

# آثار تثبیت گرمایی بر کیفیت و میزان استحصال روغن زیتون

میرمنوچهر حامدی<sup>۱\*</sup>، صدیف آزادمرد دمیرچی<sup>۲</sup> و حامد صفافر<sup>۳</sup>

۱- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

۳- محقق آزمایشگاه تحقیقات کشت دانه‌های روغنی

## چکیده

میوه زیتون آنزیمهایی مانند لیپاز، لیپوکسیژناز، و پلی فنولاز را داراست که می‌توانند بر کیفیت روغن آن اثر بگذارند. برای میوه‌های نگهداری شده بمدت ۱۵ روز در دمای محیط اثر تثبیت در دمای ۹۲ °C زمانهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ دقیقه بر کیفیت روغن، میزان روغن به مقدار کلروفیل و پلی فنولها مطالعه شد. نتایج نشان داد تیمار گرمایی کاهش اسیدیته می‌شود و با افزایش مدت تیمار گرمایی میوه‌ها، مقدار کلروفیل روغنهای استحصالی بالا می‌رود که باعث زیادی پروکسید می‌شود. تثبیت ناکافی موجب کاهش پلی فنولهای تام روغنهای استخراج شده از میوه‌های نگهداری شده و نشده شد. تیمارهای گرمایی و طول مدت نگهداری میوه بر میزان استخراج روغن در سطح ۱ درصد اثر معناداری داشت؛ ولی این دو عامل در سطح ۵ درصد اثر متقابلی بر میزان استخراج نداشتند. با افزایش مدت تیمار گرمایی و نیز با افزایش زمان نگهداری میوه، میزان استخراج روغن افزایش یافت.

**کلید واژگان:** لیپاز، لیپوکسیژناز، پلی فنولاز، روغن زیتون، کلروفیل، کیفیت روغن

## ۱- مقدمه

اثر تابش ریزموج<sup>۱</sup> بر پایداری روغن زیتون را مطالعه کردند؛ در اثر این تابش فعالیت آنزیمی به روشنی کاهش یافت و در نتیجه پایداری روغن بالا رفت. در مطالعه حاضر اثر تثبیت گرمایی (در زمانهای مختلف) بر کمیت و کیفیت روغن استحصال شده، میزان پلی فنولها، کلروفیل، نمایه رسیدن و کیفیت روغن میوه‌های نگهداری شده بررسی گردید.

تثبیت<sup>۱</sup> گرمایی روشی است که برای غیرفعال سازی آنزیمهای میوه‌ها و سبزیها به منظور جلوگیری از بروز تغییرهای نامطلوب به کار می‌رود [۱]. برخی از منابع روغنی مانند میوه‌های نخل، زیتون و سبوس برنج فعالیت آنزیمی زیادی دارند. استریل کردن روشی متداول برای میوه‌های نخل است که بی‌درنگ پس از برداشت صورت می‌گیرد؛ برای این منظور از فشار بخار ۲/۵ تا ۳۷ kg/cm<sup>۲</sup> (۱۳۲ °C) به مدت یک ساعت استفاده می‌شود [۲]. برای غیرفعال کردن آنزیمهای سبوس برنج از شیوه‌های گوناگونی مانند گرمادهی خشک، گرمادهی مرطوب و اکستروژن استفاده می‌شود [۳]. عبدالملک<sup>۲</sup> و همکاران (۱۹۹۷) اثر تیمار گرمایی را بر روغن زیتون شمالالی<sup>۳</sup> مطالعه کردند. میوه‌ها را پیش از استخراج روغن در معرض دماهای ۶۰، ۷۵، ۹۰ و ۱۰۰ °C در زمانهای ۲-۱۵ دقیقه قرار دادند و پس از ۱۲ ماه نگهداری روغن، تغییر اسیدیته آنها را بررسی کردند. فرج<sup>۴</sup> و همکاران (۱۹۹۷)

## ۲- مواد و روشها

**نمونه برداری:** هنگام برداشت تجارتي از میوه‌های زیتون گونه‌های روغنی محلی (منطقه رودبار) به صورت دست‌چین از همه قسمتهای مختلف درخت نمونه برداری شد و در کیسه‌های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل گردید. میوه‌ها کاملاً آمیخته شدند و به اندازه سه تکرار آزمایش به طور تصادفی نمونه تهیه شد. **تیمار گرمایی:** برای تثبیت در آب ۹۲ °C در زمانهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ دقیقه به میوه‌ها گرما داده شد و با شاهد (بدون تیمار گرمایی) مقایسه شدند. میوه‌ها پس از فرایند گرمایی، آبکش شدند و آزمایشها بر روی آنها انجام شد.

\* مسؤول مکاتبات مقاله

1. Blanching
2. Abdelmalek
3. Shemalalli
4. Farag

**اسیدیته:** برای اندازه‌گیری اسیدیته، ۲۰ g نمونه روغن در ۱۲۵ ml از محلول خنثی و هم حجم اتانول و دی اتیل اتر حل شد. در حضور فنول فتالین با محلول ۰/۱ N پتاسیم هیدروکسید تیترا شد و نتیجه بر حسب اولیثک اسید گزارش شد [۱۱].

**کلروفیل:** کلروفیل به روش اسپکتروفتومتری در سه طول موج ۶۳۰، ۶۷۰ و ۷۱۰ با اسپکتروفتومتر واریان<sup>۲</sup> مدل کری ۵۰ اسکن<sup>۳</sup> اندازه‌گیری شد [۱۲].

**پلی فنولهای تام:** ۱۰ g روغن در ۵۰ ml هگزان حل شد و سه بار با حجمهای ۲۰ ml متانول ۶۰ درصد در آب استخراج گردید. در هر بار استخراج، مخلوط ۲ دقیقه، تکان داده شد. عصاره‌های الکلی به هم افزوده و در دمای ۴۰ °C در دستگاه تبخیر کننده دوار (بویشی)<sup>۴</sup> تبخیر گردید. باقیمانده در ۱ ml متانول حل و در ۲۰ °C تا زمان آزمایش نگهداری شد [۱۳]. ۰/۴-۰/۱ ml از عصاره الکلی در بالن ژوژه ده میلی‌لیتری ریخته شد به آن ۵ ml آب مقطر و ۰/۵ ml معرف فولین سیوکالتو<sup>۵</sup> [۱۴] افزوده پس از ۱۳ دقیقه ۱ ml محلول سدیم کربنات اشباع، اضافه شد. آنگاه با آب مقطر به حجم رسانده پس از یک ساعت در طول موج ۷۲۵ nm در برابر شاهد اندازه‌گیری شد. غلظت پلی فنولهای تام بر حسب کافییک اسید در محدوده ۱۰ ml / ۱۰۰-۰ mcg محاسبه گردید.

**نمایه رسیدن:** برای محاسبه نمایه رسیدن، صد عدد میوه زیتون در ۸ گروه توزیع شد [۱۵].

گروه صفر: پوست سبز روشن

گروه یک: پوست سبز مایل به زرد

گروه دو: پوست سبز با نقاط مایل به قرمز

گروه سه: پوست مایل به قرمز - قهوه‌ای

گروه چهار: پوست سیاه با گوشت سفید

گروه پنج: پوست سیاه با کمتر از ۵۰ درصد گوشت ارغوانی

گروه شش: پوست سیاه با ۵۰ درصد یا بیشتر گوشت ارغوانی

گروه هفت: پوست سیاه با ۱۰۰ درصد گوشت ارغوانی

نمایه رسیدن از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{نمایه رسیدن} = \frac{\sum (in_i)}{100}$$

i = شماره گروه

n<sub>i</sub> = شماره زیتون در گروه

**روشهای تجزیه آماری:** از طرح آماری کاملاً تصادفی و فاکتوریل استفاده شد. میانگین داده‌ها نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

**استخراج روغن:** پس از آبکشی کامل قطره‌های آب از سطح میوه‌ها، نمونه‌ها آسیاب شده به صورت خمیرهای یکنواختی در آمدند. و به مدت ۳۰ دقیقه به آرامی همزده شدند، سپس در ۵۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردیدند [۶، ۷]. لایه‌های روغنی به آرامی از فازهای زیرین آنها جدا شدند و در شیشه‌های ۵۰۰ ml در دمای اتاق نگهداری شدند.

**آزمایش پروکسیداز:** از پروکسیداز به علت مقاومت گرمایی بالا و نیز به دلیل آسانی تشخیص فعالیت، به عنوان نمایه کفایت تثبیت استفاده شد [۸]. نخست ۵۰ g از گوشت میوه‌ها در مخلوط‌کن (براون)<sup>۱</sup> با ۱۰۰ ml استن سرد شده (۲۰ °C-) و ۲/۵ g پلی اتیلن گلیکول به صورت خمیر همگونی درآمد. برای جلوگیری از ایجاد اختلال در مراحل بعد از پلی اتیلن گلیکول برای بلوکه کردن ترکیبهای فنولی موجود در میوه زیتون استفاده شد. خمیر به دست آمده با مکش صاف شد. مواد باقیمانده روی صافی به کمک ۱۰۰ ml استن سرد به مخلوط‌کن بازگردانده شده و پس از آمیختن دوباره صاف و بازگردانده شد. پس از سه بار تکرار، گرد سفید به دست آمده یک شب در دمای اتاق نگهداری گردید تا استن باقیمانده تبخیر گردد.

۲g از گرد حاصل در ۱۰۰ ml تامپون فسفات ۰/۰۵ M با pH = ۶/۲ دارای ۱ M KCl به صورت سوسپانسیون درآمد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در ۴ °C همزده شد و به مدت ۲۰ دقیقه در ۴ °C در ۲۰۰۰۰ g سانتریفوژ گردید. مایع زلال به دست آمده درون لوله دیالیز ریخته شد و به مدت یک شب درون تامپون فسفات ۰/۰۵ M با pH = ۶/۲ قرار داده شد تا دیالیز انجام شود.

۲/۲ ml تامپون سترات - فسفات با pH = ۵/۵، که دارای ۰/۵ درصد گایاکول و ۰/۱۵ درصد هیدروژن پروکسید بود و ۰/۶ از عصاره دیالیز شده آمیخته شد و جذب آن در ۴۷۰ nm اندازه‌گیری شد. فعالیت پروکسیدازی نمونه شاهد به همین شیوه ولی بدون افزودن گایاکول انجام شد [۹، ۱۰].

**عدد پروکسید (PV):** ۵g روغن در ۳۰ ml محلول استیک اسید - کلروفرم (۳:۲) حل شد. ۰/۵ ml محلول اشباع یدید پتاسیم افزوده شد پس از یک دقیقه ماندن در تاریکی ۳۰ ml آب مقطر و ۰/۵ ml محلول ۰/۵ درصد نشاسته افزوده شد. ید آزاد شده با محلول ۰/۱ N سدیم تیوسولفات تیترا شد.

2. Varian  
3. Cary 50 Scan  
4. Buchi  
5. Folinciocalteu

1. Braun

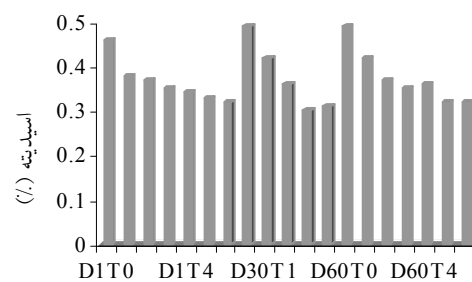
## ۳- نتایج و بحث

اثر تثبیت بر روغن نگهداری شده: نتایج حاصل از واریانس نشان داد که PV روغنهای استخراجی از همه نمونه‌های نگهداری در دمای محیط و با افزایش زمان تثبیت بالا می‌رود. که در نتیجه همبستگی بالایی ( $r = 0.966$ ) با افزایش مقدار کلروفیل و شدت اکسایش نوری داشت. معادله زیر را می‌توان برای همبستگی مقدار کلروفیل (y) و میزان پروکسید (x) نوشت:

$$y = 4/37 + 0.355 x$$

این موضوع با کار فکورلیس<sup>۱</sup> و همکاران (۱۹۸۷) و گوتیرز-رزالس<sup>۲</sup> و همکاران (۱۹۹۲) همخوانی دارد.

اسیدیته روغن در روزهای ۱، ۳۰ و ۶۰ اندازه‌گیری شد. مدت نگهداری روغن و تیمارهای گرمایی و اثر متقابل آنها در سطح ۱ درصد اثر معناداری بر اسیدیته داشت. نتایج آزمون دانکن نشان داد روغنهای تیمارهای گرمایی ۶ دقیقه‌ای و ۵ دقیقه‌ای نگهداری نشده، کمترین اسیدیته را داشتند. در روغنهای نگهداری شده به مدت ۳۰ روز یا ۶۰ روز، روغنهای حاصل از میوه‌های با تیمارهای گرمایی ۵ و ۶ دقیقه‌ای، کمترین اسیدیته را داشتند و تفاوتی با تیمارهای ۶ و ۵ دقیقه‌ای روغنهای نگهداری نشده نداشتند. بیشترین اسیدیته را روغنهایی داشتند که از میوه‌های تیمار نشده استخراج شده بودند و به مدت ۳۰ یا ۶۰ روز نگهداری شده بودند (شکل ۱). این نتایج نشان می‌دهند با گرمادهی کافی و غیر فعال شدن آنزیمی می‌توان در طول دوره نگهداری اسیدیته را کنترل کرد.



شکل ۱ اثر متقابل مدت تیمار حرارتی و مدت نگهداری روغن

D1=روز اول D30=روز سی D60=روز شصت T0-T6=تیمارهای صفر تا شش دقیقه

شکل ۱ اثر متقابل مدت تیمار حرارتی و مدت نگهداری روغن بر

اسیدیته

مقدار پلی‌فنولهای تام روغن در روزهای اول و هفتادم نگهداری اندازه‌گیری شد. مدت نگهداری روغن و زمان گرمادهی و اثر متقابل آنها در سطح ۱ درصد اثر معناداری بر مقدار ترکیبهای پلی‌فنولی تام داشت. آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت بودن این ترکیبها از نظر مقدار را نشان داد. روغنهای استخراجی از تیمارهای گرمایی یک دقیقه‌ای و نگهداری شده به مدت ۷۰ روز کمترین مقدار پلی‌فنولها را داشتند. پس از آن به ترتیب، تیمارهای دو دقیقه‌ای و سه دقیقه‌ای نگهداری شده به مدت ۷۰ روز قرار داشتند. بیشترین میزان پلی‌فنولها به ترتیب مربوط به تیمارهای ۶، ۵ و ۴ دقیقه‌ای نگهداری نشده بود. به این ترتیب نتیجه گرفته می‌شود که غیر فعال شدن ناکافی آنزیم پلی‌فنولاز در تیمارهای گرمایی موجب کاهش پلی‌فنولها می‌شود.

## ۳-۱- اثر تثبیت بر روغن میوه‌های نگهداری شده

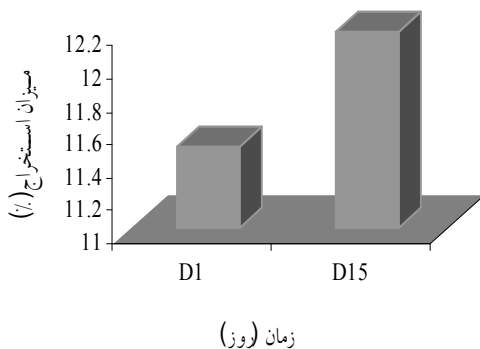
پروکسید: پس از ۱۵ روز نگهداری میوه‌ها در دمای اتاق، روغن آنها استخراج و میزان PV اندازه‌گیری شد و با PV روغنهای حاصل از میوه‌های نگهداری نشده مقایسه شد. اثر متقابل مدت نگهداری و زمان گرمادهی در سطح ۱ درصد معنادار بود. نتایج نشان داد روغنهای استخراجی از میوه‌های تیمار نشده ولی نگهداری شده به مدت ۱۵ روز، کمترین پروکسید را دارا بودند و پس از روغنهای استخراجی از میوه‌های با تیمار ۱ دقیقه و نگهداری شده به مدت ۱۵ روز، قرار داشتند. بیشترین پروکسید به روغنهای استخراج شده از میوه‌های تیمار شده به مدت ۶ و ۵ دقیقه و نگهداری شده به مدت ۱۵ روز تعلق داشت. به طور کلی، PV روغنهای حاصل از نمونه‌های تیمار شده ولی نگهداری نشده و نیز روغنهای حاصل از نمونه‌های تیمار شده و تا ۱۵ روز نگهداری شده، روند افزایشی داشت.

اسیدیته: افزون بر معنادار شدن اثر مدت نگهداری و گرمادهی در سطح ۱ درصد، عامل اثر متقابل نیز در این سطح معنادار بود. نتایج آزمون دانکن نشان داد روغنهای استخراجی از تیمارهای گرمایی ۶ دقیقه‌ای ولی نگهداری نشده کمترین اسیدیته را داشتند و پس از آن به ترتیب، روغنهای استخراجی از نمونه‌های گرما داده شده به مدت ۵، ۴، ۳، ۲ و ۱ دقیقه و نگهداری نشده قرار داشتند. در بین روغنهای استخراجی از میوه‌های نگهداری شده به مدت ۱۵ روز، روغنهای حاصل از تیمارهای ۶ دقیقه‌ای کمترین اسیدیته را داشتند و پس از آن تیمارهای ۵ و ۴ دقیقه‌ای قرار گرفتند. بیشترین اسیدیته در بین

شده و نشده از روز اول بیشتر بود (شکل ۳).  
به نظر می‌رسد گرمادهی، ماهیت پروتئینها را تغییر داده و استخراج روغن آسانتر می‌شود. همچنین کاهش تشکیل امولسیون، به افزایش میزان استحصال می‌انجامد. در میوه‌های تیمار نشده یا تحت گرمایی ناکافی قرار گرفته، به علت پیشرفت رسیدن میوه میزان روغن افزایش می‌یابد.

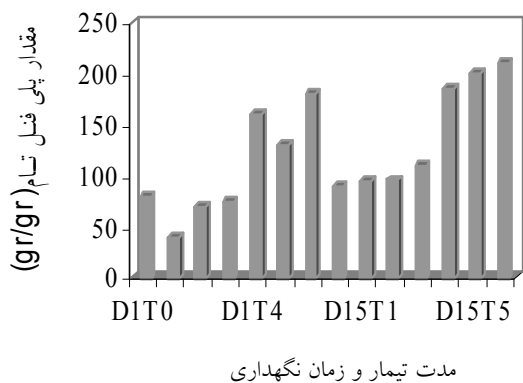
### ۴-۳- نمایه رسیدن

گرمادهی و نگهداری میوه‌ها و اثر متقابل آنها در سطح درصد نمایه رسیدن، اثر معناداری داشت. نتایج آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد گرمادهی از دقیقه دوم باعث ثابت ماندن نمایه رسیدن در مدت نگهداری میوه‌ها شد، به گونه‌ای که نمایه رسیدن میوه‌های تیمار شده ۶، ۵، ۴، ۳، ۲ دقیقه‌ای و نگهداری نشده و نمایه رسیدن میوه‌های تیمار شده ۶، ۵، ۴ و ۳ دقیقه‌ای و نگهداری شده به مدت ۱۵ روز در یک دسته قرار می‌گیرند و بیشترین نمایه رسیدن را نمونه‌های تیمار نشده و نگهداری شده به مدت ۱۵ روز نشان دادند.



شکل ۳ اثر مدت نگهداری میوه بر میزان استخراج روغن

پروکسیداز: آزمایش پروکسیداز نشان داد میوه‌ها با ۵ دقیقه گرمادهی در آب ۹۲ °C، فعالیت آنزیمی ندارند.



D1=روز اول D15=روز پانزدهم T0-16=تیمارهای صفر تا شش دقیقه

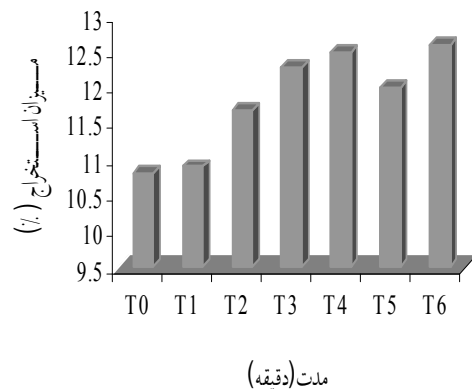
همه نمونه‌ها به روغن های استخراج شده از نمونه‌های گرما داده نشده ولی نگهداری شده به مدت ۱۵ روز تعلق داشت. از این نتایج استنباط می‌شود گرمادهی کافی، کنترل اسیدیته را به هنگام نگهداری میوه موجب می‌شود.

### ۲-۳- پلی فنولهای تام

تیمارهای گرمایی و طول مدت نگهداری در سطح درصد و اثر متقابل آنها بر میزان پلی فنولها در سطح ۵درصد معنادار بود. نتایج آزمون دانکن نشان داد روغنهای استحصالی از میوه‌های تیمار شده ۶، ۵، ۴ دقیقه‌ای و نگهداری شده به مدت ۱۵ روز و روغنهای استحصالی از میوه‌های تیمار شده ۶ دقیقه‌ای و نگهداری نشده بیشترین میزان پلی فنولها را داشتند و در یک دسته قرار گرفتند و این حاکی از غیر فعال شدن پلی فنولاز در آنهاست. از میان همه نمونه‌ها تیمارهای گرمایی ۱، ۲ دقیقه‌ای و نگهداری نشده کمترین مقدار پلی فنولها را داشتند (شکل ۴) که نشانگر فعالیت آنزیمی زیاد این نمونه‌هاست. این نتایج گویای آن است که گرمادهی ناکافی موجب کاهش پلی فنولها طی نگهداری می‌شود.

### ۳-۳- میزان استخراج روغن

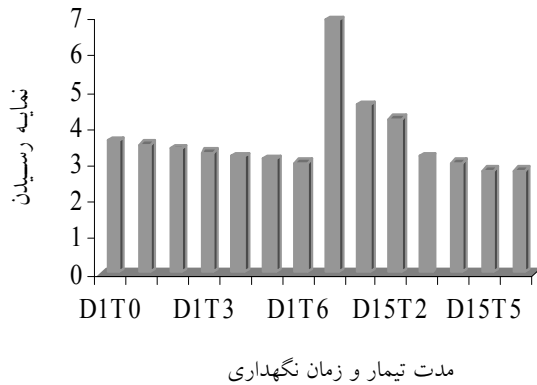
تیمار گرمایی و مدت نگهداری میوه بر میزان استخراج روغن در سطح درصد اثری معنادار داشت ولی این دو عامل در سطح ۵درصد اثر متقابلی بر میزان استخراج نشان ندادند. نتایج آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد میزان استخراج روغن از تیمارهای ۳، ۴، ۵ و ۶ دقیقه‌ای در یک محدوده قرار دارند. کمترین استخراج میوه‌های تیمار نشده و یا تیمار شده به مدت ۱ دقیقه بود (شکل ۲) نتایج حاصل را نشان می‌دهد.



شکل ۲ اثر مدت تیمار بر میزان استخراج روغن

میزان استخراج روغن در روز ۱۵ نگهداری میوه‌های تیمار

نداشتند. با افزایش مدت تیمار گرمایی میزان استخراج روغن افزایش یافت و میزان استحصال از میوه‌های تیمار شده ۳، ۴، ۵ و ۶ دقیقه‌ای در یک محدوده قرار گرفتند. با افزایش زمان نگهداری میوه نیز میزان استحصال افزایش یافت (شکل ۵).



شکل ۵ اثر متقابل مدت تیمار و زمان نگهداری میوه بر نمایه رسیدن

شکل ۴ اثر متقابل مدت تیمار و زمان نگهداری میوه بر پلی فنول تام روغن

#### ۴- نتیجه گیری

تیمار گرمایی و مدت نگهداری و اثر متقابل آنها بر اسیدیته در سطح درصد معنادار بود و تیمار گرمایی اسیدیته را کاهش داد. با افزایش شدت تیمار گرمایی میوه‌ها مقدار کلروفیل روغن افزایش یافت که به افزایش عدد پروکسید انجامید. تیمار گرمایی و مدت نگهداری روغن و اثر متقابل آنها بر میزان پلی فنولهای تام روغن در سطح درصد معنادار بود و آزمایشها نشان داد تثبیت ناکافی به علت غیر فعال نشدن آنزیمها موجب کاهش پلی فنولهای تام روغنهای استخراجی از میوه‌های نگهداری شده و نشده می‌شود.

تیمارهای گرمایی و طول مدت نگهداری میوه بر میزان استخراج روغن در سطح درصد اثر معناداری داشت ولی این دو عامل در سطح ۵ درصد اثر متقابلی بر میزان استخراج روغن

#### ۵- منابع

- [1] Fellow, P. J. Pr. 1990. Food processing technology. Hartnolls limited, Bodmin, Cronwall.; Chapter 9.
- [2] Bek-Nielsen, B. 1994. Technical and economic aspects of the palm fruit processing industry. United Nations Publications Sales No. E. 74. II. B. 10, New York.
- [3] Orthofer, F. T. 1995. Rice bran oil. In: Hui, Y.H. (ed). Bailey's industrial oil & fat products. John Wiley & Sons, inc.
- [4] Abdelmalek, G.S. Ibrahim, S.S. and Fahmy; A. 1977. Effects of thermal treatments and deacidifying agents on shemalalli olive oil. Agriculture Research Review 5: 951-103. [FSTA, Vol. 12 (1980) N 559].
- [5] Farag, R.S. Ell-Baroty, G. Abd-El-Aziz, N. and Basuny, A.M. 1977. Stabilization of olive oil by microwave heating.; International Journal of Food Science and Nutrition. 48: 365-371.
- [6] Koutsaftakis, A. Kotsifaki, F. and Stefanoudaki, E. 1999. Effect of extraction system, stage of ripeness, and kneading temperature on the sterol composition of virgin olive oil. Journal of the American Oil Chemists' Society. 76: 1477-1481.
- [7] Morales, M. T. and Aparicio, R. 1999. Effect of Extraction conditions on sensory quality of virgin olive oil. Journal of the American Oil Chemists' Society. 76: 295-300.
- [8] Williams, D. G. 1986. Blanching of vegetables for freezing which indicator enzyme to choose. Food Technology. 40: 130-140.
- [9] Sciancalepore, V. 1985. Enzymatic browning in five olive Varieties. Journal of Food Science. 50:1194-1195.
- [10] Sciancalepore, V. and I Ongone, V. 1984. Polyphenol oxidase activity and browning in green olives. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 32: 320-321.
- [11] Gutierrez, G. J. M. Castellano, J. M. Perdiguero, S. and Albi, M. A. 1996. Influence of storage temperature on fruit ripening and olive oil quality. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 44: 264-267.

- [12] Official Methods and Recommended Practices of the American oil chemists Society, edited by D. Firestone. 1989. Champaign, Method ccl 3d-55.
- [13] Guttinger, T. 1981. Polyphenols in olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 966–968.
- [14] Gacobs, M. B. 1962. *The chemical analysis of food and food products*. Van Nostvanda, Inc. Canada.
- [15] Gutierrez, G. I. M. Barrera, M. J. and Albi, M. A. 1996. Storage of mill olive on an industrial scale. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 590–593.
- [16] Fakourelis, N. Lee, E. C. and Min. D. B. 1987. Effects of chlorophyll and  $\beta$ -carotene on the oxidation stability of olive oil. *Journal of Food Science*. 52: 234–235.
- [17] Gutierrez-Rosales, F. Garrido-Fernandez, J. Gallardo-Guerrero, L. Gandul-Rojas, B. and Minguez-Mosguera, I. 1992. Action of chlorophylls on the stability of virgin oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 69:866–871.