

Cv. Bambina, una varietà minore pugliese: profilo di maturazione, composizione delle drupe e caratterizzazione chimica dell'olio vergine

G. Squeo*
G. Difonzo
R. Silletti
V.M. Paradiso
C. Summo
A. Pasqualone
F. Caponio

Università di Bari Aldo Moro
Dipartimento di Scienze del Suolo
della Pianta e degli Alimenti
Via Amendola 165/A
70126 Bari, Italia

Despite the great number of minor and local olive cultivars, oil extraction at industrial level is carried out mainly using few major varieties. Biodiversity is one of the strength point of olive oil sector to characterize, distinguish, and valorise olive oil productions. In this study, we report the maturation pattern of the drupes and characterize the virgin olive oil obtained from Bambina cultivar, a local variety from Gravina di Puglia, in province of Bari. The name of the cultivar, which means "child", should arise from the ancient use of its oil, appreciate by child because only slightly bitter and pungent. Nonetheless, it is characterized by high total phenolic content. The obtained results support the traditional and local knowledge and gave one first scientific explanation of it. Indeed, despite the significant content of phenols (about 400 mg kg⁻¹) oleochantal, main responsible of pungent taste, represents about 1% of the total phenols. On the contrary, great amount of flavonoids has been detected. Remarkable is also the content of other lipophilic antioxidants, tocopherols and carotenoids.

Keywords: Bambina, Virgin olive oil, Oleochantal, Cultivar, Antioxidants.

INTRODUZIONE

Il settore produttivo degli oli da olive è uno dei più significativi in Italia che, di fatti, rappresenta il secondo paese produttore, con la sola Puglia che estrae circa il 51,9% della produzione nazionale e conta il 20% di tutti i frantoi attivi sul territorio nazionale [1]. Tra le diverse categorie commerciali [2], l'olio extra vergine di oliva (EVOO) è il prodotto di maggiore pregio, caratterizzato dall'assenza di difetti organolettici e dai requisiti di qualità più stringenti [3]. Diversi fattori concorrono a definire le caratteristiche di un olio vergine di oliva e, tra questi, la varietà o genotipo e la maturazione sono considerati da tempo alcuni dei più importanti [4]. Le risorse genetiche dell'olivo, infatti, rappresentano un capitale di inestimabile valore per garantire da un lato la sostenibilità della coltura, grazie al serbatoio di caratteri di produttività, tolleranza agli stress, resistenza agli insetti, vigore e portamento dell'albero e dall'altro per valorizzare e caratterizzare le produzioni. A partire dai primi lavori di catalogazione del germoplasma olivicolo oggi si conoscono circa 80 collezioni di varietà coltivate, distribuite in 24 paesi e che raccolgono 3.280 accessioni [5, 6]. Il genotipo influenza la composizione di acidi grassi degli oli nonché la quantità e qualità dei composti fenolici e volatili e quindi le caratteristiche organolettiche [7-9]. Il profilo fenolico di drupe e rispettivi oli è qualitativamente influenzato dalla cultivar [10-12]. Ad esempio, l'oleuropeina è pressoché presente nelle drupe di tutte le cultivar mentre, al contrario, la demetiloleuropeina ed il verbascoside sono cultivar-dipendenti tanto da essere stati proposti come marcatori per l'origine genetica dei frutti [13]. Similmente, anche la frazione volatile degli oli è fortemente influenzata dalla cultivar. Angerosa et al. [14] hanno, infatti, indi-

(*) CORRESPONDING AUTHOR:
E-mail: giacomo.squeo@uniba.it

viduato la varietà come uno dei fattori dominanti per la formazione dell'aroma sebbene la quantità di prodotti può essere influenzata dalla fase di maturazione e stoccaggio. Tura et al. [15], in uno studio eseguito per 4 anni su 18 cultivar di olive locali del Lago di Garda occidentale, hanno dimostrato come i profili dei composti volatili e gli attributi sensoriali degli oli erano fortemente influenzati dalla cultivar. Nonostante la grande importanza rivestita dal genotipo, spesso la produzione di olio è eseguita utilizzando solo un numero ristretto di cultivar maggiori, a fronte di un patrimonio genetico di circa 800 cultivar, espressione dei diversi territori [9]. Ad aumentare il rischio di erosione genetica si è aggiunta, negli ultimi anni, la tendenza a impianti super-intensivi adatti solo per un ristretto pool di varietà.

La valorizzazione del germoplasma olivicolo autoctono rappresenta una delle armi a disposizione del comparto olivicolo-oleario italiano per fronteggiare la concorrenza globale. In questo senso, la Puglia possiede numerose varietà locali da poter valorizzare. È il caso della Bambina di Gravina di Puglia il cui nome, secondo la tradizione popolare, sembrerebbe derivare dall'attitudine di questo olio alla nutrizione degli infanti data la scarsa intensità di amaro e piccante. Obiettivo del presente lavoro è stato quello di caratterizzare per la prima volta gli oli di questa cultivar minore pugliese.

1. MATERIALI E METODI

1.1. CAMPIONAMENTO

Le olive di cv. Bambina sono state raccolte nell'annata 2017/2018 a quattro successivi gradi di maturazione intervallando i campionamenti ogni due settimane partendo da circa 15 giorni prima della data ottimale di raccolta e nell'arco di tempo compreso tra ottobre e dicembre. Le drupe sono state suddivise per ciascun campionamento in tre aliquote distinte costituenti le repliche biologiche. Ai fini della caratterizzazione dell'olio vergine di cv. Bambina è stato analizzato un olio massa monovarietale della stessa cultivar, prodotto presso il Frantoio Raguso (Gravina di Puglia, Bari) nella medesima annata. La pasta di olive ottenuta utilizzando la tradizionale molazza dopo gramolazione (circa 30-40 minuti) era sottoposta a centrifugazione mediante decanter a due fasi per l'estrazione dell'olio.

1.2. ANALISI DELLE DRUPE

Il grado di maturazione delle olive è stato valutato sulla base dell'indice di pigmentazione (Pi) suddividendo le drupe in sei classi da 0 (epicarpo completamente verde) a 5 (epicarpo completamente invariato e >50% polpa viola) [16]. L'umidità percentuale delle drupe è stata determinata mediante termobilancia (Mod.

MAC 110/NP, Radweg Wagi Elektroniczne, Radom, Poland) utilizzando circa 1 grammo di pasta di olive. Il tenore in grasso è stato determinato mediante estrattore Soxhlet come precedentemente riportato [17] mentre i solidi solubili totali mediante rifrattometro Abbe da banco.

1.3. ANALISI DELL'OLIO VERGINE DI OLIVA

Le misure di acidità, perossidi, costanti spettrofotometriche e composizione acidica sono state eseguite seguendo i metodi ufficiali [3]. L'estrazione dei composti fenolici totali e la successiva determinazione sono stati effettuati come riportato in [18]. Brevemente, i composti fenolici erano estratti con una miscela metanolo:acqua (70:30 v/v) e, dopo filtrazione, 100 μ L di estratto erano utilizzati per la reazione mediante reattivo di Folin-Ciocalteu, leggendo infine l'assorbanza a 750 nm. Mediante una opportuna curva di calibrazione i risultati sono stati espressi come mg di acido gallico su kg di olio. Per l'analisi del profilo fenolico HPLC, si procedeva innanzitutto all'estrazione dei fenoli, aumentando, in questo caso, il rapporto campione/miscela e aggiungendo una soluzione di acido gallico (100 mg kg⁻¹) come standard interno necessario per la quantificazione. Un sistema HPLC (Dionex Ultimate 3000 RSLC, Waltham, MA, USA) composto da pompa binaria (HPG 3200RS), autocampionatore (WPS 3000), compartimento per colonna cromatografica termostata (TCC 3000), rivelatore UV a serie di diodi (3000 RS) è stato utilizzato secondo le condizioni riportate in [19] con alcune modifiche. In particolare, la fase mobile è stata costituita da acqua/acido acetico (99:1 v/v) (solvente A) e acetonitrile/metanolo/acido acetico (50:49:1 v/v/v) (solvente B). Il flusso era di 1 mL min⁻¹ e la temperatura della colonna 30°C. La separazione è avvenuta con eluizione in gradiente secondo il seguente programma: 95% A per 1 min; 80% A in 10 min; 56% A in 12 min; 41% A in 10 min; 10% di A in 14 min. Gli spettri UV degli estratti fenolici sono stati registrati tra i 200 ed i 380 nm mentre l'analisi quantitativa è stata effettuata considerando il cromatogramma a 280 nm. L'identificazione dei composti è stata eseguita confrontando i tempi di ritenzione con quelli dei rispettivi standard e, dove assenti questi ultimi, con i dati in bibliografia [20]. I tocoferoli erano determinati mediante HPLC come riportato in Makhlof et al., utilizzando il medesimo sistema cromatografico [21]. I carotenoidi totali e le clorofille totali sono stati determinati spettrofotometricamente come precedentemente riportato [21].

1.4. PRESENTAZIONE DEI RISULTATI

Tutte le analisi sono state eseguite in doppio su ciascuna replica biologica per ciascun campionamento sulle drupe mentre in triplo sull'olio vergine di oliva. I risultati sono stati riportati come media e deviazione standard. Gli istogrammi ed i grafici a dispersione

sono stati realizzati mediante Microsoft Excel 2010 (Microsoft Inc., Redmond, WA, USA).

2. RISULTATI E DISCUSSIONE

2.1. CARATTERISTICHE DELLE OLIVE NEL CORSO DELLA MATURAZIONE

La Figura 1 riporta l'evoluzione dell'indice di pigmentazione delle drupe nel corso della maturazione. Nell'annata oggetto di studio, l'indice di pigmentazione era zero all'inizio della maturazione quando l'e-

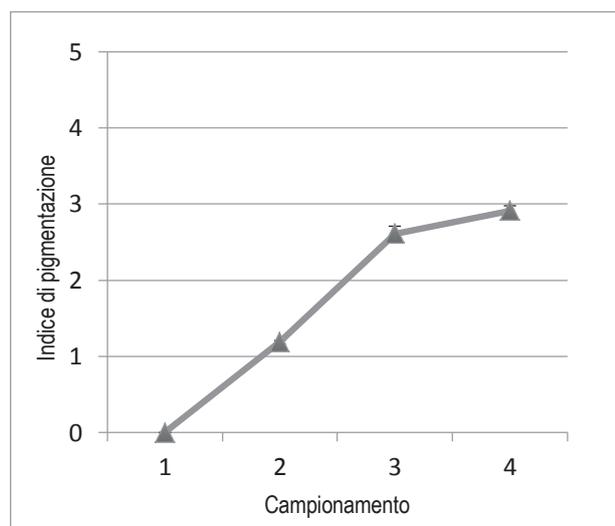


Figura 1 – Valori medi e deviazione standard dell'indice di pigmentazione delle drupe di cv. Bambina nel corso della maturazione ($n=3$)

picarpo del frutto era completamente verde. Da questo punto in poi si osservava un incremento costante e regolare raggiungendo il valore di circa 1 (meno del 50% dell'epicarpo invariato) al secondo campionamento e successivamente di circa 3 (epicarpo completamente invariato) al terzo. Tra il terzo ed il quarto campionamento sebbene si registrasse un ulteriore aumento del Pi, questo era molto contenuto.

I tenori di umidità, materia grassa e solidi solubili nel corso della maturazione sono riportati in Figura 2. Il tenore in umidità delle drupe oscillava tra circa il 49% ed il 43%, con una diminuzione progressiva durante la maturazione, come noto [22]. Viceversa, il contenuto in olio si presentava assolutamente costante, senza che fossero evidenziate differenze significative durante tutta la maturazione (dati non mostrati), oscillando tra circa il 19% ed il 23% su peso fresco corrispondente in media al 39% su peso secco. Generalmente, la cinetica di accumulo di olio nelle drupe segue un andamento sigmoidale di crescita fino ad un asintoto [23]. I dati ottenuti nel presente lavoro suggeriscono come la cultivar Bambina raggiunses-

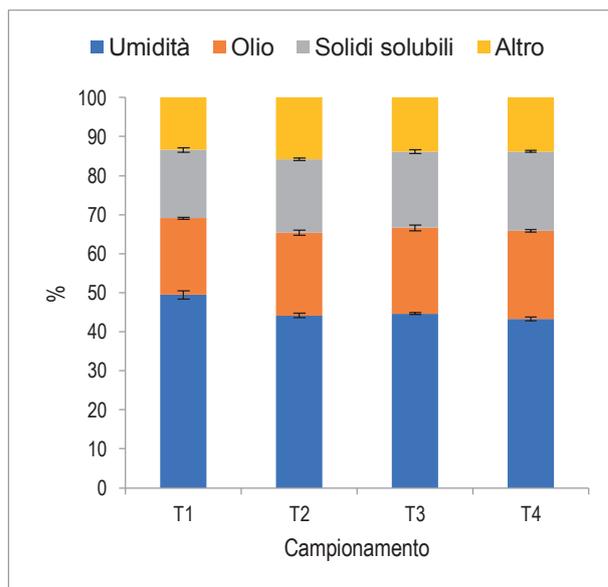


Figura 2 – Valori medi e deviazione standard della percentuale di umidità, olio e solidi solubili delle drupe di cv. Bambina nel corso della maturazione ($n=3$)

se già a metà ottobre, ossia in corrispondenza del primo campionamento, il quantitativo massimo possibile di olio, precocemente rispetto a quanto riportato per altre varietà [23], sebbene sia noto come anche le condizioni pedoclimatiche influenzino questi andamenti [22]. Il contenuto in solidi solubili totali, che variava da circa il 17% al 20% su peso fresco, presentava un andamento parabolico, con una leggera diminuzione al secondo campionamento seguita da un successivo aumento, similmente a quanto riportato da altri autori [24].

2.2. CARATTERISTICHE DELL'OLIO VERGINE DI OLIVA

Le caratteristiche di base dell'olio vergine di oliva di cv. Bambina sono riportate in Tabella I dalle quale si evince come l'olio massa considerato rientrasse nella categoria extra vergine [25] sebbene la percentuale di acidi grassi liberi fosse comunque discreta. Ciò potrebbe essere dovuto all'elevato grado di maturazione delle olive; infatti, è noto come con il progredire della maturazione delle drupe gli oli vergini corrispondenti presentino maggiori tenori di acidità libera [26]. Il profilo acidico era quello tipico degli oli di oliva con una preponderanza di acido oleico seguita in ordine decrescente dal palmitico, linoleico, stearico e palmitoleico. Gli acidi grassi monoinsaturi rivestono un ruolo fondamentale nelle sostanze grasse a causa delle loro implicazioni nutrizionali e per gli effetti sulla stabilità ossidativa. In particolare, il rapporto tra acido oleico e linoleico (O/L) è strettamente legato alla stabilità dell'olio [27] e, nell'olio di Bambina si attestava a circa 8,5, notevolmente superiore al valore di 7 indicato come soglia per un olio dalla buona stabilità [28].

Tabella I – Analisi di base e composizione acidica dell'olio massa di cv. Bambina (media \pm deviazione standard; $n=3$)

Parametro	Media	DS
Acidità (g 100 g ⁻¹ acido oleico)	0,55	0,04
Perossidi (meq O ₂ kg ⁻¹)	6,3	0,34
K ₂₃₂	1,78	0,41
K ₂₇₀	0,20	0,04
ΔK	0,01	0,00
<i>Composizione acidica (area %)</i>		
acido miristico - C _{14:0}	0,01	0,00
acido palmitico - C _{16:0}	13,85	0,33
acido palmitoleico - C _{16:1}	1,39	0,18
acido margarico - C _{17:0}	0,03	0,00
acido eptadecenoico - C _{17:1}	0,08	0,00
acido stearico - C _{18:0}	2,17	0,02
acido oleico - C _{18:1}	72,64	0,68
acido linoleico - C _{18:2}	8,57	0,21
acido linolenico - C _{18:3}	0,57	0,03
acido arachico - C _{20:0}	0,36	0,01
acido gadoleico - C _{20:1}	0,31	0,01
acido beenico - C _{22:0}	0,01	0,00
acido lignocericico - C _{24:0}	0,01	0,00

La successiva Tabella II riporta il contenuto in componenti minori dell'olio di cultivar Bambina oggetto di studio. Come si può evincere, l'olio presentava un contenuto fenolico discreto, di poco inferiore ai 400 mg kg⁻¹, simile a quello di varietà ben più note per il loro tenore fenolico, come la Coratina, generalmente riconosciuta come una varietà ad alto contenuto fenolico [29-31]. È in ogni caso da considerare come il contenuto fenolico totale sia dipendente non solo dal genotipo ma da numerosi altri fattori ambientali e tecnologici [31-33]. Passando ad esaminare il profilo fenolico, si osserva come tra le forme più abbondanti vi erano quelle dei secoiridoidi, derivanti dalla oleuropeina e dal ligstroside, come ampiamente noto [34] ma è soprattutto interessante notare come gli oli mostravano contenuti notevolissimi di flavonoidi (luteolina e apigenina), evidenziando un profilo assolutamente caratteristico. Il tenore in acidi fenolici (vanillico, siringico, *p*-cumarico e *trans*-ferulico) è risultato essere molto modesto mentre tra gli alcoli fenolici, il tirosolo (*p*-HPEA) era il maggiormente presente. Complessivamente la sommatoria dei fenoli totali determinati per HPLC era di circa un ordine di grandezza inferiore rispetto al tenore determinato mediante analisi spettrofotometrica, come evidenziato in altri studi [30,35]. Ciò sarebbe dovuto da un lato al fatto che alla sommatoria HPLC concorrono solo i singoli fenoli identificati e dall'altro che, come noto, l'analisi dei fenoli totali mediante Folin-Ciocalteu soffre dell'interferenza positiva di altri composti [36]. Due aspetti salienti emergono dall'analisi del profilo fenolico degli oli Bambina. Innanzitutto, è interessante notare come

Tabella II – Valori medi (mg kg⁻¹, $n=3$) e deviazione standard degli antiossidanti dell'olio massa di cv. Bambina

Parametro	Media	DS
TPC	385	10
3,4-DHPEA*	0,36	0,07
<i>p</i> -HPEA	1,92	0,09
Ac. Vanillico	0,65	0,04
Ac. Siringico	0,54	0,03
Ac. <i>p</i> -cumarico	0,03	0,12
Ac. <i>trans</i> -ferulico	0,25	0,19
3,4-DHPEA-EDA	5,80	0,66
3,4-DHPEA-EDA-ox	2,36	0,11
3,4-DHPEA-EDA-carb	5,68	0,56
<i>p</i> -HPEA-EDA	0,56	0,23
Pinoresinolo	2,28	0,22
3,4-DHPEA-EA	1,14	0,13
Luteolina	8,34	0,40
<i>p</i> -HPEA-EA	4,95	0,41
Apigenina	6,28	0,42
α -tocoferolo	191,16	7,84
β - γ - tocoferoli	2,91	0,59
Tocoferoli totali	194,06	7,95
Carotenoidi totali	42,02	0,69
Clorofille	46,69	1,23

* Espressi come equivalenti di acido gallico (GAE). TPC, contenuto fenolico totale; 3,4-DHPEA, idrossitirosolo; *p*-HPEA, tirosolo; 3,4-DHPEA-EDA, aglicone decarbossimetiloleuropeina, forma dialdeidica; 3,4-DHPEA-EDA-ox, aglicone decarbossimetiloleuropeina, forma dialdeidica ossidata; 3,4-DHPEA-EDA-carb, aglicone oleuropeina, forma dialdeidica; *p*-HPEA-EDA, aglicone decarbossimetilglistroside, forma dialdeidica; 3,4-DHPEA-EA, aglicone oleuropeina; *p*-HPEA-EA, aglicone ligstroside.

l'oleocantale (*p*-HPEA-EDA) sia estremamente basso nell'olio di questa cultivar, arrivando a rappresentare poco più dell'1% rispetto alla sommatoria totale. Il bassissimo contenuto di oleocantale, noto per essere uno dei principali responsabili del piccante degli oli [37], dà conferma della tradizione popolare che vorrebbe l'olio di cv. Bambina adatto agli infanti. In secondo luogo, come già evidenziato, l'olio presentava tenori molto elevati di flavonoidi e di luteolina in particolare, che giustificerebbero l'elevato tenore di fenoli totali.

Come noto, alle caratteristiche di stabilità e nutrizionali degli oli concorrono anche antiossidanti lipofili come i tocoferoli [38]. L'olio di Bambina presentava un profilo tipico, con l' α -tocoferolo come forma maggiormente presente [39]. Il tenore in clorofille era simile a quello riportato per altre cultivar adattate allo stesso territorio [40-41] mentre rimarchevole risultava il tenore in carotenoidi, altra importante classe di antiossidanti naturali [38] generalmente maggiore di quanto riportato in altri studi [40-43].

3. CONCLUSIONI

Il presente lavoro ha evidenziato come i frutti di varietà Bambina presentino un'evoluzione molto regolare, una maturazione precoce ed il rispettivo olio vergine un profilo di antiossidanti molto caratteristico. Il bassissimo tenore di oleocantale riscontrato offre una spiegazione plausibile di quanto tramandato dalla tradizione popolare che vuole l'olio vergine di questa varietà idoneo e gradito al consumo dei più piccoli. Viceversa, era altamente ricco in flavonoidi e con un contenuto notevole di tocoferoli e carotenoidi denotando importanti proprietà salutistiche e nutrizionali. La biodiversità olivicola rappresenta uno dei punti di forza della filiera nazionale. In questo senso, lo studio delle caratteristiche degli oli di varietà minori aprirebbe le porte a strategie di valorizzazione. Bisogna considerare, infatti, che non esiste l'olio vergine di oliva ma gli oli vergini di oliva, ognuno con le sue peculiarità e quindi in grado di soddisfare le necessità di consumatori differenti.

Acknowledgements

Il lavoro è stato realizzato con il contributo di ricerca AGER 2 Project, grant no. 2016-0105. Gli autori dichiarano di non avere conflitti di interesse e di aver contribuito in parti uguali alla realizzazione del lavoro. L'autore corrispondente ha curato in modo particolare la revisione finale del lavoro.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo Alimentare (ISMEA), Scheda di settore olio di oliva. Gennaio 2019. <http://www.ismea.it/istituto-di-servizi-per-il-mercato-agricolo-alimentare>.
- [2] Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee n. 201 del 26 luglio 2001. Regolamento CE n. 1513 del 23 luglio 2001.
- [3] Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee n. 248 del 5 settembre 1991. Regolamento CEE n. 2568 dell'11 luglio 1991.
- [4] G.F. Montedoro, Oil: Variety and technology: Two factors affecting quality. *Olivae* 29, 28-30 (1989).
- [5] G. Bartolini, G. Prevost, C. Messeri, C. Carignani, Olive germplasm: cultivars and world-wide collections. FAO/Plant Production and Protection, Rome. (2005). Available at: www.oleadb.it
- [6] A. Belaj, M. del Carmen Dominguez-García, S.G. Atienza, N.M. Urdíroz, R. De la Rosa, Z. Satovic, A. Martín, A. Kilian, I. Trujillo, V. Valpuesta, C. Del Río, Developing a core collection of olive (*Olea europaea* L.) based on molecular markers (DARs, SSRs, SNPs) and agronomic traits. *Tree Genetics & Genomes* 8, 365-378 (2012).
- [7] M. Uceda, M. Hermoso, La Calidad del Aceite de Oliva. In Junta de A, Sevilla and Mundi-Prensa (Eds.), *El Cultivo del Olivo* (pp. 589-614), Madrid, Spain (2001).
- [8] A. Allalout, D. Krichnène, K. Methenni, A. Taamalli, I. Oueslati, D. Daoud, M. Zarrouk, Characterization of virgin olive oil from super intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Scientia Horticulturae* 129, 77-83 (2009).
- [9] A. Rotondi, B. Alfei, M. Magli, G. Pannelli, Influence of genetic matrix and of crop year on chemical and sensory profiles of Italian monovarietal extra virgin olive oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90, 2641-2646 (2010).
- [10] M. Brenes, A. García, J.J. Rios, P. García, A. Garrido, Use of 1-acetoxypinoresinol to authenticate Picual olive oils. *International Journal of Food Science & Technology* 37, 615-625 (2002).
- [11] S. Gómez-Alonso, M.D. Salvador, G. Fregapane, Phenolic compounds profile of cornicabra virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 6812-6817 (2002).
- [12] M. Servili, R. Selvaggini, S. Esposto, A. Taticchi, G. Montedoro, G. Morozzi, Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography A* 1054, 113-127 (2004).
- [13] M. Esti, L. Cinquanta, E. La Notte, Phenolic compounds in different olive varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 32-35 (1998).
- [14] F. Angerosa, M. Servili, R. Selvaggini, A. Taticchi, S. Esposto, G. Montedoro, Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. *Journal of Chromatography A* 1054, 17-31 (2004).
- [15] D. Tura, O. Failla, D. Bassi, S. Pedo, A. Seraiocco, Cultivar influence on virgin olive (*Olea europaea* L.) oil flavor based on aromatic compounds and sensorial profile. *Scientia Horticulturae* 118, 139-148 (2008).
- [16] S. Camposeo, G.A. Vivaldi, C.E. Gattullo, Ripening indices and harvesting times of different olive cultivars for continuous harvest. *Scientia Horticulturae* 151, 1-10 (2013).
- [17] F. Caponio, G. Squeo, J.I. Monteleone, V.M. Paradiso, A. Pasqualone, C. Summo, First and second centrifugation of olive paste: influence of talc addition on yield, chemical composition and volatile compounds of the oils. *LWT-Food*

- Science and Technology 64, 439-445 (2015).
- [18] G. Squeo, F. Caponio, V.M. Paradiso, C. Summo, A. Pasqualone, I. Khmelinskii, E. Sikorska, Evaluation of total phenolic content in virgin olive oil using fluorescence excitation-emission spectroscopy coupled with chemometrics. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 99, 2513-2520 (2019).
- [19] A. Tamborrino, R. Romaniello, F. Caponio, G. Squeo, A. Leone, Combined industrial olive oil extraction plant using ultrasounds, microwave, and heat exchange: Impact on olive oil quality and yield. *Journal of Food Engineering* 245, 124-130 (2019).
- [20] International Olive Council, Determination of biophenols in olive oils by HPLC. COI/T.20/Doc No 29 (2009).
- [21] F.Z. Makhoulouf, G. Squeo, M. Barkat, A. Trani, F. Caponio, Antioxidant activity, tocopherols and polyphenols of acorn oil obtained from *Quercus* species grown in Algeria. *Food Research International* 114, 208-213 (2018).
- [22] G. Beltrán, C. Del Rio, S. Sánchez, L. Martínez, Seasonal changes in olive fruit characteristics and oil accumulation during ripening process. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84, 1783-1790 (2004).
- [23] S. Trapani, M. Migliorini, C. Cherubini, L. Cecchi, V. Canuti, G. Fia, B. Zanoni, Direct quantitative indices for ripening of olive oil fruits to predict harvest time. *European Journal of Lipid Science and Technology* 118, 1202-1212 (2016).
- [24] C. Nergiz, Y. Engez, Compositional variation of olive fruit during ripening. *Food Chemistry* 69, 55-59 (2000).
- [25] Gazzetta ufficiale dell'Unione europea n. 326 del 1 dicembre 2016. Regolamento delegato (UE) 2016/2095 della Commissione del 26 settembre 2016.
- [26] M.D. Salvador, F. Aranda, G. Fregapane, Influence of fruit ripening on 'Cornicabra' virgin olive oil quality a study of four successive crop seasons. *Food Chemistry* 73, 45-53 (2001).
- [27] I. Oueslati, C. Anniva, D. Daoud, M.Z. Tsimidou, M. Zarrouk, Virgin olive oil (VOO) production in Tunisia: The commercial potential of the major olive varieties from the arid Tataouine zone. *Food Chemistry* 112, 733-741 (2009).
- [28] A.K. Kiritsakis, G.D. Nanos, Z. Polymenopoulos, T. Thomai, E.Y. Sfakiotakis, Effect of fruit storage conditions on olive oil quality. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 75, 721-724 (1998).
- [29] P. Vossen, Olive oil: history, production, and characteristics of the world's classic oils. *HortScience*, 42, 1093-1100 (2007).
- [30] A. Baiano, C. Terracone, I. Viggiani, M.A.D. Nobile, Effects of cultivars and location on quality, phenolic content and antioxidant activity of extra-virgin olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 90, 103-111 (2013).
- [31] F. Caponio, G. Squeo, L. Brunetti, A. Pasqualone, C. Summo, V.M. Paradiso, P. Catalano, B. Bianchi, Influence of the feed pipe position of an industrial scale two-phase decanter on extraction efficiency and chemical-sensory characteristics of virgin olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98, 4279-4286 (2018).
- [32] F. Caponio, G. Squeo, M. Curci, R. Silletti, V.M. Paradiso, C. Summo, C. Crecchio, A. Pasqualone, Calcium carbonate effect on alkyl esters and enzymatic activities during olive processing. *Italian Journal of Food Science* 30, 381-392 (2018).
- [33] G. Squeo, A. Tamborrino, A. Pasqualone, A. Leone, V.M. Paradiso, C. Summo, F. Caponio, Assessment of the Influence of the Decanter Set-up During Continuous Processing of Olives at Different Pigmentation Index. *Food and Bioprocess Technology* 10, 592-602 (2017).
- [34] A. Bendini, L. Cerretani, A. Carrasco-Pancorbo, A.M. Gómez-Caravaca, A. Segura-Carretero, A. Fernández-Gutiérrez, G. Lercker, Phenolic molecules in virgin olive oils: a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade. *Molecules*, 12, 1679-1719 (2007).
- [35] D. Ocakoglu, F. Tokatli, B. Ozen, F. Korel, Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years. *Food Chemistry* 113, 401-410 (2009).
- [36] D. Huang, B. Ou, R.L. Prior, The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 1841-1856 (2005).
- [37] G.K. Beauchamp, R.S. Keast, D. Morel, J. Lin, J. Pika, Q. Han, P.A. Breslin, Phytochemistry: ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. *Nature* 437, 45-46 (2005).
- [38] E. Choe, D.B. Min, Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 8, 345-358 (2009).
- [39] M. Jukić Špika, K. Kraljić, O. Koprivnjak, D. Škevin, M. Žanetić, M. Katalinić, Effect of agronomical factors and storage conditions on the tocopherol content of Oblica and Leccino virgin olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 92, 1293-1301 (2015).
- [40] G. Squeo, R. Silletti, C. Summo, V.M. Paradiso, A. Pasqualone, F. Caponio, Influence of calcium carbonate on extraction yield and

- quality of extra virgin oil from olive (*Olea europaea* L. cv. Coratina). *Food Chemistry* 209, 65-71 (2016).
- [41] A. Tamborrino, G. Squeo, A. Leone, V.M. Paradiso, R. Romaniello, C. Summo, A. Pasqualone, P. Catalano, B. Bianchi, F. Caponio, Industrial trials on coadjuvants in olive oil extraction process: effect on rheological properties, energy consumption, oil yield and olive oil characteristics. *Journal of Food Engineering* 205, 34-46 (2017).
- [42] M.N. Criado, M.P. Romero, M. Casanovas, M.J. Motilva, Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons. *Food chemistry* 110, 873-880 (2008).
- [43] D. Giuffrida, F. Salvo, A. Salvo, L. Cossignani, G. Dugo, Pigments profile in monovarietal virgin olive oils from various Italian olive varieties. *Food chemistry* 124, 1119-1123 (2011).

Received: March 28, 2019

Accepted: April 9, 2019