



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA  
"TOR VERGATA"**

FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

DOTTORATO DI RICERCA IN  
FISIOLOGIA DEI DISTRETTI CORPOREI

CICLO XXI

Studi di caratterizzazione chimica di oli extravergini di oliva della Piana di Gioia Tauro con particolare riferimento al contenuto di micronutrienti antiossidanti.

Dottorando Teodoro Iaropoli

A.A. 2009/2010

Docente Guida/Tutor: Prof. Giovanni Quaglia

Coordinatore: Prof. Antonino De Lorenzo

# 1 - Scopo della tesi

La crescente attenzione da parte del consumatore verso il ruolo che riveste l'alimentazione nella salvaguardia della salute ha consentito di inserire l'olio extra vergine d'oliva tra gli alimenti con un elevato significato funzionale salutistico.

In tale ambito, la qualità e la sicurezza sono le nuove domande dei consumatori e quindi i principali obiettivi che si debbono conseguire nei diversi tipi di produzioni tra cui quella dell'olio d'oliva.

A tal riguardo la riorganizzazione della filiera oleicola, diventa un fattore indispensabile per il conseguimento di elevati livelli di qualità ed il suo raggiungimento dipende dalla realizzazione di nuovi sistemi di controllo. Tra questi emerge quello della rintracciabilità di filiera. Tale rintracciabilità, non rappresenta solo un fattore di controllo ma diventa anche un valore aggiunto se è in grado di valorizzare caratteristiche specifiche e tipiche di una determinata produzione.

In relazione all'importanza della valorizzazione della filiera oleicola nella Regione Calabria attraverso una riorganizzazione della filiera che, tra l'altro, prenda in considerazione nuovi parametri analitici, da abbinare a quelli già previsti dai disciplinari delle DOP Calabresi, si è ritenuto necessario avviare uno studio sulle eventuali differenze nella composizione in micronutrienti antiossidanti presenti negli oli extravergini d'oliva di produzione Calabrese..

Questa indagine è stata svolta, quindi, con lo scopo di acquisire informazioni per una caratterizzazione chimico nutrizionale degli oli extravergini d'oliva provenienti da un territorio particolarmente dedicato alla coltivazione dell'olivo come è quello della Piana di Gioia Tauro.

Lo studio si riferisce a dati relativi ad oli prodotti nelle campagne olearie 2005-2006 – 2007- 2008 I campioni d'olio campionati sono stati sottoposti alla determinazione dell'acidità, dei perossidi e dei polifenoli tramite HPLC-UV . Le determinazioni dell'acidità e dei perossidi rientrano tra i parametri di inquadramento degli oli dal punto di vista qualitativo - merceologico.

La determinazione di polifenoli è stata fatta, invece, con lo scopo di individuare eventuali differenze nella composizione in sostanze ad azione antiossidante. Nell'ambito di questa indagine si è ritenuto opportuno prendere in esame i polifenoli per il loro legame con la matrice genetica (Bastoni et al., 2001; Brenes et al., 1999) che li rende possibili marcatori non solo di qualità, ma anche di tracciabilità.

La scelta dei polifenoli e di proporli come parametri analitici utili alla caratterizzazione, è stata determinata anche per la loro capacità di impartire all'olio caratteristiche sensoriali e nutrizionali di grande rilievo. Sono proprio i polifenoli contenuti nell'olio extravergine d'oliva i principali responsabili dei numerosi effetti salutari di questo alimento e quindi della dieta Mediterranea.

I risultati di tali elaborazioni non sono da intendersi come caratterizzanti gli oli prodotti nel territorio in studio, ma solo un primo approccio a tale caratterizzazione, in quanto risulta essere dipendente dall'annate di carica e scarica e dalla relativa variabilità climatica, per cui è necessario sviluppare studi pluriennali.

## 2 - Introduzione

### 2.1 - Premessa

Un antico proverbio popolare racconta che in Italia ci sono 365 diversi oli extravergini d'oliva, uno per ciascun giorno dell'anno. In effetti, l'uso dell'olio extravergine d'oliva è una caratteristica delle antiche tradizioni agro-alimentari della cucina italiana ed uno dei punti di forza della dieta mediterranea. (Filo della Torre, 2002).

La famiglia delle Oleacee, cui appartiene l'olivo, comprende circa 30 generi e 600 specie distribuite in vaste regioni con diversi tipi di clima. Al genere *Olea*, specie *O. europea* L. appartiene un numero imprecisato di varietà coltivate dette cultivar.(COI, 1997). La tendenza a difendere la tipicità dell'olio extravergine d'oliva ed il crescente interesse a valorizzare anche modeste produzioni hanno promosso, in numerose regioni italiane, la ricerca della biodiversità olivicola territoriale quale strumento da integrare alla tutela dei prodotti locali. Queste attività, hanno reso disponibile in tempi brevi un copioso contributo tecnico scientifico che è stato utile per aggiornare le risorse genetiche olivicole censite in Italia.(Cicoria et al., 2000; Pannelli et al., 2000; Pugliano et al., 2000; Cimato et al., 2001; Cimato, 2002). Ad oggi il quadro delle accessioni varietali, distinte per regioni, risulta essere di 715 cultivar. (Cimato et al., 2002).

Il nostro studio, è volto a caratterizzare gli oli d'oliva vergini di produzione Calabrese, ed in particolare si vuole valorizzare la tipicità degli oli prodotti nel territorio della Piana di Gioia Tauro.

L'importanza della tipicità degli oli extravergini d'oliva risiede in due aspetti molto importanti del prodotto finito:

- Gli effetti salutistici dei polifenoli contenuti;
- Le caratteristiche organolettiche peculiari.

Il primo aspetto è senza dubbio il più importante, il contenuto e il profilo qualitativo dei polifenoli, rende l'olio d'oliva un alimento ad alto valore

nutrizionale proprio per gli effetti salutistici di questi elementi minori. I polifenoli sono antiossidanti naturali, è proprio questa proprietà a renderli importanti per la nostra salute, ma anche per la salute dell'olio stesso poiché ne aumenta la conservabilità difendendolo dal danno ossidativo. (Velasco et al., 2002; Visioli et al., 1998). La produzione di polifenoli, che avviene nelle cellule oleifere, è dovuta a reazioni catalizzate dal corredo enzimatico cellulare, il quale è determinato su base genetica e indotto da un insieme di fattori ambientali come il clima e il territorio. Ne risulta che il profilo quali-quantitativo di un olio è strettamente legato alla terra di produzione caratterizzata da determinati tipi di cultivar e specifiche condizioni climatiche.

Le caratteristiche organolettiche rappresentano un aspetto non meno importante poiché rendono l'olio un alimento unico, con gusti e aromi ampiamente diversificati e caratteristici della zona di coltivazione dell'olivo. Il profilo aromatico di un olio è determinato da numerose sostanze. I componenti responsabili delle note olfattive sono composti appartenenti a diverse classi chimiche quali aldeidi, chetoni, alcoli, esteri, idrocarburi ed eteri i quali sono formati nel vacuolo delle cellule oleifere a partire dagli acidi linoleico e linolenico in seguito all'attivazione dell'insieme di reazioni enzimatiche della cascata della lipossigenasi (Benincase et al., 2003). Le proprietà gustative di un olio sono influenzate dal contenuto in polifenoli che a seconda della loro concentrazione possono conferire un marcato sapore amaro e piccante (Roncero, 1978). La composizione quali-quantitativa dei componenti aromatici dipende dalla quantità e dalla qualità degli enzimi coinvolti nella loro formazione, queste sono condizionate da fattori genetici, agronomici e ambientali, quindi anche in questo caso si può affermare che il profilo aromatico di un olio e quindi il contenuto in polifenoli, è strettamente legato e tipico del territorio di produzione dell'olio stesso. L'evidente legame di queste importanti caratteristiche dell'olio con la zona di coltivazione e di lavorazione delle olive, conferisce valore aggiunto a produzioni di piccola entità che difficilmente riescono ad inserirsi nel mercato, poiché non riescono a raggiungere dei prezzi soddisfacenti rispetto alle produzioni d'olio extravergine su larga scala. Questo può comportare il rischio

della perdita di quest'incredibile biodiversità a favore di coltivazioni di più appetibile mercato ma d'inferiore valore nutrizionale e salutistico.

## **2.2 - L'olivicoltura in Italia**

L'Italia, insieme con la Spagna, la Tunisia, la Grecia e la Turchia coprono l'88% della produzione totale mondiale; l'Italia e la Spagna insieme circa il 60%. La realtà attuale però rileva la particolare posizione di privilegio della Spagna sul mercato internazionale dell'olio d'oliva. Questa situazione è conseguenza non soltanto del forte incremento di produzione (20% circa), registrato nell'ultimo periodo, che ha finito con accentuare le eccedenze.

In altre parti del mondo però, come in Cile, Argentina, Australia e Africa meridionale, si stanno impegnando notevoli risorse per un aumento della produzione.

In Italia la superficie olivicola totale attualmente è stimata intorno a 1.166.000 ettari. Tutte le regioni, eccezion fatta per il Piemonte e la Valle d'Aosta, sono interessate alla coltivazione dell'olivo anche se è più diffusa soprattutto nel sud e nelle isole, dove le condizioni ambientali hanno favorito una maggiore diffusione della specie. Dal Lazio fino all'estremo sud, isole comprese, si trova, infatti, quasi l'85% del totale dell'olivicoltura nazionale. Dal punto di vista altimetrico prevale la distribuzione collinare della coltura, pari al 62%, su quella di pianura (27%) e di montagna (11%). Altro aspetto caratterizzante l'olivicoltura italiana è la forte frammentazione fondiaria, con la diffusa presenza di aziende olivicole o di oliveti di modeste dimensioni. Sulla base delle differenti condizioni ambientali che caratterizzano il territorio olivicolo nazionale, è possibile individuare tre differenti zone di produzione: una meridionale e insulare, una centro-meridionale e una centro settentrionale. All'interno di ciascuna delle zone pedo-climatiche si annoverano dei comprensori di particolare vocazione per l'olivo, sia da olio che da mensa. In questi areali produttivi tradizionali, caratterizzati da produzioni di particolari qualità e tipicità si è assistito negli ultimi anni alla nascita di marchi di qualità (IGP e DOP).

La produzione di olive si caratterizza per la forte variazione quantitativa da un anno all'altro. Le cause del fenomeno dell'alternanza di produzione sono riconducibili in parte all'andamento stagionale, ma ancor di più all'età avanzata della maggior parte dei nostri oliveti, alla scarsa specializzazione colturale, al non corretto uso delle pratiche agronomiche e alla deficienza idrica specie in alcune zone del sud. La quantità d'olio prodotto in Italia è normalmente insufficiente a coprire i consumi interni e le esportazioni richieste, perciò si fa largo ricorso all'importazione. (Vannucci et al., 2001)

Alcune annate, si caratterizzano per qualità e quantità, a causa di prolungati periodi di siccità, specie nel sud, o per fenomeni di gelate tardive (primaverili) che portano danni alla gemmazione. A questi fenomeni vanno aggiunte le alte temperature, gli elevati tassi di umidità che sono causa di gravi situazioni fitosanitarie. Per quanto riguarda la quantità di olio prodotta al primo posto tra le regioni c'è la Puglia, seguono la Calabria, la Campania, la Sicilia e il Lazio. (D' Auria et al., 2003).

### **2.3 - L'olivicoltura in Calabria**

L'assetto strutturale dell'agricoltura calabrese è caratterizzata da una forte polarizzazione delle aziende: moltissime aziende di piccole e piccolissime dimensioni, scarso peso delle aziende di medie dimensioni, e discreta presenza di aziende di medio- grandi e grandi dimensioni.

Tab 1 – Distribuzione delle aziende e superficie agricola utilizzata in Calabria.

<b>Province/Regione</b>	<b>Aziende</b>	<b>SAU</b>	<b>Quota</b>	<b>Quota SAU</b>
	n°	ha	%	%
Cosenza	46.924	47.712,3	34,4	29,4
Catanzaro	25.551	36.343,6	18,8	22,4
Reggio Calabria	38.442	43.408,2	28,2	26,7
Crotone	11.108	18.270,0	8,2	11,2
Vibo Valentia	14.218	16.739,6	10,4	10,3
<b>Calabria</b>	<b>136.243</b>	<b>162.473,7</b>	<b>100</b>	<b>100,0</b>
<b>Calabria ?????</b>	<b>136.243</b>	<b>162.473,7</b>	<b>11,4</b>	<b>15,3</b>
<b>Italia</b>	<b>1.194.536</b>	<b>1.062.326,0</b>	<b>100</b>	<b>100,0</b>

Fonte: elaborazioni Ismea su dati Istat

Il 53,6% del totale delle aziende possiede una superficie agricola utilizzata inferiore ad 1 ha, se poi si considerano anche le aziende ricadenti nella classe fino a 2 ha tale percentuale sale a 75% circa. Tale polverizzazione aziendale si associa al problema della forte frammentazione delle superfici aziendali in appezzamenti (corpi) non contigui, talvolta anche lontani tra di loro. Tale fenomeno non è da ricollegare solo alle aziende più piccole ma investe in maniera trasversale tutte le aziende indipendentemente dalle loro dimensioni e causa inevitabili effetti negativi sui costi di produzione rendendo ancora più complesso il quadro strutturale di riferimento.

Il patrimonio olivicolo espresso in numero di piante evidenzia che su un totale di 215.000.000 di piante il 15% circa (pari a 32,6 milioni) si trova in Calabria. La densità media di piante/ha è di 175 con un massimo di 222 nella provincia di Crotone ed un minimo di 153 nella provincia di Reggio Calabria.

Tab. 2 – Superficie olivetate e numero di piante per Ha nelle province calabresi (Dati ISTAT)

Province/Regione /Italia	Superficie olivetata totale	Piante totali	Stima del numero di piante per ettaro
	<i>ha</i>	<i>n.</i>	<i>n.</i>
Cosenza	52.190	10.179.415	195
Crotone	18.300	4.065.321	222
Catanzaro	42.795	6.834.978	160
Vibo Valentia	15.402	2.713.108	176
Reggio Calabria	57.705	8.817.010	153
<b>CALABRIA</b>	<b>186.392</b>	<b>32.609.832</b>	<b>175</b>
<b>ITALIA</b>	<b>1.166.697</b>	<b>215.081.081</b>	<b>184</b>

Fonte: Agecontrol

L'olivicoltura calabrese risulta diffusa su tutto il territorio regionale con un livello di maggiore concentrazione in tre zone: *Sibaritide*, *Lametino* e *Gioiese*. Ciò è confermato ancor più se si va ad analizzare la localizzazione delle superfici olivetate. I comuni con una superficie olivetata compresa tra i 1.000 e 2.000 ha sono solo 37 e quelli tra 2.000 e 4.000 ha sono appena 6 e in particolare coinvolgono le seguenti aree: quelle interne alla piana di Gioia Tauro, la Sibaritide, il Lametino e la zona di Catanzaro, Belcastro, Squillace e Borgia, nonché alcuni comuni della presila Crotonese (Petilia, Policastro, Roccabernarda e Mesoraca).

L'area del Lametino è l'unica dove si realizza la coincidenza tra il maggior numero di aziende e la più alta % di superficie olivetate.

Da un punto di vista di rilevanza economica della coltura si evidenzia invece che, nelle aree interne della Regione, l'olivicoltura rappresenta la principale fonte di reddito per le aziende agricole, nonostante i costi di produzione siano di gran lunga superiori per le difficili condizioni orografiche dei terreni.

## **2.4 - Gli ulivi più grandi del mondo**

La piana di Gioia Tauro che abbraccia sia il territorio dell'omonimo comune che quello di altri 32 paesi, è fortemente caratterizzato dalla presenza della coltura dell'olivo, che in questo territorio cresce con enorme vigore soprattutto con le varietà locali, Sinopolese ed Ottobratica, e segna in maniera inconfondibile il paesaggio rurale. Il 70% del territorio, pari a circa 30.000 ettari, con oltre 2.400.000 piante di olivo, è interessato da questa attività produttiva che incide profondamente sull'economia dell'intero territorio. Qui l'olivicultura rappresenta una sorta di monumento ambientale che molto contribuisce alla caratterizzazione e alla valorizzazione del territorio agricolo.

Per la notevole importanza economica e sociale posseduta, la coltura dell'olivo è costantemente al centro dell'attenzione da parte degli olivicoltori, di politici, economisti e studiosi di scienze agronomiche, ambientali, sociali, antropologiche, geografiche, con la constatazione univoca che si è creato, nel corso dei secoli, in questo territorio, un sistema olivicolo che, per le caratteristiche morfologiche e ambientali non comuni, possiamo dire che è unico al mondo.

Enormi pachidermi vegetali, con imponenti strutture arboree, identificano il misterioso fascino dei luoghi. La maestosità degli alberi, con il verde argentato delle foglie e i grandi tronchi intrecciati che si coniugano in maniera indissolubile alla morfologia del territorio dove, nel corso dei millenni le varietà di olivo si sono differenziate ed evolute, hanno spinto numerosi studiosi ad occuparsi di questo sorprendente areale, crogiuolo di storia, cultura, arte, tradizioni che si fondono in un tutt'uno con l'ambiente in cui l'olivo si erge a protettore, diventando, geloso custode di secolari segreti.

Non è possibile stabilire con precisione l'origine del bosco degli ulivi, è fattibile invece determinare l'evoluzione subita nel corso del tempo, a seguito della quale oggi si ha nella piana la presenza di due areali: la bassa piana fino all'altezza di 320 metri s.l.m.; la parte collinare, fino ai bordi del Parco Nazionale dell'Aspromonte, a circa 600 metri di quota dove gli ulivi hanno un indubbio

grande significato storico ed ambientale su terreni in pendenza o terrazzati. In queste zone il paesaggio olivicolo ha un carattere unico, che gli è conferito dalla eccezionale età delle piante e, insieme, dalla fittezza della copertura vegetale; l'associazione di questi due fattori dà luogo a veri e propri boschi di ulivi, nei quali si riscontrano alberi con altezze imponenti (15 – 20 metri) e sezioni al tronco di notevole superficie, estesa fino a 13 mq.

Tutto il territorio si presenta come una grande estensione monocolturale ed è il frutto di una lenta opera di bonifica da parte dell'uomo, che nel tempo ha conquistato ad una agricoltura produttiva, un territorio inospitale.

Per gli oliveti secolari della piana di Gioia Tauro, è opportuno avviare una indagine sul territorio, una valutazione della loro diversità, tipicità, integrità, rarità fino a disporre di un inventario dei paesaggi attraverso il quale sia possibile individuare quali devono essere conservati come paesaggio museo, testimonianze viventi della civiltà olivicola calabrese, quali vanno invece guidati nella loro evoluzione tecnica mantenendo quella multifunzionalità produttiva, ambientale e culturale che è propria della loro storia e quali debbano essere riconvertiti.

Per quanto concerne la certificazione degli oli extravergini di oliva, alla Calabria, seconda regione olivicola d'Italia, dalla UE sono state riconosciute tre Dop: Bruzio, Lametia e Alto Crotonese; è in via di definizione la Dop Marchesato di Crotona. Sono in attesa di istruttoria al Ministero delle Politiche Agricole le Dop: Golfo di Squillace, Locride, dello Stretto, Conca degli Ulivi o Colline Preaspromontane, Presila Catanzarese.

Come si vede, il medagliere è destinato ad aumentare.

La Calabria dunque sembra avere le carte in regola per essere annoverata tra i produttori di alta qualità.

Pur tuttavia, se oggi questo è un obiettivo perseguito e in alcuni casi raggiunto almeno in parte, non è sempre stato così. Infatti tra gli addetti ai lavori è ben noto come l'olivicoltura calabrese nel recente passato sia stata vittima di una sorta di abbandono dovuto alla mancanza di precisi intendimenti imprenditoriali. E' altrettanto noto come di conseguenza, una larga fetta della produzione olearia non abbia goduto di buona fama in termini di qualità, sia merceologica che

organolettica. Tutto ciò deriva principalmente da una atavica consuetudine di coltivare l'olivo in modo irrazionale, avendo come unico obiettivo la quantità dei volumi prodotti, senza curare adeguatamente l'aspetto agronomico, della raccolta delle olive, nonché le fasi preliminari dell'estrazione dell'olio e quelle successive della conservazione. Pertanto la quasi totalità della produzione olearia era qualificata come olio vergine lampante e dunque destinata alla raffinazione, con notevole scadimento qualitativo, deprezzamento del prodotto sul mercato e conseguente riduzione di reddito per il comparto agricolo. Viceversa, l'olio prodotto in questa terra può e deve avere migliore qualificazione, consentendo per altro un reddito più elevato all'imprenditore agricolo.

Per fortuna, alcuni importanti segnali positivi stanno emergendo proprio in questi ultimi anni, grazie soprattutto alle generazioni più giovani che si stanno impegnando nel recupero di un settore così ricco di potenzialità, cercando di perseguire l'obiettivo dell'eccellenza qualitativa anche a scapito della quantità.

C'è ancora da recuperare, bisogna puntare sul miglioramento di tutta la filiera, iniziando dall'aspetto agronomico, razionalizzando gli impianti per finire a quello del packaging, ambito per esempio sul quale c'è molto ancora da lavorare. L'impressione è dunque quella che sia in atto un indubbio cambiamento di rotta ma che ci si trovi però ancora in una fase di transizione per cui, specie in annate di grossi volumi produttivi, buona parte della resa non raggiunge sempre un alto livello qualitativo.

## 3 - Indici di qualità

### 3.1 - Il concetto di qualità

In passato la qualità di un olio era determinata principalmente dal tipo di sapore e dal grado di acidità, oggi invece il concetto rispecchia tutta una serie di caratteristiche del prodotto, su cui il consumatore esprime dei giudizi positivi oppure negativi. Tuttavia, poiché le caratteristiche di un prodotto mirano a soddisfare le attese del consumatore, è ovvio che la qualità varia a seconda delle esigenze del consumatore stesso. Nell'olio di oliva la qualità viene espressa da una serie di caratteristiche tra cui le più importanti possono essere riassunte nel modo seguente : proprietà organolettiche (tipo di sapore, presenza eventuali difetti); caratteristiche nutrizionali (grado di ossidazione, acidità, ecc.); caratteristiche commerciali (durata di conservazione o shelf life, tipo e aspetto estetico della confezione, fiducia nel marchio commerciale, ecc. ); caratteristiche legate alla sicurezza alimentare (concentrazione dei residui di fitofarmaci, presenza di microrganismi indesiderati); proprietà salutistiche (virtù nutraceutiche ), ecc.. Considerando i singoli aspetti qualitativi di un olio occorre ricordare che attualmente le normative vigenti tutelano solo alcuni dei parametri menzionati sopra, i rimanenti invece, anche se meriterebbero maggiore attenzione, per il momento vengono ignorati e solo in minima parte possono essere giudicati direttamente dal consumatore. In particolare, le caratteristiche nutrizionali vengono tutelate attraverso l'analisi di alcuni parametri chimici, che abbinati all'analisi sensoriale , al fine di individuare eventuali difetti , permettono di separare gli oli in diverse categorie commerciali , che vanno dall' olio extravergine di oliva a quello di sansa. Le caratteristiche commerciali in parte vengono giudicate direttamente dal consumatore a seconda delle esigenze e delle proprie abitudini. Così per esempio, compatibilmente con i costi, una confezione più elegante attrae maggiormente il consumatore, come pure il sapore dolce oppure quello fruttato, piccante, amaro ecc.. , può essere apprezzato o meno dal

consumatore in base alle proprie percezioni sensoriali e alle abitudini personali e locali. Per quanto riguarda invece i parametri legati alla sicurezza alimentare, bisogna considerare i residui dei fitofarmaci e la presenza di microrganismi indesiderati. Per i fitofarmaci più comuni impiegati in olivicoltura la legge impone dei limiti massimi di tolleranza nell'olio oppure nelle olive. Tuttavia al momento dell'acquisto è difficile, sotto l'aspetto qualitativo, distinguere un olio privo di fitofarmaci da uno leggermente contaminato, anche se rientra nei limiti stabiliti dalla legge. In una indagine compiuta su alcuni oli commerciali prodotti nel Centro e nel Nord dell'Italia è stato accertato che in nessun caso i residui di dimetoato e di rame nell'olio superavano i limiti massimi stabiliti dalla legge. L'assenza di residui di fitofarmaci nell'olio extravergine rappresenta un parametro qualitativo importante ai fini della sicurezza alimentare, anche se al momento attuale non è abbastanza considerato. L'olivo in queste regioni è meno soggetto alle più comuni avversità, per cui è possibile produrre olio extravergine con ottime caratteristiche chimico-fisiche privo di residui di fitofarmaci. La valorizzazione di questo parametro qualitativo porterebbe dei benefici sia per il consumatore sia per i produttori situati in quelle aree più marginali della Penisola dove l'olivicoltura viene praticata in maniera ecosostenibile. Per quanto riguarda, invece, la presenza di microrganismi nell'olio di oliva occorre sottolineare che questa scoperta è stata effettuata solo recentemente, pertanto i dati a disposizione sono ancora limitati. Infatti in alcuni casi sono stati riscontrati dei lieviti oleopeinolitici che si sono mostrati utili, poiché accelerano la deamarizzazione dell'olio durante il periodo di sedimentazione. In altri casi, invece, sono state osservate delle forme lipolitiche costituite da *Williopsis californica* e *Saccharomyces cerevisiae* che si sono rivelate dannose, poiché peggiorano la qualità dell'olio attraverso l'idrolisi enzimatica dei trigliceridi. Tuttavia diversi studi compiuti hanno confermato che i microrganismi presenti nell'olio in massima parte derivano dalla superficie dei frutti raccolti dall'albero. Infatti l'equilibrio tra le varie forme microbiche varia a seconda dell'integrità dei frutti e dello stato di conservazione delle drupe dopo la loro raccolta. L'olio estratto da olive danneggiate dalla mosca, oppure stoccate per lunghi periodi in maniera non

razionale prima della lavorazione, normalmente presenta una ricca microflora costituita in massima parte da muffe e lieviti lipolitici; quello invece ottenuto da olive sane mediamente è povero di muffe e ricco di lieviti utili per la strutturazione dell'olio che agiscono durante il periodo della decantazione. Un altro aspetto qualitativo molto importante su cui mostrano interesse sia la ricerca che il mercato dell'olio, riguarda le virtù salutistiche, meglio conosciute come proprietà nutraceutiche.

### **3.2 – Tipicità**

La tipicità dell'olio extravergine d'oliva dipende da fattori ambientali, varietali, colturali e tecnologici di produzione che influenzandone le caratteristiche chimiche e sensoriali del prodotto, ne definiscono la peculiarità. La tipicità, poiché riferita alla provenienza ed alle caratteristiche del prodotto, una volta soddisfatti i requisiti di qualità e genuinità, rappresenta un valido strumento per la tutela e la valorizzazione dell'olio extravergine d'oliva. Proprio da queste considerazioni è nata la necessità di certificare la tipicità delle produzioni, utilizzando gli strumenti vigenti in ambito comunitario (Reg. CE n. 2081/92), come un elemento essenziale per offrire una tutela sui mercati della tipicità degli oli d'oliva comunitari. Ai fini del regolamento CE n. 2081/92, per denominazione d'origine s'intende il nome di una regione, di un luogo determinato o, in casi eccezionali, di un paese, che serve a designare un prodotto agricolo o alimentare originario di tale regione, di tale luogo determinato o di tale paese e la cui qualità o le cui caratteristiche siano dovute *essenzialmente o esclusivamente all'ambiente geografico* comprensivo dei fattori naturali ed umani e la cui produzione, trasformazione ed elaborazione avvengano nell'area geografica delimitata.

Sempre secondo lo stesso regolamento, per indicazione geografica tipica s'intende il nome di una regione, di un luogo determinato o, in casi eccezionali, di un paese che serve a designare un prodotto agricolo o alimentare originario di tale regione, di tale luogo determinato o di tale paese e di cui una determinata

qualità, la reputazione o un'altra caratteristica può essere attribuita all'origine geografica e la cui produzione e/o trasformazione e/o elaborazione avvengono nell'area geografica determinata. Per beneficiare di una denominazione d'origine protetta (DOP) o di un'indicazione geografica protetta (IGP), i prodotti devono essere conformi ad un disciplinare. Il disciplinare comprende almeno i seguenti elementi:

- Il nome del prodotto agricolo o alimentare che comprende la denominazione d'origine o l'indicazione geografica;
- La descrizione del prodotto agricolo o alimentare mediante indicazione delle materie prime, se del caso, e delle principali caratteristiche fisiche, chimiche, microbiologiche c/o organolettiche del prodotto agricolo o alimentare;
- La delimitazione della zona geografica
- Gli elementi che comprovano che il prodotto agricolo o alimentare è originario della zona geografica
- La descrizione del metodo di ottenimento del prodotto e, se del caso, i metodi locali, leali e costanti;
- Gli elementi che comprovano il legame con l'ambiente geografico o con l'origine geografica
- I riferimenti relativi alle strutture di controllo previste
- Gli elementi specifici dell'etichettatura connessi alla dicitura DOP o IGP, secondo i casi, o le diciture tradizionali nazionali equivalenti.

Con l'adozione del Regolamento ( n° 2081 del 1992 e 510 del 2006) che disciplina le Dop e le Igp, l'Ue ha inteso valorizzare e tutelare la qualità e la tipicità di alcune produzioni; inoltre, ha cercato di andare incontro alle crescenti esigenze di informazione del consumatore e di sostenere il mondo rurale, soprattutto nelle zone marginali e svantaggiate dell'Unione europea. La Comunità ha voluto inoltre favorire l'evoluzione di sistemi di controllo della qualità basati sul rispetto di specifiche norme produttive stabilite dai disciplinari di produzione che devono essere rispettate dai produttori per permettere loro di apporre il

marchio Dop o Igp, identificato e tutelato in tutta l'area della Comunità. Il rispetto delle regole, a garanzia dell'imparzialità e della trasparenza delle procedure di controllo, è assicurato da appositi organismi di certificazione che, previa autorizzazione degli Stati membri, verificano la rispondenza dei prodotti al disciplinare di produzione.

Questo evidentemente rappresenta una tutela dei prodotti tipici e al tempo stesso del consumatore. Al dicembre 2009 sono 97 gli oli d'oliva che hanno ricevuto un riconoscimento di protezione su tutto il territorio comunitario. Di questi, 85 hanno ottenuto l'attestato Dop e 12 l'Igp. Il primato delle tipicità riconosciute dalla Comunità appartiene all'Italia che, con 39 Dop e 1 Igp, conferma l'alto livello qualitativo legato a specifiche caratteristiche territoriali e varietali. (Vedi tabella). Altrettanto consistente è il patrimonio detenuto dalla filiera greca, che si avvale di 25 riconoscimenti di cui 14 Dop. La Spagna ha ottenuto 22 riconoscimenti, il limitato numero d'attestazioni di tipicità è legato soprattutto all'elevata standardizzazione dell'olivicoltura iberica che, da un lato, è un punto di forza per l'aspetto organizzativo della produzione, dall'altro, rappresenta un elemento di debolezza per l'attività di valorizzazione, in particolare quella legata alla differenziazione del prodotto (D'Auria et al., 2003).

Da poco tempo è possibile richiedere in Italia la certificazione dell'olio extravergine Italiano "Alta Qualità".

L'alta qualità dell'olio è il risultato del rispetto di requisiti chimico-fisici e sensoriali, più restrittivi rispetto alla legislazione di base e di dettagliate regole e procedure di produzione, trasformazione e conservazione.

I parametri fondamentali per ottenere la certificazione "Alta Qualità" sono:

- Acidità (% Ac.Oleico)  $\leq 0,3$
- N° Perossidi (meqO<sub>2</sub>/Kg)  $\leq 12$
- Ac. Oleico %  $\geq 65$
- $\alpha$ -Tocoferolo (mg/kg)  $\geq 120$
- Biofenoli (mg/kg)  $\geq 200$  ( determinati per HPLC)
- Analisi sensoriale : Mediana dei difetti = 0; note varietali non italiane = 0

Tab. 3 - Elenco delle denominazioni d'origine italiane che hanno ottenuto il riconoscimento comunitario DOP e IGP.

<b>N°</b>	<b>REGIONE</b>	<b>DENOMINAZIONE</b>	<b>TIPO</b>
1	Abruzzo	Aprutino Pescarese	Dop
2	Abruzzo	Colline Teatine	Dop
3	Abruzzo	Pretuziano delle colline tramane	Dop
4	Calabria	Alto crotonese	Dop
5	Calabria	Bruzio	Dop
6	Calabria	Lametta	Dop
7	Campania	Cilento	Dop
8	Campania	Colline Salernitane	Dop
9	Campania	Penisola Sorrentina	Dop
10	Emilia Romagna	Brisighella	Dop
11	Emilia Romagna	Colline di Romagna	Dop
12	Friuli Venezia Giulia	Tergeste	Dop
13	Lazio	Sabina	Dop
14	Lazio	Canino	Dop
15	Lazio	Tuscia	Dop
16	Liguria	Riviera Ligure	Dop
17	Lombardia	Laghi Lombardi	Dop
18	Lombardia	Garda	Dop
19	Marche	Cartoceto	Dop
20	Molise	Molise	Dop
21	Puglia	Collina di Brindisi	Dop
22	Puglia	Dauno	Dop
23	Puglia	Terra di Bari	Dop
24	Puglia	Terra d' Otranto	Dop
25	Puglia	Terre Tarentine	Dop
26	Sicilia	Monti Iblei	Dop
27	Sicilia	Valli Trapanesi	Dop
28	Sicilia	Val di Mazara	Dop
29	Sicilia	Monte Etna	Dop
30	Sicilia	Valdemone	Dop
31	Sicilia	Valle del Belice	Dop
32	Toscana	Toscano	IgP
33	Toscana	Chianti Classico	Dop
34	Toscana	Terre di Siena	Dop
35	Toscana	Lucca	Dop
36	Umbria	Umbria	Dop
37	Veneto	Veneto del Garda	Dop
38	Veneto	Val Policella	Dop
39	Veneto	Veneto del Grappa	Dop

### **3.3 - Qualità merceologica**

Nel territorio nazionale si è andata diffondendo sempre più negli ultimi anni la necessità di certificare la qualità e in particolare la tipicità d'oli extra vergini d'oliva. Questo allo scopo di difendere piccole produzioni locali con la consapevolezza che, il futuro della nostra olivicoltura non è legato all'aumento in termini quantitativi della produzione, ma alla capacità di sfruttare al meglio l'arma della qualità e della tipicità. (Vacca et al., 1999). E' importante quindi esaminare i concetti di qualità e tipicità e capirne l'importanza e le differenze.

L'attestazione di qualità di un prodotto è legata alla rispondenza a requisiti nutrizionali, igienici sanitari e ai parametri atti a definirne la sua genuinità.

Una volta soddisfatti i criteri di genuinità e qualità, accanto alla differenziazione merceologica è possibile una tipizzazione all'interno della stessa categoria degli oli vergini d'oliva basata su differenze peculiari nella composizione dovute a fattori ambientali e non generalizzabili all'intera categoria merceologica di appartenenza. (Montedoro et al., 1986).

In linea generale, tale composizione è il frutto d'interazioni legate a vari fattori: condizioni pedoclimatiche, tecniche colturali, varietà e grado di maturazione delle olive, sistemi di raccolta, durata e modalità di stoccaggio, tecnologia d'estrazione dell'olio. La variabilità che caratterizza i suddetti fattori è causa di eterogeneità di composizione, ma è ragionevole pensare che questi siano simili per una stessa zona. Si accetta cioè il principio dell'uniformità zonale che si basa sul postulato che oli prodotti dallo stesso ambiente sono probabilmente simili, perché tali sono i fattori citati in precedenza. E' importante che i parametri quali la cultivar, le tecniche agronomiche e la tecnologia di estrazione siano costanti in un determinato areale, questo perché un olio vergine è tipico solo ed esclusivamente quando, pur provenendo da una determinata zona di produzione, è stato estratto dal frutto nel rispetto delle condizioni agronomiche e tecnologiche tradizionali della zona. Non potrà pertanto essere considerato tipico un olio quando, pur essendo prodotto nella stessa zona, ma in condizioni di maturazione e di conservazione del frutto e, soprattutto di estrazione, particolari e comunque

diverse da quelle della norma, presenterà caratteristiche chimiche e organolettiche del tutto diverse dal contesto della zona. Per certificare un olio come tipico è quindi necessario elaborare un disciplinare di produzione che definisca: la varietà, l'indice o gli indici di maturazione, le modalità di raccolta, le condizioni ed i tempi di conservazione ed il sistema di estrazione. Di qui nasce la necessità di cercare parametri oggettivi in grado di mettere in relazione la composizione dell'olio con la sua origine geografica e quindi di caratterizzarlo (Vacca et al., 1999, Montedoro et al., 1986).

### 3.3.1 Caratterizzazione chimica

Nel caso dell'olio d'oliva la normativa vigente prevede una serie di analisi da effettuare secondo un determinato schema decisionale per verificare la conformità del campione alla categoria merceologica dichiarata. Secondo le caratteristiche di qualità e di purezza degli oli d'oliva questi possono essere classificati come segue (Regolamento Comunitario 796/2002):

<i>Categoria</i>	<i>Acidità</i>	<i>K<sub>232</sub></i>	<i>K<sub>270</sub></i>	<i>Perossidi</i>
1 <i>Olio extravergine d'oliva</i>	≤ 1,0	≤ 2,50	≤ 0,20	≤ 20
2 <i>Olio di oliva vergine</i>	≤ 2,0	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 20
3 <i>Olio di oliva vergine corrente</i>	≤ 3,3	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 20
4 <i>Olio di oliva vergine lampante</i>	> 3,3	≤ 3,70	>0,25	>20
5 <i>Olio di oliva raffinato</i>	≤ 0,5	≤ 3,40	≤ 1,20	≤ 5
6 <i>Olio di oliva</i>	≤ 1,5	≤ 3,30	≤ 1,00	≤ 15
7 <i>Olio di sansa di oliva greggio</i>	> 0,5	-	-	-
8 <i>Olio di sansa di oliva raffinato</i>	≤ 0,5	≤ 5,50	≤ 2,50	≤ 5
9 <i>Olio di sansa di oliva</i>	≤ 1,5	≤ 5,30	≤ 2,00	≤ 15

L'olio d'oliva ha una densità di 916 gr/litro, esso è costituito per quasi il 98% da una miscela di trigliceridi, il rimanente 2% viene definito come frazione in saponificabile, cioè la parte delle sostanze che non subiscono alcuna alterazione se sottoposte all'azione di alcali concentrati.

La frazione saponificabile è rappresentata dagli acidi grassi, molecole contenenti atomi di carbonio legati tra loro da legami semplici (saturi) tipo l'acido palmitico

e stearico o da uno o più doppi legami (monoinsaturi) esempio acido oleico, e (poliinsaturi) tipo l'acido linoleico.

La frazione in saponificabile è rappresentata da sostanze responsabili di proprietà importanti per gli oli, quali:

proprietà organolettiche (profumi, odori e gusti tipici);

proprietà biologiche quali le capacità antiossidanti, conservanti e salutari.

Alcune sostanze sono anche marker per evidenziare la presenza di eventuali frodi.

Responsabili delle proprietà sopra menzionate sono: gli alcoli, gli steroli, polifenoli, tocoferoli, idrocarburi e altre sostanze quali vitamine e pigmenti.

### **3.3.2 Caratteristiche organolettiche dell'olio**

La qualità dell'olio che si ricava dalle olive può essere fortemente penalizzata dalle condizioni di conservazione della materia prima. Questa, poi, risulterà ancor più deteriorata, qualora, per varie ragioni, non siano state curate tutte le tecniche colturali, che in diversa misura possono interagire sulla qualità dell'olio che si andrà ad estrarre. L'insieme dei parametri che possono condizionare la qualità dell'olio di oliva vergine sono ascrivibili ai difetti ed alle alterazioni.

Secondo il Regolamento Comunitario 796/2002, nella valutazione delle caratteristiche organolettiche degli oli di oliva vergini, vengono definiti attributi positivi:

***Fruttato*** - (insieme delle sensazioni olfattive, dipendenti dalla varietà delle olive, e caratteristiche dell'olio ottenuto da frutti sani e freschi, verdi o maturi, percepite per via diretta o retro nasale);

***Amaro*** – (sapore caratteristico dell'olio ottenuto da olive verdi o invaiate);

***Piccante*** – (sensazione tattile pungente caratteristica di oli prodotti all'inizio della campagna, principalmente da olive ancora verdi).

Negli schemi che seguono vengono riportati sinteticamente gli attributi negativi (difetti e alterazioni) dell'olio di oliva vergine.

*Difetti dell'olio di oliva vergine*

<b>A) Difetti che possono ritenersi inseriti nelle olive prima della estrazione dell'olio e che, genericamente, vengono indicati con i seguenti termini:</b>	
<b>Terra</b>	<b>Difetto dovuto ad olive che per molto tempo sono rimaste imbrattate di terra, ovvero infangate e non lavate</b>
<b>Muffa</b>	<b>Difetto dovuto ad olive attaccate da muffa</b>
<b>Incotto</b>	<b>Difetto dovuto ad olive colpite da gelate</b>
<b>Marcio</b>	<b>Difetto dovuto ad olive marcite</b>
<b>Verme</b>	<b>Difetto dovuto ad olive fortemente attaccate dalla mosca dell'olivo</b>
<b>Amaro</b>	<b>Difetto dovuto ad olive lavorate con troppe foglie, ovvero ad olive verdi o poco invaiate</b>
<b>Salamoia</b>	<b>Difetto dovuto ad olive conservate in soluzioni saline</b>
<b>Riscaldo</b>	<b>Difetto dovuto ad olive ammassate e che hanno sofferto un avanzato grado di fermentazione</b>

<b>B) Difetti che possono riscontrarsi nell'olio per cause che si verificano successivamente al trasferimento delle olive al frantoio e che genericamente vengono indicati con i seguenti termini:</b>	
<b>Fiscolo</b>	<b>Difetto dovuto ad olive pressate con fiscoli sporchi di residui fermentati</b>
<b>Sansa</b>	<b>Difetto dovuto alle condizioni di igiene del frantoio (sosta prolungata delle sanse all'interno del frantoio)</b>
<b>Cotto</b>	<b>Difetto dovuto ad un eccessivo ovvero prolungato riscaldamento della pasta in fase di gramolatura</b>
<b>Acqua di vegetazione</b>	<b>Difetto dovuto a cattiva decantazione ovvero prolungato contatto con le acque di vegetazione</b>
<b>Avvinato-inacetito</b>	<b>Difetto dovuto alla formazione di acido acetico, acetato di etile ed etanolo</b>
<b>Cetriolo</b>	<b>Difetto dovuto ad un imbottigliamento ermetico eccessivamente prolungato, particolarmente in lattine</b>
<b>Fecce</b>	<b>Difetto dovuto all'olio recuperato da fanghi</b>
<b>Grasso di macchina</b>	<b>Difetto dovuto ad un irrazionale mantenimento delle parti meccaniche del frantoio (residui di petrolio o di grasso)</b>

Un aspetto importante per molti alimenti e indubbiamente per l'olio è rappresentato dalle caratteristiche organolettiche che permettono di differenziare un prodotto dall'altro all'interno di una stessa categoria merceologica ed eventualmente di tipizzarlo, se è possibile verificare che queste qualità specifiche sono elementi distintivi della zona di produzione e lavorazione.

Per l'olio, sempre secondo la normativa vigente, la valutazione organolettica

attraverso il panel test è un elemento primario per la classificazione merceologica del prodotto. Un olio affinché possa essere dichiarato come extravergine è necessario che, in base al giudizio espresso da un gruppo di assaggiatori (panel) addestrati secondo quanto prescritto dal regolamento comunitario (metodo COI), risulti esente da difetti organolettici (mediana dei difetti pari a zero) e presenti un fruttato d'oliva chiaramente percepibile (mediana del fruttato maggiore di zero). Di fronte all'evidente importanza dell'aspetto organolettico per l'olio, rispetto a molti altri alimenti, si può pensare di utilizzarlo come elemento non solo per la caratterizzazione qualitativa ma anche per la valorizzazione dei prodotti tipici.

I componenti dell'aroma, sia volatili sia non, riflettono i livelli e l'attività degli enzimi preposti alla loro biosintesi, possono quindi variare in funzione della cultivar, dello stadio fisiologico della drupa, delle condizioni pedoclimatiche e delle caratteristiche tecnologiche di lavorazione. (Angerosa et al., 1999; Ridolfi et al., 2002). Considerando aree ben definite di produzione molti fattori possono ritenersi costanti, l'unica variabile è quindi proprio l'ambiente geografico e le caratteristiche organolettiche possono essere considerate come descrittori della tipicità.

Le caratteristiche organolettiche sono un parametro di notevole interesse commerciale, a queste, infatti, sono legate le valutazioni di natura psicofisiologica che rendono il prodotto accettabile o meno da parte del consumatore. In analogia con altri alimenti d'origine vegetale anche nell'olio possono esistere due diversi gruppi di composti aromatici: uno, fondamentale caratterizzante tutti gli oli vergini d'oliva, l'altro cosiddetto integrativo in quanto caratterizzante i diversi tipi di vergini in funzione della provenienza geografica, della tecnologia d'estrazione, della cultivar, del grado di maturazione delle olive (Frega, 1994).

Il gusto e l'olfatto sono i sensi più coinvolti nell'apprezzamento e valutazione delle proprietà organolettiche. I componenti dell'olio che influenzano queste caratteristiche fanno parte dei componenti minori, che rappresentano dal punto di vista quantitativo dallo 0,5 all'1,5 % dell'olio vergine d'oliva. La componente olfattiva dell'olio deriva da una serie di composti che presentano un elevato grado

di volatilità a temperatura ambiente, che li rende pertanto facilmente percepibili al livello della membrana olfattiva. Alcuni di questi, come ad esempio gli alcoli alifatici, di e triterpenici e gli esteri sono definiti aromi "originari" poiché naturalmente presenti nel frutto. Altri invece, come aldeidi, chetoni, alcoli a cinque e sei atomi di carbonio saturi e insaturi, sono detti aromi di derivazione perché si formano nel corso della lavorazione delle olive, in particolar modo a seguito della lacerazione della struttura cellulare nella fase di molitura, per effetto dei meccanismi endogeni dovuti all'attivazione di enzimi.

Gli enzimi coinvolti sono diversi: lipossigenasi, idroperossido-liasi, alcool deidrogenasi esterasi e isomerasi. Alcuni dei composti generati hanno odore che ricorda quello delle foglie, dei frutti o di vegetali, con diverse sfumature; per questo motivo sono ritenuti responsabili delle cosiddette note verdi dell'olio extra-vergine d'oliva. (Aparicio et al., 1996).

La componente gustativa dell'olio è dovuta oltre che ai già citati composti volatili, ad un gruppo di composti della frazione insaponificabile che pur essendo presenti nell'olio nell'ordine dei ppm svolgono un ruolo fondamentale nella determinazione dell'aroma e della stabilità: i composti fenolici.

I diversi composti chimici, entrando in contatto con le varie parti della cavità orale, determinano numerose e distinte sensazioni gustative la cui intensità dipende non solo dal numero dei siti gustativi delle papille fungiformi ma anche dalla struttura delle molecole con cui queste interagiscono.

I polifenoli nel loro insieme sono responsabili della nota aromatica di fruttato dell'olio.

In particolare l'oleuropeina che è il principale componente amaro delle olive, durante la maturazione del frutto va incontro a idrolisi producendo diversi tipi di molecole che sono responsabili della variabilità gustativa dell'olio. Molti fenoli conferiscono all'olio un sapore amaro e piccante. La sensazione di amaro o piccante è il risultato della complessa interazione tra i costituenti minori e quelli che determinano il gusto di base. In particolare gli acidi fenolici, come i derivati dell'acido benzoico e cinnamico sono responsabili della distinta sensazione di amaro che può essere avvertita sulla zona laterale e posteriore della lingua; le

strutture oleosidiche semplici e complesse, accanto alla sensazione di amaro provocano una reazione gustativa molto specifica che si manifesta con un senso di bruciore orale e che all'analisi sensoriale viene definita come piccante perché ricorda l'effetto esercitato dal peperoncino (Montedoro et al., 1993; Angerosa et al., 1995).

### **3.4 - Qualità nutrizionale**

La qualità nutrizionale è la capacità di un alimento di nutrire correttamente soddisfacendo il fabbisogno energetico plastico e idrico dell'organismo, e comprende, sia l'aspetto quantitativo, cioè l'energia libera dell'alimento ed utilizzabile dal consumatore, che quello qualitativo, che considera la qualità nutrizionale dei suoi costituenti. Quindi è l'insieme di tutte le sostanze che in modo naturale dovrebbero fare del bene migliorando il nostro metabolismo.

Tra queste sostanze rientrano gli acidi grassi, sostanze di grande importanza biologica. In particolare: gli omega 9 che sono l'acido oleico e i derivati; omega 6 come l'acido linoleico e derivati; omega 3 come l'acido linolenico e derivati.

L'olio extravergine di oliva è costituito per il 70-75% da acido oleico, 15-20% da acido linoleico di-insaturo e dal 2% di frazione non lipidica costituita da molte sostanze quali gli alcali, gli steroli, i composti minori polari (CMP), i tocoferoli, gli idrocarburi e altre sostanze quali le vitamine e i pigmenti.

All'interno della frazione non lipidica rivestono particolare importanza i polifenoli, composti definibili chimicamente come sostanze organiche di origine naturale, caratterizzate dalla presenza di due o più gruppi ossidrilici legati direttamente ad un anello aromatico. Questa classe di composti è largamente distribuita in tutto il regno vegetale dove contribuisce come abbiamo detto al colore e al sapore dei frutti. La concentrazione nelle piante oscilla mediamente in un intervallo compreso tra i 0,5 e i 5,0 g/100 g di tessuto secco ed è dipendente dal phylum di cui la forma vegetale in questione fa parte: le felci, le angiosperme

e le gimnosperme sono le classi che contengono i più alti livelli di polifenoli. (Harbome et al., 1989).

La frazione più abbondante tra tutti i composti fenolici presenti nelle piante è sicuramente rappresentata dai flavoni monomeri, dimeri e polimeri e dai derivati dell'acido cinnamico quali l'acido caffeico, l'acido p-cumarico, l'acido ferulico e gli acidi sinapici (rispettivamente acido 3,4-diidrossi-, 4-idrossi-, 3-metossi-4-idrossi e 3,5-dimetossi-4-idrossicinnamico).

I principali composti fenolici presenti nell'oliva sono l'oleuropeina e il ligstroside, questi sono due glucosidi i cui agliconi sono esteri, rispettivamente, dell'acido elenolico con il 2- (3,4-diidrossifenil)etanolo (idrossitirosolo) e con il 2-(4-idrossifenil)etanolo (tirosolo). Nell'olio vergine d'oliva i costituenti principali della frazione fenolica sono gli agliconi dell'oleuropeina e del ligstroside e i composti che derivano dalla perdita del gruppo carbossimetilico. Questi agliconi possono esistere in diversi equilibri di tautomeria cheto-enolica che coinvolge l'apertura degli eterocicli con la formazione di composti con diverse strutture (Mateos et al., 2001; Angerosa et al. 1996). Negli oli vergini d'oliva sono state ritrovate quantità variabili di idrossitirosolo e tirosolo e quantità inferiori di vanillina, acido cinnamico e derivati fenolici degli acidi benzoico, fenilacetico, cinnamico e fenilpropionico; di questi composti acidi solo alcuni sono stati ritrovati ripetutamente. Recentemente sono stati identificati altri componenti della frazione fenolica dell'olio d'oliva ossia il 2-(3,4-diidrossifenil)etil acetato (idrossitirosolo acetato) e due lignani: pinoresinolo e 1-acetossipinoresinolo Per quanto riguarda i flavonoidi luteolina e apigenina sono i componenti principali (Mateos et al., 2001; Brenes et al., 2000). L'oleuropeina e il ligstroside presenti nell'oliva vanno incontro a riarrangiamenti chimici ed enzimatici che portano alla formazione degli agliconi durante il processo di estrazione. La conoscenza di questi tipi di composti è stata finora frammentaria e non si conosce esattamente la struttura chimica di tutti i composti presenti.

### **3.4.1 - Importanza delle sostanze polifenoliche**

Le sostanze fenoliche degli oli vergini d'oliva sono attualmente argomento di grande interesse ciò è dovuto a:

- Definizione dei caratteri organolettici
- Azione antiossidante
- Effetti salutistici

Abbiamo già preso in considerazione l'importanza dei polifenoli come sentori di specifici e caratteristici aromi negli oli, ora approfondiremo il discorso sulle loro proprietà antiossidanti e nutrizionali.

### **3.4.2 - Attività antiossidante**

Gli antiossidanti sono quelle molecole che servono a ritardare o a bloccare i processi autossidativi e si dividono in due categorie: gli antiossidanti primari o chain breaking e gli antiossidanti secondari o preventive. Alcune molecole possono presentare entrambe le caratteristiche e sono, per questo, chiamate antiossidanti multifunzionali.

Gli antiossidanti primari sono quelli che interrompono i processi ossidativi donando un elettrone al radicale lipidico e trasformando i radicali liberi in specie molecolari più stabili, quindi interrompono la reazione a catena.

Gli antiossidanti secondari sono quelli che non interrompono la reazione a catena, prodotta dai radicali liberi, ma ne ritardano il grado di ossidazione, il loro meccanismo d'azione è vario, possono agire chelando ioni metallici che promuovono l'autossidazione, bloccando l'ossigeno o decomponendo gli idroperossidi a molecole non radicaliche.

Spesso alcuni composti mostrano un'attività antiossidante maggiore quando miscelati con altri che da soli, quest'effetto sinergico è dato ad esempio da alcuni polifenoli in associazione con l'a-tocoferolo (Servili et al., 1996).

Queste sostanze sono attive a basse dosi, mentre quando la loro concentrazione aumenta esse divengono proossidanti favorendo così la formazione di radicali liberi (Quaglia et al., 1998). Come abbiamo detto, l'olio d'oliva presenta un'alta

resistenza all'autossidazione per il basso contenuto in acidi grassi polinsaturi e per la presenza di polifenoli e tocoferoli. Gli oli di semi contengono una maggiore quantità di tocoferoli rispetto all'olio vergine d'oliva, ma sono meno resistenti di quest'ultimo all'autossidazione poiché una grande quantità di polifenoli viene persa durante il processo di rettifica, sono quindi questi composti i responsabili della maggiore stabilità all'ossidazione dell'olio d'oliva rispetto ad altri oli. (Satue et al., 1995).

I polifenoli agiscono principalmente interrompendo la catena radicalica donando un idrogeno radicale ad un alchilperossi radicale durante lo stadio di propagazione dell'ossidazione lipidica e conseguentemente formano un radicale stabile (Velasco et al., 2002).

La presenza di strutture o-difenoliche o fenoliche (tirosolo e idrossitirosolo) conferisce ai polifenoli la proprietà naturale di radical scavenger, è stato provato che l'attività antiossidante dell'oleuropeina e del tirosolo sono uguali o maggiori della vitamina C, della vitamina E e del BHT (Berrà, 1998). Le proprietà antiossidanti delle strutture o-difenoliche dipendono dalla loro capacità di donare un idrogeno radicale ad un perossi o alcossi radicale formando poi un radicale molto stabile.

La capacità di catturare i radicali liberi, da parte di un alimento viene espressa da un parametro analitico denominato Orac (Oxygen radical absorbance capacity). Il metodo analitico che permette di determinare il numero di Orac di un alimento è basato sulla capacità espressa da alcuni suoi componenti di catturare, ossia di stabilizzare, un radicale libero sintetico, che vira di colore. Una unità Orac si riferisce all'attività antiossidante svolta da una micromole di << trolox >>, che è una vitamina sintetica usata come standard di riferimento. Alcune recenti ricerche hanno dimostrato che i diversi componenti contribuiscono in maniera più o meno determinante alla totale capacità << scavenging >> di un olio, cioè alla loro capacità complessiva di scavare e bloccare i radicali liberi. Infatti, oltre ai tocoferoli, si è visto che tra i composti fenolici i più attivi sono l'idrossitirosolo e l'acido caffeico, mentre tra gli acidi grassi si è distinto in maniera netta l'acido linoleico. Le ricerche eseguite finora sugli oli extravergini hanno riguardato la

messa a punto di metodologie riproducibili capaci di esprimere questo tipo di virtù salutistica dell'olio. Infatti per problemi metodologici, la maggioranza delle ricerche eseguite finora hanno riguardato l'Orac espresso dalla sola frazione fenolica dell'olio dopo averla estratta dalla matrice oleosa, senza considerare gli altri componenti attivi dell'olio. Tuttavia l'Orac svolta dai singoli componenti oppure solo da alcune frazioni non permette di esprimere un giudizio complessivo sulle proprietà salutistiche di un determinato tipo di olio. Infatti sotto l'aspetto applicativo è molto più importante conoscere il numero di Orac totale di un olio, che rappresenta la risultante di tutti i valori di Orac espressi da ciascun componente.

### **3.4.3 - Attività biologica dei polifenoli nell'olio d'oliva**

I polifenoli sono stati ritenuti in passato composti con azione antinutrizionale per la loro capacità di complessare minerali, proteine e glucidi, riducendone così la biodisponibilità. In tempi brevi grazie ad una migliorata comprensione dei processi biochimici correlati al metabolismo energetico dell'organismo umano con particolare riferimento agli eventi perossidativi ad esso connessi, si è assistito ad un ritorno di interesse nei riguardi dei polifenoli ai quali oggi sono riconosciute importanti attività biologiche.

I polifenoli accanto al potere antiossidante possiedono altre caratteristiche che li rendono importanti per la nostra salute. Di seguito sono riassunte le attività biologiche dei polifenoli riconosciute:

- intervengono come antiossidanti diretti
- Potenziano l'azione del retinolo e del  $\beta$ -carotene
- Proteggono l' $\alpha$ -tocoferolo
- Legano gli ioni metallici che catalizzano la formazione di radicali liberi
- Abbassano i livelli di colesterolo plasmatico
- Rallentano la crescita tumorale
- Potenziano le difese immunitarie

- Inibiscono alcuni cancerogeni chimici
- Inibiscono gli enzimi ciclossigenasi e lipossigenasi
- Inibiscono l'aggregazione piastrinica
- Inibiscono la perossidazione delle LDL
- Svolgono attività antiallergica e antinfiammatoria

Per capire l'importanza dell'azione antiossidante dei polifenoli è necessario mettere in evidenza quali sono le cause e le conseguenze del danno ossidativo nel nostro organismo.

#### **3.4.4 - Effetti salutistici dei polifenoli**

Diversi studi epidemiologici, suggeriscono che l'olio d'oliva contribuisce significativamente all'abbassamento dell'incidenza di patologie degenerative, che com'è noto si riscontra nelle popolazioni che seguono la cosiddetta dieta Mediterranea. (Viola et al., anno 1987).

Le patologie interessate comprendono: le malattie cardiocircolatorie e il cancro. (Martin-Morero et al., 1994; Willet et al., 1995; Lipworth et al., 1997; Braga et al., 1998).

Rispetto a questo dato, evidenze convergenti indicano che l'effetto protettivo dell'olio d'oliva può essere ascritto non solo al suo alto contenuto in acido oleico, ma anche alle proprietà antiossidanti e nutrizionali dei polifenoli. (Bravo 1998; Visioli e Galli 1998).

I componenti polifenolici contenuti nell'olio d'oliva giocano un ruolo importante nella prevenzione di importanti malattie come l'aterosclerosi. L'aterosclerosi è un'ateropatia estremamente frequente caratterizzata dalla formazione, nello spessore dell'intima e degli strati più interni della tunica media di arterie di tipo elastico di medio e grosso calibro, di placche rilevate fibroadipose, note come ateromi, dovute a fenomeni di degradazione lipidica e di proliferazione connettivale. In conseguenza di queste lesioni l'arteria perde gran parte della sua elasticità e contrattilità, in seguito a modificazioni del calibro vasale s'instaurano profondi disturbi emodinamici, e se il vaso va incontro ad occlusione si può

arrivare ad un arresto del circolo sanguigno. Modeste alterazioni arteriose, che con tutta probabilità rappresentano le prime fasi del processo aterosclerotico, si riscontrano già nel secondo o terzo decennio di vita nella stragrande maggioranza degli individui, ma assumono poi con il passare degli anni evoluzioni diverse secondo l'influsso di differenti fattori predisposti legati oltre che all'età, al sesso (gli uomini sono più colpiti), alla razza, al livello sociale ed alle abitudini alimentari. (Bierman, 1992).

Per molto tempo si era ritenuto che la causa principale della malattia dovesse essere attribuita principalmente all'aumento del colesterolo nel sangue e soprattutto all'aumento delle lipoproteine che lo trasportano alle cellule periferiche, le LDL. Oltre che ad un eccesso di colesterolo introdotto con l'alimentazione, notevole responsabilità veniva perciò attribuita agli acidi grassi saturi che bloccano a livello della parete cellulare l'attività dei recettori delle LDL. Oggi è noto che, pur mantenendo inalterata la responsabilità degli acidi grassi saturi e dell'eccesso di colesterolo, il maggiore fattore causale non è legato alle LDL normali, bensì alle LDL ossidate, cioè a lipoproteine che hanno subito la perossidazione dei fosfolipidi polinsaturi che le compongono.

Per meglio comprendere questo meccanismo è necessario sapere che il colesterolo trasportato dalle LDL viene ceduto alle cellule periferiche grazie alla presenza di alcuni recettori posti sulla membrana cellulare che riconoscono l'LDL la quale, a sua volta, riconosce il recettore grazie ad una sua specifica proteina (apo-B 100). Gli acidi grassi saturi, come si è detto, riducono l'attività dei recettori impedendo così l'ingresso del colesterolo, ma le LDL perossidate perdono la capacità di essere riconosciute dai recettori. In tutti e due i casi si verificherà ristagno del colesterolo nel sangue con aumento delle LDL, ma le LDL perossidate sono anche tossiche per l'endotelio potendo provocare delle microlesioni a carico della parete arteriosa responsabili a loro volta dell'innescò dell'aggregazione piastrinica. Le LDL ossidate vengono avidamente captate dai monociti che si trasformano in cellule schiumose considerate un momento chiave nella formazione della placca aterosclerotica. Le LDL sono naturalmente protette da un elevato numero di antiossidanti e tra questi, quello quantitativamente più

importante è l'alfa-tocoferolo, ma è stato dimostrato che i polifenoli contenuti nell'olio d'oliva sono in grado di inibire la perossidazione delle LDL in maniera forse anche più efficace della stessa vitamina E (Visioli et al., 1998).

L'effetto preventivo dei polifenoli nei confronti dell'aterosclerosi non si esplica soltanto a causa del loro potere antiossidante e quindi protettivo delle LDL ma anche tramite altre attività biologiche.

Nel processo patologico che conduce alla formazione della placca aterosclerotica, un ruolo importante viene giocato dall'iperaggregabilità piastrinica attivata dalla liberazione del trombossano, derivato dall'acido arachidonico per azione della lipossigenasi. Anche in questo caso i polifenoli esercitano un ruolo positivo, l'idrossitirosolo e l'oleuropeina hanno manifestato attività antiaggregante piastrinica legata alla capacità di inibire l'arachidonato lipossigenasi (Petroni et al., 1994; Kohyama et al., 1997).

Uno studio effettuato da Carluccio et al., ha mostrato l'attività antinfiammatoria e quindi antiaterogena di alcuni componenti polifenolici dell'olio d'oliva e del vino. E' stata dimostrata la capacità di questi polifenoli di inibire l'attivazione dell'endotelio impedendo l'adesione dei monociti alle cellule endoteliali a seguito della riduzione dell'espressione di specifiche molecole di adesione quali: la VCAM- 1 e la selettina E. A questo proposito sono l'idrossitirosolo e l'oleuropeina aglicone a presentare l'attività più marcata.

I polifenoli a concentrazioni nutrizionalmente rilevanti inibiscono la trascrizione e quindi l'espressione delle molecole endoteliali di adesione e ciò contribuisce a renderli importanti nella prevenzione dell'aterosclerosi.

I polifenoli possiedono anche altre attività biologiche rilevanti dal punto di vista salutistico.

Come dimostrato da Visioli et al., 1998; quando l'oleuropeina è incubata insieme ai macrofagi murini e al lipopolisaccaride batterico, si registra un aumento dell'attività funzionale di queste cellule immunocompetenti come dimostrato dall'aumento della produzione di NO che è un fattore battericida e citostatico. E' stato dimostrato un effetto diretto dell'oleuropeina sulla forma inducibile dell'enzima NO sintasi. L'NO prodotto dai macrofagi durante le infezioni e le

infiammazioni acute rappresenta una risposta di adattamento dell'organismo, l'NO inibisce l'aggregazione e l'adesione piastrinica e provoca vasodilatazione aumentando la perfusione nel tessuto infiammato.

E' stata valutata anche il potere antimicrobico dell'oleuropeina e dell'idrossitirosolo in vivo, evidenziando un'ampia attività dell'idrossitirosolo su diversi ceppi patogeni per l'uomo (Uccella N. et al 1999).

Diversi tipi di polifenoli (fenil acidi, lignani e flavonoidi) mostrano attività antimutagenica e anticancerogena. I polifenoli potrebbero intervenire in diversi stadi dello sviluppo dei tumori maligni, inattivando cancerogeni, inibendo l'espressione di geni mutanti o quella di enzimi coinvolti nell'attivazione di procancerogeni, attivando sistemi enzimatici coinvolti nella detossificazione di xenobiotici. (Bravo, 1998).

E' stato dimostrato recentemente che i composti difenolici esercitano un effetto antiproliferativo, inducendo apoptosi in alcuni tipi di cellule. (Della Ragione et al., 2000).

I ricercatori del Monell Chemical Senses Center e collaboratori dell'università della Pennsylvania, l'Università delle Scienze di Philadelphia, e Firmenich, hanno trovato una sostanza chimica naturale nell'olio extra-vergine d'oliva, un anti-infiammatorio non steroideo.

Chiamato dai ricercatori oleocantal, il composto inibisce l'attività degli enzimi della ciclo ossigenasi (COX).

Quando i risultati hanno confermato che l'intensità irritante di un dato olio extra-vergine d'oliva era direttamente collegata alla quantità di sostanze chimiche in essa contenuto, i ricercatori hanno chiamato il composto OLEOCANTHAL (oleo=d'oliva, canth = sting, al=aldeide)

Per escludere la possibilità che ogni altro composto era stato coinvolto, i chimici del Monell e Penn (Pennsylvania) hanno creato una forma sintetica di Oleocanthal identica in tutto rispetto a quello che si trova naturalmente nell'olio d'oliva, e ha dimostrato che essa ha prodotto esattamente la stessa irritazione della gola.

Le somiglianze sensoriali tra l'Oleocanthal e l'ibuprofene portano gli scienziati del Monell e dell'Università delle Scienze ad indagare su potenziali proprietà farmacologiche comuni. Gli studi hanno rivelato che, come l'ibuprofene, l'oleocanthal inibisce l'attività della COX-1 e degli enzimi COX-2.

Visto che l'inibizione dell'attività della Cox è alla base della azione anti-infiammatoria dell'ibuprofene e di altri anti-infiammatori non steroidei (NSAIDs); i nuovi risultati suggeriscono che l'Oleocanthal è un agente anti-infiammatorio naturale.

Questo composto trovato nell'olio extra-vergine d'oliva, altera la struttura delle proteine neurotossiche che contribuiscono agli effetti debilitanti della malattia di Alzheimer. Questo cambiamento strutturale ostacola la capacità delle proteine nella degenerazione delle cellule nervose.

“ I risultati possono aiutare a identificare efficaci misure preventive e di portare nelle terapie miglioramento nella lotta contro la malattia di Alzheimer.” Ha detto nel suo studio Paul Breslin, uno psicobiologo sensoriale presso il Centro Monell.

Conosciute come ADDLs, queste proteine altamente tossiche si trovano all'interno delle sinapsi neurali del cervello di pazienti affetti da Alzheimer e si ritiene disturbino il funzionamento delle cellule nervose, portando perdita di memoria, morte cellulare, alterazione globale delle funzioni cerebrali. Le sinapsi sono giunzioni specializzate che consentono ad una cellula nervosa di inviare informazioni ad un'altra.

“La presenza di ADDLs nella sinapsi delle cellule nervose si pensa sia un primo passo cruciale verso l'inizio della malattia di Alzheimer. L'oleocanthal altera la struttura dell'ADDL in modo da scoraggiare il loro contatto con la sinapsi “, ha dichiarato William L. Klein, PhD, che ha condotto la ricerca con Breslin. “studi trasversali sono necessari per collegare questi risultati di laboratorio agli interventi clinici”. Klein è professore di Neurobiologia e Fisiologia e membro della Neurologia Cognitiva all'Alzheimer Disease Center presso la Northwestern University.

Klein e i suoi colleghi hanno identificato l'ADDLs nel 1998, portando un grande cambiamento nel pensiero sulle cause, il decorso e il trattamento del morbo di Alzheimer. Conosciuto anche come oligomero beta-amiloide, le ADDLs sono strutturalmente diverse dalle placche amiloidi che si accumulano nel cervello dei pazienti di Alzheimer.

Segnalando una serie di studi in vitro, il team di ricercatori della Northwestern e del Monell ha scoperto che l'incubazione con l'oleocanthal modifica la struttura delle ADDLs aumentando le dimensioni della proteina.

Sapendo che l'oleocanthal modifica le dimensioni dell'ADDL, i ricercatori hanno esaminato se l'oleocanthal colpiva la capacità delle ADDLs di legarsi alle sinapsi dei neuroni ippocampali in coltura. L'ippocampo, una parte del cervello intimamente coinvolta nell'apprendimento e nella memoria, è una delle prime aree colpite dalla malattia di Alzheimer.

Misurando l'ADDL con e senza l'oleocanthal, i ricercatori hanno scoperto che piccole quantità di oleocanthal provocano un'efficace riduzione della presenza di ADDL alla sinapsi dell'ippocampo. Ulteriori studi hanno rivelato che l'oleocanthal è in grado di proteggere le sinapsi dai danni strutturali causati dalle ADDLs.

Un risultato inatteso è che l'oleocanthal rende i target delle ADDLs più forte per gli anticorpi. Questa azione prevede la possibilità per la creazione di più efficaci trattamenti di immunoterapia, che legandosi agli anticorpi attaccano le ADDLs.

Breslin ha commentato le implicazioni dei risultati. "Se il trattamento di anticorpi del morbo di Alzheimer è arricchito da oleocanthal, la lotta collettiva degli effetti anti-tossici e immunologici di questo composto possono portare ad un trattamento efficace per una malattia incurabile. Solo gli studi clinici lo diranno di sicuro".

## 4 - Influenza dei parametri agronomici e tecnologici sul contenuto dei polifenoli

### 4.1 - Le fasi preliminari della lavorazione delle olive: raccolta trasporto - sosta al frantoio

Non v'è dubbio che le fasi che precedono la lavorazione delle olive condizionano in modo determinante la qualità del prodotto estratto.

Tale aspetto è maggiormente avvertito in Calabria, in funzione di una tradizione colturale dell'ulivo e di tecniche di raccolta non rispondenti ai sani criteri di una olivicoltura razionale ed in sintonia con l'adeguamento alla innovazione che deriva dalla applicazione delle nuove tecnologie colturali.

L'olivicoltura calabrese è per la maggior parte ancora legata a sistemi produttivi tradizionali, anche se si incominciano ad intravedere tentativi di innovazione tecnologica.

Già l'indirizzo colturale proiettato verso la predisposizione della coltura dell'ulivo con gesti dinamici consente all'imprenditore agricolo di valutare le opportunità delle scelte più consone per una raccolta razionale e garante di una produzione di olio di qualità.

Al momento questa fase del ciclo di lavorazione delle olive risulta ancora molto penalizzata, ricorrendo l'imprenditore agricolo a tecniche colturali obsolete o, quanto meno, lasciando l'oliva al suo destino.

Le tecniche di raccolta attualmente seguite possono ricondursi alle seguenti:

- a) **raccattatura:** è la tecnica più diffusa in Calabria. Consiste nel raccogliere da terra le olive che cadono spontaneamente dall'albero.

Ovviamente la maggiore quantità di olive ai piedi dell'albero si ha a seguito di condizioni atmosferiche particolari e, comunque, conseguenti a giornate ventose e piovose. Ma il dato maggiormente penalizzante è rappresentato dal periodo di permanenza delle olive sul terreno, prima che vengano raccolte. Le olive, pertanto, si presentano lacerate in superficie, con evidenti segni di alterazione;

- b) **abbacchiatura:** è una tecnica ancora in uso per piccole estensioni di coltura. Consiste nel percuotere con lunghe pertiche i rami di ulivo alla cui estremità si rinvergono grappoletti di olive .

Agli inconvenienti appena elencati per il sistema della raccattatura, qualora non vengano prese opportune precauzioni, si aggiunge l'altro, non meno preoccupante, di provocare lesioni ai rami, con inevitabili ripercussioni negative sulla produzione degli anni successivi.

Anche con questo sistema di raccolta le olive non risultano integre e, se non vengono avviate al frantoio in tempi brevi, inevitabilmente predispongono l'olio estratto alle alterazioni di natura idrolitica;

- c) **brucatura:** è la migliore tecnica di raccolta delle olive dall' albero ed è da considerare il metodo più razionale, perché evita la caduta a terra delle olive e tutela l'integrità dei rami .

Il metodo di raccolta per brucatura è però poco seguito e, comunque, non applicabile per gli ulivi di notevoli dimensioni, come è il caso dell'olivicoltura calabrese. D'altra parte, anche l'elevato costo della manodopera contribuisce a limitare l'applicazione di questo metodo.

Certamente, però, il metodo di raccolta delle olive per brucatura è da consigliare, allorché il prodotto è da destinare al consumo da mensa;

- d) **pettinatura:** è una tecnica di raccolta delle olive che va consigliata, a condizione che sia mantenuta bassa la chioma dell'ulivo. Consiste nel fare scorrere lungo i rami con i grappoli di olive pettini di metallo ovvero di legno, ovvero ancora, di materiale plastico. Ultimamente si fa ricorso a pettini di politene .

È abbastanza recente l'introduzione di sistemi di raccolta che impiegano pettini montati su assi anche sufficientemente lunghi ed azionati con sistemi pneumatici. Tali sistemi di raccolta offrono valide garanzie di raccolta integrale, con possibilità di ispezionare in maniera completa la chioma dell'ulivo.

Ovviamente, anche in questi casi la raccolta può effettuarsi a condizione che l'ulivo venga mantenuto basso.

Comunque, l'adozione di questo sistema di raccolta delle olive comporta la predisposizione alla base dell'albero di reti realizzate con materiale polivinilico, al fine di consentire un rapido, razionale e corretto recupero delle olive pettinate;

- e) **sistemi misti**: sono in genere quelli applicati un po' dappertutto in Calabria, specialmente a livello della piccola azienda agraria. Consistono nell'impiego, per tempi successivi, di più di uno dei metodi appena elencati;
- f) **impiego delle reti**: è il sistema più diffuso nelle aree di produzione olivicola.

Non tutti, però, operano con oculatezza nell'applicazione di questo metodo. Va, infatti, segnalato che le, reti non vanno sistemate a terra, ai piedi dell'albero ovvero a copertura dell'area interessata dalla chioma, ovvero che si ritiene possa essere impegnata dalla caduta delle olive, bensì devono essere mantenute sollevate da terra, in modo da consentire all'oliva che si stacca dai rami di non subire danni da caduta, risultando questa attutita dalla elasticità della rete sospesa. In tal modo si eviteranno traumi alla drupa, consentendo alla stessa una migliore integrità fisica a tutela da alterazioni di carattere idrolitico.

- g) **scuotitura**: è il sistema che dovrebbe essere adottato da tutti, specialmente in Calabria, in modo da consentire una raccolta delle olive in modo razionale, nel momento in cui si possono intravedere convergenze specifiche di più parametri analitici per la definizione dell'ottenimento di un prodotto di qualità.

L'impiego dello scuotitore, se può operare adeguatamente, consente di snellire il problema della raccolta delle olive, offrendo la possibilità di effettuare una raccolta differenziata nel tempo, nel rispetto dei criteri di qualità e consentendo, altresì, al frantoio di potere programmare opportunamente il lavoro di estrazione dell'olio.

Pertanto, anche se una contenuta percentuale di olive dovesse permanere sull'albero, la qualità dell'olio estratto compenserà ampiamente la quota di

olive non raccolte. D'altra parte non è da escludere che in una razionale impostazione della tecnica di raccolta, lo scuotitore può essere impiegato per una seconda e definitiva raccolta delle olive.

L'abbinamento, quindi, dello scuotitore e delle reti è il sistema migliore, all'attualità, per consentire una buona raccolta delle olive e non v'è dubbio che una razionalizzazione nell'utilizzazione dello scuotitore in una olivicoltura predisposta per un corretto impiego della macchina contribuirà a realizzare una olivicoltura più competitiva.

Ulteriore lavoro che segue la fase della raccolta delle olive, specialmente in Calabria, riguarda la cernita delle olive, al fine di renderle il più possibile monde da corpi estranei. Questa, infatti, viene realizzata a mano ove lo consente la disponibilità di mano d'opera. In Provincia di Reggio Calabria, specialmente negli estesi uliveti della Piana di Gioia Tauro, si fa ricorso all'impiego di macchine appositamente costruite. Per tali operazioni recentemente v'è stata, da parte di ditte specializzate nel settore specifico, una consistente innovazione.

Una volta raccolte, le olive devono essere trasportate al frantoio. Anche in questa fase occorre procedere con oculatezza, ricorrendo a sistemi adeguati alla tutela della integrità delle olive.

I contenitori da utilizzare di norma per il trasporto delle olive al frantoio sono: cassette di polietilene e cesti in vimini; i sacchi di iuta sono sconsigliati.

Altrettanta cura va applicata alle olive in sosta di lavorazione nel frantoio. Va evitato assolutamente l'ammasso delle olive in modo irrazionale poiché comporta inevitabilmente l'insorgere di alterazioni di tipo idrolitico, oltre a conferire all'olio modifiche di natura fisica, con presenza di difetti.

A tali inconvenienti vanno aggiunti anche quelli derivanti da tecniche di movimentazione delle olive all'interno del frantoio, con impiego di pale meccaniche. Non v'è dubbio che i gas di scarico della trattrice contribuiscono ad incrementare i difetti che si insediano nell'olio

## 4.2 - La tecnologia di estrazione dell'olio dalle olive.

L'industria olearia è attività meccanica tipicamente estrattiva. Essa è costituita essenzialmente da tre distinti momenti operativi, tutti caratterizzati dalla utilizzazione di particolari e specifiche operazioni unitarie dell'industria alimentare, come riprodotto nel seguente prospetto:

<b>Momenti operativi</b>	<b>Operazioni</b>	<b>Operazioni Unitarie coinvolte</b>
I	Preparazione della pasta	Cernita Lavaggio Frantumazione
II	Separazione della frazione liquida da quella solida	Estrazione
III	Separazione della frazione oleosa da quella liquida	Separazione di fasi eterogenee

Pur semplice nella sua ripartizione, la tecnica estrattiva ha subito nel corso degli anni notevoli modifiche tecnologiche, tutte miranti ad esaltare le rese e la qualità dell'olio prodotto.

Se, come sembra, non esistono dubbi sull'affermazione che la coltivazione dell'olivo ebbe origine nei Paesi bagnati dal Mare Mediterraneo, certamente da qui dovette avviarsi quella graduale necessaria evoluzione tecnologica sulla estrazione dell'olio dalle olive, necessaria per realizzare un prodotto di qualità.

Infatti, il primo olio che l'uomo riuscì a produrre dovette presentarsi organoletticamente scadente, in quanto ottenuto naturalmente, a seguito della pressione determinatasi dall'accumulo delle stesse drupe e, pertanto, esposto per molto tempo all'aria.

Col passare degli anni, però, l'uomo si industriò sempre più verso applicazioni tecniche più evolute che consentirono di realizzare una produzione olearia più adatta per le esigenze di una sana alimentazione.

È così che, in un susseguirsi di tentativi di razionalizzazione della tecnologia

estrattiva delle olive, vennero emergendo i frantoi a macelli, dapprima sotto forma molto rudimentale, poi sempre più evoluta, fino alle attuali molazze.

Successivamente, nell'intento di avviare uno snellimento del processo di lavorazione delle olive, fu introdotto il frangitore, pur con diverse formulazioni meccaniche, tuttora presenti.

Ma la frangitura delle olive non poteva realizzare una buona preparazione della pasta, risultando una ulteriore quantità di olio ancora racchiuso nelle cellule oleifere. Così fu necessario avviare una graduale modifica nell'assetto tecnologico che ha portato alla introduzione di una ulteriore macchina, la gramola che, oltre a completare il lavoro di rottura delle olive, effettua una migliore fuoriuscita della sostanza grassa dalle cellule oleifere e, pertanto, comporta un incremento delle rese.

La pregevole e fruttuosa azione della gramola ha fatto sì che la stessa è stata inserita anche nel diagramma di lavorazione classico.

Altrettanta evoluzione nel percorso storico ha subito la pressa che, partendo dal classico torchio a vite, ha raggiunto le attuali realizzazioni con le superpresse che operano a pressioni di 400-450 Atm.

La separazione, infine, dell'olio dalle acque di vegetazione ha indubbiamente storia molto più recente ed anche qui l'evoluzione tecnologica ha fatto avvertire la sua impronta, anche se, come sarà illustrato più avanti, permane in alcune aree il ricorso alla separazione e recupero dell'olio per affioramento spontaneo.

Dell'adozione, infatti, della centrifuga ad asse verticale, prima utilizzata in forma discontinua per la indispensabile sostituzione del tamburo, poi continua, con scarico automatico delle impurezze, l'allontanamento meccanico delle acque di vegetazione dall'olio è ormai un obiettivo raggiunto e la quasi totalità dei frantoi l'adotta.

### 4.3 - La conservazione dell'olio di oliva extravergine

È noto che uno dei problemi che maggiormente interessano la qualità delle sostanze grasse (e dell'olio di oliva in modo particolare) è quello relativo alla stabilità biologica, e, quindi, riconducibile ad una buona conservazione. Nel caso specifico dell'olio estratto dalle olive, gli aspetti qualitativi coinvolgono tutte le fasi della filiera produttiva che dalla produzione dell'oliva si spingono fino alla trasformazione. E ciò dipende dalla particolare costituzione fisica e composizione chimica dell'oliva.

È necessario, quindi, che per la salvaguardia delle caratteristiche qualitative dell'olio ricavato dall'oliva, vengano poste in atto tutte quelle tecniche operative che, in diversa misura e in maniera opportuna, sono impiegate lungo tutto il percorso produttivo.

Un'attenta considerazione delle problematiche del processo estrattivo, nonché l'attuazione di semplici norme igieniche, sia dell'ambiente in cui si lavora, sia degli addetti alla conduzione dell'impianto di estrazione, sia, infine, di quanti a diverso titolo operano nell'ambito del frantoio, rappresentano elementi utili per tutelare le peculiari caratteristiche dell'olio di oliva vergine. E tale aspetto assume oggi una importanza fondamentale, atteso il ruolo che le caratteristiche organolettiche dell'olio di oliva rivestono nel profilo qualitativo di un olio. L'introduzione, infatti, del "Panel test", quale prova di qualificazione merceologica per un olio di oliva, rappresenta oggi un percorso obbligatorio e un controllo di indubbia rilevanza in termini di codificazione produttiva.

Non v'è dubbio, quindi, che la tecnica di conservazione rappresenta una tappa di notevole portata nel percorso evolutivo della vita di un alimento, condizionando non poco la sua qualità nelle diverse sfaccettature, siano esse di *natura alimentare* - e, quindi, igienica - nutrizionale - organolettica; *di servizio* - e, quindi, come capacità di conservazione, valutata nella durata della qualità sia dopo l'acquisto, sia dopo l'apertura del contenitore, sia, infine, *tecnologica*, collegata alle caratteristiche della materia prima ed alle tecniche di trasformazione.

La valutazione della qualità di un alimento, infatti, si diversifica non solo in funzione delle proprietà specifiche dello stesso, ma anche della rispondenza a precisi parametri di caratterizzazione che ne individuano la tipicità.

Pur non volendo ampliare oltre misura il discorso sulla qualità alimentare, non può disconoscersi che esistono, invero, altre tipologie di qualità che, il più delle volte, coinvolgono particolari sensazioni edonistiche: ed è il caso della "qualità affettiva", la cui impronta non sempre è in sintonia con le valutazioni ufficiali, ma che è fornita dalla assuefazione a peculiari caratteristiche del prodotto, nonché dalla abitudinarietà acquisita, che, il più delle volte, purtroppo, la penalizza.

Per quanto attiene, poi, il settore delle sostanze grasse e, più in particolare, quello degli oli di oliva, è noto che uno dei problemi che maggiormente interessano la loro qualità è quello relativo alla buona conservazione nel tempo, ovvero alla stabilità biologica.

Nel caso dell'olio di oliva vergine la qualità, pertanto, non può dipendere da una valutazione settoriale ovvero limitata ad uno o pochi fattori, bensì da un coinvolgimento di tutta la filiera produttiva che, dalla fase di invaiatura della drupa si sviluppa fino a raggiungere la conservazione delle olive, attraverso l'applicazione di tutta una serie di operazioni e di attività che impegnano sia le condizioni pedoclimatiche, sia le tecniche colturali dell'ulivo, sia il grado di maturazione dell'oliva, sia la tipologia della raccolta, sia le fasi tecnologiche dell'estrazione dell'olio, nonché la corretta conservazione.

Non v'è dubbio che un ruolo di primaria importanza è assunto dalla particolare costituzione fisica, nonché dalla composizione chimica dell'oliva. Di qui la necessità di attivare tutte quelle tecniche operative che, in diversa misura, devono essere seguite lungo tutto il percorso produttivo.

#### **4.4 - Le principali cause che modificano la struttura chimica dell'olio estratto dalle olive**

Come indicato in precedenza, la struttura chimica dell'oliva è fondamentalmente rappresentata dai trigliceridi, a loro volta, costituiti da glicerina ed acidi grassi. Seguono altri componenti, tra i quali è utile ricordare quelli che rientrano nella composizione dell'insaponificabile.

La liberazione più o meno accentuata degli acidi grassi dalla struttura trigliceridica rappresenta indubbiamente la fase preliminare e determinante per l'avvio di quell'insieme di processi alterativi che demoliscono l'assetto qualitativo dell'olio di oliva vergine e ne condizionano l'aspetto merceologico.

Ma se la frazione trigliceridica rappresenta la quota più elevata della sostanza grassa dell'oliva, è nella frazione non saponificabile dell'olio che risiedono alcuni dei costituenti utili alla difesa dalle alterazioni e, quindi, al mantenimento della sua stabilità biologica.

Tali costituenti, riconducibili al gruppo delle sostanze fenoliche e dei tocoferoli, svolgono un ruolo proficuo per la conservazione dell'olio di oliva vergine nelle fasi successive all'estrazione dalla drupa.

Nell'olio di oliva vergine, infatti, a differenza di altri oli vegetali, nei quali la funzione antiossidante è sostenuta dai tocoferoli, si ha un'azione sinergica, che vede nella presenza dei composti fenolici l'accentuazione di tale difesa.

Ma il contenuto in fenoli in un olio, già di per se variabile in funzione della cultivar di ulivo utilizzata, è soggetto a diverse variabili operative, quali: estrazione, conservazione, rettificazione che ne determinano, a volte, sensibili riduzioni. Così, nel caso dell'olio di oliva vergine, il contenuto in fenoli risulta influenzato dalla pressione esercitata in fase di estrazione con adeguati risultati ponderali nella doppia spremi tura, rispetto a quella unica.

È stato anche accertato che il contenuto in fenoli si riduce nel corso della vita di un olio, risultando addirittura assente dopo 7-8 mesi di conservazione.

Di qui l'importanza di porre in atto tutte quelle soluzioni tecniche che possano garantire non solo la presenza di tali sostanze, ma l'integrità delle stesse.

Diverso comportamento hanno altri componenti e, in modo particolare, le clorofille. Queste, infatti, per la proprietà specifica di assorbire energia fotochimica, agiscono da proossidanti in presenza di luce. È noto, infatti, che la presenza di clorofille in un olio, e conseguentemente anche i relativi tenori, dipendono da diverse variabili e, in particolare, da:

- a) grado di maturazione (le olive non ancora invaiate contengono elevate quantità di clorofille);
- b) tecnologia estrattiva adottata (le olive non ancora invaiate sottoposte ad elevate pressioni evidenziano maggiori quantitativi di clorofille).

#### **4.5 - L'incidenza della fase di conservazione delle olive sulla qualità dell'olio estratto**

La qualità dell'olio di oliva vergine dipende, innanzi tutto dallo stato delle olive e, in misura minore - ma non meno importante - dalla tecnologia seguita nella fase di estrazione e dalle condizioni di conservazione dell'olio.

Lo stato delle olive, a sua volta, dipende:

- a) dalla maggiore o minore integrità della drupa, a causa di attacchi parassitari, avversità atmosferiche, metodi di raccolta;
- b) dal grado di maturazione, che condiziona la composizione acidica e le caratteristiche organolettiche dell'olio;
- c) dalle condizioni di trasporto delle olive al frantoio. Si deve, infatti, evitare di danneggiare i frutti e, pertanto, sono consigliabili recipienti rigidi e di capacità piuttosto modeste;
- d) dalla conservazione, in condizioni appropriate, in attesa della lavorazione.

Oggi le olive non sono più abbandonate a se volutamente per un periodo di tempo più o meno lungo prima di essere lavorate; tuttavia i frantoi non sempre sono in grado di iniziare la lavorazione appena ricevono le olive. Né, d'altra parte, è sempre possibile razionalizzare le fasi della raccolta in sintonia con l'attività estrattiva del frantoio.

Occorre, pertanto, che le olive possano essere conservate in modo che non si alterino. Difatti, anche se staccato dall'albero, il frutto continua a respirare e se il calore svolto dalla respirazione non ha modo di disperdersi (ed è il caso delle olive ammassate irrazionalmente) la temperatura può aumentare fino a raggiungere valori tali da favorire alterazioni a carico di costituenti del frutto e, in particolare, della frazione lipidica.

Ne consegue che le olive vanno conservate in strati non superiori a 10 - 15 cm, sia per evitare di dovere occupare superfici molto estese, sia per consentire una più facile circolazione dell'aria tra gli strati delle olive.

Ma lo stato fisico delle olive dipende ancora:

- e) dalla mondatura e cernita effettuate per eliminare le impurezze. Queste, infatti, possono conferire all'olio particolari caratteristiche negative che ne

modificano sapore ed odore;

- f) dal lavaggio, particolarmente quando le olive sono sporche di terra e, quindi, il più delle volte, di argilla. La presenza di argilla, infatti, può favorire la formazione di emulsioni stabili acqua-olio, che rendono più lenta la separazione dell'olio dall'acqua. Inoltre, il contatto con il materiale argilloso può avere come conseguenza una perdita considerevole di olio che viene trattenuto dall'argilla. Questa, infatti, può assorbire olio fino al 25 % del proprio peso ed è abbastanza normale che il 5 - 10% delle olive che vengono lavorate sia in realtà costituito da terra.

Infine, il passaggio nell' olio di materiale terroso comporta uno sgradevole sapore di terra e, pertanto, si accentuano i difetti. Il lavaggio serve ancora per eliminare eventuali pietre di piccole dimensioni che potrebbero danneggiare, soprattutto se di natura silicea, alcuni macchinari e, in particolare, i frangitori.

## 5 - Materiali

Nelle 4 campagne 2005-2008 sono stati prelevati 43 campioni d'olio, di sicura produzione Calabrese, in frantoi distribuiti in diverse zone tipiche di produzione che sono state circoscritte e classificate come aree omogenee .

I campioni sono stati prelevati direttamente al frantoio all'uscita dal separatore, posti in bottiglie di vetro scuro sigillate e conservate in luogo fresco e buio fino al momento dell'analisi. In ogni frantoio, al momento del prelievo di ciascun campione è stata redatta un'apposita scheda con le seguenti informazioni:

- Comune di produzione e lavorazione
- Altitudine
- Cultivar
- Tecnologia di estrazione

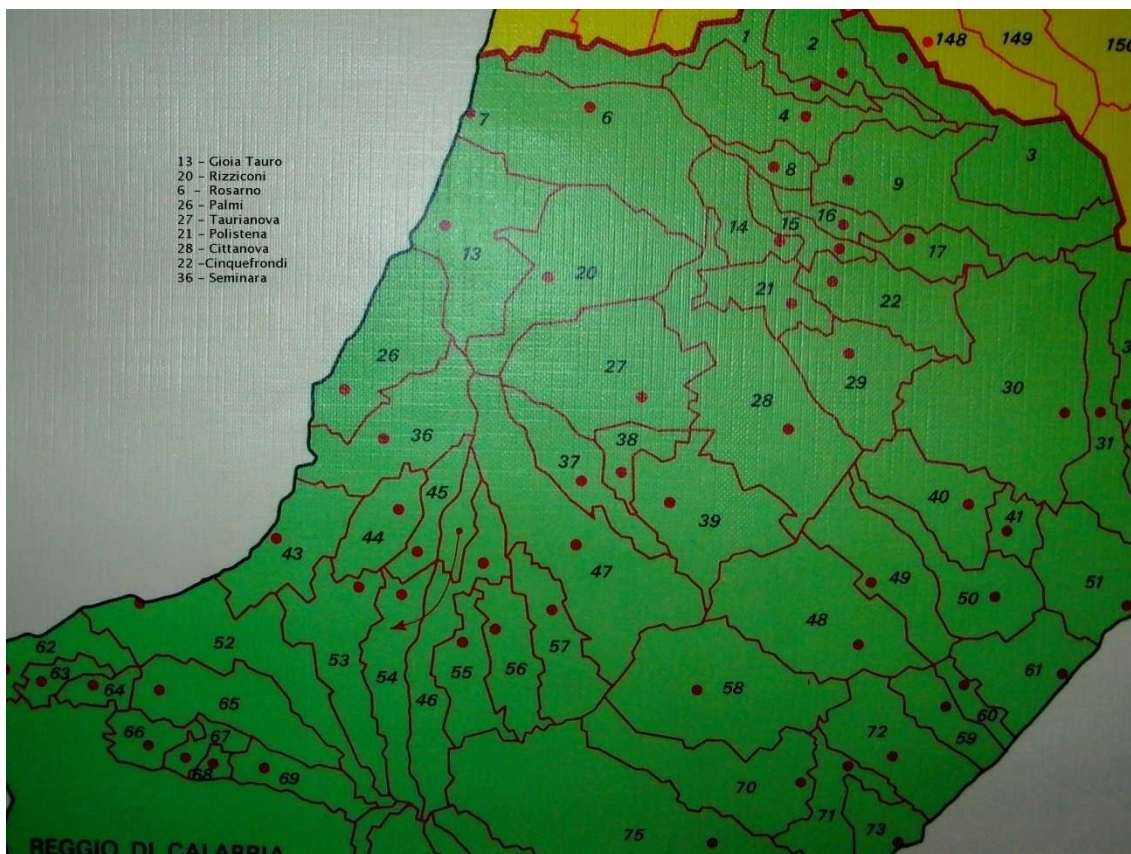
In conseguenza dell'impossibilità quasi assoluta di aree monovarietalì, per questo aspetto si è stati costretti a definire la cultivar principale come quella presente in una percentuale uguale o superiore al 50%.

Il periodo per la raccolta e la lavorazione sono compresi tra ottobre e dicembre. Le varietà oggetto del campionamento sono state: Ottobratica , Sinopolese , Cassanese , Leccino , Rogianella , e Carolea .

Nell'intera popolazione di oli esaminata troviamo distribuiti in modo casuale, secondo le disponibilità dei vari frantoi, tutti e tre i possibili sistemi di estrazione: pressione, centrifugazione e percolamento.

I territori interessati al campionamento sono distribuiti sul territorio come indicato in figura e tabella seguente.

Fig. 1 - Comuni di provenienza dei campioni



Numero	Comune
13	Gioia Tauro
20	Rizziconi
6	Rosarno
26	Palmi
36	Seminara
27	Taurianova
28	Cittanova
21	Polistena
22	Cinquefrondi
29	San Giorgio Morgeto

## 6 - METODI

Su tutti i campioni d'olio sono state effettuate le seguenti determinazioni analitiche: acidità, numero di perossidi, determinazione dei polifenoli con HPLC con rivelatore DV .

### 6.1 - Acidità

Il metodo usato per la determinazione degli acidi grassi liberi nell'olio d'oliva è quello previsto dal regolamento CEE n 2568/91.

L'acidità è espressa come percentuale di acido oleico.

### 6.2 - Perossidi

Il metodo per la determinazione del numero di perossidi nell'olio d'oliva è quello previsto dal regolamento CEE n 2568/91. Il numero di perossidi (P.V.) è espresso in milliequivalenti di ossigeno attivo per Kg.

### 6.3- Polifenoli

#### 6.3.1 - Principio

La metodica si basa su un'estrazione dei composti minori polari di natura biofenolica direttamente dall'olio di oliva mediante una soluzione metabolica e successiva determinazione quantitativa mediante HPLC con rivelatore UV a 280 nm. Lo standard interno è costituito da acido siringico.

Il contenuto relativo ai derivati naturali e ossidati dell'oleuropeina e del ligstroside, dei lignani, dei flavonoidi e degli acidi fenolici viene espresso in mg/kg di tirosolo.

### 6.3.2 - Apparecchiatura

- **Cromatografo liquido ad alta risoluzione (HPLC)**, a gradiente ternario, munito di colonna (4,6 mm x 25 cm ) a fase inversa C18, del tipo Spherisorb ODS-25 $\mu$ m, 100 A°, corredato di rivelatore spettrofotometrico UV a 280 nm e di integratore. Temperatura ambiente.

La registrazione degli spettri per un tentativo di identificazione è facilitata dall'uso di un rivelatore a fotodiodi con range di acquisizione da 200nm a 400nm.

- **Matracci** da 10 ml a 100 ml Classe A.
- **Pipetta elettronica** da 100  $\mu$ l e da 5000  $\mu$ l.
- **Provette** con tappo a vite da 10 ml.
- **Agitatore** per provette tipo Vortex.
- **Imbuti in vetro** per filtrazione del diametro di circa 4 cm.
- **Carta da filtro.**
- **Bagno di estrazione a ultrasuoni.**
- **Filtri a siringa** Ø13 mm tipo PVDF 0,45  $\mu$ m.
- **Centrifuga** in grado di assicurare una velocità di centrifugazione di 5000 giri/min.
- **Bilancia**, in grado di garantire una accuratezza di  $\pm 0,001$  g.
- **Siringhe** in plastica da 5 ml.
- Normale vetreria da laboratorio.

### 6.3.3 - Reagenti

I reagenti devono essere puri per analisi cromatografiche HPLC.

- **Acido orto-fosforico** 85% (v/v).
- **Sodio fosfato anidro.**
- **Metanolo** per cromatografia.

- **Acetonitrile** per cromatografia.
- **Acqua** per cromatografia.
- **Gradiente ternario lineare di eluizione:** acqua 0,2 %  
H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, metanolo (B) , Acetonitrile.
- **2-(4 Idrossifenil) etanolo ( tirosolo ) 99,9 %.**
- **Acido 3,5 dimetossi 4- idrossi benzoico ( acido siringico ) 100%**
- **Soluzione per l'estrazione :** metanolo/acqua 80/20 (v/v)

#### 6.3.4 - Procedimento

Preparare un imbuto con carta da filtro e aggiungere circa 20 g di sodio solfato . Far passare circa 40 ml di olio di oliva accuratamente omogeneizzato sulla fase adsorbente di sodi solfato.

Pesare accuratamente 2,0 g di olio di oliva anidro in una provetta con tappo a vite da 10 ml.

Trasferire 1 ml della soluzione di standard interno al campione precedentemente pesato.

Chiudere con tappo avite e agitare per 30 sec esatti .

Aggiungere 5 ml della soluzione di estrazione costituita da metanolo/acqua 80/20 (V/V).

Agitare per un minuto esatto.

Estrarre in bagno a ultrasuoni per 15min a temperatura ambiente.

Centrifugare a 5000 giri/min per 25 min

Prelevare un'aliquota del surnatante e filtrare su siringa in plastica da 5 ml, con filtro in PVDF da 0,45µm.

L'accensione dello spettrofotometro UV deve avvenire almeno 1 ora prima dell'analisi.

La colonna cromatografica deve essere condizionata per almeno 15 min con il solvente di eluizione di composizione iniziale .

E' necessario effettuare sempre una prima corsa cromatografica definita

“gradiente a vuoto” (per essere certi che non ci siano picchi interferenti di coeluizione ), costituita dall’iniezione di 20µl di metanolo/acqua 80/20 (V/V) nel sistema HPLC.

Iniettare 20 µl della soluzione degli standard esterni di calibrazione, registrando il cromatogramma a 280 nm. Calcolare i valori dei fattori di risposta RF relativi a 1 µg di tirosolo e a 1 µg di acido sirinico.

Calcolare il rapporto tra il fattore di risposta dell’acido sirinico rispetto al tirosolo, denominato  $RRF_{sir/tir}$ . Registrare i valori in un apposito quaderno.

Iniettare 20 µl della soluzione finale del campione nel sistema HPLC, registrando il cromatogramma a 280 nm.

Eeguire due diverse determinazioni sullo stesso campione, e verificare che i risultati rientrino nei parametri di precisione del metodo.

Il contenuto in Biofenoli espresso in mg/kg viene calcolato misurando la somma delle aree dei relativi picchi cromatografici, secondo la formula seguente che segue.

$$\text{Contenuto in biofenoli (mg/kg)} = \frac{(\Sigma A \times 100 \times RRF_{sir/tir} \times (P \text{ ac.sir.}))}{(A \text{ ac.sir.}) \times (P)}$$

Dove:

( $\Sigma A$ ) è la somma delle aree dei picchi dei Biofenoli registrate a 280 nm;

A ac.sir. è l’area dello standard interno acido sirinico registrata a 280 nm;

1000 è il fattore utilizzato per esprimere il risultato in mg/kg;

P è il peso in grammi di olio utilizzato;

$RRF_{sir/tir}$  è il peso in milligrammi di acido sirinico utilizzato come standard interno in 1 ml di soluzione aggiunta al campione.

## 7 - Risultati

### 7.1 - Dop calabresi e disciplinari di produzione

L'Italia detiene il primato delle tipicità riconosciute in ambito comunitario; alla Calabria, seconda regione olivicola d'Italia, dalla UE sono state riconosciute tre Dop:

- **Olio Bruzio**

**Area di produzione:** Nei comuni della parte sud della provincia di Cosenza , ed esattamente: Fascia prepollinica con 14 comuni; Vallecrati 12 comuni; Colline Joniche presilane 16 comuni e Sibaritide con 6 comuni.

- **Olive:** Concorrono le cv Carolea, Tondina, Grossa di Cassano e Dolce di Rossano con diverse % a secondo dell'areale di produzione.

- **Caratteristiche:**

- colore: verde con riflessi gialli;
- odore: fruttato;
- sapore: fruttato;
- acidità massima 0,8 gr/100 grammi di olio;
- n° di perossidi massimo 14 mq/Kg;
- $K_{232} \leq 2,2$
- $K_{270} \leq 0,20$
- Polifenoli totali 150 - 200 ppm.

- **Conservazione e Abbinamenti:**

- conservazione: 14-20°C lontano da fonti di calore
- abbinamenti: primi piatti regionali, grigliate di pesce, verdure bollite.

- **Olio Alto Crotonese**

**Area di produzione:** Nei comuni della provincia di Crotone:

Castelsilano, Cerenzia, Pallagorio, San Nicola dell'Alto Savelli, Verzino.

- **Olive:** 70% olivo Carolea.

- **Caratteristiche:**

- colore: dal giallo paglierino al verde chiaro;
- odore: delicato;
- sapore: fruttato e leggero;
- acidità massima 0,7 gr/100 grammi di olio;
- n° di perossidi massimo 14 mq/Kg;
- K232  $\leq 2$
- K270  $\leq 0,20$
- Polifenoli totali  $\geq 100$  ppm.

- **Conservazione e Abbinamenti:**

- conservazione: 14-20°C lontano da fonti di calore
- abbinamenti: pesce, ragù di pesce, ragù di carne .

- **Olio Lametia**

**Area di produzione:** in tutta la provincia di Lamezia terme e in alcuni comuni della provincia di Catanzaro: Curinga, Filadelfia Angitola, Lamezia Terme, Maida, S. Pietro a Maida, Gizzeria, Feroletto, Antico e Pianopoli

- **Olive:** 90% olivo Carolea

- **Caratteristiche:**

- colore: da verde a giallo paglierino;
- odore: fruttato;

- sapore: delicato, fruttato;
- acidità massima 0,5 gr/100 grammi di olio;
- n° di perossidi massimo 14 mq/Kg;
- K232  $\leq 2$
- K270  $\leq 0,20$
- Polifenoli totali  $\geq 170$  ppm.

- ***Conservazione e Abbinamenti:***

- conservazione: 14-20°C lontano da fonti di calore
- abbinamenti: insalate, piatti a base di pesce

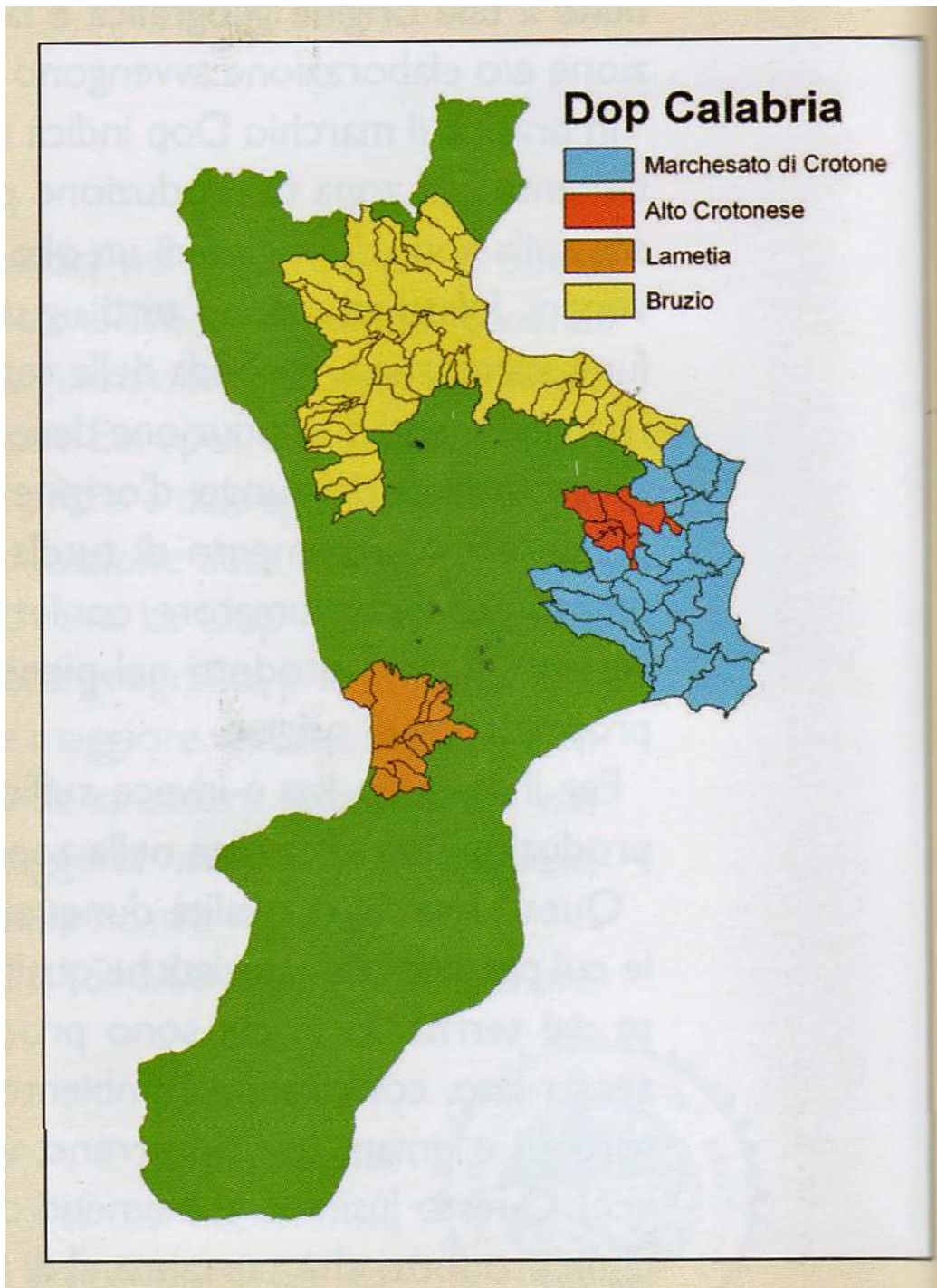


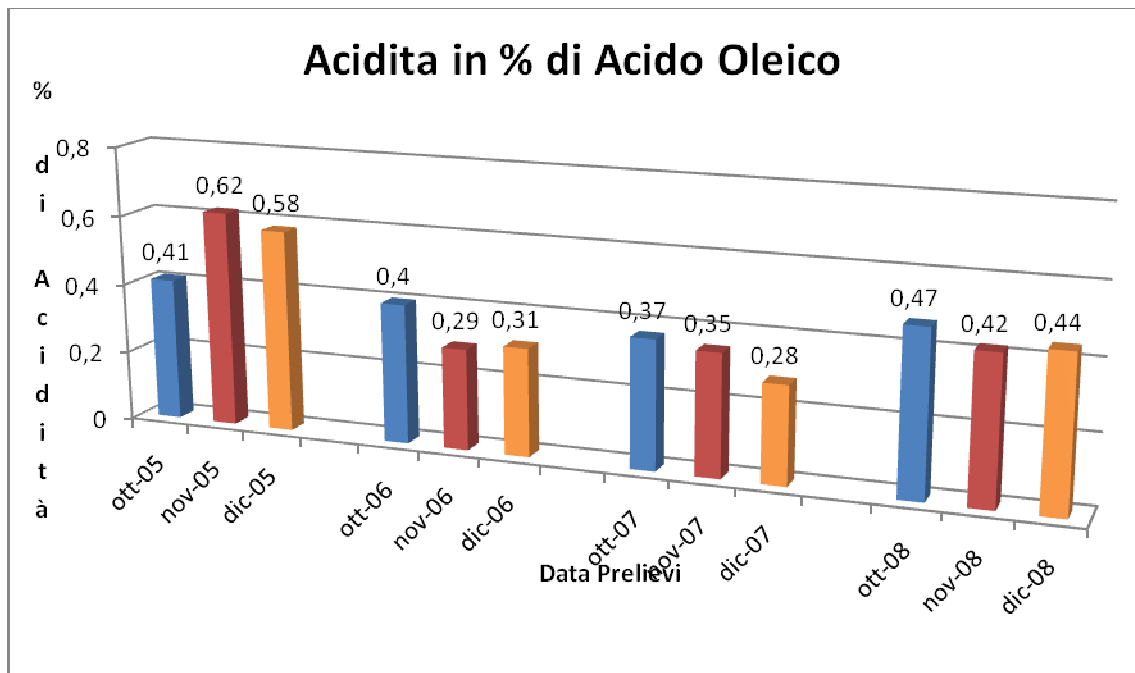
Fig. 1 – Dop Riconosciuti nella Regione Calabria

## 7.2 - Acidità libera

La valutazione dell'acidità degli oli in esame è stata necessaria per un'indagine qualitativa al fine di definire la classe merceologica dei diversi campioni.

L'acidità libera è espressa come grammi di acido oleico su 100 g d'olio.

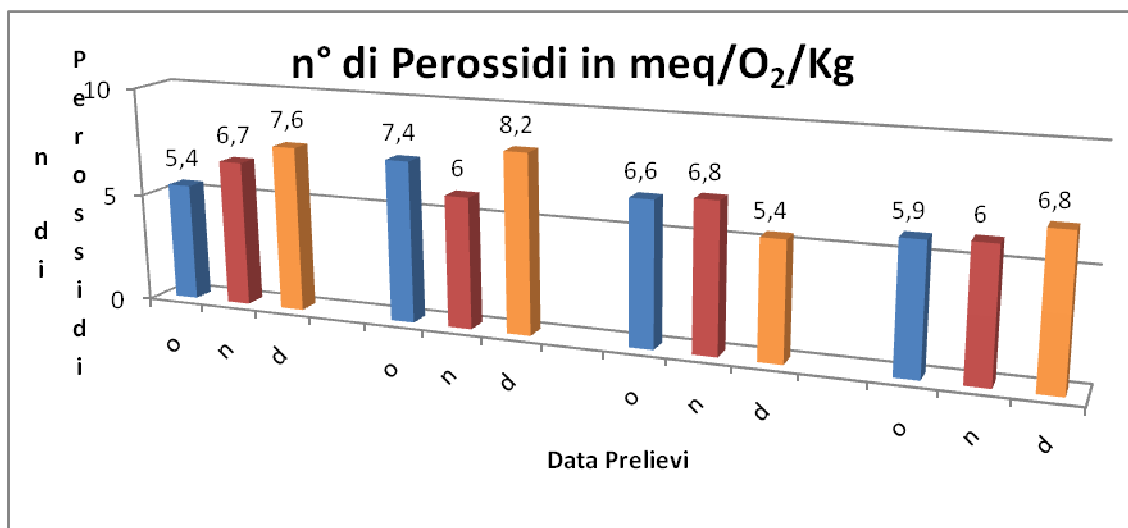
I valori medi trovati (Graf. 1) oscillano tra 0,28 e 0,62 e in gran parte i campioni esaminati presentano un'acidità non superiore a 0,5 mentre solo una frazione minima ha un'acidità compresa tra 0,6 e 0,7. In definitiva tutti i campioni esaminati rientrano nella classe merceologica degli oli extravergine d'oliva secondo quanto previsto dal regolamento CEE n° 1513/01.



Graf 1 - Acidità espressa come grammi di acido oleico su 100 g d'olio

### 7.3 - Perossidi

La determinazione dei perossidi si è resa necessaria come indagine qualitativa. I risultati medi ottenuti per tutti i campioni esaminati sono riportati nel Graf. 2.



**Graf. 2 – Media del numero di perossidi espresso in meq/O<sub>2</sub>/Kg, rilevati nei 4 anni di prova**

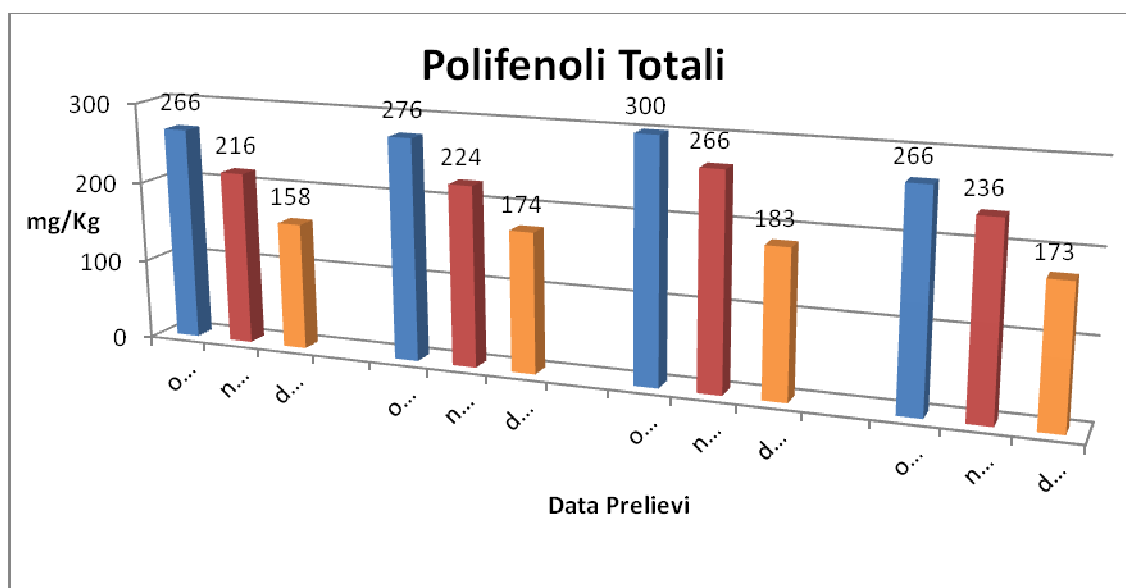
Il numero dei perossidi è importante per la determinazione della classe merceologica di appartenenza dell'olio e dello stato ossidativo di quest'ultimo.

In base al regolamento comunitario n° 1513/01 il limite massimo del numero dei perossidi per gli oli extravergine di oliva è di 20 meq di O<sub>2</sub> attivo per Kg di olio.

Tutti i campioni esaminati rientrano nel limite previsto dal regolamento CEE e quindi sono classificabili secondo questo parametro come extravergine di oliva.

## 7.4 – Polifenoli

Su ogni campione in esame è stato determinato il contenuto in polifenoli totali utilizzando materiali e metodi descritti nel capitolo precedente. I risultati sono illustrati nel grafico che segue.



Graf. 3 – Media dei polifenoli totali espressi in mg/Kg rilevati nei 4 anni di prova

Dal grafico si evince chiaramente che in tutte e 4 le annate considerate, il valore medio dei contenuti in polifenoli totali rilevati, ha un andamento decrescente man mano che si protrae la raccolta e di conseguenza anche la maturità delle drupe.

A confronto dei risultati ottenuti vengono di seguito espone le tabelle n° 1 e 2 in cui si evidenzia la valutazione della stabilità biologica degli oli estratti dalle olive delle cultivar Ottobratica e Sinopolese (tipiche della piana di Gioia Tauro), prelevate a diversi stadi di maturazione nell'arco di un triennio di campagne olearie in osservazione .

Tabella 1 - Cv Ottobratica

Valutazione della stabilità biologica degli oli estratti dalle olive prelevate a diversi stadi di maturazione nell'arco di tre campagne olearie in osservazione

(Valori medi)							
Successione dei prelievi	Acidità organica g%	Numero di Perossidi meq %.	Tempo di induzione H	Polifenoli totali ppm	Caroteni ppm	Clorofille ppm	Resa in olio %
Campagna 1995-1996							
06.10.1995	<b>0.27</b>	<b>8.72</b>	13.90	<b>358</b>	14	224	10.41
24.10.1995	<b>0.78</b>	<b>7.26</b>	9.25	<b>249</b>	21	150	14.16
08.11.1995	<b>0.78</b>	<b>9.01</b>	7.12	<b>171</b>	19	106	16.50
20.11.1995	<b>1.37</b>	<b>11.68</b>	3.42	<b>61</b>	7	37	16.49
04.12.1995	<b>4.05</b>	<b>15.52</b>	2.90	<b>48</b>	16	197	19.53
15.12.1995	<b>3.18</b>	<b>10.86</b>	3.43	<b>70</b>	12	138	19.38
08.01.1996	<b>5.95</b>	<b>13.76</b>	0.00	<b>53</b>	5	33	17.76
Media	<b>2.34</b>	<b>10.97</b>	5.72	<b>144</b>	13	126	16.31
Minimo	<b>0.27</b>	<b>7.26</b>	0.00	<b>53</b>	5	33	10.41
Massimo	<b>5.95</b>	<b>15.52</b>	13.90	<b>358</b>	21	224	19.53
Campagna 1996-1997							
07.10.1996	<b>0.42</b>	<b>5.97</b>	12.10	<b>331</b>	37	366	8.60
23.10.1996	<b>0.56</b>	<b>4.70</b>	9.46	<b>234</b>	13	36	12.24
11.11.1996	<b>6.60</b>	<b>15.90</b>	2.62	<b>142</b>	24	256	14.67
26.11.1996	<b>3.93</b>	<b>10.22</b>	4.48	<b>97</b>	14	162	15.61
16.12.1996	<b>2.36</b>	<b>7.96</b>	3.83	<b>75</b>	9	63	15.04
08.01.1997	<b>1.30</b>	<b>8.90</b>	6.30	<b>70</b>	5	26	17.14
Media	<b>2.53</b>	<b>8.94</b>	6.47	<b>158</b>	17	160	13.38
Minimo	<b>0.42</b>	<b>4.70</b>	2.62	<b>70</b>	5	26	8.60
Massimo	<b>6.60</b>	<b>15.90</b>	12.10	<b>331</b>	37	366	17.14
Campagna 1997-1998							
06.10.1997	<b>0.51</b>	<b>10.58</b>	10.40	<b>205</b>	12	224	13.13
22.10.1997	<b>0.46</b>	<b>10.72</b>	10.40	<b>181</b>	8	177	15.02
10.11.1997	<b>3.17</b>	<b>10.04</b>	4.80	<b>48</b>	11	236	15.08
25.11.1997	<b>5.75</b>	<b>14.27</b>	3.22	<b>35</b>	6	110	16.80
15.12.1997	<b>8.25</b>	<b>16.72</b>	2.92	<b>29</b>	9	211	22.62
Media	<b>3.58</b>	<b>12.47</b>	6.35	<b>100</b>	9	192	16.51
Minimo	<b>0.46</b>	<b>10.04</b>	2.92	<b>29</b>	6	110	13.13
Massimo	<b>8.25</b>	<b>16.72</b>	10.40	<b>205</b>	12	236	22.62
Media complessiva	<b>2.76</b>	<b>10.71</b>	6.50	<b>145</b>	15	165	15.57
Minimo complessivo	<b>0.27</b>	<b>4.70</b>	0.00	<b>29</b>	5	26	8.60
Massimo complessivo	<b>8.25</b>	<b>16.72</b>	13.90	<b>358</b>	37	366	22.62

Tabella 2 - Cv Sinopolese

Valutazione della stabilità biologica degli oli estratti dalle olive prelevate a diversi stadi di maturazione nell'arco di tre campagne olearie in osservazione

Successione dei prelievi	Acidità organica g%	Numero di Perossidi meq %.	(Valori medi)				
			Tempo di Induzione H	Polifenoli totali ppm	Caroteni ppm	Clorofille ppm	Resa in olio %
Campagna 1995-1996							
08.10.1995	<b>0.28</b>	<b>9.45</b>	8.40	<b>129</b>	54	401	5.81
23.10.1995	<b>0.39</b>	<b>10.57</b>	9.64	<b>146</b>	43	250	10.93
08.11.1995	<b>0.53</b>	<b>15.01</b>	7.30	<b>108</b>	34	183	12.10
20.11.1995	<b>0.94</b>	<b>16.32</b>	7.65	<b>176</b>	33	233	12.38
04.12.1995	<b>1.70</b>	<b>16.81</b>	5.74	<b>108</b>	29	368	13.46
15.12.1995	<b>1.94</b>	<b>18.22</b>	7.17	<b>97</b>	25	215	10.73
08.01.1996	<b>7.75</b>	<b>26.42</b>	1.70	<b>72</b>	20	211	16.63
Media	<b>1.94</b>	<b>16.12</b>	6.80	<b>119</b>	34	266	11.72
Minimo	<b>0.28</b>	<b>9.45</b>	1.70	<b>72</b>	20	183	5.81
Massimo	<b>7.75</b>	<b>26.42</b>	9.64	<b>176</b>	54	401	16.63
Campagna 1996-1997							
07.10.1996	<b>0.85</b>	<b>15.34</b>	6.68	<b>165</b>	54	662	4.54
23.10.1996	<b>1.83</b>	<b>16.01</b>	6.27	<b>138</b>	43	499	6.65
11.11.1996	<b>2.52</b>	<b>38.10</b>	4.90	<b>128</b>	34	439	9.41
26.11.1996	<b>1.61</b>	<b>20.88</b>	5.52	<b>172</b>	12	117	12.31
16.12.1996	<b>1.40</b>	<b>18.39</b>	6.50	<b>126</b>	11	93	20.65
08.01.1997	<b>1.91</b>	<b>24.80</b>	5.87	<b>91</b>	8	53	18.26
Media	<b>1.69</b>	<b>22.26</b>	5.96	<b>137</b>	27	311	11.97
Minimo	<b>0.85</b>	<b>15.34</b>	4.90	<b>91</b>	8	53	4.54
Massimo	<b>2.52</b>	<b>38.10</b>	6.68	<b>172</b>	54	662	20.65
Campagna 1997-1998							
06.10.1997	<b>0.47</b>	<b>7.10</b>	9.98	<b>92</b>	15	125	11.75
22.10.1997	<b>0.49</b>	<b>11.71</b>	5.95	<b>134</b>	10	95	21.02
10.11.1997	<b>0.62</b>	<b>8.39</b>	4.50	<b>156</b>	5	131	21.76
25.11.1997	<b>1.43</b>	<b>10.77</b>	3.80	<b>148</b>	7	112	22.68
15.12.1997	<b>7.06</b>	<b>29.44</b>	3.21	<b>41</b>	12	272	27.98
Media	<b>2.01</b>	<b>13.48</b>	5.49	<b>114</b>	10	147	21.04
Minimo	<b>0.47</b>	<b>7.10</b>	3.21	<b>41</b>	5	95	11.75
Massimo	<b>7.06</b>	<b>29.44</b>	9.98	<b>156</b>	15	272	27.98
Media complessiva	<b>1.87</b>	<b>17.43</b>	6.15	<b>124</b>	25	248	14.39
Minimo complessivo	<b>0.28</b>	<b>9.45</b>	1.70	<b>41</b>	5	53	4.54
Massimo complessivo	<b>7.75</b>	<b>38.10</b>	9.98	<b>176</b>	54	662	27.98

Il lavoro è stato condotto e curato dal Prof. Biagio Mincione direttore dell'Istituto di Microbiologia e Tecnologia Agraria della facoltà di agraria dell'Università degli Studi di Reggio Calabria.

Da un'attenta analisi dei dati analitici si può constatare che la scalarità nella maturazione delle olive comporta anche una sensibile variazione nei contenuti, con inevitabile incidenza sui relativi parametri.

Nel dettaglio, i dati analitici confermano la presenza di valori ottimali in corrispondenza di ben precisi intervalli di tempo in ognuna delle annate considerate, ciò consente di valutare periodi di tempo più opportuni per effettuare la raccolta delle olive e, quindi, ottenere oli biologicamente stabili, con i migliori incrementi nelle rese in olio. Ciò conferma che il protrarre la raccolta delle olive

per tempi lunghi comporta un accentuare del processo di irrancidimento idrolitico, dovuto alle ben note condizioni climatiche che si vengono a realizzare nell'areale considerato, con conseguente aumento dell'acidità organica e deprezzamento merceologico dell'olio prodotto.

Per quanto concerne i polifenoli totali, l'andamento evolutivo registrato nel triennio in osservazione, conferma che il valore medio è garante di una difesa interna dell'olio prodotto, ciò rappresenta un valido e positivo elemento di caratterizzazione qualitativa della produzione olearia della piana di Gioia Tauro.

## 8 - Conclusioni

Questa indagine ha consentito di verificare una serie di caratteristiche della produzione oleicola della piana di Gioia Tauro in particolar modo inerenti al contenuto in polifenoli totali e di trarre, quindi, utili indicazioni sulle prospettive di caratterizzazione del settore olivicolo locale .

Su tutti gli oli esaminati, le analisi chimiche inerenti alla determinazione dell'acidità e del numero di perossidi, hanno evidenziato che la quasi totalità della produzione di extravergini è posta su buoni livelli qualitativi quando vengono rispettati i tempi di raccolta e le tecniche estrattive. Nella valutazione dei risultati e tra l'altro da tener presente che non sempre le annate risultano esenti da attacchi di *Dacus Olea*.

E' da sottolineare in ogni caso un buon contenuto di polifenoli totali, pur presentando ampie oscillazioni tra i vari campioni, ci indica complessivamente un buon livello qualitativo della produzione.

Dalla correlazione dei polifenoli con l'epoca di raccolta, sembrerebbe che quest'ultima influenzi il contenuto degli stessi, infatti il protrarsi della raccolta determina una diminuzione sostanziale degli stessi.

Sicuramente, anche gli aspetti agronomici, incidono in maniera significativa sul contenuto in polifenoli e sulla qualità complessiva dell'olio. Sembra infine che questi composti presentino una variabilità significativa anche in relazione ai diversi areali di produzione e che quindi il loro profilo qualitativo e quantitativo sia legato al territorio.

Non è stato tuttavia possibile individuare quale o quali determinanti del territorio siano responsabili di questa variabilità.

La variabilità più significativa nella concentrazione in polifenoli totali è rappresentata dalla cultivar; questa indicazione può rappresentare un dato preliminare su cui sarebbe necessario svolgere approfondimenti mirati ad analizzare oli monovarietali coltivati nei diversi areali. In questo lavoro, è stata considerata come cultivar quella prevalente in ragione di almeno il 50% sul totale (cv Ottobratica), ignorando le altre varietà eventualmente presenti nell'olio. La

distribuzione delle varietà, inoltre, il più delle volte rispecchia quella degli areali il che rende imprescindibili i dati relativi e quindi le conclusioni che se ne possono trarre.

La variabilità nel contenuto di polifenoli, correlata alla tecnologia di estrazione non è stata analizzata, poiché le diverse tecniche sono rappresentate in misura non omogenea negli areali, quindi i dati non sono confrontabili.

Ciò offre sicuramente uno spunto per un'ulteriore prosecuzione di questo lavoro volta a valutare anche l'influenza della tecnologia di produzione sul contenuto di polifenoli, disponendo di campioni estratti in modo diverso nello stesso areale, come ulteriore elemento caratterizzante.

In conclusione, sembra emergere, a livello di ipotesi di lavoro, la possibilità di proporre i polifenoli come marcatori di tipicità e quindi di rintracciabilità dei diversi oli prodotti nella piana di Gioia Tauro.

Lo studio effettuato, si riferisce alle annate oleicole 2005-2006-2007-2008 e pur avendo ottenuto un risultato soddisfacente, non possiamo che considerarlo la base di partenza da cui sviluppare successivi studi per una completa caratterizzazione degli oli della piana.

Nell'ambito del progetto di caratterizzazione della produzione d'olio extravergine nella piana di Gioia Tauro, ai fini di valorizzare la filiera oleicola locale, a questo primo studio esplorativo dovrà seguire una indagine mirata volta alla caratterizzazione dei diversi fattori determinanti la variabilità della produzione tra i vari areali. Sarà quindi necessario effettuare indagini analitiche sugli oli monovarietalici affiancate da uno studio attento del clima e delle tecnologie di produzione. Resta fermo comunque un giudizio complessivamente positivo, nonostante le ovvie differenze riscontrate, sulla qualità degli oli extra vergini d'oliva di produzione calabrese, in quanto prodotti interessanti dal punto di vista nutrizionale per il loro buon contenuto in micronutrienti antiossidanti. Non bisognerebbe infine trascurare il fatto che il prodotto olio d'oliva, in Calabria, costituisce un rilevante contributo all'economia della regione. La Calabria, infatti, risulta essere la seconda regione italiana relativamente alla quantità di produzione.

## 9 - Appendice



**Foto 1 – Raccolta delle olive per scuotitura meccanica e reti**



**Foto 2 – Sistemazione non razionale di sosta delle olive in frantoio**



**Foto 3 – Sistemazione e trasporto razionale delle olive in frantoio**



Foto 4 – Olive sottoposte a lavaggio



Foto 5 – Sistema di molitura con molazze e stratificatore della pasta



**Foto 6 – Olio ottenuto per separazione centrifuga**

## 10 - Bibliografia

Amirante P., Dugo G., Gomes T. "Influenza dell'innovazione tecnologica sul miglioramento della qualità dell'olio extra vergine d'oliva" *Olivae* ,93,34-42 (2002).

Andrikopoulos N.K., Brueschweiler, H., Welber, H., C." HPLC analysis of phenolic antioxidants, tocopherols and triglycerides." *J Am. Oil. Chem. Soc.* 68: 359-364. (1991).

Angerosa F., D'Alessandro N., Kostantinou P., Di Giacinto L., GC-MS evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil. *J Agric. Food Chem.*, 43, 1802-1807, (1995).

Angerosa F., D'Alessandro N., Corona F., Mellerio G. " Characterization of phenolic and secoiricoids aglycons present in virgin olive oil by gas-chromatography ionization mass spectrometry" *J Chromatography A Vol 736*, 195-203 (1996).

Angerosa F., C. Basti, R.Vito "Virgin Olive Oil Volatile Compounds from Lipoxygenase Pathway and Characterization of some Italian Cultivars. *J Agric. Food Chem.* ,47,836-839 (1999).

Aparicio R., Morales M.T. and Alonso M.V .. " Relationship between volatile compounds and sensory attribute of olive oils by the sensory wheel". *J Am. Oil Chem. Soc.* 73, 1253-1264 (1996).

Baraldi P.G., Simoni D., Manfredini S., Menziani E "Preparation of 3,4-dihydroxyl-benzeneethanol: A Reinvestigation. *Liebigs Ann Chem*, 684-686 (1983).

Benincasa c., De Nino A., Lombardo N., Perri E., Sindona G., Tagarelli A. "Assay of Aroma Active Component of Virgin Olive Oils from Southern Italian Regions by SPME-GC/Ion Trap Mass Spectrometry" *J. Agric. Food Chem.*,51, 733-741 (2003).

Benzi G. "Il significato modulatorio e tossico delle perossidazioni endocellulari." In: Ossigeno, energia e radicali liberi (Edimac ed.), 58-71, Tecnografica Milanese, Milano (1988).

Berliner J. A., Heinecke J. W., "The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis." :*Free Rad. Biol. Med.* 20, 770-777 (1996).

Berra B. " I componenti minori dell'olio d'oliva: aspetti biochimico-nutrizionali". *Olivcae* ,73, 29-30 (1998).

Bierman E. L. Aterosclerosi e altre forme di arteriosclerosi. In: Harrison, Principi di Medicina Interna, vol I, 1336-1348 McGraw-Hill Libri Italia, Milano (1982).

Braga C., La Vecchia C., Franceschi S., Negri E., Parpinel M., Decarli A., Giacosa A., Trichopoulos D. "Olive oil, other seasoning fats, and the risk of colorectal carcinoma". *Cancer*, 82,448-453, (1998).

Bravo L "Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance". *Nutr. Rev.*, 56, 317-333, (1998).

Brenes M., Hidalgo F. J., García A., Rios J., García P., Zamora R., Garrido A.. "Pinoresinol and l-acetoxy-pinoresinol, two new phenolic compounds identified in olive oil" *J. Am. Oil Chem. Soc.* ,77, 715-720 (2000).

Cao G., Sofic E., Prior R. L. "Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure- activity relationships" *Free Radical Biol. Med.* ,22, 749-760 (1997).

Caponio F., Pasqualone A., Del Curatolo D., Bilancia M.T., Lamparelli F. "Influenza dei parametri tecnologici di lavorazione e delle caratteristiche morfo-fisiologiche delle drupe sulla qualità degli oli extra vergini d'oliva estratti". *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 77, 721-726 (2000).

Caponio F., Pasqualone A., Catalano P., Gomes T., Summo C. "Influenza della temperatura iniziale del frangitore sulla qualità degli oli extra vergini d'oliva estratti". *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 81, 19-22 (2003).

Cappelli – Vannucchi, *Chimica degli alimenti*, Ed. Zanichelli.

Carluccio M.A., Siculella L., Ancora M.A., Massaro M., Scoditti E., Storelli c., Visioli F., Distante A., De Caterina R. "Olive oil and Red Wine Antioxidant Polyphenols inhibit Endotelial Activation, Antiatherogenic Properties of Meditenanean Diet Phytochemicals". *Arteriocler. Thromb. Vasc. Biol.*, 23,622-629, (2003).

Cicoria M., et al. "Il gennoplasma dell'olivo nel Molise" Ed E.R.S.A.M., 1-64, (2000).

Cimato A. "Effect of agronomic factors on virgin olive oil quality" *Oliva*, 31, 20-31 (1990).

Cimato A., "Biodiversità in olivicoltura: la situazione italiana e la ricerca in Toscana" *Olio&Olio*, 7, (2002).

Cimato A., De Rinaldis G., Calogiuri A., Sani G." Il germoplasma olivicolo in

provincia di Lecce" Ed Camera di Commercio, Lecce, 1-90, **(2001)**.

Cimato A., Sani G., Attilio C., De Rinaldis G., Calogiuri A. "La biodiversità olivicola del territorio della provincia di Lecce". *Oliva*, 93, 21-26 **(2002)**.

Consiglio Oleicolo internazionale, Enciclopedia Mondiale dell'olivo, **(1997)**.

Cortesi N., Azzolini M., Rovellini P., Fedeli E. "I componenti minori polari degli oli vergini d'oliva: ipotesi di struttura mediante LC-MS". *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 72, 241-251 **(1995)**.

Cortesi J., Azzolini M., Rovellini P., "Dosaggio dei componenti polari minori (CMP) in oli vergini d'oliva". *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. 75, 543-550 **(1998)**.

Cortesi N., Rovellini P., Fusari P. "Dosaggio dei biofenoli degli oli vergini di oliva: idrossitirosole e tirosole, agliconi secoiricoidi, lignani e flavonoidi" *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 79, 145-150 **(2002)**.

Crieri W., Franco R., Lauro A., Orlando C. " *Gli Extravergini Calabresi*" *Guida agli oli Regionali di qualità*. **(2007)**

D'Auria R., Facendol M., Porrello V. "Filiera olio d'oliva." ISMEA Maggio **2003**

Della Ragione F., Cucciolla V., Borriello A., Della Pietra V., Pontoni G., Racioppi L., Manna C., Galletti P., Zappia V. "Hydroxytyrosol, a natural molecule occurring in olive oil, induce cytochrome c-dependent apoptosis". *Biochem. Biophys. Commun.*, 278, 733-739, **(2000)**.

Fidanza A., Costa Fidanza A., Pace V. "Le vitamine nella pratica medica" Ed Nuova Impronta, 4, 57-65 **(1994)**.

Filo della Rorre R., "L'Italia olivicola si presenta" *Olivae*, 93, 12-15, **(2002)**.

Frega N. "La composizione delle olive in funzione di cultivar, ambiente, maturazione e caratterizzazione dell'olio in Toscana." I.V.O.T., pp. 103-104. **(1994)**.

Garcia J.M., Sellar S., Carmen Perez-Camino M., Influence of fruit ripening on live oil quality. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 3516-3520. **(1996)**.

Halliwell B., J.M. C. Gutteridge. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. *Lancet*, 1396-1397. **(1984)**.

Harbome J. B. General procedures and measurement of total phenolics. In:

*Methods in plant biochemistry*, vol. 1,3-8. Academic Press Limited, San Diego. (1989).

Kiritsakis A. "Olive Oil", *American Oil Chemist's Society*. Champaign. IL. USA (1991).

Kohyama N., Nagata T., Fujimoto S., Sekiya K. "Inhibition of arachidonate lipoxygenase activities by 2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethanol, a phenolic compound from olives." *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 61, 347-350 (1997).

Le Grusse J, Watier B. "Le Vitamine: Dati Biochimici, Nutrizionali e Clinici. Ed Roche, 6, 81-100 (1997).

Lipworth L, Martinez ME, Angell J, Hsieh CC, Trichopoulos D "Olive oil and human cancer: an assessment of evidence" *Prev. Med*, 26, 181-190, (1997).

Machlin L. J, Bendich. A. Free radical damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J*,1, 441-445. (1987).

Malgorzata B. K. D .. , Richardson T., "Activated oxygen species and oxidation of food constituents." *CRC, Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Dicembre, 209-241. (1978).

Marcus R., Coulston Ann M., In Goodman & Gilman "Le basi farmacologiche della terapia". IX Ed. McGraw-Hill, 63, 1539-1541 (1997).

Martin-Moreno JM, Willet WC, Gorgojo L, Benegas JR, Rodriguez Artalejo F, Fernandez-Rodriguez JC, Maisonneuve P, Boyle P "Dietary fat, olive oil intake, and breast cancer risk". *Int J . Cancer*, 58, 774-780, (1994).

Mateos R., Espartero J. L., Trujillo M., Rios J. J, Leon-Camacho M., Alcludia F., Cert. A. "Determination of phenols, flavones, and lignans in virgin olive oils by solid phase extraction and High Performance Liquid Chromatography with diode array ultraviolet detection". *J. Agric. Food Chem.*,49, 2185-2192, (2001).

Mincione A., Poiana M, Taccone P. – "L'olio di Oliva vergine della provincia di Reggio Calabria". Laruffa Editore (2000).

Mip 22 Laboratorio Chimico Mercologico Azienda Speciale CCIAA Firenze

Mitscher L. A., Young M., Shankel D., Dou J-H., Steele L., Pillai S. P., "Chemoprotection: A review of the Potential Therapeutic Antioxidant Properties of Green Tea (*Camellia sinensis*) and Certain its Constituents. " *Med. Res. Rev.*, 17, 327-365, (1997).

Montedoro G., Garofolo L., Bertuccioli M. "Gli oli extravergini tipici: quali

prospettive?" *Industrie alimentari*, 549-553, (1986).

Montedoro G., Servili M., Baldioli M., Selvaggini R., Miniati E., Macchioni A. "Simple and hydrolizable compounds in virgin oil. 3. Spectroscopic characterizations of secoilicoids derivatives". *J. Agric. Food Chem.*, 41, 2228-2234, (1993).

Montedoro G.F., Servili M., Baldioli M., Magnarini C., Cossigiani L., Damiani P. "I Potenziali modelli che definiscono la tipicità degli Oli Extra Vergini di oliva ed i fattori che vi concorrono alla luce dell' attuazione della d.o.c. " *Industrie Alimentari*, 32,618-631, (1993).

Mousa Y.M., Gerasopoulos D., Metzidakis I, Kiritsakis A., Effect of Altitude on fruit and oil quality characteristics of "Mastoides" olives. *J. Sci. Agric.*, 71, 345-350 (1996).

Pannelli G., Alfei B., D'Ambrosio A., Rosati S., Fagiani F. "Varietà di olivo in Umbria" Ed Pliniana 1-98. (2000).

Petroni A.; Blasevich M.; Salami M.; Servili M.; Montedoro G.F.; Galli C. "A phenolic antioxidant extracted from olive oil inhibits platelets aggregation and arachidonic acid metabolism in vitro". *World Rev Nutr Diet*, 75, 169-172, (1994).

Pugliano G."La risorsa genetica dell'olivo in Campania" Ed Regione Campania", 1-69 (2000).

Quaglia G., Paoletti F., Finotti E., Beye C., Raffo A. "Antioxidant role of minor compounds in vegetables with parti colar attentino to oils" Recent Res. Devel. In *Nutrition Res.*, 2, (1998).

Regione Lazio Assessorato Sviluppo Del Sistema Agricolo e Del Mondo Rurale "L'olio d'oliva del Lazio" (2000).

Ridolfi M., S. Terenziani, M. Patumi, G. Fontanazza "Characterization of the lxygenases in some olive cultivars and detennination of their role in volatile compounds formation". *J Agric. Food Chem.* ,50, 835-839, (2002).

Romeo G., Uccella N .. Esperimenti di biomimesi con biofenoli di alimenti mediterranei. Atti del 2°congresso nazionale di chimica degli alimenti, 3, 121-126 (1995).

Roncero V., A. " Les polyphénol de l'huile d'olive et leur influence sur les caractéristiques de l'huile. *Rev. Fr. Corp Gras* ,25, 6-21, (1978).

Rovellini P., Cortesi N., Fedeli E. "Analisys of flavonoids from *Olea europea* by

HPLC-UV and HPLC-electrospray-MS". *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 74, 273-279, (1997).

ovellini P., Cortesi N. "Liquid chromatography-mass spectrometry in the study of europein and ligstroside aglycons in virgin olive oil: aldehydic, dialdehydic fonns ld their oxidized products" *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 79, 1-14 (2002).

Satue M. Teresa, Huang Shu-Wen and Edwin N. Frankel "Effect of natural Antioxidants in Virgin Olive Oil on Oxidative Stability of Refmed, Bleached, and *Deodorized Oil*". *JAACS*, 72, 1131-1137 (1995).

Servili M., Baldioli M., Miniati E., Montedoro G.F. "Antioxidant activity of new phenolic compounds extracted from virgin olive oil and their interaction with u-tocopherol e ~-carotene" *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 73, 55-59 (1996).

Servili M., Montedoro G. "Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality" *European Journal oJ Lipid Science and Technology*, 104, 602-613 (2002).

Solinas M.. "Analisi HRGC delle sostanze fenoliche di oli vergini di oliva in relazione al grado di maturazione e alla varietà delle olive." *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 64, 255-262, (1987).

Tiscomia E., Forina M., Evangelisti F. "Composizione chimica dell'olio di oliva e sue variazioni indotte dal processo di rettificazione." *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 59, 519-555. (1982).

Tonolo G. e Marzo S."Detenninazione della Vitamina E aggiunta e dei tocoferoli naturali negli oli di semi dietetici via HPLC" *Rivista Italalina delle Sostanze Grasse*, 66, 3-6 (1989).

Uccella N., Bisignano G, Tomaino A., " On the in vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol." *J Pharm. Pharmacol.*, 51, n. O, 971-974, (1999).

Vacca V., Battacone G., Piga A., Carta G., Agabbio M. "Studio di alcune caratteristiche compositive di oli extra vergini d'oliva sardi in relazione all'origine geografica" *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 77, 11-14 (1999).

Velasco J., Dobarganes C. "Oxidative stability of virgin olive oil" *Eur. J Lipid Sci. Technol.* ,104,661-676, (2002).

Visioli F, Galli C. "The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease : new finding". *Nutr. Rev.*,56, 142-147 (1998).

Visioli F., Bellosta S., Galli C. "Oleuropein, the bitter principle of olives, increases nitric oxide production from mouse macrophages". *Life Sci.*, 62, 451-456, (1998).

Visioli F., Galli C. "Olive Oil Phenols and Their Potential Effects on Human Health" *J Agric. Food Chem.*, 46, 4292-4296, (1998).

Willet WC, Sacks F, Trichopoulos A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Helsing E, Trichopoulos D "Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating". *Am. J. Clin. Nutr.*, 61, (Supp16), 1402s-1406s, (1995).

Wiseman H., Halliwell B. "Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progressive to cancer." *Biochem.J.*, 313, 1729,(1996).