

Ewa Flaczyk, Magdalena Rudzińska*, Joanna Kobus, Danuta Górecka

Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu

Katedra Technologii Żywności Człowieka, * Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego

Wpływ warunków przechowywania oliwy „*extra virgin*” na zawartość polifenoli, steroli i skwalenu oraz stabilność oksydacyjną

Influence of storage conditions of „*extra virgin*” olive oils on polyphenols, sterols and squalene content and oxidative stability

Słowa kluczowe: oliwa „*extra virgin*”, stabilność oksydacyjna, polifenole, sterole, skwalen

Składnikami oliwy „*extra virgin*” decydującymi o jej stabilności oksydacyjnej są m.in. polifenole, sterole oraz skwalen. Zawartość tych związków w oliwie jest zróżnicowana ze względu na odmianę oliwek, warunki klimatyczne, okres zbioru owoców, rodzaj procesu technologicznego pozyskiwania oliwy i warunki jej przechowywania.

Celem przeprowadzonych badań było określenie zależności pomiędzy zawartością polifenoli, steroli i skwalenu a stabilnością oksydacyjną (badaną metodą Rancimat i Oxidograph) różnych rodzajów oliwy „*extra virgin*” w początkowym okresie przydatności do spożycia i po 12-miesięcznym przechowywaniu.

Materiał do badań stanowiły oliwy „*extra virgin*” pochodzące od 8 producentów: czterech włoskich, trzech hiszpańskich i jednego greckiego, zakupione w handlu detalicznym.

Warunki przechowywania oliwy były następujące: w temperaturze 16–18°C bez dostępu światła (wg zaleceń producentów) oraz w temperaturze pokojowej 19–24°C, przy okresowej ekspozycji na światło (wariancie imitujące ekspozycję sklepową).

Badane rodzaje oliwy charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością związków polifenolowych. Na ogół większą ich ilość posiadały oliwy „*extra virgin*” pochodzenia hiszpańskiego. Po przechowywaniu oliwy przez okres 12 miesięcy obserwowano znaczne obniżenie zawartości polifenoli, jednakże istotnie większe w oliwach przechowywanych w zmiennej temperaturze otoczenia i na świetle.

W badanych oliwach oznaczono poziomy skwalenu i steroli, które w poszczególnych oliwach były także zróżnicowane. Najwięcej skwalenu zawierała jedna z oliw hiszpańskich, a steroli oliwy włoskie. Przechowywanie przez 12 miesięcy w warunkach zalecanych przez producentów powodowało nieznaczny ubytek tych składników. Ponadto oliwy przechowywane przez 12 miesięcy w warunkach zalecanych przez producentów charakteryzowały się lepszą stabilnością oksydacyjną niż oliwy przechowywane w drugim wariancie doświadczenia.

Przeprowadzone badania wykazały znaczny wpływ warunków przechowywania oliwy na stabilność oksydacyjną oraz zawartość analizowanych związków biologicznie aktywnych.

Key words: „*extra virgin*” olive oil, oxidative stability, polyphenols, sterols, squalene

Polyphenols, squalene and sterols are main ingredients influencing oxidative stability of „*extra virgin*” olive oil. The content of these compounds in olive oils are different due to variety, climatic and soil conditions, the time of fruit harvesting, kind of technological process of olive oil production and first of all olive oils storage conditions.

The objective of the present study was to determine relationship between polyphenols, sterols and squalene content and oxidative stability (Rancimat and Oxidograph methods) of “*extra virgin*” olive oils purchased at the beginning of their shelf life and after their storage for 12 months.

The experimental material comprised 8 kinds of “*extra virgin*” olive oils (4 Italian, 3 Spanish and 1 Greek producer) available in retail.

The storage conditions were as follows: temperature 16–18°C in darkness (according to producers recommendation) and temperature 19–24°C with periodical exposition to light (variant which imitated market conditions).

Samples of olive oils were characterized by diverse amounts of polyphenols but in general more polyphenols in Spanish olive oils were determined. After the 12th month of storage considerable reduction of polyphenols amount was observed. This loss was significantly higher in olive oils stored in varied temperature and with periodical exposition to light.

The squalene and sterols were observed on different levels. The highest level of squalene was observed for Spanish olive oils. More sterols in Italian samples of oils were detected. It was also noticed that after the 12th month of storage in conditions according to producers recommendation the oxidative stability was better than in the second variant of storage.

It needs to be emphasized that for majority of samples storage conditions of “*extra virgin*” olive oils influenced their oxidative stability and the level of biological active compounds.

Wstęp

Produkcja oliwy z oliwek na świecie wynosi około 1,742 mln litrów rocznie, z czego 30% produkują Hiszpanie, a 24% Włosi. Pozostali producenci to: Grecja, Francja, Tunezja, Maroko i Portugalia. Jakość oliwy jest determinowana jakością owoców, które muszą być poddane przerobowi w przeciągu 24 godzin od zbioru. Proces produkcji oliwy „*extra virgin*” polega na miażdżeniu owoców oliwki, a następnie tłoczeniu na zimno. Dlatego z oliwek, w których nastąpiły procesy fermentacyjne po zbiorze nie można uzyskać oliwy dobrej jakości. Psucie oliwy może zachodzić więc już na etapie zbioru i przechowywania owoców i trwa nieprzerwanie do momentu jej spożycia. Dlatego istotnym wydaje się badanie nie tylko surowca do produkcji oliwy z oliwek, ale również składu poszczególnych komponentów oraz monitorowanie tempa ich zmian w czasie przechowywania (Del Caro i in. 2006, Kalua i in. 2007).

Oliwa z oliwek jest najbogatszym źródłem jednonienasyconego kwasu oleinowego. W składzie kwasów tłuszczowych oliwy stanowi on 60–75%, 14–18% kwas linolowy, 15% nasycone kwasy tłuszczowe, w tym 10–18% kwas palmitynowy oraz 2% kwas stearynowy. Może występować również kwas linolenowy w ilości do 2% (Christopoluou i in. 2004, Galeino i in. 2005).

Oliwa z oliwek zawiera wiele substancji biologicznie aktywnych. Są to składniki posiadające na ogół silne właściwości przeciwutleniające. Do najważniejszych można zaliczyć tokoferole, które występują na poziomie 150–240 mg/kg, witaminę A i β -karoten (14–52 mg/kg), związki fenolowe (50–500 mg/kg w przeliczeniu na kwas kawowy), a z węglowodorów — skwalen (200–700 mg/100 g) oraz sterole (160–1600 mg/100 g). Dominującym steroidem jest β -sitosterol, który powinien

stanowią 80–97% całkowitej ilości steroli w oliwie. Pozostałymi sterolami są: $\Delta 5$ -awenasterol, występujący w ilości 9–12%, oraz $\Delta 7$ -awenasterol i $\Delta 7$ -stigma-sterol znajdujący w śladowych ilościach.

Zawartość związków fenolowych zależy nie tylko od rodzaju oliwy i jakości owoców przeznaczonych do produkcji, ale przede wszystkim od warunków przechowywania gotowego produktu. Do związków fenolowych zidentyfikowanych w oliwie zaliczamy kwasy fenolowe (werbaskozyd, kwas kawowy), alkohole fenolowe (tyrozol, hydroksytyrozol), sekoiridoidy (demetyloleuropeina, oleuropeina, kwas elenolowy), flawonoidy, a wśród nich chalkony (oliwina), flawony (luteolina, rutyna, apigenina) oraz antocjanidyny (cyjanidyna 3-O-glikozyd, cyjanidyna 3-O-rutynozyd, delfinidyna). Dlatego nie bez znaczenia pozostają tutaj zabiegi opóźniające ubytek związków fenolowych zarówno w czasie pozyskiwania oliwy, jak i jej przechowywania (Beltran i in. 2005, Caponio i in. 2001, Cinquanta i in. 1997, Garcia i in. 2003, Garcia i in. 2002, Luna i in. 2006, Manti i in. 2001, Yousfi i in. 2006).

W celu zapewnienia pożądanej, odpowiedniej jakości oliwy od początku do końca jej przydatności do spożycia stosuje się różne metody (fizyczne, biologiczne, chemiczne), których zadaniem jest ochrona przed destrukcyjnym oddziaływaniem środowiska podczas przechowywania. Do najważniejszych czynników ochronnych można zaliczyć zastosowanie odpowiednich opakowań, a przede wszystkim ochronę przed działaniem światła i powietrza oraz stosowanie odpowiednich temperatur podczas przechowywania w opakowaniach jednostkowych (Caponio i in. 2005, Del Caro i in. 2006).

Składową jakość oliwy, obok stopnia oksydacji, jest tempo zmian zawartości składników biologicznie aktywnych w czasie przechowywania, decydujących o jej trwałości, w tym stabilności oksydacyjnej. Do czynników limitujących tempo zmian zawartości składników biologicznie aktywnych i stabilności oksydacyjnej zaliczyć można przede wszystkim temperaturę przechowywania produktu, występowanie prooksydantów oraz antyoksydantów w oliwie, stężenie tlenu w opakowaniu, rodzaj opakowania, a także rodzaj i natężenie oświetlenia.

Celem przeprowadzonych badań było określenie zależności pomiędzy zawartością polifenoli, steroli i skwalenu a stabilnością oksydacyjną (badaną metodą Rancimat i Oxidograph) różnych rodzajów oliwy „*extra virgin*” w początkowym okresie przydatności do spożycia oraz po jej 12-miesięcznym przechowywaniu w dwóch wariantach temperaturowych i oświetleniowych.

Material i metody

Materiałem badawczym w niniejszym doświadczeniu była oliwa „*extra virgin*” pochodząca od różnych producentów. Oliwę zakupiono w sieci detalicznej miasta Poznania, w początkowym okresie jej przydatności do spożycia. Analizie poddano cztery oliwy włoskie, trzy hiszpańskie i jedną grecką. W pracy przyjęto umowne oznaczenia dla następujących rodzajów oliwy: A — Goya (Hiszpania), B — Ybarra (Hiszpania), C — La Famosa (Hiszpania), D — Melissa (Grecja), E — Carapelli Florence (Włochy), F — Monnini (Włochy), G — Costa d’Oro (Włochy), H — Poderino (Włochy). Wszystkie oliwy charakteryzowały się ponad 12-miesięcznym okresem przydatności do spożycia i były w opakowaniach z jasnego szkła. Ocenę ich jakości wykonano analizując średnią z trzech opakowań. Badania wykonywano w dwóch seriach i 3–5 powtórzeniach.

Warunki przechowywania oliwy były następujące: temperatura 16–18°C bez dostępu światła (wariant I — wg zaleceń producentów) oraz temperatura pokojowa 19–24°C, przy okresowej ekspozycji na światło (wariant II imitujący ekspozycję sklepową).

W próbach oliwy określono procentowy udział kwasów tłuszczowych oliwy (IUPAC 1987). Analizę chromatograficzną przeprowadzono na chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym HP 5890 Series II firmy Hewlett Packard przy użyciu kolumny HP-INNO Wax 19091N-133 (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm), w temperaturze iniektora 240°C i pracy w trybie split 1 : 50. Analizę wykonano w stałej temperaturze 220°C, przy czym temperatura detektora wynosiła 260°C.

Zawartość fitosteroli została oznaczona w oliwie z wykorzystaniem metody opisanej przez Rudzińską i in. (2001). Metoda ta polegała na zmydłaniu próby oleju, ekstrakcji frakcji niezmydlającej, a następnie sililacji. Analizę chromatograficzną wykonano na aparacie firmy Hewlett Packard 5890 II stosując kolumnę kapilarną DB-5. Analizę przeprowadzono w stałej temperaturze pieca 290°C. Identyfikację analizowanych związków wykonano na podstawie porównania ich czasów retencji ze standardami.

Ponadto oznaczono ogólną zawartość związków fenolowych w przeliczeniu na kwercetynę wg Cheunga i in. (2003). Metoda ta polegała na reakcji grup fenolowych z odczynnikiem Folina–Ciocalteu z wytworzeniem barwnego kompleksu i spektrofotometrycznym pomiarze absorbancji przy długości fali 765 nm (Metertek SP-830, Tajwan).

Wykonano także testy stabilności oksydacyjnej w aparatach Rancimat (Metrohm, Szwajcaria) i Oxidograph (Mikrolab, Dania) (Flaczyk i in. 2004). W aparacie Rancimat została wykorzystana metoda konduktometrycznego oznaczenia lotnych produktów, głównie kwasów krótkołańcuchowych pochodzących z degradacji wodoronadtlenków. Próba oliwy była utleniana strumieniem powietrza o przepływie 20 l/h

w temperaturze 110°C. Koniec okresu indukcyjnego wyznaczał gwałtowny wzrost przewodnictwa wody, spowodowany dysocjacją lotnych kwasów karboksylowych. W metodzie z wykorzystaniem aparatu Oxidograph mierzono bezpośrednio ilość tlenu pochłoniętego przez próbę oliwy, inkubowaną w temperaturze 110°C. Rezultatem utleniania był spadek ciśnienia w naczynku reakcyjnym. Zmiana ta była rejestrowana przez czujniki ciśnieniowe i zapisywana na wykresie. Gwałtowne odchylenie krzywej na wykresie, z którego odczytywano czas indukcji, świadczyło o utlenieniu tłuszczu.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy pomocy programu STATISTICA 6.0.

Wyniki i dyskusja

W doświadczeniu określono wybrane wskaźniki oliwy „*extra virgin*” poddanej 12-miesięcznemu przechowywaniu w dwóch wariantach: pierwszy stanowił zalecany sposób przechowywania tego rodzaju produktów w miejscu bez dostępu światła i w temperaturze 16–18°C, natomiast drugi wariant uwzględniał okresową ekspozycję na światło w temperaturze około 19–24°C. W celu określenia stopnia postępujących zmian wyniki odniesiono do oliwy badanej bezpośrednio po zakupieniu (oliwa świeża).

Zawartość kwasów tłuszczowych w poszczególnych rodzajach oliwy i wariantach przechowywania przedstawiono w tabeli 1. Badane oliwy zawierały około 70–84% kwasów tłuszczowych jednonienasyconych, około 9–17% nasyconych i około 5–12% wielonienasyconych. Stwierdzono, że ich skład był charakterystyczny dla oliwy z oliwek. W świeżym produkcie dominującym kwasem był kwas oleinowy występujący na poziomie 68–75% oraz palmitynowy, którego zawartość kształtowała się na poziomie 9–14%. Przechowywanie nie wpłynęło istotnie ($p > 0,05$) na skład procentowy kwasów tłuszczowych badanych rodzajów oliwy. Zarówno w oliwie świeżej, jak i po przechowywaniu w obu wariantach stwierdzono ujemną zależność korelacyjną pomiędzy ogólną zawartością jednonienasyconych a nasyconych kwasów tłuszczowych (–0,75 dla oliwy świeżej, –0,77 dla oliwy przechowywanej bez dostępu światła oraz –0,92 dla oliwy przechowywanej z okresową ekspozycją na światło). Podobnie stwierdzono ujemną istotną zależność korelacyjną dotyczącą zawartości jednonienasyconych oraz wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (–0,97 oliwa świeża, –0,94 oliwa przechowywana bez dostępu światła, –0,90 oliwa przechowywana z dostępem światła). Caponio i in. (2004), Christopoulou i in. (2004) oraz Galeino i in. (2005) również nie wykazali istotnego wpływu warunków przechowywania na zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych w oliwie. Zmiany ich procentowego udziału związane są przede wszystkim z utlenianiem wiązań podwójnych nienasyconych kwasów

Tabela 1

Skład procentowy kwasów tłuszczowych badanych rodzajów oliwy z oliwek „*extra virgin*” świeżej i po przechowywaniu
Percentage of fatty acids of tested olive oils „extra virgin” fresh and after storage

Kraj <i>Country</i>	Próba	Kwasy tłuszczowe — <i>Fatty acids</i>										jedno- nienasycone	wielo- nienasycone
		C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C ₂₀	C _{20:1}	nasycone		
<i>Oliwa świeża — Fresh olive oils</i>													
Hiszpania — <i>Spain</i>	A	0,10	11,46	0,77	3,99	75,78	6,34	0,73	0,43	0,35	15,98	76,90	7,07
	B	0,03	10,58	0,96	3,79	76,58	6,57	0,71	0,42	0,31	14,82	77,85	7,28
Grecja — <i>Greece</i>	C	0,04	14,53	1,77	2,82	68,27	11,26	0,67	0,38	0,22	17,77	70,26	11,93
	D	0,03	13,35	1,05	2,76	74,71	6,15	1,09	0,50	0,30	16,64	76,06	7,24
Włochy — <i>Italy</i>	E	0,01	11,06	0,99	3,58	77,14	5,02	1,14	0,38	0,26	15,03	78,39	6,16
	F	0,01	9,28	0,81	3,18	75,89	7,28	0,68	0,36	0,28	12,83	76,98	7,96
	G	0,01	12,55	0,10	4,15	70,87	10,92	0,63	0,43	0,29	17,14	71,26	11,55
	H	0,02	11,38	1,11	3,27	75,16	7,74	0,66	0,36	0,26	15,03	76,53	8,40
<i>Oliwa bez dostępu światła — Olive oils in darkness (16–18°C)</i>													
Hiszpania — <i>Spain</i>	A	0	10,45	0,55	3,83	77,55	5,96	0,78	0,51	0,38	14,79	78,48	6,74
	B	0,01	10,81	0,84	3,99	77,88	4,98	0,71	0,46	0,30	15,28	79,03	5,69
Grecja — <i>Greece</i>	C	0,00	8,57	0,50	3,51	78,52	7,26	0,70	0,51	0,43	12,59	79,45	7,96
	D	0,01	12,77	0,86	0,79	77,77	6,16	0,74	0,54	0,36	14,11	78,99	6,90
Włochy — <i>Italy</i>	E	0,00	12,14	1,25	2,89	71,38	10,84	0,65	0,50	0,34	15,53	72,98	11,49
	F	0,01	10,55	0,85	4,01	75,57	7,46	0,67	0,52	0,37	15,09	76,79	8,12
	G	0,01	13,25	1,45	3,07	70,19	11,16	0,66	0,13	0,07	16,47	71,71	11,82
	H	0	9,77	0,71	3,86	77,81	6,31	0,68	0,50	0,35	14,13	78,87	7,00
<i>Oliwa z okresowym dostępem światła — Olive oils with periodical exposition on light (19–24°C)</i>													
Hiszpania — <i>Spain</i>	A	0	9,37	0,56	3,68	78,50	6,23	0,81	0,48	0,37	13,53	79,42	7,04
	B	0	4,72	0,58	3,90	83,86	5,41	0,77	0,46	0,30	9,08	84,74	6,18
Grecja — <i>Greece</i>	C	0	8,67	0,52	3,41	78,39	7,43	0,73	0,47	0,38	12,55	79,30	8,15
	D	0	12,60	0,87	2,76	75,77	6,28	0,78	0,55	0,39	15,91	77,04	7,06
Włochy — <i>Italy</i>	E	0,17	12,17	1,41	2,76	71,00	11,06	0,65	0,46	0,32	15,57	72,73	11,71
	F	0	10,48	0,87	3,41	75,92	7,63	0,74	0,55	0,39	14,44	77,18	8,37
	G	0	13,40	1,49	2,98	69,49	11,16	0,67	0,48	0,31	16,87	71,29	11,84
	H	0	9,64	0,72	3,83	77,84	6,38	0,71	0,51	0,36	13,98	78,93	7,10

tłuszczowych. Oliwa zawiera wiele substancji będących inhibitorami procesu utleniania. Dlatego też zmiany w kwasach tłuszczowych są bardzo ograniczone. Do najważniejszych przeciwutleniaczy występujących w szczególnie dużych ilościach w oliwie „*extra virgin*” zalicza się polifenole oraz niektóre sterole. Wiążą one częściowo tlen z powietrza, chroniąc w ten sposób oliwę przed utlenianiem. Ponadto kwasy polienowe stanowią stosunkowo niewielki procentowy udział w kwasach tłuszczowych oliwy, a to właśnie one najłatwiej ulegają autooksydacji. Natomiast w warunkach naświetlania promieniowaniem UV zachodzi utlenianie fotosensybilizowane. Polega ono na przekształceniu naturalnego tlenu trypletowego w bardziej reaktywny tlen singletowy, co w efekcie powoduje znaczne przyspieszenie całego procesu utleniania.

W oliwie świeżej oraz przechowywanej w temperaturze pokojowej przy okresowej ekspozycji na światło znaleziono dodatnią zależność korelacyjną pomiędzy zawartością kwasów nasyconych i kwasów polienowych (odpowiednio 0,60 oraz 0,66). W badanych rodzajach oliwy przechowywanej bez dostępu światła zależności takiej nie stwierdzono.

W tabeli 2 przedstawiono zawartość steroli i skwalenu w badanych oliwach „*extra virgin*”. Sterole stanowią główną część substancji niezmydlającej się w olejach. Ich stosunek ilościowy może być kryterium identyfikacji poszczególnych gatunków i rodzajów (Aguilera i in. 2005, Galeino i in. 2005). Riviera del Alamo i in. (2004) badali hiszpańską oliwę *Cornicabra* pochodzącą z upraw na terenie Montes de Toledo, oznaczając w niej zawartości kampesterolu (ok. 4%), sitosterolu (84%) oraz awenasterolu (6,9%). Na tej podstawie potwierdzili autentyczność oraz wysoką jakość oliwy, która została uznana za jedną z 30 najlepszych rodzajów oliwy na świecie.

Sitosterol występował w największych ilościach we wszystkich badanych próbach oliwy. W oliwie świeżej stanowił od 75,5 do 90,2% ogólnej ilości steroli. Oliwa grecka D charakteryzowała się najmniejszym udziałem procentowym tego sterolu zarówno po zakupieniu, jak i po przechowywaniu w obu wariantach temperaturowych i oświetleniowych (791,9 mg/kg — wariant I, 526,6 mg/kg — wariant II).

Przechowywanie oliwy w obu wariantach nie zmieniło na ogół stosunków ilościowych analizowanych steroli. Po 12-miesięcznym przechowywaniu w warunkach zalecanych przez producentów sitosterol stanowił od 76 do 89% sumy steroli, natomiast po przechowywaniu w temperaturze pokojowej z okresową ekspozycją na światło poziom ten wynosił od 80 do 86%. Włoska oliwa G charakteryzowała się największą zawartością wszystkich steroli zarówno po zakupieniu, jak i po przechowywaniu w obu wariantach (odpowiednio 1611,76; 1590,05; 1265,54 mg/kg). Podsumowując wyniki tej części badań należy podkreślić znacznie większy ubytek steroli (20–30% pierwotnej wartości) przy przechowywaniu badanych rodzajów oliwy w temperaturze 19–24°C z okresową ekspozycją na światło.

Tabela 2

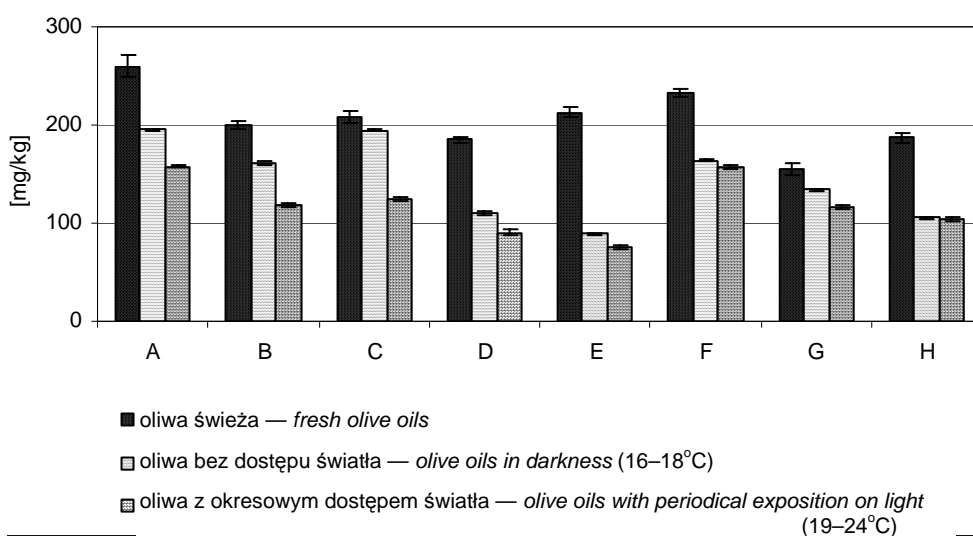
Zawartość steroli i skwalenu w oliwie „*extra virgin*” świeżej i po przechowywaniu [mg/kg]
Content of sterols and squalene in „extra virgin” olive oils fresh and after storage

Kraj <i>Country</i>	Próba <i>Sample</i>	Sitosterol	Awenasterol	Kampesterol <i>Campesterol</i>	Stigmasterol	Suma steroli <i>Total sterols</i>	Skwalen <i>Squalene</i>
<i>Oliwa świeża — Fresh olive oils</i>							
Hiszpania <i>Spain</i>	A	1047,66	84,18	29,93	0,00	1161 ± 506	5668
	B	992,86	89,88	50,87	25,42	1159 ± 469	3841
	C	1229,40	201,86	56,03	10,58	1497 ± 575	2976
Grecja <i>Greece</i>	D	782,55	189,78	49,27	15,51	1037 ± 356	3525
Włochy <i>Italy</i>	E	1087,49	118,12	55,18	9,74	1270 ± 515	4545
	F	1155,39	172,17	63,26	13,07	1403 ± 540	4402
	G	1301,40	209,38	68,83	32,15	1611 ± 603	3260
	H	1072,54	128,66	51,72	0,00	1252 ± 508	3566
<i>Oliwa bez dostępu światła — Olive oils in darkness (16–18°C)</i>							
Hiszpania <i>Spain</i>	A	1087,92	107,37	31,28	0,00	1226 ± 522	5474
	B	839,35	86,15	81,57	13,24	1020 ± 390	3660
	C	830,88	106,00	54,23	10,34	1001 ± 388	3174
Grecja <i>Greece</i>	D	791,90	163,47	67,99	13,63	1036 ± 360	3566
Włochy <i>Italy</i>	E	1047,56	123,39	92,61	0,00	1263 ± 490	3243
	F	1023,25	113,54	86,15	18,37	1241 ± 476	3771
	G	1272,76	206,77	96,65	13,87	1590 ± 588	3101
	H	1104,06	120,88	62,13	0,00	1287 ± 523	3472
<i>Oliwa z okresowym dostępem światła — Olive oils with periodical exposition on light (19–24°C)</i>							
Hiszpania <i>Spain</i>	A	691,85	53,31	45,72	11,25	802 ± 328	3112
	B	851,78	68,78	71,66	7,76	999 ± 402	3287
	C	876,87	95,63	62,90	0,00	1035 ± 413	2982
Grecja <i>Greece</i>	D	526,58	89,10	33,65	8,38	657 ± 243	2724
Włochy <i>Italy</i>	E	1077,70	132,28	41,54	0,00	1251 ± 512	2520
	F	720,35	62,50	49,41	23,52	855 ± 337	2516
	G	1076,24	146,26	43,04	0,00	1265 ± 510	2265
	H	790,91	88,40	41,71	0,00	921 ± 375	2558

Na ogół podaje się, że skwalen wykazuje właściwości przeciwutleniające. Badania Owena i in. (2000) wykazały, że skwalen w kompozycji z kwasem cytrynowym silnie hamuje procesy oksydacyjne, a jego zawartość zależy w dużym stopniu od warunków przechowywania. W naszych badaniach najwięcej skwalenu oznaczono w hiszpańskiej oliwie A (5668 mg/kg po zakupieniu, 5474 mg/kg po

przechowywaniu bez dostępu światła w temperaturze 16–18°C i 3112 mg/kg z dostępem światła w temperaturze 19–24°C). Ilość skwalenu malała w większym stopniu w oliwie przechowywanej w warunkach drugiego wariantu. W różnych rodzajach oliwy pozostało od 54 do 85% początkowej zawartości skwalenu. Tylko w oliwie hiszpańskiej C ilość ta nie uległa zmianie. Przechowywanie bez dostępu światła i w temperaturze 16–18°C powodowało znacznie mniejszy ubytek tego składnika. Skwalen oznaczono w ilościach od 71 do 100% początkowej ilości. W oliwie świeżej znaleziono dodatnią korelację pomiędzy zawartością skwalenu i związków fenolowych w poszczególnych rodzajach oliwy (0,82).

Najwięcej polifenoli stwierdzono w hiszpańskiej oliwie A (260 mg/kg) oraz włoskiej oliwie F (232 mg/kg) (rys. 1). Przechowywanie w temperaturze 16–18°C bez dostępu światła powodowało mniejsze straty tych składników niż w próbach przechowywanych w temperaturze 19–24°C z okresowym dostępem światła. Ekspozycja na światło powodowała największy ubytek polifenoli w oliwie włoskiej E oraz greckiej D, odpowiednio o 64 i 50% początkowej zawartości, natomiast najmniejszy procentowy ubytek polifenoli stwierdzono w oliwach włoskich F i G (32 i 25%). Po przechowywaniu w warunkach zalecanych przez producentów stwierdzono znacznie mniejszy ubytek związków fenolowych, przy czym najmniejszy ubytek tych związków obserwowano w hiszpańskiej oliwie C oraz włoskiej G, odpowiednio 6,5 i 13,5%.



Rys. 1. Zmiany zawartości polifenoli w oliwie „*extra virgin*” świeżej i po przechowywaniu
Changes in polyphenols content in “extra virgin” olive oils fresh and after storage

Caponio i in. (2005) badali poziom zawartości związków polifenolowych w oliwie poddanej rocznemu przechowywaniu z dostępem oraz bez dostępu światła. Wykazali oni, iż oświetlenie nie wpływa bezpośrednio na ich zawartość.

Być może wynikało to z faktu, że Caponio i in. (2005) nie brali pod uwagę wpływu temperatury podczas przechowywania analizowanych prób oliwy. Ich doświadczenie zakładało jednakową temperaturę dla obu wariantów oświetleniowych: temperaturą 15°C zimą oraz 25°C latem. Dlatego możliwe jest, że to kumulacja dwóch czynników, jakimi są zarówno temperatura, jak i oświetlenie, może działać destrukcyjnie na ilość związków fenolowych, co zostało wykazane w naszym doświadczeniu.

Zmiany stabilności oksydacyjnej analizowanych rodzajów oliwy przedstawiono w tabeli 3. Najlepszymi parametrami w metodzie Rancimat i Oxidograph charakteryzowały się zasadniczo oliwy hiszpańskie, których przechowywanie w warunkach obu omawianych wariantów wpłynęło na stabilność oksydacyjną w znacznie mniejszym stopniu niż to miało miejsce w pozostałych rodzajach oliwy.

W metodzie Rancimat najbardziej stabilną oliwą po zakupieniu okazały się hiszpańska oliwa B (42,5 h) oraz C (27,25 h), natomiast najgorszą oliwa włoska G (16,47 h) oraz E (14,4 h). Ponadto oliwa E, charakteryzowała się najkrótszymi okresami indukcyjnymi w obu wariantach przechowywania, odpowiednio: 14,13 i 8,87 godzin. W oliwie włoskiej G stwierdzono pewne zwiększenie okresu indukcyjnego podczas przechowywania w warunkach z ekspozycją na światło w temperaturze 19–24°C, co można wytłumaczyć jedynie zróżnicowaniem prób oliwy i jednorazowym badaniem zbyt małej ilości opakowań.

Drugą metodą badania stabilności oksydacyjnej oliwy była metoda Oxidograph. W tej metodzie oliwy hiszpańskie również charakteryzowały się lepszą stabilnością. Najdłuższy czas indukcji odnotowano dla oliwy A (25,13 h) oraz oliwy włoskiej G (19,2 h). Najmniej stabilne były oliwy: grecka D oraz włoska E, których okresy indukcji w drugim wariantie przechowywania obniżyły się odpowiednio do 10,5 i 9,4 godzin. Należy podkreślić, że po przechowywaniu przez 12 miesięcy badane rodzaje oliwy charakteryzowały się większą stabilnością przy przechowywaniu w warunkach zalecanych przez producentów w porównaniu z przechowywaniem w warunkach imitujących ekspozycję sklepową.

Aparicio i inni (1999) również analizowali zależności pomiędzy stabilnością oliwy a zawartością poszczególnych jej komponentów. Badali oni oliwy pochodzące z różnych upraw prowadzonych w odmiennych warunkach: w klimacie suchym i ciepłym oraz wilgotnym i chłodnym, odpowiednio w latach 1996–1997. Stwierdzili oni, że im wyższa zawartość polifenoli, karotenoidów oraz chlorofilu, tym lepsza stabilność oksydacyjna oliwy mierzona metodą Rancimat. Również w badaniach Beltrana i in. (2005) doszukano się podobnej zależności między zawartością związków polifenolowych w oliwie a jej stabilnością. W naszych badaniach stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy stabilnością oksydacyjną oliwy po przechowywaniu w warunkach obu wariantów mierzoną metodą Oxidograph a zawartością związków fenolowych (wariant I: 0,72 oraz wariant II: 0,63). Zależności tej nie stwierdzono w oliwie badanej bezpośrednio po zakupieniu.

Tabela 3

Stabilność oksydacyjna oliwy „*extra virgin*” świeżej i po przechowywaniu
Oxidative stability of „extra virgin” olive oils fresh and after storage

Metoda <i>Method</i>	Hiszpania — <i>Spain</i>			Grecja — <i>Greece</i>			Włochy — <i>Italy</i>		
	A	B	C	D	E	F	G	H	
Rancimat	Oliwa świeża <i>Fresh olive oils</i>								
	20,7 ± 0,1	42,5 ± 0,1	27,25 ± 0,22	22,5 ± 0,17	14,4 ± 0,26	21,37 ± 0,25	16,47 ± 0,15	21,6 ± 0	
	Oliwa bez dostępu światła <i>Olive oils in darkness (16–18°C)</i>								
	22,1 ± 0,2	31,93 ± 1,68	23,87 ± 0,25	22,17 ± 0,31	14,13 ± 0,06	17,93 ± 0,15	18,93 ± 0,32	14,4 ± 0,26	
	Oliwa z okresowym dostępem światła <i>Olive oils with periodical exposition on light (19–24°C)</i>								
	18,73 ± 0,15	15,22 ± 0,18	15,2 ± 0,26	11,32 ± 0,08	8,87 ± 0,25	14,23 ± 0,15	14,57 ± 0,15	13,03 ± 0,21	
Oxidograph	Oliwa świeża <i>Fresh olive oils</i>								
	25,13 ± 0,15	16,23 ± 0,15	16,07 ± 0,15	13,4 ± 0,1	10,37 ± 0,25	15,23 ± 0,15	19,2 ± 0,1	14,2 ± 0,26	
	Oliwa bez dostępu światła <i>Olive oils in darkness (16–18°C)</i>								
	15,08 ± 0,2	24,25 ± 0,22	17,67 ± 0,25	11,6 ± 0,3	10,7 ± 0,1	17,73 ± 0,33	16,7 ± 0,1	11,5 ± 0,1	
	Oliwa z okresowym dostępem światła <i>Olive oils with periodical exposition on light (19–24°C)</i>								
	13,87 ± 0,25	12,9 ± 0,66	13,52 ± 0,38	10,47 ± 0,32	9,37 ± 0,15	13,83 ± 0,21	10,77 ± 0,18	12,73 ± 0,4	

Podsumowując wyniki badań, należy podkreślić, że warunki przechowywania mają istotny wpływ na poziom związków biologicznie aktywnych występujących w oliwie i jej jakość określaną stabilnością oksydacyjną. Najlepiej, aby oliwa „*extra virgin*” była przechowywana w temperaturze 16–18°C bez dostępu światła. W warunkach ekspozycji w markecie traci znaczne ilości szczególnie cennych polifenoli, co bardzo obniża jej wartość biologiczną i stabilność oksydacyjną.

Wnioski

1. W badanych oliwach „*extra virgin*” poziomy skwalenu i steroli były zróżnicowane. Najwięcej skwalenu zawierała jedna oliwa hiszpańska, a steroli oliwy włoskie. Przechowywanie przez 12 miesięcy w warunkach zalecanych przez producenta powodowało mniejszy ubytek tych składników niż w warunkach imitujących ekspozycję sklepową. Ponadto oliwy przechowywane przez 12 miesięcy w warunkach zalecanych przez producentów charakteryzowały się lepszą stabilnością oksydacyjną niż oliwy przechowywane w drugim wariancie doświadczenia.
2. Badane rodzaje oliwy „*extra virgin*” charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością związków polifenolowych. Na ogół większą ich zawartość posiadały oliwy pochodzenia hiszpańskiego. Po ich przechowywaniu przez okres 12 miesięcy obserwowano znaczne obniżenie zawartości polifenoli, jednakże istotnie większe w oliwach przechowywanych w zmiennej temperaturze otoczenia i z dostępem światła.
3. Przeprowadzone badania wykazały znaczny wpływ warunków przechowalniczych oliwy „*extra virgin*” na stabilność oksydacyjną oraz zawartość analizowanych związków biologicznie aktywnych.

Literatura

- Aguilera M.P., Beltrán G., Ortega D., Fernández A., Jiménez A. 2005. Characterisation of virgin olive oil of Italian olive cultivars: “Frantoio” and “Leccino”, grown in Andalusia. *Food Chem.*, 89, 3: 387-391.
- Aparicio R., Roda L., Albi M.A., Gutierrez F. 1999. Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by Rancimat. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 4150-4155.
- Beltrán G., Aguilera M.P., Rio C.D., Sanchez S. 2005. Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chem.*, 89, 2: 207-215.
- Caponio F., Bilancia M.T., Pasqualone A., Sikorska E., Gomes T. 2005. Influence of the exposure to light on extra virgin olive oil quality during storage. *Eur. Food Res. Technol.*, 221, 1-2: 92-98.

- Caponio F., Gomes T., Pasqualone A. 2001. Phenolic compounds in virgin olive oils: influence of the degree of olive ripeness on organoleptic characteristics and shelf-life. *Eur. Food Res. Technol.*, 212, 3, (16): 329-333.
- Cinquanta L., Esti M., Notte E.L. 1997. Evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil during storage. *J. American Oil Chem. Society*, 74: 125-126.
- Cheung L.M., Cheung P.K.C., Ooi V.E.C. 2003. Antioxidant activity and total phenolic of edible mushrooms extracts. *Food Chem.*, 81: 249-255.
- Christopoulou E., Lazaraki M., Komaitis M., Kaselimis K. 2004. Effectiveness of determinations of fatty acids and triglycerides for the detection of adulteration of olive oils with vegetable oils. *Food Chem.*, 84, 3: 463-474.
- Del Caro A., Vacca V., Poiana M., Fenu P., Piga A. 2006. Influence of technology, storage and exposure on components of extra virgin olive oil (Bosana cv) from whole and de-stoned fruits. *Food Chem.*, 98, 2: 311-316.
- Flaczyk E., Rudzińska M., Górecka D., Szczepaniak B., Klimczak S., Korczak J. 2004. Ocena wybranych wskaźników jakościowych przechowywanej oliwy „*extra virgin*”. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, 25: 213-224.
- Galeano D.T., Durán M.I., Sánchez C.J., Alexandre F.M.F. 2005. Characterization of virgin olive oils according to its triglycerides and sterols composition by chemometric methods. *Food Control.*, 16, 4: 339-347.
- García A., Brenes M., Romero C., García P., Garrido A. 2002. Study of phenolic compounds in virgin olive oils of the Picual variety. *Eur. Food Res. Technol.*, 215: 407-412.
- García A., Brenes M., García P., Romero C., Garrido A. 2003. Phenolic content of commercial olive oils. *Eur. Food Res. Technol.*, 216, 6: 520-525.
- IUPAC. 1987. Standard methods for analysis of oils, fats and derivatives blackwell scientific publications, seventh ed. IUPAC method 2.301 Report of IUPAC working group WG 2/87.
- Kalua C.M., Allen M.S., Bedgood D.R., Bishop A.G., Prenzler P.D., Robards K. 2007. Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. *Food Chem.*, 100, 1: 273-286.
- Luna G., Morales M.T., Aparicio R. 2006. Characterisation of 39 varietal virgin olive oils by their volatile compositions. *Food Chem.*, 98, 2: 243-252.
- Monti S.M., Ritieni A., Sacchi R., Skog K., Borgen E., Fogliano V. 2001. Characterization of phenolic compounds in virgin olive oil and their effect on the formation of carcinogenic/mutagenic heterocyclic amines in a model system. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 3969-3975.
- Owen R.W., Mier W., Giacosa A., Hull W.E., Spiegelhalter B., Bartsch H. 2000. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food and Chem. Toxicology*, 38: 247-659.
- Rivera del Álamo R.M., Fregapane G., Aranda F., Gómez-Alonso S., Salvador M.D. 2004. Sterol and alcohol composition of Cornicabra virgin olive oil: the campesterol content exceeds the upper limit of 4% established by EU regulations. *Food Chem.*, 84, 4: 533-537.
- Rudzińska M., Kuzuś T., Wąsowicz E. 2001. Sterole i ich utlenione pochodne w olejach roślinnych rafinowanych i tłoczonych na zimno. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, 22: 477-494.
- Yousfi K., Cert R.M., García J.M. 2006. Changes in quality and phenolic compounds of virgin olive oils during objectively described fruit maturation. *Eur. Food Res. Technol.*, 223, 1: 117-124.