

L'AZIONE DELL'AZOTO DURANTE IL PROCESSO DI ESTRAZIONE DELL'OLIO EXTRAVERGINE D'OLIVA

Romano R., Borriello I., Formato A., Spagna Musso S.

Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università degli Studi di Napoli Federico II, Facoltà di Agraria Portici (NA).

INTRODUZIONE

L'olio extravergine d'oliva rappresenta uno dei prodotti fondamentali dell'agricoltura mediterranea, d'indiscusso valore nutrizionale per la composizione chimica e le caratteristiche organolettiche (Sacchi et al. 1997). Numerosi studi hanno dimostrato come le caratteristiche quali-quantitative dell'olio siano influenzate da diversi fattori come il grado di maturazione, il tipo di cultivar e lo stato sanitario delle olive, nonché la tecnologia di trasformazione e le modalità di conservazione dell'olio stesso (Sacchi et al. 1999). In particolare la tecnica d'estrazione influenza la qualità del prodotto finito potendo alterare i parametri merceologici di classificazione e la concentrazione dei Composti polari minori (CMP) le cui proprietà antiossidanti e organolettiche sono di fondamentale importanza. Durante la fase di estrazione dell'olio la matrice grassa subisce inevitabilmente una degradazione ossidativa influenzata dalla presenza di enzimi endogeni (polifenolossidasi-PPO, perossidasi-POD, lipossigenasi-LPO) e dalle condizioni tecnologiche di lavorazione (tempo-temperatura, concentrazione di ossigeno) nella fase di molitura (sistema tradizionale) e nella fase di gramolatura. Le reazioni ossidative che avvengono nelle paste durante la fase tecnologica della gramolatura, possono modificare la concentrazione fenolica dell'olio vergine d'oliva, nel corso del processo di estrazione meccanica, gli enzimi endogeni condizionano fortemente la concentrazione dei secoiridoidi nell'olio (Capella et al. 1981).

Gli enzimi ossidoriducenti, quali polifenolossidasi (PPO) e perossidasi (POD), invece, in presenza di ossigeno, catalizzano l'ossidazione dei fenoli e la formazione degli idroperossidi. Tuttavia la PPO e la POD endogene, nel corso del processo di estrazione meccanica, comportano solo una parziale degradazione ossidativa dei composti fenolici; la perdita più consistente è provocata da reazioni ossidative di natura non enzimatica (autocatalitica), che sono notevolmente influenzate dalla disponibilità dell'ossigeno presente nelle paste. L'utilizzo di gas inerti (azoto) inibendo tutte le reazioni ossidative, stabilizza la concentrazione dei secoiridoidi tanto nelle paste che negli oli corrispondenti, in maniera più consistente rispetto al solo trattamento di inattivazione termica delle ossidoriduttasi endogene (Capella et al. 1981). L'utilizzo di azoto, nelle diverse fasi del processo estrattivo, può così inibire gli enzimi endogeni responsabili della degradazione delle sostanze fenoliche (PPO e POD) (Viehuis et al. 2001). In tale contesto si inserisce questo lavoro sperimentale, per cui 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 valutando l'azione dell'azoto sulle caratteristiche qualitative dell'olio. Infatti ad oggi i lavori in letteratura risultano ridotti e frammentari per quanto riguarda impianti di tipo tradizionale che, possono essere mantenuti contemporaneamente, nella fase di molitura e gramolatura, sotto flusso di gas inerte.

MATERIALI E METODI

La sperimentazione è stata condotta su olive della varietà Rotondella e su una varietà mista composta da 50% Frantoio, 30% Leccino e 20% Pendolino raccolte in Campania nel periodo-Novembre-Dicembre 2004 in condizioni igieniche conformi e valutate allo stesso

stadio di maturazione secondo l'indice di pigmentazione (Indice di maturazione = $[(0 \times n_0) + (1 \times n_1) + (2 \times n_2) \dots (7 \times n_7)] / 100$)

Dove $n_0, n_1, n_2, \dots, n_7$ è il numero di olive appartenenti alle sette classi così indicate:

- 0 = olive con buccia verde intenso o verde scuro
- 1 = olive con buccia gialla o verde-giallognola
- 2 = olive con buccia giallognola con macchie o zone rossastre
- 3 = olive con buccia rossastra o violetto chiaro
- 4 = olive con buccia nera o polpa totalmente verde
- 5 = olive con buccia nera e polpa violetta fino a metà
- 6 = olive con pelle nera e polpa violetta fino quasi al nocciolo
- 7 = olive con buccia e polpa totalmente nera

L'estrazione dell'olio è stata effettuata mediante macchine appositamente costruite dalla Sezione di meccanica del Dipartimento di Ingegneria Agraria di Portici (Na), diretta dal Prof. F. Romano, funzionanti sotto corrente di azoto. In particolare sono state costruite una molazza a due ruote di granito, con capacità di lavorazione pari a 10 Kg/h di olive, mantenuta ermeticamente sotto gas inerte e una gramolatrice, con capacità di 15 Kg/h di pasta, termoregolabile sotto flusso di azoto. Le partite omogenee sono state suddivise in quattro lotti da 7 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 (ARIA)
- L2 Molazza sotto flusso di azoto (MN2)
- L3 Gramola sotto flusso di azoto (GN2)
- L4 Molazza e gramola sotto flusso di azoto (N2)

Per tutti i lotti sono state mantenute le medesime condizioni di lavorazione: Molitura per 50 minuti a temperatura di 20°C, Gramolatura per 20 minuti a 27°C. La concentrazione in ossigeno delle 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 è stata ottenuta con un sistema di centrifugazione ad asse verticale, della capacità di 250 g di pasta, previa fluidificazione della pasta in gramola con il 25% di acqua. La fase liquida estratta sottoposta a successiva chiarificazione in centrifuga a 3500-4000 giri/min per allontanare residui solidi e impurezze. I campioni di olio estratto sono stati chiarificati e confezionati in beute da 250 ml chiuse con tappi dotati di valvole di ingresso e di uscita per consentirne il confezionamento in azoto. Le determinazioni analitiche effettuate sono state: N.P. ed acidità; Indici spettrofotometrici (ΔK , K 270 e K 232) secondo le Norme Grassi e Derivati (NGD); Composizione in acidi grassi con Gas-cromatografo DANI 8521 e rivelatore a ionizzazione di fiamma FID. Colonna fase stazionaria 50% Cyanopropil Methyl Silicone (Quadrex 007-23); Concentrazione in fenoli mediante HPLC con colonna ODS-3 (150x4.6mm) (HPLC SHIMADZU mod.LC 10 ADVP, con rivelatore UV-DAD) secondo la procedura riportata da Montedoro et al. (1992). Misurazione dell'ossigeno disciolto (Ossimetro mod. OX 22 ACQUALITIC, Langen, Germania). I dati raccolti sono stati analizzati utilizzando il software Statistical Analysis System (SAS) (Kremer et. al. 2001). Tutte le variabili sottoposte ad elaborazione sono state analizzate con il test statistico del T-Student.

RISULTATI E DISCUSSIONI

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

In tale contesto è stata valutata la concentrazione di ossigeno (ppm) nelle paste in fase di molitura e gramolatura durante l'estrazione in aria e l'estrazione in azoto (N₂). 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, mantenendo una pressione di gas inerte pari a 0.2 bar (Tabella 1)

Tabella 1: Concentrazione di ossigeno (ppm) nella pasta di oliva

Varietà	ESTRAZIONE		
	Aria L1	N ₂ L4	Δ% Aria-N ₂
MV	0,24±0,01	0,21±0,01	12,50
R	0,66±0,03	0,31±0,01	53,03
*i dati rappresentano la media di 3 determinazioni ± sd *valori statistici per p<0.05			

Risulta evidente come per entrambe le varietà di olive la concentrazione di O₂ nelle paste ottenute sotto N₂ sia inferiore rispetto a quella rilevata nelle paste estratte in aria (ARIA).

In particolare per la Rotondella, la concentrazione di O₂ nei campioni ottenuti sotto N₂ risulta più bassa del 53% circa rispetto ai campioni estratti in aria.

In **Tabella 2** è mostrato il valore del N.P. (meqO₂/Kg) degli oli estratti nelle quattro modalità. E' possibile osservare che la concentrazione di idroperossidi dell'olio ottenuto sotto flusso di azoto va da un valore minimo di 1,91 ppm (R, estrazione totale in N₂) ad un valore massimo di 5,61 ppm (MV, estrazione Aria). In accordo con quanto rilevato nella determinazione del contenuto di ossigeno disciolto, l'olio ottenuto in azoto mostra un valore di concentrazione di idroperossidi ridotto rispetto a quello ottenuto in aria.

Tabella 2: N.P. (meqO₂/Kg) degli oli ottenuti in diverse modalità di estrazione. I dati rappresentano la media di 3 determinazioni ± sd , *valori statistici per p<0.05

Varietà	ESTRAZIONE N.P.			
	L1	L2	L3	L4
MV	5.61±0.28	4.16±0.21	3.65±0.18	3.75±0.19
R	3.96±0.20	2.01±0.10	3.25±0.16	1.91±0.10

Tabella 3: Indici spettrofotometrici degli oli ottenuti in diverse modalità di estrazione. I dati rappresentano la media di 3 determinazioni \pm sd; valori statistici per $p < 0.05$

	L1	L4	L2	L3
MV				
K 232	1,79 \pm 0,07	1,47 \pm 0,06	1,88 \pm 0,08	1,63 \pm 0,07
K 270	0,1 \pm 0,001	0,57 \pm 0,02	0,47 \pm 0,02	0,2 \pm 0,01
ΔK	0,005 \pm 0,0002	0,009 \pm 0,0004	0,003 \pm 0,0001	0,002 \pm 0,0001
R				
K 232	1,72 \pm 0,07	1,54 \pm 0,06	1,01 \pm 0,04	1,16 \pm 0,05
K 270	0,64 \pm 0,03	0,21 \pm 0,01	0,23 \pm 0,01	0,44 \pm 0,02
ΔK	0,009 \pm 0,0004	0,002 \pm 0,0001	0,001 \pm 0,0001	0,004 \pm 0,0002

In Tabella 3 sono riportati gli indici spettrofotometrici (K232, K270 e Δ K) delle diverse tipologie di olio. L'estrazione effettuata in azoto **L4** e quella tipo **L2** e **L3** conducono ad un abbassamento dei valori di assorbimento a 232 e a 270 nm, rispetto alla lavorazione in aria per la varietà Rotondella, mentre per quella mista si registrano valori paragonabili alla lavorazione in aria. In particolare per le lavorazioni **L4** e **L2** della varietà MV gli assorbimenti a 232 e a 270 nm, che danno informazioni circa la presenza di doppi e tripli legami coniugati e anche di composti aldeidici e chetonici, risultano superiori alla lavorazione in aria. Tale andamento è dovuto alla probabile neoformazione di tali molecole durante l'estrazione sotto flusso di gas inerte (ambiente privo di ossigeno).

Tabella 4: Acidità (%) dell'olio ottenuto in diverse modalità di estrazione. I dati rappresentano la media di 3 determinazioni \pm sd; valori statistici per $p < 0.05$

Acidità	L1	L4	L2	L3
MV				
%	0,5 \pm 0,01	0,36 \pm 0,01	0,39 \pm 0,01	0,37 \pm 0,01
R				
%	0,4 \pm 0,008	0,21 \pm 0,004	0,34 \pm 0,007	0,33 \pm 0,007

Per quanto riguarda l'acidità (Tabella 4), l'assenza di ossigeno, in fase di molitura e/o in fase di gramolatura (L2, L3), non influenza eccessivamente questo parametro rispetto alla lavorazione tradizionale, i valori di acidità si mantengono per tutte le lavorazioni al di sotto dei limiti legislativi. Infatti l'acidità di un olio è strettamente legata a reazioni di tipo enzimatico (lipasi), la cui entità è funzione della qualità della materia prima, del contenuto d'acqua dell'olio e della struttura dei suoi trigliceridi (Sacchi et al. 1997). Risulta evidente come, negli oli ottenuti mediante in azoto, relativamente al 3,4-DHPEA-EDA e al p-HPEA-EDA, la loro concentrazione sia maggiore rispetto a quella in aria. In particolare, come mostrato in figura 1, questi ultimi presentano una concentrazione in 3,4-DHPEA-EDA e di p-HPEA-EDA più alta, rispettivamente del 63% e del 32% circa, rispetto a quella valutata nei campioni in aria.

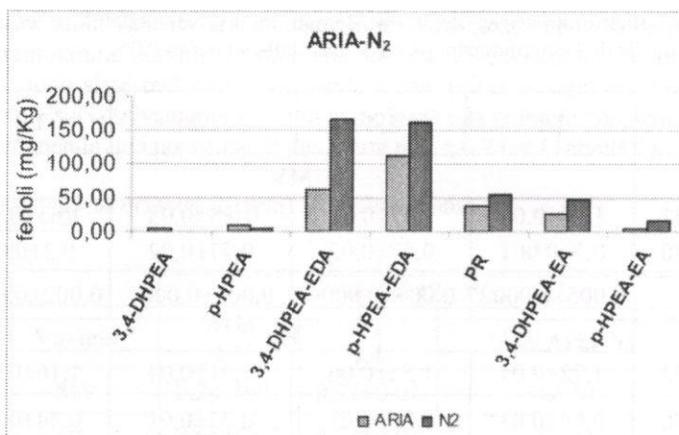


Figura 1: Confronto (Aria-N₂) tra la composizione fenolica (mg/Kg) dell'olio ottenuto in diverse modalità di estrazione.

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti dalla sperimentazione condotta su un impianto pilota di estrazione dell'olio sotto flusso di azoto (molazza e la gramola), hanno evidenziato che l'uso del gas inerte può inibire le reazioni ossidative e contribuire a mantenere una concentrazione superiore in sostanze fenoliche nell'olio ottenuto. In particolare, il controllo del processo di ossidazione, effettuato riducendo la concentrazione di ossigeno nelle paste nel corso della molitura e/o gramolatura, ha ridotto la presenza degli idroperossidi, prodotti primari di ossidazione. I risultati ottenuti indicano che è possibile ridurre l'attività degli enzimi endogeni, responsabili di reazioni idrolitiche e ossidative, controllando la concentrazione di ossigeno soprattutto nel momento più critico della lavorazione: la molitura. Non si sono riscontrate variazioni significative per acidità, indici spettrofotometrici e composizione in acidi grassi per le quattro tipologie di estrazione. L'uso di N₂ ha, inoltre, consentito di ottenere un olio più ricco in sostanze fenoliche.

BIBLIOGRAFIA

- Bruni U., Fiorino P., Cortesi N. (1994) *Olive*, 53, 28-34
- Capella, Lercker, Conte (1981) *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 58, 119-125.
- Montedoro G.F., Servili M., Baldioli M., Miniati E. (1992) *J. Agr. Food Chem.*, 40, 1571-1576.
- Sacchi R., Della Medaglia D.A., Ambrosino M.L., Paduano A., Spagna Musso S. (1999) "Linee guida per la qualità dell'olio vergine di oliva". CRAA-Regione Campania (Reg.CE n° 2132/96), Portici.
- Sacchi, Spagna Musso, Paduano, Ambrosino (1997); "Linee guida per la qualità dell'olio vergine di oliva", S.B.R. s.r.l Editrice Portici pag.35-36.
- Servili M., Begliuomini A.L., Selvaggini R., Montedoro G. (2001) *Ricerche e innovazione nell'industria alimentare*, CISEA, pp. 776-782.
- Servili M., Pannelli G., Selvaggini R., Baldioli M., Montedoro G.F (1994) *Acta Horticulturæ*, 1, 239-244.
- Vierhuis E., Servili M., Baldioli M., Schols H.A., Voragen A.G.J., Montedoro G.F (2001) *J. Agr. Food Chem.*, 49, 1218-1223.
- Visioli F., Galli C. (1998) *J. Agr. Food Chem.*, 46, 4292-4296.