



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE

EFFETTO DELLA DENOCCIOLATURA SUI PARAMETRI DI QUALITÀ DELL'OLIO EXTRA VERGINE DI OLIVA

TESI Sperimentale

Studentessa:
LUCREZIA GEMINIANI

Relatore:
PROF.SSA DEBORAH PACETTI

Correlatore:
DOTT. EDOARDO BARTOLUCCI

ANNO ACCADEMICO 2021-2022

Sommario

1 INTRODUZIONE.....	4
1.1.1 OLIO EXTRA VERGINE DI OLIVA: INFORMAZIONI GENERALI	4
1.1.2 STRUTTURA DELLA DRUPA	5
1.1.3 COMPOSIZIONE CHIMICO- FISICA	6
1.2 OLIO EXTRA VERGINE DI OLIVA	7
1.3 FILIERA DI PRODUZIONE DELL'OLIO	7
Fase 1: La raccolta delle olive	7
Fase 2: Stoccaggio delle Olive.....	9
Fase 3: Defogliazione.....	10
Fase 4: La Molitura delle Olive	10
Fase 5: La Gramolatura.....	11
Fase 6: Estrazione dell'Olio Extravergine	12
Fase 7: Imbottigliamento e stoccaggio dell'olio extravergine d'oliva	13
1.4 TECNICHE INNOVATIVE.....	15
1.4.1. Influenza delle tecnologie emergenti sulla produzione di EVOO (resa e qualità).....	16
1.4.1.1. Campi elettrici pulsati.....	16
1.4.1.2. Elaborazione ad alta pressione (HPP).....	18
1.4.1.3. Tecnologia a ultrasuoni	18
1.4.1.3.1. Ultrasuoni ad alta potenza	20
1.4.1.4 Applicazioni a microonde nell'estrazione dell'olio d'oliva	21
1.4.2. Applicazione della denocciolatura nella produzione di olio.....	22
1.4.2.1. Produzione olio denocciolato	23
1.4.2.2. Stabilità ossidativa e contenuto totale di fenoli.....	26
2. SCOPO DEL LAVORO	30
3. MATERIALI E METODI	31
3.1. Determinazione dell'acidità.....	32
3.2. Perossidi.....	33
3.3. Rancimat.....	34
3.4. Composti organici volatili	36
4. RISULTATI SPERIMENTALI	40
4.1 ACIDITA'	40
4.2 PEROSSIDI	41
4.3 RANCIMAT	42
4.4 COMPOSTI VOLATILI	43

5. CONCLUSIONI	47
6. BIBLIOGRAFIA	48

1 INTRODUZIONE

1.1.1 OLIO EXTRA VERGINE DI OLIVA: INFORMAZIONI GENERALI

L'olio, termine che deriva dal Sumero *ulu*, diventato *èlaion* in greco e *oleum* in latino (Antolini, 1997), è il prodotto ottenuto dalla molitura delle drupe dell'olivo (*Olea europea*), una pianta arborea da frutto appartenente alla famiglia delle Oleacee (Dicotiledoni). L'ulivo è una delle piante coltivate più antiche al mondo. È originaria di una zona del Medio Oriente compresa tra l'Armenia, il Turkestan e il Pamir (Asia centrale) (Antolini, 1997). La sua diffusione su tutta la costa del Mediterraneo è da attribuire ai Fenici, popolo dedito ai traffici mercantili e marittimi. La coltivazione dell'ulivo si sviluppò notevolmente dapprima con i Greci, poi con i Romani, che iniziarono a coltivarlo in tutti i territori conquistati. L'olivo è una pianta tipicamente mediterranea, particolarmente adattata, dunque, a regioni di tipo temperato caldo caratterizzate da stagioni estive lunghe ed asciutte. È una pianta sempreverde di medio sviluppo (4- 8 metri di altezza). Le variabili ambientali (suolo e clima), le condizioni imposte dalle tecniche colturali possono far variare di molto le caratteristiche di portamento dell'albero, la forma e la densità della chioma, nonché lo sviluppo complessivo della pianta, le cui dimensioni possono essere anche notevoli (15 metri di altezza e 1,5-2 di diametro del tronco) oppure si riducono in presenza di condizioni limitanti (basse temperature al nord, aridità al sud). Caratteristiche di questa specie sono l'adattamento a condizioni ambientali e colturali estreme e la longevità (Doveri & Baldoni, 2007). Dopo la Spagna, l'Italia nell'anno 2015-2016 è il secondo produttore di olio di oliva in Europa e nel mondo, con una produzione nazionale media di oltre 464 000 tonnellate, due terzi dei quali extra vergine ed è attualmente il paese leader per biodiversità di cultivar, con oltre 800 varietà (*Unaprol- consiglio olivicolo italiano*). Inoltre l'Italia possiede 41 denominazioni DOP e un'IGP riconosciute dall'Unione europea. Tra gli IGP si possono poi distinguere alcune qualità con speciali "menzioni". Ad esempio l'Olio Extra Vergine d'Oliva Toscano IGP conta le menzioni: Seggiano, Colline Lucchesi, Colline della Lunigiana, Montalbano, Colline di Firenze, Colline Aretine, Colline Senesi, Monti Pisani, come da disciplinare del consorzio. In Italia l'olivo è diffuso su circa un milione di ettari in coltura principale e su una superficie di poco inferiore in coltura secondaria, consociata con seminativi o con altre specie arboree (vite, agrumi, mandorlo eccetera). Per quanto attiene le zone altimetriche, l'olivo è diffuso per il 2% in montagna, il 53% in collina e per il 44% in pianura. Per le caratteristiche stesse della pianta, che ha bisogno di un clima mite e senza troppi sbalzi termici, la coltivazione dell'olivo in Italia è molto diffusa nelle regioni del Centro (19%) e del Sud (77,9%), mentre al Nord la produzione è più limitata (2%), ma in aumento, concentrandosi particolarmente in alcune zone a microclima più temperato, come per esempio la Liguria e le zone collinari attorno al Lago di Garda. Le piante in produzione sono circa 170 milioni e le aziende agricole che si occupano di olivicoltura sono più di un milione, pertanto le superfici medie coltivate sono dell'ordine di un ettaro circa, a testimonianza dell'estrema frammentazione fondiaria.

I mercati dell'olio d'oliva stanno cambiando rapidamente. L'olio extra vergine di oliva monovarietale (MEVOO) sta riscuotendo un crescente interesse consentendo un'ulteriore segmentazione del mercato e creando nuove tendenze in nicchie di mercato elevate (Cacchiarelli et al., 2016).

I MEVOO sono definiti come oli ottenuti dalla trasformazione di olive da una varietà. Tradizionalmente, gli EVOO sono costituiti da miscele di tutte le varietà di olive presenti in ciascuna azienda agricola, ma più recentemente, la tecnologia e i macchinari di molitura consentono la molitura separata anche di piccole quantità di olive.

Poiché i MEVOO sono prodotti che riflettono le caratteristiche di un paese al di là della genetica, la loro caratterizzazione sensoriale e chimica sistematica ha un ruolo fondamentale per identificare oli di qualità con una notevole diversità e una chiara identità. Una dettagliata descrizione delle caratteristiche chimiche e sensoriali del MEVOO prodotto con cultivar di olivo tra le più diffuse in Italia, quali Frantoio, Leccino e Moraiolo è stata riportata da diversi autori (Blasi et al., 2019)(Rotondi

et al., 2010). Inoltre, sono state evidenziate anche le caratteristiche del MEVOO da cultivar tipiche di diverse regioni italiane produttrici di oli pregiati.

Tuttavia, una limitazione frequente negli studi sui MEVOO è che le cultivar spesso provengono da aree geografiche diverse; pertanto, altre variabili come le caratteristiche pedoclimatiche possono introdurre biodiversità. Infatti, è noto che la stessa cultivar coltivata in diverse condizioni pedoclimatiche (altitudine, latitudine, condizioni climatiche, composizione del suolo ecc.) mostra valori diversi di composizione in acidi grassi, contenuto fenolico e stabilità ossidativa. Poiché gli aspetti pedoclimatici, la maturazione delle olive, l'epoca di raccolta e il sistema di estrazione, incidono fortemente sulla composizione chimica e sulle proprietà sensoriali degli oli (Campestre et al., 2017), proprio per queste motivazioni si raccomanda di controllare questi fattori quando si studiano le caratteristiche dei MEVOO. All'interno del patrimonio dei prodotti della dieta mediterranea, i MEVOO rappresentano contributi preziosi, le cui proprietà sensoriali e salutari sono spiegate da peculiarità compositive chimiche, in molti casi non ancora indagate.

1.1.2 STRUTTURA DELLA DRUPA

Il frutto dell'oliva è una drupa di peso variabile tra 0,5 e 20 g (Fig.1.1), formata da: epicarpo, mesocarpo, endocarpo e più internamente dal seme.

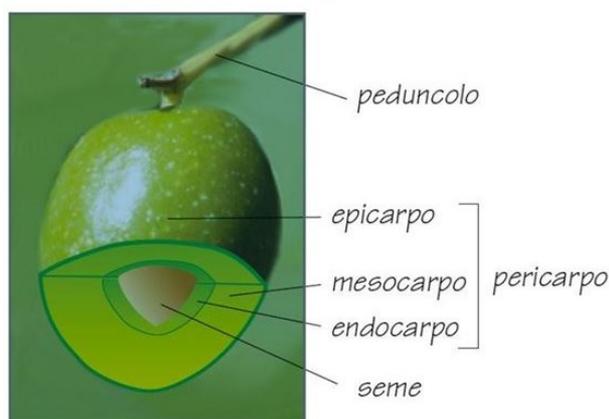


Figura 1.1. struttura dell'oliva

Nei riguardi dell'oliva risulta difficile parlare di composizione media data la sua notevole differenziazione varietale che si traduce in un'elevata variabilità compositiva.

I componenti quantitativamente più importanti del frutto fresco sono l'acqua (40-70 %) e le sostanze grasse (6-25%), contenute principalmente nel mesocarpo.

Il frutto contiene composti idrosolubili quali zuccheri semplici, acidi organici, sostanze azotate e sostanze fenoliche ed una frazione insolubile di natura colloidale.

I colloidali della drupa comprendono i componenti della parete cellulare o della lamella mediana (cellulose, emicellulose e pectine), proteine strutturali ed enzimatiche e fosfolipidi di membrana.

I più importanti zuccheri riducenti ritrovati nelle olive comprendono il glucosio, fruttosio e saccarosio mentre tra gli acidi organici i più rappresentati sono l'acido citrico, l'acido malico e l'acido ossalico.

Nella composizione delle olive riveste una notevole importanza la frazione fenolica, che include i precursori degli antiossidanti naturali presenti negli oli vergini di oliva. I composti fenolici che sono presenti nella drupa in quantità molto elevate (dal 0,5 al 2,5% del peso fresco) e includono tra i componenti più rilevanti l'oleuropeina e la demetiloleuropeina. Questi composti sono presenti in

modo più consistente nella buccia e nella polpa mentre la mandorla li contiene in concentrazioni molto ridotte.

L'olio è presente principalmente nella polpa (16-25% del peso fresco) e limitatamente nella mandorla della drupa dell'oliva (1-1,5% del peso fresco) (Cimato et al., 2001; Di Vaio, 2008; Gucci et al., 2003).

Il seme ha il compito di propagare la specie vegetale, pertanto accumula sostanze (lipidi, carboidrati, proteine) che possono essere utilizzate dall'embrione durante le prime fasi di germinazione.

Il frutto, invece, ha il ruolo di disseminare il seme e pertanto l'accumulo di sostanze di riserva (lipidi) può essere legato alla funzione di attrarre animali e rendersi appetibile ad essi per poter essere disseminato altrove (Sanchez & Harwood, 2002).

Nella prima fase di maturazione del frutto, l'olio è presente sotto forma di minuscole gocce nelle cellule del mesocarpo che aumentano il loro volume fino ad occupare gran parte della stessa cellula. Il grasso è racchiuso in piccolissime sacche membranose che ne impediscono il contatto con il protoplasma (dove sono presenti anche gli enzimi responsabili delle alterazioni lipolitiche ed ossidative). Successivamente l'olio occuperà circa l'80% dello spazio intracellulare e di questo, il 70-85% sarà racchiuso da una struttura membranosa vacuolare (olio disponibile o libero), mentre il rimanente risulterà disperso, sotto forma di minute goccioline, nel citoplasma. Il contenuto in olio della drupa dell'olivo aumenta con la maturazione fino ad un valore massimo, oltre il quale tende a decrescere leggermente durante la sovra maturazione.

La maturazione ideale, dal punto di vista sia tecnologico che qualitativo, corrisponde alla fase di invaiatura (cambiamento del colore) quando la drupa mostra la superficie parzialmente o completamente colorata e la polpa ancora chiara; ciò avviene in momenti caratteristici della campagna di produzione differenti (a maturazione più o meno precoce o tardiva), in relazione anche all'andamento climatico dell'annata (Sacchi et al., 2003).

L'intero processo tecnologico di produzione dell'olio dalle olive prevede l'uso esclusivo di mezzi fisici e meccanici nell'ambito delle diverse fasi che portano alla separazione della componente oleosa dalla sansa e dall'acqua di vegetazione.

1.1.3 COMPOSIZIONE CHIMICO- FISICA

Dal punto di vista chimico-fisico, l'olio di oliva può essere considerato un grasso alimentare liquido a temperatura ambiente.

La composizione chimica dell'olio di oliva può essere schematizzata molto semplicemente, dal punto di vista delle rispettive proporzioni, in componenti maggiori e minori che prendono il nome rispettivamente di: frazione saponificabile (98-99%) e frazione insaponificabile (1-2%). I componenti maggiori sono costituiti principalmente dai triacilgliceroli o trigliceridi (TAG) e dal gruppo costituito dagli acidi grassi liberi (FFA) e dai mono e digliceridi (MAG e DAG). Gli acidi grassi che compongono i trigliceridi sono principalmente: palmitico C16:0 (P: 6,30-20,93%), palmitoleico C16:1 (Po: 0,32-3,52%), stearico C18:0 (S: 0,32-5,33%), oleico C18:1 (O: 55,23- 86,64%), linoleico C18:2 (L: 2,7-20,24%) e linolenico C18:3 (Ln: 0,11-1,52%). L'ampio range di acidi grassi è in gran parte dipendente dall'origine geografica in relazione alle condizioni pedoclimatiche.

Altri derivanti degli acidi grassi, come fosfolipidi, cere ed esteri degli steroli, sono inclusi tradizionalmente nei composti minori insieme ad un gruppo ampio ed eterogeneo di oltre 200 composti costituito da steroli, alcoli alifatici, idrocarburi, biofenoli, tocoferoli, composti volatili. Benché quantitativamente si tratti di concentrazioni esigue, che raggiungono in qualche caso al massimo poche centinaia di ppm, tali composti contenuti nella frazione insaponificabile sono importanti per la qualità e genuinità dell'EVO, oltre che per le sue qualità organolettiche, nutrizionali e salutistiche. Tali aspetti sono argomento di attiva ricerca scientifica. Tutti questi composti sono

alla base delle sfide attuali e future nell'ambito della ricerca scientifica sull'olio di oliva (Garcia-Gonzàles & Aparicio, 2010).

1.2 OLIO EXTRA VERGINE DI OLIVA

L'olio extravergine d'oliva, anche conosciuto come olio EVO, è un olio alimentare estratto dai frutti dell'olivo ed è un alimento tipico dell'area mediterranea: un prodotto pregiato ed antichissimo, dall'alto valore economico. L'olio extravergine di oliva è ottenuto da operazioni esclusivamente meccaniche e non da procedure chimiche o raffinazioni e la sua qualità è definita da leggi comunitarie che ne definiscono anche parametri chimici, fisici ed organolettici. Lo troviamo come alimento principe nella rinomata dieta mediterranea che, grazie alla quantità di acidi grassi monoinsaturi in esso contenuti, risulta un prodotto importante per il benessere dell'organismo.

L'olio extra vergine è caratterizzato da un flavour fragrante e delicato che è stato apprezzato fin dall'antichità da tutti i popoli del bacino mediterraneo, sua naturale zona di provenienza, e che ne ha diffuso il consumo anche nei paesi in cui era praticamente sconosciuto (Nord Europa, Canada, Stati Uniti, Giappone). Molti consumatori identificano nell'olio di oliva un prodotto alimentare che combina perfettamente valori nutrizionali e sensoriali. Questa percezione ha ampliato il consumo di olio d'oliva a dati che erano inimmaginabili solo un decennio fa (Unaprol, 2010; Simonelli, 2011). Una volta raccolte, le olive dovrebbero essere portate al frantoio al massimo entro 24 ore e lavorate al massimo entro 48 ore, perché se la conservazione si protrae oltre si innescano dannosi processi chimici che provocano l'aumento del grado di acidità e di ossidazione dell'oliva. Tali processi sono particolarmente rapidi se le olive sono già in uno stadio avanzato di maturazione, lesionate o attaccate da parassiti (Cecchi et al., 2021).

1.3 FILIERA DI PRODUZIONE DELL'OLIO

La filiera di produzione si divide sostanzialmente in sette fasi:

- La raccolta
- Lo stoccaggio
- La defogliazione e il lavaggio
- La molitura
- La gramolatura
- L'estrazione
- Lo stoccaggio e l'imbottigliamento

(fig. 2)

Fase 1: La raccolta delle olive



La raccolta delle olive è una fase molto importante per la produzione di un olio di alta qualità. Dalle tecniche utilizzate e dal periodo in cui viene messa in atto questa operazione dipende il gusto dell'olio e la sua qualità. In realtà non è un processo così semplice come può sembrare, ma è fatto di tecniche e segreti che si tramandano per far sì di ottenere il miglior risultato finale.

Il periodo migliore per la raccolta delle olive è quello che permette di ottenere la massima produzione di olio con le migliori caratteristiche organolettiche che non coincide con lo stadio più avanzato di maturazione delle olive bensì con la fase di "invaiaitura", quella cioè in cui le olive si colorano progressivamente passando dal verde al rosso-nero. Naturalmente questo periodo cambia con le varietà coltivate, con la zona e con l'andamento climatico stagionale, pertanto non esiste un momento esatto e riproducibile, ma la raccolta viene generalmente eseguita fra la metà di ottobre e la metà di dicembre.

Il primo aspetto che bisogna prendere in considerazione è il tipo di oliva da raccogliere: per questo fattore cambiano infatti sia la condizione con cui deve essere raccolta che il periodo dell'anno nella quale viene considerata matura. Per una buona raccolta è opportuno aspettare che il cambiamento del colore del frutto (la cosiddetta invaiatura) passi da verde a nero, è questa infatti la fase nella quale è presente una maggiore quantità di olio e di sostanze nutritive che portano il prodotto finale ad avere una qualità superiore.

Ogni metodo di raccolta ha dei diversi effetti sul frutto e sul prodotto finale, per questo è sempre meglio valutare con attenzione la tecnica in base alla propria necessità.

La raccolta si può effettuare in due modi:

- Manuale
- Meccanica

Manuale

Le principali tecniche di raccolta a mano sono:

- *Bacchiatura*: È un metodo molto antico che consiste nel "bacchettare" i rami dell'ulivo con dei bastoni in modo da fare cadere le olive, per poi raccogliere con delle reti poste a terra. Questa tecnica ha il difetto che i frutti dopo l'impatto col terreno rischiano facilmente di danneggiarsi, motivo per cui è ormai considerata obsoleta.
- *Brucatura*: Consiste nel raccogliere le olive a mano direttamente dai rami. Ha il grande vantaggio di non danneggiare le olive ed è indicata per produrre oli di massima qualità in quanto tutti i frutti vengono selezionati a mano singolarmente. Un tempo era effettuata a mano salendo su lunghe scale, attualmente si lavora da terra utilizzando dispositivi ad aria compressa o elettrici che "pettinano" la pianta e consentono un notevole risparmio di tempo e fatica, riducendo i problemi di sicurezza legati all'impiego delle scale. Le olive distaccate dai rami cadono a terra su ampie reti stese al suolo e sono poi raccolte e riposte nelle cassette.
- *Raccattatura*: Consiste semplicemente nella raccolta a terra delle olive mature che in modo completamente naturale si sono staccate dai rami. Questo metodo è fortemente sconsigliato, in quanto le olive sono già eccessivamente mature e quindi non si otterrà un olio di alta qualità.

Meccanica

- *Scrollatura*: le olive vengono raccolte grazie a dei bracci meccanici, essi avvolgono il tronco o i rami dell'albero che vengono percossi lievemente per favorire la caduta dei frutti. Grazie a questa tecnica la qualità del prodotto non viene sensibilmente inficiata, in quanto questi

strumenti sono dotati di strutture simili ad ombrelli rovesciati che servono per non danneggiare le olive.

- *Pettinatura*: I rami vengono “pettinati” da degli strumenti appositi che staccano le olive, queste vengono poi raccolte da delle reti attaccate sotto gli alberi. Lo svantaggio di questo metodo sta nel fatto che i frutti rischiano di essere danneggiati molto facilmente dagli strumenti a forma di pettine e quindi, richiede una seconda fase di selezione.

Fase 2: Stoccaggio delle Olive



Non meno importante al fine di ottenere un olio di qualità è il processo di stoccaggio delle olive. Questa prima fase della lavorazione non deve essere sottovalutata, infatti se le olive rimangono troppo tempo sui rami o vengono lasciate in terra, possono subire un processo di macerazione deleterio per la successiva produzione dell'olio.

Per non compromettere la qualità delle olive, l'ideale sarebbe portarle al frantoio entro 48 ore dalla raccolta. Questo frutto è talmente delicato che deve essere prestata molta attenzione anche sul tipo di contenitore usato per la conservazione. Le olive devono essere raccolte in apposite “cassette areate” in plastica, per poi essere conservate lontano da fonti di calore. Questo garantisce che le olive non fermentino in modo anaerobico dando origine alla formazione di alcoli alifatici che produrrebbero nell'olio difetti quali “riscaldamento” e in casi estremi anche muffa. Bisogna evitare sicuramente i sacchi, dove le olive vengono schiacciate dando luogo a quei processi che deteriorano inevitabilmente i frutti. Altro contenitore non adatto è la cassetta di legno in quanto facilmente attaccato dalle muffe.

Fase 3: Defogliazione



Le olive prima di essere introdotte nel ciclo di lavorazione vero e proprio devono essere sottoposte alle operazioni di defogliazione e di lavaggio sia per questioni igienico-sanitarie sia per ragioni qualitative dell'olio. Essendo l'olio un prodotto alimentare è corretto e doveroso, nel rispetto delle più elementari norme igienico-sanitarie, che la materia prima da cui si ottiene sia esente da sostanze nocive. Inoltre, rimuovere il materiale che accompagna spesso le olive è particolarmente opportuno quando l'oleificio adotta il frangitore metallico per la preparazione della pasta di olive ed il *decanter* centrifugo per la separazione dell'olio. In questo caso, infatti, la presenza di foglie potrebbe incidere sulle caratteristiche organolettiche dell'olio. Ovviamente, per il lavaggio dei frutti, si utilizza acqua potabile da ricambiare con frequenza tale da ottenere una buona igiene delle olive e da evitare la comparsa di cattivi odori che potrebbero contaminare l'olio. Le lavatrici, infine, sono dotate di un apposito spruzzatore a doccia supplementare che opera il lavaggio finale con acqua di rete per rimuovere ogni possibile rischio di inquinamento e per assicurare l'eliminazione di possibili residui di sostanze organiche impiegate per la difesa della coltura dagli agenti esterni.

Fase 4: La Molitura delle Olive



Nel processo di molitura, le olive raccolte, dopo essere state ripulite e lavate vengono sottoposte in frantoio ad azione meccanica con lo scopo di provocare la rottura della parete cellulare e delle

membrane che le compongono. In questo modo l'olio fuoriesce dal frutto permettendo di raccogliere il prodotto e di passare alle fasi successive di lavorazione.

La rottura viene effettuata in maniera naturale dallo sfregamento dei noccioli contro le estremità del frutto, oppure mediante la collisione di appositi strumenti meccanici. Viene così estratto un olio d'oliva "grezzo" chiamato anche pasta d'olio, un composto semifluido che costituisce il prodotto principale della molitura delle olive. Spesso accade che nei processi di lavorazione di alimenti di qualità come quello dell'olio extravergine di oliva, ogni fase può essere eseguita in modi diversi a seconda delle necessità, del tipo di impianto, del prodotto finale e delle tradizioni o scelte aziendali. I sistemi utilizzati per la molitura sono principalmente due: la molitura classica e la frangitura.

La molitura classica:

Viene attuata tramite la "molazza", uno strumento appartenente alla tradizione e che deriva dalle classiche macine in pietra. Con questa tecnica l'azione meccanica viene esercitata con delle grandi ruote solitamente in granito che effettuano una rotazione sui frutti. Sono presenti inoltre delle lame sulla ruota, che hanno la funzione di rimuovere la pasta d'olio che aderisce alla superficie migliorandone il rimescolamento.

La frangitura:

È una tecnica eseguita per mezzo di un macchinario industriale chiamato, per l'appunto, frangitore a martelli. Il carico viene effettuato dall'alto grazie a degli elevatori a nastro che prelevano i frutti direttamente dalle lavatrici e che riversano la pasta d'olio dal basso, nelle gramolatrici. Tramite questa tipologia di molitura la rottura delle pareti cellulari e delle membrane viene causata dagli urti ad alta velocità dei dispositivi meccanici che ruotano, il che avviene in tempi molto ridotti indicando questa tecnica perfetta per cicli di lavorazione continui e automatizzati.

Nella frangitura gli enzimi presenti nella polpa e nel seme vengono attivati dalla rottura delle pareti cellulari. Ciò non è per forza negativo: è vero che viene facilitata l'ossidazione e quindi diminuisce la qualità organolettica dell'olio, ma è anche vero che in questo modo si estraggono quelle sostanze volatili responsabili del suo aroma tipicamente fruttato. La molitura classica, invece, comporta un grado decisamente inferiore di emulsione permettendo di ottenere una resa più elevata. Il gusto sarà meno piccante e amaro, perché i polifenoli sono presenti in minor quantità.

In sintesi, si può affermare che il sistema di molitura delle olive classico si presta per una produzione di oli di maggiore qualità quindi un maggiore prezzo di vendita.

Fase 5: La Gramolatura



È il processo che segue la molitura o la frangitura ed ha lo scopo di rompere l'emulsione fra acqua ed olio e far confluire le micelle d'olio in gocce più grandi che tendono a separarsi spontaneamente dall'acqua.

Si effettua in vasche in acciaio chiamate gramole in cui ruotano pale elicoidali che mantengono in lento rimescolamento la pasta d'olio. Questa fase è molto importante per determinare il rapporto tra resa quantitativa e qualità dell'olio: infatti il riscaldamento aumenterà l'efficacia della gramolatura permettendo l'innalzamento della resa in olio, tuttavia influirà negativamente sulla qualità.

Fase 6: Estrazione dell'Olio Extravergine



L'estrazione è il processo che vede finalmente la comparsa di un prodotto vicino a quello che conosciamo: anche in questo caso esistono diverse tecniche per portare questa fase di produzione dell'olio d'oliva a compimento, vediamole brevemente:

- Pressione (metodo classico e discontinuo)
- Centrifugazione (metodo moderno e continuo)
- Percolamento mediante filtrazione selettiva

Pressione:

L'estrazione per pressione è caratterizzata da una serie di fasi ben determinate. Sul composto gramolato viene applicata una pressatura che separa la porzione liquida dalla sansa. Il fluido derivante dev'essere poi centrifugato (centrifugazione) al fine di ricavare una prima separazione dell'acqua dall'olio. Il composto ottenuto viene poi sottoposto a filtrazione dalla quale si ottiene l'olio vergine di oliva.

Centrifugazione:

Con la centrifugazione si ottiene invece con un unico e continuo procedimento, tutte e 3 le componenti finali contemporaneamente. L'estrazione per centrifuga del gramolato si serve della differenza dei tre pesi specifici dei composti ricavando separatamente: sansa, olio vergine di oliva ed acqua.

Percolamento:

L'estrazione per percolamento e filtrazione selettiva adotta un processo fisico differente: viene impiegata la maggiore tensione superficiale dell'olio rispetto a quella dell'acqua.

Nel gramolato viene immersa una grossa lamina d'acciaio che, grazie alla differenza di tensione superficiale tra i due fluidi, si bagna prevalentemente di olio; facendo sì che quest'ultimo venga sgocciolato in un altro contenitore. Il percolato produrrà olio e mosto, successivamente verrà centrifugato per ricavare altro olio a discapito dell'acqua. Oppure può generare olio e sansa non definitiva, dalla cui centrifugazione si ottengono mosto e sansa. L'uno o l'altro metodo vengono applicati in base al tipo e all'efficacia di percolamento.

Fase 7: Imbottigliamento e stoccaggio dell'olio extravergine d'oliva



A questo punto il prodotto ottenuto è pronto per il consumo, contiene però ancora residui solidi e si presenta melmoso alla vista. Ha bisogno perciò di essere conservato in serbatoi di acciaio inox, in seguito ad esami chimici ed organolettici.

La temperatura di conservazione ottimale è di 15°-17°C in assenza di luce solare.

Durante il periodo di stoccaggio, l'olio viene sottoposto ad un sofisticato processo di decantazione naturale, senza ulteriori filtrature, le mucillagini della buccia e le particelle di acqua in sospensione saranno così sedimentate sul fondo del serbatoio. Questa filtrazione naturale fornisce all'olio una maggiore limpidezza senza intaccare le caratteristiche qualitative, nutrizionali ed organolettiche, anzi consente al nostro olio di preservare i gusti e le sensazioni tipiche del frutto.

Imbottigliamento

La parte finale della filiera produttiva dell'olio avviene nei locali attigui alle zone lavorazione delle olive, osservando le complesse normative HACCP.

È una delle fasi sicuramente più delicate proprio perché è necessario limitare il contatto con l'aria durante il travaso. Il confezionamento viene eseguito da specifiche apparecchiature che consentono di versare l'olio in contenitori adatti.

In seguito, l'olio viene imbottigliato e tappato ermeticamente, evitando l'alterazione delle sue proprietà organolettiche.

I recipienti devono essere di vetro scuro per evitare il contatto con la luce, o in alternativa si possono utilizzare degli appositi contenitori in banda stagnata, trattati in precedenza con materiali antiossidanti.

Altro fattore importante durante la fase di imbottigliamento è il tempo complessivo dell'operazione. Essa infatti, deve essere breve per salvaguardare gusto e sapore dell'olio.

Di seguito è schematizzato l'intero processo di produzione dell'olio di oliva extravergine (EVOO):

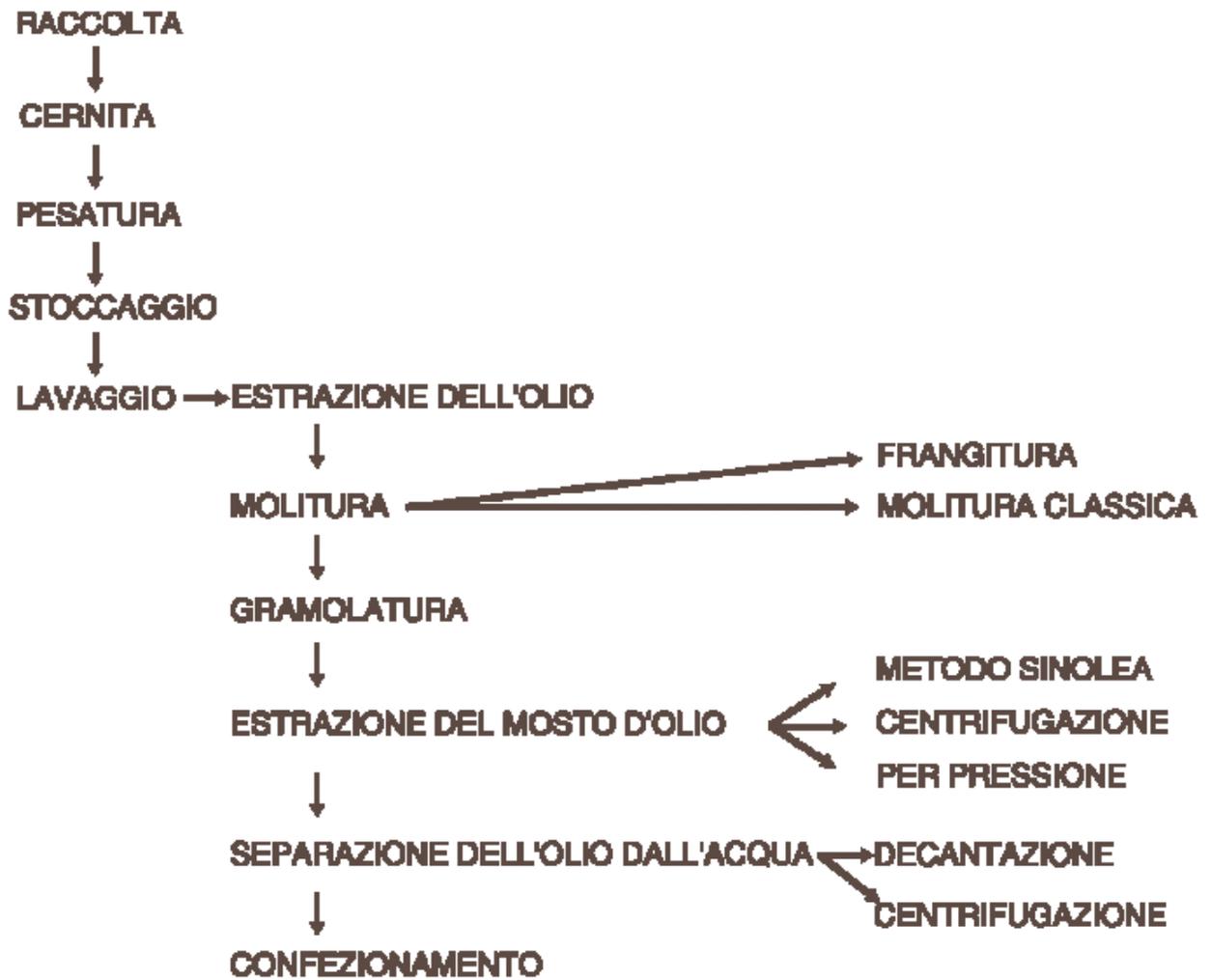


Figura 2 Diagramma di flusso EVOO

1.4 TECNICHE INNOVATIVE

Esiste una crescente preferenza dei consumatori per l'olio extravergine di oliva di alta qualità (EVOO) con proprietà benefiche e sensoriali associate a un contenuto più elevato di composti fenolici e volatili. Per soddisfare questa domanda, sono in fase di studio diverse tecnologie nuove ed emergenti da applicare nella produzione di EVOO. I parametri critici per ottenere EVOO di qualità ottimale con alto potenziale antiossidante sono la temperatura e la durata del processo di gramolatura ovvero la fase in cui la pasta di olive viene mescolata prima di essere separata in centrifuga. (Canyon Hydro et al., 2013)

Notevoli sforzi sono stati dedicati alla ricerca di processi alternativi in grado di preservare gli attributi di qualità degli alimenti, pur essendo rispettosi dell'ambiente e a basso costo. Di conseguenza, sono state sviluppate e applicate diverse tecnologie nuove ed emergenti per soddisfare la crescente domanda dei consumatori di prodotti più naturali con meno additivi e conservanti che offrono anche praticità, freschezza e sicurezza (Cavallo et al., 2020)

La moderna lavorazione degli alimenti si basa sui progressi delle tecniche tradizionali (ad es. cottura sottovuoto, lavorazione termica assistita), nonché sull'integrazione di nuove procedure, principalmente campi elettrici pulsati (PEF), lavorazione ad alta pressione (HPP), ultrasuoni (USA), trattamenti ad ultrasuoni ad alta potenza (HPU) e microonde (MW). Questi metodi sono stati studiati per la loro capacità di migliorare gli attributi dei prodotti alimentari, come il colore, consistenza e sapore (Maria et al., 2021), il contenuto di composti fenolici, carotenoidi e vitamine e anche la disponibilità di composti bioattivi (Garcia-oliveira et al., 2021). Nella produzione di EVOO queste tecniche si basano sulla rottura delle pareti cellulari, delle membrane del frutto dell'olivo e sulla promozione della formazione dei pori e della permeabilità della membrana, che porta ad afflusso di acqua. Di conseguenza, l'estrazione dell'olio durante la gramolatura è migliorata ottenendo rese più elevate (Cavallo et al., 2020). Tuttavia, l'applicazione di queste nuove tecnologie nella produzione di EVOO è ancora agli inizi e solo pochi studi preliminari si sono concentrati sui loro effetti sulla resa e sulla qualità dell'olio (Maria et al., 2021).

Indipendentemente dai vantaggi delle tecnologie alimentari emergenti, il successo di mercato del prodotto dipende in larga misura dall'accettazione da parte del consumatore, che può avere preoccupazioni sugli effetti verso la salute o l'ambiente (Aydar et al., 2017). L'industria alimentare deve sfidare la percezione comune delle nuove tecnologie come dirompenti, costose e rischiose e persuadere il consumatore dei loro benefici, tra cui una produzione alimentare competitiva e a basso margine. Un fattore primario nella scelta dei prodotti alimentari da parte del consumatore è la percezione dei benefici per la salute (Cavallo et al., 2020). C'è anche una maggiore disponibilità a pagare un extra per i nuovi prodotti se si ritiene che abbiano più qualità e convenienza (Amirante et al., 2006). Oltre alle peculiarità del prodotto stesso, le caratteristiche di produzione, come l'origine, il benessere degli animali e la tecnologia di produzione, influenzano il comportamento dei consumatori. (Poerio, 2007)

Il metodo di estrazione convenzionale dell'olio extravergine di oliva (EVOO) consiste in tre processi principali, che sono la frantumazione, la gramolatura e la centrifugazione (Aydar et al., 2017).

Le tecniche convenzionali nell'estrazione dell'olio d'oliva non sono cambiate in modo significativo negli ultimi 20 anni (Amirante et al., 2010). Tuttavia, in linea con i risultati della ricerca e le nuove tecniche sviluppate dalla domanda del mercato, l'industria alimentare in corso è diventata molto attiva nella ricerca di nuovi metodi per l'innovazione alimentare. Ancora è molto raro che l'industria alimentare sviluppi e adotti tecniche di lavorazione avanzate nella direzione dei crescenti requisiti di qualità e sicurezza alimentare dei consumatori (Cavallo et al., 2020). I ricercatori che lavorano allo sviluppo della tecnologia alimentare stanno compiendo grandi sforzi per sviluppare e attuare strategie di "elaborazione minima" per rimuovere gli effetti negativi dei metodi di lavorazione degli alimenti tradizionali. La definizione più generale di lavorazione minima può essere: preservare la

qualità nutrizionale e le qualità sensoriali del cibo mediante l'applicazione del calore, che è la fase di protezione di base nella lavorazione degli alimenti, per un periodo di tempo più breve (Cavallo et al., 2020). Le tecnologie emergenti, tra cui microonde, elaborazione ad alta pressione, luce pulsata, radiofrequenza, riscaldamento ohmico, ultrasuoni e campo elettrico pulsato (PEF), sono ampiamente applicate nei processi minimi emergenti nell'industria alimentare grazie a dei loro effetti positivi tra cui una maggiore efficienza di estrazione, tempo di estrazione ridotto, maggiore resa e basso consumo energetico (Aydar et al., 2017).

1.4.1. Influenza delle tecnologie emergenti sulla produzione di EVOO (resa e qualità)

All'interno delle cellule dell'olivo, l'olio si trova parzialmente nel vacuolo in forma libera (circa il 76%), e il resto si trova all'interno del citoplasma, dove si disperde sotto forma di piccole goccioline attaccate ai colloidali (Cavallo et al., 2020). La procedura convenzionale per l'estrazione di EVOO include un processo di gramolatura, la cui applicazione aumenta la resa rispetto alle olive non malassate di circa il 5%, un miglioramento significativo per le industrie dell'olio d'oliva (Castillo-Luna et al., 2021). Tuttavia, la temperatura e la durata della gramolatura possono compromettere la qualità degli oli d'oliva. Nell'ultimo decennio, sono state proposte tecniche delicate innovative per migliorare la produzione di EVOO senza un impatto negativo sui parametri di qualità (Navajas-Porras et al., 2020)

1.4.1.1. Campi elettrici pulsati

Il campo elettrico pulsato (PEF), tecnologia non termica, è efficace per la permeabilizzazione reversibile o irreversibile delle membrane cellulari in diversi tessuti vegetali, senza un aumento significativo della temperatura. La tecnologia PEF, utilizzata nel campo della scienza alimentare dal 1960, si basa sul principio dell'esposizione di prodotti alimentari liquidi o solidi a un campo elettrico che causa pori nelle membrane cellulari (Cavallo et al., 2020).

I potenziali benefici della PEF sono stati dimostrati in recenti ricerche. Rispetto al trattamento termico, i trattamenti PEF consentono di risparmiare energia e tempo. I trattamenti PEF possono essere applicati a intensità di campo elevata o moderata. Da un lato, i PEF ad alta intensità sono un'alternativa alle tecniche di conservazione degli alimenti convenzionali. È stata dimostrata la capacità del PEF ad alta intensità di ottenere alimenti liquidi stabili a scaffale con un alto valore nutritivo (Maria et al., 2021). D'altra parte, il PEF di intensità moderata permeabilizza le strutture dei tessuti, migliorando così l'estrazione dei metaboliti intracellulari e aumentando l'efficienza di essiccazione. Pertanto, i prodotti trasformati in PEF potrebbero contribuire ad aumentare l'assunzione giornaliera di composti che promuovono la salute (Puértolas & Martínez De Marañón, 2015).

L'elettroporazione, indotta dal trattamento PEF, espone la membrana cellulare a un campo elettrico, determinando un aumento del potenziale transmembrana (accumulo di ioni carichi in modo opposto su entrambi i lati della membrana citoplasmatica non conduttiva) e la formazione di pori nelle aree deboli della membrana (Amirante et al., 2006). L'elettroporazione porta alla fuoriuscita di composti intracellulari e aumenta il trasferimento di massa, come mostrato nella Figura 3.

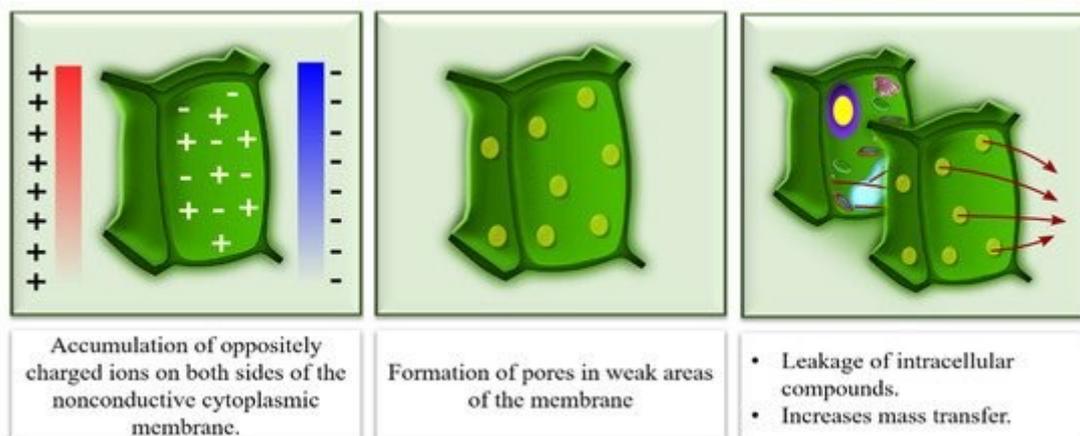


Figura 3 Effetto del trattamento dei campi elettrici pulsati (PEF) sulla membrana cellulare.

Le applicazioni PEF hanno il potenziale per aumentare il contenuto di fitonutrienti EVOO e le proprietà salutari. Insieme al raggiungimento di una resa di estrazione fino al 18%, il trattamento ha aumentato il contenuto fenolico totale e la stabilità ossidativa dell'olio di oliva.

La disgregazione cellulare causata dall'applicazione del PEF alla pasta di olive consente di effettuare la gramolatura a una temperatura più bassa, con il risultato di una migliore qualità dell'olio. Il PEF agisce come altre tecnologie, gli ultrasuoni o gli enzimi, aiutando il rilascio di olio dai lipo-vacuoli delle cellule del mesocarpo che non sono stati interrotti dalla frantumazione (Chiacchierini et al., 2007, Clodoveo et al., 2013). Tuttavia, oltre all'olio che rimane nelle cellule del mesocarpo, nella produzione convenzionale di olio d'oliva parte dell'olio viene emulsionato con acqua vegetale e, di conseguenza, viene perso con la sansa di oliva dopo la centrifugazione (Aguilera et al., 2010, Espínola et al., 2009). La difficoltà di liberare questo olio legato risiede principalmente nel fatto che le goccioline di olio emulsionato sono circondate da una membrana lipoproteica (Espínola et al., 2009). Un trattamento PEF con pasta di olive potrebbe rompere questa membrana lipoproteica, favorendo il rilascio di olio. Inoltre, l'applicazione dei campi elettrici è stata anche descritta di per sé come un'efficace tecnica di demulsificazione, poiché i campi elettrici facilitano i processi di separazione dell'olio dall'acqua (Kwon et al., 2010, Rayat e Feyzi, 2011). Pertanto, l'effetto PEF sulla resa in olio d'oliva potrebbe essere spiegato da un doppio meccanismo: il miglioramento dell'estrazione dell'olio dal tessuto dell'oliva e il rilascio di olio d'oliva intrappolato in emulsioni di acqua olio-vegetale.

Rispetto ad altri nuovi metodi fisici proposti per la produzione di olio d'oliva, come la tecnologia a ultrasuoni o microonde, la PEF sembra essere una tecnologia più efficiente per migliorare la resa in olio d'oliva. Secondo studi di laboratorio, il trattamento con ultrasuoni (35 kHz; 150 W; 8 min) ha il potenziale per aumentare la resa di estrazione del 6% (Clodoveo, Durante et al., 2013). Tuttavia, quando il processo ecografico è stato ingrandito, non è stato descritto alcun aumento della resa di estrazione (Clodoveo & Hbaieb, 2013). L'applicazione delle microonde alla pasta di olive (2450 MHz; 800 W; 3 min) non ha migliorato la resa dell'estrazione (Clodoveo & Hbaieb, 2013). Nella produzione EVOO circa il 20% dell'olio rimane nella sansa di oliva (Aguilera et al., 2010). Il residuo di olio rappresenta una grande perdita monetaria per il settore olivicolo, raggiungendo valori fino a 4 kg / 100 kg di olive lavorate (Chiacchierini et al., 2007). Questo olio viene normalmente estratto utilizzando solventi organici in industrie specializzate. Sebbene l'olio estratto sia ancora olio di oliva, non deve essere chiamato olio di oliva vergine (OOV), in quanto non è ottenuto con metodi fisici ed è di bassa qualità (Regolamento CE 1513/2001). Tenendo conto di questa base generale, un trattamento PEF potrebbe potenzialmente recuperare il 50% dell'olio che normalmente rimane nella sansa di oliva. Significherebbe un aumento della percentuale di recupero

VOO / EVOO dall'80% fino al 90%, riducendo di conseguenza la generazione di sottoprodotti e l'impatto ambientale della produzione di olio d'oliva. In un frantoio industriale di medie dimensioni da 3000 kg / h (16 h / giorno), un trattamento PEF potrebbe potenzialmente aumentare la produzione giornaliera di VOO / EVOO di 1277 kg (da 9600 a 10.877 kg). Ciò aumenterebbe i margini di profitto (di almeno il 13% in base al miglioramento della resa) e ripagherebbe l'investimento in attrezzature PEF.

1.4.1.2. Elaborazione ad alta pressione (HPP)

L'applicazione di HPP può causare cambiamenti strutturali negli alimenti, tra cui deformazione cellulare e danni alla membrana, che possono aumentare la permeabilità ai solventi nelle cellule e la diffusione dei metaboliti secondari, come mostrato nella Figura 4. I trattamenti HPP stimolano il trasferimento di massa attraverso la membrana a causa della pressione differenziale tra l'interno e l'esterno della cellula, seguito da un rapido ripristino di una concentrazione equilibrata. Andreou et al. ha studiato l'effetto dell'HPP (200 e 600 MPa, 25 ° C per 1 e 5 min) utilizzato prima della gramolatura (30 min a 30 ° C) su tre diverse varietà di frutti di oliva (Tsounati, Amfissis e Manaki) e ha trovato un aumento della resa di estrazione fino al 16%. I test sulla durata di conservazione indicano che la qualità dell'olio da olive non pretrattate termicamente varia a seconda delle condizioni utilizzate, ma l'olio prodotto da olive trattate con HPP ha una stabilità ossidativa maggiore rispetto ai campioni di controllo. Pertanto, HPP potrebbe potenzialmente essere applicato per produrre EVOO di qualità superiore con rese aumentate. È stata studiata l'applicazione combinata di filtrazione e alta pressione idrostatica su EVOO velato. L'olio risultante non era molto suscettibile ai fenomeni enzimatici e non enzimatici, in quanto non aveva contaminazione microbica, un basso contenuto di acqua e una bassa attività dell'acqua, l'opposto di quando veniva applicata solo un'elevata pressione idrostatica.

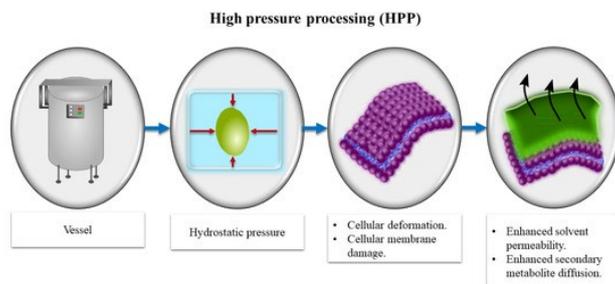


Figura 4 Deformazione della membrana cellulare e danni causati da HPP

1.4.1.3. Tecnologia a ultrasuoni

Negli ultimi anni, la ricerca in questo campo ha fornito diverse nuove tecnologie volte a migliorare la qualità di EVOO e ad aumentare l'efficienza del suo processo di produzione. Tra questi, l'uso degli ultrasuoni per l'estrazione di EVOO è una tecnologia emergente che ha mostrato diversi vantaggi sia per i produttori che per i consumatori (Clodoveo, 2019).

Gli ultrasuoni sono onde sonore con frequenza oltre il limite dell'udito umano (18-20 kHz) (Awad et al., 2012). L'utilizzo degli ultrasuoni all'interno dell'industria alimentare è da molti anni oggetto di ricerca e sviluppo, e si è dimostrato utile in diversi processi (es. Sterilizzazione, congelamento, essiccazione, emulsione, omogeneizzazione, estrazione, ecc.) prevedendo, in generale, tempi di lavoro più brevi e maggiore efficienza (Awad et al., 2012 ; Chandrapala et al., 2012 ; Chemat et al., 2011 ; Patist e Bates, 2008). In particolare, gli ultrasuoni ad alta potenza, che comportano l'uso di onde sonore a bassa frequenza (20-100 kHz) e ad alta potenza (10 kW superiori), sono in grado di generare pressioni elevate, forti forze di taglio e rilevanti gradienti di temperatura nella

propagazione media, determinando vari effetti fisici e chimici che possono essere utilizzati selettivamente da un punto di vista tecnologico (Jayasooriya et al., 2004).

Sono stati condotti diversi studi per indagare gli effetti dell'applicazione di ultrasuoni ad alta potenza sulla pasta di olive durante la fase di gramolatura dell'estrazione dell'olio d'oliva, inclusi studi su scala di laboratorio (Bejaoui et al., 2016a , b ; Jiménez et al., 2007), studi su scala vegetale (Bejaoui et al., 2018 ; Clodoveo et al., 2013a , b ; Iqdiem et al., 2018) e anche studi su vasta scala (Amirante et al., 2017 ; Amirante e Clodoveo, 2017 ; Clodoveo et al. ., 2017). In particolare, gli studi su vasta scala hanno dimostrato che l'utilizzo degli ultrasuoni per l'estrazione di EVOO è una tecnologia in grado di migliorare sia l'efficienza del processo - attraverso rese di estrazione più elevate, tempi di lavorazione più brevi, costi operativi e di manutenzione ridotti - sia la qualità del prodotto finale con un maggior contenuto di composti polifenolici, importanti per i loro effetti antiossidanti. Il trattamento ad ultrasuoni influisce anche sulle caratteristiche sensoriali di EVOO abbassando l'intensità del piccante e dell'amaro che non sono ben apprezzati da una parte dei consumatori (Cavallo et al., 2019 ; Salazar-Ordóñez et al., 2018b ; Vázquez-Araújo et al. , 2015).

Tuttavia, questa nuova tecnologia deve ancora essere trasferita sul mercato (Clodoveo, 2019). Poiché la maggior parte delle innovazioni non riesce a ottenere alcun successo sul mercato alimentare (Dijksterhuis, 2016), ancora di più quando le innovazioni vengono applicate a TFP come EVOO (Guerrero et al., 2012), è fondamentale considerare il punto di vista dei consumatori durante le prime fasi di sviluppo di nuovi prodotti, al fine di prevenire guasti e conseguente spreco di risorse (Van Kleef et al., 2005). Tuttavia sono stati condotti pochi studi esplorativi per indagare le preferenze dei consumatori per un EVOO ottenuto attraverso una nuova tecnica di elaborazione (Roselli et al., 2018b , 2020).

Gli ultrasuoni (US) sono costituiti da onde sonore meccaniche che derivano da oscillazioni molecolari in un mezzo di propagazione. Il suo potenziale nella lavorazione degli alimenti è stato recentemente sfruttato nello sviluppo di numerose applicazioni efficaci e affidabili. Il passaggio di US in una matrice liquida genera agitazione meccanica e forze di taglio attraverso la cavitazione acustica e si traduce in un aumento del trasferimento di massa e nella rottura delle pareti cellulari (Figura 5). Quando viene applicato alla pasta di olive prima della gramolatura, gli ultrasuoni aumentano l'efficienza dell'estrazione dell'olio promuovendo il rilascio di olio e composti minori nel tessuto di oliva non frantumato, riducendo così il tempo di gramolazione e costi di produzione. La sua efficacia potrebbe essere limitata, poiché la pasta di olive attenua la trasmissione delle onde sonore (Amirante et al., 2010).

Un recente studio che confronta US e PEF in termini di resa ed estraibilità dell'olio d'oliva ha rilevato che le due tecnologie hanno dato risultati simili, aumentando entrambi i parametri rispetto ai campioni non trattati.

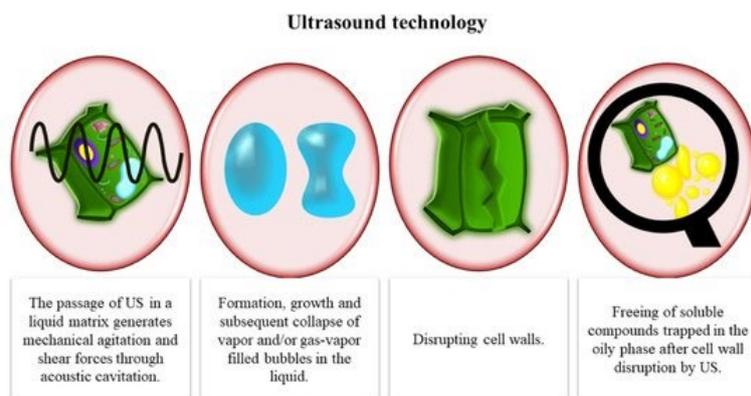


Figura 5 liberazione dei composti solubili intrappolati nella fase oleosa dopo la rottura della parete cellulare mediante ultrasuoni

Clodoveo et al (2013) ha confrontato gli effetti, negli Stati Uniti, sulle olive non frantumate immerse a bagnomaria e sulla pasta di olive. In entrambi i casi, il trattamento ha ridotto il tempo di gramolatura e ha migliorato la quantità di composti minori nell'EVOO, sebbene questi effetti fossero maggiori quando si trattano olive intere. I trattamenti statunitensi più lunghi (8 e 10 min) hanno ridotto il tempo di gramolatura da 60 a 40 min. Nel complesso, la tecnica statunitense ha migliorato il contenuto di antiossidanti in entrambe le varietà di olio, ad eccezione dei polifenoli.

In uno studio su scala pilota, sono stati applicati trattamenti statunitensi alla pasta di olive per determinare se questa tecnologia emergente potesse migliorare i rendimenti di estrazione, ottenendo così una produzione di olio più sostenibile dal punto di vista ambientale. È stata ottenuta una significativa riduzione del tempo di gramolatura e quando l'estrazione è stata effettuata dalla pasta senza gramolatura la resa è stata maggiore rispetto al controllo. I parametri di qualità (acidità, valore di perossidi e K_{232} e K_{270}) non sono stati influenzati, sebbene l'EVOO prodotto dalla pasta di olive trattata fosse più pigmentato degli oli convenzionali, probabilmente perché gli ultrasuoni inducono la rottura della parete cellulare, promuovendo così la diffusione di composti minori come clorofille e altri pigmenti. I trattamenti con ultrasuoni hanno prodotto oli con contenuti di clorofilla totale e carotenoidi significativamente più elevati (219 ± 25 e 49 ± 3 (mg / kg), rispettivamente) rispetto a quelli di EVOO ottenuti da pasta di olive non trattata (164 ± 17 e 33 ± 6 (mg / kg), rispettivamente).

Il trattamento con ultrasuoni non ha influenzato negativamente le caratteristiche di qualità e la stabilità ossidativa dell'olio d'oliva e, se applicato con acqua, ha determinato un aumento significativo della resa per le cultivar di oliva tunisine e turche studiate.

Ad oggi, la maggior parte degli studi basati sull'applicazione degli ultrasuoni nell'industria dell'olio d'oliva si sono concentrati sui frutti di oliva o sulle paste di olive. Più lungo è il trattamento, maggiore è l'aumento della temperatura dell'olio, ma non ci sono stati effetti significativi sui parametri di qualità (acidità libera, K_{232} e K_{270}), che ha portato alla conclusione che gli ultrasuoni non degradano gli oli. Allo stesso modo, il trattamento con ultrasuoni non ha alterato il profilo lipidico e la composizione di fenoli, tocoferoli e pigmenti (carotenoidi e clorofille). Per quanto riguarda i composti volatili, è stata osservata una leggera diminuzione dopo 60 minuti di sonicazione, che potrebbe essere spiegata dall'aumento della temperatura durante il trattamento

1.4.1.3.1. Ultrasuoni ad alta potenza

Nell'industria dell'olio d'oliva, l'ultrasuono è una delle tecnologie più promettenti a causa dei suoi potenti effetti meccanici e termici lievi (Amirante et al., 2010). Negli ultimi anni si è scoperto che utilizzando un ultrasuono più forte ($> 1 \text{ W / cm}^2$) a una frequenza più bassa (generalmente intorno a 20-50 kHz), che è anche chiamata ultrasuoni ad alta potenza (HPU), è fisicamente efficace nell'alterare le proprietà di una sostanza o inattivare i microrganismi.

L'applicazione di ultrasuoni ad alta potenza nell'estrazione dell'olio d'oliva è stata eseguita per la prima volta da Jiménez et al. in condizioni discontinue. Nei loro studi sugli effetti degli ultrasuoni diretti e indiretti, hanno scoperto che la sonicazione diretta forniva una migliore estraibilità nelle olive ad alta umidità ($> 50\%$), mentre una maggiore estraibilità era ottenuta dalla sonicazione indiretta nei frutti di oliva a bassa umidità ($< 50\%$) (Maria et al., 2021). Il trattamento non ha influenzato i parametri di qualità (acidità libera, valore di perossido, K_{270} e K_{232}) di EVOO prodotto da paste sonicate, mentre il contenuto di tocoferoli, clorofille e carotenoidi è aumentato.

L'arricchimento dell'olio d'oliva con i principali fenoli nelle foglie di ulivo mediante ultrasuoni è stato studiato da molti ricercatori (Amirante et al., 2010). Achat et al. (2010) hanno utilizzato gli ultrasuoni per arricchire l'olio d'oliva con oleuropeina sia su scala di laboratorio che su scala di impianto pilota. Il metodo di estrazione assistita da ultrasuoni ha notevolmente facilitato l'arricchimento di VOO in composti fenolici rispetto ai processi convenzionali. Hanno scoperto che il tirosolo e

l'idrossitirosole, principali composti fenolici presenti nell'olio d'oliva, non erano significativamente degradati dalla sonicazione (Amirante et al., 2010).

Bejaoui et al. hanno testato i trattamenti HPU a tre diverse frequenze (20, 40 e 80 kHz) e gli EVOO sono stati estratti dopo due trattamenti: applicazione HPU e centrifugazione, con o senza gramolatura. I risultati hanno dimostrato che i trattamenti HPU non hanno avuto alcun effetto apparente sulla composizione degli acidi grassi e sul contenuto fenolico dell'EVOO.

Il processo di estrazione dell'olio d'oliva ha guadagnato una crescente attenzione negli ultimi anni e diversi studi hanno confermato che la gramolatura è una fase fondamentale in questo processo perché ne derivano fenomeni fisici, chimici e biochimici. La gramolatura efficace (condizione ottimale per l'estrazione) estrae la massima resa in olio di olio EVOO di alta qualità mantenendo i composti antiossidanti e le caratteristiche sensoriali favorevoli (Clodoveo et al., 2013 ; Iqdiem et al., 2017). La gramolatura è un'operazione di miscelazione, in cui il tempo, la temperatura e le condizioni dello spazio di testa sono fattori chiave nel determinare l'efficienza dell'estrazione e la quantità e la qualità risultante di EVOO (Angerosa et al., 2001). Studi precedenti hanno riportato un miglioramento della resa in olio quando il tempo di miscelazione è stato prolungato e le temperature della pasta di olive superavano i 29 ° C (± 1 ° C), (Angerosa et al., 2001 ; Clodoveo, 2012 ; Clodoveo et al., 2014). Tuttavia, questa pratica in presenza di ossigeno è nota per attivare la via della lipossigenasi (LOX), generando così composti volatili che influenzano il sapore di EVOO, oltre ad alterare le proprietà sensoriali desiderabili associate al prodotto finale (Clodoveo et al., 2013).

La combinazione di HPU e controllo della concentrazione di O₂ nello spazio di testa della gramolatura potrebbe contribuire all'ulteriore miglioramento della qualità EVOO come indici chimici, composti antiossidanti e attributi sensoriali.

1.4.1.4 Applicazioni a microonde nell'estrazione dell'olio d'oliva

Negli ultimi decenni, i trattamenti a microonde nella lavorazione degli alimenti hanno guadagnato popolarità grazie ai loro bassi tempi di trattamento termico, semplicità operativa e velocità di riscaldamento elevate, che si traducono in minori requisiti di manutenzione. Le microonde ottenute da forni domestici e molte applicazioni industriali sono prodotte in modo efficiente da magnetron a onde permanenti (Figura 6).

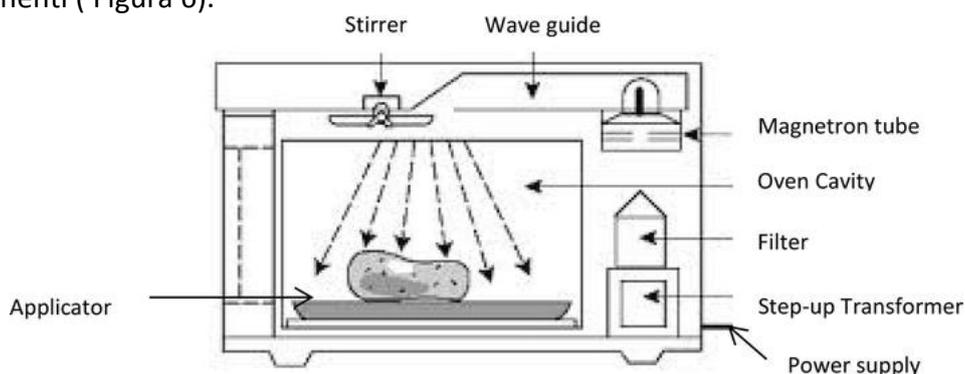


Figura 6 Parti del forno a microonde

L'effetto del riscaldamento con microonde e il suo confronto con il riscaldamento convenzionale e il riscaldamento ad ultrasuoni sulle olive frantumate è stato studiato da Clodoveo e Hbaieb. I risultati hanno mostrato che i principali parametri di qualità legalmente stabiliti (acidità, valore di perossido, coefficienti di estinzione specifici, K232 e K270) per valutare l'EVO non sono stati influenzati dai trattamenti a microonde e ultrasuoni. Inoltre, il tempo di gramolatura è stato ridotto e la resa di

estrazione è stata migliorata mediante trattamenti a ultrasuoni e microonde rispetto agli oli che sono stati estratti dalla pasta di olive senza malassare (Cavallo et al., 2020).

L'effetto dell'estrazione con solvente assistita da microonde a due diversi valori di potenza di radiazione (170 e 510 W) combinata con acido acetico sulla resa e sulle proprietà fisico-chimiche dell'olio di oliva è stato studiato da Kadi et al. I valori di assorbanza UV erano più alti negli oli trattati con microonde da 510 W e contenuto di acido acetico del 7,5%. Poiché le radiazioni a microonde accelerano la distruzione delle cellule e il rilascio di olio, hanno osservato risultati simili a quelli dei ricercatori precedenti che hanno anche ottenuto una migliore estraibilità dell'olio (Canyon Hydro et al., 2013).

Leone et al. ha determinato l'effetto del trattamento a microonde sulla resa in olio, sulle modifiche strutturali delle paste di olive e sul consumo energetico totale per l'intero processo di estrazione. L'estrazione dell'olio non era significativamente diversa dall'estrazione tradizionale tuttavia, il consumo di energia elettrica utilizzando un prototipo di sistema a microonde era superiore del 24% (Amirante et al., 2006).

La possibilità di combinare il trattamento megasonic e microonde in un sistema di estrazione continua dell'olio d'oliva per migliorare l'estrazione dell'olio d'oliva è stata esaminata da Leone et al. [29]. L'utilizzo del trattamento combinato megasonic e microonde per la pasta di olive ha portato a una riduzione consistente della viscosità. Di conseguenza, sia la tecnologia a microonde che quella megasonica hanno migliorato le prestazioni di estraibilità dell'olio abbassando la consistenza della pasta di olive (Amirante et al., 2010).

1.4.2. Applicazione della denocciolatura nella produzione di olio

La produzione di olio denocciolato è molto antica e veniva eseguita mediante la molitura delle olive già prive di nocciolo. Questo olio vanta delle proprietà organolettiche superiori e un livello di acidità inferiore rispetto al normale olio extravergine di oliva.

Grazie al processo di separazione della polpa dalle olive vengono eliminate le sostanze tanniche tipiche del nocciolo. Da tale processo è possibile quindi ottenere un olio extravergine di qualità immancabile nella propria cucina e dal sapore leggero. È particolarmente indicato per le cotture a vapore di pesce e verdure, poiché anche nei piatti la sua consistenza resta intatta. L'olio denocciolato e le sue proprietà sono fonte di numerosi benefici per la salute, infatti vi è una quantità maggiore di sostanze antiossidanti mentre è ridotta la presenza di acidi polinsaturi fino a rivelarsi un prodotto meno acido e più resistente all'ossidazione. Il sapore è più dolce e il retrogusto di amaro e di legno caratteristico del comune olio extravergine d'oliva è meno intenso. Basterà degustarlo per notare sin da subito un gusto fruttato associato a note aromatiche di erba fresca. Inoltre, non è da sottovalutare il livello di microparticelle presenti al suo interno che lo rendono un prodotto maggiormente equilibrato e caratterizzato da un'alta quantità di sostanze aromatiche. L'olio denocciolato e le sue qualità garantiscono anche una migliore durabilità nel tempo grazie appunto ad una resistenza superiore al processo di ossidazione. Da numerose ricerche è emerso che la qualità degli oli estratti da paste di olive denocciolate è maggiore rispetto ai prodotti che vengono lavorati da frutti interi. Per questo motivo l'olio denocciolato è ormai diventato un vero e proprio alimento indispensabile sulla base di un sano regime alimentare.

1.4.2.1. Produzione olio denocciolato

Diagramma di flusso del processo produttivo



Figura 7: diagramma di flusso dell'olio denocciolato

L'olio denocciolato vanta una lunga storia, tanto che la sua produzione è risalente persino all'epoca romana. Fu proprio in questo periodo che si iniziò ad eseguire il processo di molitura delle olive senza il nocciolo. Al giorno d'oggi le olive vengono denocciate grazie all'utilizzo di macchinari specifici e la denocciolatura viene eseguita dopo il lavaggio, prima della fase di gramolatura. Si ottengono quindi prodotti d'eccellenza, soprattutto per quanto riguarda uno dei territori tipici di questa produzione, ovvero la Puglia. L'olio denocciolato della Puglia infatti viene realizzato al fine di ottenere un olio dalle straordinarie proprietà mediante l'utilizzo di olive di alta qualità che vengono sottoposte ad un processo di estrazione costante, in modo tale che le fasi di raccolta e molitura non siano prolungate. La denocciolatura si ottiene dunque separando la polpa delle olive dal nocciolo prima di proseguire con il processo di frangitura, privando così il prodotto di sostanze tanniche. Fino ai tempi odierni i riscontri ottenuti da questa produzione sono più che positivi, soprattutto grazie alle tecnologie moderne che hanno permesso di raggiungere ulteriori progressi anche per quanto riguarda la bontà del prodotto. Occorre inoltre considerare che questi sviluppi scaturiscono da varie analisi di estrazione dalle paste snocciate al fine di ridurre il deterioramento dei trigliceridi, per questo motivo vengono effettuate sempre nuove sperimentazioni sulla base di un'evoluzione continuativa (Restuccia et al., 2018). L'olio denocciolato è ormai un prodotto fortemente apprezzato e ricercato dai consumatori, motivo per cui molte aziende hanno scelto di seguire questo percorso in modo estremamente attento ed accurato, al fine di ottenere un alimento sano e dalle qualità eccezionali grazie ai molteplici effetti positivi riscontrati sia in ambito scientifico che economico. D'altronde basti pensare che quando si consuma un frutto, come ad esempio una pesca o un'albicocca, si mangia tutto ad esclusione del nocciolo che viene buttato via. Pertanto, lo stesso

dovrebbe avvenire per l'olio extravergine, in quanto il nocciolo è ricco di enzimi che causano a loro volta dei meccanismi metabolici differenti e quando entrano in contatto con l'olio durante la fase di frangitura provocano ulteriori effetti che vanno ad incidere sulle proprietà del prodotto nel tempo. La particolare distribuzione delle attività enzimatiche endogene della drupa lascia intravedere la possibilità di attivare gli enzimi endogeni del frutto in forma differenziata cercando di intervenire selettivamente, in fase di frangitura, sulle parti costitutive del frutto. Si basa su questo concetto il processo di denocciolatura delle olive che, eliminando la mandorla, limita la liberazione dell'attività perossidasi nelle paste e quindi l'ossidazione delle sostanze fenoliche nell'olio. Mediante questa operazione preliminare è possibile ottenere oli ad alto tenore in sostanze fenoliche, quindi più ricchi di composti a più alto impatto sensoriale e con un maggior valore nutrizionale-salutistico rispetto a quelli ottenuti dalle lavorazioni convenzionali. Inoltre, gli oli ottenuti attraverso il processo di denocciolatura, essendo più ricchi di composti antiossidanti, sono dotati di una maggiore shelf-life. L'estrazione meccanica dell'olio dalle paste denocciolate può migliorare la concentrazione fenolica e le azioni enzimatiche ossidative che avvengono nella pasta di olive durante il processo di estrazione. Due enzimi, la polifenolossidasi (PPO) e la perossidasi (POD), sono altamente concentrati nel nocciolo dell'oliva. PPO e POD possono ossidare i composti fenolici con conseguente riduzione della concentrazione fenolica dell'olio. Il processo di denocciolatura, escludendo il seme di oliva prima della gramolatura, rimuove parzialmente l'attività perossidasi nelle paste. Le polifenolossidasi infatti, sono localizzate prevalentemente nella mandorla e catalizzano la degradazione degli antiossidanti di natura fenolica nel corso dell'estrazione meccanica degli oli vergini di oliva.

I frutti dell'olivo (*Olea europaea* L.) della varietà Coratina sono stati raccolti negli oliveti della stessa area vicino a Foggia (Puglia – Italia) durante una serie di stagioni colturali dal 2000/2001 al 2002/2003. Le olive sono state raccolte in modo casuale nella fase di maturazione ottimale industriale, in base al colore della loro buccia. La raccolta è stata effettuata a mano, utilizzando i rastrelli. Le olive sono state messe in cassette da 30 kg e immediatamente portate in un frantoio industriale situato nella zona di Foggia (Puglia - Italia).

In ogni stagione sono stati estratti cinque campioni di olio, utilizzando una linea decanter a tre fasi del frantoio a pietra (*Alfa Laval Olive Oil* , San Buca Val di Pesa, Firenze Italia), cinque con decanter a tripla fase de-stoner (*Alfa Laval Olive Oil* , San Buca Val di Pesa, Firenze Italia) e cinque con de-stoner dotato di scambiatore di calore linea tripla fase decanter (*Alfa Laval Olive Oil* , San Buca Val di Pesa, Firenze Italia). In ciascuna prova di pasta di olive è stata impastata per 30 min a 27 ° C. Al fine di evitare la fuoriuscita dei composti volatili in atmosfera durante la fase di gramolazione, il mescolatore è stato chiuso a tenuta stagna con coperture in acciaio lasciando nella parte superiore una quantità di aria pari al 15% del volume totale per avere ossigeno a sufficienza necessario alla produzione di composti volatili da acidi grassi polinsaturi attraverso la "via della lipossigenasi". Il decanter centrifugo utilizzato è un decanter trifase di nuova generazione modello Alfa Laval X32, pertanto non è stata aggiunta acqua alla pasta di olive prima della centrifuga. I parametri del processo di decanter sono stati fissati allo stesso modo per tutte le prove. Il diagramma di flusso delle procedure di lavorazione è mostrato in Figura 8.

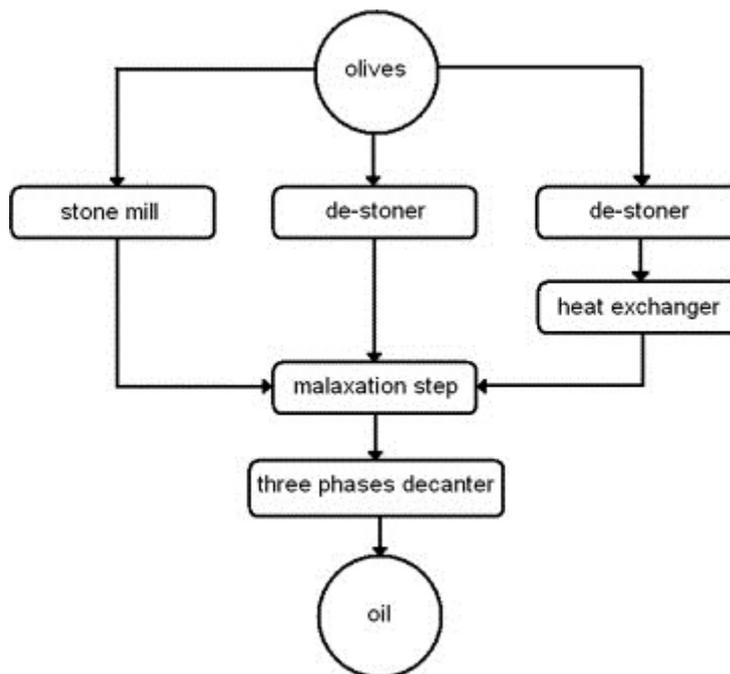


Figura 8: Diagramma di flusso delle procedure di lavorazione

Tutti i campioni sono stati filtrati con Na_2SO_4 anidro e conservati a -20°C al buio utilizzando bottiglie di vetro ambrato senza spazio per la testa fino all'analisi. Per questo studio sono stati utilizzati un totale di 45 oli di oliva vergini Coratina provenienti da tre stagioni colturali successive. L'impiego dello sgocciolatore determina una resa inferiore pari a circa 1,5 kg di olio per 100 kg di olive (Amirante et al., 1987). Una percentuale pari a circa il 30% di questa differenza è dovuta alla frazione oleosa presente nel nocciolo.

L'assenza di frammenti di nocciolo provoca un cambiamento della viscosità della pasta di olive e un effetto meno efficace della gramolatura. La gramolatura ha lo scopo di aiutare le piccole goccioline di olio formatesi durante la molitura a fondersi in grosse gocce che possono essere facilmente separate tramite sistema meccanico.

L'introduzione dello scambiatore di calore rappresenta un miglioramento del sistema finalizzato ad aumentare l'efficienza della gramolatura della pasta denocciolata. Lo scambiatore di calore, infatti, ha consentito di aumentare i rendimenti leggermente inferiori che si ottengono utilizzando solo lo sminuzzatore. La Figura 9 mostra i valori medi delle rese di estrazione dell'olio d'oliva ottenute con tre diverse tecniche di preparazione della pasta durante tre stagioni colturali.

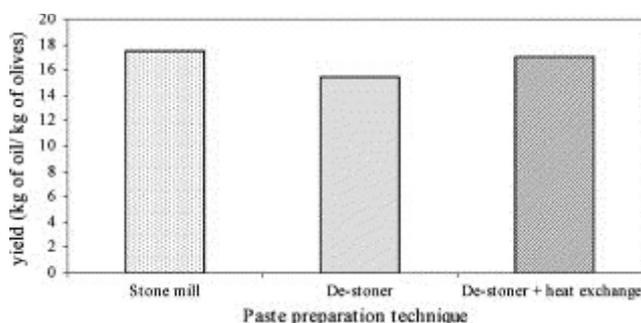


Figura 8 Valori medi delle rese di estrazione dell'olio d'oliva ottenute con tre diverse tecniche di preparazione della pasta durante tre stagioni colturali

1.4.2.2. Stabilità ossidativa e contenuto totale di fenoli

Poiché la presenza di fenoli idrofili nell'olio di oliva vergine è strettamente correlata alle attività di vari enzimi endogeni del frutto dell'olivo, la loro concentrazione nell'olio è fortemente influenzata dalle condizioni di estrazione. La frantumazione e la gramolatura sono i punti critici più importanti del processo di estrazione meccanica dell'olio (Servili et al., 2004). I risultati delle analisi effettuate sugli oli estratti con le tre tecniche di preparazione della pasta di olive in tre stagioni colturali sono riportati sinteticamente come valori medi con le loro deviazioni standard. In queste prove, quando si utilizzava il mulino a pietra per la preparazione della pasta, gli oli estratti contenevano quantità di polifenoli molto inferiori (213 ± 40 mg / kg) rispetto agli oli ottenuti con il denocciolatore, con o senza scambiatore di calore (449 ± 32 e 372 ± 42 mg / kg, rispettivamente). Queste variazioni erano statisticamente differenti in entrambi i casi ($p < 0.001$). La quantità di polifenoli era circa il doppio negli oli ottenuti impiegando uno scambiatore di calore rispetto agli oli ottenuti con l'impiego del mulino a pietra. Tale quantità è risultata maggiore rispetto agli oli ottenuti utilizzando solo lo sminuzzatore con una differenza media di circa il 15%. L'introduzione di uno scambiatore di calore nell'impianto industriale dà luogo al raggiungimento istantaneo della temperatura di gramolatura (27°C) e ha un effetto positivo sul contenuto fenolico totale. Infatti anche Ranalli, Contento, Schiavone e Simone (2001) hanno riscontrato che il contenuto di fenoli aumenta progressivamente all'aumentare della temperatura di impasto.

I risultati ottenuti impiegando la macchina de-stoner confermano ricerche precedenti (Amirante et al., 2002 , Amirante et al., 2001 , Servili et al., 2000) può migliorare la concentrazione fenolica dell'olio e sembra avvalorare le relazioni tra il controllo delle reazioni ossidative durante la lavorazione e la concentrazione fenolica nell'olio poiché la perossidasi è altamente concentrata nel seme di oliva.

L'attività antiossidante dei fenoli idrofili dell'olio di oliva vergine è stata ben studiata (Servili et al., 2004). Infatti, come riportato da diversi autori, la concentrazione di composti fenolici, valutata colorimetricamente ed espressa come fenoli totali, era altamente correlata alla shelf-life dell'olio di oliva vergine, testata utilizzando metodi accelerati come Rancimat (Gutierrez Gonzales-Quijano et al. , 1977 , Ranalli et al., 2003). Il valore medio dei tempi di induzione di Rancimat (h a 120°C) dei campioni ottenuti nelle tre stagioni colturali impiegando de-stoner dotato di scambiatore di calore è stato superiore di circa il 25% rispetto all'olio di molino a pietra ($p < 0,001$) e solo circa il 5% in più rispetto ai campioni denocciolati estratti senza lo scambiatore di calore ($p < 0,05$).

I test sulle analisi sensoriali hanno evidenziato che quando si utilizzava il mulino a pietra per la preparazione della pasta, gli oli estratti avevano un punteggio sensoriale inferiore rispetto agli oli ottenuti utilizzando de-stoner, con o senza scambiatore di calore. Lo scambiatore di calore che impiega produce oli ricchi di composti volatili con il punteggio sensoriale in più. Una piccola quantità di questi oli migliora grandi quantità di oli poveri di piacevoli percezioni sensoriali e gustative, aumentando il valore di mercato del normale olio.

L'incremento della quantità di composti fenolici ha determinato un aumento del tempo di induzione all'ossidazione. È stata trovata una correlazione significativa tra il contenuto in fenoli totali e il tempo di induzione.

Questa operazione si attua con la denocciolatrice: essa è costituita da un buratto o griglia intercambiabile (diametro di circa 400 mm) con fori di diversa apertura a seconda delle esigenze. Un aspo posto in rotazione (oltre 900 g/min) comprime e rompe i frutti all'interno del buratto. La polpa e le bucce trafilano attraverso i fori, mentre i noccioli, interi, vengono raccolti separatamente all'uscita della macchina. La pasta che si ottiene viene raccolta da una tramoggia ed avviata alla gramolazione. La distanza tra l'aspo ed il buratto può essere variata per adattarla alle dimensioni dei frutti. La capacità media di lavorazione è di 2-3 t/h.

Recentemente è stata proposta una denocciolatrice-frangitrice che consente di eseguire entrambe le operazioni con un'unica macchina. A detta del costruttore, essa offre il vantaggio di dimezzare i tempi di gramolazione, di poter variare le caratteristiche della pasta olearia e, recuperando a parte i noccioli macinati, di impiegarli nella percentuale scelta dall'operatore, nell'estrazione classica.

La denocciolatura è un'operazione facoltativa; da diversi anni a questa parte, alcune aziende produttrici propongono un olio d'oliva ottenuto da olive denocciolate. Infatti, il nocciolo contiene enzimi particolarmente attivi nel ridurre il patrimonio naturale di antiossidanti in esso contenuto. Ne risulterebbe un olio con maggiori possibilità di durata, sia sotto il profilo chimico-fisico che organolettico (maggiore serbevolezza, shelf-life maggiore).

Di seguito sono elencate le macchine utilizzate per la frantumazione delle olive con i relativi vantaggi e svantaggi:

Macchine per la frantumazione delle olive	Vantaggi	Svantaggi
<p data-bbox="248 790 462 835">Mulino a pietra</p> 	<p data-bbox="798 884 1085 1662">Adattabile alle dimensioni dell'oliva e del nocciolo. Ottimizzare le caratteristiche della pasta. Non taglia la buccia, rilasciando meno clorofilla. La formazione di gocce di olio più grandi, riducendo al minimo i tempi di miscelazione. La pasta non viene riscaldata. Meno fenoli quindi olio più amaro.</p>	<p data-bbox="1085 884 1337 1662">Ingombrante, la pietra è difficile da pulire. Tempo di macinazione delle olive più lungo. Costoso. Processo discontinuo. Alti costi di lavorazione. Livello inferiore di fenoli estratti. Vita più breve.</p>

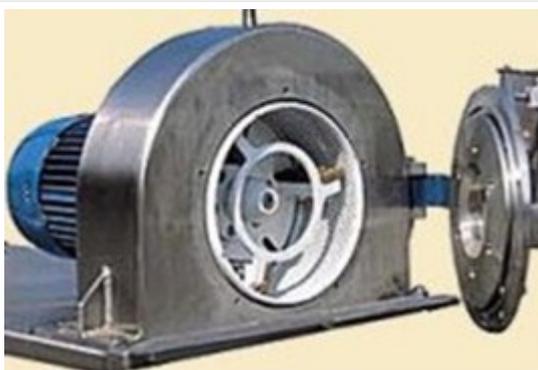
Frantoio a dischi



Continuo,
Meno costoso,
Regolazione precisa
delle dimensioni
dei frammenti della
pasta di olive. L'alta
produttività può
conferire all'olio
una durata di
conservazione più
lunga

La dimensione del
frammento di
pasta di oliva non
è facilmente
modificabile,
potrebbe formare
un'emulsione che
impedisce la
separazione olio-
acqua, influisce
sulle
caratteristiche
organolettiche-
l'olio può avere un
sapore più forte e
piccante (questo
potrebbe essere
un vantaggio con
olive medie).

Frantoio a martelli



Elevata
produttività.
Sistema continuo.
Conosciuto per la
tecnica perfetta.
Estrae più fenoli in
modo che l'olio
abbia una durata di
conservazione più
lunga

Potrebbe formare
un'emulsione che
impedisce la
separazione olio-
acqua, influisce
sulle
caratteristiche
organolettiche
influenzate - l'olio
potrebbe avere un
sapore più amaro,
forte e piccante a
causa della
maggiore quantità
di fenoli,
Usura delle parti
metalliche
La pasta d'olio può
riscaldarsi

Denocciolatore



Livello di fenolo più alto, gli oli sono soggetti a minor riscaldamento grazie alla frammentazione del nocciolo. La polpa denocciolata è più facile da usare come mangime per animali. Il nocciolo può essere bruciato per creare calore per asciugare una polpa acquosa per uno smaltimento più facile

Può formare un'emulsione che impedisce la separazione olio-acqua. Richiede tempi di mescolanza più lunghi, richiede macchinari aggiuntivi con ulteriori spese, la resa dell'olio è leggermente inferiore.

(Amirante et al., 2006)

Va comunque evidenziato che gli oli denocciolati sono prodotti caratterizzati e ad alto valore aggiunto caratterizzati da spiccate note fruttate, aromatiche e aromatiche. Si prevede quindi che il loro valore di mercato, anche per le loro proprietà nutraceutiche ed edonistiche, sia molto più elevato rispetto agli oli prodotti con sistemi di lavorazione tradizionali.

2. SCOPO DEL LAVORO

L'olio extravergine di oliva è ottenuto, in base alla direttiva CE 2568/91, dalla spremitura e da operazioni meccaniche delle olive. Non è ammessa estrazione, raffinazione, decolorazione o trattamenti chimici. Questi trattamenti sono invece necessari per gli oli vegetali e per l'olio d'oliva così come definito dalla direttiva. La qualità chimica ed organolettica dell'olio è definita dai parametri e dalle analisi della stessa direttiva. Per ottenere oli di maggiore qualità organolettica, chimica e sensoriale sono state sviluppate nuove tecnologie in grado di incrementare la resa, le qualità sensoriali ed eliminando l'utilizzo di additivi o conservanti. Le tecniche emergenti, come già descritto, sono gli ultrasuoni, i campi elettrici pulsati, le microonde, in grado di ridurre i consumi energetici ed i tempi di estrazione, massimizzare le rese e le efficienze di estrazione. Tali tecniche consentono inoltre di ottenere un maggior quantitativo di polifenoli, oggi molto apprezzati perché antiossidanti, in grado di allungare la shelf-life del prodotto. I polifenoli inoltre aumentano le note di asprezza e piccantezza, molto apprezzati in particolare negli oli monovarietali extravergini di oliva. Il made in Italy, per quanto riguarda gli alimenti di pregio, si basa soprattutto sull'olio e sul vino, con un particolare riconoscimento ai prodotti di qualità nei quali le caratteristiche sopra indicate sono evidenti.

Fra essi una menzione particolare va fatta per gli oli denocciolati, ottenuti grazie al processo di separazione del nocciolo, ottenendo l'eliminazione delle sostanze tanniche tipiche del nocciolo e quindi un olio extravergine di qualità dal sapore leggero. L'estrazione meccanica dell'olio dalle paste denocciolate può migliorare la concentrazione fenolica e le azioni enzimatiche ossidative che avvengono nella pasta di olive durante il processo di estrazione. Due enzimi, la polifenolo ossidasi (PPO) e la perossidasi (POD), sono altamente concentrati nel nocciolo dell'oliva. PPO e POD possono ossidare i composti fenolici con conseguente riduzione della concentrazione fenolica dell'olio. Il processo di denocciolatura, escludendo il seme di oliva prima della gramolatura, rimuove parzialmente l'attività perossidasi nelle paste.

Scopo del presente lavoro di tesi è stato quello di confrontare le principali caratteristiche chimiche, sensoriali e la shelf-life dell'olio di oliva extravergine tradizionale, denocciolato e denocciolato con successiva rinocciolatura. Le caratteristiche sono state confrontate al momento dell'imbottigliamento e dopo 3 e 6 mesi dall'imbottigliamento. I parametri che sono stati analizzati sono l'acidità, i perossidi, il tempo di induzione tramite Rancimat e le sostanze organiche volatili.

3.MATERIALI E METODI

L'olio di oliva analizzato proviene dall'azienda agricola biologica Serena di Fermo e si tratta dalle varietà Sargano di Fermo, cultivar marchigiana, entrata in produzione dalle piante medio- precoce. Drupa di piccole dimensioni (1 -1,5 g), di forma ellissoidale. Ha una resa in olio bassa, inoliazione precoce, colore dei frutti dal verde chiaro al violaceo scuro lenticellato, con periodo ottimale di raccolta intorno alla fine di novembre.

Caratteristiche organolettiche: olio di un buon fruttato equilibrato, leggermente dolce, piccante e amaro al retrogusto.

A partire da questa varietà di oliva sono stati prodotti tre tipi differenti di olio: tradizionale, denocciolato, denocciolato + "rinocciolato".

OLIO TRADIZIONALE

La molitura è avvenuta il 20 Novembre 2020.

A partire da 125 kg di oliva sono stati ottenuti 8 kg di olio con sistema ext "leopard" Peralisi basato sulla tecnologia DFM (decanter multi fase) che lavora a due fasi producendo una sansa disidratata, e recuperando la polpa della sansa ideale per l'utilizzo agronomico e l'alimentazione zootecnica. La filtrazione poi è immediata, gli oli vengono confezionati solo al momento dell'ordine, nel frattempo rimangono stoccati sotto-ozono a temperatura costante di 15°.

5 kg di olio confezionati in 20 bottiglie da 250 ml

3 kg di olio confezionati in bag-in-box

Sono poi stati ricavati 10 kg di noccioli interi e 10 kg di noccioli frantumati

OLIO DENOCCIOLATO

La molitura è avvenuta il 22 novembre 2020.

A partire da 125 kg di oliva sono stati ottenuti 9,5 kg di olio con sistema ext composto dal denocciolatore, decantatura a 2 fasi e filtrazione su cartoni.

5 kg di olio confezionati in 20 bottiglie da 250 ml con etichetta specifica

4,5 kg confezionati in bag-in-box

Anche qui sono stati ricavati 20 kg di noccioli

OLIO "RINOCCIOLATO"

L'olio "rinocciolato", dopo essere stato denocciolato, è stato preparato con la seguente procedura: 500 ml di olio denocciolato sono stati pesati e messi in una padella. In un vassoio di alluminio vengono inseriti 1 kg di noccioli appena estratti dal frigorifero, dopo di che vengono inseriti nella padella. Una miscelazione deve essere eseguita per 20 minuti prima della filtrazione. Il serbatoio in alluminio e tutte le operazioni devono essere riparati dalla luce, poiché l'EVO si degrada a causa della luce. Si prepara una beuta da vuoto collegata ad un Buckner senza filtro. Si inserisce nel Buckner uno strato di circa 1 cm di noccioli uniformi e filtrare l'olio mettendo in funzione il vuoto. Dopo la filtrazione, l'olio filtrato deve essere inserito in un contenitore di vetro coperto di alluminio. Dopo la filtrazione un altro campione di olio viene messo nel Buckner e la procedura sopra descritta viene ripetuta. La procedura di filtrazione deve essere proseguita fino al raggiungere il livello desiderato di olio. Alla fine della procedura, l'olio viene trasferito in una bottiglia scura e calibrata dopodiché si pesa l'olio.

In totale l'azienda ha prodotto 3 bottiglie di olio da 25 ml cadauna.

Al termine della produzione sono state ottenute 60 bottiglie di olio:

- 20 bottiglie (0.25 l) di olio tradizionale
- 20 bottiglie (0.25 l) di olio denocciolato
- 20 bottiglie (0.25 l) di olio “rinocciolato”

Sui 3 campioni di olio sopra descritti sono state effettuate le analisi dei seguenti parametri, effettuate al momento dell’imbottigliamento, dopo tre e sei mesi:

- 1) Acidità (Paragrafo 3.1)
- 2) Perossidi (Paragrafo 3.2)
- 3) Rancimat (Paragrafo 3.3)
- 4) Composti organici volatili (Paragrafo 3.4)

Per svolgere le analisi di laboratorio vengono utilizzate 4 bottiglie di ciascun tipo di olio: tradizionale, denocciolato, “rinocciolato”.

Nei successivi paragrafi saranno anche illustrati, laddove esistenti, i limiti previsti dalle direttive europee ed alcuni commenti sul significato del parametro analizzato.

3.1. Determinazione dell'acidità

Nell’olio, gli acidi grassi sono presenti soprattutto come trigliceridi: tre acidi grassi (acido oleico per la maggior parte, negli oli di oliva) legati ad una molecola di glicerolo. Nel frutto e nell’olio, la rottura del legame tra il glicerolo e una o più delle catene di acidi grassi porta alla liberazione dell’acido grasso. L’acidità libera è il parametro che valuta la quantità di acidi grassi liberi presenti nell’olio espressa in percentuale.

Per essere definito extravergine l’olio deve avere una acidità inferiore a 0,8%; è questo il limite stabilito dalla normativa europea e internazionale. L’acidità viene espressa come acido oleico, il più importante acido insaturo presente nell’olio d’oliva. Se l’acidità è compresa fra lo 0.8 ed il 2% l’olio viene definito di oliva vergine, se l’acidità supera il 2% viene definito olio di oliva lampante.

In linea di massima, tanto più basso è il valore di acidità tanto più è elevata la qualità dell’olio; il basso livello di acidi oleici liberi è determinato dalla salute delle olive, dalla gestione corretta delle olive in entrata al frantoio e in generale da una gestione ottimale del processo di estrazione: valori di acidità inferiori a 0,3-0,5% indicano generalmente che le olive sono state trattate con cura. Valori superiori possono indicare dei problemi, che insorgono durante il processo produttivo (olive troppo mature, attaccate dalla mosca, etc.) e sono accompagnati, spesso, da difetti sensoriali (come note di avvinato, legno o muffa).

Gli acidi grassi del campione, in condizioni di $\text{pH} < 7,0$, reagiscono con un cromogeno sviluppando un colore la cui densità ottica, misurata a 630nm, è proporzionale alla concentrazione di acidità grassa, espressa in % di acido oleico. Il metodo utilizzato è il metodo ufficiale AOCS Ca 5a-40. Per l’analisi è stato utilizzato un kit CDR Foodlab Junior MLB 242 (*figuraFigura*



Figura 10: Kit CDR Foodlab Junior MLB 242

Il metodo ufficiale prevede la seguente procedura:

L'olio in questione è stato sciolto in una miscela del 95% di alcol etilico ed etere etilico, in proporzione a 1:2, e poi titolato con una soluzione di NaOH 0.1 N (Reg. CE/2568/91), viene utilizzato come indicatore la fenolftaleina (soluzione di etanolo 1%).

L'acidità, espressa in % in massa di acido oleico, è data da:

$$\text{Acidità} = V \cdot c \cdot M / 1000 \cdot 100 / m = V \cdot c \cdot M / (10 \cdot m)$$

dove:

V = volume (mL) della soluzione NaOH utilizzata

c = concentrazione (mole/L) della soluzione NaOH utilizzata

M = peso molare dell'acido adottato per l'espressione del risultato (acido oleico: PM = 282 g/mole)

m = peso (g) olio

Il contenuto acido di grassi commestibili è dato dalla quantità di acidi grassi liberi derivanti dalla rancidità idrolitica dei trigliceridi. Poiché questa alterazione si verifica in condizioni inadeguate per la lavorazione e la conservazione dei grassi, l'acidità rappresenta un indicatore di base della genuinità del prodotto. La prova è particolarmente importante durante la raffinazione di oli e grassi, per la valutazione del ciclo di lavorazione e per la definizione delle categorie di prodotti.

3.2. Perossidi

I perossidi indicano un'alterazione di tipo ossidativo, sinonimo di degradazione ed invecchiamento. La legge prevede che il limite relativo al numero di perossidi in un olio extravergine d'oliva è 20, al di sopra del quale l'olio è considerato lampante, quindi di bassa qualità. L'unità di misura dei perossidi si esprime in meq O₂/kg olio (milliequivalenti di ossigeno attivo per Kg di olio), il valore è giudicato accettabile se al di sotto di 12, ottimo al di sotto del 7. Un elevato numero di perossidi, però, riesce a mettere in evidenza un processo di ossidazione già avviato ed irreversibile; portando alla progressiva degradazione di molti composti fondamentali per la nostra alimentazione (vitamine, polifenoli, etc.), oltre al graduale irrancidimento dell'olio che diviene anche sgradevole al gusto.

I perossidi R-O-O-R ossidano gli ioni Fe²⁺. Gli ioni Fe³⁺ risultanti dall'ossidazione formano un complesso rosso. La sua intensità colorimetrica, misurata a 505 nm, è direttamente proporzionale alla concentrazione di perossidi nel campione. I risultati sono espressi come meqO₂/Kg. È stato

utilizzato per le analisi un kit CDR Foodlab Junior MLB 242. Il metodo mostra un'ottima correlazione con il metodo ufficiale AOCS Cd 8-53. Il metodo ufficiale prevede quanto segue:

la determinazione è stata effettuata per titolazione con soluzione di tiosolfato di sodio 0,1 N fino a quando il colore blu-viola, dell'indicatore di saldatura dell'amido, non è scomparso (Reg. CE/2568/91). Il valore del numero di perossidi, espresso in milliequivalenti di ossigeno attivo per kg, è dato da:

$$\text{numero di perossidi} = [(V \cdot T) / m] \cdot 1000$$

dove:

V = volume (mL) della soluzione nota di tiosolfato di sodio utilizzata nell'analisi

T = normalità della soluzione di tiosolfato di sodio utilizzata

m = massa (g) della sostanza da analizzare

La quantità di perossidi dei grassi indica il grado di ossidazione primaria e quindi la sua capacità diventare rancidi. Un numero inferiore di perossidi indica una buona qualità dell'olio e un buono stato di conservazione. Gli acidi grassi liberi insaturi reagiscono con l'ossigeno e formano perossidi, che determinano una serie di reazioni a catena che generano la produzione di sostanze volatili profumate. Tali reazioni sono accelerate dall'alta temperatura e dall'esposizione alla luce e all'ossigeno.

3.3. Rancimat

Il metodo Rancimat è un test di invecchiamento accelerato. Prevede che un getto di aria attraversi il campione di olio contenuto in un serbatoio sigillato e riscaldato. Questo trattamento produce nella fase di ossidazione primaria perossidi e, in quella successiva di ossidazione secondaria, acidi organici a basso peso molecolare, aldeidi e chetoni dal classico odore rancido. Questi composti sono trasportati dal getto d'aria in un secondo serbatoio contenente acqua distillata in cui viene continuamente misurata la conducibilità. La conducibilità elettrica continuamente registrata aumenta per effetto dell'assorbimento dei prodotti di reazione ionici. La brusca variazione di conducibilità rivela la presenza degli acidi organici. Il tempo che intercorre tra l'inizio del processo e l'apparire dei prodotti della reazione secondaria è noto come tempo di induzione (induction time) o indice di stabilità dell'olio (Oil Stability Index – OSI). Caratterizza la stabilità di ossidazione di oli e grassi. Questo tempo per l'olio di oliva risulta essere dell'ordine delle 10 – 12 ore in media, ma può raggiungere valori più elevati per oli extravergini molto ricchi di polifenoli e quindi con un'ottima capacità antiossidante.

La stabilità ossidativa degli oli presi in esame è stata determinata utilizzando il dispositivo Metrohm 679 Rancimat (Casadei et al., 2021) (*Figura 11*), misurando il tempo di induzione in risposta all'ossidazione forzata (periodo di induzione) di 5 g campione riscaldato a 110°C sotto un flusso d'aria di 20 L h⁻¹ (Di Lecce et al., 2020). Il periodo di induzione (espresso in ore) è stato determinato disegnando le due tangenti della curva tempo-conduttività e proiettando l'intersezione sull'asse del tempo.

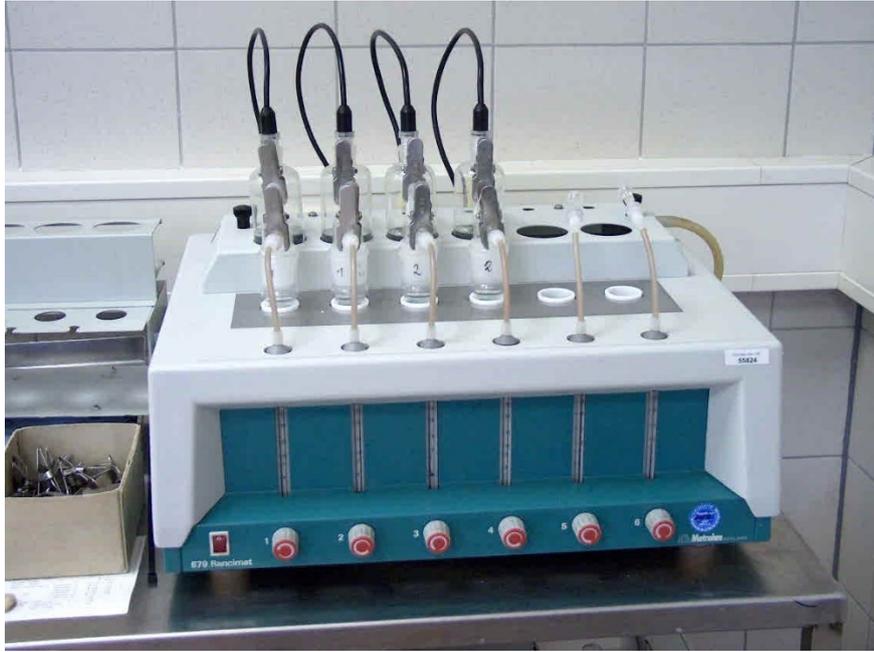


Figura 11: Metrohm 679 Rancimat

Il recipiente di misura è riempito con acqua deionizzata da 60 mL e posto sul Rancimat insieme al coperchio del recipiente di misura (Metrohm, 2013). Si deve garantire che l'elettrodo sia immerso nella soluzione di misura in qualsiasi momento. Quindi il campione viene pesato direttamente nel contenitore di reazione. Per i campioni liquidi e per i campioni che si sciolgono a temperature elevate viene utilizzata una dimensione del campione di 5,0 g. Il recipiente di reazione è chiuso con un coperchio del contenitore di reazione assemblato con un tubo di ingresso dell'aria. Prima di poter iniziare la determinazione, la temperatura del blocco di riscaldamento deve essere stabile. I due tubi tra Rancimat e il recipiente di reazione e tra il contenitore di reazione e il contenitore di misura sono collegati. Quindi il recipiente di reazione viene posizionato nel blocco riscaldante e la misurazione viene avviata immediatamente (figura 12).

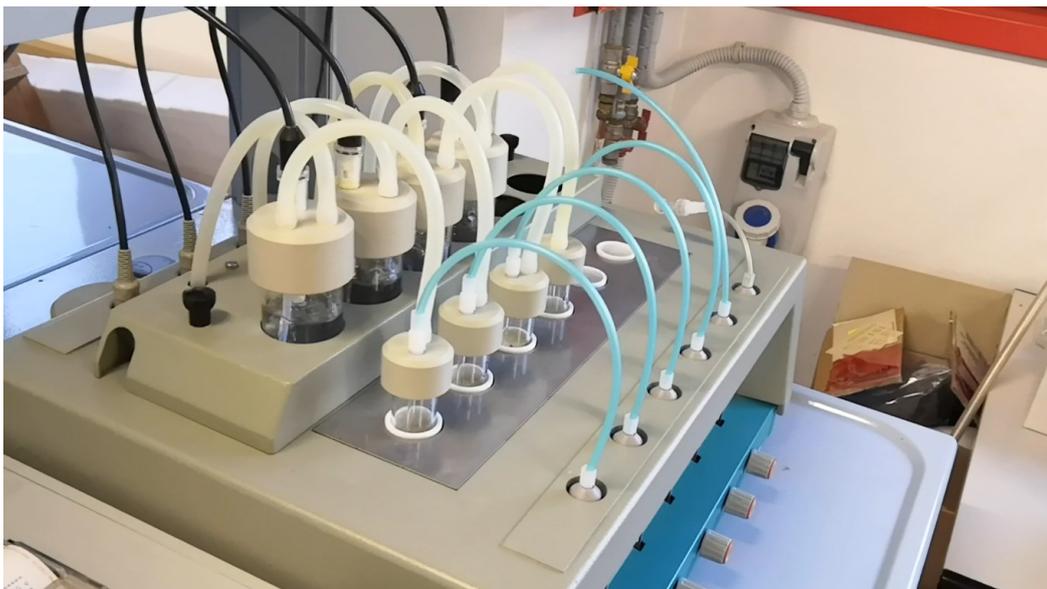


Figura 12: Metrohm 679 Rancimat e collocazione tubi

La temperatura di misura dipende dalla stabilità di ossidazione del campione. Per i tipi di campione descritti in questo documento, di solito sono appropriate temperature comprese tra 80 e 160 °C. Sono possibili da 50 a 220 °C.

3.4. Composti organici volatili

I composti organici volatili sono, secondo la legislazione italiana, quei composti organici che, alla temperatura di 293,15 K (20 °C), abbiano una pressione di vapore di 0,01 kPa o superiore, e sono dotati di alta volatilità. La determinazione di essi ha una grande importanza per verificare le caratteristiche organolettiche e sensoriali degli EVO monovarietali, in quanto la presenza di alcuni di essi ne determina il sapore e l'odore. Tuttavia, è la compresenza di più composti che conferisce particolari odori e sapori. Nella tabella 2 è evidenziata la relazione fra alcuni composti organici volatili ed il relativo odore/sapore, in particolare queste 18 sostanze sono state definite come standard per l'analisi dei COV negli EVO.

Composti volatili
Ottano
Acetato di etile
Etanolo
Propanoato di etile
Esanale
3-metil-1-butanolo
trans-2- esenale
(Z)-3-esenil acetato
trans-2-eptenale
6-metil-5 epten-2-one
1-esanolo
Nonanale
Trans-2,4-nonadienale
1-otten-3-olo
Acido acetico
Acido propanoico
trans-2-decenale
Acido pentanoico

Tabella 1: composti volatili

COMPOSTO	AROMA (Cecchi, Migliorini, Mulinacci 2021)
Ottano	dolce
Etil acetato	ananas, etereo, dolce, aromatico, appiccicoso, fruttato
Etanolo	alcolico, mela, dolce, floreale
Etil propanoato	fragola, fruttato, dolce, mela, forte
Esanale	mela, erba tagliata
3-metil-1-butanolo	lievito (indesiderabile)
(E)-2-esenale	mandorla amara, verde, erba tagliata, foglia, fruttato, mela, deciso, dolce, astringente, amaro, grasso

COMPOSTO	AROMA (Cecchi, Migliorini, Mulinacci 2021)
(Z)-3-esenil acetato	banana, fruttato, verde, floreale, foglie, olive, dolce
(E)-2-eptenale	mandorla amara, verde, erba tagliata, foglia, fruttato, mela, deciso, dolce, astringente, amaro, grasso
6-metil-5-epten-2-one	fungo, gomma, pepe, verde, grasso, pungente, banana, fruttato, erba
1-esanolo	fruttato, erba tagliata, soft, aromatico
Nonanale	saponoso (indesiderabile), come agrumi
(E,E)-2,4-esadienale	verde, floreale, erba tagliata, fresco, grasso, solvente, citrico
1-octen-3-olo	terra, fungo, muffa
Acido acetico	acido, aceto, pungente
Acido propanoico	pungente, aromatico, rancido, soia, acido, dolce, fruttato, muffa
(E)-2-decenale	sego, grasso, saponoso, vernice, pesce, verde, cera, terroso, arancio
Acido pentanoico	putrido, pungente, dolce, rancido, vecchio, deciso, fruttato

Tabella2: Descrizione aroma di alcuni composti volatili

Come affermato in alcuni studi (Yan et al., 2020), l'odore di alcuni composti organici volatili (acetaldeide, 2-propenale, propanale, acido acetico, solfuro dimetile, acido propanoico, solfossido di dimetile, acido butanoico) contribuiscono fortemente all'odore degli oli. Sorprendentemente, la maggior parte di questi composti sono associati a difetti di odore. Per quanto riguarda i composti C5, il trans-2-pentenale è associato a nota di erba tagliata-fruttato. Per quanto riguarda i composti C6, il trans-2-esenale è associato a un odore verde-fruttato. L'esenale è associato a una nota di odore verde- dolce. L'acetato di butile, il butirrato di etile e l'isobutirrato di etile sono associati a una nota di erba tagliata-dolce-fruttata. Pertanto, l'acetato trans-2-pentenale, trans-2-esenale, esenale, butile, butirrato etilico e isobutirrato etilico potrebbe dare un contributo rilevante alle note di odore verde di EVOO. Inoltre, il trans-2-esenale e l'esenale sono molto probabilmente le sostanze che contribuiscono di più alle note di verde dell'EVOO. È stato evidenziato che una grande quantità di COV associati alle note di odore verde sono stati trovati in oli d'oliva di alta qualità. Pertanto, l'odore di questi composti molto probabilmente contribuisce alle differenze nella percezione delle note di odore verde tra l'EVO di maggior qualità e quelli di qualità inferiore. Sebbene i composti C7-C15 siano presenti in concentrazioni relativamente basse negli oli rispetto ai composti C1-C6 (2,4 eptadienale, trans-2-eptenale, eptanale, eptan-2-one, trans-2- ottenale, 3-otten-2-one, ottano, 1-otten-3-olo, octan-2-one, trans,trans-2,4-nonadienale, trans-2-nonenale, nonanale, nonano-2-one, trans,trans-2,4-decadienale, trans-2-decenale, decanale). Tuttavia, la maggior parte di questi composti sono associati a difetti di odore. L'acetato di esile è associato a una nota verde-fruttata e questo composto potrebbe non dare un contributo rilevante alle note di odore verde degli OO. Riassumendo, i composti C5-C6 possiedono principalmente le note di odore verde, mentre i composti identificati C1-C4 e C7-C15 sono principalmente associati a difetti di odore. La preferenza dei consumatori è principalmente legata ai descrittori di odore qualificati con la nota "verde". Pertanto, le note verdi sono elementi sensoriali abbastanza importanti. Ci si aspetta che l'acetato trans-2-esenale, esenale, butile, il butirrato etilico e l'isobutirrato etilico contribuiscano alle note di odore verde degli OO. EVOO è presente con concentrazioni costantemente più elevate di questi composti con aroma di verde.

I composti organici volatili presenti nell'olio sono stati esaminati con il seguente metodo: (Casadei et al., 2021).

Preparazione della soluzione standard interna: l'olio d'oliva raffinato (15 g) è stato pesato in una fiala e sono stati aggiunti 0,1 g di 4-metil-2-pentanololo (standard interno, IS) e più olio d'oliva raffinato è stato aggiunto per raggiungere 20 g (concentrazione approssimativa IS di 5000 mg / kg). I pesi esatti (precisione della bilancia di 0,001 g in tutte le misurazioni) sono stati annotati per il calcolo della concentrazione. Questa è stata considerata la soluzione standard di riserva dello standard interno. Successivamente, l'olio d'oliva raffinato (5 g) è stato pesato in una fiala ed è stato aggiunto 0,1 g della soluzione standard di riserva sopra menzionata. Infine, è stato aggiunto olio d'oliva raffinato per raggiungere 10 g (concentrazione approssimativa di 50 mg / kg). I pesi esatti sono stati annotati per il calcolo della concentrazione. In tutte le fasi descritte, una preparazione rapida è stata considerata altamente consigliabile per evitare l'evaporazione dell'IS e ridurre gli errori.

Preparazione del campione ed estrazione di sostanze volatili: lavorando a temperatura ambiente controllata (20-25 °C) a causa dell'elevata volatilità dello standard, 1,9 g di campione sono stati pesati in un flaconcino di vetro da 20 ml e 0,1 g di soluzione standard di 4-metil-2-pentanololo sono stati aggiunti come IS (concentrazione approssimativa 2,5 mg/kg, sebbene in tutti i calcoli siano state prese in considerazione concentrazioni esatte). Successivamente, la fiala è stata chiusa ermeticamente con un setto di politetrafluoroetilene. Il campione è stato lasciato per 10 minuti a 40 °C sotto agitazione (250 rpm) per consentire l'equilibrio dei COV nello spazio di testa. Successivamente, il setto che copre ogni fiala è stato forato con un ago di microestrazione in fase solida (SPME) e la fibra è stata esposta allo spazio di testa per 40 minuti a 40 °C. La fibra SPME (lunghezza 1 cm, spessore film 50/30 µm) è stata dotata della fase stazionaria Stable Flex di divinilbenzene/carboxen/polidimetilsilossano (DVB/CAR/PDMS) (Supelco, Merck KGaA, Darmstadt, Germania). La fibra è stata precedentemente condizionata seguendo le istruzioni del fornitore. Dopo l'esposizione allo spazio di testa del campione, la fibra è stata quindi inserita nella porta dell'iniettore del GC. I volatili adsorbiti dalla fibra sono stati desorbiti termicamente nella porta di iniezione calda degli strumenti GC Varian 430 GC per 5 min a 250 °C con la valvola di spurgo spenta (modalità splitless) e trasferiti su una colonna capillare (fase polare a base di glicole polietilenico di un gascromatografo dotato di FID. Il gas vettore era elio o idrogeno ad una portata di 1,5 ml / min. La temperatura del forno è stata mantenuta a 40 °C per 10 minuti e poi programmata per salire di 3 °C/min ad una temperatura finale di 200 °C. Una fase di pulizia è stata aggiunta da tutti i partecipanti (da 20 °C/min a 250 °C per 5 min) per garantire che la colonna fosse pronta per l'analisi successiva. La temperatura del FID è stata impostata a 260 °C.

Metodo sviluppato nei nostri studi: iniezione e analisi di standard individuali per l'addestramento nell'identificazione dei 18 composti volatili per SPME-GC-FID.

Per ciascuno dei 18 standard, individuati nella metodica, ci sono 18 VOC in un flaconcino da 2 ml (18 flaconcini in totale) contenente una diluizione di ogni standard in olio d'oliva raffinato (miscela di brodo), ad una concentrazione approssimativa di 200 mg / kg. Tali matrici possono essere utilizzate facoltativamente per addestrare e garantire una corretta identificazione dei 18 composti volatili selezionati. Pesare esattamente 1.650 +/- 0.001 g di olio d'oliva raffinato in un flaconcino di vetro da 20 ml e aggiungere 0,250 +/- 0,001 g della miscela di brodo fornita nel flaconcino da 2 ml. Infine, aggiungere 0,100 +/- 0,001 g di soluzione standard di 4-metil-2-pentanololo come standard interno (concentrazione approssimativa IS = 2,5 mg/kg). Prendere nota dei pesi esatti (+/- 0,001 g) per il calcolo della concentrazione di ciascuna norma, che deve essere di circa 25 mg/kg. Chiudere

ermeticamente il flaconcino con setto di politetrafluoroetilene (PTFE). Agitare il flaconcino manualmente, ma molto delicatamente e delicatamente (non distribuire mai l'olio attraverso le pareti del flaconcino o il setto). Analizzare il contenuto della fiala nello stesso modo di un campione di olio d'oliva. Quando si osserva il cromatogramma corrispondente e lo si confronta con quello di un olio d'oliva raffinato, il picco di ogni standard (e, di conseguenza, il tempo di ritenzione del composto) dovrebbe essere ben identificato. Le analisi sono state effettuate con il gascromatografo di figura 13.



Figura 13: Gascromatografo GC-FID Varian 430-GC

4. RISULTATI SPERIMENTALI

4.1 ACIDITÀ

Il test analitico ufficiale di quantificazione degli acidi grassi liberi è quello indicato dal Coi: una aliquota dell'olio che si intende analizzare viene dissolta in una miscela di solventi (etanolo e di-etil etere): gli acidi grassi presenti in soluzione vengono quantificati attraverso una titolazione (con idrossido di sodio o potassio). Per maggiori dettagli sulla metodica utilizzata nel lavoro di tesi vedere paragrafo 3.1. Di seguito sono illustrati i dati sperimentali di acidità (%) dei seguenti campioni di olio all'imbottigliamento e dopo 3 e 6 mesi:

Tipo di olio	Shelf-life	Codice del campione	Acidità %		
EVOO Tradizionale	0 mesi	TRAD 0	0,06	±	0,02 ^a
	3 mesi	TRAD 3	0,12	±	0,01 ^b
	6 mesi	TRAD 6	0,15	±	0,02 ^c
EVOO Denoccolato	0 mesi	DEN 0	0,21	±	0,03 ^a
	3 mesi	DEN 3	0,27	±	0,03 ^b
	6 mesi	DEN 6	0,26	±	0,01 ^b
EVOO "rinoccolato"	0 mesi	RIN 0	0,50	±	0,02 ^a
	3 mesi	RIN 3	1,10	±	0,00 ^b
	6 mesi	RIN 6	1,00	±	0,14 ^b

Tabella 3: Acidità sperimentale (I dati sono rappresentati come media di due rilevazioni sperimentali ± deviazione standard n<2. Differenti lettere in apice nella stessa colonna indicano differenze statisticamente significative)

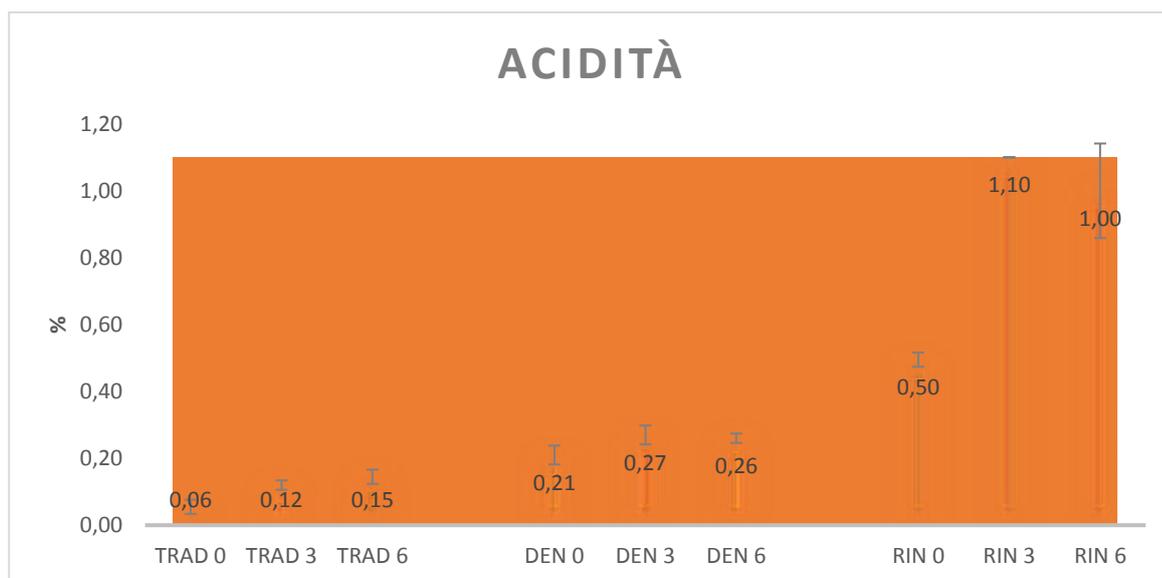


Grafico 1: acidità sperimentale negli oli EVO

Dai dati sperimentali della tabella n.3 si può notare che l'acidità nell'olio tradizionale con il passare dei mesi tende ad aumentare pur rimanendo al di sotto del limite soglia, evidenziando che con il passare del tempo, l'olio stoccato tende a diminuire la sua integrità. L'olio denocciolato mantiene dei valori che oscillano nell'intervallo 0.21-0.27%, con un lieve calo dopo il sesto mese dalla produzione, indicando che il livello di conservazione dell'olio denocciolato e le sue caratteristiche organolettiche rimangono praticamente inalterate per molto tempo. L'olio "rinocciolato" ha un quantitativo di acidi grassi liberi iniziale di 0.51% che tendono ad aumentare notevolmente nei mesi successivi alla produzione, tanto da superare il limite di accettabilità stabilito dalla normativa europea; dopo 3 mesi e anche dopo 6 mesi l'acidità supera l'1%. Si può anche aggiungere che l'olio tradizionale e quello denocciolato mantengono livelli di acidità in linea con le direttive europee anche dopo 6 mesi, mentre nell'olio "rinocciolato" tale situazione non si è verificata.

L'incremento di acidità fra il tradizionale ed il denocciolato va dal 71% all'imbottigliamento, al 55% dopo 3 mesi fino al 42% dopo 6 mesi, evidenziando un iniziale grande aumento di acidità che poi si stabilizza.

4.2 PEROSSIDI

Di seguito sono illustrati i dati sperimentali relativi ai perossidi (meq O₂/kg) dei seguenti campioni di olio all'imbottigliamento e dopo 3 e 6 mesi:

Tipo di olio	Shelf-life	Codice del campione	Perossidi meq O ₂ /kg
EVOO Tradizionale	0 mesi	TRAD 0	2,53
	3 mesi	TRAD 3	6,54
	6 mesi	TRAD 6	11,81
EVOO Denocciolato	0 mesi	DEN 0	1,99
	3 mesi	DEN 3	5,18
	6 mesi	DEN 6	9,08
EVOO "rinocciolato"	0 mesi	RIN 0	2,48
	3 mesi	RIN 3	4,72
	6 mesi	RIN 6	2,48

Tabella4: Dati sperimentali relativi ai perossidi (meq O₂/kg) negli oli EVO (i dati sono ottenuti da una singola rilevazione)

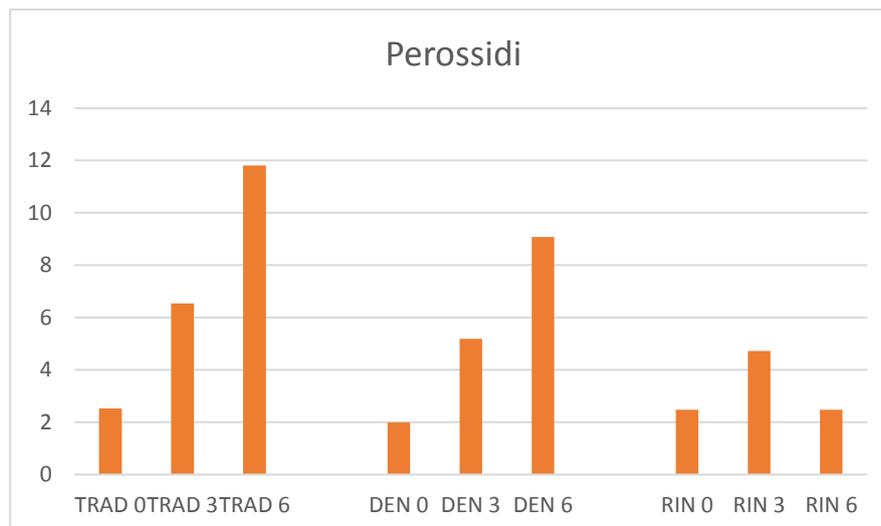


Grafico2: Perossidi sperimentali (meq O2/kg) negli oli EVO

Dal grafico 2 si può evincere come si abbia un aumento progressivo nel tempo dei perossidi nell'EVO tradizionale e denocciolato, con una minore incidenza su quello denocciolato che quindi avrà una maggiore shelf-life, mentre tale andamento non appare nell'olio "rinocciolato".

In particolare, l'olio denocciolato ha un progressivo aumento del grado di ossidazione che però a 6 mesi non supera neanche la metà della soglia massima stabilita dalla legge.

Nell'olio tradizionale invece è stato riscontrato un quantitativo di perossidi, dopo 6 mesi dalla produzione, pari a 11.81, maggiore rispetto agli oli prodotti con le altre due tecniche di estrazione. L'aumento dei perossidi tra il denocciolato e quello tradizionale passa dal 21% all'imbottigliamento, al 20% dopo 3 mesi fino al 23% dopo 6 mesi, evidenziando un trend quasi costante.

4.3 RANCIMAT

Per conoscere la shelf life (conservabilità) di un olio di oliva è necessario determinare la sua stabilità ossidativa; il metodo ufficiale per misurare questo parametro è il metodo Rancimat già descritto nel paragrafo 3.3.

Il tempo che intercorre tra l'inizio del processo e l'apparire dei prodotti della reazione secondaria è noto come tempo di induzione (induction time) o indice di stabilità dell'olio (Oil Stability Index – OSI).

Caratterizza la stabilità di ossidazione di oli e grassi. Questo tempo per l'olio di oliva risulta essere dell'ordine delle 10 – 12 ore in media, ma può raggiungere valori più elevati per oli extravergini molto ricchi di polifenoli e quindi con un'ottima capacità antiossidante.

Per verificare le effettive conservabilità dei vari EVO sono state effettuate delle prove sperimentali di Rancimat, ottenendo i tempi di induzione (h) dei seguenti campioni di olio all'imbottigliamento e dopo 3 e 6 mesi:

Tipo di olio	Shelf-life	Codice campione	Rancimat h
EVOO Tradizionale	0 mesi	TRAD 0	13,0 ± 0,2 ^b
	3 mesi	TRAD 3	12,5 ± 0,1 ^b
	6 mesi	TRAD 6	10,5 ± 0,1 ^a
EVOO Denocciolato	0 mesi	DEN 0	15,2 ± 0,1 ^b
	3 mesi	DEN 3	14,9 ± 0,2 ^b
	6 mesi	DEN 6	12,0 ± 0,4 ^a
EVOO "rinocciolato"	0 mesi	RIN 0	7,4 ± 0,4 ^b
	3 mesi	RIN 3	8,9 ± 0,3 ^c
	6 mesi	RIN 6	5,4 ± 0,4 ^a

Tabella5: Rancimat sperimentale negli oli EVO (I dati sono rappresentati come media di due rilevazioni sperimentali ± deviazione standard n<2. Differenti lettere in apice nella stessa colonna indicano differenze statisticamente significative)

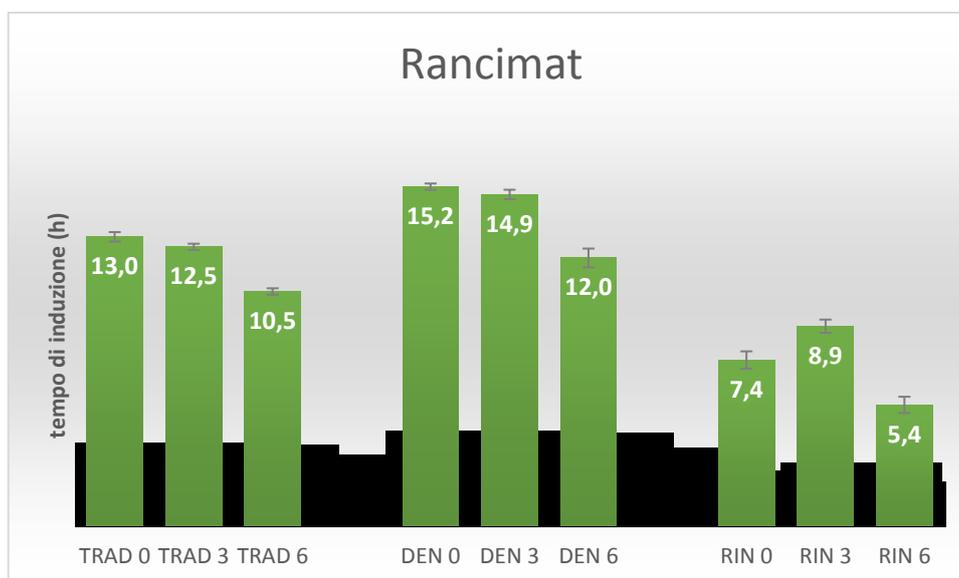


Grafico3: Tempo di induzione (h) tramite rancimat

Confrontando i valori riportati sul grafico 3 può essere evidenziata la maggiore shelf-life e maggiore capacità antiossidante dell'olio denocciolato, seguita dal tradizionale ed infine dal denocciolato. Negli oli tradizionale e denocciolato è anche possibile notare un andamento decrescente nel tempo, contrariamente al "rinocciolato" che evidenzia un andamento altalenante, oltre che la più piccola capacità antiossidante. In tutti i casi si osserva un tempo di induzione che decade rapidamente dopo 6 mesi.

L'aumento del tempo di induzione (h, Rancimat) tra il tradizionale e il denocciolato passa dal 14% all'imbottigliamento, al 16% dopo 3 mesi fino al 12% dopo 6 mesi, mostrando un andamento quasi costante.

4.4 COMPOSTI VOLATILI

Nella tabella 6 sono indicati i risultati sperimentali dei 18 composti organici volatili, definiti come

standard nella metodica citata nel paragrafo 3.4, nei vari EVO ed espressi in mg/kg di olio. Gli stessi dati sono rappresentati anche in forma grafica nel grafico 4

mg/kg olio	RIN 0	RIN 3	RIN 6	DEN 0	DEN 3	DEN 6	TRAD 0	TRAD 3	TRAD 6
1) Octane	<LOD	<LOD	0.04	0.03	0.03	0.04	<LOD	<LOD	0.03
2) Ethyl acetate	0.05	0.06	0.05	0.05	<LOD	<LOD	0.08	0.27	0.05
3) Ethanol	0.37	0.45	0.21	1.09	0.70	0.65	0.22	0.32	0.11
4) Ethyl propanoate	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.05	0.02	0.05	0.05	0.06
5) Hexanal	0.60	0.75	1.46	1.24	1.41	1.39	0.20	0.60	0.62
6) 3-Methyl-1-butanol	0.14	0.08	0.12	0.26	0.24	0.27	0.27	0.19	0.21
7) E-2-hexenal	5.93	7.13	6.20	18.27	17.21	20.69	19.19	13.62	12.86
8) Z-3-hexenyl acetate	0.17	0.10	0.13	0.40	0.37	0.43	0.80	0.15	0.16
9) E-2-Heptenal	<LOD	<LOD	<LOD						
10) 6-methyl-5-hepten-2-one	<LOD	<LOD	<LOD						
11) 1-hexanol	0.36	0.21	0.36	0.30	0.29	0.38	0.76	1.61	3.39
12) Nonanal	0.60	0.97	1.77	0.73	0.93	2.05	<LOD	3.34	<LOD
13) 1-octen-3-ol	<LOD	<LOD	0.50	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.26	<LOD
14) E,E-2,4-hexadienal	0.28	0.31	<LOD	0.88	0.76	0.87	0.89	0.72	0.66
15) Acetic acid	<LOD	0.11	0.12	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
16) Propanoic acid	0.16	0.12	0.19	0.21	0.15	<LOD	<LOD	0.13	0.15
17) E-2-decenal	2.08	0.00	0.00	<LOD	<LOD	<LOD	12.84	18.10	19.50
18) Pentanoic acid	<LOD	<LOD	0.53	<LOD	<LOD	0.46	<LOD	<LOD	<LOD

Tabella 6: composti volatili negli olii

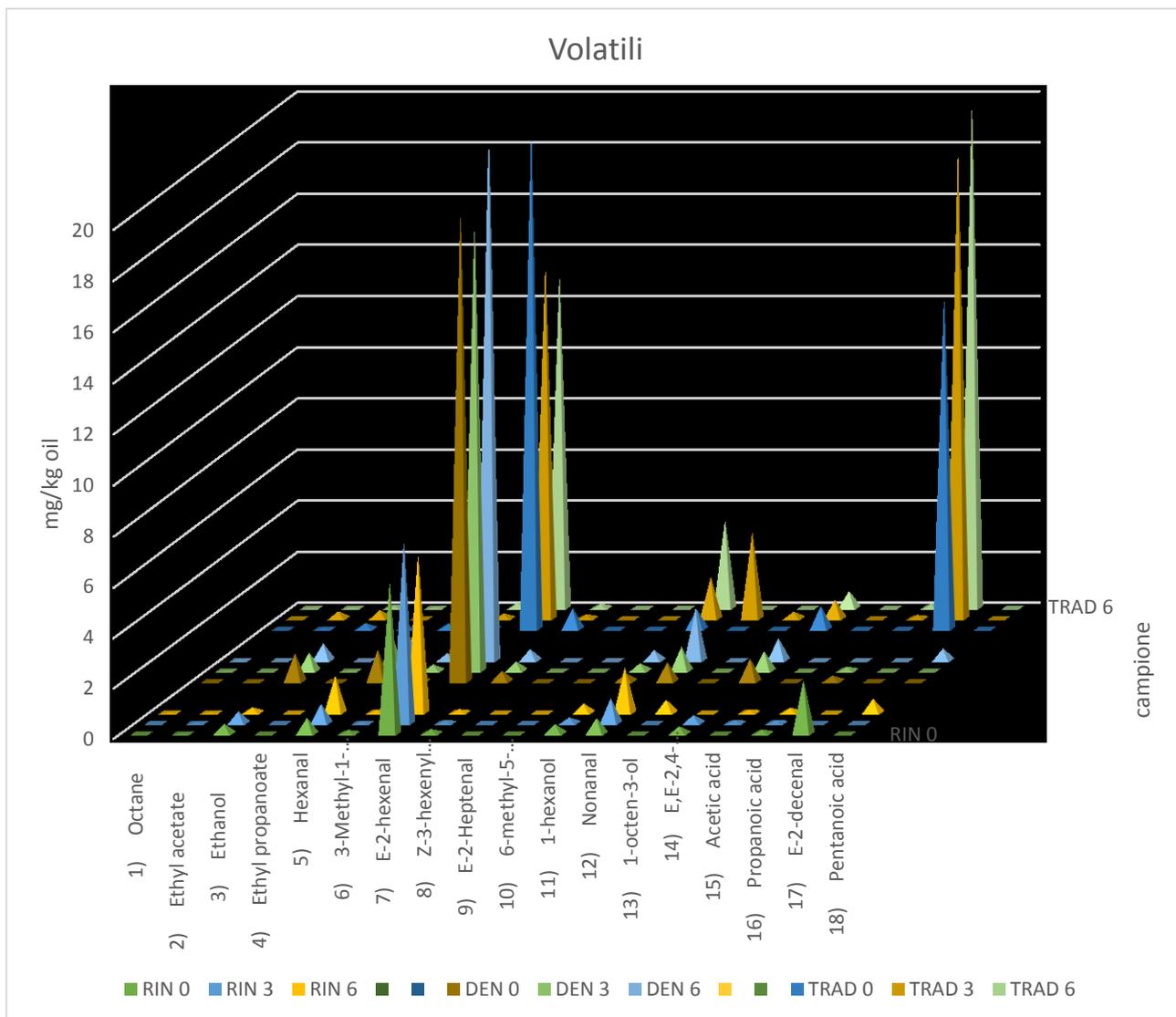


Grafico4: Composti organici volatili (mg/kg olio) negli EVO

In relazione ai dati sperimentali riportati, si può affermare quanto segue:

- La presenza di ottano, etil acetato, etilpropanoato, E-2-eptenale (difetto dell'olio), 6-metil-5-epten-2-one, 1-otten-3-olo (difetto dell'olio), acido acetico e acido propanoico, E-2-decenale e acido pentanoico non sono stati ritenuti presenti in quantità tali da effettuare valutazioni statistiche;
- La presenza di 3 metil 1 butanolo, Z-3-esenilacetato, E,E-2,4-esadienale è altalenante nei vari oli e non è possibile effettuare valutazioni statistiche;
- L'etanolo ha un andamento altalenante negli oli tradizionale e "rinocciolato", mentre decresce con l'aumentare del tempo di maturazione nell'olio denocciolato. Il suo aroma è, oltre che alcoolico, anche di mela e floreale.
- L'esenale è maggiormente presente nell'olio denocciolato, ed in generale la sua presenza cresce con il passare della maturazione. Il suo aroma è di verde, frutta, erba tagliata, mela, foglia, dolce, a basso contenuto di conc; sego, grasso, prato, sebaceo, olio ad alto contenuto di conc.
- L'E-2-esenale è maggiormente presente nell'olio denocciolato, seguito dal tradizionale (dove cala all'aumentare della maturazione), e poi del "rinocciolato". L'aroma è mandorla amara,

verde, erba tagliata, foglia, fruttata, mela, tagliente, dolce, astringente, amara, grassa. Assieme all'esanale contribuiscono a rendere maggiore la qualità dell'olio denocciolato rispetto agli altri ed a incrementare l'aroma di verde.

- L'esanolo è maggiormente presente nell'olio tradizionale. Il suo aroma è resina, floreale, verde, erba, frutta, aromatica, banana, alcolica, ruvida, astringente, morbida, dolce, pomodoro.
- Il nonanale è maggiormente presente nell'olio denocciolato, in generale si osserva un aumento della presenza all'aumentare del grado di maturazione. Il suo aroma è di grasso, agrumi, erba, verde, rancido, cera, pungente, sapone, sego
- L'E-2-decenale è principalmente presente nell'olio tradizionale e la sua presenza aumenta con il passare dei mesi. Si verifica la situazione inversa nell'olio "rinocciolato" dove al momento dell'imbottigliamento questo composto volatile è presente in piccole quantità (2.08 mg/kg) e tende a scomparire con l'aumentare della maturazione. Il suo aroma è di sego, grasso, saponoso, vernice, pesce, verde, cera, terroso, arancio

5. CONCLUSIONI

Scopo del presente lavoro di tesi è stato di valutare le differenti caratteristiche chimico-fisiche ed organolettiche di varie tipologie di olio extravergine, tradizionale, denocciolato, denocciolato con inserimento successivo del nocciolo, a vari tempi di maturazione, dall'imbottigliamento, a 3 e 6 mesi di distanza. I parametri che sono stati analizzati sono l'acidità, i perossidi, il tempo di induzione (Rancimat) ed i composti organici volatili. In particolare, si è visto come la denocciolatura permette di ridurre i consumi energetici, i tempi di estrazione, aumentare le rese, il tenore di polifenoli e la qualità dell'olio. Dalle sperimentazioni effettuate si è visto come l'olio denocciolato abbia maggiori caratteristiche di qualità, con una presenza maggiore di composti organici volatili responsabili dell'aroma verde, fruttato quali esanale ed E-2-esenale, mentre i polifenoli conferiscono aroma piccante e amaro, molto apprezzato soprattutto negli oli monovarietali. Il tenore di perossidi risulta inferiore nell'olio denocciolato e l'acidità risulta lievemente superiore all'olio tradizionale, come esaminato nella sperimentazione, mentre i tempi di induzione, misurati tramite Rancimat, risultano maggiori, a dimostrazione della maggiore shelf-life dell'olio denocciolato. Da evidenziare che l'acidità e la presenza di perossidi aumenta con l'aumentare del grado di maturazione, ma tale aumento risulta più contenuto nell'olio denocciolato, probabilmente perché nel nocciolo sono presenti sostanze che favoriscono l'ossidazione e la degradazione degli oli. Dall'analisi del profilo dei volatili è emerso che l'olio denocciolato ha un maggior contenuto di esanale, nonanale ed E-2-esenale, che contribuiscono a dare un maggiore aroma di verde e fruttato all'olio denocciolato rispetto agli altri. Unico fattore a sfavore dell'olio denocciolato è il maggior costo per la sua produzione. Attraverso lo sviluppo di tecniche innovative per l'estrazione dell'olio sarà possibile migliorare le caratteristiche di qualità ed organolettiche degli EVO monovarietali, incrementando anche la loro shelf-life e contribuendo al riconoscimento territoriale, sensoriale e qualitativo delle varie tipologie di EVO nel territorio italiano e marchigiano tramite DOP, IGP ed altri marchi di qualità. A tal fine si ricorda che attualmente l'unica IGP relativa agli EVOO presente nelle Marche è la IGP Marche, ottenuto dai frutti dell'olivo delle varietà Ascolana tenera, Carboncella, Coroncina, Mignola, Orbetana, Piantone di Falerone, Piantone di Mogliano, Raggia/Raggiola, Rosciola dei Colli Esini e Sargano di Fermo, Frantoio e Leccino, presenti negli oliveti da sole o congiuntamente per almeno l'85 %. I Comuni interessati sono buona parte di quelli presenti nelle Marche.

6. BIBLIOGRAFIA

- Amirante, P., Clodoveo, M. L., Dugo, G., Leone, A., & Tamborrino, A. (2006). Advance technology in virgin olive oil production from traditional and de-stoned pastes: Influence of the introduction of a heat exchanger on oil quality. *Food Chemistry*, 98(4), 797–805. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.040>
- Amirante, P., Clodoveo, M. L., Tamborrino, A., Leone, A., & Paice, A. G. (2010). Influence of the Crushing System : Phenol Content in Virgin Olive Oil Produced from Whole and De-stoned Pastes. In *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374420-3.00008-5>
- Aydar, A. Y., Bağdatlıoğlu, N., & Köseoğlu, O. (2017). Effect of ultrasound on olive oil extraction and optimization of ultrasound-assisted extraction of extra virgin olive oil by response surface methodology (RSM) ; Efecto del ultrasonido en la extracción de aceite de oliva y optimización de la extracción as. *Grasas Aceites*, 68(189), 17–3495. <http://dx.doi.org/10.3989/gya.1057162>
- Blasi, F., Pollini, L., & Cossignani, L. (2019). Varietal authentication of extra virgin olive oils by triacylglycerols and volatiles analysis. *Foods*, 8(2). <https://doi.org/10.3390/foods8020058>
- Cacchiarelli, L., Carbone, A., Laureti, T., & Sorrentino, A. (2016). The value of the certifications of origin: a comparison between the Italian olive oil and wine markets. *British Food Journal*, 118(4), 824–839. <https://doi.org/10.1108/BFJ-05-2015-0180>
- Campestre, C., Angelini, G., Gasbarri, C., & Angerosa, F. (2017). The compounds responsible for the sensory profile in monovarietal virgin olive oils. *Molecules*, 22(11), 1–28. <https://doi.org/10.3390/molecules22111833>
- Canyon Hydro, Summary, E., Of, F., Potential, T. H. E., Ferreres, X. R., Font, A. R., Ibrahim, A., Maximilien, N., Lumbruso, D., Hurford, A., Winpenny, J., Wade, S., Sataloff, R. T., Johns, M. M., Kost, K. M., State-of-the-art, T., Motivation, T., Norsuzila Ya'acob¹, Mardina Abdullah^{1, 2} and Mahamod Ismail^{1, 2}, Medina, M., ... Masuelli, M. (2013). We are IntechOpen , the world ' s leading publisher of Open Access books Built by scientists , for scientists TOP 1 % . *Intech*, 32(July), 137–144. <http://www.intechopen.com/books/trends-in-telecommunications-technologies/gps-total-electron-content-tec-prediction-at-ionosphere-layer-over-the-equatorial-region%0AInTec%0Ahttp://www.asociatiamhc.ro/wp-content/uploads/2013/11/Guide-to-Hydropower.pdf>
- Casadei, E., Valli, E., Aparicio-Ruiz, R., Ortiz-Romero, C., García-González, D. L., Vichi, S., Quintanilla-Casas, B., Tres, A., Bendini, A., & Toschi, T. G. (2021). Peer inter-laboratory validation study of a harmonized SPME-GC-FID method for the analysis of selected volatile compounds in virgin olive oils. *Food Control*, 123. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107823>
- Castillo-Luna, A., Criado-Navarro, I., Ledesma-Escobar, C. A., López-Bascón, M. A., & Priego-Capote, F. (2021). The decrease in the health benefits of extra virgin olive oil during storage is conditioned by the initial phenolic profile. *Food Chemistry*, 336(August 2020), 127730. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127730>
- Cavallo, C., Carlucci, D., Carfora, V., Caso, D., Cicia, G., Clodoveo, M. L., Del Giudice, T., Di Monaco, R., Roselli, L., Vecchio, R., & De Gennaro, B. (2020). Innovation in traditional foods: A laboratory experiment on consumers' acceptance of extra-virgin olive oil extracted through ultrasounds. *NJAS - Wageningen*

Journal of Life Sciences, 92(January), 100336. <https://doi.org/10.1016/j.njas.2020.100336>

- Cecchi, L., Migliorini, M., & Mulinacci, N. (2021). Virgin olive oil volatile compounds: Composition, sensory characteristics, analytical approaches, quality control, and authentication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(7), 2013–2040. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c07744>
- Di Lecce, G., Piochi, M., Pacetti, D., Frega, N. G., Bartolucci, E., Scortichini, S., & Fiorini, D. (2020). Eleven monovarietal extra virgin olive oils from olives grown and processed under the same conditions: Effect of the cultivar on the chemical composition and sensory traits. *Foods*, 9(7), 1–17. <https://doi.org/10.3390/foods9070904>
- Garcia-oliveira, P., Jimenez-lopez, C., Lourenço-lobes, C., Chamorro, F., Pereira, A. G., Carrera-casais, A., Fraga-corrall, M., Carpena, M., Simal-gandara, J., & Prieto, M. A. (2021). *Evolution of Flavors in Extra Virgin Olive Oil Shelf-Life*. 1–19.
- Maria, P., Anallely, L., Olmo-cunillera, A., Lamuela-ravent, R. M., Martin-belloso, O., & Vallverd, A. (2021). *Impact of Emerging Technologies on Virgin Olive Oil Processing , Consumer Acceptance , and the Valorization of Olive Mill Wastes*.
- Metrohm. (2013). Application Bulletin 204/2 e - Oxidation stability of oils and fats – Rancimat method. *Application Bulletin 204/2 E*, 2–5. http://partners.metrohm.com/GetDocument?action=get_dms_document&docid=1184905
- Navajas-Porras, B., Pérez-Burillo, S., Morales-Pérez, J., Rufián-Henares, J. A., & Pastoriza, S. (2020). Relationship of quality parameters, antioxidant capacity and total phenolic content of EVOO with ripening state and olive variety. *Food Chemistry*, 325(January), 126926. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126926>
- Poerio, A. (2007). STUDY OF THE ANTIOXIDANT FRACTION IN EDIBLE OLIVE OILS OBTAINED FROM DIFFERENT TECHNOLOGICAL SYSTEMS AND PARAMETERS. *PhD*, 1–81.
- Puértolas, E., & Martínez De Marañón, I. (2015). Olive oil pilot-production assisted by pulsed electric field: Impact on extraction yield, chemical parameters and sensory properties. *Food Chemistry*, 167, 497–502. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.029>
- Restuccia, D., Lisa, M., Corbo, F., & Rosa, M. (2018). De-stoning technology for improving olive oil nutritional and sensory features : The right idea at the wrong time. *Food Research International*, 106(January), 636–646. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.043>
- Rotondi, A., Alfei, B., Magli, M., & Pannelli, G. (2010). Influence of genetic matrix and crop year on chemical and sensory profiles of Italian monovarietal extra-virgin olive oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(15), 2641–2648. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4133>
- Yan, J., Alewijn, M., & van Ruth, S. M. (2020). From extra virgin olive oil to refined products: Intensity and Balance Shifts of the Volatile Compounds versus Odor. *Molecules*, 25(11). <https://doi.org/10.3390/molecules25112469>