



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization



استاندارد ملی ایران

۱۱۸۲۱

تجدید نظر اول

۱۳۹۵

INSO

11821

1st. Revision

2016

روغن زیتون - روش همگانی تشخیص وجود
سایر روغن‌ها در انواع روغن زیتون



دارای محتوای رنگی

Olive oil- Global method for detection of
extraneous oils in olive oils

ICS: 67.200



مرجع آموزش و خرید و فروش زیتون رودبار و حومه

www.zeytoonchi.ir

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

سازمان ملی استاندارد ایران به موجب بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

تدوین استاندارد در حوزه‌های مختلف در کمیسیون‌های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب‌نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و واردکنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان‌های دولتی و غیردولتی حاصل می‌شود. پیش‌نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی‌نفع و اعضای کمیسیون‌های مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادهای در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذی‌صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند در کمیته ملی طرح، بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مقررات استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که در سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می‌شود به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین‌المللی استاندارد (ISO)^۱، کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)^۲ و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی (OIML)^۳ است و به عنوان تنها رابط^۴ کمیسیون کدکس غذایی (CAC)^۵ در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست‌محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری کند. سازمان می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استانداردهای کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری کند. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده‌کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه‌ها و مراکز واسنجی (کالیبراسیون) وسایل سنجش، سازمان ملی استاندارد این‌گونه سازمان‌ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آن‌ها اعطا و بر عملکرد آن‌ها نظارت می‌کند. ترویج دستگاه بین‌المللی یکاها، واسنجی وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

1- International Organization for Standardization

2- International Electrotechnical Commission

3- International Organization for Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legals)

4- Contact point

5- Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

« روغن زیتون - روش همگانی تشخیص وجود سایر روغن‌ها در انواع روغن زیتون »

رئیس:

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، دانشگاه تهران، دانشکده علوم و صنایع غذایی

رضایی، کرامت الله
(دکترای تخصصی علوم و صنایع غذایی)

دبیر:

سازمان ملی استاندارد ایران، پژوهشگاه استاندارد، پژوهشکده غذایی و کشاورزی

رشیدی، لادن
(دکترای تخصصی مهندسی شیمی، بیوتکنولوژی)

اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

سازمان ملی استاندارد ایران، پژوهشگاه استاندارد، پژوهشکده غذایی و کشاورزی

احمدی، نادیا
(کارشناسی ارشد شیمی دریا)

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، دانشگاه گلستان، دانشکده فنی و مهندسی علی آباد

حامدی، سپیده
(دکترای تخصصی مهندسی شیمی، بیوتکنولوژی)

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

ربیعی، زهره
(دکترای تخصصی علوم و صنایع غذایی، بیوتکنولوژی)

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

طهماسبی انفرادی، ستار
(دکترای تخصصی ژنتیک گیاهی)

شرکت سهامی خاص روغن اویلا

عامری، مجید
(کارشناس ارشد صنایع غذایی)

وزارت جهاد کشاورزی، معاونت امور باغبانی، دفتر طرح زیتون

عرب، جهانگیر
(کارشناسی علوم باغبانی)

وزارت جهاد کشاورزی، معاونت امور باغبانی، دفتر طرح زیتون

عزیزی، نغمه
(کارشناسی ارشد گیاهان علوم دارویی)

سازمان ملی استاندارد ایران، پژوهشگاه استاندارد، پژوهشکده غذایی و کشاورزی

عقیلی، الهه
(کارشناس روابط امور بین المللی)

کمیسیون فنی تدوین استاندارد (ادامه)

« روغن زیتون - روش همگانی تشخیص وجود سایر روغن‌ها در انواع روغن زیتون »

اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

سمت و/یا نمایندگی

غفاری، فرحناز (کارشناس ارشد علوم بهداشتی در تغذیه)	وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی، سازمان غذا و دارو، آزمایشگاه های مرجع کنترل غذا و دارو
غلامی، زهرا (کارشناس ارشد مهندسی شیمی، بیوتکنولوژی)	سازمان ملی استاندارد ایران، پژوهشگاه استاندارد، پژوهشکده غذایی و کشاورزی
فدوی، قاسم (دکترای تخصصی علوم و صنایع غذایی)	سازمان ملی استاندارد ایران، پژوهشگاه استاندارد، پژوهشکده غذایی و کشاورزی
کلانتری، فرانک (کارشناس ارشد مهندسی شیمی)	شرکت سهامی عام روغن نباتی بهشهر
گنجی، فریبا (دکترای تخصصی مهندسی پزشکی)	وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده مهندسی پزشکی
محلاتی، حامد (کارشناس صنایع غذایی)	شرکت سهامی عام پارس قو
مظاهری، منصوره (دکترای بیوفیزیک)	سازمان ملی استاندارد ایران، پژوهشگاه استاندارد، پژوهشکده غذایی و کشاورزی
هماپور، مسعود (دکترای علوم و صنایع غذایی)	دانشگاه آزاد اسلامی - عضو هیئت علمی واحد صفا دشت
یوسف زاده فعال دقتی، هنگامه (کارشناس علوم و صنایع غذایی)	سازمان ملی استاندارد ایران، اداره کل نظارت بر اجرای استاندارد

فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ج	آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران
د و ه	کمیسیون فنی تدوین استاندارد
ز	پیش گفتار
۱	۱ هدف
۱	۲ دامنه کاربرد
۱	۳ مراجع الزامی
۲	۴ اصول آزمون
۲	۵ مواد و شناساگرها
۳	۶ دستگاهها
۴	۷ روش انجام آزمون
۶	۸ انتگرال گیری پیکهای کروماتوگرافی
۱۱	۹ پیوست الف (اطلاعاتی) - (شناسایی سایر روغن‌ها در انواع روغن‌های زیتون با استفاده از مقایسه مدل‌های ریاضی همراه با یک پایگاه داده‌هایی از روغن زیتون خالص)
۲۰	۱۰ پیوست ب (اطلاعاتی) - گزینش پذیری، اختصاصی بودن و اعتبار روش

پیش‌گفتار

استاندارد "روغن زیتون- روش همگانی تشخیص وجود سایر روغن‌ها^۱ در انواع روغن‌های زیتون" نخستین بار در سال ۱۳۸۶ تدوین شد. این استاندارد بر اساس پیشنهاد‌های رسیده و بررسی توسط (سازمان ملی استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران/ پژوهشگاه استاندارد) و تایید کمیسیون‌های مربوط برای اولین بار مورد تجدیدنظر قرار گرفت و در یک هزار و پانصد و بیست و هشتمین اجلاس کمیته ملی استاندارد خوراک و فرآورده‌های کشاورزی مورخ ۱۳۹۴/۵/۱۳ تصویب شد. اینک به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود. برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدید نظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدید نظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدید نظر استانداردهای ملی استفاده کرد.

این استاندارد جایگزین استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۸۲۱: سال ۱۳۸۶ است.

منبع و مآخذی که برای تهیه این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است:

IOOC, COI/T.20/Doc.No.25/Rev 1: 2013, Global method for detection of extraneous oils in olive oils.

1- Extranous oils

روغن زیتون - روش کلی تشخیص وجود سایر روغن‌ها^۱ در انواع روغن‌های زیتون

۱ هدف

هدف از تدوین این استاندارد تشخیص وجود سایر روغن‌های گیاهی مخلوط شده با انواع روغن‌های زیتون است.

۲ دامنه کاربرد

این استاندارد برای تشخیص وجود روغن‌های گیاهی دارای لینولئیک اسید بالا (مانند: روغن سویا، آفتابگردان) و برخی از روغن‌های گیاهی دارای اولئیک اسید بالا، مانند کانولا، فندق، آفتابگردان حاوی اولئیک اسید بالا و روغن‌های تفاله زیتون در انواع روغن‌های زیتون به کار می‌رود. آستانه تشخیص بستگی به نوع روغن خارجی ادغام شده و وارسته زیتون دارد. برای روغن فندق، معمولاً مقدار شناسایی بین ۵ تا ۱۵ درصد است. این روش قادر به تعیین نوع روغن مخلوط نیست و فقط نشان می‌دهد که روغن زیتون اصل است یا خیر.

۳ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد ملی ایران به آن‌ها ارجاع شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد ملی ایران محسوب می‌شود. در صورتی که به مدرکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن مورد نظر این استاندارد ملی ایران نیست.

در مورد مدارکی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آنها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدید نظر و اصلاحیه‌های بعدی آن‌ها مورد نظر است.

استفاده از مراجع زیر برای این استاندارد الزامی است:

۱-۳ استاندارد ملی ایران به شماره ۹۴۳۸، چربی‌ها و روغن‌های گیاهی و حیوانی - اندازه‌گیری مقدار ایزومرهای ترانس اسید چرب در روغن‌ها و چربی‌های گیاهی - با استفاده از کروماتوگرافی گازی

۲-۳ استاندارد ملی ایران به شماره ۱۸۶۹۰، روغن زیتون - آماده سازی متیل استرهای اسید چرب از روغن زیتون و تفاله آن - روش آزمون

۳-۳ استاندارد ملی ایران به شماره ۱۷۳۷۹، روغن زیتون - تعیین اختلاف میزان تئوری و واقعی تری آسید گلیسرول ها با استفاده از روش ECN42

3-4 IUPAC 2.507:1998, Calculation of the difference between real and theoretical ECN42 triglyceride content

۴ اصول آزمون

ترکیب تری آسید گلیسرول (TAG) تجربی با مقدار تئوری به دست آمده از آزمون متیل استرهای اسید چرب (FAME) مقایسه می‌شود. روغن به وسیله استخراج فاز جامد (SPE) روی کارتریج‌های سیلیکاژل خالص‌سازی می‌شود. ترکیب TAG از طریق فاز معکوس کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با قدرت تفکیک بالا (RP-HPLC) با استفاده از آشکارساز ضریب شکست و پروپیونیتریل به عنوان فاز متحرک اندازه‌گیری می‌شود. FAME از روغن خالص شده از طریق متیلاسیون با محلول سرد پتاسیم هیدروکسید در متانول (به روش الف استاندارد ملی ایران به شماره ۱۸۶۹۰ رجوع شود) تهیه می‌شود و سپس استرها به وسیله کروماتوگرافی گازی موئینه با استفاده از ستون‌هایی با قطبیت بالا (به استاندارد بین‌المللی COI/T.20/Doc.no 17 رجوع شود) آزمون می‌شوند.

با استفاده از یک برنامه رایانه‌ای، ترکیب آسید گلیسرول به وسیله ترکیب اسید چرب به طور تئوری محاسبه می‌شود، با فرض آنکه توزیع تصادفی موقعیت‌های ۱، ۲ و ۳ اسیدهای چرب در تری آسید گلیسرول با محدودیت‌هایی برای اسیدهای چرب اشباع در موقعیت ۲ باشد. روش محاسبه با تغییراتی در روش محاسبه‌ای شرح داده شده در استاندارد ملی ایران به شماره ۱۷۳۷۹ انجام می‌شود. مجموعه محاسبات عددی، از طریق ترکیب‌های تری آسید گلیسرول تئوری و تجربی به دست می‌آید و نتایج حاصل از آن‌ها با مقادیر موجود در بانک اطلاعاتی روغن‌های زیتون خالص مقایسه می‌شوند.

۵ مواد و شناساگرها

۵-۱ خالص‌سازی روغن

۵-۱-۱ ارن‌های مخروطی، با ظرفیت ۲۵ میلی‌لیتر

۵-۱-۲ لوله‌های شیشه‌ای در پیچ‌دار و کلاهک‌های مناسب، با اتصال دهنده از جنس PTFE

۵-۱-۳ کارتریج‌های سیلیکاژل، ۱ گرم (۶ میلی‌لیتر)، برای استخراج فاز جامد

۵-۱-۴ نرمال هگزان، با درجه خلوص آزمایشگاهی

۵-۱-۵ دی اتیل اتر، با درجه خلوص آزمایشگاهی

- ۵-۱-۶ مخلوط حلال هگزان : دی اتیل اتر (۸۷:۱۳، حجمی/حجمی)
- ۵-۱-۷ نرمال هپتان، با درجه خلوص آزمایشگاهی
- ۵-۱-۸ استون، با درجه خلوص آزمایشگاهی
- ۵-۲ آنالیز تری آسیل گلیسرول ها با استفاده از HPLC
- ۵-۲-۱ میکروسرنگ های ۵۰ میکرولیتری و سوزن هایی برای تزریق به HPLC
- ۵-۲-۲ پروبیونیتریل، خلوص بالا یا با درجه خلوص HPLC، مورد استفاده به عنوان فاز متحرک
- ۵-۲-۳ ستون HPLC با ابعاد ۲۵ سانتی متر طول در ۴ میلی متر قطر داخلی، پر شده با فاز RP-18 (اندازه ذرات ۴ میکرومتر).
- ۵-۳ آماده سازی متیل استرهای اسید چرب (به استاندارد ملی ایران به شماره ۱۸۶۹۰ رجوع شود).
- ۵-۳-۱ متانول، نباید بیش از ۰/۵ درصد آب داشته باشد.
- ۵-۳-۲ نرمال هپتان، درجه خلوص آزمایشگاهی
- ۵-۳-۳ محلول ۲ نرمال هیدروکسید پتاسیم در متانول
طرز تهیه: ۱/۱ گرم از هیدروکسید پتاسیم را در ۱۰ میلی لیتر متانول حل کنید.
- ۵-۳-۴ لوله های شیشه ای در پیچ دار ۵ میلی لیتری، با کلاهک های دارای اتصال دهنده ای از جنس PTFE
- ۵-۴ آنالیز FAMES با استفاده از دستگاه GC (به روش اندازه گیری اسیدهای چرب ترانس با استفاده از گاز موئینه در استاندارد بین المللی به شماره COI/T.20/Doc.no.17 رجوع شود).
- ۵-۴-۱ میکروسرنگ های ۵ میکرولیتری و سوزن هایی برای تزریق به GC
- ۵-۴-۲ هیدروژن یا هلیوم به عنوان گاز حامل
- ۵-۴-۳ هیدروژن و هوا برای آشکارساز FID
- ۵-۴-۴ نیتروژن یا هلیوم به عنوان گاز حامل کمکی
- ۵-۴-۵ ستون موئینه پر شده از سیلیکای مذاب، (به طول ۵۰ الی ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ الی ۰/۳۰ میلی متر)، پوشش داده شده با فازهای سیانوپروپیل پلی سیلوکسان یا سیانوپروپیل فنیل سیلوکسان (SP-2380 یا مشابه آن) با ضخامت فیلم ۰/۲۰ الی ۰/۲۵ میکرومتر

۶ دستگاه ها

۶-۱ دستگاه خلاء برای استخراج فاز جامد

۶-۲ تبخیر کننده گردان

۳-۶ تجهیزات HPLC متشکل از:

۱-۳-۶ گاززدا برای فاز متحرک

۲-۳-۶ دریچه تزریق استاندارد با یک حلقه ۱۰ میکرولیتری

۳-۳-۶ دستگاه پمپ پر فشار (فشار قوی)

۴-۳-۶ آون دارای تنظیم‌کننده دمایی (ترموستاتیک)، برای ستون HPLC، قادر به حفظ دماهایی کمتر از دماهای محیط (مانند: ۱۵ تا ۲۰ درجه سلسیوس) (به طور مثال پلتیر^۱).

۵-۳-۶ آشکارساز ضریب شکست

۶-۳-۶ سامانه به دست آوری داده‌های رایانه‌ای، مجهز به برنامه انتگرال‌گیری

۴-۶ ستون کروماتوگرافی گازی مؤئینه مجهز شرح داده شده در استاندارد بین المللی به شماره
COI/T.20/Doc.no.17

۱-۴-۶ تزریق‌کننده دوقسمتی^۲

۲-۴-۶ آشکارساز یونیزاسیون شعله^۳

۳-۴-۶ آون با قابلیت برنامه‌ریزی دمایی

۴-۴-۶ سامانه به دست‌آوری داده‌های رایانه‌ای مجهز به برنامه انتگرال‌گیری

۵-۶ کامپیوتر مجهز به نرم‌افزار اکسل^۴

۷ روش انجام آزمون

۱-۷ خالص‌سازی روغن

کارت‌ریج سیلیکاژل SPE (طبق بند ۳-۱-۵) را در دستگاه شستشوی خلاء (طبق بند ۱-۶) قرار دهید و تحت خلاء با ۶ میلی‌لیتر هگزان (طبق بند ۴-۱-۵) شستشو دهید. خلاء را برای جلوگیری از خشک شدن ستون بشکنید، یک ارلن مخروطی (طبق بند ۱-۱-۵) را در زیر کارت‌ریج قرار دهید. محلولی از روغن (به طور تقریبی ۰/۱۲ گرم) در ۰/۵ میلی‌لیتر هگزان (طبق بند ۴-۱-۵) را به ستون اضافه کرده و اجازه دهید در درون ستون جاری شود، سپس ستون با ۱۰ میلی‌لیتر از مخلوط حلال (طبق بند ۶-۱-۵)، هگزان-دی اتیل اتر (۱۳:۸۷ حجمی/حجمی) تحت خلاء شسته می‌شود. حلال خارج شده از ستون همگن شده و به طور تقریبی، نیمی از حجم آن به درون ارلن دیگری (طبق بند ۱-۱-۵) ریخته می‌شود. هر دو محلول به طور جداگانه در یک

1- Peltier

2- Split

3- Flame Ionization Detector

4- Excel

تبخیرکننده گردان (طبق بند ۶-۲) و تحت فشار کاهش یافته در دمای اتاق تبخیر می‌شود. برای آزمون تری آسیل گلیسرول، یکی از باقی‌مانده‌ها را در یک میلی‌لیتر استون (طبق بند ۵-۱-۸) (به پاراگراف اول بند ۷-۲ رجوع شود) حل کرده و داخل یک لوله شیشه‌ای سرپیچ‌دار به حجم ۵ میلی‌لیتری بریزید. باقی‌مانده دیگر را در یک میلی‌لیتر نرمال هپتان (طبق بند ۵-۱-۷) حل کرده و آن را داخل لوله شیشه‌ای سرپیچ‌دار، برای آماده‌سازی متیل استرهای اسیدهای چرب بریزید.

یادآوری - خالص‌سازی روغن را می‌توان با استفاده از سیلیکاژل، همان طور که در روش IUPAC 2.507 شرح داده شده، انجام داد.

۷-۲ آنالیز تری آسیل گلیسرول‌ها با استفاده از HPLC

سامانه HPLC را تنظیم و راه‌اندازی کنید، دمای ستون را در ۲۰ درجه سلسیوس ثابت نگه داشته و از پروپیونیتریل (طبق بند ۵-۲-۲) به عنوان فاز متحرک با سرعت جریان ۰/۶ میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده کنید. پس از ثابت شدن خط پایه، تزریق یک حلال را انجام دهید، اگر خط پایه در ناحیه ۱۲ الی ۲۵ دقیقه مغشوش بود، نوع دیگری از حلال استون یا مخلوطی از حلال‌های پروپیونیتریل و استون به نسبت ۷۵:۲۵ را برای حل نمونه به کار برید.

یادآوری - برخی از نمونه‌های حلال استون اغتشاشاتی را در خط پایه ناحیه اشاره شده در بالا ایجاد می‌کند.

۱۰ میکرولیتر از محلول مایع روغن خالص در استون (۵ درصد) را تزریق کنید. زمان انجام آزمون به طور تقریبی ۶۰ دقیقه است. دمای آون و/یا سرعت جریان را باید طوری تنظیم کنید که یک کروماتوگرام مشابه با آنچه که در شکل یک نشان داده شده است، به دست آید، در آنجا تری لینولئین (پیک شماره یک) در ۱۵/۵ دقیقه خارج شده و قدرت تفکیک بین جفت‌های LLL/OLLn (جفت پیک‌های ۱ و ۲) و OLL/OOLn (پیک‌های ۴ و ۵) مناسب هستند.

ارتفاع پیک شماره ۲ (OLLn+PoLL) باید حداقل به ۳ درصد مقیاس کل برسد.

۷-۳ آماده‌سازی متیل استرهای اسید چرب

۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۲ نرمال هیدروکسید پتاسیم در متانول را به محلول روغن خالص شده در نرمال هپتان اضافه کنید. در لوله را گذاشته و آن را محکم ببندید.

لوله را به مدت زمان ۱۵ ثانیه به شدت تکان دهید و بگذارید تا دو فاز تشکیل شده و فاز رویی شفاف شود (۵ دقیقه).

محلول هپتان نرمال آماده تزریق به دستگاه کروماتوگرافی گازی است. محلول می‌تواند به مدت زمان حداکثر ۱۲ ساعت در دمای اتاق باقی‌ماند.

۷-۴ آنالیز متیل استرهای اسید چرب با استفاده از GC

از دستورالعمل شرح داده شده در روش اندازه‌گیری اسیدهای چرب غیراشباع ترانس باید استفاده شود (به استاندارد بین‌المللی به شماره COI/T.20/Doc.no.17 رجوع شود).

سامانه GC در دمای آون ۱۶۵ درجه سلسیوس تنظیم می‌شود. دمای پیشنهاد شده برای آون ایزوترمال (هم دما) در دمای ۱۶۵ درجه سلسیوس به مدت زمان ۱۰ دقیقه است، سپس دما تا ۲۰۰ درجه سلسیوس با سرعت ۱/۵ درجه سلسیوس بر دقیقه افزایش می‌یابد. دمای تزریق‌کننده بین ۲۲۰ تا ۲۵۰ درجه سلسیوس برای به حداقل رساندن تشکیل اسیدهای چرب ترانس پیشنهاد می‌شود. دمای آشکارساز ۲۵۰ درجه سلسیوس است. هیدروژن یا هلیوم باید به عنوان گاز حامل و به طور تقریبی در فشار سرستون ۱۳۰ کیلوپاسکال به کار برده شوند. مقدار تزریق یک میکرولیتر، در روش تزریق - دو قسمتی است.

پروفایل GC باید مشابه با آنچه که در شکل ۲ نشان داده شده، باشد. یک پروفایل کروماتوگرافی گازی شبیه به آنی که در شکل ۲ ارائه شده، باید به دست آید.

باید به قدرت تفکیک بین $C_{18:3}$ و $C_{20:1}$ (پیک $C_{18:3}$ باید قبل از $C_{20:1}$ ظاهر شود) توجه خاصی شود. برای دست‌یابی به این شرایط، دمای اولیه و/یا فشار سرستون باید بهینه شود.

شرایط تزریق‌کننده (دما، نسبت تقسیم^۱ و حجم تزریق) را به منظور به حداقل‌رسانی تداخل یا همپوشانی پالمیتیک اسید و پالمیتولئیک اسید تنظیم کنید. ارتفاع پیک $C_{20:0}$ باید به منظور تعیین مقدار ایزومرهای ترانس در حدود ۲۰ درصد مقیاس کل باشد. اگر پیک $C_{18:0}$ دنباله‌دار^۲ ظاهر شود، مقدار نمونه را کاهش دهید.

۸ انتگرال‌گیری پیک‌های کروماتوگرافی

۸-۱ کروماتوگرام HPLC

شکل ۱ یک نوع کروماتوگرام از تری آسیل گلیسرول‌های روغن زیتون خالص شده، را نشان می‌دهد. برای انتگرال‌گیری پیک، سه خط پایه باید ردیابی شود: خط اولی: بین آغاز پیک اول (۱) و پایان پیک سوم (۳)،

1 - Split
2 - Tailing

خط دومی: بین آغاز پیک چهارم (۴) و فاصله قبل از پیک هشتم (۸)، سومی: قبل از پیک هشتم (۸) و پایان پیک هجدهم (۱۸). مساحت سطح کل عبارتست از: مجموع مساحت‌های سطح تمام پیک‌های مشخص شده یا نشده از پیک اول تا پیک هجدهم. درصد هر پیک به وسیله فرمول (۱) محاسبه می‌شود:

$$TAG_x (\%) = 100 (A_x / A_T) \quad (1)$$

نتایج باید دو رقم اعشار بیان می‌شود.

۸-۲ کروماتوگرام کروماتوگرافی گازی

شکل ۲ کروماتوگرام GC استرهای آلکیلی اسید چرب یک روغن زیتون خالص‌سازی شده را نشان می‌دهد. درصد‌های اسیدهای چرب ارائه شده در جدول ۱ باید محاسبه شوند:

جدول ۱- اسیدهای چربی که باید محاسبه شوند

نام اسید چرب	نمایه	علامت اختصاری اسید چرب	پیک‌هایی که باید محاسبه شوند
پالمیتیک	C _{16:0}	P	متیل استر+ اتیل استر
پالمیتولئیک	C _{16:1}	Po	مجموع متیل استرهای دو ایزومر سیس
استئاریک	C _{18:0}	S	متیل استر
اولئیک	C _{18:1}	O	مجموع متیل استرهای دو ایزومر سیس + اتیل استر+ ایزومرهای ترانس
لینولئیک	C _{18:2}	L	متیل استر+ اتیل استر+ ایزومرهای ترانس
لینولنیک	C _{18:3}	Ln	متیل استر+ ایزومرهای ترانس
آراشیدیک	C _{20:0}	A	متیل استر
ایکوزانوئیک(گاندوئیک)	C _{20:1}	G	متیل استر

اتیل استرها و ایزومرهای ترانس، ممکن است در کروماتوگرام GC مشاهده نشود.

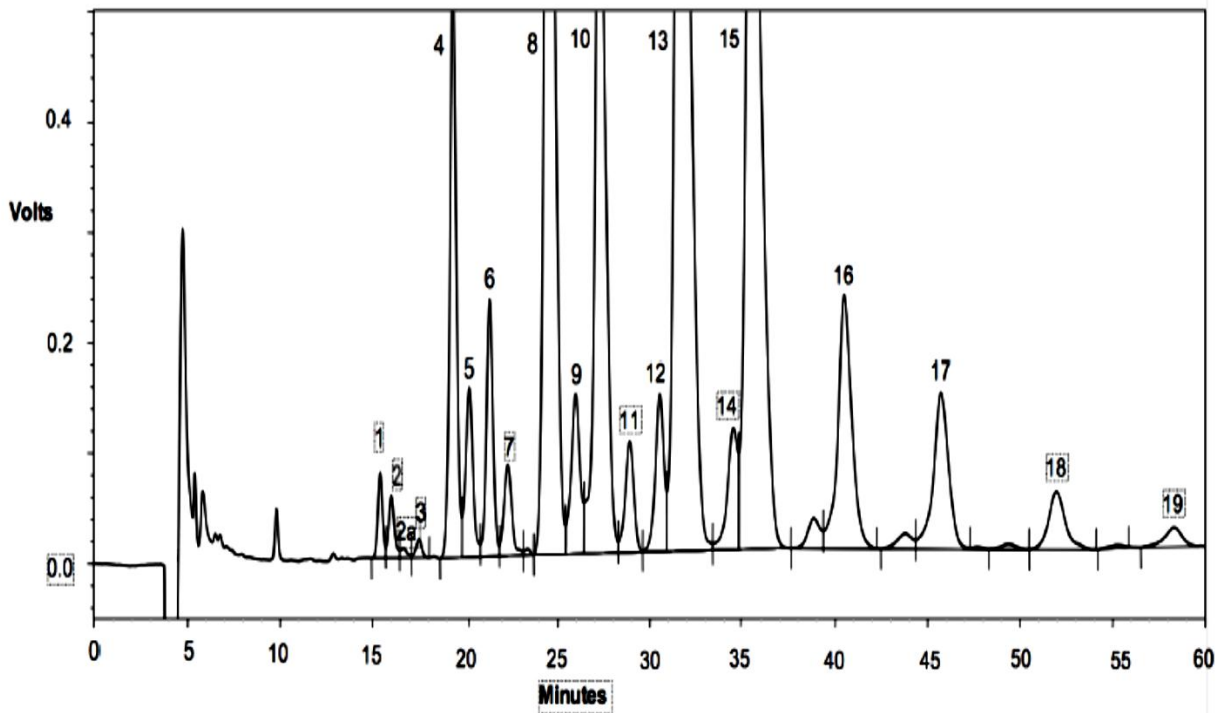
مساحت سطح کل (AT) عبارت است از: مجموع تمام پیک‌های مشاهده شده در کروماتوگرام از C_{14:0} تا C_{24:0} (به غیر از پیکی که مربوط به اسکوالن است).

درصد هر پیک از فرمول (۲) محاسبه می‌شود:

$$FA_x (\%) = 100 (A_x / A_T) \quad \text{فرمول (۲)}$$

نتایج باید با دو رقم اعشار بیان شود.

برای محاسبات برنامه کامپیوتر، نیازی به نرمال کردن تا ۱۰۰ نیست، زیرا این عمل به طور خودکار انجام می‌شود.



شکل ۱. کروماتوگرام HPLC تری آسیدل گلیسرول‌های روغن زیتون بکر کاملالی (Chamlali). ترکیبات اصلی پیک‌های کروماتوگرام شامل موارد زیر است:

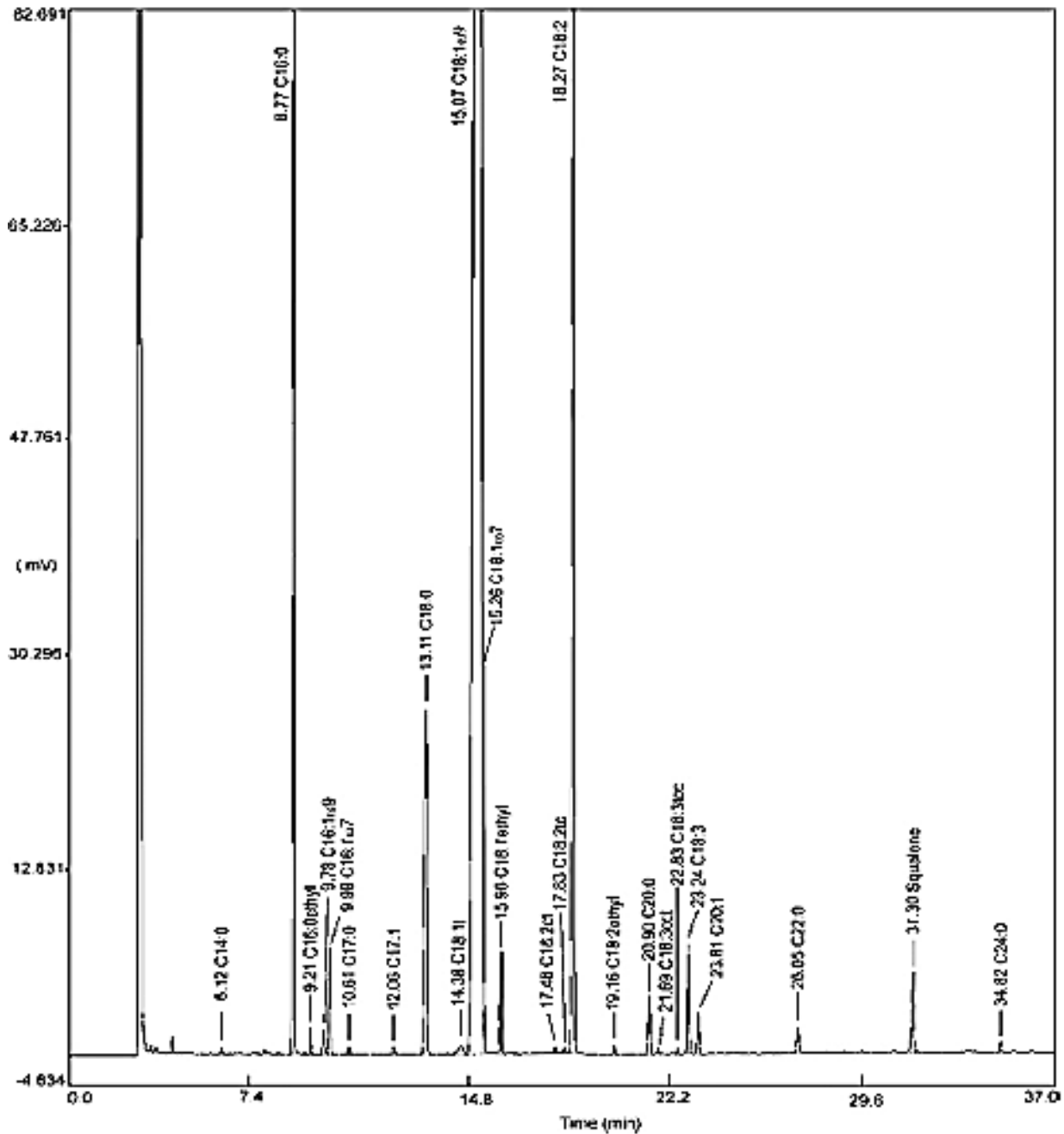
- (1) LLL; (2) OLLn+PoLL; (3) PLLn; (4) OLL; (5) OOLn+PoOL; (6) PLL+PoPoO; (7) POLn+PPoPo+PPoL; (8) OOL+LnPP; (9) PoOO; (10) SLL+PLO; (11) PoOP+SPoL+SOLn+SPoPo; (12) PLP; (13) OOO+PoPP; (14) SOL; (15) POO; (16) POP; (17) SOO; (18) POS+SLS; (19) AOO.

جدول ۲- داده‌های تکرارپذیری اندازه‌گیری TAGs در روغن زیتون طبیعی با استفاده از HPLC در ستونی با دمای ۲۰ درجه سلسیوس و حلال پروپیونیتریل به عنوان فاز متحرک

ECN	پیک‌های HPLC	TAGS	نمونه یک		نمونه دو		نمونه سه		نمونه چهار		نمونه پنج	
			RSDr(%)	متوسط (%)	RSDr(%)	متوسط (%)	RSDr(%)	متوسط (%)	RSDr(%)	متوسط (%)	RSDr(%)	متوسط (%)
۴۲	۱	LLL	۷/۳۳	-۰/۲۰	۵/۱۸	-۰/۰۶۶	۴/۱۰	-۰/۰۹۵	۲/۱۱۳	-۰/۱۹۵	۱/۰۵	-۰/۳۴
	۲	OLLn+PoLL	۷/۴۴	-۰/۰۸۵	۱/۷۸	-۰/۲۴	۲/۲۵	-۰/۲۶	۲/۲۵	-۰/۳۵	۲/۸۳	-۰/۵۰
	۳	PLLn	۱۵/۷۴	-۰/۰۲۳	۵/۵۱	-۰/۰۳۹	۵/۶۲	-۰/۰۵۷	۴/۳۵	-۰/۰۸۲	۶/۱۵	-۰/۱۲
۴۴	۴	OLL	۱/۵۲	-۰/۲۷	۱/۵۳	-۰/۴۲	۲/۶۲	-۰/۹۸	۳/۳۵	-۰/۱۰۵	۱/۱۳	۴/۳۷
	۵	OOLn+PoOL	۲/۰۱	۱/۰۷	۱/۵۴	-۰/۴۶	۱/۶۱	-۰/۷۱	۱/۷۲	۱/۰۷	۲/۴۰	۱/۷۷
	۶	PLL+PoPoO	۱۲/۸۶	-۰/۱۱	۲/۳۷	-۰/۲۴	۱/۳۲	-۰/۶۵	۱/۳۵	-۰/۷۳	۱/۲۴	۲/۳۸
	۷	POLn+PpoPo+PpoL	۵/۱۱	-۰/۴۲	۲/۸۹	-۰/۴۹	۲/۰۱	-۰/۵۵	۱/۸۳	-۰/۸۵	۱/۹۶	۱/۰۹
	۸	OOL+LnPP	۶/۷۲	-۰/۶۳	۸/۷۹	-۰/۳۱	۱۱/۳۱	-۰/۴۲	۱۳/۲۵	-۰/۳۳	-۰/۲۳	۱۵/۲۴
۴۶	۹	PoOO	۲/۸۶	۱/۲۴	۱/۴۹	-۰/۹۵	۱/۶۳	-۰/۸۵	۲/۱۲	-۰/۴۵	-۰/۵۶	۲/۵۲
	۱۰	SLL+PLO	۴/۰۵	۲/۷۰	۴/۰۵	-۰/۷۰	۶/۰۲	-۰/۶۵	۹/۸۶	-۰/۵۳	-۰/۳۱	۱۱/۵۳
	۱۱	PoOP+SpoL+SOLn+SpoPO	۴/۴۲	-۰/۶۴	۳/۰۲	-۰/۶۹	۱/۲۳	-۰/۷۹	۱/۵۳	-۰/۸۹	۱/۶۶	۱/۷۰
۴۸	۱۳+۱۲	OOO+PLP+PoPP	۴۹/۶۰	-۰/۰۷	۴۸/۱۵	-۰/۰۶	۴۲/۹۳	-۰/۰۶	۳۳/۲۵	-۰/۱۰	۲۴/۱۶	-۰/۰۶
۵۰	۱۴	SOL	۱/۷۲	-۰/۸۲	۱/۵۶	-۰/۹۲	۱/۰۵	۱/۳۲	۱/۲۵	۱/۶۰	۱/۷۷	۱/۶۰
	۱۵	POO	۲۲/۷۵	-۰/۲۵	۲/۱۸۰	-۰/۲۰	۲/۰۵	-۰/۳۰	۲۰/۳۶	-۰/۳۵	-۰/۱۴	۲۰/۱۷
	۱۶	POP	۳/۰۵	-۰/۴۶	۴/۵۶	-۰/۴۲	۴/۹۸	-۰/۵۲	۵/۲۶	-۰/۴۱	-۰/۳۸	۵/۵۷
	۱۷	SOO	۶/۸۷	-۰/۲۱	۵/۵۶	-۰/۳۳	۴/۸۶	-۰/۴۳	۴/۱۲	-۰/۷۲	-۰/۶۹	۳/۰۹
	۱۸	POS+SLS	۱/۷۳	۱/۳۳	۱/۶۵	۱/۱۰	۱/۵۴	-۰/۹۹	۱/۴۹	۱/۱۰	۱/۰۰	۱/۴۱

n = سه بار تکرار

RSDr = انحراف نسبی استاندارد تکرارپذیری



شکل ۲- نمودار GC در ستون موئینه قطبی آلکیل استرهای اسید چرب به دست آمده از روغن تفاله زیتون از طریق روش ترانس استریفیکاسیون با استفاده از محلول پتاس متانولی سرد

پیوست الف

(اطلاعاتی)

شناسایی سایر روغن‌ها در انواع روغن‌های زیتون با استفاده از مقایسه مدل‌های ریاضی همراه با یک پایگاه داده از روغن زیتون خالص

۱ محاسبه

۱-۱ ترکیب تری آسیل گلیسرول

پیک‌های تری آسیل گلیسرول ECN42

پیک ۱ = LLL

پیک ۲ + حاشیه 2a باید جمع شود (یادآوری ۱) = OLLn

پیک ۳ = PLLn

یادآوری ۱ - در بعضی از روغن‌ها، و در شرایط کروماتوگرافی بسیار خوب، حاشیه می‌تواند به صورت یک پیک جدا باشد. در این مورد، مساحت باید با پیک ۲ جمع زده شود.

پیک‌های تری آسیل گلیسرول‌های ECN44

پیک ۴ = OLL

پیک ۵ + حاشیه عقبی، در صورتی که وجود داشت (در شکل ۱، این حاشیه وجود ندارد) = OOLn

پیک ۶ = PLL

پیک ۷ + حاشیه عقبی آن، در صورت وجود داشتن (در شکل ۱، این حاشیه وجود ندارد) = POLn

پیک‌های تری آسیل گلیسرول‌ها ECN46

پیک ۸ = OOL

۱-۲ ترکیب اسید چرب

کروماتوگرام GC آلکیل استرهای اسید چرب به دست آمده از ترانس متیلاسیون سرد با محلول متانولی هیدروکسید پتاسیم یک روغن زیتون خالص در شکل ۲ ارائه شده است. درصد‌های اسیدهای P، Po، S، O، L، Ln، A، G باید محاسبه شوند.

۲ مدل‌های ریاضی برای متمایز کردن روغن‌ها

۱-۲ پارامترهای دسته‌بندی کردن روغن‌ها در گروه‌ها

LLL_{Theor} .

$\Delta OOL = OOL_{Theor} - OOL_{HPLC}$

$\Delta LLL = LLL_{HPLC} - LLL_{Theor}$.

$L_n = \% \text{ linolenic acid}$

$\Delta ECN44p = (PLL + POL_n)_{HPLC} - (PLL + POL_n)_{Theor}$

نمونه روغن بر اساس مقدار LLL_{Theor} خودش در یکی از هشت گروه زیر دسته‌بندی می‌شود:

(الف) $\geq 0.10\%$

(ب) $\geq 0.22\%$ تا $< 0.10\%$

(پ) $\geq 0.40\%$ تا $< 0.22\%$

(ت) $\geq 0.70\%$ تا $< 0.40\%$

(ث) $\geq 1.10\%$ تا $< 0.70\%$

(ج) $\geq 1.70\%$ تا $< 1.10\%$

(چ) $\geq 2.50\%$ تا $< 1.70\%$

(ح) $\geq 3.50\%$ تا $< 2.50\%$

(خ) $\geq 5.50\%$ تا $< 3.50\%$

(د) $< 5.50\%$

در هر گروه‌ی، روغن‌ها در زیرگروه‌هایی مطابق با مقادیر ΔOOL یا ΔLLL دسته‌بندی می‌شوند.

۲-۲ پارامترها برای مقایسه با پایگاه داده‌ها

۱-۲-۲ حد مجاز

$\Delta ECN42 = ECN42_{HPLC} - ECN42_{Theor}$.

نتیجه باید در دامنه تعیین شده در استاندارد ملی ایران به شماره ۱۴۴۶ باشد، اگر چه این حد برای بررسی کردن اصالت روغن در روش همگانی به کار برده نمی‌شود.

۲-۲-۲ معیار مقدماتی برای تمام گروه‌ها

$$K1 = (LLL_{HPLC} + OLLn_{HPLC}) * (OLL_{Theor} + OOLn_{Theor}) / (LLL_{Theor} + OLLn_{Theor}) * (OLL_{HPLC} + OOLn_{HPLC})$$

اگر $K1 \geq$ حد پایین باشد، روغن اصل است.

اگر $K1 <$ حد بالا باشد، روغن اصل نیست.

۳-۲-۲ اولین معیار

$$\Delta R3 = [OLL/OOLn]_{HPLC} - [OLL/OOLn]_{Theor}$$

اگر $\Delta R3 \geq$ حد پایین باشد، روغن اصل است.

اگر حد بالا $\Delta R3 <$ حد بالا باشد، روغن اصل نیست.

۴-۲-۲ دومین معیار

$$L3 = [\Delta LLL - \Delta OLLn] / OLLn_{Theor}$$

اگر $L3 \geq$ حد پایین باشد، روغن اصل است.

اگر $L3 <$ حد بالا باشد، روغن اصل نیست.

که :

$$\Delta OLLn = OLLn_{Exp} - OLLn_{Theor}$$

برای گروه الف، دومین معیار به شرح زیر است:

$$R1_{exp} = LLL_{HPLC} / OLLn_{HPLC}$$

اگر $R1_{exp} \geq$ حد پایین باشد، روغن اصل است.

اگر $R1_{exp} <$ حد بالا باشد، روغن اصل نیست.

۵-۲-۲ سومین معیار

$$R1_{exp} = LLL_{HPLC} / OLLn_{HPLC}$$

اگر $R1_{exp} \geq$ حد پایین باشد، روغن اصل است.

اگر $R1_{exp} <$ حد بالا باشد، روغن اصل نیست.

برای گروه الف، سومین معیار به شرح زیر است:

$$L3 = [\Delta LLL - \Delta OLLn] / OLLn_{Theor}$$

اگر $L3 \geq$ حد پایین باشد، روغن اصل است.

اگر $L3 <$ حد بالا باشد، روغن اصل نیست.

۶-۲-۲ چهارمین معیار

$$\Delta R1 = [LLL/OLLn]_{HPLC} - [LLL/OLLn]_{Theor}$$

اگر $\Delta R1 \geq$ حد پایین باشد، روغن اصل است.

اگر $\Delta R1 <$ حد بالا باشد، روغن اصل نیست.

برای گروه‌های الف، ب، و پ، $\Delta R1$ تنها یک حد دارد، اگر مقدار $\Delta R1$ کمتر یا مساوی بود، روغن اصل است و اگر مقدار $\Delta R1$ بیشتر از حد بود روغن اصل نیست.

۷-۲-۲ پنجمین معیار:

$$L4 = [\Delta LLL - \Delta OLLn] / LLL_{Theor}$$

اگر $L2 \geq$ حد پایین باشد، روغن اصل است.

اگر $L2 <$ حد بالا باشد، روغن اصل نیست.

۸-۲-۲ ششمین معیار

$$R2 = [\Delta OLL * LLL_{Theor}] / [\Delta LLL * OLL_{Theor}]$$

که:

$$\Delta LLL = LLL_{Exp} - LLL_{Theor} \text{ و } \Delta OOL = OOL_{Exp} - OOL_{Theor}$$

اگر $R2 \leq$ حد باشد، روغن اصل است.

اگر $R2 >$ حد باشد، روغن اصل نیست.

برای گروه‌های ت، ج، چ، و ح، ششمین معیار نیز شامل ΔOOL است. برای گروه د، ششمین معیار نیز شامل ΔOOL و $\Delta R3$ است.

۳-۲ تعیین حدود

برای هر زیر گروه، حدود برخی از پارامترها به وسیله معادله زیر به دست می آیند:

$$\text{حد} = \text{مقدار } \Delta ECN44p$$

که:

$$\Delta ECN44p = (PLL+POLn)_{Exp} - (PLL+POLn)_{Theor}$$

اولین، دومین، سومین، چهارمین و پنجمین معیار، حدود بالاتر و پایین تری دارند (حد پایین و حد بالا)، در حالی که ششمین معیار تنها یک حد دارد. گروه‌های الف، ب، و پ، فقط اولین، دومین و سومین معیار را با حد بالاتر یا پایین‌تر، و چهارمین معیار تنها یک حد دارد.

مقادیر هر معیار به طور مداوم با حدود بالاتر یا پایین تر مقایسه می‌شوند. مقادیر بین آنها نشان می‌دهد که پارامتر بعدی باید مقایسه شود. شکل ۳ دیاگرام جریان روش مداوم را نشان می‌دهد.

۳ کاربرد برنامه رایانه‌ای

- ۱-۳ برنامه اکسل را در رایانه نصب کنید.
- ۲-۳ فایل 25AVELL_computerprogram.xlsm را باز کنید.
- ۳-۳ Macro را در صورت لزوم فعال کنید.
- ۴-۳ بر روی عبارت "press to initiate calculation" کلیک کنید.
- ۵-۳ داده‌ها را خانه‌های (سلول‌های) زرد رنگ (شکل ۴) وارد کنید.
 - ۱-۵-۳ در قسمت "Sample Code" توصیف نمونه را تایپ کنید.
 - ۲-۵-۳ در "Oil category" موارد زیر را تایپ کنید:

دسته‌بندی‌های "EV" برای روغن‌های زیتون بکر خوراکی (دسته‌بندی فرا، و بکر)، "L" برای روغن زیتون لامپانت، "R" برای روغن زیتون پالایش شده و روغن زیتون (مخلوطی از روغن‌های زیتون پالایش شده و بکر) این کدگذاری برای محاسبه کردن حدود قطعی $\Delta ECN42$ ضروری است.
- ۳-۵-۳ در "Introd. FAMES-GC" ترکیب اسید چرب را وارد (تایپ) کنید. برنامه به طور خودکار، درصد‌های مجموع هشت اسید چرب را نرمال می‌کند. اگر عبارت Warning (هشدار) مشاهده شد، دوباره داده‌های اسید چرب را بازنویسی کنید.
- ۴-۵-۳ با استفاده از داده‌های تری آسیل گلیسرول، در سلول‌های (خانه‌های) مربوطه تایپ کنید. لطفاً داده‌ها را بازنگری کنید.
- ۶-۳ برنامه رایانه‌ای، ترکیب تری آسیل گلیسرول تئوری را از ترکیب اسید چرب نرمالیزه شده محاسبه می‌کند.
- ۷-۳ با استفاده از درصد‌های تری آسیل گلیسرول تئوری و تجربی، برنامه رایانه‌ای، مقادیر مدل‌های ریاضی را مطابق با نمونه روغن و مقادیر حدود محاسبه می‌کند.
- ۸-۳ دستور "Press control+letter" در نوار قرمز ظاهر می‌شود، که بیانگر حد LLL_{Theor} است که روغن دسته‌بندی شده است.
- ۹-۳ برای مشاهده نتایج، به طور همزمان کلید "control" و کلیدهای حرف اختصاصی را فشار دهید، صفحه (sheet) نتایج برای نمونه روغن ظاهر می‌شود (شکل ۵).

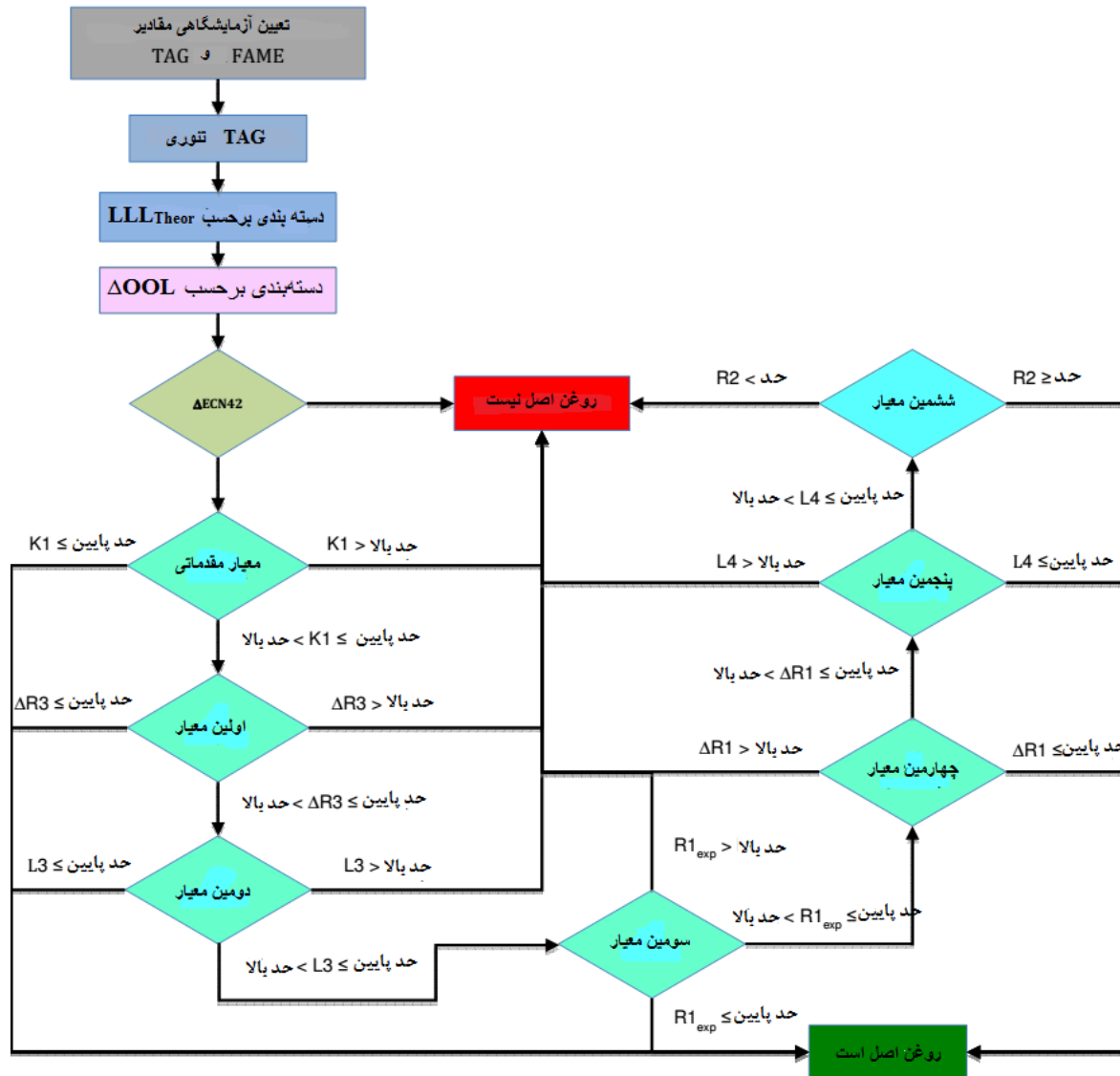
۳-۱۰ نتیجه را در نوارهای قرمز بخوانید.

عبارت "The oil is correct" (روغن صحیح است) نشان می‌دهد که روغن مزبور، یک روغن زیتون اصل است یا که حد آلودگی روغن پایین است.

عبارت "The oil is not correct" نشان می‌دهد که روغن مزبور، یک روغن زیتون اصل نیست. برای هر معیاری، مقادیر عددها به شکل‌های درشت و خوانا تایپ شود. همچنین حدود بالاتر و پایین‌تر، و مقادیر پارامترهای دیگر نیز نشان می‌شود.

۳-۱۱ بر روی کلید " Press to print the results " کلیک کرده تا نتایج را چاپ کند. دو صفحه شامل: مقادیر و داده‌های آزمایشگاهی و حدود برای نمونه چاپ خواهد شد.

۳-۱۲ بر روی کلید " Press for a new calculation " کلیک کنید تا برنامه دوباره شروع شود. تمام داده‌ها پاک خواهند شد.



شکل ۳- نمودار جریان روش مداوم

EXPERIMENTAL DATA

Fill only yellow cells									
Sample Code	VOO-VHO								
Oil Category	R	<i>Refined Olive Oil</i>			LLL theor:	0,027			
Area % (GLC)	C16:0	C18:0	C16:1	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1	Sum
FAMES-Comp. Corr.	9,62	2,94	0,41	79,39	6,52	0,49	0,33	0,30	100,00
Introd. FAMES-GC	9,62	2,94	0,41	79,37	6,52	0,49	0,33	0,30	99,98
HPLC Experimental Data									
ECN42			ECN44				ECN46		
LLL	OLLn	PLnL			OLL	OOLn	PLL	POLn	OOL
0,12	0,19	0,04			1,55	1,28	0,22	0,47	12,57
Press CTRL+c to see criteria for LLL theor. 0,022 - 0,040									

شکل ۴- داده‌های صفحه برنامه رایانه‌ای

Criteria for LLL theor. 0,022 - 0,040		
Calculation Parameters		
Sample Code	VOO+VHO	
Oil Category	R	Refined Olive Oil

$\Delta ECN42 = 0,13$ 0,30 *Proceed to the Early Criterion*

Early Criterion K1			
Parameter	Value	Higher Limit	Lower Limit
K1 =	1,15		
		1,20	0,95

Proceed to the Criterion 1

Criterion 1 $\Delta R3$			
Parameter	Value	Higher Limit	Lower Limit
$\Delta R3 =$	0,26		
$\Delta OOL =$	-0,69		
$\Delta ECN44p =$	0,26		
		0,55	0,14

Proceed to the Criterion 2

Criterion 2 L3			
Parameter	Value	Higher Limit	Lower Limit
L3 =	0,41		
$\Delta OOL =$	-0,69		
$\Delta ECN44p =$	0,26		
		0,75	0,25

Proceed to the Criterion 3

Criterion 3 R1 exp.			
Parameter	Value	Higher Limit	Lower Limit
R1 exp. =	0,63		
$\Delta OOL =$	-0,69		
$\Delta ECN44p =$	0,26		
		0,78	0,30

Proceed to the Criterion 4

Criterion 4 $\Delta R1$			
Parameter	Value	Higher Limit	Lower Limit
$\Delta R1 =$	0,47		
$\Delta OOL =$	-0,69		
$\Delta ECN44p =$	0,26		
		0,67	

The oil is correct

Press to
Print
Results

Press for a
New
Calculation

شكل ٥- صفحه نتايج

پیوست ب

(اطلاعاتی)

گزینش پذیری، ویژه‌گزینی و اعتبار روش

روش همگانی بر اساس یک مدل ریاضی به منظور تعیین وجود یا عدم وجود تقلب است، که تنها می‌تواند به عنوان یک روش کیفی یا نتیجه‌گیری نرم‌افزاری (۰ یا ۱) دیده شود، و در نتیجه، ویژگی‌های اجرای آماری آن بر طبق مدل‌های محاسباتی کیفی ارزیابی شد. خواص اصلی روش‌های کیفی، گزینش پذیری، ویژه‌گزینی و اعتبار آن‌ها است. گزینش‌پذیری به عنوان توانایی روش برای ایجاد نتایجی تعریف می‌شود که به طور انحصاری بستگی به خاصیت یا کمیت هر شیء فیزیکی که قابل اندازه‌گیری باشد، دارد. گزینش‌پذیری، نسبت بین تعداد آزمون‌های مثبت درست به مجموع کل آزمون‌های انجام شده (منفی اشتباه و مثبت درست) را توصیف می‌کند. ویژه‌گزینی، به عنوان توانایی تراز نهایی گزینش‌پذیری تعریف می‌شود، که در آن نبود مطلق تداخل وجود دارد. در حقیقت ویژه‌گزینی، به عنوان نسبت بین تعدادی از آزمون‌های منفی به مجموع کل آزمون‌های انجام شده (منفی اشتباه و مثبت درست) بیان می‌شود.

اعتبار، نتایج حاصل از خواص آزمون انجام شده قبلی است و به عنوان مکمل مجموع احتمالات خطاهای نوع اول و دوم تعریف می‌شود. خطای نوع اول به صورت نسبت بین تعدادی از مثبت‌های اشتباه به تعداد کل نمونه‌های تقلب شده تعریف می‌شود، در حالی که خطای نوع دوم نسبت بین تعدادی از منفی‌های اشتباه به تعداد کل نمونه‌های واقعی است. روش‌های آزمون کیفی بر اساس پاسخ‌های نرم‌افزاری (۰ یا ۱) است (که شامل: ۳ سطح مرجع کیفی برای تولید آن‌ها، یعنی ^۱ LOD، حد برش ^۲، و آستانه پذیرش است). حدود برش و آستانه پذیرش، شناسایی دامنه غلظت تقلبی است که در آن پاسخ‌های نرم‌افزاری (۰ یا ۱) درستی به دست می‌آید: خیر، برای پایین حدود، بله، برای بالای حدود. جدول ۱، مقادیر حدود تعیین شده را نشان می‌دهد که براساس انجام یک سری از آزمایشات در غلظت‌های مختلف (از غلظت کم تا زیاد) روغن فندق در روغن زیتون و تعیین احتمال مرتبط با حد برش (برای ۰.۸٪ برش احتمال ۰.۹۴٪ است) را تخمین می‌زند. مقدار آستانه پذیرش در ۰.۱٪ تثبیت شد، زیرا محدوده‌های مکانی ^۳ اطمینان ۰.۹۴٪ به دست آمده از PCA ^۴، نمونه‌هایی که ۰.۱٪ تقلب در آن‌ها وجود دارد را شامل نمی‌شود.

1- Limit of Detection

2- Cut off

3- Ellipse

4-Principal Component Analysis

جدول ۱ - مقادیر حدود تعیین شده برای غلظت‌های مختلف (از غلظت کم تا زیاد) روغن فندق در روغن زیتون

مقادیر (درصد)	ویژگی‌های اجراء
۸۶	حساسیت
۹۴	گزینه‌پذیری
۵	آستانه آشکارسازی ^۱
۸	حد برش ^۲
۱۰	آستانه پذیرش ^۳

1- Detection Limit
 2 -Cut- off Limit
 3 -Threshold Limit