

Effetto dell'estrazione a basso impatto ossidativo sulla capacità antiossidante *in vitro* e sulla qualità di oli extra-vergini di oliva della Sardegna

A. Del Caro¹
C. Fadda¹
A. Sanguinetti¹
P.P. Urgeghe¹
V. Vacca¹
P.P. Arca²
A. Piga¹

¹Dipartimento di Agraria
Università degli Studi
di Sassari

²Libero professionista
Esperto Assaggiatore Capo
Panel dell'Associazione
Nazionale Assaggiatori
Professionisti Olio d'Oliva
(ANAPOO)

La tecnologia del processo estrattivo ricopre una notevole influenza sulla qualità degli oli d'oliva. Scopo del lavoro è stato quello di comparare l'effetto di due tecnologie estrattive, una tradizionale, l'altra a basso impatto ossidativo, sui principali parametri qualitativi e sulla capacità antiossidante di oli extra vergini monovarietali ottenuti da due importanti varietà della Sardegna. I risultati ottenuti hanno evidenziato che la tecnologia di estrazione a basso impatto ossidativo permette di ottenere oli con valori inferiori di perossidi e di acidità e contenuti sino al 114% superiori di fenoli totali e ortodifenoli. Dall'analisi dei dati sulla capacità antiossidante si evince che i valori significativamente superiori riscontrati in seguito all'estrazione con tecnologia a basso impatto ossidativo sono da ascrivere al maggior contenuto in fenoli.

Parole chiave: capacità antiossidante, gramolatura, olio extra vergine di oliva, qualità.

Influence of low oxidative stress extraction technology on *in vitro* antioxidant capacity and quality of two extra virgin monovarietal oils of Sardinia

Milling technology has a great effect on the quality of olive oils. This paper was aimed to compare the differences in quality between two Sardinian extra virgin monovarietal oils obtained with a traditional and with a low oxidative stress technology. Peroxide value and acidity were lower in oils extracted with a low oxidative stress, which resulted in up to 114% higher total phenol content, with respect to oils obtained with the traditional technology. The low oxidative stress technology, moreover, permitted them to have significantly higher values of antioxidant activity, which is to be ascribed to the higher phenol content.

Keywords: antioxidant capacity, extra virgin olive oil, malaxation, quality.

AUTORE CORRISPONDENTE:
Prof. Antonio Piga
Dipartimento di Agraria
Università degli Studi di Sassari
Viale Italia 39/A - 07100 Sassari
Tel e fax n. 0039 079 229273
e-mail: pigaa@uniss.it

INTRODUZIONE

Il consumo di olio extra vergine di oliva è in continuo aumento, grazie alle sue peculiarità sensoriali e nutritive. La letteratura scientifica è ricca di contributi che attestano gli effetti benefici dell'olio extra vergine di oliva sulla salute [1, 2, 3, 4, 5].

Tra i vari fattori che influenzano la qualità, il processo estrattivo assume una rilevante importanza. L'evoluzione tecnologica, partita dagli impianti a pressione sino ad arrivare ai più recenti sistemi a centrifugazione a due fasi con o senza denocciolatura delle olive, ha portato alla produzione di oli migliori dal punto di vista sensoriale e nutrizionale, nonché alla produzione di minime quantità di acque reflue [6, 7, 8, 9, 10, 11, 12].

Durante l'estrazione e specialmente in corrispondenza della gramolatura, è molto alto il rischio di ossidazioni di natura enzimatica a carico dei fenoli, con il risultato che l'olio perde parte delle sue peculiarità sensoriali, risulta meno stabile all'ossidazione e con minori proprietà salutistiche [13, 14, 15, 16]. Recentemente, Migliorini et al. [17], hanno evidenziato gli effetti positivi sul contenuto in composti fenolici in seguito all'estrazione dell'olio con un impianto innovativo dotato di gramole verticali, il quale era in grado di esporre le paste ad una bassa pressione d'ossigeno, nonché alla sostituzione della centrifugazione finale con filtrazione mediante filtro pressa a cartoni. Il pool fenolico, come è noto, influenza non solo l'aspetto sensoriale, ma anche quello salutistico [5, 18, 19, 20]. Un indice indiretto della valutazione salutistica di un alimento come l'olio extra vergine di oliva può essere facilmente determinato misurando la capacità antiossidante *in vitro* [21, 22, 23]. Bisogna, infine, considerare l'influenza sul contenuto fenolico, oltre che del grado di maturazione, anche della varietà di olive e dell'areale di produzione.

Scopo del presente lavoro è, pertanto, quello di verificare gli effetti dell'estrazione a basso impatto ossidativo non solo sui principali componenti di natura merceologica, nutrizionale e sensoriale, ma anche sulla capacità antiossidante di oli monovarietali derivanti da due varietà importanti per la Sardegna.

MATERIALI E METODI

La Provincia di Oristano ha acquisito un impianto innovativo, su progetto del Dott. Marco Mugelli dell'ANAPOO, costruito dalla Toscana Enologica Mori e concesso in uso alla Cooperativa Olivicoltori del Campidano di Oristano (C.O.C.O), con sede a Villaurbana (OR). Tale impianto è stato utilizzato per la nostra sperimentazione in collaborazione con il gruppo di studio della Camera di commercio di Firenze e con l'agenzia regionale Laore. L'innova-

zione principale consiste nel fatto che l'impianto lavora esponendo le paste in gramolazione ad un ridotto contenuto di ossigeno (LOX). La comparazione è stata fatta estraendo una partita di olive con un impianto tradizionale operante a due fasi e mezzo a basso consumo d'acqua della ditta Alfa Laval in cui le paste sono state gramolate in presenza di aria (HOX).

MATERIALE VEGETALE

Gli oli sono stati ottenuti utilizzando olive di due varietà tipiche e importanti del territorio oristanese: la Bosana e la Semidana, raccolte con scuotitore nella campagna 2009/2010 a maturazione ottimale per la Semidana e leggermente avanzata per la Bosana con presenza di circa 15% di drupe infestate da *Bactrocea oleae* e inviate alla molitura entro otto ore dalla raccolta. Per ogni varietà è stata utilizzata una partita omogenea di 500 kg di olive.

DESCRIZIONE DEL PROCESSO

Il processo di estrazione con il frantoio sperimentale è stato condotto come segue: le olive dopo le operazioni preliminari, sono state inviate al lavaggio. La frangitura è stata eseguita con un frangitore a frese taglienti (che può lavorare in un intervallo di valori di rotazione di 2800-4500 rpm); dopo verifiche preliminari si è scelto di utilizzare un regime di rotazione di 3000 rpm. La gramolatura è stata condotta in speciali gramole verticali (brevetto dell'Azienda Speciale Laboratorio Chimico Merceologico di Firenze), che hanno lavorato con un sistema di depressione a 0,2 bar, assicurata da una pompa del vuoto con valvola di sicurezza per tenere costante il vuoto, anche nel momento di scarico della pasta verso il decanter. Il caricamento della pasta di olive è stato fatto dal basso con le gramole già sottovuoto; il rimescolamento è stato assicurato da un rotore verticale, provvisto di pale opportunamente orientate. La configurazione verticale ha assicurato già un basso impatto ossidativo anche senza l'adozione del vuoto o dell'inertizzazione con azoto, in quanto la pasta non è stata rimescolata in modo significativo verso la parte superiore e il solo strato a contatto con l'aria è quello superficiale. Ogni gramola, della capacità di 300 kg, è indipendente dalle altre e dotata di pompa volumetrica a lobo per alimentare il decanter.

La separazione delle fasi (olio e sansa umida) è avvenuta in un decanter di nuova concezione, che ha evitato il successivo ricorso ai separatori centrifughi verticali. Questo è reso possibile dalla conformazione della coclea, che ha una zona delimitata da anelli dove si attiva la formazione di un bolo di separazione tra la fase esterna acqua-sansa e la fase interna olio, senza sostanziali perdite del pro-

dotto. Anche questo decanter è composto da un dispositivo di alimentazione, da un tamburo rotativo in acciaio inox con le uscite per l'olio e per la sansa umida, da un'elica (coclea) trasportatrice in acciaio inox per lo scarico delle sansi. Le uscite dell'olio sono regolate da due ugelli a vite che vanno posizionati a profondità diverse nel tamburo per pescare dal livello di demarcazione delle fasi. Il decanter è stato alimentato dalle gramole tramite pompa volumetrica, senza aggiunta di acqua di fluidificazione, la portata è stata regolata da inverter gestito elettronicamente dal software. L'olio, infine, è stato subito inviato al filtro pressa, a cartoni di cellulosa da 4-8 mm, in modo frazionato (sgrossatura e finissaggio) per eliminare, oltre alle parti solide, anche i residui di acqua di vegetazione.

Nell'impianto tradizionale Alfa Laval le operazioni preliminari sono state svolte con le stesse modalità viste in precedenza. La frangitura è stata condotta con un frangitore a dischi dentati con una velocità di rotazione media di 1450 rpm. La gramolatura della pasta è stata condotta con una doppia linea, composta ciascuna da due vasche in acciaio inox adiacenti, isoterme, con i sistemi elettronici di controllo della temperatura, elica centrale di gramolatura munita di pale in acciaio inox, opportunamente orientate, per provvedere anche all'avanzamento graduale della pasta. La separazione delle fasi (sansa e olio mosto) è avvenuta in un unico decanter (estrattore): alimentato dalle gramolatrici tramite pompa monovite con statore per uso alimentare, con aggiunta di acqua di fluidificazione variabile a seconda dello stato fisico della pasta. Dopo l'estrazione l'olio mosto, per l'eliminazione delle parti solide fini o dei residui di nocciolo contenuti in sospensione, ha attraversato un sistema costituito da una vasca e da un filtro vibrante doppio in acciaio inox. Dal vibrofiltro l'olio mosto è stato avviato, attraverso una pompa mono, ai separatori centrifughi ad asse verticale, per la chiarificazione finale e disidratazione dell'olio.

DETERMINAZIONI ANALITICHE

Gli oli appena ottenuti sono stati sottoposti alle seguenti determinazioni:

Acidità, numero di perossidi e analisi spettrofotometrica nell'ultravioletto, secondo metodiche ufficiali riportate nel Reg. CEE 2568/1991 [24].

Carotenoidi e clorofille secondo i metodi proposti da Wolff (1968) [25].

I fenoli totali sono stati determinati mediante estrazione con miscela metanolo acqua come proposto da Pirisi et al. [26]. L'estratto ottenuto è stato utilizzato per determinare, per via spettrofotometrica, il contenuto in composti fenolici totali utilizzando il metodo di Singleton e Rossi [27]. La lettura è stata eseguita a 750 nm con uno spettrofotometro mod. 8453 (Hewlett-Packard, Palo Alto, California) e i

fenoli quantificati come acido gallico in mg/kg. L'estratto fenolico è stato utilizzato anche per determinare per via spettrofotometrica la quantità di orto-difenoli in mg/kg, secondo la metodica proposta da Mateos et al. [28]. La lettura è stata eseguita a 370 nm.

I tocoferoli sono stati determinati secondo il metodo proposto da Gimeno et al. [29], mediante diluizione in esano (con aggiunta di etanolo contenente tocoferil acetato come standard interno), filtrazione e iniezione in HPLC Agilent 1100 Series (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA), detector FLD Agilent 1100 Series, corredato di colonna Phenomenex Gemini C₁₈ termostata a 45°C, fase mobile metanolo-acqua (98/2), flusso di 2 mL/minuto, detector FLD operante a 290 (ecc) e 330 nm (em).

La capacità antiossidante è stata determinata sull'olio tal quale, sull'estratto metanolico e sul residuo oleoso (rimanente dopo l'estrazione dei fenoli), utilizzando il radicale stabile DPPH secondo il metodo proposto da Ramadan e Morsel [30]. In particolare, 50 µg di olio residuo oleoso e 50 µL di estratto metanolico sono stati disciolti in 500 µL di toluene, sono stati prelevati 200 µL e fatti reagire con 1,8 mL di una soluzione toluenica 10⁻⁴ M di DPPH. In presenza di sostanze ad azione antiossidante il radicale si decolora, pertanto sono state effettuate letture a 515 nm a 1, 5, 15, 30 e 60 minuti utilizzando cuvette di quarzo da 1 cm di cammino ottico. I campioni sono stati termostati a 22°C e agitati in continuazione con microancoretta. L'azione antiradicalica verso il radicale DPPH è stata misurata dalla differenza in assorbanza tra il radicale con il campione e quello senza (controllo) ed è stata calcolata la percentuale di inibizione attraverso la seguente formula:

$$\% \text{ di inibizione} = \frac{\text{assorbanza controllo} - \text{assorbanza campione} \times 100}{\text{assorbanza controllo}}$$

I dati in percentuale ottenuti sono stati normalizzati, e riferiti a 50 mg di olio per i 3 campioni (olio, estratto metanolico e residuo oleoso). Tutte le analisi sono state effettuate in triplo. I dati sono stati sottoposti ad analisi statistica mediante analisi della varianza ad una via utilizzando il software Statistica e considerando la tecnologia estrattiva come group factor. Le medie sono state separate mediante il test di Tukey per $P \leq 0,05$.

RISULTATI E DISCUSSIONE

PARAMETRI DI BASE, FENOLI TOTALI E TOCOFEROLI

La Tabella I riporta i valori dei parametri di base, insieme ai caroteni, clorofilla, fenoli, orto-difenoli e tocoferoli. Si può subito notare che entrambi gli oli delle due diverse varietà rientrano nella categoria degli extra-vergini, con bassi valori di acidità,

Tabella I – Influenza dei sistemi di estrazione sui principali parametri merceologici (acidità, perossidi, indici spettrofotometrici), caroteni, clorofille, fenoli totali e tocoferoli di oli extra-vergini di oliva sardi

| Varietà | Tecnologia | Acidità (% acido oleico) | Numero di perossidi (meq di O ₂ /kg di olio) | K ₂₃₂ | K ₂₇₀ | ΔK | Caroteni (mg/100 g) | Clorofille (mg/kg) | Fenoli totali (mg/kg) | Ortodifenoli (mg/kg) | α-tocoferolo (mg/kg) | β+γ-tocoferolo (mg/kg) |
|----------|--------------|--------------------------|---|------------------|------------------|----------|---------------------|--------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|------------------------|
| Bosana | Tradizionale | 0,46a* | 10,85° | 2,08a | 0,14b | -0,0010a | 1,78b | 2,33a | 145,27b | 56,80b | 207,11a | 8,94a |
| | Innovativa | 0,44a | 8,26b | 2,13b | 0,17a | -0,0034b | 2,45a | 2,30a | 311,92a | 112,36a | 219,35a | 9,00a |
| Semidana | Tradizionale | 0,48a | 5,97° | 1,71b | 0,15a | -0,0061b | 2,88a | 15,28a | 232,10b | 60,66a | 197,54a | 7,30a |
| | Innovativa | 0,32b | 4,38b | 1,80a | 0,14a | -0,0059a | 2,25a | 5,26b | 366,04a | 77,45a | 205,17a | 7,14a |

* Medie con lettere diverse per la stessa varietà e per tecnologie differenti sono statisticamente differenti in base al test di Tukey, per P≤0,05.

Tabella II – Influenza dei sistemi di estrazione sulla capacità antiossidante* dell'olio tal quale, dell'estratto metanolico e del residuo oleoso di oli extra-vergini di oliva sardi

| Varietà | Tecnologia | Tempo di lettura | Olio | Estratto metanolico | Residuo oleoso | Differenza** | |
|------------|--------------|------------------|-----------|---------------------|----------------|--------------|------|
| Semidana | Tradizionale | 1 | 25,62b*** | 7,97b | 16,59a | 1,06 | |
| | | 5 | 30,32b | 10,55b | 19,38a | 0,39 | |
| | | 15 | 32,96b | 11,40b | 21,30a | 0,26 | |
| | | 30 | 34,73b | 11,60b | 22,75a | 0,38 | |
| | | 60 | 36,94b | 11,87b | 24,53a | 0,54 | |
| | | Innovativa | 1 | 32,33a | 13,20a | 16,76a | 2,36 |
| | Innovativa | 5 | 38,88a | 19,13a | 19,38a | 0,38 | |
| | | 15 | 41,88a | 20,08a | 21,23a | 0,57 | |
| | | 30 | 45,03a | 21,10a | 22,73a | 1,20 | |
| | | 60 | 48,05a | 22,72a | 24,67a | 0,67 | |
| | | Tradizionale | 1 | 27,28b | 7,03b | 19,49a | 0,75 |
| | | | 5 | 31,94b | 10,29b | 21,09a | 0,56 |
| 15 | 36,20b | | 10,73b | 24,92a | 0,55 | | |
| 30 | 38,85b | | 11,00b | 26,80a | 1,05 | | |
| 60 | 41,87b | | 11,19b | 29,74a | 0,94 | | |
| Innovativa | 1 | | 42,32a | 18,86a | 21,86a | 1,61 | |
| Bosana | Innovativa | 5 | 48,30a | 21,68a | 24,46a | 2,16 | |
| | | 15 | 51,86a | 23,10a | 27,38a | 1,38 | |
| | | 30 | 54,26a | 23,40a | 29,77a | 1,09 | |
| | | 60 | 57,14a | 24,45a | 32,34a | 0,36 | |

* Espressa come percentuale di inibizione rispetto alla lettura senza olio, estratto metanolico o residuo oleoso.

** Differenza tra la capacità antiossidante dell'olio e quella delle altre due frazioni.

*** Medie con lettere diverse per la stessa varietà e per tecnologie differenti in corrispondenza dello stesso tempo di lettura sono statisticamente differenti in base al test di Tukey, per P≤0,05.

perossidi e assorbimenti UV, specialmente nel caso degli oli estratti dalla varietà Semidana. La tecnologia LOX ha permesso di ottenere oli con un contenuto di perossidi statisticamente inferiore, rispetto alla tecnologia HOX, mentre in precedenti lavori erano stati trovati valori uguali o superiori [17, 31]; l'acidità è risultata significativamente inferiore solo negli oli derivanti dalla olive di Semidana. Per quanto riguarda le misure spettrofotometriche si sono avute differenze significative a volte a favore della tecnologia HOX, a volte di quella LOX. Il dato sicuramente più interessante, invece è quello relativo al contenuto in fenoli totali, che è risultato significativamente superiore negli oli estratti con la tecnologia LOX. In particolare, l'uso di una bassa pressione di ossigeno ha permesso di aumentare il contenuto totale del 57,71% nella Semidana e addirittura del 114,71% nella Bosana. Tali risultati sono in accordo con quanto riportato da Migliorini et al [31]; rispetto ai risultati di quest'ultimo lavoro si è avuto un incremento di estrazione percentuale dei fenoli utilizzando la tecnologia LOX. Il contenuto in ortodifenoli è risultato significativamente più alto per la tecnologia LOX solo nel caso degli oli ottenuti dalla varietà Bosana, mentre per i tocoferoli non si sono riscontrate differenze significative tra i due sistemi estrattivi contrariamente a quanto riportato da Migliorini et al. [31].

CAPACITÀ ANTIOSSIDANTE

Il test da noi utilizzato è del tipo "radical scavenging" (RS). Esistono pochi riferimenti bibliografici sulla capacità RS di oli vegetali. Con tale meccanismo i componenti ad attività di RS donano un elettrone al radicale libero, e questa donazione è associata alla decolorazione del radicale, quindi alla diminuzione di assorbanza. Maggiore sarà la diminuzione di assorbanza, maggiore sarà l'attività di RS.

I dati della percentuale di attività RS sono riportati in Tabella II. La tabella mostra per ogni campione (olio, estratto metanolico, residuo oleoso) la percentuale di diminuzione di assorbanza, rispetto ad un bianco che non viene fatto reagire, a tempi prestabiliti. Si può notare che dopo appena 1 minuto dalla reazione si ha la maggiore perdita di assorbanza, se si confronta il dato con i tempi restanti. Il decremento ad 1 minuto, infatti, risulta essere dal 65 al 74% della percentuale di perdita di assorbanza a 60 minuti. La tabella mostra chiaramente che la tecnologia LOX consente di aver oli con un'attività RS significativamente superiore, rispetto agli oli ottenuti con tecnologia HOX. Andando nel dettaglio si può osservare che tale differenza è da imputare all'estratto metanolico, quindi ai fenoli. Infatti, gli estratti metanolici ottenuti dagli oli LOX hanno una capacità RS statisticamente superiore, nei confronti dei campioni HOX, mentre i residui

oleosi, che contengono altri antiossidanti (caroteni, tocoferoli), non mostrano differenze significative. Pertanto, l'incremento di capacità antiossidante degli oli LOX è da ascrivere sicuramente alla maggiore quantità di fenoli di questi oli. In ultimo, si può notare che la percentuale di RS non giustificata, cioè la differenza visibile nell'ultima colonna, è poco rilevante, pertanto le tre componenti testate inglobano la quasi totalità della RS. Per quanto a nostra conoscenza tali dati costituiscono i primi risultati sulla capacità antiossidante di oli monovarietali estratti con tecnologia a basso impatto ossidativo.

CONCLUSIONI

La ricerca condotta ha permesso di evidenziare che la gramolatura attuata in condizioni di basso impatto ossidativo abbia permesso di ottenere oli monovarietali con caratteristiche qualitative migliori. Infatti, oltre al contenimento di alcuni valori tipici del danno ossidativo, tale tecnologia ha avuto il risultato di aumentare i valori di capacità antiossidante *in vitro*, che risultano strettamente legati al maggior contenuto in fenoli totali. Sono in corso presso i nostri laboratori ulteriori approfondimenti legati allo studio del completo corredo fenolico e sulle variazioni di tutti i parametri degli oli imbottigliati durante 18 mesi di shelf life.

RINGRAZIAMENTI

Il lavoro è stato finanziato dal progetto PRIN dal titolo "Influenza delle tecnologie di estrazione e del periodo di conservazione sulla capacità antiossidante *in vitro* e sui principali componenti ad attività antiossidante di oli extra-vergini di oliva", annualità 2008.

Influence of low oxidative stress extraction technology on *in vitro* antioxidant capacity and quality of two extra virgin monovarietal oils of Sardinia

*The consumption of extra virgin olive oil is currently increasing, thanks to its unique sensory and nutritive qualities. Extraction technology is the most important factor affecting extra virgin olive oil quality. In the last years, there have been shown the positive effects on the phenolic pool following the extraction with a innovative plant working with a low oxygen contact during the malaxation step. The determination of the *in vitro* antioxidant capacity is a valid indirect index of the healthy properties of a food like the extra virgin olive oil.*

Oils were obtained by two typical Sardinian cultivars, Bosana and Semidana during the 2009 crop season. Oils were extracted either with a plant

equipped with a vertical-axis malaxator working at low oxidative stress impact conditions or with another plant equipped with horizontal-axis, open malaxator. Oil samples were subjected to basic chemical analyses (acidity, peroxide value, ultraviolet light absorption K_{232} and K_{270} , carotenoids, chlorophylls, tocopherols and total phenols). The antioxidant capacity of oils, phenolic extract and oil extract (remaining after phenol extraction) was also determined.

Results show that peroxide value and acidity were lower in oils extracted with a low oxidative stress, which resulted in up to 114% higher total phenol content, with respect to oils obtained with the traditional technology (Table I). The low oxidative stress technology, moreover, permitted to have significantly higher values of antioxidant activity, which is to be ascribed to the higher phenol content (Table II).

A more detailed study to analyse the full phenolic spectrum and to evaluate changes during 18 months of shelf life of bottled oils is in progress at our lab.

BIBLIOGRAFIA

- [1] D. Boskou, Olive oil, Champaign: AOCS Press (1996).
- [2] M.J. Hill, A. Giacosa, Eur. J. Cancer Prev. 1, 339-340 (1992).
- [3] C. La Vecchia, E. Negri, S. Franceschi, A. Recarli, A. Giacosa, A.L. Lipworth, Cancer Cause Control 6, 545-550 (1998).
- [4] R.W. Owen, A. Giacosa, W.E. Hull, R. Haubner, B. Spiegelhalder, H. Bartsch, Eur. J. Cancer 36, 1235-1247 (2000).
- [5] F. Visioli, L. Galli, J. Agric. Food Chem. 46, 4292-4296 (1998).
- [6] V. Siniscalco, G.F. Montedoro, C. Parlati, G. Petruccioli, Riv. Ital. Sostanze Grasse 66, 85-90 (1989).
- [7] F. Angerosa, L. Di Giovacchino, Grasas Aceites 47(4), 247-254 (1996).
- [8] Ranalli, F. Angerosa, J. Am. Oil Chem. Soc. 73, 417-422 (1996).
- [9] N. Frega, L. Cagliotti, M. Mozzon, Riv. Ital. Sostanze Grasse 74, 241-245 (1997).
- [10] L. Di Giovacchino, S. Sestili, S. Di Vincenzo, Eur. J. Lipid Sci. Tech. 104, 587-601 (2002).
- [11] E. Gimeno, A.I. Castellote, R.M. Lamuela-Raventos, M.C. De la Torre, M.C. Lopez-Sabater, Food Chem. 78, 207-211 (2002).
- [12] M. Saitta, V. Lo Turco, D. Pollicino, G. Dugo, L. Bonaccorsi, P. Amirante, Riv. Ital. Sostanze Grasse 80(1), 27-34. (2003).
- [13] M.D. Georgalaki, T.G. Sotiroudis, A. Xenekis, J. Am. Oil Chem. Soc. 75, 155-159 (1998).
- [14] M. Servili, M. Baldioli, A.L. Begliomini, R. Selvaggini, G. Montedoro, Flavour Frag. Chem. 17, 163-173 (2000).
- [15] Ranalli, S. Contento, C. Schiavone, N. Simone, Eur. J. Lipid Sci. Tech. 103, 228-238 (2001).
- [16] E. Vierhuis, M. Servili, M. Baldioli, H.A. Schols, A.C.J. Vorangen, G. Montedoro, J. Agric. Food Chem. 49, 1218-1223 (2001).
- [17] M. Migliorini, M. Mugelli, C. Cherubini, P. Viti, B. Zanoni, J. Sci. Food Agric. 86, 2140-2146 (2006).
- [18] I. Aruoma, M. Deiana, A. Jenner, B. Halliwell, H.Kaur, S. Banni, F.P. Corongiu, M. Assunta-Dessi, R. Aeschbach, J. Agric. Food Chem. 46, 5181-5187 (1998).
- [19] A. Manna, P. Galletti, V. Cucciolla, G. Montedoro, V. Zappia, J. Nutr. Biochem. 10, 159-165 (1999).
- [20] F. Visioli, D. Caruso, E. Plasmati, R. Patelli, N. Mulinacci, A. Romani, G. Galli, C. Galli, Free Radical Res. 34, 301-305 (2001).
- [21] V. Lavelli, J. Agric. Food Chem. 50, 7704 - 7708 (2002).
- [22] A. Bendini, L. Cerretani, S. Vecchi, A. Carrasco-Pancorbo, G. Lercker, J. Agric. Food Chem. 54, 4880-4887 (2006)
- [23] A. Samaniego Sanchez, A.M. Troncoso Gonzalez, M.C. Garcia-Parrilla, J.J. Quesada Granados, H. Lopez Garcia de la Serrana, M.C. Lopez Martinez, Anal. Chim. Acta 593, 103-107(2007).
- [24] Commissione Europea Regolamento (CEE) n. 2568/1991 - GU L 248 del 5/9/1991.
- [25] S.P. Wolff, Manuel D'analyse des corps gras, Azolay Publisher, Paris, France, 186-199 (1968).
- [26] F.M. Pirisi, P. Cabras, C. Falqui Cao, M. Migliorini, M. Muggelli, J. Agric. Food Chem. 48, 1191-1196 (2000).
- [27] V.L. Singleton, J.A. Rossi, Am J. Enol. Vitic. 16, 144-158 (1965).
- [28] R. Mateos, J.L. Espartero, M. Trujillo, J.J. Rios, M. Leon-Camacho, F. Alcludia, A. Cert, J. Agric. Food Chem. 49, 2185-2192 (2001).
- [29] E. Gimeno, A.I. Castellote, R.M. Lamuela-Raventos, M.C. de la Torre, M.C. Lopez-Sabater, J. Chromatograph. 881, 251-254 (2000)
- [30] M. F. Ramadan, J.G. Moersel, J. Food Compos. Anal. 19, 838-842 (2006).
- [31] M. Migliorini, C. Cherubini, B. Zanoni, M. Mugelli, E. Cini, A. Berti, Riv. Ital. Sostanze Grasse 83, 92-101 (2009).

Ricevuto, 14 luglio 2011
Accettato, 29 agosto 2011