به زراعی کشاورزی
دوره ۱۹ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۶
صفحه‌های ۲۸۶-۲۷۳

اثر شاخص رسیدگی بر کیفیت میوه و روغن سه رقم زیتون منطقه‌ی رودبار

محمود قاسم‌نژاد[۱]، حسین میغانی[۲]*، و سمیه افتخاری[۳]

۱. دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۲. استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران
۳. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۵/۰۲/۰۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۳/۱۷

چکیده

به منظور بررسی اثر شاخص رسیدگی میوه بر خصوصیات کیفی روغن سه رقم زیتون 'زرد'، 'روغنی-محلی' و 'آربیکین' شهرستان رودبار استان گیلان، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۳ اجرا شد. میوه‌های هر رقم در شاخص‌های رسیدگی ۳/۵، چهار و پنج برداشت و پس از استخراج روغن، خصوصیات کیفی و بیوشیمیایی آن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان ماده خشک، ارزش پراکسید، اسیدیته آزاد، ضریب خاموشی در دو طول موج ۲۳۲ و ۲۷۰ نانومتر با افزایش شاخص رسیدگی میوه به‌طور معناداری افزایش یافت. درحالی‌که میزان فنل و فلاونوئید کل، رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن با افزایش رسیدگی میوه به‌طور معناداری کاهش یافت. همچنین، بین ارقام مختلف زیتون از لحاظ تمامی صفات مورد مطالعه تفاوت معناداری وجود داشت. در زیتون رقم 'روغنی-محلی' میزان فنل کل در شاخص‌های رسیدگی ۳/۵، چهار و پنج به ترتیب با میانگین ۹۴۱/۲۷، ۶۵۷/۷۴ و ۳۱۰/۳۲ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن بیش‌تر از سایر ارقام بود. اما، ارزش پراکسید به‌عنوان یک صفت نامطلوب در روغن زیتون نیز در رقم 'روغنی-محلی' بالاتر بود. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شاخص رسیدگی ۳/۵ و چهار بین ارقام زیتون متفاوت بود، ولی در شاخص رسیدگی پنج تفاوت معناداری مشاهده نشد. در مجموع، نتایج نشان داد که افزایش شاخص رسیدگی میوه با کاهش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و حساسیت روغن زیتون به فرآیند اکسیداسیون همراه است. بنابراین، روغن به‌دست آمده از میوه‌های با شاخص رسیدگی ۳/۵ پایداری و ماندگاری بیش‌تری دارند.

کلیدواژه‌ها: ارزش پراکسید، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، روغن زیتون، شاخص رسیدگی، فنل کل.

* نویسنده مسئول Email: hmeighani@ujiroft.ac.ir

۱. مقدمه

زیتون با نام علمی .*Olea europea* L متعلق به خانواده زیتون‌سانان[1] است که به‌صورت گیاهی همیشه‌سبز در نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری رشد می‌کند. میوه‌ی زیتون به خاطر دارا بودن خواص غذایی مفید، مصارف بهداشتی، دارویی و صنعتی از دیرباز همواره مورد توجه بشر قرار داشته است [۲۸]. مصرف روغن زیتون به دلیل بوی مطلوب، طعم دلپذیر، ارزش غذایی بالا و همچنین اثرات مفید آن بر سلامت مصرف کننده، در سراسر جهان رو به افزایش است. روغن زیتون با کاهش مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی -عروقی و ابتلا به بیماری‌هایی از جمله سرطان، آلزایمر و پارکینسون در بهبود کیفیت زندگی انسان نقش مهمی را ایفا می‌کند [۹ و ۲۹]. اثرات سودمند روغن زیتون به دلیل وجود اسیدهای چرب غیراشباع، توکوفرول‌ها، پلی‌فنول‌ها، استرول‌ها و رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید می‌باشد [۷ و ۹].

روغن زیتون به دلیل ویژگی‌های حسی و تغذیه‌ای، اصلی‌ترین ماده موجود در رژیم غذایی کشورهای مدیترانه‌ای است و به دلیل غنی بودن از پلی‌فنول‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در چند دهه اخیر افزایش معنی‌داری در مصرف جهانی آن به وجود آمده است [۲۸]. اصلی‌ترین اسید چرب موجود در روغن زیتون، اولئیک اسید است که ۵۵ تا ۸۳ درصد چربی کل را تشکیل می‌دهد. همچنین دارای مقدار ۳/۵ تا ۲۱ درصد لینولئیک اسید است [۷].

کیفیت روغن زیتون تحت تأثیر عوامل مختلف از جمله نوع رقم، شرایط جغرافیایی محل تولید، شرایط آب و هوایی، درجه رسیدگی، زمان برداشت و نحوه استخراج آن است [۱۰]. رقم یکی از مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر بر کیفیت روغن زیتون است که به‌دلیل عدم اطلاعات دقیق در مورد آن، مخلوط شدن روغن ارقام مختلف با یکدیگر و یا تأکید بر مکان تولید، غالباً نادیده گرفته می شود [۲۴]. در پژوهشی که بر روی ۵۶ رقم زیتون در کشور تونس انجام شد، ارقام 'زارازی'[2] و 'جداریا'[3] بیش‌ترین میزان اولئیک اسید و رقم 'زارازی' کمترین میزان توکوفرول و مقدار متوسط ترکیبات فنولی را در مقایسه با سایر ارقام دارا بود [۱۷]. نتایج فوق نشان می‌دهند که با وجود یکسان بودن شرایط اقلیمی، سیستم استخراج روغن و همچنین روش‌های مشابه برای اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی نمونه‌ها، تفاوت حاصله ناشی از تأثیر رقم می‌باشد.

با وجود تفاوت‌های میان ارقام و شرایط رشد، بخشی از تغییرات ویژگی های کیفی روغن زیتون ناشی از درجه رسیدگی و زمان برداشت آنها است [۲ و ۱۲]. زمان برداشت بر میزان روغن، کیفیت، ثبات و طعم آن تأثیر دارد [۱ و ۲۶]. تعیین دقیق زمان برداشت زیتون از منطقه‌ای به منطقه دیگر با توجه به شرایط اقلیمی، زراعی و باردهی متفاوت است [۱]. تجمع روغن میوه زیتون از انتهای زمان سخت شدن هسته شروع شده و تا زمان تغییر رنگ خارجی میوه‌ها در اکثر ارقام ادامه پیدا می‌کند [۲ و ۹]. چنانچه میوه زودتر از حد معمول برداشت شود، روغن کمتری به‌دست می‌آید و روغن حاصله نیز از ارزش کیفی کمتری برخوردار خواهد بود. درصورتی‌که دیرتر از حد معمول برداشت شود، مقدار اسیدیته روغن افزایش و ارزش کیفی آن کاهش می‌یابد [۱ و ۳]. تغییرات قابل ملاحظه‌ای در نسبت اسیدهای چرب آزاد روغن و ترکیبات بیوشیمیایی میوه زیتون با پیشرفت رسیدگی میوه رخ می‌دهد [۲۶]. با پیشرفت رسیدگی مقدار اسیدهای چرب اشباع [۷]، ویتامین E و ترکیبات فنلی [۲۸] و ارزش پراکسید [۲] کاهش می‌یابد، در حالی‌که میزان لینولئیک

1. Oleaceae

2. Zarrazi
3. Jeddaria

اسید [۷]، استئاریک اسید و اسیدیته آزاد [۲۹] افزایش و اولئیک اسید ثابت ماند و یا اندکی افزایش پیدا می‌کند [۷]. امروزه از شاخص‌های مختلفی از جمله تغییر رنگ میوه، نسبت مالیک اسید به سیتریک اسید، میزان مواد فرار و شاخص رسیدگی[1] برای تعیین زمان برداشت میوه زیتون استفاده می‌شود [۱۰، ۲۱ و ۲۸]. هدف از انجام پژوهش حاضر، مطالعه اثر شاخص رسیدگی و رقم بر ویژگی‌های کیفی و بیوشیمیایی روغن زیتون و یافتن زمان بهینه برداشت روی سه رقم زیتون 'زرد'، 'روغنی-محلی' و 'آربیکین'[2] می باشد که جزو مهم‌ترین ارقام کشت شده در منطقه علی آباد رودبار است.

۲. مواد و روش‌ها

میوه‌های سه رقم زیتون 'زرد'، 'روغنی-محلی' و 'آربیکین' از باغ مادری زیتون علی آباد، وابسته به ایستگاه تحقیقات زیتون رودبار (با مشخصات جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۸ دقیقه عرض شمالی و ۴۹ درجه و ۲۴ دقیقه طول شرقی و ۳۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا) تهیه شد. برای این منظور از هر رقم سه درخت (هر درخت به عنوان یک تکرار) که از نظر ارتفاع، سن، قطر تاج، شرایط تغذیه‌ای و میزان آبیاری یکسان بودند، انتخاب شد. میوه‌های هر رقم در سه شاخص بلوغ ۳/۵، چهار و پنج بر مبنای رنگ پوست و گوشت براساس روش ارائه شده توسط شورای بین‌المللی روغن زیتون با روش دست‌چین برداشت شد [۱۶]. میوه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و به روش سرد (به‌صورت مکانیکی) روغن‌گیری انجام شد. روغن‌های به دست آمده در شیشه‌های تیره رنگ در دمای چهار درجه سلسیوس تا زمان ارزیابی صفات نگهداری شد.

۱.۲. ارزیابی صفات

۱.۱.۲. درصد ماده خشک میوه

از هر تکرار ۱۰ عدد میوه به طور تصادفی از میان میوه‌های برداشت شده انتخاب و وزن شد. سپس میوه‌ها در دستگاه آون با دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس تا حصول وزن ثابت (۲۴ تا ۴۸ ساعت) خشک و مجدداً وزن شد. در نهایت درصد ماده خشک نمونه‌ها بر اساس رابطه ۱ محاسبه شد.

رابطه (۱)

ماده خشک (درصد) = (وزن تر/وزن خشک) ×۱۰۰

۲.۱.۲. اسیدیته آزاد و ارزش پراکسید

اسیدیته آزاد و ارزش پراکسید بر اساس روش ارائه شده در مقررات کمیسیون اتحادیه اروپا (EC Regulation 2568/91) به روش تیتراسیون به ترتیب با سود تیترازول ۰/۱ نرمال و تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال تعیین شد. در نهایت، اسیدیته آزاد بر حسب اولئیک اسید در ۱۰۰ گرم روغن و ارزش پراکسید بر حسب میلی اکی‌والان در ۱۰۰ گرم روغن زیتون بیان شد [۱۱].

۳.۱.۲. ضریب خاموشی (k) در دو طول موج ۲۳۲ و ۲۷۰ نانومتر

ضریب خاموشی (K) بر اساس روش ارائه شده در مقررات کمیسیون اتحادیه اروپا (EC Regulation 2568/91) در دو طول موج ۲۳۲ و ۲۷۰ نانومتر اندازه‌گیری و با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد [۱۱].

رابطه (۲)

ضریب خاموشی در طول موج مورد نظر = (وزن نمونه بر حسب میلی‌گرم/ میزان جذب) ×۱۰۲

۴.۱.۲. کلروفیل و کاروتنوئید کل

اندازه‌گیری کلرفیل و کاروتنوئید کل به روش

1. Ripening Index (RI)
2. Arbequina

اسپکتروفتومتری در طول موج ۴۷۰ و ۶۷۰ نانومتر انجام گرفت [۲۱]. در نهایت میزان کلروفیل و کاروتنوئید کل با استفاده از رابطه‌های ۳ و ۴ محاسبه و بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم روغن محاسبه شد.

رابطه (۳)

میزان کلروفیل کل = A670 × ۱۰۶/۶۱۳ × ۱۰۰ × d

رابطه (۴)

میزان کاروتنوئید کل = A470 × ۱۰۶/۲۰۰ × ۱۰۰ × d

A= میزان جذب نمونه؛ d= اندازه ضخامت سلول (در این پژوهش یک سانتی‌متر)

فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

اندازه‌گیری میزان فنل کل با استفاده از معرف فولین سیوکالچو[1] انجام گرفت [۲۷]. میزان جذب نمونه‌ها و استاندارد در طول موج ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. در نهایت، میزان فنل کل از روی میزان جذب نمونه و استاندارد بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر کیلوگرم روغن بیان شد. برای اندازه‌گیری فلاوونوئید کل از روش آلومینیوم کلراید استفاده شد [۲۲]. میزان جذب در طول موج ۵۰۶ نانومتر با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. در نهایت، میزان فلاونوئید کل بر حسب میلی‌گرم کاتچین بر کیلوگرم روغن بیان شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره از طریق خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH[2] تعیین گردید [۸]. میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت شد. این آزمایش برای هر نمونه سه بار تکرار شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت درصد بازدارندگی (DPPHsc%) بیان شد.

1 Folin- Ciocalteau
2 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

۲.۲. نوع طرح آزمایشی و تجزیه داده‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل با دو فاکتور رقم زیتون (زرد، روغنی محلی و آربکین) و شاخص بلوغ (۳/۵، چهار و پنج) درقالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه‌ی ۹/۱ و از آزمون توکی برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

۱.۳. ماده خشک

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر ساده رقم، شاخص رسیدگی و اثر متقابل رقم × شاخص رسیدگی بر میزان ماده خشک میوه زیتون در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۱). تغییرات میزان ماده خشک در ارقام زیتون مورد مطالعه مشابه بود و با پیشرفت درجه رسیدگی میوه افزایش یافت. در شاخص ۳/۵ تفاوت معناداری بین دو رقم 'زرد' و 'آربیکین' وجود نداشت. در حالی‌که در شاخص پنج میزان ماده خشک در رقم 'زرد' به‌طور معناداری بیش‌تر از رقم 'آربیکین' بود. افزایش میزان ماده خشک در شاخص رسیدگی پنج نسبت به شاخص ۳/۵ در ارقام 'زرد'، 'روغنی-محلی' و 'آربیکین' به‌ترتیب ۲۵، ۱۷ و شش درصد بود. به‌طورکلی، بیش‌ترین میزان ماده خشک با میانگین۶۳/۰۷ درصد از رقم 'روغنی-محلی' در شاخص رسیدگی پنج و کمترین آن از رقم 'زرد' با میانگین ۴۷/۵۵ درصد در شاخص رسیدگی ۳/۵ به‌دست آمد. در هر سه شاخص رسیدگی میزان ماده خشک رقم 'روغنی-محلی' بیش‌تر از سایر ارقام بود (جدول ۲).

درصد ماده خشک با افزایش درجه رسیدگی میوه افزایش یافت که در واقع بیانگر رشد میوه و تجمع روغن است. با افزایش بیوسنتز روغن طی مراحل رسیدگی، رطوبت میوه کاهش می‌یابد که افزایش میزان ماده خشک میوه را به همراه دارد [۲۰].

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر شاخص رسیدگی بر برخی صفات کمی و کیفی میوه و روغن سه رقم زیتون در زمان برداشت

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		ماده خشک	اسیدیته آزاد	ارزش پراکسید	K232	K270
رقم	۲	۱۶۶/۰۹**	۰/۰۰۵*	۵/۱۷**	۰/۵۲**	۰/۰۲۷**
شاخص رسیدگی	۲	۹۰/۳۶**	۰/۰۹**	۱۲/۲۸**	۲/۲۸**	۰/۲۷**
رقم×شاخص رسیدگی	۴	۴۴/۸۷**	۰/۰۰۴*	^{ns}۰/۰۹	۰/۱۴*	۰/۰۲**
خطا	۱۸	۲/۷۹	۰/۰۰۱	۰/۲۲	۲/۷۹	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (CV)	-	۳/۰۶	۱۰/۶۸	۱۰/۱۸	۱۳/۷۲	۱۷/۸۱

**، * و ns: به ترتیب اختلاف معنادار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم اختلاف معنادار.

جدول ۲. اثر متقابل رقم و شاخص رسیدگی بر برخی ویژگی‌های میوه و روغن زیتون در زمان برداشت

شاخص بلوغ	رقم	ماده خشک (%)	اسیدیته آزاد (mg Oleic acid/100 gr)	K232	K270	کلروفیل کل (mg/kg)	کاروتنوئید کل (mg/kg)
	روغنی محلی	۵۴/۰۹ cd	۰/۲۸ d	۱/۱۷ b	۰/۰۴ d	۳/۸۱ a	۱/۷۰ c
۳/۵	زرد	۴۷/۵۵ f	۰/۲۸ d	۰/۷۲ c	۰/۰۱ d	۲/۵۰ c	۲/۴۰ a
	آربیکین	۴۹/۰۱ f	۰/۲۲ d	۱/۲۷ b	۰/۰۶ d	۱/۵۲ d	۱/۲۷ d
	روغنی محلی	۵۹/۷۸ b	۰/۴۳ ab	۱/۹۵ a	۰/۳۱ b	۳/۰۵ b	۱/۲۰ d
۴	زرد	۵۵/۷۷ c	۰/۳۵ c	۱/۱۵ b	۰/۰۷ d	۱/۴۷ d	۲/۰۵ b
	آربیکین	۵۰/۱۴ ef	۰/۳۵ c	۱/۴۳ b	۰/۱۷ c	۱/۲۵ d	۱/۱۲ d
	روغنی محلی	۶۳/۰۷ a	۰/۵۵ a	۲/۲۰ a	۰/۴۵ a	۱/۱۱ d	۱/۰۷ d
۵	زرد	۵۹/۴۳ b	۰/۴۱ bc	۲/۰۱ a	۰/۴۲ a	۱/۲۰ d	۱/۱۱ d
	آربیکین	۵۲/۰۶ de	۰/۴۹ ab	۱/۹۶ a	۰/۲۸ b	۱/۱۰ d	۱/۰۸ d

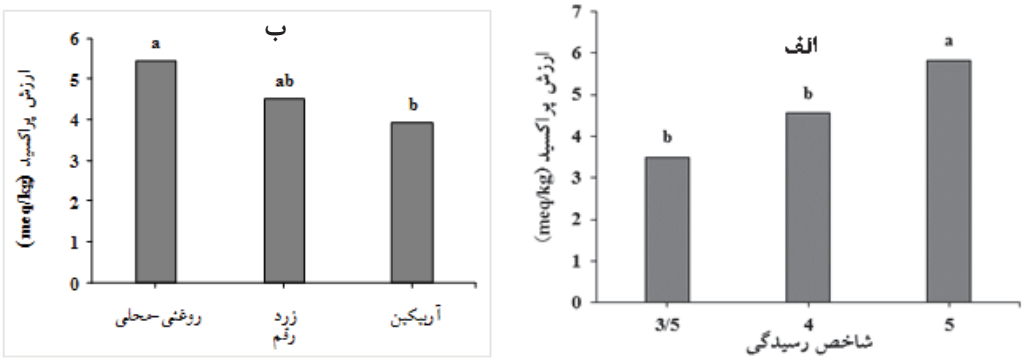
میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک در هر ستون اختلاف معناداری در سطح احتمال پنج درصد دارند.

رقم 'روغنی-محلی' بالاترین درصد ماده خشک را نشان داد که احتمالاً به دلیل سنتز بیش‌تر روغن و یا کاهش کمتر رطوبت میوه همگام با پیشرفت درجه رسیدگی می‌باشد. نتایج به‌دست آمده در این پژوهش با یافته‌های سایر محققان مبنی بر افزایش ماده خشک میوه همگام با پیشرفت رسیدگی میوه مطابقت دارد [۱ و ۲۰].

۲.۳. اسیدیته آزاد و ارزش پراکسید

اثر ساده رقم و اثر متقابل رقم × شاخص رسیدگی در سطح احتمال ۵ درصد و اثر ساده شاخص رسیدگی در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان اسیدیته آزاد معنادار شد. همچنین اثر ساده رقم و شاخص رسیدگی بر میزان ارزش پراکسید در سطح احتمال ۱ درصد معنادار شد در حالی‌که اثر متقابل رقم × شاخص رسیدگی بر ارزش پراکسید معناداری نبود

(جدول ۱). با پیشرفت شاخص رسیدگی میزان اسیدیته آزاد روغن زیتون به‌تدریج افزایش یافت. بالاترین مقدار اسیدیته آزاد از رقم 'روغنی-محلی' با میانگین ۰/۵۵ میلی‌گرم اولئیک اسید در ۱۰۰ گرم روغن در شاخص رسیدگی پنج به‌دست آمد. در شاخص رسیدگی ۳/۵ تفاوت معنی‌داری در میزان اسیدیته آزاد بین ارقام زیتون مورد مطالعه وجود نداشت (جدول ۲). میانگین ارزش پراکسید روغن در ارقام 'روغنی-محلی'، 'زرد' و 'آربیکین' به ترتیب ۵/۴۴، ۴/۵۰ و ۳/۹۴ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم بود. با افزایش شاخص رسیدگی ارزش پراکسید روغن زیتون افزایش یافت، به‌نحوی که در شاخص رسیدگی پنج با میانگین ۵/۸۳ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم به بالاترین مقدار خود رسید که از لحاظ آماری نیز تفاوت معناداری با سایر شاخص‌های رسیدگی نشان داد (شکل ۱).



شکل ۱. اثر شاخص رسیدگی میوه (الف) و رقم (ب) بر ارزش پراکسید روغن زیتون در زمان برداشت.

ارزش پراکسید، میزان پراکسیده شدن اسیدهای چرب روغن زیتون را نشان می‌دهد که حد مجاز آن در روغن زیتون طبیعی ۲۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم است [۱۰]. غالباً با پیشرفت رسیدگی میوه از میزان اولئیک اسید کاسته شده و بر میزان لینولئیک اسید افزوده می‌شود. با افزایش اسیدهای چرب غیراشباع با بیش از یک پیوند دوگانه مثل لینولئیک اسید و کاهش میزان ترکیبات فنلی، میزان حساسیت روغن به اکسیداسیون بیش‌تر می‌شود. یکی از عواملی که در اکسیداسیون روغن‌ها مؤثر است تعداد باندهای مضاعف اسیدهای چرب غیراشباع است. هرچه تعداد این باندها افزایش یابد، میزان اکسیداسیون روغن نیز افزایش می‌یابد [۱۰]. بنابراین، با پیشرفت رسیدگی پایداری روغن در مقابل اکسیداسیون کاهش می‌یابد که کاهش ترکیبات فنلی همگام با رسیدن میوه نیز در این زمینه مؤثر است. بالا بودن ارزش پراکسید در رقم 'روغنی-محلی' می‌تواند ناشی از میزان بالای اکسیداسیون اسیدهای چرب و فعالیت آنزیم لیپوکسی‌ژناز باشد. نتایج این پژوهش با یافته‌های به‌دست آمده در ارقام مختلف زیتون مطابقت دارد [۶، ۱۵ و ۲۹]. درحالی‌که در رقم 'چیتویی'[1] با پیشرفت رسیدگی ارزش پراکسید کاهش یافت که علت آن کاهش فعالیت آنزیم‌های لیپوکسی‌ژناز بیان شده است [۲۹].

بالا بودن اسیدیته آزاد در روغن به‌عنوان یک عامل کیفی نامطلوب به‌شمار می‌رود. میزان اسیدیته، شاخص طبقه‌بندی روغن می‌باشد و میزان مجاز آن در روغن

1 Chetoui

زیتون‌های طبیعی ممتاز ۰/۸ درصد اولئیک اسید است [۲۸]. در این پژوهش میزان اسیدیته آزاد در شاخص‌های رسیدگی و ارقام مورد مطالعه در محدوده ۰/۲۲ تا ۰/۵۵ درصد بود که در همه نمونه‌ها کمتر از حد بالای تعیین شده برای روغن‌های با کیفیت ممتاز می‌باشد که می‌تواند به دلیل استفاده از میوه‌های سالم و فرآوری در مقیاس کوچک و در نتیجه سرعت بالای فرآیند کردن باشد. افزایش اسیدیته آزاد با پیشرفت رسیدگی می‌تواند به‌واسطه افزایش فعالیت آنزیم‌های لیپولیتیک و هیدرولیز اسیدهای چرب باشد. سفتی بافت میوه معمولاً با پیشرفت رسیدگی کاهش می‌یابد و آن را مستعد عوامل بیماری‌زا و آسیب‌های مکانیکی می‌سازد که افزایش اسیدیته آزاد را به‌همراه دارد [۶]. نتایج این پژوهش با یافته‌های سایر محقیقین که گزارش کردند میزان اسیدیته آزاد در ارقام مختلف متفاوت است و با پیشرفت رسیدگی میوه افزایش می‌یابد، همخوانی دارد [۶، ۱۵، ۲۸ و ۲۹]

۳.۳. ضریب خاموشی در طول موج ۲۳۲ (k232) و ۲۷۰ (k270) نانومتر

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده رقم و شاخص رسیدگی در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل رقم × شاخص رسیدگی در سطح ۵ درصد بر میزان ضریب خاموشی در طول موج ۲۳۲ نانومتر معنادار است. همچنین اثر ساده رقم و شاخص رسیدگی و اثر متقابل رقم × شاخص رسیدگی بر میزان K270 از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۱). با پیشرفت رسیدگی میوه میزان k232 و k270 به‌تدریج افزایش یافت. بیش‌ترین میزان k232 با میانگین۲/۲ از رقم 'روغنی-محلی' در شاخص بلوغ پنج به‌دست آمد و کمترین میزان جذب با میانگین ۰/۷۲ مربوط به رقم 'زرد' بود که در شاخص۳/۵ حاصل شد. در شاخص رسیدگی پنج تفاوت معناداری بین ارقام زیتون مورد مطالعه وجود نداشت (جدول ۲). میزان جذب در طول موج ۲۷۰ نانومتر با این که در رقم 'آربیکین' اندکی بیش‌تر بود، ولی از لحاظ آماری تفاوت معناداری با سایر ارقام نداشت. همچنین میزان k270 در شاخص‌های رسیدگی ۳/۵، چهار و پنج به‌ترتیب ۰/۰۳، ۰/۱۸ و ۰/۳۹ بود که تفاوت بین آنها از نظر آماری معنادار بود (جدول ۲).

اندازه‌گیری جذب در طول موج خاص در محدوده فرابنفش برای به‌دست آوردن اطلاعاتی در مورد کیفیت روغن زیتون استفاده می‌شود [۶]. ضریب خاموشی در طول موج ۲۳۲ نانومتر به اکسیدآسیون اولیه روغن مربوط است و نشانه وجود اسیدهای چرب اشباع نشده چندگانه است [۲۹]. اما جذب اسپکتروفتومتری K270 نشانه وجود گروه‌های کربونیل (آلدئید و ستن) است که تولیدات ثانویه فرآیند اکسیدآسیون اسیدهای چرب غیراشباع هستند. غلظت این ترکیبات به میزان و فعالیت آنزیم‌های مسیر لیپوکسی‌ژناز وابسته است. این مسیر با تولید هیدروپراکسید از لینولئیک اسید و لینولنیک اسید به کمک آنزیم لیپوکسی‌ژناز آغاز می‌شود. سپس هیدروپراکسید تولید شده توسط آنزیم هیدروپراکسی‌لیپاز (HPL) تجزیه می‌شود و گروه‌های کربونیلی را تولید می‌کنند. گروه‌های کربونیلی محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب هستند که باعث بو و طعم نامطلوب در روغن می‌شوند [۲۳]. نتایج متفاوتی در مورد تغییرات جذب در دو طول موج ۲۳۲ و ۲۷۰ نانومتر گزارش شده است. در این پژوهش، با پیشرفت رسیدگی میزان جذب در طول موج ۲۳۲ و ۲۷۰ نانومتر در هر سه رقم 'روغنی-محلی'، 'زرد' و 'آربیکین' افزایش یافت در حالی‌که تغییر معنی‌داری طی دو فصل آزمایش در ارقام 'پیکوال'[1] و 'آربیکین' مشاهده نشد [۲۸]. اما، در رقم 'چیتویی'میزان جذب در طول موج ۲۷۰ نانومتر کاهش و در ۲۳۲ نانومتر تقریباً ثابت باقی ماند [۲۹].

1 Picual

۴.۳. کلروفیل و کاروتنوئید کل

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر ساده رقم و شاخص رسیدگی و اثر متقابل رقم × شاخص رسیدگی بر میزان رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید روغن زیتون در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۳). میزان کلروفیل و کاروتنوئید کل روغن زیتون با پیشرفت رسیدگی در ارقام مختلف به‌تدریج کاهش یافت. در رقم 'آربیکین' بین شاخص‌های مختلف رسیدگی و در شاخص رسیدگی پنج بین ارقام مختلف از لحاظ آماری تفاوت معناداری از نظر شاخص‌های فوق مشاهده نشد. میزان کلروفیل و کاروتنوئید کل در ارقام و مراحل مختلف رسیدگی به ترتیب حد فاصل ۳/۸۱ ۳/۸۱-۱/۱۰ و ۲/۴۰-۱/۰۷ میلی‌گرم در کیلوگرم متغیر بود. بیش‌ترین میزان کلروفیل و کاروتنوئید کل به‌ترتیب با میانگین ۳/۸۱ و ۲/۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از رقم 'روغنی-محلی' و 'زرد' در شاخص رسیدگی ۳/۵ به‌دست آمد. درحالی‌که کمترین میزان کلروفیل و کاروتنوئید کل به‌ترتیب با میانگین ۱/۱۰ و ۱/۰۸ میلی‌گرم در کیلوگرم مربوط به رقم 'آربیکین' در شاخص پنج بود (جدول ۲).

محتوای رنگدانه‌های روغن از پارامترهای کیفی مهمی است که به‌عنوان یک فاکتور حسی انتخاب مصرف کنندگان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. علاوه بر این، رنگدانه‌ها در مکانیسم اتواکسیداسیون (خوداکسایش) و فوتواکسیداسیون دخالت دارند [۲۹]. گرچه میزان رنگیزه کاروتنوئید در زیتون کم است، ولی به‌دلیل محلول بودن در چربی وجودشان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا همراه با کلروفیل رنگ روغن زیتون را موجب می‌شوند [۲۵]. تغییر رنگ زیتون طی فرآیند رسیدن نه تنها به کاهش غلظت رنگیزه‌ها بلکه به تشکیل سایر ترکیبات رنگی مانند آنتوسیانین‌ها مربوط می‌باشد [۶]. تفاوت در میزان رنگیزه‌های روغن در بین ارقام زیتون ممکن است ناشی از تفاوت مسیرهای بیوسنتزی و کاتابولیک یا ناشی از میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز باشد [۵ و ۱۴]. همانطور که نتایج این پژوهش نشان داد با پیشرفت رسیدگی زیتون میزان رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید کاهش یافت که با نتایج گزارش شده در سایر ارقام زیتون مطابقت دارد [۶، ۲۶ و ۲۹].

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر شاخص رسیدگی بر برخی صفات کیفی و بیوشیمیایی روغن سه رقم زیتون در زمان برداشت

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		کلروفیل کل	کاروتنوئید کل	فنل کل	فلاونوئید کل	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی
رقم	۲	۴/۳۸**	۱/۱۶**	۳۷۱۳۸۷/۱۷**	۰/۰۸**	۲۰۶۰/۸۱**
شاخص رسیدگی	۲	۴/۹۱**	۱/۱۳**	۴۱۱۱۱۳/۲۳**	۰/۱۷**	۷۷۶۳/۴۱**
رقم×شاخص رسیدگی	۴	۱/۲۴**	۰/۳۱**	۳۵۸۴۹/۵۱**	۰/۰۴**	۶۰۶/۲۳**
خطا	۱۸	۰/۰۹۶	۰/۰۱۵	۱۳۹۱/۰۷	۰/۰۰۱	۲۲/۱۷
ضریب تغییرات (درصد)	-	۱۶/۳۷	۸/۵۹	۸/۸۲	۳/۸۹	۹/۹۰

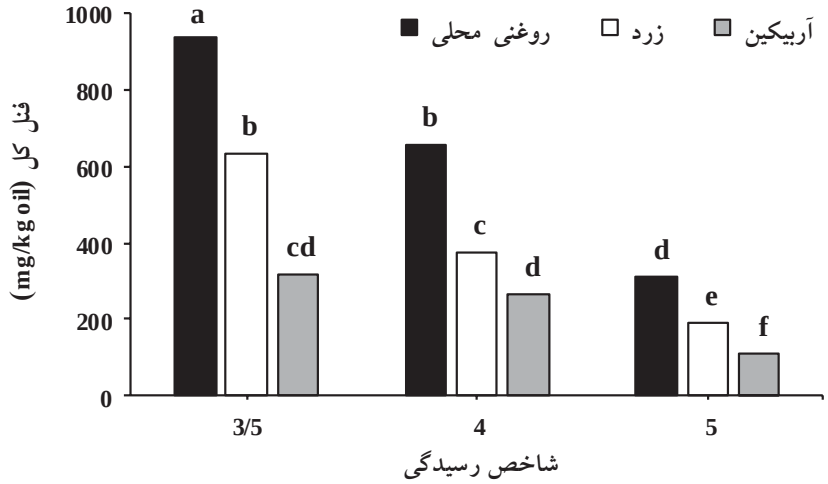
**: اختلاف معنادار در سطح احتمال ۱ درصد.

۵.۳. فنل و فلاونوئید کل

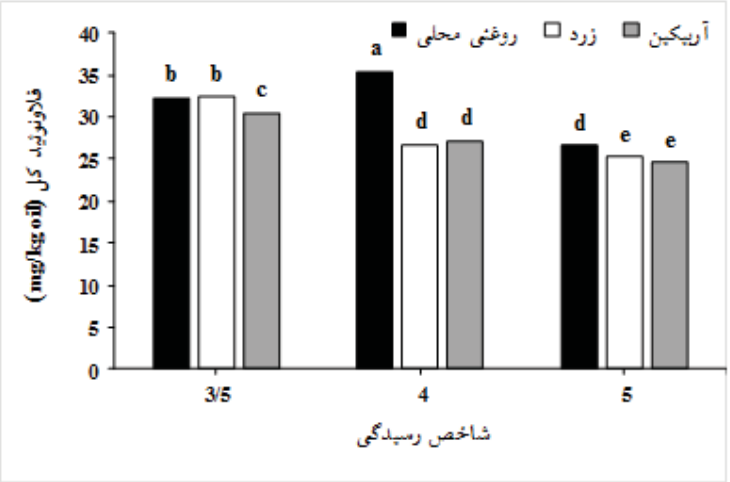
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده رقم و شاخص رسیدگی و اثر متقابل رقم × شاخص رسیدگی در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان فنل و فلاونوئید کل روغن زیتون معنادار است (جدول ۳). همانطور که در شکل دو نشان داده شده است میزان فنل کل در هر سه رقم مورد مطالعه با پیشرفت رسیدگی میوه از شاخص رسیدگی ۳/۵ به پنج به‌تدریج کاهش یافت. در هر سه شاخص رسیدگی، میزان فنل کل در رقم 'روغنی-محلی' به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از ارقام 'زرد' و 'آربیکین' بود.

میزان فنل کل در شاخص رسیدگی پنج نسبت به شاخص ۳/۵ در ارقام 'زرد'، 'روغنی-محلی' و 'آربیکین' به‌ترتیب ۷۰، ۶۷ و ۶۵ درصد کاهش یافت. در کل بیش‌ترین مقدار فنل کل با میانگین ۹۴۱/۲۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم از رقم 'روغنی-محلی' در شاخص رسیدگی ۳/۵ و کمترین میزان با میانگین ۱۱۰/۵۴ میلی‌گرم از رقم 'آربیکین' در شاخص رسیدگی پنج به‌دست آمد (شکل ۲).

میزان فلاونوئید کل در ارقام 'زرد' و 'آربیکین' با پیشرفت رسیدگی به‌تدریج کاهش یافت. اما، میزان کاروتنوئید کل رقم 'روغنی-محلی' در شاخص رسیدگی چهار با میانگین ۳۵/۳۸ میلی‌گرم به‌طور معناداری بیش‌تر از شاخص رسیدگی ۳/۵ بود و سپس در شاخص پنج کاهش چشم‌گیری نشان داد. از نظر میزان رنگیزه کاروتنوئید تفاوت معناداری بین ارقام 'زرد' و 'آربیکین' در شاخص‌های رسیدگی چهار و پنج مشاهده نشد. میزان کاروتنوئید کل ارقام 'روغنی-محلی'، 'زرد' و 'آربیکین' در شاخص رسیدگی پنج به‌ترتیب ۲۶/۶۱، ۲۵/۲۱ و ۲۴/۵۶ میلی‌گرم بود (شکل ۳).



شکل ۲. اثر رقم و شاخص رسیدگی برمیزان فنل کل روغن زیتون در زمان برداشت



شکل ۳. اثر رقم و شاخص رسیدگی برمیزان فلاونوئید کل روغن زیتون در زمان برداشت

میزان ترکیبات فنلی به‌عنوان مقیاسی جهت ارزیابی کیفیت روغن زیتون به کار می‌رود. فنل‌ها به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مهم، روغن را در برابر خوداکسایش درون سلولی در مقابل رادیکال‌های آزاد اکسیژن محافظت می‌کنند [۶]. همچنین، گزارش شده که مقاومت زیاد روغن زیتون به اکسیدآسیون ارتباط نزدیکی با میزان فنل کل آن دارد [۱۹]. بنابراین، ترکیبات فنلی نه تنها پایداری روغن زیتون را تحت تأثیر قرار می‌دهد، بلکه طعم و مزه به‌ویژه مزه تلخ روغن زیتون را موجب می‌شود [۲۹]. مهم‌ترین پلی‌فنول‌های موجود در زیتون و روغن زیتون شامل اولئوروپین، هیدروکسی تیروزول و کوئرستین می‌باشند [۱۹]. میزان ترکیبات فنلی به عوامل متعددی مانند رقم، شرایط آب و هوایی، محل تولید، شاخص رسیدگی و روش استخراج روغن بستگی دارد [۴].

میزان فنل کل در ارقام بررسی شده در این آزمایش در شاخص رسیدگی پنج از مقادیر گزارش شده در ارقام 'پیکوال' و 'هوجی‌بلانکا'[1] [۱۵] بیش‌تر و از ارقام 'کورنیکاربا'[2] [۲۶] و 'چیتویی' [۲۹] کمتر بود که می‌تواند مربوط به اختلاف ژنتیکی بین ارقام باشد. با توجه به این‌که ترکیبات فنلی باعث افزایش پایداری روغن زیتون در برابر اکسیداسیون می‌شوند، بنابراین رقم 'روغنی-محلی' به دلیل داشتن ترکیبات فنلی بیش‌تر در مقایسه با رقم 'زرد' و 'آربیکین' می‌تواند مدت طولانی‌تری کیفیت خود را حفظ کند. با پیشرفت رسیدگی میوه از شاخص ۳/۵ به پنج میزان ترکیبات فنلی کاهش یافت که با نتایج به‌دست آمده در سایر ارقام زیتون مطابقت دارد [۶، ۱۵ و ۲۹]. بر عکس در رقم 'کملالی'[3] با پیشرفت رسیدگی میوه میزان فنل کل افزایش یافت. تغییر میزان فنل‌ها طی فرآیند رسیدن به واکنش‌های شیمیایی و فعالیت آنزیم‌هایی مانند گلایکوزیدازها، پلی‌فنولازها و پراکسیدازها نسبت داده شده است [۲۸].

فلاونوئیدها همراه با سایر ترکیبات فنلی به‌دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و اثر بر ویژگی‌های حسی و عمر انباری روغن زیتون نقش مهمی در کیفیت آن دارند. روتین[4] و مشتقات لوتئولین[5] و اپی‌ژنین[6] مهم‌ترین

1 Hojiblanca
2 Cornicarba

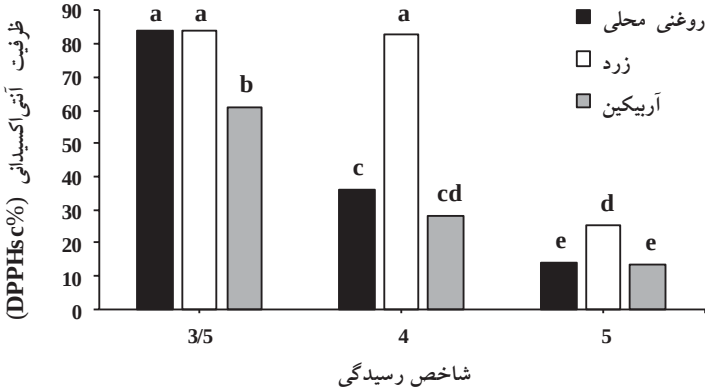
3 Chemlali
4 Rutin
5 Luteolin
6 Apigenin

فلاونوئیدهای موجود در روغن زیتون می‌باشند [۱۸]. در ارقام زیتون 'پیکوال' و 'آربیکین'، میزان فلاونوئیدهای لوتئولین و اپی‌ژنین با پیشرفت رسیدگی میوه به‌تدریج کاهش یافت [۲۸]. در این پژوهش نیز میزان فلاونوئید کل با پیشرفت شاخص رسیدگی در هر سه رقم مورد مطالعه کاهش یافت که با نتایج گزارش شده در سایر ارقام مطابقت دارد [۱۸ و ۲۸].

۶.۳. فعالیت آنتی‌اکسیدانی

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر ساده رقم و شاخص رسیدگی و اثر متقابل رقم × شاخص رسیدگی بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن زیتون در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۳). فعالیت آنتی‌اکسیدانی در هر سه رقم زیتون مورد مطالعه به‌طور معناداری با پیشرفت شاخص رسیدگی کاهش یافت. در شاخص ۳/۵ بین دو رقم 'روغنی-محلی' و 'زرد' تفاوت معناداری وجود نداشت. اما، در شاخص رسیدگی چهار میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در رقم 'روغنی-محلی' و 'آربیکین' به‌میزان قابل توجهی کاهش یافت. در حالی‌که تغییر معنی‌داری در رقم 'زرد' نسبت به شاخص ۳/۵ مشاهده نشد. در شاخص پنج روند کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز ادامه یافت و دررقم 'زرد' به‌طور معناداری بیش‌تر از سایر ارقام بود. در کل بیش‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با میانگین ۸۴/۱۲ از رقم 'زرد' در شاخص ۳/۵ و کمترین آن با میانگین ۱۳/۴۷ از رقم 'آربیکین' در شاخص پنج به‌دست آمد (شکل ۴).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن زیتون به میزان توکوفرول، پلی‌فنول‌ها و رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید مربوط است [۱۹]. در ارقام زیتون بررسی شده در این آزمایش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی طی فرآیند رسیدن کاهش یافت که با نتایج گزارش شده در سایر ارقام زیتون همخوانی دارد [۱۸]. گزارش‌های قبلی نشان دادند که همبستگی مثبت و معناداری بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان پلی‌فنول‌های موجود در روغن زیتون وجود دارد [۹ و ۱۸]. بنابراین، کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با پیشرفت رسیدگی میوه می‌تواند به‌دلیل کاهش میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و همچنین رنگیزه‌ها باشد که همگام با پیشرفت رسیدگی میوه اتفاق افتاد. از طرفی میزان آنتی‌اکسیدان‌های موجود در روغن زیتون به عوامل متعددی از جمله رقم، شرایط محیطی و روش استخراج بستگی دارد [۱۳].



شکل ۴. اثر رقم و شاخص رسیدگی برمیزان فعالیت آنتی اکسیدانی روغن زیتون در زمان برداشت

۴. نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، رقم و درجه رسیدگی میوه بر کیفیت روغن زیتون استحصالی بسیار مؤثر است. با افزایش درجه رسیدگی میوه، میزان رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید و پلی‌فنول‌ها کاهش یافت که با کاهش این ترکیبات میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی روغن زیتون نیز کاهش یافت. بر عکس، ارزش پراکسید و اسیدیته آزاد روغن با افزایش درجه رسیدگی میوه افزایش یافت که می‌تواند به دلیل کاهش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی باشد. افزایش ارزش پراکسید و اسیدیته آزاد به عنوان شاخصی نامطلوب در ارزیابی روغن زیتون محسوب می‌شود. بنابراین، اگر هدف تولید روغن زیتون با محتوی پلی‌فنول و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر و مقاومت بیش‌تر به اکسیدآسیون باشد، بهتر است زیتون در شاخص رسیدگی ۳/۵ برداشت شود. همچنین بین ارقام مختلف زیتون از لحاظ تمامی صفات مورد مطالعه تفاوت معناداری وجود داشت. میزان اسیدیته آزاد و ارزش پراکسید در رقم 'روغنی-محلی' با این که میزان فنل و فلاونوئید بالاتری داشت، از رقم 'زرد'و 'آربیکین' بیش‌تر بود که می‌تواند ناشی از میزان بالای اکسیداسیون اسیدهای چرب و فعالیت آنزیم لیپوکسی‌ژناز در این رقم باشد. در این پژوهش میزان ارزش پراکسید و رنگیزه‌ها در روغن ارقام مورد مطالعه زیتون در هر سه شاخص رسیدگی کمتر از حد مجاز برای تولید روغن ممتاز بود.

منابع

۱. محمدزاده ج و فخرالدین ف (۱۳۸۴) بررسی تعیین زمان برداشت سه رقم زیتون و تاثیر آن بر کمیت و کیفیت روغن استحصالی در منطقه گرگان. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی.۱۲(۳): ۵۰-۴۵.

۲. نجف آبادی ا و همتی خ (۱۳۸۸) بررسی تعیین زمان برداشت دو رقم زیتون و تاثیر آن بر کیفیت و کمیت روغن در منطقه گرگان. نشریه علوم باغبانی. ۲۴(۱): ۷۴-۷۰.

۳. هاشم‌پور ا، فتوحی قزوینی ر و بخشی د (۱۳۸۸) مقایسه کیفیت روغن زیتون ارقام ایرانی زرد، روغنی و ماری در شهرستان کازرون. مجموعه مقالات ششمین کنگره علوم باغبانی ایران. ۱۶۲۰-۱۶۱۷.

4. Aguilera MP, Beltran G, Ortega D, Fernandez A, Jimenez A and Uceda M (2005) Characterisation of virgin olive oil of Italian olive cultivars: 'Frantoio' and 'Leccino', grown in Andalusia. Food Chemistry. 89: 387–391.

5. Allalout A, Krichene D, Methenni K, Taamalli A, Oueslati I, Daoud D and Zarrouk M (2009) Characterization of virgin olive oil from super intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. Scientia Horticulturae. 120: 77–83.

6. Baccouri O, Guerfel M, Baccouri B, Cerretani L, Bendini A, Lercker G, Zarrouk M and Miled DDB (2008) Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. Food Chemistry. 109: 743–754.

7. Beltran G and Rio C (2004) Influence of harvest date and crop yield on the fatty acid Composition of virgin olive oils from Cv. Picual. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52: 3434-3440.

8. Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT Food Science and Technology. 28: 25–30.

9. Cioffi G, Pesca M and Caprariis P (2010) Phenolic compounds in olive oil and olive pomace from Cilento (Campania, Italy) and their antioxidant activity. Food Chemistry. 121: 105–111.

10. Dag A, Kerem Z and Yogev N (2011) Influence of time of harvest and maturity index on olive oil yield and quality. Scientia Horticulturae. 127: 358–366.

11. EC Regulation 2568 (1991) On the characteristics of olive oil and olive residue oil and on the relevant methods of analysis. Official Journal of the European Communities. 248: 6–34.

12. Escrich E, Moral R and Grau L (2007) Review molecular mechanisms of the effects of olive oil and other dietary lipids on cancer. Molecular Nutrition and Food Research. 51: 1279–1292.

13. Gimeno E, Castellote AI, Lamuela-Raventos RM, De La Torre MC and Lopez-Sabater MC (2002) The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, α-tocopherol, and β-carotene) in virgin olive oil. Food Chemistry. 78: 207–211.

14. González-Santiago M, Martín-Bautista E, Carrero JJ, Fonollá J, Baró L, Bartolomé MV, Gil-Loyzaga P and López-Huertas E (2006) One-month administration of hydroxytyrosol, a phenolic antioxidant present in olive oil, to hyperlipemic rabbits improves blood lipid profile, antioxidant status and reduces atherosclerosis development. Atherosclerosis 188, 35–42.

15. Gutierrez F, Jimenez B, Ruiz A and Albina MA (1999) Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties Picual and Hojiblanca and on the different components involved. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47: 121−127.

16. IOOC (1984) Document no 6. International Olive Oil Council, Madrid.

17. Issaoui M, Dabbou S, Echbili A, Rjiba I, Gazzah N, Trigui A and Hammami M (2007) Biochemical characterization of some Tunisian virgin olive oils obtained from different cultivars growing in Sfax national collection. Journal of food, Agriculture and Environment. 5: 17-21.

18. Machado M, Felizardo C, Fernandes-Silva AA, Nunes FM and Barros A (2013) Polyphenolic compounds, antioxidant activity and L-phenylalanine ammonia-lyase activity during ripening of olive cv. "Cobrançosa" under different irrigation regimes. Food Research International. 51: 412–421.

19. Martinez-Nieto L, Hodaifa G and Lozano-Pena JL (2010) Changes in phenolic compounds and Rancimat stability of olive oils from varieties of olives at different stages of ripeness. Journal of the Science of Food and Agriculture. 90: 2393–2398.

20. Mickelbart MV and James D (2003) Development of a dry matter maturity index for olive (Olea europaea). New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science. 31: 269-276.

21. Minguez-Mosquera MI, Rejano L, Gandul B, Sanchez AH and Garrido J (1991) Color-pigment correlation in virgin olive oil. Journal of the American Oil Chemists Society. 68: 332–336.

22. Park YS, Jung ST, Kang SG, Heo BG, Arancibia-Avila P, Toledo F, Drzewiecki J, Namiesnik J and Gorinstein S (2008) Antioxidants and proteins in ethylene-treated kiwifruits. Food Chemistry. 107: 640-648.

23. Ranalli A, Cabras P, Iannucci E and Content S

(2001) Lipochromes, vitamins, aromas and other compounds of virgin olive oil are affected by processing technology. Food chemistry.73: 445–451.

24. Rayan D, Robards K and Lavee SH (1999) Chang in phenolic content of olive during maturation. International Journal of Food Science and Technology. 34: 265-274.

25. Roca M and Mínguez-Mosquera MI (2003) Carotenoid levels during the period of growth and ripening in fruits of different olive varieties (Hojiblanca, Picual and Arbequina). Journal of Plant Physiology. 160: 451–459.

26. Salvador MD, Aranda F and Fregapane G (2001) Influence of fruit ripening on Cornicabra virgin olive oil quality. A study of four successive crop seasons. Food Chemistry. 73: 45–53.

27. Singleton VL, Orthofer R and Lamuela-Ranventos RM (1999) Analysis of total phenols other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. Methods Enzymology. 299: 152–178.

28. Yousfi K, Cert RM and Garcia JM (2006) Changes in quality and phenolic compounds of virgin olive oils during objectively described fruit maturation. European Food Research and Technology. 223: 117–124.

29. Youssef NB, Zarrouk W, Carrasco-Pancorbo A, Ouni Y, Segura-Carretero A, Fernandez-Gutierrez A, Daoud D and Zarrouk M (2010) Effect of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of chetoui virgin olive oil. Journal of the Science of Food and Agriculture. 90: 199–204.