نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۷ شماره ۳/ سال ۱۳۹۶/ صفحات ۱۳۹ تا ۱۴۹

استفاده از روش گرماسنجی برای تعیین تقلب روغن زیتون فوق بکر با روغن کلزا به عنوان جایگزین روش کروماتوگرافی گازی

آمنه پاشائی[۱] و فروغ شواخی[۲*]

تاریخ دریافت: ۹٤/۷/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۱۷

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی کشاورزی، علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس، تهران
[۲]استادیار موسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
* مسئول مکاتبه : Email:frshavakhi@yahoo.com

چکیده

قیمت روغن زیتون فوق‌بکر به دلیل خواص ارگانولپتیک به‌ویژه طعم قوی و فواید سلامتی آن به سرعت در بازار جهانی در حال افزایش است. بنابراین با رشد تقاضا و گرانی روغن زیتون فوق بکر تقلب در این محصول درحال افزایش است. هدف از این پژوهش استفاده از گرماسنج روبشی تفاضلی برای تعیین تقلب روغن زیتون فوق بکر مخلوط شده با روغن کلزا و مقایسه آن با کروماتوگرافی گازی بود. نتایج حاصل از دستگاه گرماسنج روبشی تفاضلی نشان داد که در اثر افزودن روغن کلزا تغییرات معنی‌داری در ترموگرام سرد کردن و گرم کردن ایجاد شد، به‌نحوی که در مخلوط حاوی روغن کلزا، آنتالپی پیک بزرگ کریستالیزاسیون در سطح حداقل ۱۵ درصد تقلب و نیز آنتالپی و دماهای حداکثری و نهایی پیک کوچک ذوب در سطح حداقل ۵ درصد تقلب، نسبت به روغن زیتون فوق بکر اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) داشت. در آزمون تعیین ترکیب اسید چرب نیز مشاهده شد اکثر اسیدهای چرب اصلی مخلوط حاوی حداقل ۵ درصد روغن کلزا نسبت به روغن زیتون فوق بکر اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) داشت و تنها مقدار اسید لینولنیک در سطح حداقل ۱۰ درصد و اسید گادولئیک در سطح حداقل ۱۵ درصد تقلب، بیشتر از حد نهایی تعیین شده آنها در استاندارد بود. به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت که گرماسنج روبشی تفاضلی را می توان به عنوان جایگزینی برای روش کروماتوگرافی گازی در تشخیص تقلب روغن زیتون فوق بکر با روغن کلزای تصفیه شده به کار برد.

واژگان کلیدی: تقلب، روغن کلزا،روغن زیتون فوق بکر، کروماتوگرافی گازی، گرماسنجی

مقدمه

روغن زیتون به دلیل طعم دلپذیر، پایداری خوب و فوایدی که برای سلامتی دارد یک روغن خوراکی بی-نظیر محسوب می‌شود (کواس ۲۰۰۷). روغن زیتون فوق بکر سرشار از اسید اولئیک و آنتی اکسیدان‌های طبیعی (فنول و توکوفرول ها) بوده و در جلوگیری از بیماری‌های قلبی موثر است. امروزه با شناخته‌شدن فواید تغذیه‌ای روغن زیتون، توجه خاصی به استفاده از این روغن در نوعی از رژیم غذایی مدیترانه‌ای معطوف شده است. روغن زیتون از سایر روغن‌های گیاهی

متمایز است زیرا این روغن می‌تواند بدون هر نوع تصفیه مصرف شود (دورتوگلو و همکاران ۲۰۰۳). قیمت روغن زیتون فوق بکر به دلیل خواص ارگانولپتیک بویژه طعم قوی و فواید سلامتی آن به سرعت در بازار جهانی در حال افزایش است. بنابراین با رشد تقاضا و گران‌تر شدن روغن زیتون فوق بکر میزان تقلب در این محصول درحال افزایش است (آنجیولی و همکاران۲۰۰۹). این تقلب گاهی اوقات عمدی و گاهی اوقات تصادفی است. علاوه بر این، تقلب روغن زیتون گاهی سبب بیماری‌های مختلف و حتی مرگ و میر در بیماری تحت عنوان " سندرم سمی اسپانیایی[1]" یا " سندرم روغن سمی[2]" شده است (لی چان ۱۹۹٤).

یکی از شایع‌ترین انواع تقلب در این روغن مخلوط کردن روغن زیتون فوق بکر با سایر روغن‌های ارزان قیمت‌تر مانند سویا، پالم، کلزا، فندق و آفتابگردان و نیز انواع روغنهای زیتون ارزان قیمت‌تر مانند روغن تفاله زیتون یا روغن زیتون تصفیه‌شده است (جعفری و همکاران ۲۰۰۹).با این حال تشخیص روغن اضافه شده به روغن زیتون معمولاً به آسانی انجام نمی‌شود، چرا که گاهی روغن اضافی را طوری انتخاب می کنند که هیچ تغییری در شاخص‌ها (عدد یدی، عدد صابونی، تغییر ضریب شکست نور) به وجود نیاید.

برای تعیین تقلب روغن زیتون از روش‌های مختلفی مانند روش‌های کروماتوگرافی، اسپکتروسکوپی و تکنیک‌های مبتنی بر تشخیص اسیدنوکلئیک استفاده می شود. یکی از رایج ترین این روش‌ها ، تعیین ترکیب اسید چرب می‌باشد که در آن با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی، نوع و مقدار اسیدهای چرب موجود در نمونه روغن، تعیین و با نوع خالص روغن زیتون مقایسه می‌شود (چیاوارو و همکاران a۲۰۰۸). لازم به ذکر است که اغلب این روش‌ها گران و وقت گیر بوده و نیاز به ابزارهای پیچیده و آزمایشگاه‌های مجهزداشته و همچنین اثرات محیطی زیادی نیز دارند. بنابراین دسترسی به روش‌های آزمایشگاهی جدیدتر، برای تشخیص تقلب روغن زیتون لازم و ضروری به نظر می‌رسد (چیاوارو و همکاران a۲۰۰۸). یکی از سریع‌ترین و جدیدترین تکنیک‌های به کار گرفته شده در سال‌های اخیر، تجزیه حرارتی می‌باشد. در بین انواع روش‌های تجزیه حرارتی، روش گرماسنجی روبشی تفاضلی (DSC[3]) بیشترین کاربرد را در تحقیقات صورت گرفته در صنایع غذایی به خود اختصاص داده-است. در این روش ماده مورد نظر و مرجع، تحت برنامه کنترل‌شده حرارتی قرار گرفته و مقدار اختلاف انرژی اعمال‌شده به مرجع یا نمونه، اندازه گیری می-شود (نیلسون۱۹۹۸). در حقیقت این روش بر مبنای تجزیه و تحلیل گرمایی می‌باشد که قادر است تغییراتی را که در ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مواد مختلف طی فرآیندهای گرمایی اتفاق می‌افتد، با تشخیص تغییرات گرمایی این مواد، توصیف کند. به عبارتی تغییرات صورت گرفته در نمونه در اثر جذب حرارت، باعث تغییر در جریان افتراقی گرما می‌شود و اثر آن به صورت ترموگرام ثبت می‌شود (کاستاس ۱۹۸۳). از جمله فواید گرماسنج روبشی تفاضلی سرعت اندازه-گیری بالا، مقدارکم نمونه (کمتراز۱۰ میلی‌گرم)، امکان به کارگیری برای مواد جامد و مایع، سهولت وآسانی روش وآنالیزداده‌ها ،عدم نیاز به آماده سازی نمونه در اغلب مواد غذایی و حفظ ماده غذایی موقع حرارت دادن ویا سرد کردن است (فقیهیان وهمکاران ۱۳۸۵ ؛نیلسون ۱۹۹۸). طی حرارت دهی روغنها دراین دستگاه، دو فرآیند کریستالیزاسیون و ذوب رخ می دهد که از طریق بررسی ترموگرام های این دو پدیده، تقلب روغن مورد بررسی قرار می گیرد (فقیهیان و همکاران۱۳۸۵).

از میان تحقیقات صورت گرفته ، چیاوارو و همکاران (b ۲۰۰۸)، از تجزیه حرارتی گرماسنجی روبشی تفاضلی برای تعیین تقلب روغن زیتون با روغن فندق استفاده

[1]Spanish Toxic Syndrome
[2]Toxic Oil Syndrome
[3]Differential Scanning Calorimetry

کرده و مشاهده نمودند که خواص حرارتی ترموگرام-های سردکردن مثل آنتالپی، دمای آغازین و محدوده انتقال، حتی با افزودن ۵ درصد روغن فندق تحت تاثیر قرار گرفت و تقلب روغن فندق در روغن زیتون در سطوح ۴۰-۲۰ درصد توسط این دستگاه قابل تشخیص بود. جعفری و همکاران (۲۰۰۹) از سه روش دستگاهی برای تشخیص تقلب روغن های زیتون ایرانی استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که روش های گرماسنجی روبشی تفاضلی و اسپکتروفتومتری روزونانس مغناطیس هسته‌ای، جایگزین های مناسبی برای روش گازکروماتوگرافی در تشخیص تقلب روغن زیتون بوده وروش‌های حساس و سریعی می باشند و استفاده از آنها در کنترل کیفیت روغن زیتون، مناسب است. فراری و همکاران (۲۰۰۷)، تحقیقی را در خصوص ارتقاء روش کالریمتری برای تشخیص تقلب روغن زیتون انجام دادند. این محققین روغن زیتون فوق بکر را تحت پروتکل‌های مختلف با برنامه دمایی متفاوت گرماسنج روبشی تفاضلی (دما و زمان و سرعت فرآیندهای کریستالیزاسیون و ذوب) قراردادند. نتایج نشان‌داد که همگی پروتکل‌ها، ساده، سریع و کم هزینه بوده و داده-های تکرارپذیری داشتند و می توان از آنها برای تعیین کیفیت، منشأ و تعیین تقلب روغن زیتون استفاده نمود.

کریستوپولو و همکاران (۲۰۰۴)، کارآیی تعیین اسید چرب و تری‌گلسیرید ها را در تعیین تقلب روغن زیتون با روغن گیاهی خاصی تا سطح ۵ درصد مورد بررسی قرار دادند. بنابر نتایج حاصله روش تعیین اسید چرب می تواند در مخلوط‌های روغن زیتون فوق بکر حاوی ۵ درصد و کمتر روغن‌های سویا، کلزا، بادام زمینی، گردو و خردل، تقلب را تا سطح ۵ درصد شناسایی کند.

استفاده از کروماتوگرافی گازی برای تعیین کفایت روش ترکیب اسید چرب در تشخیص تقلب روغن زیتون تصفیه شده با روغن‌های نباتی کلزا، آفتابگردان، سویا و روغن تفاله زیتون مورد بررسی قرارگرفته و نتایج نشان‌داده‌است که تغییر در اسیدهای چرب بیشتر از حد استاندارد منجر به شناخت۲ و ٤ درصد کلزا، ۱۰ درصد سویا و ٤ درصد آفتابگردان در روغن تصفیه شده شد و هیچ گونه تغییری در حدود اسیدهای چرب در مورد اختلاط با روغن تفاله زیتون بوجود نیامد (فهیم‌دانش و همکاران ۱۳۸۸). مونفردا و همکاران (۲۰۱۲)، سعی نمودند با استفاده از ترکیب اسید چرب وروش‌های آماری کمومتری درصد روغن زیتون را در مخلوط‌های روغن آفتابگردان و روغن زیتون تعیین کنند. این محققین۱۲ نمونه مختلف روغن زیتون و مخلوط ٤۰٪ ،۵۰٪ و٦۰٪ روغن زیتون با روغن آفتابگردان را تهیه نمودند. متیل استرهای اسید چرب تمامی نمونه‌ها به وسیله کروماتوگرافی گازی موردآزمون قرار گرفت وازطریق ابزارهای کمومتریک (PLS^1,$SIMCA^2$,PCA^3) پردازش شد. این محققین توانستند مدل مناسبی را با خطای کمتر از ۱/۵۱ درصد برای تشخیص مقادیر روغن زیتون به دست‌آورند. در این پژوهش گرماسنج روبشی تفاضلی برای تعیین تقلب روغن زیتون فوق بکر مخلوط شده با مقادیر مختلف روغن گیاهی کلزا استفاده شده و کارایی این دستگاه برای جایگزینی آن با کروماتوگرافی گازی بررسی و مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

روغن زیتون فوق بکر با استفاده از دستگاه روغن کشی ایستگاه تحقیقات زیتون رودبار استحصال شد. روغن کلزای تصفیه‌شده نیز از یکی از کارخانه‌های معتبرکشور تهیه شد.

آماده سازی نمونه ها

مقادیر مورد نیاز از هر یک از روغن های زیتون فوق بکر و کلزا با دقت ۰/۰۱ توزین شد و مخلوط‌های روغن زیتون حاوی ۵ و۱۰و ۱۵ و ۲۰ درصد روغن کلزا آماده

1 Partial Least Square
2 Soft Independent Modelling by Class Analogy
3 Principal Component Analysis

شد. سپس با استفاده از همزن Heidolph/MR Hei-standard ساخت آلمان با دور ۵۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۳ دقیقه، مخلوط‌ها هم زده و یکنواخت شد. نمونه‌ها تا قبل از انجام آزمون در دمای محیط نگهداری شد.

آزمایش اسیدیته و پراکسید روغن زیتون مطابق استاندارد ۱٤٤٦ انجام شد. تجزیه حرارتی روغن زیتون فوق‌بکر، روغن کلزا تصفیه‌شده و نمونه‌های حاصل از اختلاط آنها با استفاده از دستگاه گرماسنج روبشی تفاضلی مدل Mettler Toledo ساخت سوئیس موجود در موسسه تحقیقات فنی مهندسی کشاورزی کرج انجام شد. به این صورت که ۲±۸/۲ میلی‌گرم نمونه‌های روغن در ظروف کوچک آلومینیمی مخصوص دستگاه وزن شده و پس از بررسی برنامه-های گرمایی مقالات مختلف (آنجیولی و همکاران ۲۰۰۹، چیاوارو و همکاران a ۲۰۰۸ ، فراری و همکاران ۲۰۰۷، جعفری و همکاران ۲۰۰۹) و بر اساس آزمایشات مقدماتی صورت گرفته، برنامه دمایی برای تحقیق فوق به دست آمد. بدین صورت که پس از قرار گرفتن نمونه در ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ دقیقه، با سرعت ۲ °C در دقیقه تا ۸۰ °C- سرد شد،۳ دقیقه در دمای ۸۰ °C- باقی ماند و پس از آن با سرعت ۲ °C در دقیقه از ۸۰°C- تا ۳۰ °C حرارت داده شد. نیتروژن نیز به عنوان گاز خنک کننده با سرعت ۵۰ سانتی‌مترمکعب در دقیقه استفاده شد. سپس ترموگرام-های حاصله با نرم افزار دستگاه (Star Software) آنالیز شد و دماهای ابتدایی، نهایی و حداکثر پیک ها به‌دست‌آمد. برای شناسایی و تعیین مقدار اسیدهای‌چرب از دستگاه گازکروماتوگراف مدل500 Perkin Elmer/Clarus ساخت آمریکا موجود درآزمایشگاه دانشکده علوم و صنایع غذایی دانشگاه تهران استفاده شد. قبل از تزریق نمونه‌ها به داخل دستگاه، آماده سازی به صورت مشتق متیل‌استر انجام شد (متکاف و همکاران ۱۹٦٦). جهت تجزیه متیل-استرهای اسید چرب از روش استاندارد ملی تجزیه متیل استرهای اسیدهای چرب به روش کروماتوگرافی-گازی به شماره ٤۰۹۱ استفاده شد. ازمقایسه منحنی-های ترسیم شده توسط دستگاه با منحنی‌های استاندارد و براساس زمان بازداری نسبی آنها، نوع اسیدهای‌چرب شناسایی شد و مقدار آنها با محاسبه سطح زیرمنحنی-های حاصل توسط نرم افزار تعیین شد.

تجزیه و تحلیل داده ها

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از طرح آماری کاملاً تصادفی[1] با سه تکرار استفاده شد. نرم‌افزار مورد استفاده نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ بود. مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون مقایسه میانگین چند دامنه-ای دانکن[2] با سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. هر نمونه حداقل سه بار تکرار شد.

نتایج و بحث

نتایج اسیدیته و پراکسید

براساس نتایج بدست آمده، میزان اسیدیته روغن زیتون فوق بکر ۰/۰۰٦±۰/٤۹ و عدد پراکسید ۰/۲±۱٤/۸ بود که با مشخصات روغن زیتون فوق بکرمندرج در استاندارد ملی روغن زیتون (۱٤٤٦) با مقادیر اسیدیته ≤ ۰/۸ و پراکسید ≤ ۲۰ مطابقت داشت.

ترموگرام های سرد کردن گرماسنج روبشی تفاضلی

ترموگرام سردکردن روغن زیتون فوق‌بکر و ترموگرام-های سردکردن حاصل از افزودن درصدهای مختلف روغن کلزا به روغن زیتون فوق بکر در شکل ۱ نشان داده شده است.

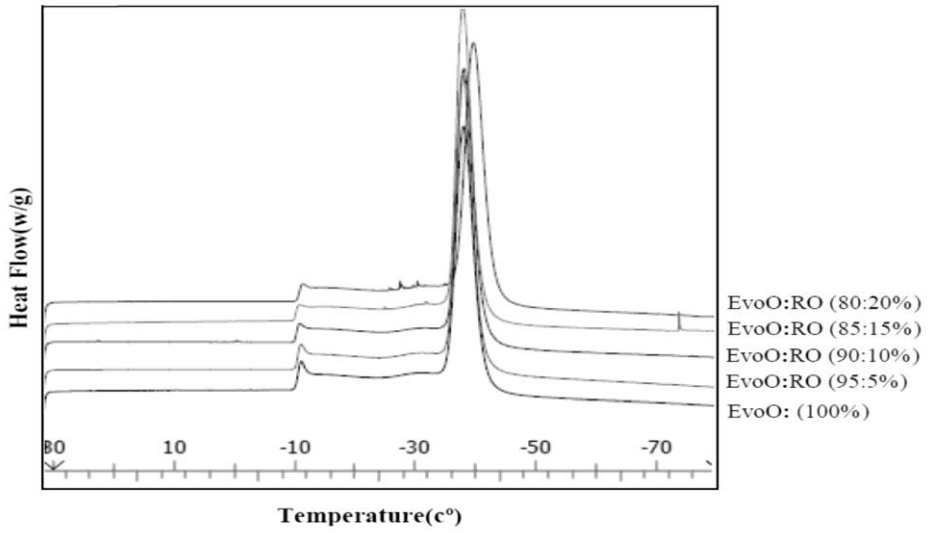
دو پدیده گرمازا (اگزوترمیک) در حین سردکردن روغن زیتون فوق‌بکرو مخلوط روغن زیتون و روغن کلزا، مشاهده‌شد. آنجیولی و همکاران در سال ۲۰۰۹ و چیاوارو و همکاران در سال ۲۰۰۸b نیز حین سردکردن روغن زیتون فوق بکر و نیز مخلوط نمودن آن با سایر

[1] Completely Randomized Design (CRD)
[2] Duncan

روغن‌ها دو پدیده گرمازا مشاهده نمودند. در سردکردن روغن زیتون فوق بکر، پیک کوچک کریستالیزاسیون در دمای حدود C ۱۲°- و پیک بزرگ در دمای حدود C ° ۳۸- به حداکثر خود رسیده است.

پیک بزرگ کریستالیزاسیون

چنانچه در جداول ۱و۲ مشاهده می‌گردد، آنتالپی و دمای حداکثر و نهایی پیک بزرگ کریستالیزاسیون مخلوط‌های حاوی روغن کلزا تغییر معنی‌داری (P<۰/۰۵) نشان نداد. تنها دمای آغازین آن در سطح ۱۵ و ۲۰ درصد روغن کلزا نسبت به روغن زیتون فوق بکر کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) داشت. بنابراین شاید بتوان‌گفت به غیر از دمای‌آغازین، سایر مشخصه‌های (آنتالپی و دمای حداکثر و نهایی پیک بزرگ کریستالیزاسیون) پیک بزرگ کریستالیزاسیون، برای تشخیص وجود روغن کلزا در روغن‌زیتون فوق‌بکر، مناسب نمی‌باشد و علت آن احتمالاً ترکیب شیمیایی نزدیک روغن کلزا به روغن زیتون به‌ویژه بالابودن میزان اسید اولئیک آن است.



شکل۱- ترموگرام های سرد کردن DSC روغن زیتون فوق بکر(EvoO) و مخلوط آن با ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد روغن کلزا (RO)

پیک کوچک کریستالیزاسیون

به جز آنتالپی پیک کوچک کریستالیزاسیون مخلوط‌های حاوی روغن کلزا که در سطح حداقل ۱۰ درصد کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) داشت، دماهای پیک (دمای آغازین، حداکثری و نهایی) از هیچ روند مشخصی تبعیت ننمود و تغییر معنی‌داری نشان ندادند. بنابراین به نظر می‌رسد این پیک نیز شاخص مناسبی برای تشخیص تقلب روغن زیتون بوسیله روغن کلزا نباشد.

جدول۱- مقایسه میانگین دمای پیک بزرگ کریستالیزاسیون روغن زیتون فوق بکر و مخلوط آن با روغن کلزا

	تیمار۱	تیمار ۲	تیمار۳	تیمار٤	تیمار٥
آنتالپی (ΔH)	۳۸/٦۸±۱/۱a	۳۸/٦۳±۰/٦٤a	۳۸/٥۲±۰/۹۷a	۳۸/٥۲±۱/۱a	۳۸/۲۹±۰/٥۷a
دمای آغازین(°C)	-۳٦/۱۲±۰/٥۱b	-۳٦/٤۲±۰/۱۳ab	-۳٦/۹۲±۰/٦۲ab	-۳۷/۱٤±۰/٥٤ a	-۳۷/۳۰±۰/٤٦ a
دمای ماکزیمم (°C)	-۳۸/٤±۰/٥۹a	-۳۸/٥٥±۰/۱٥a	-۳۹/۲٤±۱/۱a	-۳۹/۳۱±۰/۹٥a	-۳۹/٥٦±۰/۷a
دمای نهایی(°C)	-٤۱/٤۸±۰/٤۹a	-٤۱/۳۷±۰/۲٦a	-٤۲/۲۲±۱/۳a	-٤۲/۲±۱/۱۸a	-٤۲/۷٦±۰/٦٦a

تیمار ۱: روغن زیتون فوق بکر ، تیمار ۲ : روغن زیتون + ۵ ٪روغن کلزا ، تیمار ۳ : روغن زیتون+ ۱۰٪ روغن کلزا ، تیمار ٤ : روغن زیتون +۱۵٪روغن کلزا ، تیمار ۵ : روغن زیتون + ۲۰٪روغن کلزا

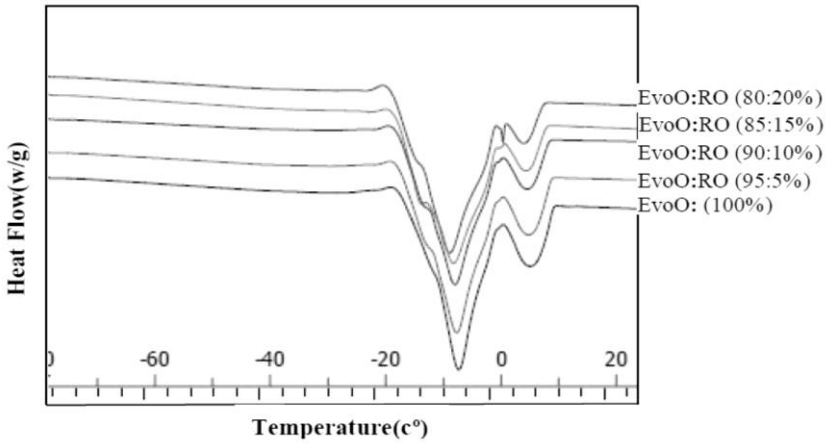
جدول۲- مقایسه میانگین دمای پیک کوچک کریستالیزاسیون روغن زیتون فوق بکر و مخلوط آن با روغن کلزا

	تیمار۱	تیمار ۲	تیمار۳	تیمار٤	تیمار٥
آنتالپی (ΔH)	۱/۱۹ ±۰/۳۹^{b}	۰/۹۵ ±۰/۱۱^{ab}	۰/۷۵ ±۰/۰۹^{a}	۰/۷۲ ±۰/۲٤^{a}	۰/٦ ±۰/۱۳^{a}
دمای آغازین(°C)	-۱۱ ±۰/٤٤ ^{a}	-۱۰/۹٦ ±۰/٤^{a}	-۱۱/۵۲ ±۰/۷^{a}	-۱۱/۵٤ ±۰/٦۱^{a}	-۱۱/٤۷ ±۰/۱۷^{a}
دمای ماکزیمم (°C)	-۱۱/۷٦ ±۰/٦۵^{a}	-۱۱/۸۲ ±۰/۳۲^{a}	-۱۲/۲٦ ±۰/۸٤^{a}	-۱۲/۲۵ ±۰/۷^{a}	-۱۱/۱۲ ±۰/۲۸^{a}
دمای نهایی(°C)	-۱۳/۲ ±۰/۵٦ ^{a}	-۱۳/٤۲ ±۰/۰٦^{a}	-۱۳/٦ ±۰/۹۲^{a}	-۱۳/۷۵ ±۰/۷۷^{a}	-۱۳/۵٤ ±۰/۳۸^{a}

تیمار ۱: روغن زیتون فوق بکر ، تیمار ۲ : روغن زیتون + ۵ ٪روغن کلزا ، تیمار ۳ : روغن زیتون+ ۱۰٪روغن کلزا ، تیمار ٤ : روغن زیتون +۱۵٪روغن کلزا ، تیمار ۵ : روغن زیتون + ۲۰٪روغن کلزا

ترموگرام های گرم کردن گرماسنج روبشی تفاضلی

ترموگرام‌های حرارت‌دهی حاصل از افزودن درصدهای مختلف روغن کلزا به روغن زیتون فوق بکر در شکل ۲ نشان داده شده است. دو پدیده گرماگیر (آندوترمیک) در حین فرآیند حرارت‌دهی و ذوب کریستال‌ها در روغن زیتون فوق‌بکر مشاهده شد که این نتیجه با نتایج آنجیولی و همکاران در سال ۲۰۰۹ و چیاوارو و همکاران در سال ۲۰۰۸b مشابهت داشت. پیک بزرگ ذوب نیز در دمای حدود C ° ۷/۵- و پیک کوچک در دمای حدود C ° ۵/٤ به حداکثر خود رسید.



شکل ۲- ترموگرام های گرم کردن DSC روغن زیتون فوق بکر(EvoO) و مخلوط آن با ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد روغن کلزا (RO)

پیک بزرگ ذوب

با توجه به جدول ۳، آنتالپی پیک بزرگ ذوب در سطح ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد تقلب با روغن کلزا به طور معنی-داری ($P<۰/۰۵$) افزایش‌یافت. در بین دماهای پیک، دمای آغازین پیک بزرگ ذوب تنها در سطح ۱۵و ۲۰ درصد روغن کلزا کاهش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) نشان داد. ولی دمای حداکثری پیک در اثر افزودن روغن کلزا در سطح حداقل ۵ درصد، کاهش معنی‌داری داشته است و بین دمای حداکثری همه تیمارها نیز اختلاف معنی-داری ($P<۰/۰۵$) مشاهده شد. با توجه به اینکه پیک بزرگ ذوب روغن زیتون با تری‌آسیل‌گلیسرول‌های دارای سه اسید چرب غیر اشباع مرتبط است، احتمالاً علت افزایش آنتالپی و کاهش دماهای پیک مذکور، افزایش قطعات لیپید غیر اشباع در اثر افزودن روغن کلزا است (چیاوارو و همکاران ۲۰۰۸a). با این وجود دمای نهایی پیک بزرگ ذوب بر خلاف دماهای حداکثری و نهایی، افزایش‌یافت. همان‌گونه که اشاره‌شد به‌دلیل همپوشانی دمای نهایی پیک بزرگ ذوب با دمای آغازین پیک کوچک ذوب، داده‌های حاصله، دقیق نیست. بنابراین در بین داده‌های پیک بزرگ ذوب، دمای

حداکثری می‌تواند بهترین شاخص برای تشخیص وجود روغن کلزا در روغن زیتون باشد.

جدول۳- مقایسه میانگین دمای پیک بزرگ ذوب روغن زیتون و مخلوط آن با روغن کلزا

	تیمار۱	تیمار ۲	تیمار۳	تیمار٤	تیمار٥
آنتالپی (ΔH)	٤٧/٥٢±٠/٣١ ^{a}	٤٨/٥٥±٠/٤١ ^{ab}	٤٩/٥٠±٠/٣٤ ^{bc}	٥٠/٣٨±١/٣٤ ^{cd}	٥١/٣٣±١/١٦ ^{d}
دمای آغازین(°C)	-١٣/٩٣ ±٠/٣ ^{c}	-١٤/٧٥ ±٠/١٧ ^{bc}	-١٤/٧٣ ±١/٢٢ ^{bc}	-١٥/٤ ±٠/٦٧ ^{ab}	-١٦/٣٢ ±٠/١٧ ^{a}
دمای ماکزیمم (°C)	-٧/٥٢ ±٠/٠٤ ^{e}	-٧/٧٦ ±٠/٠٧ ^{d}	-٨/٠٩ ±٠/١٢ ^{c}	-٨/٥٢ ±٠/٠٦ ^{b}	-٨/٩٩ ±٠/١٤ ^{a}
دمای نهایی(°C)	-٢/٠٢ ±٠/٢٥ ^{a}	-١/٦٣ ±٠/٧٤ ^{ab}	-١/٢٤ ±٠/٦١ ^{ab}	-٠/٩٩ ±٠/٠٩ ^{b}	-١/٠٨ ±٠/١٣ ^{b}

تیمار ۱: روغن زیتون فوق بکر ، تیمار ۲ : روغن زیتون + ٥ ٪روغن کلزا ، تیمار ۳ : روغن زیتون+ ۱۰٪روغن کلزا ، تیمار ٤ : روغن زیتون +۱٥٪روغن کلزا ، تیمار ٥ : روغن زیتون + ۲۰٪روغن کلزا

پیک کوچک ذوب

بنابر جدول ٤ آنتالپی و دمای حداکثری و دمای نهایی پیک کوچک ذوب مخلوط های حاوی روغن کلزا در سطح حداقل ٥ درصد به طور معنی‌داری($P<٠/٠٥$) کاهش یافت که علت آن می‌تواند کم شدن اسیدهای چرب اشباع در اثر افزودن روغن کلزا باشد. ولی بین دماهای آغازین تیمارها هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد که همانگونه که بیان شد علت آن همپوشانی ابتدای این پیک با انتهای پیک بزرگ ذوب می‌باشد. طبق داده-های به‌دست آمده، آنتالپی و دمای حداکثری و دمای نهایی پیک کوچک ذوب همگی شاخص مناسبی برای تشخیص تقلب روغن زیتون به‌وسیله روغن کلزا می-باشند.

جدول۴-مقایسه میانگین دماهای پیک کوچک ذوب روغن زیتون و مخلوط آن با روغن کلزا

	تیمار۱	تیمار ۲	تیمار۳	تیمار٤	تیمار٥
آنتالپی (ΔH)	٤٧/٥٢±٠/٣١ ^{a}	٤٨/٥٥±٠/٤١ ^{ab}	٤٩/٥٠±٠/٣٤ ^{bc}	٥٠/٣٨±١/٣٤ ^{cd}	٥١/٣٣±١/١٦ ^{d}
دمای آغازین(°C)	٠/٨٤±٠/٠٤ ^{a}	٠/٩±٠/٠٧ ^{a}	٠/٩٥±٠/١٧ ^{a}	٠/٩٣±٠/١١ ^{a}	٠/٨٧±٠/٠٨ ^{a}
دمای ماکزیمم (°C)	٥/٣٤±٠/٠٧ ^{e}	٥/٠٩±٠/١ ^{d}	٤/٨±٠/٠٧ ^{c}	٤/٥١±٠/٠٥ ^{b}	٤/٢٣±٠/٠٤ ^{a}
دمای نهایی(°C)	٨/٩٥±٠/٠٤ ^{e}	٨/٦٣±٠/٠٢ ^{d}	٨/٢٤±٠/٠٦ ^{c}	٧/٧٢±٠/١١ ^{b}	٧/٠٧±٠/٠٤ ^{a}

تیمار ۱: روغن زیتون فوق بکر ، تیمار ۲ : روغن زیتون + ٥ ٪روغن کلزا ، تیمار ۳ : روغن زیتون+ ۱۰٪روغن کلزا ، تیمار ٤ : روغن زیتون +۱٥٪روغن کلزا ، تیمار ٥ : روغن زیتون + ۲۰٪روغن کلزا

ترکیب اسید چرب

با توجه به نتایج جدول شماره٥، با افزایش درصد روغن کلزا، مقدار اسید پالمیتیک مخلوط های روغن زیتون فوق بکر و روغن کلزا، کاهش یافت. مقدار اسید پالمیتیک مخلوط ها در سطح ٥ درصد و بیشتر روغن کلزا نسبت به روغن زیتون خالص اختلاف معنی‌داری ($P<٠/٠٥$) داشت. ولی اندازه آن همچنان در محدوده تعیین‌شده استاندارد روغن زیتون قرار داشت. در مطالعه فهیم‌دانش و همکاران در سال ۱۳۸۸ و پیراوی و همکاران در سال ۲۰۱۰ نیز در اثر افزودن روغن کلزا به روغن زیتون، مقدار اسید پالمیتیک از محدوده استاندارد خارج نشد.

جدول ۵-ترکیب اسید چرب مخلوط های روغن زیتون فوق بکر با روغن کلزا تصفیه شده (بر حسب درصد)

اسیدچرب	استاندارد	تیمار۱	تیمار ۲	تیمار۳	تیمار٤	تیمار٥
C16:0	۷/٥-۲۰	۱۲/٥۰±۰/۰٦^{e}	۱۱/۸۷±۰/۱٥^{d}	۱۱/٤٥±۰/۰٦^{c}	۱۰/۹٤±۰/۰٤۲^{b}	۱۰/٥٥±۰/۰٤^{a}
C18:0	۰/٥-٥/۰	۳/۰۲±۰/۰۳^{d}	۲/۹٦±۰/۰۳^{cd}	۲/۸۷±۰/۰٥^{bc}	۲/۷۸±۰/۰۳^{b}	۲/٤۲±۰/۱^{a}
C22:0	≤ ۰/۲	۰/۰۸±۰/۰۱^{a}	۰/۱۱±۰/۰۱^{b}	۰/۱۲±۰/۰٦^{bc}	۰/۱٤±۰/۰٦^{cd}	۰/۱٥±۰/۰٦^{d}
C16:1	۰/۳-۳/٥	۰/۸۸±۰/۰۲^{e}	۰/۸۱±۰/۰۲^{d}	۰/۷±۰/۰۲^{c}	۰/٦٦±۰/۰۱^{b}	۰/٦۱±۰/۰۲^{a}
C18:1	٥٥/۰-۸۳/۰	٦۹/٦۸±۰/۰۷^{e}	٦۹/۳۱±۰/۱۱^{d}	٦۸/۷٦±۰/۱۱^{c}	٦۸/۳٤±۰/۱٦^{b}	٦۸/۱٥±۰/۰٥^{a}
C20:1	≤ ۰/٤	۰/۲٥±۰/۰۰٦^{a}	۰/۳۲±۰/۰۱^{b}	۰/۳۹±۰/۲۱^{c}	۰/٤٥±۰/۰۱^{d}	۰/٥±۰/۰۲^{e}
C18:2	۳/٥-۲۱/۰	۱۱/۷۸±۰/۰٤^{a}	۱۲/٤۲±۰/۰۹^{b}	۱۳/۰۰±۰/۱۷^{c}	۱۳/٦۱±۰/۱٥^{d}	۱٤/۱۹±۰/۰۳^{e}
C18:3	≤ ۱	۰/٥۱±۰/۰۱^{a}	۰/۹۲±۰/۰۱^{b}	۱/۳٥±۰/۰٦^{c}	۱/۷۳±۰/۰۳^{d}	۲/۱٦±۰/۰۳e

تیمار ۱: روغن زیتون فوق بکر ، تیمار ۲ : روغن زیتون + ٥ ٪روغن کلزا ، تیمار ۳ : روغن زیتون+ ۱۰٪روغن کلزا ، تیمار ٤ : روغن زیتون +۱٥٪روغن کلزا ، تیمار ٥ : روغن زیتون + ۲۰٪روغن کلزا

در بین اسیدهای‌چرب تک غیر اشباع در اثر افزودن کلزا، مقدار اسید گادولئیک (C20:1) در مخلوطهای حاوی حداقل ٥ درصد روغن کلزا نسبت به روغن زیتون فوق بکر افزایش معنی‌داری (P<۰/۰٥) را نشان داد، به طوری‌که مقدار اسیدگادولئیک موجود در مخلوط حاوی ۱٥ درصد روغن کلزا (۰/۰۱±۰/٤٥٪) و مخلوط روغن حاوی ۲۰ درصد روغن کلزا (۰/۰۲±۰/٥٪)، خارج از محدوده تعیین شده در استاندارد روغن زیتون (≤۰/٤) بود، که علت آن،بیشتر بودن مقدار اسید-گادولئیک در روغن کلزای تصفیه شده (۰-۲ درصد) نسبت به روغن زیتون فوق بکر(۰/٤ ≤ درصد) است. در پژوهش فهیم‌دانش وشریعتی در سال ۱۳۸۸، در اثر افزودن ۲ درصد روغن کلزا و در بررسی پیراوی و همکاران در سال ۲۰۱۰ در اثر افزودن ۱۰ درصد روغن کلزا، اسید گادولئیک از محدوده استاندارد خارج شد. بیشتر بودن سطح تشخیصی در مطالعه حاضر نسبت به مطالعات دیگر می تواند به‌دلیل ماهیت متفاوت روغن زیتون خالص اولیه مورد استفاده و بالاتر بودن مقدار اسید گادولئیک آنها باشد. با بررسی مقدار اسیدهای چرب غیراشباع مشاهده شد که با افزایش درصد روغن کلزا، مقدار اسید اولئیک مخلوطهای روغن، کاهش یافت، که علت آن کمتر بودن میزان این اسید چرب در روغن کلزا نسبت به روغن زیتون مورد استفاده بوده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده ، مقدار اسید اولئیک تمامی تیمارها نسبت به روغن زیتون خالص و نسبت به یکدیگر اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰٥) داشت. ولی اندازه آنها همچنان در محدوده تعیین شده استاندارد روغن زیتون قرار داشت که این نتیجه با نتایج پژوهش فهیم-دانش و شریعتی در سال ۱۳۸۸ و پیراوی و همکاران در سال ۲۰۱۰ مشابه بود. بنابرنتایج به‌دست آمده، مقدار اسید لینولئیک در روغن کلزا تصفیه شده مورد استفاده در این مطالعه (۰/۰٦±٦۳/۰٦ ۲۲/۰ درصد) تقریباً دو برابر مقدار این اسید چرب در روغن زیتون فوق بکر خالص(۰/٤±۷۸/۰٤ ۱۱/۰ درصد) بود. به‌همین دلیل با افزایش درصد کلزا در مخلوطها مقدار اسید لینولئیک نیز افزایش یافت، به نحوی که در سطح ٥ درصد و بیشتر اسید لینولئیک، این اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰٥) بود، لیکن مقدار اسید لینولئیک تمام تیمارهای حاوی روغن کلزا، در محدوده استاندارد بود. بهتر است در جدول ٥ حدود استاندار روغن آورده شود (مشابه نتایج فهیم‌دانش و شریعتی در سال ۱۳۸۸و پیراوی و همکاران در سال ۲۰۱۰).

یکی از مهم‌ترین اختلاف اسیدهای چرب روغن زیتون و روغن کلزا، مقدار اسید لینولنیک آنها می‌باشد. طبق استانداردهای مربوطه مقدار این اسید چرب در انواع روغن زیتون ۱ ≤ درصد و درانواع روغن کلزا تصفیه

شده ۱۴/۱ – ۶/۴ درصد است. بنابرنتایج این پژوهش نیز با افزایش مقدار روغن کلزا در مخلوط‌ها، مقدار اسید لینولنیک آنها نیز افزایش یافت به‌طوری‌که مقدار آن موجود در مخلوط روغن حاوی ۱۰ درصد روغن کلزا(۰/۰۶±۱٪/۳۵) ومخلوط روغن حاوی ۱۵ درصد روغن کلزا(۰/۰۳±۱٪/۷۳) و نیز مخلوط حاوی ۲۰ درصد روغن کلزا(۰/۰۳±۲٪/۱۶)، از محدوده تعیین شده در استاندارد روغن زیتون (۱ ≤) بالاتر بود. این درحالی است که مقدار اسید لینولنیک در پژوهش فهیم‌دانش و شریعتی در سال ۱۳۸۸در سطح حداقل ٤ درصد روغن کلزا و در مطالعات پیراوی و همکاران در سال ۲۰۱۰ و کریستوپولو و همکاران در سال ۲۰۰٤ در سطح حداقل ۵ درصد روغن کلزا، از محدوده استاندارد خارج شد. از جمله علل احتمالی تفاوت نتایج مطالعات مذکور و مطالعه حاضر را می‌توان یکسان‌نبودن مقدار این اسید چرب در روغن‌های زیتون اولیه و روغن‌های کلزای به‌کار رفته دانست. بنابراین نتایج حاصله حاکی از آن است که اسید لینولنیک، بهترین شاخص در بین اسیدهای‌چرب جهت تشخیص روغن کلزا در روغن زیتون می‌باشد.

نتیجه گیری کلی

به‌طورکلی در آزمون حرارتی، طی گرم کردن مخلوط های حاوی روغن کلزا، گرماسنج روبشی تفاضلی توانست تقلب روغن زیتون با روغن کلزا را در سطح حداقل ۵ درصد روغن کلزا از طریق تغییرات معنی‌دار ایجاد شده در دمای حداکثر پیک بزرگ ذوب و نیز آنتالپی و دماهای حداکثر و نهایی پیک کوچک ذوب در حین گرم کردن تشخیص دهد.

با بررسی ترموگرام‌های سرد کردن نیز می‌توان وجود حداقل ۱۵ درصد روغن کلزا را به دلیل تغییرات معنی-دار آنتالپی پیک بزرگ کریستالیزاسیون، شناسایی نمود. در آزمون تعیین ترکیب اسید چرب با کروماتوگرافی گازی مشاهده شد اکثر اسیدهای چرب اصلی مخلوط-های حاوی حداقل ۵ درصد روغن کلزا نسبت به روغن زیتون فوق بکر اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) داشت ولی در مقایسه با محدوده استاندارد روغن زیتون، تنها مقدار اسید لینولنیک در سطح حداقل ۱۰ درصد و اسید گادولئیک در سطح حداقل ۱۵ درصد تقلب، خارج از محدوده بود. بنابراین نتایج این تحقیق نشان‌داد که روش گرماسنج روبشی تفاضلی نیز همانند روش کروماتوگرافی گازی می‌تواند برای تشخیص وجود تقلب روغن زیتون فوق بکر با روغن کلزا تصفیه شده به کار رود.

سپاسگزاری

این پژوهش در قالب بخشی از پروژه تحقیقاتی موسسه تحقیقات فنی مهندسی کشاورزی انجام‌شده‌است. بدینوسیله از همکاران محترم آن موسسه به ویژه مسئولین محترم آزمایشگاه‌های بخش تحقیقات صنایع غذایی و تکنولوژی پس از برداشت قدردانی می شود.

منابع مورد استفاده

بی‌نام، ۱۳۷۷. استاندارد ملی ایران، شماره ٤۰۹۱. انتشارات موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. تجزیه متیل استرهای اسیدهای چرب به روش گازکروماتوگرافی، چاپ اول.

بی‌نام، ۱۳۸۹. استاندارد ملی ایران، شماره ۱٤٤٦. انتشارات موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. روغن زیتون، ویژگیها و روش های آزمون، تجدیدنظر دوم.

فقیهیان ح، شاهرخیان س و کاظمیان ح، ۱۳۸۵. روش های تجزیه حرارتی. چاپ دوم. اصفهان : دانشگاه اصفهان ، ۱۸۵ صفحه.

فهیم دانش م و شریعتی س، ۱۳۸۸. تشخیص تقلب در روغن زیتون به روش گاز کروماتوگرافی. مجله علوم و فناوری غذایی ۲ : ۷۱-۷۶.

Angiuli M, Bussolino GC, Ferrari C, Matteoli E, Righetti MC, Salvetti G and Tombari E , 2009. Calorimetry for Fast Authentication of Edible Oils. International Journal of Termophysics 30:1014-1024.

Chiavaro E, Rodriguez-Estradab MT, Barnaba C, Vittadini E, Cerretanic L and Bendinic A, 2008a. Differential scanning calorimetry: A potential tool for discrimination of olive oil commercial categories. Analytica Chimica Acta 625:215-226.

Chiavaro E, Vittadini E, Rodriguez-Estradab MT, Cerretanic L and Bendinic A, 2008b. Differential scanning calorimeter application to the detection of refined hazelnut oil in extra virgin olive oil. Food Chemistry 110:248–256.

Christopoulou E, Lazaraki M, Komaitis M and Kaselimis K, 2004. Effectiveness of determination of fatty acids and triglycerides for the detection of adulteration of olive oils with vegetable oils. Food Chemistry 84:463-474. Costas GB, 1983. Differential Scanning Calorimetry in Food Research Canada. Food Chemistry 10:239-265.

Covas MI, 2007. Olive oil and the cardiovascular system. Pharmacological Research 55:175-186.

Dourtoglou VG, Dourtoglou, TH, Antonopoulos A, Stefanou E, Lalas S and Poulos C , 2003. Detection of olive oil adulteration using principal component analysis applied on total and regio FA content. Journal of American oil Chemists, Society 80:203-208.

Dourtoglou V.G, Dourtoglou, Th, , Antonopoulos A, Stefanou E, Lalas S, Poulos C. 2003. Detection of olive oil adulteration using principal component analysis applied on total and regio FA content. Journal of American oil Chemists, Society 80:203-208.

Ferrari C, Angiuli M, Tombari E, Righetti MC, Matteoli E and Salvetti G , 2007. Promoting calorimetry for olive oil authentication. Thermochimica Acta 459:58–63.

Jafari M, Kadivar M and keramat J, 2009. Detection of adulteration in Iranian olive oils using instrumental (GC, NMR, DSC) methods. Journal of American oil Chemists, Society 86:103-110.

Li-Chan E, 1994. Developments in the detection of adulteration of olive oil. Trends in food science and Technology 5:3-11.

Metcalf LD, Schmitz AA and Pelka JR, 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. Analytical Chemistry 38:514-515

Monfreda M, Gobbi L and Grippa A, 2012. Blends of olive oil and sunflower oil: Characterization and olive oil quantification using fatty acid composition and chemometric tools. Food Chemistry 134:2283–2290.

Nielsen S, 1998. Food Analysis.2nd Ed. Aspen pub. Chapman & Hall Food Sci. chapter 36 .Thermal Analysis 588-598.

Piravi Vanak Z, Ghasemi JB, Ghavami M and Ezzatpanah H, 2010. Detection and quantification of adulteration in olive oils by global method and extinction coefficient. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 4 (12):6254-6259.

Application of calorimeter for detection of adulteration of extra virgin olive oil mixed with rapeseed oil as a substitute for gas chromatography

A Pashaie[1] and F Shavakhi[2*]

Received: October 14, 2015 Accepted: April 05, 2016

[1]MSc Student of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University. Shahr-e-Qods, Iran
[2]Assistant Professor, Agricultural Engineering Research Institute, Agricultural Research Education Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
[*]Corresponding author: Email:frshavakhi@yahoo.com

Abstract

The price of extra virgin olive oil in the global market is growing rapidly particularly due to organoleptic properties, its strong flavor and health benefits. Therefore, with the growth in demand and high price of extra virgin olive oil, adulteration of this product is growing. The purpose of this study was to determine the adulteration of extra virgin olive oil mixed with rapeseed oil using Differential Scanning Calorimeter and comparing with Gas Chromatography. Results of the thermal analysis showed that the adding sunflower and canola oils created significant changes in cooling and heating thermograms. In adulteration with canola oil, onset temperature of major crystallization peak in at least 15% and maximum temperature of major melting peak and The enthalpy, maximum and offset temperature of minor melting peak showed significant difference with extra virgin olive oil ($p<0.05$). The results of gas chromatography also showed that the main fatty acids of mixture containing at least 5% of canola oil showed significant difference ($P <0/05$) compare to extra virgin olive oil and only the amount of Linolenic and Gadoleic acids in at least 10 and 15 percent of the olive oil respectively were more than the specified limit in the standard. In general, it can be concluded that the calorimetric method could be replaced with Gas chromatography for detection of adulteration virgin olive oil with refined canola oils in defined concentrations.

Key words: Adulteration, Calorimeter, Extra Virgin Olive oil, Gas Chromatography, Rapeseed oil