., Arab, J., Safafar, H. and Ghasemi, J. B., 2009, Evaluation of Authenticity of Iranian olive oil by fatty acid and triacylglycerol Profiles, *Journal of American Chemists' Society*, 86: 827-833.
- [11] Piravi-vanak, Z., Ghasemi, J. B., Ghavami, M., Ezzatpanah, H., 2010, Detection and Quantification of Adulteration in olive oils by Global Method and Extinction Coefficient, *Australian journal of Basic and Applied Science*, 4(12): 6254-6259.
- [12] Di bella G., R. Maisano, L. Lapera, V. Loturco, F. Salvo and G. Dugo. 2007. Statistical Characterization of Sicilian Olive Oils from the Peloritana and Maghrebian Zones According to the fatty acid profile *J. Agric. Food Chem*, 55: 6568-6574.
- [13] Lopez-Feria. S., S. Cardenas, JA.Garc-Mesa and MV.Alcarcel. 2008. Classification of extra virgin olive oils according to the protected designation of origin, olive Variety and geographical origin, *Talanta*. 75: 937-943.
- [14] Surinder K. and T.R. sharma, 1991. Fatty acid. Composition of Himachal.Olive oil. *Journal of Food Science Technology*, India 28 (3): 171-173.

جدول ۵ میانگین مقادیر $\Delta ECN42$ روغن زیتون تصفیه

Sample	$\Delta ECN42$
RS	۰/۲۹
RQ	۰/۰۵
RG	۰/۱۸
Mean	۰/۱۷

جدول ۶ میانگین مقادیر $ECN42$ واقعی و تئوری روغن زیتون

بکر

Sample	$ECN42$ (experimental)	$ECN42$ (theory)
VS	۱/۳۸	۱/۵۷
VG	۰/۴۳	۰/۴۶
VQ	۰/۵۱	۰/۴۱
VZ	۰/۵۰	۰/۴۶
VGO	۰/۴۱	۰/۴۴
Mean	۰/۶۴	۰/۶۶

جدول ۷ میانگین مقادیر $ECN42$ واقعی و تئوری روغن زیتون

تصفیه شده

Sample	$ECN42$ (experimental)	$ECN42$ (theory)
RS	۱/۱۲	۱/۴۲
RQ	۰/۴۶	۰/۴۵
RG	۰/۶۸	۰/۴۸
Mean	۰/۷۵	۰/۷۸

۴- نتیجه گیری

ترکیب تشکیل دهنده میوه زیتون بسته به عوامل مختلفی دارد که بطور اساسی متاثر از وارته میوه است، با این وجود دیگر فاکتورهای اصلی مثل شرایط آب و هوایی، منطقه جغرافیایی، ویژگی‌های خاک روی ترکیب اسیدهای چرب و تری آسید گلیسرول‌های روغن تاثیر گذار است. نتایج نشان می دهد که مقدار اسید لینولئیک در اثر برخی شرایط محیطی، مانند دما، افزایش می یابد و به دنبال آن میزان $\Delta ECN42$ و دو پارامتر $ECN42$ واقعی و تئوری هم زیاد می شود.

در نتیجه از آنجائیکه $\Delta ECN42$ تحت تاثیر برخی شرایط محیطی افزایش می یابد، محدوده تعیین شده برای این پارامتر از طرف IOOC نمی تواند نشانگر تقلب در روغن زیتون باشد

Effect of the temperature on Δ ECN42 of Iranian olive oil

Ahangar Banadkooki, S.^{1*}, Piravi Vanak, Z.², Hadad Khodaparast, M.H.³, Safafar, H.⁴

1. Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

2. Assistant Professor of Standard Research Institute, Iranian National Standardization Organization, Karaj (INSO), Iran

3. Professor of Department of Food Science Industry - Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM)

4. Administer of National Olive Council, Tehran, Iran

(Received: 90/9/13 Accepted: 90/11/23)

In this research we scrutinize the temperature effect on Δ ECN42 and the olive oil produced in Shiraz during 1388 crop year in Iran. Samplings were divided into two groups of natural and refined olive oil. The analysis of fatty acids was done by GC apparatus and with uses this result theoretical ECN42 by software was analyzed. The essential ECN42 was analyzed by HPLC apparatus as well. Statistical analysis showed a positive relation between 2 parameters of ECN42 and linoleic acid (0.05). And statistical test of theoretical and essential ECN42 showed a significant relation in 0.01 levels.

Keywords: Δ ECN42, Temperature, Fatty acids, Olive oil.

* Corresponding Author E-Mail address: samaneh.ahangar@yahoo.com