تاثیر رنگدانه های کاروتنوئیدی بر پایداری اکسیداتیو روغن های زیتون فرابکر ایرانی

ساناز سلمانی زاده[۱*]، زهرا پیراوی ونک[۲]، حامد صفافر[۳]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، گروه علوم و صنایع غذایی، ورامین، ایران

۲- استادیار پژوهشکده غذایی و کشاورزی، پژوهشگاه استاندارد- سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

۳- دبیر کمیته فنی شورای ملی زیتون ایران

(تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۱/۱۸)

چکیده

در این پژوهش نمونه برداری روغن های زیتون فرابکر از ۷ منطقه زیتون خیز ایران صورت گرفت. مقدار رنگدانه های کاروتنوئیدی نمونه های روغن های زیتون با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با فاز معکوس[1] تعیین شد و همچنین به منظور ارزیابی پایداری روغن‌ها، اندیس پراکسید روغن های زیتون انبار شده در مجاورت نور و تاریکی ۴ هفته متوالی اندازه گیری گردید. بیشترین میزان میانگین رنگدانه کاروتنوئیدی روغن های زیتون ایرانی مربوط به لوتئین (۵۱/۴۸٪) و کمترین میزان مربوط به رنگدانه بتاکاروتن (۰/۷۶٪) می باشد. رنگدانه کاروتنوئیدی سیس لوتئین نقش پرواکسیدان در مجاورت نور و رنگدانه بتاکریپتوگزانتین نقش پراکسیدان در مجاورت تاریکی را در کاهش پایداری و افزایش فساد روغن نشان دادند.

کلید واژگان: بتاکریپتوگزانتین، پراکسیدان، سیس لوتئین، لوتئین، کاروتنوئید

* مسئول مکاتبات: Sz.sanaz@gmail.com

1. High perfomance liquid chromatograghy

۱- مقدمه

روغن زیتون طبیعی به واسطه رنگ و طعم منحصر به فرد، پایداری اکسیداتیو و همچنین ترکیب شیمیایی خاص خود یکی از روغن های خوراکی قدیمی و سالم مورد استفاده در جهان می باشد [۱]. همچنین روغن زیتون طبیعی به دلیل داشتن مقادیر بالای ترکیبات فنولی، توکوفرول ها، کاروتنوئیدها و اسیدهای چرب غیر اشباع اولئیک از سایر روغن ها پایدارتر است [۲]. در میان طبقه بندیهای متفاوت روغن زیتون، روغن زیتون طبیعی فرابکر[1] دارای فواید تغذیه ای، درمانی و اهمیت اقتصادی بی شمار می باشد. این نوع روغن زیتون دارای طعم و بوی بسیار عالی است و بیشینه اسیدهای چرب آزاد آن بر حسب اسید اولئیک یک در صد و بیشینه عدد پراکسید آن ۲۰ میلی اکی والان در کیلوگرم است [۳]. رنگ روغن زیتون یک معیار اصلی تعیین کیفیت است و اگرچه در قوانین بین المللی اندازه گیری آن برای تعیین ویژگی های روغن زیتون الزامی نیست، اما در ارزیابی حسی یک معیار اساسی برای امتیازدهی به ظاهر روغن می باشد [۴]. با توجه به اینکه مقدار رنگدانه ها در روغن زیتون طبیعی کم می باشد و هنوز هیچ لیست کاملی از میزان دقیق رنگدانه ها در روغن های زیتون در دسترس نیست، اما با اندازه گیری رنگدانه ها علاوه بر پی بردن به میزان آن ها و نقششان در ایجاد رنگ روغن می توان آثر آن ها را به عنوان یکی از ترکیبات جزئی موجود در روغن زیتون طبیعی را که نقش مهمی در پایداری اکسیداتیو آن بر عهده دارند بررسی نمود [۵]. در بین ترکیبات جزئی موجود در روغن زیتون طبیعی، رنگدانه ها نقش مهمی در پایداری اکسیداتیو بر عهده دارند [۶]. رنگدانه‌ها در مکانیسم خود اکسایش و اکسایش نوری (فتواکسیداسیون) دخالت دارند [۷]. میزان رنگدانه‌ها در روغن زیتون به عواملی مانند واریته میوه زیتون، میزان رسیدگی میوه زیتون، شرایط آب و هوایی منطقه، نوع فرایند استخراج روغن و شرایط انبار داری وابسته است [۸]. رنگ روغن زیتون طبیعی دارای دو گروه رنگدانه کاروتنوئیدها و کلروفیل‌ها می باشد. کاروتنوئیدها هیدروکربنهای غیر اشباع و رنگدانه های محلول در چربی هستند که از هشت واحد ایزوپرن سنتز شده‌اند، بنابراین اسکلت ساختمانی آن ها از حدود ۴۰ کربن تشکیل گردیده است [۹]. بیش از ۶۰۰ نوع کاروتنوئید در طبیعت شناخته شده اند که به دو گروه گزانتوفیل ها و کاروتن‌ها تقسیم می شوند [۱۰]. گزانتوفیل‌ها[2] رنگدانه های زردی هستند که درساختار خود بجای بعضی از اتمهای هیدروژن دارای گروههای هیدروکسیل یا اکسیژن هستند. گروه گزانتوفیل ها شامل لوتئین، زئاگزانتین، وایلاگزانتین و آلفا و بتاکریپتوگزانتین می باشند [۱۱]. کاروتن ها از لحاظ شیمیایی یک ترپن هستند و فقط ساختمان و ماهیت هیدروکربن دارند مانند آلفا، بتاکاروتن که کاروتن نامیده می شوند. کاروتنوئید ها ممکن است دریک سیستم به منزله آنتی اکسیدان یا پراکسیدان عمل نمایند که چنین وضعیتی بستگی به شرایط سیستم دارد. یک اهمیت مشخص کاروتنوئید ها در این است که به عنوان پیش ساز ویتامین A عمل می کنند. کاروتن ها بویژه آلفا و بتا کاروتن و گزانتوفیل ها از جمله بتا کریپتوگزانتین پیش ساز ویتامین A هستند. رنگ کاروتنوئیدها ناشی از حضور یک مجموعه از پیوندهای مضاعف کنژوگه می باشد. پیوندهای دوگانه معمولاً در کاروتنوئیدهای غذایی از نوع ترانس هستند. رنگ زرد روغن زیتون به دلیل حضور کاروتنوئیدها می باشد. کاروتنوئید های موجود در میوه زیتون شامل لوتئین، بتاکاروتن، وایلاگزانتین، نئورانتین، آنترازانتین و بتا گزانتین هستند که چهار رنگدانه اول بیشتر از ۹۵ درصد کاروتنوئیدهای موجود در میوه را شامل می شوند [۱۲]. جز اصلی تشکیل دهنده رنگدانه های کاروتنوئیدی روغن زیتون طبیعی لوتئین و بتا کاروتن می‌باشد [۱۳].

نزدیک به پایان دوره جمع آوری میوه زیتون این کاروتنوئید ها جزء تشکیل دهنده غالب در زیتون می باشد، زیرا در مدت فرایند رسیدن، مقدار کلروفیل ها کاهش قابل ملاحظه ای می یابد [۱۴].

طی نگهداری روغن ها و چربی‌ها و مواد غذایی پر چرب، اکسیداسیون لیپیدها، علت اصلی افت کیفیت ماده غذایی میباشد. ترکیبات حاصل از اکسید اسیون برطعم روغنها و چربیها اثر می‌گذارد و چنانچه اکسیداسیون درسطح پیشرفته ای صورت گیرد آنها را غیرقابل مصرف می کند به طور کلی بد طعمی روغنها مرتبط با میزان پراکسید آنها می باشد. از عوامل موثر بر پایداری اکسایشی روغن زیتون طبیعی می توان به ترکیب اسیدهای چرب، ترکیبات فنولی، توکوفرول ها و رنگدانه ها، شرایط انبارداری، پروسه استخراج و شرایط اقلیمی رشد میوه، واریته اشاره نمود [۱۵].

Rahmani & Saad (۱۹۸۹) بیان کردند که بتا کاروتن به صورت یک کاهنده فعالیت اکسیژن یگانه نقش محافظتی داشته و از اکسایش سریع نوری ناشی از حضور کلروفیل ها جلوگیری می کند. همچنین مشخص شد که فراورده های تجزیه بتاکاروتن که توسط اکسایش نوری تشکیل می شوند در تاریکی نقش اکسید کنندگی داشته و اکسایش رادیکال آزاد را کاتالیز می کنند [۱۵]. بررسیهای مختلف بر پایداری اکسیداسیون روغن زیتون طبیعی قرار گرفته در معرض نور نشان داده است درحضور

1. Extra virgin olive oil
2. Xantophyll

بتاکاروتن پایداری اکسیداتیو روغن زیتون به مقدار زیادی افزایش یافته، به سبب آنکه بتاکاروتن دارای اثرات فیلترکنندگی نور و مهارکنندگی اکسیژن یگانه و حساس کننده ها در فرآیند فتواکسیداسیون می باشد[۱۷، ۱۸]. بررسی های مختلف نشان داده است رنگدانه های کاروتنوئیدی در مجاورت تاریکی وابسته به غلظتشان نقش پراکسیدانی داشته و با گذشت زمان غلظتشان به طور خفیفی کاهش می یابد [۱۹]. برخلاف کاروتنوئیدها کلروفیل ها بخصوص کلروفیل a نسبت به نور حساسیت نشان می دهند. کلروفیلa بعد از جذب انرژی می تواند آنرا به اکسیژن سه گانه انتقال دهد و تولید فرم فعالتر اکسیژن یعنی اکسیژن یگانه را کند، سپس با اسید چرب غیراشباع یا بتاکاروتن واکنش دهد [۲۰].

Caponio و همکاران (۲۰۰۵) تأثیر نور را بر کیفیت روغن زیتون طبیعی ممتاز در طی دوره انبارداری بررسی نمودند. طبق نتایج بدست آمده دوره نگهداری روغن های نگه داری شده در معرض نور، نسبت به روغن های نگهداری شده در تاریکی، کوتاهتر بود [۲۱].

Psomiadou & Tsimidio (۲۰۰۱) با بررسی میزان رنگدانه های روغن زیتون های پرورش یافته در مناطق مختلف یونان نشان دادند که میزان فئوفتین a (بیشتر از ۱۰ $mgkg^{-1}$) ترکیب عمده رنگدانه ها می باشد. رنگدانه های لوتئین و بتا کاروتن رنگدانه های عمده کاروتنوئید ها بودند. میزان لوتئین بین (۰/۲ و $mgkg^{-1}$ ۳/۹) و میزان بتاکاروتن از ۰/۴ تا ۵/۱ متفاوت بود. میزان لوتئین در این روغن ها نسبت به روغن های اسپانیایی بسیار کمتر بوده که تفاوت مشاهده شده را به دلیل واریته یا شرایط اقلیمی مناطق مختلف مورد بررسی نسبت داده اند [۲۲].

Giuffrid و همکاران (۲۰۰۷) رنگدانه های ۲۴ نمونه روغن زیتون طبیعی را از سه واریته اصلی در ایتالیا مورد آزمایش قرار دادند. در این بررسی میزان فئوفتین a (۳۶/۱۹- ۲۵/۰۴ ppm) ترکیب عمده رنگدانه‌های روغن زیتون بود. سایر رنگدانه ها، شامل بتاکاروتن (۸/۰۶ -۲۷/۱۶ ppm)، فئوفتینb (۲/۹۲-۱۷/۶ ppm)، لوتئین (۲۸/۲-۴۹/۴ppm) و نئوزانتین (۱/۵۴-۱۱/۲ ppm) بود. میزان نئوزانتین و بتاکاروتن در مقایسه با نتایج اعلام شده برای سایر واریته های زیتون بیشتر بود که ممکن است این تفاوت به دلیل فاکتورهای ژنتیکی (واریته زیتون) یا تفاوت مناطق جغرافیایی باشد [۱۳].

طی سالهای اخیر توجه بی شماری به تشخیص و مصرف کاروتنوئید ها در منابع مختلف غذایی معطوف گردیده است. از جمله نقش آنها می توان به فعالیت آنتی اکسیدانی و تاخیر اکسیداسیون در ماده غذایی، پیشگیری از بیماریهای قلبی، عروقی [۲۳] پوکی استخوان، دیابت، بیماریهای چشمی [۲۴]. بیماریهای سنگ کیسه صفرا، فشار خون و انواع سرطان‌ها اشاره نمود [۱۶].

در این پژوهش نوع و میزان رنگدانه های کاروتنوئیدی و مشتقات آن در روغن های زیتون طبیعی ممتاز مناطق مختلف مورد بررسی قرار گرفت. همچنین تاثیر پایداری روغن های زیتون فرابکر ایرانی در مجاورت نور و تاریکی ارزیابی گردید.

۲-مواد و روش ها

۲-۱-تهیه و جمع آوری نمونه ها

برای انجام آنالیز موردنظر ۷ نمونه روغن زیتون فرابکر از استان های گیلان، قزوین، زنجان، گلستان، کرمانشاه و فارس توسط وزارت جهاد کشاورزی، دفتر طرح زیتون طبق استاندارد ملی ۴۹۳ جمع آوری گردید.

۲-۲-اندازه گیری میزان رنگدانه های کلروفیل و کاروتنوئیدی با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با فاز معکوس

روش آزمون

رنگدانه ها از نمونه های روغن زیتون (۱ گرم) توسط استخراج به وسیله فاز جامد با استفاده از کارتریج دی‌ال باند شده ۱ جدا شدند و بعد از تزریق به دستگاه گاز کروماتوگرافی با کارایی بالا با فاز معکوس توسط شناساگر UV اندازه گیری شدند.

۲-۳- استخراج فاز جامد رنگدانه ها با استفاده از کارتریج دی ال

کارتریج دی ال باند شده به منظور ممانعت از خشک شدن ستون و عبور آسان حلال به دستگاه شستشوی تحت خلا وصل گردید و توسط عبور متوالی ۶ میلی لیتر متانول و ۶ میلی لیتر هگزان مشروط گردید. نمونه روغن زیتون (۰/۰۰۱± ۱/۰) وزن و در ۴ میلی لیتر هگزان حل شدند. محلول روغن به داخل ستون اضافه و حلال در یک بالن حجمی جمع آوری شد. سپس ۵ میلی لیتر هگزان به داخل ستون اضافه و با بخش قبلی هگزان ترکیب شد .فاز هگزان جز بتاکاروتن را بعد از تنظیم حجم به ۱۰ میلی لیتر مطابق با منبع شماره ۹ اندازه گیری گردید. در نهایت ستون با ۳ میلی لیتر از استون شسته و حلال در یک تبخیر کننده چرخشی در دمای اتاق و تحت خلا خشک شد. باقیمانده مجددا در ۰/۳ میلی لیتر از استون

1. Diol-Solid phase extraction

حل شد و۲۰ میکرولیتر از محلول نهایی مطابق با منبع شماره ۹ به داخل دستگاه گاز کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تزریق گردید [۹].

۲-۴- دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا:

مدل دستگاه Youglin با شناساگر UV بود. نوع ستون مورد استفاده ODS_2 ، سایز ذرات ۵ میکرومتر، طول ستون ۲۵۰ میلی متر، قطر داخلی ۴/۶ میلی متر و سرعت جریان فاز متحرک ۱ میلی متر بردقیقه بود.

فاز متحرک A شامل نسبت حجمی/حجمی ۸/۲ متانول/آب به همراه ۰/۲۵ استات آمونیوم و ۵ درصدتری اتیل آمین و فاز متحرک B شامل نسبت حجمی/ حجمی ۱/۱ متانول / استون بود. طول موج جهت شناسایی کاروتن ها ۴۵۰ nm و گزانتوفیل‌ها ۴۱۰ nm بود.

برنامه ریزی دستگاه برای استفاده از حلال بشرح زیر می باشد:

فاز متحرک

TIME	A%	B%
0	75	25
10	50	50
12.5	50	50
14	20	80
16	20	80
21	0	100
35	0	100
40	75	25

۲-۵- اندازگیری اندیس پراکسید

اندیس پراکسید با روش یدومتری مطابق با استاندارد AOAC شماره ۹۰ــ cd-8b و از طریق تیتراسیون روغن به وسیله تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال درحضور نشاسته و یدید پتاسیم اندازه گیری گردید. پراکسید می تواند ید موجود در یدید پتاسیم را آزاد کند بطوریکه مقدار ید آزاد شده را می توان با تتیراسیون با تیو سولفات سدیم اندازه گیری کرد و عدد پراکسید را بر حسب میلی اکی والان پراکسید در در ۱۰۰ گرم روغن بیان نمود .عدد پراکسید نشان دهنده پایداری اکسیداتیو روغن است. روغن هایی که پایداری اکسیداتیو بیشتری دارند عدد پراکسید ان ها در طول زمان آهسته بالا می رود [۲۵].

۲-۶- اندازه گیری عدد اسیدیته

اسیدیته، میلی گرم هیدروکسید پتاسیم مصرفی برای خنثی کردن اسیدهای چرب آزاد در هر گرم چربی می باشد و به منظور تعیین درصد اسیدهای چرب آزاد موجود در روغن زیتون به کار می رود این عدد بر حسب نوع اسید چرب غالب در روغن های مختلف بیان می شود که در روغن زیتون بر مبنای اسید اولئیک گزارش می شود، این شاخص بصورت درصد اسید چرب آزاد نیز بیان می شود. مقدار اسید چرب آزاد بیان کننده کیفیت، خلوص، تازگی و کهنگی چربی ها و روغن ها می باشد. در این تحقیق به منظور اطمینان از فرابکر بودن نمونه های روغن زیتون مورد بررسی آزمون عدد اسیدی را بر اساس استاندارد AOAC با شماره ۹۴۰/۲۸ با دو تکرار مورد سنجش قرار گرفت. این آزمایش توسط تیتراسیون روغن با سود ۰/۱ نرمال در مجاورت فنل فتالئین انجام شد [۲۵].

۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری نتایج بدست آمده

به منظور آنالیز آماری داده ها از آزمون t برای مقایسه میانگین های جفت شده و نسخه ۱۶نرم افزار SPSS استفاده گردید. جهت رسم نمودارها از برنامه اکسل استفاده گردید.

۳-نتایج و بحث

۳-۱-نتایج میزان میانگین اسیدیته نمونه های روغن زیتون

برای اطمینان از فرابکر بودن نمونه های روغن زیتون ابتدا مقدار اسیدیته نمونه ها اندازه گیری شد نتایج حاصله از جدول ۱ نشان می دهد میزان اسیدیته نمونه های آزمایش شده با میزان استاندارد IOC که برای روغن های زیتون فرابکر کمتر از ۱ درصد تعیین شده است مطابقت دارد [۲۵].

جدول۱ نتایج میزان اسیدیته در نمونه های روغن زیتون فرابکر (درصد وزنی اسید اولئیک)

نمونه	کرمانشاه	گلستان	گیلان۱	زنجان	فارس	قزوین	گیلان۲
میزان اسیدیته	۰/۶۲	۰/۶۰	۰/۹۵	۰/۸۴	۰/۹۸	۰/۹۲	۰/۷۲

۳-۲- میزان رنگدانه های کاروتنوئیدی نمونه های روغن زیتون مناطق مورد بررسی

جدول ۲ میزان رنگدانه های کاروتنوئیدی (ppm) روغن های زیتون مورد بررسی در مناطق مختلف کشور

منطقه	نئوزانتین ایزو	نئوزانتین	لوتئین	وایلا گزانتین	آنترازانتین	سیس لوتئین	نئوگزانتین استر	لوتئین ایزومر	بتاکریپتو گزانتین	بتاکاروتن
کرمانشاه	۱۵/۴	۴/۷	۴۶/۴۶	۱۳/۴۶	۱/۲۲	۲/۳۲	۳/۰۶	۴/۳۹	۲/۴۴	**۰/۹۴**
گلستان	۲/۶	۱۳/۲	۶۸/۶۲	۱۳/۳۳	۱/۵۹	۱/۶۸	۰	۰	۲/۸۳	۰
گیلان۱	۹/۹	۱۴/۸	۶۰/۰۸	۱۴/۱	۰/۹	۰	۰	۰	۰/۳	۰
زنجان	۴/۴	۱۵/۶	۵۴/۴۷	۱۶/۷	۱/۵۳	۱/۹۷	۰	۰/۳	۰/۹۷	۰/۷۶
فارس	۱۲/۸۹	۸/۱۵	۳۳/۹	۱۰/۵۱	۲/۲۳	۷/۸۵	۳/۹۱	۶/۸	۶/۲۰	۱/۵
قزوین	۸/۸۹	۶/۴۲	۴۷/۴	۱۵/۸	۱/۴۲	۶/۵	۴/۵	۰/۸۷	۲/۹	۰/۸۷
گیلان۲	۱۳/۶	۱۴/۸	۴۲/۸	۱۲/۱۹	۱/۸۷	۰/۸۹	۰/۹۲	۱/۶	۶/۲۰	۱/۱۳

با توجه به نتایج حاصل از جدول ۲ بیشترین و کمترین میزان رنگدانه لوتئین به ترتیب مربوط به منطقه گلستان (۶۴/۶۲ ppm) و منطقه فارس (۳۳/۹ ppm) می باشد. بیشترین میزان رنگدانه بتا کاروتن مربوط به منطقه فارس (۱/۵ ppm) و کمترین میزان رنگدانه مربوط به مناطق گلستان و گیلان (۰,۱ ppm) می باشد.

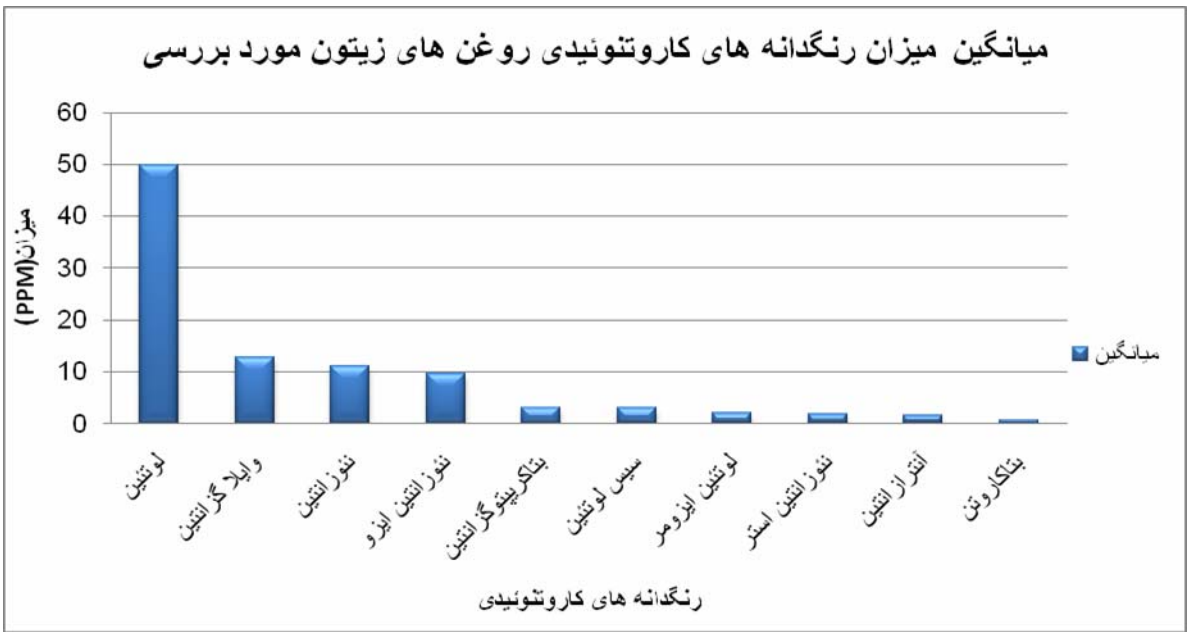
۳-۳- میزان میانگین،ضریب تغییرات رنگدانه های کاروتنوئیدی نمونه های روغن زیتون

ضریب تغییرات (cv٪) مختلف رنگدانه های کاروتنوئیدی روغن های زیتون فرابکر در مناطق مورد بررسی ایران حاکی از آن است که در بین نمونه های مورد بررسی رنگدانه‌ها تنوع زیادی دارند و عوامل گوناگونی در این تنوع مطرح می باشند که از جمله می توان به شرایط اقلیمی منطقه رشد میوه زیتون، نوع واریته، نوع استخراج روغن، میزان رسیدگی میوه، مدیریت آبیاری اشاره نمود.

جدول۳ میزان میانگین، ضریب تغییرات، بیشینه و کمینه رنگدانه های کاروتنوئید (ppm) روغن های زیتون فرابکر ایرانی

رنگدانه شاخص	ضریب تغییرات (٪)	میانگین (ppm)	بیشینه (ppm)	کمینه (ppm)
بتاکاروتن	۷۵/۴۷	۰/۷۴	۱/۵	۰
بتاکریپتوگزانتن	۷۴/۱۶	۳/۱۲	۶/۲۰	۰/۳
لوتئین ایزومر	۱۳۰/۱۹	۱/۹۹	۶/۸	۰
نئوگزانتین ایزومر	۱۱۰/۵۴	۱/۷۷	۴/۵	۰
سیس لوتئین	۹۷/۵۹	۳/۰۳	۷/۸۵	۰
آنترازانتین	۲۷/۹۷	۱/۵۳	۲/۲۳	۰/۹
وایلاگزانتین	۱۴/۵۳	۱۳/۸۴	۱۶/۷	۱۰/۵۱
لوتئین	۲۱/۰۸	۴۹/۹۶	۶۴/۶۲	۳۳/۹
نئوزانتین	۴۹/۴۳	۱۱/۰۹	۱۵/۴	۲/۶
نئوزانتین ایزو	۴۰/۹۰	۹/۹۶	۱۵/۶	۴/۷

بر اساس نتایج بدست آمده از نمودار ۱ رنگدانه لوتئین بیشترین رنگدانه کاروتنوئیدی در ارتباط با روغن های زیتون فرابکر ایرانی محسوب می شود که مقدار آن برابر ۵۸/۰۲ درصد کل رنگدانه های کاروتنوئیدی می باشد. همچنین کمترین میزان رنگدانه کاروتنوئیدی مربوط به بتاکاروتن می باشد که ۰/۲۸ درصد از کل میزان رنگدانه های کاروتنوئیدی روغن های زیتون فرابکر ایرانی را به خود اختصاص داده است.



نمودار ۱ میانگین میزان رنگدانه های کاروتنوئیدی (ppm) روغن های زیتون فرا بکر مناطق مختلف

۳-۴- میزان اندیس پراکسید روغن های زیتون فرابکر انبار شده در مجاورت نور مناطق مختلف ایران

باتوجه به جدول ۴ میزان اندیس پراکسید کلیه نمونه های روغن زیتون فرابکر اندازه گیری شده در زمان صفر (روز اول) انبارداری با میزان استاندارد IOC و استاندارد داخلی ۱۴۴۶ ایران که برای روغن های زیتون فرابکر کمتر یا مساوی ۲۰ تعیین شده است مطابقت دارد. با توجه به نتایج حاصله و همانگونه که در جدول ۴ مشاهده می گردد نمونه روغن زیتون منطقه گیلان ۲ در طی دوره نگهداری دارای بیشترین درصد افزایش اندیس پراکسید در نور (۹۳۶/۴۰٪) و نمونه روغن زیتون منطقه قزوین دارای کمترین درصد افزایش اندیس پراکسید در نور (۴۸۷/۰۵٪) در طی دوره انبارداری می باشند. میزان اندیس پراکسید روغن تحت تأثیر عوامل مختلفی تغییر می کند که از جمله می توان به درصد اسید چرب غیراشباع روغن اشاره نمود که چنانچه درصد اسیدهای چرب چند غیر اشباعی روغن افزایش یابد پایداری روغن کاهش می یابد و روغن سریعتر اکسید و فاسد می گردد و اندیس پراکسید افزایش می یابد. میزان آنتی اکسیدانهای طبیعی موجود در روغن زیتون از جمله پلی فنول ها، توکوفرول‌ها و همچنین کاروتنوئیدها در پایداری روغن زیتون و ممانعت از اکسید اسیون و افزایش اندیس پراکسید روغن موثر می‌باشند. شرایط استخراج روغنها و استفاده از دمای بالای آب از عوامل موثر در تشدید اندیس پراکسید می باشد. نوع واریته زیتون و همچنین شرایط اقلیمی رشد و محیط از عوامل موثر بر اندیس پراکسید می باشند.

نتایج حاصله از این تحقیق در خصوص انبارداری روغن های زیتون در مجاورت نور با نتایج Mariana-Atena و همکاران (۲۰۰۹) که گزارش نمودند نور نسبت به دما عامل اصلی فساد اکسید اسیون روغنهای کدو و آفتابگردان در طی دوره انباری می باشد مطابقت دارد [۲۵].

جدول۴ میزان اندیس پراکسید (میلی اکی والان بر کیلوگرم) روغن های زیتون فرابکر انبار شده در مجاورت نور

پراکسید مناطق	زمان صفر نور	هفته۱ نور	هفته۲ نور	هفته۳ نور	هفته۴ نور
کرمانشاه	۱۰/۰۵	۲۰/۱۱	۳۹/۸۳	۸۳/۶۵	۸۵/۱۶
قزوین	۱۱/۴۳	۱۹/۸	۵۵/۸۷	۶۱/۶۱	۶۷/۱۰
گلستان	۹/۷۵	۲۵/۵۱	۵۱/۰۷	۸۸/۶۰	۹۶/۹۸
گیلان۱	۹/۸۶	۲۴/۲۱	۳۳/۷۲	۳۵/۲	۸۲/۳۴
زنجان	۱۱/۰۷	۲۵/۹۹	۳۱/۸۴	۸۴/۱۲	۸۸/۶۰
فارس	۱۱/۲۴	۲۴/۸۷	۶۲	۷۸/۱۰	۸۴/۹۹
گیلان۲	۶/۵۱	۱۷/۰۶	۵۲/۱۹	۶۵/۶۸	۶۷/۴۷

۳-۵-نتایج میزان اندیس پراکسید روغن های زیتون فرابکر انبار شده در مجاورت تاریکی مناطق مختلف ایران

همانگونه که از جدول ۵ استنباط می شود نمونه روغن زیتون منطقه کرمانشاه دارای بیشترین درصد افزایش اندیس پراکسید در تاریکی (۶۹/۱۵٪) در طی دوره انبارداری و نمونه روغن زیتون منطقه قزوین دارای کمترین درصد افزایش اندیس پراکسید در تاریکی (۳۳/۴۲٪) می باشد. نتایج حاصله از جدول ۴ و ۵ نشان می دهد. اندیس پراکسید روغن های زیتون فرابکر در مجاورت تاریکی وابسته به زمان افزایش می یابد اما این روند در مقایسه با شرایط تحت نور بسیار کند می باشد.

جدول ۵ میزان اندیس پراکسید (میلی اکی والان بر کیلوگرم) نمونه های روغن های زیتون اندازه گیری شده در مجاورت تاریکی

پراکسید مناطق	زمان صفر تاریکی	هفته۱ تاریکی	هفته۲ تاریکی	هفته۳ تاریکی	هفته۴ تاریکی
کرمانشاه	۱۰/۰۵	۱۰/۱	۱۲/۱۳	۱۴	۱۷
قزوین	۱۱/۴۳	۱۲/۸۹	۱۵/۲۱	۱۵/۲۴	۱۵/۲۷
گلستان	۹/۷۵	۹/۸	۱۰/۱۴	۱۳/۲۲	۱۴/۳۲
گیلان۱	۹/۸۶	۹/۹	۱۰/۹۴	۱۳/۶۸	۱۴/۱۷
زنجان	۱۱/۰۷	۱۱/۲	۱۳/۰۶	۱۳/۳۰	۱۳/۶۶
فارس	۱۱/۲۴	۱۶/۸۵	۱۸	۱۸/۵۲	۱۸/۵۵
گیلان۲	۶/۵۱	۶/۵۲	۸/۱۸	۸/۹۶	۹/۵۹

۳-۶- نتایج همبستگی بین میزان رنگدانه ها بر پایداری اکسایشی روغن های زیتون مورد بررسی در مجاورت تاریکی

برای تعیین ارتباط بین میزان رنگدانه های کاروتنوئیدی و اندیس پراکسید در مجاورت نور و تاریکی و مدت زمان مورد بررسی از تحلیل رگرسیون خطی استفاده شد که با توجه به توزیع دو متغیره و تعداد نمونه ها (۷) درجه آزادی برابر ۵ و ضریب همبستگی(r) تعیین شده در جدول حدهای بحرانی در سطح معنی دار ۰/۰۵ درصد برابر ۰/۷۵۴ و در سطح معنی دار ۰/۰۱برابر ۰/۸۷۴ می باشد. همانگونه که در جدول ۶ مشاهده می شود تنها میزان R بدست آمده بین میزان رنگدانه سیس لوتئین و مقدار اندیس پراکسید در تاریکی هفته اول، دوم و سوم از مقدار r تعیین شده در جدول حدهای بحرانی بیشتر است در نتیجه می توان گفت بین میزان رنگدانه مذکور و اندیس پراکسید در تاریکی هفته اول، دوم و سوم انبارداری با حدود اطمینان ۹۵٪ ،۹۹٪ ،۹۵٪ به ترتیب رابطه مستقیم وجود دارد و رنگدانه سیس لوتئین به عنوان عامل پراکسیدان در تاریکی سبب افزایش اندیس پراکسید و کاهش پایداری نمونه های روغن زیتون گردیده است.

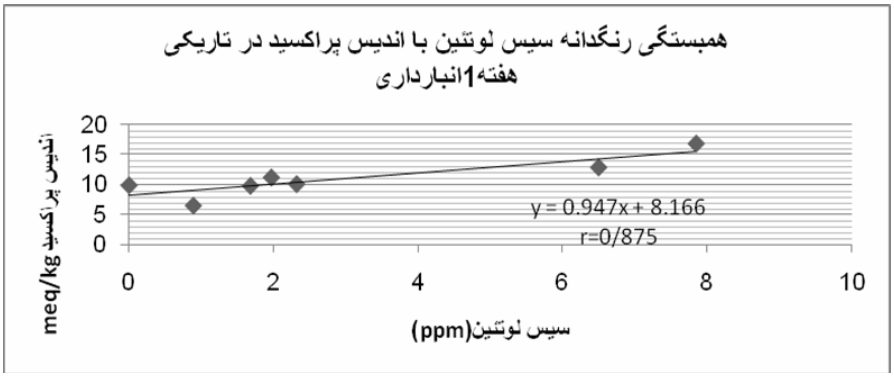
نتایج حاصله با یافته های Gomez-Alonso و همکاران (۲۰۰۷) که بیان نمودند رنگدانه های کاروتنوئید در طی زمان و در مجاورت تاریکی نقش پراکسیدان دارند مطابقت دارد [۲۰].

جدول ۶ مقایسه R های (ضریب همبستگی) بدست آمده از بررسی ارتباط بین میزان رنگدانه های روغن زیتون و اندیس پراکسید در تاریکی زمان انبارداری مورد بررسی

ضریب همبستگی رنگدانه	ضریب همبستگی زمان صفر	ضریب همبستگی هفته ۱	ضریب همبستگی هفته ۲	ضریب همبستگی هفته ۳	ضریب همبستگی هفته ۴
نئوزانتین ایزو	۰/۲۹۸	۰	۰/۰۵۴	۰/۰۳۱	۰/۱۶۱
نئوزانتین	۰/۴۳۱	۰/۴۸۸	۰/۵۶۳	۰/۵۶۵	۰/۷۱۴
لوتئین	۹E-۰۵	۰/۴۵۱	۰/۵۰۱	۰/۳۱۹	۰/۲۸۱
وایلاگزانتین	۰/۲۳۴	۰/۲۷۷	۰/۱۸۱	۰/۲۹۱	۰/۳۲۵
آنترازانتین	۰/۰۹۴	۰/۳۹۳	۰/۳۶۸	۰/۲	۰/۰۶۳
سیس لوتئین	۰/۶۰۲	۰/۸۷۵*	۰/۹۰۸**	۰/۷۸۶*	۰/۶۵۸
نئوگزانتین استر	۰/۴۱۵	۰/۶۲۸	۰/۷۰۷	۰/۶۳۷	۰/۶۰۷
لوتئین ایزومر	۰/۱۸۱	۰/۵۹۴	۰/۵۹۰	۰/۵۶۷	۰/۶۵۱
بتاکریپتوگزانتین	۰/۳۸۹	۰/۴۱۵	۰/۱۵۴	۰	۰/۰۳۱
بتاکاروتن	۰	۰/۴۱۵	۰/۴۸۳	۰/۲۵۴	۰/۲۲۱

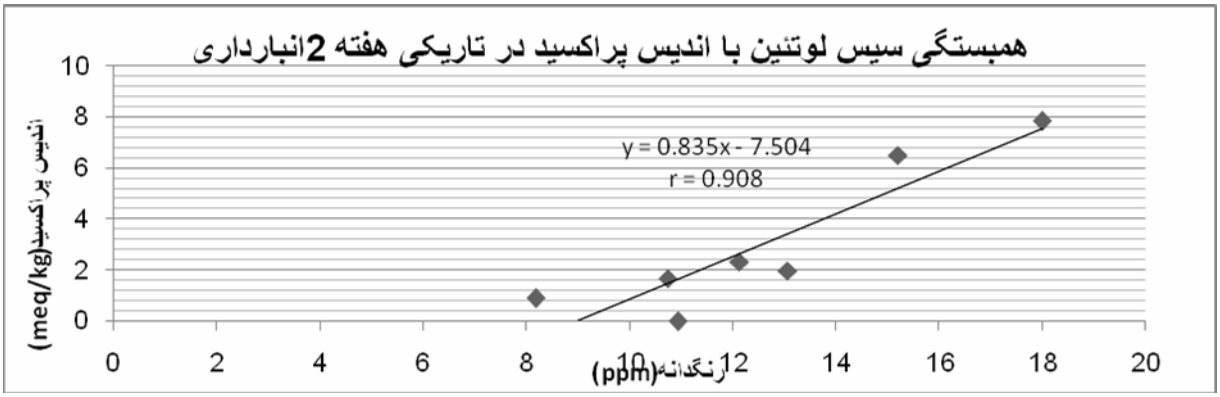
علامت *در هر ستون بیانگر وجود اختلاف آماری معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

علامت ** در هر ستون بیانگر وجود اختلاف آماری معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد هستند

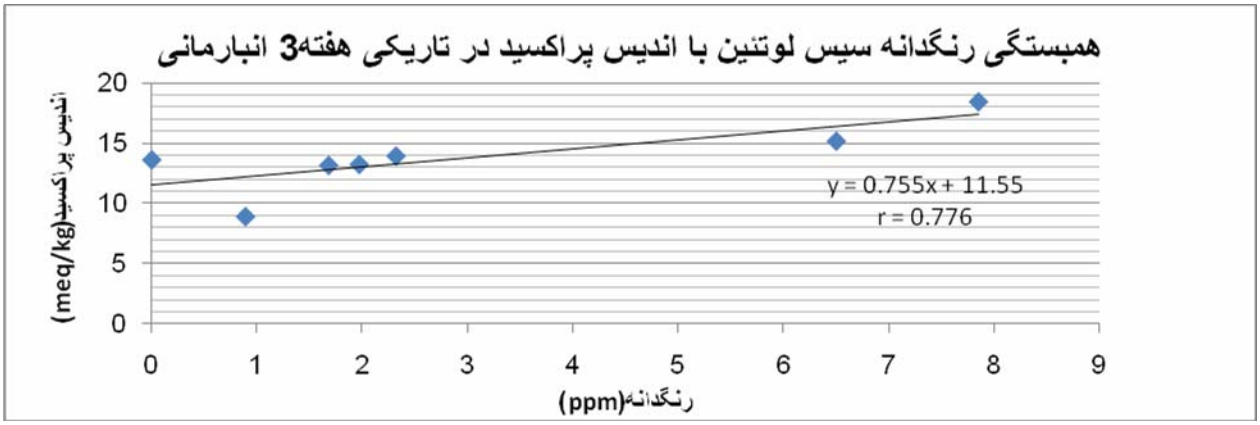


نمودار ۲ همبستگی رنگدانه کاروتنوئیدی سیس لوتئین روغن زیتون با اندیس پراکسید در تاریکی هفته ۱ انبارداری

همانگونه که در نمودار ۲، ۳، ۴ مشاهده می گردد با افزایش میزان رنگدانه سیس لوتئین اندیس پراکسید در تاریکی افزایش و پایداری روغن کاهش یافته است.



نمودار۳ همبستگی رنگدانه کاروتنوئیدی سیس لوتئین روغن زیتون با اندیس پراکسید در تاریکی هفته ۲ انبارداری



نمودار ۴ ارتباط رنگدانه سیس لوتئین روغن‌های زیتون با اندیس پراکسید در تاریکی هفته ۳ انبارداری

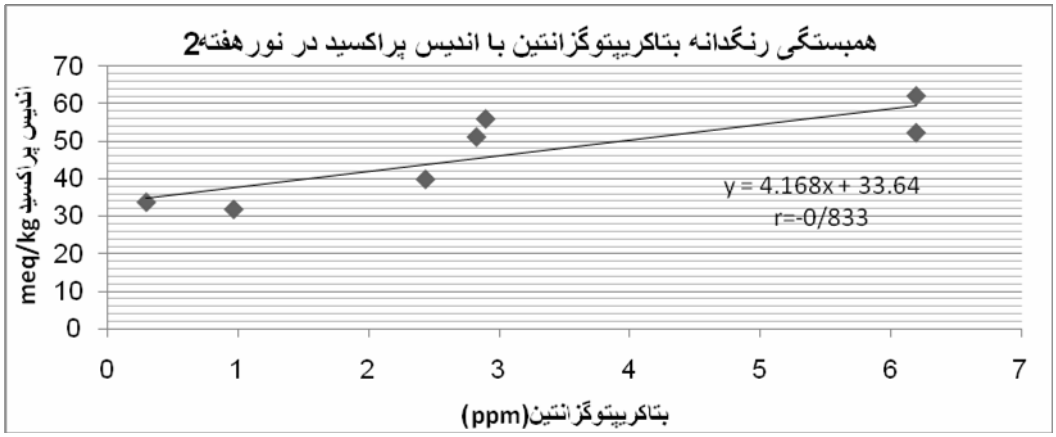
۳-۷-نتایج ارزیابی همبستگی بین میزان رنگدانه های روغن زیتون بر پایداری اکسایشی در مجاورت نور

همانگونه که در جدول ۷ مشاهده می شود ارتباط آماری معنادار منفی در سطح اطمینان ۹۵٪ بین میزان رنگدانه بتاکریپتوگزانتین و اندیس پراکسید در مجاورت نور در هفته ۲ وجود دارد.

جدول۷ مقایسه R های(ضریب همبستگی) بدست آمده از بررسی ارتباط بین میزان رنگدانه های روغن زیتون و اندیس پراکسید در نور زمان انبارداری

رنگدانه	ضریب همبستگی زمان صفر	ضریب همبستگی هفته ۱	ضریب همبستگی هفته ۲	ضریب همبستگی هفته ۳	ضریب همبستگی هفته ۴
نئوزانتین ایزو	۰/۲۹۸	۰/۶۴۸	۰/۲۰۴	۰/۲۲۳	۰/۵۰۳
نئوزانتین	۰/۴۳۱	۰/۳۰۸	۰/۴۰۹	۰/۲۲۳	۰/۱۶۱
لوتئین	۹E-۰۵	۰/۴۲۴	۰/۵۷۱	۰/۱۱۸	۰/۴۸۴
وایلاگزانتین	۰/۲۳۴	۰	۰/۵۹۴	۰/۱	۰/۱۲۲
آنترازانتین	۰/۰۹۴	۳E-۰۵	۰/۷۳۹	۰/۴۳۹	۰/۰۴۴
سیس لوتئین	۰/۶۰۲	۰/۰۳۱	۰/۷۱۹	۰/۲۲۵	۰/۱۸۷
نئوگزانتین استر	۰/۴۱۵	۰/۳۶۷	۰/۷۱۹	۰/۰۸۳	۰/۴۳۲
لوتئین ایزومر	۰/۱۸۱	۰/۰۷۷	۰/۶۱۹	۰/۳۰۹	۰
بتاکریپتوگزانتین	۰/۳۸۹	۰/۳۹۱	*۰/۸۳۳	۰/۲۵۶	۰/۳۵۳
بتاکاروتن	۰	۰/۱۵۳	۰/۵۰۴	۰/۲۹۱	۰/۴۳۱

علامت *در هر ستون بیانگر وجود اختلاف آماری معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند.



نمودار۵ ارتباط بین رنگدانه بتاکاریپتوگزانتین با اندیس پراکسید در نور هفته ۲ انبارداری

با توجه به نمودار ۵ با افزایش میزان رنگدانه بتاکاریپتوگزانتین، اندیس پراکسید روغن افزایش یافته و مقاومت و پایداری روغن ها کاهش یافته است. نظر به اینکه ارتباط آماری معناداری در سطح اطمینان ۹۵ درصد بین میزان رنگدانه بتاکاریپتوگزانتین با اندیس پراکسید در نور هفته دوم انبارداری مشاهده گردیده است به نظر می رسد رنگدانه بتاکاریپتوگزانتین در مجاورت نور توانسته به عنوان عامل پرواکسیدان سبب کاهش پایداری و افزایش فساد روغن ها شود. مطالعات پیشین نشان داده است رنگدانه های کاروتنوئیدی بعنوان فرونشاننده اکسیژن یگانه عمل نموده و در نقش آنتی اکسیدان با جلوگیری از تشکیل هیدروپراکسید مصرف می شوند و نقش مهمی در توقف و جلوگیری از وقوع واکنشهای فتواکسیداسیون دارد. نتایج فوق با یافته های Fakourelis (1987) و همکاران که بیان نمودند رنگدانه های کاروتنوئیدی در مجاورت نور نقش آنتی اکسیدان دارند مطابقت ندارد [۱۷]. عامل فوق را می توان به غلظت رنگدانه مذکور در روغن های زیتون فرابکر ایرانی می توان نسبت داد.

۴-نتیجه گیری

طبق نتایج بدست آمده بیشترین میزان میانگین رنگدانه های کاروتنوئیدی روغن های زیتون ایرانی مربوط به لوتئین و پس از آن وایلاگزانتین و کمترین میزان مربوط به رنگدانه های بتاکاروتن و بعد از آن آنترازانتین می باشد.

نتایج این تحقیق در خصوص میزان رنگدانه ها و پایداری حاکی از این بود که رنگدانه های سیس لوتئین به عنوان عامل موثر بر پایداری روغن زیتون در مجاورت تاریکی، نقش پراکسیدان را در کاهش پایداری و افزایش اندیس پراکسید روغن ایفا نموده است. رنگدانه بتاکاریپتوگزانتین به عنوان عامل موثر بر پایداری در مجاورت نور، نقش پراکسیدان را در کاهش پایداری و افزایش فساد روغن نشان داده اند که علت را به غلظت رنگدانه مذکور در روغن های زیتون فرابکر ایرانی می توان نسبت داد. با توجه به نتایج حاصله از این پژوهش ضرورت استفاده از دمای پایین استخراج و همچنین تاکید بر استخراج مناسب روغن در جهت عدم تشکیل و یا تغییر رنگدانه ها به ایزومرهایشان، عدم آسیب به ترکیبات ارزشمند روغن و همچنین عدم افزایش اندیس پراکسید و اسیدیته روغن در جهت حفاظت و افزایش مدت ماندگاری آن پیشنهاد می گردد.

۵-منابع

[1] Kiritsakis, A. and Dugan, L.R., 1985, Studies in photooxidation of olive oil, Journal of the American Oil Chemistry, 62: 892-897.

[2] Tura, D., Gigliotti, C., Pedo, S., Falla, O., Bassi, D. and Serraiocco, A, 2007, Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic ntioxadant in virgin in olive (Olea Europea L.) and correlations with oxidative stability, Journal of Scientia Horticulturae, 112: 108-119.

[3] IOC, 2008. Trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils, COI/T.15/NC no. 3/Rev. 3.

[4] Lanfer-Mrquez, U.M., Barros, R., and Sinnecker, P, 2005, Antioxidant activity of chlorophylls and their derivatives. Journal of Food Research International, 38: 885-891.

[5] Gallardo-Guerrero, L., Gandul-Rojas, B., Roca, M., and Minguez-mosquera, I., 2005, Effect of storage on the original pigment profile

of Spanish virgin olive oil, Journal of American Oil Chemists' Society, 82: 33-39

[6] Viola, P., Viola, M, 2009, Virgin olive oil as a fundamental nutritional companent and skin protector, Journal of Clinics in Dermatology, 27: 59-165.

[7] Ferruzzi, M.G. and Blakeslee, J., 2007 , Digestion, absorption and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives, Journal of Nutrition Research, 27: 1-12.

[8] Cinquanta, L., Esti, M., Di Matteo, M, 2001, Oxidative stability of virgin olive oil, Journal of the American Oil Chemists' Society, 78: 1197.

[9] Mateos, R., and Garcia-Mesa, J.A., 2006, Rapid and quantitative extraction method for the determination of chlorophylls and carotenoids in olive oil by high performance liquid chromatography, Food Chemistry, 385: 1247-1254.

[10] Norman I. Krinsky, Elizabeth J. Johnson.2005.Carotenoid actions and their relation to health and disease, Molecular Aspects of Medicine 26 ,459–516.

[11] Orla F. O'Connell, Lisa Ryan4, Nora M. O'Brien. 2007. Xanthophyll carotenoids are more bioaccessible from fruits than dark green vegetables, Nutrition Research 27 258– 264.

[12] Roca, M., Minguez-Mosquera, M.I, 2002, Change in the natural ratio between chlorophylls and carotenoids in olive fruit during processing for virgin olive oil, Journal of the American Oil Chemists' Society, 78: 133-138.

[13] Giuffrida, D., Salvo, f., Salvo, A., Pera,L. and Dugo, G, 2007, Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from various Sicilian olive varieties, Food Chemistry, 101: 833-837.

[14] Roca, M., Minguez-Mosquera, M.I, 2001, Change in the natural ratio between chlorophylls and carotenoids in olive fruit during processing for virgin olive oil, Journal of the American Oil Chemists' Society, 78: 133-138.

[15] Olfa Baccouri, Mokhtar Guerfel, Bechir Baccouri, Lorenzo Cerretani, Alessandra Bendini Giovanni Lercker, Mokhtar Zarrouk, Douja Daoud Ben Miled.2008. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. Food Chemistry 109,743–754.

[16] Rahmani, M., Saari-Csallany, A, 1998, Role of minor constituents in the photooxidation of virgin olive oil, Journal of the American Oil Chemist, Society, 75: 837-843.

[17] Fakourelis, N., Lee, E.C., and Min, D.B, 1987, Effects of chlorophylls and B-caroten on the oxidation stability of olive oil, Journal of Food Science, 55: 234-235.

[18] Liu, M.H., and Chen, B.H, 1998 , Relationship between chlorophyll a and betacaroten in a lipid containing model system during illumination, Food Chemistry, 63: 207-213.

[19] Gutierrez-Rosales, F., Garrido-fernandez, j., Gallardo-Guerrero, L., Ganduel- Rojas, B. and Minguez-Mosquera, I, 1992, Action of chlorophylls on the stability of virgin, Journal of the American Oil Chemists' Society, 89: 866-871.

[20] Gomez-Alonso, S., Mancebo-campos, V., Salvador, M.,and Fregapane, G., 2007, Evolution of major and minor components and oxidation indicaes of virgin olive oil during 21 month storage at room temperature, Food Chemistry, 100: 36-42.

[21]Caponio, F.,Teresabilancian, M., Pasqualone, A., Sikorska, E. and omes, T., 2005, Influence of the exposure to light on extra virgin olive oil quality during storage, Journal of European Food Research and Technology, 221: 92-98.

[22] Psomiadou, E., Tsimidou, M, 2001, Pigments in virgin olive oils:occuraence and levels, Journal of the Food and Agriculture, 81: 640-647.

[23] Kritchevsky, S. B. (1999). b-Carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease. Journal of Nutrition, 129, 5–8.

[24] Riso P., Brusamolino A., Scalfi L., and Porrini M. 2004. Bioavailability of carotenoids from spinach and tomatoes, Nutr Metab Cardiovasc Dis, 14:150-156.

[25] Firestone, D. (1994), Official Methods of Analysis of the Association of official Analytical chemists.15thedn, Arlington, USA.

[26] Mariana-Atenaa Poiana, Ersilia Alexa, Diana Moigradean, Mirela Popoa.2009.The influence of the storage conditions on the oxidative stability and antioxidant properties of sunflower and pumpkin oil, Food Processing Technology 119, 449-453.

The effect of carotenoids content on the oxidative stability of Iranian extra virgin olive oils

Salmanizadeh, S.[1 *] , Piravi Vanak, Z.[2] , Safafar, H. [3]

1. Department of Food Science and Technology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
2. Assistant Professor of Standard Research Institute, Iranian National Standardization Organization Karaj(INSO), Iran
3. Administer of National Olive Council, Tehran, Iran

(Received: 90/9/21 Accepted: 90/11/18)

In the present study, sampling was carried out using 7 virgin olive oils from different Province. The amounts of the carotenoids were determined for each sample using diol-phase cartridges and the extract was analysed by reverse-phase HPLC. For evaluating the stability of olive oil samples, the peroxide value measured 4 continus weeks in two different coditions of light and darkness. Given to the obtained results lutein (51/48%) show the highest content of all carotenoids pigments in Iranian olive oils and betacaroten (0/76%) show the lowest concentrations. Cis lutein pigment is one of the pigment affecting olive oil stability in the light acting as a pro-oxidant to reduce the stability and increase peroxide index. Betacryptoxanthin is factor that affecting the stability of oil exposed to darkness acting as peroxidants to reduce the stability and increase rancidity.

Keyword: Betacryptoxanthin, Prooxidan, Cis lutein, Carotenoid

*Corresponding Author E-Mail address: sz.sanaz@gmail.com