

28 份国产特级初榨橄榄油中多酚含量及其变化规律

王蝴蝶^{1,2}, 刘玉红³, 李建科³, 黄新异^{1,2}, 邸多隆^{1,2}

(1. 甘肃中医药大学药学院, 兰州 730000; 2. 中国科学院兰州化学物理研究所, 中科院西北特色植物资源化学重点实验室, 甘肃省天然药物重点实验室, 兰州 730000; 3. 陇南市祥宇油橄榄开发有限责任公司, 甘肃 陇南 742500)

摘要: 为了对我国油橄榄产业提供基础数据支持, 采用国际油橄榄理事会推荐的 HPLC 法检测特级初榨橄榄油中的多酚含量, 分析了我国不同产地的 28 份市售食用特级初榨橄榄油样品的多酚含量, 并对不同生产年度和不同产地单果级特级初榨橄榄油中多酚含量变化规律进行了分析。结果表明: 市售国产特级初榨橄榄油中均含有较为丰富的多酚类化合物, 多酚含量范围为 $(63.885 \pm 2.345) \text{ mg/kg} \sim (307.325 \pm 6.865) \text{ mg/kg}$; 特级初榨橄榄油中多酚含量受贮存时间的影响较大, 同时不同产地中适合生产高多酚含量特级初榨橄榄油的品种具有差异。不同特级初榨橄榄油样品之间多酚含量波动较大, 需要通过多种方法来防止油脂中多酚类化合物的降解, 以保证油品的质量, 并因地制宜对油橄榄品种进行优化筛选。

关键词: 特级初榨橄榄油; 多酚类化合物; 多酚含量; 产地; 贮存时间

中图分类号: TQ646.4; TS225.1 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2022)12-0102-05

Polyphenol content in 28 domestic extra virgin olive oils and its variation law

WANG Hudie^{1, 2}, LIU Yuhong³, LI Jianke³, HUANG Xinyi^{1, 2}, DI Duolong^{1, 2}

(1. School of Pharmacy, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Key Laboratory of Natural Medicine of Gansu Province, CAS Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China; 3. Longnan Xiangyu Olive Development Limited Liability Company, Longnan 742500, Gansu, China)

Abstract: In order to provide basic data support for Chinese olive industry, 28 commercial edible extra virgin olive oils produced in different origins of China was analyzed by the HPLC method recommended by the International Olive Council for the detection of polyphenol content in extra virgin olive oil. The variation law of polyphenol content in single - fruit grade extra virgin olive oil with different production years and different origins were analyzed. The result showed that the commercial extra virgin olive oils produced in China were rich in polyphenolic compounds, and the polyphenol content ranged from $(63.885 \pm 2.345) \text{ mg/kg}$ to $(307.325 \pm 6.865) \text{ mg/kg}$. Moreover, the polyphenol content in extra virgin olive oil was greatly affected by the storage time. At the same time, the optimal varieties for the production of extra virgin olive oil with high polyphenol content were also different in various origins. The polyphenol content in different extra virgin olive oil samples fluctuated greatly. Various methods are needed to prevent the degradation of polyphenolic compound in the oil and ensure the quality of the oil, and olive varieties should be optimized and screened according to local conditions.

Key words: extra virgin olive oil; polyphenolic compound; polyphenol content; origin; storage time

收稿日期: 2022-04-14; 修回日期: 2022-08-20

基金项目: 国家重点研发计划课题 (2019YFD1002403); 甘肃省重大专项 (21ZD4NK045); 甘肃省重点研发计划 (20YF3FA022)

作者简介: 王蝴蝶 (1996), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药物质基础及质量控制 (E-mail) WangHDie@163.com。

通信作者: 邸多隆, 教授 (E-mail) didl@licp.cas.cn; 黄新异, 研究员 (E-mail) huangxy@licp.cas.cn。

油橄榄 (*Olea europaea* L.) 为木犀科木犀榄属植物, 是世界四大木本油料作物之一。油橄榄原产于地中海一带, 我国于 20 世纪 60 年代正式引种油

橄榄,目前在甘肃、云南、四川等地得到广泛种植。特级初榨橄榄油是从油橄榄的新鲜果实直接冷榨得到的,由于其未经加热和化学处理,因此保留了丰富的营养物质,富含多酚、植物甾醇、黄酮、维生素等多种活性成分^[1],具有极高的食用和保健价值^[2],是当今市场受消费者青睐的食用油之一,享有“液体黄金”“植物油皇后”等美誉。

多酚类化合物是指具有苯环并结合多个羟基的一类物质的总称,包括酚酸类、木脂素、单宁、黄酮等^[3],具有抗炎、抗氧化、抗糖尿病、抗癌、美容等多种作用^[4-5],是特级初榨橄榄油中的主要活性成分之一^[6-7]。特级初榨橄榄油中多酚类化合物主要有橄榄苦苷、羟基酪醇、酪醇、木犀草素、芹菜素等,这些丰富的多酚类化合物赋予了特级初榨橄榄油独特的风味和口感,并在特级初榨橄榄油的多种生理活性中起到重要作用^[8-9]。目前,针对我国特级初榨橄榄油中多酚的分析较少,且主要针对甘肃陇南主产区^[10]。但是由于气候、种植条件等的差异,我国不同产区初榨橄榄油中多酚含量不一,因此有必要对不同产区的市售特级初榨橄榄油中多酚含量进行考察,对不同产区特级初榨橄榄油中多酚含量的差异进行对比和分析。

本文以目前我国橄榄油主要产区的食用特级初榨橄榄油为研究对象,采用国际油橄榄理事会(International Olive Council, IOC)推荐的检测橄榄油中多酚含量的 HPLC 法(COL/T. 20/Doc. No 29/Rev. 1 2017),系统测定了不同产地、品种的市售国产特级初榨橄榄油中多酚含量,并对不同产地、不同品种、不同生产年度国产特级初榨橄榄油中多酚含量的变化规律进行了分析,以期为我国橄榄油产业发展提供数据支持。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

特级初榨橄榄油,市售,均采用冷榨工艺获得,于阴凉避光处密封保存。

酪醇(tyr,纯度>98%)、丁香酸(syr,纯度>97%),上海金穗生物科技有限公司;磷酸,分析纯,四川西陇化工有限公司;甲醇、乙腈均为色谱级,北京迈瑞达科技有限公司;纯净水,杭州娃哈哈有限公司。

1.1.2 仪器与设备

LC-20AT 高效液相色谱仪(Prominence 紫外检测器, SIL-20AT 自动进样器, LCsolution 色谱工作站),日本岛津公司; Scilogex MX-F 固定式旋涡

混匀仪,美国赛洛捷克公司; KQ-250DB 超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司; H1650 台式高速离心机,湘仪离心机仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 HPLC 条件

Spherisorb ODS-2 型 C18 反相色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 检测波长 280 nm; 柱温 25 °C; 流速 1.0 mL/min; 进样量 20 μL; 流动相 A 为 0.2% H₃PO₄ 溶液, B 为甲醇-乙腈溶液(体积比 1:1); 梯度洗脱程序为 0~40 min 96%~50% A, 40~45 min 50%~40% A, 45~60 min 40%~0% A, 60~70 min 0% A, 70~72 min 0%~96% A, 72~82 min 96% A。

1.2.2 标准溶液的制备

准确称取 0.030 g 酪醇和 0.015 g 丁香酸,置于 10 mL 容量瓶中,用 80% 甲醇溶液溶解后定容。取 100 μL 溶液转移到 10 mL 容量瓶中,用 80% 甲醇溶液定容,即得酪醇质量浓度为 0.030 mg/mL,丁香酸质量浓度为 0.015 mg/mL 的外标溶液。

准确称取 0.015 g 丁香酸于 10 mL 容量瓶中,用 80% 甲醇溶液溶解后定容。然后精密量取 1 mL 丁香酸溶液于 100 mL 容量瓶中,用 80% 甲醇溶液定容,即得丁香酸质量浓度为 0.015 mg/mL 的内标溶液。

将配制好的外标和内标溶液放置在 4 °C 冰箱中保存,使用前取出并放置到室温后使用。

1.2.3 特级初榨橄榄油中多酚类化合物的提取

精确称量 2 g 特级初榨橄榄油于 10 mL 带盖试管中,加入 1 mL 内标溶液,振摇 30 s,加入 5 mL 80% 甲醇溶液,在室温下涡旋 1 min,然后超声提取 15 min,再在 5 000 r/min 下离心 25 min,取上清液,即得多酚类化合物提取液。每个样品平行制备 2 份。

1.2.4 特级初榨橄榄油中多酚含量的测定

取 1.2.2 配制的外标溶液,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后按 1.2.1 HPLC 条件进样分析,记录色谱图。分别根据公式(1)和(2)计算 1 μg 丁香酸的响应因子(F_s)和 1 μg 酪醇的响应因子(F_t)。然后计算丁香酸与酪醇的响应因子之比($F_{s/t}$)。 $F_{s/t}$ 应该是恒定的,且在 5.1 ± 0.4 范围内。

$$F_s = A_s/m_s \quad (1)$$

$$F_t = A_t/m_t \quad (2)$$

式中: A_s 、 A_t 分别为丁香酸和酪醇的峰面积; m_s 和 m_t 分别为丁香酸和酪醇的质量,μg。

将 1.2.3 提取的多酚类化合物提取液,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后按 1.2.1 HPLC 条件进样分析。

参考 IOC 方法中特级初榨橄榄油多酚 HPLC 检测的标准谱图,根据内标丁香酸保留时间及各色谱峰与内标之间的相对保留时间,确定多酚类化合物色谱峰,并计算其峰面积之和,然后根据公式(3)计算所测样品中多酚含量(c)。

$$c = \sum A \times 1\,000 \times F_{s/t} \times W_s / (A_s \times W_o) \quad (3)$$

式中: $\sum A$ 为多酚类化合物色谱峰的峰面积总和; A_s 为丁香酸内标的色谱峰面积; W_s 为加入到样品

中的 1 mL 溶液中用作内标的丁香酸的质量,mg; W_o 为特级初榨橄榄油的质量,g。

2 结果与讨论

2.1 特级初榨橄榄油中多酚含量

共收集了不同产地、品种和生产年度的市售国产特级初榨橄榄油样品 28 份,其中甘肃陇南 22 份、云南丽江 5 份、湖北十堰 1 份,测定其多酚含量,结果见表 1。

表 1 不同市售国产特级初榨橄榄油中多酚含量($n=2$)

样品编号	产地	采摘年度	生产年度	分类	品种	多酚含量/(mg/kg)	RSD/%
EVOO-1	甘肃陇南	2018	2019	混合级	-	160.455 ± 0.225	0.140
EVOO-2	甘肃陇南	2018	2019	混合级	-	163.980 ± 0.710	0.433
EVOO-3	甘肃陇南	2018	2019	混合级	-	165.195 ± 0.145	0.088
EVOO-4	甘肃陇南	2018	2019	混合级	-	148.215 ± 0.975	0.658
EVOO-5	云南丽江	2019	2020	混合级	-	250.595 ± 0.275	0.110
EVOO-6	甘肃陇南	2019	2020	混合级	-	63.885 ± 2.345	3.671
EVOO-7	甘肃陇南	2019	2020	混合级	-	104.825 ± 1.345	1.283
EVOO-8	湖北十堰	2019	2020	混合级	-	138.675 ± 0.435	0.314
EVOO-9	云南丽江	2019	2020	单果级	柯基	195.870 ± 0.350	0.179
EVOO-10	甘肃陇南	2019	2020	单果级	莱星	90.590 ± 1.480	1.634
EVOO-11	甘肃陇南	2019	2020	单果级	柯基	125.780 ± 0.170	0.135
EVOO-12	甘肃陇南	2019	2020	单果级	科拉蒂	104.340 ± 0.970	0.930
EVOO-13	甘肃陇南	2019	2020	单果级	皮削利	86.970 ± 1.050	1.207
EVOO-14	甘肃陇南	2019	2020	单果级	佛奥	115.880 ± 0.150	0.129
EVOO-15	甘肃陇南	2019	2020	单果级	莱星	130.445 ± 1.605	1.230
EVOO-16	甘肃陇南	2019	2020	单果级	鄂植 8 号	118.575 ± 1.265	1.067
EVOO-17	甘肃陇南	2019	2020	单果级	阿斯	143.870 ± 2.840	1.974
EVOO-18	甘肃陇南	2020	2021	混合级	-	101.215 ± 2.825	2.791
EVOO-19	甘肃陇南	2020	2021	混合级	-	132.090 ± 1.800	1.363
EVOO-20	甘肃陇南	2020	2021	混合级	-	236.145 ± 0.635	0.269
EVOO-21	云南丽江	2020	2021	单果级	莱星	103.325 ± 0.245	0.237
EVOO-22	云南丽江	2020	2021	单果级	佛奥	142.160 ± 1.170	0.823
EVOO-23	云南丽江	2020	2021	单果级	鄂植 8 号	114.515 ± 0.935	0.816
EVOO-24	甘肃陇南	2020	2021	单果级	莱星	207.175 ± 5.195	2.508
EVOO-25	甘肃陇南	2020	2021	单果级	鄂植 8 号	156.105 ± 0.345	0.221
EVOO-26	甘肃陇南	2020	2021	单果级	佛奥	154.775 ± 3.865	2.497
EVOO-27	甘肃陇南	2020	2021	单果级	科拉蒂	307.325 ± 6.865	2.234
EVOO-28	甘肃陇南	2020	2021	单果级	皮削利	229.325 ± 4.985	2.174

注:同一生产年度、同一品种的特级初榨橄榄油样品来自不同品牌

从表 1 可以看出,收集的 28 份市售国产特级初榨橄榄油样品中均含有丰富的多酚类化合物,多酚

含量范围为(63.885 ± 2.345) mg/kg ~ (307.325 ± 6.865) mg/kg,不同特级初榨橄榄油之间多酚含量

差异较大。这是由于橄榄油中多酚含量受多种因素的影响,如:随着油橄榄果实成熟度的增加,橄榄油中多酚含量总体呈现减少趋势^[11],因此为了提高特级初榨橄榄油中多酚含量,可以选择成熟早期的果实加工;特级初榨橄榄油中多酚含量受品种影响很大;种植的地理环境和气候条件也对其有很大影响^[12-13]。另外,在特级初榨橄榄油生产过程中多酚类化合物在果实中生物酚的作用下会发生氧化反应,并且多酚类化合物大多为水溶性化合物,因此不同的加工方式也对特级初榨橄榄油中多酚含量有很大影响。据报道,在油橄榄果破碎和混匀过程中,仅有50%~60%的多酚类化合物被保留;而在后续加工过程中,由于多酚类化合物在水中的分配系数大于油中的,因此仅有0.3%~1.5%的多酚类化合物被转移到特级初榨橄榄油中,其余均进入加工废水(>30%)和果渣中(<10%)^[14],因此减少加工过程中水的用量,可以显著提高特级初榨橄榄油中多酚含量^[15]。因此,同一产地不同品种、同一产地不同品牌、不同产地不同品种之间的特级初榨橄榄油中,多酚含量差异较大。但由于受样品限制,本研究未深入探索,后续还需进一步研究。

2.2 特级初榨橄榄油中多酚含量变化规律

市售特级初榨橄榄油中,混合级是在生产中将多个不同品种油橄榄鲜果混合压榨而成的,而单果级则主要是由同一品种的油橄榄鲜果压榨生产的。因此,在对橄榄油中多酚含量变化规律分析时,主要选择了各地单果级特级初榨橄榄油样品的数据进行分析。

图1为甘肃陇南2020年和2021年两个不同生产年度的科拉蒂(EVOO-12、EVOO-27)、皮削利(EVOO-13、EVOO-28)、佛奥(EVOO-14、EVOO-26)、莱星(EVOO-15、EVOO-24)和鄂植8号(EVOO-16、EVOO-25)5个不同品种的单果级特级初榨橄榄油中多酚含量。

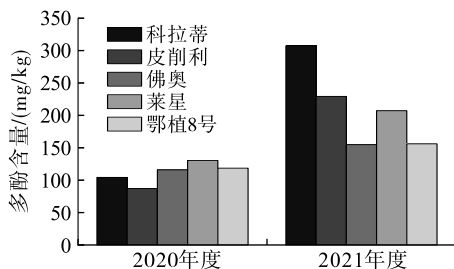


图1 甘肃陇南产不同生产年度单果级特级初榨橄榄油中多酚含量

从图1可以看出,不同生产年度的同一品种特级初榨橄榄油中多酚含量存在显著性差异。多酚含量随着贮存时间的延长而明显降低,并且5个品种

显示出同样的趋势。这可能是由于多酚类化合物是特级初榨橄榄油中的主要抗氧化物质之一,对增强特级初榨橄榄油的氧化稳定性有重要作用^[16]。在特级初榨橄榄油贮存过程中,多酚类化合物会逐渐氧化分解,因此多酚含量逐渐降低。同时,比较两个生产年度中不同品种的单果级特级初榨橄榄油,多酚含量显示出不同的趋势:在2020年度,特级初榨橄榄油中多酚含量从高到低依次为莱星>鄂植8号>佛奥>科拉蒂>皮削利;而在2021年度,多酚含量从高到低依次为科拉蒂>皮削利>莱星>鄂植8号>佛奥。这可能是由于鲜果成熟度的不同引起的。通常来说,油橄榄果中多酚含量随着成熟度增加而逐渐减少^[17],因此在成熟早期采摘加工的特级初榨橄榄油多酚含量较高,同时油脂口感较为苦涩,刺激感较强,而在果实成熟晚期采摘加工的特级初榨橄榄油多酚含量降低,同时油脂的口感较淡,刺激感较弱。

图2为同一生产年度云南丽江和甘肃陇南两地生产的柯基(EVOO-9、EVOO-11)、佛奥(EVOO-22、EVOO-26)、莱星(EVOO-21、EVOO-24)和鄂植8号(EVOO-23、EVOO-25)4个不同品种的特级初榨橄榄油中多酚含量,其中柯基是2020年度生产的,佛奥、莱星和鄂植8号是2021年度生产的。

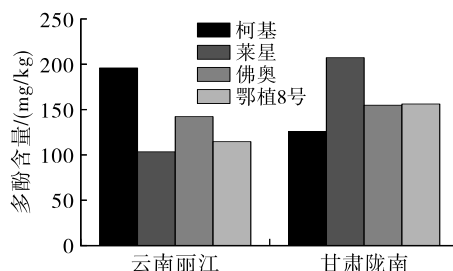


图2 不同产地同一生产年度单果级特级初榨橄榄油中多酚含量

从图2可以看出:同一产地不同品种的特级初榨橄榄油中,多酚含量具有一定差异,云南丽江所产的4个品种特级初榨橄榄油中,柯基多酚含量最高,为 (195.870 ± 0.350) mg/kg;甘肃陇南所产的4个品种特级初榨橄榄油中,莱星多酚含量最高,为 (207.175 ± 5.195) mg/kg。同时,两个产地所产4个品种的特级初榨橄榄油中,除柯基外,其他品种均是甘肃陇南的多酚含量高,但是云南丽江产混合级特级初榨橄榄油多酚含量较甘肃陇南高(见表1)。两个产地特级初榨橄榄油中多酚含量互有高低,说明在不同种植区域,由于气候条件、土壤环境等的差异,适合用于生产高多酚含量的特级初榨橄榄油的油橄榄品种是不同的,需要根据当地情况进行优选。

3 结 论

采用 IOC 推荐的测定橄榄油中多酚含量的方法,分析了我国不同产地的 28 份市售特级初榨橄榄油样品中多酚含量,结果发现市售国产特级初榨橄榄油中均含有较为丰富的多酚类化合物,但由于特级初榨橄榄油中多酚类化合物含量受品种、产地、贮存时间、果实成熟度、树龄、土壤、气候、栽培管理及生产技术等多种因素的影响,不同样品之间多酚含量波动较大。同时,通过对不同生产年度和不同产地单果级特级初榨橄榄油中多酚含量变化规律的分析发现,由于多酚类化合物性质不稳定,特级初榨橄榄油中多酚含量受贮存时间的影响较大,需要通过多种方法来防止油脂中多酚类化合物的降解,以保证油品的质量,而且不同产地中,适合生产高多酚含量特级初榨橄榄油的品种也具有差异,需要因地制宜进行优化筛选。

参考文献:

- [1] 于长青. 橄榄油的化学组成及对人体的营养价值[J]. 食品科技, 2000(2): 60-59.
- [2] 付利衡. 油橄榄特性分析及栽培技术探讨[J]. 农业与技术, 2020, 40(1): 65-66.
- [3] 向春蓉, 徐洲, 王寒冬, 等. 3 个引进油橄榄品种初榨油多酚类化合物含量及抗氧化活性研究[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(9): 94-98.
- [4] BERNARDINI E, VISIOLI F. High quality, good health: the case for olive oil [J/OL]. Eur J Lipid Sci Technol, 2016, 119(1): 1500505 [2022-04-14]. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500505>.
- [5] SARAPIS K, THOMAS C J, HOSKIN J, et al. The effect of high polyphenol extra virgin olive oil on blood pressure and arterial stiffness in healthy Australian adults: a randomized, controlled, cross-over study [J/OL]. Nutrients, 2020, 12(8): 2272 [2022-04-14]. <https://doi.org/10.3390/nu12082272>.
- [6] IGLESIAS-AGUIRRE C E, CORTES-MARTIN A, AVILA-GALVEZ M A, et al. Main drivers of (poly)phenol effects on human health: metabolite production and/or gut microbiota-associated metabolites? [J]. Food Funct, 2021, 12: 10324-10355.
- [7] KOUKA P, TEKOS F, PAPOUTSAKI Z, et al. Olive oil with high polyphenolic content induces both beneficial and harmful alterations on rat redox status depending on the tissue [J]. Toxicol Rep, 2020, 7: 421-432.
- [8] CARRASCO-PANCORBO A, CERRETANI L, BENDINI A, et al. Analytical determination of polyphenols in olive oils [J]. J Sep Sci, 2005, 28(9/10): 837-858.
- [9] DINI I, SECCIA S, SENATORE A, et al. Development and validation of an analytical method for total polyphenols quantification in extra virgin olive oils [J]. Food Anal Method, 2020, 13(2): 457-464.
- [10] 张东, 薛雅琳, 朱琳, 等. 我国陇南地区初榨橄榄油多酚类化合物组成研究 [J]. 中国油脂, 2016, 41(4): 37-40.
- [11] 吕孝飞, 马君义, 郭俊伟, 等. 成熟度指数对不同品种橄榄油脂脂肪酸、酚类化合物及风味属性的影响 [J]. 中国油脂, 2022, 47(1): 28-35.
- [12] GHISONI S, LUCINI L, ANGILLETTA F, et al. Discrimination of extra-virgin-olive oils from different cultivars and geographical origins by untargeted metabolomics [J]. Food Res Int, 2019, 121: 746-753.
- [13] 李雪, 张玉, 王君虹, 等. 初榨橄榄油中多酚化合物的 UPLC-FLD 检测及其抗氧化活性研究 [J]. 浙江农业学报, 2021, 33(5): 907-915.
- [14] KLEN T J, VODOPIVEC B M. The fate of olive fruit phenols during commercial olive oil processing: traditional press versus continuous two- and three-phase centrifuge [J]. LWT-Food Sci Technol, 2012, 49(2): 267-274.
- [15] RODIS P S, KARATHANOS V T, MANTZAVINO A. Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(3): 596-601.
- [16] BAYRAM B, ESATBEYOGLU T, SCHULZE N, et al. Comprehensive analysis of polyphenols in 55 extra virgin olive oils by HPLC-ECD and their correlation with antioxidant activities [J]. Plant Food Hum Nutr, 2012, 67(4): 326-336.
- [17] 邓俊琳, 李旭, 王寒冬, 等. 油橄榄鲜果中多酚化合物含量测定的 HPLC 法研究 [J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2017, 45(1): 185-189.