

V. LAVELLI

Cinetica di variazione del potere antiossidante dell'olio extra vergine di oliva in fase di stoccaggio

PROGRESS IN NUTRITION
VOL. 9, N. 3, 204-209, 2007

TITLE

Degradation kinetic of the antioxidant activity of extra virgin olive oil during storage

KEY WORDS

Extra virgin olive oil, Taggiasca, storage, antioxidant activity, degradation kinetics

PAROLE CHIAVE

Olio extra vergine di oliva, Taggiasca, conservazione, attività antiossidante, cinetica di degradazione

DISTAM, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari e Microbiologiche, Università degli Studi di Milano, Milano

Indirizzo per la corrispondenza:
Dr.ssa Vera Lavelli
DISTAM, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari e Microbiologiche, Università degli Studi di Milano, via Celoria 2, 20133 Milano, Italy
E-mail: vera.lavelli@unimi.it

Riassunto

Sono state studiate le cinetiche di variazione degli antiossidanti, del potere antiossidante, dell'acidità, del numero di perossidi e degli indici spettrofotometrici nell'UV di oli extra vergine di oliva monovarietali (cv. Taggiasca) durante la conservazione (8 mesi) nell'intervallo di temperatura 25-40°C, in bottiglie chiuse, al buio. I risultati hanno mostrato che i secoiridoidi e l' α -tocoferolo si degradano seguendo una cinetica di pseudo-primo ordine, e il composto più instabile è l'aglicone della forma dialdedica della decarbossimetil oleuropeina. Il potere antiossidante, valutato in vitro come capacità di disattivare il radicale sintetico 2,2-difenil-1-picrildrazile, diminuisce seguendo una cinetica di pseudo-primo ordine. L'acidità, il numero di perossidi e gli indici spettrofotometrici nell'UV variano secondo una cinetica di pseudo-zero ordine e il K232 eccede per primo i limiti fissati per la categoria extra vergine. Le variazioni di questi indici qualitativi sono state rappresentate in un grafico tempo-temperatura, dal quale è possibile individuare le condizioni in cui la qualità del prodotto viene mantenuta.

Summary

The degradation kinetics of antioxidant activity, free acidity, peroxide value, and spectroscopic indices in the UV region of monovarietal extra virgin olive oils (cv. Taggiasca) were studied during 8 months of storage in closed bottles, in the dark, at 25-40°C. Results showed that the secoiridoids and α -tocopherol decreased following pseudo-first order kinetics, and the dialdehydic form of decarboxymethyl oleuropein aglycone was the most unstable. The antioxidant activity, as evaluated in vitro by using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical, decreased following a pseudo-first order kinetic. Free acidity, peroxide value, and the spectroscopic indices in the UV region increased following pseudo-zero order kinetics, and K232 was the first parameter that exceeded the upper established limit for extra virgin olive oil. A time-temperature plot was used to represent the behaviour of all quality indices during storage. This plot reveals the operating conditions in which the quality of product may be maintained.

Introduzione

Sono noti diversi fattori anti- e pro-ossidanti che condizionano la stabilità dell'olio extravergine di oliva (EVOO) in fase di conservazione (1, 2), tuttavia non è ancora stato chiarito come questi fattori interagiscano reciprocamente. Non è quindi stato definito un modello matematico di validità generale che permetta di prevedere le variazioni della qualità dell'olio in relazione alla sua composizione, in particolare la degradazione dei composti potenzialmente responsabili delle proprietà nutrizionali dell'EVOO (3). In un precedente studio è stata analizzata la degradazione del potere antiossidante di alcuni EVOO monovarietali in fase di conservazione e si è osservato che la varietà di olive Taggiasca può fornire EVOO con contenuti inizialmente buoni di antiossidanti, ma soggetti a relativamente rapida degradazione (4). La varietà di olive Taggiasca è la principale rappresentante degli oliveti storici della Liguria ed anche la principale varietà delle produzioni di EVOO a denominazioni geografiche di origine protette di questa regione. L'obiettivo della ricerca è stato quello di analizzare le variazioni dei principali indici della qualità antiossidante dell'EVOO della varietà Taggiasca in fase di stoccaggio, al fine di individuare i limiti entro cui la qualità del prodotto viene mantenuta.

Materiali e metodi

Oli. Gli EVOO estratti dalla cultivar Taggiasca sono stati ottenuti direttamente da una azienda agricola della Liguria e analizzati dopo pochi giorni dalla produzione. Due lotti indipendenti (A e B) con parametri di qualità risultati non statisticamente diversi, sono stati conservati in bottiglie scure a 25°C, 30°C e 40°C per un periodo di 240 giorni. Per ogni lotto ogni 30 giorni sono state prelevate dalle celle due bottiglie per la valutazione degli indici di qualità. Con questi dati sono state calcolate le cinetiche di degradazione. Per una verifica preliminare della validità delle relazioni cinetiche individuate, altri due lotti, C e D, sono stati conservati con le stesse modalità a 25°C e 40°C e analizzati a 100, 150 e 365 giorni dall'inizio della conservazione.

Indici di qualità. La determinazione dell'acidità, degli indici spettrofotometrici nell'UV, dei perossidi, della composizione acidica, dei composti fenolici, dell' α -tocoferolo e del potere antiossidante è stata condotta come descritto precedentemente (4). Il contenuto di acqua è stato determinato mediante un titolatore Karl-Fisher (Metrohn AG, Svizzera).

Analisi statistica. L'analisi statistica è stata condotta utilizzando Statgraphics 5.1 (STCC Inc. Rockville, MD).

Risultati

La composizione iniziale degli oli scelti per lo studio è mostrata nella tabella 1. La degradazione degli antiossidanti nell'intervallo 25-40°C

Tabella 1 - Caratterizzazione degli oli extra vergine di oliva ottenuti dalla varietà Taggiasca al momento della produzione^a

	Lotto A	Lotto B	Lotto C	Lotto D
C 18:1 (%)	71,5	71,0	71,0	71,3
C 18:2 (%)	9,7	9,7	10,0	9,9
C 18:3 (%)	0,79	0,79	0,78	0,75
H ₂ O (mg/kg)	980 ^b	970 ^b	800 ^a	1200 ^c
composti fenolici (μ mol/kg)	2220 ^b	2250 ^b	2150 ^b	1709 ^a
α -tocoferolo (μ mol/kg)	444 ^b	435 ^b	448 ^b	283 ^a
Trolox equiv. (μ mol/kg)	1150 ^b	1100 ^b	1160 ^b	970 ^a
Acidità (% acido oleico)	0,29 ^b	0,28 ^b	0,12 ^a	0,3 ^b
PV (mequiv O ₂ /kg)	5,2 ^b	5,5 ^c	4,0 ^a	5,6 ^c
k ₂₃₂	2,21 ^b	2,25 ^c	1,93 ^a	2,11 ^c

^aValori nella stessa riga contrassegnati da apici diversi sono significativamente diversi (LSD, $p < 0.05$).

ha seguito una cinetica di pseudo-primo ordine. Le costanti di velocità di degradazione k osservate a 40°C per i lotti A e B, il coefficiente di correlazione e le concentrazioni residue calcolate dopo 100, 150 e 365 giorni sono riportati nella tabella 2. Quest'ultima mostra anche i valori di concentrazione residua osservati per i lotti C e D. La sequenza di instabilità degli antiossidanti è risultata per i lotti A, B e C: composto III > composti IV, V > composti VI, VII, VIII > composto IX. Il lotto D ha manifestato velocità di degradazione maggiore per il composto IX. La maggior instabilità del composto III rispetto agli altri antiossidanti è in accordo con precedenti risultati della letteratura, condotti su EVOO ottenuti da altre varietà di olive (4-6). Al contrario, il coinvolgimento del composto IX nelle reazioni di degradazione del-

l'EVOO in fase di conservazione a 25-40°C è controverso: è risultato relativamente stabile in alcuni EVOO e meno stabile in altri che tuttavia contenevano contenuti di composti fenolici molto inferiori (4, 7). Un andamento opposto agli altri antiossidanti è manifestato dai fenoli semplici, che aumentano durante la conservazione, probabilmente a causa dell'idrolisi dei corrispondenti fenoli complessi, come già riportato (8). Si osserva che l'aumento dei composti I e II a 25°C è di poco inferiore rispetto alla diminuzione dei precursori secoiridoidi, mentre a 40°C è molto inferiore alla perdita dei fenoli complessi, suggerendo che la degradazione di questi ultimi non segue esclusivamente un meccanismo idrolitico (Fig. 1).

La perdita del potere antiossidante complessivo, studiata con il radicale sintetico 2,2-difenil-1-picrilidrazile

(DPPH), ha seguito una cinetica di pseudo primo ordine (Tab. 2). Questo radicale dell'azoto non ha alcuna analogia con le specie attive dell'ossigeno che si possono generare in vivo. Tuttavia in un precedente studio è stato osservato per estratti di EVOO la correlazione tra l'efficacia di inibizione di questo radicale sintetico e l'efficacia di inibizione dell'anione superossido e del perossido di idrogeno generati da uno dei principali catalizzatori del danno ossidativo in vivo, cioè l'enzima xantina ossidasi (9). In uno studio recente l'efficacia di inibizione del radicale DPPH di estratti dell'EVOO è stata confermata dall'efficacia di inibizione dei radicali perossilici coinvolti nella perossidazione delle LDL umane (10). In ogni caso, la correlazione tra la valutazione condotta in vitro in questo studio e l'effettiva efficacia degli antiossi-

Figura 1 - Variazione del contenuto di idrossitirosole (I, \blacklozenge in A e B), tirosolo (II, \blacksquare in C e D) e della somma dei derivati secoiridoidi dell'idrossitirosole (III + V, \blacktriangle in A e B) e del tirosolo (IV + VI, \bullet in C e D) durante la conservazione a 25°C (A e C) e a 40°C (B e D). Le curve tratteggiate rappresentano il contenuto calcolato di idrossitirosole che si formerebbe dalla degradazione dei precursori secoiridoidi per solo meccanismo idrolitico.

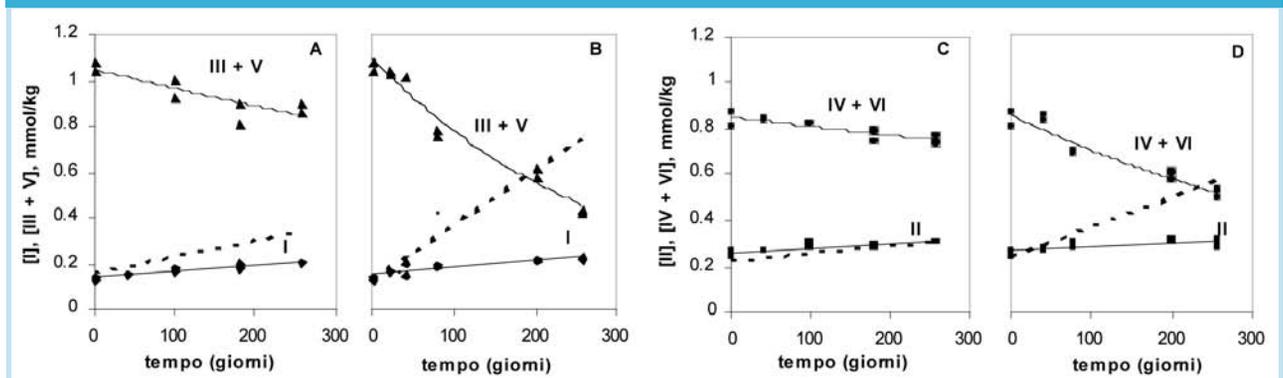


Tabella 2 - Costanti di velocità della degradazione degli indici della qualità antiossidante dell'EVOO a 40°C, calcolate per i lotti A e B utilizzando l'equazione cinetica di primo ordine, relativi coefficienti di correlazione, valori della variazione relativa degli indici dopo 100, 150 e 365 giorni calcolati in base alle equazioni definite e valori osservati per i lotti C e D^a

Indici di qualità	$k_{40^{\circ}\text{C}} * 10^3$ (giorni^{-1})	R	C/Co			
			giorni	calcd	Lotto C	Lotto D
III	-3,8±0,2	-0,95	100	0,68	0,70	0,70
			150	0,57	0,59	0,58
			365	0,25	0,28	0,27
IV	-2,6±0,2	-0,93	100	0,77	0,76	0,76
			150	0,68	0,67	0,67
			365	0,39	0,37	0,37
V	-2,5±0,1	-0,99	100	0,78	0,76	0,76
			150	0,69	0,66	0,67
			365	0,40	0,36	0,37
VI	-0,95±0,08	-0,97	100	0,91	0,94	0,90
			150	0,87	0,91	0,85
			365	0,72	0,80	0,67
VII+VIII	-1,3±0,1	-0,97	100	0,88	0,84	0,85
			150	0,82	0,76	0,79
			365	0,62	0,52	0,56
IX	-0,6±0,1	-0,88	100	0,94	0,94	0,85
			150	0,91	0,91	0,79
			365	0,80	0,80	0,56
Sommatoria antiossidanti	-1,4±0,01	-0,97	100	0,87	0,90	0,84
			150	0,81	0,85	0,77
			365	0,60	0,67	0,54
Trolox equiv	-3,1±0,3	-0,96	100	0,73	0,72	0,67
			365	0,63	0,61	0,55
			365	0,32	0,30	0,23

^aIII, IV: forme dialdeidiche dei decarbosimetil agliconi dell'oleuropeina e del ligstroside; V, VI: forme aldeidiche degli agliconi dell'oleuropeina e del ligstroside; VII, VIII: lignani 1-acetossipinoresinolo e pinoresinolo; IX: α -tocoferolo.

danti in vivo non è stata al momento dimostrata.

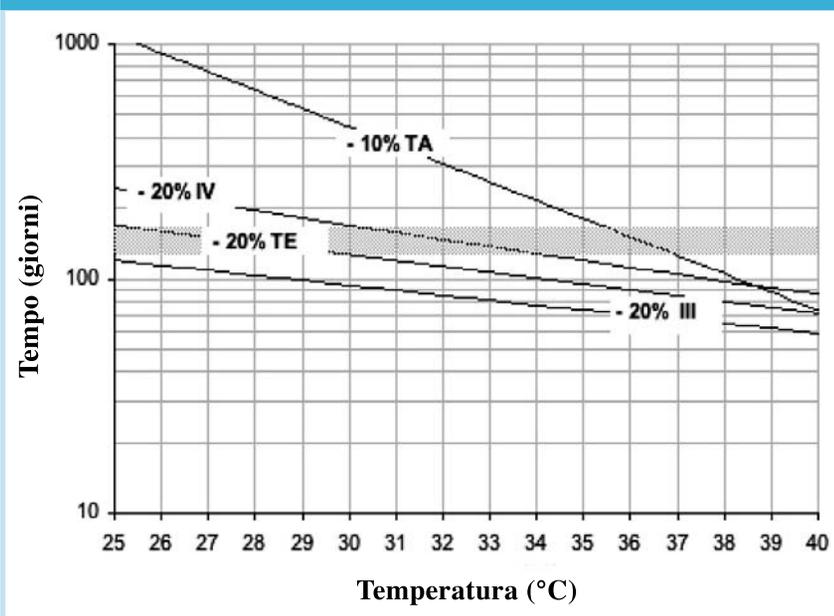
Gli indici di qualità definiti dalla legislazione comunitaria, in particolare acidità, numero di perossidi e K_{232} sono aumentati nel tempo di con-

servazione secondo una cinetica di pseudo-zero ordine e il K_{232} ha raggiunto per primo i limiti fissati per la categoria extra vergine: in 135-150 giorni, a seconda del lotto considerato, senza mostrare una chiara

relazione con la composizione iniziale dell'EVOO e con un modesto effetto della temperatura nell'intervallo 25-40°C.

Le costanti di velocità sono state analizzate mediante l'equazione di Arrhenius ed è stato costruito un grafico che descrive le variazioni qualitative dell'EVOO della varietà Taggiasca in funzione del tempo e della temperatura di stoccaggio (Fig. 2). L'area ombreggiata nella figura 2 indica le condizioni di raggiungimento del limite massimo di K_{232} (che non sono rappresentate da una singola curva perché i lotti hanno mostrato cinetiche leggermente diverse). Non esistendo valori limite per la qualità antiossidante dell'EVOO sono state definite, in modo arbitrario, come valore limite la perdita del 20% degli antiossidanti più instabili e del potere antiossidante e la perdita del 10% della somma degli antiossidanti. Le curve tracciate nella figura 2 rappresentano condizioni di tempo e temperatura equivalenti in termini di diminuzione percentuale di questi indici. Si osserva che questi indici esprimono in modo molto diverso le variazioni di qualità dell'EVOO. Nell'area sottostante la curva che rappresenta la perdita del 20% del composto III, risultato il più instabile, il K_{232} è inferiore a 2.5 e la somma degli antiossidanti risulta superiore al 90% (le degradazioni degli antiossidanti sono prevalentemente di tipo idrolitico). Si può assumere che la perdita

Figura 2 - Grafico di ottimizzazione delle condizioni di conservazione dell'EVOO della varietà Taggiasca. Le curve rappresentano condizioni equivalenti di tempo-temperatura che causano la riduzione del 10% degli antiossidanti totali (TA), del 20% del potere antiossidante (TE) e del 20% delle forme dialdeidiche degli agliconi del decarbossimetil ligstroside (IV) e dell'oleuropeina (III). L'area ombreggiata rappresenta le condizioni di raggiungimento del limite massimo del parametro K_{232} .



di qualità sia stata minima, anche se la biodisponibilità degli antiossidanti è variata perché i fenoli complessi si sono trasformati in fenoli semplici. Al contrario, l'area al di sopra rappresenta le condizioni in cui qualità dell'EVOO è stata danneggiata: è necessario in questo ambito prendere in considerazione sia la perdita degli antiossidanti che la formazione di composti ossidati nel prodotto, che può avere conseguenze negative per la salute del consumatore. Sarebbe utile, per quest'ultimo aspetto, conoscere la cinetica

di variazione di un indice dello stato di ossidazione dell'EVOO più completo rispetto al K_{232} .

La figura 2 conduce a formulare le seguenti conclusioni dello studio:

- la degradazione del composto III è un indice sensibile della degradazione degli EVOO, sia di tipo esclusivamente idrolitico che non. Le variazioni degli altri antiossidanti e del potere antiossidante valutato in vitro stimano in misura inferiore la stessa degradazione;
- gli EVOO considerati in questo studio possono essere definiti di

qualità solo in un tempo molto breve di conservazione. A tutela della biodiversità e delle tradizioni legate alla produzione di questo prodotto sarebbe auspicabile individuare e inibire i fattori che ne causano la degradazione, o accettarne i limiti prevedendo un tempo di conservabilità più breve rispetto a quello definito per gli EVOO più stabili.

Bibliografia

1. Frega N, Mozzon M, Lercker G. Effects of free fatty acids on oxidative stability of vegetable oil. *J Am Oil Chem Soc* 1999; 76: 325-9.
2. Lercker G, Frega N, Bocci F, et al. Veiled extra virgin olive oils: dispersion response related to oil quality. *J Am Oil Chem Soc* 1994; 71: 657-8.
3. Servili M, Selvaggini R, Esposito S, et al. Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *J Chromatogr A* 2004; 1054: 113-27.
4. Lavelli V, Fregapan G, Salvador MD. Effect of storage on secoiridoid and tocopherol content and antioxidant activity of monovarietal extra virgin olive oil. *J Agric Food Chem* 2006; 54: 3002-7.
5. Okogeri O, Tasioula-Margari M. Changes occurring in the phenolic compounds and α -tocopherol of virgin olive oil during storage. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 1077-80.
6. Hrnčirik K, Fritsche S. Relation between the endogenous antioxidant system and the quality of extra virgin olive oil under accelerated storage conditions. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 2103-10.

7. Rastrelli L, Passi S, Ippolito F, et al. Rate of degradation of α -tocopherol, squalene, phenolics, and polyunsaturated fatty acids in olive oil during different storage conditions. *J Agric Food Chem* 2002, 50: 5566-70.
8. Cinquanta L, Esti M, La Notte E. Evolution of phenolic compounds in virgin olive oil during storage. *JAACS* 1997; 74: 1259-64.
9. Lavelli V. Comparison of the antioxidant activities of extra virgin olive oils. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 7704-8.
10. Romani A, Lapucci C, Cantini C, et al. Evolution of minor polar compounds and antioxidant capacity during storage of bottled extra virgin olive oil. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 1315-20.