

مقارنة تركيز تميم الأنزيم Q10 بين زيت الزيتون المعصور آلياً وزيت الخرج في اللاذقية

د. عفراء النقري¹

¹مدرس في كلية الصيدلة، الجامعة العربية الدولية الخاصة، اختصاص مراقبة أغذية.

الملخص:

يملك زيت الزيتون السوري العديد من الفوائد الصحية لغناه بحمض الأوليك (Oleic Acid) ومضادات الأكسدة الفينولية، كما يحتوي على مضادات أكسدة مفيدة أخرى مثل تميم الأنزيم Q10 (CoQ10)، وقد ركزت العديد من الدراسات السابقة على أهميته في زيت الزيتون. يهدف هذا البحث إلى تحديد تركيز (CoQ10) في عينات زيت الزيتون في مدينة اللاذقية وتحديد الاختلاف بمحتوى CoQ10 بين طريقة العصر الآلي وطريقة زيت الخرج. تم استخلاص (CoQ10) من عينات الزيت بطريقة الطور الصلب solid phase extraction ومن ثم معايرته باستخدام جهاز التفريق اللوني السائل عالي الأداء المزود بمتحري Diode array، أظهرت النتائج غنى عينات زيت الزيتون في مدينة اللاذقية بهذا المركب ولم تظهر فروقات كبيرة في محتواه بين طريقتي العصر المطبقتين.

الكلمات المفتاحية: تميم الأنزيم Q10، زيت الزيتون المعصور آلياً، زيت الخرج.

تاريخ القبول: 2023/6/22

تاريخ الإيداع: 2023/4/30

حقوق النشر: جامعة دمشق - سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب CC BY-NC-SA

ISSN: 2789-7214 (online)

<http://journal.damascusuniversity.edu.sy>



Comparison of Coenzyme Q10 Concentration between Machine Pressed Olive Oil and Khreje Oil in Lattakia

Dr. Afraa Alnokkari¹

¹Assistant Professor, Faculty of Pharmacy, Arab International University, Food control

Abstract:

Syrian olive oil possesses many health benefits because of its richness of Oleic Acid and phenolic antioxidants. It also contains other beneficial antioxidants such as Co enzyme Q10 (CoQ10). Many previous studies have focused on its importance. This research aims to determine the concentration of CoQ10 in olive oil samples in Lattakia and compare the CoQ10 content between the automatic pressing method and the Khreje oil method. CoQ10 was extracted from the oil samples by the solid phase extraction method and then analysed using a high-performance liquid chromatography equipped with Diode array detector. The results showed that the olive oil samples in Lattakia were rich in this compound, and there were no significant differences in its content between two applied pressing methods.

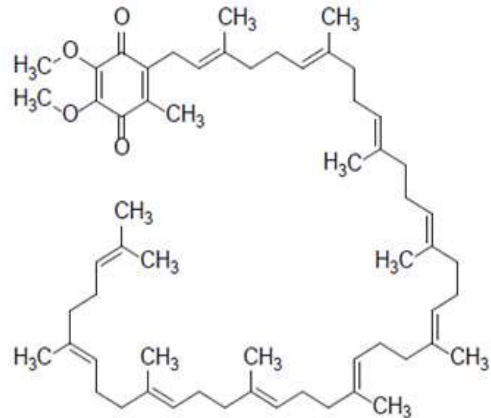
Key Words: Coq10, Machine Pressed Olive Oil, Khreje Oil



المقدمة Introduction :

شاعت حمية البحر الأبيض المتوسط نظراً لفوائدها الصحية العديدة؛ يتمتع أولئك الذين يتبعون هذا النظام الغذائي التقليدي بمعدل أقل للأمراض المزمنة (Keys., 1980). يعد زيت الزيتون أهم عنصر في هذا النظام الغذائي وله دور كبير في الحد من مخاطر الوفيات والإمراضيات بشكل عام بما في ذلك أمراض القلب والأوعية الدموية وأنواع كثيرة من السرطانات إضافة إلى الأمراض التنكسية العصبية (Benetou et al., 2006) (Scarmeas et al., 2008).

زيت الزيتون غني بحمض الأوليك (9 Omega)، ووفقاً للدراسات العلمية الحديثة فإن التأثيرات الصحية تُنسب أيضاً إلى مضادات الأكسدة البوليفينولية (Granados-Principal et al., 2013) (Martin-Pelaez et al., 2010)، كما يحتوي زيت الزيتون على مواد أخرى لها فعالية مفيدة محتملة، مثل تميم الأنزيم Q10 (Pravst et al., 2010). يحتوي CoQ10 على حلقة أكوينون aquinone وسلسلة جانبية هيدروكربونية تتكون من 10 وحدات إيزوبرين isoprene كما يظهر في الشكل (1).



الشكل (1): صيغة CoQ10

يتم تصنيع هذه السلسلة الجانبية من acetyl-CoA عبر مسار الميفالونات mevalonate، بينما يتم تصنيع حلقة الكينون

quinone من الأحماض الأمينية (التيروسين أو فينيل ألانين) وهي مسؤولة عن وجود مثل هذا النشاط القوي المضاد للأكسدة لـ CoQ10.

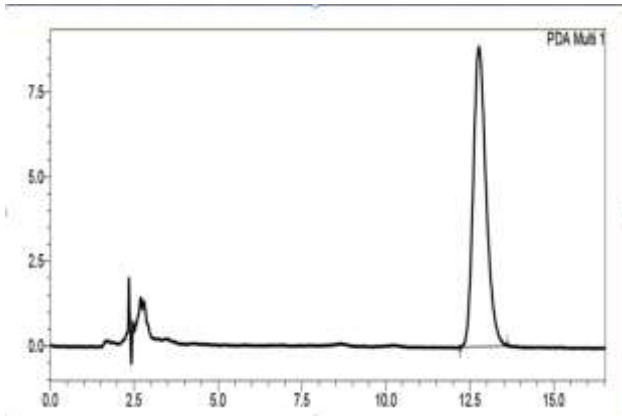
الشكل المرجع لـ CoQ10 نشط ومسؤول عن كسح الجذور الحرة التي تؤدي إلى تلف الحمض النووي، والبروتينات والدهون مما يقلل من احتمالية الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية والأمراض العصبية التنكسية مثل مرض الزهايمر ومرض باركنسون (Yalcin et al., 2004) (Hughes et al., 2002). هناك العديد من المصادر الغذائية لـ CoQ10 مثل اللحوم والأسماك التي تعتبر من أغنى المصادر (Pravst et al., 2010) كما تحتوي الزيوت النباتية كزيت فول الصويا وزيت الزيتون على مستويات عالية من CoQ10 وتم استخدامها كمصادر جيدة له (Rodriguez-Acuna et al., 2004). تناولت العديد من الدراسات السابقة موضوع CoQ10 في زيت الزيتون وتعددت الطرائق المستخدمة لاستخلاصه ومعايرته، حيث كانت طريقة HPLC من أكثر الطرائق شيوعاً (Cabrini et al., 2011) (Venegas et al., 2001).

إن لزيت الزيتون السوري قيمة عالية وفوائد صحية عديدة لغناه بالعديد من المركبات ومضادات الأكسدة بما فيها تميم الأنزيم CoQ10، ويعد زيت الخريج أحد أنواع زيت الزيتون السوري المنتشر في مدينة اللاذقية والمعروف منذ القدم، لذلك هدف هذا البحث إلى دراسة محتوى بعض عينات زيت الزيتون في مدينة اللاذقية من CoQ10 وتحديد الاختلاف بتركيزه بين عينات الزيت التي خضعت لطريقة العصر الآلي وأخرى لطريقة زيت الخريج. استخلص (CoQ10) من عينات الزيت بطريقة الصلب solid phase extraction ومن ثم تمت مقياسته باستخدام جهاز التفريق اللوني السائل عالي الأداء المزود

بمحتري Diode array

من الخلاصة الناتجة. تم استخلاص CoQ10 من العمود بإمرار 20 مل من المزيج السابق في العمود على دفعتين واستقبلت الخلاصة في كل مرة في أنبوب اختبار وبخرت حتى الوصول إلى حجم 0.5 مل ومن ثم جمع الناتجان بعد التبخير ليعاد التبخير حتى الجفاف. تمت إذابة البقية الجافة في 2 مل من الطور المتحرك قبل التحليل باستخدام جهاز HPLC.

استخدام التفريق اللوني السائل عالي الأداء لتحليل CoQ10 في عينات زيت الزيتون تمت المقايسة باستخدام جهاز التفريق اللوني السائل عالي الأداء ذو الطور العكوس (SHIMADZU) لفصل CoQ10 وتحديد كمياً، وعمود الفصل المستخدم C18 (5 µm, 4.6×250 mm) مزود بمتحري منظومة الصمام الثنائي (Diode array)، تم التحري عن CoQ10 عند طول موجة 275 nm من خلال isocratic elution معدل التدفق 1.2 m/min والطور المتحرك (50% بروبانول، 50% ميتانول)، ويظهر في الشكل (2) كروماتوغرام لمحلول CoQ10 العياري.



الشكل (2): كروماتوغرام لمحلول CoQ10 العياري

المواد والطرائق **Materials and Methods**:

عينات زيت الزيتون

جمعت عينات زيت الزيتون من مدينة اللاذقية حيث تضمنت العينات مجموعتين الأولى تم تحضيرها بطريقة العصر الآلي باستخدام المعاصر الآلية الحديثة والمجموعة الثانية حضرت بطريقة الغلي قبل العصر (طريقة زيت الخريج) والتي يتم فيها سلق حبات الزيتون في الماء المسخن لدرجة الغليان تقريباً لبضع دقائق ومن ثم تجفيفها لمدة يوم أو يومين لتتم تغطيتها بعد ذلك قرابة الثلاثة أيام وبعد ذلك تجفف مرة أخرى لمدة يومين تقريباً لتنتقل بعدها إلى المعصرة.

الكواشف

تميم الأنزيم Q10 العياري إنتاج Sigma-Aldrich ميتانول معد لجهاز HPLC من (LiChrosolv- Reag.Ph Eur) 2-بروبانول معد لجهاز HPLC إنتاج شركة Panreac

هكزان وإيثيل الايتر إنتاج Sigma-Aldrich أنابيب 6 ml Supelclean ENVI-Carb/LC-NH2 من أجل استخلاص CoQ10 من عينات الزيت

تحضير العينات من خلال الاستخلاص بالطور الصلب

تم استخلاص CoQ10 من عينات الزيت باستخدام تقنية الاستخلاص بالطور الصلب (Solid phase extraction) وفق طريقة (Rodríguez-Acunã et al., 2008) مع إجراء بعض التعديلات على المحلات المستخدمة وفق المراحل التالية: يوضع 250 مغ من عينة زيت الزيتون في أنبوب اختبار و يضاف لها 0.5 مل من الهكزان، و يخض المزيج بشكل جيد حتى التجانس. تتم تهيئة عمود الفصل من خلال إمرار 20 مل من الهكزان على دفعتين دون تركه يجف. تسكب العينة في العمود ويغسل الأنبوب مرتين بـ 0.5 مل هكزان وتسكب في العمود أيضاً، وبعد ذلك يتم إمرار 14 مل من مزيج الهكزان: إيثيل الايتر (70:30 v/v) ليتم بعدها التخلص

دراسة طريقة الاستخلاص:**1. تحديد مردود الاستخلاص**

انطلاقاً من عينة زيت العصر الآلي (2) استخلص قسم منها، وقسمت بقية العينة إلى ثلاثة أقسام أضيف لكل منها تركيز مختلف من CoQ10 المعياري (Spike) وجرى استخلاصها، ومن ثم تمت المقايسة باستخدام جهاز الـ HPLC وحسب المردود عند كل تركيز كما في الجدول (1).

الجدول (1): قيم مردود استخلاص CoQ10 المضاف إلى عينة زيت

العصر الآلي (2)

المردود %	CoQ10 المكتشف مكغ/غ	CoQ10 المضاف مكغ/غ
-	60.2	0
98.2%	83.7	25
97.4%	107.3	50
97.9%	132.4	75

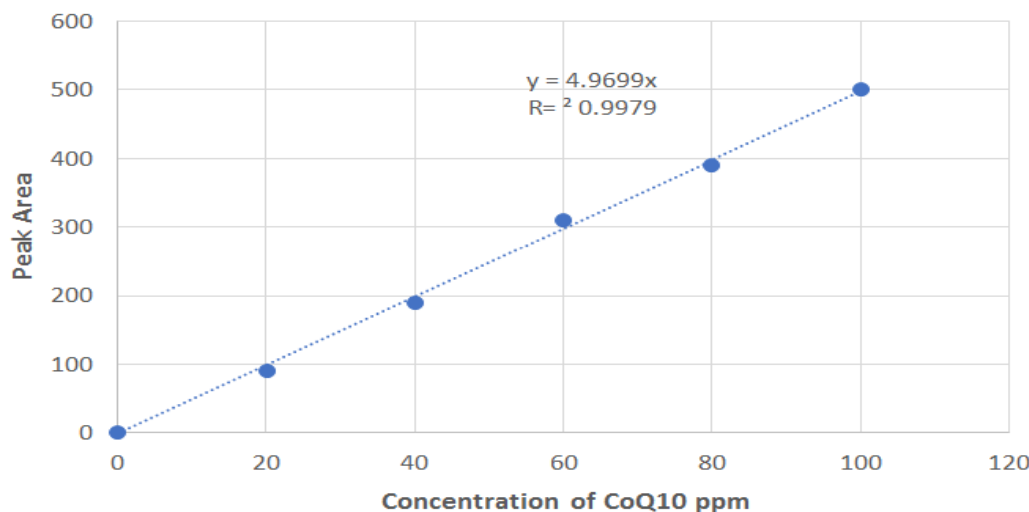
2. دراسة تكرارية عملية الاستخلاص

تمت دراسة التكرارية من خلال القيام بإعادة عملية الاستخلاص ست مرات، وحساب قيمة الانحراف المعياري Standard Deviation والانحراف المعياري النسبي Relative Standard Deviation

$$1.26 = \text{RSD} \quad 0.75 = \text{SD} \quad 59.5 = X$$

تقويم الطريقة Validation**• الخطية Linearity**

تم تحضير سلسلة معيارية لتراكيز تراوحت ما بين 20 و 100 مكغ/غ ومن ثم رسم منحنى المعايرة بين التركيز والمساحة تحت المنحني Peak area فكان معامل الارتباط 0.9993، ويظهر الشكل (3) منحنى السلسلة المعيارية ومعادلة المستقيم.



الشكل (3): منحنى السلسلة المعيارية لـ CoQ10

• النوعية Specificity

كانت الطريقة نوعية specific لعدم وجود تداخل لأي قمة مع القمة المدروسة لـ CoQ10 خلال مرور الطور المتحرك أثناء زمن الاحتباس وذلك عند طول موجة 275 نانومتر كما يتمتع المتحري المستخدم بالانتقائية العالية.

النتائج والمناقشة Results and Discussion

تم فصل تميم الإنزيم CoQ10 عن المكونات الأخرى في عينات زيت الزيتون بعد مرور عينات الزيت في عمود الفصل والحصول على الخلاصات، ومن ثم الكشف عنه باستخدام متحري الصمام الثنائي عند طول موجة 275 نانومتر، وكان زمن الاحتفاظ 13 دقيقة كما يظهر في الشكل (1). هناك العديد من الأبحاث التي لجأت إلى الحقن المباشر لعينات الزيت في جهاز HPLC بدون استخلاص من أجل مقايضة تميم الأنزيم Q10 فيها (Mattila & Kumpulainen., 2001) (Souchet & Laplante., 2007). ولكن هذا الأمر قد يتسبب بحدوث مشاكل في العمود، بالإضافة إلى التداخلات المحتملة. تم إجراء الفصل المناسب بين الغليسيريدات الثلاثية (TG) و CoQ10 في عينات الزيت عن طريق استخدام تقنية الاستخلاص بالطور الصلب (Solid phase extraction) من خلال أنابيب هلامة السيليكا المعدلة بإضافة مجموعة NH2 التي لها تقارب مع الروابط المزدوجة في بنية CoQ10 حيث لا يمكن أن تكون هلامة السيليكا قبل التعديل قادرة على تحقيق الفصل المطلوب. تحمي تقنية الاستخلاص بالطور الصلب SPE العمود وتعطي خلاصة نقية، كما أنها بسيطة وسهلة التطبيق في المخابر دون الحاجة إلى تجهيزات معقدة، وعلى الرغم من الخطوات العديدة المطلوبة لإنجازها لكنها تعد من أفضل الطرائق لاستخلاص CoQ10 من الزيت.

• الدقة Precision

كرر قياس إحدى العينات ست مرات وحسبت قيمة كل من الانحراف المعياري والانحراف المعياري النسبي. فكانت $X = 59.7$ $SD = 0.34$ $RSD = 0.57\%$

• المضبوطية Accuracy

للتأكد من مضبوطية الطريقة تم استخلاص إحدى العينات وحددت كمية CoQ10 الموجودة فيها، ثم أضيف CoQ10 المعياري (spike) إلى تلك الخلاصة بتركيز مختلفة، وتمت مقايستها بعد الإضافة وحسبت قيمة المردود عند كل تركيز.

الجدول (2): مضبوطية طريقة مقايضة CoQ10

المردود %	CoQ10 المكتشف مكغ/غ	CoQ10 المضاف مكغ/غ
-	60.2	0
99.3	69.5	10
89.6	78.9	20
99	89.1	30
99.2	99.2	40

• الحساسية sensitivity

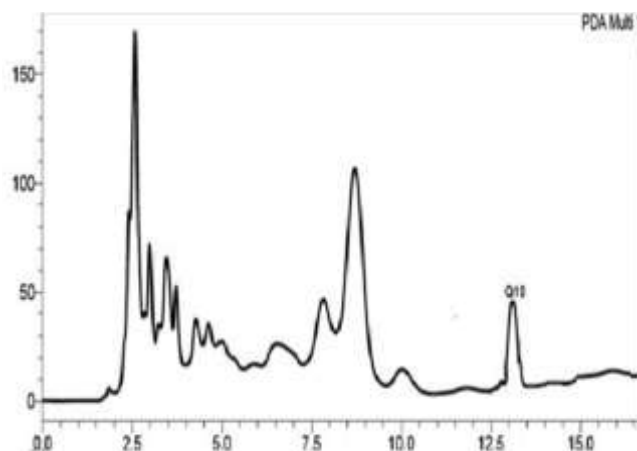
- حد القياس الكمي Quantitation Limit QL
حسبت قيمة QL من معادلة المستقيم للسلسلة المعيارية وفق معايير المؤتمر الدولي للمواءمة كما يلي:
 $QL = 10SD/S$
S: ميل المستقيم SD: قيمة الانحراف المعياري لقيم PA
- حد الكشف Detection Limit DL
تم حساب قيمة DL وفق المعادلة التالية:
 $DL = 3SD/S$
S: ميل المستقيم SD: قيمة الانحراف المعياري لقيم PA
فكانت $SD = 1.8$ $S = 4.9699$ ومنه $QL = 3.62$ مكغ/غ
 $DL = 1.09$ مكغ/غ

الجدول (3): تراكيز CoQ10 مقدره بـ مكغ/غ في عينات زيت الزيتون

العينة حسب طريقة استخلاص الزيت	تركيز CoQ10 مكغ/غ
العصر الآلي (1)	59.5 ± 18
العصر الآلي (2)	60.2 ± 4
العصر الآلي (3)	61.7 ± 2
العصر الآلي (4)	60.6 ± 9
العصر الآلي (5)	61.2 ± 12
العصر الآلي (6)	62 ± 7
العصر الآلي (7)	59.2 ± 4
زيت الخرج (1)	58.8 ± 3
زيت الخرج (2)	59.4 ± 8
زيت الخرج (3)	58.5 ± 9
زيت الخرج (4)	59.9 ± 11
زيت الخرج (5)	58.7 ± 1
زيت الخرج (6)	59.6 ± 8
زيت الخرج (7)	59.2 ± 13

الدراسة الإحصائية STATISTICAL ANALYSIS:

كررت جميع القياسات ثلاث مرات، ومثلت قيمة كل عينة على شكل متوسط \pm (SD للمحددات المتكررة). تم إجراء تحليل التباين Anova لتحديد أثر طريقة استخلاص الزيت على مؤشر الدراسة وتطبيق اختبار P. يلاحظ من الجدول (2) أن P أكبر من 0.05 مما يدل على عدم وجود تأثير معنوي للمعامل (طريقة استخلاص الزيت) على المؤشر المدروس CoQ10 وذلك عند مستوى معنوية 0.05. بينت الدراسة الإحصائية وجود تقارب في تركيز CoQ10 بين طريقة العصر الآلي وطريقة زيت الخرج، وعدم وجود فروقات واضحة في محتوى زيت الزيتون من CoQ10 باختلاف طريقة استخلاص الزيت من ثمار الزيتون، فلم يكن لعملية غلي حبات الزيتون في طريقة زيت الخرج تأثير واضح على محتواه من CoQ10 وهذا يتوافق



الشكل (4): كروماتوغرام لخالصة زيت الزيتون

يتميز متحري منظومة الصمام الثنائي (Diode array) الملحق بجهاز HPLC والمستخدم في هذا البحث للكشف عن CoQ10 بالانتقائية العالية فضلاً عن القدرة على اختيار طول الموجة الأمثل للتحليل كما يمكن من خلاله تحديد هوية العديد من المركبات من خلال طيفها. أظهر تحليل عينات الزيت المدروسة تراكيز مرتفعة من CoQ10 حيث تراوحت تراكيزه في عينات العصر الآلي بين 62 و 59.2 مكغ/غ بينما كانت في عينات زيت الخرج بين 59.9 و 58.5 مكغ/غ كما يظهر في الجدول (1).

مع دراسة لـ (weber *et al.*, 1997) والتي بينت أن الغلي لا يؤثر على محتوى الطعام من CoQ10. الجدول (4): الدراسة الإحصائية لتركيز CoQ10 بتطبيق طريقتي

الاستخلاص

طريقة استخلاص الزيت	تركيز CoQ10 مكغ/غ
العصر الآلي	60.311 ± 3.733
الزيت الخريج	59.282 ± 2.497
P0.05	0.468 > 0.05ns
CV%	5.97

الاستنتاج Conclusion

أكدت الدراسة السابقة غنى عينات زيت الزيتون السوري من مدينة اللاذقية بتميم الأنزيم Q10 حيث تمت مقايسته في العينات باستخدام جهاز HPLC وذلك بعد استخلاصه من عينات الزيت باستخدام تقنية الاستخلاص بالطور الصلب (Solid phase extraction). تقاربت تراكيز CoQ10 في عينات الزيت المحضرة بالعصر الآلي مع عينات زيت الخريج مما يدل على عدم تأثير طريقة تحضير زيت الخريج على محتواه من CoQ10.

كانت تراكيز CoQ10 في عينات زيت الزيتون من مدينة اللاذقية متقاربة مع تراكيزه في العديد من الدول المتوسطية (Rodriguez-Acuna *et al.*, 1994) (Pregolato *et al.*, 2008) وربما يعزى ذلك إلى التقارب الجغرافي والمناخي مع هذه المناطق. هناك العديد من العوامل التي تؤثر على قيم

References:

1. Benetou V, Trichopoulou A, Orfanos P, Naska A, Lagiou P, Boffetta P, et al. (2008) Greek EPIC cohort. Conformity to traditional Mediterranean diet and cancer incidence: The Greek EPIC cohort. *Br J Cancer*. 99(1),191-195.
2. Cabrini L, Barzanti V, Cipollone M, Fiorentini D, Grossi G, Tolomelli B, et al. (2001). Antioxidants and total peroxy radical-trapping ability of olive and seed oils. *J Agric Food Chem*. 49(12),6026-6032.
3. Granados-Principa S, Quiles JL, Ramirez-Tortosa CL, Sanchez-Rovira P, Ramirez-Tortosa MC. (2010). Hydroxytyrosol: From laboratory investigations to future clinical trials. *Nutr Rev*. 68(4),191-206.
4. Hughes K, Lee BL, Feng X, Lee J, Ong CN. (2002). Coenzyme Q10 and differences in coronary heart disease risk in Asian Indians and Chinese. *Free Radical Biol Med*. 32(2),132-138.
5. Keys AB. (1980). *Seven Countries: A multivariate analysis of death and coronary heart disease*. Harvard University Press: Cambridge, MA, USA.
6. Martin-Pelaez S, Covas MI, Fito M, Kusar A, Pravst I. (2013). Health effects of olive oil polyphenols: Recent advances and possibilities for the use of health claims. *Mol Nutr Food Res*. 57(5),760-771.
7. Mattila P, Kumpulainen J. (2001) Coenzymes Q9 and Q10: Contents in food and dietary intake. *J Food Compos Anal*. 14(4),409-417.
8. Mitek K, Rodríguez Aguilé J, Pravst I. (2014). Factors influencing the contents of Coenzyme Q10 and Q9 in olive oils. *J Agric Food Chem*. 62(14),3211-3216.
9. Pravst I, Zmitek K, Zmitek J. (2010). Coenzyme Q10 contents in foods and fortification strategies. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 50(4),269-280.
10. Scarmeas N, Stern Y, Tang MX, Mayeux R, Luchsinger JA. (2006). Mediterranean diet and risk for Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 59(6),912-921.
11. Rodríguez-Acuna R, Brenne E, Lacoste F. (2008). Determination of coenzyme Q10 and Q9 in vegetable oils. *J Agric Food Chem*. 56(15),6241- 6245.
12. Souchet N, Laplante S. (2007). Seasonal variation of co-enzyme Q10 content in pelagic fish tissues from Eastern Quebec. *J Food Compos Anal*. 20(5),403-410.
13. Venegas C, Cabrera-Vique C, Garcia-Corzo L, Escames G, Acuna-Castroviejo D, Carlos Lopez L. (2011). Determination of Coenzyme Q(10), Coenzyme Q(9), and melatonin contents in virgin argan oils: Comparison with other edible vegetable oils. *J Agric Food Chem*. 59(22),12102-12108.
14. Weber C, Bysted A, Hllmer G. (1997). The coenzyme Q10 content of the average Danish diet. *Int J Vitam Nutr Res*. 67(2),123-9.
15. Yalcin A, Kilinc E, Sagcan A, Kultursay H. (2004). Coenzyme Q10 concentrations in coronary artery disease. *Clin Biochem*. 37(8),706-709.

