

LA QUALITÀ DELL'OLIO EXTRAVERGINE DI OLIVA ESTRATTO SOTTO FLUSSO DI AZOTO

INTRODUZIONE

L'olio extra vergine d'oliva rappresenta per tradizione alimentare e legame al territorio uno dei prodotti fondamentali dell'agricoltura mediterranea d'indiscusso valore nutrizionale per la composizione chimica e le caratteristiche organolettiche, esaltate dal suo impiego quale condimento. Recenti ricerche in campo medico e farmaceutico hanno messo in evidenza i benefici effetti sulla salute dei componenti minori polari (CMP) polifenolici e degli acidi grassi monoinsaturi dell'olio vergine di oliva nella prevenzione di alcuni tumori, nel trattamento del diabete e sul metabolismo del colesterolo [1,2].

Gli oli di oliva vergini vengono ottenuti dal frutto dell'olivo soltanto mediante processi meccanici o altri processi fisici in condizioni, segnatamente termiche, che non causano alterazioni del prodotto stesso. È escluso l'olio ottenuto mediante solvente o con processi di riesterificazione e qualsiasi miscela con oli di altra natura. Secondo il reg. CEE n. 2568/91 [3] detto olio è oggetto della classificazione e delle denominazioni commerciali che seguono:

Olivo extravergine di oliva: olio di oliva vergine il cui punteggio organolettico (Panel test) è uguale o superiore a 6,5 e la cui acidità libera espressa in acido oleico è al massimo di 1 g per 100 grammi di olio (1%) e con numero di perossidi (N.P.) minore di 20 (meq. O_2/kg olio);

Olivo vergine di oliva: olio di oliva vergine il cui punteggio organolettico è uguale o superiore a 5,5, e la cui acidità libera è al massimo di 2 g per 100 g di olio (2%) e con numero di perossidi minore di 20 (meq. O_2/kg olio).

Le altre due categorie indicate dal Regolamento: l'olio vergine di oliva corrente e l'olio vergine di oliva lampante non sono notoriamente ammesse alla commercializzazione per l'elevato contenuto in acidi grassi liberi e idroperossidi del prodotto. È evidente, dunque, come l'indice dei perossidi così come l'acidità risultano essere parametri fondamentali di classificazione.

Numerosi studi hanno dimostrato come le caratteristiche quali-quantitative dell'olio siano influenzate da diversi fattori come il grado di maturazione e lo stato sanitario delle olive, il tipo di cultivar e le condizioni pedoclimatiche di crescita, nonché la tecnologia di estrazione e la modalità di conservazione dell'olio derivato [4-9]. In particolare, la tecnologia di estrazione influenza in maniera considerevole la qualità del prodotto finito

potendo alterare i parametri merceologici di classificazione e la concentrazione qualitativa dei CMP le cui proprietà antiossidanti e organolettiche sono di fondamentale importanza [10-14].

Una delle fasi più importanti del processo estrattivo dell'olio è, senza dubbio, la frantumazione delle olive. Attualmente l'operazione di rottura della drupa viene affidata alla molitura con tradizionali molazze (sistema discontinuo per lavorazioni semindustriali) oppure alla frangitura mediante diversi tipi di frangitori (a martelli, a dischi o a cono; sistema continuo). La successiva operazione di gramolatura, necessaria e importante, completa la lavorazione della pasta per l'estrazione dell'olio. È durante queste due fasi che si innescano le reazioni ossidative responsabili della qualità dell'olio prodotto [15-19].

Nella fase di rottura gli enzimi endogeni: polifenolossidasi (PPO) e perossidasi (POD) in presenza di ossigeno catalizzano l'ossidazione dei fenoli e della lipossigenasi (LPO, responsabile della formazione di alcuni composti volatili) e la formazione degli idroperossidi [20-22].

Al fine di valutare l'effetto della presenza dell'ossigeno durante la fase di molitura e gramolatura sui principali parametri qualitativi dell'olio estratto, è stata condotta una sperimentazione mediante macchine appositamente costruite dalla sezione di meccanica del Dipartimento di Ingegneria Agraria di Portici (NA) funzionanti sotto corrente di azoto. In particolare, la molazza a due ruote di granito dalla capacità di lavorazione pari a 10 kg di olive, poteva essere mantenuta ermeticamente sotto gas inerte, allo stesso modo la gramolatrice la cui capacità era di 15 kg di pasta. In considerazione dei lavori riportati in letteratura, ridotti e frammentari sono i risultati riguardanti un impianto di tipo tradizionale che, contemporaneamente nella fase di molitura e gramolatura, potesse essere mantenuto sotto flusso di gas inerte.

MATERIALI E METODI

La sperimentazione è stata condotta su olive della varietà *Rotondella* (**R**) e su una varietà mista (**MV**) composta da: 50% *Frantoio*, 30% *Leccino* e 20% *Pendolino*. Le olive sono state raccolte in Campania nel Dicembre 2002 in condizioni igieniche conformi e valutate allo stesso stadio di maturazione secondo l'indice di pigmentazione [5]. Le partite omogenee sono state suddivise in quattro lotti da 20 kg ciascuno per ogni varietà. Per valutare l'azione dell'ossigeno durante il processo, i lotti sono stati sottoposti alle seguenti estrazioni:

- L1** estrazione in aria;
- L2** molazza sotto flusso di azoto;
- L3** gramola sotto flusso di azoto;
- L4** molazza e gramola sotto flusso di azoto.

Per tutti i lotti sono state mantenute le medesime condizioni di lavorazione: molitura per 40 min a temperatura di 20°C; gramolatura per 30 min a 27°C. Ciascuna lavorazione di 10 kg di olive è stata effettuata in doppio entro le 24 h dalla raccolta. Per le preparazioni sotto flusso di azoto, dopo evacuazione dell'aria, si è mantenuta una pressione di azoto di 0,2 bar di sovrappressione.

La concentrazione di ossigeno (p.p.m.) nelle paste durante la molitura e la gramolatura è stata misurata con una sonda Mettler Toledo Oxygen mod. 4100.

Dopo la gramolatura la separazione dell'olio era ottenuta con un sistema a centrifugazione a due fasi, previa fluidificazione della pasta con il 25% di acqua.

Le macchine utilizzate presentavano le seguenti caratteristiche:

- **molazza** in granito a geometria tradizionale con diametro della pietra di base pari a 60 cm. Gli organi di rottura erano costituiti da due ruote in granito avente diametro pari a 30 cm, collegati all'albero motore mediante asse verticale con doppio snodo. Tale scelta è stata operata per favorire l'assestamento delle ruote durante la lavorazione e consentire di variare la distanza delle ruote dall'asse motore e la loro inclinazione rispetto al piano di rotolamento. L'albero motore per mezzo di apposita trasmissione a cinghia trapezia è stato collegato ad un motoriduttore azionato da sistema ad inverter vettoriale, che consentiva il controllo della velocità e/o della coppia.

La macchina era stata predisposta con copertura ermetica per poter effettuare la lavorazione in ambiente controllato sotto flusso di azoto;

- **gramola**, vasca del volume di 20 litri dotata di: quattro elementi elicoidali a passo variabile; intercapedine per la circolazione dell'acqua di condizionamento termico, e variatore di velocità di mescolamento della pasta. La macchina era stata predisposta con copertura ermetica per poter effettuare la lavorazione in ambiente controllato sotto flusso di azoto;

- **decanter**, tamburo con profilo cilindro-conico, il cui regime di rotazione era impostato tra 3000-3500 giri al minuto.

I campioni di olio estratto sono stati filtrati su solfato di sodio anidro e sottoposti alle successive determinazioni:

- acidità, numero di perossidi e indici spettrofotometrici secondo le Norme Grassi Derivati (NGD) C10, C35 e C40 rispettivamente [23];

- composizione in acidi grassi secondo la metodica ufficiale [3], utilizzando un GC Dani mod. 8521-a con vaporizzatore a temperatura programmata (PTV) e rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID). Colonna: fase stazionaria 50% Cyanopropil Methyl Silicone (Quadrex 007-23); 50 metri, 0,25 mm d.i., 0,25 μ m f.t.

Condizioni operative: gas di trasporto He, flusso 2 mL/min, rapporto di splittaggio 1/60 v/v, temperatura FID 260°C.

Programma di temperatura del PTV è: 50°C per 10 sec. incremento di 400°C al min fino a 260°C e sosta per 3 min.

Programma di temperatura della camera: 130°C per 3 min, incremento di 7°C al min fino a 230°C e sosta per 10 min.

L'identificazione è stata effettuata iniettando standard puri degli EMAG nelle stesse condizioni gascromatografiche. Per l'analisi quantitativa è stato utilizzato il metodo della normalizzazione interna previo calcolo del fattore di correzione;

- concentrazione in polifenoli mediante HPLC con colonna Inertisil ODS-3 (150x4,6 mm) secondo la procedura riportata da Montedoro *et al.* [24]

RISULTATI E DISCUSSIONE

Per valutare l'effetto dell'ossigeno durante l'estrazione sulle caratteristiche qualitative dell'olio, sono state costruite: molazza e gramola funzionanti ermeticamente sotto flusso di azoto, e estrattore centrifugo.

In tab. 1 viene mostrata la concentrazione di ossigeno presente in fase di molitura e gramolatura. Tali concentrazioni sono state realizzate evacuando l'aria, prima di ogni lavorazione, con una pompa da vuoto e successivamente "lavando" la molazza e la gramola con azoto per un tempo di 10 min. Durante la stessa lavorazione si manteneva costantemente una pressione di gas inerte di 0.2 bar.

In tab. 2 (a,b) vengono riportate le principali caratteristiche di qualità degli oli delle due

Tabella 1 - Concentrazione di ossigeno (ppm) realizzata nelle paste di oliva in fase di molitura e/o gramolatura.

Pasta di oliva (R e MV) O₂ (ppm)	
L₁	7,02±0,14
L₂	1,00±0,02
L₃	0,76±0,01
L₄	0,80±0,02

* i dati rappresentano la media di tre determinazioni ± sd.

varietà (rotondella e varietà mista) ottenuti secondo le quattro tipologie: L1, L2, L3 e L4.

È possibile osservare, all'interno della stessa varietà, che non vi è una variazione statisticamente significativa dell'acidità. L'assenza di ossigeno in fase di molitura e/o in fase di gramolatura non modifica allo stesso modo i parametri spettrofotometrici.

Significativamente diverso è il valore del numero dei perossidi: rispetto alla lavorazione L1, la concentrazione degli idroperossidi è risultata inferiore del 20% circa nella lavorazione L4 e del 14 % circa nel caso della lavorazione L2, mentre per la lavorazione L3 è stata valutata una riduzione del N.P. dell'8% circa. I risultati ottenuti, confermati per entrambe le varietà: (R) e (MV), indi-

Tabella 2a - Parametri di qualità dell'olio ottenuto dalla varietà rotondella (R) con diverse modalità di estrazione.

Lavorazione	R*				
	Acidità (ac. oleico%)	N.P. (meqO ₂ /kg)	DK	K₂₃₂	K₂₇₀
L₁	0,84±0,02	3,80±0,07	0,005	0,82±0,01	0,35±0,01
L₂	0,86±0,02	3,19±0,06	0,004	0,78±0,01	0,24±0,01
L₃	0,81±0,01	3,50±0,07	-0,001	0,73±0,01	0,08±0,01
L₄	0,83±0,02	3,08±0,06	-0,002	1,42±0,02	0,10±0,01

*i dati rappresentano i valori medi di tre determinazioni ± sd.

Tabella 2b - Parametri di qualità dell'olio multivarietales (MV) ottenuto con diverse modalità di estrazione.

Lavorazione	MV*				
	Acidità (ac. oleico%)	N.P. (meqO ₂ /kg)	DK	K₂₃₂	K₂₇₀
L₁	0,47±0,01	4,80±0,10	-0,002	1,54±0,03	0,07±0,01
L₂	0,44±0,01	4,11±0,08	-0,001	1,64±0,04	0,09±0,01
L₃	0,43±0,01	4,10±0,08	0,005	1,57±0,03	0,35±0,02
L₄	0,37±0,01	3,95±0,07	-0,001	1,51±0,03	0,09±0,01

*i dati rappresentano i valori medi di tre determinazioni ± sd.

cano che vi è stata una ridotta attività degli enzimi endogeni per la scarsa presenza di ossigeno, attività controllata maggiormente nel momento più critico della lavorazione cioè la molitura delle olive. In considerazione di quanto osservato, questa fase contribuisce in maniera preponderante sull'aumento del numero di perossidi nel prodotto finale.

L'analisi gascromatografica degli acidi grassi non ha evidenziato sostanziali modificazioni della loro concentrazione nei diversi oli ottenuti, come mostrato in tab. 3. Il rapporto acidi grassi saturi/insaturi si mantiene pressoché costante al valore di 0,16.

Alcuni autori [17] hanno studiato l'effetto dell'azoto in fase di gramolatura osservando un incremento nella concentrazione in sostanze fenoliche. Durante quella sperimentazione, per disattivare gli enzimi endogeni (PPO e POD) le paste, prima della gramolazione furono sottoposte ad un trattamento di "blanching" (95°C per 25 min).

Nel nostro caso la pasta ricavata dalla molitura non è stata trattata termicamente e i risultati ottenuti dalla concentrazione in fenoli sono stati riportati in tab. 4. È possibile osservare una variazione significativa per questi composti nelle quattro tipologie di estrazione L1-L4. In particolare l'estrazione effettuata completamente sotto flusso di azoto presentava una concentrazione in sostanze fenoliche più elevata rispetto all'estrazione in aria. L'olio ottenuto da molazza in azoto rispetto a quello con gramola in azoto evidenziava un potenziale fenolico maggiore.

Tabella 3 - Composizione in acidi grassi dell'olio delle due varietà estratto in diverse modalità.

Acidi grassi (%)	R				MV			
	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄
Palmitico	11,13	11,23	12,09	10,83	12,64	12,06	11,83	11,63
Palmitoleico	0,70	0,61	0,66	0,70	1,06	1,04	0,96	0,96
Stearico	1,58	1,63	1,70	1,53	1,80	1,70	1,68	1,70
Oleico	70,82	71,58	69,6	71,37	76,93	78,27	77,79	78,57
Linoleico	6,87	7,00	7,70	6,67	5,28	5,25	6,00	5,41
Linolenico	0,96	0,89	0,94	0,93	0,60	0,55	0,61	0,59
Arachico	0,312	0,319	0,331	0,30	0,32	0,29	0,31	0,33
Arachidonico	0,50	0,42	0,47	0,46	0,32	0,29	0,35	0,34
Insaturi/saturi	0,16	0,16	0,18	0,16	0,18	0,16	0,16	0,16

Tabella 4 - Composizione fenolica degli oli ottenuti in diverse modalità di estrazione.

Fenoli (mg/kg) ¹	Rotondella				Varietà mista			
	L1	L2	L3	L4 *	L1	L2	L3	L4
3,4-DHPEA	0,00±0,00	1,29±0,06	0,87±0,05	1,78±0,08	0,70±0,00	1,49±0,03	0,97±0,05	2,48±0,04
p-HPEA	1,87±0,22	3,11±0,12	2,44±0,15	3,61±0,13	2,66±0,32	4,89±0,15	3,14±0,11	5,68±0,95
Acido caffeico	0,00±0,00	0,44±0,08	0,36±0,06	0,53±0,05	0,33±0,04	0,64±0,05	0,46±0,07	0,73±0,08
3,4-DHPEA-EDA	224,32±12,3	487,12±11,6	372,21±10,01	514,52±13,58	154,34±11,1	187,51±6,51	164,21±8,14	289±10,12
3,4-DHPEA-EA	105,26±4,57	223,45±5,41	185,36±6,21	248,14±7,86	89,23±2,71	128±4,61	115±5,81	146±6,54

* varietà mista= 50% Frantoio, 30% Leccino e 20% Pendolino.
¹ I risultati sono la media di tre determinazioni ± s.d.

CONCLUSIONI

I dati ottenuti dalla sperimentazione condotta su un impianto a due fasi (capacità lavorativa 10 kg di olive) sul quale è stato possibile mantenere sotto flusso di azoto la molazza e/o la gramola hanno evidenziato che l'olio estratto in presenza totale di azoto (molazza e gramola) presentava un indice dello stato di ossidazione inferiore del 20% circa rispetto all'olio estratto in aria. In particolare la sola fase di molitura sotto azoto riduceva del 14% circa il numero dei perossidi mentre la sola fase di gramolatura sotto azoto riduceva dell'8% la concentrazione degli idroperossidi. Non si sono riscontrate variazioni significative per l'acidità, indici spettrofotometrici e composizione in acidi grassi per le quattro tipologie di estrazione. L'uso di gas inerti può inibire le reazioni ossidative, e contribuisce a mantenere nell'olio una concentrazione maggiore in sostanze fenoliche.

BIBLIOGRAFIA

- 1) F. Visioli, C. Galli. "Olive oil phenols and their potential effects on human health". J. Agr. Food Chem., 1998, 46, 4292-4296.
- 2) F. Visioli, C. Galli. "The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease: new findings". Nutr. Rev. 2000 56, 142-147.
- 3) Regolamento CEE n. 2568/91 - Caratteristiche degli oli d'oliva e degli oli di sansa di oliva e metodi ad essi attinenti, G.U. 2ª serie speciale, n. 81 del 21.10.91.
- 4) U. Bruni, P. Fiorino, N. Cortesi, "Influence of agricultural techniques, cultivar, and area of origin on characteristics of virgin olive oil and levels of some of its minor components". Olive, 53, 28-34 (1994).
- 5) M. Servili, G. Pannelli, R. Selvaggini, M. Baldioli, G.F. Montedoro. "Effect of agronomic and seasonal factors olive (*Olea europea* L.) production on the qualitative characteristics of the oil". Acta Horticulturæ, 1, 239-244 (1994).
- 6) J.M. Garcia, S. Sella, M.C. Perez-Camino. "Influence of fruit ripening olive oil quality". J. Agric. Food Chem., 44, 3516-3520 (1996).
- 7) P. Zunin, F. Evangelisti, M.A. Pagano, E. Tiscornia, R. Petacchi, "Phenolic compounds in oil obtained from *Olea europea* and anti-Dacus treatments". Riv. Ital. Sostanze Grasse, 72, 55-59 (1995).
- 8) L. Cinquanta, M. Esti, E. La Notte, "Evolution of phenolic compounds in virgin olive oil during storage". JAOAC, 74, 1259-1264 (1994).
- 9) A. Romani, N. Mulinacci, C. Galardi, C. Cassini, M. Innocenti. "Varietà di olive, maturazione del frutto e qualità dell'olio". Ricerche e innovazione nell'industria alimentare. CISETA, 5, 374-380.
- 10) L. Di Giovacchino, M. Solinas, M. Miccoli. "Effects of extraction system on the quality of virgin olive oil". J. Am. Oil Chem. Soc., 71, 1189-1193 (1994).
- 11) G. De Stefano, P. Piacquadio, M. Servili, "Effects of extraction system on the phenolic composition of virgin olive oils". Fett/Lipid, 101, 328-332 (1999).
- 12) V. Sciancalepore, G. De Stefano, P. Piacquadio, "Effects of the cold percolation system on the quality of virgin olive oil". Eur. J. Lipid Sci. technol., 102, 680-683 (2000).
- 13) M. Servili, V. Sciancalepore, G. De Stefano, P. Piacquadio, "Influenza di un nuovo sistema di frangitura delle olive sulla composizione fenolica dell'olio vergine di oliva". Ricerche e innovazione nell'industria alimentare. In "Ricerche e Innovazioni nell'Industria Alimentare", vol. V, a cura di S. Porretta, 813-817, Chiriotti Editori, Pinerolo (TO).
- 14) M. Servili, A.L. Begliuomini, R. Selvaggini, G. Montedoro. "Effetto di alcuni parametri tecnologici dell'estrazione meccanica sulla qualità degli oli vergini di oliva". In "Ricerche e Innovazioni nell'Industria Alimentare", vol. V, a cura di S. Porretta, 776-782 (2001), Chiriotti Editori, Pinerolo (TO).
- 15) M. Servili, M. Baldioli, E. Federici, G.F. Montedoro. "Effetto dei fenomeni ossidativi in fase di gramolatura sulle caratteristiche qualitative dell'olio vergine di oliva". In "Ricerche e Innovazioni nell'Industria Alimentare", Vol. IV, a cura di S. Porretta, 294-303 (1999), Chiriotti Editori, Pinerolo (TO).

- 16) M. Servili, M. Mariotti, G.F. Montedoro. "Phenolic composition of olive fruit and virgin olive oil: distribution in the constitutive parts of fruit and evolution during the oil mechanical extraction process". *Acta Horticulturae*, 474, 609-619 (1999).
- 17) F. Angerosa, L. Di Giacinto, "Caratteristiche di qualità dell'olio vergine in relazione ai metodi di frangitura. Nota II". *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 72, 1-4 (1995).
- 18) A. Lanzani, P. Bondioli, C. Mariani. "Influenza dei parametri tecnologici sulla qualità degli oli vergini di oliva nella pratica industriale. Nota II". *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, LXX, 223-232 (1993).
- 19) P. Piacquadio, V. Sciancalepore, G. De Stefano, "Quality of virgin olive oil extracted with the new centrifugation system using two-phases decanter" *Fett/Lipid*, 100, 472-474 (1998).
- 20) M. Servili, M. Mariotti, G.F. Montedoro. "Phenolic composition of virgin olive oil in relationship to some chemical and physical aspects malaxation". *Acta Horticulturae*, 1, 331-336 (1994).
- 21) J.M. Olias, A.G. Perez, J.J. Rios. "Aroma of virgin olive oil: Biogenesis of the "Green" odour notes. *J. Agric. Food Chem.*, 41, 2368-2373 (1993).
- 22) V. Sciancalepore. "Enzymatic browning in five olive varieties. *J. Food Sci.*, 50, 1194-1195 (1988).
- 23) NGD - Norme Grassi e Derivati, III Edizione 1976 e III Supplemento 1989. Editore Stazione Sperimentale per le Industrie degli Oli e dei Grassi, Milano.
- 24) G.F. Montedoro, M. Servili, E. Miniati. "Simple and hydrolysable phenolic compounds in virgin olive oil. I. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC". *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1571-1576 (1992).

RIASSUNTO

Durante la fase di estrazione dell'olio, la matrice grassa subisce inevitabilmente una degradazione ossidativa influenzata dalla presenza degli enzimi endogeni: polifenolossidasi (PPO), perossidasi (POD), lipossigenasi (LPO); e dalle condizioni tecnologiche di lavorazione: tempo e temperatura, concentrazione di ossigeno nella fase di molitura (sistema tradizionale) e gramolatura. In tale contesto, è stata valutata l'azione dell'azoto sulle caratteristiche qualitative dell'olio. È stato necessario costruire un sistema di estrazione a due fasi con la possibilità di mantenere la molazza e la gramola sotto flusso di gas inerte. I risultati ottenuti hanno evidenziato che abbassando la concentrazione dell'ossigeno con azoto durante l'estrazione, l'indice del numero dei perossidi si riduceva del 20% circa rispetto all'estrazione in aria. L'acidità e gli indici spettrofotometrici non subivano apprezzabili variazioni, mentre le sostanze fenoliche erano presenti ad una concentrazione maggiore nell'olio estratto sotto flusso di azoto.

SUMMARY

During oil extraction, fat matrix undergoes an oxidative degradation influenced by presence of endogenous enzymes: polyphenoloxidase (PPO), peroxidase (POD), lipoxigenase (LPO) and by technological parameters: time and temperature, oxygen concentration during milling (traditional system) and malaxation. For this reason, the action of nitrogen and oxygen on qualitative characteristics of oil was valued. It was necessary to build an extraction system capable of keeping the stone-mill and malaxation under N₂ flow.

During extraction, oxygen concentration was very low by N₂ flow. The results obtained showed that peroxide index reduced of 20% in comparison to extraction in air. Acidity number and spectrophotometric index didn't show significative variations, while concentration of phenolic compounds was higher in oil extracted under inert gas flow than in oil processed under air flow.