

**PROGETTO PER INTERVENTI A SOSTEGNO DEI
PROCESSI DI INNOVAZIONE ORGANIZZATIVA
E DI PROCESSO PRODUTTIVO NEL SETTORE
DELLA COOPERAZIONE AGRICOLA E NEI
CONSORZI FORESTALI**

ACRONIMO DEL PROGETTO

LIFEFOROIL

TITOLO DEL PROGETTO

**Buone pratiche gestionali ed innovazioni
impiantistiche per la stabilizzazione in frantoio di
EVO**

Numero Istanza: N. 2020RTCOOPF00000013256204800000000001/354

CUP ARTEA

936814

Responsabile scientifico

Prof. Alessandro Parenti

FIRMA



RELAZIONE TECNICO-SCIENTIFICA

PARTNER: DAGRI

Obiettivi:

Il progetto ha come obiettivo il miglioramento a tutto tondo della conservabilità degli oli extravergini di oliva toscani e comprende:

lo sviluppo e la successiva introduzione di un dispositivo che consenta l'immissione di un gas tecnico all'interno delle due centrifughe presenti nei frantoi: decanter e separatore verticale;

Il dispositivo per l'immissione di azoto dovrebbe evitare/ridurre l'aggiunta di ossigeno disciolto all'olio extravergine di oliva prodotto, riducendo l'ossidazione dei composti fenolici e degli acidi grassi insaturi presenti nel prodotto e ritardando quindi la comparsa del difetto di rancido. Questo consentirebbe di aumentare la shelf-life dell'olio e di incrementare il periodo in cui un olio può essere commercializzato come extravergine.

Il progetto si propone inoltre di inertizzare i recipienti per lo stoccaggio dell'olio extravergine di oliva e di valutare l'effetto dell'inertizzazione in shelf-life.

Azione 1- Coordinamento tecnico e costituzione ATS

Per quanto riguarda questa azione la società di consulenza incaricata DREAM Italia si è occupata del coordinamento, della rendicontazione e dell'inserimento su ARTEA di tutto il materiale tecnico per tutti i partner. Inoltre, allo scopo di creare un partenariato stabile per l'attuazione del progetto è stata costituita un'Associazione Temporanea di Scopo (06/04/2022).

Azione A2 -Riduzione dei difetti ossidativi

L'olio extra-vergine di oliva, essendo composto principalmente di acidi grassi insaturi, durante la sua conservazione va incontro al fenomeno dell'irrancidimento. La comparsa percepibile di questo difetto prova il declassamento merceologico dell'olio di oliva da extra-vergine a vergine, con conseguenti danni economici per i produttori. È pertanto auspicabile ritardare il più a lungo possibile l'insorgenza del difetto. Dal punto di vista chimico, il difetto di rancido è un'ossidazione a carico degli acidi grassi insaturi che avviene, a partire dall'ossigeno presente nell'olio o che vi entra in contatto, mediante la formazione di perossidi. Tali molecole agiscono sugli acidi grassi mediante reazioni che si auto-propagano e possono essere fermate solo dal sacrificio dei composti antiossidanti presenti negli oli. Durante il processo di produzione, sono le

due centrifughe ad aggiungere la quasi totalità dell'ossigeno all'interno dell'olio e, pertanto, si vogliono testare gli effetti di un dispositivo inertizzante che impedisca o limiti tale aggiunta.

Quindi, l'obiettivo di questa fase è quello di ritardare l'insorgenza dei difetti legati all'ossidazione dell'olio extravergine di oliva. In particolare, si intende proteggere, tramite l'immissione di gas inerte nel processo, l'olio di oliva dagli effetti negativi delle due centrifugazioni necessarie per la sua produzione: la centrifugazione orizzontale (effettuata con il decanter) e la centrifugazione verticale (effettuata con il separatore).

L'azione A1 è pertanto suddivisa in 2 sotto-azioni:

A2.1 accoppiamento fra le centrifughe e gli iniettori di gas inerte

A2.2 ottimizzazione dell'uso di gas tecnico.

Azione A.2.1 - Accoppiamento fra le centrifughe e gli iniettori di gas inerte

Questa sotto-azione ha come obiettivo quello di realizzare dei dispositivi per l'introduzione di gas inerte all'interno del decanter e del separatore verticale e di accoppiarli alle due centrifughe.

In questa sotto azione sono stati realizzati gli accoppiamenti fra il dispositivo per la produzione di gas inerte e le centrifughe. Pertanto, è stato selezionato il dispositivo per la produzione dell'azoto ed è stata costruita la linea per condurre tale gas in pressione fino alle centrifughe.

Il generatore di azoto NITRO-GEN micro 16 (Barzagli generatori S.a.s.; via genova, 9 – 58100 Grosseto-Italy) è in grado di produrre azoto per mezzo di una particolare tecnica di separazione dei gas denominata P.S.A. (press swing adsorbation). La generazione dell'azoto è determinata dal passaggio di una certa quantità di aria attraverso il setaccio molecolare posto all'interno di ogni serbatoio.

Questo generatore può produrre azoto in quantità di 17 Nm³ e ad una pressione di 6 bar con una purezza del gas al 99,5%.

La linea è stata corredata delle opportune dotazioni di sicurezza e degli opportuni strumenti per la misura e la regolazione delle portate e delle pressioni del gas.

In contemporanea sono state effettuate le modifiche alle attrezzature predette (decanter e centrifuga) in modo da poterle collegare alla linea del gas inerte.

Azione A.2.2 - Ottimizzazione dell'uso di gas tecnico

In questa sotto-azione sono stati ottimizzati, con dei test su scala frantoio, i flussi di azoto necessari per l'inertizzazione delle due centrifughe.

Durante questa azione è stata valutata la riduzione in termini di ossigeno disciolto, mediante un'apposita misura effettuata direttamente in frantoio. Lo strumento, già in possesso del DAGRI. Le prove sono state condotte in numero appropriato di repliche, secondo un piano sperimentale definito prima della campagna olearia.

Questa sotto-azione ha un duplice obiettivo: i) l'ottimizzazione in frantoio dei flussi di azoto necessari per l'inertizzazione delle due centrifughe mediante la valutazione delle quantità di gas tecnico consumato e la misura della riduzione in termini di ossigeno disciolto nell'olio ottenuta; ii) la verifica in conservazione dei benefici qualitativi ottenuti con l'inertizzazione delle centrifughe. Nell'attività di ottimizzazione dei flussi saranno pertanto introdotte portate di azoto nel solo decanter, nel solo separatore verticale ed in entrambe le centrifughe.

La procedura è stata quella di inertizzare mediante un produttore di azoto, prima solo il decanter, poi solo il separatore e infine entrambi.

L'olio che usciva dal separatore è stato raccolto in una quantità di circa 3 litri per campione. Una volta raccolto il campione d'olio questo è stato travasato in un contenitore che per caduta faceva scendere l'olio attraverso un lettore di ossigeno disciolto.

La quantità d'olio di ogni campione era sempre la medesima, quantità tale da permettere al lettore di stabilizzare la misura.

Una volta fatta la misurazione il campione d'olio è stato filtrato direttamente in frantoio con un filtro a piastre e cartoni (cartoni V8).

Dopodiché i campioni d'olio filtrato sono stati conservati per poter effettuare le analisi chimiche, aromatiche e sensoriali, al tempo 0 e dopo 6 mesi dalla produzione.

Operativamente è stato immesso azoto nel decanter in misura di 160 l/min, corrispondenti a 10,6 litri di azoto per kg di pasta.

I campionamenti sono stati 18, dati da 3 repliche fatte su 6 diverse possibilità:

- Decanter non inertizzato, senza l'utilizzo del separatore
- Decanter inertizzato, senza l'utilizzo del separatore
- Decanter non inertizzato e separatore non inertizzato
- Decanter inertizzato e separatore non inertizzato
- Decanter non inertizzato e separatore inertizzato
- Decanter inertizzato e separatore inertizzato

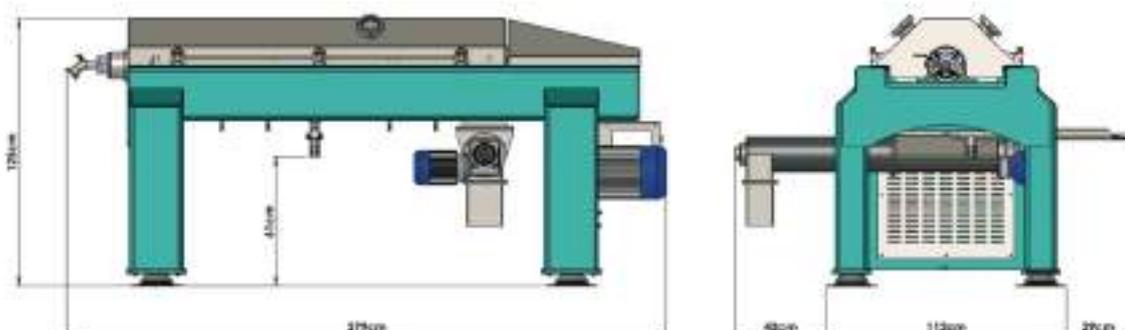
Le drupe sono state raccolte nella seconda metà di novembre tutte nello stesso giorno. La raccolta è stata fatta con agevolatori meccanici, le olive sono poi state messe in bins e portate al frantoio. La partita di olive era costituita da un blend delle tipiche varietà di olivo toscane (moraiolo, leccino, frantoio). Lo stato fisico e sanitario non era eccellente per via di una maturazione troppo avanzata, dovuta anche ad un ottobre particolarmente caldo, e a danni meccanici dovuti agli agevolatori a pettine. L'indice di maturazione può essere stimato a 5 (Uceda e Frias, 1975). L'invaiaitura delle drupe era completa e la polpa si presentava bianco-violaceo.

Macchinari utilizzati

Nel frantoio in questione le olive sono state lavorate su una linea di frangitura TEM modello flavour (MORI-TEM srl Via Leonardo da Vinci 59, 50028 Barberino Tavarnelle -FI), Italy) con una capacità oraria di 10-12 q.li/ora. Le olive una volta arrivate al frantoio sono state pulite da rami e foglie con un deramifogliatore a stelle in acciaio, dopodiché sono state lavate in una lavatrice con acqua raffreddata a 20 C° e frante in un frangitore a coltelli che girava ad una velocità di 3000 rpm, una volta ridotte a pasta vengono inviate a due gramole verticali con una capacità di 4 quintali l'una. La gramolazione è avvenuta ad una temperatura di 24 C° e con una durata di 7 minuti. A questo punto la pasta è stata inviata al decanter con una portata di 1000kg/ora.

Il decanter utilizzato è un decanter MORI-TEM DMT-12 (MORI-TEM srl Via Leonardo da Vinci 59, 50028 Barberino Tavarnelle -FI). Questo macchinario ha una capacità di lavorazione oraria di 10000-12000 kg di pasta d'olive. È un decanter progettato per lavorare paste a basse temperature ed è dotato di due uscite: una per l'olio e l'altra per l'acqua e la sansa. Il telaio portante è smaltato e tutte le parti a contatto con il prodotto sono in acciaio AISI 304 e materiale ad uso alimentare.

L'aggiunta dell'acqua nel caso della presente sperimentazione era in ragione dell'1,5 % e l'olio usciva dal decanter ad una temperatura compresa tra i 23 e i 25 C°.



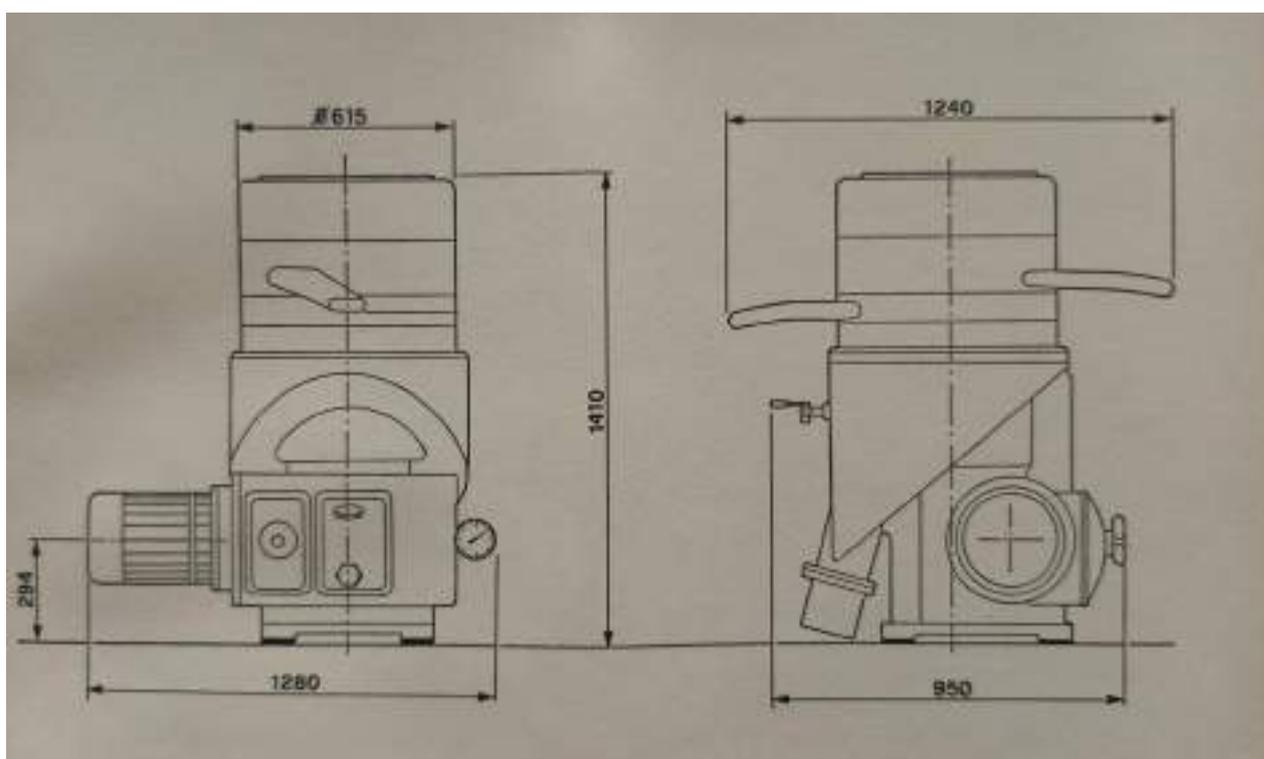
	PRODUZIONE OLIIVA HOURLY PRODUCTION	DIAMETRO TAMBURO DRUM DIAMETER	LUNGHEZZA PARTE CILINDRICA CYLINDRICAL PART LENGTH	POTENZA POWER REQUIREMENTS	RPM	PESO WEIGHT
	(kg/h)	mm	mm	HP		Kg
DMT-12	1000-1200	270	1255	8,5	4000	880

Disegno e caratteristiche tecniche del decanter utilizzato. Da "tem.it" consultato il 9 febbraio 2024

Il separatore utilizzato è un separatore Peralisi 3500/4000 SA (Peralisi MAIP S.P.A. Via Don Battistoni, 1; 60035 Jesi – Ancona - Italia). È una centrifuga verticale per la chiarificazione dell'olio mediante l'eliminazione di eventuali particelle solide e parte acquosa. Il separatore è costituito da un tamburo che gira ad una velocità compresa tra i 6500 e 7000 giri al minuto, al cui interno ci sono 90 dischi che servono alla separazione delle fasi. Questo separatore deve lavorare con l'aggiunta di circa un 10% d'acqua tiepida e può lavorare 3500 litri l'ora di mosto oleoso.

Tab. Caratteristiche tecniche del separatore, tabella presa dal manuale di uso e manutenzione del macchinario.

MOTORE	TAMBURO
Potenza: 11KW	Diametro utile massimo: 396mm
Numero di poli: 4	Velocità massima: 7000 rpm
Frequenza: 50/60 Hz	Peso della macchina: 1100kg
Tensione: 220/380 Volt	Peso del tamburo completo: 250 kg



Il filtro utilizzato è un filtro a piastre e cartoni Rover Colombo 18 OIL è costituito da un'elettropompa e da un sistema filtrante denominato sistema liquido a strati pressati. Questo filtraggio permette di ottenere ottimi livelli di purificazione dell'olio senza alterarne le caratteristiche fondamentali. I cartoni filtranti utilizzati in questo contesto sono i cartoni chiarificanti CKP V8. La grammatura di questo filtro è 1050 g/m².

Il generatore di azoto NITRO-GEN micro 16 (Barzagli generatori S.a.s.; via genova, 9 – 58100 Grosseto-Italy) è quello già descritto precedentemente.

Analisi statistiche

È stata condotta un'analisi della varianza (ANOVA) a un fattore per verificare differenze significative tra i campioni trattati (o non trattati) con azoto, per entrambe i tempi di conservazione. Il livello di significatività è stato impostato a $p < 0,05$. Il test Tukey HSD post hoc è stato applicato per valutare le differenze tra le medie, quando vi era un effetto significativo del trattamento. Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il pacchetto software XLStat e R Studio (versione 3.6.2).

Risultati

La produzione di olio EVO di qualità e la sua preservazione risulta sempre più importante.

L'elevato costo di produzione e la competizione con molti paesi esteri, alcuni dei quali assolutamente nuovi in quanto produttori di olio di oliva, suggeriscono di differenziare la produzione di olio d'oliva esaltando la qualità e la tipicità dei nostri prodotti.

In quest'ottica si inserisce questa attività che valuta gli effetti di un dispositivo capace di inertizzare uno dei processi più ossidativi nell'estrazione dell'olio d'oliva, la centrifugazione. L'interesse verso questo dispositivo viene anche dalla sua semplicità di applicazione su impianti industriali già esistenti, senza comportare pesanti modifiche con conseguente impatto economico.

Un dispositivo che consente l'iniezione di un gas tecnico durante le fasi di centrifugazione dell'Olio Extravergine di Oliva (EVOO) è stato testato in un impianto industriale, al fine di dimostrarne l'applicabilità e stabilire gli effetti di questo sistema sulla qualità dell'EVOO.

Di seguito si riportano i risultati di ogni parametro analizzato

I risultati sotto riportati fanno riferimento a campioni di olio ottenuti con diversi trattamenti. Nelle tabelle dei risultati, per semplicità, i sei trattamenti sono indicati in modo abbreviato, qui sotto viene riportata la legenda dei trattamenti:

- D NO Decanter non inertizzato senza uso del separatore
- D SI Decanter inertizzato senza uso del separatore
- D SI S NO Decanter inertizzato e separatore non inertizzato
- D SI S SI Decanter inertizzato e separatore inertizzato
- D NO S SI Decanter non inertizzato e separatore inertizzato
- D NO S NO Decanter non inertizzato e separatore non inertizzato

I risultati dell'analisi dei parametri chimici, aromatici e sensoriali, di questa azione sono riportati nell'azione A5.

Il dispositivo è risultato assolutamente efficace nel ridurre l'ossigeno disciolto all'interno dell'olio, ossigeno che è uno dei fattori fondamentali per i processi di degradazione dell'olio d'oliva. L'obiettivo di quest'applicazione è quella, appunto, di preservare le caratteristiche qualitative dell'olio in modo tale da aumentarne la shelf-life e quindi aumentare il periodo in cui si possa classificare come extravergine.

In un primo momento è stata valutata sia l'inertizzazione del decanter che del separatore, dopodiché, per l'eccessiva differenza nei metodi di lavorazione, il lavoro si è focalizzato solamente sulla tecnica estrattiva che prevedesse l'uso del separatore.

Data l'eterogeneità della materia di partenza e lo stato non ottimale con cui sono arrivate le olive in frantoio gli oli ottenuti non sono stati di qualità elevata, si è potuto tuttavia notare alcune importanti differenze nei diversi trattamenti di inertizzazione.

Con l'applicazione del sistema inertizzante il primo obiettivo desiderato è stato raggiunto, ovvero è stata osservata una significativa diminuzione della concentrazione di Ossigeno disciolto per i campioni per cui è stato introdotto il gas inertizzante all'interno del processo.

Sia le analisi chimiche che aromatiche dei composti disciolti hanno evidenziato che al tempo zero, ovvero dopo pochi giorni dall'estrazione non ci sono state differenze degne di nota nei diversi trattamenti. Questo risultato risulta plausibile dato che l'applicazione dell'azoto è volta a diminuire l'ossigeno disciolto nell'olio in modo tale che si inneschino nel tempo un minor numero di reazioni ossidative e quindi un invecchiamento più lento rispetto ad una lavorazione completamente a contatto con l'ossigeno. Il risultato è stato confermato dalle analisi svolte dopo sei mesi che hanno rilevato, là dove è stato inertizzato sia il decanter che il separatore, un minor numero di composti ossidati e una buona quantità di biofenoli e composti a sei atomi di carbonio che sono proprio correlati alle note verdi e di freschezza di un olio d'oliva.

Azione A3 Riduzione dei difetti Microbiologici

Al pari dei difetti ossidativi, anche la comparsa percepibile dei difetti di origine microbiologica all'interno di un olio di oliva provoca il suo declassamento da extra-vergine a vergine. I difetti in questione sono quelli legati alle sensazioni di "Riscaldo", "Avvinato" e "Muffa". Anche questi aspetti portano a un declassamento di carattere merceologico del prodotto finale.

Attraverso la soluzione di inertizzazione proposta nei due anni di progetto, è stato possibile assistere alla non comparsa di questi difetti come riportato nei risultati delle prossime attività, mentre non è stato previsto l'utilizzo di sistemi filtranti aggiuntivi per verificare l'assenza di tali difetti.

In questa attività sono stati utilizzati dei consumabili da laboratorio per i prelievi.

– Azione A4 Ottimizzazione della filiera di stabilizzazione

L'obiettivo di questa azione è quello di ottimizzare tutta la parte del processo deputata alla stabilizzazione degli oli, valutando sia i consumi di gas, sia gli effetti durante la conservazione degli oli. Per poter effettuare questa ottimizzazione sono necessari dei test operativi effettuati in frantoi. I test operativi effettuati in frantoio, dove gli aspetti operativi saranno valutati e mediante dei test di conservabilità, con le stesse modalità ed analisi descritte nella precedente azione A2.2.

Questa azione si è concentrata sull'inertizzazione del solo separatore ma con concentrazioni di azoto immesso differenti.

La scelta di inertizzare solo una parte del processo è strettamente legata ai risultati ottenuti dall'azione precedente e dall'analisi chimica sensoriale e aromantica dell'azione 5, che dimostrano che la copertura con azoto del separatore in molti casi è risultata sufficiente ad assicurare la qualità e la shelf life dell'olio.

Inoltre, da un punto di vista gestionale, la scelta di coprire solo una delle due centrifughe è sicuramente un modo per ottimizzare costi e tempi produttivi.

Le concentrazioni di azoto considerate per il secondo anno di sperimentazione sono:

- 80 L/min
- 300 L/min

Inoltre, sono stati prodotti dei campioni senza l'introduzione dell'azoto nel processo. Questo per verificare se ratei variabili di gas inerte influiscono in modo differente sugli oli ottenuti e sulla loro conservazione. Le analisi chimiche, aromatiche e sensoriali sono state svolte dopo pochi giorni dall'estrazione e ripetute al termine dei sei mesi di conservazione per vedere gli effetti ottenuti sulla shelf-life del prodotto.

Azione A5– Valutazioni chimiche e sensoriali (DAGRI)

Analisi chimiche ed aromatiche – relative all'azione A 2.2

I campioni d'olio ottenuti dall'esperimento sono stati analizzati da un punto di vista chimico, aromatico e sensoriale.

La concentrazione di ossigeno disciolto (mg/L) è stato misurato direttamente in frantoio alla temperatura da cui usciva dal separatore, cioè 25C°. La misurazione è stata fatta grazie un

analizzatore di ossigeno portatile, modello InPro 6850i (Mettler-Toledo S.p.A., Italy) e con una calibrazione dello strumento che si riferiva alla pressione atmosferica.

L'acidità libera (percentuale di acido oleico), il valore di perossidi (meq O₂ per kg di olio) e l'indice spettrometrico UV (K232, K268 e ΔK) sono stati determinati in laboratorio secondo il metodo ufficiale (EC, 2008). La frazione biofenolica è stata estratta e identificata seguendo il metodo ufficiale dell'International olive council (IOC). La componente fenolica è stata estratta utilizzando una soluzione metanolo: acqua 80:20 (v/v). Un'analisi HPLC è stata utilizzata usando un HPLC 1100 dotato di detector a matrice di diodi (DAD) accoppiato a spettrometro di massa (MS), quest'ultimo equipaggiato con un HP 1100 MSD API-electrospray (Agilent technologies, Palo Alto, CA, USA).

Una colonna porosa 120 EC-C18 (150 mm Å~ 3.0 mm id, 2.7-µm dimensione del particolato; Agilent technologies, Palo Alto, CA, USA) è stata usata per la separazione. In accordo col metodo ufficiale sono stati usati acetonitrile, acqua, e metanolo come solvente di eluzione seguendo il gradiente di eluzione descritto dall'IOC.

Il cromatogramma è stato registrato a 280nm, utilizzando acido siringico come standard interno, mentre la concentrazione fenolica è stata espressa in mg/kg di tirosolo.

L'identificazione e quantificazione dei VOCs (volatile organic compound) è stata eseguita mediante la microestrazione della fase solida dello spazio di testa accoppiata con una gascromatografia-spettrometria di massa (*HS-SPME-GC-MS*) usando il metodo dello standard interno multiplo, come descritto da Fortini et al. (2017).

Le analisi comprendevano la pesa di 4,3 grammi di campione di olio e 0,1 grammi di standard interno (ISTD mix) in una provetta da 20 mL con tappo a vite dotate di setto di silicone PTFE. Dopo un'equilibratura a 60 °C, una fibra SPME (50/30 µm DVB/CAR/PDMS, Supelco, St. Louis, USA) è stata esposta per 20 minuti nello spazio di testa della provetta sotto agitazione orbitale (500rpm). Quindi, la fibra è stata immediatamente desorbita per 2 minuti in una porta di iniezione splitless del gas cromatografo operante a 260 C°.

I composti sono stati identificati e quantificati (mg/kg) tramite comparazione del loro spettro di massa e con i tempi di ritenzione della soluzione ISTD, costituito dagli 11 seguenti composti: 3,4-dimetilfenolo, 4-metil-2-pentanololo, acido esanoico d11, 1-butanolo-d10, etil-acetato d8, toluene-d8, etil esanoato-d11, acido acetico 2,2,2-d3, 6-cloro-2- esanone, 3-octanone, and trimetil-acetaldeide. La stessa quantità di soluzione ISTD è stata aggiunta alla scala di calibrazione per normalizzare ogni concentrazione della curva di calibrazione della rispettiva soluzione ISTD.

L'identificazione tramite gas massa dei VOCs è stata fatta utilizzando una Trace CG-MS Thermo Fisher Scientific, equipaggiata con una colonna capillare (Zebron) 30 m Å~ 0.25 mm

ID, 0,25 μm df. La temperatura della colonna è stata controllata come segue: 36 C° per 10 minuti, aumentata a 156 C° a 4 C° al minuto, aumentato a 260 C° a 10 C° al minuto, diminuito a 250 C° a 10 C° al minuto, con un'attesa di due minuti. L'elio è stato usato come gas di trasporto con una portata di 0,8 mL/min. La temperatura sia della sorgente ionica che della linea di transfer era di 250 C°. Il detector di massa ha scansionato con un range di tra 30-330 Th e 1500 Th s^{-1} , con un'energia di ionizzazione di 70 eV.

La quantificazione dei VOC è stata eseguita comparando ogni spettro di massa e tempo di ritenzione con quelli degli standard iniettati. La soluzione di standard esterno conteneva 71 analiti messi in olio raffinato, il quale è stato preventivamente controllato di essere libero da interferenze. Gli analiti e i loro range di concentrazione sono stati selezionati basandosi su lavori precedenti riguardo l'olio extra vergine di oliva italiano.

L'analisi sensoriale dei campioni di olio è stata effettuata da un panel di 7 assaggiatori, che sono stati allenati secondo il metodo dell'IOC che è descritto nei regolamenti della EEC (EC, 2008).

Risultati azione A2.2

Tutti i campioni di olio d'oliva sono stati immediatamente caratterizzati per valutare gli effetti iniziali del dispositivo. Come riportato nella tabella, l'ossigeno disciolto è stato il primo parametro considerato i cui valori sono stati misurati direttamente in frantoio sui campioni di olio appena prodotti. Nella tabella sono riportati le concentrazioni misurate (media e la deviazione standard de tre repliche) per ciascun trattamento e combinazione.

Tab. concentrazioni misurate (media e la deviazione standard dei tre repliche) per ciascun trattamento e combinazione.

TRATTAMENTO	MEDIA	CONCENTRAZIONE	02	DISCIOLTO
	(mg/l)			
D NO	7,9	±	0,78	b
D SI	6,2	±	0,17	c
D NO - S SI	6,47	±	0,15	c
D NO - S NO	9,17	±	0,15	a
D SI - S NO	9,07	±	0,06	a
D SI - S SI	6,23	±	0,32	c

Come atteso, notiamo che il valore di O₂ disciolto aumenta con l'utilizzo del separatore, quindi utilizzando entrambe le centrifughe, e la massima concentrazione è stata riscontrata nei campioni prodotti senza alcun tipo di inertizzazione (9,17 mg/l). Coccodrillo.

Infatti, il valore minimo registrato è stato riscontrato nel trattamento in cui non viene usato il separatore ed il solo decanter viene inertizzato (6,2 mg/l). Sembra anche importante sottolineare che l'inertizzazione con azoto riduce la concentrazione di ossigeno, mitigando quindi l'effetto dannoso di possibile ossigenazione dell'olio. Questo si può vedere dal fatto che il valore di ossigeno disciolto nel trattamento completamente inertizzato è simile al valore dell'utilizzo di solo decanter inertizzato. È anche evidente che la fase di estrazione efficace da inertizzare per ridurre la concentrazione di ossigeno disciolto sia il separatore più che il decanter; infatti, quando inertizziamo solo il decanter l'ossigeno disciolto arriva ad un valore di 9,07 mg/l mentre quando inertizziamo solo il separatore arriviamo a 6,47mg/l

- Analisi chimiche t0

Per quanto riguarda le analisi chimiche effettuate dopo l'estrazione, ovvero in laboratorio, si riporta una tabella riassuntiva dei dati ottenuti per ogni parametro chimico /qualitativo analizzato. I Campioni provenienti da diversi trattamenti di inertizzazione e di estrazione sono risultati per alcuni parametri significativamente differenti ($p < 0.05$).

In particolare, una prima considerazione da fare è che la componente biofenolica totale è superiore quando non viene utilizzato il separatore. Questo risultato era piuttosto prevedibile dato che il separatore ha un'azione filtrante che va ad eliminare una parte del mosto oleoso, eliminando così sia composti positivi che negativi nell'olio. È interessante anche notare che l'inertizzazione del decanter ha l'effetto di diminuire il contenuto totale in polifenoli.

Inoltre, l'analisi ha trovato che il composto fenolico presente in maggior concentrazione era la forma dialdeidica dell'acido decarbossimetil-elenoico legata al 3,4-DHPEA (circa il 38%); il quale insieme con l'oleuropeina aglicone dialdeide (3,4-DHPEA-EA) sono i maggiori fattori che contribuiscono alla stabilità ossidativa dell'olio di oliva. (M. Servili et al., 2014).

Quindi utilizzando solamente il decanter abbiamo una quantità molto più elevata di biofenoli rispetto a quando viene impiegato il separatore, questa tendenza si riscontra, ovviamente anche nei singoli polifenoli, i quali sono meno presenti dopo l'utilizzo del separatore (3,4-DHPEA-EDA, oleuropeina, oleocantale ecc.).

Questa differenza è data un processo di lavorazione differente, risulterebbe quindi difficile paragonare parametri di olii provenienti da processi così differenti.

Per questo motivo nel proseguimento della dissertazione, ci si è concentrati solo sui trattamenti che prevedono l'uso del separatore, in modo tale da poter capire il contributo dell'azoto per il raggiungimento dei risultati ottenuti.

TRATTAMENTO	D no	D si	D si S no	D si S si	D no S si	D no S no
Acidi Grassi Liberi	0,38 ± 0,004 a	0,34 ± 0,038 abc	0,32 ± 0,02 bc	0,37 ± 0,033 ab	0,31 ± 0,012 c	0,31 ± 0,018 c
Numero di Perossidi	7,27 ± 1,404 a	7,42 ± 1,115 a	8,11 ± 1,15 a	8,26 ± 0,112 a	6,23 ± 0,416 a	7,95 ± 0,505 a
K 232	1,83 ± 0,011 a	1,82 ± 0,052 a	1,70 ± 0,07 ab	1,66 ± 0,079 b	1,61 ± 0,017 b	1,68 ± 0,058 b
K 268	0,11 ± 0,003 a	0,10 ± 0,005 ab	0,09 ± 0,01 b	0,08 ± 0,014 b	0,09 ± 0,010 ab	0,08 ± 0,002 b
Delta K	0,00 ± 0,000 a	0,00 ± 0,001 ab	0,00 ± 0,00 abc	0,00 ± 0,000 c	0,00 ± 0,000 bc	0,00 ± 0,000 abc
Biofenoli	485,12 ± 44,533 a	353,12 ± 39,256 b	257,93 ± 13,38 c	207,41 ± 10,650 c	264,55 ± 5,559 c	251,96 ± 11,929 c
Idrossitiroso (3,4 DHPEA)	3,57 ± 0,318 a	3,24 ± 0,703 a	1,88 ± 0,25 b	1,69 ± 0,305 b	1,55 ± 0,620 b	1,55 ± 0,354 b
Tiroso (p, HPEA)	3,78 ± 0,178 a	2,57 ± 0,682 b	1,21 ± 0,19 c	0,89 ± 0,179 c	1,33 ± 0,292 c	1,16 ± 0,227 c
Acido Vanillico+ Acido Caffeoico	0,81 ± 0,187 a	0,58 ± 0,058 a	0,82 ± 0,33 a	0,70 ± 0,260 a	0,54 ± 0,122 a	1,10 ± 0,306 a
Vanillina	2,01 ± 0,077 a	1,38 ± 0,283 ab	0,70 ± 0,17 c	1,00 ± 0,094 bc	1,22 ± 0,394 bc	1,24 ± 0,216 bc
Acido Para-coumarico	1,29 ± 0,329 a	0,73 ± 0,053 b	0,68 ± 0,19 b	0,75 ± 0,187 b	0,62 ± 0,023 b	0,63 ± 0,101 b
Idrossitiroilacetato	1,00 ± 0,216 a	0,96 ± 0,401 a	0,72 ± 0,23 a	0,79 ± 0,326 a	0,59 ± 0,087 a	0,85 ± 0,222 a
Acido Ferulico	5,05 ± 0,414 a	2,96 ± 0,361 b	2,61 ± 0,61 bc	1,78 ± 0,173 cd	1,78 ± 0,138 cd	1,42 ± 0,137 d
Acido Orto-coumarico	3,49 ± 0,498 a	2,23 ± 0,357 b	1,37 ± 0,31 bc	1,26 ± 0,366 c	1,78 ± 0,178 bc	1,58 ± 0,068 bc
Aglicone Decarbossimetiloleuropeina forma dialdeidica ossidata (3,4 DHPEA-EDA)	4,26 ± 1,375 a	3,24 ± 2,051 a	1,74 ± 0,37 a	1,31 ± 0,605 a	23,75 ± 37,024 a	1,71 ± 0,590 a
Oleuropeina	184,59 ± 36,434 a	102,82 ± 19,240 b	57,20 ± 3,37 bc	45,68 ± 1,605 c	46,07 ± 33,072 c	55,48 ± 5,806 bc
Aglicone Oleuropeina forma di aldeidica	11,63 ± 1,057 a	9,93 ± 1,650 ab	8,80 ± 3,65 ab	7,64 ± 0,857 ab	5,88 ± 1,482 b	5,31 ± 1,819 b
Tirosilacetato	10,81 ± 1,454 a	9,02 ± 1,069 ab	7,16 ± 1,50 bc	4,93 ± 0,624 c	4,73 ± 1,790 c	7,90 ± 0,809 abc
Aglicone Decarbossimetililgstr oside forma dialdeidica ossidata (oleocantale, p,HPEA-EDA)	5,55 ± 0,766 a	4,15 ± 0,885 ab	3,29 ± 0,76 ab	2,49 ± 1,196 b	2,54 ± 1,026 b	3,41 ± 0,316 ab
Pinoresinolo, 1 acetossi-pinoresinolo	11,69 ± 2,812 a	7,03 ± 0,997 a	7,09 ± 0,73 a	5,39 ± 0,733 a	26,89 ± 37,722 a	7,51 ± 1,254 a
Acido Cinnamico	71,94 ± 7,508 a	55,00 ± 4,225 ab	38,60 ± 1,40 b	35,60 ± 0,213 b	32,51 ± 24,415 b	39,92 ± 2,508 b
Aglicone Ligstroside forma di aldeidica	40,29 ± 0,841 a	36,99 ± 4,746 ab	29,20 ± 3,16 abc	22,02 ± 2,598 bc	18,27 ± 14,284 c	25,75 ± 0,765 abc
Aglicone oleuropeina forma aldeidica e idrossilica ossidata	2,74 ± 0,365 a	1,88 ± 0,220 ab	2,13 ± 0,76 ab	1,70 ± 0,259 ab	1,27 ± 0,535 b	1,45 ± 0,159 b
Luteolina (3,4 DHPEA-EA)	1,31 ± 0,245 a	1,52 ± 0,069 a	1,95 ± 1,14 a	1,02 ± 0,158 a	0,93 ± 0,237 a	1,11 ± 0,181 a
Aglicone Ligstroside forma aldeidica e idrossilica ossidata	20,15 ± 1,290 a	19,42 ± 1,755 a	17,59 ± 3,04 a	8,76 ± 1,898 a	20,82 ± 15,527 a	17,33 ± 1,271 a
Apigenina	6,59 ± 0,457 a	5,72 ± 0,755 a	4,83 ± 0,22 a	3,51 ± 0,234 a	7,72 ± 4,705 a	4,72 ± 0,292 a
Metil-luteolina (p, HPEA-EA)	45,71 ± 3,583 a	37,89 ± 1,899 ab	27,97 ± 1,65 ab	25,15 ± 0,939 ab	23,52 ± 17,615 b	28,56 ± 2,347 ab
Apigenina	23,75 ± 0,572 a	21,99 ± 0,725 ab	24,80 ± 2,60 a	17,09 ± 2,143 b	19,90 ± 2,105 ab	21,95 ± 1,750 ab
Metil-luteolina (p, HPEA-EA)	8,72 ± 0,949 a	8,38 ± 0,855 a	3,32 ± 1,65 c	4,87 ± 1,089 bc	5,87 ± 0,307 bc	7,32 ± 0,617 ab
Apigenina	3,21 ± 0,467 a	3,44 ± 0,440 a	2,30 ± 0,25 ab	1,84 ± 0,587 b	2,83 ± 0,363 ab	2,60 ± 0,437 ab
Metil-luteolina (p, HPEA-EA)	11,16 ± 0,393 ab	10,06 ± 0,131 bc	9,94 ± 0,34 bc	9,56 ± 0,621 c	11,63 ± 0,337 a	10,39 ± 0,776 abc

- Analisi chimiche trattamenti con uso del separatore (t0)

Osservando la tabella si può partire osservando che il numero dei perossidi è significativamente più basso quando il separatore viene inertizzato rispetto al trattamento “non inertizzato” (D no S si VS D no S no). Questo è un risultato prevedibile è già documentato in letteratura (P. Masella et al., 2012), dato dalla sostituzione dell’ossigeno con azoto all’interno del separatore.

TRATTAMENTO	D si S no	±	D si S si	±	D no S si	±	D no S no	±	Pr>F(Modello)	Significativo
Acidi Grassi Liberi	0,325 ab	± 0,02	0,373 a	± 0,004	0,307 b	± 0,011	0,309 b	± 0,033	0,022	Si
Numero di Perossidi	8,107 a	± 1,15	8,257 a	± 1,404	6,227 b	± 1,137	7,950 ab	± 0,980	0,019	Si
K 232	1,698 a	± 0,07	1,665 a	± 0,011	1,610 a	± 0,020	1,680 a	± 0,102	0,371	No
K 268	0,088 a	± 0,01	0,084 a	± 0,003	0,091 a	± 0,002	0,084 a	± 0,008	0,758	No
Delta K	0,003 a	± 0,00	0,002 a	± 0,000	0,002 a	± 0,000	0,002 a	± 0,001	0,061	No
Biofenoli	257,928 a	± 13,38	207,411 b	± 44,533	264,545 a	± 40,999	251,956 a	± 62,324	0,001	Si
Idrossitirolo (3,4 DHPEA)	1,878 a	± 0,25	1,693 a	± 0,318	1,552 a	± 0,308	1,550 a	± 0,650	0,735	No
Tirosolo (p, HPEA)	1,212 a	± 0,19	0,891 a	± 0,178	1,326 a	± 0,415	1,162 a	± 0,690	0,192	No
Acido Vanillico+Acido Caffeico	0,823 a	± 0,33	0,696 a	± 0,187	0,539 a	± 0,078	1,101 a	± 0,094	0,146	No
Vanillina	0,698 a	± 0,17	1,003 a	± 0,077	1,223 a	± 0,361	1,237 a	± 0,456	0,086	No
Acido Para-coumarico	0,683 a	± 0,19	0,747 a	± 0,329	0,625 a	± 0,116	0,627 a	± 0,056	0,702	No
Idrossitiroxilacetato	0,722 a	± 0,23	0,788 a	± 0,216	0,590 a	± 0,282	0,854 a	± 0,488	0,574	No
Acido Ferulico	2,614 a	± 0,61	1,782 ab	± 0,414	1,782 ab	± 0,820	1,419 b	± 0,410	0,012	Si
Acido Orto-coumarico	1,365 a	± 0,31	1,263 a	± 0,498	1,780 a	± 0,977	1,585 a	± 0,825	0,142	No
Aglicone Decarbossimetiloleuropeina forma dialdeidica ossidata (3,4 DHPEA-EDA)	1,740 a	± 0,37	1,311 a	± 1,375	23,747 a	± 1,441	1,709 a	± 2,349	0,413	No
Oleuropeina	57,200 a	± 3,37	45,678 a	± 36,434	46,072 a	± 21,187	55,476 a	± 23,912	0,764	No
Aglicone Oleuropeina forma di aldeidica	8,800 a	± 3,65	7,635 a	± 1,057	5,884 a	± 0,958	5,306 a	± 2,700	0,269	No
Tirosilacetato	7,164 a	± 1,50	4,927 a	± 1,454	4,727 a	± 1,603	7,898 a	± 0,970	0,036	Si
Aglicone Decarbossimetilglistroside forma dialdeidica ossidata (oleocantale, p,HPEA-EDA)	3,289 a	± 0,76	2,489 a	± 0,766	2,537 a	± 1,062	3,405 a	± 0,874	0,487	No
Pinoresinolo, 1 acetossi-pinoresinolo	7,090 a	± 0,73	5,390 a	± 2,812	26,887 a	± 3,029	7,511 a	± 0,308	0,497	No
Acido Cinnamico	38,601 a	± 1,40	35,598 a	± 7,508	32,507 a	± 4,845	39,921 a	± 9,579	0,882	No
Aglicone Ligstroside forma di aldeidica	29,200 a	± 3,16	22,023 a	± 0,841	18,267 a	± 0,954	25,753 a	± 7,330	0,368	No
Aglicone oleuropeina forma aldeidica e idrossilica ossidata	2,127 a	± 0,76	1,703 a	± 0,365	1,268 a	± 0,527	1,450 a	± 0,366	0,235	No
Luteolina	1,954 a	± 1,14	1,017 a	± 0,245	0,933 a	± 0,241	1,115 a	± 0,481	0,209	No
(3,4 DHPEA-EA)	17,594 a	± 3,04	8,764 a	± 1,290	20,823 a	± 1,134	17,328 a	± 2,495	0,354	No
Aglicone Ligstroside forma aldeidica e idrossilica ossidata	4,835 a	± 0,22	3,509 a	± 0,457	7,721 a	± 0,876	4,718 a	± 1,008	0,240	No
Apigenina	27,974 a	± 1,65	25,152 a	± 3,583	23,520 a	± 2,481	28,563 a	± 5,742	0,885	No
Metil-luteolina	24,800 a	± 2,60	17,089 b	± 0,572	19,903 ab	± 1,322	21,952 ab	± 0,231	0,014	Si
(p, HPEA-EA)	3,318 b	± 1,65	4,867 ab	± 0,949	5,866 ab	± 0,544	7,325 a	± 3,469	0,009	Si
	2,304 a	± 0,25	1,836 a	± 0,467	2,834 a	± 0,350	2,596 a	± 0,860	0,093	No
	9,944 b	± 0,34	9,561 b	± 0,393	11,634 a	± 0,664	10,395 ab	± 0,115	0,009	Si

Per quanto riguarda i diversi biofenoli si può notare pochi casi di differenze significative, tra cui: l’aglicone oleuropeina nella forma dialdeidica, caso in cui l’inertizzazione del separatore provoca una diminuzione di questo composto. Per quanto riguarda l’Apigenina, invece, notiamo che raggiunge il suo valore massimo (7,32 mg/L) nel caso in cui abbiamo inertizzazione sia del

decanter che del separatore. È qui importante ricordare che l'Apigenina è un flavonide naturalmente presente nell'olio che contribuisce alla sua funzione salutistica, avendo un potere benefico nella prevenzione oncologica (S. Sukhla et al., 2010).

Infine notiamo che il composto p,HPEA-EA ha un valore più elevato nel caso in cui il separatore viene inertizzato (11,36 mg/L), rispetto al trattamento "scoperto". Questa molecola è un polifenolo che è oggetto di studi per i suoi presunti effetti benefici sulla salute, incluso il potenziale ruolo nella prevenzione di alcune malattie croniche. Agliconi come 3,4-DHPEA-EDA, p-HPEA-EDA, p-HPEA-EA e 3,4-DHPEA-EA compaiono durante la spremitura a causa dell'idrolisi dell'oleuropeina, della dimetil-oleuropeina e della ligstroside e che il loro contenuto è proporzionale all'intensità dell'amaro e della piccantezza.

Nella tabella sottostante alcuni composti chimici sono stati raggruppati in classi e da queste classi sono stati calcolati dei coefficienti o indici.

Tabella Classi analisi chimiche.

TRATTAMENTO	D si S no	D si S si	D no S si	D no S no	Pr > F(Modello)	Significativo
Tirosolo + idrossitirosolo	3,089 a	2,584 a	2,878 a	2,712 a	0,610	No
Ac. Fenolici	9,032 a	7,981 a	7,806 a	8,273 a	0,409	No
Lignani	29,200 a	22,023 a	18,267 a	25,753 a	0,368	No
Flavoni	10,456 a	10,211 a	16,421 a	14,639 a	0,040	Si
Secoridoidi tot.	69,142 a	46,134 a	102,904 a	62,819 a	0,479	No
R-index	0,044 a	0,053 a	0,041 a	0,041 a	0,731	No
Oleuropeina derivati	28,375 a	16,696 a	50,849 a	28,486 a	0,458	No
Ligstroside derivati	35,722 a	25,190 a	49,275 a	32,127 a	0,477	No
Forme ossidate	52,384 a	34,063 a	93,329 a	71,645 a	0,505	No
Forme non ossidate	9,118 a	5,944 b	5,660 b	9,013 a	0,005	Si
Rapporto non ox/ox	0,177 a	0,175 a	0,113 a	0,143 a	0,425	No

Di particolare importanza per comprendere l'aspetto qualitativo e la freschezza di un olio sono l'R-index e il rapporto non ox/ox come riportato in letteratura (E. Armaforte et al., 2007)

L'R-index o R ratio è un rapporto:

$$R = \frac{\text{Tirosolo libero} + \text{idrossitirosolo libero}}{\text{Tirosolo libero} + \text{idrossitirosolo libero} + \text{secoridoidi derivati}}$$

Questo rapporto, come il valore dell'acidità dell'olio, può essere inversamente relazionato alla qualità dell'olio. Questo parametro permette una buona discriminazione tra oli di buona e scarsa

qualità. Infatti, il contenuto di tirosolo e idrossitirosolo risulta più basso negli oli più “freschi” e di miglior qualità (D. Fiorini et al., 2018).

In genere si può dire che un olio EVO con un indice R sotto 0,04 probabilmente è un olio di alta qualità mentre un olio con valori sopra 0,1 è molto probabilmente un olio di scarsa qualità, considerando lo studio di Fregapane et al. (2013), dove è stato dimostrato che lo sviluppo dell'idrolisi dei secoiridoidi è associato con la freschezza di un olio.

Per quanto riguarda il rapporto secoiridoidi non ossidati e ossidati, questo ci indica la freschezza o l'invecchiamento di un olio come è stato proposto da Armaforte et al. (2007).

Nella tabella sopra riportata le uniche classi che vengono significativamente diverse sono quella dei flavoni e delle forme non ossidate.

La poca differenza riscontrata nei diversi trattamenti era attendibile dato che stiamo parlando del tempo zero, ovvero subito dopo il campionamento. Infatti, l'utilizzo di azoto ha un effetto su reazioni che avvengono in un secondo momento e quindi sulla conservabilità del prodotto.

Le piccole differenze che si vedono qua sono da ascrivere all'eterogeneità del prodotto di partenza.

- Analisi aromatiche (t0)

Per quanto riguarda l'analisi degli aromi, qui sotto sono riportate le quantità relative ai 53 composti rinvenuti dalla gas massa. Come si può leggere in tabella, data l'elevata variabilità di contenuti nei campioni, non ci sono composti che presentano differenze significative nei quattro trattamenti.

In generale si può dire che l'aroma dell'olio di oliva è formato da una complessa miscela di composti volatili, aldeidi, alcoli, chetoni, idrocarburi ed esteri, i quali possono essere analizzati e quantificati attraverso GC-MS. Tra queste sostanze, le aldeidi (esanale, cis-3-esenale e trans-2-esenale), gli alcoli (esanolo, cis-3-esenolo e trans-2-esenolo) ed i loro acetil esteri (esil acetato e cis-3-esenil acetato), composti a sei atomi di carbonio (C6), costituiscono il 60-80% dei composti volatili degli oli vergini, ed il 2-trans-esenale è il componente principale. Le analisi quantitative dello spazio di testa hanno mostrato che le aldeidi e gli alcoli C6, insieme agli alcoli C5, sono i costituenti più importanti dell'aroma dell'olio di oliva, essendo i responsabili delle caratteristiche “note verdi”, ovvero conferiscono sensazioni di foglie, di erba appena tagliata, di pomodoro ecc (Angerosa et al., 2004). Questi composti si formano dagli acidi grassi polinsaturi attraverso una cascata di reazioni biochimiche collettivamente conosciute come “via della lipossigenasi”.

TRATTAMENTO	D no S no	D sì S sì	D no S sì	D sì S no	Pr > F(Modello)	Significativo
Heptane Results	0,135 a	0,108 a	0,109 a	0,101 a	0,570	No
Octane Results	0,415 a	0,322 a	0,340 a	0,299 a	0,432	No
Methyl acetato Results	0,317 a	0,049 a	0,261 a	0,238 a	0,511	No
Butanal, 3-methyl (isovaleraldehyde) Results	0,091 a	0,057 a	0,080 a	0,088 a	0,531	No
Ethanol Results	0,020 a	0,063 a	0,124 a	0,000 a	0,356	No
Propanoic acid, ethyl ester Results	0,013 a	0,013 a	0,017 a	0,004 a	0,855	No
3-Pentanone Results	0,096 a	0,137 a	0,067 a	0,101 a	0,093	No
Ethylvinyl Ketone Results	0,783 a	0,866 a	0,737 a	0,863 a	0,151	No
Butanoic acid, ethyl ester Results	0,006 a	0,006 a	0,006 a	0,005 a	0,859	No
Acetic acid, butyl ester Results	0,220 a	0,205 a	0,177 a	0,188 a	0,701	No
Hexanal Results	1,191 a	0,608 a	1,384 a	1,423 a	0,206	No
2-Pentanol Results	0,008 a	0,006 a	0,005 a	0,014 a	0,516	No
2-Pentenal, (E)- Results	0,039 a	0,043 a	0,039 a	0,052 a	0,525	No
Z3-hexenal Results	0,353 a	0,252 a	0,282 a	0,308 a	0,643	No
1-Penten-3-ol Results	0,011 a	0,012 a	0,011 a	0,011 a	0,636	No
2-Heptanone Results	0,312 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,510	No
Heptanal Results	1,006 a	0,161 a	0,234 a	0,101 a	0,577	No
limonene Results	0,377 a	0,118 a	0,103 a	0,071 a	0,587	No
E2-hexenal Results	19,744 a	21,582 a	20,068 a	21,344 a	0,205	No
1-Pentanol Results	0,000 a	0,002 a	0,001 a	0,000 a	0,573	No
Acetic acid, hexyl ester Results	0,412 a	0,269 a	0,320 a	0,374 a	0,380	No
2-Octanone Results	0,376 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,510	No
Octanal Results	1,907 a	0,155 a	0,226 a	0,104 a	0,544	No
E 2-penten-1-ol Results	0,082 a	0,076 a	0,049 a	0,009 a	0,803	No
Z3-esenil-acetato Results	0,703 a	0,644 a	0,450 a	0,181 a	0,742	No
2-Heptanol Results	0,009 a	0,002 a	0,003 a	0,000 a	0,480	No
E2-esenilacetato Results	0,051 a	0,056 a	0,046 a	0,027 a	0,805	No
E2-eptenale Results	0,165 a	0,196 a	0,337 a	0,129 a	0,606	No
5-Hepten-2-one, 6-methyl- Results	0,514 a	0,077 a	0,101 a	0,043 a	0,573	No
1-Hexanol Results	0,857 a	1,049 a	0,735 a	1,074 a	0,858	No
E3-hexen-1-ol Results	0,011 a	0,009 a	0,008 a	0,005 a	0,641	No
Z3-Hexen-1-ol Results	0,923 a	1,088 a	0,687 a	0,144 a	0,690	No
2-Nonanone Results	0,693 a	0,035 a	0,044 a	0,026 a	0,517	No
Nonanal Results	1,680 a	1,806 a	1,605 a	1,367 a	0,243	No
E-2-esenolo Results	3,296 a	6,240 a	2,055 a	0,364 a	0,633	No
2,4-Hexadienal Results	0,261 a	0,251 a	0,237 a	0,141 a	0,221	No
Acetic acid Results	0,000 a	0,261 a	0,068 a	5,379 a	0,114	No
1-Octen-3-ol Results	0,152 a	0,119 a	0,130 a	0,109 a	0,791	No
1heptanol Results	0,495 a	0,320 a	0,552 a	0,000 a	0,835	No
2,4heptadienal(ZE) Results	0,261 a	0,101 a	0,262 a	0,135 a	0,368	No
2,4heptadienal(EE) Results	0,042 a	0,014 a	0,221 a	0,004 a	0,037	Si
Benzaldehyde Results	0,628 a	0,080 a	0,104 a	0,060 a	0,548	No
1octanol Results	0,110 a	0,183 a	0,242 a	0,074 a	0,623	No
E2-decenal Results	1,927 a	1,068 a	1,414 a	1,287 a	0,166	No
nonanol Results	0,136 a	0,132 a	0,152 a	0,096 a	0,974	No
2-4 nonadienal Results	0,351 a	0,156 a	0,195 a	0,083 a	0,699	No
2,4 decadienal Results	0,218 a	0,282 a	0,063 a	0,501 a	0,168	No
Hexanoic acid Results	0,015 a	0,011 a	0,009 a	0,012 a	0,254	No
Phenol, 2-methoxy- Results	0,097 a	0,079 a	0,078 a	0,080 a	0,366	No
Phenylethyl Alcohol Results	0,276 a	0,269 a	0,260 a	0,268 a	0,976	No
Phenol Results	0,130 a	0,116 a	0,112 a	0,113 a	0,725	No
Phenol, 4-ethyl-2-methoxy- Results	0,167 a	0,137 a	0,136 a	0,139 a	0,310	No
4 ethyl phenol Results	0,132 a	0,112 a	0,102 a	0,116 a	0,178	No

I metaboliti microbici, invece, sono responsabili di alcuni difetti dell'olio, in particolare del difetto di muffa e avvinato. Questi composti sono da attribuire alla carica microbica naturalmente presente sulle olive e ad alcune condizioni del processo di estrazione. In particolare, questi difetti sono da attribuire ad un prolungato stoccaggio delle olive tra raccolta e frangitura e ad elevate temperature in questa fase. Anche la fase di frangitura e separazione nel decanter possono influenzare negativamente sulla presenza di questi metaboliti (A. Neugebauer et al., 2021). Infine, i composti ossidati, sono quei composti che derivano da processi di ossidazione. I 53 composti rinvenuti dall'analisi aromatica dell'olio sono stati raggruppati in cinque categorie. Qui sotto viene riportata la tabella relativa alle cinque classi di composti aromatici.

Tabella- Raggruppamenti composti aromatici al tempo zero.

TRATTAMENTO	D no S no	D sì S sì	D no S sì	D sì S no	Pr > F(Modello)	Significativo
C5	0,236 a	0,277 a	0,171 a	0,188 a	0,598	No
C6	27,129 a	34,862 a	25,714 a	24,870 a	0,255	No
MET.MICROB	1,732 a	1,669 a	1,795 a	2,648 a	0,084	No
COMP.OX	5,676 a	4,827 ab	5,523 a	3,964 b	0,026	Si
ALTRI	1,005 a	0,198 a	0,207 a	0,131 a	0,562	No

Dalla tabella sopra riportata possiamo osservare che l'unica classe che riporta differenze significative è quella dei composti ossidati. È molto interessante notare che i composti ossidati sono più bassi nel trattamento completamente inertizzato (4,82 mg/L) rispetto al trattamento completamente non inertizzato (5,67 mg/L), con una differenza del 17,8%.

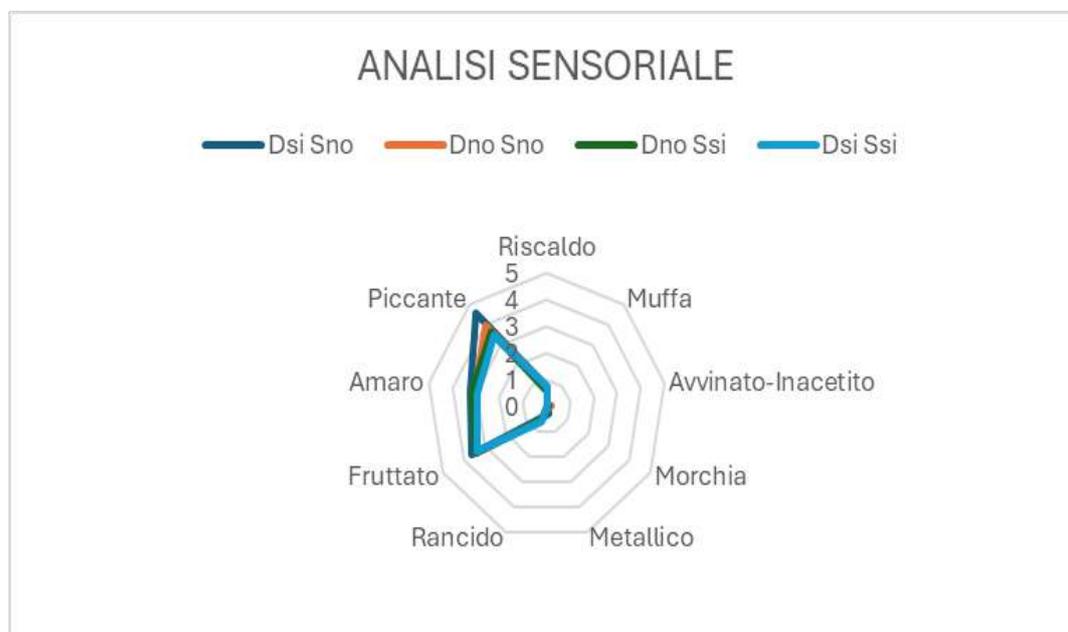
Il risultato è facilmente comprensibile dato che andando a diminuire la quantità di ossigeno disciolto nell'olio andiamo a limitare i processi che portano alla formazione di composti ossidati.

- Analisi sensoriale (t0)

Per quanto riguarda l'analisi sensoriale, fatta mediante assaggio a pochi giorni dall'estrazione non ha rilevato grandi differenze nei campioni presi in esame. Questo risultato era attendibile in quanto la materia di partenza era la stessa e le tecniche di lavorazione costanti.

Figura- Analisi sensoriale degli oli ottenuti con diversi trattamenti.

La variabile in esame era l'applicazione dell'azoto che però può avere un effetto sull'analisi temporale a mesi di distanza, in quanto influisce sulla conservabilità dell'olio. L'unica differenza che è risultata significativa è legata al piccante che è risultato più accentuato nei trattamenti



inertizzato.

I campioni senza trattamento con Azoto hanno presentato una tendenza maggiore a sviluppare difetti, sia per il rancido che per il riscaldamento.

Come gradimento complessivo, sono risultati più graditi i campioni per cui era prevista un'inertizzazione solo sul separatore verticale.

Risultati dopo 6 mesi di conservazione

- Analisi chimiche dopo sei mesi (t1)

Qui sotto viene riportata la tabella delle analisi chimiche dopo sei mesi. Il primo risultato che si può evidenziare è che i perossidi sono aumentati in tutti i trattamenti, ma se prendiamo in considerazione il trattamento tutto coperto e tutto scoperto notiamo un aumento percentuale minore quando viene utilizzato il gas inertizzante (28,9% contro 50,7%). I valori più alti di perossidi sono stati riscontrati per i campioni che non hanno subito nessuno trattamento con azoto.

Poi per quanto riguarda il 3,4 DHPEA-EDA si può notare come il valore più alto sia ottenuto nel caso di separatore inertizzato (51,71 mg/L) tendenza confermata anche in un altro studio (G. Angeloni et al 2022). È importante ricordare come questo composto sia la componente di maggioranza dei biofenoli totali presente nell'olio di oliva e come questo sia un elemento fondamentale per la stabilità ossidativa dell'olio.

Anche l'oleocantale segue lo stesso comportamento, ovvero ha concentrazione più alta là dove il separatore ha subito inertizzazione.

Per quanto riguarda altri biofenoli, hanno concentrazioni variabili che rendono difficile individuare un trend che li relazioni con l'inertizzazione.

Questa estrema variabilità si può attribuire al materiale lavorato che si presentava eterogeneo e in condizioni generali non ottimali.

Possiamo però notare che molti biofenoli (3,4 DHPEA-Eda; Aglicone oleuropeina, oleocantale, aglicone ligstroside ecc.) sono diminuiti in percentuali minori qualora sia stato utilizzato il gas inerte, specialmente sul separatore.

Questo dimostra come la quantità minore di ossigeno disciolto nell'olio porti una miglior stabilità ossidativa di quest'ultimo e quindi una conservabilità maggiore. Infatti, è ampiamente dimostrato come la componente biofenolica sia uno dei fattori chiave della stabilità ossidativa dell'olio EVO (Velasco, Joaquín & M. Dobarganes, 2002).

TRATTAMENTO	D si S no	D si S si	D no S si	D no S no	Pr > F(Modello)	Significativo
Acidi Grassi Liberi	0,325 a ± 0,01	0,341 a ± 0,02	0,305 a ± 0,02	0,315 a ± 0,00	0,135	No
Numero di Perossidi	10,865 ab ± 0,57	11,617 ab ± 0,84	10,030 b ± 0,24	11,979 a ± 0,84	0,031	Si
K 232	2,015 a ± 0,05	2,078 a ± 0,08	1,964 a ± 0,01	2,098 a ± 0,07	0,089	No
K 268	0,102 a ± 0,01	0,112 a ± 0,00	0,110 a ± 0,00	0,108 a ± 0,00	0,069	No
Delta K	0,002 a ± 0,00	0,318	No			
Biofenoli	242,468 a ± 20,76	185,051 b ± 22,09	221,177 ab ± 4,26	209,636 ab ± 9,74	0,014	Si
Idrossitiroso (3,4 DHPEA)	5,490 a ± 1,75	3,989 a ± 0,94	3,608 a ± 0,31	4,497 a ± 0,67	0,229	No
Tirosolo (p, HPEA)	2,823 a ± 0,97	2,290 a ± 0,16	2,079 a ± 0,18	2,554 a ± 0,26	0,380	No
Acido Vanillico+ Acido Caffeico	0,569 a ± 0,15	1,209 a ± 0,60	1,641 a ± 0,59	1,197 a ± 0,48	0,140	No
Vanillina	1,190 a ± 0,43	1,650 a ± 0,31	2,050 a ± 0,90	1,210 a ± 0,58	0,312	No
Acido Para-coumarico	1,143 a ± 0,24	0,727 a ± 0,24	0,950 a ± 0,08	1,046 a ± 0,23	0,169	No
Idrossitiroxilacetato	1,430 a ± 0,96	0,598 a ± 0,09	1,174 a ± 1,05	2,039 a ± 0,49	0,209	No
Acido Ferulico	1,814 a ± 1,08	1,439 a ± 0,27	1,588 a ± 0,73	1,257 a ± 0,28	0,783	No
Acido Orto-coumarico	1,943 a ± 0,62	2,022 a ± 0,56	1,956 a ± 0,13	2,034 a ± 0,36	0,993	No
Aglicone Decarbossimetiloleuropei na forma dialdeidica ossidata	1,206 a ± 0,57	0,825 a ± 0,30	0,490 a ± 0,00	1,266 a ± 0,57	0,175	No
(3,4 DHPEA-EDA)	50,452 ab ± 1,01	38,484 c ± 1,38	51,709 a ± 1,58	44,318 bc ± 4,34	0,001	Si
Oleuropeina	3,316 a ± 0,64	2,633 a ± 1,49	1,874 a ± 0,67	3,128 a ± 0,62	0,303	No
Aglicone Oleuropeina forma di aldeidica	8,733 a ± 2,12	7,406 ab ± 1,62	3,942 b ± 0,15	6,797 ab ± 1,71	0,033	Si
Tirosilacetato	1,763 a ± 0,83	2,280 a ± 0,72	1,415 a ± 0,20	1,421 a ± 0,32	0,291	No
Aglicone Decarbossimetilglicosid e forma dialdeidica ossidata	6,784 a ± 1,39	2,363 b ± 0,15	7,252 a ± 1,02	7,660 a ± 0,79	0,000	Si
(oleocantale, p,HPEA-EDA)	34,225 ab ± 2,53	31,489 b ± 3,24	38,890 a ± 1,47	35,110 ab ± 2,58	0,043	Si
Pinoresinolo, 1 acetossipinoresinolo	28,575 a ± 3,88	21,150 b ± 4,02	15,486 b ± 0,82	16,283 b ± 0,41	0,002	Si
Acido Cinnamico	1,327 a ± 0,19	1,036 a ± 0,62	0,845 a ± 0,10	1,218 a ± 0,95	0,752	No
Aglicone Ligstroside forma di aldeidica	1,652 a ± 1,25	0,862 a ± 0,34	0,955 a ± 0,19	2,450 a ± 1,69	0,306	No
Aglicone oleuropeina forma aldeidica e idrossilica ossidata	15,369 a ± 3,39	7,625 ab ± 2,99	8,438 ab ± 3,63	3,159 b ± 1,88	0,008	Si
Luteolina	3,998 b ± 0,59	2,321 b ± 0,64	5,126 b ± 3,16	11,884 a ± 0,94	0,001	Si
(3,4 DHPEA-EA)	37,864 a ± 3,28	29,944 b ± 2,56	38,385 a ± 1,68	32,178 ab ± 3,11	0,012	Si
Aglicone Ligstroside forma aldeidica e idrossilica ossidata	14,757 a ± 2,86	10,567 a ± 2,99	14,073 a ± 1,46	12,795 a ± 0,37	0,178	No
Apigenina	3,366 a ± 1,54	1,580 a ± 0,39	1,567 a ± 0,70	2,683 a ± 0,82	0,130	No
Metil-Luteolina	1,164 a ± 0,45	0,623 a ± 0,17	0,875 a ± 0,24	0,545 a ± 0,08	0,083	No
(p, HPEA-EA)	11,516 ab ± 1,61	9,937 b ± 1,04	14,810 a ± 2,11	10,907 ab ± 1,66	0,032	Si

Tabella- Classi chimiche dopo sei mesi.

TRATTAMENTO	D no S no	D si S si	D no S si	D si S no	Pr > F(Modello)	Significativo
Tirosolo + idrossitirosolo	7,051 a	6,279 a	5,687 a	8,313 a	0,251	No
Ac. Fenolici	10,000 a	8,681 a	10,204 a	9,416 a	0,420	No
Lignani	16,283 b	21,150 b	15,486 b	28,575 a	0,002	Si
Flavoni	15,112 a	4,525 b	7,568 b	8,528 b	0,000	Si
Secoroididi tot.	37,256 ab	32,282 b	37,023 ab	51,816 a	0,028	Si
R-index	0,159 a	0,166 a	0,135 a	0,138 a	0,384	No
Oleuropeina derivati	15,719 b	19,845 ab	16,478 b	30,797 a	0,020	Si
Ligstroside derivati	27,403 a	17,782 b	25,888 ab	28,683 a	0,014	Si
Forme ossidate	41,548 a	19,380 b	30,252 ab	36,783 a	0,002	Si
Forme non ossidate	9,247 a	8,268 a	4,896 a	10,385 a	0,093	No
Rapporto non ox/ox	0,232 ab	0,432 a	0,166 b	0,279 ab	0,017	Si

All'interno di queste classi possiamo notare alcune differenze significative nei valori:

- **L'oleuropeina** e i suoi derivati presentano concentrazioni più elevate nei campion in cui abbiamo completa inertizzazione rispetto a dove non c'è stata nessuna inertizzazione. L'oleuropeina e i suoi derivati conferiscono le principali caratteristiche organolettiche all'olio di oliva. L'assunzione di questi composti comporta numerosi benefici per la salute umana e di fatto sono alla base del claim salutistico legato agli oli di oliva.
- **Le forme ossidate** dei composti volatili sono molto meno presenti dove c'è stata completa inertizzazione rispetto al trattamento senza utilizzo di azoto. Più precisamente c'è una riduzione del 53,3 % con l'inertizzazione di entrambi i macchinari. Questo significa che l'applicazione di gas inerte ha preservato i vari composti volatili dal degrado ossidativo che questi incontrano durante la conservazione.
- **Il rapporto non ox/ox** conferma quanto sopra detto. Questo ci fornisce indicazioni sulla freschezza o meno di un olio da un punto di vista ossidativo. Un rapporto elevato indica un olio fresco, "giovane". Nel nostro caso, delle analisi fatte dopo sei mesi, vediamo che il valore più alto è raggiunto dal trattamento con inertizzazione totale. Questo a indicare che l'olio ottenuto mediante quel trattamento si è mantenuto più fresco rispetto agli altri.

- **Analisi aromatiche (t1)**

Di seguito viene riportata l'analisi aromatica effettuata dopo sei mesi dalla prima, analisi volta a evidenziare l'andamento nel tempo dei composti aromatici degli oli campionati.

Tra i composti che hanno differenze significative nei diversi trattamenti si riporta:

- **E2 – Esenale:** questo composto ha una concentrazione ben più elevata (23,95 mg/L) quando è stato inertizzato sia il decanter che il separatore rispetto al trattamento tutto “scoperto” (18,48 mg/L).

È importante ricordare che questo composto conferisce le caratteristiche note “verdi” di un olio di oliva, ed è l’aldeide a 6 atomi di carbonio più presente, rappresentando circa il 90% dei composti C6 in un olio EVO. È un prodotto della via della lipossigenasi e la sua presenza è inversamente proporzionale al grado di ossidazione di un olio. L’E2 – Esenale è descritto come un aroma di foglie verdi e la bassa soglia a cui si percepisce indica che è uno dei più importanti VOC (volatile organic compound) nella via della lipossigenasi, insieme ad altri contribuisce all’attributo fruttato di un olio di oliva (G. Angeloni et al. 2022).

Il fatto che dopo sei mesi sia più presente là dove è stata applicata inertizzazione significa che l’utilizzo di azoto sul separatore consente di mantenere più a lungo nel tempo le note di freschezza e di fruttato di un olio.

- **Nonanale:** Questo composto è associato al difetto di rancido in un olio. Possiamo vedere come questo composto è aumentato in tutti i trattamenti rispetto al tempo zero e questo è da attribuire al normale processo di decadimento qualitativo di un olio. I diversi trattamenti con o senza azoto presentano tutti piccole quantità di questo composto con leggere differenze tra di loro.
- **E2 – Decenale:** questo composto risulta significativamente più basso là dove decanter e separatore sono inertizzati, quindi c’è un effetto dell’inertizzazione indipendentemente che questa sia stata applicata al decanter o al separatore.

Tabella- Analisi aromatiche dopo sei mesi.

TRATTAMENTO	D no S no	D sì S sì	D no S sì	D sì S no	Pr > F(Modello)	Significativo
Heptane Results	0,097 a	0,088 a	0,117 a	0,094 a	0,180	No
Octane Results	0,297 a	0,248 a	0,372 a	0,212 a	0,063	No
2-Butanone Results	0,224 a	0,203 a	0,310 a	0,249 a	0,060	No
Methyl propionate Results	0,003 a	0,001 a	0,004 a	0,005 a	0,185	No
Butanal, 3-methyl (isovaleraldehyde) Results	0,076 a	0,071 a	0,063 a	0,076 a	0,877	No
Ethanol Results	0,108 a	0,040 a	0,098 a	0,063 a	0,222	No
Propanoic acid, ethyl ester Results	0,250 a	0,179 a	0,018 a	0,063 a	0,055	No
3-Pentanone Results	0,179 a	0,241 a	0,190 a	0,176 a	0,056	No
Ethylvinyl Ketone Results	0,754 ab	0,882 a	0,688 b	0,878 a	0,011	Si
Butanoic acid, ethyl ester Results	0,010 a	0,011 a	0,013 a	0,017 a	0,522	No
Acetic acid, butyl ester Results	0,142 a	0,186 a	0,072 a	0,079 a	0,712	No
Hexanal Results	2,107 a	3,236 a	1,812 a	1,973 a	0,496	No
2-Pentanol Results	0,010 a	0,008 a	0,016 a	0,010 a	0,296	No
2-Pentenal, (E)- Results	0,055 a	0,055 a	0,051 a	0,059 a	0,913	No
Z3-hexenal Results	0,237 a	0,224 a	0,235 a	0,237 a	0,997	No
1-Penten-3-ol Results	0,011 a	0,012 a	0,014 a	0,009 a	0,553	No
Heptanal Results	0,208 a	0,249 a	0,261 a	0,046 a	0,473	No
limonene Results	0,059 a	0,090 a	0,068 a	0,040 a	0,533	No
E2-hexenal Results	18,488 b	23,958 a	20,194 b	21,097 ab	0,008	Si
1-Pentanol Results	0,065 a	0,057 a	0,000 a	0,027 a	0,240	No
Acetic acid, hexyl ester Results	0,379 ab	0,395 a	0,344 b	0,407 a	0,014	Si
Octanal Results	0,104 a	0,175 a	0,196 a	0,003 a	0,495	No
E 2-penten-1-ol Results	0,770 a	0,023 a	0,031 a	0,150 a	0,097	No
Z3-esenil-acetato Results	1,681 a	0,369 ab	0,140 b	0,576 ab	0,041	Si
2-Heptanol Results	0,040 a	0,027 a	0,000 a	0,006 a	0,493	No
E2-esenilacetato Results	0,093 a	0,082 a	0,024 a	0,049 a	0,245	No
E2-epentale Results	0,472 a	0,527 a	0,627 a	0,129 a	0,456	No
5-Hepten-2-one, 6-methyl- Results	0,150 a	0,194 a	0,186 a	0,044 a	0,527	No
1-Hexanol Results	0,734 a	1,249 a	0,862 a	0,957 a	0,535	No
E3-hexen-1-ol Results	0,027 a	0,027 a	0,007 a	0,015 a	0,552	No
Z3-Hexen-1-ol Results	2,345 a	1,395 a	0,218 a	0,398 a	0,151	No
2-Nonanone Results	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,004 a	0,106	No
Nonanal Results	2,947 b	4,707 a	3,920 ab	3,220 b	0,004	Si
E-2-esenolo Results	4,966 a	9,648 a	0,588 a	2,973 a	0,197	No
2,4-Hexadienal Results	0,147 a	0,035 a	0,105 a	0,103 a	0,574	No
1-Octen-3-ol Results	0,175 a	0,145 a	0,104 a	0,139 a	0,634	No
1heptanol Results	0,019 b	0,000 b	0,000 b	1,793 a	0,007	Si
2,4heptadienal(ZE) Results	1,529 a	1,803 a	1,546 a	1,536 a	0,337	No
2,4heptadienal(EE) Results	0,273 a	0,397 a	0,437 a	0,098 a	0,481	No
Propanoic acid Results	0,003 a	0,006 a	0,000 a	0,001 a	0,522	No
Benzaldehyde Results	0,051 a	0,058 a	0,060 a	0,019 a	0,538	No
1octanol Results	0,183 a	0,186 a	0,148 a	0,078 a	0,577	No
E2-decenal Results	1,518 ab	1,273 b	1,667 a	1,507 ab	0,051	Si
nonanol Results	0,217 a	0,209 a	0,194 a	0,187 a	0,994	No
2-4 nonadienal Results	0,088 a	0,052 a	0,090 a	0,041 a	0,148	No
2,4 decadienal Results	0,069 b	0,225 ab	0,475 a	0,189 ab	0,029	Si
Hexanoic acid Results	0,013 a	0,019 a	0,020 a	0,019 a	0,192	No
Phenol, 2-methoxy- Results	0,078 b	0,086 a	0,078 b	0,079 b	0,003	Si
Phenylethyl Alcohol Results	0,233 a	0,285 a	0,246 a	0,264 a	0,142	No
Phenol Results	0,114 a	0,122 a	0,116 a	0,116 a	0,192	No
Phenol, 4-ethyl-2-methoxy- Results	0,132 a	0,137 a	0,135 a	0,135 a	0,443	No
4 ethyl phenol Results	0,118 a	0,108 a	0,117 a	0,114 a	0,294	No

Tabella- Raggruppamenti composti aromatici dopo sei mesi.

TRATTAMENTO	D no S no	D sì S sì	D no S sì	D sì S no	Pr > F(Modello)	Significativo
C5	1,090 a	0,396 a	0,302 a	0,430 a	0,128	No
C6	27,344 ab	39,523 a	22,748 b	28,274 ab	0,022	Si
MET.MICROB	1,848 a	1,767 a	1,525 a	1,478 a	0,297	No
COMP.OX	7,585 a	9,266 a	8,787 a	7,806 a	0,426	No
ALTRI	0,110 a	0,148 a	0,128 a	0,059 a	0,562	No

Osservando la tabella che raggruppa i diversi composto volatili in classi, possiamo vedere che i composti a 6 atomi di carbonio sono significativamente più presenti là dove c'è stata inertizzazione del processo. I composti a 5 atomi di carboni e specialmente quelli a 6 rappresentano la frazione di composti volatili più abbondanti negli oli EVO di alta e altissima qualità e sono fortemente correlati alle note “verdi” di un olio (C. Campestre et al. 2017).

- Analisi sensoriale (t1)

L'analisi sensoriale, fatta mediante assaggio trascorsi 6 mesi dall'estrazione, ha rilevato grandi differenze nei campioni presi in esame.

Emerge chiaramente un effetto conservativo e stabilizzante degli oli trattati con azoto, in quanto sono quelli che non hanno sviluppato eccessivi difetti e hanno mantenuto un valore di fruttato ancora percettibili e gradevole.

Figura- Analisi sensoriale degli oli ottenuti con diversi trattamenti.



I campioni senza trattamento con Azoto hanno presentato una tendenza maggiore a sviluppare difetti, sia per il rancido che per il riscaldamento.

Come gradimento complessivo, sono risultati più graditi i campioni per cui era prevista un'inertizzazione solo sul separatore verticale.

Analisi chimiche ed aromatiche – relative all'azione A 4

I campioni d'olio ottenuti dall'esperimento sono stati analizzati da un punto di vista chimico, aromatico e sensoriale.

La concentrazione di ossigeno disciolto (mg/L) è stato misurato direttamente in frantoio alla temperatura da cui usciva dal separatore, cioè 25°C. La misurazione è stata fatta grazie un analizzatore di ossigeno portatile, modello InPro 6850i (Mettler-Toledo S.p.A., Italy) e con una calibrazione dello strumento che si riferiva alla pressione atmosferica.

L'acidità libera (percentuale di acido oleico), il valore di perossidi (meq O₂ per kg di olio) e l'indice spettrometrico UV (K232, K268 e ΔK) sono stati determinati in laboratorio secondo il metodo ufficiale (EC, 2008). La frazione biofenolica è stata estratta e identificata seguendo il metodo ufficiale dell'International olive council (IOC). La componente fenolica è stata estratta utilizzando una soluzione metanolo: acqua 80:20 (v/v) . Un'analisi HPLC è stata utilizzata usando un HPLC 1100 dotato di detector a matrice di diodi (DAD) accoppiato a spettrometro di massa (MS), quest'ultimo equipaggiato con un HP 1100 MSD API-electrospray (Agilent technologies, Palo Alto, CA, USA).

Una colonna porosa 120 EC-C18 (150 mm Å~ 3.0 mm id, 2.7-µm dimensione del particolato; Agilent technologies, Palo Alto, CA, USA) è stata usata per la separazione. In accordo col metodo ufficiale sono stati usati acetonitrile, acqua, e metanolo come solvente di eluzione seguendo il gradiente di eluzione descritto dall'IOC.

Il cromatogramma è stato registrato a 280nm, utilizzando acido siringico come standard interno, mentre la concentrazione fenolica è stata espressa in mg/kg di tirosolo.

L'identificazione e quantificazione dei VOCs (volatile organic compound) è stata eseguita mediante la microestrazione della fase solida dello spazio di testa accoppiata con una gascromatografia-spettrometria di massa (*HS-SPME-GC-MS*) usando il metodo dello standard interno multiplo, come descritto da Fortini et al. (2017).

Le analisi comprendevano la pesa di 4,3 grammi di campione di olio e 0,1 grammi di standard interno (ISTD mix) in una provetta da 20 mL con tappo a vite dotate di setto di silicone PTFE. Dopo un'equilibratura a 60 ÅC, una fibra SPME (50/30 µm DVB/CAR/PDMS, Supelco, St. Louis, USA) è stata esposta per 20 minuti nello spazio di testa della provetta sotto agitazione

orbitale (500rpm). Quindi, la fibra è stata immediatamente desorbita per 2 minuti in una porta di iniezione splitless del gas cromatografo operante a 260 C°.

I composti sono stati identificati e quantificati (mg/kg) tramite comparazione del loro spettro di massa e con i tempi di ritenzione della soluzione ISTD, costituito dagli 11 seguenti composti: 3,4-dimetilfenolo, 4-metil-2-pentanololo, acido esanoico d11, 1-butanol-d10, etil-acetatod8, toluene-d8, etil esanoato-d11, acido acetico 2,2,2-d3, 6-cloro-2- esanone, 3-octanone, and trimetil-acetaldeide. La stessa quantità di soluzione ISTD è stata aggiunta alla scala di calibrazione per normalizzare ogni concentrazione della curva di calibrazione della rispettiva soluzione ISTD.

L'identificazione tramite gasmassa dei VOCs è stata fatta utilizzando una Trace CG-MS Thermo Fisher Scientific, equipaggiata con una colonna capillare (Zebron) 30 m Å~ 0.25 mm ID, 0,25 µm df. La temperatura della colonna è stata controllata come segue: 36 C° per 10 minuti, aumentata a 156 C° a 4 C° al minuto, aumentato a 260 C° a 10 C° al minuo, diminuito a 250 C° a 10 C° al minuto, con un'attesa di due minuti. L'elio è stato usato come gas di trasporto con una portata di 0,8 mL/min. La temperatura sia della sorgente ionica che della linea di transfer era di 250 C°. Il detector di massa ha scansionato con un range di tra 30-330 Th e 1500 Th s⁻¹, con un'energia di ionizzazione di 70 eV.

La quantificazione dei VOC è stata eseguita comparando ogni spettro di massa e tempo di ritenzione con quelli degli standard iniettati. La soluzione di standard esterno conteneva 71 analiti messi in olio raffinato, il quale è stato preventivamente controllato di essere libero da interferenze. Gli analiti e i loro range di concentrazione sono stati selezionati basandosi su lavori precedenti riguardo l'olio extra vergine di oliva italiano.

L'analisi sensoriale dei campioni di olio è stata effettuata da un panel di 7 assaggiatori, che sono stati allenati secondo il metodo dell'IOC che è descritto nei regolamenti della EEC (EC, 2008).

Risultati azione A.4

Tutti i campioni di olio d'oliva sono stati immediatamente caratterizzati per valutare gli effetti iniziali del dispositivo. Come riportato nella tabella, l'ossigeno disciolto è stato il primo parametro considerato i cui valori sono stati misurati direttamente in frantoio sui campioni di olio appena prodotti. Nella tabella sono riportati le concentrazioni misurate (media e la deviazione standard de tre repliche) per ciascun trattamento e combinazione.

Tab. concentrazioni misurate (media e la deviazione standard dei tre repliche) per ciascun trattamento e combinazione.

TRATTAMENTO	MEDIA CONCENTRAZIONE O ₂ DISCIOLTO (mg/L)		
80 L/min	6.77	± 0.21	b
300 L/min	5.73	± 0.06	c
no Azoto	7.73	± 0.15	a

Come atteso, notiamo che il valore di O₂ disciolto aumenta con senza l'utilizzo di azoto, infatti la massima concentrazione è stata riscontrata nei campioni prodotti senza alcun tipo di inertizzazione (7.7 mg/l).

Il valore minimo registrato è stato riscontrato nel trattamento in cui il separatore viene inertizzato con più portata di azoto (5,7 mg/l). Sembra anche importante sottolineare che l'inertizzazione con azoto riduce la concentrazione di ossigeno, mitigando quindi l'effetto dannoso di possibile ossigenazione dell'olio.

- Analisi chimiche t0

Per quanto riguarda le analisi chimiche effettuate dopo l'estrazione, ovvero in laboratorio, si riporta una tabella riassuntiva dei dati ottenuti per ogni parametro chimico /qualitativo analizzato. I Campioni provenienti da diversi trattamenti di inertizzazione e di estrazione sono risultati per alcuni parametri significativamente differenti ($p < 0.05$).

Tabella- parametri chimico qualitativi

	TRATTAMENTO			P	Significativo
	no azoto	80 l/min	300 l/min		
Acidità	0.137 a	0.137 a	0.140 a	0.952	No
perossidi	7.100 a	5.467 b	5.633 b	0.025	Si
K232	1.823 a	1.810 ab	1.747 b	0.042	Si
k268	0.147 ab	0.163 a	0.137 b	0.019	Si

Gli indici ossidativi di qualità, come il numero di perossidi e gli indici spettrofotometrici, mostrano valori inferiori nei campioni in cui è stato aggiunto azoto. L'effetto più significativo si

riscontra nei campioni trattati con la portata maggiore di azoto, mentre nei campioni trattati con una portata intermedia si osservano valori intermedi.

Questo risultato è particolarmente rilevante poiché dimostra l'efficacia immediata del trattamento con azoto nel rallentare il processo di ossidazione dell'olio. Tuttavia, è importante notare che i campioni non trattati con azoto presentano comunque valori ben al di sotto dei limiti normativi, a conferma dell'elevata qualità della materia prima e del processo di lavorazione.

Per quanto riguarda la componente biofenolica, i risultati sono riportati nella tabella successiva.

E' da notare in questo caso che solo pochi composti hanno subito una variazione di concentrazione a seconda o meno che siano stati trattati con l'azoto, ma che in generale e ne conferma anche la somma dei composti non ci sono variazioni significative al tempo 0 nella concentrazione dei composti biofenolici.

Tabella- parametri chimici relativi ai composti fenolici

Composti	TRATTAMENTO			P	Significativo
	no azoto	80 l/min	300 l/min		
Idrossitirolo (3,4 DHPEA)	1.103 a	2.105 a	1.518 a	0.072	No
Tirolo (p, HPEA)	1.162 b	2.049 a	1.859 ab	0.021	Si
Acido Vanillico+ Acido Caffeoico	0.732 a	0.638 a	0.633 a	0.817	No
Vanillina	1.044 a	1.598 a	1.014 a	0.518	No
Acido Para-coumarico	1.288 a	0.649 a	1.068 a	0.285	No
Idrossitiroilacetato	1.588 a	0.579 a	1.205 a	0.095	No
Acido Ferulico	1.150 a	0.961 ab	0.589 b	0.018	Si
Acido Orto-coumarico	3.555 a	1.234 a	2.296 a	0.270	No
Aglicone Decarbossimetiloleuropeina forma dialdeidica ossidata	6.898 a	7.098 a	7.597 a	0.826	No
Aglicone Decarbossimetiloleuropeina forma dialdeidica (3,4 DHPEA- EDA)	58.960 ab	70.678 a	52.339 b	0.041	Si
Oleuropeina	55.326 a	87.818 a	65.645 a	0.141	No
Aglicone Oleuropeina forma di aldeidica	42.565 a	30.667 a	27.140 a	0.178	No
Tiroilacetato	5.415 a	5.151 a	5.506 a	0.991	No
Aglicone Decarbossimetilligstroside forma dialdeidica ossidata	9.892 a	11.348 a	10.134 a	0.783	No
Aglicone Decarbossimetilligstroside forma dialdeidica (oleocantale, p,HPEA-EDA)	35.564 a	41.746 a	34.851 a	0.310	No
Pinoresinolo, 1 acetossi- pinoresinolo	96.383 a	93.968 a	100.959 a	0.875	No
Acido Cinnamico	5.217 a	7.795 a	7.532 a	0.512	No
Aglicone Ligstroside forma di	5.963 a	8.958 a	5.987 a	0.330	No

aldeidica					
Aglicone oleuropeina forma aldeidica e idrossilica ossidata	9.483 a	8.716 a	8.927 a	0.945	No
Luteolina	3.494 a	4.829 a	3.351 a	0.746	No
Aglicone oleuropeina forma aldeidica e idrossilica (3,4 DHPEA-EA)	49.724 a	57.617 a	63.451 a	0.314	No
Aglicone Ligstroside forma aldeidica e idrossilica ossidata	31.712 a	32.612 a	36.877 a	0.411	No
Apigenina	5.309 a	7.764 a	6.375 a	0.249	No
Metil-luteolina	1.111 a	0.871 a	1.226 a	0.433	No
Aglicone Ligstroside forma aldeidica e idrossilica (p, HPEA-EA)	9.026 a	7.168 a	8.152 a	0.160	No
BIOFENOLI TOTALI	443.663 a	494.616 a	456.232 a	0.640	No

- Analisi composti aromatici (t0)

Per quanto riguarda l'analisi degli aromi, qui sotto sono riportate le quantità relative ai composti rinvenuti dalla gas massa. Come si può leggere in tabella, data l'elevata variabilità di contenuti nei campioni, non ci sono composti che presentano differenze significative nei trattamenti subito dopo l'estrazione.

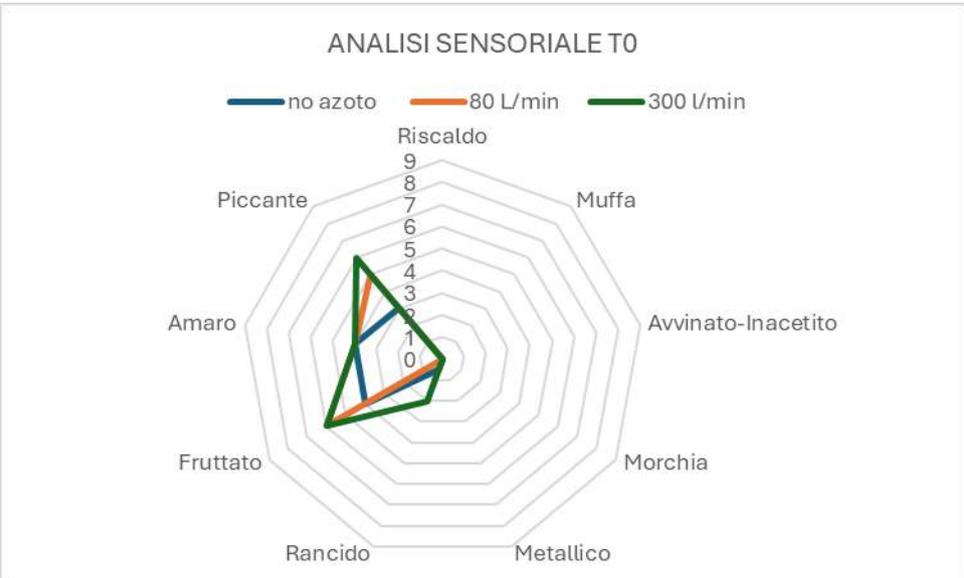
Composti	TRATTAMENTO			P	Significativo
	CT	80N	300N		
propanol	0.690 a	0.684 a	0.683 a	0.399	No
methanol	19.311 a	14.991 a	14.325 a	0.581	No
Butanal, 3-methyl	0.077 a	0.066 a	0.049 a	0.267	No
Ethanol	18.048 a	9.932 a	16.009 a	0.780	No
Propanoic acid, ethyl ester	0.001 a	0.001 a	0.003 a	0.257	No
Ethylvinyl Ketone	2.387 a	2.374 a	2.353 a	0.899	No
2-Pentanol	0.028 a	0.029 a	0.029 a	0.705	No
2-Pentenal, (E)-	0.100 a	0.094 a	0.089 a	0.516	No
Z3-hexenal	0.670 a	0.691 a	0.716 a	0.901	No
1butanolo 2 methyl + 3 methyl	0.320 a	0.321 a	0.372 a	0.049	Si
limonene	0.006 a	0.008 a	0.006 a	0.309	No
E2-hexenal	19.594 a	19.095 a	20.597 a	0.271	No

E 2-penten-1-ol	0.069 a	0.081 a	0.066 a	0.440	No
2-Heptanol	0.009 a	0.004 a	0.003 a	0.397	No
Z3-esenil-acetato	0.116 a	0.129 a	0.113 a	0.332	No
Z2-penten-1-ol	0.030 a	0.026 a	0.023 a	0.242	No
E2-esenilacetato	0.017 a	0.017 a	0.017 a	0.877	No
5-Hepten-2-one, 6-methyl-	0.038 a	0.036 a	0.037 a	0.300	No
1-Hexanol	0.102 a	0.103 a	0.117 a	0.943	No
Z3-Hexen-1-ol	0.274 a	0.285 a	0.264 a	0.751	No
E-2-esenolo	0.395 a	0.404 a	0.405 a	0.968	No
2,4-Hexadienal	0.391 a	0.367 a	0.382 a	0.509	No
Acetic acid	2.167 a	2.076 a	2.117 a	0.958	No
2,4heptadienal(E,E)	0.019 a	0.047 a	0.014 a	0.054	No
Benzaldehyde	0.097 a	0.097 a	0.097 a	0.603	No
1octanol	0.024 a	0.020 a	0.024 a	0.430	No
nonanol	0.067 a	0.059 a	0.061 a	0.114	No
E2-decenal	0.494 a	0.458 a	0.389 a	0.682	No
2-4 nonadienal	0.075 a	0.050 b	0.049 b	0.003	Si
Phenol, 2-methoxy-	0.056 a	0.055 a	0.056 a	0.405	No
Phenylethyl Alcohol	0.109 a	0.109 a	0.108 a	0.744	No
Phenol	0.104 a	0.090 a	0.090 a	0.279	No
Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	0.109 a	0.108 a	0.108 a	0.726	No
4 ethyl phenol	0.064 a	0.058 a	0.061 a	0.907	No

- Analisi sensoriale (t0)

L'analisi sensoriale, condotta attraverso l'assaggio a due giorni dall'estrazione, ha evidenziato differenze significative tra i campioni esaminati. In particolare, gli oli trattati con azoto si distinguono per un profilo sensoriale meno fruttato e piccante rispetto agli altri. Alcuni assaggiatori hanno inoltre rilevato un lieve difetto di rancido nei campioni non trattati con azoto.

Figura- Analisi sensoriale degli oli ottenuti con diversi trattamenti.



Risultati dopo 6 mesi di conservazione

- Analisi chimiche (t1)

Per quanto riguarda le analisi chimiche effettuate dopo l'estrazione. Gli indici ossidativi di qualità, come il numero di perossidi e gli indici spettrofotometrici, mostrano valori significativamente inferiori nei campioni in cui è stato aggiunto azoto. L'effetto più significativo si riscontra nei campioni trattati con la portata maggiore di azoto, mentre nei campioni trattati con una portata intermedia si osservano valori intermedi.

Questo risultato è particolarmente rilevante poiché dimostra l'efficacia immediata del trattamento con azoto nel rallentare il processo di ossidazione dell'olio.

Tuttavia, è importante notare che i campioni non trattati con azoto presentano comunque valori ben al di sotto dei limiti normativi, a conferma dell'elevata qualità della materia prima e del processo di lavorazione. Questo probabilmente giustifica il fatto che dopo 6 mesi, su questi parametri qualitativi, non vi sono particolari differenze significative tra i trattamenti, probabilmente perché questi parametri a 6 mesi si sono già stabilizzati, comunque ripeto si parlava di olive di alta qualità.

	Trattamento			P	Significativo
	No azoto	80 L/min	300 L/min		
Acidi Grassi Liberi	0.129 a	0.152 a	0.149 a	0.103	No
Numero di Perossidi	10.324 a	9.161 a	9.238 a	0.568	No
K 232	2.263 a	2.178 a	2.135 a	0.315	No
K 268	0.168 a	0.165 ab	0.161 b	0.036	Si
Delta K	0.003 a	0.004 a	0.003 a	0.342	No

Dall'analisi del profilo fenolico è emerso che al tempo 0, solo pochi composti hanno subito una variazione di concentrazione a seconda che sia stato immesso azoto nel processo. Tuttavia, dopo 6 mesi si hanno risultati positivi sui singoli composti. In generale si ha una maggiore conservazione delle forme secoiridoidiche non-ossidate. Queste sono derivati di Oleuropeina e Ligstroside nelle forme ossidate, e si vede che con l'utilizzo di azoto permette di controllare la formazione di questi composti, mentre laddove non si utilizza N₂, il primo puntino dei grafici si registra un aumento nel tempo.

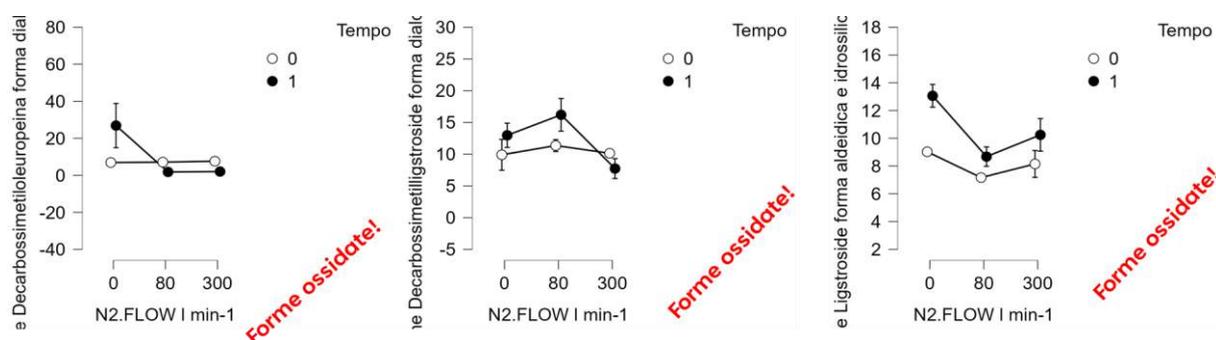
	Trattamento			P	Significativo
	No azoto	80 L/min	300 L/min		
Idrossitirosolo (3,4 DHPEA)	2.261 b	7.115 a	4.151 ab	0.019	Si
Tirosolo (p, HPEA)	2.945 a	5.030 a	2.474 a	0.131	No
Acido Vanillico+ Acido Caffeico	1.192 a	1.245 a	1.542 a	0.775	No
Vanillina	1.469 a	2.261 a	1.721 a	0.516	No
Acido Para-coumarico	1.100 a	1.491 a	2.687 a	0.350	No
Idrossitirosilacetato	1.114 a	1.689 a	1.900 a	0.464	No
Acido Ferulico	1.589 a	1.654 a	1.189 a	0.339	No
Acido Orto-coumarico	2.902 a	1.225 a	1.773 a	0.102	No
Aglicone Decarbossimetiloleuropeina forma dialdeidica ossidata	26.856 a	1.807 a	2.014 a	0.068	No
Aglicone Decarbossimetiloleuropeina forma dialdeidica (3,4 DHPEA-EDA)	21.537 a	43.192 a	31.043 a	0.214	No
Oleuropeina	22.746 a	6.579 a	8.522 a	0.270	No
Aglicone Oleuropeina forma di aldeidica	34.791 a	68.485 a	53.340 a	0.320	No
Tirosilacetato	13.908 a	14.546 a	11.005 a	0.873	No
Aglicone Decarbossimetilligstroside forma dialdeidica ossidata	12.965 a	16.194 a	7.726 a	0.069	No
Aglicone Decarbossimetilligstroside forma dialdeidica (oleocantale, p,HPEA-EDA)	31.294 a	35.718 a	30.485 a	0.540	No
Pinoresinolo, 1 acetossi-pinoresinolo	46.269 a	47.216 a	40.781 a	0.821	No
Acido Cinnamico	10.227 a	9.937 a	8.648 a	0.900	No
Aglicone Ligstroside forma di aldeidica	25.192 a	34.227 a	30.023 a	0.694	No
Aglicone oleuropeina forma aldeidica e idrossilica ossidata	16.957 a	24.308 a	18.542 a	0.265	No
Luteolina	3.873 a	5.983 a	3.936 a	0.277	No
Aglicone oleuropeina forma aldeidica e idrossilica (3,4 DHPEA-EA)	65.738 a	70.869 a	61.129 a	0.855	No

Aglicone Ligstroside forma aldeidica e idrossilica ossidata	45.575 a	44.022 a	41.805 a	0.853 No
Apigenina	5.210 a	5.356 a	2.880 a	0.363 No
Metil-luteolina	2.750 a	1.061 a	1.779 a	0.119 No
Aglicone Ligstroside forma aldeidica e idrossilica (p, HPEA-EA)	13.058 a	8.679 a	10.242 a	0.394 No
BIOFENOLI TOTALI	415.405 a	459.888 a	379.445 a	0.602 No

Confronto contenuto fenolico a t0 e dopo 6 mesi (t1)

Dall'analisi del profilo fenolico è emerso che al tempo 0, solo pochi composti hanno subito una variazione di concentrazione a seconda che sia stato immesso azoto nel processo. Tuttavia, dopo 6 mesi si hanno risultati positivi sui singoli composti.

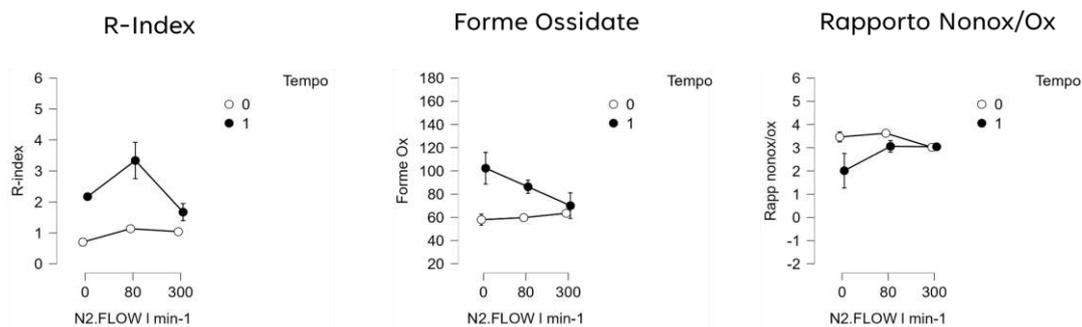
In generale si ha una maggiore conservazione delle forme secoiridoidiche non-ossidate. Queste sono derivati di Oleuropeina e Ligstroside nelle forme ossidate, e si vede che con l'utilizzo di azoto permette di controllare la formazione di questi composti, mentre laddove non si utilizza N2, il primo puntino dei grafici si registra un aumento nel tempo.



Confronto indici di degradazione a t0 e dopo 6 mesi (t1)

Anche gli indici di ossidazione confermano quanto osservato sui secoiridoidi, che all'aumento di azoto immesso si ha un minore formazione di forme ossidate e un miglior controllo del rapporto non ox/ox, che nel caso di separatore non inertizzato si sposta verso le forme ossidate, come si può notare nella figura sottostante.

Indici di degradazione



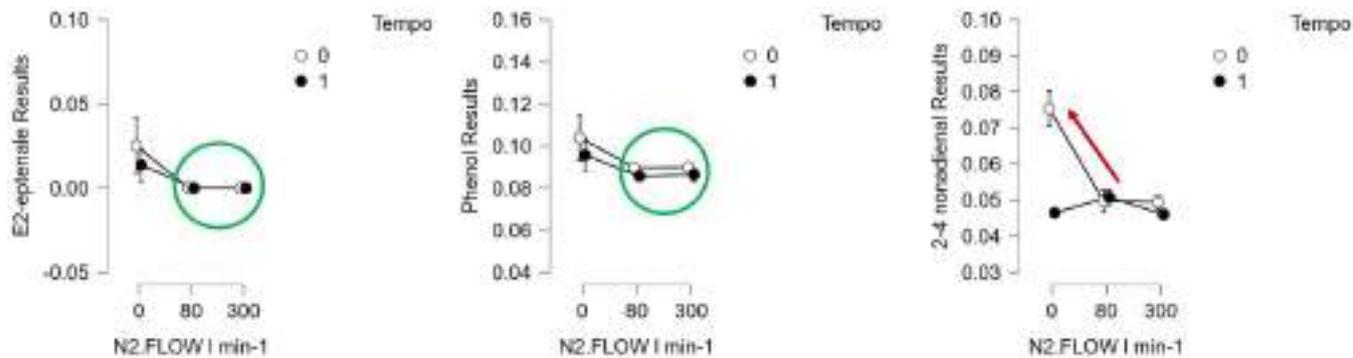
- **Analisi Aromatiche (t1)**

Composti	TRATTAMENTO			P	Significativo
	CT	80N	300N		
propanol	0.690 a	0.684 a	0.683 a	0.399	No
methanol	19.311 a	14.991 a	14.325 a	0.581	No
Butanal, 3-methyl (isovaleraldehyde)	0.077 a	0.066 a	0.049 a	0.267	No
Ethanol	18.048 a	9.932 a	16.009 a	0.780	No
Propanoic acid, ethyl ester	0.001 a	0.001 a	0.003 a	0.257	No
Ethylvinyl Ketone	2.387 a	2.374 a	2.353 a	0.899	No
2-Pentanol	0.028 a	0.029 a	0.029 a	0.705	No
2-Pentenal, (E)-	0.100 a	0.094 a	0.089 a	0.516	No
Z3-hexenal	0.670 a	0.691 a	0.716 a	0.901	No
1butanolo 2 methyl + 3 methyl	0.320 a	0.321 a	0.372 a	0.049	Si
limonene	0.006 a	0.008 a	0.006 a	0.309	No
E2-hexenal	19.594 a	19.095 a	20.597 a	0.271	No
E 2-penten-1-ol	0.069 a	0.081 a	0.066 a	0.440	No
2-Heptanol	0.009 a	0.004 a	0.003 a	0.397	No
Z3-esenil-acetato	0.116 a	0.129 a	0.113 a	0.332	No
Z2-penten-1-ol	0.030 a	0.026 a	0.023 a	0.242	No

E2-esenilacetato	0.017 a	0.017 a	0.017 a	0.877	No
5-Hepten-2-one, 6-methyl-	0.038 a	0.036 a	0.037 a	0.300	No
1-Hexanol	0.102 a	0.103 a	0.117 a	0.943	No
Z3-Hexen-1-ol	0.274 a	0.285 a	0.264 a	0.751	No
E-2-esenolo	0.395 a	0.404 a	0.405 a	0.968	No
2,4-Hexadienal	0.391 a	0.367 a	0.382 a	0.509	No
Acetic acid	2.167 a	2.076 a	2.117 a	0.958	No
2,4heptadienal(E,E)	0.019 a	0.047 a	0.014 a	0.054	No
Benzaldehyde	0.097 a	0.097 a	0.097 a	0.603	No
1octanol	0.024 a	0.020 a	0.024 a	0.430	No
nonanol	0.067 a	0.059 a	0.061 a	0.114	No
E2-decenal	0.494 a	0.458 a	0.389 a	0.682	No
2-4 nonadienal	0.075 a	0.050 b	0.049 b	0.003	Si
Phenol, 2- methoxy-	0.056 a	0.055 a	0.056 a	0.405	No
Phenylethyl Alcohol	0.109 a	0.109 a	0.108 a	0.744	No
Phenol	0.104 a	0.090 a	0.090 a	0.279	No
Phenol, 4-ethyl-2- methoxy-	0.109 a	0.108 a	0.108 a	0.726	No
4 ethyl phenol	0.064 a	0.058 a	0.061 a	0.907	No

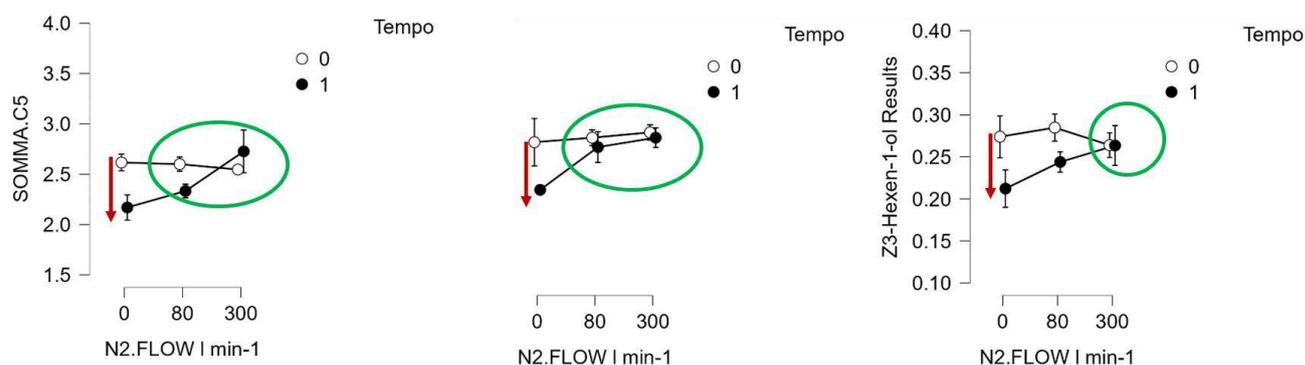
Confronto tra concentrazione aromatiche dei composti di origine ossidativa a t0 e dopo 6 mesi (t1)

Si riscontrano delle differenze legate al tempo, che ha portato a un aumento di concentrazioni o alla riduzione di altri. L'effetto del fattore portata è stato osservato per alcuni composti legati all'ossidazione, anche qui con una riduzione all'aumento della portata di azoto.



Confronto tra concentrazione aromatiche dei composti del fruttato a t0 e dopo 6 mesi (t1)

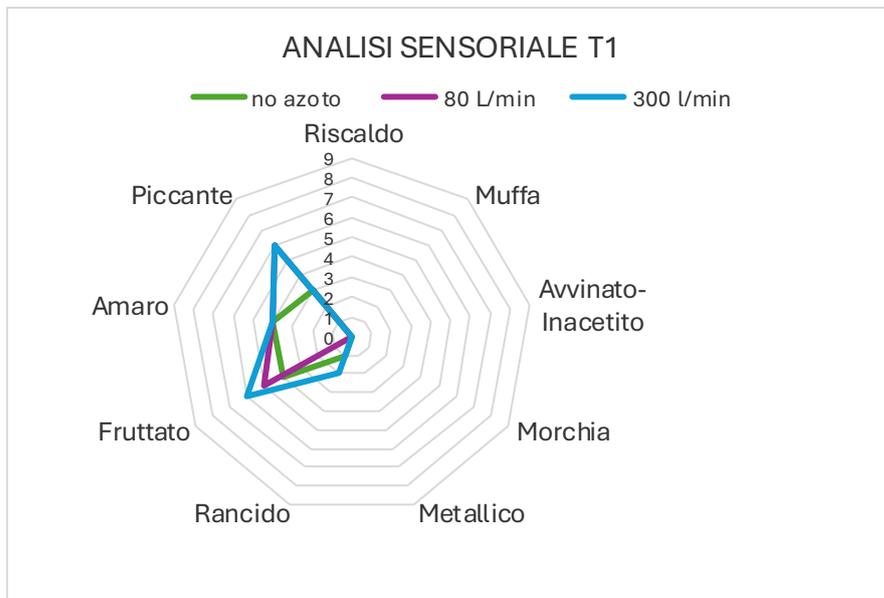
Si riscontra dal grafico riportato un effetto significativo della portata anche su alcuni composti positivi, C5 e C6 associati al fruttato, con un effetto protettivo anche nel tempo.



- Analisi sensoriale (t1)

L'analisi sensoriale, condotta attraverso l'assaggio a sei mesi dall'estrazione, ha evidenziato differenze significative tra i campioni esaminati. In particolare, gli oli trattati con azoto si distinguono per un profilo sensoriale fruttato e piccante rispetto agli altri. Alcuni assaggiatori hanno inoltre rilevato un lieve difetto di rancido nei campioni non trattati con azoto, confermando quanto rilevato al tempo 0.

Figura- Analisi sensoriale degli oli ottenuti con diversi trattamenti.



Conclusioni

Dalla sperimentazione condotta, è emerso in maniera chiara che il dispositivo ha dimostrato un'elevata efficacia nel migliorare la qualità e la stabilità dell'olio extravergine di oliva, agendo principalmente sulla riduzione dell'ossigeno disciolto nel prodotto. I principali risultati ottenuti possono essere riassunti come segue:

1. Riduzione significativa dell'ossigeno disciolto: L'utilizzo del dispositivo ha permesso una marcata riduzione dell'ossigeno disciolto nell'olio. Questa diminuzione ha un impatto diretto sulla prevenzione dei processi ossidativi, che rappresentano una delle principali cause di deterioramento della qualità dell'olio nel tempo. La riduzione dei composti derivati dall'ossidazione è stata un effetto tangibile e positivo ottenuto grazie all'inertizzazione.
2. Valutazioni chimiche e aromatiche al tempo zero: Nei test eseguiti al tempo zero, le analisi chimiche e aromatiche non hanno mostrato differenze significative tra i campioni trattati con inertizzazione e quelli non trattati. Questo suggerisce che i benefici dell'inertizzazione non si manifestano immediatamente, ma risultano evidenti con il passare del tempo, confermando che l'efficacia del processo è strettamente legata alla conservazione prolungata.
3. Mantenimento della freschezza dopo sei mesi: A sei mesi dalla produzione, gli oli ottenuti tramite il processo di inertizzazione si sono mantenuti significativamente "più freschi" rispetto ai campioni non inertizzati. Questo si è riflesso in una minore presenza di composti ossidativi e in una migliore conservazione dei biofenoli, i quali sono elementi fondamentali per la stabilità ossidativa e per le proprietà salutistiche dell'olio extravergine di oliva.

4. Migliore resistenza ai difetti: Durante la fase di conservazione, gli oli inertizzati hanno mostrato una maggiore resistenza all'insorgenza di difetti sensoriali legati ai processi ossidativi e di degradazione. Ciò evidenzia che il dispositivo non solo contribuisce a migliorare la qualità iniziale dell'olio, ma fornisce anche un beneficio concreto nella conservazione a lungo termine, mantenendo elevati standard qualitativi per un periodo prolungato.

Dalla sperimentazione condotta durante il secondo anno è emerso in maniera chiara che l'utilizzo di azoto (N₂) al separatore, in concentrazioni elevate (superiori a 80 l/min), offre numerosi vantaggi nella qualità e nella conservazione dell'olio extravergine di oliva. I principali risultati osservati possono essere riassunti come segue:

1. Riduzione significativa dell'ossigeno disciolto: L'immissione di N₂ ha portato a una significativa riduzione della concentrazione di ossigeno disciolto nell'olio prodotto, passando da circa 7.7 mg/L a 5.7 mg/L. Questa riduzione è stata progressiva all'aumento della portata di N₂, dimostrando l'efficacia del gas nella protezione dell'olio da processi ossidativi già durante la fase estrattiva.
2. Migliore conservazione dei biofenoli: Grazie alla riduzione dell'ossigeno disciolto, si è riscontrato un significativo mantenimento della "freschezza" dell'olio anche dopo 6 mesi di conservazione. Questo risultato è legato a una migliore preservazione dei biofenoli, composti fondamentali per le proprietà antiossidanti dell'olio, che sono stati protetti sia da processi ossidativi che idrolitici, favorendo così una conservazione di maggiore qualità.
3. Controllo dei composti volatili (VOC): L'immissione di N₂ ha contribuito a preservare alcuni composti volatili (VOC) associati agli aromi fruttati dell'olio, mantenendo così la freschezza sensoriale del prodotto. Inoltre, l'azoto ha aiutato a limitare la formazione di VOC di origine ossidativa, tipici dei processi di deterioramento che influenzano negativamente la qualità organolettica dell'olio nel tempo.
4. Mantenimento degli standard sensoriali: Gli attributi sensoriali chiave dell'olio, come il fruttato, l'amaro e il piccante, sono stati mantenuti a elevati livelli anche dopo 6 mesi di conservazione, confermando che l'utilizzo di N₂ non solo protegge l'olio dalle alterazioni chimiche, ma consente anche di preservarne il profilo sensoriale desiderato per un periodo prolungato.

Questi risultati confermano l'efficacia dell'azoto come gas inerte nella fase di separazione dell'olio, offrendo una strategia concreta per migliorare la stabilità e la qualità del prodotto finale.

Azione A6 - Divulgazione dei risultati ottenuti (Frantoio del Greve Pesa - DAGRI)

La diffusione dei risultati ottenuti dal progetto è stata condotta attraverso diverse attività di divulgazione e condivisione, rivolte sia alla comunità scientifica sia agli attori principali della filiera olivicola e agroindustriale. Tali attività hanno permesso di ampliare l'impatto dei risultati, coinvolgendo differenti livelli di pubblico, dai ricercatori agli operatori del settore.

In primo luogo, i risultati del progetto sono stati discussi in occasione della tesi di laurea magistrale di uno studente, che ha approfondito e presentato in maniera dettagliata il percorso di sperimentazione e i dati raccolti. La tesi ha rappresentato un momento significativo di sintesi, permettendo di esaminare criticamente i risultati e di evidenziare le implicazioni del lavoro svolto nell'ambito accademico e applicativo.

In secondo luogo, il progetto è stato presentato a livello nazionale nel corso del convegno dell'Associazione Italiana di Ingegneria Agraria (AIIA), tenutosi a Padova dal 17 al 19 giugno 2024. Durante l'evento, è stato esposto un poster scientifico che ha illustrato i principali risultati della sperimentazione. Questo ha rappresentato un'importante occasione per confrontarsi con la comunità di ingegneri agrari e discutere gli esiti del progetto in un contesto scientifico di alto livello, favorendo scambi di idee e la costruzione di potenziali collaborazioni future.

Parallelamente, i risultati sono stati condivisi con l'Istituto Helmholtz-Zentrum Berlin, un centro di eccellenza tedesco nello sviluppo di materiali per l'approvvigionamento energetico. Il gruppo di ricerca di HZB sta infatti sviluppando un sensore portatile ed economico basato sulla tecnologia EPR, in grado di rilevare i radicali liberi nelle matrici alimentari, al fine di misurarne il grado di invecchiamento di tipo ossidativo.

Questo scambio ha permesso di mettere in luce l'interesse internazionale per i risultati del progetto e di avviare un dialogo con esperti di livello mondiale, al fine di esplorare nuovi approcci e metodologie legate alla conservazione e alla qualità dei prodotti alimentari.

I risultati della sperimentazione sono stati anche inviati alla rivista bimestrale *Olivo e Olio*, e sono in attesa di pubblicazione. La rivista è interamente dedicata alla coltivazione dell'olivo e alla valorizzazione dell'olio, approfondendo ogni aspetto della filiera olivicola e olearia.

Dall'agronomia alla difesa fitosanitaria, fino alle dinamiche di mercato e alle sfide legate alla commercializzazione, la rivista offre una panoramica completa e specializzata su tutti i temi del settore.

Infine, un evento specifico di grande rilievo è stato l'organizzazione di un convegno dedicato alla presentazione dei risultati dei due anni di sperimentazione, tenutosi presso il frantoio del Grevepesa il giorno 02/10/2024, di cui si allega la locandina. Questo incontro ha visto la partecipazione di olivicoltori, frantoiani, produttori di macchinari e altri esperti del settore, creando un'importante occasione di confronto e divulgazione diretta verso i principali stakeholder. Il convegno ha fornito l'opportunità di discutere non solo i dati raccolti, ma anche le possibili applicazioni pratiche, i miglioramenti tecnologici e le implicazioni per l'intera filiera dell'olio extravergine di oliva.

Inoltre, i risultati del progetto sono stati pubblicati nel sito del DAGRI. E del Frantoio del Grevepesa.

Firma del responsabile scientifico

Prof. Alessandro Parenti

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'A. Parenti', written in a cursive style.