دانشگاه مازندران
دانشکده علوم پایه ـ دانشکده شیمی

موضوع :

تعیین مواد معطر، اسیدهای چرب و عناصر مهم موجود در آووکادوهای بابل

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی‌ارشد

استاد راهنما :
دکتر سید ناصر عزیزی

استاد مشاور :
دکتر محمد جواد چایچی

نگارش :
سمیه نجف زاده

بهمن ۱۳۸۶

چکیده

آووکادو به خانواده ای از درختان و بوته های گرمسیری تعلق دارد. آووکادوها سرشار از چربی هستند. روغن آووکادو شبیه به روغن زیتون یک روغن غیر اشباع است. هر دوی آنها با پایین آوردن میزان کلسترول روی تصلب شرائین تأثیر می گذارند. هدف ما در این تحقیق، تعیین و مقایسه عناصر معدنی مهمی چون پتاسیم، منیزیم، کلسیم، سدیم و آهن، همچنین ترکیب اسیدهای چرب و ترکیبات معطر فرار در دو گونه (هس و فوارته) میوه آووکادوی کشت شده در شهرستان بابل است، از آنجا که ثابت شده است که ترکیب ساختاری این میوه با نوع گونه و آب و هوا تغییر می کند. تعیین عناصر با روش جذب اتمی انجام شد. GC و GC/MS به ترتیب برای آنالیز اسیدهای چرب و مواد معطر فرار مورد استفاده قرار گرفتند. ملاحظه کردیم که در هر دو گونه پتاسیم بیشترین غلظت را در بین عناصر موجود داراست، اما این مقدار در فوارته نسبت به هس بیشتر است، در حالی که ما در گونه هس مقادیر بیشتری از سدیم به دست آوردیم. منیزیم محدوده غلظتی مشابهی در این دو گونه دارد. مقدار آهن و کلسیم کم است، اما مقادیر این عناصر در گونه فوارته نسبت به هس کمتر است. در هر دو گونه، اولئیک اسید در میان اسیدهای چرب بیشترین درصد را داراست و سپس به ترتیب پالمیتیک اسید، لینولئیک اسید و پالمیتولئیک اسید قرار دارند. همچنین لینولنیک اسید و استئاریک اسید در روغن استخراج شده از گونه هس، البته در مقادیر کم، مشاهده شدند. ۲۲ ترکیب معطر در گونه فوارته به دست آوردیم، در حالی که فقط ۸ ترکیب معطر را در گونه هس تعیین کردیم.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول	
مقدمه	۱
۱-۱ آشنایی عمومی با آووکادو	۱
۱-۲ ساختار شیمیایی روغنهای خوراکی	۳
۱-۳ اسیدهای چرب روغنهای خوراکی	۵
فصل دوم	
تئوری	۷
۲-۱ اصول کروماتوگرافی	۷
۲-۱-۱ کروماتوگرافی گازی (GC)	۸
۲-۱-۱-۱ جداسازی در کروماتوگرافی گازی و معادله وان دیمتر	۹
۲-۱-۱-۲ برنامه ریزی حرارتی در GC	۱۱
۲-۱-۱-۳ دستگاههای کروماتوگرافی گازی	۱۴
۲-۱-۱-۴ کاربردهای کروماتوگرافی گازی	۱۶
۲-۱-۲ طیف بینی جرمی(MS)	۱۷
۲-۱-۲-۱ منابع یونیزاسیون	۱۸
۲-۱-۲-۲ تجزیه کننده های جرم	۱۹
۲-۱-۲-۳ آشکارسازها	۲۲
۲-۱-۳ اتصال گاز کروماتوگراف و اسپکترومتر جرمی	۲۳
۲-۲ طیف سنجی جذب و نشر اتمی	۲۵
۲-۲-۱ طیف سنجی نشری	۲۵
۲-۲-۲ رابطه بین جذب اتمی و غلظت محلول مورد اندازه گیری	۲۷
۲-۲-۳ پهن شوندگی خطوط طیفی	۲۷

فهرست مطالب

۲-۲-۴ رابطه بین غلظت گونه مورد نظر در شعله و محلول ۲۹

۲-۲-۵ راندمان پاشش ۳۰

۲-۲-۵-۱ عوامل مؤثر بر راندمان پاشش ۳۰

۲-۲-۵-۲ عوامل مؤثر بر راندمان پاشنده و سرعت انتقال محلول ۳۱

فصل سوم

دستگاهوری ۳۲

۳-۱ منابع تابش ۳۳

۳-۱-۱ منابع پیوسته ۳۳

۳-۱-۲ منابع تابش خطی ۳۳

۳-۲ اتمی‌کننده‌ها ۳۶

۳-۲-۱ اتمی‌کننده‌های شعله‌ای ۳۶

۳-۲-۲ اتمی‌کننده‌های الکتروگرمایی ۳۹

۳-۲-۲-۱ اتمی‌کننده‌های پلاسمای جفت شده القایی ۴۰

۳-۲-۳ شعله ۴۲

۳-۳ سیستم تکفامساز ۴۵

۳-۳-۱ منشورها ۴۵

۳-۳-۲ توری‌ها ۴۶

۳-۳-۳ صافی‌های تداخلی ۴۶

۳-۴ آشکارسازها ۴۷

۳-۵ مزاحمت‌ها ۴۸

۳-۵-۱ مزاحمت‌های طیفی ۴۸

۳-۵-۲ مزاحمت‌های ماتریکس ۴۹

فهرست مطالب

۳-۵-۲-۱ مزاحمت‌های فیزیکی ۴۹

۳-۵-۲-۲ مزاحمت‌های شیمیایی ۴۹

فصل چهارم

بخش تجربی ۵۱

۴-۱ مواد مصرف شده ۵۱

۴-۲ دستگاه ها و شرایط دستگاهی مورد استفاده ۵۲

۴-۳ تجزیه عنصری با استفاده از طیف سنجی اتمی ۵۳

۴-۳-۱ تهیه نمونه آووکادو ۵۳

۴-۳-۲ آماده سازی اولیه و خشک کردن نمونه ۵۳

۴-۳-۳ روش هضم تر ۵۳

۴-۳-۴ نکات مهم در طیف سنجی جذب و نشر اتمی ۵۴

۴-۴ شناسایی اسیدهای چرب روغن آووکادو با استفاده از GC ۵۵

۴-۴-۱ استخراج روغن از میوه آووکادو ۵۵

۴-۴-۲ متیله کردن روغنهای آووکادو ۵۵

۴-۵ تجزیه مواد معطر میوه آووکادو با استفاده از دستگاه GC/MS ۵۶

۴-۵-۱ استخراج مواد معطر میوه آووکادو ۵۶

فصل پنجم

بحث و بررسی نتایج ۵۷

۵-۱ نتایج تجزیه عنصری آووکادو به روش جذب اتمی ۵۷

۵-۱-۱ محاسبات آماری ۵۷

۵-۱-۲ حساسیت و حدود آشکار سازی ۵۸

۵-۱-۳ افزایش استاندارد ۵۹

فهرست مطالب

۵-۱-۴ انواع روشهای افزایش استاندارد ۵۹

۵-۲ نتایج آنالیز اسیدهای چرب روغن گوشته آووکادو ۷۱

۵-۳ نتایج تجزیه مواد معطر میوه آووکادو ۷۴

۵-۴ نتیجه گیری کلی ۷۹

۵-۴-۱ تجزیه عنصری ۷۹

۵-۴-۲ آنالیز اسیدهای چرب ۸۰

۵-۴-۳ تجزیه مواد معطر میوه آووکادو ۸۱

۵-۵ پیشنهاد برای کارهای آتی ۹۵

فصل ششم

مراجع ۹۶

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۱: مواد معدنی عمده و ویتامینهای موجود در آووکادوهای آمریکا	۲
جدول۱-۲: اجزای چربیها و روغنهای خوراکی	۴
جدول ۳-۱: شعله مورد استفاده در طیف‌بینی‌های نشر، جذب و فلوئورسانس اتمی	۴۲
جدول ۴-۱ : فهرست مواد شیمیایی مورد نیاز	۵۱
جدول ۵-۱: فاکتورهای آماری عناصر فلزی گونه هس آووکادوی کشت شده در شهرستان بابل	۶۴
جدول ۵-۲: فاکتورهای آماری عناصر فلزی گونه فوارته آووکادوی کشت شده در شهرستان بابل	۶۴
جدول ۵-۳: غلظت عناصر آووکادوهای هس و فوارته کشت شده در بابل	۶۵
جدول ۵-۴: غلظت عناصر آووکادوهای هس و فوارته کشت شده در بابل	۶۵
جدول ۵-۵ : نتایج آنالیز اسیدهای چرب حاصل از دو گونه آووکادوی بابل	۷۱
جدول ۵-۶ : فرمول اسید های چرب غیر اشباع یافت شده در آووکادوی بابل	۷۳
جدول ۵-۷ : فرمول اسید های چرب اشباع یافت شده در آووکادوی بابل	۷۳
جدول ۵-۸ : ترکیبات معطر شناسایی شده در گونه هس میوه آووکادوی بابل	۷۷
جدول ۵-۹ : ترکیبات معطر شناسایی شده در گونه میوه آووکادوی بابل	۷۸
جدول ۵-۱۰ : غلظت عناصر برحسب میلی گرم در ۱۰۰ گرم آووکادوی هس کالیفرنیا و فلوریدا	۸۰

فهرست شکلها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱ : دو گونه آووکادو	۳
شکل ۱-۲: واکنش تهیه تری گلیسیریدها از اسیدهای چرب و گلیسرول	۵
شکل ۲-۱ : تقسیم بندی روشهای کروماتوگرافی	۷
شکل ۲-۲: رابطه HETP و سرعت فاز متحرک (بر اساس معادله وان دیمتر)	۱۰
شکل ۲-۳ : مقایسه کروماتوگرافی با برنامه دمایی و همدما	۱۳
شکل ۲-۴ : انواع روشهای برنامه ریزی حرارتی	۱۳
شکل ۲-۵ : دستگاه کروماتوگراف گازی	۱۴
شکل ۲-۶ : منبع برخورد الکترون	۱۸
شکل ۲-۷ : کافنده جرم متمرکز کننده مضاعف	۲۰
شکل ۲-۸ : کافنده جرم چهار قطبی	۲۱
شکل ۲-۹ :کافنده جرم تله یونی	۲۲
شکل ۲-۱۰ : آشکارساز تکثیر کننده الکترون	۲۲
شکل ۲-۱۱ : آشکارساز آرایه ای	۲۳
شکل ۲-۱۲ : جداکننده فورانی	۲۴
شکل ۲-۱۳ : جداکننده لوله ای متخلخل	۲۴
شکل ۲-۱۴ : ترازهای انرژی اتم منیزیم	۲۶
شکل ۳-۱ : دستگاه طیف سنجی جذب اتمی با اتمی کننده شعله	۳۴
شکل ۳-۲: لامپ کاتدی توخالی	۳۵
شکل ۳-۳ : لامپ تخلیه بدون الکترود	۳۶
شکل ۳-۴ : مشعل تمام مصرف کن با جریان آشفته	۳۷
شکل ۳-۵ : مشعل جزئی مصرف کن با جریان آرام یا پیش مخلوط کن	۳۷
شکل ۳- ۶ : مقطع عمودی مشعل	۳۸
شکل ۳- ۷ : مقطع افقی مشعل	۳۸
شکل ۳-۸ : منبع پلاسمای جفت شده القایی	۴۱
شکل ۳-۹ : نمایش شعله هوا-استیلن	۴۴

فهرست شکلها

شکل ۳-۱۰ : نیمرخ درجه حرارت (بر حسب درجه سانتیگراد) برای شعله هوا-گاز طبیعی ۴۵

شکل ۵-۱ : نمودار افزایش استاندارد برای تعیین غلظت سدیم در گونه هس آووکادوی بابل ۶۶

شکل ۵-۲ : نمودار افزایش استاندارد برای تعیین غلظت سدیم در گونه فوارته آووکادوی بابل ۶۶

شکل ۵-۳ : نمودار افزایش استاندارد برای تعیین غلظت منیزیم در گونه هس آووکادوی بابل ۶۷

شکل ۵-۴ : نمودار افزایش استاندارد برای تعیین غلظت منیزیم در گونه فوارته آووکادوی بابل ۶۷

شکل ۵-۵ : نمودار افزایش استاندارد برای تعیین غلظت پتاسیم در گونه هس آووکادوی بابل ۶۸

شکل ۵-۶ : نمودار افزایش استاندارد برای تعیین غلظت پتاسیم در گونه فوارته آووکادوی بابل ۶۸

شکل ۵-۷ : نمودار افزایش استاندارد برای تعیین غلظت کلسیم در گونه هس آووکادوی بابل ۶۹

شکل ۵-۸ : نمودار افزایش استاندارد برای تعیین غلظت کلسیم در گونه فوارته آووکادوی بابل ۶۹

شکل ۵-۹ : نمودار افزایش استاندارد برای تعیین غلظت آهن در گونه هس آووکادوی بابل ۷۰

شکل ۵-۱۰ : نمودار افزایش استاندارد برای تعیین غلظت آهن در گونه فوارته آووکادوی بابل ۷۰

شکل ۵-۱۱ : نمودار ستونی آنالیز اسیدهای چرب موجود در دو گونه آووکادوی بابل ۷۲

شکل ۵-۱۲ : کروماتوگرام مربوط به آووکادوی بابـل (گونـه هـس) ۷۵

شکل ۵-۱۳ : کروماتوگرام مربوط به آووکادوی بابل (گونه فوارته) ۷۶

شکل ۵-۱۴: طیف جرمی و ساختار آلفا-پینن ۸۳

شکل ۵-۱۵: طیف جرمی و ساختار بتا-پینن ۸۳

شکل ۵-۱۶: طیف جرمی و ساختار لیمونن ۸۴

شکل ۵-۱۷: طیف جرمی و ساختار بتا-بیزابولن ۸۴

شکل ۵-۱۸: طیف جرمی و ساختار کامفن ۸۵

شکل ۵-۱۹: طیف جرمی و ساختار ترپینن-۴-ال ۸۵

شکل۵-۲۰: طیف جرمی و ساختار آلفا- ترپینئول ۸۶

شکل ۵-۲۱: طیف جرمی و ساختار D–لیمونن ۸۶

شکل ۵-۲۲: طیف جرمی و ساختار گاما- ترپینن ۸۷

شکل ۵-۲۳: طیف جرمی و ساختار ترپینولن ۸۷

شکل ۵-۲۴: طیف جرمی و ساختار بتا- المن ۸۸

شکل ۵-۲۵: طیف جرمی و ساختار ترانس- آلفا- براگموتن ۸۸

فهرست شکلها

شکل ۵-۲۶: طیف جرمی و ساختار کاریوفیلن ۸۹

شکل ۵-۲۷: طیف جرمی و ساختار آلفا- براگموتن ۸۹

شکل ۵-۲۸ : طیف جرمی و ساختار آلفا- هومولن ۹۰

شکل ۵-۲۹: طیف جرمی و ساختار آلفا- سانتالن ۹۰

شکل ۵-۳۰: طیف جرمی و ساختار گاما- کادینن ۹۱

شکل ۵-۳۱: طیف جرمی و ساختار دلتا- سلینن ۹۱

شکل ۵-۳۲: طیف جرمی و ساختار بتا- سلینن ۹۲

شکل ۵-۳۳: طیف جرمی و ساختار سیس- آلفا- بیزابولن ۹۲

شکل ۵-۳۴: طیف جرمی و ساختار آلفا- فارنسن ۹۳

شکل ۵-۳۵: طیف جرمی و ساختار جرماسرن ب ۹۳

شکل ۵-۳۶: طیف جرمی و ساختار گاما- المن ۹۴

شکل ۵-۳۷: طیف جرمی و ساختار کاریوفیلن اکسید ۹۴

فصل اول

مقدمه

۱-۱ آشنایی عمومی با آووکادو

آووکادو[1] به خا نواده ای از درختان و بوته های استوایی تعلق دارد. نام انگلیسی آن از کلمه اسپانیایی آبوگادا[2] است که در فرا نسه آووکات[3] تلفظ می شود. درصد ترکیب شیمیایی قسمت خوراکی مغز میوه عبارت است از: آب ۸۰-۶۵، پروتئین ۴-۱، شکر در حدود ۱ و روغن ۳۰-۳. روغن که از نظر ترکیب به روغن زیتون شباهت دارد، بسیار قابل هضم است. به خاطر محتوای زیاد روغن که پایداری و طعم خاص میوه را موجب می شود، آووکادوها بالاترین مقدار انرژی را در بین میوه ها دارا هستند. جدول ۱-۱ مواد معدنی عمده و ویتامینهای موجود در آووکادوهای آمریکا را نشان می دهد [۱].

آووکادو از هزاران سال قبل تا کنون، یک غذای متداول در آمریکای مرکزی است. استفاده از این میوه در طباخی بدلیل طعم خاص آن در حرارتهای بالا، کم است اما در سالادها، ساندویچ ها و سوپ های سرد به کار برده می شود. از روغنهای آووکادو در زیبایی، برای نرم کردن پوست و بهبود بافت و ظاهر آن استفاده می شود. آووکادو یک میوه مغذی است، اما محتوای شکر پایینی دارد، بنابر این می تواند بعنوان یک غذای با انرژی بالا

1- Avocado
2- Abogada
3- Avocat

برای دیابتی ها تو صیه شود. همچنین ویتامین هایی چون اسید آسکوربیک (ویتامین C)، ویتامین A، تیامین (ویتامین B_1)، ریبو فلاوین (ویتامین B_2) و نیاسین و نیز عناصری ما نند فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیوم، سدیم و آهن در این میوه وجود دارند. بدلیل مفید بودن چربیهای غیر اشباع در بهبود سلامتی قلب و سیستم گردش خون و سرشار بودن آووکادو از این چربیها، جمعیت مسن در اغلب نقاط دنیا علاقه مند شده اند که این میوه را به عنوان آخرین پیشنهاد مورد استفاده قرار دهند [۲].

جدول ۱-۱: مواد معدنی عمده و ویتامینهای موجود در آووکادوهای آمریکا

نوع مواد موجود	نام مواد موجود	محدوده غلظتی (در g ۱۰۰ میوه)
مواد معدنی	پتاسیم	۳۴۰-۷۲۳
	منیزیم	۴۰-۶۰
	سدیم	۵-۱۵
	کلسیم	۱۰-۱۵
	آهن	۰/۵-۲
ویتامینها	ویتامین A	۳۷۰-۷۵۰
	ویتامین C	۱/۶-۳۰
	ویتامین B_1	۰/۰۶-۲/۴
	ویتامین B_2	۰/۹۵-۲/۳
	نیاسین	۱/۴-۳/۵

ترکیب اسیدهای چرب روغنها در میوه آووکادو با محیط کشت و دیگر فاکتورها تغییر می کند، اما اسید چرب اصلی همیشه اسید اولئیک است که با اسید پالمیتیک واسید لینولئیک همراه است، اسید پالمیتولئیک

ممکن است موجود باشد یا نباشد. ماز لیاک[1] در سال ۱۹۶۵ دریافت که فقط ۴ اسید چرب بیش از ۹۵٪ کل چربیهارا در مغز آووکادو تشکیل می دهند:

منو اولئیک غیر اشباع (C18:1) با محدوده ای از ٪۸۱-۴۲ کل؛ پالمیتولئیک[2] (C16:1) با محدوده ای از ٪۸/۳ – ۰؛ پلی لینولئیک[3] غیر اشباع (C18:2) با محدود ه ای از ٪۱۸/۵ – ۶؛ و پالمیتیک[4] اشباع (C16) که محدوده ای از ٪۲۵- ۷/۲ کل چربیها را تشکیل می دهد. برای مقایسه اسید های چرب گزارش شده در میوه زیتون عبارتند از: اولئیک[5] (٪ ۸۳)، لینولئیک[6] (٪ ۷)، پالمیتیک (٪ ۶) و استئاریک[7] (٪۴).

شکل ۱-۱ دو گونه آووکادوی هس[8] و فوارته[9] را که در این پروژه مورد بررسی قرار گرفتند، نشان می دهد.

الف ب

شکل ۱-۱ : دو گونه آووکادو

الف) فوارته ب) هس

۱-۲ ساختار شیمیایی روغنهای خوراکی

ساختار شیمیایی چربیها و روغنهای خوراکی صرف نظر از مقادیر کمی بسیار متنوع است. در جدول ۱-۲ مواد عمده موجود در روغنهای خوراکی نشان داده شده است [۳].

1- Mazliak
2- Palmitoleic
3- Poly linoleic
4- Palmitic
5- Oleic
6- Linoleic
7- Stearic
8- Hass
9- Fuerte

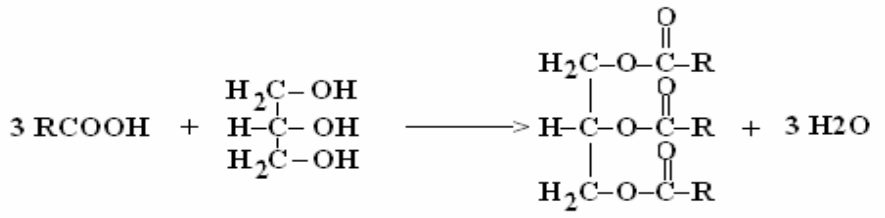
جدول۱-۲: اجزای چربیها و روغنهای خوراکی

نام عمومی	توضیحات و مثالها
تری گلیسیریدها	استر گلیسیرین با اسیدهای چرب (اغلب با مقدار ناچیزی منو و دی گلیسیرید همرا ه است
اسیدهای چرب آزاد	–
فسفوگلیسیریدها	گلیسرو فسفاتها (مانند لسیتین و سفالین) فسفوئینوزیدها و فسفوسرین
اسفنگوزیدها	فسفاتید ها ی اسفنگوزین (مانند اسفنگومیلین)، سربروزیدها و گانگلیوزیدها
الکلهای سنگین و استرها و اترهای آنها	الکلهای زنجیر بلند (مانند الکل ستیلیک) و استرهای آنها (مومها) و گلیسریل اترها (مانند الکل باتیلیک)
استرولها	کلسترول و فیتو سترولها
هیدراتهای کربن	سکالن، پریستان، گادوزن و .....
رنگهای چربی	کاروتن، لیکوپنها، کلروفیل و .....
ویتامینهای چربی	ویتامین A، D_2، D_3 و ویتامین E
آنتی اکسیدانها	گلسیپول، سزامول، سزامولین و توکوفرولها
مواد مولد بو و مزه	هیدروکربورهای اشباع نشده، لاکتونها، آلدهیدهای اشباع نشده، متیل کتونها

تری گلیسیرید ها[1] ، عمده ترین مواد سازنده روغنهای خوراکی هستند، به گونه ای کـه ۸۵ تـا ۹۵ درصـد ایـن روغنها را تشکیل می دهند.

1- Triglycerides

این ترکیبات مطا بق واکنش زیر(شکل ۱-۲)، از ترکیب اسیدهای چرب[1] و گلیسرول[2] با نسبت استو کیومتری[3] ۳ به ۱حاصل می شوند:



شکل ۱-۲: واکنش تهیه تری گلیسیریدها از اسیدهای چرب و گلیسرول

علاوه بر تری گلیسیریدها امکان اتصال یک یا دو مولکول اسید به گلیسرول نیز هست که منجر به تشکیل مونو و دی گلیسرید می شود، ولی در طبیعت تنها تری گلیسرید بوجود می آید و مقدار محصولات مونو و دی گلیسرید بسیار ناچیز می باشد. به هر حال در روغنها که جزو محصولات طبیعی هستند، تنها تری گلیسریدها وجود دارند و مقادیر محصولات مونو و دی، اگر هم وجود داشته باشند، بسیار کم می باشد[۴].

۱-۳ اسیدهای چرب روغنهای خوراکی

ساختمان اسیدهای چرب متصل شده به گلیسرول، به میزان زیادی تعیین کننده خواص چربیها و روغنها می باشند. همچنین حالتهای فیزیکی روغن نیز تحت تأثیر این اسیدهاست. اسیدهای چرب زنجیر کوتاه، روغنهای روانتری را بوجود می آورند که از روغنهای دارای اسیدهای چرب با زنجیر بلند نقطه ذوب کمتری دارند. همانگونه که می دانیم اسیدها و یا دیگر ترکیبات می توانند اشباع یا غیر اشباع باشند، هرچه درجه عدم اشباعیت در بنیانهای اسیدی بیشتر باشد، نرم تر بودن چربی و کاهش نقطه ذوب آن را باعث می شود. اگر فاکتور عدم اشباعیت موجود در تری گلیسیریدهای روغن تا حد قابل توجهی بالا باشد، چربی در دمای اتاق به

1- Fatty acids
2- Glycerol
3- Stiochiometry

حالت مایع در می آید که در اینصورت به چربی، روغن می گویند. اغلب اسیدهای چرب غیر اشباع کـه بـه طـور طبیعی به وجود می آیند به شکل ایزومری هندسی سیس[1] می باشند. ایزومرهای سیس تحت عملیات استخراج و تصفیه روغنها، به مقدار ناچیزی امکان تبدیل به فرم ترانس[2] را پیدا می کنند. تری گلیسیریدهای دارای بنیـان اسیدی ترانس از نظر ترانس بیولوژیکی تأثیرات نامطلوبی در بدن انسان می گذارند و بـه همـین علـت، در تهیـه روغن مراقبتهای ویژه ای به عمل می آید تا میزان تبدیل ایزومرهای سیس به تـرانس بـه کمتـرین مقـدار خـود برسد[۵]. اهمیت شرایط تبدیل ایزومرهای سیس به ترانس و نیز اندازه گیری ایزومرهای ترانس بوجود آمـده در روغن، زمینه تحقیقات فراوانی را ایجاد کرده است. شایان ذکر است که جداسازی ایزومرهای ترانس و سیس یک ترکیب و نیز اندازه گیری کمی آنها چندان کار آسانی نیست. بـرای جداسـازی و انـدازه گیـری کمـی ایـن نـوع ترکیبات از روشهای کروماتوگرافی استفاده می شود.

۱-۴ آنالیز اسیدهای چرب بوسیله کروماتوگرافی گازی[3] (GC)

از آنجایی که ساختار اسیدهای چرب یک روغن بیانگر نوع، کیفیت و خواص آن روغن می باشد، لذا شناسـایی و تعیین ترکیب اسیدهای چرب روغنهای خوراکی بسیار لازم و ضروری است. کروماتوگرافی یکی از ارزشـمندترین روشها برای تعیین مقدار این ترکیبات آلی می باشد. کروماتوگرافی گازی بدلیل دارا بـودن سـرعت عمـل زیـاد و دقت مناسب برای جداسازی و تعیین مقدار این مواد، به کرات مورد استفاده قرار گرفته است[۱۳-۶].

برای جداسازی اسیدهای چرب بوسیله GC، اغلب از مـشتقات فرارتـر آنهـا بـویژه مـشتقات متیـل اسـتر اسیدهای چرب استفاده می شود. این کار موجب دستیابی به پیکهای متقارن تر می شود و از سوی دیگر بـدلیل فرارتر بودن این مشتقات، جداسازی بوسیله GC در دماهای پایین تر امکان پذیر می گـردد. روشـهای گونـاگونی برای تهیه مـشتقات اسـتر اسـیدهای چـرب مـورد اسـتفاده قـرار مـی گیرنـد[۲۲-۱۴]. پـس از آبکافـت تـری گلیسیریدهای هر نمونه، مشتقات متیل استر اسیدهای چرب آنها تهیه شده و با اسـتفاده از روش کرومـاتوگرافی گازی جداسازی می شوند.

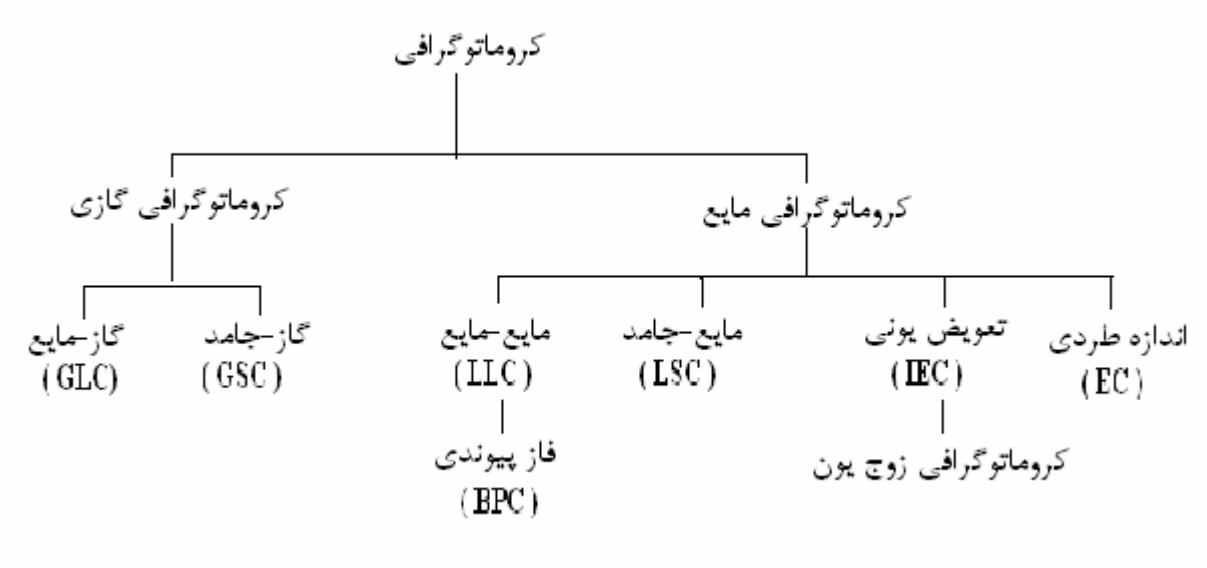
1- Cis
2- Trans
3- Gas chromatography

فصل دوم

تئوری

۲-۱ اصول کروماتوگرافی

کروماتوگرافی یکی از رایج ترین روشهای جداسازی تجزیه ای است[۲۳]. در این روش اجزای یک مخلوط بین دو فاز امتزاج ناپذیر توزیع می شوند. یکی از این فازها که عبارت از بستری ثابت با مساحت زیاد است، فاز ساکن نامیده می شود. فاز دیگر که از سطح این فاز ساکن و یا از میان منافذ آن عبور می کند، فاز متحرک نامیده می شود[۲۴]. کلیه روشهای کروماتوگرافی را بر اساس حالت فیزیکی فاز متحرک، به دو گروه کروماتوگرافی مایع و کروماتوگرافی گازی تقسیم می کنند که این دو خود به روشهای گوناگونی تقسیم بندی می شوند (شکل۲-۱)[۲۵] .



شکل ۲-۱ : تقسیم بندی روشهای کروماتوگرافی

۲-۱-۱ کروماتوگرافی گازی (GC)

استفاده از گاز به عنوان فاز متحرک در کروماتوگرافی در سال ۱۹۴۴ توسط مارتین و سینج[1] پیشنهاد شد و سپس بوسیله جیمز[2] در سال ۱۹۵۲ به کار برده شد [۲۷و۲۶]. امروزه، کروماتوگرافی گازی به عنوان یک روش و ابزار جداسازی تجزیه ای بیشترین کاربرد را دارا می باشد. در این روش تشخیص مقادیری در حد نانوگرم امری عادی است در حالی که دستیابی به مقادیر پیکوگرم نیز مشکل نخواهد بود.

دقت و تکرارپذیری بالا، زمان کوتاه آنالیز و قابلیت اتوماتیک کردن آنالیز هم از مزایای بارز روشهای کروماتوگرافی می باشد. در کروماتوگرافی گازی، وظیفه انتقال اجزای مورد تجزیه به ستون کروماتوگرافی و عبور از بستر آن به عهده یک گاز خنثی می باشد. حرکت گونه تجزیه ای در ستون کروماتوگرافی به میزان حضور آن در فاز متحرک بستگی دارد که این خود رابطه مستقیمی با فشار بخار آن در دمای مورد نظر خواهد داشت [۲۸]. همانگونه که در شکل ۲-۱ مشاهده می شود، کروماتوگرافی گازی بسته به نوع فاز ساکن مورد استفاده در آن به دو دسته زیر تقسیم می شود:

اگر فاز ساکن مایعی باشد که روی یک سطح جامد نگهدارنده[3] قرار گرفته باشد، به آن کروماتوگرافی گاز- مایع (GLC)[4] می گویند و اگر فاز ساکن یک جامد جاذب باشد، به آن کروماتوگرافی گاز-جامد (GSC)[5] گفته می شود.

فاز ساکن در GSC یک ماده جامد فعال است. این ماده ممکن است مواد معدنی یا آلی مانند الک های مولکولی[6]، سیلیکاژل، گرافیت، پلیمرهای آلی و یا ترکیبات دیگر باشد [۲۹و۲۳]. در GLC لایه ای از فاز ساکن مایع که روی نگهدارنده جامد تثبیت شده است، نیز استفاده می شود. عموماً نگهدارنده های جامد نقشی در

1- Martin and Synge
2- James
3- Support
4-Gas-Liquid chromatography
5- Gas-Solid chromatography
6-Molecular sieve

جداسازی ندارند. یک نگهدارنده خوب باید سطحی وسیع داشته و اندازه ذرات آن کوچک باشد. خاکهای دیاتومه ای[1] مثل کروموسرب[2] P و W یکی از معمول ترین مواد مورد استفاده به عنوان نگهدارنده جامد می باشند[۳۰] .

۲-۱-۱-۱ جداسازی در کروماتوگرافی گازی و معادله وان دیمتر[3]

جداسازی در کروماتوگرافی گازی بر اساس برهم کنش بین یک جسم حل شونده و فاز ساکن می باشد [۳۱]. می توان تصور کرد که یک ستون کروماتوگرافی از تعدادی تشتک فرضی[4] تشکیل شده است. تشتک فرضی بخشی از ستون است که در آن، تعادلی بین گاز و فاز ساکن حاوی مولکولهای حل شونده، قبل از آن که گاز وارد مرحله بعدی شده و عمل تکرار گردد، صورت می گیرد. بدین ترتیب وقتی نمونه ای حاوی اجزای مختلف بین دو فاز گاز و مایع تقسیم می شود، تعادلهای متعددی برقرار می گردد. ضخامت هریک از تشتکهای فرضی را، ارتفاع معادل تشتک فرضی[5] نامیده و با (HETP) یا (H) نشان می دهند [۲۳].

در یک ستون هرچه تعداد تشتکهای فرضی بیشتر باشد، HETP کوچکتر و در نتیجه کارآیی ستون بیشتر می شود. منحنی HETP به عنوان تابعی از سرعت فاز متحرک به صورت یک هذلولی است که در شکل ۲-۳ نشان داده شده [۳۳]. این منحنی بوسیله رابطه ۲-۱ که به نام معادله وان دیمتر مشهور است، بیان می شود: [۳۰-۳۲].

$$HETP = A + B/U + (Cs + Cm) U$$ رابطه ۲-۱

1-Diatomaceous earth
2-Chromosorb
3-Van Deemter equation
4-Theoritical plate
5-Height equivalent of a theoritical plate