

## POLIFENOLI V OLJČNIH OLJIH SLOVENSKE ISTRE LETNIKA 94

Bojan BUTINAR

ZRS, SI-6000 Koper, Garibaldijeva 18, E-mail: Bojan.Butinar@zrs-kp.si

Milena BUČAR-MIKLAVČIČ

LABS, SI-6310 Izola, Zelena ulica 8, E-mail: Milena.Miklavcic@guest.arnes.si

Darinka ČALIJA

LABS, SI-6310 Izola, Zelena ulica 8

## IZVLEČEK

Pri 16 vzorcih oljčnih olj letnika 94 smo določili vsebnost skupnih polifenolov (pfoh) in orto difenolov (odfoh). Oboji so pomemben dejavnik pri zaščiti olja pred staranjem, saj prekinjajo avtooksidacijsko radikalno verigo. Njihovo vsebnost smo raziskovali glede na oljne sorte šistrska belica [(pfoh) 232-327 mg/kg; (odfoh) 27-83 mg/kg], pendolino [(pfoh) 118-181 mg/kg; (odfoh) 22-35 mg/kg], leccio del corno [(pfoh) 102-224 mg/kg; (odfoh) 26-32 mg/kg], leccino [(pfoh) 121 mg/kg; (odfoh) 50 mg/kg] in glede na čas skladiščenja. Sorta istrska belica vsebuje največ polifenolov. Pri enem vzorcu pa smo s HPLC in GLC določili prisotnost posameznih vrst polifenolov: tirosola, hidroksitirosola, 3-metoksi-4-(2-etoksi)-hidroksibenzena, 2-metoksi-4-(2-etoksi)-hidroksibenzena.

**Ključne besede:** antioksidanti, hidroksitirosol, oljčno olje, polifenoli, tirosol

## UVOD

Znano je, da ekstra deviška oljčna olja (OO) vsebujejo precej visok delež tako imenovanih "neumiljivih" sestavin. Termin "(ne)umiljiv" ima historično konotacijo: umiljive spojine so tiste, ki jih lahko umilimo, t.j. iz njih napravimo milo - soli maščobnih kislin. Le-teh je približno 0,5 do 1,5% (Kiritsakis, 1998). Trdimo lahko, da so neumiljive sestavine tiste, ki niso kemijsko povezane z maščobnimi kislinami - so tiste, ki niso olje samo (Boskou, 1996).

Pri ekstra deviških oljčnih oljih je kemijski diapazon teh spojin zelo pester - alifatski alkoholi (skvalen), tokoli ( $\alpha$ -tokoferol), steroli ( $\beta$ -sitosterol), pigmenti (klorofili, karotenoidi), hlapne spojine (trans-2-heksenal (vonj po sveže pokošeni travi)), polifenoli. Vse te spojine olja senzorično bogatijo, dajejo jim aromo - pravzaprav flavor,

t.j. vonj, okus in druge senzorične lastnosti, ki so zanj značilne (Amiot *et al.*, 1986). Še posebej zanimivi so tokoli in polifenoli, ker so antioksidanti. Antioksidanti so spojine, ki "odstranjujejo" (angl. *scavenge*) aktivne kisikove spojine in elektrofile, ki inhibirajo reakcije nitroziranja in s kovinskimi kationi tvorijo kelate (Robards & Ryan, 1998). S temi kemijskimi dejavnostmi olja varujejo pred "staranjem" (deterioracijo in razpadom triacilglicerolnih sestavin).

Termin polifenoli označuje take spojine, ki imajo na aromatskem obroču dve ali več hidroksi spojin. Sam izraz ni najbolj posrečen, saj so nekatere polifenolne učinkovine v oljčnih oljih take, da imajo samo eno hidroksilno skupino; izraz je tudi zavajajoč, saj spominja na fenole, ki so v splošni zavesti negativno označeni. V zadnjih letih se vse bolj uveljavljajo termini kot fenolne spojine, naravni fenoli in biofenoli (Bonina *et al.*, 1999).

V splošnem fenole razdelimo na flavonoide in ne flavonoide. V prvem delu naše raziskave smo se ukvarjali s skupnimi polifenoli - termin označuje vse polifenolne sestavine, ki jih določimo z uporabo Folin-Ciocalteu reagenta. Žal je ta reagent pre malo specifičen, saj detektira tudi beljakovinske fenolne skupine v preiskovanem ekstraktu, motijo pa tudi reducenti kot npr. askorbinska kislina (Robards & Ryan, 1998). Poskušali smo ugotoviti morebitno korelacijo med oljčno sorto in vsebnostjo polifenolov ter vpliv staranja oljnega olja na vsebnost polifenolov.

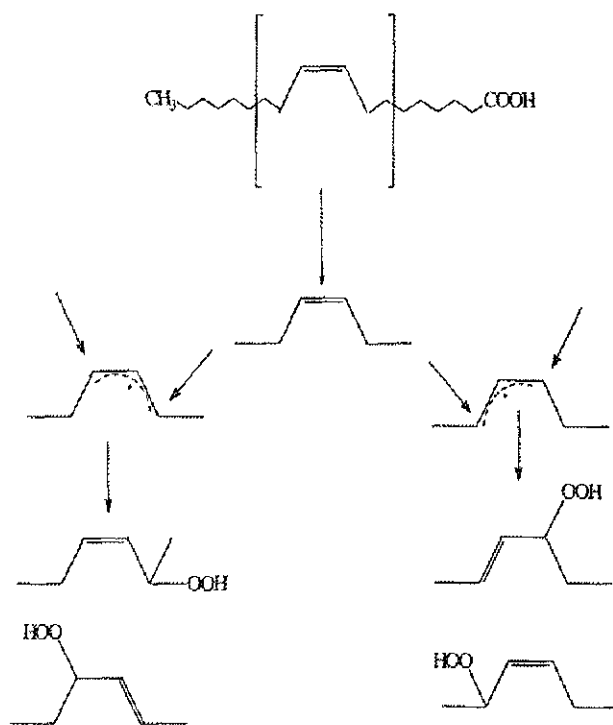
V drugem delu raziskave pa smo se ukvarjali predvsem s hidroksicimetnim in hidroksibenzojskim tipom ne flavonoidnih fenolov. Tako smo na enem vzorcu OO poskušali okarakterizirati posamezne polifenole.

### PREGLED DOSEDANJIH OBJAV

Na sl. 1 je shematsko prikazana avtooksidacija oleinske kisline, ene pomembnejših maščobnih kislin v maščobnem (triacilglicerolnem) delu oljnega olja. Produkt te avtooksidacije so hidroperoksidi, relativno nestabilne spojine, ki sčasoma razpadejo do aldehydov. V primeru oleinske kisline so to oktanal, 2-decenal, 2-undecenal in nonanal - (Zelenik-Blatnik, 1995).

V primeru linolne kisline pa je nastali aldehyd heksanal. Ti aldehydi nadalje (tudi encimatsko, z alkoholnimi dehidrogenazami) zreagirajo v ustrezne alkohole, predvsem v heksan-1-ol, cis-3-heksen-1-ol in trans-2-heksen-1-ol (Giovacchino et al., 1996).

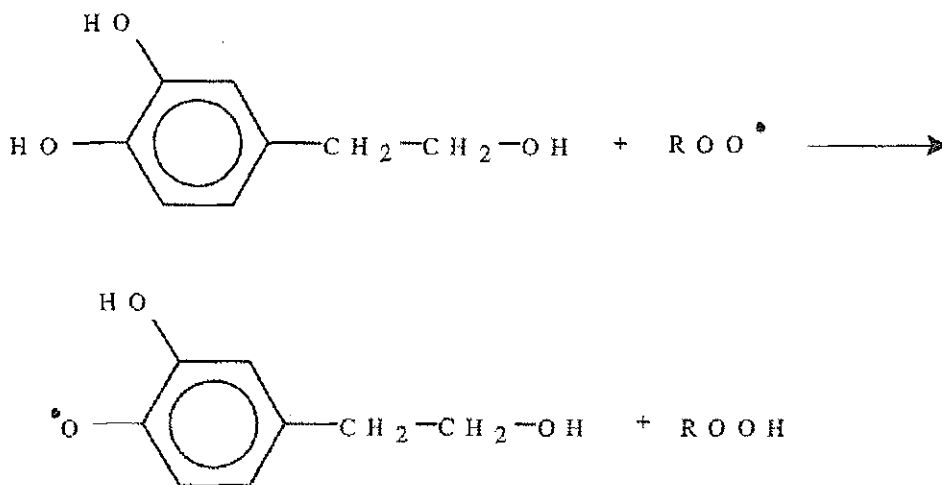
Fenoli zavirajo avtooksidacijsko pot nenasičenih kislin, npr. oleinske kisline tako, da prekinjajo avtooksidacijsko radikalno verigo s tvorbo "novih" radikalov, ko odcepijo vodik na hidroksi skupini- (Nonhebel et al., 1979; Gunstone, 1984).



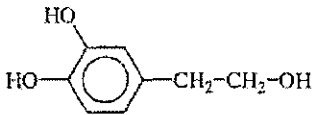
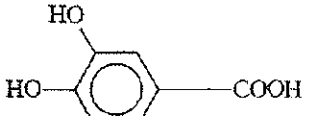
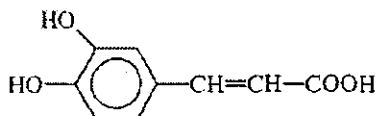
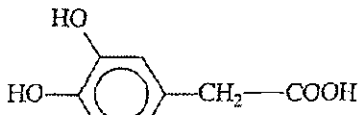
Sl. 1: Avtooksidacija oleinske kisline.  
Fig. 1: Autooxidation mechanism of oleic acid.

Znano je, da so orto polifenoli približno pet- do desetkrat močnejši antioksidati od mono polifenolov (Papadopoulos & Boskov, 1991).

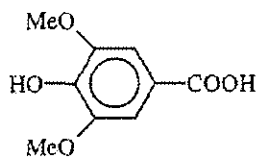
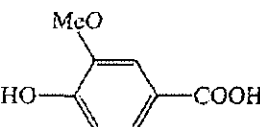
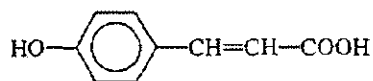
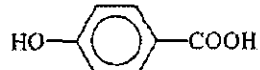
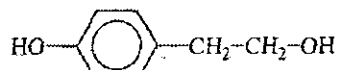
Poglejmo si polifenolne učinkovine podrobneje. Za slovensko poimenovanje nekaterih polifenolov glej Lavrenčič & Stibilj (1999). Na sl. 3 so formule nekaterih ortodifenolov, na sl. 4 pa monofenolov.



Sl. 2: Princip antioksidativnega delovanja polifenola hidroksitirozola.  
Fig. 2: The principle of the antioxidative activity of polyphenol hydroxytyrosol.

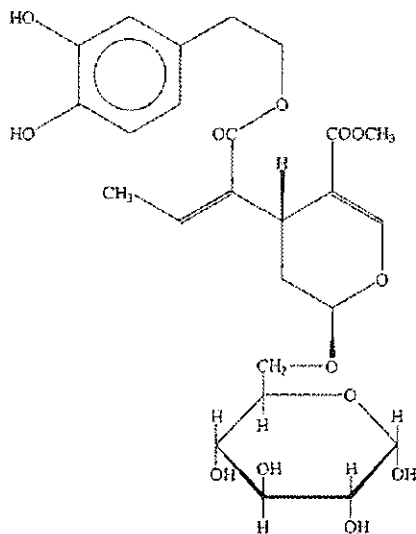
IUPAC nomenklatura	Trivialno ime	Formula
4-(2-hidroksi-etil)-1,2-dihidroksibenzen	hidroksitirosol	
3,4-dihidroksibenzojska kislina	protokatehujska kislina	
3-(3,4-dihidroksifenil)-propenojska kislina	kavna kislina	
2-(3,4-dihidroksifenil)-etanojska kislina	3,4-dihidroksi fenilacetna kislina	

**Sl. 3: Poimenovanje in formule nekaterih ortodifenolov.**  
**Fig. 3: Nomenclature and formulae of some orthodiphenols.**

IUPAC nomenklatura	Trivialno ime	Formula
4-hidroksi-3,5-dimetoksibenzojska kislina	siringilna kislina	
4-hidroksi-3-metoksibenzojska kislina	vanilinska kislina	
3-(4-hidroksifenil)-propenojska kislina	p-kumarna kislina	
4-hidroksi benzojska kislina	p-hidroksibenzojska kislina	
4-(2-hidroksi-etil)-hidroksibenzen	tirosol	

**Sl. 4: Poimenovanje in formule nekaterih monofenolov.**  
**Fig. 4: Nomenclature and formulae of some monophenols.**

Nekateri avtorji poročajo o znatni vsebnosti glukozida oleuropeina (sl. 5) v oljčnih plodovih - (Brenes *et al.*, 1992). Oleuropein naj bi se encimatsko (*Lactobacillus plantarum*) ob pomoči  $\beta$ -glukozidaze hidroliziral v oleuropein aglikon, le-ta pa ob pomoči encima esteraza v hidroksitirosol (Marsilio *et al.*, 1996). V oljčnem olju se nahajata tudi oleuropeinu podobna fenolna glukozida verbaskozid, fenolni del v njem je kavna kislina in ligitrozid, ki je podoben oleuropeinu, fenolni del je tirosol (Boskou, 1996).



Sl. 5: Oleuropein.  
Fig. 5: Oleuropeine.

Na vsebnost polifenolov v oljčnih oljih vplivata predvsem stopnja dozorelosti oljčnih plodov (zrelejši plodovi, nižja vsebnost polifenolov) in pa način ekstrakcije. Centrifugalni postopki pridobivanja oljčnih olj oziroma vsi postopki, pri katerih je nujna uporaba velikih količin (včasih tople) vode (60-80 L/100 kg oljk), lahko znatno zdesetkajo količino polifenolov v oljih (Giovacchino *et al.*, 1994).

Polifenoli in tokoferoli oljčnih olj zavirajo hidrolizo triacilglicerolov in pa oksidacijo dvojnih vezi v triacilglicerolih. Zanimivo je, da so olja, ki so po prešanju motna zaradi emulzije oziroma disperzije, ki pri prešanjih nastane, še stabilnejša oziroma odpornejša na oksidacijo, ker je vodna faza v emulzijah še posebej bogata s polifenoli. Te emulzije se šele po nekaj mesecih ločijo v dve fazi - do takrat pa delujejo izrazito antioksidativno in "antikislinsko" - saj so poseben pufer proti naraščajoči vsebnosti prostih maščobnih kislin. Pri hidrolizi triacilglicerolov se nastajajoče proste kisline vežejo na trdne delce teh disperzij in potonejo na dno - tako zapustijo oljčno fazo in ne kvarijo arome oljčnega olja (Lercker *et al.*, 1994).

## MATERIALI IN METODE

### Material

#### Olja

Raziskavo smo opravili na 16 vzorcih OO letnika 1994, in sicer na 7 vzorcih sorte istrska belica, 4 vzorcih sorte pendolino, 3 vzorcih sorte leccio del corno in na 1 vzorcu sorte leccino. En vzorec je bil mešanica sort istrske belice in leccina.

Pri poskusu okarakterizacije polifenolov smo uporabili en vzorec OO sorte istrska belica.

Vsi vzorci so bili skladiščeni pri temperaturi 20°C, neprodušno zaprti v temne steklenice.

### Standardi

#### Skupni in orto difenoli

Za standardizacijo pri določevanju količine skupnih in o-difenolov smo uporabili Folin-Ciocalteu reagent proizvajalca Fluka Chemie AG (Buchs, Švica), kataloška številka 47641, in pa kavno kislino proizvajalca Fluka Chemie AG (Buchs, Švica), kataloška številka 60020.

#### Polifenoli za HPLC

Proizvajalec vseh uporabljenih standardov je Fluka Chemie AG (Buchs, Švica) in so naštetih po vrstnem redu eluiranja:

standard	kataloška številka	koncentracija (mg/L)
3,4-dihidroksifenilacetna kislina	37860	10,2
tirosol	56105	20,8
4-hidroksibenzojska kislina	54630	20,2
4-hidroksifenilacetna kislina	56140	20,5
vanilinska kislina	94770	20,0
kavna kislina	60020	20,1
siringilna kislina	86230	20,2
p-kumarna kislina	28200	21,9
o-kumarna kislina	28170	20,6

### Metode

Zaradi različne antioksidativne aktivnosti polifenolov smo pri njihovem določevanju uporabljali dve različni kemijski metodi: metodo za določevanje skupnih polifenolov (vključno z orto polifenoli) in metodo za določevanje skupnih orto difenolov (Gutfinger, 1981).

Na enem vzorcu OO sorte istrska belica pa smo poskusili kemijsko identificirati čim več polifenolnih vrst.

Iz vzorca olja smo izolirali polarno frakcijo, kot je to opisano v literaturi (Gutfinger, 1981). V tako dobljenem ekstraktu smo določili skupne polifenole, ortodifenole in posamezne vrste polifenolov.

### Ekstrakcija polifenolov

5 g olja smo raztopili v 50 mL heksana in iz tako pripravljene raztopine ekstrahirali polifenole s trikrat po 20 mL 60% vodne raztopine metanola. Pri vsaki ekstrakciji smo fazi stresali 2 minuti. Iz združenih ekstraktov smo na rotavaporju pri temperaturi 40°C odparili topilo. Sui preostanek smo rekonstituirali v 1 mL metanola in ga do analize hranili pri temperaturi -20°C.

### Določevanje skupnih polifenolov

Skupne polifenole smo določevali tako, kot je to opisano v literaturi (Gutfinger, 1981). Princip metode sloni na modro obarvanem kompleksu, ki nastane pri oksidaciji polifenolov v alkalnem mediju ob pomoči fosforvolframove (VI) in fosformolibdenove (VI) kisline (Ranalli *et al.*, 1999). 100  $\mu$ L ekstrakta smo v 10 mL merilni bučki z vodo razredčili na 5 mL. Raztopini smo dodali 500  $\mu$ L Folin-Ciocalteu reagenta. Po 3 minutah smo v bučko prilili 1 mL nasičene raztopine natrijevega karbonata (cca. 35%) ter vsebino premešali in dolili vodo do 10 mL oznake. Po 1 uri smo izmerili absorbanco pri 725E-9 m glede na slep vzorec, ki so ga sestavljali vsi omenjeni reagenti. Umeritev smo izvedli s kavno kislino v koncentracijskem območju 0-100  $\mu$ g na 10 mL raztopine. Absorbance smo določali s spektrofotometrom proizvajalca Milton Roy, model Spectronic Genesys 5.

### Določevanje orto difenolov

Orto difenole smo določali tako, kot je to opisano v literaturi (Gutfinger, 1981). Metoda sloni na rumeno obarvanem kompleksu, ki se razvije pri pH 6,5 ob prisotnosti natrijevega molibdata (VI) (Ranalli *et al.*, 1999). 200  $\mu$ L ekstrakta smo razredčili na 1 mL z vodo, dodali 1 mL fosfatnega pufru (pH 6,5) in 2 mL 5% raztopine natrijevega molibdata(VI) dihidrata. Tako pripravljeno raztopino smo premešali in po 15 minutah izmerili njeno absorbanco pri 350E-9 m glede na slepi vzorec, pripravljen enako kot testni vzorec (brez metanolnega ekstrakta). Umeritveno krivuljo smo pripravili s kavno kislino v koncentracijskem območju 0-50  $\mu$ g na 4 mL raztopine. Absorbance smo določali s spektrofotometrom proizvajalca Milton Roy, model Spectronic Genesys 5.

### Določevanje posameznih zvrsti polifenolov

Posamezne polifenole smo karakterizirali in določili s pomočjo tekočinske kromatografije visoke zmogljivosti (HPLC) na osnovi retenzijskih časov uporabljenih polifenolnih standardov in s pomočjo kapilarne plinske kromatografije (GLC) na osnovi banke podatkov masnih spektrov.

### HPLC

Uporabljali smo sistem, opremljen z gradientno črpalko, z avtoinjektorjem in UV/VIS detektorjem, model 1050, proizvajalca Hewlett Packard. Polifenole smo ločevali na koloni Hypersil ODS 5 $\mu$ m, 4.6 x 200 mm (HP). Kromatogrami so bili posneti pri 280E-9 m.

Za ločevanje smo uporabili mobilno fazo, ki je omenjena v literaturi (Andrikopoulos *et al.*, 1991), in smo jo modificirali za lastne potrebe tako, da smo dosegli čim boljše ločevanje polifenolov. Sestavljena je bila iz vode, nakisane s fosforno kislino do pH 2 (A), metanola (B) in acetonitrila (C). Pretok mobilne faze je bil 2 mL/min, čas analize pa 34 minut. Začeli smo s 100% A in ga v 12 minutah zmanjšali na 92,8%, B pa zvišali na 3% in C na 4,2%. Tako sestavo mobilne faze smo vzdrževali 7 minut, nato pa v naslednjih 15 minutah A zmanjšali na 0%, B zvišali na 41,7%, C pa na 58,3%. Do začetnih analitskih razmer smo prišli v naslednjih 5 minutah in pred naslednjim vbrizgom še 15 minut skozi kolono črpali začetno mobilno fazo. Vbrizg je bil 10  $\mu$ L metanolnega ekstrakta. Umeritev smo opravili ob pomoči omenjenih standardov v koncentracijskem območju 10-20 mg/L.

### GLC

Analize smo napravili na plinskem kromatografu proizvajalca Hewlett Packard, model HP 6890, opremljenim s *split/splitless* injektorjem, z možnostjo programiranja pretoka nosilnega plina (EPC) ter s plamensko ionizacijskim detektorjem (FID). Pri poskusu identifikacije spojin v vzorcih smo si pomagali z analizami, ki smo jih opravili na plinskem kromatografu Hewlett Packard 5890, opremljenim z masnim detektorjem.

Spojine smo ločevali na kapilarni koloni HP-5 30 m x 320  $\mu$ m x 0,25  $\mu$ m (kat. številka HP 19091-413) proizvajalca Hewlett Packard pri konstantnem pretoku dušika 1,6 mL/min (linearna hitrost 32 cm/sek). Pritisk pri začetni temperaturi peči je bil 65,2 kPa. Temperatura injektorja je bila 250°C, razmerje split pa 20:1. Temperatura peči se je od začetne 110°C s hitrostjo 10°C/min povečevala do 280°C in tako ostala še 10 minut. Vbrizg je bil 1  $\mu$ L metanolnega ekstrakta.

Spojine smo odkrivali pri temperaturi detektorja 280°C, določili pa smo jih s pomočjo površinskih deležev odgovarjajočih pikov.

### REZULTATI

V tab. 1 so zbrani podatki določevanja skupnih polifenolov (PFOH) in pa orto difenolov (ODFOH). Eksperimentalni podatki kažejo na dejstvo, da je bila vsebnost skupnih polifenolov v oljih iz sorte istrska belica znatno višja od vsebnosti le-teh v drugih oljčnih sortah in da se ta s časom znižuje. Ta razlika pri ODFOH ni tako izražena.

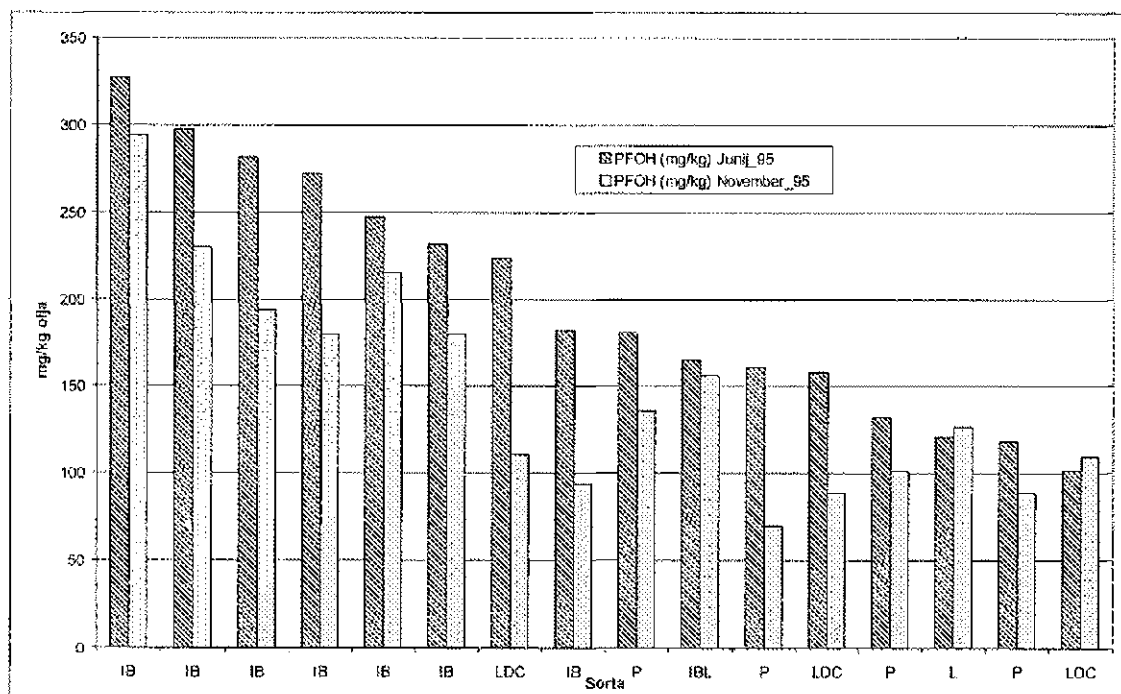
V nekaterih primerih se je vsebnost ortodifenolov s časom celo povečala. Kasnejša raziskovanja so pokazala (Butinar et al., 1999), da je to posledica pretvorbe kompleksnih polifenolov med samim skladiščenjem vzorca, saj pri tem nastane ortodifenol hidroksitirozol.

V tab. 1 sta dva časovna niza določitev: prvega smo izvedli junija 1995, drugega pa novembra 1995. Za vsak niz so predstavljene srednje vrednosti in standardni odmiki. Na sl. 6 so ti podatki grafično predstavljeni za skupne polifenole, na sl. 7 pa za ortodifenole.

Tab. 1: Količini PFOH in ODFOH v nekaterih vzorcih oljčnih olj letnika 94, določeni junija in novembra 1995.

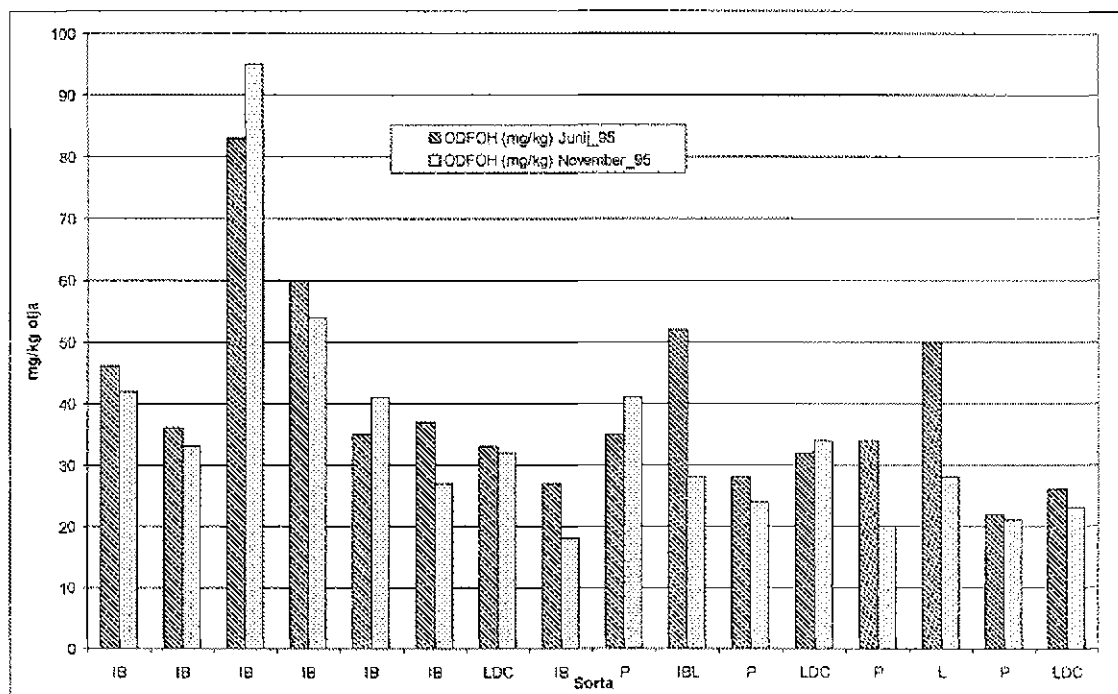
Tab. 1: The polyphenols and orthodiphenols content in some OO samples from the 94 crop, determined in June and November 1995.

VZOREC	OZNAKA	PFOH (mg/kg) Junij_95	PFOH (mg/kg) November_95	ODFOH (mg/kg) Junij_95	ODFOH (mg/kg) November_95
ISTRSKA BELICA	IB	327	294	46	42
ISTRSKA BELICA	IB	298	230	36	33
ISTRSKA BELICA	IB	282	194	83	95
ISTRSKA BELICA	IB	272	180	60	54
ISTRSKA BELICA	IB	247	215	35	41
ISTRSKA BELICA	IB	232	180	37	27
LECCIO DEL CORNO	LDC	224	111	33	32
ISTRSKA BELICA	IB	182	94	27	18
PENDOLINO	P	181	136	35	41
BELICA+LECCINO	IBL	165	156	52	28
PENDOLINO	P	161	70	28	24
LECCIO DEL CORNO	LDC	158	89	32	34
PENDOLINO	P	132	101	34	20
LECCINO	L	121	127	50	28
PENDOLINO	P	118	89	22	21
LECCIO DEL CORNO	LDC	102	110	26	23
Povprečje	SR.V.	200	149	40	35
Standardni odmik	SO	70	62	15	19



Sl. 6: Vsebnost polifenolov v izbranih vzorcih oljčnih olj letnika 94 (IB - sorta istrska belica, LDC - sorta leccio del corno, P - sorta pendolino, IBL - mešanica sort istrska belica in leccino, L - sorta leccino).

Fig. 6: The polyphenols content in selected OO samples from the 94 crop (IB - cv. Istrska belica, LDC - cv. Leccio del corno, P - cv. Pendolino, IBL - the mixture of cv. Istrska belica and Leccino, L - cv. Leccino).



Sl. 7: Vsebnost ortodifenolov v izbranih vzorcih oljčnih olj letnika 94 (IB - sorta istrska belica, LDC - sorta leccio del corno, P - sorta pendolino, IBL - mešanica sort istrska belica in leccino, L - sorta leccino).

Fig. 7: The orthodiphenols content in selected OO samples from the 94 crop (IB - cv. Istrska belica, LDC - cv. Leccio del corno, P - cv. Pendolino, IBL - the mixture of cv. Istrska belica and Leccino, L - cv. Leccino).

Pri identifikaciji polifenolnih zvrsti vzorca oljčnega olja sorte istrska belica ob pomoči HPLC pa smo identificirali in določili štiri glavne polifenole.

Sl. 8 prikazuje HPLC kromatogram standardne raztopine, sl. 9 pa HPLC kromatogram vzorca OO sorte istrska belica (proizvajalec Angelo Hlaj) - vbrizg je bil 10  $\mu$ L.

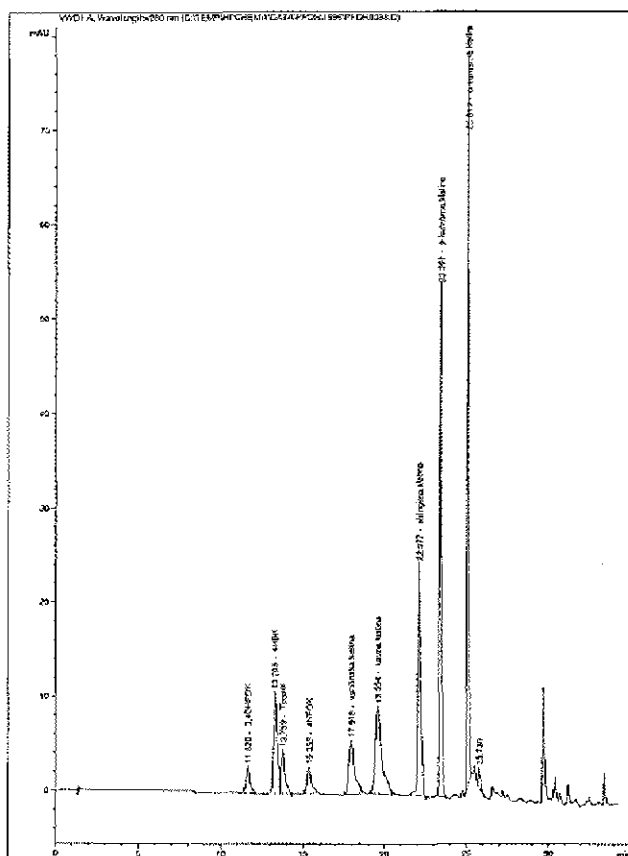
V vzorcu smo določili naslednje polifenole (v mg/kg olja): tirosol - 129,6 mg/kg, vanilinska kislina - 25,5 mg/kg, p-kumarna kislina - 17,5 mg/kg in o-kumarna kislina - 4,7 mg/kg.

Na GLC kromatogramu istega vzorca oljčnega olja, ki ga prikazujemo na sl. 10 (detektor FID), vidimo štiri identificirane polifenole, ki sestavljajo približno 28% vseh polifenolov metanolnem ekstraktu. Polifenole smo določili s FID detektorjem na osnovi površin pikov, identificirali pa s pomočjo banke masnih spektrov. To so tirosol (10%), hidroksitirosol (6%) ter 12% 3-metoksi-4-(2-etoksi)-hidroksibenzen in 2-metoksi-4-(2-etoksi)-hidroksibenzen (dva ločena pika in sicer 11% in 1% površine). Zanimivo je, da v literaturi nismo zasledili podatkov o slednjih.

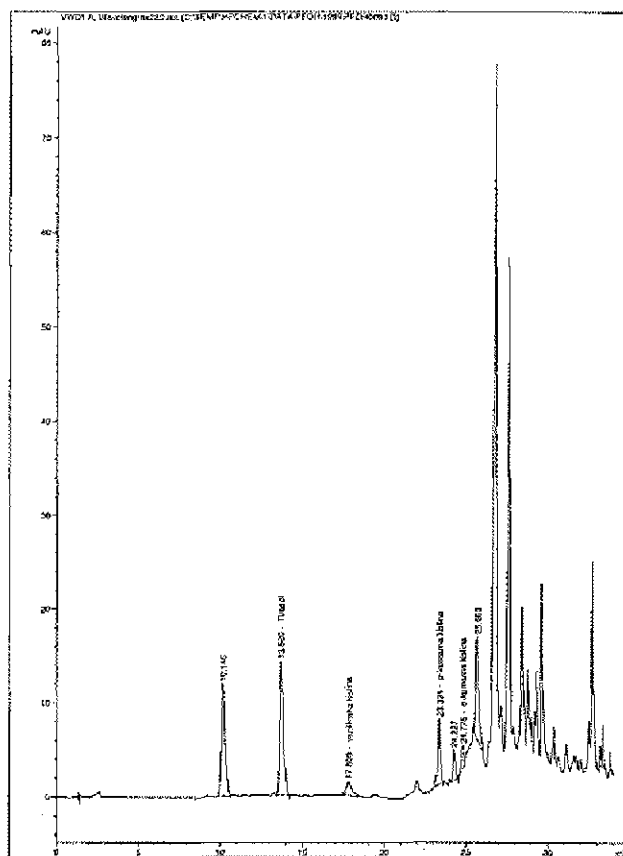
## ZAKLJUČEK

Raziskave so pokazale, da niso vsi polifenoli enako aktivni (tudi ortodifenoli ne), zato bo v prihodnje potrebno določati še neidentificirane polifenolne zvrsti na HPLC kromatogramu, ki imajo retenzijske čase med 20 in 30 minutami. Le tako bomo lahko določili posamezne relativne polifenolne deleže in njihov prispevek k skupnemu antioksidativnemu delovanju.

Podatki o vsebnosti posameznih polifenolov kot tudi podatki o vsebnosti skupnih polifenolov v oljčnih oljih slovenske Istre nam dajejo dragoceno vedenje, s pomočjo katerega bomo lahko predelovali in pridelovali olja, ki bodo še odpornejša na antioksidacijske procese. Obenem bo v prihodnje zanimivo spremljati posamezne fenolne zvrsti in njihovo relativno koncentracijo glede na sorto in leto pridelave oziroma predelave.



Sl. 8: HPLC kromatogram standardne raztopine (na abscisi je čas v minutah, na ordinati pa odgovor detektorja pri 280 HE-9 m).  
 Fig. 8: HPLC chromatogram of the standard solution (x-axis shows the analysis time and y-axis the detector response at 280 HE-9 m).



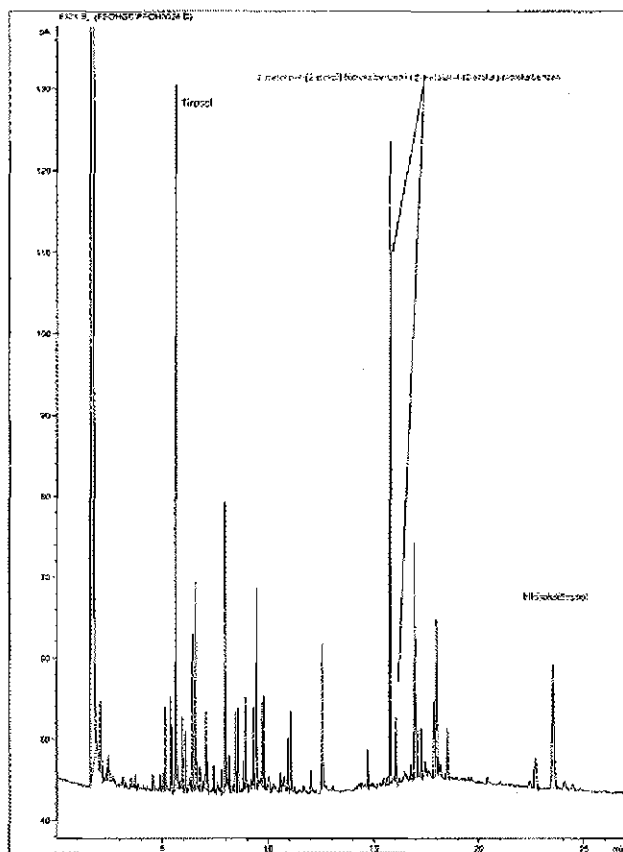
Sl. 9: HPLC kromatogram vzorca OO sorte istrska belica (na abscisi je čas v minutah, na ordinati pa odgovor detektorja pri 280 HE-9 m).  
 Fig. 9: HPLC chromatogram of an OO sample cv. Istrska belica (x-axis shows the analysis time and y-axis the detector response at 280 HE-9 m).

ZAHVALA

Naša zahvala gre Ministrstvu za znanost in tehnologijo Republike Slovenije, Ministrstvu za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano Republike Slovenije, Mestni občini Koper ter Občini Izola in Piran za financiranje raziskovalnega dela. Še posebej se zahvalimo dr.

Franciju Kovaču za pomoč pri interpretaciji masnih spektrov, laboratoriju LABS za nesebično pomoč in asistenco pri eksperimentalnem delu, društvu DOSI za koordinacijo pri zbiranju vzorcev in pa gospodu Angelu Hlaju, ki vsakič poskrbi za žlahtne vzorce OO sorte istrska belica.





Sl. 10: GC-FID kromatogram polarne frakcije vzorca OO sorte istrska belica (na abscisi je čas v minutah, na ordinati pa odgovor detektorja).

Fig. 10: GC-FID chromatogram of the polar fraction of OO sample cv. Istrska belica (x-axis shows the analysis time and y-axis the detector response).

## POLYPHENOLS IN OLIVE OILS FROM SLOVENE ISTRA CROP 94

Bojan BUTINAR

ZRS, SI-6000 Koper, Garibaldijeva 18, E-mail: Bojan.Butinar@zrs-kp.si

Milena BUČAR-MIKLAVČIČ

LABS, 6310 Izola, Zelena ulica 8, E-mail: Milena.Miklavcic@guest.arnes.si

Darinka ČALIJA

LABS, SI-6310 Izola, Zelena ulica 8

### SUMMARY

The content of total polyphenols (pfoh) and orthodiphenols (odfoh) was determined in 16 samples of olive oils crop 94. Pfoh and odfoh are an important factor in the protection of oil against ageing, for they break the autooxidant radical chain. Their content was studied in view of various olive cultivars Istrska belica [(pfoh) 232-327 mg/kg; (odfoh) 27-83 mg/kg], Pendolino [(pfoh) 118-181 mg/kg; (odfoh) 22-35 mg/kg], Leccio del corno [(pfoh) 102-224 mg/kg; (odfoh) 26-32 mg/kg], Leccino [(pfoh) 121 mg/kg; (odfoh) 50 mg/kg] and in view of the time of their storage. The cv. Istrska belica contains most polyphenols. In one sample, however, a presence of various types of polyphenols was determined with HPLC and GLC: tyrosol, hydroxytyrosol, 3-metoxy-4-(2-etoxy)-hydroxybenzene, 2-metoxy-4-(2-etoxy)-hydroxybenzene.

**Key words:** antioxidants, hydroxytyrosol, olive oil, polyphenols, tyrosol

## LITERATURA

- Amiot, M.-J., Fleuriet, A. & Macheix, J.-J. 1986.** Importance and evolution of phenolic compounds in olive during growth and maturation. *J. Agric. Food Chem.*, 34, 823-826.
- Andrikopoulos, N. K., Brueschweiler, H., Felber, H. & Taeschler, Ch. 1991.** HPLC Analysis of Phenolic Antioxidants, Tocopherols and Triglycerides. *JAOCS*, 68, 6, 359-363.
- Bonina, F., Muzzalupo, I. & Uccella, N. 1999.** Oleuropeina ed idrossitiroso, biofenoli dell'ulivo, "Radical scavenging" protettori cutanei. *Olivo & Olio*, 7/8, 48-53.
- Boskou, D. 1996.** *Olive Oil - Chemistry and Technology*. Champaign, Illinois. AOCS Press.
- Brenes, P., Garcia, M., Duran, C., & Garrido, A. 1992.** Concentration of phenolic compounds change in storage brines of ripe olives. *Journal of food science*, 58, 2, 347-350.
- Butinar, B., Bučar-Miklavčič, M., & Čalija, D. 1999.** Polifenoli v izbranih oljčnih oljih Slovenske Istre. neobjavljeni rezultati.
- Giovacchino, L. Di, Solinas, M. & Miccoli, M. 1994.** Effect of extraction systems on the quality of virgin olive oil. *JAOCS*, 71, 11, 1189-1194.
- Giovacchino, L. Di, Angerosa, F. & Giacinto, L. Di 1996.** Effect of Mixing Leaves with Olives on Organoleptic Quality of Oil Obtained by Centrifugation. *JAOCS*, 73, 3, 371-374.
- Gunstone, F. D. 1984.** Reaction of oxygen and unsaturated fatty acids. *JAOCS*, 61, 2, 441-453.
- Gutfinger, T., 1981.** Polyphenols in olive oils, *JAOCS*, 58, 966-968.
- Kiritsakis, A. K. 1998.** *Olive Oil - From the tree to the table*. Trumbull, Connecticut. Food & Nutrition Press, Inc.
- Lavrenčič, A. & Stibilj, V. 1999.** Derivati cimetne kisline in lignin: vsebnost, struktura in lastnosti. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, 74-1, 19-35.
- Lercker, G., Frega, N., Bocci, F. & Servidio, G. 1994.** "Veiled" extra-virgin olive oils: dispersion response related to oil quality. *JAOCS*, 71, 6, 657-658.
- Marsilio, V., Lanza, B. & Pozzi, N. 1996.** Progress in Table Olive Debittering: Degradation in vitro of Oleuropein and Its Derivatives by *Lactobacillus plantarum*. *JAOCS*, 73, 5, 593-597.
- Nonhebel, D. C., Tedder, J. M. & Walton, J. C. 1979.** *Radicals*. Cambridge, Cambridge university press.
- Papadopoulos, G. & Boskou, D. 1991.** Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *JAOCS*, 68, 9, 669-671.
- Ranalli, A., Mattia, G. De, Patumi, M. & Fontanazza, G. 1999.** Caratteristiche analitiche e compositive dell'olio della cultivar I-77. *Olivo & Olio*, 5, 34-43.
- Robards, K. & Ryan, D. 1998.** Phenolic compounds in olives. *Analyst*, 123, Maj, 31R-44R.
- Zelenik-Blatnik, M. 1995.** Nekateri kemijske spremembe sestavin živil med predelavo in skladiščenjem. 17. Bitenčevi živilski dnevi - Podaljšanje obstojnosti živil. Ljubljana. 51-65.