

Analisi qualitative per la caratterizzazione di oli monovarietal

Bandino G.^{1*}, Sedda P.¹, Moro C.¹ e Mulas M.²

¹ Dipartimento per la Ricerca nella Arboricoltura di AGRIS - Sardegna, Cagliari

² Dipartimento di Scienze della Natura e del Territorio, Università di Sassari

Quality analysis to characterize monovarietal oils

Abstract. In order to find the best olive harvest time and to maximize the oil quality in different olive growing areas of Sardinia a specific program of investigation was started. Maturity indexes of olives were also observed with the aim to give responses to technical questions linked to olive oil process steps. A large sample of monovarietal oils were taken in the regional land from known stocks. About 200 samples were submitted to chemical and organoleptic analysis. All the main olive cultivars of Sardinia were examined including the following groups: 'Bosana - Tondo sassarese - Palma - Olieddu', 'Tonda di Cagliari - Nera di Gonnos - Majorca - Manna', 'Semidana', and 'Nera di Oliena - Nera di Villacidro - Terza - Paschixedda - Corsicana da mensa - Ogliastrina'. Some specific descriptors of oil sensory characteristics were defined for the use in the panel test analysis. The method permits to obtain a specific sensory profile for every cultivar and examined sample, as well as comparable data bases for ANOVA treatments. Oils from different cultivars have qualitative differences of the sensory evaluation for olive fruit taste, bitter, spicy, harmony, richness-pleasantly today transformable in numeric expressions by means of a specific software. The complexity of an ensemble of similar descriptors and variables may be also the object of a graphic representation and statistic elaboration.

Key words: *Olea europaea*, cultivar, Sardinia, extravirgin oil, sensory analysis.

Introduzione

Il panorama varietale dell'olivo in Sardegna vede la larga prevalenza della cultivar 'Bosana' e dei suoi

sinonimi ('Tondo sassarese', 'Palma', 'Olieddu', 'Pibireddu'), soprattutto nelle province del Centro-Nord dell'Isola (Angiolillo *et al.*, 2000; Bandino *et al.*, 1999; 2001). Questa cultivar ha caratteristiche assolutamente peculiari dei derivati oleari, con una buona dotazione di polifenoli a maturazione della drupa, che contribuiscono in larga misura a rendere ben riconoscibili la maggior parte delle produzioni oleicole regionali (Bandino *et al.*, 2002; 2011).

Altre entità varietali ben caratterizzate sono quelle della 'Tonda di Cagliari' ('Nera di Gonnos', 'Manna', 'Confetto', 'Majorca') e della 'Tonda di Villacidro' ('Paschixedda', 'Terza', 'Olianedda', 'Corsicana da mensa'). Mentre contributi minori alle produzioni regionali vengono da cultivar emergenti come la 'Semidana' e più tradizionali come la 'Pizz'e caroga' (Bandino *et al.*, 2011).

Miscele più o meno equilibrate dei diversi oli monovarietal costituiscono la gran parte dei prodotti commerciali riscontrabili nell'Isola, ma anche le produzioni ottenute in purezza vengono spesso messe in commercio. Queste sono facilmente riconoscibili sulla base dei caratteri peculiari delle singole cultivar e sono state oggetto della presente indagine, tendente a meglio caratterizzare il contributo di ciascuna alla qualità finale delle miscele commercializzate attualmente (Mulas, 2011).

Materiali e metodi

La ricerca si è svolta su tutto il territorio della Sardegna (fig. 1), dove la coltivazione dell'olivo è ben rappresentata a seconda della vocazionalità delle diverse zone. Nell'annata agraria 2010/2011 sono stati raccolti in maniera casuale circa 200 campioni e compilate le relative schede di informazione aziendale. I campioni sono stati sottoposti ad analisi di laboratorio per la determinazione dell'acidità dell'olio, del numero di perossidi e delle costanti spettrofotometriche. L'analisi del panel test ha contribuito all'attribuzione della qualifica di olio extravergine di oliva sulla base

* darbor@agrisricerca.it

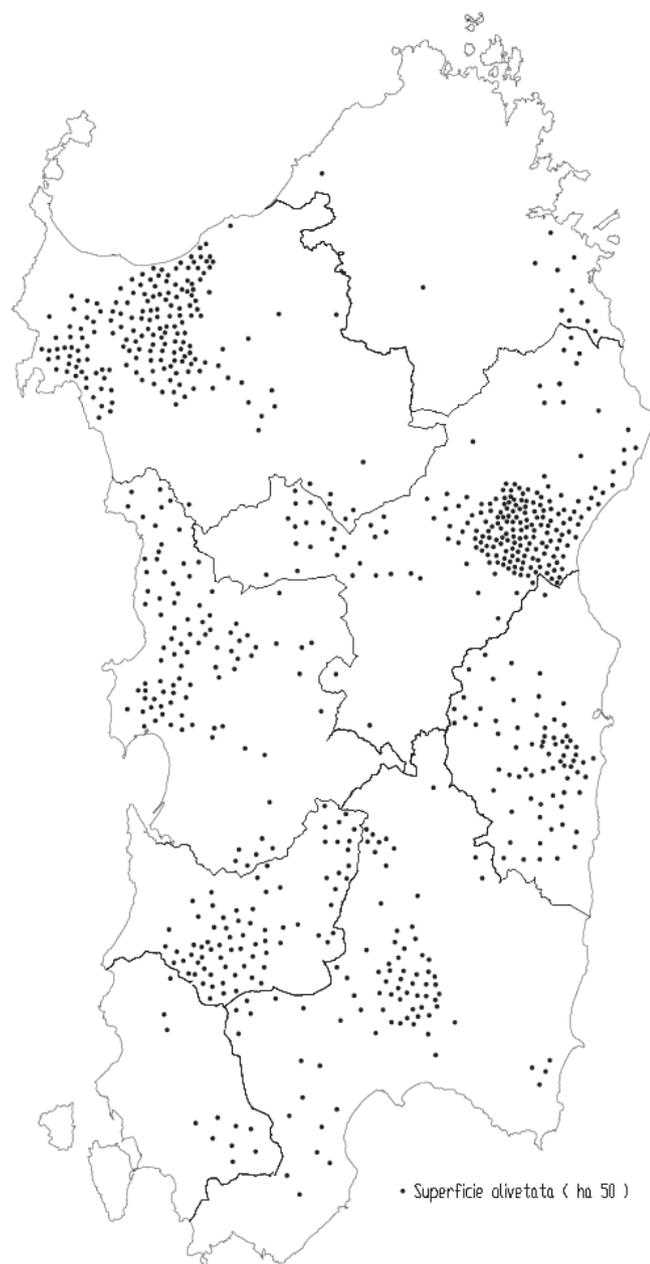


Fig. 1 - Distribuzione della coltura dell'olivo nel territorio delle 8 province della Sardegna. Ciascun punto rappresenta una superficie di 50 ha.

Fig. 1 - Olive growing distribution in the land of 8 Sardinia provinces. Every point indicates a 50 ha extension.

dell'assenza di difetti e del punteggio attribuito per l'analisi sensoriale (SENSORY, 2010): massimo 60 (fruttato di oliva = 30; amaro = 5; piccante = 5; armonia = 5; piacevolezza-ricchezza = 5).

Vengono presentati i risultati relativi all'analisi di 70 campioni di oli extravergine di oliva, risultati pienamente rispondenti ai criteri di qualità ricercati.

Risultati e discussione

I risultati riportati nella tabella 1 confermano il

ruolo fondamentale della cultivar 'Bosana' per l'affermazione di produzioni oleicole di qualità nel contesto regionale della Sardegna. Ben 48 oli sono monovarietali di 'Bosana' o vedono questa cultivar come componente principale della miscela, mentre altri 5 campioni prevedono comunque la presenza delle olive di 'Bosana' come componente minoritario.

I valori di acidità erano compresi tra 0,20 e 0,48%; il Numero di Perossidi tra 3,21 e 8,27; le costanti spettrofotometriche K232 tra 1,80 e 2,30, K270 tra 0,11 e 0,18 e la ΔK tra -0,09 e 0,03. I punteggi delle analisi sensoriali erano compresi tra 24,48 e 55,42. A conferma del buon livello di integrazione tra le diverse cultivar del germoplasma della Sardegna, il punteggio più elevato riscontrato all'analisi del panel test è stato attribuito ad una miscela di 'Tonda di Cagliari', 'Bosana' e 'Semidana' prodotta a Dolianova (CA).

Buoni punteggi sono stati ottenuti anche da oli monovarietali di 'Bosana' di Sassari (50,41) e di Lula (50,08), nonché da una miscela tra 'Bosana' e 'Tonda di Cagliari' prodotta ad Escolca (50,32).

I risultati relativi alla prima annualità d'indagine sulla realtà oleicola della Sardegna mostrano, chiaramente, come i punti di forza e qualità del settore siano sostanzialmente legati alla valorizzazione del germoplasma locale e, in particolare, delle peculiarità dell'olio della cultivar 'Bosana'. Questo ha una dotazione media di polifenoli compresa tra 240 e 370 ppm e di tocoferoli tra 200 e 300 ng/mg, con una percentuale di acido oleico tra il 65 e il 72% che gli conferiscono proprietà antiossidanti notevoli e, quindi, serbevolezza accompagnata da note sensoriali di fruttato intenso, spesso amaro e piccante deciso. Queste note sono spesso anche eccessivamente marcate, per cui ben si presta l'olio di 'Bosana' a trasferire, attenuandole, queste note sensoriali ad oli meno carichi. Le altre cultivar, tutte interfertili tra loro e con la 'Bosana' (Mulas *et al.*, 2008) rappresentano, quindi, un utile complemento alla cultivar leader del settore oleicolo anche in virtù della duplice attitudine di alcune come la 'Tonda di Cagliari'.

Ringraziamenti

Gli autori desiderano ringraziare l'Agenzia LAORE della Regione Autonoma della Sardegna, per la collaborazione nella raccolta dei campioni e nell'analisi sensoriale con l'uso del software.

Si ringraziano la Dott.ssa Donatella Delpiano e il Sig. Andrea Coni per il supporto dato nelle analisi chimiche; in particolare, il P. A. Federico Corda per il supporto tecnico nell'elaborazione dei dati sperimentali e nella redazione dei grafici.

Tab. 1 - Valori analitici e punteggio analisi sensoriale per 70 campioni di olio extravergine della Sardegna.
 Tab. 1 - Chemical analysis and panel test evaluation of 70 extravergin olive oil samples from Sardinia.

Comune	Prov.	Cultivar 1	Cultivar 2	Cultivar 3	Acid. (%)	Perossidi	K232	K270	ΔK	Punteggio
Orosei	NU	Bosana			0,35	6,64	2,08	0,15	-0,03	44,19
Dorgali	NU	Bosana	Altre		0,39	7,23	2,10	0,15	-0,04	41,96
Orosei	NU	Bosana			0,32	4,92	1,91	0,13	0,01	35,77
Lula	NU	Bosana			0,30	4,16	1,95	0,14	0,0	50,08
Dorgali	NU	Bosana			0,39	8,01	2,21	0,15	-0,01	31,77
Siniscola	NU	Bosana			0,35	5,91	2,02	0,14	-0,01	52,21
Orosei	NU	Bosana			0,31	7,57	2,09	0,14	-0,03	39,15
Oliena	NU	Bosana	Nera di Oliena		0,21	5,73	1,96	0,12	-0,04	36,84
Oliena	NU	Bosana	Nera di Oliena		0,29	3,54	1,89	0,16	-0,01	45,26
Nuoro	NU	Bosana	S. Caterina		0,28	3,98	1,93	0,14	0,01	39,33
Nuoro	NU	Bosana			0,33	5,16	2,13	0,18	-0,02	41,89
Nuoro	NU	Nera di Oliena			0,21	5,10	1,82	0,13	-0,03	37,94
Oliena	NU	Nera di Oliena	Bosana		0,31	4,26	1,97	0,14	0,0	46,96
Orgosolo	NU	Bosana	Nera di Oliena	Tonda di Cagliari	0,27	3,48	1,83	0,14	0,0	26,26
Alghero	SS	Bosana			0,38	5,30	2,00	0,15	0,01	34,45
Alghero	SS	Bosana			0,31	4,90	1,88	0,13	0,01	47,93
Alghero	SS	Bosana	Frantoio	Altre	0,28	6,15	2,07	0,14	-0,04	27,54
Tertenia	OG	Nera di Gonnos	Tonda di Cagliari	Bosana	0,48	7,49	2,26	0,15	-0,02	29,36
Gairo	OG	Ogliastrina			0,20	4,16	1,79	0,12	-0,02	36,03
Ilbono	OG	Ogliastrina	Bosana	Semidana	0,33	5,00	1,93	0,13	0,0	31,79
Castelsardo	SS	Bosana	Semidana		0,29	5,55	1,99	0,13	-0,01	38,08
Sassari	SS	Bosana			0,41	5,73	1,97	0,15	0,01	30,79
Sassari	SS	Bosana			0,34	6,09	2,02	0,14	-0,01	24,48
Sassari	SS	Bosana			0,32	5,04	1,98	0,15	-0,04	28,23
Sassari	SS	Bosana			0,37	4,46	1,93	0,14	0,02	50,41
Sorso	SS	Bosana			0,36	4,04	1,92	0,14	-0,02	32,72
Dolianova	CA	Tonda di Cagliari			0,40	6,04	2,07	0,13	0,01	37,22
Dolianova	CA	Bosana			0,31	4,74	1,84	0,13	-0,01	46,00
Donori	CA	Tonda di Cagliari	Bosana	Semidana	0,36	6,19	2,02	0,13	-0,01	30,16
Dolianova	CA	Tonda di Cagliari	Bosana	Semidana	0,33	6,00	2,00	0,15	-0,02	55,42
Sinnai	CA	Pizz'e Carroga	Tonda di Cagliari		0,42	8,27	2,30	0,16	-0,01	27,46
Seneghe	OR	Bosana	Semidana	Manna	0,25	5,07	1,88	0,13	-0,04	43,41
Cuglieri	OR	Bosana			0,32	5,89	1,91	0,13	-0,01	45,26
Cuglieri	OR	Bosana			0,32	4,87	1,95	0,14	-0,01	36,22
Cuglieri	OR	Bosana			0,29	7,09	2,11	0,15	-0,06	36,00
Bonarcado	OR	Bosana	Semidana	Tonda di Cagliari	0,32	5,88	2,01	0,14	-0,01	46,43
Gergei	CA	Majorchina			0,26	7,51	2,21	0,13	-0,03	40,30
Gergei	CA	Bosana			0,41	6,78	1,96	0,14	-0,02	48,03
Gergei	CA	Semidana			0,22	5,13	1,92	0,11	-0,02	28,94
Gergei	CA	Pizz'e Carroga	Nocellara		0,31	7,44	1,99	0,14	0,03	45,48
Gergei	CA	Semidana	Tonda di Cagliari		0,37	5,63	2,00	0,13	0,01	28,90
Gergei	CA	Bosana			0,43	6,05	1,97	0,14	0,01	37,61
Gergei	CA	Majorchina	Nera di Gonnos		0,26	5,59	2,00	0,12	-0,02	28,17
Gergei	CA	Bosana			0,38	6,94	1,98	0,14	-0,02	48,70
Gergei	CA	Majorchina			0,31	5,44	2,00	0,13	-0,02	34,38

segue

segue

Tab. 1 - Valori analitici e punteggio analisi sensoriale per 70 campioni di olio extravergine della Sardegna.
 Tab. 1 - Chemical analysis and panel test evaluation of 70 extravergin olive oil samples from Sardinia.

Comune	Prov.	Cultivar 1	Cultivar 2	Cultivar 3	Acid. (%)	Perossidi	K232	K270	ΔK	Punteggio
Bolotana	NU	Bosana			0,29	2,90	1,81	0,14	-0,01	34,64
Bolotana	NU	Bosana			0,28	3,21	1,80	0,15	0,0	45,83
Ollollai	NU	Bosana			0,36	3,89	1,95	0,15	0,01	38,46
Silanus	NU	Bosana			0,39	5,37	1,93	0,14	-0,01	33,63
Macomer	NU	Bosana			0,45	5,74	1,98	0,15	-0,01	46,17
Narcao	CI	Paschixedda	Tonda di Cagliari		0,26	5,66	1,99	0,12	-0,02	26,43
Oniferi	NU	Bosana	Majorchina	Nera di Oliena	0,29	5,95	2,03	0,13	-0,02	28,79
San Vero Milis	OR	Semidana			0,42	7,85	2,06	0,14	-0,03	26,48
Escolca	CA	Bosana	Tonda di Cagliari		0,27	5,12	1,90	0,13	0,0	50,32
Alghero	SS	Bosana			0,28	5,66	1,96	0,14	-0,01	35,47
Sennori	SS	Bosana			0,36	6,11	1,93	0,14	0,0	40,57
Paulilatino	OR	Semidana	Bosana		0,36	6,78	2,12	0,16	-0,05	34,04
Villaurbana	OR	Tonda di Cagliari	Semidana		0,33	4,68	1,97	0,14	-0,02	44,19
Ploaghe	SS	Bosana	Leccino		0,37	5,03	1,87	0,14	-0,01	30,65
Tissi	SS	Bosana			0,27	7,17	2,16	0,16	-0,03	36,46
Ittiri	SS	Bosana			0,23	4,72	1,85	0,14	-0,03	45,43
Usini	SS	Bosana			0,27	6,36	1,97	0,15	-0,09	40,14
Ittiri	SS	Bosana			0,23	4,61	1,84	0,13	-0,01	45,09
Ittiri	SS	Bosana			0,30	4,65	1,95	0,13	-0,01	39,74
Ittiri	SS	Bosana			0,28	5,68	1,98	0,14	0,0	42,64
Villacidro	VS	Bosana	Nera di Villacidro		0,29	3,88	1,78	0,13	0,01	45,90
Villacidro	VS	Bosana			0,25	3,89	1,89	0,13	0,03	36,80
Villacidro	VS	Bosana	Nera di Villacidro		0,31	4,10	1,88	0,13	-0,03	44,95

Riassunto

In diversi areali olivicoli della Sardegna sono stati avviati da alcuni anni appositi programmi di indagine per approfondire aspetti qualitativi dell'olio, a partire da individuazioni di ottimali epoche di raccolta e valutazione di indici di maturazione e di qualità globale, anche ai fini di rispondere a pratiche esigenze di frantoio, differenziando le specifiche operazioni di lavorazione. Per ampliare la gamma delle campionature esaminate, inoltre, sono stati raccolti sull'intero territorio regionale oli derivati prevalentemente da partite monovarietalità a "storia nota". Su una selezione effettuata tra i campioni, complessivamente circa 200, sono state eseguite determinazioni analitiche di tipo chimico ed organolettico, analizzando specificità caratteristiche per le singole cultivar. Le cultivar esaminate hanno riguardato le principali denominazioni del germoplasma in Sardegna, ricomprendendo al loro interno quelle specificità locali ascrivibili principalmente a: 'Bosana - Tondo sassarese - Palma - Olieddu', 'Tonda di Cagliari - Nera di Gonnos - Majorca - Manna', 'Semidana', 'Nera di Oliena -

Nera di Villacidro - Terza - Paschixedda - Corsicana da mensa - Ogliastrina'.

Di particolare interesse è la definizione di specifici descrittori semantici mediante le analisi sensoriali degli oli operate con il metodo del panel test. Tale metodo, che restituisce profili sensoriali tipici per ogni cultivar e campionatura esaminate, consente di discriminare le valutazioni anche con l'ausilio di modalità informatizzate ad elevata attendibilità e precisione di risposta analitica, grazie a specifici software di valutazione. Alcuni discriminanti tra le diverse cultivar si evidenziano soprattutto con descrittori qualitativi relativi a percezioni di fruttato di oliva, amaro, piccante, armonia, piacevolezza-ricchezza, determinando possibilità di espressioni sintetiche di valutazioni, in termini numerici, affiancate da descrizioni complessive relative a sensazioni olfatto-gustativo-tattili, graficamente rappresentabili e statisticamente rispondenti alle esigenze di valutazione differenziale tra le diverse variabili varietali e territoriali.

Parole chiave: *Olea europaea*, cultivar, Sardegna, olio extravergine, analisi sensoriale.

Bibliografia

- ANGIOLILLO A., BALDONI L., BANDINO G., MULAS M., 2000. *Analisi molecolare con marcatori AFLP delle risorse genetiche di olivo della Sardegna*. Atti del 4° Congresso Nazionale su "Biodiversità: Germoplasma locale e sua valorizzazione". Alghero (SS), 8-11 settembre 1998: 413-416.
- BANDINO G., MULAS M., SEDDA P., MORO C., 1999. *Survey on olive genetic resources of Sardinia*. Acta Horticulturae, 474: 151-154.
- BANDINO G., MULAS M., SEDDA P., MORO C., 2001. *Le cultivar di olivo della Sardegna*. Consorzio Interprovinciale per la Frutticoltura, Cagliari: 253.
- BANDINO G., MORO C., SEDDA P., MULAS M., 2002. *The 'Bosana' as a cultivar for intensive olive growing*. Acta Horticulturae, 586: 217-220.
- BANDINO G., SEDDA P., MORO C. MULAS M., 2011. *Gli oli monovarietali della Sardegna: orientamenti e prospettive*. Acta Italus Hortus, 1(1): 262-265.
- MULAS M., CADDEO C., BANDINO G., MORO C., SEDDA P., 2008. *L'olivicoltura sarda punta sulle varietà autoctone*. L'Informatore Agrario (34): 57-59.
- MULAS M., 2011. *L'intensificazione colturale e l'olivicoltura della Sardegna*. Atti della "Giornata di Studio su Intensificazione Colturale in Olivicoltura". Sassari, 12 novembre 2010. Supplemento a "I Gerogofili. Atti dell'Accademia dei Gerogofili", Anno 2010, Serie VIII, Vol. 7: 121 - 136.
- SENSORY, 2010. I-media s.a.s. Cagliari, Italy.

Effetto della varietà e dell'annualità sulle caratteristiche chimiche e sensoriali degli oli monovarietalitaliani

Alfei B.¹, Magli M.², Rotondi A.^{2*} e Pannelli G.³

¹ ASSAM (Agenzia Servizi Settore Agroalimentare Marche), Osimo (AN)

² IBIMET-CNR, Bologna

³ Centro per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, sede distaccata di Spoleto (PG)

Effect of the cultivar and of the crop year on the chemical and sensory profile of Italian monovarietal oils

Abstract. Commercial virgin olive oils (766) belonging to the cultivars most represented at the Italian National Review of Monovarietal olive oils (Bosana, Raggia, Coratina, Frantoio, Itrana, Leccino, Moraiolo, Peranzana, Piantone di Mogliano and Ravece) were considered. The nutritional properties, expressed as fatty acids and total phenols, and the sensory profiles were determined. The evaluation of the influence of the cultivar and of the crop year as well as their interaction on oil composition were also statistically analyzed by a complete factorial design and by Principal Components Analysis. In fatty acids composition, the effect of the cultivar and crop year and their interaction were highly significant. The statistical analysis showed that the sensory attributes olive fruity, grassy, fresh almond, artichoke, tomato, aromatic herbs, bitter and pungent were strongly influenced by the cultivar. The prevalent effect of the cultivar on the sensory profile of monovarietal oils was also demonstrated by the low or absent level of significance observed in the crop year.

Key words: cultivar, monovarietal olive oils, identity, statistical analyses.

Introduzione

Un patrimonio varietale estremamente ricco e variegato rappresenta il punto di forza della olivicoltura italiana (Pannelli e Alfei, 2008b). La descrizione e il recupero delle varietà autoctone sono obiettivi che molte regioni stanno perseguendo, così come dimostrato dalla capillare disponibilità di cataloghi varietali (Pannelli, 2008) e dal costante incremento degli oli

monovarietalitali partecipanti alla Rassegna nazionale degli oli monovarietalitali, annualmente organizzata da ASSAM in collaborazione con CRA-OLI, sede distaccata di Spoleto e Sole24ore-Business media. La qualità e la tipicità degli oli extravergini di oliva sono determinate da fattori genetici, ambientali, agronomici e tecnologici, con modificazioni che interessano sia gli aspetti analitici che sensoriali (Pannelli e Alfei, 2008a). Una equilibrata composizione acidica è responsabile del valore nutrizionale dell'olio per l'elevato contenuto in monoinsaturi (acido oleico) e, soprattutto, per l'equilibrato contenuto in acidi grassi essenziali (linoleico e linolenico). Le sostanze fenoliche (biofenoli) favoriscono la conservazione dell'olio proteggendolo dall'ossidazione, sono responsabili delle sensazioni di amaro e piccante e, soprattutto, svolgono una efficace azione salutistica prevenendo l'insorgenza di patologie cronico-degenerative (cardiovascolari, neurologiche e oncologiche) per effetto di un' accertata azione antiossidante, vasodilatatoria e coleretica (Viola, 2005). Una soglia minima di 300 ppm (espressi in acido gallico) in biofenoli è ritenuta necessaria ai fini di una efficace azione salutistica (Servili, 2011). Nel corso delle ultime otto edizioni della Rassegna sono pervenuti 2.092 campioni di olio monovarietalitali prodotti in 18 regioni italiane e rappresentativi di oltre 130 varietà censite e catalogate (Alfei *et al.*, 2011). Tutti gli oli sono stati sottoposti al giudizio del Panel regionale ASSAM Marche, operante in Ancona dal 1998 e riconosciuto in ambito nazionale ed internazionale; soltanto i campioni che hanno superato il punteggio minimo di 7 al Panel test vengono sottoposti alle analisi per la determinazione della composizione acidica e dei fenoli totali, a cura del Centro Agrochimico dell'ASSAM di Jesi (AN). I dati vengono elaborati statisticamente dall'Istituto di Biometeorologia del CNR di Bologna e resi disponibili su internet all'indirizzo <http://www.olimonovarietalitali.it>. Scopo del presente studio è quello di aggiornare ed incrementare la banca dati della Rassegna consi-

* a.rotondi@ibimet.cnr.it

derando i campioni prodotti nel 2010 pervenuti all'edizione 2011, rafforzando le conoscenze disponibili (Alfei *et al.*, 2010; Alfei *et al.*, 2011; Rotondi *et al.*, 2010) relativamente all'influenza della varietà, dell'annata e della loro interazione sulla composizione acidica, sul contenuto in fenoli totali e sul profilo sensoriale e, quindi, sulle proprietà nutrizionali, salutistiche e sensoriali degli oli.

Materiale e metodi

Il lavoro è stato svolto su campioni commerciali di olio extravergine di oliva monovarietale prendendo in esame 766 campioni appartenenti alle 10 varietà maggiormente rappresentate alle ultime 6 edizioni (2006-2011) della Rassegna Nazionale degli Oli Monovarietali: Bosana (n=118), Coratina (n=67), Frantoio (n=108), Itrana (n=87), Leccino (n=91), Moraiolo (n=73), Peranzana (n=40), Piantone di Mogliano (n=53), Raggia (n=48) e Ravece (n=81). I dati relativi agli oli delle prime due edizioni sono stati utilizzati per la messa a punto del protocollo metodologico (Alfei *et al.*, 2006). La componente varietale dell'olio è quella dichiarata dal produttore nella scheda di partecipazione, dove vengono riportate anche informazioni relative a: zona di produzione, gestione dell'oliveto, epoca e modalità di raccolta, sistema di estrazione e filtrazione. Le determinazioni analitiche sono state effettuate dal Centro Agrochimico dell'ASSAM di Jesi: composizione acidica secondo la metodologia riportata nel Reg. CE 796/02; contenuto in fenoli totali (espressi in mg/kg di acido gallico), determinato per via colorimetrica. La valutazione organolettica è stata effettuata dal Panel regionale ASSAM Marche, riconosciuto dal Ministero dell'Agricoltura. Il panel test effettuato utilizzando una scheda, appositamente predisposta dall'ASSAM, su scala continua da 0 a 10, ha previsto le seguenti fasi:

- esame visivo, in cui vengono valutati gli attributi giallo e verde (il colore, anche se non correlato alla qualità, è importante ai fini della caratterizzazione di un prodotto, in quanto legato al contenuto in clorofille);
- esame olfattivo, in cui vengono percepiti i profumi di fruttato di oliva verde/maturo, foglia/erba, mandorla fresca, carciofo/cardo, pomodoro, mela, frutti di bosco, erbe aromatiche, frutta matura, altro;
- esame gustativo-tattile-retroolfattivo, in cui vengono descritti gli attributi fruttato di oliva verde/maturo, amaro, piccante, dolce, fluidità (legata alla composizione acidica), altri attributi tollerabili.

Inoltre a ciascun olio viene attribuito un voto fino ad un massimo di 9, dove il 6,5 rappresenta il limite di punteggio per la categoria commerciale extravergine (assenza di difetti) (All. XII Reg. CEE 2568/91). Solo gli oli che raggiungono un punteggio minimo di 7 vengono ammessi alla Rassegna e quindi sottoposti alle analisi chimiche ed alle elaborazioni statistiche.

Dai valori della mediana di ciascun attributo sono stati definiti i profili sensoriali di ogni olio. I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA) considerando gli acidi grassi con maggior capacità discriminante (oleico, palmitico, stearico ed eptadecenoico), i fenoli totali e gli attributi sensoriali che hanno definito il profilo organolettico degli oli in studio. I valori medi di ciascun parametro per ciascuna varietà sono stati separati per mezzo di test LSD con $P \leq 0.05$. L'ANOVA è stata poi utilizzata per esaminare l'effetto dei fattori varietà ed annualità e la loro interazione. Successivamente l'analisi delle componenti principali (PCA) applicata ai profili di ogni anno delle 10 varietà selezionate, ha permesso di rappresentare graficamente l'effetto dei fattori esaminati (SAS rel. 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC).

Risultati e discussione

La tabella 1 riporta il confronto tra le 10 varietà relativamente al valore medio del contenuto in acidi grassi e in fenoli totali. Le varietà Coratina e Itrana mostrano i più elevati contenuti in acido oleico, mentre Bosana, Peranzana e Ravece i valori più bassi, comunque prossimi al 73%, generalmente ritenuta soglia minima per un efficace effetto nutrizionale (Montedoro e Baldioli, 2005). La Coratina evidenzia il più elevato contenuto in fenoli tra le varietà analizzate, mentre l'Itrana il valore più basso. Il contenuto in fenoli di tutte le varietà comunque presenta un valore superiore ai 300 mg/kg, evidenziando un buon livello di qualità salutistica. L'analisi multifattoriale della varianza del contenuto in acidi grassi (tab. 2) mostra l'effetto della varietà, dell'annata e della loro interazione. Si può notare come il profilo degli acidi grassi sia influenzato significativamente da entrambe le componenti ed in gran parte anche dalla loro interazione, con un effetto preponderante del fattore varietà per l'acido eptadecenoico (82,5% della variabilità espressa come percentuale tra i fattori genetici ed ambientali), linoleico (76,4%), oleico (70,4%) e palmitoleico (66,5%), mentre l'effetto della stagionalità risulta essere particolarmente importante per l'acido linolenico (89,8%) e l'acido eicosenoico (80,3%). Anche il contenuto in fenoli totali è significativamente influenzato da entrambe le componenti, è noto infatti

Tab. 1 - Confronto tra le 10 varietà del valore medio del contenuto degli acidi grassi con la maggiore capacità discriminante e fenoli totali. Viene riportato anche il livello di separazione tra le medie: valori medi identificati con la stessa lettera non differiscono tra loro statisticamente per $P \leq 0,05$.

Tab. 1 - Comparison among the mean values of fatty acids with the highest index of variability and total phenols. Values with different letters are statistically different ($P \leq 0.05$).

Cultivar	Ac. ptadecenoico	Ac. Linoleico	Ac. Oleico	Ac. Palmitico	Ac. Stearico	Fenoli Totali
Bosana	0,11b	9,90a	73,05f	12,65c	2,12b	450,58bc
Coratina	0,08f	7,00cd	77,92a	11,14e	1,81def	565,51a
Frantoio	0,10bcd	6,81de	76,37bc	12,66c	1,82de	481,16b
Itrana	0,09cdef	6,12f	77,89a	11,92d	1,78def	300,69f
Leccino	0,11b	6,45ef	75,34d	13,92a	1,74ef	396,04de
Moraiolo	0,09cdef	7,21cd	75,94cd	12,87c	1,66f	478,11b
Peranzana	0,09cdef	9,24b	73,57f	12,85c	1,92cd	380,95e
P. Mogliano	0,23a	6,49ef	76,73b	12,04d	1,97bc	382,80e
Raggia	0,10bcd	7,34c	74,54e	13,40b	1,91cd	405,29cde
Ravece	0,09cdef	9,15b	73,28f	12,53c	2,85a	435,91bcd

Tab. 2 - Variabilità della composizione acidica e del contenuto in fenoli totali espressa come percentuale tra i fattori genetici ed ambientali. *, **, *** rappresentano i livelli di significatività a 0,05 (*), 0,01 (**), o 0,001 (***); ns = non significativo.

Tab. 2 - Variability expressed as percentage of the total sum of the square for fatty acids composition and total phenols. *, **, *** Significant F- values: 0.05 (*), 0.01 (**), o 0.001 (***); ns = not significant.

Parametro	Cultivar	Anno	Cultivar x Anno
Ac.eicosanoico	20,00 ***	11,25 ***	68,75 ***
Ac.eicosenoico	11,75 ***	80,26 ***	7,99 ***
Ac.eptadecanoico	46,57 ***	29,30 ***	24,13 *
Ac.eptadecenoico	82,51 ***	10,43 ***	7,06 ns
Ac.linoleico	76,41 ***	15,94 ***	7,65 ***
Ac.linolenico	4,93 ***	89,84 ***	5,23 ***
Ac.oleico	70,37 ***	19,13 ***	10,50 ***
Ac.palmitico	47,01 ***	42,58 ***	10,41 ***
Ac.palmitoleico	66,53 ***	12,22 ***	21,25 ns
Ac.stearico	49,59 ***	43,76 ***	6,65 ***
Fenoli totali	42,83 ***	39,17 ***	18,00 ***

che oltre ad essere cultivar-dipendente, presenta un diverso accumulo a seconda delle diverse condizioni climatiche in cui la pianta cresce. Il contenuto in fenoli totali è significativamente influenzato, se pur in misura minore, anche dall'interazione dei due parametri. L'analisi delle componenti principali relativa agli acidi grassi mostra una certa dispersione dei profili medi annui delle 10 tipologie monovarietal (dati non mostrati). Pur in presenza di precise indicazioni sull'effetto del genotipo (Piantone di Mogliano si discrimina nettamente per l'acido eptadecenoico; Ravece, Bosana e Peranzana per gli elevati contenuti di acido linoleico, palmitico e per il basso contenuto di acido oleico; Itrana e Coratina per elevati contenuti di acido oleico), la dispersione di alcune tipologie varietali dimostra come l'effetto annata rappresenti per la com-

posizione acidica un fattore estremamente importante, che interagisce fortemente con il fattore cultivar.

La tabella 3 riporta il confronto tra le 10 varietà relativamente alla intensità media degli attributi sensoriali; la maggiore intensità di fruttato olfattivo e gustativo è stata riscontrata nelle varietà Itrana e Ravece, così come l'erba, il pomodoro, il carciofo e le erbe aromatiche; il carciofo si evidenzia anche in Bosana e Peranzana, la mandorla fresca invece nel Frantoio e nella Raggia; la Coratina infine si distingue per le decise note di amaro e piccante, legate all'elevato contenuto in fenoli totali.

L'analisi della varianza dei profili sensoriali (tab. 4) mostra l'effetto della varietà, dell'annata e della loro interazione. Si può notare come il profilo sensoriale sia influenzato prevalentemente dagli aspetti genetici, si osserva infatti un effetto preponderante del fattore varietà per i sentori di pomodoro (90% della variabilità espressa come percentuale tra i fattori genetici ed ambientali), mandorla fresca (74,8%) ed erba (66,4%) e per gli attributi fruttato olfattivo (64,1%) e gustativo (62,3%), mentre l'effetto della stagionalità, pur risultando in quasi tutti i casi significativo con le sole eccezioni di fruttato gustativo ed erba, risulta essere sempre inferiore al 15% con la sola eccezione per l'attributo piccante (39,5%). Gli effetti congiunti genotipo/stagione risultano essere sempre non significativi, con le uniche eccezioni degli attributi piccante, carciofo e fruttato gustativo, che mostrano una variabilità pari al 28,7%, 35,4% e 33,1% rispettivamente.

L'analisi delle componenti principali relativa al profilo sensoriale mostra una minore dispersione dei profili medi annui delle 10 tipologie monovarietal rispetto alla composizione acidica (dati non mostrati). Risultano maggiormente influenzate dal fattore gene-

Tab. 3 - Confronto tra le 10 varietà del valore medio delle intensità degli attributi sensoriali. Viene riportato anche il livello di separazione tra le medie: valori medi identificati con la stessa lettera non differiscono tra loro statisticamente per $P \leq 0,05$.

Tab. 3 - Comparison among the mean values of sensory attributes perceived in monovarietal olive oils. Values with different letters are statistically different ($P \leq 0.05$).

Cultivar	Fruttato olfattivo	Fruttato gustativo	Erba	Mandorla fr.	Carciofo	Pomodoro	Erbe arom.	Amaro	Piccante
Bosana	5,19 b	5,02 ab	2,54 bc	1,59 d	2,27 a	0,77 c	0,12 bc	4,85 b	4,68 ab
Coratina	4,82 cd	4,81 bc	1,63 ef	2,43 c	1,64 bc	0,35 de	0,04 bc	5,20 a	4,90 a
Frantoio	5,10 b	4,86 bc	2,15 cd	2,79 ab	1,57 bcd	0,28 de	0,08 bc	4,61 b	4,56 bc
Itrana	5,62 a	5,20 a	2,99 a	1,22e	2,12 a	2,26 a	0,29 a	4,06 cd	4,10 de
Leccino	4,70 de	4,43 d	1,49 f	2,47 bc	1,08 e	0,16 de	0,07 bc	4,22 c	4,25 de
Moraiolo	5,02 bc	4,92 bc	2,06 de	2,29 c	1,93 ab	0,47 cd	0,03 c	4,85 b	4,62 abc
Peranzana	5,05 bc	4,79 c	2,61 ab	1,63d	2,31 a	1,16 b	0,09 bc	4,13 cd	4,09 e
P. Mogliano	4,52 e	4,38 d	1,49 f	2,18 c	1,22 de	0,43 d	0,16abc	3,85 d	4,38 cd
Raggia	4,71 de	4,37 d	1,27 f	2,97 a	1,39 cde	0,11 e	0,12 bc	3,96 cd	4,38 cd
Ravece	5,59 a	5,25 a	2,79 ab	1,23 e	2,15 a	2,52 a	0,18 ab	4,56 b	4,82 ab

Tab. 4 - Variabilità del profilo sensoriale espressa come percentuale tra i fattori genetici ed ambientali. *, **, *** rappresentano i livelli di significatività a 0,05 (*), 0,01 (**) o 0,001 (***); ns = non significativo.

Tab. 4 - Variability expressed as percentage of the total sum of the square for sensory attributes. *, **, *** Significant F- values: 0.05 (*), 0.01 (**) o 0.001 (***); ns = not significant.

Parametro	Cultivar	Anno	Cultivar x Anno
Fruttato olfattivo	64,15 ***	14,28 ***	21,57 ns
Fruttato gustativo	62,32 ***	4,61 ns	33,07 *
Erba	66,36 ***	4,38 ns	29,26 ns
Mandorla fresca	74,78 ***	8,08 ***	17,14 ns
Carciofo	53,98 ***	10,61 ***	35,41 *
Pomodoro	89,97 ***	3,13 ***	6,90 ns
Erbe aromatiche	23,32 ***	13,18 **	63,50 ns
Amaro	63,89 ***	10,67 ***	25,44 ns
Piccante	31,83 ***	39,46 ***	28,71 **

tico rispetto al fattore stagionale alcune varietà come Itrana (caratterizzata da elevata intensità di fruttato e da sentori di pomodoro ed erbe aromatiche), Ravece (caratterizzata da sentori di erba, carciofo e pomodoro), Leccino, Raggia e Piantone di Mogliano con sentori di mandorla fresca, Coratina e Moraiolo con elevate intensità di amaro e netti sentori di mandorla fresca, Bosana con elevate intensità di amaro e piccante e sentore di carciofo. La bassa dispersione di molte tipologie varietali dimostra come l'effetto annata sia un fattore decisamente meno importante per la caratterizzazione del profilo sensoriale e come sia invece forte il peso della componente varietale sullo sviluppo di un determinato profilo organolettico.

Conclusioni

La Rassegna nazionale degli oli monovarietali rappresenta un momento importante per conoscere e valorizzare il ricco patrimonio genetico italiano. Gli

oli pervenuti nelle prime otto edizioni hanno permesso di realizzare una prima banca dati; tutti gli oli monovarietali sono caratterizzati da una tipica composizione acidica, fenolica e soprattutto sensoriale, che può esprimersi in maniera differente negli anni per effetto della variabile ambientale. Va sottolineato che lo studio è stato svolto su oli presenti in commercio e quindi caratterizzati da numerose altre variabili di filiera, sia agronomiche che tecnologiche. Nel presente lavoro l'attenzione è stata focalizzata sui parametri varietà e annualità, studi futuri prenderanno in considerazione l'effetto dell'ambiente e altri parametri di filiera responsabili della qualità dell'olio monovarietale. La scelta di analizzare campioni reperibili in commercio risponde anche all'obiettivo di fornire reali informazioni al consumatore; gli oli monovarietali italiani sono infatti portatori di una identità percepibile non solo da assaggiatori professionisti ma anche da consumatori accorti che completano le pietanze con aggiunta di olio a crudo. Sembra evidente come non esista l'olio migliore in assoluto; gli oli monovarietali presentano un grado di apprezzamento dipendente spesso dalle preferenze del consumatore in fase di abbinamento culinario.

Gli oli monovarietali rappresentano pertanto un punto di partenza per la caratterizzazione del prodotto; una volta comprese le loro potenzialità, possono essere valorizzati trasformandoli in purezza, esaltando le peculiarità della cultivar, oppure in miscele dichiarate, con proposte di "blend", per definire diverse tipologie di olio.

Ringraziamenti

Si ringraziano il Panel regionale ASSAM – Marche e il Centro Agrochimico ASSAM di Jesi per la preziosa collaborazione.

Riassunto

La caratterizzazione e la salvaguardia delle varietà autoctone è un obiettivo che molte regioni stanno perseguendo; questo è dimostrato dal continuo incremento di oli che partecipano ogni anno alla Rassegna Nazionale degli oli Monovarietali, organizzata da ASSAM in collaborazione con CRA – OLI di Spoleto e Sole 24ore – Business media. In Italia il mercato degli oli monovarietali è in aumento anche grazie alla presenza di consumatori che rivolgono un'attenzione particolare agli aspetti edonistici e salutistici dell'olio extravergine di oliva. Nel corso delle otto edizioni della Rassegna sono infatti pervenuti 2.092 campioni rappresentativi di oltre 130 varietà catalogate e provenienti da 18 regioni. I campioni sono stati sottoposti alla caratterizzazione sensoriale e ad alcune determinazioni analitiche (fenoli totali, composizione in acidi grassi). I dati, che ogni anno contribuiscono ad incrementare la banca dati della Rassegna, sono raccolti e consultabili all'indirizzo: www.olimonovarietali.it.

Nel presente studio sono state considerate le proprietà salutistiche e nutrizionali, espresse come composizione acidica e contenuto in fenoli totali, e i profili sensoriali di 766 oli appartenenti alle 10 varietà maggiormente rappresentate alle ultime 6 edizioni della Rassegna (2006-2011): Bosana (n=118), Coratina (n=67), Frantoio (n=108), Itrana (n=87), Leccino (n=91), Moraiolo (n=73), Peranzana (n=40), Piantone di Mogliano (n=53), Raggia (n=48) e Ravece (n=81). La valutazione dell'influenza sia della cultivar, sia della stagionalità che della loro interazione, sulla composizione chimica ed organolettica degli oli, è stata analizzata statisticamente tramite analisi della varianza (disegno fattoriale completo) e analisi delle componenti principali.

Sulla composizione in acidi grassi gli effetti della cultivar e dell'annata di produzione, così come della loro interazione, sono risultati altamente significativi. L'analisi statistica ha inoltre evidenziato come gli attributi sensoriali quali fruttato di oliva, erbaceo,

mandorla verde, carciofo, pomodoro, erbe aromatiche, amaro e piccante, siano risultati fortemente influenzati dagli aspetti genetici; gli effetti congiunti genotipo/stagione invece sono risultati sempre molto bassi.

Parole chiave: cultivar, olio monovarietale, identità, analisi statistica.

Bibliografia

- ALFEI B., MAGLI M., ROTONDI A., PANNELLI G., 2006. *Statistical analyses of sensory properties of Italian Monovarietal olive oils*. Olivebioteq - Second International Seminar 5-10 November Marsala- Marzara del Vallo, pp. 431-434
- ALFEI B., MAGLI M., ROTONDI A., PANNELLI G., 2010. *Identità analitica e sensoriale degli oli monovarietali italiani*. Olivo e Olio, 6. Suppl. "Catalogo degli Oli Monovarietali": 11-15.
- ALFEI B., MAGLI M., ROTONDI A., PANNELLI G., 2011. *Influenza della varietà e dell'annata sulle caratteristiche chimiche e sensoriali*. Olivo e Olio, 6. Supplemento "Catalogo degli Oli Monovarietali": 8-11.
- MONTEDORO GF. e BALDIOLI M., 2005. *I parametri analitici, strumentali e sensoriali dell'olio vergine di oliva in relazione ai Regg. 2568/91 e seguenti, 2081/92 ed alle norme ISO 8402 e 9001*. Atti corso di aggiornamento "L'estrazione dell'olio d'oliva, ecc.". Accademia Nazionale dell'Olio e dell'Olio. Spoleto, 28-31 ottobre 2003: 3-15.
- PANNELLI G., 2008. *Il valore del germoplasma olivicolo nazionale*. Atti convegno "Tradizione ed innovazione nel miglioramento genetico dell'olivo", Spoleto 6-7 dicembre 2005. Ed. Accademia Nazionale dell'Olio e dell'Olio, Spoleto: 79-90.
- PANNELLI G., ALFEI B., 2008a. *I parametri importanti per scegliere le cultivar*. Olivo e Olio, 6: 46-56.
- PANNELLI G., ALFEI B., 2008b. *Valore alimentare, identità e peculiarità sensoriali dell'olio*. Olivo e Olio, 4: 38-46.
- REG. CEE No. 2568/1991 della Commissione dell'11 luglio 1991, Allegato XII
- REG. CE No. 640/2008 della Commissione del 4 luglio 2008
- ROTONDI A., ALFEI B., MAGLI M., PANNELLI G., 2010. *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: 2641-2648.
- SERVILI M., 2011. *Lo strano caso degli alchil-esteri*. Teatro Naturale, 10: 12 marzo.
- VIOLA P., 2005. *Le nuove frontiere della qualità nutrizionale e salutistica degli oli vergini di oliva*. Atti corso di aggiornamento "L'estrazione dell'olio d'oliva, ecc.". Accademia Nazionale dell'Olio e dell'Olio. Spoleto, 28-31 ottobre 2003: 17-30.

Valutazione dei fattori nutrizionali e funzionali dell'olio *destoned* prodotto dalla cultivar 'Olivastra di Seggiano'

Ranalli A.^{1*}, Contento S.¹, Casanovas M.², Antonucci M.¹ e Di Simone G.¹

¹Centro per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia, Città S. Angelo (PE)

²Department of Food Technology, XaRTA-UTPV, Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària, Universitat de Lleida (Spagna)

Assessment of the nutritional and functional factors in *destoned* virgin olive oil from 'Olivastra di Seggiano' cultivar

Abstract. This work reports on the composition and bionutritional value of *destoned* virgin olive oil from *Olivastra di Seggiano* cultivar, one having wild features, which is cultivated in the areas of Grosseto and Siena provinces. This cultivar is widespread especially in the Seggiano borough territory and other slopes of Mount Amiata up to an altitude of 400-600 m. The resulting oil is being examined by EU offices to get a European DOP trademark. An in-depth analytical investigation from 2005 to 2010 showed how this product standouts for its peculiar features, related mainly to the optimal biophenol and volatile composition as well as to high concentrations of lipophilic antioxidants (tocopherols and tocotrienols). It had significant levels of phenol alcohols, phenol acids, lignans, oleuropein and ligstroside aglycons, bioflavonoids, and oleocanthal (*p*-HPEA-EDA). Its head-space aroma even displayed new volatile molecules and also had high levels of green volatiles from the LOX-pathway (having as precursors either α -LnA or LA compounds, including in their molecule structure a *cis-cis*-1,4- pentadiene system). Among the other bioactives occurring in this olive oil variety there were significant levels of *trans*- β -carotene and xanthophylls (lutein, violaxanthin, neoxanthin and other minor carotenoids). Its optimal bionutritional level was confirmed by the equilibrated composition of both triacylglycerol and fatty acid fractions and the value of the ω_6/ω_3 fatty acid ratio. Values of the trombogenic and atherogenic indices were very low or tending to zero. Finally, it was characterized by long shelf-life and excellent organoleptic properties, related mainly to the pleasant artichoke taste.

Key words: Olive oil, *Olivastra di Seggiano* cultivar, compositional features, bioactives, nutraceuticals, hydrophilic and lipophilic antioxidants, green aromas, fingerprinting, chemometrics.

Introduzione

Negli ultimi dieci anni è stato condotto uno studio diretto a caratterizzare gli oli prodotti sul territorio nazionale. Sono oli interi, oli bio, oli *destoned*, oli organic-*destoned*, oli premium, superpremium, DOP e IGP. In questa nota vengono riportati i dati relativi alle caratteristiche dell'olio "Olivastra di Seggiano", ottenuto dalla omonima cultivar.

Essa è denominata anche 'Seggianese', 'Saggianina', 'Olivastra di Montalcina', 'Olivo dell'Amiata'. Nell'ambiente collinare, in cui cresce, gli attacchi della mosca e di altri parassiti sono praticamente inesistenti o assai rari. È autosterile. Per l'impollinazione sono idonee le cultivar Frantoio, Moraiolo, Correggiolo, Leccino, Pendolino. L'aborto dell'ovario raggiunge valori fino al 35%. La maturazione è precoce, la vegetazione è assurgente. L'albero raggiunge altezze piuttosto elevate. Il fenomeno dell'alternanza produttiva è evidente. La maturazione è precoce. La resa al frantoio è buona.

È in istruttoria presso l'UE la domanda per il riconoscimento DOP dell'olio in esame, per il quale è stato costituito un consorzio di tutela ed è stato redatto un disciplinare di produzione. Le caratteristiche del prodotto vengono definite eccellenti.

Materiali e metodi

Un numero di parametri analitici è stato determinato applicando le metodologie di cui al Reg CE 2568/91 e s.m.i. Gli alchil esteri degli acidi grassi sono stati quantificati usando la metodica riportata nel Reg. CE n. 61/2011. Per la valutazione di altro numero di parametri analitici sono state applicate le metodologie descritte in precedenti lavori (Ranalli *et al.*, 2007; 2008; 2010; 2011). I tocoferoli e i tocotrienoli sono stati determinati per HPLC, usando una colonna M-porasil a fase diretta e come eluente una miscela di esano/2-propanolo (98.5:1.5, v/v). I pigmenti sono stati estratti con *N,N*-dimetilformamide mentre come

* alfonso.ranalli@entecra.it

eluente è stata usata una miscela etere di petrolio 65-95 C/acetone/dietilamina (10:4:1, v/v/v). Per la quantificazione dei fenoli è stato usato un metodo HPLC (Ranalli *et al.*, 2011), usando per l'estrazione una miscela metanolo/acqua (80:20, v/v). Una colonna C₁₈ a fase inversa, un rivelatore spettrofotometrico UV a 280nm e un integratore sono stati impiegati. Per l'eluizione è stata usata una miscela ternaria (gradiente lineare) costituita da una soluzione acquosa di acido *o*-fosforico (0,2%), metanolo e acetonitrile. L'acido sirigico è stato usato come standard interno. Le concentrazioni sono state espresse in mg kg⁻¹ tirosolo. I volatili sono stati strippati dagli oli in corrente di azoto (1,2 l min⁻¹; 37 °C; 2 h), intrappolati in carbone attivo ed eluiti con etere dietilico. Successivamente sono stati analizzati mediante DHS-HRGC, usando un gascromatografo equipaggiato con colonna carboxax 20 M (50 m, 0,32 mm i.d., 0,5 µm), un sistema di iniezione on-column, un sistema criogenico a CO₂, ed un rivelatore FID. Per l'identificazione di talune molecole volatili sono stati usati idonei standards. È stato altresì impiegato un sistema GC-MS (Ranalli *et al.*, 2010).

Risultati e discussione

La tabella 1 evidenzia come l'olio "Olivastra di Seggiano" sia ben dotato di antiossidanti idrofilici, quali acidi fenolici, fenilalcoli, agliconi naturali e ossidati dell'oleuropeina e del ligstroside, lignani e bioflavonoidi. Ciò risulta confermato da un'analisi incrociata dei fenoli totali effettuata con metodo colorimetrico, usando il reattivo Folin-Ciocalteus. Da segnalare anche, come risulta dalla tabella 2, le significative concentrazioni di antiossidanti vitaminici lipofilici, quali α -, β -, γ - tocoferolo ed α -, β - tocotrienolo. In conseguenza l'olio ha evidenziato una prolungata *shelf-life* e resistenza alle degradazioni ossidative. Una influenza statisticamente significativa sulla concentrazione dei predetti antiossidanti fenolici e vitaminici ha avuto l'annata produttiva a conferma del peso significativo dei fattori climatici sulla composizione del prodotto.

In tabella 2 sono stati inclusi altresì i valori dei contenuti di volatili green derivanti dal ciclo della lipossigenasi (*LOX-cascade*), a partire dai 13-idroperossidi degli acidi grassi contenenti nella loro struttura molecolare un sistema *cis-cis*-1,4-pentadienico, quali l'acido oleico (LA) e l'acido α -linolenico (α -LnA). Dal primo derivano essenzialmente i volatili C₆ esanale, esan-1-olo, esil-acetato, mentre dal secondo si formano principalmente i volatili C₆ *trans*-2-esenale, *trans*-2-esen-1-olo, *cis*-3-esen-1-olo, *cis*-3-esenilaceta-

Tab. 1 - Composizione della frazione fenolica dell'olio *Olivastra di Seggiano*. I campioni sono stati prelevati in 3 stagioni consecutive. Per il confronto statistico è stato adottato il *Tukey's HSD range test* ($p \leq 0,01$). CVs $\leq 6,0\%$; $n = 3$; (a-c).

Tab. 1 - *Composition of the phenol fraction of Olivastra di Seggiano oil*. Samples were withdrawn from three consecutive years. To compare statistically the mean values the *Tukey's HSD range test* was used ($p \leq 0,05$). CVs $\leq 6,0\%$; $n=3$; (a-c).

Polifenoli (mg kg ⁻¹ tirosolo)	Olivastra di Seggiano		
	08 / 09	09 / 10	10 / 11
Idrossitirosolo	1,55 ^a	2,65 ^{ab}	1,70 ^b
Tirosolo	2,81 ^a	3,43 ^b	2,41 ^c
Acido vanillico+acido caffeico	3,12 ^a	1,07 ^b	0,66 ^c
Vanillina	0,87 ^a	2,30 ^b	1,27 ^c
Acido paracumarico	1,28 ^a	2,29 ^b	3,06 ^c
Idrossitirosilacetato	3,29 ^a	1,14 ^b	1,97 ^a
Acido ferulico	1,27 ^a	4,47 ^b	1,53 ^a
Acido ortocumarico	0,73 ^a	3,13 ^b	0,64 ^a
Aglicone decarbossimetioleuropeina forma dialdeidica ossidata	1,16 ^a	2,36 ^b	1,19 ^a
Aglicone decarbossimetioleuropeina forma dialdeidica	51,02 ^a	65,70 ^b	68,77 ^c
Aglicone decarbossimetioleuropeina forma dialdeidica ossidata	2,53 ^a	6,94 ^b	16,59 ^c
Oleuropeina	1,16 ^a	3,98 ^b	3,69 ^b
Aglicone oleuropeina forma ossidata	1,28 ^a	5,38 ^b	7,61 ^c
Tirosilacetato	0,18 ^a	tr	0,91 ^b
Aglicone decarbossimetilligstroside forma dialdeidica ossidata	0,83 ^a	0,72 ^b	0,69 ^b
Aglicone decarbossimetilligstroside forma dialdeidica ossidata	47,69 ^a	91,87 ^b	59,59 ^c
Aglicone decarbossimetilligstroside forma dialdeidica	8,09 ^a	12,86 ^b	3,91 ^c
Pinoselinolo, acetossi-pinoselinolo	12,58 ^a	12,73 ^a	24,92 ^b
Acido cinnamico	4,87 ^a	6,89 ^b	tr
Aglicone ligstroside forma dialdeidica	2,93 ^a	2,42 ^a	8,08 ^b
Aglicone oleuropeina forma aldeidica e idrossilica ossidata	1,46 ^a	1,62 ^a	5,67 ^b
Aglicone oleuropeina forma aldeidica e idrossilica ossidata	2,92 ^a	1,49 ^b	4,36 ^c
Luteolina	4,68 ^a	tr	tr
Aglicone oleuropeina forma aldeidica e idrossilica ossidata	3,78 ^a	37,23 ^b	tr
Aglicone oleuropeina forma aldeidica e idrossilica	21,96 ^a	20,15 ^a	44,47 ^b
Aglicone ligstroside forma aldeidica e idrossilica ossidata	1,90 ^a	4,26 ^b	8,84 ^c
Aglicone ligstroside forma aldeidica e idrossilica ossidata	12,41 ^a	3,31 ^b	1,79 ^c
Apigenina	4,35 ^a	19,47 ^b	6,21 ^c
Metil-luteolina	2,80 ^a	tr	3,37 ^b
Aglicone ligstroside forma aldeidica e idrossilica	8,77 ^a	6,32 ^b	9,50 ^c

Tab. 2 - Contenuto di tocoferoli, tocotrienoli e volatili green dell'olio *Olivastra di Seggiano*. I campioni sono stati prelevati in stagioni olivicole diverse. Per i confronti è stato applicato il *Tukey's HSD range test* ($p \leq 0,05$). $CVs \leq 5,7\%$; $n = 3$; (a-c).
 Tab. 2 - Contents of tocopherols, tocotrienols and green volatiles in the *Olivastra di Seggiano* oil. Samples were withdrawn from three consecutive years. To compare statistically the mean values the *Tukey's HSD range test* was used ($p \leq 0,05$). $CVs \leq 5,7\%$; $n=3$; (a-c).

Tocoferoli e tocotrienoli (mg kg ⁻¹)	Olivastra di Seggiano		
	08 / 09	09 / 10	10 / 11
α - Tocoferolo	185,74 ^a	204,38 ^b	147,50 ^c
γ - Tocoferolo	11,00 ^a	14,55 ^b	6,36 ^c
δ - Tocoferolo	1,14 ^a	1,65 ^b	1,49 ^c
α - Tocotrienolo	2,63 ^a	2,94 ^a	3,27 ^b
γ - Tocotrienolo	1,30 ^a	2,17 ^b	0,98 ^c
Volatili C ₆ LA	151 ^a	175 ^b	129 ^c
Volatili C ₆ LnA	521 ^a	566 ^b	590 ^c

to, nonché i composti C₅ quali penteni dimeri, pentenoli e composti carbonilici (Sanz *et al.*, 2012). Trattasi dunque essenzialmente di aldeidi, alcoli ed esteri, risultati presenti in concentrazioni alquanto significative nell'olio studiato. Sono stati quantificati oltre 100 volatili, i valori dei quali vengono qui omessi per brevità. Nello spazio di testa di questo olio sono stati nuovamente identificati taluni volatili non sempre presenti nelle altre varietà, quali α -copaene ed α -muurolene.

Infine, la tabella 3 riporta il profilo acido, risultato alquanto interessante per i buoni contenuti di ω_9 , ω_6 , ω_3 e per l'ottimale valore del rapporto ω_6/ω_3 , avente, come è noto, notevole importanza biologica. I valori degli indici aterogenico e trombogenico sono risultati bassi o tendenti a zero (Ulbricht e Southgate, 1991). Da evidenziare anche i bassissimi valori dei metil e alchil esteri degli acidi grassi, indicanti il

Tab. 3 - Profilo acido dell'olio *Olivastra di Seggiano*. I campioni sono stati raccolti in stagioni olivicole consecutive. Per i confronti è stato applicato il *Tukey's HSD range test* ($p \leq 0,05$). $CVs \leq 6,5\%$; $n = 3$; (a-d).

Tab. 3 - Acidic profile and contents of waxes, alkyl esters and squalene in the *Olivastra di Seggiano* oil. Samples were withdrawn from three consecutive years. To compare statistically the mean values the *Tukey's HSD range test* was used ($p \leq 0,05$). $CVs \leq 6,5\%$; $n=3$; (a-d).

Parametri	Olivastra di Seggiano						
	2005 / 2006	2006 / 2007	2007 / 2008	2008 / 2009	2008 / 2009	2009 / 2010	2010 / 2011
Cere C ₄₀ - C ₄₆	40,45 ^a	46,67 ^b	52,20 ^c	64,47 ^d	54,33 ^c	32,10 ^d	40,45 ^a
Metil esteri C ₁₈						3,26 ^a	2,92 ^b
Etil esteri C ₁₉						5,26 ^a	3,18 ^b
Ac. palmitico C _{16:0}	11,99 ^a	12,63 ^b	12,50 ^b	12,96 ^b	13,39 ^c	12,24 ^a	11,99 ^a
Ac. stearico C _{18:0}	2,00 ^a	2,22 ^a	2,11 ^a	2,07 ^a	2,23 ^a	2,20 ^a	2,00 ^a
Ac. oleico C _{18:1} ω_9	77,59 ^a	75,76 ^b	75,17 ^b	75,89 ^b	75,01 ^b	77,55 ^a	77,59 ^a
Ac. linoleico C _{18:2} ω_6	6,25 ^a	6,89 ^a	7,71 ^b	6,82 ^a	7,31 ^b	5,70 ^c	6,25 ^a
Ac. α -linolenico C _{18:3} ω_3	0,52 ^a	0,56 ^a	0,60 ^a	0,52 ^a	0,38 ^b	0,56 ^a	0,52 ^a
ω_6/ω_3	12,13 ^a	12,79 ^a	12,84 ^a	13,08 ^b	19,21 ^c	10,20 ^d	12,13 ^a
MUFA/PUFA	14,46 ^a	13,07 ^b	10,34 ^c	11,02 ^d	10,43 ^c	13,10 ^b	14,46 ^a
Indice aterogenico	0,14 ^a	0,15 ^a	0,15 ^a	0,15 ^a	0,16 ^a	0,14 ^a	0,14 ^a
Indice trombogenico	0,04 ^a	0,04 ^a	0,04 ^a	0,04 ^a	0,04 ^a	0,04 ^a	0,04 ^a
Squalene	0,48 ^a	0,77 ^b	0,85 ^c	0,60 ^b	1,05 ^c	0,73 ^b	0,48 ^a

basso livello di degradazione del prodotto, altra circostanza che conferma l'alto livello qualitativo dell'olio indagato. Le figure 1 e 2 evidenziano come applicando tecniche di analisi multivariata sia possibile discriminare i campioni in base all'anno di produzione.

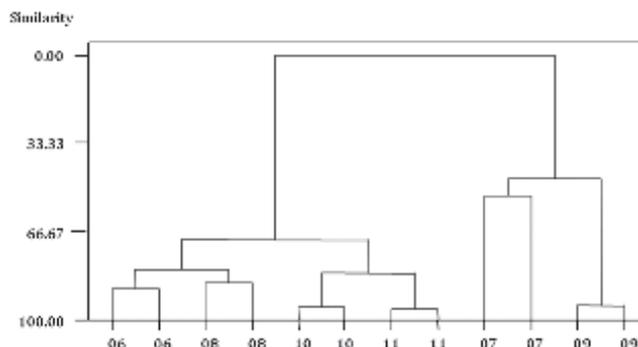


Fig. 1 - Dendrogramma ottenuto dai dati della frazione volatile. I campioni si separano in base all'anno di produzione.
 Fig. 1 - Dendrogram obtained from the volatile composition. Samples are discriminated by the production year.

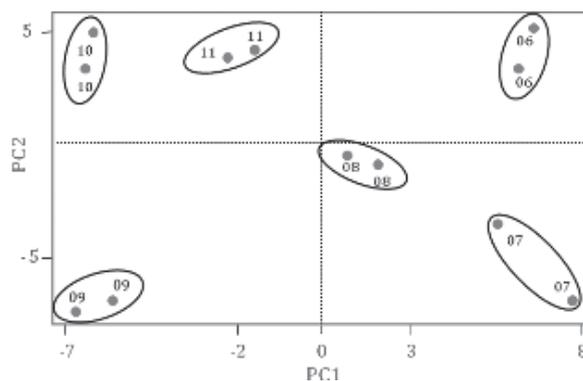


Fig. 2 - Score plot PCA ottenuto dai dati compositivi degli acidi grassi. I campioni si separano in base all'anno di produzione.
 Fig. 2 - Score plot PCA obtained from the fatty acid composition. Samples are discriminated by the production year.

Lo studio, infine, ha messo in evidenza come le peculiarità di questo olio siano da mettere in relazione prevalentemente col suo pregevole flavour ed aroma. Da segnalare soprattutto il marcato gratificante sapore di carciofo, ma anche altre sensazioni gradevoli, quali sapore di mandorla, maggiorana, banana, menta, salvia, cedro.

Conclusioni

Nel nostro Paese vi sono diverse realtà produttive simili a quella dell'*Olivastra di Seggiano*. Questi oli di elevato pregio, ricchi di fattori nutrizionali e funzionali, possono concorrere al rilancio del valore aggiunto e della sostenibilità del *made in Italy* e al suo riposizionamento competitivo sul mercato globale.

Ringraziamento

Si ringrazia l'assegnista Dr. F. Girardi per la sua collaborazione alle ricerche.

Riassunto

Vengono qui riportati i dati composizionali e bio-nutrizionali dell'olio vergine destoned ottenuto dalla cultivar *Olivastra di Seggiano*, dotata di caratteristiche selvatiche. Essa è coltivata nelle province di Grosseto e Siena, alle pendici del Monte Amiata, fino ad un'altitudine di 600 m, principalmente nel territorio del comune di Seggiano, da dove ha avuto origine. È in corso il riconoscimento DOP di questo olio, noto per le sue caratteristiche peculiari. Campioni prelevati dalla zona di produzione sono stati sottoposti ad indagine analitica dal 2005 al 2010. Sono da evidenziare le significative concentrazioni di antiossidanti idrofili, quali acidi fenolici, fenilalcoli, agliconi dell'oleuropeina e del ligstroside, oleocantale (*p-HPEA-EDA*), lignani e bioflavonoidi. Buoni sono apparsi altresì i contenuti di antiossidanti vitaminici (tocoferoli e tocotrienoli) e di volatili green biogenerati dalla

LOX-pathway a partire dai 13-idroperossidi degli acidi linoleico (13-HPOD) ed α -linolenico (13-HPOT). Sono da segnalare i buoni livelli di *trans*- β -carotene e di xantofille (luteina, violaxantina, neoxantina ed altri carotenoidi minori). L'alto valore bionutrizionale di questo olio è confermato dalla equilibrata composizione delle frazioni trigliceridiche ed acide e dall'ottimale valore del rapporto tra acidi grassi bioattivi (ω_6/ω_3). I valori degli indici aterogenico e trombogenico sono bassi o tendenti a zero. Infine sono da rilevare i buoni valori dei parametri della shelf-life e le peculiari caratteristiche organolettiche, connesse principalmente alle gratificanti sensazioni di carciofo.

Parole chiave: Olio di oliva, 'Olivastra di Seggiano', caratteristiche composizionali, bioattivi, nutraceutici, antiossidanti idrofili e lipofili, aroma green, *fingerprinting*; multivariate.

Lavoro realizzato all'interno del Progetto RIOM – fondi aggiuntivi CIPE – e dell'azione europea COST FA0905, settimo programma quadro.

Bibliografia

- RANALLI A., CONTENUTO S., DI SIMONE G., 2011. *Levels of lipochromes and other bioactives in virgin olive oil from new olive germplasm*. J. Food Comp. Anal. 24: 845–850.
- RANALLI A., CONTENUTO S., 2010. *Analytical assessment of Destoned and Organic-Destoned Extra-Virgin Olive Oil*. Eur. Food Res. Tech., 230: 965-971.
- RANALLI A., MARCHEGIANI D., PARDI DI., CONTENUTO S., PARDI D., GIRARDI F., KOTTI F., 2008. *Evaluation of nutraceutical phytochemicals in destoned virgin olive oil*. Food and Bioprocess Tech., 2: 322-327.
- RANALLI, A.; BENZI, M.; LUCERA, L.; MARCHEGIANI, D.; PARDI, D. 2007. Concentration of natural pigments and other bioactive components in pulp oils from de-stoned olives. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8: 437-442
- ULBRICHT T.L.V. & SOUTHGATE D.A.T. 1991. *Coronary heart disease: seven dietary factors*. The Lancet, 338: 982-992.
- SANZ C., SANCHEZ-ORTIZ A., ROMERO C., GRAHAM I., GAZDA V., PEREZ, A., 2012. *Content of volatile esters in virgin olive oil is limited by the synthesis of their alcohol moieties through the lipoxygenase pathway*. J. Agr. Food Chem. (in press).

La qualità degli oli vergini di oliva alla luce delle innovazioni del settore

Servili M.*, Taticchi A., Esposto S., Urbani S. e Selvaggini R.

Dipartimento di Scienze Economico-Estimative e degli Alimenti, Sezione di Tecnologie e Biotecnologie degli Alimenti, Università di Perugia

Technical innovations toward the virgin olive oil quality

Abstract. Virgin olive oil quality is mainly connected to the health and sensory properties due to minor components such as phenols and volatile compounds. The phenolic composition and aroma generation of virgin olive oil are strongly affected by the operative conditions of oil mechanical extraction process that influenced the product quality. In particular, some endogenous enzymes, such as polyphenoloxidase (PPO), peroxidase (POD) and lipoxygenase (LPO), activated during crashing, play an important role to determine the phenolic and volatile compounds concentration in virgin olive oil. The optimization of processing conditions for improving health and sensory quality of oil necessarily concerns the control of enzymatic activities during extraction process. In this context will be analyzed the new technologies to the improvement and the valorisation of virgin olive oil quality.

Key words: virgin olive oil, malaxation, endogenous enzymes, phenols, volatile compounds.

Introduzione

Allo stato attuale, oltre alla ormai nota composizione in acidi grassi di elevato valore nutrizionale, è la componente minore a fare dell'olio vergine di oliva una sostanza grassa dalle caratteristiche esclusive. I componenti minori, che rappresentano circa il 2% del peso dell'olio, sono più di 230 sostanze chimiche appartenenti a differenti classi. Tra queste i composti volatili e le sostanze fenoliche partecipano in modo massiccio alla determinazione delle qualità sensoriali e salutistiche di un olio vergine di oliva. Le qualità salutistiche sono dovute principalmente alla frazione

fenolica costituita da fenil-acidi, fenil-alcoli (*p*-HPEA e 3,4-DHPEA), lignani (pinoresinolo e acetossi-pinoresinolo) e i derivati dei secoiridoidi quali il 3,4-DHPEA-EDA, il *p*-HPEA-EDA, il 3,4-DHPEA-EA e *p*-HPEA-EA sostanze che svolgono un importante ruolo antiossidante (Servili *et al.*, 2004). Per quanto concerne le caratteristiche sensoriali queste sono dovute sia ai composti fenolici, responsabili delle note di amaro e pungente, che ai composti volatili coinvolti nella formazione dell'aroma dell'olio (Dierkes *et al.*, 2012; Angerosa *et al.*, 2004).

Le concentrazioni dei suddetti composti risultano essere strettamente legate ad aspetti genetici, agronomici e a tutta una serie di fenomeni di ossidazione enzimatica (PPO, POD, e LPO) che avvengono durante le differenti fasi del processo di estrazione meccanica dell'olio. La PPO e la POD, catalizzando l'ossidazione dei fenoli, riducono la loro concentrazione nelle paste e negli oli e la LPO, attraverso un meccanismo di azione a cascata, è alla base della formazione di aldeidi, alcoli ed esteri a C₅ e C₆ saturi ed insaturi, responsabili delle note aromatiche di erbaceo e floreale degli oli vergini di oliva.

La fase di gramolatura, che ha come scopo primario quello di garantire un'ideale aggregazione delle goccioline di olio disperse nelle paste per facilitare i successivi processi di separazione, influenza perciò le concentrazioni della frazione fenolica e volatile che risultano fortemente legate alla gestione di tre variabili operative principali: temperatura, tempo e disponibilità di ossigeno in gramola. I recenti studi sono pertanto volti all'individuazione delle più idonee condizioni operative che assicurino rese in olio adeguate contrastando il più possibile la riduzione dei composti volatili e fenolici e garantendo una buona solubilità delle sostanze fenoliche stesse.

Questo lavoro è volto allo studio dell'effetto dei parametri di gramolatura sui componenti fenolici e/o volatili con l'obiettivo di migliorare la qualità dell'olio vergine di oliva attraverso il controllo delle reazioni enzimatiche coinvolte nel rilascio e nell'ossidazione dei fenoli e nella biogenesi degli aromi.

* servimau@unipg.it

Materiali e metodi

Olive

L'olio vergine di oliva è stato estratto a partire da olive di quattro cultivar rappresentative della produzione nazionale quali: Coratina, Ogliarola, Peranzana, e Moraiolo, con indice di pigmentazione 0.95 (Pannelli *et al.*, 1994).

Estrazione meccanica dell'olio vergine di oliva

Partite da 150 kg di olive sono state lavorate con impianto Rapanelli comprensivo di decanter a basso consumo d'acqua mod.400 ECO/G. La frangitura è stata effettuata con frangitore a martelli mentre la gramolatura è stata condotta per 40 minuti a diverse temperature (20, 25 e 35 °C) con una gramola a scambio gassoso controllato (Rapanelli S.p.A, Foligno - PG) dotata di una valvola che consentiva l'immissione di O₂. Sono state valutate due pressioni parziali dell'ossigeno all'interno della gramola 30 kPa, corrispondente alle condizioni atmosferiche e 50 kPa. Ogni 10 minuti sono stati prelevati campioni di pasta di olive (200g), congelati in azoto liquido e conservati a -80 °C fino all'analisi. Gli oli ottenuti dalle diverse condizioni di gramolatura, separati utilizzando il decanter sopra indicato, sono stati filtrati e conservati a 13 °C prima di essere sottoposti ad analisi della componente fenolica e volatile.

Analisi della composizione fenolica delle paste e degli oli per HPLC

L'estrazione e l'analisi dei composti fenolici dalle paste è stata eseguita secondo quanto riportato da Servili *et al.* (2008). I composti fenolici sono stati valutati mediante HPLC secondo quanto riportato da Montedoro *et al.* (1992), Selvaggini *et al.* (2006).

Estrazione ed analisi della PPO e POD

L'estrazione e la valutazioni delle attività enzimatiche e delle relative stabilità termiche sono state effettuate secondo quanto riportato da Servili *et al.* (2007).

Analisi dei composti volatili

Il campionamento dei composti volatili dello spazio di testa degli oli per SPME e l'analisi per GC/MS sono stati effettuati secondo quanto riportato da Servili *et al.* (2008).

Risultati e discussione

Sulle paste ed i relativi oli vergini di oliva estratti da quattro cvs italiane è stato valutato l'effetto di temperatura e livello di ossigeno durante la gramolatura.

Dalle analisi HPLC si osserva come al variare della temperatura di processo, ci sia una forte influenza sulla frazione fenolica delle paste (dati non mostrati) e degli oli. Gli oli di tutte le cultivar analizzate presentano infatti una concentrazione fenolica che aumenta proporzionalmente con l'aumentare della temperatura di gramolatura con il raggiungimento dei valori massimi a 35 °C. Il contenuto in secoiridoidi, espresso come somma delle frazioni fenoliche e dei derivati dell'oleuropeina e del ligustroside aumentano incrementando la temperatura di processo mentre il contenuto in lignani non risulta influenzato dalle variazioni termiche in gramolatura (tabb. 1 e 2). È comunque opportuno evidenziare come tali incrementi della frazione fenolica in funzione della temperatura risultino fortemente influenzati dalla cultivar presa in esame con un range di variabilità che oscilla tra 85% ed il 41% raggiungendo i valori più alti per le cultivar Peranzana e Coratina passando da 20 °C a 35 °C.

Tab. 1 - Composizione fenolica (mg/kg) degli oli vergini di oliva delle cultivar *Moraiolo* e *Peranzana* ottenuti a diverse temperature e a diversi livelli di ossigeno.

Tab. 1 - Phenolic composition (mg/kg) of *Moraiolo* and *Peranzana* virgin olive oil extracted at different temperatures and different O₂ levels.

Parametri	cv Moraiolo			cv Peranzana		
	20 °C	25 °C	35 °C	20 °C	25 °C	35 °C
O ₂ = 30 kPa						
Derivati dell'oleuropeina ^z	187,4 ± 10,3	235 ± 12,5	314,6 ± 16,7	113,2 ± 6,9	171,2 ± 10,3	226,5 ± 15,7
Derivati del ligustroside	41,7 ± 3	46 ± 3,3	85,9 ± 6,3	29,3 ± 2,1	45,5 ± 3,3	53,3 ± 4,4
Somma dei lignani	33,6 ± 2	35,1 ± 2	33,5 ± 1,9	21,3 ± 1,1	23,2 ± 1,1	23,5 ± 0,8
Somma frazioni fenoliche	262,7 ± 10,9	316 ± 13,1	434 ± 18	163,8 ± 7,3	239,9 ± 10,9	303,2 ± 16,3
O ₂ = 50 kPa						
Derivati dell'oleuropeina	133,9 ± 5,3	156,4 ± 7,9	203,9 ± 11,9	75,1 ± 3,1	110,7 ± 5,2	146,9 ± 7
Derivati del ligustroside	30,6 ± 2,3	36,3 ± 2,9	64,3 ± 3,7	16,6 ± 1,4	33,3 ± 1,8	38,5 ± 2,5
Somma dei lignani	32,8 ± 1,7	32,1 ± 1,8	32,7 ± 1,9	23,4 ± 1	23,2 ± 1	22,8 ± 1
Somma frazioni fenoliche	197,3 ± 6	224,8 ± 8,6	300,9 ± 12,6	115 ± 3,5	167,2 ± 5,6	208,2 ± 7,5

^zI valori sono la media di due determinazioni ± la deviazione standard

Tab. 2 - Composizione fenolica (mg/kg) degli oli vergini di oliva delle cultivar *Coratina* e *Ogliarola* ottenuti a diverse temperature e a diversi livelli di ossigeno.Tab. 2 - Phenolic composition (mg/kg) of *Coratina* and *Ogliarola* virgin olive oil extracted at different temperatures and different O_2 levels.

Parametri	cv Coratina			cv Ogliarola		
	20°C	25°C	35°C	20°C	25°C	35°C
$O_2 = 30$ kPa						
Derivati dell'oleuropeina ^z	424,5 ± 22	659,3 ± 28,1	818,3 ± 34	281 ± 15,8	327,9 ± 17,5	440 ± 23,8
Derivati del ligustroside	203,1 ± 14,2	240 ± 16,5	284,4 ± 19,8	116 ± 8,3	123,3 ± 8,7	136,2 ± 9,8
Somma dei lignani	35,3 ± 1,8	31,9 ± 1,7	39,2 ± 2,1	45,2 ± 2,4	45,1 ± 2,4	47,2 ± 2,3
Somma frazioni fenoliche	662,9 ± 26,2	931,2 ± 32,6	1141,9 ± 39,4	442,1 ± 18	496,3 ± 19,7	623,5 ± 25,9
$O_2 = 50$ kPa						
Derivati dell'oleuropeina	323,7 ± 15,9	425 ± 21,6	599,5 ± 17,2	172,7 ± 12,4	251,1 ± 12,8	277,5 ± 19,5
Derivati del ligustroside	171,6 ± 11,4	177,9 ± 12,4	192,5 ± 8,3	99,7 ± 7,6	91,4 ± 6,9	106,1 ± 10,7
Somma dei lignani	34,1 ± 1,8	32,4 ± 1,7	41,1 ± 2,3	44,4 ± 2,5	43,6 ± 2,5	43,9 ± 2,9
Somma frazioni fenoliche	529,4 ± 19,6	635,2 ± 25	833,1 ± 19,2	316,9 ± 14,8	386,1 ± 14,8	427,6 ± 22,4

^zI valori sono la media di due determinazioni ± la deviazione standard

Le medesime tabelle 1 e 2 evidenziano come, a parità di temperatura di processo, gli oli di tutte le cultivar gramolate con 50 kPa di O_2 siano caratterizzati da una concentrazione fenolica inferiore rispetto al campione estratto con 30 kPa di O_2 nello spazio di testa della gramola. Questo dato conferma che l'ossigeno partecipa attivamente alla riduzione della concentrazione fenolica, al di sopra dei valori atmosferici (30 kPa), incrementando i processi di degradazione ossidativa (Servili *et al.*, 2008).

Dai dati analizzati la temperatura di processo sembra svolgere quindi un ruolo fondamentale nel regolare i fenomeni di ossidazione dei composti fenolici catalizzati dalle ossidoreduttasi (POD e PPO). Per comprendere l'influenza della temperatura di gramolatura sui processi ossidativi è stata valutata la temperatura ottimale e la stabilità termica della POD e PPO (dati non mostrati). Mentre la POD, a causa delle sue caratteristiche biochimiche (alta stabilità termica a 40 °C e temperatura ottimale intorno a 50 °C), non giustifica il trend delle concentrazioni fenoliche all'aumentare della temperatura di processo, la PPO essendo caratterizzata da una bassa stabilità termica a 40 °C sembra giustificare con la sua parziale inattivazione in fase di gramolatura l'evoluzione della componente fenolica. I dati della PPO sono strettamente legati alla cultivar con Ogliarola e Coratina che raggiungono i valori più bassi di attività residua della PPO a 40 °C per 60 minuti rispettivamente del 40% e 60% e la Peranzana che mostra invece la stabilità termica più elevata.

La composizione in sostanze volatili degli oli (dati non mostrati) evidenzia, come primo aspetto una notevole differenza quantitativa legata alla cultivar da cui dipende anche l'influenza della temperatura di gramolatura. Infatti, per quanto riguarda le aldeidi,

queste presentano concentrazioni più elevate a 25 °C con differenze più marcate per Coratina e Ogliarola e più leggere per Peranzana e Moraiolo. Per quanto riguarda gli alcoli di Moraiolo e Coratina si nota un andamento della concentrazione crescente in funzione dell'aumento della temperatura, mentre per Peranzana e Ogliarola non si notano significative variazioni. La concentrazione in esteri si mostra maggiormente dipendente dalla temperatura di lavorazione: i contenuti minori si osservano in tutti i casi a 35 °C mentre l'influenza della temperatura di gramolatura a 20 °C rispetto a quella a 25 °C è variabile non mostrando un andamento costante per le diverse varietà di olive.

Conclusioni

In questo lavoro emerge una positiva relazione tra la concentrazione fenolica di quattro cultivar italiane e la temperatura di gramolatura. La stabilità termica della PPO, unitamente al complesso processo di solubilizzazione dei composti fenolici nell'olio, può spiegare l'evoluzione della concentrazione fenolica in funzione della temperatura di processo. Le diverse cultivar evidenziano inoltre un comportamento differenziato in relazione agli stessi parametri operativi con variazioni della composizione volatile e della concentrazione fenolica. Da un punto di vista tecnologico il processo va quindi ottimizzato in funzione della cultivar e della sua specifica risposta alle variabili di processo.

Riassunto

Il concetto di qualità per gli oli vergini di oliva è oggi imperniato principalmente sugli aspetti legati all'origine ed alle proprietà salutistiche e sensoriali,

queste ultime conferite dai composti fenolici e da quelli volatili.

Le condizioni di estrazione meccanica sono estremamente importanti nel determinare la composizione fenolica ed aromatica degli oli, influenzando così direttamente la qualità del prodotto. In particolare, alcuni enzimi endogeni, quali polifenolossidasi (PPO), perossidasi (POD) e lipossigenasi (LPO), attivati già in fase di frangitura, giocano un ruolo fondamentale nel determinare la concentrazione in sostanze fenoliche e volatili negli oli vergini di oliva. Le potenziali strategie per il miglioramento della qualità salustica e sensoriali degli oli comprendono, quindi, necessariamente, il controllo delle suddette attività enzimatiche durante il processo di estrazione. Gli aspetti più innovativi per il miglioramento e la valorizzazione della qualità degli oli vergini di oliva verranno, a questo proposito analizzati alle luce delle più recenti conoscenze.

Parole chiave: olio vergine di oliva, gramolatura, enzimi endogeni, sostanze fenoliche, composti volatili.

Bibliografia

- ANGEROSA F., SERVILI M., SELVAGGINI R., TATICCHI A., ESPOSTO S., MONTEODORO G.F., 2004. *Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality*. J. Chromatogr. A 1054: 17-31.
- DIERKES G., BONGARTZ A., GUTH H., HAYEN H., 2012. *Quality evaluation of olive oil by statistical analysis by multicomponent stable isotope dilution assay data of aroma active compounds*. J. Agric. Food Chem. 60: 394-401.
- MONTEODORO G.F., SERVILI M., BALDIOLI M., MINIATI E., 1992. *Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. I. Their extraction, separation and quantitative and semi-quantitative evaluation by HPLC*. J. Agric. Food Chem. 40: 1571-1576.
- PANELLI G., SERVILI M., SELVAGGINI R., BALDIOLI M., MONTEODORO G.F., 1994. *Effect of agronomic and seasonal factors on olive (Olea europaea L.) production and on the qualitative characterization of the oil*. Acta Hort. 356: 239-243.
- SELVAGGINI R., SERVILI M., URBANI S., ESPOSTO S., TATICCHI A., MONTEODORO G.F., 2006. *Evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil by direct injection in High-Performance Liquid Chromatography with Fluorometric detection*. J. Agric. Food Chem. 54: 2832-2838.
- SERVILI M., SELVAGGINI R., ESPOSTO S., TATICCHI A., MONTEODORO G.F., MOROZZI G., 2004. *Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil*. J. Chromatogr. 1054: 113-127.
- SERVILI M., TATICCHI A., ESPOSTO S., URBANI S., SELVAGGINI R., MONTEODORO G.F., 2007. *Effect of olive stoning on the volatile and phenolic composition of virgin olive oil*. J. Agric. Food Chem. 55: 7028-7035.
- SERVILI M., TATICCHI A., ESPOSTO S., URBANI S., SELVAGGINI R., MONTEODORO G.F., 2008. *Influence of decrease in oxygen during malaxation of olive paste on the composition of volatiles and phenolic compounds in virgin olive oil*. J. Agric. Food Chem. 56: 10048-10055.

Caratterizzazione di oli di oliva di varietà calabresi

Della Medaglia D.A., Paduano A., Robertiello R. e Sacchi R.

Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università di Napoli "Federico II"

Characterization of Calabrian olive varieties

Abstract. Olive growing in Calabria is widespread throughout the region. Represents the main source of income for farms in inland areas. The setting is based on crop production systems still traditional, related to reduced size and excessive fragmentation of farms. The olive varieties are quite diversified and includes more than thirty varieties on the regional territory. This work has studied composition and qualitative characteristics of three of the main Calabrian olive varieties, transformed at the same extraction plant. Olive varieties were studied: Carolea, one of the most important Calabrian olive oil; Cassanese, widespread in the plain of Sibari; Ottobratica, mainly in the plain of Gioia Tauro-Palmi. Oils of varieties examined showed a low bio-phenolic content that associated with a toco-phenolic content in the media, let assume a rapid decay of overall quality due to oxidative degradation. The sensory profile of different oils has highlighted how the cultivars Cassanese and Carolea differ for herbaceous and tomato notes. Common denominator of all varieties taken into consideration is the limited perception of bitter and spicy versus high perception of sweet.

Key words: Calabrian olive oil, quality, sensory profile, bio-phenols.

Introduzione

L'olivicoltura in Calabria è diffusa su tutto il territorio regionale con un livello di maggiore concentrazione in tre zone: Sibaritide, Lametino e Gioiese. Considerando la rilevanza economica della coltura, l'olivicoltura rappresenta la principale fonte reddito per le aziende agricole delle aree interne della regione, nonostante i costi di produzione siano di gran lunga superiori per le difficili condizioni orografiche dei terreni. L'impostazione colturale produttiva è basata su sistemi ancora tradizionali, legati alle ridotte dimensioni e alla eccessiva frammentazione delle

aziende. Sono da evidenziare rilevanti sforzi messi in atto in alcune realtà al fine di migliorare gli aspetti qualitativi della produzione. In ambito nazionale la Calabria risulta essere la seconda regione sia per volume di olio prodotto che come numero di frantoi dislocati sul territorio. Il patrimonio varietale risulta alquanto diversificato annoverando più di trenta varietà presenti sul territorio regionale.

Questo lavoro ha avuto come obiettivo lo studio delle caratteristiche compositive e qualitative delle principali cultivar calabresi trasformate presso lo stesso impianto estrattivo. Le varietà studiate sono state: Carolea, una delle cultivar più importanti del panorama olivicolo calabrese; Cassanese, molto diffusa nella piana di Sibari; Ottobratica, diffusa principalmente nella Piana di Gioia Tauro-Palmi. In particolare gli aspetti studiati sono stati la definizione del profilo lipidico e biofenolico al fine di valutare la stabilità ossidativa degli oli ottenuti da diverse cultivar e la caratterizzazione del profilo sensoriale e delle sostanze volatili al fine di valutare la tipicità dei diversi oli.

In relazione ai risultati ottenuti, pur da considerarsi preliminari per il ridotto numero di campioni analizzati, è stato possibile trarre alcune considerazioni conclusive.

Materiali e metodi

Le olive sono state trasformate presso l'Azienda Olearia San Giorgio (San Giorgio Morgeto, RC), utilizzando un frangitore a martelli e decanter a tre fasi (Alfa Laval). Sui campioni di olio sono stati determinati i parametri di qualità, la composizione in acidi grassi ed il profilo sensoriale secondo i metodi ufficiali di analisi (Reg. CEE, 1991), la descrizione del profilo sensoriale è stata ampliata con l'aggiunta di descrittori tipici, la frazione fenolica e la composizione in tocoferoli mediante analisi HPLC-DAD (Tsimidou *et al.*, 1992; Vichi *et al.*, 2003) e l'analisi delle principali sostanze volatili mediante SPME-GC/MS.

Risultati e discussione

Dall'analisi degli indici analitici (Acidità, Numero di Perossidi, Indici Spettrofotometrici) non si eviden-

*dellamed@unina.it

ziano differenze tra i campioni di olio se non quelle dovute alla differente epoca di raccolta (tab. 1).

Il contenuto in tocoferoli risulta più basso negli oli della cultivar *Carolea* mentre nei restanti oli si evidenziano discreti valori di tocoferoli totali, in relazione alla varietà (tab. 1). La componente biofenolica degli oli ha evidenziato, per le tre varietà, una bassa dotazione in composti fenolici, sia semplici che complessi: in particolare, i campioni ottenuti da *Cassanese* e *Ottobratica* sono caratterizzati da un contenuto in fenoli totali più elevato rispetto a quelli ottenuti dalla varietà *Carolea* (tab. 1).

Dalla composizione in acidi grassi risulta evidente come la percentuale di acido oleico di tutti i campioni presi in esame risulti essere non elevata. Interessante notare come nei campioni di *Cassanese* e *Ottobratica* si abbia un valore di acido palmitico sensibilmente elevato, correlato ai valori più bassi di acido oleico (tab. 2).

I profili sensoriali degli oli, in tutte le varietà studiate, sono risultati caratterizzati da un elevato attributo di dolce, che per la varietà *Carolea* risulta essere

armonizzato dalla elevata nota di fruttato di oliva e sentori di pomodoro e di vegetale. L'olio ottenuto dalla cultivar *Cassanese* presenta anch'esso elevate percezioni di fruttato di oliva, di erba e pomodoro verde con note di mandorla. L'olio della cultivar *Ottobratica* ha presentato un profilo dolce accompagnato da una media percezione di fruttato di oliva e leggere note di foglia e mandorla. Tutti gli oli hanno mostrato una leggera percezione di amaro e piccante, confermato dalla scarsa dotazione in biofenoli di queste varietà (fig. 1).

Per quanto riguarda la componente volatile è possibile osservare come gli oli della varietà *Cassanese* si presentino più ricchi di alcoli come l'esanolo, il *trans*-2-esanolo, *cis*-3-esanolo che risultano associati alle percezioni di fruttato e foglia verde. Si evidenzia anche come gli oli ottenuti dalla *Carolea* e dalla *Cassanese* presentino la *cis*-3-esenale, responsabile di note di frutta, mela e pomodoro, assente nell'olio di *Ottobratica*. Inoltre si osserva la presenza di terpeni, quali il limonene e l'alfa murolene, riscontrati negli oli di *Carolea* (fig. 1).

Tab. 1 - Indici di qualità e contenuto in tocoferoli e biofenoli rilevati negli oli prodotti dalle varietà *Carolea*, *Cassanese* e *Ottobratica*.
Tab 1 - *Quality indexes, tocopherols and biophenol compounds detected in the oils produced by the Carolea, Cassanese and Ottobratica variety.*

Varietà	I.M.	Data raccolta	Acidità (% ac oleico)	NP meq O ₂ /kg	UV			Tocoferoli totali	Fenoli totali
					K232	K270	ΔK		
Carolea 1	2,1	30-ott	0,2	5,1	1,458	0,106	-0,002	191	32
Carolea 2	2,5	10-nov	0,4	7,2	2,027	0,174	-0,006	154	39
Cassanese 1	1,0	18-ott	0,2	10,3	2,107	0,165	-0,099	308	61
Cassanese 2	1,4	28-ott	0,2	7,3	1,738	0,118	-0,003	280	91
Ottobratica 1	2,1	20-ott	0,3	6,0	1,416	0,116	-0,003	346	57
Ottobratica 2	3,1	13-nov	0,3	4,7	1,391	0,114	-0,004	260	67

Tab. 2 - Composizione percentuale degli acidi grassi riscontrati negli oli prodotti dalle varietà *Carolea*, *Cassanese* e *Ottobratica*.
Tab 2 - *Fatty acid composition detected in the oils produced by the Carolea, Cassanese and Ottobratica variety.*

Varietà	C 14:0	C 16:0 Palmitico	C 16:1 (1)9 Palmitoleico	C 16:1 (1)7 Palmitoleico	C 17:0 Eptadecanoico	C 17:1 Eptadecanoico	C 18:0 Stearico	C 18:1 Oleico
	Carolea 1	0,01	14,66	0,13	1,41	0,18	0,35	2,48
Carolea 2	0,01	14,18	0,12	1,63	0,23	0,45	3,07	66,94
Cassanese 1	0,21	26,53	0,16	1,21	0,14	0,12	2,79	56,01
Cassanese 2	0,04	23,03	0,17	1,18	0,09	0,12	2,19	60,73
Ottobratica 1	0,15	27,22	0,16	2,04	0,22	0,34	2,22	57,02
Ottobratica 2	0,02	25,41	0,19	1,75	0,29	0,37	2,81	57,61
	C 18:1 (1)7 Vaccenico	C 18:2 Linoleico	C 20:0 Arachico	C 18:3 Linolenico	C20:1 Eicosenoico	C 22:0 Behenico	Squalene	C 24:0 Lignoceric
Carolea 1	3,67	6,94	0,42	0,59	0,27	0,13	0,75	0,07
Carolea 2	3,69	7,42	0,51	0,52	0,29	0,15	0,67	0,08
Cassanese 1	2,44	8,33	0,18	0,83	0,18	0,13	0,69	0,07
Cassanese 2	2,47	7,96	0,19	0,73	0,22	0,12	0,69	0,08
Ottobratica 1	2,84	6,26	0,23	0,48	0,19	0,13	0,39	0,08
Ottobratica 2	2,51	7,46	0,28	0,41	0,19	0,15	0,49	0,08

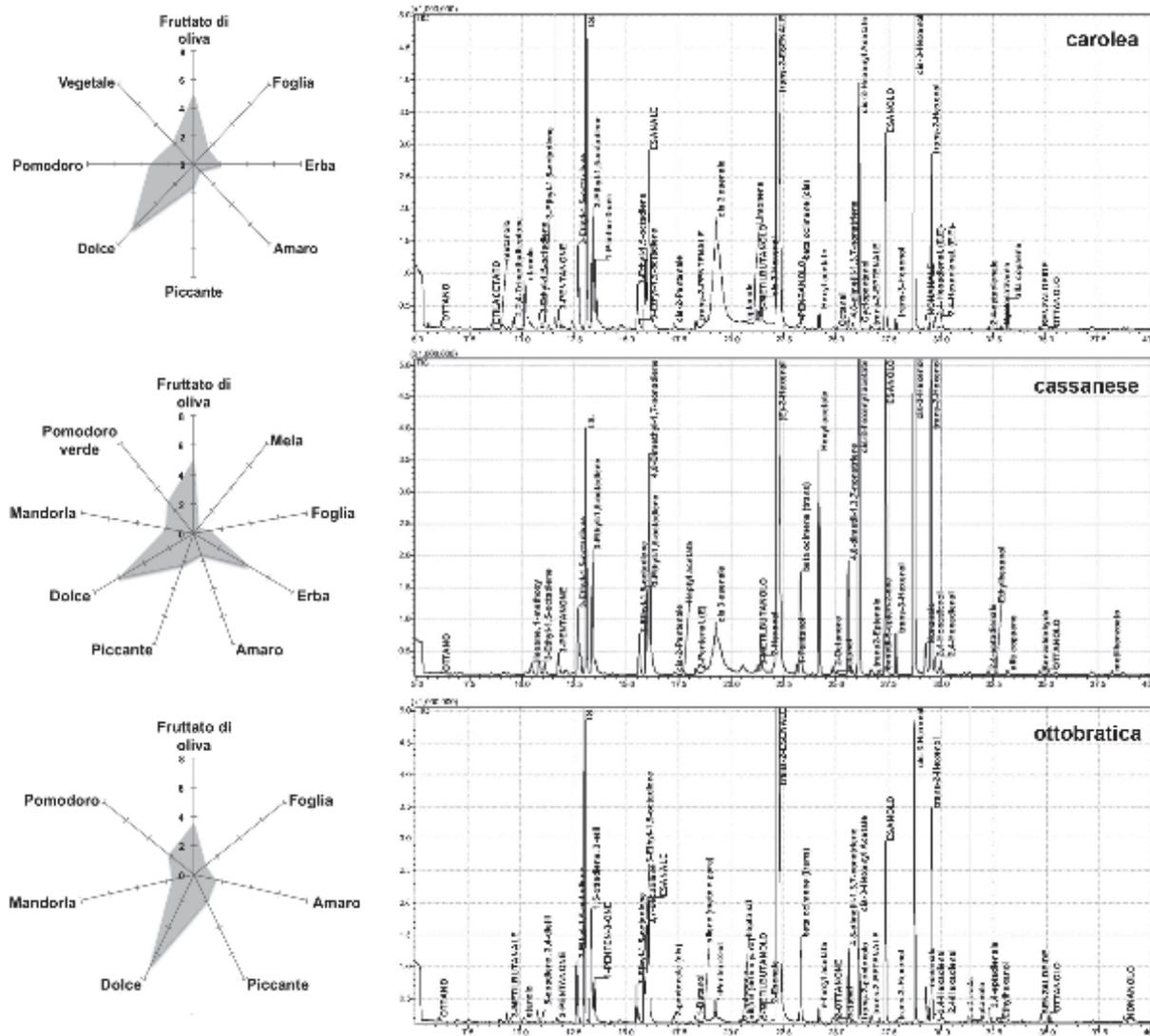


Fig. 1 - Profili sensoriali e cromatogrammi SPME della frazione volatile degli oli prodotti dalla varietà oli prodotti dalle varietà Carolea, Cassanese e Ottobratica.

Fig 1 - Sensory profiles and volatile compounds SPME of the oils obtained by the Carolea, Cassanese and Ottobratica variety.

Conclusioni

Gli oli delle varietà prese in esame hanno mostrato un contenuto biofenolico non elevato che, associato ad un contenuto in tocoferoli nella media, presuppongono un possibile rapido decadimento della qualità complessiva dovuto a processi degradativi ossidativi, se gli stessi non sono conservati in maniera adeguata.

La composizione acidica ha messo in evidenza la bassa percentuale di acido oleico nei campioni di *Cassanese* e *Ottobratica* i quali mostrano un valore di acido palmitico sensibilmente elevato.

Il profilo organolettico e sensoriale dei diversi oli ha evidenziato come tra le varie cultivar si distinguono particolarmente per i sentori erbacei e di pomodori le cultivar *Cassanese* e *Carolea*. Denominatore comune di tutte le varietà prese in esame è la scarsa perce-

zione dell'amaro e del piccante contrapposta ad un'elevata percezione del dolce.

L'analisi della componente volatile ha evidenziato alcune possibili differenze tra le diverse varietà nella composizione degli alcoli, delle aldeidi e dei terpeni volatili.

Riassunto

L'olivicoltura in Calabria è diffusa su tutto il territorio regionale e nelle aree interne rappresenta la principale fonte di reddito per le aziende agricole. L'impostazione culturale produttiva è basata su sistemi ancora tradizionali, legati alle ridotte dimensioni e alla eccessiva frammentazione delle aziende. Il patrimonio varietale risulta alquanto diversificato annoverando più di trenta varietà presenti sul territorio regionale.

Questo lavoro ha avuto come obiettivo lo studio delle caratteristiche compositive e qualitative di tre delle principali varietà calabresi, trasformate presso lo stesso impianto estrattivo. Le varietà studiate sono state: *Carolea*, una delle cultivar più importanti del panorama olivicolo calabrese; *Cassanese*, molto diffusa nella piana di Sibari; *Ottobratica*, diffusa principalmente nella Piana di Gioia Tauro-Palmi.

Gli oli delle varietà prese in esame hanno mostrato un contenuto biofenolico non elevato che, associato ad un contenuto tocoferolico nella media, lascia presupporre un rapido decadimento della qualità complessiva dovuto a processi degradativi ossidativi. Il profilo sensoriale dei diversi oli ha evidenziato come le cultivar *Cassanese* e *Carolea* si distinguano per i sentori erbacei e di pomodoro. Denominatore comune di tutte le varietà prese in esame è la scarsa percezione dell'amaro e del piccante contrapposta ad un'elevata percezione del dolce.

Parole chiave: varietà di olivo calabresi, qualità, profilo sensoriale, biofenoli.

Bibliografia

- APARICIO R., MORALES M.T., ALONSO V., 1996. *Relationship between volatile compounds and sensory attributes of olive oils by the sensory wheel*. JAOCS, 73: 1253-1264.
- BALDIOLI M., SERVILI M., PERRETTI G., MONTEODORO G.F., 1996. *Antioxidant Activity of Tocopherols and Phenolic Compounds of Virgin Olive Oil*. JAOCS, 73: 1589-1593.
- CAPORALE G., POLICASTRO S., MONTELEONE E., 2004. *Bitterness enhancement induced by cut grass odorant (cis-3-hexen-1-ol) in a model olive oil*. Food quality and Preference, 15: 219-227.
- MONTEODORO G., GAROFOLO L., 1984. *Caratteristiche qualitative degli oli vergini di oliva*. Riv. Ital. Sost. grasse, 61: 157-168.
- REGOLAMENTO CEE n. 2568/91 del 11 luglio 1991 relativo alle caratteristiche degli oli di oliva e degli oli di sansa di oliva nonché ai metodi ad essi attinenti. Gazz. Uff. Com. Europ. 5/9/91 NL 248/1.
- SACCHI R., PADUANO A., FIORE F., DELLA MEDAGLIA D., AMBROSINO M.L., MEDINA I. 2002. *Behavior of virgin olive oil phenolic compounds during the thermal processing of a Oil Brine-Model System*. J. Agr. Food Chem., 50: 2830-2835.
- TSIMIDOU M., PAPADOPOULOS G., BOSKOU D., 1992. *Determination of phenolic compounds in virgin olive oil by reversed-phase HPLC with emphasis on UV detection*. Food Chem., 44: 53-60.
- VICHI S., CASTELLOTE A. I., PIZZALE L., CONTE L. S., BUXADERAS S., LÓPEZ-TAMAMES E., 2003. *Analysis of virgin olive oil volatile compounds by headspace solid-phase MicroExtraction coupled to gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection*. J. Chromatogr. A. 983: 19-33.

Caratterizzazione di oli d'oliva vergini mediante ^1H NMR, ^{13}C NMR, ^{13}C DEPT in relazione a varietà ed epoca di maturazione

Giuliani A. A.², Sabatini N.^{1*}, D'Alessandro N.³, Del Re P.¹, Di Marco C.¹ e Perri E.¹

¹Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia, Città S. Angelo (PE)

²Dottorato in Scienze, Università 'G. D'Annunzio' Chieti-Pescara

³Dipartimento di Scienze, Università 'G. D'Annunzio' Chieti-Pescara

Characterisation of virgin olive oils with regard to varietal origin and fruit ripening by means of ^1H NMR, ^{13}C NMR and ^{13}C DEPT

Abstract. Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy (NMR) allows to detect discriminant variables of quali-quantitative composition of virgin olive oils with respect to ripening effect, variety and environmental characteristics. In this work, ^{13}C NMR, ^{13}C DEPT and ^1H NMR techniques have been used to characterise varietal origin of virgin olive oils belonging to the same field and relative ripening effect in three different stages of harvesting. Multivariate analysis by means of principal component analysis (PCA) has been used to detect the most significant signals of ^{13}C and ^1H nuclei of fatty acids and glycerol moieties of triglycerides.

Key words: olive oil, cultivar, fruit ripening, NMR, PCA.

Introduzione

La spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (^1H e ^{13}C NMR) è una tecnica analitica ampiamente impiegata per la definizione dell'autenticità e della tipicità varietale e geografica dell'olio di oliva (Mannina *et al.*, 2003; Vlahov *et al.*, 2001; 2003). Nella sua applicazione al nucleo dell'idrogeno la spettroscopia di risonanza magnetica nucleare permette di ottenere informazioni di tipo quantitativo precise sulla composizione percentuale in acidi grassi dell'olio di oliva (Guillén e Ruiz, 2003), mentre la sua applicazione al nucleo ^{13}C fornisce dati strutturali sui trigliceridi riguardanti il grado di insaturazione e le posizioni 1,3 e 2 degli acidi grassi. La metodologia ^{13}C DEPT consente di aumentare la sensibilità dei segnali ^{13}C grazie

al trasferimento di polarizzazione dai nuclei abbondanti ^1H a quelli relativamente meno abbondanti ^{13}C con i quali sono accoppiati in modo tale da ottenere integrazioni più accurate degli spettri con un guadagno anche sul tempo di acquisizione totale (Vlahov *et al.*, 1999).

Nel presente lavoro le tre metodologie (^1H , ^{13}C NMR e ^{13}C DEPT) sono state applicate nel tentativo di discriminare oli d'oliva vergini provenienti dal medesimo sito in relazione alla varietà e all'epoca di maturazione, fattori genetici importanti che influenzano la composizione in trigliceridi dell'olio d'oliva (Papadia *et al.*, 2011; D'Imperio *et al.*, 2010).

Materiali e metodi

Campioni di olio d'oliva vergine

Gli oli d'oliva vergini utilizzati nel presente lavoro sono stati estratti da 10 cultivar (cv. Castiglione, Dritta, Moresca, Carolea, Carboncella, Cipressino, Grossa di Cassano, Leccino, Nebbio, Coratina) raccolte nella stessa area olivicola (terreni del CRA-OLI Città Sant'Angelo) in tre diverse epoche di maturazione, da ottobre a dicembre durante la campagna olearia 2010 (tab. 1).

Tab. 1 - Modello sperimentale.

Tab. 1 - Experimental model.

Epoca di maturazione	Varietà
1 - 2 - 3	Castiglione
4 - 5 - 6	Dritta
7 - 8 - 9	Moresca
10 - 11 - 12	Carolea
13 - 14 - 15	Carboncella
16 - 17 - 18	Cipressino
19 - 20 - 21	G. di Cassano
22 - 23 - 24	Leccino
25 - 26 - 27	Nebbio
28 - 29 - 30	Coratina

* nadiasabatini@libero.it

Spettri NMR

Gli spettri ^1H e ^{13}C sono stati registrati a 25 °C mediante lo spettrometro Varian NMR UNITY INOVA Narrow Bore 500 MHz e controllato da una workstation UNIX-based Sun Microsystems (Varian NMR Instruments, Palo Alto, California). L'analisi ^1H è stata eseguita ponendo rispettivamente 50 mg di ciascun campione di olio di oliva in un tubo NMR da 5 mm e aggiungendo CDCl_3 (0,7 ml), invece l'analisi ^{13}C è stata realizzata ponendo 200 mg di campione e aggiungendo CDCl_3 (0,5 ml). Per gli spettri protonici sono state utilizzate le seguenti condizioni sperimentali: numero di scansioni 16, delay tra gli impulsi 1s, finestra spettrale 10 ppm, numero di punti 64K, tempo di acquisizione per scansione 5,821s. Per gli spettri ^{13}C NMR invece sono state utilizzate le seguenti condizioni: numero di scansioni 128, delay tra gli impulsi 10s, numero di punti 128K, finestra spettrale 200 ppm, tempo di acquisizione per scansione 2,9s. Per il disaccoppiamento del protone è stata utilizzata la sequenza WALZ16. Per gli spettri ^{13}C DEPT sono state utilizzate le seguenti condizioni: numero di scansioni 128, numero di punti 128K, finestra spettrale 140 ppm, tempo di acquisizione per scansione 2,9s, delay tra gli impulsi 10s, delay per il trasferimento di polarizzazione 144 Hz (Vlahov, 2006).

L'analisi dello spettro ^1H NMR è stata eseguita mediante normalizzazione a 100 dell'intero spettro e la misura degli integrali dei segnali selezionati mediante il software dello spettrometro. L'analisi dello spettro ^{13}C NMR DEPT è stata eseguita mediante normalizzazione a 100 di aree selezionate dello spettro (regione olefinica e alifatica) e la misura degli integrali dei segnali selezionati mediante il software dello spettrometro.

Analisi statistica multivariata

L'analisi delle componenti principali (PCA) è stata eseguita mediante utilizzo del software statistico "R". Le matrici di calcolo sono state costruite utilizzando come oggetti le aree dei segnali degli spettri ^1H NMR, ^{13}C NMR DEPT e l'intensità dei segnali degli spettri interi ^{13}C e come variabili i *chemical shifts* relativi ai protoni ed ai nuclei dei carboni ^{13}C e ^{13}C DEPT dei segnali oggetto di studio (figg. 1 e 4).

Risultati e discussione

La PCA eseguita sugli integrali dei segnali ^{13}C DEPT (Vlahov *et al.*, 2001; Vlahov, 2006) evidenzia che le risonanze maggiormente discriminanti sono: C16 e C17 dell'oleico in posizione 1,3 e 2 del glicerolo; C16 e C17 dei saturi in posizione 1,3; C16 del

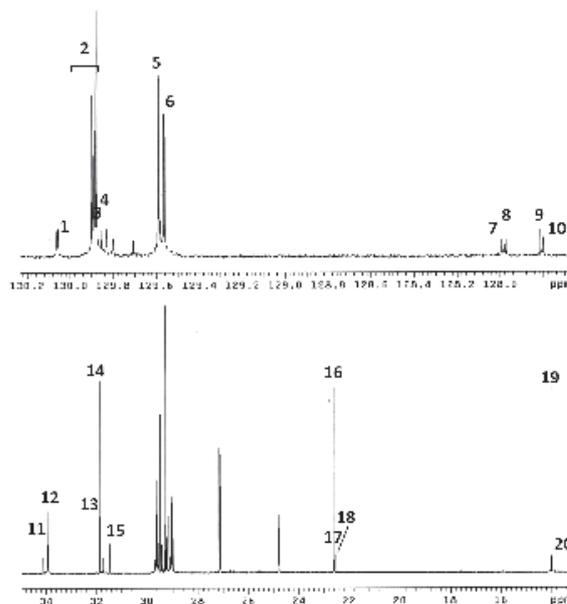


Fig. 1 - Spettro ^{13}C NMR DEPT di olio d'oliva vergine: risonanze della regione olefinica e alifatica.

Fig. 1 - ^{13}C NMR DEPT spectrum of virgin olive oil: resonances of olefinic and aliphatic carbon regions.

linoleico in posizione 1,3 e 2; C18 dell'oleico, linoleico e dei saturi in posizione 1,3 e 2 (fig. 2). Lungo la PC1 le risonanze degli acidi grassi saturi e del linoleico sono negativamente correlate a quelle dell'oleico. Invece lungo la PC2 le risonanze dei saturi e dell'oleico sono negativamente correlate a quelle del linoleico (fig. 3, tab. 2). È ragionevole pensare che sia lungo la PC1 che lungo la PC2 la composizione in acidi grassi sia influenzata dalla somma delle variabili varietali e

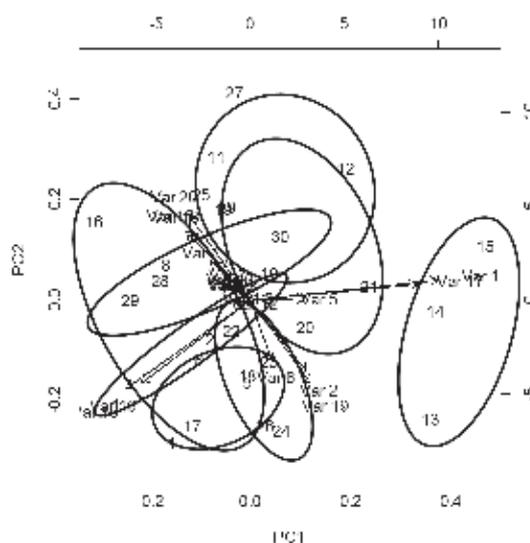


Fig. 2 - PCA (eseguita mediante il software R) degli integrali delle risonanze ^{13}C NMR DEPT degli oli d'oliva vergini in relazione all'origine varietale e all'epoca di raccolta.

Fig. 2 - PCA (by means of R software) of ^{13}C NMR DEPT signals' areas of virgin olive oil with respect to cultivar origin and ripening effect.

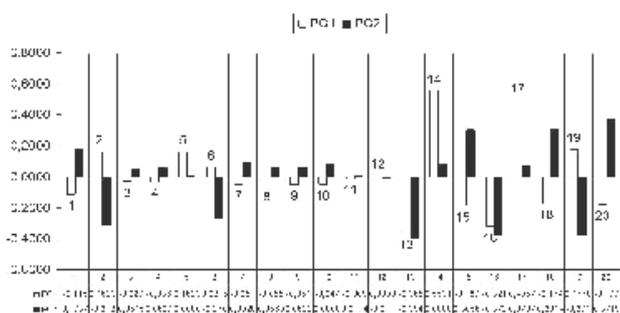


Fig. 3 - Loadings delle PC1 e PC2 degli integrali dei segnali ¹³C DEPT utilizzati come variabili indipendenti nella matrice di calcolo della PCA.

Fig. 3 - Loadings of PC1 and PC2 of signals' areas of ¹³C DEPT used as independent variables in the PCA matrix.

Tab. 2 - Risonanze dei nuclei ¹³C DEPT oggetto di studio e relativi chemical shifts. L = Acido linoleico; O = Acido oleico; S = Acidi grassi saturi.

Tab. 2 - Selected ¹³C DEPT signals with relative chemical shifts. L = Linoleic acid; O = Oleic acid; S = Saturated fatty acids.

Picco	Assegnazione carboni	ppm
1	C-13 L 1,3+2	130,04
2	C-10 O 2+1,3	129,86
3	C-9 L 1,3	129,84
4	C-9 L 2	129,81
5	C-9 O 1,3	129,57
6	C-9 O 2	129,55
7	C-10 L 2	127,98
8	C-10 L 1,3	127,96
9	C-12 L 1,3	127,79
10	C-12 L 2	127,78
11	C-2 O,L 2	34,07
12	C-2 S,O,L 1,3	33,92
13	C-16 S 1,3	31,84
14	C-16 O 1,3+2	31,83
15	C-16 L 1,3+2	31,44
16	C-17 S 1,3	22,60
17	C-17 O 1,3+2	22,59
18	C-17 L 1,3+2	22,48
19	C-18 S 1,3; C-18 O 1,3+2	14,00
20	C-18 L 1,3+2	13,95

dell'effetto maturazione. Inoltre, la PCA eseguita sulle percentuali degli acidi grassi, calcolati in base alle aree dei segnali (dati non mostrati) individua le percentuali di acido oleico e linoleico in posizione 2 come variabili di maggiore peso. In aggiunta, i dati quantitativi NMR da noi ottenuti sono in accordo con la letteratura, da cui si evince che durante la maturazione vi è un maggiore incremento della percentuale di acido linoleico e decremento della percentuale dei saturi, mentre la percentuale di acido oleico tende a rimanere costante o a diminuire (Dag *et al.*, 2011). La PCA eseguita sulle aree dei segnali ¹H NMR delle

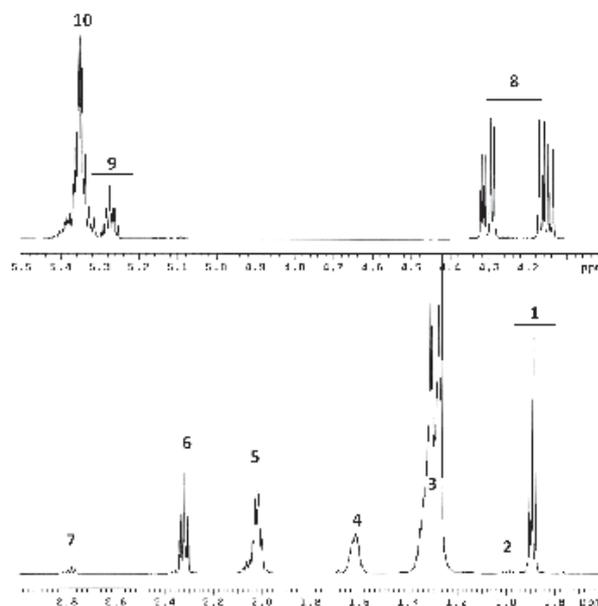


Fig. 4 - Spettro ¹H NMR di olio d'oliva vergine.

Fig. 4 - ¹H NMR spectrum of virgin olive oil.

catene degli acidi grassi degli oli estratti in tre diverse epoche di raccolta evidenzia come variabili discriminanti in ordine di peso i gruppi funzionali: metilenici, allilici, metilici e olefinici (figg. 5 e 6, tab. 3). La PCA eseguita sulle percentuali degli acidi grassi, calcolati in base alle aree dei segnali (Guillén e Ruiz, 2003) individua come variabile maggiormente discriminante la percentuale di acido oleico (dati non mostrati). La PCA eseguita su matrici costruite con le intensità dei segnali ¹³C NMR vs i *chemical shifts* degli spettri interi (Brescia *et al.*, 2003) discrimina lungo la PC2 le

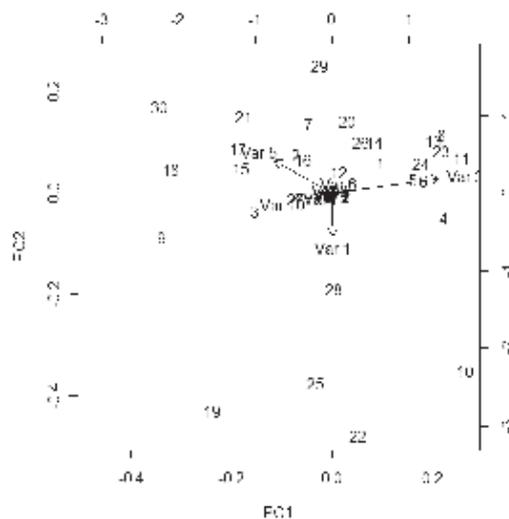


Fig. 5 - PCA (eseguita mediante il software R) degli integrali delle risonanze ¹H NMR degli oli d'oliva vergini in relazione all'origine varietale e all'epoca di raccolta.

Fig. 5 - PCA (by means of R software) of ¹H NMR signals' areas of virgin olive oil with respect to cultivar origin and ripening effect.

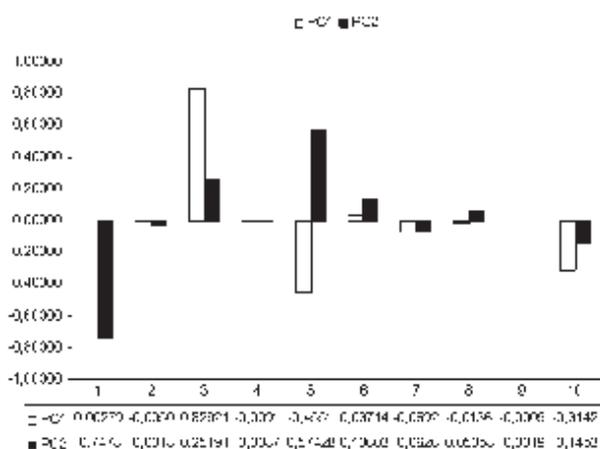


Fig. 6 - Loadings delle PC1 e PC2 degli integrali dei segnali ^1H NMR utilizzati come variabili indipendenti nella matrice di calcolo della PCA.

Fig. 6 - Loadings of PC1 and PC2 of signals' areas of ^1H NMR used as independent variables in the PCA matrix.

Tab. 3 - Risonanze dei nuclei ^1H NMR oggetto di studio e relativi chemical shifts. L= ac. linoleico; Ln= ac. linolenico; O= ac. oleico; S= ac. grassi saturi.

Tab. 3 - Selected ^1H NMR signals of ^1H investigated nuclei with relative chemical shifts.

Picco	Assegnazione protoni	ppm
1	CH 3 S, O, L	0,86-0,94
2	CH ₃ Ln	0,96-1,00
3	CH 2 S, O, L, Ln	1,22-1,38
4	CH ₂ -CH ₂ -OCO S, O, L, Ln	1,58-1,66
5	CH ₂ -CH=CH O, L, Ln	1,98-2,04
6	CH ₂ -OCO S, O, L, Ln	2,28-2,34
7	=CH ₂ -CH ₂ -CH= L, Ln	2,74-2,80
8	CH ₂ -OCOR	4,12-4,32
9	CH-OCOR	5,24-5,30
10	CH=CH	5,32-5,42

risonanze relative a: C16 dell'oleico in posizione 1,3 e 2; C16 e C17 dei saturi in posizione 1,3; alcuni carboni all'interno del gruppo dei CH₂; C16 del linoleico e C18 dell'oleico in posizione 1,3 e 2 (dati non mostrati). Al fine di valutare il contributo dato separatamente da origine varietale e maturazione sono state utilizzate per la PCA delle sotto matrici estrapolate da quella principale. Le risonanze protoniche dei gruppi metilenici e allilici degli acidi grassi insaturi discriminano sia la varietà sia l'epoca di maturazione. Le risonanze ^{13}C DEPT che discriminano maggiormente l'origine varietale e l'effetto maturazione sono in linea di massima le stesse (in quanto legate a fattori genetici) e coincidono con quelle ottenute mediante PCA della matrice principale (dati non mostrati). In conclusione l'origine varietale e l'effetto maturazione sono l'espressione di un comune background genetico proprio di ciascuna cultivar in un determinato pedoclima (Papadia et al., 2011; D'Imperio et al., 2010).

Riassunto

La spettroscopia NMR permette di individuare le variabili discriminanti della composizione quali-quantitativa degli oli d'oliva, in relazione alla varietà, maturazione (fattori genetici) e alle caratteristiche pedoclimatiche. Nel presente studio sono state impiegate tecniche di spettroscopia ^{13}C NMR, ^{13}C DEPT e ^1H NMR al fine di caratterizzare l'origine varietale di oli d'oliva provenienti dal medesimo sito ed estratti in tre epoche di maturazione differenti. Le aree dei segnali degli spettri ^1H NMR e ^{13}C NMR DEPT e l'intensità dei segnali degli spettri interi ^{13}C NMR sono state utilizzate al fine di individuare mediante analisi delle componenti principali (PCA) le variabili che discriminano la cultivar e l'epoca di maturazione.

Parole chiave: olio di oliva, cultivar, epoca di maturazione, NMR, PCA.

Bibliografia

- BRESCIA M.A., ALVITI G., LIUZZI V., SACCO A., 2003. *Chemometric classification of olive cultivars based on compositional data of oils*. J. Am. Oil Chem., 80: 945-950.
- D'IMPERIO M., GOBBINO M., PICANZA A., COSTANZO S., DELLA CORTE A., MANNINA L., 2010. *Influence of harvest method and period on olive oil composition: an NMR and statistical study*. J. Agric. Food Chem., 58: 11043-11051.
- DAG A., KEREM Z., YOGEV N., ZIPORI I., LAVEE S., BEN-DAVID E., 2011. *Influence of time of harvest and maturity index on olive yield and quality*. Sci. Horticulturae, 127:358-366.
- GUILLEN M., RUIZ A., 2003. *Rapid simultaneous determination by proton NMR of unsaturation and composition of acyl groups in vegetable oils*. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 105: 688-696.
- MANNINA L., DUGO G., SALVO F., CICERO L., ANSANELLI G., CALCAGNI C., SEGRE A., 2003. *Study of the cultivar-composition relationship in sicilian olive oils by GC, NMR, and statistical methods*. J. Agric. Food Chem., 51: 120-127.
- PAPADIA P., DEL COCO L., MUZZALUPO I., RIZZI M., PERRI E., CESARI G., SIMEONE V., MONDELLI D., SCHENA F.P., FANIZZI F.P., 2011. *Multivariate analysis of ^1H NMR Spectra of genetically characterized extra virgin olive oils and growth soil correlations*. J. Am. Oil Chem., 88:1463-1475.
- VLAHOV G., 2006. *^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy to study triacylglycerols of olive oils from DPO areas of Puglia region*. J. Commodity Sci. Tech. Quality, 45: 31-46.
- VLAHOV G., SHAW A.D., KELL D.B., 1999. *Use of Nuclear Magnetic Resonance Distortionless Enhancement by Polarization Transfer Pulse Sequence and Multivariate Analysis to discriminate olive oil cultivars*. J. Am. Oil Chem., 76: 1223-1231.
- VLAHOV G., SCHIAVONE C., SIMONE N., 2001. *Quantitative ^{13}C NMR method using the DEPT pulse sequence for the determination of the geographical origin (DOP) of olive oils*. Magn. Reson. Chem., 39: 689-695.
- VLAHOV G., DEL RE P., SIMONE N., 2003. *Determination of geographical origin of olive oils using ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. I - Classification of olive oils of the Puglia Region with Denomination of Protected Origin*. J. Agric Food Chem., 51: 5612-5615.

Caratterizzazione morfo-bio-molecolare delle varietà di Olivo (*Olea europaea*) presenti nel campo collezione del CRA-OLI

Alessandrino M., Pellegrino M., Perri E. e Muzzalupo I.*

CRA - Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Rende (CS)

Morpho-bio-molecular characterization of the olive cultivars (*Olea europaea*) present in the collection of the CRA-OLI

Abstract. The olive tree (*Olea europaea* L.) is one of the oldest tree species in the Mediterranean. At present it is believed that there are about 2000 varieties of olive tree of which only a fraction have been described morphologically and molecularly. For several years the CRA-OLI researchers have started a work of collecting and morphologically characterizations of olive germplasm. FAO in 2010, assigns the first place to the collection of CRA-OLI located in Mirto-Crosia (CS) by the number of varieties of olive trees on the field. In fact, the CRA-OLI has a collection of olive germplasm, which were introduced in a single environment and agricultural conditions comparable, more than 500 varieties of olives trees from all national and international olive-growing areas. Current scientific knowledge offer the possibility of introducing new systems of assessment based not only on the varietal characters phenology, usually adopted, but also on genetic traits. The present work shows the results obtained by analyzing about 150 varieties of olives grown in the collection of CRA-OIL. The analysis has allowed the compilation of cards that represent important information for a basic morphological and bio-molecular characterization of varieties of olives.

Key words: cultivar, phenotypic characterization, *Olea europaea*.

Introduzione

L'olivo (*Olea europaea* L.) annovera il germoplasma più ricco tra tutte le specie arboree coltivate, l'intera variabilità genetica si è conservata pressoché intatta fino ad oggi grazie alla particolare longevità delle piante, all'adattamento alle diverse condizioni

micro-ambientali degli areali di coltivazione ed alla mancata sostituzione delle varietà tradizionali con nuovi genotipi migliorati. Tale germoplasma è una fonte di variabilità di fondamentale importanza per la conservazione e il miglioramento genetico della specie (Muzzalupo *et al.*, 2009; 2010; 2011; Sarri *et al.*, 2006).

Benché nel corso degli anni siano stati parecchi i lavori di descrizione delle varietà di olivo coltivate in Italia, essi non hanno certamente esaurito il panorama del germoplasma olivicolo nazionale. Inoltre, la stragrande parte di questi lavori di caratterizzazione effettuati in passato sono stati eseguiti utilizzando schede descrittive e/o marcatori molecolari molto diversi tra loro. Inoltre, l'elevato numero di cultivar e la loro eterogeneità rendono la loro caratterizzazione su base morfo-bioagronomica, indubbiamente utile, ma in molti casi non esaustiva e non sempre attendibile poiché basata su caratteri influenzabili dall'ambiente, dalle tecniche agronomiche e dalle fasi fenologiche della pianta. Con il proliferare dei campi collezione e soprattutto di comparazione morfo-bio-agronomica è stato possibile risolvere questo problema. Infatti, il germoplasma olivicolo italiano è raccolto in diverse collezioni site in varie regioni italiane. La FAO nel 2010 assegna il primo posto alla collezione del CRA-OLI sita a Mirto-Crosia (CS) per il numero di varietà di olivo presenti in campo, seguito in graduatoria da quella di Cordoba (Spagna). Il CRA-OLI dispone, infatti, di una collezione del germoplasma olivicolo in cui sono state introdotte in un unico ambiente e in condizioni agronomiche paragonabili, oltre 500 varietà di olivo provenienti da tutte le zone olivicole nazionali ed internazionali. Le conoscenze scientifiche attuali offrono la possibilità di introdurre nuovi sistemi di accertamento varietale basato non solo sui caratteri fenologici, normalmente adottati, ma anche sui caratteri genetici.

Nel presente lavoro si riportano i risultati della caratterizzazione morfo-biomolecolare ottenuta di circa 150 cultivar con lo scopo di porre in essere una banca dati di confronto e definire un valido protocollo di campionamento e verifica.

*innocenzo.muzzalupo@entecra.it

Materiale e metodi

L'indagine ha riguardato 147 varietà del germoplasma olivicolo autoctono italiano. I rilievi in campo sono stati eseguiti per più di tre anni sulle piante (4-5 per ognuna delle varietà) messe a dimora nel campo collezione del CRA-OLI, ubicato a Mirto Crosia sul versante ionico della provincia di Cosenza.

Analisi morfologiche

La descrizione dei caratteri morfologici di ciascuna cultivar rappresenta il risultato di osservazioni condotte in un periodo che va da almeno tre anni a salire, a seconda dell'entrata in fruttificazione delle varietà e su un numero di quattro cinque piante per varietà. Per i parametri morfologici da esaminare si è fatto riferimento alla metodologia indicata dall'UPOV (*Union Internationale pour la Protection de la Obtention Vegetales*: <http://www.upov.int>) con alcune modifiche. I rilievi morfologici hanno riguardato: i rami fruttiferi (lunghezza internodi e portamento), la foglia (forma, curvatura longitudinale del lembo), l'infiorescenza (lunghezza, numero di fiori per mignola), il frutto (forma, posizione del diametro trasversale massimo, apice, base, mucrone, presenza lenticelle, dimensioni lenticelle, inizio invaiatura) e l'endocarpo (forma, posizione del diametro trasversale massimo, apice, base, superficie, numero dei solchi, terminazione dell'apice)

Analisi molecolare

Da tessuti fogliari congelati in azoto liquido e conservati a -80 °C è stato estratto il DNA secondo quanto riportato in Muzzalupo *et al.* (2006). Le piante di olivo sono state genotipizzate a livello di undici loci microsatelliti nucleari: GAPI59, GAPI71A, GAPI71B, GAPI103A, UDO01, UDO03, UDO12, UDO28, UDO39, DCA09 e DCA18 selezionati tra quelli presenti in letteratura e che sono risultati essere particolarmente informativi (Muzzalupo *et al.*, 2009; Baldoni *et al.*, 2009). La reazione di PCR e le condizioni di amplificazione utilizzate sono descritte in Muzzalupo *et al.* (2009).

Analisi statistica

I dati della caratterizzazione morfologica e molecolare sono stati utilizzati per creare una matrice qualitativa di presenza (1) o assenza (0), elaborata statisticamente col programma NTSYS-PC (Rohlf, 1999). Il programma utilizzando il coefficiente di Dice (Dice, 1945) elabora una matrice di similarità che viene utilizzata per la costruzione del dendrogramma con l'algoritmo UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method*).

Risultati e discussione

I risultati della caratterizzazione (fig. 1) sono particolarmente interessanti in quanto mettono in evidenza diversi casi di identità tra cultivar coltivate in regioni italiane diverse e con nomi diversi, alcuni di questi casi sono già noti (Muzzalupo *et al.*, 2009; Sarri *et al.*, 2006), altri sono stati riscontrati per la prima volta, altri ancora necessitano di un'ulteriore verifica.

I casi di identità genetica tra cultivar riguardano le coppie: Nera di Gonnos - Tonda di Cagliari; Mele - Nolca; Cima di Mola - Ogliarola Salentina e il gruppo costituito da cinque cultivar che sono: Taggiasca, Frantoio, Casaliva, Correggiolo, Ogliarola barese e Ogliarola garganica.

Queste stesse cultivar, confrontate morfologicamente nelle stesse condizioni pedo-climatiche come il campo collezione del CRA-OLI, risultano essere indistinguibili l'una dall'altra o molto simili. Infatti, nella figura 1B viene riportato il dendrogramma costruito sulla base dei caratteri morfologici e anche in questo caso si distinguono gli stessi accoppiamenti. Ciò vuol dire che varietà sono sicuramente identiche tra loro, nel senso che certamente derivano dalla propagazione vegetativa di un capostipite unico, il che, comunque, non può escludere che possano aver subito mutazioni (che potremo chiamare varianti clonali) non rilevate con questo set di marcatori morfologici e molecolari.

Particolarmente interessante è la coppia Nera di Villacidro - Terza grande: risultano essere indistinguibili da un punto di vista molecolare e molto vicine tra loro da un punto di vista morfologico, almeno per i caratteri analizzati.

In conclusione, possiamo affermare che i marcatori molecolari utilizzati si sono rilevati particolarmente informativi e di grande utilità ai fini dell'identificazione varietale, ma che per fare chiarezza nel vasto germoplasma olivicolo richiedono nuove conferme dalla caratterizzazione morfo-bio agronomica.

Riassunto

L'olivo (*Olea europaea* L.) è una delle più antiche specie arboree del Mediterraneo. Ad oggi si ritiene che esistano circa 2000 varietà di olivo delle quali solo una piccola parte è stata descritta morfologicamente. Da più anni i ricercatori del CRA-OLI hanno avviato un lavoro di raccolta e caratterizzazione morfologica e molecolare del germoplasma olivicolo.

Nel presente lavoro sono riportati i risultati ottenuti analizzando circa 150 varietà d'olivo coltivate nel campo collezione del CRA-OLI. L'analisi condotta ha permesso la compilazione di schede che rappresentano

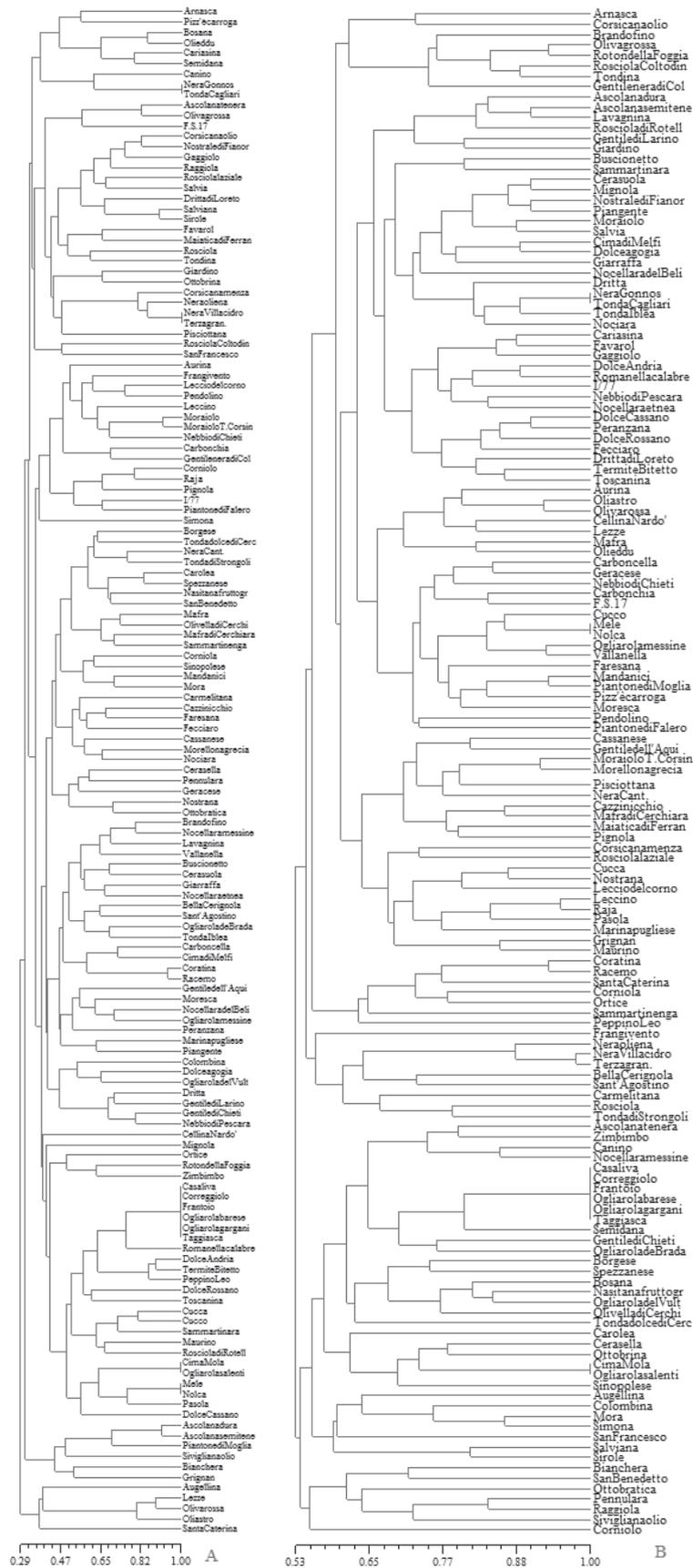


Fig. 1 - Dendrogramma delle 147 cultivar di olivo del germoplasma autoctono Italiano costruito: (A) utilizzando i profili SSR ottenuti (B) sulla base delle variabili morfologiche.

Fig. 1 - Dendrogram of the 147 olive cultivar of germplasm of autochthonous Italian constructed: (A) using the SSR profiles and (B) on the basis of morphological variables.

un'importante informazione per una basilare caratterizzazione morfo-bio-molecolare delle varietà di olivo.

Parole chiave: caratterizzazione fenotipica, *Olea europaea*, varietà.

Ricerca finanziata dal progetto RGV-FAO.

Bibliografia

- BALDONI L., CULTRERA N.G., MARIOTTI R., RICCIOLINI C., ARCIONI S., VENDRAMIN G.G., BUONAMICI A., PORCEDDU A., SARRI V., OJEDA M.A., TRUJILLO I., RALLO L., BELAJ A., PERRI E., SALIMONTI A., MUZZALUPO I., CASAGRANDE A., LAIN O., MESSINA R., TESTOLIN R., 2009. *A consensus list of microsatellite markers for olive genotyping*. Mol. Breed., 24: 213-231.
- DICE L.R., 1945. *Measures of the amount of ecologic association between species*. Ecology, 26: 297-302.
- FAO, 2010. *The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture*. Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture. Rome, Pp 272.
- MUZZALUPO I., CHIAPPETTA A., BENINCASA C., PERRI E., 2010. *Intra-cultivar variability of three major olive cultivars grown in different areas of central-southern Italy and studied using microsatellite markers*. Sci. Hortic-Amsterdam, 126: 324-329.
- MUZZALUPO I., LOMBARDO N., MUSACCHIO A., NOCE M.E., PERRI E., A. SAJJAD. 2006. *Sequencing microsatellite markers enhances their efficiency for germplasm management in a Italian olive collection*. J. Am.Soc.Hortic.Sci., 131:352-359.
- MUZZALUPO I., STEFANIZZI F., PERRI E. 2009. *Evaluation of olives cultivated in Southern Italy by Simple Sequence Repeat markers*. HortScience, 44: 582-588.
- MUZZALUPO I., STEFANIZZI F., PERRI E., CHIAPPETTA A., 2011. *Transcript levels of CHL P gene, antioxidants and chlorophylls contents in olive (Olea europaea L.) pericarps. A comparative study on eleven olive cultivars harvested in two ripening stages*. Plant Foods Hum. Nutr. 66: 1-10
- ROHLF, M., 1998. NTSYS-pc. *Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2. 02*. Exeter Software, Setauket, NY, Pp. 6-39.
- SARRI, V., BALDONI L., PORCEDDU A., CULTRERA N.G., CONTENTO A., FREDIANI M., BELAJ A., TRUJILLO I., CIONINI P.G., 2006. *Microsatellite markers are powerful tools for discriminating among olive cultivars and assigning them to geographically defined populations*. Genome, 49: 1606-1615.

Classificazione chemiometrica di oli d'oliva vergini di provenienza nazionale mediante marker isotopici e chimici

Fabroni S.^{2*}, Benincasa C.¹, Muzzalupo I.¹, Rapisarda P.², Romano E.¹ e Perri E.¹

¹ *Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia, Rende (CS)*

² *Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per l'Agromicoltura e le Colture Mediterranee, Acireale (CT)*

Chemometric classification of Italian virgin olive oils by isotopic and chemical markers

Abstract. The European Community greatly takes into account the safety and traceability for all food products. In order to protect the consumer, there's the need of ways to objectively and scientifically verify the correspondence between what is stated on the label and the effective enforcement of production rules. The need to link the food product to the area of origin or production is so compelling. The composition of foods is generally very complex, and there are many cases where the application of a single set of parameters does not lead to a correct geographical classification. The aim of this research is to classify, by a chemometric approach, Italian virgin olive oils whose geographic origin was authenticated by levies specifically made in the areas of origin (Calabria, Puglia, Umbria, Basilicata, Abruzzo). Virgin olive oils cv. "Carolea", "Coratina", "Leccino" and "Frantoio", sampled in two years (2009-2010; 2010-2011) in Bari (BA), Cosenza (CS), Catanzaro (CZ), Matera (MT), Pescara (PE) and Perugia (PG) districts, have been analysed respect to the standard quality parameters (Jaen index, % fat, dry matter, umidity, % fat in dry matter, acidity, peroxide No., K_{232} , K_{270} , ΔK and fatty acids methyl esters profile) and the $\delta^{13}C$. Then the collected data have been statistically processed through LDA (linear discriminant analysis). Linear discriminant analysis is a statistic method to find a linear combination of features which best characterize or separates two or more classes of objects or events. The linear combination of the variables generates discriminant functions that assign to each variable a weight that is proportional to the importance that this one plays in the classification process. The results of this study revealed that the first two generated canonical discriminant functions explained 85% of the variance, and thus allowed discrimination between the groups of classification which correspond to the different districts. In particular, by

Function 1 it was possible to discriminate olive oils sampled in the PG district from those sampled in the PE district and in the southern Italy, while by Function 2 it was possible to discriminate olive oils sampled in the PE district from those sampled in CS, CZ, MT and BA districts. These latter, from the southern Italy, were classified into overlapped and thus not discriminable groups. In conclusion, the joint use of chemical and isotopic markers has revealed that 98.8% of cases have been correctly classified, showing a clear discrimination between olive oils from the south of Italy (Calabria, Basilicata, Puglia) from those of northern origin (Umbria, Abruzzo).

Key words: geographical origin; virgin olive oil; fatty acids methyl esters; $\delta^{13}C$; discriminant analysis.

Introduzione

La diversificazione della produzione agricola e la promozione di prodotti di qualità con peculiari caratteristiche può essere un notevole vantaggio per l'economia rurale. Pertanto, appare di fondamentale importanza la caratterizzazione della tipicità degli alimenti in relazione al territorio. Per effettuare indagini sugli aspetti relativi alla provenienza degli alimenti, è fondamentale considerare tutti i fattori che possano avere avuto un'influenza sulla composizione e sulle caratteristiche globali del prodotto. E' quindi possibile ricorrere a più gruppi, es. parametri spettroscopici e variabili chimiche, in modo da poter sfruttare l'informazione legata ad aspetti diversi della natura degli alimenti studiati. La possibilità di differenziare due campioni in base all'analisi isotopica è legata al fenomeno di frazionamento isotopico, ovvero nella deviazione dalla distribuzione isotopica naturale degli elementi in conseguenza a fenomeni biogeochimici naturali o artificiali. La determinazione dell'origine geografica di un prodotto alimentare attraverso l'uso dell'analisi IRMS è stata applicata a diverse matrici alimentari come succhi di frutta e bevande, miele, vino

*simona.fabroni@entecra.it

(Rossmann, 2001; Kelly *et al.*, 2005), ed olio d'oliva (Angerosa *et al.*, 1999; Kelly *et al.*, 1997). Inoltre numerosi sono i riferimenti presenti in letteratura riguardanti l'identificazione dell'origine geografica di oli d'oliva attraverso l'impiego dell'analisi statistica applicata agli acidi grassi ed ai triacilgliceroli (Di Bella *et al.*, 2007; Lanteri *et al.*, 2002). Nella presente ricerca viene illustrata la possibilità di applicare metodologie analitiche e statistiche innovative ad un sistema di verifica e tracciabilità di oli d'oliva vergini di provenienza calabrese ed extraregionale (Puglia, Umbria, Basilicata, Abruzzo) mediante l'analisi delle principali caratteristiche merceologiche, del profilo degli esteri metilici degli acidi grassi e del rapporto isotopico $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$.

Materiali e metodi

Nelle annate 2009-2010 e 2010-2011 sono stati raccolti frutti appartenenti alle cvs 'Carolea', 'Coratina', 'Leccino' e 'Frantoio' nelle province di BA, CS, CZ, MT, PE e PG. I frutti sono stati moliti direttamente nei frantoi del CRA-OLI di Rende (CS), conservati in bottiglie scure con tappo a vite e trasferiti in cella fredda al buio alla temperatura di 10 °C fino al momento delle analisi. Per ogni campione vengono riportati l'indice di maturazione delle drupe in base al metodo messo a punto presso la Stazione Olivicola di Jaen (Spagna) e tutti i parametri analitici ottenuti secondo le metodiche ufficiali riportate nel Regolamento CE N. 61/2011. Il rapporto isotopico $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ è stato misurato con uno spettrometro di massa isotopica (Delta V, Thermo Finnigan, Brema, Germania) in seguito a combustione del campione. Le condizioni operative per l'analisi sono riportate in precedenti pubblicazioni (Bontempo *et al.*, 2009). I dati ottenuti sono stati espressi in $\Delta\text{‰}$ rispetto allo standard internazionale Vienna-Pee Dee Belemnite (V-PDB). L'insieme dei dati raccolti è stato quindi elaborato mediante LDA (*Linear Discriminant Analysis*) con il software di elaborazione statistica SPSS 14.0. Poiché non tutte le cvs erano rappresentate nelle province di campionamento la differenza varietale non è stata considerata quale predittore categoriale.

Risultati e discussione

In tabella 1 sono riportati i parametri chimici e chimico-fisici degli oli vergine campionati nelle annate 2009-2010 e 2010-2011. L'analisi della varianza ha mostrato differenze statisticamente significative ($p \leq 0,05$) in alcuni dei parametri analizzati ed allo stesso tempo ha evidenziato come l'applicazione di

un solo gruppo di parametri non conduca ad una classificazione geografica soddisfacente. I risultati della LDA hanno permesso di evidenziare che le prime due funzioni discriminanti canoniche, delle cinque generate, hanno spiegato l'85% della varianza, e pertanto hanno permesso una discriminazione fra i gruppi di classificazione che corrispondono con le diverse province di campionamento. Dall'analisi dei coefficienti della funzione discriminante canonica emerge che i parametri che più hanno influito sulla discriminazione fra gruppi sono i parametri merceologici ed il profilo degli esteri metilici degli acidi grassi e, seppur in misura minore, il $\delta^{13}\text{C}$. In particolare, mediante la funzione 1 è stato possibile discriminare gli oli d'oliva campionati nelle province di PG da quelli campionati nella provincia di PE e da quelli meridionali, e mediante la funzione 2 è stato possibile discriminare gli oli provenienti da PE da quelli delle province di CS, CZ, MT e BA. Questi ultimi, di provenienza meridionale, sono stati classificati in gruppi sovrapponibili e pertanto non discriminabili (fig. 1).

Conclusioni

In conclusione, l'impiego congiunto di marker chimici ed isotopici ha fatto sì che il 98,8% dei casi fosse classificato correttamente nel gruppo di appartenenza, esplicitando una netta discriminazione degli oli d'oliva di provenienza meridionale (Calabria, Basilicata, Puglia) da quelli di provenienza settentrionale (Umbria, Abruzzo). Ulteriori studi mirati alla determinazione dei δ isotopici legati alle falde acquifere ($\delta^{18}\text{O}$ e $\delta^2\text{H}$) forniranno ulteriori *tools* analitici utili alla discriminazione della zona d'origine delle produzioni olearie nazionali.

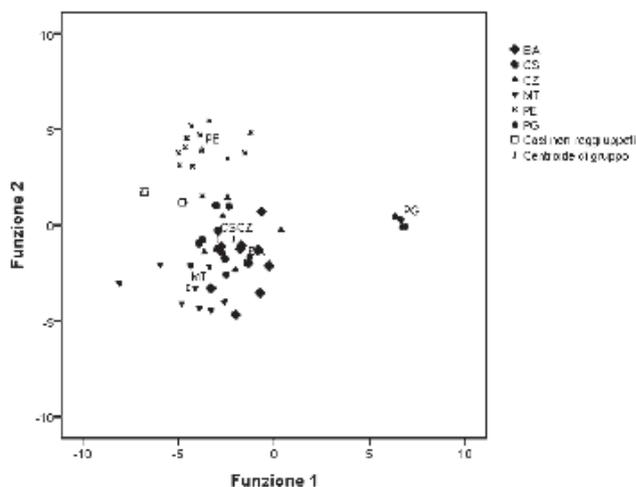


Fig. 1 - Funzioni discriminanti canoniche.
Fig. 1 - Canonical discriminant functions.

Tab. 1 Parametri chimici e chimico-fisici degli oli vergini analizzati. I valori riportati sono il valore medio ottenuto da tre repliche.
 Tab. 1 Chemical and chemical-physical parameters of virgin olive oils analyzed. The values are the average from three replicates.

Parametri	BA	CS	CZ	MT	PE	PG
$\delta^{13}\text{C}$	-30,03 ^b	-30,67 ^{ab}	-30,58 ^{ab}	-31,46 ^a	-30,77 ^{ab}	-29,77 ^b
Indice di Jaen	1,45 ^{ab}	1,05 ^b	2,01 ^{ab}	1,55 ^{ab}	2,22 ^{ab}	2,98 ^a
% grassi	18,31 ^{bc}	16,87 ^c	21,03 ^{ab}	16,33 ^c	17,52 ^c	23,34 ^a
Residuo secco	43,96 ^b	42,29 ^{bc}	46,32 ^{ab}	39,90 ^c	44,72 ^b	50,54 ^a
% grassi su residuo secco	41,67	39,83	45,32	40,94	39,09	46,10
Acidità libera (g ac. Oleico/100 g)	0,52 ^b	0,49 ^b	0,81 ^{ab}	0,33 ^b	1,07 ^a	0,39 ^b
No. Perossidi (meq O ₂ /kg)	4,73 ^b	7,14 ^{ab}	7,67 ^{ab}	6,33 ^{ab}	9,82 ^a	4,85 ^b
K ₂₃₂	1,73	1,92	1,77	1,70	1,87	1,76
K ₂₇₀	0,15	0,15	0,13	0,10	0,15	0,14
C14:0	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01
ni :r.t.6	0,06	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
ni :r.t.7	0,08	0,03	0,04	0,04	0,04	0,02
C16:0	12,04	13,82	13,97	13,88	13,36	12,18
C16:1 is	0,07	0,05	0,06	0,06	0,06	0,05
C16:1c	0,61	1,11	1,44	0,88	1,07	1,00
C17:0	0,06 ^{ab}	0,10 ^a	0,10 ^a	0,03 ^b	0,05 ^{ab}	0,06 ^{ab}
C17:1	0,08 ^b	0,21 ^{ab}	0,26 ^a	0,07 ^b	0,13 ^b	0,13 ^b
C18:0	1,97 ^a	2,13 ^a	2,07 ^a	1,44 ^b	1,84 ^a	1,87 ^a
C18:1	76,29	74,18	73,21	74,85	75,55	76,90
C18:2	7,32	6,82	7,57	7,21	6,30	6,63
C18:3	0,31	0,35	0,31	0,27	0,27	0,27
C20:0	0,71 ^{ab}	0,67 ^{ab}	0,55 ^b	0,84 ^a	0,72 ^{ab}	0,56 ^b
C20:1	0,22	0,24	0,19	0,22	0,17	0,18
C22:0	0,11	0,11	0,10	0,10	0,10	0,09
C24:0	0,04	0,08	0,05	0,05	0,06	0,03

Le differenze significative, nella stessa riga, sono riportate da lettere diverse ($p \leq 0,05$, test di Tukey).

Riassunto

La Comunità europea ritiene di grande importanza la sicurezza e la tracciabilità per tutti i prodotti alimentari. Dal punto di vista normativo e legislativo, per tutelare il consumatore, occorrono metodi per verificare oggettivamente e scientificamente la rispondenza tra quanto dichiarato in etichetta e nei documenti, e l'effettivo rispetto delle norme e dei disciplinari di produzione. L'esigenza di legare il prodotto alla zona di origine o di produzione è quindi stringente. La composizione degli alimenti è generalmente assai complessa, e ci sono molti casi in cui l'applicazione di un solo gruppo di parametri non porta ad una classificazione geografica che sia soddisfacente. Nell'ambito della presente ricerca ci si è posti l'obiettivo di classificare, secondo metodi chemiometrici statisticamente validi, oli d'oliva vergini di provenienza calabrese ed extraregionale (Puglia, Umbria, Basilicata, Abruzzo) la cui origine geografica fosse autenticata da prelievi appositamente realizzati

nelle zone d'origine oggetto di studio. A tal fine oli d'oliva vergini appartenenti alle cv. "Carolea", "Coratina", "Leccino" e "Frantoio", campionati nel corso delle annate 2009-2010 e 2010-2011, nelle province di Bari (BA), Cosenza (CS), Catanzaro (CZ), Matera (MT), Pescara (PE) e Perugia (PG), sono stati analizzati rispetto ai principali parametri merceologici (indice di Jaen, % grassi, residuo secco, umidità, % grassi su residuo secco, acidità libera, No. di perossidi, K₂₃₂, K₂₇₀, ΔK e profilo degli esteri metilici degli acidi grassi) ed al $\delta^{13}\text{C}$. L'insieme dei dati raccolti è stato quindi elaborato mediante LDA (linear discriminant analysis). L'analisi discriminante lineare è un metodo di classificazione che misura l'importanza dei fattori che determinano l'appartenenza di un'osservazione ad un gruppo. La combinazione lineare delle variabili considerate genera funzioni discriminanti che attribuiscono a ciascuna variabile un peso proporzionale all'importanza che questa riveste nel processo di classificazione. I risultati del presente studio hanno

permesso di evidenziare che le prime due funzioni discriminanti canoniche generate hanno spiegato l'85% della varianza, e pertanto hanno permesso una discriminazione fra i gruppi di classificazione che corrispondono con le diverse province di campionamento. In particolare, mediante la funzione 1 è stato possibile discriminare gli oli d'oliva campionati nelle province di PG da quelli campionati nella provincia di PE e da quelli meridionali, e mediante la funzione 2 è stato possibile discriminare gli oli provenienti da PE da quelli delle province di CS, CZ, MT e BA. Questi ultimi, di provenienza meridionale, sono stati classificati in gruppi sovrapponibili e pertanto non discriminabili. In conclusione, l'impiego congiunto di marker chimici ed isotopici ha fatto sì che il 98,8% dei casi fosse classificato correttamente nel gruppo di appartenenza, esplicitando una netta discriminazione degli oli d'oliva di provenienza meridionale (Calabria, Basilicata, Puglia) da quelli di provenienza settentrionale (Umbria, Abruzzo).

Parole chiave: origine geografica; olio d'oliva vergine; esteri metilici degli acidi grassi; $\delta^{13}\text{C}$; analisi discriminante.

Bibliografia

ANGEROSA F., BREAS O., CONTENTO S., GUILLOU C., REMIERO F., SADA E., 1999. *Application of Stable Isotope Ratio Analysis to*

the Characterization of the Geographical Origin of Olive Oils. J Agric Food Chem, 47: 1013-1017.

BENINCASA C., LEWIS J., PERRI E., SINDONA G., TAGARELLI A., 2007. *Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis.* Anal. Chimica Acta, 585: 366-370.

BONTEMPO L., CAMIN F., LARCHER R., NICOLINI G., PERINI M., ROSSMANN A., 2009. *Coast and year effect on H, O and C stable isotope ratios of Tyrrhenian and Adriatic Italian olive oils.* Rapid Commun. Mass Spectrom. 23: 1043-1048.

CAMIN F., WIETZERBIN K., BLANCH CORTES A., HABERHAUER G., LEES M., VERSINI G., 2004. *Application of Multielement Stable Isotope Ratio Analysis to the Characterization of French, Italian, and Spanish Cheeses.* J. Agr. Food Chem, 52: 6592-6601.

DI BELLA G., MAISANO R., LA PERA L., LO TURCO V., SALVO F., DUGO G., 2007. *Statistical Characterization of Sicilian Olive Oils from the Peloritana and Maghrebian Zones According to the Fatty Acid Profile.* J. Agr. Food Chem., 55: 6568-6574.

KELLY S., HEATON K., HOOGWERFF J., 2005. *Tracing the geographical origin of food: The application of multi-element and multi-isotope analysis.* Trends in Food Science e Technology, 16: 555-567.

KELLY S., PARKER I., SHARMAN M., TENNIS J., GOODALL I., 1997. *Assessing the authenticity of single seed vegetable oils using fatty acid stable carbon isotope ratios ($^{13}\text{C}^{12}\text{C}$).* Food Chem., 59(2):181-186.

LANTERI S., ARMANINO C., PERRI E., PALOPOLI A., 2002. *Study of oils from Calabrian olive cultivars by chemometric methods.* Food Chem. 76: 501-507.

ROSSMANN A., 2001. *Determination of stable isotopes ratio in food analysis.* Food Reviews International, 17(3): 347-381.

ROSSMANN A., KORNEXL BE., VERSINI G., PICHLMAYER F., LAMPRECHT G., 1998. *Origin assignment of milk from alpine regions by multielement stable isotope ratio analysis (SIRA).* J Food Sci Nut, 1: 9-21.

Comparazione dei parametri nutrizionali e sensoriali di oli aziendali provenienti dall'emisfero australe e boreale

Romano E.^{1,2}, Pellegrino M.¹, Benincasa C.^{1*}, Muzzalupo I.¹, Parise A.¹, Martellosi M.³ e Perri E.¹

¹ Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Rende (CS)

² Dipartimento di Chimica, Università della Calabria, Rende (CS)

³ International Extravirgin Olive oil Agency, Spoleto (PG)

Nutritional and sensory evaluation of olive oils produced in southern and northern hemisphere

Abstract. The aim of the present study was to assess the main nutritional and sensory parameters of olive oils produced during the year crops 2006-2011 in different countries of the southern and northern hemisphere. All sample analysed have participated to the International Olive Oil Competition "Harmony" whose purpose is to promote the knowledge of extra virgin olive oil through the harmonization of flavor in the food-oil combination in International High Schools Cuisine and catering. The results obtained were subjected to multivariate statistical analysis which has been able to make a distinction between oils belonging to the two hemispheres and produced during the different year crops.

Key words: fatty acids, statistical analysis, extra virgin olive oil, flavor.

Introduzione

L'olio extra vergine d'oliva è un alimento genuino con eccellenti caratteristiche nutrizionali e sensoriali dovute non solo alla presenza di una frazione saponificabile particolarmente ricca in acidi grassi monoinsaturi ed essenziali, ma anche alla presenza di numerosi composti minori con caratteristiche antiossidanti e vitaminiche. Fino a pochi anni fa quasi tutte le aziende alimentari ritenevano che il controllo qualità consistesse solo in un controllo delle caratteristiche chimiche e microbiologiche, più raramente fisiche. Veniva completamente trascurato il fatto che il consumatore esprimeva il proprio giudizio prevalentemente

sulla base del sapore, dell'odore, della consistenza, cioè delle caratteristiche che egli è in grado di valutare mediante gli organi di senso. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare i principali parametri nutrizionali e sensoriali di oli aziendali provenienti dall'emisfero australe e boreale e prodotti nelle annate 2006-2011. Lo screening è stato effettuato su produzioni internazionali di olio extravergine di oliva d'eccellenza, partecipanti al Concorso Oleario Internazionale "Armonia", avente la finalità di promuovere la conoscenza dell'Olio extravergine d'oliva mediante l'armonizzazione del gusto nel binomio cibo-olio nelle Scuole di Alta cucina e nella ristorazione Internazionale (Benincasa *et al.*, 2007; Caravita *et al.*, 2008).

Materiali e metodi

I principali parametri merceologici e sensoriali sono stati determinati secondo le metodiche ufficiali riportate nel Reg. CE 1989/2003 e successive modifiche ed integrazioni. In particolare, sugli oli sono stati determinati il valore di acidità libera, n. di perossidi, estinzioni specifiche nell'UV, composizione percentuale degli esteri metilici degli acidi grassi, fenoli totali e tocoferoli. Le analisi sono state condotte in doppio e i risultati sottoposti ad analisi statistica multivariata mediante analisi delle componenti principali (PCA) e del discriminante lineare (LDA) utilizzando il programma Stat Graphics Plus.

Risultati e discussioni

Analisi chimico-fisiche

Tutti gli oli analizzati hanno dato valori di acidità libera, n. di perossidi e estinzioni specifiche nell'UV che rientrano nei limiti di legge e tipici di un olio extravergine di oliva di alta qualità. I valori ottenuti dalle analisi dei fenoli totali e tocoferoli sono diversi e

* cinzia.benincasa@entecra.it

compresi in un intervallo di 250-500 mg/kg. A prescindere dalla nazionalità di appartenenza dell'olio, il contenuto di questi ultimi non ha influito su una separazione o caratterizzazione particolare dello stesso. Valutazioni diverse sono invece emerse dalle analisi degli esteri metilici degli acidi grassi, i quali sono tra i metaboliti primari dell'olivo che maggiormente risentono dell'influenza del genotipo. Inoltre, molte delle caratteristiche nutrizionali dell'olio d'oliva sono dovute proprio ai suoi acidi grassi tra i quali l'acido oleico ed gli acidi polinsaturi linoleico e linolenico della serie $\omega 6$ e $\omega 3$ rispettivamente. La figura 1 mostra, con diagrammi a barre, l'andamento dell'acido oleico (1), dell'acido linoleico (2), del rapporto degli acidi grassi insaturi e saturi (3), del rapporto degli acidi delle serie $\omega 6$ e $\omega 3$ (4), del rapporto acido oleico e linoleico (5), e dell'acido palmitico (6) degli oli prodotti nelle aree dell'emisfero boreale ed australe nel corso delle annate di produzione 2006/2011. Dai risultati ottenuti si è evinto che il contenuto in acido oleico risulta più elevato negli oli provenienti dall'emisfero australe (74-77%) così come il rapporto insaturi-saturi (5,4-6,2). Il rapporto oleico-linoleico è risultato più elevato negli oli dell'emisfero australe

(8,7-12) così come il contenuto in acido palmitico (11-13%). L'acido linoleico è invece più elevato negli oli dell'emisfero boreale (6,3-19,4%).

Analisi statistica

In un primo momento, per ottenere un più ristretto numero di combinazioni lineari delle 13 variabili (acido miristico, oleico, palmitico, palmitoleico, eptadecanoico, eptadecenoico, stearico, linoleico, linolenico, arachico, eicosenoico, beenico, lignocericico) che maggiormente incideranno sulla variabilità dei dati, è stata effettuata l'analisi delle componenti principali (PCA). I casi (oli) esaminati sono stati 577 e le variabili indipendenti gli esteri metilici degli acidi grassi. Cinque componenti principali sono state estratte aventi eigenvalues ≥ 1 (tab. 1), esse hanno contribuito a spiegare l'81,68% della variabilità totale dei dati originali. Dall'analisi PCA le variabili che maggiormente hanno inciso sulla variabilità dei dati sono risultate essere gli acidi arachico, eptadecanoico, linoleico e miristico sulla prima componente e gli acidi oleico, palmitico e linoleico sulla seconda. L'analisi del discriminante lineare (LDA) dei 577 casi (oli), considerando le sette variabili selezionate e

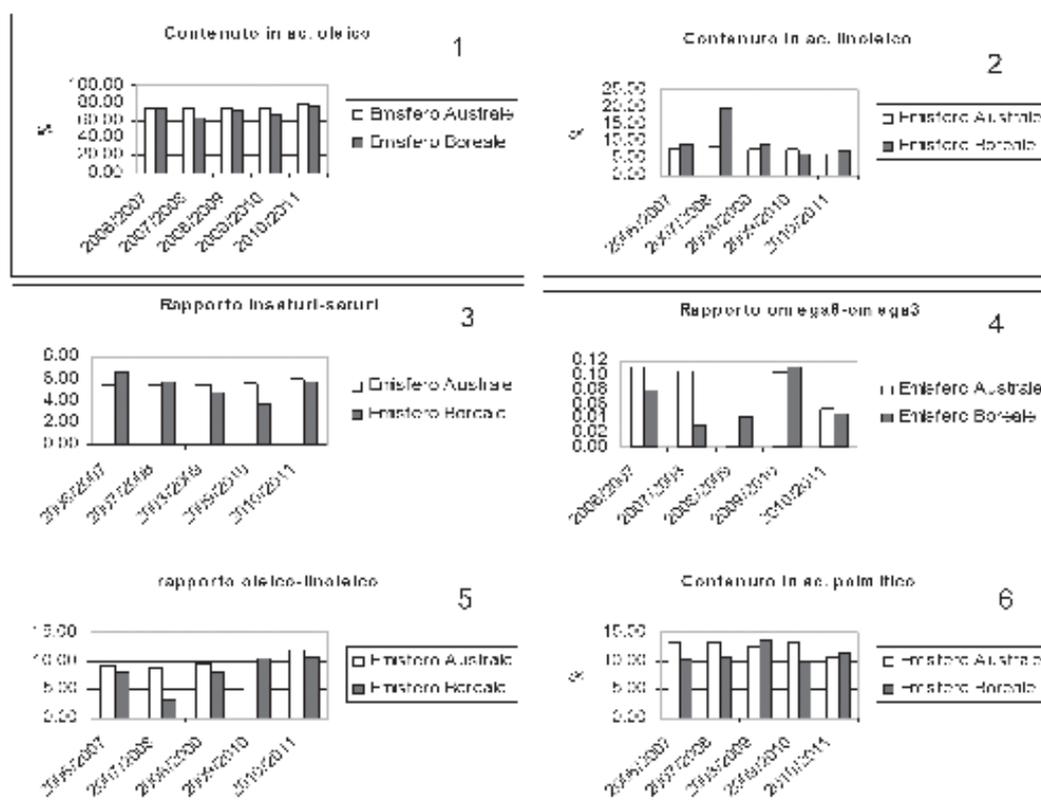


Fig. 1 - Diagrammi a barre dell'andamento del contenuto percentuale di acido oleico (1), acido linoleico (2), del rapporto degli acidi grassi insaturi e saturi (3), del rapporto degli acidi delle serie $\omega 6$ e $\omega 3$ (4), del rapporto acido oleico e linoleico (5), e di acido palmitico (6) degli oli prodotti nelle aree dell'emisfero boreale ed australe nel corso delle annate di produzione 2006/2011.

Fig. 1 - Bar charts of the content of oleic acid (1), linoleic acid (2), saturated and unsaturated fatty acids ratio (3), $\omega 3$ and $\omega 6$ fatty acids ratio (4), oleic and linoleic acid ratio (5), and palmitic acid (6) of the oils produced in the areas of the northern and southern hemisphere during the year crops 2006/2011.

Tab. 1 - Risultati delle funzioni derivate e discriminanti utilizzate per classificare i 577 casi (oli), considerando come variabili indipendenti gli esteri metilici degli acidi grassi. Le funzioni discriminanti statisticamente significative (P-values ≥ 1) sono 4 ed hanno contribuito a spiegare l'81,68% della variabilità totale dei dati originali.

Tab. 1 - Discriminant functions that are statistically significant as the eigenvalues are greater than or equal to 1,0. Together they account for 81,683% of the variability in the original data.

Funzione discriminante	Eigenvalue	% relativa	Correlazione canonica	Funzioni derivate	Wilks Lambda	Chi-Square	DF	P-Value
1	110,731	92,65	1,00	1	0,000259048	6.408,5934	52	0,0
2	6,02105	5,04	0,93	2	0,0289438	2.748,9029	36	0,0
3	2,25538	1,89	0,83	3	0,203216	1.236,5464	22	0,0
4	0,51	0,43	0,58	4	0,661544	320,6267	10	0,0

come categorie gli stati di produzione degli oli, ha prodotto 4 funzioni discriminanti con P-values $\leq 0,05$ e quindi statisticamente significative al 95% (tab. 2). La percentuale dei casi correttamente classificati è stata del 62,05% (fig. 2). Data la percentuale di classificazione non molto elevata, non si è potuto separare gli oli delle diverse aree di produzione, ma il risultato è stato lo stesso interessante in quanto si è

venuta a formare una suddivisione netta tra gli oli appartenenti ai due emisferi (fig. 2). In una seconda analisi LDA le categorie considerate sono state le 5 annate di produzione degli oli (2006/2011). Gli oli sono stati raggruppati in tre classi nettamente separate (fig. 3) formate dagli oli prodotti nell'annata 2010/2011, da quelli prodotti nell'annata 2008/2009 e quelli prodotti nelle annate 2006/2008 e 2009/2010.

Tab. 2 - Risultati delle funzioni derivate e discriminanti utilizzate per classificare i 577 casi (oli), considerando come variabili indipendenti gli esteri metilici degli acidi grassi e come categorie gli stati di produzione degli oli. La percentuale dei casi correttamente classificati è stata del 62,05%.

Tab. 2 - This table shows the results of using the derived discriminant functions to classify observations. It lists the two highest scores amongst the classification functions for each of the 577 observations used to fit the model, as well as for any new observations. Amongst the 577 observations used to fit the model, 358 or 62,0451% were correctly classified.

Funzioni derivate	Wilks Lambda	Chi-Square	DF	P-Value	Funzione discriminante	Eigenvalue	% relativa	Correlazione canonica
1	0,246715	790,0297	96	0,0	1	1,39504	70,46	0,76268
2	0,589782	298,0575	75	0,0	2	0,322832	16,36	0,49401
3	0,780782	140,1246	56	0,0	3	0,142145	7,20	0,35278
4	0,891081	65,0979	39	0,0055	4	0,0532537	2,70	0,22486
5	0,938535	35,8093	24	0,0573	5	0,0457043	2,32	0,20906
6	0,981430	10,5815	11	0,4790	6	0,0189217	0,96	0,13627

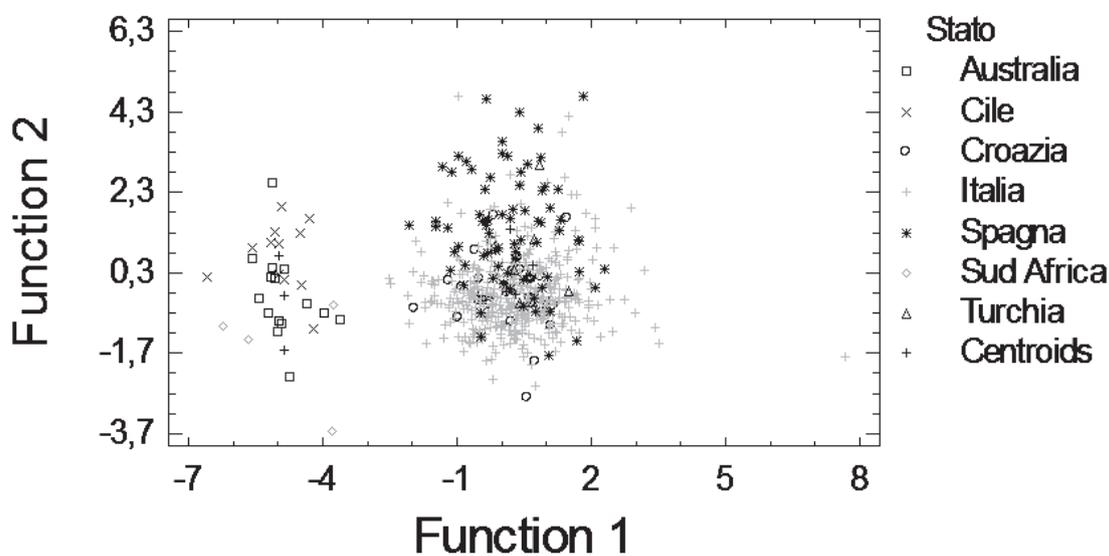


Fig. 2 - Plot delle funzioni discriminanti ottenuto analizzando 577 casi (oli) e considerando variabili indipendenti gli esteri metilici degli acidi grassi e categorie gli stati di produzione degli oli. La percentuale dei casi correttamente classificati è del 62,05%.

Fig. 2 - Plot of discriminant functions obtained by analyzing 577 cases (oils) and considering the methyl esters fatty acids as independent variables and the production areas as categories. The percentage of cases correctly classified was 62,05%.

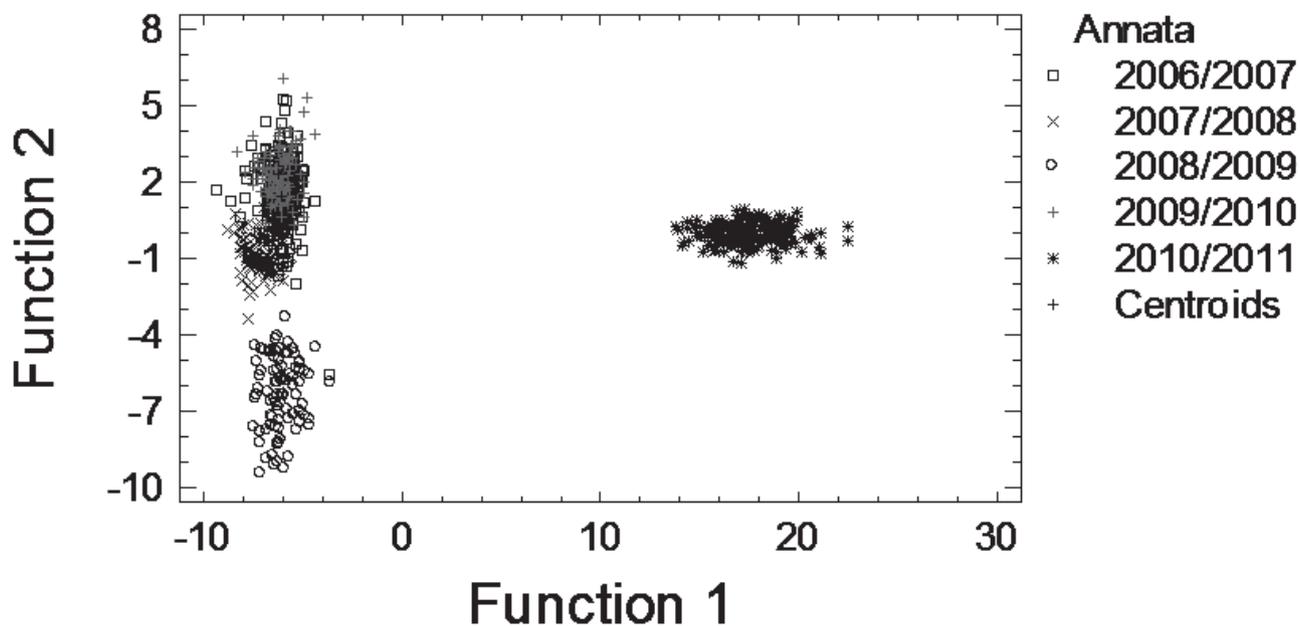


Fig. 3 - Plot delle funzioni discriminanti ottenuto analizzando 577 casi (oli) e considerando come variabili indipendenti gli esteri metilici degli acidi grassi e come categorie le annate di produzione degli oli.

Fig. 3 - Plot of discriminant functions obtained by analyzing 577 cases (oils) and considering the methyl esters fatty acids as independent variables and the year crops as categories.

Riassunto

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare i principali parametri nutrizionali e sensoriali di oli di oliva provenienti da diversi paesi dell'emisfero australe e boreale collezionati durante le campagne olearie delle annate 2006-2011. Gli oli oggetto di studio sono risultati oli extra vergine di oliva d'eccellenza e partecipanti al Concorso Oleario Internazionale "Armonia", la cui finalità è quella di promuovere la conoscenza dell'olio extravergine d'oliva mediante l'armonizzazione del gusto nel binomio cibo-olio nelle scuole di alta cucina e nella ristorazione internazionale. I risultati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica multivariata.

Parole chiave: acidi grassi, flavor, analisi statistica, premio Armonia.

Ricerche svolte nell'ambito del progetto RIOM2 finanziato dal M.I.P.A.A.F. (Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali).

Bibliografia

- BENINCASA C., CARAVITA M. A., MARTELOSSI M., MUZZALUPO I., PANNELLI G., PELLEGRINO M., PERRI E. 2007. *Physical, chemical and sensory characteristic of olive oils from the southern hemisphere*. Proc. 5th Euro Fed Lipid Congr. (Svezia): 240.
- CARAVITA M.A., BENINCASA C., MARTELOSSI M., MUZZALUPO I., PELLEGRINO M., PERRI E., ROMANO E., 2008. *Classification of international olive oils by chemiometry applied to the content of oleic acid and $\Omega 3/\Omega 6$ ratio*. Proc. 6th Euro Fed Lipid Congr. (Greece): NU-035.

Descrizione morfo-molecolare e qualità dell'olio di cultivar d'olivo (*Olea europaea*) dell'Italia meridionale

Alessandrino M.¹, Capogrossi A.², Muzzalupo I.^{1*}, Perri E.¹, Pellegrino M.¹ e Rotundo A.²

¹ Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Rende (CS)

² Dipartimento di Scienze dei Sistemi Colturali Forestali e dell'Ambiente, Università della Basilicata

Morpho-molecular description and oil quality of olive (*Olea europaea*) cultivars of southern Italy

Abstract. The olive germplasm is a source of variability of fundamental importance for the conservation and genetic improvement of species. The survey covered 47 varieties of olive germplasm native Basilicata, Apulia and Calabria. The morphological characterization of the varieties was performed using the form proposed by the International Olive Oil Council uses the descriptive parameters of the plant, the inflorescence, leaves, and the endocarp of drupes. Molecular analysis was carried out instead through the combined use of 11 microsatellite loci, previously selected. In addition, at the laboratory are extracted the 47 olive oil samples of the varieties corresponding. All samples were analyzed with the official analytical methods. The set of molecular profiles and morphological parameters allowed the definition of an 'identity card' to describe each cultivar on the genetic and phenotypic. The results of this study indicate that there are considerable phenotypic and genetic variability in the landscape varieties analyzed. The cluster analysis using molecular data and the morphological descriptions revealed no cases of synonymy and/or homonymy confirming the richness and complexity of the heritage varieties in the region.

Key words: phenotypic characterization, genetic diversity, *Olea europaea*, virgin olive oil.

Introduzione

L'olivo annovera il germoplasma più ricco tra tutte le specie coltivate, l'intera variabilità genetica si è

conservata pressoché intatta fino ad oggi grazie alla particolare longevità delle piante, all'adattamento alle diverse condizioni micro-ambientali degli areali di coltivazione e alla mancata sostituzione delle varietà tradizionali con nuovi genotipi migliorati. Tale germoplasma è una fonte di variabilità di fondamentale importanza per la conservazione e il miglioramento genetico della specie (Muzzalupo *et al.*, 2009; 2010; 2011).

Il numero di piante d'olivo presenti in Italia è stimato nell'ordine di 170 milioni, appartenenti ad un numero non ben definito di varietà, di cui 390 sono indicate nell'elenco dello schedario olivicolo (Schedario olivicolo supp. G.U. 5/94), 538 segnalate dalla FAO (Bartolini *et al.*, 2005) e recenti aggiornamenti bibliografici hanno fatto salire questa lista a 650 varietà per le quali esisterebbero 1.300 sinonimi (Muzzalupo *et al.*, 2008). Tale germoplasma è raccolto in diverse collezioni site in varie regioni italiane e paesi del bacino Mediterraneo; la FAO nel 2010 ha assegnato il primo posto alla collezione del CRA-OLI sita a Mirto-Crosia (CS) per il numero di varietà di olivo presenti, seguita dalla collezione di Cordoba (Spagna).

L'indagine ha riguardato 47 varietà del germoplasma olivicolo autoctono della Basilicata, della Puglia e della Calabria. La caratterizzazione morfologica delle varietà è stata eseguita utilizzando la scheda proposta dal Consiglio Oleicolo Internazionale nel 2000 che si avvale dei parametri descrittivi della pianta, delle mignole, delle foglie, delle drupe e degli endocarpi. L'analisi molecolare è stata invece condotta mediante l'uso combinato di 11 *loci* microsatellite, precedentemente selezionati. Inoltre, presso i mini-frantoi del CRA-OLI sono pervenuti e sono stati estratti i 47 campioni di oli monovarietaliali delle varietà corrispondenti. Tutti i campioni sono stati analizzati con le metodiche analitiche ufficiali sia per i parametri merceologici sia per l'analisi sensoriale.

* innocenzo.muzzalupo@entecra.it

Materiale e metodi

L'indagine ha riguardato 47 varietà di germoplasma olivicolo autoctono dell'Italia meridionale (tab. 1).

Analisi morfologiche

La descrizione dei caratteri morfologici di ciascuna cultivar rappresenta il risultato di osservazioni condotte in un periodo che va da almeno tre anni a salire,

Tab. 1 - Principali parametri qualitativi degli oli monovarietalizzati.
Tab. 1 - Main quality parameters of the olive oils analyzed.

Cultivar	Fenoli totali (mg/kg)	Ac. palmitico (%)	Ac. oleico (%)	Ac. linoleico (%)	Ac. linolenico (%)	Rapp. oleico/linoleico
Acerenza	465,3	10,9	78,9	5,8	0,5	13,6
Augellina	147,9	15,2	71,7	8,8	0,8	8,2
Cannellina	531,3	15,3	68,4	11,6	0,9	5,9
Carolea	143,6	14,8	72,8	6,0	0,5	12,1
Carpinegna	236,6	11,5	79,4	3,9	0,7	20,5
Cima di Melfi	167,2	12,3	76,2	7,1	0,8	10,8
Coratina	274,6	11,4	77,1	7,8	0,7	9,9
Cornacchiola	429,5	12,6	79,0	4,0	0,6	19,6
Corniola	192,3	11,5	67,0	11,5	0,8	5,8
Dipopp	391,3	12,6	71,7	10,9	0,5	6,6
Dolce di Rossano	143,6	15,3	71,2	8,3	0,7	8,6
Faresana	214,9	11,8	76,6	7,1	0,8	10,7
Fasolina	118,5	11,3	76,8	7,7	0,7	10,0
Fasolona	126,6	14,6	70,1	9,3	0,7	7,5
Ficatara	341,0	10,8	78,1	6,8	0,7	11,5
Ghiannara	138,6	14,5	72,3	8,4	0,9	8,6
Grossa di Cassano	173,9	10,4	76,2	8,6	0,9	8,9
Justa	162,9	13,4	63,8	17,5	0,9	3,7
Lardaia	195,3	12,3	72,2	8,9	0,8	8,1
Mafra di Cerchiara	178,6	12,1	72,5	11,6	0,8	6,3
Maiatica di Ferrandina	121,3	11,9	74,5	8,3	0,7	9,0
Nociara	321,7	14,1	74,3	6,5	0,8	11,4
Ogliarola del Bradano	357,7	14,6	69,6	10,9	1,0	6,4
Ogliarola del Vulture	228,8	13,0	72,9	8,7	0,6	8,4
Olivella di Cerchiara	178,9	13,3	57,9	23,6	1,0	2,5
Olivo da Mensa	217,7	10,1	72,8	8,4	0,9	8,7
Orazio	125,4	10,0	75,8	10,3	0,4	7,4
Palmarola	175,4	14,5	73,3	6,8	0,9	10,8
Pasola	58,1	11,2	70,6	13,9	0,9	5,1
Pennulara	202,6	8,6	78,6	8,5	0,7	9,3
Peranzana	130,9	14,6	66,5	14,6	0,1	4,6
Provenzale	352,8	13,2	72,9	9,1	0,8	8,0
Racioppa	326,2	14,7	69,4	10,6	0,7	6,6
Roma	128,8	10,5	76,7	8,9	0,7	8,6
Romanella	166,3	14,2	73,2	7,6	0,7	9,6
Romanella di Calabria	165,2	15,4	68,8	9,9	0,7	6,9
Rotondella	124,8	11,4	77,5	6,6	0,8	11,7
Russulella	185,5	15,8	68,1	10,3	0,6	6,6
Sammartinenga	317,8	11,5	79,2	4,3	0,8	18,3
Scarpetta	378,4	16,5	66,5	12,1	0,7	5,5
Spezzanese	215,3	16,4	69,1	8,4	0,6	8,2
Spinoso	380,9	11,5	80,9	2,9	0,6	28,0
Tonda di Strongoli	207,9	15,2	69,3	10,2	0,8	6,8
Tonda Dolce Cerchiara	159,6	12,8	71,2	11,6	1,0	6,1
Tondina	245,0	13,6	76,9	4,8	0,7	16,1
Uglia	334,5	15,7	64,0	15,2	0,6	4,2
Ugliastred	561,6	13,1	74,9	7,3	0,4	10,2

a seconda dell'entrata in fruttificazione delle varietà analizzate su un numero di quattro cinque piante per varietà. Per i parametri morfologici da esaminare si è fatto riferimento alla metodologia indicata dall'UPOV (*Union Internationale pour la Protection de la Obtention Vegetales*, <http://www.upov.int/>) con alcune modifiche.

Analisi molecolare

Da tessuti fogliari congelati in azoto liquido e conservati a -80 °C è stato estratto il DNA secondo quanto riportato in Muzzalupo e Perri (2002). Le piante di olivo sono state genotipizzate a livello di undici loci microsatelliti nucleari: GAPI59, GAPI71A, GAPI71B, GAPI103A, UDO01, UDO03, UDO12, UDO28, UDO39, DCA09 e DCA18 selezionati tra quelli presenti in letteratura e che sono risultati essere particolarmente informativi (Muzzalupo *et al.*, 2009; Baldoni *et al.*, 2009). La reazione di PCR e le condi-

zioni di amplificazione utilizzate sono descritte in Muzzalupo *et al.* (2009).

Analisi degli oli monovarietali

Su tutti gli oli monovarietali ottenuti sono state eseguite le analisi merceologiche standard secondo le metodiche ufficiali (Reg. CE 61/2011); mentre i composti fenolici, sono stati analizzati secondo le metodiche adottate presso il CRA-OLI. L'analisi sensoriale (panel test) è stata condotta da 8 giudici del CRA-OLI utilizzando una scheda riportante le indicazioni del Consiglio Oleicolo Internazionale nel Reg. CE 2568/91, 796/02 e 640/08 per la caratterizzazione sensoriale degli oli.

Analisi statistica

I dati della caratterizzazione morfologica e molecolare sono stati utilizzati per creare una matrice qualitativa di presenza (1) o assenza (0) e usata per l'ela-

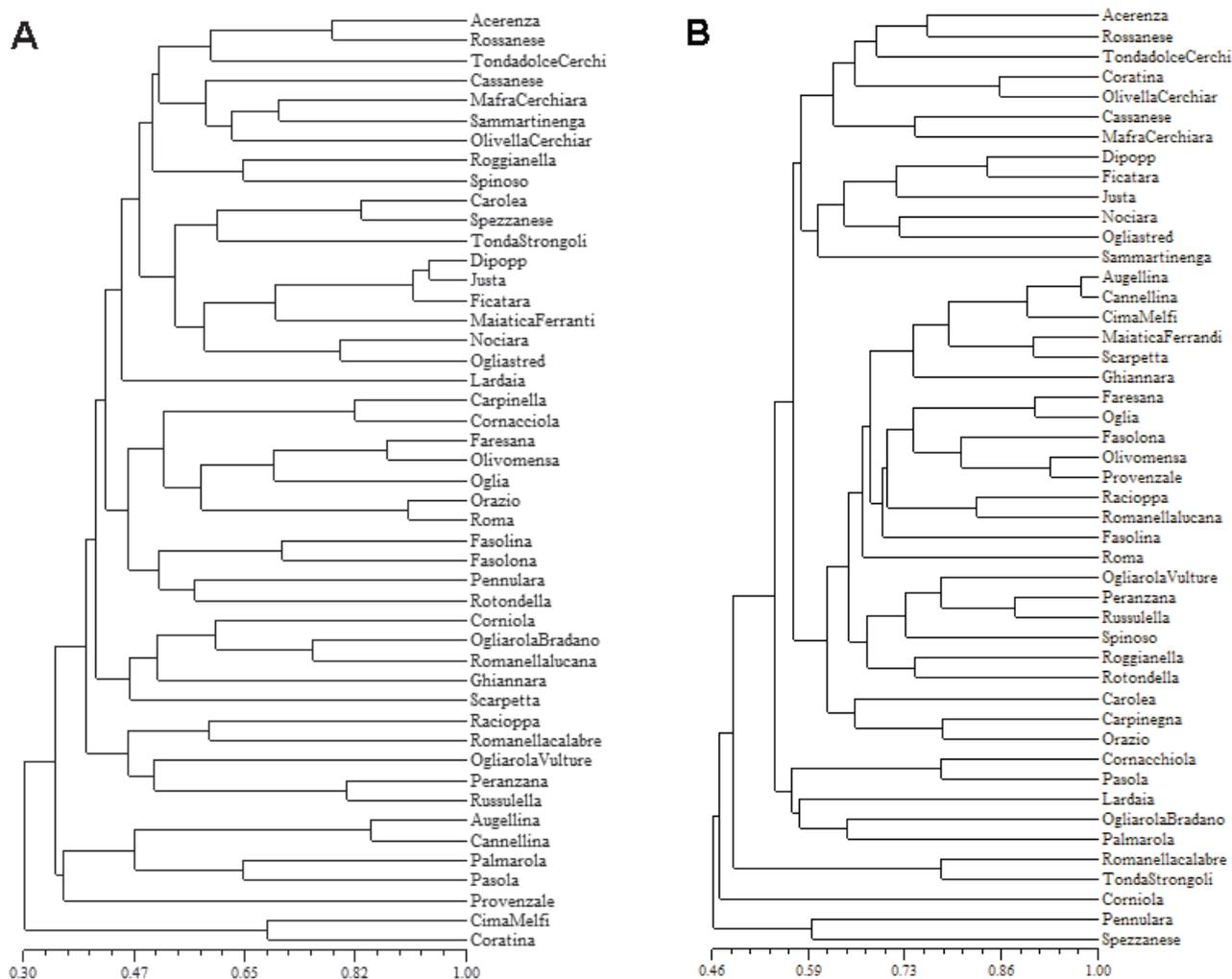


Fig. 1 - Dendrogramma delle 47 cultivar di olivo del germoplasma autoctono Meridionale costruito: (a) utilizzando i profili SSR ottenuti (b) sulla base delle variabili morfologiche.
 Fig. 1 - Dendrogram of the 47 olive cultivar of germplasm of autochthonous South constructed: (a) using the SSR profiles and (b) on the basis of morphological variables.

borazione statistica col programma NTSYS-PC (versione 2.1) (Rohlf 1999). Il programma utilizzando il coefficiente di Dice (Dice 1945) elabora una matrice di similarità che viene utilizzata per la costruzione del dendrogramma con l'algoritmo UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method*).

Risultati e conclusioni

Lo studio dei polimorfismi del DNA, mediante analisi molecolare SSR, si è rivelato di grande utilità per la caratterizzazione e lo studio delle relazioni esistenti tra i 47 genotipi di olivo mediterranei. La *cluster* analisi, effettuata utilizzando i dati molecolari e morfologici descrittivi (fig. 1), ha consentito di escludere l'esistenza di casi di sinonimia / omonimia permettendo di ripartire le 47 varietà in varietà distinguibili per caratteristiche precise e capaci di rappresentare la ricchezza varietale presente nel territorio.

Tra le cultivar d'olivo analizzate, si evidenzia un maggior grado di similarità genetica tra le varietà Dipop, Justa e Ficatarà che formano un raggruppamento a parte dal resto delle varietà. Le stesse tre varietà anche da un punto di vista morfologico tendono a raggrupparsi insieme anche se con valori di similarità molto più bassi. Morfologicamente invece abbiamo che le varietà Cannellina e Augellina mostrano valori di similarità molto alti e anche geneticamente si raggruppano insieme anche con valori più bassi di similarità genetica. Le rimanenti varietà mostrano invece un grado di similarità piuttosto modesto, confermando che il patrimonio autoctono varietale Meridionale è il risultato di una progressiva introduzione di pool genetici provenienti dai vari Paesi olivicoli presenti nel bacino del Mediterraneo.

I dati della qualità degli oli monovarietali sono riportati nella tabella 1. Tutti i campioni rientrano nella classificazione merceologica di oli extravergini. I campioni di olio risultati migliori, in base al contenuto di composti fenolici, sono quelli della Cannellina e Ugliastred (> di 500 mg/kg) (tab. 1), mentre gli oli delle cvs Cornacchiola, Sarmartinenga, Carpinegna e Spinoso si sono contraddistinti per il loro elevato contenuto di acido oleico (circa 80%) (tab. 1).

Riassunto

L'olivo annovera il germoplasma più ricco tra tutte le specie arboree coltivate, l'intera variabilità genetica

si è conservata pressoché intatta fino ad oggi grazie alla particolare longevità delle piante, all'adattamento alle diverse condizioni micro-ambientali degli areali di coltivazione ed alla mancata sostituzione delle varietà tradizionali con nuovi genotipi migliorati. L'indagine ha riguardato 47 varietà del germoplasma olivicolo autoctono della Basilicata, della Puglia e della Calabria. La caratterizzazione morfologica e molecolare delle varietà oggetto di studio. L'insieme dei profili molecolari e dei parametri morfologici ha consentito la definizione di una 'carta d'identità' per descrivere ciascuna cultivar sul piano genetico e fenotipico.

Parole chiave: caratterizzazione fenotipica, diversità genetica, *Olea europaea*, olio vergine d'oliva.

Ricerca finanziata dal progetto RIOM II e RGV-FAO.

Bibliografia

- BALDONI L., CULTRERA N.G., MARIOTTI R., RICCIOLINI C., ARCIONI S., VENDRAMIN G.G., BUONAMICI A., PORCEDDU A., SARRI V., OJEDA M.A., TRUJILLO I., RALLO L., BELAJ A., PERRI E., SALIMONTI A., MUZZALUPO I., CASAGRANDE A., LAIN O., MESSINA R., TESTOLIN R., 2009. *A consensus list of microsatellite markers for olive genotyping*. Mol. Breed. 24: 213-231.
- BARTOLINI G., PREVOST G., MESSERI C., CARIGNANI G. 2005. *Olive germplasm: cultivars and world-wide collections*. Dec. 2008. <http://www.apps3.fao.org/wiews/olive/oliv.jsp>
- DICE L.R. 1945. *Measures of the amount of ecologic association between species*. - Ecology, 26: 297-302.
- FAO, *Second report on the state of the world's Plant genetic resources for food and agriculture*, 2010 Rome.
- MUZZALUPO I., CHIAPPETTA A., BENINCASA C., PERRI E., 2010. *Intra-cultivar variability of three major olive cultivars grown in different areas of central-southern Italy and studied using microsatellite markers*. Sci. Horticulture, 126: 324-329.
- MUZZALUPO I., LOMBARDO N., SALIMONTI A., PERRI E. 2008. *Molecular characterization of Italian olive cultivars by microsatellite markers*. Adv Hort Sci., 22: 142-148.
- MUZZALUPO I., PERRI E. 2002. *Recovery and characterisation of DNA from virgin olive oil*. Eur. Food Res. Technol., 214: 528-531.
- MUZZALUPO I., STEFANIZZI F., PERRI E. 2009. *Evaluation of olives cultivated in Southern Italy by Simple Sequence Repeat markers* HortScience, 44: 582-588.
- MUZZALUPO I., MACCHIONE B., BUCCI C., STEFANIZZI F., PERRI E., CHIAPPETTA A., TAGARELLI A., SINDONA G. 2011. *Transcripts accumulation of LOX gene and effect on olive oil aroma biosynthesis: olive (Olea europaea L.) fruits harvest in three stages maturation and from two farms of Southern Italy*. J. Sci. Food Agric. in press.
- ROHLF F.J. 1994. *NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.1*. Exeter Software, Setauket, N.Y.

HPLC-MS/MS della componente fenolica di oli vergini prodotti da oliveti superintensivi

Benincasa C.*, Romano E., Pellegrino M., Muzzalupo I. e Perri E.

Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Rende (CS)

Phenolic profile of olive oils obtained under a super high density system

Abstract. Phenolic compounds have a high importance in olive oil because of their effects on shelf life and sensorial properties. The amounts of these chemical antioxidants are influenced by the cultivar, soil, climate, irrigation, degree of ripeness and processing methods. Over the last decade, the super-high-density system (1500–2500 trees per/ha), has been developed to use over the row mechanical harvesters to reduce the costs of hand harvesting and to bring orchards into production within only a few years after planting. In order to investigate the phenolic profile of olive oils grown under a superintensive plantation, Arbosana olive oils produced in Zaragoza (Spain), were collected and analysed by HPLC-MS/MS. The preliminary results obtained showed that olive oils produced under a super-high-density system gave a rich profile in derivatives of oleuropein and ligstroside. The flavor of the oils were, however, not very pronounced and the content of antioxidants low.

Key words: LC-MS/MS techniques, oleuropein and ligstroside aglicones, antioxidants, flavour.

Introduzione

L'olivicoltura superintensiva, che si è sviluppata soprattutto nell'ultimo decennio, è molto diffusa in Spagna. Questo sistema culturale è innovativo perché potenzialmente capace di portare alla drastica riduzione dei costi di produzione abbattendo quelli di raccolta. La resa in olio degli impianti superintensivi è comunque mediamente più bassa rispetto a quella di impianti tradizionali. Tale differenza è soprattutto imputabile alla quantità d'acqua presente nel frutto che può arrivare oltre il 60% del peso fresco.

Sebbene l'Italia sia il secondo produttore al mondo di olio d'oliva, a causa di poco terreno disponibile, difficoltà per l'avviamento e la trasformazione dei vecchi oliveti, mancanza di varietà italiane che si adattino al sistema superintensivo, il divulgarsi di questa nuova tecnologia impiantistica ha subito un notevole ritardo. Di conseguenza, fra Italia e Spagna il livello dei prezzi si è sostanzialmente modificato fino a determinare un differenziale troppo ampio per essere colmato dalla pur positiva immagine che l'olio di oliva italiano si è costruito nel tempo. Inoltre, l'elevato input di agrofarmaci e erbicidi necessari alla normale gestione agronomica del sistema superintensivo, fanno ritenere che tale modello abbia un considerevole impatto ambientale che non lo rende adatto a tutte le aree olivicole italiane e risulta incompatibile con le norme dell'agricoltura biologica.

Lo scopo del seguente studio è stato quello di indagare il profilo fenolico e quello organolettico di oli di oliva di cv Arbosana provenienti da un oliveto superintensivo (1.500-2.500 piante per/ha) nella provincia di Zaragoza (Spagna). Infatti, i composti fenolici hanno una grande importanza nella valutazione della qualità di un olio di oliva aumentandone le sue proprietà sensoriali e la sua conservazione (Benincasa *et al.*, 2003, De Nino *et al.*, 2008, Perri *et al.*, 1999).

Materiali e metodi

La raccolta delle olive (*Olea europea* L. cv Arbosana) è stata effettuata nell'annata 2009/2010 da un oliveto superintensivo situato nella provincia di Zaragoza (Spagna). I campioni sono stati selezionati con cura da 60 alberi (20 per fila) in perfette condizioni sanitarie. L'estrazione dell'olio è stata effettuata utilizzando un frantoio Abencor (MC2 Ingenierías y Sistemas, Sevilla, Spagna), secondo il metodo descritto da Martinez *et al.* (1975). La gramolatura della pasta è stata condotta a circa 26 °C per 30 min. utilizzando un frangitore a martelli, seguita da centrifugazione tramite decanter a 3.500 rpm per oltre 3 min.

* cinzia.benincasa@entecra.it

I composti fenolici sono stati estratti secondo il metodo descritto da Gutfinger (1981): 10 g di olio sono stati sottoposti a estrazione liquido-liquido con esano (50 ml), seguita da tre lavaggi da 20 ml con una soluzione di acqua/metanolo (v/v 40/60).

Gli estratti metanolici, separati utilizzando un gradiente di metanolo e acqua acidulata (0,1% di acido formico) in un sistema HPLC (Agilent Technologies serie 1200) munito di una colonna capillare (Varian Polaris 3 C18-A 50×2mm), sono stati analizzati mediante spettrometro di massa (API 4000 Q-trap LC/MS/MS system, Applied Biosystems) in full scan e in modalità negativa (fig. 1).

Nel cromatogramma, il picco più abbondante al tempo di eluizione di 17,28 min. è relativo all'aglicone dell'oleuropeina decarbossimetile (m/z 319). Altri picchi, eluiti a 9,15 min. e tra 22,29 e 28,93 min., corrispondono all'aglicone del ligstroside decarbossimetile (m/z 303) e alla specie dell'oleuropeina aglicone a m/z 377. Il picco a tempo di eluizione di 11,81 minuti è invece relativo all'idrossitirosolo (m/z 153) (fig. 2).

Risultati e discussione

Dai risultati analitici ottenuti, l'olio di oliva di cv Arbosana ottenuto con sistema superintensivo, da drupe in perfette condizioni fitosanitarie e adottando condizioni di estrazione ottimali, ha presentato tutti i requisiti propri della qualità.

All'esame olfattivo ha manifestato una netta percezione di pomodoro maturo su fondo decisamente erbaceo. Anche al gusto ha evidenziato un fruttato medio decisamente armonico con un ottimo equilibrio tra le sensazioni verdi/fresche e quelle dolci/mature. Le percezioni di carciofo, di oliva verde ed erba fresca, si sono estrinsecate insieme a quelle di oliva e pomodoro maturi su un fondo di frutta secca (mandorla, noce e nocciola). Evidente e piacevole la sensazione del piccante, sicuramente meno intense quelle amare ed astringenti.

Buoni anche i risultati delle analisi chimiche, infatti, la percentuale di acido oleico è risultata pari al 74 % ed il contenuto totale di polifenoli a 200 mg/kg. Le analisi HPLC/MS/MS hanno confermato la presenza delle specie che più caratterizzano le proprietà antiossidanti di un olio extra vergine di oliva formatosi durante il cammino della lipossigenasi. Tra esse: l'aglicone dell'oleuropeina decarbossimetile (m/z 319), l'aglicone del ligstroside decarbossimetile (m/z 303), l'oleuropeina aglicone (m/z 377) e l'idrossitirosolo (m/z 153) (fig. 2).

Conclusioni

L'olio di cv Arbosana ottenuto da oliveti superintensivi è risultato di alta qualità sebbene abbia mostrato un flavor poco accentuato ed un contenuto in polifenoli non molto elevato.

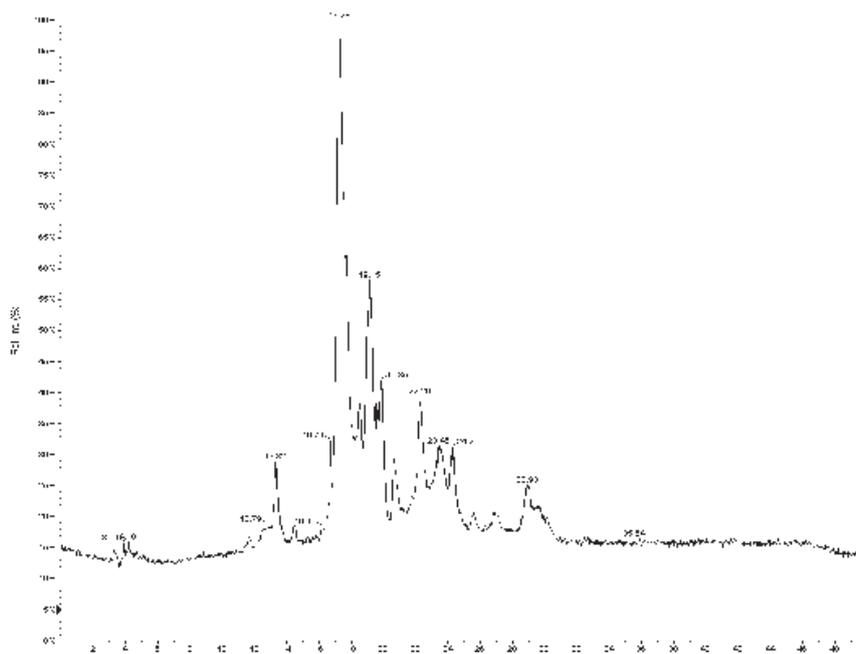


Fig. 1 - Cromatogramma della corrente ionica totale ottenuto iniettando 20 ml di estratto metanolico di olio d'oliva di cv Arbosana. La separazione, della durata di 40 minuti, è stata effettuata utilizzando un gradiente di metanolo e acqua contenente 0,1% di acido formico.
Fig. 1 - Total ion cromatogram obtained from 20 ml of a methanolic extract of olive oil cv Arbosana. Total ion current in the range 100-800 units plotted vs. elution time.

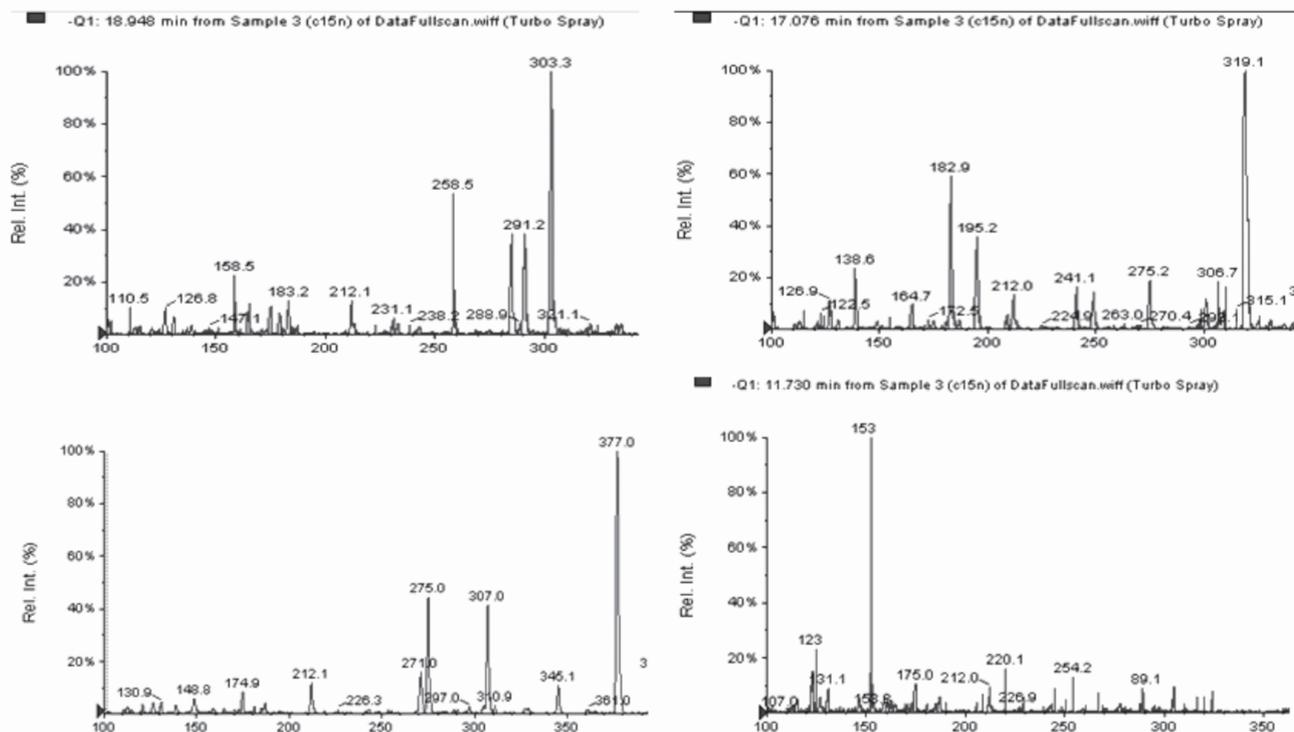


Fig. 2 - Spettri di massa a m/z 303 (decarbossimetil ligstroside aglicone), 319 (decarbossimetil oleuropeina aglicone), 377 (oleuropeina aglicone) e 153 (idrossitirosolo) ottenuti iniettando 20 ml di estratto metanolico di olio di oliva cv Arbosana.

Fig. 2 - Spectra relative to the ion chromatogram obtained from 20 ml of a methanolic extract of olive oil cv Arbosana at m/z 303 (decarboxymethyl ligstroside aglycone), 319 (decarboxymethyl oleuropein aglycone) and 377 (oleuropein aglycone) and 153 (hydroxytyrosol).

Riassunto

I composti fenolici hanno una grande importanza nella valutazione della qualità di un olio di oliva aumentandone le sue proprietà sensoriali e la sua conservazione. In questo lavoro, si è indagato il profilo fenolico di oli di oliva di cv Arbosana provenienti da un oliveto superintensivo situato nella provincia di Zaragoza (Spagna). I risultati ottenuti hanno confermato la presenza delle specie che più caratterizzano le proprietà antiossidanti di un olio di oliva anche se il flavor è risultato essere poco accentuato e il contenuto in polifenoli basso.

Parole chiave: *Olea europaea*, olivicoltura tradizionale ed intensiva, antiossidanti, flavor.

Bibliografia

- BENINCASA C., DE NINO A., LOMBARDO N., PERRI E., SINDONA G., TAGARELLI A., 2003. *Assay of active components of virgin olive oils from southern italian regions by some-gc/ion trap mass spectrometry*. J. Agr. Food Chem. 51: 733-741.
- DE NINO A., DI DONNA L., MAZZOTTI F., SAJJAD A., SINDONA G., PERRI E., RUSSO A., DE NAPOLI L., FILICE L., 2008. *Oleuropein Expression in Olive Oils Produced from Drupes Stoned in a Spring Pitting Apparatus (SPIA)*. Food Chem., 106: 677-684.
- GUTFINGER T., 1981. *Phenols in olive oils*. J. Am. Oil Chemist's Soc., 58: 966-968.
- MARTÍNEZ J M., MUÑOZ E., ALBA J., LANZÓN A., 1975. *Informe sobre la utilización del analizador de rendimientos "Abencor"*. Grasas y Aceites, 26 (6): 379- 385.
- PERRI E., RAFFAELLI A., SINDONA G., 1999. *Quantitation of oleuropein in virgin olive oil by ionspray mass spectrometry-selected reaction monitoring*. J. Agric. Food Chem. 47: 4156-4160.

Ricerca condotta nell'ambito dei progetti RIOM2 finanziato dal M.I.P.A.A.F (Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali).

Incidenza delle tecnologie estrattive sulla qualità di oli di oliva prodotti in Tunisia

Benincasa C.¹, Romano E.^{1,2*}, Pellegrino M.¹, Parise A.¹, Muzzalupo I.¹, Ben Hassine K.³ e Perri E.¹

¹ Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Rende (CS)

² Dipartimento di Chimica, Università della Calabria, Rende (CS)

³ Olive Institute Sfax Tunisia

Impact of the extraction systems on the quality of olive oils produced in Tunisia

Abstract. The aim of the present study was to evaluate the impact of extraction systems on the quality of Tunisian olive oils. The survey was conducted on virgin olive oils from cultivar 'Tibar' and 'Chaal' produced in the same area of Tunisia but obtained with different extraction systems: two-phases, three phases and by pressure. The oils obtained were stored in different containers: aluminium, transparent glass bottles and dark glass bottles equipped with screw sealed cap. The analysis performed were: free acidity, peroxide number, UV absorbances, percentage composition of fatty acid methyl esters according to official methods (EU Regulation 61/2011); biophenols and tocopherols, according to methods adopted in CRA-OLI. The results obtained have showed higher values of free acidity for the olive oils obtained employing pressure systems; the storage that better preserved the quality of the final product and its shelf life was the dark glass bottles.

Key words: oleic acid, polyphenols, tocopherols, packaging, storage conditions.

Introduzione

La definizione delle caratteristiche qualitative degli alimenti rappresenta un obiettivo di crescente interesse nel settore degli oli vergini di oliva. Oli vergini di oliva prodotti in Tunisia sono stati oggetto di sperimentazione al fine di valutare come i processi di lavorazione del frutto e di conservazione dell'olio potessero influire sulle loro caratteristiche chimico-fisiche (Romano *et al.*, 2010).

Materiali e metodi

Produzione e conservazione degli oli

Le olive sono state raccolte a gennaio 2010 e molite con differenti sistemi di estrazione: sistema a due fasi, sistema a tre fasi e per pressione. Gli oli così ottenuti sono stati poi conservati in contenitori di alluminio, in bottiglie chiare e in bottiglie scure con tappo a vite ed a tenuta e trasferiti in cella fredda al buio a circa 10°C fino al momento delle analisi.

Analisi degli oli

Sugli oli sono stati determinati: acidità, n. di perossidi, estinzioni specifiche nell'UV, composizione percentuale degli esteri metilici degli acidi grassi, secondo le metodiche ufficiali (Reg. UE 61/2011); fenoli totali e tocoferoli, secondo le metodiche adottate presso il CRA OLI. Le analisi sono state condotte in doppio.

Risultati e discussione

Molte delle caratteristiche nutrizionali dell'olio d'oliva sono dovute all'acido oleico, che svolge un'azione protettiva nei confronti delle patologie cardiovascolari. Dai dati ottenuti si evince che il contenuto percentuale medio di acido oleico varia in funzione della cv ma non in funzione dei processi estrattivi e di conservazione dell'olio. La cv *Tibar* presenta un contenuto percentuale medio di acido oleico compreso tra 66-68% mentre la cv *Chaal* tra 52-58%.

Gli acidi polinsaturi linoleico e linolenico hanno un significato di più difficile interpretazione nella valutazione del valore nutrizionale degli oli d'oliva, in quanto, se da un lato sono due acidi grassi essenziali per l'organismo umano e sono capaci di abbassare il colesterolo nel sangue, dall'altro rendono l'olio di oliva più vulnerabile alle reazioni di ossidazione, soprattutto nel corso della frittura. Per tale motivo viene considerato un indice di qualità il rapporto

* elvira.romano@unical.it

acido linolenico/acido linoleico ($\omega 3/\omega 6$) che più è basso, più indica una migliore qualità dell'olio. Dai dati ottenuti si evince che entrambe le cv mostrano un basso rapporto $\omega 3/\omega 6$ compreso tra 0,03-0,04 per la cv Tibar, tra 0,02-0,03 per la cv Chaal.

Un indice di qualità molto importante è considerato il rapporto oleico/linoleico che dovrebbe essere maggiore o uguale a 7. Tutte le tesi analizzate mostrano valori inferiori a 7: la cv Tibar tra 3,6-4,6 mentre la cv Chaal tra 2,7-3,2.

Molto importante risulta il rapporto polinsaturi/saturi (P/S) che deve essere inferiore a 2 e il rapporto monoinsaturi/saturi (M/S) ≥ 2 . Dalle indagini condotte, gli oli ottenuti con sistema a tre fasi e conservati in contenitori opachi presentano valori più elevati (P/S = 1,45; M/S= 5,11 per gli oli di cv Tibar e P/S = 0,97; M/S= 2,91 per gli oli di cv Chaal) rispetto alle altre tesi.

È stato inoltre monitorato il contenuto in squalene (fig. 1). Nelle tre tipologie di conservazione adottate, il contenuto in squalene è risultato maggiore negli oli di cv Tibar ottenuti per pressione, seguito dal sistema a due fasi ed in ultimo dal sistema a tre fasi. Il contenuto in squalene negli oli conservati in contenitori trasparenti oscilla tra 396 ppm e 552 ppm per sistema a tre fasi ed per pressione rispettivamente. Analogo andamento è stato riscontrato negli oli conservati in contenitore opaco dove il contenuto in squalene oscilla tra 383 ppm e 444 ppm e negli oli conservati in alluminio tra 316 ppm e 519 ppm per sistema a tre fasi ed per pressione rispettivamente. Il contenuto medio in squalene negli oli di cv Chaal è risultato inferiore rispetto a quello degli oli di cv Tibar. Mentre gli oli di cv Chaal conservati in contenitori opachi

hanno presentato lo stesso andamento degli oli di cv Tibar e il contenuto medio in squalene è risultato compreso tra 239 ppm e 330 ppm per sistema a tre fasi ed per pressione rispettivamente, gli oli conservati in contenitori trasparenti e in alluminio hanno mostrato un differente andamento: il contenuto in squalene varia da 280 ppm a 336 ppm negli oli conservati in contenitori trasparenti e da 225 ppm a 495 ppm negli oli conservati in alluminio per il sistema a tre fasi e a due fasi rispettivamente.

In riferimento ai principali indici di qualità merceologica, gli oli ottenuti per pressione hanno presentato acidità maggiore dello 0,8%; quelli conservati in contenitori opachi hanno mostrato un n° di perossidi inferiore rispetto ai contenitori trasparenti e all'alluminio; l'estinzione specifica nell'UV sono rientrate nei limiti previsti dalla Comunità Europea.

È stato inoltre monitorato il contenuto medio in tocoferoli e fenoli totali (figg. 2 e 3). Gli oli ottenuti per estrazione con il sistema a due fasi sono risultati più ricchi in composti bioattivi antiossidanti. Il maggior contenuto in tocoferoli e fenoli totali è stato riscontrato negli oli di cv Tibar ottenuti dal sistema a due fasi e conservati in contenitori opachi (371 ppm e 383 ppm rispettivamente), seguito da oli conservati in alluminio (335 ppm e 377 ppm rispettivamente) e in contenitori trasparenti (319 ppm e 377 ppm). Gli oli di cv Chaal, pur presentando lo stesso andamento degli oli di cv Tibar, sono risultati meno ricchi in tocoferoli e polifenoli. Il loro contenuto oscilla tra 293 ppm e 164 ppm in contenitori trasparenti, tra 339 ppm e 177 ppm in contenitori opachi e tra 333 ppm e 160 ppm nella latta rispettivamente per tocoferoli totali e i polifenoli negli oli ottenuti dal sistema a due fasi.

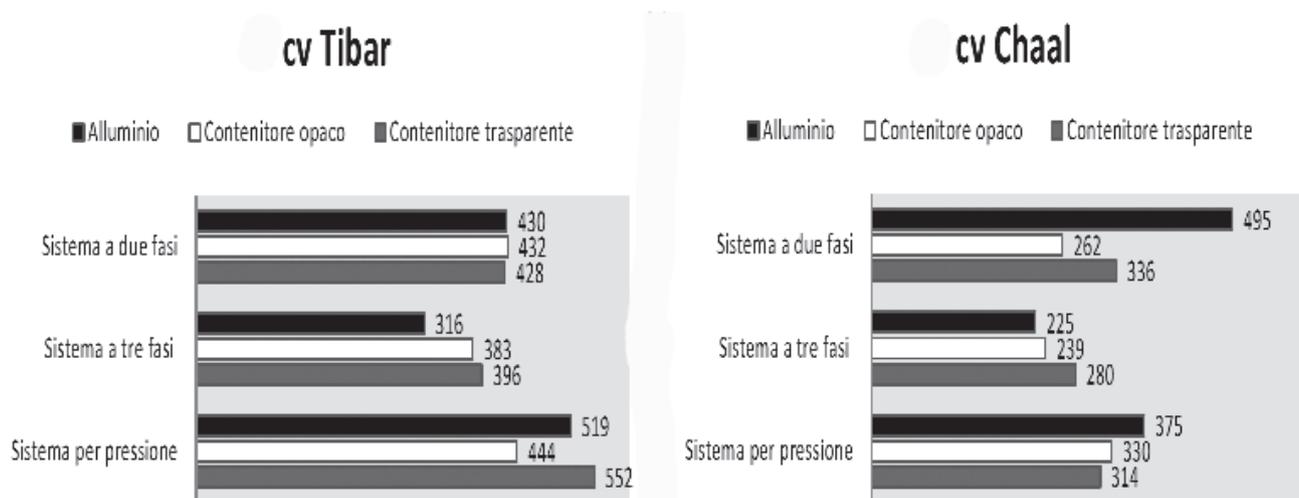


Fig. 1 - Diagrammi a barre del contenuto in squalene in oli di oliva di cv Tibar e Chaal prodotti in Tunisia con differenti metodi di estrazione. I valori sono espressi in mg/kg.

Fig. 1 - Bar chart relative to the content of squalene in olive oils of cv Tibar and Chaal produced in Tunisia with different extraction systems. The values are expressed in mg/kg.

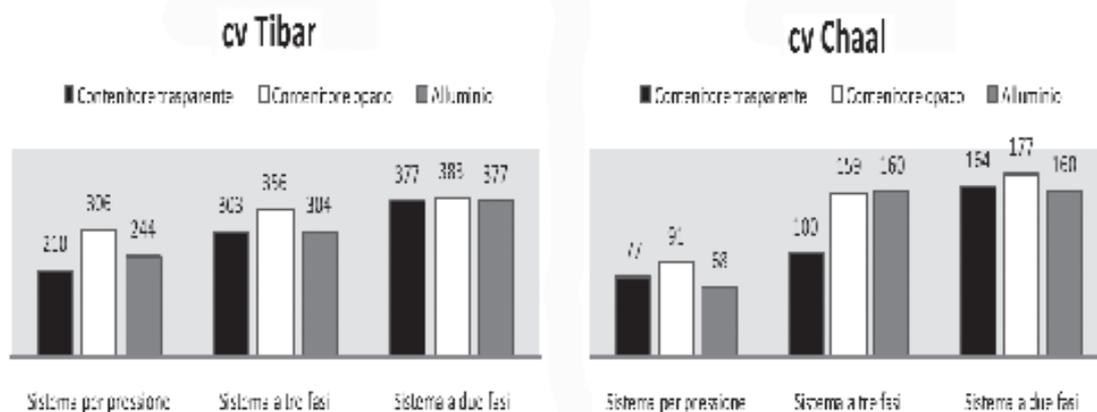


Fig. 2 - Diagrammi a barre del contenuto in fenoli totali in oli di oliva di cv Tibar e Chaal prodotti in Tunisia con differenti metodi di estrazione. I valori sono espressi in mg/kg di acido caffeico.

Fig. 2 - Bar chart relative to the content of biophenols in olive oils of cv Tibar and Chaal produced in Tunisia with different extraction systems. The values are expressed in mg/kg caffeic acid.

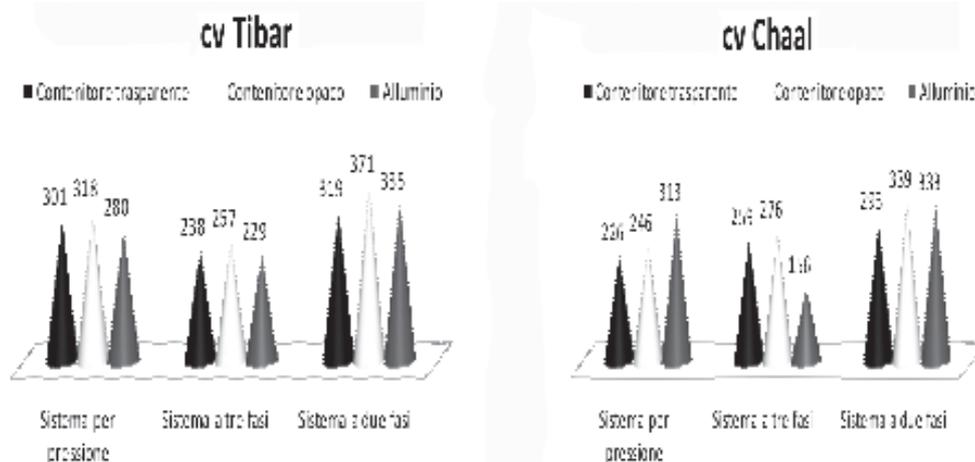


Fig. 3. Diagrammi a barre del contenuto in tocoferoli in oli di oliva di cv Tibar e Chaal prodotti in Tunisia con differenti metodi di estrazione. I valori sono espressi in mg/kg.

Fig. 3. Bar chart relative to the content of tocopherols in olive oils of cv Tibar and Chaal produced in Tunisia with different extraction systems. The values are expressed in mg/kg.

Conclusione

Dai risultati ottenuti gli oli estratti mediante sistema a pressione hanno presentato valori di acidità maggiore rispetto ai limiti previsti dalla Comunità Europea; quelli conservati in contenitori opachi hanno mostrato un n° di perossidi inferiore rispetto ai contenitori trasparenti ed a quelli in alluminio. Il maggiore contenuto in acido oleico, tocoferoli e fenoli totali è stato riscontrato negli oli di cv Tibar conservati in contenitori opachi ed ottenuti con un sistema di estrazione a due fasi.

Riassunto

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare l'incidenza delle tecnologie estrattive e delle modalità di conservazione sulla qualità di oli di oliva tunisini. L'indagine è stata condotta su oli di oliva di

cultivar 'Tibar' e 'Chaal' ottenuti tramite sistema a due fasi, a tre fasi e per pressione e sottoposti a diverse modalità di conservazione: in contenitori di alluminio, bottiglie di vetro chiaro e di vetro opaco. Gli oli di cultivar Tibar conservati in contenitori opachi ed ottenuti con un sistema di estrazione a due fasi hanno mostrato il maggiore contenuto in acido oleico e composti antiossidanti.

Parole chiave: acido oleico, polifenoli, tocoferoli, sistemi di estrazione.

Ricerche svolte nell'ambito del progetto RIOM2 finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali

Bibliografia

ROMANO E., BENINCASA C., SPOSATO M.R., PERRI E., 2010. *Effetti dei sistemi di estrazione sulla qualità di oli d'oliva italiani e tunisini*. Italus Hortus, 17 (2): 142-143.

Indice Globale di Qualità (IGQ): organolettica, conservativa e nutrizionale. Formulazione chemiometrica mediante descrittori analitici e sensoriali di oli di oliva extravergini prelevati nella provincia di Arezzo

Giansante L.^{1*}, Di Loreto G.¹, Di Giacinto L.¹ e Valentini M.²

¹ Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Città Sant'Angelo (PE)

² Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per lo studio delle relazioni tra pianta e suolo, Roma

Global Quality Index (GQI): organoleptic, conservative and nutritional. Chemometric formulation by analytical and sensory descriptors of extra virgin olive oils from Arezzo

Abstract. A set of 20 extra virgin olive oils collected in the province of Arezzo was subjected to all tests useful to define the sensory profile, and their nutritional and conservative features. Variables most correlated to organoleptic properties (such as fruity, bitter, pungency, 1-penten-3-one), conservative properties (phenolic substances, tocopherols, peroxide value, and free acidity), and nutritional ones (such as palmitic acid C16:0, stearic acid C18:0, oleic acid C18:1, linoleic acid C18:2, and campesterol/stigmasterol ratio) were extracted from the original data matrix. Through these selected variables Global Quality Index was calculated, and it was included in the range between 0.0 and 2.0. In order to defining several classes of global quality, data matrix was submitted to the Hierarchical Cluster Analysis and to the Principal Component Analysis, both evidenced three grouping of oils. Three levels of GQI were suggested: the first group of oils defined "excellent" having $0.0 < GQI \leq 1.0$, the second group of oils defined "good" having $1.0 < GQI \leq 1.6$, the third group of oils defined "sufficient" having $1.6 < GQI \leq 2.0$. By decoding the samples it was found that oils defined "excellent" have been obtained from defined mixtures of cultivars with a prevalence of 'Moraiolo' and 'Frantoio', organically grown, harvested in the second and the third decade of October, no later than the first week of November, milled with the hammer-centrifugation system.

Key words: Global quality index, chemiometrics, organoleptic quality, conservative quality, nutritional quality.

Introduzione

L'olio extra vergine di oliva estratto dai frutti della pianta *Olea europaea* L., simbolo delle culture del Mediterraneo, dell'Anatolia e dei Balcani, è uno dei principali costituenti della dieta mediterranea con alto impatto sulla salute umana ed è il più pregiato tra gli oli commestibili. Studi epidemiologici hanno evidenziato che individui che assumono nella loro alimentazione olio extra vergine di oliva presentano una ridotta incidenza delle malattie cardiovascolari e un minor rischio di malattie neurodegenerative. I benefici sulla salute derivano dall'alto contenuto di acidi monoinsaturi come l'acido oleico (Preedy e Watson, 2010), ma anche dalla presenza di alcuni micro costituenti quali i composti fenolici (Bendini *et al.*, 2007) ed i tocoferoli, responsabili anche dello stato di conservazione dell'olio nel tempo, grazie alla loro attività antiossidante.

L'olio extra vergine di oliva oltre ad essere un condimento di grande pregio nutrizionale, è soprattutto un grande alimento, dotato di una ricca carica sensoriale che lo rende unico tra gli oli vegetali. Il primo impatto del nostro organismo con un alimento è legato, infatti, alle sue caratteristiche organolettiche: colore, odore, sapore. Questo è valido anche per l'olio extra vergine di oliva, soprattutto perché esso contribuisce al patrimonio organolettico di una preparazione gastronomica e influisce positivamente o negativamente sulla sua accettabilità globale.

Per questi motivi l'olio extra vergine di oliva risulta essere un alimento di grande pregio e dalla duplice attitudine: edonistica e salutistica.

L'olio extravergine d'oliva si distingue da tutti gli altri oli vegetali perché deriva da un frutto e non da semi e perché viene ottenuto esclusivamente mediante operazioni di tipo fisico-meccanico.

La qualità di un olio extra vergine, dunque, intesa come "l'insieme delle proprietà e delle caratteristiche che conferiscono al prodotto la capacità di soddisfare le esigenze espresse o implicite" (Norma UNI-ISO

* lucia.giansante@entecra.it

8402; Peri, 1995; Magli e Rotondi, 1998), dipende in misura preponderante dalla qualità delle olive e, secondariamente, dalle tecnologie impiegate nell'estrazione.

Le numerose campagne fatte nel corso degli anni a favore di un prodotto di qualità, hanno reso il consumatore sempre più consapevole, capace di discernere tra il prodotto per la grande distribuzione e il prodotto di nicchia ottenuto da lavorazioni particolarmente curate o con olivaggi selezionati. Sta prendendo piede il concetto di "super qualità": da più parti si avverte la necessità di introdurre in etichetta informazioni aggiuntive sulla qualità globale del prodotto confezionato che ne evidenzia le proprietà organolettiche, conservative e nutrizionali.

In altri ambiti del sistema agro-alimentare sono stati già introdotti dei parametri globali di qualità ottenuti da una relazione matematica tra descrittori analitici, di facile intuizione per l'utente finale. Per l'olio di oliva vergine Finotti *et al.* hanno proposto una funzione matematica per definire alta, media e bassa qualità di un olio di oliva, sulla base della qualità nutrizionale, salutistica e di processo, allo scopo di mettere in relazione la qualità chimica al prezzo commerciale (Finotti *et al.*, 2007). Altri autori, in uno studio effettuato su più di 400 campioni, hanno evidenziato come purtroppo non ci sia alcuna rispondenza tra la catego-

ria merceologica dell'olio extra vergine di oliva e il contenuto di antiossidanti naturali in esso presenti, proponendo una profonda modifica della normativa al fine di suddividere la classe merceologica "olio extra vergine di oliva" in due segmenti che includano l'"olio extra vergine di oliva di alta qualità" (Servili *et al.*, 2009).

L'obiettivo del presente lavoro è quello di sviluppare, mediante un approccio chemiometrico, un indice di qualità, capace di supportare il consumatore nonché i produttori durante le varie fasi della lavorazione. Vengono proposti tre livelli di qualità globale: "eccellente", "buono", "sufficiente", che potrebbero tradursi in *claim* da inserire in etichetta.

Materiali e metodi

Nell'ambito del progetto Alimenti in collaborazione con l'Università di Verona, Dipartimento di Scienze Neurologiche, Neuropsicologiche, Morfologiche e Motorie, sono stati prelevati venti oli di oliva extra vergini di sicura provenienza dalla provincia di Arezzo, con le caratteristiche riportate nella tabella 1. Tale set di oli è stato quindi sottoposto alle analisi di seguito descritte, utili a definirne il profilo sensoriale, nutrizionale e conservativo.

- Valutazione organolettica mediante Panel test

Tab. 1 - Principali caratteristiche dei campioni di olio oggetto dello studio.

Tab. 1 - Main characteristics of oil samples under investigation.

Codice	Località	Cultivar (in ordine di preponderanza)	Epoca di raccolta (d = decade)	Frangitura	Tecnica agronomica
PA 1	Chiassa Superiore	moraiolo, frantoio, leccino	III/d Ott I/d Nov	Martelli - Centrifugazione	
PA 2	Vitereta	frantoio, moraiolo, leccino	III/d Ott	Martelli - Centrifugazione	Biologica
PA 3	Montegonzi	frantoio, leccino, moraiolo, altro,	II/d Nov	Dischi - Centrifugazione	Biologica
PA 4	San Fabiano	frantoio, moraiolo, leccino, pendolino	I-III/d Nov	A freddo	
PA 5	Castelnuovo di Subbiano	moraiolo, frantoio, leccino, altro	I/d Nov	Martelli - Centrifugazione	
PA 6	Antria	moraiolo, frantoio, leccino, pendolino	I/d Nov	A freddo	
PA 7	Montanare	frantoio, moraiolo, altro	III/d Ott I-II/d Nov	Martelli - Centrifugazione	Biologica
PA 8	Castiglion Fiorentino	moraiolo, frantoio, leccino	II/d Ott	Martelli - Centrifugazione	
PA 9	Castiglion Fiorentino	frantoio, leccino, moraiolo, pendolino	II-III/d Nov	Martelli - Centrifugazione	Biologica
PA 10	Vitiano	moraiolo, altro, frantoio, leccino	I-III/d Nov	Dischi - Centrifugazione	
PA 11	Oliveto	moraiolo, frantoio, leccino	I/d Nov	Martelli - Centrifugazione	
PA 12	Santa Maria Nuova	frantoio, leccino, pendolino	II/d Ott	Martelli - Centrifugazione	
PA 13	Morellino	moraiolo, frantoio, altro	I-IV/d Nov	Ciclo Continuo in atm. mod.	
PA 14	Campriano	frantoio, moraiolo, leccino, altro	II-III/d Ott I/d Nov	Ciclo Continuo	
PA 15	Terranuova Bracciolini	frantoio, moraiolo, leccino	I/d Nov	Semi freddo	
PA 16	Paterna	frantoio, moraiolo, altro	I-II/d Nov	Martelli - Centrifugazione	
PA 17	Cegliolo	frantoio, moraiolo, leccino, altro	III/d Ott I/d Nov	Ciclo Continuo	
PA 18	Pozzo	frantoio, leccino, pendolino	I/d Nov	A freddo	
PA 19	Castiglioncello	frantoio, moraiolo, leccino	I-III/d Nov	Martelli - Centrifugazione	
PA 20	Ricasoli	moraiolo, frantoio, leccino	III/d Ott I/d Nov	Martelli - Centrifugazione	

(Allegato XII del Reg. n. 2568/91/CEE e s.m.): per la caratterizzazione della qualità organolettica sono state prese in considerazione solo le caratteristiche positive di fruttato, amaro e piccante.

- Acidità (Allegato II del Reg. n. 2568/91/CEE e s.m.): questo parametro è indice della percentuale di acidi grassi liberi che si formano per idrolisi dai trigliceridi a seguito dell'azione enzimatica della lipasi ed è quindi correlato alla qualità delle olive, alla tecnica di raccolta e ai tempi di stoccaggio.
- Numero dei perossidi (Allegato III del Reg. n. 2568/91/CEE e s.m.): questo parametro esprime il grado di alterazione ossidativa primaria degli acidi grassi ad opera dell'ossigeno con formazione di idroperossidi, molecole decisamente instabili che si decompongono in prodotti di ossidazione secondari, quali aldeidi e chetoni, responsabili del difetto di rancido. La sua valutazione quindi fornisce un'indicazione sullo stato sanitario e di degrado delle olive prima della molitura e sulla stabilità dell'olio durante la sua conservazione.
- Composizione in acidi grassi (Allegato X del Reg. n. 2568/91/CEE e s.m.): tra gli altri sono stati selezionati acido palmitico (C16:0), acido stearico (C18:0), acido oleico (C18:1) ed acido linoleico (C18:2). L'importanza della composizione in acidi grassi di un olio risiede nel fatto che essa è in grado di influenzarne molti aspetti, quali: a) l'aspetto organolettico (fluidità); b) lo stato fisico (cristallizzazione dei trigliceridi saturi a basse temperature); c) la stabilità all'ossidazione (minore per gli acidi grassi polinsaturi). La composizione in acidi grassi ha importanti ripercussioni anche a livello nutrizionale: le più recenti acquisizioni della ricerca medica, infatti, assegnano all'acido oleico un ruolo determinante nel mantenere il livello ottimale delle HDL (*High Density Lipoproteins*), modificando positivamente i fattori di rischio per le malattie cardiovascolari (Preedy e Watson, 2010). Esso favorisce inoltre la secrezione pancreatica e stimola la secrezione biliare (effetto colecistocinetico), indispensabile per l'assorbimento lipidico.
- Composizione della frazione sterolica (Allegato V del Reg. n. 2568/91/CEE e s.m.): è stato preso in considerazione il rapporto campesterolo/stigmasterolo che fornisce un'indicazione sullo stato igienico sanitario delle olive prima della molitura (Ranalli e Angerosa, 1996; Temime *et al.*, 2008).
- Sostanze fenoliche (Documento COI/T.20/Doc. No 29 (2009)) e tocoferoli (Documento ISO 9936:2006): sostanze antiossidanti naturali che

determinano l'eccezionale stabilità dell'olio di oliva durante la conservazione e nei processi di cottura (Montedoro *et al.*, 1993). Queste sostanze, pur avendo strutture chimiche differenti, hanno in comune la capacità di agire da *radical-scavengers*, e cioè di generare radicali stabili dopo aver ceduto un elettrone ai radicali messi in gioco nel processo di ossidazione, neutralizzandoli (Vitagliano, 1982). I composti fenolici, oltre ad intervenire nella prevenzione dell'ossidazione dell'olio, svolgono anche molte altre azioni: contribuiscono alla definizione dei caratteri organolettici essendo responsabili delle sensazioni di piccante e di amaro di un olio (Prezioso *et al.*, 2009); proteggono il frutto dell'olivo dall'attacco di parassiti, come la larva della mosca olearia; svolgono un'azione inibitoria nei confronti degli enzimi del nostro organismo che agiscono sulla pressione arteriosa (Sacchi *et al.*, 2003); presentano proprietà antinfiammatorie, antiaterogene, antitumorali (Visioli *et al.*, 2002; Markmann, 2007; Eserich *et al.*, 2006).

- Componenti volatili a 37°C (Angerosa *et al.*, 1990): l'olio extra vergine di oliva, essendo estratto meccanicamente dal frutto dell'olivo, è in grado di trattenere i composti aromatici che sono responsabili del suo tipico flavor, in particolare delle sue "note verdi": composti volatili quali aldeidi, chetoni, alcoli ed esteri, che derivano prevalentemente dall'azione enzimatica delle lipossigenasi, alcol deidrogenasi, esterasi ed isomerasi sulle catene lipidiche. Delle numerose sostanze che compongono la frazione volatile dell'olio è stato scelto l'1-penten-3-one, di cui si è recentemente scoperta una buona correlazione con la sensazione di fruttato percepita dagli assaggiatori (Di Giacinto *et al.*, 2010).

La matrice dei dati ottenuti è stata elaborata con il metodo statistico di analisi multivariata delle componenti principali (PCA) e mediante l'analisi gerarchica dei gruppi (HCA), entrambe tecniche di *pattern recognition*, contenute nel software SPSS 11.5 per Windows. Successivamente per ciascun olio è stato calcolato l'indice globale di qualità (IGQ) adottando le funzioni matematiche proposte da Finotti *et al.*

Risultati e discussione

Dalle numerose determinazioni effettuate sul set di oli in esame è stato possibile, con l'ausilio di tecniche di statistica descrittiva effettuare le prime valutazioni. Per quanto riguarda le proprietà organolettiche, i risultati dell'analisi sensoriale hanno evidenziato che gli

oli in generale erano privi di difetti, con valori medi di intensità per gli attributi di fruttato verde, amaro e piccante eccetto che per il campione PA14 per il quale sono stati percepiti i difetti di verme, riscaldamento e avvinato, con intensità vicina al valore di soglia. Nell'ambito della composizione della frazione volatile sono molto ben rappresentati composti come *trans*-2-esenale, alcoli a sei atomi di carbonio, *cis*-3-esenil acetato, 1-penten-3-one, sostanze molto ben correlate con il fruttato (Angerosa *et al.*, 1997; Di Giacinto *et al.*, 2010), a confermare l'ottima qualità degli oli sottoposti ad analisi. Le sostanze volatili associate ai cinque difetti prevalenti di: riscaldamento, morchia, rancido, muffa e avvinato sono assenti o presenti in tracce ad eccezione che per il campione PA14 che, analogamente a quanto riscontrato con la valutazione organolettica, contiene quantità discrete di etile acetato correlato al difetto di avvinato (Di Giacinto *et al.*, 2010) e di alcole isoamilico correlato al difetto di riscaldamento (Angerosa *et al.*, 1990).

L'acidità libera e il numero dei perossidi sono risultati essere tipici di oli extra vergini di oliva di ottima qualità come pure i contenuti di sostanze fenoliche e di tocoferoli ad eccezione del campione PA14. Si conferma la correlazione tra le sostanze derivate dall'aglicone dell'oleuropeina e l'intensità dell'amaro percepita dagli assaggiatori (correlazione 0,86), nonché la correlazione tra l'aglicone del ligstroside e l'intensità dell'attributo piccante riscontrato dagli assaggiatori (correlazione 0,80) (Prezioso *et al.*, 2009). I contenuti percentuali di acidi grassi sono tipici degli oli extra vergini di oliva. Per tutti i campioni considerati, a riscontro dell'ottima qualità degli stessi, il contenuto percentuale di acido oleico è elevato. Tale considerazione è corroborata dall'alto valore del rapporto acido oleico/acido linoleico (superiore a 7) (Preedy e Watson, 2010).

In conclusione, tutti i campioni appartengono alla categoria "olio extra vergine di oliva" ad eccezione del campione PA14 che è da considerarsi "olio vergine di oliva".

L'analisi dei dati è stata ulteriormente estesa all'analisi congiunta delle 13 variabili ritenute significative ai fini del presente studio, selezionate dalla matrice originaria, i cui valori sono riportati in tabella 2.

Le tecniche di analisi statistica utilizzate definite *unsupervised*, poiché prive di vincoli derivanti da una conoscenza a priori della variabilità dei dati, hanno avuto lo scopo di evidenziare la variabilità pura contenuta nell'insieme dei dati acquisiti, posti essi rappresentativi di una variabilità più ampia garantita dalla tecnica di campionamento adottata. Inizialmente è stata applicata l'Analisi Gerarchica dei Gruppi (HCA)

calcolata con il metodo del vicino più lontano sul quadrato delle distanze euclidee, previa standardizzazione. La rappresentazione grafica dei risultati dell'analisi è contenuta nel dendrogramma (fig. 1) da cui si evincono tre principali raggruppamenti di oli: un gruppo più omogeneo costituito dagli oli nel prosieguo definiti "buoni" e altri due gruppi meno numerosi di oli, al loro interno più eterogenei, che saranno definiti "sufficienti" ed "eccellenti".

Successivamente sugli stessi dati è stata eseguita l'Analisi delle Componenti Principali (PCA), una tecnica di analisi statistica multivariata che consente di ridurre il numero di dimensioni di un insieme di dati in nuove dimensioni sotto il vincolo della maggior varianza. Le nuove dimensioni, chiamate componenti principali, rimuovono una percentuale di varianza decrescente: esse sono combinazioni lineari delle variabili originarie, ciascuna variabile originaria è contenuta in ogni componente principale con un coefficiente proporzionale al suo peso in termini di variabilità. Generalmente vengono rappresentate le prime tre componenti principali che nel caso del calcolo sulla matrice di covarianza deve contenere circa il 75% della varianza totale; tuttavia, nel presente studio, essendo i parametri analitici espressi con differenti unità di misura, il calcolo è stato effettuato sulla matrice di correlazione per cui si hanno percentualmente valori inferiori di varianza rimossa sulle singole componenti principali. Nello specifico sono state selezionate le prime due componenti principali che insieme rimuovono il 57% della varianza totale ed individuano un piano (fig. 2) dove gli oli risultano collocati negli stessi tre raggruppamenti individuati dalla HCA.

Lungo la prima componente principale si può osservare una clusterizzazione degli oli definiti "eccellenti", rispetto agli oli definiti "sufficienti" e "buoni", distinti in due altri gruppi lungo la seconda

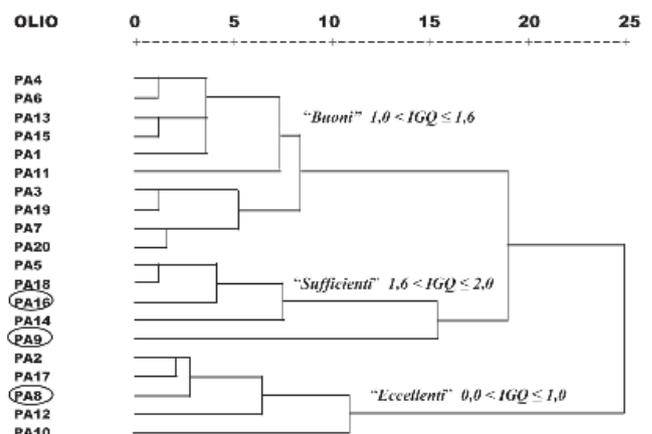


Fig. 1 - Dendrogramma.
Fig. 1 - Dendrogram.

Tab. 2 - Caratteristiche analitiche e sensoriali dei campioni di olio
 Tab. 2 - Analytical and sensory characteristics of oil samples.

Campioni	Acido palmítico (%)	Acido stearico (%)	Acido oleico (%)	Acido linoleico (%)	Acidità (%)	Numero perossidi (meqO ₂ /kg)	Campesterolo Stigmasterolo	Fruttato	Amaro	Piccante	Tocoferoli (mg/kg)	Sostanze fenoliche (mg/kg di tirosolo)	1-penten-3-one (mg/kg di 1-nonanolo)
PA1	12,74	2,01	75,64	7,18	0,19	6,0	6,10	4,1	3,5	4,5	240,6	264,0	17,24
PA2	13,69	1,82	74,51	7,65	0,21	10,5	6,29	3,5	5,9	4,7	265,0	315,1	22,05
PA3	12,38	1,92	77,30	6,22	0,13	5,8	4,58	3,7	6,2	4,8	189,3	305,0	10,55
PA4	12,39	1,90	76,66	6,77	0,18	9,4	4,66	3,4	5,1	4,1	193,7	283,9	10,79
PA5	12,57	1,91	76,37	7,06	0,16	8,9	4,32	2,6	2,4	2,7	165,0	231,3	7,29
PA6	12,52	2,07	76,02	7,17	0,19	9,6	4,32	3,9	3,7	3,9	175,3	275,7	8,73
PA7	12,82	2,11	76,04	6,62	0,21	5,6	6,58	4,1	6,0	3,0	220,7	364,3	4,88
PA8	13,39	2,08	74,01	8,11	0,17	9,7	5,14	4,4	3,1	5,0	226,1	283,5	14,11
PA9	13,38	2,21	73,44	8,47	0,12	5,3	6,38	4,5	1,9	1,7	257,9	160,8	14,48
PA10	13,95	1,87	72,37	8,96	0,16	9,7	9,50	6,2	3,9	3,6	308,9	260,8	38,40
PA11	12,51	1,85	76,53	6,78	0,27	4,8	4,72	1,7	4,2	4,0	208,1	242,1	11,89
PA12	13,20	1,90	75,69	6,83	0,14	7,9	6,55	3,5	5,1	5,1	242,8	333,6	40,26
PA13	11,89	1,98	76,77	7,08	0,14	7,5	5,52	4,3	5,5	5,0	212,8	289,8	22,03
PA14	11,31	1,98	77,97	6,74	0,14	7,7	5,16	2,3	1,0	3,1	157,4	179,0	36,29
PA15	12,17	1,95	76,98	6,39	0,14	8,3	5,90	3,8	4,0	4,5	167,6	272,9	17,31
PA16	12,21	1,72	77,32	6,27	0,12	7,1	5,44	4,9	3,2	3,2	200,4	185,3	23,55
PA17	13,74	1,96	74,21	7,65	0,16	7,9	6,20	5,2	6,5	5,5	223,5	306,5	22,17
PA18	13,10	1,85	76,24	6,43	0,16	7,4	4,38	2,1	2,6	1,6	211,2	241,1	9,12
PA19	12,24	1,93	77,12	6,34	0,12	6,1	5,07	2,4	6,0	6,0	237,8	372,5	12,05
PA20	12,39	2,13	76,51	6,68	0,21	5,7	5,96	2,7	6,1	5,4	221,6	375,9	13,92
Lim max	20,00	5,00	83,00	21,00	0,80	20,0	9,50	10,0	10,0	10,0	430,0	700,0	55,0
Lim min	7,50	0,50	55,00	3,50	0,0	0,0	4,32	0,0	0,0	0,0	12,0	15,0	0,0

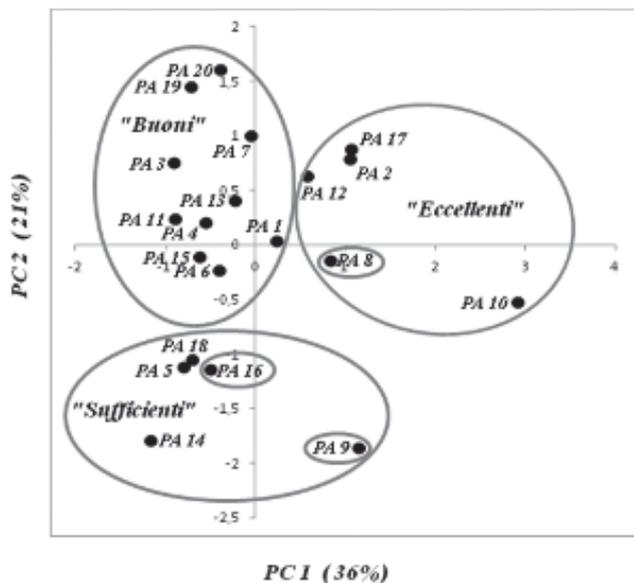


Fig. 2 - Score plot PCA.
Fig. 2 - PCA score plot.

componente principale. Anche in questo caso il gruppo più omogeneo, quello con un numero maggiore di oli, è costituito dagli oli definiti “buoni”.

Dalla clusterizzazione è derivata la definizione di tre livelli di qualità globale che riassumono le tre proprietà: nutrizionale, conservativa e organolettica.

Al fine di stabilire gli intervalli di IGQ per ogni categoria, sono state applicate le funzioni matematiche già introdotte da Finotti *et al.* (2007). L'indice IGQ viene calcolato come la radice quadrata della sommatoria dei quadrati dei singoli indici locali X_n

$$IGQ = \sqrt{\sum_{n=1}^N (X_n)^2}$$

Il calcolo dei singoli indici locali differisce in funzione della specificità dei parametri considerati, che vengono pertanto suddivisi in tre gruppi.

Nel primo gruppo, in cui le variabili hanno una distribuzione intorno ad un valore medio ottimale, sono inseriti gli acidi grassi. In questo caso l'indice locale X_n è dato dal quadrato della differenza del valore x_n osservato da \bar{x}_n diviso r , in cui \bar{x}_n è dato dalla semisomma del valore massimo della distribuzione più il valore minimo stabiliti dalla normativa ed r è dato dalla differenza del valore massimo della distribuzione meno il valore minimo, diviso 2:

$$X_n = \left(\frac{x_n - \bar{x}_n}{r}\right)^2 \quad \bar{x}_n = \frac{x_n^{\max} + x_n^{\min}}{2} \quad r = \frac{x_n^{\max} - x_n^{\min}}{2}$$

Nel secondo gruppo, in cui le variabili hanno il valore ottimale prossimo allo zero, sono inseriti acidità e numero dei perossidi. In questo caso, l'indice locale è dato dal quadrato del rapporto del valore osservato sul valore massimo previsto dalla normativa:

$$X_n = \left(\frac{x_n}{x_n^{\max}}\right)^2$$

Nel terzo gruppo di variabili rientrano i parametri che hanno il valore ottimale tendente al massimo, in tale gruppo rientrano le sostanze fenoliche, i tocoferoli, il contenuto di 1-penten-3-one, il rapporto campesterolo/stigmasterolo, gli attributi sensoriali di amaro, piccante e fruttato. In questo ultimo caso l'indice locale è dato dal quadrato del rapporto della differenza tra il valore massimo della distribuzione e quello osservato sulla differenza tra il valore massimo e il valore minimo della distribuzione.

$$X_n = \left(\frac{x_n^{\max} - x_n}{x_n^{\max} - x_n^{\min}}\right)^2$$

In tabella 3 sono riportati i valori ottenuti per le variabili considerate. In tabella 4 gli oli sono ordinati secondo i valori crescenti di IGQ, compresi nel range 0.0 e rad N dove N è il numero di variabili considerate, i campioni sono raggruppati secondo i *claim* definiti dalla clusterizzazione ottenuta dall'analisi statistica: un primo gruppo di oli definiti “eccellenti” con $0,0 < IGQ \leq 1,0$, un secondo gruppo di oli definiti “buoni” con $1,0 < IGQ \leq 1,6$, un terzo gruppo di oli, definiti “sufficienti” con $1,6 < IGQ \leq 2,0$. In tale trattazione si evidenziano tre outliers: gli oli PA8, PA9, PA16, definiti “buoni” secondo l'IGQ, si collocano rispettivamente, il primo nel gruppo degli “eccellenti”, gli ultimi due nel gruppo dei “sufficienti”.

Tab. 4 - Indici globali di qualità.
Tab. 4 - Global quality indexes.

Campioni	Indice globale di qualità	
PA10	0,78	Eccellenti
PA17	0,84	
PA12	0,88	
PA2	0,95	
PA13	1,07	Buoni
PA1	1,09	
PA20	1,12	
PA15	1,22	
PA8	1,23	
PA7	1,25	
PA19	1,32	
PA16	1,34	
PA9	1,37	
PA3	1,45	
PA4	1,45	
PA11	1,54	
PA6	1,57	
PA14	1,63	Sufficienti
PA5	1,77	
PA18	1,79	

Tab. 3 - Indici locali e Indici globali di qualità
 Tab. 3 - Local indexes and Global quality indexes.

Campioni	Acido palmitico (%)	Acido stearico (%)	Acido oleico (%)	Acido linoleico (%)	Acidità (%)	Numero perossidi (meqO ₂ /kg)	Campesterolo Stigmasterolo	Fruttato	Amaro	Piccante	Tociferoli (mg/kg)	Sostanze fenoliche (mg/kg tirosolo)	1-penten-3-one (mg/kg di 1-nonanolo)	Indice globale di qualità
PA1	0,026	0,108	0,225	0,336	0,056	0,090	0,431	0,348	0,423	0,303	0,205	0,405	0,471	1,092
PA2	0,0	0,171	0,155	0,276	0,069	0,276	0,385	0,423	0,168	0,281	0,156	0,316	0,359	0,947
PA3	0,048	0,136	0,351	0,475	0,026	0,084	0,903	0,397	0,144	0,270	0,332	0,332	0,653	1,446
PA4	0,047	0,143	0,299	0,392	0,051	0,221	0,875	0,436	0,240	0,348	0,320	0,369	0,646	1,452
PA5	0,036	0,139	0,277	0,352	0,040	0,198	1,0	0,548	0,578	0,533	0,402	0,468	0,753	1,768
PA6	0,039	0,091	0,251	0,337	0,056	0,230	1,0	0,372	0,397	0,372	0,371	0,384	0,708	1,569
PA7	0,022	0,081	0,253	0,414	0,069	0,078	0,318	0,348	0,160	0,490	0,251	0,240	0,830	1,245
PA8	0,003	0,089	0,128	0,224	0,045	0,235	0,708	0,314	0,476	0,250	0,238	0,370	0,553	1,233
PA9	0,004	0,058	0,101	0,187	0,023	0,070	0,364	0,303	0,656	0,689	0,169	0,620	0,543	1,375
PA10	0,001	0,153	0,058	0,141	0,040	0,235	0,0	0,144	0,372	0,410	0,084	0,411	0,091	0,784
PA11	0,039	0,160	0,289	0,391	0,114	0,058	0,851	0,689	0,336	0,360	0,282	0,447	0,614	1,542
PA12	0,008	0,143	0,228	0,384	0,031	0,156	0,324	0,423	0,240	0,2440	0,201	0,286	0,072	0,878
PA13	0,089	0,117	0,308	0,349	0,031	0,141	0,591	0,325	0,203	0,250	0,270	0,359	0,359	1,072
PA14	0,152	0,117	0,411	0,397	0,031	0,148	0,701	0,593	0,810	0,476	0,425	0,578	0,116	1,625
PA15	0,064	0,126	0,325	0,449	0,031	0,172	0,482	0,384	0,360	0,303	0,394	0,389	0,470	1,219
PA16	0,061	0,210	0,353	0,467	0,023	0,126	0,614	0,260	0,462	0,462	0,302	0,565	0,327	1,340
PA17	0,0	0,123	0,138	0,276	0,040	0,156	0,406	0,230	0,123	0,203	0,244	0,330	0,356	0,840
PA18	0,011	0,160	0,267	0,442	0,040	0,137	0,978	0,624	0,548	0,706	0,274	0,449	0,696	1,794
PA19	0,058	0,133	0,336	0,456	0,023	0,093	0,733	0,578	0,160	0,160	0,211	0,229	0,610	1,320
PA20	0,047	0,076	0,288	0,405	0,069	0,081	0,467	0,533	0,152	0,212	0,249	0,224	0,558	1,122

Conclusioni

L'utilizzo di algoritmi applicati alle tredici variabili selezionate, legate a specifiche caratteristiche, ha consentito la definizione di tre livelli di qualità globale che riassumono le proprietà nutrizionale, conservativa ed organolettica degli oli extra vergini di oliva.

Gli oli definiti "eccellenti" ($0,0 < IGQ \leq 1,0$) sono risultati ottenuti da miscele di cultivar con prevalenza di 'Moraiolo' e 'Frantoio', provenienti da coltivazioni biologiche, raccolte nella 2^a e 3^a decade di ottobre, non oltre la 1^a decade di novembre, molite con il sistema martelli-centrifugazione.

Si propone l'approccio matematico sviluppato nel presente studio come uno strumento utile a classificare ulteriormente l'olio di qualità attraverso l'indicazione in etichetta di tre livelli di qualità globale: "eccellente", "buono", "sufficiente", che potrebbero tradursi in *claim* di facile fruizione per l'utente finale.

Riassunto

Un set di 20 oli di oliva extra vergini di sicura provenienza della provincia di Arezzo, è stato sottoposto a tutte le analisi utili a definirne il profilo sensoriale, nutrizionale e conservativo. Dalla matrice originaria dei dati sono state estratte le variabili maggiormente correlate alle proprietà: a) organolettiche: fruttato, amaro, piccante e 1-penten-3-one presente nella frazione volatile e correlata al fruttato; b) conservative: sostanze fenoliche, tocoferoli, numero di perossidi, acidità libera; c) nutrizionali: ac. palmitico (C16:0), ac. stearico (C18:0), ac. oleico (C18:1), ac. linoleico (C18:2), rapporto campesterolo/stigmasterolo.

Su tali variabili è stato calcolato l'Indice Globale di Qualità (IGQ) che è risultato compreso in un range tra 0.0 e 2.0. Per stabilire gli intervalli di IGQ per la definizione delle categorie di qualità organolettica, conservativa e nutrizionale degli oli, la matrice dei dati è stata sottoposta all'Analisi Gerarchica dei Gruppi e all'Analisi delle Componenti Principali, le quali hanno evidenziato tre raggruppamenti di oli sia nel dendrogramma che sul piano dato dalle prime due componenti principali. Vengono quindi suggeriti tre livelli di IGQ: un primo gruppo di oli, definiti "eccellenti" con $0.0 < IGQ \leq 1.0$, un secondo gruppo di oli, definiti "buoni" con $1.0 < IGQ \leq 1.6$, un terzo gruppo di oli definiti "sufficienti" con $1.6 < IGQ \leq 2.0$.

Dalla decodifica dei campioni, gli oli definiti "eccellenti" sono risultati ottenuti da miscele di cultivar con prevalenza di 'Moraiolo' e 'Frantoio', provenienti da coltivazioni biologiche, raccolte nella 2^a e 3^a decade di ottobre, non oltre la 1^a decade di novembre,

molite con il sistema martelli-centrifugazione.

Parole chiave: Indice globale di qualità, chemiometria, qualità organolettica, qualità conservativa, qualità nutrizionale.

Ricerca finanziata dall'Università di Verona, Dipartimento Scienze Neurologiche, Neuropsicologiche, Morfologiche e Motorie

Bibliografia

- ANGEROSA F., DI GIACINTO L., SOLINAS M., 1990. *Influenza dello stoccaggio in massa delle olive sull'aroma degli oli di risulta: valutazione del difetto di "riscaldamento" mediante analisi HPLC e GLC dei componenti volatili*. Riv. merceologica, 29: 275-294
- ANGEROSA F., DI GIACINTO L., D'ALESSANDRO N., 1997. *Quantitation of some flavor components responsible for the "green" attributes in virgin olive oils*. J. High Resol. Chromatogr., 20: 507-10
- BENDINI A., CERRETANI L., CARRASCO-PANCORBO A., GÓMEZ-CARAVACA A.M., SEGURA-CARRETERO A., FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ A., LERKER G., 2007. *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: 1679-719
- DI GIACINTO L., DI LORETO G., DI NATALE C., GIANNI G., GUASTI S., MIGLIORINI M., PELLEGRINO M., PERRI E., SANTONICO M., 2010. *Caratterizzazione analitica degli attributi sensoriali degli oli vergini di oliva (Aromolio)*. Ed. C.C.I.A.A. Firenze
- ESCRICH E., SOLANAS M., MORAL R., COSTA I., GRAU L., 2006. *Are the olive oil and other dietary lipids related to cancer? Experimental evidence*. Clin. Transl. Oncol. 8: 868-83.
- FINOTTI E., BERSANI A. M., BERSANI E., 2007. *Total quality indexes for extra-virgin olive oils*. J. Food Qual. 30: 911-931.
- MAGLI M., ROTONDI A., 1998. *L'olio di oliva per i consumatori particolarmente attenti all'aspetto salutistico nutrizionale*. Olivo & Olio, 7:63-68
- MARKMANN P., 2007. *Olive Oil can prevent cancer -a comment*. Ugeskr Laeger. 169-615.
- MONTEDORO G., SERVILI M., BALDIOLI M., SELVAGGINI R., MINIATI E., MACCHIONI A., 1993. *Simple and hydrolyzable compounds in virgin olive oil-3- Spectroscopic characterizations of secoridoid derivatives*. J. Agr. Food Chem. 41: 2228-34.
- PERI C., 1995. *Qualità: concetti e metodo*. Ed. Angeli. Milano
- PREEDY V., WATSON R., 2010. *Olives and olive oil in health and disease prevention*. Ed. Academic press
- PREZIUSO S.M.; DI LORETO G., BIASONE A., 2009. *Studio delle correlazioni tra le intensità degli attributi organolettici di amaro e piccante e le concentrazioni dei composti che ne sono responsabili*. Acta Italus Hortus 1: 280-283.
- RANALLI A., ANGEROSA F. 1996. *Integral centrifuges for olive oil extraction. The qualitative characteristics*. JAOCS 73: 417-422.
- SACCHI R., DELLA MEDAGLIA D.A., AMBROSINO M.L., PADUANO A., SPAGNA MUSSO S., 2003. *Linee Guida per la Qualità dell'Olio Vergine di Oliva*. Portici, pp 1-80
- SERVILI M., ESPOSTO S., TATICCHI A., URBANI S., SELVAGGINI R., DI MAIO I., VENEZIANI G., 2009. *Migliorare le proprietà salutistiche e sensoriali dell'olio extravergine di oliva: nuovi approcci tecnologici*. Acta Italus Hortus 1: 249-52.
- TEMIME S.B., MANAI H., METHENNI K., BACCOURI B., ABAZA L., DAUD D., SÁNCHEZ CASAS J., OSORIO BUENO E., ZARROUK M., 2008. *Sterolic composition of Chétoui virgin olive oil: Influence of geographical origin*. Food Chem., 110: 368-74
- VISIOLI F., POLI A., GALLI C., 2002. *Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil*. Medical Research Review, 22 (1): 65-75
- VITAGLIANO M., 1982. *Industrie Agrarie*. Ed. UTET Torino.

Influenza del fattore varietale sulla tipicità degli oli della Sardegna

Bandino G.^{1*}, Sedda P.¹, Moro C.¹ e Mulas M.²

¹ Dipartimento per la Ricerca nella Arboricoltura di AGRIS - Sardegna, Cagliari

² Dipartimento di Scienze della Natura e del Territorio, Università di Sassari

Cultivar influence on olive oil quality of Sardinia

Abstract. The main olive cultivars growing in Sardinia are represented by ten groups of accessions variously distributed in the region. Knowledge of cultivars is continuously improving, both on agronomic and oil quality characteristics. In South Sardinia the most cultivated are Tonda di Cagliari, Nera di Gonnos, Tonda (Nera) di Villacidro, and in a minor extension Bosana, Semidana and Pizz'e Carroga. In Central Sardinia and in the coastal zones are more important Bosana and Olianedda or Nera di Oliena. The study of olive oil composition and quality was performed both using monovarietal olive stocks and monovarietal oils. Organoleptic analysis was made by a panel test with some modification of the typical sensory description. As a result we observe the influence of the cultivar as main component of the quality definition of Sardinian oils, while also the land variability showed some minor influence.

Key words: germplasm, autochthonous cultivars, organoleptic analysis, semantic descriptors, sensory profile.

Introduzione

L'olivo è coltivato in Sardegna su 44.000 ettari corrispondenti a circa il 4% della superficie coltivata in Italia (Istat, 2010). L'importanza dell'ambiente è inequivocabile, anche se è strettamente connesso con le cv presenti nei diversi areali sardi. La produttività annua degli ultimi anni variava da 500.000-600.000 q di olive, pari a circa il 3% della produzione totale d'Italia (Bandino *et al.*, 2011). La maggior parte degli oliveti (almeno il 60%) si trovano su terreni di alta collina, a seguito di un modello tradizionale di

gestione delle colture: piccoli appezzamenti con pendenza del terreno alta, basso numero di alberi per ettaro, a bassa meccanizzazione, e l'assenza di erogazione di acqua durante la stagione arida. Il restante 40% degli oliveti sono in bassa collina o in aree con fertilità del terreno migliore e con alto livello di gestione delle colture. Nonostante le limitate dimensioni, il comparto olivicolo della Sardegna ha mostrato un progressivo miglioramento generale e grandi espressioni della qualità dell'olio, ritrovandosi numerosi riconoscimenti a livello nazionale e non, a partire dagli ultimi 20 anni (Bandino *et al.*, 2011). Questo nuovo mercato unitamente ad una positiva tendenza evolutiva della qualità è in gran parte derivato da una buona adattabilità produttiva degli oliveti presenti in molte aree di tradizionale coltivazione, da una conoscenza storica delle modalità di produzione da parte degli olivicoltori, da più recenti applicazioni di nuove tecnologie di lavorazione nei frantoi, e da una sempre più spiccata tendenza alla valorizzazione delle cultivar autoctone, cui si sono affiancate anche nuove tendenze al rinnovamento degli oliveti (Bandino *et al.*, 2001).

Lo studio e la caratterizzazione del germoplasma autoctono di olivo è stata la base delle attività poste in essere. Infatti, è noto che le cultivar di olivo abbiano bassa capacità di adattamento a nuove aree di crescita e, nel caso del germoplasma della Sardegna, alcune cultivar hanno mostrato caratteristiche di espressione qualitativa assolutamente originali e di valore. Questa particolarità è il principale punto di forza degli oli di alta qualità regionale (Bandino *et al.*, 2011).

Ulteriori indagini svolte con marcatori molecolari hanno permesso di riunire le cultivar in gruppi omogenei che possono ben rappresentare la consistenza del germoplasma regionale (Angiolillo *et al.*, 2000): Bosana, Tonda di Cagliari, Tonda di Villacidro, Semidana.

I mercati attuali richiedono, sia a livello nazionale sia internazionale, che gli oli di oliva si contraddi-

* darbor@agrisricerca.it

stinguano sempre più per gamme commerciali di alta qualità, nonostante emerga ancora una prevalenza di olio “di massa” di bassa qualità e prezzo, spesso al limite delle specifiche normative previste anche dalle leggi comunitarie, soprattutto in riferimento alla caratteristiche organolettiche. Di conseguenza, è di fondamentale importanza ottenere un ulteriore miglioramento del settore olivicolo della Sardegna anche da nuovi programmi di indagine e di valutazione del livello di qualità degli oli. Il programma di ricerca presentato in questo documento è stato promosso con l’obiettivo di definire livelli qualitativi ad alto valore dei principali oli monovarietali attualmente prodotti in Sardegna.

Materiali e metodi

La ricerca è stata condotta durante la stagione di produzione 2010-2011. Operando in stretta collaborazione con l’Agenzia Regionale LAORE, è stato possibile raccogliere campioni di olio provenienti dalle zone di allevamento più importanti di tutto il territorio regionale. Circa 200 campioni sono stati raccolti e sottoposti a valutazione della qualità. Tra questi ne sono stati selezionati 68 come più rappresentativi della produzione tipica regionale. Le aziende selezionate dovevano essere rappresentative del comparto olivicolo regionale e una superficie di allevamento di almeno 2 ettari. Gli oli monovarietali sono stati oggetto di una scelta preferenziale operata durante il campionamento, ma anche alcune miscele sono state campionate per la buona qualità potenzialmente attesa.

Ogni campione è stato registrato su un modulo di registrazione per l’identificazione dell’oliveto, registrando il sistema di gestione tecnico-agronomico, le cultivar e le tecnologie di lavorazione. I campioni sono stati anonimizzati ed etichettati con un numero di codice e avviati in laboratorio per alcune analisi chimiche minimali come ad esempio l’acidità dell’olio, il numero di perossidi e indici spettrofotometrici, ottenuti per mezzo di un analizzatore automatico FOSS.

Al fine di stabilire la loro qualifica merceologica, i campioni sono stati sottoposti ad analisi sensoriale mediante panel test ratificato COI, che ha seguito la metodologia definita dal Reg. CE 2568/91 e successive modificazioni.

L’analisi sensoriale è stata eseguita con la valutazione dei potenziali difetti e l’uso del descrittore indicato dalle norme COI: 1) amaro, 2) fruttato, 3) pungente. Alcuni descrittori sono stati ulteriormente sperimentalmente inclusi nell’analisi: 4) astringente;

5) carciofo-cardo; 6) erbaceo- foglia; 7) floreale; 8) frutta matura, 9) mandorla verde; 10) di pomodoro.

Al fine di avere una buona gestione dei dati, l’archiviazione e l’elaborazione di un software è stato elaborato in collaborazione con la società software-house “I-media” e registrato con il nome SENSORY® (2010). Il software ha permesso la compilazione del modulo direttamente dal personal computer e l’archiviazione dei dati in un server centrale, facilmente accessibile via internet.

In questa nota i profili sensoriali di 13 campioni sono presentati dopo la selezione tra gli altri, come i più rappresentativi di oli tipici della Sardegna.

Risultati e discussione

Il descrittore sensoriale amaro è assai variabile, ma sempre presente. Alcune note astringenti e di carciofo spesso sono le caratteristiche tipiche di oli di ‘Bosana’, ma la loro combinazione si presenta spesso variabile (fig. 1). Tutti i campioni hanno mostrato un profilo sensoriale ricco e complesso che contribuisce alla forte caratterizzazione regionale delle produzioni di olio d’oliva. Buon risultato è stato registrato anche per il monocultivar di ‘Tonda di Cagliari’ (fig. 2a), mentre tutti gli altri profili erano assolutamente meno ricchi, con una netta riduzione della complessità sensoriale.

Meno complesso e leggermente non equilibrato sembrava il monocultivar di ‘Majorchina’ (fig. 2b), ‘Semidana’ (fig. 2c) e ‘Nera di Oliena’ (fig. 2d). Leggermente più ricco è apparso per il fruttato e il sapore erbaceo dell’olio monovarietale ‘Ogliastrina’ (fig. 2e).

La nostra sperimentazione ha confermato l’utile applicazione degli indicatori sensoriali suggerita dalle metodiche COI, al fine di ottenere una buona caratterizzazione degli oli dalla Sardegna, così come il valore potenziale dei nuovi indicatori elaborati mediante il software testato, di cui ulteriori specifiche sono in fase di verifica operativa.

Ringraziamenti

Gli autori desiderano ringraziare l’Agenzia LAORE della Regione Autonoma della Sardegna per la collaborazione nella raccolta dei campioni e nell’analisi sensoriale con l’uso del software.

Si ringraziano la Dott.ssa Donatella Delpiano e il Sig. Andrea Coni per il supporto dato nelle analisi chimiche; in particolare, il P. A. Federico Corda per il supporto tecnico nell’elaborazione dei dati sperimentali e nella redazione dei grafici.

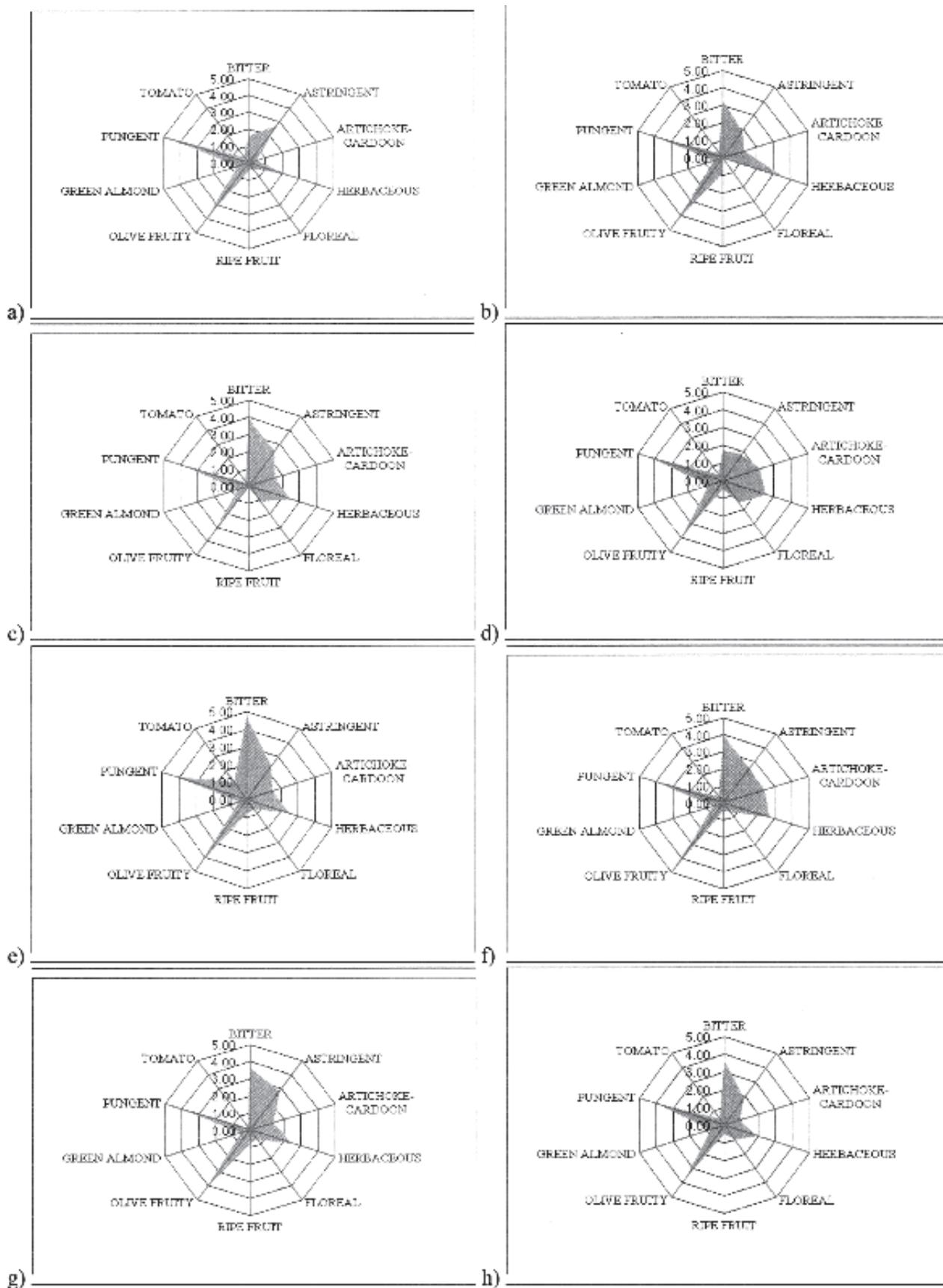


Fig. 1 - Valutazione sensoriale di 8 campioni monovarietal di 'Bosana' ottenuti in differenti località della Sardegna: a) Dolianova (CA); b) Gergei (CA); c) Villacidro (VS); d) Cuglieri (OR); e) Lula (NU); f) Siniscola (NU); g) Ittiri (SS); h) Alghero (SS).
 Fig. 1 - Sensory evaluation of 8 monovarietal samples of 'Bosana' oil from different localities of Sardinia: a) Dolianova (CA); b) Gergei (CA); c) Villacidro (VS); d) Cuglieri (OR); e) Lula (NU); f) Siniscola (NU); g) Ittiri (SS); h) Alghero (SS).

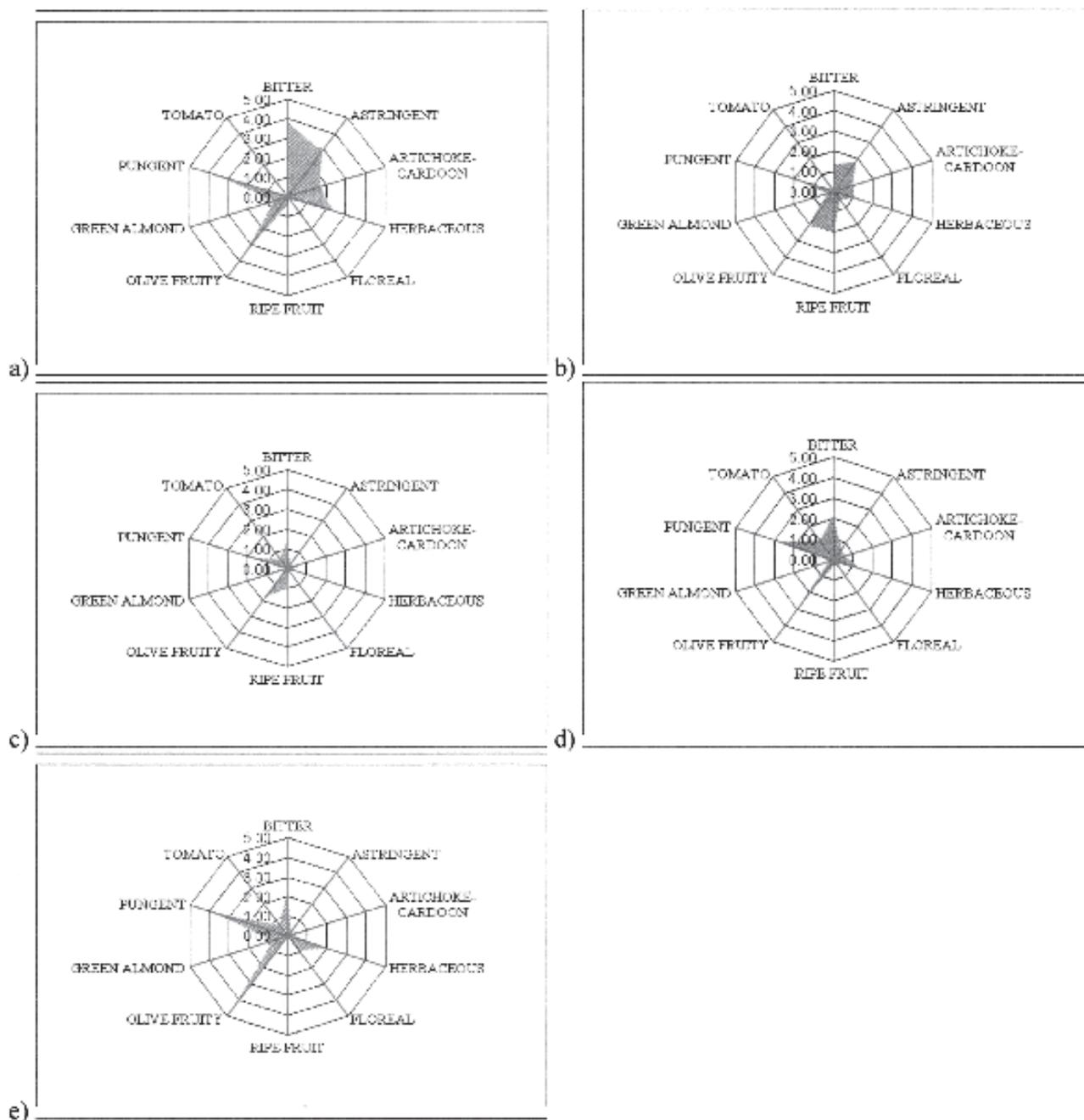


Fig. 2 - Valutazione sensoriale di 5 cultivar provenienti da diverse località della Sardegna: a) Dolianova (CA), 'Tonda di Cagliari'; b) Gergei (CA), 'Majorchina'; c) San Vero Milis (OR), 'Semidana'; d) Nuoro (NU), 'Nera di Oliena'; e) Gairo (OG), 'Ogliastrina'.
 Fig. 2 - Sensory evaluation of 5 monovarietal oils from different localities of Sardinia: a) Dolianova (CA), 'Tonda di Cagliari'; b) Gergei (CA), 'Majorchina'; c) San Vero Milis (OR), 'Semidana'; d) Nuoro (NU), 'Nera di Oliena'; e) Gairo (OG), 'Ogliastrina'.

Riassunto

Le principali varietà impiegate per la produzione olearia della Sardegna sono riconducibili a una decina di gruppi varietali diversamente rappresentati nelle principali zone produttive. Su queste le conoscenze sono costantemente in fase di approfondimento, sia per gli aspetti agronomici, sia per la qualità dei loro prodotti.

Nel sud della Sardegna prevalgono la Tonda di

Cagliari, Nera di Gonnos, Tonda (Nera) di Villacidro, in minor misura Bosana, Semidana e Pizz'e Carroga. Nel centro Sardegna e nelle fasce costiere rivestono una maggiore importanza la cv Bosana e la Olianeda o Nera di Oliena. Utilizzando partite di olive monovarietal e oli monovarietal provenienti da produttori di cui fosse certa la tracciabilità di processo si è operato per valutare gli oli sia con l'analisi dei principali parametri chimici, sia da un punto di vista organolettico, mediante il metodo del panel test, con opportuni

ampliamenti nella metodologia di espressione dei risultati, necessari a una più accurata descrizione dei profili varietali degli oli. Risulta pertanto che l'effetto varietale sia una componente fondamentale di tipicità degli oli derivanti dai diversi areali della Sardegna, pur evidenziandosi anche effetti più strettamente ascrivibili all'origine territoriale.

Parole chiave: germoplasma, varietà autoctone, analisi organolettiche, descrittori semantici, profili sensoriali.

Bibliografia

- ANGIOLILLO A., BALDONI L., BANDINO G., MULAS M., 2000. *Analisi molecolare con marcatori AFLP delle risorse genetiche di olivo della Sardegna*. Atti 4° Congr. Naz. "Biodiversità: Germoplasma locale e sua valorizzazione". Alghero (SS), 8-11 settembre 1998: 413-416.
- BANDINO G., MULAS M., SEDDA P., MORO C., 2001. *Le cultivar di olivo della Sardegna*. Ed. Regione Autonoma della Sardegna pp. 253.
- BANDINO G., SEDDA P., MORO C. MULAS M., 2011. *Gli oli monovarietal della Sardegna: orientamenti e prospettive*. Acta Italus Hortus, 1(1): 262-265.
- SENSORY (2010). I-media s.a.s. Cagliari, Italy.

La qualità degli oli vergini d'oliva di piante plurisecolari pugliesi determinata mediante spettroscopia FT-NIR

Patarino A.¹, Romano E.¹, Benincasa C.¹, Pellegrino M.¹, Perri E.¹, Genorini E.², Morini P.² e Muzzalupo I.¹

¹ Centro per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Rende (CS)

² Bruker Optics Italia S.r.l., Milano

The quality of virgin olive oil of Puglia secular plants determined by FT-NIR spectroscopy

Abstract. The importance of production in Italy is mainly due to its derivatives, oil and table olives, which are key elements of the “Mediterranean diet”. The FT-NIR spectroscopy (Fourier Transform Near Infrared Spectroscopy) is a powerful tool that has been widely used to control the quality of many food products including those of the olive-oil industry. This technique, non-destructive, can get multiple results analysis and determine the analytical information in seconds and/or in real time. The purpose of the following work is to test the applicability of FT-NIR analytical technique of olive oil, with a quick and easy to use even for the corporate staff in assessing the quality and characteristics of products. On all oil products were analyzed the following parameters: free acidity, peroxide number, spectrophotometric constants, the percentage of methyl esters of fatty acids, total sterols, alcohols and waxes. The trial results have shown that the technique can be applied to FT-NIR olive sector, achieving performance comparable to traditional analytical and allowing the construction of a database used in the measurement of all parameters used. The results also allowed classifying olive oils, and consequently the variety of olive, according to their nutritional and nutraceutical power.

Key words: FT-NIR, extra virgin olive oil, oil quality, nutritional values.

Introduzione

L'olivo (*Olea europaea* L.) è una delle più antiche e importanti piante coltivate del bacino del

Mediterraneo ed è la sola specie del genere *Olea* che produce frutti eduli (Muzzalupo *et al.*, 2008). Gli alberi centenari custodiscono la storia evolutiva dell'umanità ed anche la loro straordinaria longevità avvenuta malgrado lo scorrere del tempo. Questa longevità è garanzia della presenza di un corredo genetico capace di rispondere ai cambiamenti climatici anche se pesanti.

Gli alberi monumentali sono i Patriarchi dei nostri territori, piante ultracentenarie di grandi dimensioni, spesso legate ad eventi storici, religiosi, a credenze popolari o altro. A volte si tratta di specie botaniche di particolare pregio, da tutelare per il valore paesaggistico e genetico. In dodici regioni questi “giganti verdi” vengono tutelati da leggi e provvedimenti che intendono tutelare la natura e il paesaggio. I Patriarchi arborei sono monumenti naturali che l'Italia possiede, anche millenari e ancora produttivi di frutti, ma rischiano di scomparire. Alcuni esempi sono il melo forse più antico d'Europa, che si trova in Trentino e il pero più grosso d'Italia che vegeta nel Parco Nazionale delle Foreste Casentinesi, in provincia di Forlì-Cesena. Questi grandi alberi possono essere considerati anche accurati “registratori biologici”, che conservano scritta sotto la corteccia, insieme alla loro presumibile età, la nostra storia e, contrariamente alle parole dell'uomo, gli anelli del legno non mentono mai. Essi rappresentano anche ricchezza in biodiversità, valore insostituibile che non dobbiamo perdere perché ciò significherebbe rendere più povera la nostra stessa esistenza. Ma i cultori che stanno lavorando su questo progetto nazionale hanno anche l'intento di far conoscere ai cittadini i pregi di sapore ed organolettici dei frutti e magari valorizzarne le produzioni in modo di seguitare a farli vivere attraverso l'interesse commerciale suscitato nei consumatori ed anche conservando la base genetica di ognuno (Papadia *et al.*, 2011). In Puglia gli ulivi “patriarchi” sono ancora validamente produttivi e il loro olio può

* innocenzo.muzzalupo@entecra.it

vantare la menzione “olio extravergine degli olivi secolari di Puglia” per disposizione regionale.

L’obiettivo di questo lavoro è di monitorare e confrontare la qualità degli oli monovarietali ottenuti dagli ulivi secolari della Puglia e della Calabria mediante la spettroscopia NIR. La qualità degli oli di oliva è definita attraverso alcuni parametri analitici che sono alla base della loro classificazione commerciale (Reg. UE N. 61/2011). La valutazione della composizione chimica degli oli (acidi grassi, alcoli, cere, etc.) mediante tecniche analitiche complesse, permette di classificare gli oli di oliva ed individuare possibili frodi (adulterazioni, contraffazioni e sofisticazioni). Metodi analitici semplici e veloci sono essenziali per stabilire la qualità e verificare la rintracciabilità degli oli extra vergini di oliva e la loro tipicità (Papadia *et al.*, 2011). Le benefiche proprietà degli oli extravergini di oliva, sono riconducibili all’ottimale rapporto tra gli acidi grassi ω -9 (oleico), ω -6 e ω -3 (linoleico e linolenico) e al prezioso contri-

buto di numerosi composti minori, derivano dal tipo di cultivar, dal suolo e clima in cui vive la pianta, dal sistema di irrigazione, dal grado di maturazione delle olive e dei metodi di estrazione dell’olio (Caravita *et al.*, 2007). La spettroscopia NIR è un potente strumento che è stata ampiamente impiegata per il controllo della qualità di numerosi prodotti alimentari ivi inclusi quelli della filiera olivicola-olearia (Mailer, 2004). Questa tecnica, non distruttiva, può ottenere risultati di analisi multiple e determinare le informazioni analitiche in pochi secondi (*out-line*) o in tempo reale (*on-line*) (Bendini *et al.*, 2007).

Materiale e metodi

Nell’ultima campagna olearia, presso i minifrantoi del Centro sono pervenuti e sono stati estratti oltre 50 campioni di oli monovarietali da ulivi secolari. Nella tabella 1 viene riportato l’elenco delle 31 piante pugliesi e delle 18 calabresi. Per ogni pianta viene

Tab. 1 - Elenco delle piante secolari di ulivo pugliesi e calabresi, con indicazione della regione e della provincia di provenienza e dell’indice di maturazione delle drupe raccolte secondo l’indice di Jaen.

Tab. 1 - List of plant olive trees in Puglia and Calabria, with an indication of the region and the province of origin and maturation index drupes collected according to the index of Jaen.

Cultivar	Regione	Prov.	I. Jaen	Cultivar	Regione	Prov.	I. Jaen
Biancolilla	Calabria	CS	0,8	Coratina 8	Puglia	BA	0,3
Carolea 1	Calabria	CS	2,9	Ogliarola salentina 1	Puglia	BR	2,2
Carolea 2	Calabria	CS	1,9	Ogliarola salentina 2	Puglia	BR	2,5
Cassanese 1	Calabria	CS	2,2	Ogliarola salentina 3	Puglia	BR	3,0
Cassanese 2	Calabria	CS	2,3	Ogliarola salentina 4	Puglia	BR	2,5
Cassanese 3	Calabria	CS	0,1	Ogliarola salentina 5	Puglia	BR	2,4
Cassanese 4	Calabria	CS	0,1	Ogliarola salentina 6	Puglia	BR	2,8
Cassanese 5	Calabria	CS	2,5	Ogliarola salentina 7	Puglia	BA	2,3
Cassanese 6	Calabria	CS	7,0	Ogliarola salentina 8	Puglia	BA	7,7
Cassanese 7	Calabria	CS	3,9	Ogliarola salentina 9	Puglia	BR	2,6
Cassanese 8	Calabria	CS	7,0	Ogliarola salentina 10	Puglia	BA	2,3
Cassanese 9	Calabria	CS	0,1	Ogliarola salentina 11	Puglia	BA	2,7
Coratina	Calabria	CS	0,1	Ogliarola salentina 12	Puglia	BA	3,0
Frantoio	Calabria	CS	2,2	Ogliarola salentina 13	Puglia	BA	7,0
Leccino	Calabria	CS	4,0	Ogliarola salentina 14	Puglia	BA	7,0
Mafra	Calabria	CS	0,0	Ogliarola salentina 15	Puglia	BA	2,3
Tondina 1	Calabria	CS	3,0	Ogliarola salentina 16	Puglia	BA	2,1
Tondina 2	Calabria	CS	2,4	Ogliarola salentina 17	Puglia	BA	2,3
Coratina 1	Puglia	BR	2,5	Ogliarola salentina 18	Puglia	BA	2,3
Coratina 2	Puglia	BA	4,0	Ogliarola salentina 19	Puglia	BA	2,0
Coratina 3	Puglia	BA	3,9	Ogliarola salentina 20	Puglia	BA	1,7
Coratina 4	Puglia	BA	3,6	Ogliarola salentina 21	Puglia	BA	2,0
Coratina 5	Puglia	BA	2,7	Ogliarola salentina 22	Puglia	BA	4,0
Coratina 6	Puglia	BA	3,3	Ogliarola salentina 23	Puglia	BA	2,3
Coratina 7	Puglia	BA	7,0				

riportato l'indice di maturazione delle drupe in base all'indice di Jaen. Tutti i campioni di olio ottenuti sono stati analizzati sia col FT-NIR (MPA fornito dalla Bruker Optics Italia) che con le metodiche analitiche tradizionali (Reg. UE N. 61/2011). Su tutti gli oli prodotti sono stati analizzati i seguenti parametri chimico e chimico-fisici riportati in tabella 2.

Risultati

Nella tabella 2 vengono riportati i dati relativi alla calibrazione dello strumento FT-NIR. La maggior parte dei parametri presenta dei risultati che consentono un utilizzo ruotinario immediato, per altri è necessario irrobustire la calibrazione con nuovi standard di riferimento (in particolare l'acido beenico). I risultati della sperimentazione hanno dimostrato che si può applicare la tecnica FT-NIR al settore olivicolo, ottenendo prestazioni analitiche analoghe a quelle tradizionali e permettendo la costruzione di un *database* utilizzabile nella misurazione dei parametri considera-

ti. In particolare accanto a parametri tradizionali come ad esempio perossidi e acidità, è stata presa in considerazione anche la composizione degli esteri metilici degli acidi grassi. Quest'ultimo aspetto ha permesso di classificare gli oli vergini monovarietal, e di conseguenza le varietà di olivo, in base al loro potere nutrizionale e in base al loro potere nutraceutico. Infatti, dall'elaborazione dei dati emerge che sulla base dei parametri analitici analizzati non tutti i campioni di olio rientrano nei limiti stabiliti per gli oli extravergini di oliva, generalmente a causa dell'elevata acidità libera che supera lo 0,8 imposto dal Reg. 61/2011.

Confrontando i parametri analitici degli oli prodotti osserviamo che: la Frantoio, la Cassanese 2 la Coratina 2, 4, 6, 8 pugliesi e l'unica Coratina calabrese mostrano un elevato contenuto di acido oleico superiore al 76%, mentre l'Ogliarola salentina 14 e 22 presentano un elevato contenuto di steroli totali superiore a 2.000 mg per kg d'olio.

Tab. 2 - Parametri analitici degli oli d'oliva e dettagli delle calibrazioni utilizzate.
Tab. 2 - Analytical parameters of olive oils and details of the calibration used.

	N campioni	Range valori	Fattori	R ² calibrazione	RMSEC	R ² cross validazione	RMSECV
Acidità libera	463	0 - 2,5	20	98,88	0,038	98,26	0,047
Perossidi	142	0 - 22	10	92,02	1,18	89,09	1,32
Cere	2.613	50 - 1.500	22	88,06	41	85,67	44,7
K232	2.464	1-2,6	10	37,1	0,167	31,24	0,174
K270	2.818	0,05 - 0 - 70	18	68,87	0,026	65,05	0,026
ΔK	1.738	0 - 0,0085	6	21,06	0,001	12,11	0,001
Ac Miristico	40	0 - 0,03	6	10,8	0,007	3,89	0,007
Ac Palmitico	135	8 - 18	19	98,67	0,026	96,71	0,38
Ac Palmitoleico	40	0,3 - 3	4	79,04	0,3	75,08	0,31
Ac Margarico	40	0,01 - 0,21	3	53,15	0,03	35,02	0,03
Ac Margaroleico	40	0,03 - 0,4	3	52,64	0,05	31,86	0,06
Ac Stearico	100	1,5 - 4	10	93,02	0,2	88,05	0,25
Ac Oleico	136	55 - 85	13	99,25	0,41	98,35	0,55
Ac Linoleico	133	2 - 20	7	99,56	0,19	99,42	0,22
Ac Linolenico	136	0,4 - 1,3	5	68,73	0,09	64,71	0,09
Ac Arachico	40	0,2 - 0,5	3	46,05	0,03	28,26	0,039
Ac Beenico	40	0,08 - 0,2	3	52,62	0,02	34,30	0,02
Ac Lignocericico	40	0,03 - 0,2	3	56,15	0,02	69,22	0,07
Squalene	26	0,3 - 1, 5	8	92,92	0,01	97,92	0,03
Fenoli Totali	40	100 - 500	7	99,96	4,59	86,04	40,9
Alcoli	1.263	50 - 750	6	50,89	89,8	44,44	95,1
Steroli Totali	1.886	0 - 3.000	6	61,82	0,193	45,87	230
Campesterolo	68	3 - 4,5	2	48,29	0,17	36,72	0,18
β-Sitosterolo	94	90-96	6	90,42	0,31	85,19	0,38

Riassunto

L'importanza dell'olivicoltura in Italia è legata principalmente ai suoi derivati, olio e olive da tavola, che rappresentano elementi fondamentali della “*dieta mediterranea*”. La spettroscopia FT-NIR (Fourier Transform Near Infrared Spectroscopy) è un potente strumento che è stata ampiamente impiegata per il controllo della qualità di numerosi prodotti alimentari ivi inclusi quelli della filiera olivicola-olearia. Questa tecnica, non distruttiva, può ottenere risultati di analisi multiple e determinare le informazioni analitiche in pochi secondi e/o in tempo reale.

Parole chiave: FT-NIR, olio extra vergine d'oliva, qualità dell'olio, valori nutrizionali.

Questa ricerca è stata finanziata dai progetti RIOM II e RGV-FAO.

Bibliografia

- BENDINI A., CERRETANI L., DI VIRGILIO F., BELLONI P., LERCKER G., GALLINA TOSCHI T., 2007. *In-process monitoring in industrial olive mill by means of FT-NIR*. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 109: 498–504
- CARAVITA M., BENINCASA C., DE ROSE F., MUZZALUPO I., PARISE A., PELLEGRINO M., PERRI E., RIZZUTI B., 2007. *Omega-3/omega-6 fatty acids ratio in olive oils from Italian olive varieties*. Agro Food Ind. Hi-Tech, 6: 17-18.
- MAILER R.J., 2004. *Rapid Evaluation of Olive Oil Quality by NIR Reflectance Spectroscopy*. JAOCS, 81: 823-827
- MUZZALUPO I., PERRI E., 2008. *Genetic characterization of olive germplasms by molecular markers*. Eur. J. Plant Sci. Biotech., 2(1): 60-68.
- PAPADIA P., DEL COCO L., MUZZALUPO I., RIZZI M., PERRI E., CESARI G., SIMEONE V., MONDELLI F., SCHENA F.P., FANIZZI F.P., 2011. *Multivariate analysis of ¹H-NMR spectra of genetically characterized extra virgin olive oils and growth soil correlations*. JAOCS Published Online 7 April 2011 DOI 10.1007/s11746-011-1812-1
- REGOLAMENTO (CEE) N. 61/2011 DELLA COMMISSIONE DEL 24 GENNAIO 2011 *che modifica il regolamento (CEE) n. 2568/91*.

La scelta dei parametri operativi in gramolatura con scambio gassoso controllato: ottimizzazione in funzione della qualità degli oli vergini di oliva

Taticchi A.*, Esposito S., Urbani S., Di Maio I., Veneziani G., Selvaggini R. e Servili M.

Dipartimento di Scienze Economico-Estimative e degli Alimenti, Sezione di Tecnologie e Biotecnologie degli Alimenti, Università di Perugia

The parameters' choice in malaxation with controlled gaseous exchange: optimization according to the quality of virgin olive oil

Abstract. Healthy and sensory quality of virgin olive oil is strongly related to both the presence of phenolic and volatile compounds, whose concentration is related to genetic and agronomic aspects, and to the enzymatic oxidation occurring during the mechanical extraction of oil; in particular, the operating parameters of malaxation, such as temperature and oxygen concentration in the headspace of the malaxing chamber, are the most important technological factors affecting these two type of compounds. The results show an interesting positive relationship between temperature and concentration of phenolic substances and a different effect on the volatile substances according to the cultivar. Based on these results, the process variables, temperature and partial pressure of oxygen during the malaxation have been optimized, in order to define the different protocols for processing the olives according to the technological behaviour of the cultivar.

Key words: Extra virgin olive oil, quality, phenols, volatile compounds, malaxation.

Introduzione

Nel settore dell'estrazione meccanica degli oli extravergini di oliva (EVOO) le innovazioni di processo sono per lo più viste in relazione al miglioramento della qualità del prodotto che a sua volta è legato all'ottimizzazione dei parametri che incidono direttamente sul contenuto in composti fenolici e volatili degli oli vergini di oliva. I composti fenolici idrofili e le sostanze volatili (Servili *et al.*, 2004;

Angerosa *et al.*, 2004), responsabili delle sue proprietà salutistiche (Servili *et al.*, 2009; Covas 2009) e sensoriali rappresentano i veri elementi di esclusività della composizione degli oli extravergini di oliva. La loro presenza nel prodotto però è fortemente influenzata da diversi fattori agronomici, in particolare l'origine genetica e geografica della drupa, nonché da numerosi aspetti tecnologici (Angerosa *et al.*, 2004; Servili *et al.*, 2004). Per lo studio di questi ultimi è importante conoscere composizione e distribuzione degli enzimi endogeni nel frutto. Ci si riferisce in particolare alle ossidoreduttasi endogene del frutto che comprendono la polifenolossidasi (PPO), la perossidasi (POD) e la lipossigenasi (LPO), responsabili dell'evoluzione delle sostanze fenoliche e volatili nel corso del processo di estrazione meccanica (Servili *et al.*, 2007). Le indagini sulla diversa distribuzione degli enzimi costitutivi del frutto nelle sue diverse parti hanno rappresentato la base tecnologica per l'introduzione di sistemi di frangitura, ad effetto differenziato su polpa e nocciolo delle olive che hanno permesso di ridurre la degradazione dei tessuti della mandorla, minimizzando così l'apporto di POD in gramolatura (Inglese *et al.*, 2011). Ulteriore fase critica del processo estrattivo per EVOO di alta qualità è la gramolatura e il controllo selettivo della PPO, POD e LPO. Dopo la frangitura infatti l'intero patrimonio enzimatico della drupa rimane attivo. In particolare, mentre l'attività della LPO, che è alla base della produzione aromatica dell'olio, andrebbe favorita in fase di gramolatura, quelle che ossidano i polifenoli, di cui sono responsabili PPO e POD, dovrebbero essere assolutamente inibite. L'uso di gramole chiuse o confinate è una ulteriore innovazione tecnologica che permette di limitare i fenomeni di ossidazione enzimatica dei polifenoli, in quanto consente di ridurre la concentrazione di O₂ a contatto con la pasta in gramolatura (Servili *et al.*, 2008). Questa selettività nel contenuto in polifenoli e sostanze volatili, ottenibile attraverso l'impiego delle adeguate quantità di O₂ nel corso della gramolatura, è molto importante come l'effetto di un altro

* atati@unipg.it

parametro da controllare in fase di gramolatura, la temperatura: un aumento di questa si riflette infatti in maniera positiva sulla concentrazione fenolica. L'uso di temperature superiori ai 30 °C può tradursi, però, in un peggioramento delle proprietà sensoriali degli oli dovuto alla ridotta produzione aromatica delle paste durante questa fase del processo tecnologico in quanto gli enzimi deputati alla formazione delle sostanze volatili ad impatto sensoriale hanno un range di temperature ottimali di attivazione variabile a seconda della cultivar di appartenenza. Per valorizzare le peculiari caratteristiche qualitative degli EVOO, nel presente lavoro si è applicato un opportuno modello di ottimizzazione delle variabili di gramolatura (temperatura e quantità di ossigeno nella gramola) in funzione di alcune sostanze fenoliche e volatili selezionate per la loro importanza sulla qualità del prodotto finale in base alla varietà di appartenenza.

Materiali e metodi

Per la sperimentazione sono state lavorate olive di varietà *Frantoio* e *Moraiolo*, raccolte durante la campagna olearia del 2010 con indice di pigmentazione 0.95 secondo Pannelli *et al.*, 1994. Le sperimentazioni sono state condotte su scala industriale usando un impianto Rapanelli (Rapanelli Fioravante S.p.A., Foligno - PG) ed ogni estrazione veniva effettuata su un campione di olive da 150 kg. La frangitura veniva effettuata utilizzando un frangitore a martelli, dopodiché la gramolatura veniva condotta per 40 minuti a diverse temperature e pressioni parziali di ossigeno seguendo un Disegno Centrale Composto Circoscritto o CCC (tab. 1) con una gramola chiusa a scambio gassoso controllato (Rapanelli Fioravante S.p.A., Foligno - PG) dotata di una valvola che consentiva l'immissione di O₂ ed una sonda O₂ Mettler-Toledo mod. 4100 (Mettler-Toledo, Novate Milanese - MI) per il suo monitoraggio. Per la separazione dell'olio veniva usato un decanter a basso consumo di acqua (Mod. 400 ECO-G, Rapanelli Fioravante S.p.A., Foligno - PG). Gli oli ottenuti venivano filtrati e conservati a 13 °C fino al momento delle analisi. L'estrazione dei composti fenolici dall'olio e l'analisi HPLC è stata eseguita in accordo con Servili *et al.*, 2011 usando un HPLC Agilent mod. 1100 munito di rivelatore a serie di diodi e a fluorescenza. La valutazione HS-SPME-GC/MS dei composti volatili degli oli è stata effettuata secondo quanto riportato da Servili *et al.*, 2011. L'analisi statistica multivariata, utilizzando il programma MODDE 9.0 (Umetrics AB, Umeå, Svezia), oltre a fornire le condizioni di gramolatura riportate in tabella 1 ha permesso la costruzio-

Tab. 1 - Condizioni di gramolatura.
Tab. 1 - *Malaxation conditions.*

Prove	Temperatura (°C)	Pressione parziale (kPa) di O ₂ nello sazio di testa della gramola
1	20	61,3
2	24	37,2
3	24	85,4
4	30	21,3
5	30	101,3
6	30	61,3
7	30	61,3
8	30	61,3
9	30	61,3
10	36	85,4
11	36	37,2
12	40	61,3

ne, per l'ottimizzazione dei parametri di processo, di due modelli, uno per ciascuna cultivar, mediante il Modellamento tramite Superfici di Risposta (RSM), dopo aver trasformato le variabili corrispondenti ai composti fenolici e volatili in funzioni di desiderabilità (d_i) usando delle trasformazioni lineari dei dati ed infine calcolando la funzione di desiderabilità complessiva (D) secondo quanto riportato da Servili *et al.* (2000).

Risultati e discussione

Come evidenziato nella tabella 2 le cvs *Moraiolo* e *Frantoio* mostrano un contenuto fenolico molto simile, tuttavia in entrambe le cultivar le diverse condizioni di gramolatura influenzano in maniera preponderante i derivati del ligustroside e dell'oleuropeina, al contrario i lignani subiscono piccole variazioni. Per quel che concerne la composizione volatile (tab. 3), le cultivar sono caratterizzate da un diverso profilo aromatico principalmente dovuto a un diverso contenuto in esteri e alcoli saturi ed insaturi a C₅ e C₆, essendo maggiore quelli insaturi a C₅ nel *Moraiolo*: anche in questo caso i parametri tecnologici influenzano il quantitativo di tali composti. Data la variabilità in funzione delle condizioni operative di queste classi di composti si è proceduto all'ottimizzazione mediante RSM (fig. 1). L'elaborazione statistica ha messo in evidenza comportamenti diversi per il *Moraiolo* e il *Frantoio*. Nella prima cultivar si è trovata una superficie di risposta che mostra valori maggiori di desiderabilità ad una temperatura di 20 °C ed una pressione parziale di O₂ di 21,3 kPa. Nel caso del *Frantoio* si è ottenuta, invece, una superficie di risposta che mostra un massimo posizionato alla temperatura di 27 °C ed una pressione di ossigeno di 21,3 kPa.

Tab. 2 - Concentrazione fenolica (mg/kg) nell'EVOO in funzione delle diverse condizioni di gramolatura. Nelle colonne delle medie di ciascuna cultivar sono riportate anche le deviazioni standard delle 12 prove.

Tab. 2 - Phenolic concentration (mg/kg) in EVOO according to the different malaxation conditions. Columns in the middle of each cultivar are the means \pm the standard deviations of 12 tests.

Composti	Cv Moraiolo			Cv Frantoio		
	Minimo	Media	Massimo	Minimo	Media	Massimo
Somma delle frazioni fenoliche	306,0	427,5 \pm 7,4	591,9	279,4	441,3 \pm 16,8	586,8
Somma dei derivati dell'oleuropeina	203,8	326,8 \pm 6,5	481,2	195,3	338,7 \pm 16,5	450,7
Somma dei derivati del ligustroside	43,6	66,6 \pm 1,4	100,2	12,2	57,9 \pm 1,9	90,9
Somma dei lignani	31,8	34,2 \pm 3,2	37,1	42,3	44,6 \pm 2,5	46,4

Tab. 3 - Composizione volatile ($\mu\text{g}/\text{kg}$) nell'EVOO in funzione delle diverse condizioni di gramolatura. Nelle colonne delle medie di ciascuna cultivar sono riportate anche le deviazioni standard delle 12 prove.

Tab. 3 - Volatile composition ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in EVOO according to the different malaxation conditions. Columns in the middle of each cultivar are the means \pm the standard deviations of 12 tests.

Composti	Cv Moraiolo			Cv Frantoio		
	Minimo	Media	Massimo	Minimo	Media	Massimo
Somma delle aldeidi saturate	305	486 \pm 39	892	297	423 \pm 20	689
Somma delle aldeidi insature (C_6)	16.639	29.366 \pm 2.452	52.378	22.364	30.360 \pm 1.246	41.672
Somma degli alcoli saturi	196	359 \pm 47	523	486	712 \pm 133	949
Somma degli alcoli insaturi (C_5)	402	665 \pm 56	1.447	146	229 \pm 10	304
Somma degli alcoli insaturi (C_6)	1.068	1.521 \pm 103	2.353	1.292	2.686 \pm 182	4.057
Somma degli esteri	72	143 \pm 59	292	28	84 \pm 6	278

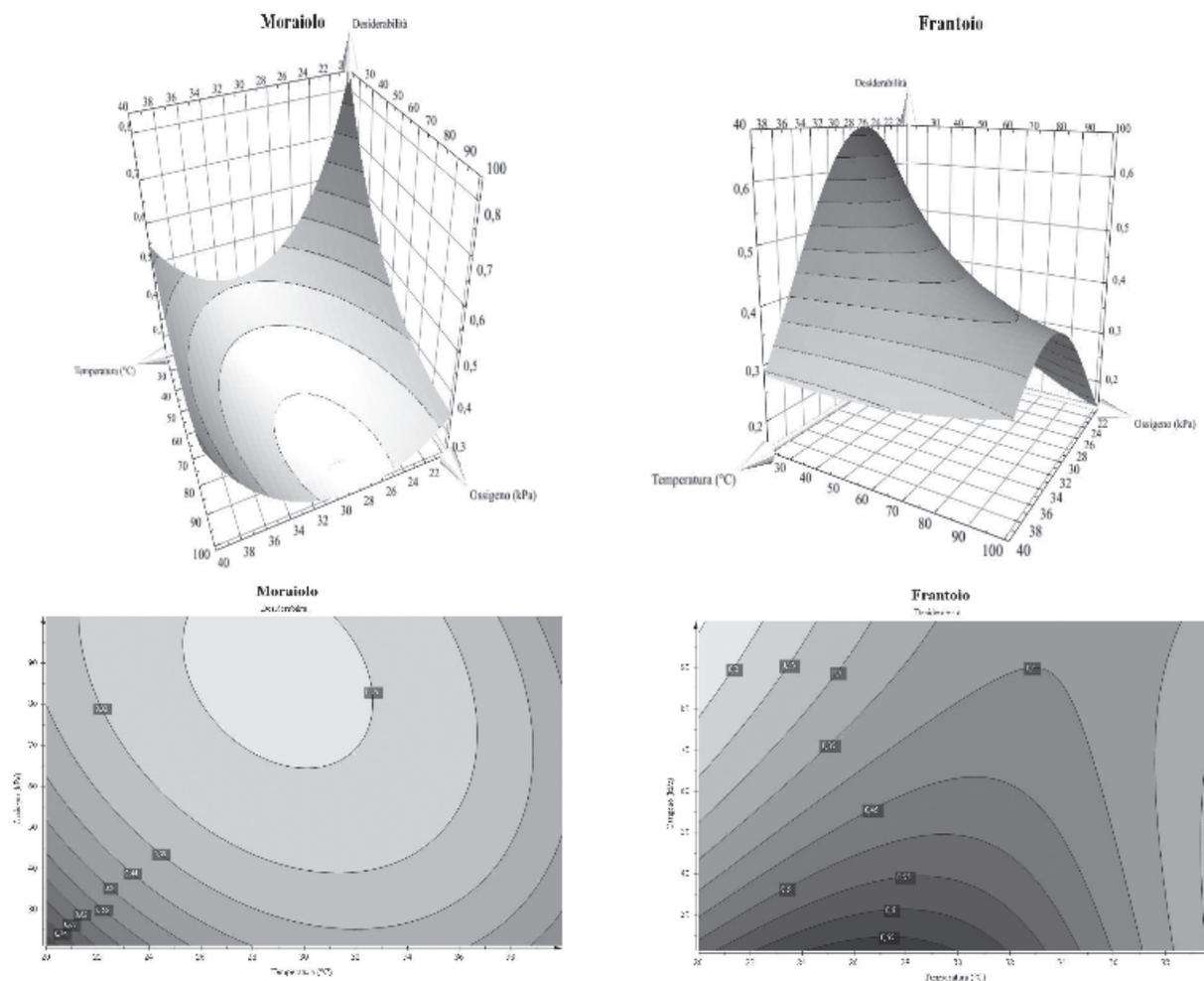


Fig. 1 - Superfici di risposta e diagrammi di isorisposta delle due cultivar: ottimizzazione in funzione delle diverse condizioni di gramolatura.
Fig. 1 - Response surface plots and isoresponse plots of the two cultivars: optimization of the malaxation conditions.

Conclusioni

Dai risultati ottenuti in queste prove preliminari di ottimizzazione dei differenti parametri operativi nella fase di gramolatura, temperatura e concentrazione di ossigeno nella gramola, si evidenzia un comportamento diverso delle due cultivar studiate Moraiolo e Frantoio. In particolare per entrambe le cultivar le condizioni ottimali vengono ottenute lavorando a basse concentrazioni di ossigeno, mentre si osserva una diversa risposta nei confronti della temperatura, bassa per la cv Moraiolo ed intermedia per l'altra. Pertanto è auspicabile estendere lo studio ad altre cultivar di interesse nazionale al fine di trovare le condizioni ottimali di processo per ciascuna di esse in modo da ottenere oli di alta qualità.

Riassunto

La qualità sensoriale e salutistica dell'olio vergine di oliva è strettamente correlata alla presenza di composti fenolici e volatili, la cui concentrazione è legata sia ad aspetti genetici ed agronomici sia a fenomeni di ossidazione enzimatica che avvengono durante il processo di estrazione meccanica dell'olio; in particolare i parametri operativi dell'operazione di gramolatura, quali temperatura e concentrazione di ossigeno nello spazio di testa della gramola, sono tra i fattori tecnologici maggiormente responsabili delle modificazioni a carico di questi composti. I risultati sinora emersi evidenziano un'interessante relazione positiva tra temperatura e concentrazione delle sostanze fenoliche e un effetto differenziato sulle sostanze volatili in funzione della cultivar. Sulla base di questi risultati nel presente lavoro sono state ottimizzate le variabili di processo, temperatura e pressione parziale di ossigeno durante la gramolatura al fine di definire dei protocolli operativi di lavorazione delle olive che siano differenziati in funzione del diverso comportamento tecnologico delle cultivar.

Parole chiave: Olio extravergine di oliva, qualità, fenoli, composti volatili, gramolatura.

Bibliografia

- ANGEROSA F., SERVILI M., SELVAGGINI R., TATICCHI A., ESPOSTO S., MONTEDORO G.F., 2004. *Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality*. J. Chromatogr. A, 1054: 17-31.
- COVAS M.I., 2009. *Bioactive effects of olive oil phenolic compounds in humans: Reduction of heart disease factors and oxidative damage*. Inflammopharmacol. 16: 216-218.
- INGLESE P., FAMIANI F., GALVANO F., SERVILI M., ESPOSTO S., URBANI S., 2011. *Factors affecting extra-virgin olive oil composition*. In *Horticultural Reviews*, Jules Janik Ed., John Wiley & Sons Pubs., vol. 38. 83-148.
- PANNELLI G., SERVILI M., SELVAGGINI R., BALDIOLI M., MONTEDORO G.F., 1994. *Effect of agronomic and seasonal factors on olive (Olea europaea L.) production and on the qualitative characterization of the oil*. Acta Hort. 356: 239-243.
- SERVILI M., SELVAGGINI R., TATICCHI A., BEGLIOMINI A.L., MONTEDORO G.F., 2000. *Relationships between the volatile compounds evaluated by solid phase microextraction and the thermal treatment of tomato juice: optimization of the blanching parameters*. Food Chem. 71: 407-415.
- SERVILI 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 affect their occurrence in the oil*. J. Chromatogr. A. 1054: 113-127.
- SERVILI M., TATICCHI A., ESPOSTO S., URBANI S., SELVAGGINI R., MONTEDORO G.F., 2007. *Effect of olive stoning on the volatile and phenolic composition of virgin olive Oil*. Agric. Food Chem. 55: 7028-7035.
- SERVILI M., TATICCHI A., ESPOSTO S., URBANI S., SELVAGGINI R., MONTEDORO G.F., 2008. *Influence of decrease in oxygen during malaxation of olive paste on the composition of volatiles and phenolic compounds in virgin olive oil*. J Agr. Food chem. 56: 10048-10055.
- SERVILI M., ESPOSTO S., FABIANI R., URBANI S., TATICCHI A., MARIUCCI F., SELVAGGINI R., MONTEDORO G.F., 2009. *Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and sensory activities according to their chemical structure*. Inflammopharmacol. 17: 76-84.
- SERVILI M., ESPOSTO S., VENEZIANI G., URBANI S., TATICCHI A., DI MAIO, I., SELVAGGINI R., SORDINI B., MONTEDORO G.F., 2011. *Improvement of bioactive phenol content in virgin olive oil with an olive-vegetation water concentrate produced by membrane treatment*. Food Chem. 124: 1308-1315.

Monitoraggio delle caratteristiche di qualità correlate alla *shelf-life* di alcuni prodotti liguri ottenuti dalla cv 'Taggiasca' (olio extra vergine di oliva, olive intere in salamoia, olive denocciolate sott'olio, patè di olive)

Lanza B. *, Di Serio M.G., Giansante L., Di Loreto G., Russi F., Iannucci E. e Di Giacinto L.

Centro per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Città Sant'Angelo (PE)

Monitoring of quality characteristics related to the shelf-life of some Ligurian olive products obtained from cv 'Taggiasca' (extra virgin olive oil, natural olives in brine, pitted olives in oil, olive paste)

Abstract. The quality of extra virgin olive oil and table olives is influenced by many factors that impact on shelf-life as well as on sensory and healthy properties of the products. In the present study four types of products obtained from processing cv 'Taggiasca' have been monitored: monovarietal extra virgin olive oil, natural olives in brine, pitted olives and olive paste preserved in oil of the same variety. The aim of the work was to recreate the conditions of "shelf" monitoring over time (12 months for the extra virgin olive oil and 18 months for table olives, with quarterly sampling, keeping the packs at $18 \leq T \leq 25$ ° C in presence of artificial light and away from heat sources) the trend of main chemico-physical and sensory parameters related to the quality. Regarding extra virgin olive oil, after 1 year of storage, it was observed an organoleptic alteration with fruity, pungent and bitter reducing and rancid defect occurrence. This alteration is accompanied by a decrease in phenolic substances and tocopherols and an increase in primary and secondary oxidation products. The composition of the volatile fraction showed a slight increase of substances related to rancid defect, a constant trend of compounds related to fruity and a slight decrease in alcohols. As regards the various preparations of table olives, in addition to monitoring the quality characteristics relating to the fruits storage, the effect of heat treatment (pasteurization) on covering oil has been assessed. After 12 months of storage, data showed that the covering oil is strongly affected by heat treatment and by contact with broken fruits, with repercussions on the two products where oil was added (olive paste and pitted olives), while the characteristics of olives in brine are unchanged.

Key words: monovarietal extra virgin olive oil, rancid defect, table olives, shelf-life.

Introduzione

La qualità dell'olio extra vergine di oliva e delle olive da tavola è influenzata da numerosi fattori che incidono, oltre che sulla *shelf-life*, sulle proprietà sensoriali e salutistiche dei prodotti. Studi epidemiologici hanno infatti evidenziato come la presenza di alcune sostanze in tali preparati alimentari, come acidi grassi monoinsaturi (Preedy e Watson, 2010) e micro costituenti con ulteriore attività antiossidante, quali i composti fenolici ed i tocoferoli (Bendini *et al.*, 2007), sfavoriscano l'incidenza delle malattie cardiovascolari e delle malattie neurodegenerative nei consumatori.

Preservare per il maggior tempo possibile questo patrimonio di qualità organolettiche e nutrizionali, che rende così peculiari tali prodotti e che ne ha determinato il successo presso i consumatori, diventa quindi il principale obiettivo da perseguire durante la fase di conservazione degli oli extra vergini di oliva (Angerosa *et al.*, 1993) e delle olive da tavola (Unal and Nergiz, 2003).

Ci è sembrato pertanto utile, al fine di garantirne la corretta distribuzione commerciale, valutare il tempo entro il quale le caratteristiche qualitative originarie di oli extra vergini di oliva e di olive da tavola confezionati restano nei limiti stabiliti per la categoria, nelle condizioni di un normale punto di vendita, ricreando le condizioni di "scaffale" e monitorando nel tempo l'andamento dei principali parametri chimici e sensoriali legati alla qualità.

Materiali e metodi

Nel presente lavoro sono state studiate quattro tipologie di prodotti ottenuti dalla lavorazione della cv 'Taggiasca': olio extra vergine di oliva monovarietale (confezionato in bottiglia di vetro verde scuro da 1

* barbara.lanza@entecra.it

litro), olive intere in salamoia trattate con metodo naturale, olive denocciolate e pasta di olive conservate sott'olio della stessa varietà (confezionate in vasetti di vetro dopo pastorizzazione). Il monitoraggio nel tempo è stato effettuato con campionamenti trimestrali e mantenendo le confezioni a $18 \leq T \leq 25$ °C in presenza di luce artificiale e lontano da fonti di calore.

Sui campioni di olio sono stati valutati i seguenti parametri:

- Valutazione organolettica mediante Panel test (Alle. XII del Reg. n. 2568/91/CEE e s.m.)
- Acidità (All. II del Reg. n. 2568/91/CEE e s.m.)
- Numero dei perossidi (All. III del Reg. n. 2568/91/CEE e s.m.)
- Esame spettrofotometrico nell'UV (All. IV del Reg. n. 2568/91/CEE e s.m.)
- Esame spettrofotometrico nel visibile (Cucurachi, 1969)
- Clorofilla (Metodo A.O.C.S. Offic. Tent. Methods. Cc 13 c 50. Dosage conventionnel des chlorophylles)
- Sostanze fenoliche (Documento COI/T.20/Doc. No 29 - 2009)
- Tocoferoli (Documento ISO 9936:2006)
- Componenti volatili a 37 °C (Angerosa *et al.*, 1990)

Sui campioni di olive sono stati valutati i seguenti parametri:

- Valutazione organolettica mediante Panel test (Documento COI/OT/MO No 1/Rev. 1 - 2010)
- Acidità libera della salamoia (Garrido Fernandez *et al.*, 1997)
- Acidità libera della polpa (Garrido Fernandez *et al.*, 1997)
- pH della salamoia (Garrido Fernandez *et al.*, 1997)
- pH della polpa (Garrido Fernandez *et al.*, 1997)
- Concentrazione salina della salamoia (Garrido Fernandez *et al.*, 1997)
- Concentrazione salina della polpa (Garrido Fernandez *et al.*, 1997)
- Sostanze fenoliche totali (Lanza *et al.*, 2010)

Risultati e discussione

Dopo un anno di conservazione, l'olio extra vergine di oliva ha presentato un'alterazione dal punto di vista organolettico, con riduzione del fruttato, amaro e piccante ed insorgenza del difetto di rancido (tab. 1). Tale alterazione è accompagnata da una diminuzione delle sostanze fenoliche e dei tocoferoli (fig. 1) e da un aumento dei prodotti di ossidazione primaria e secondaria (fig. 2). La composizione della frazione volatile ha evidenziato un leggero incremento delle

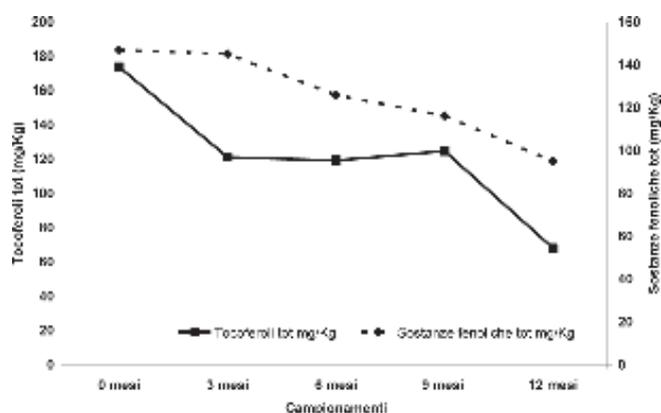


Fig. 1 - Andamento dei tocoferoli e delle sostanze fenoliche nell'olio extra vergine di oliva monovarietale.

Fig. 1 - Trend of tocopherols and phenolic compounds of monovarietal extra virgin olive oil.

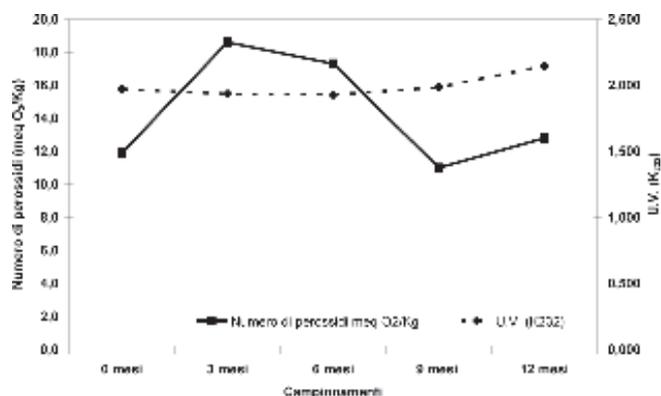


Fig. 2 - Andamento del numero di perossidi e del K₂₃₂ nell'olio extra vergine di oliva monovarietale.

Fig. 2 - Trend of peroxide number and K₂₃₂ of monovarietal extra virgin olive oil.

Tab. 1 - Risultati dell'analisi organolettica dell'olio extra vergine di oliva monovarietale.

Tab. 1 - Results of organoleptic analysis of monovarietal extra virgin olive oil.

Campionamenti	Fruttato		Amaro		Piccante		Difetti (rancido)	
	Mediana	CV%	Mediana	CV%	Mediana	CV%	Mediana	CV%
0 mesi	3,0	11,9	2,0	16,8	3,7	14,1	0,0	0,0
3 mesi	3,1	14,0	2,9	9,0	3,6	8,9	0,0	0,0
6 mesi	2,8	14,3	2,1	10,4	2,9	11,0	0,0	0,0
9 mesi	2,6	4,8	1,9	9,8	2,0	13,9	0,0	0,0
12 mesi	2,3	13,4	1,5	7,1	2,2	6,4	1,5	9,8

Tab. 2 - Sostanze volatili dell'olio extra vergine di oliva monovarietale. Contenuti espressi in mg/kg di 1-nonano (standard interno).
 Tab. 2 - Volatile substances of monovarietal extra virgin olive oil. Results expressed as mg/kg of 1-nonanol (internal standard).

	0 mesi	3 mesi	6 mesi	9 mesi	12 mesi		0 mesi	3 mesi	6 mesi	9 mesi	12 mesi
n-Ottano	1,01	1,28	1,14	1,30	1,25	Acetato di isoamile	0,05	0,04	0,05	0,05	0,04
Acetone	0,19	0,26	0,32	0,39	1,18	Butirrato di propile	0,0	0,03	0,03	0,03	0,03
Ottene 1	0,13	0,16	0,04	0,07	0,04	p-Xilene	0,09	0,13	0,15	0,15	0,17
Ottene 2	0,0	0,03	0,08	0,09	0,10	trans-2-Pentenale	0,01	0,03	0,0	0,0	0,0
Ottene 3	0,02	0,08	0,01	0,0	0,01	etile pentanoato	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05
Butanale	0,03	0,04	0,04	0,04	0,05	1-Butanolo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Etile acetato	3,09	3,82	3,15	4,30	3,98	2-Metile-3-butanolo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,01
n-Nonano	0,03	0,05	0,19	0,41	0,24	1-Penten-3-olo	1,20	1,47	1,29	1,46	1,36
2-Butanone	0,18	0,27	0,41	0,43	0,37	2-Eptanone	0,08	0,02	0,03	0,04	0,02
2-Metilbutanale	0,12	0,22	0,19	0,23	0,18	Eptanale	0,0	0,07	0,0	0,0	0,06
3-Metilbutanale	0,32	0,41	0,05	0,05	0,06	cis-3-Esenale	0,16	0,15	0,11	0,11	0,07
α -Nonene	0,03	0,07	0,04	0,04	0,05	Alcole iso-amilico	0,93	1,04	0,86	0,94	0,83
iso-Propanolo	0,04	0,05	0,20	0,12	0,24	trans-2-Esenale	30,12	36,30	33,57	33,92	31,92
Etanolo	13,66	17,34	13,04	17,23	12,88	Butile butirrato	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2-Etilfurano	0,17	0,23	0,04	0,03	0,07	2-Pentilfura	0,0	0,0	0,02	0,01	0,03
Pentene dimero 1	0,04	0,07	0,04	0,03	0,02	Esanoato di etile	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Propionato di etile	0,0	0,0	0,0	0,0	0,01	1-Pentanolo	0,14	0,15	0,12	0,13	0,14
iso-Butirrato di etile	0,0	0,0	0,13	0,13	0,12	Esile acetato	0,01	0,0	0,0	0,0	0,0
Pentene dimero 2	0,07	0,09	0,05	0,03	0,04	2-Ottanone	0,41	0,41	0,36	0,39	0,36
2-Pentanone	1,81	2,32	2,02	2,35	2,66	Ottanale	0,01	0,01	0,03	0,07	0,04
Pentanale	0,0	0,0	0,0	0,0	0,09	trans-2-Penten-1-olo	0,88	0,89	0,81	0,85	0,79
Butirrato di metile	0,07	0,08	0,13	0,12	0,08	cis-3-Esenile acetato	0,11	0,13	0,10	0,11	0,11
Pentene dimero 3	0,94	0,99	0,90	0,92	0,84	Esanoato di propile	0,0	0,07	0,0	0,0	0,0
2-Metilbutirrato di metile	0,0	0,0	0,19	0,18	0,15	cis-2-Penten-1-olo	0,65	0,65	0,65	0,70	0,67
Pentene dimero 9	0,22	0,24	0,02	0,02	0,01	trans-2-Eptenale	0,03	0,03	0,02	0,03	0,02
α -Pinene	0,80	0,86	0,79	0,84	0,77	6-Metil-5-epten-2-one	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03
Isobutile acetato	0,0	0,0	0,01	0,02	0,01	1-Esanolo	2,40	2,36	2,11	2,20	1,98
2-Butanolo	0,01	0,03	0,03	0,02	0,03	trans-3-Esen-1-olo	0,07	0,07	0,06	0,07	0,06
1-Penten-3-one	0,40	0,56	0,46	0,48	0,40	cis-3-Esen-1-olo	1,62	1,64	1,45	1,54	1,40
Butirrato di etile	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	Nonanale	0,0	0,0	0,03	0,02	0,13
1-Propanolo	0,13	0,08	0,07	0,10	0,04	trans-2-Esen-1-olo	5,62	5,65	5,14	5,38	4,84
2-Metil-3-buten-2-olo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	cis-2-Esen-1-olo	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01
3-Esanone	0,12	0,15	0,13	0,11	0,13	trans-2-Ottanale	0,0	0,0	0,0	0,0	0,01
Pentene dimero 8	0,40	0,41	0,38	0,39	0,36	cis-1-Otten-3-olo	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03
iso-Pentanoato di etile	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1-Eptanolo	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01
Pentene dimero 5	0,64	0,66	0,59	0,61	0,56	Ac. Acetico	0,01	0,19	0,34	0,20	0,12
Pentene dimero 6	0,36	0,38	0,34	0,36	0,33	trans,trans-2.4-Eptadienale	0,04	0,03	0,01	0,01	0,02
Pentene dimero 7	0,04	0,04	0,07	0,04	0,07	α -Copaene	0,01	0,0	0,0	0,0	0,01
Esanale	1,86	2,69	2,05	2,74	2,96	Ac. Propionico	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02
β -Pinene = 0.00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	Ac. Butirrico	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
iso-Butanolo	0,28	0,34	0,28	0,31	0,27	Valencene	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2-Metil-2-pentanolo	0,0	0,03	0,09	0,09	0,09	Ac. Pentanoico	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3-Pentanolo	0,07	0,09	0,02	0,01	0,02	Ac. Esanoico	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Acetato di isoamile	0,05	0,04	0,05	0,05	0,04	Ac. Eptanoico	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
						t-2-Esenale/Totale (%)	72,06	86,09	75,19	83,21	76,16

Tab. 3 - Andamento del pH e dell'acidità libera delle olive intere in salamoia.

Tab. 3 - Trend of pH and free acidity of natural olives in brine.

Campionamento	pH		Acidità	
	polpa	salamoia	polpa (% ac. citrico)	salamoia (% ac. lattico)
0 mesi	4,45	4,35	0,32	0,17
3 mesi	4,50	4,27	0,29	0,22
6 mesi	4,31	4,20	0,30	0,21
9 mesi	4,13	4,06	0,30	0,24
12 mesi	4,12	4,07	0,30	0,23

sostanze correlate al difetto di rancido, un andamento costante dei composti correlati al fruttato e una leggera diminuzione degli alcoli (tab. 2).

Nel corso del tempo le olive intere in salamoia hanno presentato una leggera diminuzione del pH e un correlato aumento dell'acidità, sia nella polpa che nella salamoia (tab. 3). La determinazione di NaCl ha evidenziato un andamento inversamente proporzionale con il passaggio del sale dal frutto al liquido di governo, probabilmente in seguito a scambi osmotici (fig. 3). Il contenuto in sostanze fenoliche, misurato mediante Folin-Ciocalteu ed espresso in mg/kg di ac. caffeico, diminuisce nel tempo (da 1.662 a 1.451 dopo 12 mesi). L'andamento dei parametri analitici correlati alle sensazioni (pH, acidità, sostanze fenoliche e NaCl) si riscontra anche a livello di analisi organolettica (aumento della percezione della sensazione di acido, diminuzione della sensazione di amaro e di salato) (tab. 4).

Per quanto riguarda le preparazioni di olive da tavola in olio, oltre a monitorare le caratteristiche di qualità legate alla conservazione dei frutti, è stato valutato l'effetto del trattamento termico (pasteurizzazione) sull'olio "di governo". Tale effetto viene riscontrato dal confronto tra le caratteristiche dell'olio di governo prima della commistione con le olive (T.Q.) e quelle dell'olio di governo subito dopo il trattamento termico (0 mesi). L'esame dei dati (tab. 5) mostra un incremento dell'acidità libera, una diminuzione dei prodotti di ossidazione primaria con formazione di prodotti di ossidazione secondaria, una dimi-

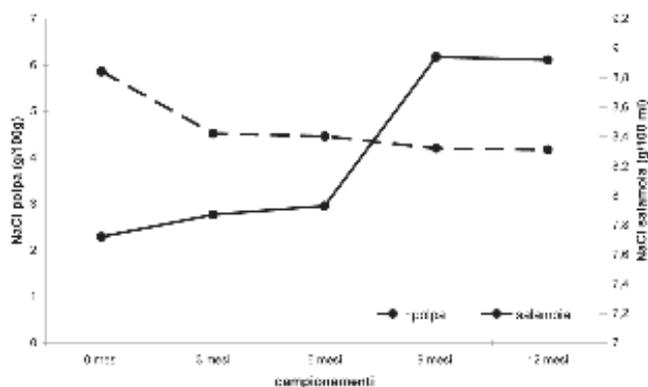


Fig. 3 - Andamento della concentrazione salina in olive intere in salamoia.

Fig. 3 - Trend of NaCl concentration in natural olives in brine.

nuzione degli antiossidanti naturali, un aumento dei carotenoidi e delle clorofille nell'olio di governo della pasta di olive ed infine una degradazione dei soli carotenoidi nell'olio di governo delle olive denocciolate. Dopo un anno dalla conservazione, l'olio di governo risulta fortemente alterato dal contatto con il frutto non integro, e, avendo subito una riduzione della componente antiossidante dovuta al trattamento termico, presenta un quadro analitico descrittivo di uno stato ossidativo avanzato, con ripercussioni su uno dei due prodotti dove è stato aggiunto (olive denocciolate sott'olio) (tab. 5). L'analisi organolettica dei due prodotti, in effetti, ha evidenziato l'insorgenza del difetto di rancido nelle olive denocciolate sott'olio dopo 9 mesi di conservazione (tab. 6), mentre la pasta di olive permane di qualità extra anche dopo 12 mesi di conservazione (tab. 7).

Conclusioni

I risultati ottenuti hanno permesso di stabilire che l'olio extra vergine di oliva monovarietale studiato, confezionato in bottiglie di vetro verde scuro da 1 litro, con un contenuto iniziale medio di antiossidanti naturali, ha mantenuto tutte le sue caratteristiche chimico-fisiche, chimiche e sensoriali entro gli intervalli propri della categoria degli extra durante i primi nove mesi di conservazione. Solo nell'ultimo campiona-

Tab. 4 - Risultati dell'analisi organolettica delle olive intere in salamoia.

Tab. 4 - Results of organoleptic analysis of natural olives in brine

Campionamento	Salato		Amaro		Acido		Durezza		Difetti	
	Mediana	CV%	Mediana	CV%	Mediana	CV%	Mediana	CV%	Mediana	CV%
0 mesi	5,9	5,2	5,0	7,4	3,2	17,4	3,8	12,2	1,0	0,0
3 mesi	5,2	9,4	4,5	9,9	2,7	19,1	3,6	14,0	1,0	0,0
6 mesi	5,2	8,2	4,5	10,2	2,8	18,1	3,5	9,9	1,0	0,0
9 mesi	4,9	6,3	3,4	13,8	2,6	14,6	3,7	15,4	1,0	0,0
12 mesi	5,4	10,8	3,2	17,2	2,7	17,7	3,4	10,9	1,0	0,0

Tab. 5 - Effetto dei trattamenti di processo e della conservazione sull'olio di governo. T.Q. = olio prima del trattamento tecnologico.
 Tab. 5 - Effect of processing treatments and storage on covering oil. T.Q. = olive oil before treatment.

Parametri	Olio di governo delle olive denocciolate						Olio di governo della pasta di olive					
	T.Q.	0 mesi	3 mesi	6 mesi	9 mesi	12 mesi	T.Q.	0 mesi	3 mesi	6 mesi	9 mesi	12 mesi
Acidità libera (%)	0,27	0,80	0,54	0,55	0,63	0,65	0,27	1,08	1,22	1,28	1,30	1,37
Numero di perossidi (meq O ₂ /kg)	9,7	11,6	15,0	5,9	5,6	2,6	10,0	9,7	9,3	5,6	5,1	1,4
Spettrofotometria U.V.												
K232	2,1111	2,048	1,742	1,700	1,654	1,630	2,101	1,948	1,508	1,437	1,473	1,443
K270	0,130	0,242	0,252	0,276	0,281	0,312	0,125	0,152	0,197	0,189	0,208	0,201
ΔK	-0,001	0,012	0,009	0,011	0,012	0,014	-0,002	0,005	0,006	0,007	0,008	0,008
Spettrofotometria visibile												
A414	1,224	1,149	1,032	1,005	0,936	0,898	1,243	2,387	2,338	2,339	2,345	2,387
A450	0,908	0,731	0,642	0,626	0,574	0,565	0,918	1,699	1,621	1,633	1,637	1,656
A477	0,705	0,571	0,510	0,499	0,455	0,440	0,713	1,265	1,212	1,218	1,228	1,280
A535	0,080	0,081	0,074	0,083	0,064	0,075	0,083	0,250	0,225	0,222	0,234	0,270
A670	0,344	0,345	0,311	0,303	0,271	0,255	0,353	1,024	0,971	0,936	0,927	0,943
Clorofilla (mg/kg)	6	6	5	5	4	4	6	16	15	15	15	14
Tocoferoli totali (mg/kg)	218	198	150	158	155	107	222	104	89	96	93	50
Sostanze fenoliche totali (mg/kg)	264	207	169	187	144	130	245	151	119	122	108	111

Tab. 6 - Risultati dell'analisi organolettica delle olive denocciolate sott'olio.
 Tab. 6 - Results of organoleptic analysis of pitted olives in olive oil.

Campionamento	Salato		Amaro		Acido		Durezza		Difetti (rancido)	
	Mediana	CV%	Mediana	CV%	Mediana	CV%	Mediana	CV%	Mediana	CV%
0 mesi	4,2	9,2	3,4	12,3	3,2	18,3	4,4	14,7	1,0	0,0
3 mesi	3,7	17,4	3,6	13,2	3,9	12,5	3,8	18,4	1,0	0,0
6 mesi	3,6	10,5	3,7	12,1	3,7	19,6	3,2	11,8	1,0	0,0
9 mesi	3,6	6,4	3,5	4,4	2,5	9,3	3,5	11,5	2,7	19,4
12 mesi	4,5	14,4	3,6	13,2	2,6	18,3	3,1	9,5	2,7	14,8

Tab. 7 - Risultati dell'analisi organolettica della pasta di olive.
 Tab. 7 - Results of organoleptic analysis of olive paste.

Campionamento	Salato		Amaro		Acido		Difetti	
	Mediana	CV%	Mediana	CV%	Mediana	CV%	Mediana	CV%
0 mesi	4,9	3,8	4,4	4,6	3,2	15,0	1,0	0,0
3 mesi	5,7	16,0	4,0	17,6	3,1	16,4	1,0	0,0
6 mesi	5,3	8,1	4,3	9,3	3,7	12,8	1,0	0,0
9 mesi	5,6	4,2	4,0	10,8	3,8	16,6	1,0	0,0
12 mesi	5,5	5,6	4,5	11,3	4,4	19,6	1,0	0,0

mento, al dodicesimo mese, il prodotto ha subito un declassamento ad "olio di oliva vergine" ad opera della valutazione sensoriale che ha evidenziato un leggero difetto di "rancido".

Per quanto riguarda le diverse preparazioni di olive da tavola, i dati, dopo un anno dalla conservazione, evidenziano come le olive intere in salamoia e la pasta di olive rimangono di qualità "extra" dopo 12 mesi di conservazione, mentre, a causa della forte alterazione ossidativa dell'olio di governo, le olive denocciolate sott'olio hanno subito un declassamento per l'insorgenza del difetto di "rancido".

Riassunto

La qualità dell'olio extra vergine di oliva e delle olive da tavola è influenzata da numerosi fattori che incidono, oltre che sulla shelf-life, sulle proprietà sensoriali e salutistiche dei prodotti. Nel presente lavoro sono state monitorate quattro tipologie di prodotti ottenuti dalla lavorazione della cv 'Taggiasca': olio extra vergine di oliva monovarietale, olive intere in salamoia trattate con metodo naturale, olive denocciolate e pasta di olive conservate sott'olio della stessa varietà. Lo scopo è stato quello di ricreare le condizio-

ni di “scaffale” monitorando nel tempo (12 mesi per l’olio extra vergine di oliva e 18 mesi per le olive da tavola, con campionamenti trimestrali, mantenendo le confezioni a $18 \leq T \leq 25$ °C in presenza di luce artificiale e lontano da fonti di calore) l’andamento dei principali parametri chimici e sensoriali legati alla qualità. Per quanto riguarda l’olio extra vergine di oliva, dopo un anno di conservazione, si è osservata un’alterazione dal punto di vista organolettico, con riduzione del fruttato, amaro e piccante ed insorgenza del difetto di rancido. Tale alterazione è accompagnata da una diminuzione delle sostanze fenoliche e dei tocoferoli e da un aumento dei prodotti di ossidazione primaria e secondaria. La composizione della frazione volatile ha evidenziato un leggero incremento delle sostanze correlate al difetto di rancido, un andamento costante dei composti correlati al fruttato e da una leggera diminuzione degli alcoli. Per quanto riguarda le diverse preparazioni di olive da tavola, oltre a monitorare le caratteristiche di qualità legate alla conservazione dei frutti, è stato valutato l’effetto del trattamento termico (pasteurizzazione) sull’olio “di governo”. I dati dopo un anno dalla conservazione evidenziano come l’olio di governo sia fortemente alterato dal trattamento termico e dal contatto con il frutto non integro, con ripercussioni sui due prodotti dove è stato aggiunto (pasta di olive e olive denocciolate), mentre sembrano rimanere inalterate le caratteristiche delle olive in salamoia.

Parole chiave: olio extra vergine di oliva monovarietale, difetto di rancido, olive da tavola, *shelf-life*.

Bibliografia

- ANGEROSA F., DI GIACINTO L., SOLINAS M., 1990. *Influenza dello stoccaggio in massa delle olive sull’aroma degli oli di risulta: valutazione del difetto di “riscaldamento” mediante analisi HPLC e GLC dei componenti volatili*. Riv. Merceologia, 29: 275-94
- ANGEROSA F., DI GIACINTO L., DE MATTIA G. 1993. *Conservabilità degli oli extra-vergini di oliva confezionati. Nota I*. Rivista di Merceologia. 32: 243-59.
- BENDINI A., CERRETANI L., CARRASCO-PANCORBO A., GÓMEZ-CARAVACA A.M., SEGURA-CARRETERO A., FERNANDEZ-GUTIERREZ A., LERKER G., 2007. *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: 1679-719.
- CUCURACHI A., 1969. *L’esame nel visibile degli oli d’oliva vergini, dei rettificati e delle miscele*. La rivista italiana delle sostanze grasse. XLVI: 449-58.
- GARRIDO FERNANDEZ A., FERNANDEZ DIEZ M.J., ADAMS M.R., 1997. *Table Olives. Production and Processing*. London, UK: Chapman & Hall.
- LANZA B., DI SERIO M.G., IANNUCCI E., RUSSI F., MARFISI P., 2010. *Nutritional, textural and sensorial characterization of Italian table olives (Olea europaea L. cv. “Intosso d’Abruzzo”)*. International Journal of Food Science & Technology, 45: 67-74.
- PREEDY V., WATSON R., 2010. *Olives and olive oil in health and disease prevention*. Ed. Academic press.
- UNAL K., NERGIZ C., 2003. *The effect of table olive preparing methods and storage on the composition and nutritive value of olives*. Grasas y Aceites. 54: 71-6.

Piattaforme innovative per il recupero eco-compatibile di principi attivi da drupe

Romano E.^{1,2*}, Benincasa C.¹, Perri E.¹ e Sindona G.²

¹ Centro per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia, Rende (CS)

² Dipartimento di Chimica, Università della Calabria

Innovative platform for the recovery of eco-active compounds from olives

Abstract. The purpose of this research was the monitoring of the concentration of some phenolic compounds of high antioxidant power (oleuropein, hydroxytyrosol, tyrosol, verbascoside, luteolin and rutin) accumulated during the debittering process of olives in aqueous solutions by HPLC-MS/MS. From the results obtained it was possible to observe that these bioactive compounds were present in a very interesting amount already from the first three days of treatment. These aqueous solutions can find direct application in cosmetics and used as raw materials for the production of nutraceuticals.

Key words: table olives, phenolic compounds, tandem mass spectrometry.

Introduzione

La filiera dell'olivo comprende processi produttivi che prevedono la deamarizzazione delle drupe prima della loro trasformazione in olive da mensa, nelle diverse tipologie di prodotto e di processo.

I protocolli tradizionali prevedevano l'esposizione del frutto all'azione estrattiva dell'acqua, che procurava l'addolcimento per semplice estrazione di quei composti fenolici che causano un sapore non gradito al consumatore. Nella pratica industriale tale processo viene accelerato attraverso l'uso di soluzioni acquose fortemente alcaline. Questo comporta l'onere aggiuntivo dello smaltimento dei reflui.

In un'ottica di recupero di risorse e di sostenibilità dei processi produttivi il ritorno a protocolli eco-compatibili può offrire una migliore qualità del prodotto abbassando i costi di smaltimento dei reflui attraverso il recupero di nutraceutici e nutricosmeceutici ad alto valore aggiunto.

Si è ritenuto, pertanto, utile verificare il rilascio in acqua di composti fenolici, noti per il loro potere antiossidante, da parte di drupe (De Nino *et al.*, 2008; Di Donna *et al.*, 2007).

Materiali e metodi

Olive di cv Coratina sono state raccolte a mano nel mese di novembre durante l'anno di raccolta 2010 in un oliveto situato in Basilicata e immediatamente conservate a -25 °C fino al momento dell'analisi. Tre diverse tipologie di olive sono state prese in considerazione: olive intere, snocciolate e schiacciate. Lo scopo è stato quello di valutare l'influenza del nocciolo nei processi di deamarizzazione delle stesse. A tal proposito, una quantità di olive (12 g) sono state collocate in un recipiente munito di tappo in cui è stata aggiunta acqua pura (100 ml). Il processo di macerazione è stato condotto al buio a una temperatura di 4 °C, tranne per il primo giorno quando le olive sono state sottoposte a due shock termici causati in un primo momento passando da -25 °C a temperatura ambiente in soluzione acquosa e poi per essere congelati di nuovo per promuovere la disintegrazione delle membrane e il rilascio di eventuali altri composti bioattivi. Ogni giorno, per una durata complessiva di 10 giorni, aliquote delle soluzioni acquose sono state prelevate, controllato il pH, ed analizzate per HPLC/MS/MS.

Oleuropeina, idrossitirosolo, tirosolo, verbascoside, luteolina e rutina sono stati scelti come marker attivi del processo di deamarizzazione delle olive. Gli standard certificati sono stati acquistati da Extrasynthese (Z.I Lyon Nord B.P 62 69726 Genay Cedex France) e Sigma-Aldrich (Riedel-de Haën, Laborchemikalien, Seelze). I solventi utilizzati: metanolo, etanolo, acido formico sono stati acquistati da VWR (VWR International s.r.l., Milano); le soluzioni acquose sono state preparate utilizzando acqua ultrapura, con una resistività di 18,2 MΩ cm, ottenuta da un sistema Milli-Q plus system (Millipore, Bedford, MA, USA). Il monitoraggio giornaliero della concen-

* elvira.romano@unical.it

Tab. 1 - Contenuto medio in composti fenolici (mg/kg) ottenuti da macerazione in acqua di olive intere (A), olive schiacciate (B) e denocciolate (C). La lettera H indica l'utilizzo dell'acqua come solvente; i numeri 1-10 i giorni di sperimentazione.

Tab. 1 - The listed values, expressed in mg/kg are the average values obtained from three replicates. The letters A, B and C are for whole, crushed and pitted olives respectively. The letter H is for water solution. The numbers 1 to 10 indicate the day of the experimentation.

Composto	Campione	Media (SD)	RSD %	Campione	Media (SD)	RSD %	Campione	Media (SD)	RSD %
Tyrosol	AH1	9,30 (0,02)	0.20	BH1	24,93 (0,04)	0.17	CH1	24,23 (0,22)	0.89
	AH2	8,44 (0,00)	0.04	BH2	26,60 (0,34)	1.27	CH2	34,01 (0,04)	0.12
	AH3	11,58 (0,05)	0.43	BH3	41,75 (0,62)	1.48	CH3	30,67 (0,05)	0.16
	AH4	13,24 (0,08)	0.63	BH4	48,90 (0,03)	0.06	CH4	2839 (0,01)	0.05
	AH5	19,83 (0,04)	0.22	BH5	61,09 (0,39)	0.64	CH5	37,82 (0,20)	0.52
	AH6	22,97 (0,17)	0.72	BH6	72,60 (0,83)	1.14	CH6	40,14 (0,66)	1.64
	AH7	28,10 (0,03)	0.11	BH7	97,80 (0,00)	0.00	CH7	50,22 (0,24)	0.48
	AH8	31,17 (0,08)	0.26	BH8	99,56 (2,49)	2.50	CH8	75,15 (0,19)	0.26
	AH9	36,04 (0,32)	0.90	BH9	78,17 (1,24)	1.59	CH9	83,73 (2,49)	2.97
	AH10	41,49 (0,01)	0.03	BH10	65,28 (2,07)	3.17	CH10	100,14 (0,05)	0.05
Hydroxytyrosol	AH1	26,32 (0,11)	0.43	BH1	260,76 (3,96)	1.50	CH1	339,31 (15,71)	4.63
	AH2	20,79 (0,00)	0.00	BH2	188,62 (2,97)	1.60	CH2	317,50 (0,99)	0.31
	AH3	39,77 (0,30)	0.75	BH3	163,40 (4,95)	3.00	CH3	286,68 (2,97)	1.04
	AH4	55,69 (1,61)	2.90	BH4	140,99 (4,95)	3.50	CH4	275,47 (2,97)	1.08
	AH5	72,76 (0,40)	0.54	BH5	104,51 (5,45)	5.20	CH5	239,14 (8,78)	3.67
	AH6	91,19 (3,45)	3.79	BH6	47,62 (1,00)	2.10	CH6	178,81 (14,86)	8.31
	AH7	111,32 (4,12)	3.70	BH7	13,45 (0,00)	0.00	CH7	113,53 (3,44)	3.03
	AH8	127,89 (5,84)	4.57	BH8	4,94 (0,04)	0.80	CH8	72,20 (0,79)	1.10
	AH9	145,19 (4,95)	3.41	BH9	3,26 (0,00)	0.00	CH9	33,05 (0,13)	0.38
	AH10	186,10 (8,50)	4.57	BH10	2,15 (0,00)	0.10	CH10	13,84 (0,10)	0.74
Oleuropein	AH 1	423,19 (11,22)	2.65	BH1	1118 (25)	2.20	CH1	1237 (10)	0.83
	AH 2	288,51 (13,73)	4.76	BH2	721,82 (0,00)	0.00	CH2	943,34 (38,72)	4.10
	AH 3	273,32 (10,36)	3.86	BH3	481,34 (23,86)	4.96	CH3	716,85 (14,08)	1.96
	AH 4	276,31 (7,74)	2.80	BH4	392,79 (14,08)	3.58	CH4	609,82 (17,60)	2.89
	AH 5	259,63 (11,62)	4.47	BH5	322,41 (11,54)	3.58	CH5	565,11 (17,47)	3.09
	AH 6	252,17 (4,58)	1.81	BH6	167,01 (8,15)	4.88	CH6	427,64 (15,49)	3.62
	AH 7	245,87 (11,36)	4.62	BH7	47,39 (1,92)	4.05	CH7	305,72 (11,20)	3.66
	AH 8	227,38 (7,25)	3.19	BH8	32,83 (0,38)	1.15	CH8	216,33 (4,58)	2.12
	AH 9	228,03 (7,04)	3.09	BH9	14,94 (0,38)	2.52	CH9	126,73 (1,06)	0.83
	AH 10	227,07 (10,15)	4.47	BH10	11,51 (0,51)	4.46	CH10	60,27 (0,04)	0.06
Rutin	AH1	28,18 (0,27)	0.76	BH1	75,78 (0,94)	1.25	CH1	132,43 (7,55)	5.70
	AH2	35,20 (0,20)	0.72	BH2	109,75 (4,40)	4.01	CH2	179,11 (3,14)	1.76
	AH3	36,23 (0,05)	0.13	BH3	94,58 (0,08)	0.08	CH3	162,21 (5,66)	3.49
	AH4	39,07 (0,30)	0.77	BH4	97,36 (1,18)	1.21	CH4	167,55 (4,40)	2.63
	AH5	37,89 (0,05)	0.12	BH5	96,11 (0,20)	0.21	CH5	159,99 (8,80)	5.50
	AH6	39,61 (0,09)	0.24	BH6	80,05 (0,66)	0.83	CH6	146,65 (1,26)	0.86
	AH7	42,30 (0,41)	0.97	BH7	66,28 (1,75)	2.63	CH7	133,76 (5,04)	3.77
	AH8	39,99 (0,82)	2.04	BH8	53,63 (0,02)	0.03	CH8	135,54 (10,69)	7.89
	AH9	41,37 (0,09)	0.23	BH9	40,69 (0,80)	1.97	CH9	119,09 (1,26)	1.06
	AH10	44,27 (0,05)	0.10	BH10	30,97 (0,19)	0.60	CH10	101,30 (55,03)	4.97
Luteolin	AH1	71,23 (0,87)	1.22	BH1	126,17 (4,78)	3.79	CH1	140,18 (5,84)	4.17
	AH2	78,89 (1,24)	1.57	BH2	201,80 (8,54)	4.23	CH2	321,67 (8,54)	2.66
	AH3	128,88 (1,11)	0.86	BH3	198,42 (3,08)	1.55	CH3	274,08 (4,76)	1.74
	AH4	165,06 (2,42)	1.46	BH4	236,60 (2,09)	0.88	CH4	296,29 (0,35)	0.12
	AH5	171,61 (0,24)	0.14	BH5	254,52 (2,93)	1.15	CH5	307,41 (2,64)	0.86
	AH6	177,88 (0,00)	0.00	BH6	217,75 (14,70)	6.75	CH6	256,90 (6,33)	2.46
	AH7	190,06 (13,54)	7.12	BH7	200,10 (0,31)	0.15	CH7	247,24 (0,65)	0.26
	AH8	187,55 (6,15)	3.28	BH8	199,63 (10,94)	5.48	CH8	220,93 (0,33)	0.15
	AH9	191,17 (2,39)	1.25	BH9	202,77 (14,01)	6.91	CH9	301,22 (11,49)	3.81
	AH10	229,35 (0,34)	0.15	BH10	202,29 (5,13)	2.53	CH10	242,01 (9,06)	3.74
Verbascoside	AH1	195,97 (4,81)	1.29	BH1	801,61 (20,42)	2.55	CH1	1319 (55)	4.19
	AH2	203,38 (2,62)	2.45	BH2	523,73 (9,77)	1.87	CH2	1140 (2)	0.21
	AH3	235,89 (15,62)	6.62	BH3	201,92 (10,81)	5.35	CH3	772,73 (27,63)	3.58
	AH4	279,21 (0,00)	0.00	BH4	123,18 (3,79)	3.08	CH4	568,87 (10,81)	1.90
	AH5	296,11 (0,13)	0.04	BH5	75,27 (1,91)	2.54	CH5	374,06 (12,42)	3.32
	AH6	305,55 (22,82)	7.47	BH6	14,32 (0,02)	0.13	CH6	178,30 (0,25)	0.14
	AH7	314,04 (32,43)	10.33	BH7	4,01 (0,01)	0.18	CH7	60,68 (0,04)	0.06
	AH8	328,48 (12,01)	3.66	BH8	1,99 (0,00)	0.00	CH8	25,48 (0,13)	0.52
	AH9	332,73 (1,20)	0.36	BH9	1,15 (0,00)	0.00	CH9	8,01 (0,03)	0.43
	AH10	345,01 (0,16)	0.05	BH10	0,99 (0,00)	0.00	CH10	4,11 (0,00)	0.07

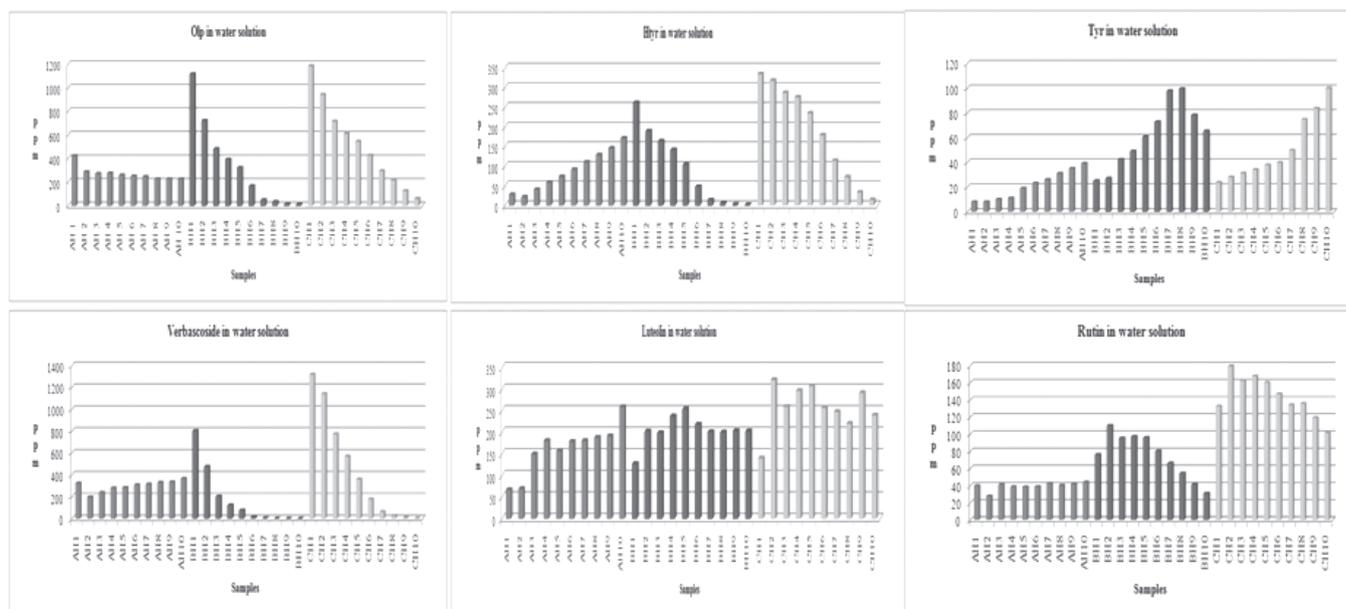


Fig. 1 - Diagrammi a barre del contenuto medio in composti fenolici (mg/kg) ottenuti da macerazione in acqua di olive intere (A), olive schiacciate (B) e denocciolate (C). La lettera H indica l'utilizzo dell'acqua come solvente; i numeri 1-10 i giorni di sperimentazione.
 Fig. 1 - Trend of the debittering process in whole olives (A), crushed olives (B) and pitted olives (C). Bar charts show the decay of bioactive antioxidant compounds in the three thesis. The number 1 to 10 indicate the day of the experimentation.

trazione di queste sostanze accumulatisi durante il processo di demarizzazione è stato eseguito utilizzando uno spettrometro di massa API 4000 Q-trap LC/MS/MS system (Applied Biosystems) in modalità MRM (*Multiple Reaction Monitoring*) interfacciato ad un sistema HPLC (Agilent Technologies 1200 series) munito di colonna capillare XDB Eclipse-C8 (5 μ m, 150 \times 4,6 mm) (Benincasa *et al.*, 2003; Perri *et al.*, 1999).

Risultati e discussioni

La perdita dell'integrità delle membrane favorisce un rapido rilascio in soluzione acquosa di composti bioattivi antiossidanti, ancora più marcato nelle olive denocciolate. Concentrazioni interessanti di tali composti sono state constatate già nei primi tre giorni di sperimentazione (fig. 1 e tab. 1). L'utilizzo di acqua come solvente di estrazione ne permette un possibile utilizzo in campo farmaceutico e cosmetico.

Riassunto

Lo scopo di questa ricerca è stato quello di monitorare la concentrazione di alcuni composti fenolici ad alto potere antiossidante (oleuropeina, idrossitirosolo, tirosolo, verbascoside, luteolina e rutina) accumulatisi durante il processo di demarizzazione delle drupe in

acqua. Le analisi, condotte per HPLC-MS/MS, hanno dato risultati interessanti: infatti, già dai primi giorni di trattamento, i composti bioattivi sotto analisi erano presenti in concentrazioni molto elevate. Queste soluzioni acquose possono trovare diretta applicazione nella cosmesi in quanto i composti attivi biofenolici in esse contenuti possono essere utilizzati come materie prime per la produzione di nutraceutici.

Parole chiave: olive da tavola, composti antiossidanti, HPLC-MS/MS.

Bibliografia

- BENINCASA C., DE NINO A., LOMBARDO N., PERRI E., SINDONA G., TAGARELLI A., 2003. *Assay of active components of virgin olive oils from southern italian regions by some-gc/ion trap mass spectrometry*. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 51: 733-741.
- DE NINO A., DI DONNA L., MAZZOTTI F., SAJJAD A., SINDONA G., PERRI E., RUSSO A., DE NAPOLI L., FILICE L., 2008. *Oleuropein Expression in Olive Oils Produced from Drupes Stoned in a Spring Pitting Apparatus (SPIA)*. Food Chem., 106: 677-684.
- DI DONNA L., MAZZOTTI F., NAPOLI A., SAJJAD A., SALERNO R., SINDONA G., 2007. *Secondary metabolism of olive secoroides. New micro components detected in drupes by electrospray ionization and high resolution tandem mass spectrometry*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 21: 273-278.
- PERRI E., RAFFAELLI A., SINDONA G., 1999. *Quantitation of oleuropein in virgin olive oil by ionspray mass spectrometry-selective reaction monitoring*. J. Agric. Food Chem., 47: 4156-4160.

Rilascio transdermico di composti fenolici dell'olio d'oliva mediante sistemi niosomiali

Aiello R.¹, Tavano L.¹, Benincasa C.², Muzzalupo R.¹ e Muzzalupo I.^{2*}

¹ Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università della Calabria

² Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Rende (CS)

Transdermal release of phenolic compounds of olive oil by niosomes systems

Abstract. Non-ionic surfactant based vesicles (niosomes) are formed from the self-assembly of non-ionic amphiphiles in aqueous media resulting in closed bilayer structures. Niosome structure offers place to accommodate hydrophilic, lipophilic as well as amphiphilic drugs. Many drugs such as estradiol and diethanol have been successfully encapsulated in niosomes for topical application and these systems have been reported to give a considerable drug release. Moreover, in several studies it has been reported that compared to conventional dosage forms, vesicular formulations exhibited an enhanced cutaneous drug bioavailability. In this study, niosomes obtained from commercial surfactants, were prepared by film hydration method for encapsulation of antioxidants phenolic compounds extracted from olive oil (i.e. tyrosol, oleuropein). The aim of the present work is to study the physico-chemical properties of niosomes obtained from commercial surfactants to be applied topically for the release of antioxidant phenolic extracted from virgin olive oil. The vesicular systems were characterized by size, shape and drug entrapment efficiency. The enhancing effect of niosomes on the *ex vivo* percutaneous penetration of antioxidants were investigated using a Franz-type diffusion cells. Percutaneous permeation studies were performed to evaluate the real potential as transdermal drug delivery systems and to identify the best formulation for the delivery of these antioxidants.

Key words: antioxidants, niosomes, percutaneous permeation, virgin olive oils.

Introduzione

Il rilascio transdermico di farmaci rappresenta un'efficace via di somministrazione per i composti a

basso peso molecolare, per gli agenti terapeutici che non risultano stabili ambiente del tratto intestinale e/o che sono soggetti a forte metabolismo di primo passaggio da parte del fegato (Barry, 2001). La somministrazione dermatologica, sia nella terapia topica che in quella transdermica, risulta fortemente dipendente dallo strato più esterno della pelle, cioè lo strato corneo (SC) che controlla l'assorbimento dei principi attivi. Il successo di una somministrazione transdermica dipende dalla capacità del farmaco di permeare la pelle in una quantità sufficiente a mantenere la sua concentrazione terapeutica.

Un farmaco ideale dovrebbe essere sufficientemente lipofilo in modo da superare lo SC, ma anche abbastanza idrofilo da permettere il secondo passaggio nell'epidermide essenziale per esplicare la sua azione sistemica. Tra i diversi metodi fisici e chimici riportati in letteratura per migliorare la permeabilità della membrana, ci sono i sistemi niosomiali (Tavano *et al.*, 2009; Sinico *et al.*, 2005).

I niosomi rappresentano dei sistemi vescicolari ottenuti per aggregazione di tensioattivi non ionici idratati, addizionati di solito con colesterolo come additivo di membrana (Choi *et al.*, 2005). Sono costituiti da uno o più bilayers che include un "core" acquoso. I tensioattivi che costituiscono i bilayers si dispongono con le teste polari rivolte verso il solvente polare e le code idrofobiche dirette verso gli strati più interni del doppio strato in modo tale da costituire una fase idrofobica separata dall'ambiente polare. I niosomi hanno dimensioni di qualche centinaio di nanometri e questa notevole miniaturizzazione aumenta il potere di diffusione delle sostanze all'interno della pelle. In particolare, il rilascio del farmaco diviene dipendente dalle caratteristiche chimico-fisiche della formulazione e non più da quelle del principio attivo.

La particolare struttura dei niosomi garantisce la possibilità di incapsulare sia farmaci idrofili sia lipofili, e la localizzazione della molecola all'interno della vescicola dipenderà dalle sue caratteristiche: i farmaci liposolubili si collocheranno tra le catene idrocarburiche del doppio strato lipidico; i farmaci idrosolubili

* innocenzo.muzzalupo@entecra.it

tenderanno a posizionarsi negli spazi acquosi, mentre i farmaci anfifilici si disporranno con la porzione idrofila rivolta verso il mezzo acquoso e la componente idrofobica inserita all'interno del bilayer (Uchegbu *et al.*, 1998).

Nel presente lavoro è riportato uno studio preliminare della permeazione cutanea di tirosolo (*Tyr*) ed oleuropeina (*Ole*) da sistemi niosomiali ottenuti con tensioattivi non ionici commerciali: Span 60, Tween 60 e PEG 30 dipoliidrossistereato.

Materiali e metodi

Preparazione delle vescicole niosomiali

La metodica utilizzata nella preparazione dei nostri sistemi vescicolari di tipo niosomiale è la TLE (*Thin Layer Evaporation*) (Tavano *et al.*, 2009) che consente di ottenere niosomi multilamellari. I tensioattivi sono stati completamente sciolti in 10 mL di cloroformio ($1 \cdot 10^{-2} M$). Dopo evaporazione sottovuoto del solvente organico il film ottenuto è stato idratato, dipendentemente dal tensioattivo utilizzato, a temperatura ambiente per lo Span 60 e il PEG 30 dipoliidrossistereato mentre per il Tween 60 a 60 °C per 30 min, con 10 ml di soluzione acquosa di *Ole* o *Tyr* ($1 \cdot 10^{-3} M$). Dopo l'idratazione, la sospensione è lasciata equilibrare a 25 °C per una notte per permettere la completa ripartizione del farmaco tra il bilayer lipidico e l'acqua. Piccole vescicole unilamellari sono state ottenute tramite sonicazione in un bagno a ultrasuoni per 30 min (fig. 1). La purificazione dei niosomi è stata realizzata per dialisi esaustiva per 4 ore, usando membrane Visking (20/30), precedentemente trattate secondo il metodo di Fenton (1997).

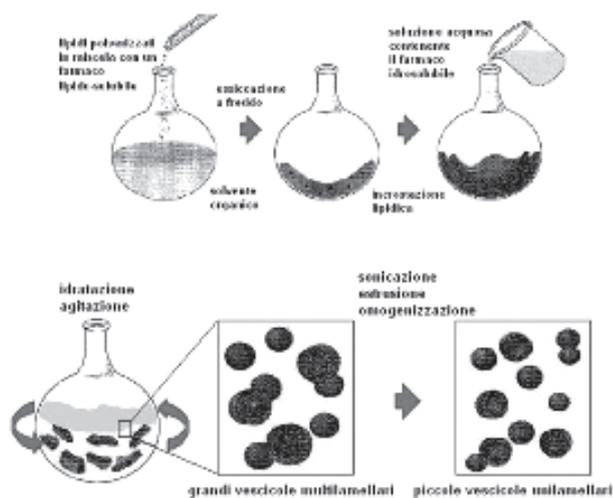


Fig. 1 - Schema del metodo di preparazione dei niosomi.
Fig. 1 - *Scheme of niosomes preparation.*

Analisi dimensionale

Le dimensioni delle vescicole sono state misurate usando il *Dynamic Light Scattering* (DLS, 90 Plus Particle Size Analyzer, Brookhaven Instruments Corporation, New York, USA) a $25,0 \pm 0,1$ °C.

Efficienza di incapsulazione

L'efficienza d'incapsulazione (E%) della *Ole* e del *Tyr* esprime la percentuale di sostanza effettivamente incapsulata nelle vescicole niosomiali rispetto alla quantità iniziale utilizzata per la preparazione delle vescicole. Il metodo utilizzato per valutare l'E% di un farmaco idrofilo consiste nel calcolare mediante spettrofotometro UV il rapporto tra la concentrazione di farmaco contenuto in un dato volume di formulazione niosomiale dializzata e la concentrazione di farmaco totale contenuto nella formulazione non dializzata. Il campione dializzato è stato preparato ponendo in 1-2 ml di soluzione niosomiale in una membrana da dialisi (Visking-dialysis tubing 20/30), posta in un beaker contenente acqua distillata, sotto agitazione costante. A intervalli regolari (1 h) il mezzo acquoso è stato rimosso e poi ripristinato con pari volume di mezzo acquoso fresco. Tale metodica assicura il completo allontanamento del farmaco non incapsulato all'interno dei niosomi e del tensioattivo non coinvolto nella formazione del bilayer. La dialisi è stata condotta per 6 h.

Studi di permeazione cutanea

Gli esperimenti sono stati condotti utilizzando celle di diffusione verticale statiche di Franz per 8 ore a 37 °C attraverso pelle di orecchio di coniglio (fig. 2). Una porzione di pelle circolare (area di contatto $0,416 \text{ cm}^2$) è stata bloccata tra i compartimenti donatore ed accettore. Il compartimento donatore è stato caricato con appropriati volumi di campione e quello accettore è stato riempito con 5,5 ml di acqua distillata. Ad intervalli regolari, il compartimento accettore viene sostituito completamente con soluzione fresca di acqua per garantire le condizioni sink. La quantità

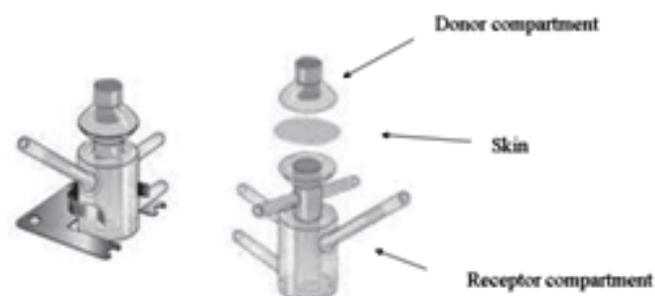


Fig. 2 - Rappresentazione delle celle di Franz utilizzate.
Fig. 2 - *Representation of the Franz cells used.*

di farmaco permeata è stata determinata tramite spettroscopia UV-Vis. Ogni esperimento è stato condotto per tre volte ed i risultati presentano un errore standard del 4%.

Risultati e discussione

Il Tween 60 e lo Span 60 sono una classe di tensioattivi non-ionici usati in campo farmaceutico, cosmetico e alimentare. Il PEG 30 dipoliidrossistearato, commercialmente noto come Arlacel p135, è un emulsionante non ionico etossilato, utilizzato nella preparazione di emulsioni o lattici a fase oleosa esterna e risulta particolarmente adatto per la formulazione di prodotti per il make-up e di creme solari contenenti filtri inorganici. Ha un HLB di 5,5. Questi tensioattivi sono molto interessanti per le loro proprietà di biodegradabilità, biocompatibilità, atossicità e economicità.

Lo scopo di questo lavoro è stato la preparazione di vescicole a base di tali tensioattivi per il rilascio topico di *Ole* e *Tyr*. In tabella 1 sono riportate le formulazioni preparate ed i loro dati di caratterizzazione (composizione, dimensioni, efficienze di incapsulazione). Tutti i tensioattivi sono in grado di formare sistemi vescicolari anche in presenza della molecola biologicamente attiva utilizzata, fatta eccezione per il PEG 30 dipoliidrossistearato che con il *Tyr* non ci ha permesso di osservare la formazione di vescicole, come rilevato dall'analisi dimensionale. La quantità di *Ole* incapsulata è compresa tra il 30-40% nei sistemi vescicolari ottenuti dai tensioattivi idratati a temperatura ambiente mentre molto alta è con il Tween 60 idratato a 60 °C.

Le prove di permeazione cutanea indicano che la veicolazione transdermica dell'*Ole* viene promossa quando la molecola è incapsulata nei niosomi ottenuti dai tensioattivi Peg 30 (fig. 3) e Span 60 mentre i niosomi ottenuti con il Tween 60 (fig. 4) non promuovono il suo assorbimento cutaneo, probabilmente durante la fase di idratazione a 60 °C la molecola viene in parte chimicamente modificata. Tale ipotesi è stata confermata da una variazione del tempo di ritenzione

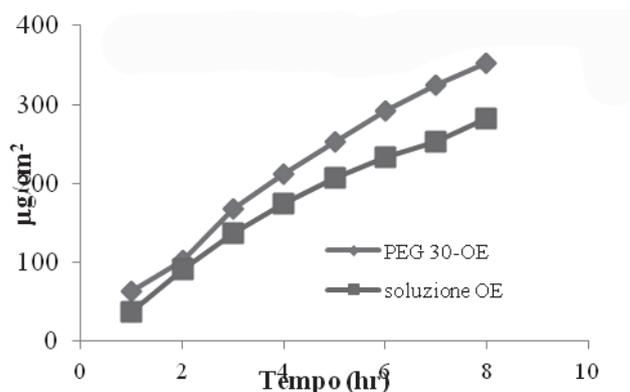


Fig. 3 - Profilo di permeazione di oleuropeina da niosomi di PEG 30.

Fig. 3 - Permeation profile of oleuropein from PEG 30 niosomes.

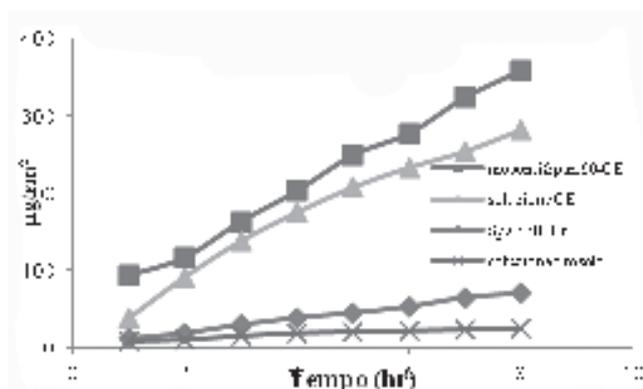


Fig. 4 - Profilo di Permeazione di oleuropeina e di tirosolo da niosomi di Span 60.

Fig. 4 - Permeation profile of oleuropein and tyrosol from Span-60 niosomes.

mediante analisi HPLC, ma necessita di ulteriori indagini mediante analisi alla spettrometria di massa (HPLC/MS/MS). Il *Tyr*, al momento, è stato inglobato solo nei niosomi ottenuti con lo Span 60 e le prove di permeazione cutanea indicano che il sistema niosomale risulta promotore di assorbimento infatti, la quantità di farmaco permeata dalle vescicole è nettamente più alta di quella permeata dalla sua soluzione. L'*Ole* anch'essa incapsulata nello Span 60 ha mostrato una velocità di permeazione maggiore del *Tyr* probabilmente a causa della sua natura chimica che la rende un farmaco ideale (fig. 5).

Tab. 1 - Composizione, diametro ed efficienza di incapsulazione dei sistemi vescicolari preparati.

Tab. 1 - Composition, diameter and encapsulation efficiency of vesicular systems prepared.

Formulazione	Quantità di tensioattivo (g)	Principio attivo utilizzato	Diametro medio (nm)	Efficienza di incapsulazione (%)
Span 60- <i>Ole</i>	43	<i>Ole</i> 1•10 ⁻³ M	256	38,5
Span 60- <i>Tyr</i>	43	<i>Tyr</i> 1•10 ⁻³ M	365	65,1
Peg 30- <i>Ole</i>	250	<i>Ole</i> 1•10 ⁻³ M	472	31,9
Peg 30- <i>Tyr</i>	250	<i>Tyr</i> 1•10 ⁻³ M	ND	ND
Tween 60- <i>Ole</i>	131	<i>Ole</i> 1•10 ⁻³ M	439	92,8

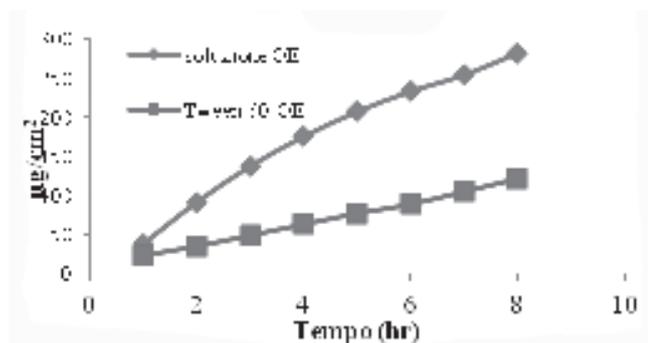


Fig. 5 - Profilo di permeazione di oleuropeina da niosomi di Tween 60.

Fig. 5 - Permeation profile of oleuropein from Tween 60 niosomes.

Riassunto

La prevenzione dell'invecchiamento cutaneo è uno dei più attuali ed interessanti temi di ricerca della moderna cosmetologia. L'uso di antiossidanti è un'importante strategia nella prevenzione e nel trattamento dei danni fotoindotti. Particolare attenzione è dedicata agli antiossidanti naturali, tra i quali composti fenolici presenti nell'olio extra vergine d'oliva.

Lo scopo finale è quello di sviluppare un prodotto cosmetico sicuro ed efficace nella prevenzione del *photoageing* contenente composti fenolici. I risultati riguardano la valutazione delle proprietà chimico-

fisiche dei niosomi ottenuti da tensioattivi commerciali per il rilascio dei composti fenolici dell'oliva. È stata studiata anche la penetrazione percutanea *ex vivo* degli antiossidanti.

Parole chiave: antiossidanti, niosomi, permeazione cutanea, olio extravergine d'oliva.

Bibliografia

- BARRY B.W., 2001. *Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery*, Eur. J. Pharm. Sci., 14: 101–114.
- TAVANO L., MUZZALUPO R., TROMBINO S., CASSANO R., FERRARELLI T., PICCI N., 2009. *New sucrose cocoate based vesicles: preparation characterization and skin permeation studies*, Colloids Surf. B: Biointer., 75: 319–322.
- SINICO C., MANCONI M., PEPI M., LAI F., VALENTI D., FADDA A.M., 2005. *Liposomes as carriers for dermal delivery of tretinoin: in vitro evaluation of drug permeation and vesicle-skin interaction*, J. Control. Release, 103: 123–136.
- CHOI M.J., MAIBACH H.I., 2005. *Liposomes and niosomes, as topical drug delivery systems*, Skin Pharmacol. Physiol., 18: 209–219.
- UCHEGBU I.F., VYAS S.P., 1998. *Non-ionic surfactant based vesicles (niosomes) in drug delivery*, Int. J. Pharm. 172: 33–70.
- FENTON R.R., EASDABLE W.J., MENG H., OMARA E.S.M., MCKEAGE M.J., RUSSEL P.J., T.W., 1997. *Hambly, Preparation, DNA binding, and in vitro cytotoxicity of a pair of enantiomeric platinum(II) complexes, [(R)- and (S)-3-amino-hexahydroazepine] dichloro-platinum(II). Crystal structure of the S enantiomer*, J. Med. Chem. 40: 1090–1098.

Studio della frazione volatile e dell'espressione del gene della lipossigenasi (LOX) nelle drupe e negli oli vergini di oliva

Muzzalupo I.^{1*}, Benincasa C.¹, Romano E.¹, Patarino A.¹, Pellegrino M.¹, Perri E.¹ e Chiappetta A.²

¹ Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Rende (CS)

² Dipartimento di Ecologia, Università della Calabria

Study of volatile fractions profile and expression analysis of LOX gene in olive drupes and in virgin olive oil

Abstract. In olive (*Olea europaea* L.) fruit, the LOX pathway is responsible for the production of desirable organoleptic properties that differentiate virgin olive oil from other vegetable oils. The hexanal and (E)-2-hexenal; (E)-2-hexen-1-ol, 1-hexanol and (Z)-3-hexen-1-yl acetate, are five biomarkers produced as a consequence of lipid degradation following tissue disruption and are among the most important volatile compounds in olive oil aroma. Considering the importance that LOX displays in influencing the organoleptic features of olive oil, we carried out a study to characterize olive LOX at the gene expression and chemical analysis. The aim of the present work was to explain the incidence of a LOX in olives and their contribution to the elaboration of the olive oil aroma expressed during olive development collected from two different farms and located in the Southern Italian region. The plants belonged to the olive genome collection of the CRA (Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia) in Mirto (Ionian coasts, Calabria, Italy) and in Rende (Internal zone). Fruits were sampled from plants (Carolea and Coratina cvs) during two developmental classes: *i*- reddish-brown and *ii*- black with >50% purple flesh. For each sample 5 Kg of olives was picked from three trees, which were homogeneous for cultivar and health, and then milled in a laboratory scale hammer mill. After 30 min of malaxation at room temperature, the oil was separated by centrifugation. Levels of expression of the LOX gene considered were determined by quantitative qRT-PCR in fruit tissues. The analyses of the volatile components were performed in fruit tissue and in olive oil after 30 min of malaxation by SPME-GC/Ion Trap Mass Spectrometry. Our data suggest that the expression of the LOX gene considered in black olives is associated with the ripening and senescence processes.

Key words: aroma, development, environmental effect, lipoxygenase, *Olea europaea*.

Introduzione

Nel frutto dell'olivo (*Olea europaea* L.) la via metabolica della lipossigenasi (LOX) è responsabile della formazione di prodotti con proprietà organolettiche gradevoli che differenziano l'olio di oliva dagli altri oli vegetali. I principali prodotti presenti nell'aroma degli oli d'oliva hanno una struttura a 6 atomi di carbonio, poiché derivano dal *pathway* della LOX basato sulla degradazione degli acidi grassi α -linolenico e linoleico che producono i relativi 13-idroperossidi. Recentemente sono state isolate e caratterizzate anche altre isoforme di LOX che mostrano differente termostabilità o che producono 9-idroperossidi degli acidi grassi α -linolenico e linoleico.

Dalla degradazione dei 13-idroperossidi degli acidi grassi α -linolenico e linoleico si ottengono una serie di componenti volatili, che sono i principali responsabili del *flavour* dell'olio di oliva, fra i quali spicca la 2(E)-esenale, responsabile del gradevole attributo sensoriale erbaceo, oltre che l'esenale, l'1-esanolo, il 2(E)-esenolo e il 3(Z)acetato di esenile.

La qualità dell'olio d'oliva è subordinata al fattore genetico, al fattore ambientale ed alla maturazione delle drupe, ma è altrettanto influenzata dai trattamenti tecnologici del processo di oleificazione e dai fattori ambientali (Muzzalupo *et al.*, 2011a).

L'obiettivo generale del presente lavoro è stato quello di studiare la correlazione esistente tra il *pattern* d'espressione di un gene LOX in *Olea europaea* L. e la frazione volatile responsabile dell'aroma degli oli extravergini di oliva. In particolare sono stati analizzati:

- lo studio della correlazione tra il *pattern* d'espressione del gene LOX (GenBank EU678670) ed i composti volatili responsabili dell'aroma degli oli extravergini di oliva in due genotipi di olivo colti-

* innocenzo.muzzalupo@entecra.it

vati in due diversi areali di produzione;

- lo studio della l'espressione di un gene *LOX* e della frazione volatile nella pasta di olive ottenute dopo la frangitura e nell'olio prodotto dalle stesse olive frante.

I genotipi presi in considerazione sono stati la 'Coratina' e la 'Carolea' coltivati entrambi nei campi collezione del CRA-OLI presenti a Rende e Mirto-Crosia (CS);

Materiale e metodi

Materiale vegetale

Le piante delle cv 'Coratina' e 'Carolea' utilizzate sono state coltivate nelle due aziende del CRA-OLI site nell'entroterra Cosentino a Rende (CS) e sul litoraneo Jonico presso l'ARSSA di Mirto-Crosia (CS). Tutte le piante utilizzate dei due genotipi sono state geneticamente caratterizzate in precedenza mediante marcatori microsatellite (Muzzalupo *et al.*, 2009). Le drupe sono state raccolte a due differenti stadi di maturazione: 1 - invaiate in superficie, 2 - nere con polpa invaiata > al 50% e sono state congelate, omogeneizzate in azoto liquido, conservate a -80 °C ed utilizzate per l'estrazione dell'RNA e per l'analisi della frazione volatile. Inoltre, per ogni campione di olive, sono stati prelevati 5 kg di drupe e sottoposte ad estrazione dell'olio con l'aiuto di un minifrantoio da laboratorio Oliomio (Toscana Enologica Mori, Tavernelle Val di Pesa - FI). L'olio è stato estratto a temperatura ambiente ed analizzato per la componente volatile mediante spettrometria di massa SPME-GC/Ion Trap.

Estrazione dell'RNA e condizioni per la trascrizione inversa.

L'estrazione dell'RNA totale è stata eseguita sui frutti di olivo della cv 'Coratina' e della cv "Carolea" in tutti e due gli stadi di maturazione precedentemente descritti. I tessuti del frutto sono stati congelati ed omogeneizzati in azoto liquido e l'estrazione dell'RNA è stata condotta come descritto da Bruno *et al.* (2009). Da ogni campione (3-5 µg) di RNA totale sono stati usati per la trascrizione inversa effettuata con la SuperScript III Reverse Transcriptase e con gli oligo dT(22) secondo il protocollo descritto dalla casa produttrice (Invitrogen, Milano).

Analisi quantitativa dell'espressione genica (qRT-PCR)

L'analisi dell'espressione del gene *LOX* considerata è stata eseguita mediante Applied Biosystems 7500 Real Time PCR Systems (Applera Italia,

Monza) utilizzando un solo fluorocromo nella miscela di reazione denominata Sybr Green PCR master mix. Il set di *primer* oligonucleotidi utilizzati per la qRT-PCR sono stati disegnati usando il programma Primer3 (http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi) secondo la strategia seguita da Muzzalupo *et al.* (2011a). I *primer* usati per l'analisi quantitativa RT-PCR del gene *LOX* (GenBank EU678670) sono Fw 5'-TCCCATTGCCTCAGGT-TATCA e Bw 5'-TCTCTCGCGAATTCTT-CATCTG. Le condizioni di PCR sono riportate in Muzzalupo *et al.*, 2011b. I livelli di espressione relativa del gene *LOX* ottenuti mediante qRT-PCR sono stati normalizzati rispetto all'espressione del gene 18S rRNA. La sequenza utilizzata dei *primer* del gene 18S rRNA sono Fw 5'-AAACGGCTACCACATCCAAG e Bw 5'-CCTCCAATGGATCCTCGTTA.

Analisi dei composti volatili

Da ogni campione ottenuto (drupe ed olio) sono stati dosati i 5 composti volatili utilizzati come biomarker dell'attività del gene *LOX*, 2(E)-esenale, esanale, 1-esanolo, 2(E)-esenolo e 3(Z)acetato di esenile. Le condizioni per l'estrazione, la separazione e la quantizzazione dei composti volatili sono descritte in Cavaliere *et al.* (2007).

Analisi statistica

Tutti i parametri analizzati sono stati ottenuti in triplice copia. I risultati sono riportati come valori medi delle tre ripetizioni. Differenze significative tra le varietà studiate sono state determinate con l'analisi della varianza (test di Duncan con $P < 0,05$), utilizzando il software IBM SPSS Statistics professionale ver. 11.0 per Windows.

Risultati e discussioni

I livelli trascrizionali del gene *LOX* sono stati stimati attraverso qRT-PCR nel pericarpo in due fasi di maturazione e in due diverse aziende agricole come precedentemente descritto. Al campione di Carolea di Rende raccolto nella prima epoca è stato assegnato un valore pari a 1,0 ed è stato usato come calibratore. I risultati ottenuti (fig. 1) evidenziano che con l'avanzare della maturazione del frutto, in entrambe le cultivar, si ha un significativo aumento dell'espressione del gene *LOX*. Questo implica un'associazione sia con i processi di senescenza che di maturazione del frutto. Inoltre, negli stadi più avanzati di maturazione si osserva che l'ambiente litoraneo di Mirto è maggiormente favorevole all'espressione del gene rispetto all'ambiente di Rende. Infatti, l'agro di Mirto essendo

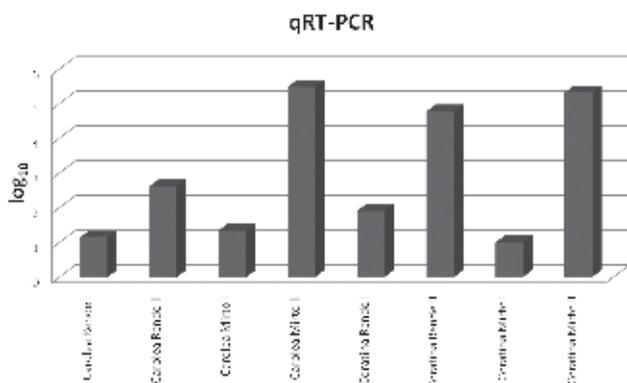


Fig. 1 - Livelli di espressione relativa del gene *LOX* nel drupa della cv ‘Coratina’ raccolta a due stadi di maturazione (in settimane dopo dall’antesi) ed in due diversi areali di coltivazione. Al campione di Carolea Rende raccolto nella prima epoca è stato assegnato un valore pari a 1,0 ed è stato usato come calibratore.

Fig. 1 - Expression levels of *LOX* gene in cv ‘Coratina’ drupes harvested at three stages of ripening (in weeks after anthesis) and in two different cultivation areas. To the ‘Carolea’ Rende samples collected on the second stages of ripening was assigned the value of 1.0 and been used as calibrators.

situato in prossimità del mare Jonio, presenta un clima più mite, con temperature sempre maggiori rispetto all’azienda di Rende che invece è sita nell’entroterra Cosentino, ciò determina un metabolismo più alto con un aumento della velocità dei processi di maturazione e di senescenza dei frutti. Dunque si ha anche una diversa espressione del gene *LOX* determinata da fattori ambientali.

Per quanto riguarda i 5 composti volatili monitorati (fig. 2) si ha, sia nel pericarpo che nell’olio estratto, che i due genotipi mostrano un diverso *flavour*, molto

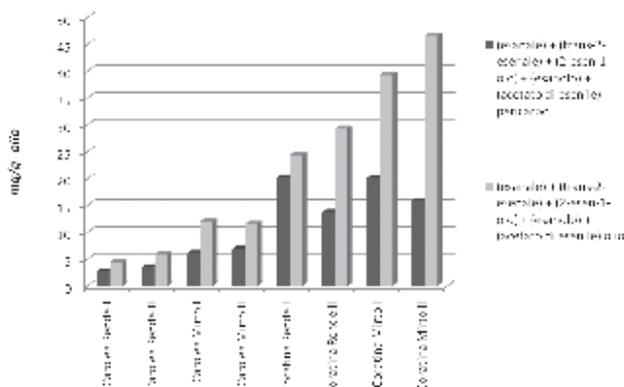


Fig. 2 - Il contenuto dei 5 biomarker volatili (2(E)-esenale, esanale, 1-esanolo, 2(E)-esenolo e 3(Z)acetato di esenile) analizzati nelle drupe e nell’olio prodotto dalle stesse drupe. Drupe raccolte a due stadi di maturazione e nei due diversi areali di coltivazione presi in considerazione (Rende e Mirto).

Fig. 2 - Content of 5 volatile biomarkers (2(E)-hexenal, hexanal; 1-hexanol, (E)-2-hexen-1-ol and (Z)-3-hexen-1-yl acetate) analyzed in the drupes and in oil obtained from Coratina cv. The drupes were collected at different stages of ripening and in two different cultivation areas Rende and Mirto).

più intenso è risultato essere quello della cv Coratina sia nel frutto che nell’olio. Inoltre, la sommatoria dei composti volatili esaminati nella Carolea aumenta con il progredire della maturazione, mentre nella Coratina diminuisce. Tale andamento è indipendente dall’ambiente, infatti, si osserva lo stesso *trend* sia nell’agro di Rende che in quello di Mirto. Diversa è la situazione in merito al *flavour* dell’olio, in questo caso se pur con diversa intensità tra le due varietà, si ha sempre col progredire della maturazione un aumento dei composti volatili monitorati.

Tra i composti volatili monitorati si ha che la molecola più abbondante in tutti i campioni è il (E)-2-esenale, che conferma che la *LOX* attiva nel frutto verde mostra una chiara preferenza per l’acido α -linolenico rispetto all’acido linoleico. Il (E)-2-esenale è la molecola responsabile delle note *green* dell’olio ed è particolarmente abbondante in tutte le cv e in tutti gli stadi di maturazione delle drupe in entrambi gli ambienti di coltivazione monitorati. Inoltre, si osserva che durante le fasi di estrazione dell’olio si ha una maggiore quantità di (E)-2-esenale nell’olio rispetto al pericarpo, probabilmente perché durante la gramolatura l’enzima è particolarmente attivo nel rilasciare queste molecola.

Da un confronto tra i due areali di coltivazione calabresi (Rende e Mirto) si osserva che sia nel pericarpo che nell’olio i composti volatili sono maggiormente presenti confermando che l’ambiente litoraneo di Mirto essendo situato in prossimità del mare Jonio, presenta un metabolismo più alto rispetto a quello di Rende.

In conclusione possiamo confermare che l’espressione del gene *LOX* analizzato è associata al *flavour* dell’olio vergine di oliva ed è influenzata sia da genotipo, sia da fattori ambientali oltre che dalle fasi di maturazione del frutto.

Riassunto

Nel frutto dell’olivo la via metabolica della lipossigenasi è responsabile della formazione di composti volatili con proprietà organolettiche molto importanti per la classificazione merceologica e per la qualità sensoriale degli oli d’oliva che lo differenziano nettamente dagli altri oli vegetali. L’obiettivo generale del presente lavoro è stato quello di studiare la correlazione esistente tra il *pattern* d’espressione del gene *LOX* in olivo e la frazione volatile responsabile dell’aroma degli oli extravergini di oliva in relazione ai due genotipi esaminati (‘Carolea’ e ‘Coratina’) e nei due diversi ambienti di coltivazione (Rende e Mirto-Crosia). I risultati ottenuti contribuiscono a meglio

comprendere alcune tappe del *pathway* metabolico della LOX e degli acidi grassi α -linolenico e linoleico in olivo.

Parole chiave: aroma, sviluppo, effetti ambientali, lipossigenasi, *Olea europaea*.

Ricerca finanziata dal progetto RGV-FAO e ALISAL.

Bibliografia

- BRUNO L., CHIAPPETTA A., MUZZALUPO I., GAGLIARDI C., IARIA D., BRUNO A., GRECO M., DONATO G., PERRI E., BITONTI M.B., 2009. *Role of geranylgeranyl reductase gene in organ development and stress response in olive (Olea europaea) plants.* *Funct. Plant Biol.* 36: 370–381.
- CAVALIERE B., DE NINO A., HAYET F., LAZEZ A., MACCHIONE B., MONCEF C., PERRI E., SINDONA G., TAGARELLI A., 2007. *A metabolomic approach to the evaluation of the origin of extra virgin olive oil: a convenient statistical treatment of mass spectrometric analytical data.* *J. Agric. Food Chem.* 55: 1454–1462.
- MUZZALUPO I., CHIAPPETTA A., BENINCASA C., PERRI E., 2010. *Intra-cultivar variability of three major olive cultivars grown in different areas of central-southern Italy and studied using microsatellite markers.* *Sci. Hortic-Amsterdam*, 126: 324–329.
- MUZZALUPO I., STEFANIZZI F., PERRI E., CHIAPPETTA A., 2011. *Transcript levels of CHL P gene, antioxidants and chlorophylls contents in olive (Olea europaea L.) pericarps.* *Plant Foods Hum. Nutr.* 66: 1-10
- MUZZALUPO I., MACCHIONE B., BUCCI C., STEFANIZZI F., PERRI E., CHIAPPETTA A., TAGARELLI A., SINDONA G. 2011. *Transcripts accumulation of LOX gene and effect on olive oil aroma biosynthesis: olive (Olea europaea L.) fruits harvest in three stages maturation and from two farms of Southern Italy.* *J. Sci. Food Agric.* in press.

Sviluppo di modelli predittivi FT-IR e FT-NIR su oli d'oliva vergini: alcoli, steroli, cere, acidi grassi e composti volatili

Sabatini N.* e Perri E.

Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Città S. Angelo (PE)

Development of predictive models FT-IR and FT-NIR on virgin olive oils: alcohols, sterols, waxes, fatty acids and volatile compounds

Abstract. This work represents a preliminary study for the calibration and validation of chemometric IR and NIR models by means of Fourier transform (FT) of virgin olive oils for the quantitative determination of some molecules such as: alcohols, sterols, waxes, fatty acids and volatile compounds. In order to obtain more robust predictive models (with higher percentage of variance), virgin olive oils with wide genetic, pedoclimatic and technologic variability have been used. The model building was performed by means of multi linear regression of principal components (PCR) of the matrix made up of the spectra (also in the first derivative) and from the numerical value of the different analytical properties.

Key words: virgin olive oil, quality, IR, NIR, PCR.

Introduzione

Le applicazioni industriali possibili per la spettroscopia dell'infrarosso (IR) e del vicino infrarosso (NIR) sono numerose e possono essere di carattere sia quantitativo sia qualitativo (Cerretani *et al.*, 2007; 2008). Attraverso il miglioramento di algoritmi matematici che correlano gli spettri alle proprietà analitiche degli alimenti è stato possibile ampliare considerevolmente il campo di applicazione. Nel campo di ricerca olivicolo oleario la spettroscopia IR e NIR è stata studiata per la determinazione e la quantificazione nell'olio extra-vergine d'oliva di adulteranti come l'olio di semi di girasole, olio di mais ed altri (Kasemsumran *et al.*, 2004). Inoltre, sono stati validati modelli IR e NIR per la determinazione quantitativa

del numero dei perossidi, dell'acidità libera, dei fenoli totali, della clorofilla degli oli vergini e del contenuto di acqua e di olio nel frutto (Maiellaro *et al.*, 2008). In aggiunta, la spettroscopia NIR rappresenta un eccellente mezzo per la differenziazione di oli d'oliva in base alla loro origine geografica (Casale *et al.*, 2008). La tecnica NIR può aiutare a selezionare i genotipi migliori in olive intatte sulla base delle caratteristiche spettrali del frutto; in particolare il contenuto in olio e la composizione in acidi grassi liberi. Recentemente l'utilizzo della spettroscopia IR e NIR in trasformata di Fourier ha subito una grande diffusione. Nella spettroscopia FT-IR e FT-NIR la radiazione elettromagnetica policromatica in un intenso impulso viene trasformata in un interferogramma in cui l'assorbimento del campione è in funzione del tempo e dello spazio, tale spettro viene poi convertito in uno spettro classico tramite un calcolo matematico (Trasformata di Fourier). Questo metodo è indubbiamente più vantaggioso della tecnica tradizionale, infatti, aumenta la sensibilità, diminuisce il rumore di fondo, diminuisce sensibilmente il tempo di acquisizione. Questo lavoro rappresenta uno studio preliminare per la calibrazione e validazione di modelli chemiometrici IR e NIR in trasformata di Fourier (FT) su oli d'oliva vergini per la determinazione quantitativa di alcune molecole tra: alcoli, steroli, cere, acidi grassi e volatili.

Materiali e metodi

Per il presente lavoro sono stati utilizzati 40 campioni di oli d'oliva vergine del sud Italia caratterizzati da ampia variabilità genetica, pedoclimatica e tecnologica.

Gli spettri FT-IR e FT-NIR sono stati acquisiti con due spettrofotometri Perkin-Elmer in trasformata di Fourier e sono stati ottenuti mediante 64 scansioni per un intervallo di 8 cm^{-1} .

Gli spettri FT-IR sono stati acquisiti in trasmittanza nel range $4.000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ utilizzando le celle circolari di KBr (fig. 1). Gli spettri FT-NIR sono stati acquisiti sia in trasmittanza sia in riflettenza diffusa

* nadiasabatini@libero.it

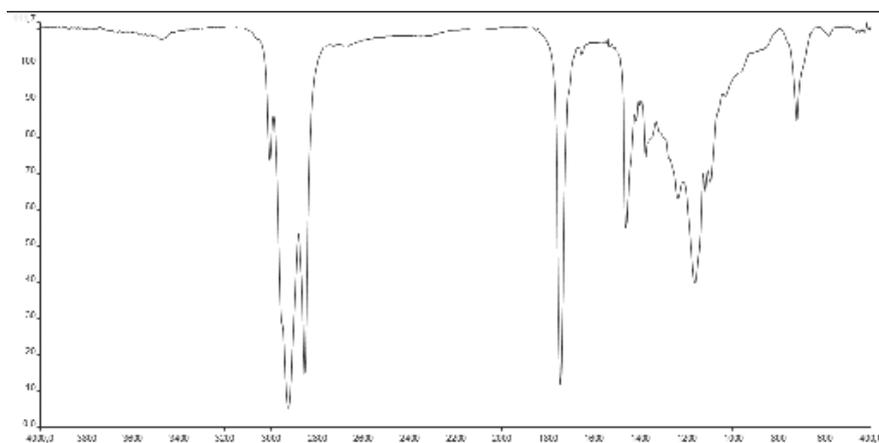


Fig. 1 - Tipico spettro FT-IR di olio d'oliva vergine.
 Fig. 1 - Typical FT-IR spectrum of virgin olive oil.

nel range 10.000-4.000 cm^{-1} mediante utilizzo di celle di vetro (fig. 3). Le analisi di laboratorio per la determinazione quantitativa di alcoli alifatici, triterpenici, steroli cere ed acidi grassi sono state eseguite seguendo i relativi metodi ufficiali. La determinazione dei composti volatili è stata eseguita mediante spazio di testa dinamico in flusso di N_2 con trappola a carbone attivo seguita da analisi gas cromatografica. L'analisi

multivariata mediante regressione lineare delle componenti principali (PCR) è stata eseguita mediante utilizzo del software chemiometrico Quantum Plus in dotazione con lo strumento FT-NIR Perkin-Elmer (fig. 2). La validazione dei metodi è stata eseguita sia utilizzando come set di validazione tutti gli standard (validazione indipendente) sia utilizzando un 10% del set di dati (validazione dipendente).

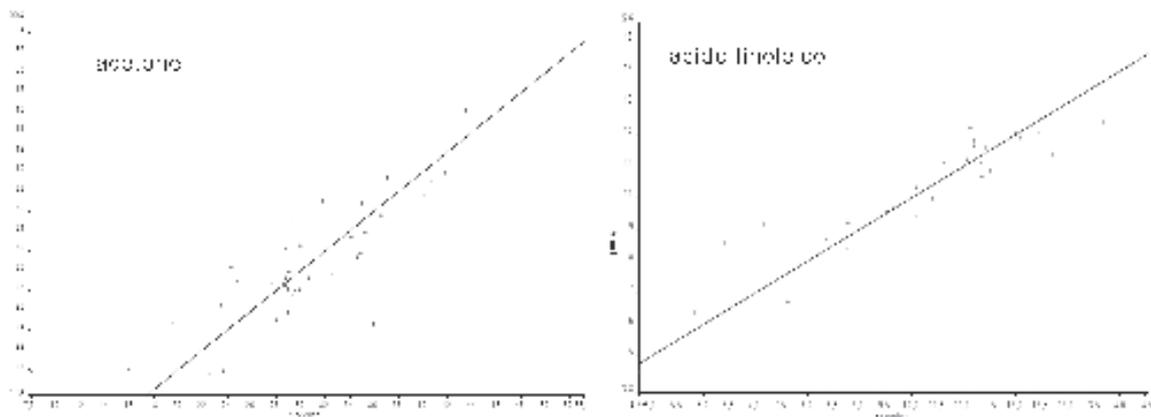


Fig. 2 - Esempi di grafici di correlazione multi lineare di valore stimato vs specificato per: acetone ed acido linoleico.
 Fig. 2 - Examples of multi-linear correlation graphs of estimated vs. specified: acetone and linoleic acid.

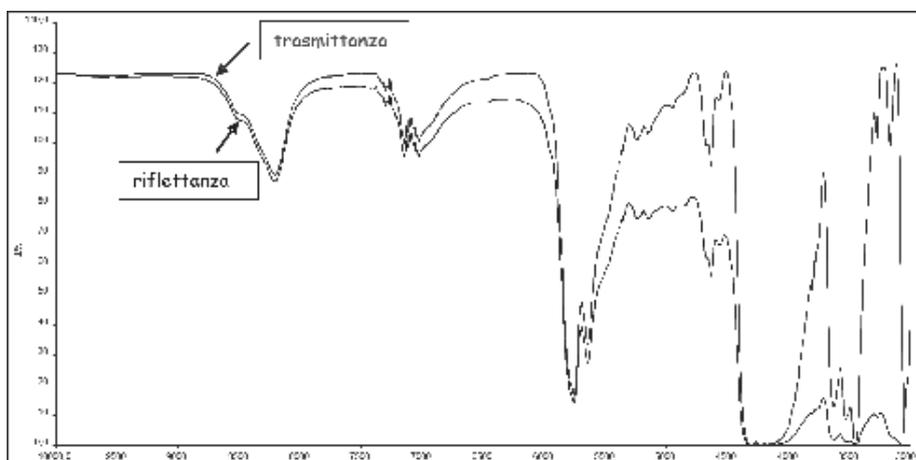


Fig. 3 -Tipico spettro FT-NIR di olio d'oliva vergine.
 Fig. 3 - Typical FT-NIR spectrum of virgin olive oil.

Risultati e discussione

In questo studio sono stati calibrati e validati modelli chemiometrici FT-IR e FT-NIR promettenti per alcune molecole tra: alcoli, steroli, cere, acidi grassi e volatili.

Per ciò che concerne l'IR, i modelli predittivi che presentano la migliore correlazione multipla sono: 1-esanolo ($r = 0,9686$); acido linoleico ($r = 0,9426$); trans-2-esen-1olo ($r = 0,9214$) (dati non mostrati).

Dai dati riportati in tabella 1 si evince che solo in questi casi i modelli sono risultati in grado di spiegare una varianza superiore all'85%.

Inoltre, la porzione di spettro maggiormente correlata alle proprietà analitiche in esame esclude i segnali relativi ai modi di bending e ai modi di stretching dei legami più deboli.

Per quanto riguarda il NIR, i modelli predittivi che presentano la migliore correlazione multipla sono: acido oleico ($r = 0,9524$); 1-penten-3-olo ($r = 0,9270$); acido margaroleico ($r = 0,9018$) (dati non mostrati). L'analisi in trasmittanza ha permesso di costruire un numero di modelli validi notevolmente maggiore rispetto all'analisi in riflettanza diffusa.

In conclusione, i modelli predittivi sviluppati sono sufficientemente validi e promettenti, ma, al fine di migliorare la percentuale di varianza dei metodi descritti si rende necessario aumentare in maniera considerevole il set e la variabilità dei campioni di oli. Inoltre, sarà importante costruire disegni sperimentali che consentano di ottenere una più omogenea distribuzione della varianza delle proprietà analitiche nel set dei dati presi in esame.

Riassunto

Questo lavoro rappresenta uno studio preliminare per la calibrazione e validazione di modelli chemiometrici IR e NIR in trasformata di Fourier (FT) su oli d'oliva vergini per la determinazione quantitativa di alcune molecole tra: alcoli, steroli, cere, acidi grassi e volatili. Al fine di ottenere modelli predittivi più robusti (con maggiore percentuale di varianza) sono stati utilizzati oli vergini d'oliva con ampia variabilità genetica, pedoclimatica e tecnologica. La costruzione dei modelli è stata effettuata mediante regressione multi-lineare delle componenti principali (PCR) della matrice degli spettri tal quali ed in derivata prima correlati al valore numerico delle diverse proprietà analitiche.

Parole chiave: olio d'oliva vergine, qualità, IR, NIR, PCR

Bibliografia

- CERRETANI L., DI VIRGILIO F., BELLONI P., BONOLI-CARBOGNIN M., LERCKER G., 2007. *Preliminary evaluation of the application of the FT-IR Spectroscopy to control the geographic origin and quality of virgin olive oils*. J. Food Qual., 30: 424-437.
- CERRETANI L., BENDINI A., 2008. *L'applicazione del NIR nella filiera oleicola*. Agric., Gennaio :66-67.
- KASEMSUMRAN C. S., DU Y., OZAKI Y., 2004. *The Detection and Quantification of Adulteration in Olive Oil by Near-Infrared Spectroscopy and Chemometrics*. Anal. Sci., 20: 935-940.
- MAIELLARO G., CARDONE G., FERRARI, G., 2008. *Utilizzo della spettroscopia FT-NIR per la determinazione di umidità e grassi nella pasta di olive e sanse*. <http://buchi.it>
- CASALE M., CASOLINO C., FERRARI G., FORINA M., 2008. *Near infrared spectroscopy and class modelling techniques for the geographical authentication of Ligurian extra virgin olive oil*. J. Near Infr. Spectr., 16: 39-47.

Un nuovo prodotto oleario: aspetti nutrizionali e salutistici

Muzzalupo I.^{1*}, Pellegrino M.¹, Benincasa C.¹, Romano E.¹, Patarino A.¹, Perri E.¹ e Chiappetta A.²

¹ Centro per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per l'olivicoltura e l'industria olearia, Rende (CS)

² Dipartimento di Ecologia, Università della Calabria

A new olive oil product: nutritional and healthy issues

Abstract. The extra virgin olive oil is considered a key element of the "Mediterranean diet" in fact, it represents a source of concentrated energy for monounsaturated fatty acids and essential fatty acids and minor components for particular is extremely important to health, such as vitamins K, A, E, D and secoiridoid phenolic compounds. Ongoing research reveal that some polyphenols in extra virgin olive oil, such as "oleocanthal" as well as showing the same anti-inflammatory properties of ibuprofen, may help to demonstrate numerous biological activities. The amount of "oleocanthal" normally present in an olive oil varies depending on several factors, in all cases, its content is between 20 and 200 µg/g of oil. The purpose of this study is to obtain a virgin olive oil commodity that all the parameters of extra virgin olive oil, but characterized by a content "oleocanthal" more than 400 µg/g of oil. In this context, doubling the contents of "oleocanthal" in the oil, the daily dose to be taken will be halved, and will fall in the values set by the guidelines for power. The creation of this new product could help to support the edible oil industry and the food chain olive / olive oil.

Key words: antioxidant, phenolic compounds, Mediterranean diet, *Olea europaea* L., extra virgin olive oil.

Introduzione

L'olio extravergine di oliva è considerato, dal punto di vista salutistico e nutrizionale, un elemento cardine della "dieta mediterranea" infatti, esso rappresenta una fonte di energia concentrata per acidi grassi monoinsaturi ed acidi grassi essenziali (9 calorie al grammo) e per particolari componenti minori di estrema importanza per la salute, quali le vitamine K, A,

E, D nonché i composti fenolici secoiridoidi. E' ampiamente documentato che un consumo regolare di olio d'oliva esercita proprietà terapeutiche oltre che per le sue applicazioni topiche anche per i suoi usi come nutraceutico, conosciuti fin dall'antichità (Diego *et al.*, 2008).

I secoiridoidi, composti esclusivi della famiglia delle *Oleaceae*, sono prevalentemente molecole idrofiliche ma, alcuni derivati, quali ad esempio la forma dialdeidica dell'acido decarbossimetil elenico legato all'idrossitirosolo (3,4-DHPEA) o al tirosolo (*p*-HPEA recentemente denominata "oleocantale" da Beauchamp *et al.*, 2005), sono contenuti in quantità rilevanti proprio nell'olio. Queste sostanze sono derivati dei secoiridoidi glucosidi e si originano durante il processo di oleificazione a partire dall'oleuropeina, dalla demetiloleuropeina e dal ligstroside per idrolisi, catalizzata dalle β -glucosidasi endogene.

L'attività di alcuni ricercatori del CRA-OLI è rivolta, da anni, alla caratterizzazione delle principali molecole antiossidanti provenienti da specie vegetali d'interesse alimentare, farmaceutico e cosmetico (Muzzalupo *et al.*, 2011). Ricerche tuttora in corso mostrano come alcuni composti fenolici contenuti nell'olio extravergine di oliva, come l'"oleocantale" oltre a mostrare le stesse proprietà antinfiammatorie dell'ibuprofene (Beauchamp *et al.*, 2005), possono contribuire a modificare l'espressione di alcuni geni collegati all'arterosclerosi (Konstantinidou *et al.*, 2010), alla sclerosi (Materljan *et al.*, 2009), agire come inibitori *c-Met* per il controllo del cancro al seno e alla prostata (Elnagar *et al.*, 2011) oltre che a manifestare numerose altre attività biologiche (Cicerale *et al.*, 2010). La quantità di "oleocantale" normalmente presente in un olio di oliva varia secondo diversi fattori quali la cultivar, lo stadio di maturazione delle olive e le condizioni di estrazione dell'olio; in tutti i casi, il suo contenuto è compreso tra 20 e 200 µg per grammo di olio (Impellizzeri *et al.*, 2006). Sulla base del contenuto medio dell'"oleocantale", la dose giornaliera di olio da assumere, consigliata per attivare l'azione benefica sull'uomo, si aggira intorno

* innocenzo.muzzalupo@entecra.it

ai 6-7 cucchiaini, quota nettamente superiore a quella fissata dalle linee guida per una corretta alimentazione, che invece si attesta sui 3-4 cucchiaini.

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di ottenere un olio vergine che presentasse tutti i parametri merceologici dell'olio extravergine d'oliva ma caratterizzato da un contenuto in "oleocantale" superiore ai 400 µg per grammo di olio. In tale situazione, raddoppiando il contenuto di "oleocantale" nell'olio, la dose giornaliera da assumere con la dieta sarà dimezzata e rientrerà nei valori fissati dalle linee guida per alimentazione. Recentemente un notevole interesse si sta manifestando verso l'utilizzo di oli extravergini d'oliva nel campo della cosmesi, mentre mercati ormai consolidati esistono per la commercializzazione di integratori alimentari ricchi in composti secoiridoidi ad attività antiossidante, pertanto la realizzazione di questo nuovo prodotto oleario potrebbe contribuire a sostenere il settore agroalimentare e la filiera olivicola/olearia.

Materiali e metodi

Per il raggiungimento di tale obiettivo sono state realizzate delle miscele di oli ottenute processando insieme frutti di olivo provenienti da una sola varietà e frutti di altre specie vegetali. Al fine di individuare il miglior rapporto tra le drupe da utilizzare per la produzione di un olio vergine ad elevato contenuto di secoiridoidi sono state eseguite diverse prove di estrazione dell'olio al minifrantoio. Contemporaneamente sono state ottimizzate anche le condizioni di oleificazione. La composizione dei frutti e la tecnologia estrattiva da cui è stato estratto l'olio non saranno discusse in questo lavoro poiché soggette all'elaborazione di una richiesta di brevetto.

Nelle annate 2009-2010 e 2010-2011 sono stati raccolti i frutti di diverse piante, utilizzati per l'estrazione dell'olio. I frutti sono stati moliti insieme direttamente nei frantoi del CRA-OLI di Rende (CS), conservati in bottiglie scure con tappo a vite e trasferiti in cella fredda al buio alla temperatura di 10 °C fino al momento delle analisi. Come controllo è stato utilizzato l'olio estratto dalla sola varietà di olivo utilizzata anche in miscela con gli altri frutti. Su tutti gli oli ottenuti sono state eseguite le analisi merceologiche standard e cioè acidità libera, numero di perossidi, estinzioni specifiche nell'UV, composizione percentuale degli esteri metilici degli acidi grassi e la determinazione della stabilità ossidativa mediante ossidazione forzata secondo le metodiche ufficiali (Reg. UE 61/2011) L'analisi dei composti fenolici e dei tocoferoli è stata condotta secondo le metodiche adottate

presso il CRA-OLI. Sugli stessi oli è stata effettuata anche l'analisi sensoriale da una giuria (*panel*) di assaggiatori selezionati e addestrati (secondo il metodo COI ai sensi del Reg. CEE 2568/91 e con successive modifiche e integrazioni, e della circolare del Ministero delle Politiche Agricole n.5 del 18/06/1999) e regolarmente iscritti ad un Elenco Regionale degli Assaggiatori, che operano presso il CRA-OLI.

Risultati e discussioni

I risultati concernono la valutazione merceologica e sensoriale degli oli vergini di *Oleaceae* prodotti nelle due annate olearie 2009-2010 e 2010-2011 e la loro comparazione, con i corrispondenti oli vergini ottenuti da sole olive. Sulla base dei risultati riportati nella tabella 1, tutti gli oli ottenuti possono essere classificati come oli extravergini. Nella tabella 2 è riportata l'analisi dei fenoli totali, determinati negli oli d'oliva e nella scela ottenuta mescolando frutti raccolti dalle varie specie vegetali. Gli oli ottenuti dalla miscela risultano avere un contenuto fenolico totale significativamente maggiore rispetto a quello presente negli oli d'oliva. Tale olio, infatti, mostra un contenuto pari a $883,27 \pm 23,4$ e $977,03 \pm 111,62$ mg/kg, rispettivamente nell'annate olearie 2009-'10 e 2010-'11. L'olio di oliva corrispondente mostra, invece, un contenuto nettamente inferiore e pari a $641,78 \pm 62,8$ e $587,44 \pm 15,47$ mg/kg rispettivamente.

Tra i composti fenolici i più abbondanti sono risultati l'*oleocantale* e il pinoselinolo. Interessante è la diversa distribuzione di questi due composti fenolici nei due differenti oli. Infatti, in entrambe le annate olearie, gli oli ottenuti dai frutti vari mostrano un contenuto di *oleocantale* circa il doppio rispetto al corrispondente olio ottenuto dalle sole olive ($430,80 \pm 32,28$ e $475,87 \pm 57,69$ contro $220,38 \pm 21,57$ e $201,72 \pm 5,31$ mg/kg rispettivamente), mentre il contenuto di pinoselinolo è circa la metà ($228,92 \pm 20,81$ e $254,26 \pm 44,72$ contro $400,66 \pm 39,22$ e $366,74 \pm 9,66$ mg/kg rispettivamente). Anche gli altri composti fenolici sono maggiormente presenti negli oli ottenuti dai frutti vari rispetto agli oli di oliva, ad eccezione del tirosolo. Il contenuto di quest'ultimo fenolo semplice varia da $2,03 \pm 0,05$ a $2,21 \pm 0,22$ negli oli di oliva e da $1,07 \pm 0,16$ a $1,18 \pm 0,20$ mg/kg negli oli di frutti vari.

Il giudizio del gruppo panel del CRA-OLI di Rende è stato per entrambi gli oli superiore a 6,5, limite oltre il quale gli oli possono essere classificabili come extra vergine. Il giudizio sensoriale del campione di olio ottenuto dalle sole olive è stato il seguente: "fruttato medio di oliva verde con sentori di

Tab. 1 - Alcuni parametri chimici e chimico-fisici degli oli vergine analizzati. I valori riportati sono il valore medio ottenuto da tre repliche \pm la deviazione standard. *Limiti previsti per gli oli extra vergini.

Tab. 1 - Some chemical and chemical-physical parameters of virgin olive oils analyzed. The values are the average from three replicates \pm standard deviation. *Limits for extra virgin oils.

Parametri	2009-2010		2010-2011	
	Olive	Mix frutti	Olive	Mix frutti
Acidità libera (limite* max 0,8) (g di ac. oleico/100g)	0,2 ^a \pm 0,0	0,2 ^a \pm 0,0	0,4 ^a \pm 0,0	0,4 ^a \pm 0,0
No. di perossidi (limite* max 20) (meq O ₂ /kg)	2,3 ^a \pm 0,1	2,5 ^a \pm 0,3	3,2 ^a \pm 0,2	3,5 ^a \pm 0,4
K ₂₃₂ (limite* max 2,500)	1,943 ^a \pm 0,074	2,033 ^a \pm 0,072	1,720 ^a \pm 0,069	1,737 ^a \pm 0,015
K ₂₇₀ (limite* max 0,200)	0,193 ^a \pm 0,006	0,177 ^a \pm 0,015	0,157 ^a \pm 0,049	0,133 ^a \pm 0,015
Δ K (limite max 0,001)*	0,000 ^a \pm 0,000			
Rancimat (limite* min 10 h)	11,0 ^a \pm 0,2	12,1 ^b \pm 0,3	11,1 ^a \pm 0,1	12,4 ^b \pm 0,1
C 14:0 (ac. Miristico)	0,02 ^a \pm 0,01	0,02 ^a \pm 0,01	0,01 ^a \pm 0,01	0,01 ^a \pm 0,00
C16:0 (ac. Palmitico)	11,31 ^a \pm 0,17	11,14 ^a \pm 0,38	7,59 ^a \pm 0,12	9,08 ^a \pm 1,26
C16:1 (ac. Palmitoleico)	0,50 ^a \pm 0,02	0,48 ^a \pm 0,06	0,36 ^a \pm 0,01	0,35 ^a \pm 0,01
C17:0 (ac. Margarico)	0,05 ^a \pm 0,01	0,04 ^a \pm 0,01	0,03 ^a \pm 0,01	0,04 ^a \pm 0,01
C17:1 (ac. Margaroleico)	0,08 ^a \pm 0,01	0,06 ^a \pm 0,01	0,05 ^a \pm 0,01	0,06 ^a \pm 0,01
C18:0 (ac. Stearico)	2,05 ^a \pm 0,05	2,16 ^a \pm 0,02	2,09 ^a \pm 0,02	2,16 ^a \pm 0,01
C18:1 (ac. Oleico) (limite* > 73%)	78,01 ^a \pm 0,04	78,12 ^a \pm 0,38	81,85 ^a \pm 0,13	80,63 ^a \pm 1,08
C18:2 (ac. Linoleico) (limite* < 10%)	6,35 ^a \pm 0,11	6,43 ^a \pm 0,10	6,12 ^a \pm 0,03	5,79 ^a \pm 0,14
C18:3 (ac. Linoleinico)	0,34 ^a \pm 0,03	0,33 ^a \pm 0,02	0,42 ^a \pm 0,01	0,41 ^a \pm 0,01
C20:0 (ac. Arachico)	0,82 ^a \pm 0,12	0,80 ^a \pm 0,06	0,90 ^a \pm 0,06	0,86 ^a \pm 0,07
C20:1 (ac. Eicosanoico)	0,20 ^a \pm 0,05	0,20 ^a \pm 0,02	0,28 ^a \pm 0,06	0,32 ^a \pm 0,07
C22:0 (ac. Beenico)	0,10 ^a \pm 0,02	0,10 ^a \pm 0,01	0,14 ^a \pm 0,03	0,14 ^a \pm 0,03
C24:0 (ac. Lignocerico)	0,05 ^a \pm 0,02	0,04 ^a \pm 0,01	0,07 ^a \pm 0,00	0,07 ^a \pm 0,01
C18:1/C18:2 (limite* > 7)	12,28 ^a \pm 0,27	12,15 ^a \pm 0,12	13,37 ^a \pm 0,08	13,92 ^a \pm 0,14

Le differenze significative sono calcolate nella stessa riga e nella stessa annata olearia e sono riportate da lettere diverse all'apice del valore medio. (P \leq 0,05, test del t-Student).

erbaceo, mandorla e carciofo. Al gusto si avvertono chiari i sentori dell'erba aromatica, della mandorla, accompagnate dalla mela e dal carciofo. Amaro e piccante decisi e persistenti". Il giudizio sensoriale del campione di olio ottenuto dai frutti vari recita: "fruttato medio di oliva e di altra frutta al giusto grado di

maturazione con sentori erbacei. Al gusto si avverte decisa la mela che sovrasta il fruttato, seguita dall'erba e dalla mandorla, lievi accenni di carciofo e di foglia di olivo. L'amaro e il piccante sono decisi e molto persistenti". Le principali differenze riscontrate riguardano proprio il contenuto dei composti fenolici

Tab. 2 - Composizione dei composti fenolici degli oli vergini analizzati. I valori riportati sono le medie ottenute da tre repliche \pm la deviazione standard.

Tab. 2 - Composition of phenolic compounds of virgin olive oils analyzed. The values are the average from three replicates \pm standard deviation.

Parametri	2009-2010		2010-2011	
	Olive	Mix frutti	Olive	Mix frutti
Fenoli totali (mg/kg ac. caffeico)	641,8 ^a \pm 62,8	883,3 ^b \pm 23,4	587,4 ^a \pm 15,5	977,0 ^b \pm 111,6
3,4-DHPEA idrossitirosolo	0,6 ^a \pm 0,1	0,7 ^a \pm 0,2	0,6 ^a \pm 0,0	0,8 ^a \pm 0,3
p-HPEA tirosolo	2,2 ^a \pm 0,2	1,1 ^b \pm 0,2	2,0 ^a \pm 0,1	1,2 ^b \pm 0,2
3,4-DHPEA-EDA dialdeide oleuropeina	0,8 ^a \pm 0,1	1,4 ^b \pm 0,2	0,7 ^a \pm 0,0	1,6 ^b \pm 0,3
p-HPEA-EDA oleocantale	220,4 ^a \pm 21,5	430,8 ^b \pm 32,3	201,7 ^a \pm 5,3	475,9 ^b \pm 57,7
EA acido elenoico	10,9 ^a \pm 1,1	65,4 ^b \pm 18,8	10,1 ^a \pm 0,3	71,7 ^b \pm 20,0
3,4-DHPEA-EA oleuropeina aglicone	2,0 ^a \pm 0,2	14,9 ^b \pm 0,9	1,8 ^a \pm 0,1	16,6 ^b \pm 2,3
p-HPEA-EA ligstroside aglicone	2,3 ^a \pm 0,2	95,0 ^b \pm 1,3	2,1 ^a \pm 0,1	105,0 ^b \pm 10,7
Acetossi-pinoresinolo	1,9 ^a \pm 0,2	44,9 ^b \pm 8,1	1,7 ^a \pm 0,0	50,0 ^b \pm 12,0
Pinoresinolo	400,7 ^a \pm 39,2	228,9 ^b \pm 20,8	366,7 ^a \pm 9,7	254,3 ^b \pm 44,7

e in particolar modo il contenuto dell'*oleocantale*. Tale molecola negli oli ottenuti dai frutti vari risulta essere in quantità doppia rispetto a quella presente negli oli ottenuti dalle sole olive. Inoltre, anche gli altri composti fenolici risultano essere maggiormente presenti nell'olio ottenuto dai frutti vari, con l'eccezione del tirosolo e del pinosolinolo.

Secondo quanto riferito sull'importante rivista "*Nature*" (Beauchamp *et al.*, 2005) la presenza nell'olio del fenolo, *oleocantale*, potrebbe essere all'origine delle proprietà benefiche esercitate dell'olio d'oliva, infatti, come l'ibuprofene anche questa sostanza, assunta grazie a un regolare consumo di olio, a lungo termine potrebbe svolgere un'azione anticancerogena, antinfiammatoria e antidolorifica "La dieta mediterranea", della quale l'olio d'oliva è l'alimento centrale, è da tempo associata a molteplici effetti benefici per la salute, riducendo il rischio di infarto, di *ictus*, di alcuni tipi di tumore e di invecchiamento cerebrale.

In conclusione possiamo affermare che la caratterizzazione degli oli provenienti dai frutti di olivo e da quelli di altre specie vegetali, per quanto attiene la composizione chimico-fisica e la definizione degli attributi sensoriali, saranno utili per la loro valorizzazione e contribuiranno alla loro collocazione in particolari nicchie di mercato anche con alto valore aggiunto.

Riassunto

L'olio extravergine di oliva è un elemento cardine della "*dieta Mediterranea*", esso rappresenta una fonte di energia concentrata per acidi grassi monoinsaturi e grassi essenziali e per particolari componenti minori di estrema importanza per la salute, quali i composti fenolici.

Lo scopo è di ottenere un olio caratterizzato da un contenuto in "oleocantale" elevato. Aumentando il contenuto massimo di "oleocantale" nell'olio extravergine d'oliva, la dose giornaliera da assumere rientrerà nei valori massimi fissati dalle linee guida per alimentazione. La realizzazione di questo nuovo prodotto oleario potrebbe contribuire a sostenere il settore agroalimentare e la filiera olivicola/olearia.

Parole chiave: antiossidanti, composti fenolici, dieta mediterranea, *Olea europaea* L., olio extravergine d'oliva.

Bibliografia

- BEAUCHAMP G.K., KEAST R.S., MOREL D., *et al.*, 2005. *Phytochemistry: ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil*. *Nature*. 437: 45-46.
- CICERALE S., LUCAS L., KEAST R., 2010. *Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil*. *Intern. J Mol. Sci.* 11: 458-479.
- DIEGO L., GARCÍA-GONZÁLEZ, APARICIO-RUIZ R., APARICIO R., 2008. *Virgin olive oil. Chemical implications on quality and health*, *J. Agric. Food Chem.*, 110: 602-607.
- ELNAGAR A.Y., SYLVESTER P.W., EL SAYED K.A., 2011. *(-)-Oleocanthal as a c-Met Inhibitor for the Control of Metastatic Breast and Prostate Cancers*. *Planta Medica*. 77: 1013-1019.
- IMPELLIZZERI J., LIN J., 2006. *A simple high-performance liquid chromatography*. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 3204-3208.
- KONSTANTINIDOU V., COVAS M.I., MUÑOZ-AGUAYO D., KHYMENETS O., DE LA TORRE R., SAEZ G., TORMOS M., TOLEDO E., MARTI A., RUIZ-GUTIÉRREZ V., RUIZ MENDEZ M.V., FITO M., 2010. *In vivo nutrigenomic effects of virgin olive oil polyphenols within the frame of the Mediterranean diet: a randomized controlled trial*. *FASEB J.*, 24: 2546-2557.
- MATERLJAN E., MATERLJAN M., MATERLJAN B., *et al.*, 2009. *Multiple sclerosis and cancers in Croatia a possible protective role of the Mediterranean diet*. *Collegium Antropologicum*. 33 : 539-545.
- MUZZALUPO I., STEFANIZZI F., PERRI E., CHIAPPETTA A. 2011. *Transcript levels of CHL P gene, antioxidants and chlorophylls contents in olive (Olea europaea L.) pericarps*. *Plant Foods for Human Nutrition*; 66: 1-10

