

Ispitivanje fenolnih spojeva i senzorski profil dalmatinskih djevičanskih maslinovih ulja

Survey of phenolic compounds and sensorial profile of Dalmatian virgin olive oils

Mirela Žanetić, Dubravka Škevin, Elda Vitanović,
Maja Jukić Špika, S. Perica

SAŽETAK

Fenolni spojevi su prirodni antioksidansi prisutni u djevičanskom maslinovom ulju (DMU) koji utječu na konačnu procjenu kvalitete pojedinog maslinovog ulja. To su bioaktivni spojevi koji imaju izraženu antioksidacijsku aktivnost i značajno utječu na oksidacijsku stabilnost DMU, ali i na njegova senzorska svojstva. U ovom radu ispitivan je sastav fenola u djevičanskim maslinovim uljima iz odabralih autohtonih hrvatskih sorta s nekoliko lokacija na području srednje Dalmacije. Trogodišnja istraživanja provedena su na sortnim uljima dobivenim istovjetnim tehnološkim postupkom prerade. Provedeno je i senzorsko ocjenjivanje sortnih DMU kojima su definirana specifična obilježja okusa i arome koja se pripisuju isključivo sorti. U preliminarnim istraživanjima određeni su osnovni parametri kvalitete prema propisima za ekstra djevičansko maslinovo ulje, kao i ukupni udjel fenolnih tvari te sastav pojedinačnih fenola za pojedino sortno ulje. Kod nekih sorti su pojedine grupe fenolnih spojeva (sekoiridoidi, flavoni, lignani) pokazale veću antioksidacijsku aktivnost nego ukupni fenoli. Kod ulja drugih sorti, oksidacijska stabilnost ovisi upravo o udjelu ukupnih fenola. Kod svih ispitivanih uzoraka u ovom istraživanju vrlo je dobar udjel fenola i različitih sastava pojedinačnih fenolnih spojeva, ovisno o sorti. Senzorske karakteristike razlikuju se kod uzoraka ulja ovisno o ishodnoj sorti i imaju određena svojstva za svako pojedino sortno ulje.

Ključne riječi: djevičansko maslinovo ulje, fenoli, kvaliteta, sastav masnih kiselina, senzorsko ocjenjivanje

ABSTRACT

Phenolic compounds are natural antioxidants present in virgin olive oil (VOO) that influence the final assessment of the quality of certain olive oil. These are the bioactive compounds that have a pronounced antioxidant activity and significantly affect the

oxidative stability of the VOO, but also its sensorial properties. This paper examined the composition of phenolic compounds in VOO's from selected indigenous Croatian varieties from several locations in central Dalmatia. A three-year study was conducted on varietal oils obtained by identical chemical processing procedure. Sensory evaluation of monovarietal VOO's was also conducted and specific characteristics of taste and aroma due to the olive variety were defined. In preliminary research, the basic quality parameters were determined according to the regulations for the extra virgin olive oil, as well as the total phenol content and the composition of individual phenolic compounds for particular monovarietal oils. Some varieties showed that a particular group of phenols (secoiridoides, flavones, lignans) had higher antioxidant activity than total phenols. In oils from other olive varieties, oxidative stability depended on the proportion of total phenols. In all samples in this study very good total phenol content was detected as well as different composition of individual phenolic compounds, depending on the olive cultivar. Sensorial characteristics of the samples varied depending on the variety and had specific attributes for each monovarietal VOO.

Key words: virgin olive oil, fatty acid composition, phenols, quality, sensorial analyses

UVOD

Djevičansko maslinovo ulje je prirodno ulje iz ploda masline (*Olea Europea L.*), proizvedeno isključivo mehaničkim postupcima, bez kemijskog tretmana tijekom ili nakon procesa proizvodnje i u njemu bi trebali biti sačuvani svi izvorno prisutni sastojci zaslužni za njegova specifična kemijска, senzorska i prehrambena svojstva. Sortna (monovarijetalna) djevičanska maslinova ulja dobivaju se zasebnom preradom plodova samo jedne sorte maslina što, uz stroge propise za kvalitetu djevičanskih ulja ekstra kategorije, dodatno zahtijeva detaljno ispitivanje njihovih svojstava, uvezvi u obzir prisutnu bioraznolikost i očuvanje autohtonog sortimenta masline. Uz osnovne parametre kvalitete koji su propisani Pravilnikom o uljima od ploda i komine maslina, (NN, 07/09), udjel fenolnih spojeva predstavlja važan čimbenik prilikom procjene kvalitete DMU. Fenoli imaju izraženu antioksidacijsku aktivnost i značajno doprinose stabilnosti DMU i njegovo održivost (Servilli i sur., 2004). Fenolni spojevi u maslinovom ulju su jaki antioksidansi, posebno hidroksitrosol, jači antioksidans i hvatač radikala od oleuropeina i tirosola (Boskou, 2000). Osim zaštitne uloge kod pojedinih bolesti čovjeka (kao što su antitumorski, antioksidacijski i protupalni učinak), fenolni spojevi također utječu i na senzorska svojstva DMU budući da su pojedini fenoli odgovorni za svojstva gorčine, pikantnosti i oporosti (astringencije) (Angerosa i sur., 2000). Udjel i

sastav fenolnih spojeva u DMU uvjetovan je agronomskim, klimatsko-pedološkim i tehnološkim čimbenicima, kao što su sorta masline, klimatski uvjeti, stupanj zrelosti ploda i proizvodni proces (Cerretani i sur., 2005).

U ovom radu ispitivana su sortna ulja iz odabranih autohtonih sorti maslina s više lokacija na području srednje Dalmacije, proizvedena postupkom centrifugalne ekstrakcije u dvije faze. Spoznaje dobivene ovim istraživanjem doprinijet će boljem poznавању specifičnosti maslinovih ulja domaćih sorti i postaviti osnove za njihovu karakterizaciju i evaluaciju temeljene na parametrima kvalitete, fenolnom sastavu i senzorskim svojstvima.

MATERIJAL I METODE

Plodovi maslina naših autohtonih sorti sa različitim lokacijama na području srednje Dalmacije, ubirani su u optimalnoj zrelosti (1/3 ploda tamno obojana) tijekom listopada i početkom studenog za tri uzastopne godine uzgoja (2005/06, 2006/07 i 2007/08) i prerađeni u ulje najkasnije dva dana nakon berbe. Budući da tehnološki postupak utječe na bioaktivne sastojke u maslinovom ulju, sva ulja uključena u ovo istraživanje proizvedena su postupkom centrifugalne ekstrakcije u dvije faze, kako bi se maksimalno sačuvao prirodni udjel ovih spojeva, posebice fenola. Uzorci sortnih maslinovih ulja sakupljeni su od privatnih proizvođača prema prethodno dogovorenoj metodologiji. Nakon prerade svi uzorci maslinovog ulja su čuvani do trenutka provođenja analiza u tamnim bocama pri temperaturi od +4 °C zaštićeni strujom dušika u međuprostoru spremnika.

U radu su ispitivana maslinova ulja odabranih autohtonih sorti Oblica, Levantinka, Lastovka i Drobnica, te divlje sorte Mastrinke koja raste u Kaštel Lukšiću (tzv. stara maslina), kao zaštićeni spomenik prirode. U ispitivanim uzorcima DMU određivani su osnovni parametri kvalitete. U tom smislu su provedene sljedeće analize: određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK) kao postotak oleinske kiseline (ISO 660, 2004), određivanje peroksidnog broja (PB) kao mmol O₂/kg ulja (ISO 3960, 2007) te spektrofotometrijsko određivanje specifičnih apsorbancija u UV- području (K₂₃₂, K₂₇₀ i Δ K) prema ISO 3656 (2004a). Iz podataka spektrofotometrijske analize u ultraljubičastom području izračunata je i R-vrijednost prema Oštrić-Matijašević i Turkulov (1980).

Ukupni fenoli određeni su spektrofotometrijskom metodom s Folin Ciocalteu reagensom prema Bonoli i sur. (2004) (modificirana metoda prema Gutfinger, 1981), iz prethodno pripremljenih fenolnih ekstrakata ekstrakcijom na tekućoj fazi metodom prema Pirisi i sur. (1997), modificiranoj prema

Rotondi i sur. (2004). Uzorak je otopljen u 1 mL n-heksana i 2 mL otapala metanol/voda u volumnom omjeru 60:40. Ovako pripremljen uzorak snažno se mučka i zatim centrifugira tri minute pri brzini od 3000 okr/min. Voden-alkoholna faza je sakupljena, a ostatak ponovo ekstrahiran dva puta s po 2 mL otapala metanol/voda (60:40, v/v). Nakon toga sakupljene su i spojene sve voden-alkoholne faze i isprane s 2 mL n-heksana kako bi se odstranili ostaci ulja. Zatim je ekstrakt koncentriran i osušen u vakuumu pri temperaturi od 35°C. Suhi ekstrakt otopljen je s 0,5 mL otapala metanol/voda (50:50, v/v) i filtriran preko najlonskog filtra veličine pora 0,2 µm (Whatman Inc., Clifton, NJ). Ekstrakcije su provedene u tri ponavljanja i dobiveni fenolni ekstrakti skladišteni su pri temperaturi od -18°C do trenutka provođenja analiza.

Spektrofotometrijsko mjerjenje ukupnih fenola provedeno je spektrofotometrom Shimadzu, UV-VIS 1204 (Kyoto, Japan) pri valnoj duljini od 750 nm. Prethodno su pripremljeni fenolni ekstrakti ekstrakcijom na čvrstoj fazi C₁₈. Rezultati su izraženi u mg galne kiseline na kg ulja. Za izračunavanje ukupnih fenola izrađen je baždarni dijagram $r^2=0,996$. Spektrofotometrijska analiza provedena je u tri uzastopna ponavljanja za svaki fenolni ekstrakt.

Istim fenolnim ekstraktima određena je i antioksidacijska aktivnost dvjema metodama: spektrofotometrijskom metodom uz uporabu ABTS radikal kationa (2,2'-azynobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) koja se temelji na ispitivanju sposobnosti antioksidansa iz ulja kao 'hvatača' slobodnih radikala (prema Re i sur., 1999); te metodom hvatanja slobodnih DPPH[•] radikala prema Brand-Williams i sur. (1995). Određivanje pojedinačnih fenolnih spojeva provedeno je tekućinskom kromatografijom visokog učina HPLC uz DAD/MS detektor, prema Rotondi i sur. (2004). Pojedinačni fenoli kvantificirani su pomoću baždarnog dijagraama načinjenog s DHPAA (3,4-dihidroksifeniloctena kiselina) ($r^2=0,999$).

Senzorsko ocjenjivanje provedeno je metodologijom koju propisuje Međunarodni savjet za masline (IOC, 2007). Ova metodologija sastavljena je od više različitih pravilnika (IOC, 1996, 2007.), koji uključuju smjernice za odabir, treniranje i praćenje obučenih senzorskih analitičara, opis osnovne metodologije ocjenjivanja, kompjutorski program za obradu rezultata, rječnik stručnih pojmoveva vezanih za senzorsko ocjenjivanje, izgled čaše za ocjenjivanje maslinovog ulja i vodič za izradu laboratorija za senzorsko ocjenjivanje.

U statističkoj obradi rezultata korišten je SPSS r.11.0.0. statistički software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Značajne razlike na 5%-tnoj razini između srednjih vrijednosti određene su pomoću jednosmjjerne ANOVA analize te neparametrijskih testova (Kruskal Wallis test i Post-hoc (Bonferroniјevi) testovi).

REZULTATI I RASPRAVA

Osnovni kemijski pokazatelji kvalitete ispitivanih sortnih DMU prikazani su na tablici 1 (% slobodnih masnih kiselina, peroksidni broj, specifične koeficijente apsorbancije K_{232} , K_{270} , ΔK i R - vrijednost) kao srednje vrijednosti i standardne devijacije. Iz navedenih rezultata uočava se kako su svi uzorci imali vrijednosti parametara kvalitete unutar graničnih vrijednosti za kategoriju ekstra djevičanskih maslinovih ulja (prema Pravilniku NN (07/09)).

R - vrijednost je pokazatelj kvalitete ulja, a predstavlja omjer specifičnih apsorbancija pri 232 nm i 270 nm (K_{232}/K_{270}) (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980). R – vrijednost 12 odgovara granici za visoko kvalitetno ulje, 10 je granica za uobičajeno ulje, dok je vrijednost 6 granica za oksidirano ulje. Dobivene vrijednosti potvrđile su visoku kvalitetu ispitivanih maslinovih ulja, budući da su R -vrijednosti za sve uzorce veće od 12.

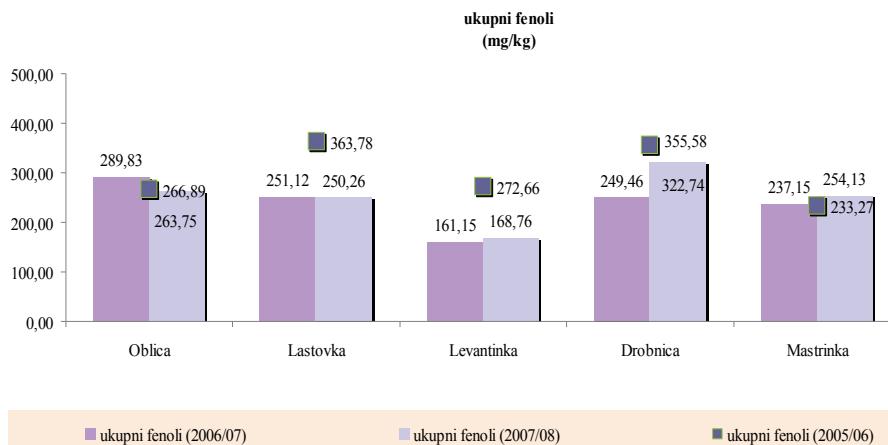
Tablica 1. Osnovni kemijski parametri kvalitete DMU tijekom tri godine istraživanja

Table 1. Basic chemical quality parameters of VOO in three year study

Ulje *	SMK (% kao oleinska)	PB (mmol O2/kg)	K_{232}	K_{270}	ΔK	R
Oblica	0.18±0.06	3.97±0.86	1.72±0.10	0.13±0.01	0.002±0.00	13.67
Lastovka	0.12±0.00	4.12±0.23	1.67±0.07	0.13±0.01	0.002±0.00	13.37
Levantinka	0.23±0.04	3.79±0.47	1.79±0.09	0.14±0.01	-0.006±0.01	13.22
Drobnica	0.35±0.35	3.62±0.04	1.71±0.04	0.12±0.00	0.005±0.00	14.25
Mastrinka	0.10±0.00	4.32±0.00	1.81±0.00	0.13±0.00	-0.004±0.00	13.92

Fenoli su dio negliceridne komponente u maslinovom ulju koju čine spojevi s pretežno funkcionalnim značenjem, bilo biološkim ili nutritivnim. Biološka svojstva maslinovog ulja rezultat su prisutnosti negliceridnih sastojaka, kao što su skvalen i fitosteroli, te antioksidansa među kojima su najznačajniji fenolni spojevi i tokoferol (Owen i sur., 2000). Okolišni stres, kao što je UV zračenje i relativno visoke temperature koje su tipične za područje Mediterana, potiču sekundarni metabolizam u voću i povrću, uključujući i maslinu. Kao posljedica tog procesa dolazi do povećanog nastajanja fenolnih spojeva sa zaštitnim (antioksidacijskim) djelovanjem. Fenolne molekule su tipične za nerofinirana

ulja, a u tu skupinu ubraja se i djevičansko maslinovo ulje. U literaturi se navodi da se udjel fenolnih spojeva u maslinovom ulju kreće u velikom rasponu od 40 do više od 1000 mg/kg (Servilli, 2002).



Grafikon 1. Prosječni udjeli ukupnih fenola (mg/kg) po sortama u tri godine istraživanja

Graphic 1. Average amount of total phenols (mg/kg) by varieties in three investigation years

U ispitivanim uzorcima sortnih DMU vrijednosti ukupnih fenola kretale su se u rasponu od 161,15 mg/kg (Levantinka) do više od 350 mg/kg (Lastovka i Drobica), što se vidi na grafikonu 1. U mnogim istraživanjima koja proučavaju odnos između ukupnog udjela fenola i oksidacijske stabilnosti (Aparicio i sur., 1999; Blekas i sur., 2002; Bonoli i sur., 2004; Ocakoglu i sur. 2009) u sortnim DMU uočena je pozitivna korelacija između srednje vrijednosti peroksidnog broja i ukupnog udjela fenola ($r = 0,87$; $r = 0,72$; $r = 0,56$). Visoki udjel ukupnih fenola ne znači uvijek i 'zaštitu od oksidacije'. Fenolni spojevi mogu samostalno utjecati na oksidacijsku stabilnost ili putem sinergijskog djelovanja. U ovom radu nije uočena korelacija ukupnih fenola s peroksidnim brojem u niti jednom uzorku.

U ovom radu za ispitivanje antioksidacijskih svojstava korištene su metode s ABTS i DPPH radikalima. U svrhu proučavanja antioksidacijskog djelovanja, pojedini fenolni spojevi podijeljeni su u četiri grupe spojeva (prema Servilli i Montedoru, 2002.), i to: *jednostavnii fenoli* ili *fenolni alkoholi* u koje se ubrajaju *p*-HPEA (*p*-hidroksifenil etanol ili hidroksitirosol) i 3,4-DHPEA (3,4-

dihidroksifenil etanol ili tirosol), *derivati sekoiridoida* u koje se ubrajaju 3,4-DHPEA-EDA, *p*-HPEA-EDA (dialdehidni oblik elenolne kiseline povezan s *p*-hidroksifenil etanolom), 3,4-DHPEA-EA (oleuropein aglikon), dikarboksi metil oleuropein aglikon, *p*-HPEA-EA (ligstrozid aglikon), *lignani* (pinorezinol, dikarboksi metil ligstrozid aglikon + acetokspinorezinol) i *flavoni* (luteolin, apigenin). Na tablici 2 prikazan je sastav pojedinih fenolnih spojeva u ispitivanim sortnim DMU.

Statističkom obradom podataka razmatrani su odnosi između grupa fenolnih spojeva i antioksidacijskih vrijednosti za DPPH i ABTS. Uspoređujući identificirane fenolne komponente u ispitivanim uzorcima uočava se da su udjeli fenolnih alkohola veći u uljima iz odabralih domaćih sorti znatno veći, dok su udjeli sekoiridoida manji. Pronađeni su statistički značajni koeficijenti korelacije parametara DPPH i ABTS s jednostavnim fenolima ($r=0,32$, $p<0.05$ i $r = 0.39$; $p<0.01$), koji pokazuju da između njih postoji pozitivna povezanost niskog reda veličine, odnosno da u manjoj mjeri vrijednosti parametara DPPH i ABTS variraju u istom smjeru kao vrijednosti jednostavnih fenola.

Tablica 2: Sastav fenolnih spojeva u ispitivanim sortnim DMU određen HPLC-DAD

Table 2: Single phenol compositon in investigated VOO determined by HPLC - DAD

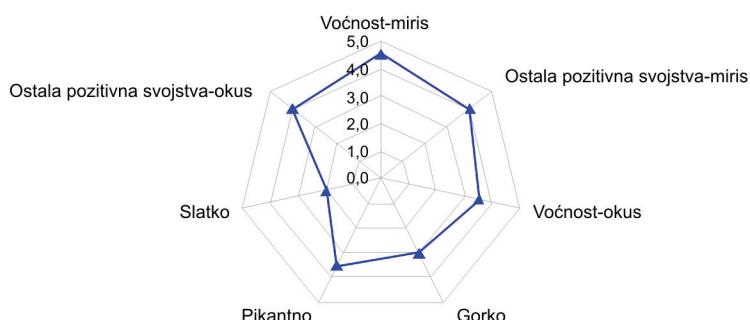
Uzorak	HYTY	TY	OA	LA	LU	AP
	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Oblica	66,78 \pm 4,51	42,87 \pm 2,30	50,80 \pm 4,19	14,45 \pm 2,64	35,5 \pm 2,26	11,18 \pm 0,09
Lastovka	214,32 \pm 0,96	66,04 \pm 2,20	207,02 \pm 8,08	36,12 \pm 4,94	96,08 \pm 1,18	33,6 \pm 0,69
Levantinka	58,95 \pm 1,43	23,56 \pm 2,31	115,65 \pm 1,55	64,36 \pm 4,03	47,58 \pm 7,06	23,65 \pm 0,67
Drobnica	65,87 \pm 4,36	84,37 \pm 2,52	87,51 \pm 6,84	21,26 \pm 2,90	31,58 \pm 2,77	32,44 \pm 5,40
Mastrinka	55,28 \pm 0,18	33,48 \pm 0,29	122,86 \pm 2,79	46,29 \pm 3,26	45,69 \pm 1,01	15,35 \pm 0,22

Objašnjenje simbola iz tablice 2: HYTY – hidroksitirosol, TY – tirosol,
OA – oleuropein aglikon, LA – ligstrozid aglikon,
LU – Luteolin, AP – Apigenin

Uzorci maslinovog ulja su senzorski ocijenjeni prema metodi IOC (2007). Svaki uzorak kušalo je deset ocjenjivača tijekom tri zasebna ocjenjivanja. Voditelj panel grupe primjenio je razinu značajnosti od 5%. Za ulje iz svake sorte izračunata je prosječna srednja ocjena pojedinog senzorskog svojstva. Na

taj način su primjenom kvantitativne deskriptivne analize opisani senzorski profili maslinovih ulja ispitivanih sorti. Kod ulja iz Oblice uočava se izražena voćnost mirisa, dok je isto svojstvo slabije izraženo okusom. Ovo je 'slatko' ulje sa slabo izraženom gorčinom i pikantnošću. Najveća gorčina je detektirana kod ulja iz Lastovke, dok je usklađenost pikantnosti i gorčine najbolja kod ulja iz Drobnice i Lastovke. Ulje iz Lastovke pokazalo je izraženiju voćnost mirisom nego okusom. Usklađenost voćnost okusa i mirisa zadovoljavajućeg intenziteta te izražena druga pozitivna svojstva mirisa uočena su kod ulja iz Lastovke. Ulje iz Levantinke ima smanjenu gorčinu i pikantnost te srednje izraženu voćnost okusa i mirisa. Najizraženiju voćnost i mirisom i okusom pokazala je Drobica, kao i intenzivna ostala pozitivna svojstva. Ovo ulje imalo je najveću senzorsku ocjenu i tijekom preliminarnih istraživanja. Ulje iz Mastrinke pokazalo je niži do srednji intenzitet gorčine i pikantnosti te srednju voćnost mirisa i okusa.

Dobiveni senzorski profili prikazani su u obliku mrežnog dijagrama kao prosječne vrijednosti za svaku pojedinu sortu. Zbog posebno istaknutih usklađenih svojstava gorčine, pikantnosti i voćnosti na grafikonu 2. je prikazan senzorski profil u obliku mrežnog dijagrama za DMU iz sorte Drobica.



Grafikon 2. Kvantitativna deskriptivna analiza – senzorski profil DMU iz Drobnice

Graphic 2. Quantitative descriptive analyze – sensorial profile of VOO from Drobica

ZAKLJUČAK

Svi uzorci u ovom istraživanju zadovoljavali su uvjete propisane međunarodnim i domaćim propisima za kategoriju "ekstra djevičansko

maslinovo ulje". Kod svih uzoraka uočen je zadovoljavajući udjel ukupnih fenola. U sortnim domaćim uljima udjel ukupnih fenola kretao se u rasponu od 85,59 do 384,33 mg/kg, u ovisnosti o sorti i godini. U preliminarnim ispitivanjima najveći udjel ukupnih fenola imala su ulja iz Lastovke i Drobnice dok je kroz sljedeće dvije godine samo Drobnička ponovila značajni udjel ukupnih fenola. Ulje iz Drobnice imalo je najveći udjel ukupnih fenola u godini 2007/08., iz čega se može zaključiti kako je udjel ukupnih fenola odgovoran za visoku oksidacijsku stabilnost i dobru održivost ovog ulja. Vrijednosti antioksidacijske aktivnosti (DPPH, ABTS) pokazale su statistički značajne razlike između pojedinih sorti, što znači da se praćene sorte razlikuju međusobno u populaciji Srednje Dalmacije prema navedenim pokazateljima. Uočena je značajna pozitivna korelacija između ukupnih fenola i vrijednosti ABTS i DPPH. U uljima iz Oblice i Lastovke ukupni fenoli su u pozitivnoj korelaciji s DPPH, odnosno ABTS vrijednostima, što znači da su navedeni spojevi nositelji antioksidacijskih svojstava kod ovih ulja. Derivati sekoiridoida odgovorni su za antioksidacijsko djelovanje ulja iz Oblice, a derivati lignana za ulja iz Lastovke. Antioksidacijski kapacitet ulja iz Levantinke direktno je ovisan o derivatima sekoiridoida i flavona, dok je antioksidacijska aktivnost ovog ulja uvjetovana udjelom lignana.

Senzorskog evaluacijom potvrđena je kategorija ekstra djevičanskih maslinovih ulja za sve ispitivane uzorke. Senzorska svojstva su pokazala razlike u ovisnosti o ishodnoj sorti masline i posebna se ističu različitim intenzitetom za svaku pojedinu sortu. Tijekom istraživanja, najveće prosječne senzorske ocjene pokazala su ulja iz Drobnice i Lastovke. Senzorskog deskriptivnom analizom utvrđena je najbolja uskladenost određenih mirisno-okusnih svojstava kod ulja iz Lastovke, Levantinke i Drobnice.

LITERATURA

- ANGEROSA, F., MOSTALLINO, R., BASTI, C., VITO, R. (2000) Virgin olive oil odour notes. Their relationship with volatile compounds from lipoxygenase pathway and secoiridoid compounds. *Food Chem.* 68: 283-287.
- APARICIO, R., RODA, L., ALBI, M.A., GUTIÉRREZ, F. (1999) Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by Rancimat. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4150-4155.

- BLEKAS, G., PSOMIADOU, E., TSIMIDOU, M., BOSKOU, D. (2002) On the importance of total polar phenols to monitor the stability of Greek virgin olive oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104: 340-346.
- BONOLI, M., BENDINI, A., CERRETANI, L., LERCKER, G., GALLINA TOSCHI, T. (2004) Qualitative and semiquantitative analysis of phenolic compounds in extra virgin olive oils as a function of the ripening degree of olive fruits by different analytical techniques. *J. Agric. Food Chemistry* 52: 7026-7032.
- BOSKOU D. (2000) Olive oil. *World Review Nutrition and Dietetics* 87: 56-77.
- BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E., BERSET, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate the antioxidant activity. *Lebens.-Wiss. Technol.* 28: 25-30.
- CERRETANI, L., BENDINI, A., ROTONDI, A., LERCKER, G., GALLINA-TOSCHI, T. (2005) Analytical comparison of monovarietal olive oils obtained both a continuos industrial plant and a low-scale mill. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 107: 93-100.
- CERRETANI, L., BENDINI, A., DEL CARO, A., PIGA, A., VACCA, V., CABONI, M.F., GALLINA-TOSCHI, T. (2006) Preliminary characterization of virgin olive oils obtained from different cultivars in Sardinia, *Eur. Food Res. Technol.* 222, 354-361.
- GUTFINGER, T. (1981) Polyphenols in olive oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 58: 966-968.
- IOC (2007) Revised method for the organoleptic assessment of virgin olive oil, DEC-21/95-V/2007.
- ISO (2004) Animal and vegetable fats and oils - Determination of acid value and acidity, 660.
- ISO (2004a) Spectrophotometric investigation in the ultraviolet 3656.
- ISO (2007) Animal and vegetable fats and oils - Determination of peroxid value, 3960.
- OCAKOGLU, D., TOKATLI, F., OZEN, B., KOREL, F. (2009) Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years. *Food Chem.* 113: 401-410.
- OŠTRIĆ-MATIJAŠEVIĆ, B., TURKULOV, J. (1980) *Tehnologija ulja i masti, I. dio.* Tehnološki fakultet, Novi Sad, 149-155.

- OWEN, R., W., MIER, W., GIACOSA, A., HULL, W.E., SPIEGELHALDER, B., BARTSCH, H. (2000) Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food. Chem. Toxicology* 38: 647-659.
- PIRISI, F.M., ANGIONI, A., CABRAS, P., GARAU, V.L., SANJUST DI TEULADA, M.T., DOS SANTOS, M.K., BANDINO, G. (1997) Phenolic compounds in virgin olive oils. I. Low-wavelength quantitative determination of complex phenols by high-performance liquid chromatography under isocratic elution. *J. Chromatogr.* 768: 207-213.
- PRAVILNIK o uljima od ploda i komine maslina. (2009) *Narodne novine* 07.
- RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C.A. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.* 26: 1231-1237.
- ROTONDI, A., BENDINI, A., CERRETANI, L., MARI, M., LERCKER, G., GALLINA TOSCHI, T. (2004) Effect of olive ripening degree on the oxidative stability and organoleptic properties of Nostrana di Brisighella extra virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem.* 52: 3649-3654.
- SERVILLI, M., MONTEDORO, G. (2002) Contribution of phenolic compounds of virgin olive oil quality. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104: 602-613.
- SERVILLI, M., SELVAGGINI, R., ESPOSTO, S., TATICCHI, A., MONTEDORO, G.F., MOROZZI, G. (2004) Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affects their occurrence in the oil. *J. Chromatogr. A.* 1054: 113-127.
- ŽANETIĆ, M., CERRETANI, L., DEL CARLO, M. (2007) Preliminary characterization of monovarietal extra-virgin olive oils obtained from different cultivars in Croatia. *J. Commodity Sci. Technol. Quality* 46: 79-94.

Adrese autora – Author's addresses:

dr.sc. Mirella Žanetić

Institut za jadranske kulture i melioraciju krša

Put Duijlova 11, 21000 Split

e-mail: mirella.zanetic@krs.hr

doc.dr.sc. Dubravka Škevin

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Pierottijeva 6, 21000 Zagreb

e-mail: dskevin@pbf.hr

dr.sc. Elda Vitanović

Institut za jadranske kulture i melioraciju krša

Put Duijlova 11, 21000 Split

e-mail: elda.vitanovic@krs.hr

Maja Jukić Špika, dipl.inž.

Institut za jadranske kulture i melioraciju krša

Put Duijlova 11, 21000 Split

e-mail: maja@krs.hr

dr.sc. Slavko Perica

Institut za jadranske kulture i melioraciju krša

Put Duijlova 11, 21000 Split

e-mail: slavko.perica@krs.hr